

平成元年10月

原 著

箱根湯の花沢温泉の流下に伴う 化学成分の変化と生物の影響

東邦大学医学部生物学教室, 化学教室*

高柳 進之輔, 杉 森 賢 司, 加 藤 尚 之*
塚 本 邦 子*, 相 川 嘉 正*, 代 谷 次 夫

(平成元年 7 月 7 日受付, 平成元年 8 月 25 日受理)

Changes of Chemical Components and Effect of Microorganisms Living in the Outflow of the Yunohanazawa Hot Spring, Hakone National Park

Shinnosuke TAKAYANAGI, Kenji SUGIMORI, Naoyuki KATO*,
Kuniko TSUKAMOTO*, Kasho AIKAWA*, Tsugio SHIROYA
Department of Biology and Department of Chemistry*, Toho University School of Medicine

Abstract

For the Yunohanazawa Hot Spring and its outflow, analysis of chemical components and identification of microorganisms were carried out, and their distribution was studied. Then, effects on the chemical components in waters of the organisms were studied.

H₂S, f-CO₂, NH₄-N and PO₄ of chemical components decreased with flow-down of the hot spring waters, but SO₄, NO₃-N and DO increased (natural outflow). No changes were recognized for other components. *Thiobacillus* and *Pinnularia* were detected from this hot spring and their main habitat was found to be the bottom of the outflow.

To study the effect of their organisms on the chemical components in water, a thin vinyl sheet was set at the bottom, and, then, chemical components in the hot spring waters guided onto the sheet were analysed (artificial outflow). Changes of the chemical components in this outflow were smaller than in the natural one. These results indicate that changes of some chemical components in the natural outflow are caused not only by physicochemical phenomenon but also by microorganisms living there.

緒 言

湧出した温泉水の自然流下や引湯による硫黄の沈殿や石灰華の生成は, 一部の化学成分の減少や酸化に起因すると言われている¹⁻⁴⁾. 温泉水の化学成分の変化は, 高温高圧下にあった温泉水が大気との物理化学的平衡関係を達成するために起こる現象であると考えられている.

一方、温泉に生息する生物の多くは^{5,6)}、無機物質を酸化することにより生ずるエネルギーを利用して二酸化炭素を同化する化学合成あるいは光合成を行っているので、温泉水中の化学成分の減少あるいは代謝産物の増加をもたらす可能性が充分考えられる。即ち、自然環境における温泉水の化学成分の変化は、物理化学的現象のみならず生物によっても引き起こされるものと考えられる。しかし、これまでのところ、生物の温泉水に対する影響についてはほとんど調べられていない。

そこで、今回は、自然湧出し、その流底に硫黄の沈殿のみられる硫黄泉を選び、その湧出口および流程の各地点における温泉水の化学成分の分析と生息する生物(特に細菌と藻類)の分布について調査を行った。さらに、この化学成分に対する生物の影響について検討したところ、生物も化学成分の変化に密接に関与していることが示唆された。

材料と方法

1. 試料採取

(1) 試料採取地点の設定

研究対象とした温泉は自然環境が比較的良好に保持されている神奈川県箱根湯の花沢温泉である。1回目の調査は1984年6月21日に、2回目の調査は同年12月1日に、3回目の調査は1987年6月4日に行った。

試料採取地点は、湧出口を第1地点とし、これより流れに沿って比較的試料の取り易い1.5m, 5.0m, 8.5m, 11.0mをそれぞれ第2, 第3, 第4, 第5地点と設定した。1回目の調査では、各地点から化学成分分析ならびに生物検索用にそれぞれ温泉水を採取した。2回目及び3回目の調査では、化学成分分析用に温泉水を、細菌検索用に温泉水および流底の沈殿物を採取した。さらに、藻類検索用には温泉水と流底部の小石や沈殿物を一緒に試料瓶に採取し、これに等量の10%ホルマリンを加え研究室に持ち帰った。

(2) 樋の設定

化学成分の変化に対する生物の影響を調べるために、ビニールシート(厚さ0.5mm)に針金(直径5mm)を50cm毎に補強したものを折り曲げて作った簡易樋(図1)を湧出口から12m流下した地点までの流れの上に置き、温泉水を導いた(人工流下, 図2)。湧出口から前記同様に5地点を設け、そこから化学成分分析および細菌数測定用にそれぞれ温泉水を採取した。

2. 化学成分の分析

現地において、泉温およびpHはpHメーター(横河電機, pH51型)、溶存酸素(DO)は溶存酸素計(東京電気化学)で測定した。遊離炭酸(f-CO₂)はフェノールフタレインを指示薬として1/2.2N Na₂CO₃による滴定法で測定した。また、硫化水素(H₂S)は一定量の試料水に炭酸カドミウム粉末を加えてよく攪拌し、H₂Sを硫化カドミウムの形で固定して研究室に持ち帰り定量した。その他は直接研究室に持ち帰ってから、下記の方法で定量した。

蒸発残留物(Ev. Re): 試料200mlを蒸発乾固し、更に130℃で乾燥したうでで秤量した。Na, K: 原子吸光法, Ca, Mg: EDTA滴定法, Mn: ホルムアルドキシム比色法, SO₄: 塩化バリウム重量法, PO₄, SiO₂: モリブデンイエローおよびモリブデンブルー比色法, NH₄-N(アンモニア体窒素): ネスラー比色法, NO₃-N(硝酸体窒素): グリースロミン比色法, Fe: オルトフェナントロリン比色法, Al: 重量分析法, H₂S: Cd-I₂滴定法。

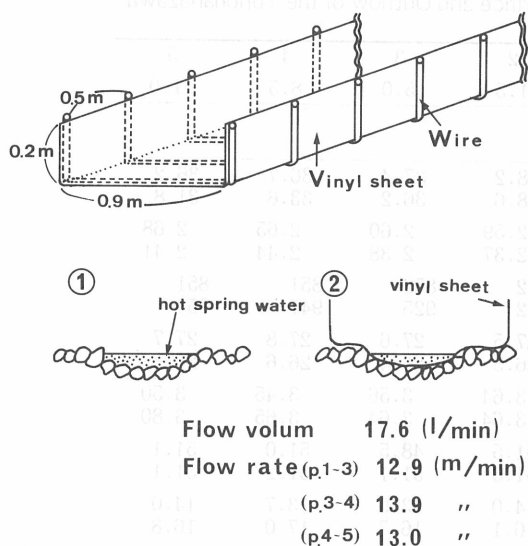


Fig. 1 Vinyl sheet of U-type used for the artificial outflow and the flow volume and rate at each sampling point(p).



Fig. 2 Photograph of the artificial outflow set the U-type sheet onto the natural outflow of the Yunohanazawa hot spring.

3. 生物の検索

(1) 細菌の検索および細菌数

採取した試料は各地点における細菌の分離同定、計数および藻類の検索に用いた。なお、細菌の同定については既に報告した⁷⁾。

(2) 流下に伴う細菌数の変動

各地点から採取した温泉水および流底部の沈殿物中の細菌数はコロニー計数法により求めた。即ち、原液を 10^{-1} 倍ずつ 10^{-4} まで段階希釈し、それぞれを各シャーレに1 mlずつ加え、これに硫黄細菌同定寒天培地⁸⁾を15 ml加え混積培養した。培養は 30°C で行い、10日後に生じたコロニー数より細菌数を求めた。

(3) 藻類の検索

各地点から採取した試料水を直接、光学顕微鏡を用いて観察し、さらに必要に応じて写真撮影を行った。この観察および写真をもとに、日本淡水プランクトン図鑑⁹⁾、日本淡水藻図鑑¹⁰⁾などを参照し、種の検索・同定を行った。

結 果

1. 化学成分の変化

(1) 自然流下

1 回目(1984.6; A)および 2 回目(1984.12; B)の調査結果を表 1 に示した。湧出口での泉温はそれぞれ 38.6°C と 39.7°C で大差はないが、湧出口から流下するに伴い、泉温はいずれも徐々に低下していた。第 5 地点での泉温は 1 回目が 36.2°C で、2 回目が 31.8°C と、低下の度合は 2 回目の

Table. 1 Chemical Components in the Orifice and Outflow of the Yunohanazawa Hot Spring

Sampling point		1	2	3	4	5
Distance from orifice(m)		0	1.5	5.0	8.5	11.0
Chemical components	Date of sampling					
Tw(°C)	A	38.6	38.2	37.4	36.7	36.2
	B	39.7	38.6	36.2	33.6	31.8
pH	A	2.46	2.59	2.60	2.65	2.68
	B	2.28	2.37	2.38	2.44	2.41
Ev. Re(mg/l)	A	851	852	852	851	851
	B	923	922	925	947	954
Na(mg/l)	A	27.6	27.5	27.6	27.8	27.7
	B	26.3	26.5	26.4	26.6	26.8
K(mg/l)	A	3.60	3.64	3.56	3.45	3.50
	B	3.82	3.64	3.64	3.65	3.80
Ca(mg/l)	A	49.7	51.5	48.5	51.0	51.1
	B	50.2	51.0	51.1	51.2	51.1
Mg(mg/l)	A	15.0	14.0	13.9	13.7	14.0
	B	15.8	16.1	16.7	17.0	16.8
Fe(mg/l)	A	1.08	1.12	1.17	1.22	1.20
	B	0.64	0.66	0.69	0.72	0.73
Al(mg/l)	A	28.8	28.1	26.8	28.3	28.0
	B	38.9	38.5	41.2	42.2	39.5
Mn(mg/l)	A	0.55	0.49	0.43	0.34	0.38
	B	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45
SO ₄ (mg/l)	A	522	532	535	607	630
	B	566	569	570	630	642
PO ₄ (mg/l)	A	0.534	0.520	0.509	0.500	0.440
	B	0.596	0.595	0.518	0.462	0.430
NH ₄ -N(ppm)	A	1.386	0.730	0.992	0.347	0.147
	B	0.667	0.420	0.216	0.142	0.173
NO ₃ -N(ppm)	A	0.085	0.085	0.096	0.106	0.104
	B	0.062	0.086	0.120	0.151	0.151
SiO ₂ (mg/l)	A	145	145	147	143	137
	B	140	139	138	134	144
H ₂ S(mg/l)	A	444	295	315	193	133
	B	364	280	160	75.4	85.4
f-CO ₂ (mg/l)	A	980	720	722	497	343
	B	743	454	374	179	101
DO(mg/l)	A	1.2	2.0	4.0	5.0	5.0
	B	2.0	2.2	4.8	5.4	7.2

Tw: Temperature of the hot spring waters, f-CO₂: free carbon dioxide, DO: dissolved oxygen, A: June 21, 1984. B: December 1, 1984.

方が大きかった。この時の外気温は1回目が18.5°Cで、2回目は9.5°Cと低かった。従って、流下に伴う泉温の低下は外気温と密接な関係にあるものと思われる。

pHは流下に伴い多少上昇した。Ev. Re, Na, K, Ca, Mg, Fe, Al, Mn, SiO₂等の各成分値は調査時によって多少差はあるが、流下に伴う変化はほとんどなかった。これに対し、SO₄, NO₃-N, DO等は徐々に増加する傾向にあったが、PO₄, NH₄-N, H₂S, f-CO₂等は減少傾向を示した。中でもNH₄-N, H₂S, f-CO₂は著しい減少を示し、湧出口に対する第5地点での割合は、NH₄-Nが10.6-21.0%, H₂Sが23.5-30.0%, f-CO₂が13.6-35%であった。この傾向は3回目(1987, 6.; C)の調査でも同様であった(表2)。

Table. 2 Chemical Components in the Natural and Artificial Outflows of the Yunohanazawa Hot Spring*

Sampling point		1	2	3	4	5
Distance from orifice(m)		0	1.5	5.0	8.5	11.0
Chemical components	condition of flow					
Tw(°C)	N	45.8	45.7	44.3	43.4	42.0
	A	45.8	45.6	43.9	43.1	42.7
pH	N	2.40	2.43	2.37	2.48	2.50
	A	2.40	2.48	2.48	2.44	2.53
Ca(mg/l)	N	50.4	51.3	51.0	51.2	51.3
	A	50.2	51.5	51.3	51.3	51.2
SO ₄ (mg/l)	N	821	824	844	935	946
	A	821	826	826	826	852
PO ₄ (mg/l)	N	0.914	0.866	0.848	0.813	0.748
	A	0.914	0.914	0.914	0.914	0.914
NH ₄ -N(ppm)	N	0.958	0.846	0.846	0.536	0.225
	A	0.958	0.946	0.922	0.782	0.648
NO ₃ -N(ppm)	N	0.013	0.049	0.062	0.071	0.075
	A	0.013	0.013	0.022	0.044	0.049
H ₂ S(mg/l)	N	311	268	162	75.1	63.6
	A	311	286	221	186	187
f-CO ₂ (mg/l)	N	840	795	497	300	209
	A	840	790	690	582	532

*: data of June 4, 1987. N: natural flow, A: artificial flow

なお第1回目の調査で、H₂Sの値が第2地点に比べ第3地点で高くなっているのは両地点の間にある別の湧出口からの温泉水の混入によることがわかったので、第2回および第3回の調査ではこの混入を避けた。

(2) 人工流下

温泉水の化学成分の変化に対する生物の影響について調べるため、流底に樋を置いて温泉水と流底部の生物との接触を断ち、そこに温泉水を導いた(人工流下、図2)。また、自然流下時の各地点での流量および流速は図1に示す通りで、人工流下時の流速もこれと同様に調整した。この場合の各地点の主な化学成分値は表2に示す通りであった。泉温は自然流下時と同様に低下し、第5地点で約42°Cになった。Na, K, Ca, Mg, Fe, Al, Mn等は表1に示されるようにほとんど変化がないので、値の大きいCaだけを表2に示した。PO₄は自然流下では徐々に減少していたが、人工流下では全く変化が認められなかった。自然流下でのNO₃-Nは、第5地点で約5.8倍とかなりの増加の傾向にあるが、人工流下での増加は約3.8倍と少なかった。一方、自然流下で著しい減少を示したH₂S, f-CO₂, NH₄-Nは人工流下でも減少していたが、第5地点での湧出口に対する割合はNH₄-Nが67.6%, H₂Sが60.1%, f-CO₂が63.3%と、自然流下時の約半分の減少であった。

2. 生物の検索とその分布

湧出口ならびに流底に生息する主な生物は表3に示す通り、硫黄細菌の*Thiobacillus intermedius*, *Thiobacillus sp.* および珪藻の*Pinnularia braunii var. amphicephala*の3種で、このうち*Thiobacillus*はこの流域全体に生息していた。その他長桿菌が検出されたが非常に少なく分離同定できなかった。この*Thiobacillus* 2種に関する詳細な性状については別に報告した⁷⁾。珪藻は流水中からは全く検出されず、第2地点と第3地点の中間部以降の流底部にある岩や小石の表面から検出された。

3. 流下に伴う細菌数の変動と生息部位

(1) 自然流下

各地点から温泉水と流底部の沈殿物を別々に採取し、細菌数を調べた。その結果は表4に示す通りであった。流水中の細菌数は湧出口で1 cell/mlであったが、流下に伴い徐々に増加し第5地点では 9×10^2 cells/mlに達していた。一方、流底部の細菌数は湧出口で 7.2×10^4 cells/mlと温泉水中に比べ非常に多く、第5地点では 5.5×10^5 cells/mlとさらに増加していた。この結果から、細菌のほとんどは、珪藻の*P. braunii*と同様に、流底部に生息していることが明らかになった。

(2) 人工流下

流底に樋を敷いて温泉水を流した場合(表5)の温泉水中の細菌数は、多少変動しているが、第5地点でも湧出口と同じオーダーで、自然流下に比べ非常に少なかった。従って、この人工流下での化学成分の変化は、ほとんど生物の影響のない物理化学的現象によるものと考えられる。

4. 自然流下と人工流下の比較

人工流下における主な化学成分の変化を自然流下の場合と比較すると、人工流下の場合の H_2S , f- CO_2 , NH_4-N , SO_4 , NO_3-N 等は変化の度合いが低く、 PO_4 は全く変化が認められなかった(表2, 図3)。一方、その他の成分は自然流下とほぼ同じであった。自然流下の場合の H_2S , f- CO_2 , NH_4-N 等は第3地点以降急速に減少する傾向にあるが、これは第3地点以降に硫黄細菌に加えて珪藻が出現してくることとよく対応していた(表3)。しかし、人工流下ではそれらの減少の度合いはほぼ一定であった。

Table. 3 Distributions of Bacteria and Algae detected from the Yunohanazawa Hot Spring

Sampling point	1	2	3	4	5
<i>Thiobacillus</i> (Other bacteria)*	+	+	++	++	++
<i>Pinnularia braunii</i> <i>var. amphicephala</i>	-	-	+	+	+

()*: this bacteria was filamentous, but couldn't be identified.
± : very small

Table. 4 Bacterial Cell Numbers in the Hot Spring Water and Sediment of Outflow in the Yunohanazawa Hot Spring

Sampling point	1	2	3	4	5
Hot spring waters(cells/ml)	1.0	3.0	8.0×10	1.2×10^3	4.8×10^3
Sediment(cells/ml)	7.2×10^4	8.5×10^4	1.7×10^5	3.3×10^5	5.5×10^5

Table. 5 Comparison of Bacterial Cell Numbers in their Hot Spring Waters between the Natural and Artificial Outflows

Sampling point	1	2	3	4	5
Natural outflow(cells/ml)	1.0	3.0	8.0×10	1.2×10^3	4.8×10^3
Artificial outflow(cells/ml)	1.0	3.0	2.0	-	5.0

そこで、自然流下と人工流下とについて、流下に伴い変化する各化学成分の湧出口に対する第5地点の値を比較すると表6の通りであった。自然流下時(ΔN)と人工流下時(ΔA)の差は生物の作用量に相当するので、これを全変化量(自然流下時)に対する割合($(1-\Delta A/\Delta N) \times 100$)で表すと、 SO_4 が75.2%、 NH_4-N が58.3%、 H_2S が49.9%、 $f-CO_2$ が51.2%、 PO_4 が100%、 NO_3-N が41.9%となる。従って、 NH_4-N 、 H_2S 、 $f-CO_2$ 、 NO_3-N 等の変化の約半分は生物の影響であり、 SO_4 では約3/4、 PO_4 では全て(100%)生物の作用の結果と考えられる。

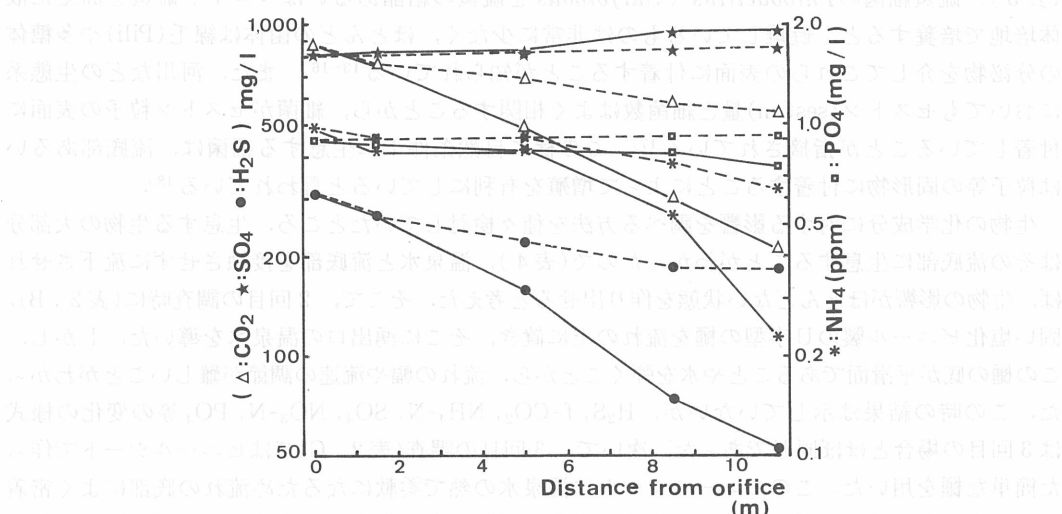


Fig. 3 Changes of some chemical components in the natural and artificial outflows. Solid line: natural outflow, Broken line: artificial outflow.

Table. 6 Effect of the Sediment on Some Chemical Components in the Outflow of the Yunohanazawa Hot Spring

Chemical components	SO_4 (mg/l)	H_2S (mg/l)	$f-CO_2$ (mg/l)	NH_4-N (ppm)	NO_3-N (ppm)	PO_4 (mg/l)
Natural Outflow(ΔN)*	-125	247.4	631	0.733	0.062	0.166
Artificial Outflow(ΔA)*	-13	124.0	308	0.306	0.036	0
Effect of Sediment ($(1-\Delta A/\Delta N) \times 100$)	75.2%	49.9%	51.2%	58.3%	41.9%	100.0%

*: difference of each chemical component between point-1 and point-5 based on the data of Table 2.

考 察

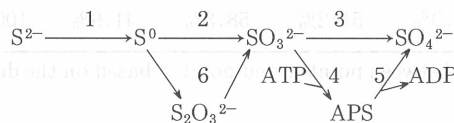
箱根湯の花沢温泉は、化学成分を調査した結果(表1)、 $Al \cdot Ca-SO_4 (H_2S)$ 型であった。3回の調査を通してみると、源泉の泉温は少しずつ上昇し、化学成分値においても調査時毎に多少の変動が認められた(表1, 2)。湯の花沢温泉に関しては、1938-1939年の1年間に渡り詳細に調査した黒田の報告によると^{11, 12)}、泉温や化学成分は特に雨量に影響され易く、梅雨期には湧出量が多くなるので泉温や化学成分値が多少低下することを指摘している。しかし、調査時毎の湧出口での泉質の多少の違いは見られるが、湧出口からの流下に伴う温泉水の化学成分、温度、pH

等の変化の様式は3回の調査を通じほぼ同じ傾向にあった。

この温泉に生息する主な生物である*Thiobacillus*と*Pinnularia*の生息部位を調べてみると、そのほとんどが流底部に生息し、温泉水中には非常に少なかった(表4)。自然流下に伴う温泉水中の細菌数の増加は、流底部に生息するものの一部が沈殿物とともに流されたり、鞭毛運動等により水中に遊離した結果と考えられる。このことはビニール製の簡易樋でその流底部を覆った後に温泉水を流すと(人工流下)、その温泉水中の細菌数の増が非常に少ないことから支持される(表5)。硫黄細菌の*Thiobacillus*や*Sulfolobus*を硫黄の結晶あるいはコロイド硫黄を加えた液体培地で培養すると、遊離しているものは非常に少なく、ほとんどの菌体は線毛(Pili)や多糖体の分泌物を介してこれらの表面に付着することが知られている^{13~16}。また、河川などの生態系においてもセストン(seston)量と細菌数はよく相関することから、細菌がセストン粒子の表面に付着していることが指摘されている¹⁷。この様に自然条件下に生息する細菌は、流底部あるいは粒子等の固形物に付着することによって増殖を有利にしていると言われている¹⁸。

生物の化学成分に対する影響を調べる方法を種々検討していたところ、生息する生物の大部分はその流底部に生息することがわかったので(表4)、温泉水と流底部を接触させずに流下させれば、生物の影響がほとんどない状態を作り出せると考えた。そこで、2回目の調査時に(表2, B)、固い塩化ビニール製のU字型の樋を流れの上に置き、そこに湧出口の温泉水を導いた。しかし、この樋の底が平滑面であることや水を弾くことから、流れの幅や流速の調節が難しいことがわかった。この時の結果は示していないが、 H_2S 、 f-CO_2 、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 SO_4 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 PO_4 等の変化の様式は3回目の場合とほぼ同じであった。次いで、3回目の調査(表2, C)ではビニールシートで作った簡単な樋を用いた。このビニールシートは温泉水の熱で柔軟になるため流れの底部によく密着することから、流れの幅、各地点の流速、流量の調節が容易となり、自然流下に近い流れを作り出すことが出来た。しかし、非常に浅い所では水が弾けるなど自然状態と全く同一とは言えないので、この点については今後さらに検討する必要がある。

この温泉に生息する生物は硫黄細菌の*Thiobacillus intermedius*と*Thiobacillus sp.* および珪藻の*Pinnularia braunii var. amphicephala*が主体であるが、後者は湧出口から少し流下した地点から見られるようになった(表3)。*Thiobacillus*属の多くは20-40℃の温度の硫黄泉によく見られる化学合成独立栄養細菌で^{19, 20}、硫黄化合物を酸化して得られるエネルギーを用いて CO_2 を同化し、生活を営んでいる。Suzukiは*Thiobacillus*の硫黄の代謝に関する知見をまとめて、次のような経路を提案している²¹。



1 : unknown enzyme

2 : sulfur-oxidizing enzyme

3 : sulfite oxidase

4 : APS reductase

5 : ADP sulfurylase

6 : thiosulfate cleaving enzyme

APS : adenosine phosphosulfate

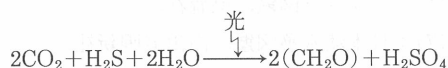
これらの反応は何れも酵素の触媒により行われている。硫化水素から硫黄への反応を触媒する酵素はまだ精製されていないが、外界に接する細胞膜に局在することがわかっている²²。この酵素の精製は反応基質が常温で気体であるという困難さを伴うが早急に解決されるべき課題である。今回分離した*Thiobacillus*は H_2S で著しい増殖促進効果が認められたこと、人工流下では H_2S の減少の割合が約半分になること(図3)等から、この反応を触媒する酵素の存在は確かであろう。また、 H_2S やSの他にthiosulfateや酸性でも安定なtetrathionateを資化する能力を持つことか

ら、これらを開裂する酵素も持つと思われる。

湯の花沢温泉での硫黄の沈殿(湯の華)は、 H_2S が湧出口から急激に減少するにも拘らず、湧出口では少なく、流下に伴って増加してくる傾向にある。この傾向は硫黄泉一般にみられることから、湯の華の生成には硫黄細菌も大いに関与しているものと思われる。即ち、このように H_2S が十分に供給されている環境では、硫黄細菌のエネルギー獲得は、 H_2S を完全に酸化する必要がなく、 H_2S をSに酸化することで十分賄えるため大量のSの沈殿が起こるものと考えられる。

一方、 CO_2 の同化は緑色植物の光合成と同じカルビン回路で行われている。直接 CO_2 の固定に関与する酵素はリブローズ-1, 5-二リン酸カルボキシラーゼで、各種硫黄細菌で見ついている。本酵素は*T. intermedius*では8個の大型サブユニットから成り、菌体中のカルボキゾームと呼ばれる特殊な小器官の中に局在することが知られている²³⁾。

今回検出された珪藻の*Pinnularia braunii* var. *amphicephala*は、多くの硫黄酸性泉に生息することが知られている^{6, 19)}。珪藻は一般に有機物の少ない清浄な水域を好むと言われるなかで、この*P. braunii*は最も汚染に強い種である。 H_2S に対しては他の藻類が全く生育できない1 mMの濃度でも増殖し²⁴⁾、野外ではより高濃度でも生息するといわれている²⁵⁾。今回の第3地点での H_2S 濃度は約5 mM (160mg/l)であることから(表5)、*P. braunii*はこの濃度まで生育が可能であると思われる。珪藻は、光合成により



なる反応で作りだした有機物質(糖)から、生体に必要な各種物質を合成している。タンパク質のもとになるアミノ酸は、有機物質が分解される過程で生ずる有機酸が NH_4 と結合することにより合成されている。 PO_4 は生物のエネルギー通貨と言われるATPの合成や細胞膜の構成要素の一つであるリン脂質等にも不可欠の物質である。従って、第3地点以降の CO_2 や NH_4 -Nの減少の一部は*Thiobacillus*や*Pinnularia*の化学合成や光合成に、また、 SO_4 や NO_3 -Nの増加はこれら生物の代謝産物によるものと考えられる。

この温泉では H_2S , S, CO_2 , NH_4 -N, PO_4 , その他の無機塩類等が間断なく供給され、硫黄細菌や珪藻はこれらを栄養源として十分に利用していることが示唆された。従って、湯の花沢温泉の流下に伴う化学成分の変化は、物理化学的現象のみならず、生物の作用によっても引き起こされていると結論づけられるであろう。今後、これらの現象を定量的に解析することが課題である。

結 語

箱根湯の花沢温泉の流下に伴う化学成分の変化と生物の分布について調査し、更に生物の化学成分に対する影響について調べた。化学成分のうち、 H_2S , f- CO_2 , NH_4 -N, PO_4 , 等は流下に伴い減少し、 SO_4 , NO_3 -N等は徐々に増加したが、その他の成分はほとんど変化しなかった(自然流下)。一方、生物の分布に関する実験から、この温泉にみられる硫黄細菌および珪藻の生息場所は主に流れの底部であることがわかった。そこで、生物の影響のないよう流れに簡易樋を置いて作った“人工流下”においても化学成分の変化と生物の分布を調査し、自然流下時の結果と比較検討した。その結果、 H_2S , f- CO_2 , NH_4 -N, SO_4 , NO_3 -N等が湧出口から第5地点まで流下する間(約11m)に変化する量のうち約40-70%, PO_4 においては100%が生物の作用によることが示唆された。

文 献

- 1) 山根 登, 山根顛子(1953): 温泉中の硫化水素ガスの引湯による変化について, 温泉科学, 5: 50-52.
- 2) 鈴木一男(1956): 引湯による温泉の成分変化について, 温泉科学, 7: 72-77.
- 3) 甘露寺泰雄, 田中 昭(1970): 揚湯あるいは引湯に伴う温泉水の科学成分変化について, 温泉工学会誌, 7: 155-163.
- 4) 酒井幸子, 松葉谷治, 鈴木勲子(1983): 群馬県星尾鉱泉の流下による組成変化と石灰華の生成について, 地球化学, 17: 127-135.
- 5) 江本義数(1964-7): 我が国の温泉中に棲息する生物(その1~8), 温泉工学会誌, 2: 148-159, 3: 19-29, 89-101, 173-182, 4: 39-50, 90-104, 151-164, 5: 24-31.
- 6) 江本義数(1968-9): 続・我が国の温泉中に棲息する生物(その1~6), 温泉工学会誌, 5: 61-91, 6: 29-53, 85-111, 135-164, 7: 25-52, 75-108.
- 7) 杉森賢司, 高柳進之輔, 代谷次夫, 加藤尚之, 塚本邦子, 相川嘉正(1988): 箱根湯の花沢温泉(硫黄酸性泉)に生息する硫黄細菌の性状, 東邦大教養紀要, 20: 38-47.
- 8) 後藤英二, 今井英夫, 伊東祐一(1966): 温泉に棲息する硫黄細菌についての研究; (第一報)培養と形態, 温泉科学, 16: 144-153.
- 9) 水野寿彦(1964): 日本淡水プランクトン図鑑, 保育社.
- 10) 広瀬弘幸, 山岸高旺編(1977): 日本淡水藻図鑑, 内田老圃新社.
- 11) 黒田和夫(1943): 箱根湯花沢温泉の化学的研究(第二, 六, 七報), 日本化学会誌, 6: 159-164, 222-227, 228-234.
- 12) Kuroda K. (1940): Effect of the rain on the composition of the hot springs of Yunohanazawa, Hakone, Bull. Chem. Soc. Jpn., 15: 156-160.
- 13) Schaeffer W. I., P. E. Holbert and W. W. Umbreit (1963): Attachment of *Thiobacillus thiooxidans* to sulfur crystals, J. Bacteriol., 85: 137-140.
- 14) Baldensperger J., L. J. Guarraia and W. J. Humphreys (1974): Scanning electron microscopy of *Thiobacilli* grown on colloidal sulfur, Arch. Mikrobiol., 99: 323-329.
- 15) Weiss R. L. (1973): Attachment of bacteria to sulphur in extreme environments, J. Gen. Microbiol., 77: 501-507.
- 16) Marshall K. C., R. Stout and R. Mitchell (1971): Mechanism of the initial events in the sorption of marine bacteria to surfaces, J. Gen. Microbiol., 68: 337-348.
- 17) Palumbo A. V., M. A. Bogle, R. R. Turner, J. W. Elwood and P. J. Mulholland (1987): Bacterial communities in acidic and circumneutral streams, Appl. Envir. Microbiol., 53: 337-344.
- 18) Zobell C. E. (1943): The effect of solid surfaces upon bacterial activity, J. Bacteriol., 46: 39-56.
- 19) 高柳進之輔, 杉森賢司, 千頭道子(1986): 酸性泉に生息する微生物の同定と分布, 東邦大教養紀要, 18: 33-43.
- 20) 杉森賢司, 高柳進之輔, 千頭道子, 相川嘉正(1984): 硫黄泉に生息する *Thiobacillus* の簡便な分離・同定法, 東邦大教養紀要, 16: 49-63.
- 21) Suzuki I. (1974): Mechanisms of inorganic oxidation and energy coupling, Ann. Rev. Microbiol., 28: 85-102.
- 22) Moriarty D. J. and D. J. D. Nicholas (1970): Products of sulphide oxidation in extracts of *Thiobacillus concretivorus*, Biochim. Biophys. Acta, 197: 143-151.

23) Shiveley J.M., F.L. Ball and B.W. Kleine (1973): Electron Microscopy of the Carboxysome (Polyhedral Body) of *Thiobacillus neapolitanus*, J. Bacteriol., 116: 1405-1411.

24) Nakamura H. (1938): Uber die Kohlen saureassimilation bei niederen Algen in Anwesenheit des Schwefelwasserstoffs, Acta Phytochem., 10:271-281.

25) Castenholz, R.W. (1977): The effect of Sulfide on the Blue-Green Algae of Hot Springs, II., Yellowstone National Park Microbiol. Ecol., 3:79-105.

Acidophilic Thermophilic Bacteria Living in Hot Springs of
Hachimaetsu Area, Iwate and Akita Prefectures

Koichi SUGIMORI*, Shinnosuke TAKAYANAGI*

Taduo SHIROTA*, Yosiro UMEBAYASHI**

*Department of Biology, Tohoku University School of Medicine
**Department of Resource Chemistry, Faculty of Engineering, Iwate University

Abstract

We isolated and characterized the bacteria living in acidophilic thermophilic environments in the Hachimaetsu Hot Spring Area, including Tohachi Hot Spring (31.6°C, pH3.33, Fukuoka Hot Spring (31.5°C, pH3.03), Goshogake Hot Spring (83.1°C, pH2.19, and Tamagawa Hot Spring (2 points) (49.0°C, pH2.85 and 92.3°C, pH2.07), located in Iwate and Akita Prefecture. Bacteria were isolated from the hot spring water samples, and their characteristics were found to be as follows: (1) These bacteria could grow well in aerobic conditions, but they were not able to grow in anaerobic conditions. (2) Morphologically, they had a form resembling a spherical form, no spores and no flagella. (3) Electron microscope and x-ray observations showed that they possessed cell walls and cell membranes. (4) Growth temperature range was between 50°C to 90°C optimum 65°C to 75°C. (5) Growth pH range was pH 1.0 to 4.0 optimum pH 2.7 to pH 3.0. (6) They could only grow in sulfur or some organic matter, based on these findings, the bacteria were determined to be *Sulfolobus* sp.. The characteristics of the isolated strains were compared with those of the type strain *Sulfolobus wolfebi* ATCC 33309, and the morphological and physiological characteristics indicated that these bacteria were similar to *S. wolfebi*. However, these strains seem to be of a new *Sulfolobus* sp. in terms of the GC content of DNA, cell diameter and utilization of sugars, so the isolated strains were identified as *Sulfolobus* sp.. It is interesting to note that different kinds of *Sulfolobus* are found in acidic geothermal springs in Japan.

要 旨

岩手県花巻市花巻温泉(31.6°C, pH3.33)及び秋田県大館市湯田温泉(83.1°C, pH2.19)と、秋田県大館市湯田温泉(49.0°C, pH2.85)及び秋田県大館市湯田温泉(92.3°C, pH2.07)の熱水サンプルから、好酸性的に生育する球状の細菌を分離した。これらの細菌は、好酸的条件下でよく生育し、嫌気条件下では生育しない。形態学的には、球形で芽胞も鞭毛も持たない。電子顕微鏡観察及びX線回折観察の結果、細胞壁と細胞膜を有していることがわかった。生育温度範囲は50°Cから90°Cで最適温度は65°Cから75°Cである。生育pH範囲は1.0から4.0で最適pHは2.7から3.0である。これら細菌は、硫黄または一部の有機物を唯一の炭素源としてしか生育しない。これらの結果から、分離した細菌は *Sulfolobus* sp. と推定された。分離した菌株の *Sulfolobus* ATCC 33309 型菌株と比較して、DNAのGC含量、細胞径、糖の同化能力などの生理学的特性が類似していることが示された。したがって、分離した細菌は *Sulfolobus* sp. の一種と推定された。しかし、GC含量、細胞径、糖の同化能力などの生理学的特性から推定すると、分離した菌株は *Sulfolobus* sp. の一種と推定される。日本における酸性地熱泉の細菌多様性について興味がある。