

## 海底堆積物中での有機物分解過程における微生物間の相互作用, 特に硫酸還元細菌を中心として\*

芝 恒 男\*\*

### Microbial interactions in marine sediments\*

Tsuneo SHIBA\*\*

**Abstract:** Interaction between fermentative and sulfate-reducing bacteria is discussed. Sulfate-reducing bacteria are present in the oxidized surface layer of marine sediments. Anaerobic biological processes take place within reduced micro-environments in the sediment. Interspecies transfer of fermentation products stimulates the growth of fermentative and sulfate-reducing bacteria. Such micro-environments influence the syntrophic growth of fermentative and sulfate-reducing bacteria.

#### 1. はじめに

海底堆積物中の有機物分解過程に関する研究には, 堆積物中の有機物濃度の深層に向けての垂直減衰曲線から有機物の分解速度を計算推測するもの (BERNER, 1964; MATSUNAGA and HANDA, 1983; JØRGENSEN, 1978a) や, ラジオアイソトープを用いたトレーサー実験による硫酸還元細菌の活性を調べたもの (JØRGENSEN, 1978; HOWARTH and MERKEL, 1984) などがあるが, 堆積物中での有機物分解過程の全容についての正確な知識は得られているとはいまだ言い難い。これは堆積物中での分解過程で大きな働きをする嫌気性細菌についての研究が技術的困難さから余り多くなく, 知識の集積も不十分であるためと思われる。本論では初めに堆積物中の有機物分解過程についての概要を述べるとともに, 海底環境で主要な働きを示す硫酸還元細菌を中心に, これまでに得られている知見の幾つかを紹介し, さらに分解過程で有効に機能する微生物間の共生関係についての研究の重要性を指摘したい。

#### 2. 海底堆積物中での嫌氣的分解過程

有機物濃度の高い海底堆積物中では嫌氣的環境が発達

\* 1985年11月25日受理 Received November 25, 1985

\*\* 東京大学海洋研究所大槌臨海研究センター,  
〒028-11 岩手県上閉伊郡大槌町赤浜2-106-1  
Otsuchi Marine Research Center, Ocean Research  
Institute, University of Tokyo, Akahama, Otsuchi,  
028-11 Iwate

しやすく, 堆積物のごく表層を除けば有機物の分解の多くは嫌気性細菌の働きによっておこなわれている。嫌気性細菌類には, 嫌氣的呼吸を行なう細菌類と発酵細菌類とがある。嫌氣的呼吸をする細菌類には硝酸を電子受容体として呼吸する硝酸還元細菌, 同じく硫酸を電子受容体とする硫酸還元細菌, 炭酸を電子受容体とするメタン発酵細菌などがある。他に Fe や Mn を電子受容体とする細菌類があるが, これらは沖合堆積物中で Fe や Mn が酸化還元境界層に層状に分布する事に関与する他には, 沿岸堆積物中での働き等も含めて余り知られていない。堆積物中での嫌氣呼吸の様式は, 電子受容体がエネルギー効率の良い順に利用されるため層状に分布すると言われる (FROELICH, *et al.*, 1979) (Table 1)。また発酵細菌類には炭水化物や蛋白質を分解し有機酸類やアルコール類さらには水素を代謝産物として細胞外に分泌する菌の他に, 有機酸類を分解して酢酸や水素を細胞外に分泌するプロトン還元細菌などがある。

嫌気性細菌は一般に硝酸還元細菌を除いて, 利用しうる有機基質の範囲が狭く, 1種の微生物の働きだけでは炭水化物や蛋白質などの有機物を炭酸ガスのレベルにまで無機化することはできない。発酵細菌の代謝産物は硫酸還元細菌やメタン発酵細菌の基質であり, 硫化水素やメタンなどの嫌気性細菌の代謝産物はそれ自体エネルギーに富んでいる為, 独立栄養的に増殖しうる光合細菌や, イオウ細菌やメタン資化細菌の基質となっている。

Table 1. Oxidation reactions of sedimentary organic matter.

1.	$(\text{CH}_2\text{O})_{106}(\text{NH}_3)_{16}(\text{H}_3\text{PO}_4) + 138 \text{O}_2 \longrightarrow 106 \text{CO}_2 + 16 \text{HNO}_3 + \text{H}_3\text{PO}_4 + 122 \text{H}_2\text{O}$	$\Delta G_0' = -3190 \text{ KJ/mole of Glucose}$
2.	$(\text{CH}_2\text{O})_{106}(\text{NH}_3)_{16}(\text{H}_3\text{PO}_4) + 236 \text{MnO}_2 + 472 \text{H}^+ \longrightarrow 236 \text{Mn}^{2+} + 106 \text{CO}_2 + 8 \text{N}_2 + \text{H}_3\text{PO}_4 + 366 \text{H}_2\text{O}$	$\Delta G_0' = -3090 \text{ KJ/mole}$
3.	$(\text{CH}_2\text{O})_{106}(\text{NH}_3)_{16}(\text{H}_3\text{PO}_4) + 94.4 \text{HNO}_3 \longrightarrow 106 \text{CO}_2 + 55.2 \text{N}_2 + \text{H}_3\text{PO}_4 + 177.2 \text{H}_2\text{O}$	$\Delta G_0' = -3030 \text{ KJ/mole}$
4.	$(\text{CH}_2\text{O})_{106}(\text{NH}_3)_{16}(\text{H}_3\text{PO}_4) + 212 \text{Fe}_2\text{O}_3 \text{ (or } 424 \text{ FeOOH)} + 848 \text{H}^+ \longrightarrow 424 \text{Fe}^{2+} + 106 \text{CO}_2 + 16 \text{NH}_3 + \text{H}_3\text{PO}_4 + 530 \text{H}_2\text{O (or } 742 \text{H}_2\text{O)}$	$\Delta G_0' = -1410 \text{ KJ/mole (Fe}_2\text{O}_3)$ $\Delta G_0' = -1330 \text{ KJ/mole (FeOOH)}$
5.	$(\text{CH}_2\text{O})_{106}(\text{NH}_3)_{16}(\text{H}_3\text{PO}_4) + 53 \text{SO}_4^{2-} \longrightarrow 106 \text{CO}_2 + 16 \text{NH}_3 + 53 \text{S}^{2-} + \text{H}_3\text{PO}_4 + 106 \text{H}_2\text{O}$	$\Delta G_0' = -380 \text{ KJ/mole}$
6.	$(\text{CH}_2\text{O})_{106}(\text{NH}_3)_{16}(\text{H}_3\text{PO}_4) \longrightarrow 53 \text{CO}_2 + 53 \text{CH}_4 + 16 \text{NH}_3 + \text{H}_3\text{PO}_4$	$\Delta G_0' = -350 \text{ KJ/mole}$

Values of standard free energy were cited from FROELICH *et al.* (1979).

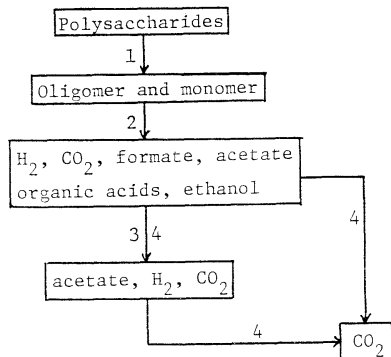


Fig. 1. A simplified illustration of the pathways of carbon flow in anaerobic marine sediments. 1, hydrolysis by fermentative bacteria; 2, fermentation; 3, acetogenesis by proton reducing bacteria; 4, sulfate reduction.

そのため嫌気的環境での有機物の分解無機化は代謝機能の異なる細菌種の分担によって行なわれ、微生物間には代謝産物を介しての食物連鎖が形成されている。これら細菌群の食物連鎖特に有機物分解過程における位置および役割を Fig. 1 に示した。

海底堆積物中での嫌気的分解の大きな特徴は、硫酸還元細菌の果たす役割が大きい事である。メタン発酵細菌は利用する基質が硫酸還元細菌と重なるため、硫酸濃度の高い海底堆積物中では硫酸還元細菌との基質の取り合いに負けて (ABRAM and NEDWELL, 1978; ORELAND and TAYLOR, 1978), それらの果たす役割は小さい (MOUNTFORT *et al.*, 1980)。プロトン還元細菌は水素を消費する細菌群が共存する時のみ生存が可能であるが、海洋環境では働いていないとの報告 (BANAT

and NEDWELL, 1983) があり、海底での酢酸発酵は硫酸還元細菌によって行なわれていると思われる (MOUNTFORT *et al.*, 1980; LAANBROEK and PFENNIG, 1981; WIDDEL and PFENNIG, 1981)。従って、海底堆積物中での分解無機化は発酵細菌と硫酸還元細菌との共生関係によるところが大きいと思われる。実際 JØRGENSEN (1982) や HOWES *et al.* (1984) によって、Limfjord (Denmark) やソルトマーシュの堆積物中での有機物の分解無機化の約 50% が発酵細菌と硫酸還元細菌の働きにより行なわれ、残りが好気性細菌の分解によって行なわれる事が報告されている。堆積物中での分解過程を明らかにするためには、堆積物中での発酵細菌と硫酸還元細菌の挙動が解明されなければならない。

### 3. 硫酸還元細菌の鉛直分布

発酵細菌と硫酸還元細菌とに関する問題を硫酸還元細菌の側から眺めて見たい。

硫酸還元細菌の増殖のための理論的酸化還元電位の上限は、 $-150 \text{ mV} \sim -200 \text{ mV}$  の間の値であるとされている (POSTGATE, 1979)。これは  $\text{SO}_4/\text{H}_2\text{S}$  の標準酸化還元電位が  $-209 \text{ mV}$  (THAUER and BADZIONG, 1980) である事や、硫酸還元過程の中間体 adenosine 5'-phosphosulfate (APS) の合成に重要な働きをなす inorganic-pyrophosphatase が好気条件下で不活化される (WARE



$$\Delta G_0' = +46 \text{ KJ/mol (ROBBINS and LIPMANN, 1958)}$$



$$\Delta G_0' = -21.9 \text{ KJ/mol (THAUER *et al.*, 1977)}$$

and POSTGATE, 1971) ことなどの理由によると思われる。しかしながら BAAS BECKING (1960) が、FeS や硫酸還元活性の分布についての文献をまとめた結果では、実際の分布は Eh +150 mV にまで及んでいるらしい。

海底堆積層を見た場合表層に酸化層が形成される事から、硫酸還元細菌は鉛直分布では表層に少ない事が予想されるが、硫酸還元細菌の生菌数を数えた HINES and BUCK (1982) の河口堆積物についての調査では、表層では 20 cm 層の 100 倍もの生菌数が測定されている。この場合  $\text{SO}_4^{2-}$  濃度は 20 cm 層においても表層と余り変わらないので、 $\text{SO}_4^{2-}$  の影響は余り考えられない。また NEDWELL and ABRAM (1978) のソルトマーシュでの観測結果でも、表層の硫酸還元細菌の生菌数は 20 cm 層の 100 倍にも達している。少なくとも NEDWELL and ABRAM (1978) の観測場所は表層が干潮時に干出する所でもあるので、上層水が還元的である事の影響は考えられない。

硫酸還元細菌が酸化的環境からも計数されることについては、一般にそれらは休眠細胞を計数している為だと説明されている。また同じ現場での硫酸還元活性と硫酸還元細菌の生菌数を比較した場合、菌体あたりの硫酸還元活性は  $10^{-12} \sim 10^{-11} \text{mmol SO}_4^{2-} \text{ day}^{-1}$  となり、培養菌の  $10^{-15} \sim 10^{-14} \text{mmol SO}_4^{2-} \text{ day}^{-1}$  の 1000 倍にもなる事が報告されている (JØRGENSEN, 1978c)。したがって生菌数法では現場の 1/1000 の菌数しか計数出来ていない事になり、分布の問題を考える基礎資料とはなりにくい。生菌数法に代わるものとして硫酸還元活性の turnover rate constant (K) を計測する方法がある。これは  $^{35}\text{SO}_4$  を堆

積物試料に注入して生成する  $\text{H}_2\text{S}$  や  $\text{FeS}$ 、さらには  $\text{FeS}_2$  を測定する方法である。原理的には基質の減少速度が現場の基質濃度に比例する事にもとづいている。一部に turnover rate (KN) を菌数になぞらえる人がいるが、これは正しくない。

$$dN/dt = -KN \quad N \text{ は基質濃度,}$$

K は turnover rate constant

turnover rate は菌数と基質の乗数に比例するのであって、菌数に比例するのは K 値のみである。残念ながら筆者の調べた限りでは K 値の鉛直分布を表示した論文はない。それでも  $\text{SO}_4^{2-}$  濃度の鉛直変化を参考にしながら、turnover rate の鉛直分布を文献データについて調べてみると、硫酸還元細菌は表層あるいは表層から 10 cm 以内の亜表層に分布極大を有する事がわかる (JØRGENSEN, 1977; SØRENSEN, *et al.* 1979; HOWARTH and MERKEL, 1984; HOWES *et al.*, 1984)。

JØRGENSEN (1977) らの論文を評価する時に気をつけなければならないのは、彼らのトレーサー実験は、内径数 cm ~ 10 数 cm のチューブに採取された堆積物試料に直接トレーサーを接種する方法を用いている事である。この方法は、トレーサーと堆積物試料を嫌気条件下で均一に混ぜる方法 (SOROKIN, 1962) よりも高い活性の値を得る事が出来 (JØRGENSEN, 1978a)、より現場の値に近づくと思われるが、表層では上層水との交換が起こり易く、生成した  $\text{H}_2\text{S}$  が化学酸化を起こし、実際の値よりも小さな測定結果と成りやすい。硫化水素は酸素が飽和した海水の中では約 4~5 時間で半分が酸化されてしまう (ALMGREN and HAGSTRÖM, 1974: 200  $\mu\text{M}$ 、

Table 2. Calculation of the apparent production rate of  $\text{CO}_2$  from acetate in continental slope sediments. Values in parentheses are standard deviation ( $1\sigma$ ) (SANSONE and MARTENS, 1981).

Depth interval (cm)	$\text{CO}_2$ from acetate rate constant ( $\text{h}^{-1}$ )*	Whole-sediment acetate concentration ( $\mu\text{mol l}_s^{-1}$ )**	Apparent rate of $\text{CO}_2$ production from acetate ( $\mu\text{mol l}_s^{-1} \text{h}^{-1}$ )***
0-5	0.3102 (0.4878)	60 (10.2)	18.62 (29.4)
8-13	0.0654 (0.0162)	67 (11.4)	4.38 (1.32)
17-22	0.0232 (0.0090)	40 (6.8)	0.928 (0.394)
20-25	0.0148 (0.0078)	33 (5.6)	0.488 (0.270)
28-33	0.0106 (0.0024)	19 (3.23)	0.202 (0.058)
35-40	0.0092 (0.0124)	12 (2.04)	0.110 (0.150)

\* Data from September 11-13, 1979.

\*\* Data from August 19, 1980.

\*\*\* Apparent production rate ( $\mu\text{mol l}_s^{-1} \text{h}^{-1}$ ) = Whole sediment concentration ( $\mu\text{mol l}_s^{-1}$ )  $\times$  Rate constant ( $\text{h}^{-1}$ ). Use of the term 'apparent' is based on the measurements of whole sediment acetate concentrations. Whole sediment concentration should be distinguished from the 'microbiologically available' acetate concentration.

23~24°Cでのデータ)にもかかわらず、トレーサー実験は短い場合で5時間、長い場合で24時間もかけてしまっている。そのせいか SØRESEN *et al.* (1979: 245  $\mu$ M  $O_2$ , 18°C で5時間インキュベート)のデータでは、硫酸の消失が硫酸還元活性に依存しているにもかかわらず、還元活性のピークは硫酸濃度の減少が最も激しい所よりも下層に位置してしまっている。この場合、硫酸還元活性のピークは実際には測定結果よりもより表層に位置している可能性がある。NEDWELL and ABRAM (1978)が用いたシリンジ内で試料とトレーサーを反応させる方法ではこの問題は起きないが、この場合活性のピークは最表層に見られているのである。

$SO_4^{2-}$  の turnover rate constant の鉛直分布を表示したデータは得られていないものの、酢酸についてのデータは得られている。海底堆積物中の嫌気的環境では、酢酸の酸化活性の95%は硫酸還元細菌に依存している (SHAW *et al.*, 1984: 15~20 cm 層の硝酸濃度が無視出来る環境でのデータ)。したがって、酢酸の turnover rate constant の分布は硫酸還元細菌の分布を示す事になる。BALBA and NEDWELL (1982)がソルトマーシュで、また SANSONE and MARTENS (1981)が水深 655 m の海底堆積物について調べた結果 (Table 2)では、いずれも表層で turnover rate constant の極大が得られている。この場合両者とも嫌気的に反応を進めているので、好気性細菌の影響は考えなくてもいいが、表層試料についての硝酸還元細菌の影響は不明である。

以上、硫酸還元細菌の分布について述べて来たが、決定的なデータは得られていないものの、全体から判断して硫酸還元細菌が表層および表層から 10 cm 以内の垂表層に多く分布することは確かなようであり、時には上層水が酸化的であっても堆積物の最表層に最も多く分布する場合もあると言えるだろう。

#### 4. 硫酸還元細菌の分布を支配する環境要因

硫酸還元細菌が海底堆積物中の酸化的層に分布する事については、パッチ状にマイクロ還元環境が酸化層に存在するためだとする説明 (JØRGENSEN, 1977)が一般的である。しかし、この説明は硫酸還元細菌が何故酸化層に分布し得るかを説明しえても、時にはより還元的な環境よりも、多くの硫酸還元細菌が酸化的層に分布することの理由とはなりえない。

硫酸還元細菌の分布を支配する Eh 以外の主な要因としては、 $SO_4^{2-}$  濃度と有機基質濃度がある。 $SO_4^{2-}$  の場合では濃度が垂直的に余り変化しなくても、硫酸還元細菌

は表層に分布極大が見られ、以下深度が増すと共に減少する現象が見られている (HINES and BUCK, 1982)。一方、有機基質では、硫酸還元細菌の主要な基質である有機酸類は概ね表層で最も濃度が高く、深くなるにつれて次第に減少する事が知られている (MILLER *et al.* 1979; SANSONE and MARTENS, 1982; BALBA and NEDWELL, 1982; CHRISTENSEN and BLACKBURN, 1982)。

堆積物中での有機物の鉛直分布を見ると、浅い層では指数関数的に有機物濃度が減少するものの、深層にいくにしたがって変化は見られなくなる。深層で変化が見られないのは、難分解性の有機物が残留しているためだとされている (MATSUNAGA and HANDA, 1983; BILLEN, 1982)。しかしながら、表層で有機酸の濃度が高いのは易分解性の有機物の割合が高いためだとするのは、単純すぎるであろう。このような説明では酢酸濃度の鉛直分布を見た場合、ピークの位置が季節によって変化する事は説明出来ない (SANSONE and MARTENS, 1982)。また深層での有機物の残留を難分解性のためだとするのも不十分である。嫌気的な堆積物中でも難分解性のリグニンの分解は進行しているのである (BENNER *et al.*, 1984)。有機物の分解、発酵、無機化は、発酵細菌と硫酸還元細菌との取り合わせによって微妙に変化するのはなかりうか。

#### 5. 発酵細菌

硫酸還元細菌と基質濃度との関係を見るためには、発酵細菌の働きが考慮されなければならない。

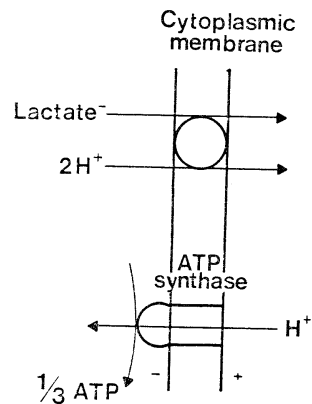


Fig. 2. Coupling of lactate efflux with the generation of an electrochemical proton gradient across the cytoplasmic membrane which could be used to drive the synthesis of ATP (THAUER and MORRIS, 1984).

グルコースのエネルギー代謝をみると、グルコースから乳酸に至る嫌氣的解糖過程では 47 Kcal、乳酸から炭酸ガスに至るまでの好氣的分解（すなわち酸素呼吸による分解）過程では 639 Kcal の自由エネルギーが放出される (LEHNINGER, 1974)。従って発酵細菌はグルコースの持つ化学エネルギーの約 7% しか利用出来ない事になり、その好氣的従属栄養細菌よりも多くの基質を必要とし、大量の代謝産物を細胞外に排出しなければならない。代謝産物の細胞外への排出はプロトンの細胞外への排出を促し、ATP 合成系に必要な膜を通してのプロトン勾配を作るのに有効であるし (Fig. 2) (TEN BRINK and KONINGS, 1980)、細胞外の代謝産物の集積は細菌の増殖を抑制するであろう (CHUNG, 1976; OTTO *et al.*, 1980)。従って、スムーズに排出が行なわれるためには細胞内外での代謝産物の濃度勾配が維持されなければならないが、そのためには細胞外の代謝産物の濃度が低くなければならない。水界の中であれば希釈によって容易に濃度は低下するであろうが、堆積物中ではそうはいかない。堆積物中では代謝産物の分解者の助けを借りなければならない。

## 6. 発酵細菌と硫酸還元細菌との共生関係

硫酸還元細菌は発酵細菌の代謝産物の良き分解者である。食物連鎖から見れば両者は共生関係にあるが、硫酸還元細菌が分泌する  $H_2S$  は発酵細菌の増殖を抑制する可能性がある (LAANBROEK and VELDKAMP, 1982)。両者が共存すれば互いに増殖の促進作用も受けるであろうが、発酵細菌は抑制作用も受ける可能性がある。

筆者はこのような相矛盾する条件を解決するのが、堆積物分の団粒構造内外での物質のやり取りではないかと考えている。団粒内に硫酸還元細菌が分布し、団粒外に発酵細菌が分布すれば問題は解決するのではなかろうか。全体的には Eh が  $-200$  mV 以上であっても、団粒内では低酸化還元電位が保証され、発生した  $H_2S$  は団粒内で  $FeS_2$  として沈着し、あるいは団粒表面で *Beggiatoa* などのイオウ酸化細菌によって酸化され無毒化される。また団粒外からは発酵細菌により生産された有機酸が団粒内に供給されるのではないか。団粒内で有機酸が消費されれば発酵細菌の増殖が促進される。硫酸還元細菌が堆積物中の表層に多く分布する現象は、この団粒の働きによって説明出来る。堆積物深層では圧縮によって団粒外構造が失われてしまう（すなわち非毛管水が失われる）(Fig. 3)。一方、堆積物表層では団粒の割合は深層に比べて少ないものの、団粒外構造が十分に存在する。従っ

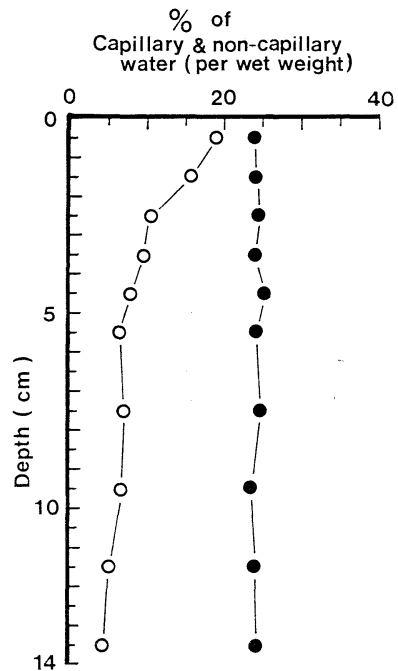


Fig. 3. Vertical profiles of capillary (●) and non-capillary (○) water (SHIBA, unpublished).

て発酵細菌と硫酸還元細菌が互いの増殖を促進しあえるのは、堆積物表層と言えるであろう。

今述べた内容はあくまで仮説である。硫酸還元細菌が酸化層で多い事、さらには堆積物中での有機物分解過程が実証解明されるためには、発酵細菌の分布と活性がまず調べられなければならないし、硫化水素の発酵細菌への影響や、堆積物内の土壌構造についての研究も必要である。硫酸還元細菌の分布と活性については研究方法の再検討も必要であるが、さらにはそれらに影響を及ぼす物理、化学的環境因子を常に同時に調べておく事が必要であろう。

## 文 献

- ABRAM, J.W. and D.B. NEDWELL (1978): Hydrogen as a substrate for methanogenesis and sulphate reduction in anaerobic saltmarsh sediment. *Arch. Microbiol.*, **117**, 93-97.
- ALMGREN, T. and I. HAGSTRÖM (1974): The oxidation rate of sulphide in sea water. *Water Res.*, **8**, 395-400.
- ANSBAEK, J. and T.H. BLACKBURN (1980): A method for the analysis of acetate turnover in a coastal marine sediment. *Microb. Ecol.*, **5**, 253-264.
- BAAS BECKING, L.G.M., I.R. KAPLAN and D. MOORE

- (1960): Limits of the natural environment in terms of pH and oxidation-reduction potentials. *J. Geol.*, **68**, 243-284.
- BALBA, M.T. and D.B. NEDWELL (1982): Microbial metabolism of acetate, propionate and butyrate in anoxic sediment from the Clone Point Salt-marsh, Essex, U.K. *J. Gen. Microbiol.*, **128**, 1415-1422.
- BANAT, I.M. and D.B. NEDWELL (1983): Mechanisms of turnover of C2-C4 fatty acids in high-sulfate and low-sulfate anaerobic sediments. *FEMS Microbiol. Lett.*, **17**, 107-110.
- BENNER, R., A.E. MACCUBBIN and R.E. HODSON (1984): Anaerobic biodegradation of the lignin and polysaccharide components of lignocellulose and synthetic lignin by sediment microflora. *Appl. Environ. Microbiol.*, **47**, 998-1004.
- BERNER, R.A. (1964): An idealized model of dissolved sulfate distribution in recent sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **28**, 1497-1503.
- BILLEN, G. (1982): Modelling the processes of organic matter degradation and nutrients recycling in sedimentary systems. *In* *Sediment Microbiology*, ed. by NEDWELL, D.B. and C.M. BROWN, Academic Press. p. 15-52.
- CHRISTENSEN, D. and T.H. BLACKBURN (1982): Turnover of <sup>14</sup>C-labelled acetate in marine sediments. *Mar. Biol.*, **71**, 113-119.
- CHUNG, K. (1976): Inhibitory effects of H<sub>2</sub> on growth of *Clostridium cellulosum*. *Appl. Environ. Microbiol.*, **31**, 342-348.
- FREOLICH, P.N., G.P. KLINKHAMMER, M.L. BENDER, N.A. LUEDTKE, G.R. HEATH, D. CULLEN, P. DAUPHIN, P. HAMMOND, B. HARTMAN and V. MAYNARD (1979): Early oxidation of organic matter in pelagic sediments of the eastern equatorial Atlantic: suboxic diagenesis. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **43**, 1075-1090.
- HINES, M.E. and J.D. BUCK (1982): Distribution of methanogenic and sulfate-reducing bacteria in near-shore marine sediments. *Appl. Environ. Microbiol.*, **43**, 447-453.
- HOWARTH, R.W. and S. MERKEL (1984): Pyrite formation and the measurement of sulfate reduction in salt marsh sediments. *Limnol. Oceanogr.*, **29**, 598-608.
- HOWES, B.L., J.W.H. DACEY and G.M. KING (1984): Carbon flow through oxygen and sulfate reduction pathways in salt marsh sediments. *Limnol. Oceanogr.*, **29**, 1037-1051.
- JØRGENSEN, B.B. (1977): The sulfur cycle of a coastal marine sediment (Limfjorden, Denmark). *Limnol. Oceanogr.*, **22**, 814-832.
- JØRGENSEN, B.B. (1977): Bacterial sulfate reduction within reduced microniches of oxidized marine sediments. *Mar. Biol.*, **41**, 7-17.
- JØRGENSEN, B.B. (1978a): A comparison of methods for the quantification of bacterial sulfate reduction in coastal marine sediments. I. Measurement with radiotracer techniques. *Geomicrobiol. J.*, **1**, 11-27.
- JØRGENSEN, B.B. (1978b): A comparison of methods for the quantification of bacterial sulfate reduction in coastal marine sediments. II. Calculations from mathematical models. *Geomicrobiol. J.*, **1**, 29-51.
- JØRGENSEN, B.B. (1978c): A comparison of methods for the quantification of bacterial sulfate reduction in coastal marine sediments. III. Estimation from chemical and bacteriological field data. *Geomicrobiol. J.*, **1**, 49-64.
- JØRGENSEN, B.B. (1982): Mineralization of organic matter in the sea bed—the role of sulphate reduction. *Nature*, **296**, 643-645.
- LAANBROEK, H.J. and N. PFENNIG (1981): Oxidation of short-chain fatty acids by sulfate-reducing bacteria in freshwater and in marine sediments. *Arch. Microbiol.*, **128**, 330-335.
- LAANBROEK, H.J. and H. VELDKAMP (1982): Microbial interactions in sediment communities. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.*, **297**, 533-550.
- LEHNINGER, A.L. (1974): *Bioenergetics. The molecular basis of biological energy transformations.* W.A. Benjamin, Inc., USA. 245 pp.
- MATSUNAGA, K. and N. HANDA (1983): Degradation rates of organic matter in the sediment of Mikawa Bay. *J. Oceanogr. Soc. Jap.*, **39**, 101-109.
- MILLER, D., C.M. BROWN, T.H. PEARSON and S.O. STANLY (1979): Some biologically important low molecular weight organic acids in the sediments of Loch Eil. *Mar. Biol.*, **50**, 375-383.
- MOUNTFORT, D.O., R.A. ASHER, E.L. MAYS and J.M. TIEDJE (1980): Carbon and electron flow in mud and sandflat intertidal sediments at Delaware Inlet, Nelson, New Zealand. *Appl. Environ. Microbiol.*, **39**, 686-694.
- NEDWELL, D.B. and J.W. ABRAM (1978): Bacterial sulfate reduction in relation to sulphur geochemistry in two contrasting areas of salt-marsh sediments. *Estuar. Coast. Mar. Sci.*, **6**, 341-351.
- OREMLAND, R.S. and B.F. TAYLOR (1978): Sulfate reduction and methanogenesis in marine sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **42**, 209-214.
- OTTO, R., J. HUGENHOLTZ, W.N. KONINGS and H. VELDKAMP (1980): Increase of molar growth yield of *Streptococcus cremoris* for lactose as a consequence of lactate consumption by *Pseudo-*

- monas stutzeri* in mixed culture. FEMS Microb. Lett. **9**, 85-88.
- POSTGATE, J.R. (1979): The sulphate-reducing bacteria. Cambridge Univ. Press. 151 pp.
- ROBBINS, P.W. and F. LIPMANN (1958): Enzymatic synthesis of adenosine 5-phosphosulphate. J. Biol. Chem., **233**, 686-690.
- SANSONE, F.J., and C.S. MARTENS (1981): Determination of volatile fatty acid turnover rates in organic-rich marine sediments. Mar. Chem., **10**, 233-247.
- SANSONE, F.J. and C.S. MARTENS (1982): Volatile fatty acid cycling in organic-rich marine sediments. Geochim. Cosmochim. Acta, **46**, 1575-1589.
- SHAW, D.G., M.J. ALPERIN, W.S. REEBURGH and D.J. MCINTOSH (1984): Biogeochemistry of acetate in anoxic sediments of Skan Bay, Alaska. Geochim. Cosmochim. Acta, **48**, 1819-1825.
- SØRENSEN, J., B.B. JØRGENSEN and N.P. REVSBECH (1979): A comparison of oxygen, nitrate, and sulfate respiration in coastal marine sediments. Microb. Ecol., **5**, 105-115.
- SOROKIN, Y.I. (1962): Experimental investigation of bacterial sulfate reduction in the Black Sea using <sup>35</sup>S. Microbiology (Engl. Transl.), **31**, 329-335.
- TEN BRINK, B. and W.N. KONINGS (1980): Generation of an electrochemical proton gradient by lactate efflux in membrane vesicles of *Escherichia coli*. Eur. J. Biochem., **111**, 59-66.
- THAUER, R.K., K. JUNGERMANN and K. DECKER (1977): Energy conservation in chemotrophic anaerobic bacteria. Bacteriol. Rev., **41**, 100-180.
- THAUER, R.K. and W. BADZIONG (1980): Respiration with sulfate as electron acceptor. In Diversity of Bacterial Respiratory Systems, ed. C.J. KNOWLES, CRC Press. p. 65-85.
- THAUER, R.K. and J.G. MORRIS (1984): Metabolism of chemotrophic anaerobes: old views and new aspects. In The Microbe 1984, II: Prokaryotes and Eucaryotes, ed. D. P. KELLY and N. G. CARR, Cambridge Univ. Press, p. 121-168.
- WARE, D.A. and J.R. POSTGATE (1971): Physiological and chemical properties of a reductant-activated inorganic pyrophosphatase from *Desulfovibrio desulfuricans*. J. Gen. Microbiol., **67**, 145-160.
- WIDDEL, F. and N. PFENNIG (1982): Studies on dissimilatory sulfate reducing bacteria that decompose fatty acids. II. Incomplete oxidation of propionate by *Desulfobulbus propionicus* gen. nov., sp. nov. Arch. Microbiol., **131**, 360-365.