

細胞長分布と生育環境からみた A型硫黄芝自然個体群における大鎌型細菌の型別について

岩手大学人文社会科学部生物学教室

牧 陽之助

(平成7年8月10日受付, 平成7年10月6日受理)

Typing of the Sausage-shaped Bacteria forming A-type Sulfur-turf according to Cell Length Distributions of Natural Populations and Physico-chemical Conditions of Hot Spring Waters

Yonosuke MAKI

Laboratory of Biology, Faculty of Humanities and Social Sciences, Iwate University

Abstract

In order to type the sausage-shaped bacteria forming A-type sulfur-turf, cell length distributions and physico-chemical conditions of hot spring waters were investigated on twelve samples collected from all over Japan. The frequency distributions of the cell length of eight samples were bimodal, while the other four samples were unimodal. In seven samples with bimodal distributions, two types (large and small) of the sausage-shaped bacteria could be differentiated. The cell length of the large-type was between 10.1 and 31.9 μm , while that of the small-type ranged 2.2 to 6.6 μm . The pH of seven hot spring waters were between 6 and 8, and the two types (large and small) formed together sulfur-turf. In contrast, pH of the three hot springs were over 8, and the two types of the sausage-shaped bacteria could not be detected in the sulfur-turf. Therefore, it is reasonable to set a third type of the sausage-shaped bacteria which prefers high-pH (over 8) and low calcium condition. The cell lengths of the third type were in the range of 5.5 to 8.6 μm , which correspond to the sausage-shaped bacteria of medium size.

1. はじめに

温泉水系は、温度ばかりでなく溶存酸素や溶存物質の点でも一種の極域であるために、そこに生育できる生物種が限られ、特に高温温泉水系では原核性微生物(細菌とシアノバクテリア)だけからなる集合体(微生物被膜)が発達する。このような温泉の特異な環境とそこに生息する微生物は、生命起源の問題やその進化といった限られた分野ばかりでなく、古生物学や地質学、さらには宇宙惑星科学と結びついて、過去の地球史的な記録を現時点で実証できる場として注目を浴びつつある¹⁾。また、生態学的な立場からみると、たとえば、地球上に生命が現れた後、かなりはやい頃からそこに原始的共働(生物間相互作用)が在り、それを保障するなんらかのシステム(原始共生系)が存在したことが推定できるのであるが、温泉水系の微生物被膜は、微生物によるそ

のような「共生」の原初的モデルととらえることができる²⁾。その中でA型硫黄芝は光合成に依存しない原始共生系のモデルとして、重要な位置を占める。筆者らは以上のような観点から温泉環境に注目し、原始共生系の自然条件下における生理生態学的研究を進めている。

A型硫黄芝は、硫黄酸化細菌の集合体で、温泉水に含まれる硫化物を数mol/m²/dayという非常に速い速度で単体イオウに、さらに硫酸に酸化している³⁾。しかしながら主構成細菌である大鎌型細菌(sausage-shaped bacteria)については、1897年に三好⁴⁾によって報告されたが⁴⁾、未だ培養に成功しておらず、分類学的な位置も不明である⁵⁾。これまでに岩手県夏油温泉のA型硫黄芝を光学顕微鏡で観察した結果から、大鎌型細菌には大小の2つの型のあることを報告した⁶⁾。この研究の目的は、これまでに全国各地で採集されたA型硫黄芝について、それを構成する大鎌型細菌の自然個体群における細胞長の頻度分布をもとにして、あらためて大鎌型細菌の型を検討し、さらに生育環境をも指標とし、自然界におけるこの細菌の型を探ろうとするものである。

2. 材料と方法

2-1. 採集地

(1)孫六・(2)蟹場・(3)鶴の湯の3温泉は秋田県仙北郡田沢湖町にあり、乳頭温泉郷を構成している。これらの温泉は、乳頭山山麓から西に向かって流れる先達川に沿い、上流から下流に向かって孫六・蟹場・鶴の湯の順に並んで位置している。孫六温泉では、先達川河川敷に自然湧出する温泉流水中から硫黄芝を採取した。一方、蟹場温泉では、源泉は河川敷から数百メートル離れており、この源泉から浴槽に湯を送るための木樋に硫黄芝が繁茂していた。また、鶴の湯温泉では、いくつかの源泉の中で最も湧出量の多い自然湧出源泉の木樋から採取した。(4)滝の上温泉は、岩手県岩手郡雫石町にある。滝の上温泉を流れる葛根田川の左岸に位置するほぼ直立した岸壁の様々な地点から湯が湧出し、その温泉流水中に硫黄芝が繁茂していた。(5)台温泉は岩手県花巻市台にあり、台川沿いに多くの自然湧出源泉がある。硫黄芝の採取地は、台川支流にあたる湯の沢の河原であった。(6)夏油温泉は岩手県和賀郡和賀町にあり、夏油川に沿って幾つも温泉が湧出している。調査は夏油川支流の枯松沢にある枯松沢噴泉の湯花採取地を中心に、夏油川沿いの自然湧出源泉で行った。(7)中山平温泉は、宮城県玉造郡鳴子町にあり、大谷川に沿って温泉が点在する。硫黄芝は、元蛇の湯の貯湯槽の溢流から採取した。(8)日光湯元温泉は栃木県日光市にある。送湯のための塩化ビニール管の流出口および木製の樋に生育した硫黄芝を採取した。(9)湯俣温泉は長野県大町市にあって、高瀬川が湯俣・水俣の両支流を合わせるところに位置する。湯俣川右岸の自然湧出する温泉流水に繁茂する硫黄芝を採取した。(10)中の湯温泉は長野県南安曇郡安曇村上高地に位置し、梓川の河原に造られた野天風呂の自然湧出源泉から硫黄芝を採取した。(11)湯泉地温泉は奈良県吉野郡十津川村の十津川沿いにある。旅館十津川荘の露天風呂の給湯口に生育する硫黄芝を採取した。(12)天ヶ瀬温泉は大分県日田郡天ヶ瀬町にある。玖珠川河川敷に自然湧出する温泉流水に硫黄芝を認め、これを採取した。

以上の12温泉の硫黄芝採取地の中で、孫六・蟹場・鶴の湯の各温泉と夏油温泉、さらに湯俣温泉については別に詳しく報告した^{6~8)}。

2-2. 環境要因の測定法

水温は、アルコール棒状温度計ないし棒状サーミスタ温度計を、現場の温泉流水に直接浸して測定した。pHは、できるだけ現場で高温用ガラス電極pH計(TOAデジタルpH計 HM-12A)ないしポータブル型スティックpH計(HI-8114 ハンナ)を用いて測定するか、比色法によって測定

した。溶解硫化物は、硫化物イオン(S²⁻)測定用検知管(北沢産業 No.211L)を直接流水に浸すか、または温泉水をビーカーに採取した後に測定した。

2-3. 細胞長の測定法

現場で中性ホルマリンによって固定(2ないし5%)して持ち帰った硫黄芝は、その一部をシャーレにとって鋏で細かく刻んでから、適当量のイオン交換水に懸濁し、これを用いて塗末標本を作成した。次に火炎固定をせずにカルボールフクシンで染色し、これを細胞長測定のための標本とした。

カルボールフクシン染色標本を光学顕微鏡で観察し、湾曲した大鎌型細菌の細胞の長さを計測した。すなわち、天ヶ瀬・台・蟹場・夏油・孫六・中の湯・日光湯元・鶴の湯・中山平・滝の上の10温泉の場合には、写真撮影して焼き付けた像の中心部を弧状にトレースすることによって細胞長を求めた。一方、湯俣温泉と湯泉地温泉の場合には、写真撮影することなく顕微鏡像から直接、画像処理解析装置(Nikon Luzex 3)を使って計測した。

細胞長の分布は左右対称にならず、また分布範囲が非常に広くて右側に偏差の大きい形となった。このことを考慮し、サンプルあるいは群を代表する値として、平均細胞長ではなく中位値(50%分位値)と四分位置(25%分位置と75%分位置)とを使った。細胞長の分布が双峰形を示した8温泉については、便宜的に細胞長の大きい位置に最頻値をもつ細胞群(大型群)と、小さい位置に最頻値を持つ細胞群(小型群)とに分け、それぞれの群の中位値を求めた。

3. 結 果

3-1. 大鎌型細菌の細胞長分布

細胞長の頻度分布が双峰形を示したのは、台・蟹場・夏油・孫六・中の湯・日光湯元・鶴の湯・湯俣の8温泉で採集した硫黄芝であった(Fig. 1A)。これに対して、天ヶ瀬・中山平・滝の上・湯泉地の4温泉の大鎌型細菌は単峰形の細胞長分布を示した(Fig. 1B)。

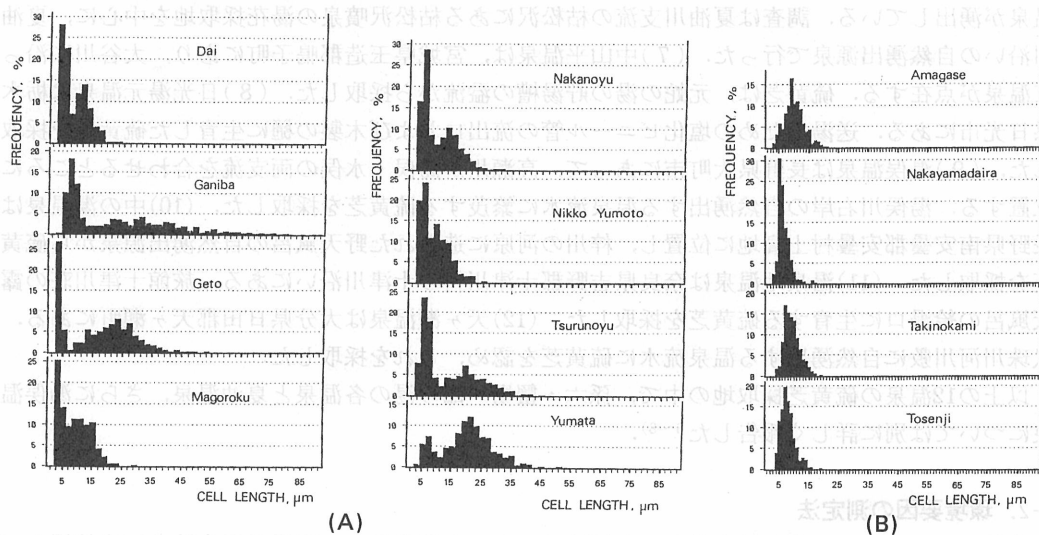


Fig. 1 Frequency distributions of cell length of the sausage-shaped bacteria forming A-type sulfur-turf

In eight sulfur-turfs, cell length frequencies were bimodal (A), while remained four were unimodal (B).

Fig. 2 には、双峰形を示した 8 温泉における大型群と小型群の合計16と、単峰型を示した 4 温泉における頻度分布の中位値と四分位値を、中位値の大きい順に並べて示した。中位値によって細胞長を比較すると、双峰形の大型群と小型群、それに単峰形はほぼ連続的に推移した。

中位値を比較すると蟹場温泉の硫黄芝では30 μm を超え、次いで夏油・湯俣・鶴の湯の順で、その値は20 μm 前後であった。蟹場温泉の大型群では変異が非常に大きく、およそ15 μm ～最大90 μm に達するものが観察された。一方、単峰形を示した天ヶ瀬・滝の上・湯泉地・中山平の中位値は5.5～8.6 μm で、蟹場および湯俣温泉の小型群(5.8と6.6 μm)とほぼ同じ範囲にあった。また、中の湯・鶴の湯・日光湯元・台・孫六・夏油の小型群は単峰形の 4 温泉のものより小さく、細胞長の範囲は2.2～3.8 μm であった。

3-2. 細胞長分布と生育環境

Table 1 には、採集地の水温とpH、および溶存硫化物量を示した。双峰形を示した温泉では、pHの範囲は6～8であったのに対し、単峰形の分布を示した滝の上・湯泉地・中山平の温泉水のpHはいずれも8を大きく超えた。

双峰形を示した硫黄芝の外観は、比較的柔らかで水流の中でゆらゆら揺れるように生育していたのに対して、pHが高く単峰形を示した温泉の硫黄芝は、外見的に硬くボソボソしていた。また、湯俣・天ヶ瀬・滝の上・中山平の 4 温泉では、硫黄芝の着生する流路は黒色であった。

3-3. 細胞長分布と主要溶存成分

Fig. 3 には、10温泉の温泉水の主要溶存成分の構成割合を、菱形および三角座標図で示した^{8,9)}。天ヶ瀬温泉と日光湯元温泉では、硫黄芝の着生現場の温泉水の分析値が得られなかった。単峰形の細胞長分布を示した滝の上・中山平・湯泉地の温泉水は、カルシウムイオンの割合が非常に低く、この点で特徴的であった。一方、蟹場温泉水は、硫酸イオンの割合が極めて高かった。

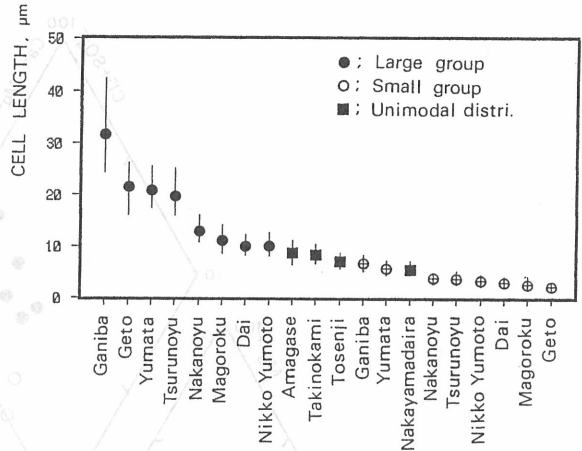


Fig. 2 The order of decreasing in cell length of the sausage-shaped bacteria. The median with interquartile range of cell length distributions decreased gradually from the large group to the small group, and was practically continuous.

Table 1 Temperature, pH, and concentrations of dissolved sulfide of hot spring water

Name of Spa	Temp. (°C)	pH	Dissolved sulfide (S ²⁻ , ppm)
Magoroku	58-63	6.7-6.8	1-3
Ganiba	50-52	7.9-8.0	3-5
Tsurunoyu	57-60	6.3-6.6	24-40
Takinokami	60-72	8.6-8.7	3-7
Dai	68	7.7	5
Geta	54-72	6.0-6.4	1-3
Nakayamadaira	53	8.7-8.9	13
Nikko Yumoto	65-66	6.2	18
Yumata	52-62	6.8	8-55
Nakanoyu	62-72	6.2-7.2	1-6
Tosenji	52	8.6	7
Amagase	57	—	5

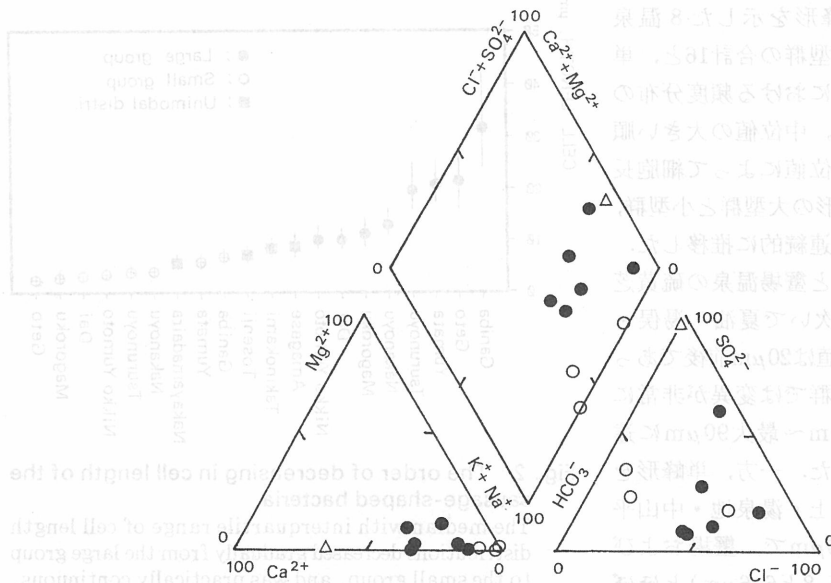


Fig. 3 Chemical compositions of ten hot spring waters

Two triangles and a rhombus represent the percentage of major cation (K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}) and of anion (Cl^- , HCO_3^- , SO_4^{2-}) in terms of meq. High-pH hot springs (over 8; ○) were low in calcium, and the cell length distributed unimodally. In contrast, remained hot springs (●) had moderate pH (from 6 to 8), and the distributions were bimodal. Accordingly, the third type of the sausage-shaped bacteria preferring high-pH and low calcium conditions was established. Ganiba hot spring (△) was characterized by its high content of sulfate ion.

4. 考 察

4-1. 細胞長分布と大鎌型細菌の型

A型硫黄芝は、1) 水温が45~72℃で、2) pHがほぼ中性(6~8)の、3) 硫化水素を含む、4) 浅い流水に、着生する^{3,4)}。ところが、滝の上・湯泉地・中山平における硫黄芝が着生する現場のpHは、いずれも8を大きく超えていた。しかし、その主要構成細菌の光学顕微鏡による形態は、大鎌型細菌(グラム陰性・周生鞭毛・先端が丸く弧状に湾曲した大型細菌)¹¹⁾と一致することから、滝の上・湯泉地・中山平の硫黄芝もA型と判断することができた。

A型硫黄芝の生育現場は水深の浅い流水であって、一種の恒高温連続培養系と捉らえることができる。その場合、温泉水はいわば培養液と考えられるから、その化学成分は細菌の生理・形態・生態に関係する多くの条件を握っているに違いない。したがって、温泉水の化学成分と細胞長の分布との関連は、きわめて興味ある問題である。

双峰形の頻度分布を示した硫黄芝における大型群と小型群の最頻値の細胞長は、産地によってさまざまであった。また、Fig. 2に示したように、単峰形の細胞長分布を示した4温泉の硫黄芝も含めて、大型群から小型群まで細胞長は連続的に並んだ。培養可能な細菌の実験個体群を使った場合、構成細胞の大きさの頻度分布は時間とともに大きく変化し、単峰形ばかりでなく、ある場合には双峰形の細胞長分布を示すことが知られている^{12,13)}。したがって、この場合、細胞長の頻度分布の形だけから直ちに大鎌型細菌の型を区別することは出来ないと考える。

一般に、微生物細胞や動物培養細胞の対数増殖細胞の分裂サイズが、あるばらつきをもちなが

らもほぼ一定に保たれていることはよく知られている¹⁴⁾。その場合、娘細胞の(細胞分裂直後の)平均細胞長は、母細胞の細胞長の1/2よりも大きいことが知られている¹⁵⁾。このことから、大鎌型細菌の大型と小型とを区別するために、次のような基準を置くことが可能と考えられる。すなわち、双峰形の細胞長分布が得られた場合、小型群が大型群の細胞長の1/2よりも大きければ両者は同じ型に属するが、1/2よりも小さい場合には異なった型である。

Fig. 4には各々の産地の硫黄芝について、大型群の四分位値の1/2と小型群の四分位値との差を示した。蟹場・夏油・湯俣・鶴の湯・中の湯・孫六・台における小型群は大型群の1/2よりさらに小さく、一方、日光湯元では、両者は重なった。すなわち、蟹場・夏油・湯俣・鶴の湯・中の湯・孫六・台の7温泉における大鎌型細菌は、大型と小型の2つの型に分けることが合理的と考えられるが、日光湯元では分けることができなかった。また、これらの硫黄芝の細胞長の範囲を中位値で示せば、大型の大鎌型細菌では10.1~31.9 μm 、小型の大鎌型細菌では2.2~6.6 μm であったのに対し、日光湯元の硫黄芝の大鎌型細菌は8.1 μm で、細胞長の点で大型と小型の間であった。

小型の大鎌型細菌の大きさは、1980年に夏油温泉の枯松沢噴泉の試料について区別したもの(2.1~6.0 μm)⁶⁾とほぼ同じ範囲であった。また、蟹場温泉の小型の大鎌型細菌については周生の鞭毛も確認された。一方、小型の大鎌型細菌の中でも蟹場温泉と湯俣温泉のもの(5.8~6.6 μm)は、大きさの点で単峰形を示した天ヶ瀬・中山平・滝の上の各温泉のもの(5.5~8.6 μm)と区別できなかった(Fig. 2B)。これに対し、夏油・孫六・台における大鎌型細菌は3 μm 未満で、非常に小さかった。これらの点から小型の大鎌型細菌にもまだいくつかの変異があることが、細胞長の分布から推測できる。

単峰形を示した天ヶ瀬・中山平・滝の上・湯泉地の大鎌型細菌の細胞長は5.5~8.6 μm で、この点では蟹場・湯俣の小型の大鎌型細菌(5.8~6.6 μm)と区別できなかった(Fig. 2B)。しかし、培養液ともいえる温泉水は、8を超える高いpHを持っていることと、主要溶存成分の中のカルシウムイオンの割合が低いという2点で共通しており、他の9温泉の温泉水と明確に区別できた。したがって、中山平・滝の上・湯泉地の大鎌型細菌は、アルカリ性の低カルシウムイオン環境を好む第3の型と考えられる。天ヶ瀬温泉では現場のpHと温泉水の分析値がえられなかったため、この型に属するかどうか不明である。

蟹場温泉の大型の大鎌型細菌は他の温泉のものにくらべてひとときわ長く、最大のものはおよそ90 μm にも達した。一方、C型硫黄芝は糸状細菌から構成される硫黄芝で^{7), 16)}、その生育環境と糸状細菌の形態は*Thermothrix*と類似している⁵⁾。Kieftらによれば*Thermothrix*は環境条件によって、細胞が鎖状につながった糸状状態から、桿状の単細胞状態に形態を変えるという¹⁷⁾。蟹場温泉の分湯外には糸状のC型硫黄芝の生育が認められており、A型硫黄芝とC型硫黄芝とは生育環境のうえでは溶存酸素分圧に違いがみられる程度である⁷⁾。以上のことは、硫黄芝におけるA型とC型とは、*Thermothrix*にみられたような環境条件による細胞形態の変化である可能性

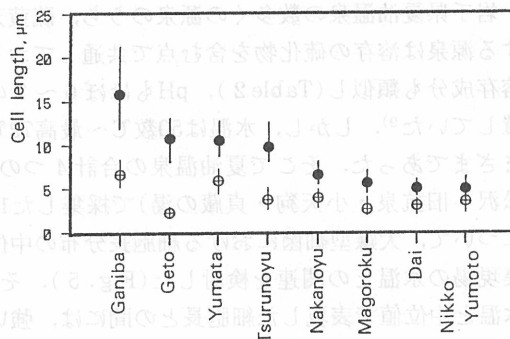


Fig. 4 Differences in cell length between the small group (○) and half of the cell length of the large group (●). Since the median with interquartile range of cell length distributions of the small groups were significantly smaller than the half of that of the large groups in seven, it was concluded that the large and small group were established as two types of the sausage-shaped bacteria.

を示唆している。

一方、蟹場温泉は硫酸イオンの割合が高いことで特徴づけられた。細胞長との関連は不明であるが、上述の環境条件による形態変化に関係しているかもしれない。

4-2. 細胞長分布と水温

岩手県夏油温泉の数多くの源泉のうち、硫黄芝の生育する源泉は溶存の硫化物を含む点で共通しており、主要溶存成分も類似し (Table 2), pH もほぼ 6 ~ 7 の間に位置していた⁹⁾。しかし、水温は 50 度 C ~ 最高 72 度 C までさまざまであった。そこで夏油温泉の合計 4 つの源泉 (枯松沢・旧抗泉・小天狗・貞蔵の湯) で採集した 15 の試料について、大鎌型細菌における細胞長分布の中位値と採集現場の水温との関連を検討した (Fig. 5)。その結果、水温と中位値で表現した細胞長との間には、強い相関が見られた ($r=0.94150$)。

環境要因や細胞の代謝活性と、細菌細胞の大きさや形態の変化との関連の問題は古くから議論されてきたが、大きさ・形態ともに変異の幅が非常に大きく、関係は単純ではない^{12), 18)}。しかし、培養細胞では、一般に細胞の大きさは倍加時間で表される成長速度の関数として表現することができ、成長速度の大きいものほど大きく¹⁹⁾、細胞の代謝活性と密接に関係していることが知られてきた²⁰⁾。これらのことから、自然条件下においても、個体群の構成細胞の大きさが大きいほど、成長速度が速く、代謝活性の高い個体群である可能性があると考えられる。

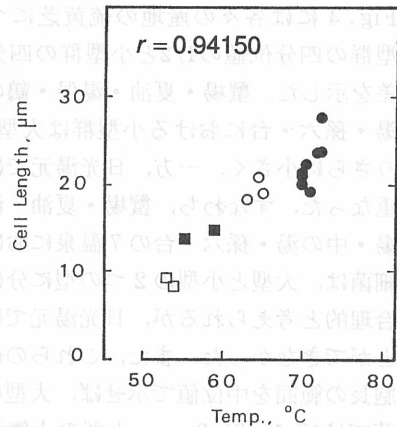


Fig. 5 Relationship between temperatures and the medians of cell length distributions of the sausage-shaped bacteria in the area of Geto Spa.

The cell lengths of the sausage-shaped bacteria growing in four hot springs correlated well with temperatures. The four hot springs (Karematsuzawa, ●: Kyukosen, ○: Teizonoyu, ■: Kotengu, □), located in the area of Geto Spa, had similar both in chemical compositions (Table 2) and in pH conditions, but differed in temperatures.

Table 2 Chemical composition of hot spring waters located in the area of Geto Spa⁹⁾

Hot springs	Karematsuzawa	Kotengu	Kyukosen	Teizonoyu
Total resid. g/l	4.85	4.72	4.85	4.73
Elect. cond. mS/cm, 25°C	7.07	7.03	6.74	6.77
Na ⁺ mg/l	1003	963	931	932
K ⁺ mg/l	152	163	144	146
Ca ²⁺ mg/l	423	459	449	456
Mg ²⁺ mg/l	85.9	72.0	82.3	84.5
Cl ⁻ mg/l	1929	1834	1739	1764
HCO ₃ ⁻ mg/l	614	631	583	581
SO ₄ ²⁻ mg/l	492	556	546	552
F ⁻ mg/l	0.52	0.65	0.99	0.99
HBO ₂ mg/l	143	145	136	133
SiO ₂ mg/l	115	114	98.0	103

5. ま と め

日本各地の温泉から採集したA型硫黄芝について、主たる構成細菌である大鎌型細菌の細胞長分布を、フクシン染色標本を用いて光学顕微鏡で検討し、さらに生育環境のpHと温泉水の溶存成分とを考慮して、大鎌型細菌に3つの型を区別した。すなわち、蟹場・夏油・湯俣・鶴の湯・中の湯・孫六・台の7温泉では、大鎌型細菌の中で大型のものと小型のものが区別できた。大型の大鎌型細菌の細胞長は頻度分布の中位値で10.1~31.9 μm 、小型の大鎌型細菌は2.2~6.6 μm であった。また、生育環境について比較すると、中山平・滝の上・湯泉地の温泉水はpHが8を大きく超え、カルシウム濃度が低かった。さらに、そこに生息している大鎌型細菌の細胞長は5.5~8.6 μm であった。このことから、これらの温泉の大鎌型細菌を中山平・滝の上・湯泉地の温泉においてA型硫黄芝を形成する第三の型として区別した。さらに、夏油温泉における溶存成分のよく似た湧泉に着生する硫黄芝における大鎌型細菌の細胞長と水温との相関関係から、細胞長と温度が密接に関係していることを示し、細胞長の頻度分布は、培養不可能な微生物の型や生理活性などを知る上で有用な情報を含んでいることを指摘した。

謝 辞

本研究のもととなった調査の多くは、岩手医科大学教養部化学教室の中館興一教授とともに行われた。長年にわたる同教授のご支援とご協力に対し、深甚の謝意を表します。また、奈良女子大学の清水 晃助教授、樋口澄男研究員をはじめとする長野県衛生公害研究所の皆様には、奈良・長野の両県での調査と化学分析に関してたいへんお世話になった。記して謝意を表します。

引用文献

- 1) 川上紳一：稿々学(リズムから地球史に迫る)東京大学出版会, pp.245-246, 1995
- 2) 清水 晃, 牧 陽之助, 加藤憲二, 千浦 博, 木村憲司：原始共生系モデルとしての温泉水系の微生物群集 1. 藍細菌類, 光合成細菌類, 化学合成細菌類などをつくる微生物被膜, 日本微生物生態学会第9回大会講演要旨集, p.46, 1993
- 3) Maki, Y.: Rapid biological sulfide oxidation in the effluent of a hot spring, Bull. Jap. J. Soc. Microbial Ecol., **8**, 175-179, 1993
- 4) Miyoshi, M.: Studien über die Schwefelrasenbildung und die Schwefelbakterien der Thermen von Yumoto bei Nikko, Coll. Sc. Imp. Univ. Tokyo, **10**, 143-173, 1897
- 5) Maki, Y.: Study of the sulfur-turf: a community of colorless sulfur bacteria growing in hot spring effluent, Bull. Jap. J. Soc. Microbial Ecol., **6**, 33-43, 1991
- 6) 牧 陽之助：岩手県夏油温泉における硫黄芝とその構成細菌, 岩手医科大学教養部研究年報, **15**, 21-27, 1980
- 7) Maki, Y.: Factors in habitat preference in situ of sulfur-turfs growing in hot springs effluents: dissolved oxygen and current velocities, J. Gen. Appl. Microbiol., **32**, 203-213, 1986
- 8) 樋口澄男, 牧 陽之助, 宮島 勲, 川村 實, 清水重徳：葛温泉および湯俣温泉における硫黄芝の分布と水質, 長野県衛生公害研究所研究報告, **17**, 1-6, 1994
- 9) 中館興一, 松田和弘, 藤田玲子, 桂 生代, 力丸光雄：夏油温泉に生成する石灰華の鉱物組成について, 岩手医科大学教養部研究年報, **15**, 5-20, 1980

- 10) 牧 陽之助, 中館興一, 藤田玲子: A型硫黄芝の生育環境と生育条件の検討, 岩手医科大学教養部研究年報, **18**, 41-48, 1983
- 11) 牧 陽之助: 硫黄芝を構成する大鎌型細菌の形態と生態, 岩手医科大学教養部研究年報, **16**, 47-54, 1981
- 12) Henrici, A.H.: The size of the cells of *Bacillus megaterium*, In "Morphologic variation and the rate of growth of bacteria" pp.59-86. Microbiology Monographs, C.C. Thomas Publisher, London, 1928
- 13) Gaju, N., R. Guerrero, C. Perdos-Alio: Measurement of cell volume of phototrophic bacteria in pure cultures and natural samples: phase contrast, epifluorescence and particle sizing, FEMS Microbiology and Ecology, **62**, 295-302, 1989
- 14) 宮田尚雄: 同調培養法による細胞分裂の解析, 永井進編「酵母研究における方法論」, pp.115-132, 学会出版センター, 1982
- 15) Miyata, H., M. Miyata, M. Ito: The cell cycle in the fission yeast, *Schizosaccharomyces pombe*. I. Relationship between cell size and cycle time, Cell structure and function, **3**, 39-46, 1978
- 16) 江本義数: 日本産温泉植物の研究 V. 硫黄芝に就いて, 日本学術協会報告, **16**, 425-429, 1941
- 17) Kieft, L., C.D. Caldwell: Weathering of calcite, pyrite, and sulfur by *Thermothrix thiopara* in a thermal spring, Geomicrobiol. J., **3**, 201-216, 1984
- 18) Schaechter, M., O. Maaloe, N.O. Kjeidgaard: Dependency on medium and temperature of cellsize and chemical composition during balanced growth of *Salmonella typhimurium*, J. Gen. Microbiol., **19**, 592-606, 1958
- 19) Johnston, G.C., C.W. Ehrhardt, A. Lorincz, B.L.A. Carter: Regulation of cell size in the yeast *Saccharomyces cerevisidae*, J. Bacteriol., **137**, 1-5, 1979
- 20) Woldringh, C.L.: Morphological analysis of nuclear separation and cell division during the life cycle of *Escherichia coli*, J. Bacteriol., **125**, 248-257, 1976