



日本の温泉微生物について ~概要~

杉森賢司¹⁾, 黒沢則夫²⁾³⁾, 長島秀行⁴⁾

(令和 2 年 5 月 4 日受付, 令和 2 年 5 月 27 日受理)

Microbiological Review on Hot Spring Sciences in Japan

Kenji SUGIMORI¹⁾, Norio KUROSAWA²⁾³⁾ and Hideyuki NAGASHIMA⁴⁾

Abstract

This is a review of microbes which live in extreme environments. We focused on natural hot springs with high temperatures and/or acidic environments. Rod shaped bacterium, *Bacillus acidocaldarius* with spores from Kuroyu, Akita Prefecture were cultured at 55°C under acidic conditions. Sulfur-oxidizing bacteria were cultured from Yunohanazawa, Kanagawa Prefecture. These bacteria were associated with the quality of sulfur in the springs' flow. Irregularly formed archaea were cultured at 70°C under acidic condition from a hot spring pool in the Hakone-Oowakudani geothermal area. The strain was a new species, which was then named *Metallosphaera hakonensis*.

Then, bacterial and archaeal community structures in Japanese hot springs were revealed by 16 rRNA clone library analyses. It has been noted that only a small fraction (<1%) of the microorganisms found in nature can be cultured using traditional cultivation methods. Therefore, a culture independent method, 16S clone library analysis is useful method to reveal the bacterial and archaeal communities. For example, Satoh et al analyzed and compared the 16S rRNA gene compositions and environmental factors of four distinct solfataric acidic hot springs in Kirishima, Japan. As a result, species compositions and biodiversity were clearly different between the ponds showing different temperatures and dissolved elemental concentrations.

Moreover, hot spring microalgae such as cyanobacteria, green algae, diatoms and red algae were examined. They live in about 20°C to 80°C, and in acid (pH2-3), neutral (pH6-7), and weak alkaline (pH8-9) conditions. Unicellular red algae *Cyanidium caldarium*, *Galdieria*

¹⁾ 東邦大学医学部生物学研究室 〒143-8540 東京都大田区大森西 5-21-16. ¹⁾ Faculty of Medicine, Toho University, 5-21-16 Omori-nishi, Oota-ku, Tokyo 143-8540, Japan

²⁾ 創価大学理工学部 〒192-8577 東京都八王子市丹木町 1-236. ²⁾ Faculty of Science and Engineering, Soka University, 1-236 Tangi-machi, Hatiouji, Tokyo 192-8577, Japan.

³⁾ 創価大学自然環境研究センター 〒192-8577 東京都八王子市丹木町 1-236. ³⁾ Research Center for Natural Environment, Soka University, 1-236 Tangi-machi, Hatiouji, Tokyo 192-8577, Japan.

⁴⁾ 東京理科大学名誉教授 〒162-8601 東京都新宿区神楽坂 1-3. ⁴⁾ Honorary professor, Tokyo University of Science, 1-3 Kagurazaka, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8601, Japan.

sulphuraria, and diatom *Pinnularia* sp. live in acid hot springs such as Noboribetsu hot springs, Hokkaido and Kusatsu hot springs, Gunma prefecture. Cyanobacteria *Mastigocladus* sp., *Phormidium* sp., and *Oscillatoria* sp. live in neutral and weak alkaline hot springs such as Shima hot springs, Gunma prefecture, Tsurunoyu hot springs, Akita prefecture, and Atagawa hot springs, Shizuoka prefecture. Micro algae capable of photosynthesis form the hot spring ecosystem among bacteria, protozoa and other microorganisms.

Key words : bacteria, archaea, extreme environment, hot spring, 16S rRNA analysis, microalgae

要 旨

これまでの日本の温泉微生物研究の主な結果について概説した。まず、秋田県黒湯温泉、神奈川県箱根湯ノ花沢温泉、箱根大涌谷より試料を採取し、生息するバクテリア（細菌）やアーキア（古細菌）を分離培養し、形態的観察、G+C含量等により、バチルス *Bacillus acidocaldarius*、チオバチルス *Thiobacillus thiooxidans*、新種 *Metallosphaera hakonensis* 等を同定した。また、鹿児島県霧島温泉の噴気地帯より得られた試料より 16S rRNA クローンライブラリー法による群集構造解析をおこない、各試料の温度や溶存元素濃度と微生物群衆の多様性指数との関係を明らかにした。さらに、北海道登別温泉、秋田県玉川温泉、群馬県草津温泉などの酸性温泉から、微細藻類の紅藻イデユコゴメ *Cyanidium caldarium* やガルデイエリア *Galdieria sulphuraria*、珪藻フナガタケイソウ *Pinnularia* sp. など、群馬県四万温泉や秋田県鶴の湯温泉、静岡県熱川温泉などの中性或弱アルカリ性の温泉などからは、藍藻イデユアイミドリ *Mastigocladus* sp., フォルミディウム *Phormidium* sp., ユレモ *Oscillatoria* sp., シネココッカス *Synechococcus* sp. などが分布していることが明らかになった。

キーワード：バクテリア（細菌）、アーキア（古細菌）、極限環境、温泉、16SrRNA 解析、微細藻類

1. 生物界の三ドメイン説

生物界は大きく、細胞の核に核膜がない原核生物界と、核膜を持った真核生物界に分けることができる。リボソーム RNA の塩基配列に基づく系統樹によると、原核生物 Prokaryote は、さらに細菌（真正細菌）Bacteria ドメインと古細菌 Archaea ドメインに分けられ、真核生物 Eukarya ドメインと共に三つのドメインを形成する。この説は三ドメイン説 Three Domain Theory として広く受け入れられている (Woese, *et al.*, 1990) (Fig. 1)。細菌（バクテリア）と古細菌（アーキア）は微生物で単細胞か群体を形成し、高温など特殊環境においても生育可能な種類も存在する。

2. 温泉に生息する細菌（バクテリア）と古細菌（アーキア）

今回、杉森により 40 年近くにわたる温泉微生物の研究の中でも、特に高温環境と強酸性環境に注目し、秋田県・黒湯温泉や、神奈川県箱根湯ノ沢温泉や箱根大涌谷に生息している生命体を培養し、個々の微生物の性状について考察した内容を報告する。われわれの周辺には様々な特殊環境が存在しており、一見生命が生息していないようにみえる環境にも、その環境に適した生命体が生息している。近年では、地底 3,000 m における生物群集 (Gold T, 1992) や強アルカリ性領域での生命体 (産経ニュース：ネット配信) 等の報告もあり、また生命探査は地球外にも目が向けられ、多種多様な生命の無限の可能性が示されている。

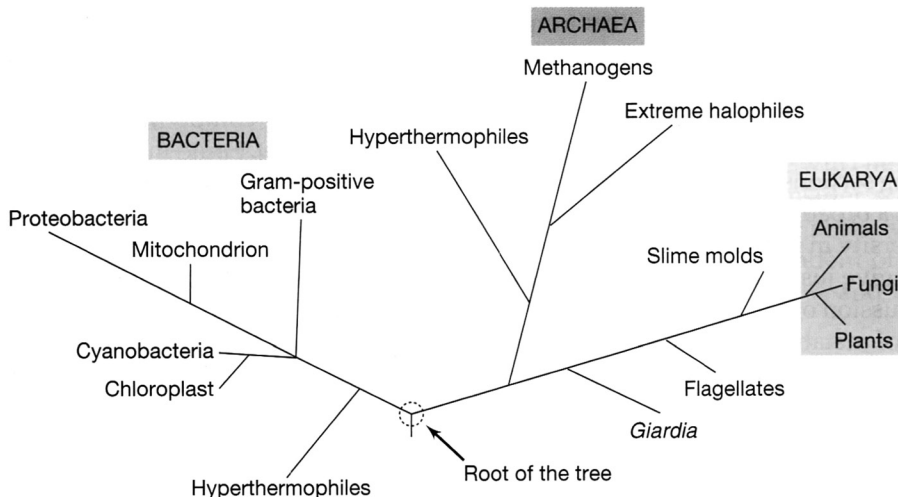


Fig. 1 Phylogenetic tree of life as defined by comparative ribosomal RNA sequencing (Woese, et al., 1990)

図 1 リボソーム RNA の塩基配列に基づく生物界の系統樹

2.1 黒湯温泉に生息する微生物

秋田県黒湯温泉は湯治場として知られている乳頭温泉郷のひとつで、泉質は酸性硫黄泉である。いくつかある自然湧出の源泉の中で、いちばん泉温の高い場所 (66.2°C, pH3.70) を選び試料とした。採取した試料は Bacillus medium No. 573 を用い、55°C にて培養を試みた。分離株は菌体の端に楕円形の芽胞を作るグラム染色性が不定の桿菌 (かんきん、細胞形態が棒状) で、運動性が認められた。また、他性状や標準株との比較および G+C 含量 (DNA 分子中のグアニン塩基とシトシン塩基の割合) より、本菌は *Bacillus acidocaldarius* と同定した (Photo 1)。標準株と非常に類似性が高く、また、全世界の酸性環境に広く生息している本菌は進化学的にも興味がある細菌である (杉森ら, 1988)。

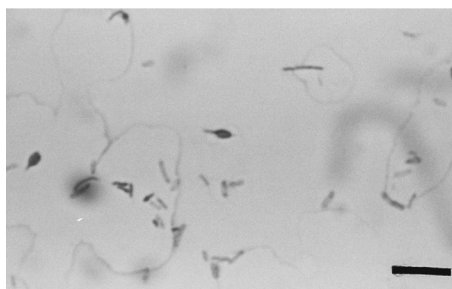


Photo 1 Bacillus like bacteria isolated from Kuroyu Hot Spring (Bar : 5 μm)

2.2 箱根・湯ノ花沢温泉に生息する微生物

神奈川県箱根湯ノ花沢温泉の源泉は、箱根駒ヶ岳の麓に位置し、泉質は酸性硫黄泉である。自然湧出している源泉 (39.7°C, pH2.28) から 10m 以上にわたり自然の流れを形成し、流程には硫黄の沈殿物が見られた。源泉、及びその流程から硫黄酸化細菌の生息が確認されたが、それらは酸性環境にもかかわらず至適 pH が pH6 前後で増殖可能な硫黄細菌 (*Thiobacillus*. sp) であった (杉森ら, 1989a; 高柳ら 1989)。この細菌は硫黄を酸化する時のエネルギーを利用し、炭酸ガスを同化して生息している。一方、硫黄酸化細菌に属している種の中に酸性領域にて生息する菌が存在する。それは酸性の火口湖に生息している *Thiobacillus thiooxidans* (現在では *Acidithiobacillus thiooxidans* とよばれている) であり、細菌を用いた環境浄化システム (バクテリアリーチングのひとつ) に役立っている細菌としても知られている。本菌は湖水中のポリチオン酸 (H₂S_nO₆) を利用

して生活のエネルギーを得ている。草津白根山の湯釜 (20°C, pH1.0~1.8/夏) やロシア・カムチャツカ半島のマリヤ・セミアチーク火山火口湖 (5.0~8.9°C, pH0.99~1.18/夏) にてその生息が確認されており (Photo 2), その数も前者では 10^5 cells/ml, 後者では 10^1 ~ 10^3 cells/ml 認められた。地球上のSの循環における重要な位置を占める生命体である (Sugimori *et al.*, 1995; Takano *et al.*, 1997)。

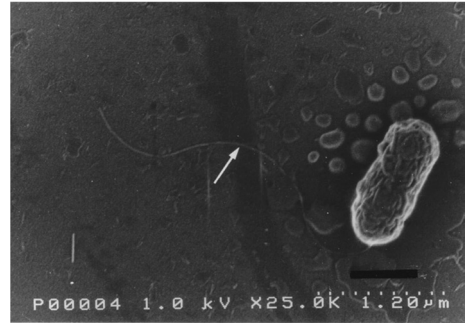


Photo 2 Sulfur oxidizing bacteria isolated from Yugama Crater Lake (Bar ; 0.5 μ m)

2.3 箱根・大涌谷の熱水に生息する微生物

箱根大涌谷は箱根の火山活動によってできた地形で、熱水プールや多くの噴気地帯で構成されている。たまご茶屋の周辺にある 100°C 近い熱水プールでは黒たまご (ゆで卵) が作られ販売されているが、そのゆで卵が作られている灰色の熱水中にも微生物は生息している。泥を含んだ熱水試料は BY-medium を用い 70°C で培養したところ、培地の混濁が認められた。分離培養を試み、その分離株についてみると、グラム染色性が陰性の不定形 (分葉形; ほぼ球状ではあるが、所々凹みが見られる) を呈し、芽胞や運動器官はみられなかった。これは *Metallosphaera* sp. (かつては *Sulfolobus* sp. とよばれていた) という菌で、アーキア (Archaea) 古細菌とよばれている一群の生命体である (杉森 1994; 杉森 2010)。進化的にも生命の起源からしても、これらアーキアとよばれている一群の生命体は、いわゆる狭義の細菌 (真正細菌) とは区別され第三の生物群として定義されている (Fig. 1)。つまり、アーキアは広義の細菌ではあるが、その諸性状が真核生物に近いもので、細胞共生説で示されたとおり、アーキアに他の生命体が寄生、共生することにより現在の真核細胞の元が出来たとされている。箱根大涌谷の熱水から分離された *Metallosphaera* sp. はその諸性状や 16S rRNA についてみたところ標準株との比較により、新種である事がわかり、*Metallosphaera hakonensis* と命名された (Photo 3) (Takayanagi *et al.*, 1997)。同様のアーキアに属する好酸好熱性細菌は日本の他の高温・強酸性の温泉からも多数発見されている (杉森ら 1989b)。

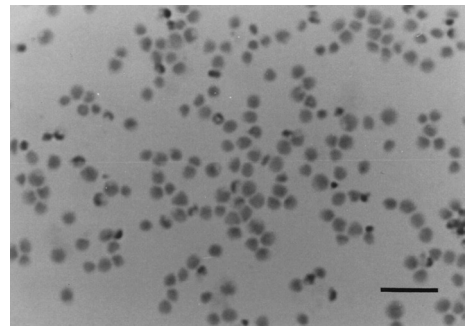


Photo 3 *Metallosphaera hakonensis* isolated from Hakone Oowakudani Hot Spring (Bar ; 5 μ m)

3. 温泉に生息するバクテリアとアーキアの 16S rRNA クローンライブラリー法による群集構造解析

温泉や深海熱水孔のような高温環境は、初期の地球における火山性熱水環境に類似していると考えられる (Pace, 1991; Miller and Lazcano, 1995; Baross, 1998)。実際に、温泉などから分離された好熱性のバクテリアやアーキアは、進化系統樹の“根”に近い部分に位置づけられる (Pace, 1991)。微生物の多様性は、1990 年頃までは培養法により解析されてきたが、この方法では多様性を過小評価してしまうことがわかっている。一方、リボソーム小サブユニットの RNA 遺伝子 (16S rRNA 遺伝子または 18S rRNA 遺伝子) を標的とする分子生物学的な微生物群集構造解析では、培

養困難な微生物を含めて多様性を評価することが出来る。

ここでは、ひとつの例として、16S rRNA クローンライブラリー法により解析された鹿児島県・霧島温泉における細菌とアーキアの群集構造、ならびにそれらの多様性が泉温や泉質とどのように関係しているのかについて調べた佐藤、黒沢らの研究 (Satoh *et al.*, 2013a, 2013b) を紹介する。

3.1 霧島温泉に生息する微生物

霧島温泉の手洗い地区の噴気地帯に分布する大小の自噴泉のうち、泉温と溶存元素濃度が異なる4つの湯溜まりから温泉水が採取され、細菌とアーキアの群集構造が調べられた。いずれの場合も、解析クローン数は90を超えており、Coverageの値から判断される解析の網羅度も0.8を超えていることから、群集構造が詳細に解析されたと判断される (Table 1, Table 2)。Shannon index (種多様性指数) から評価した細菌の種多様性は、泉温と溶存元素濃度がともに相対的に低い温泉において最も高かった (Table 1)。この温泉では、*Acinetobacter* 属細菌と未培養の δ -Proteobacteria に属する細菌が最も優占していた。反対に、泉温と溶存元素濃度がともに相対的に高い温泉において、種多様性がもっとも低かった (Table 1)。こちらの温泉においても、*Acinetobacter* 属細菌が最も優占していたが、低温・低溶存元素濃度の温泉で優占していた *Acinetobacter* 属細菌とは別種であると推定された。アーキアについてみると、相対的に泉温が低く溶存元素濃度が高い温泉において、最も種多様性が高かった (Table 2)。この温泉においては、Sulfolobales 目に属する複数の種が圧倒的に優占していた。泉温と溶存元素濃度がともに高い温泉においても、Sulfolobales 目が優占していたが、その多様性は相対的に低かった (Table 2)。一方、相対的に高温で溶存元素濃度が低い温泉において検出されたアーキアの99%は、属も不明な未培養の種に由来すると推定された。

Table 1 Diversity index scores for bacterial clone libraries at Kirishima hot springs.

表 1 霧島温泉における細菌の種多様性評価

試料	Shannon index (種多様性指数)	Coverage (網羅度)	解析クローン数
Pond-A (93°C, pH 2.6)	1.38	0.85	95
Pond-B (66°C, pH 2.0)	1.25	0.88	94
Pond-C (88°C, pH 2.4)	1.48	0.90	92
Pond-D (67°C, pH 2.3)	2.04	0.86	91
Temp. approx. 90°C (Pond-A + Pond-C)	1.66	0.89	187
Temp. approx. 70°C (Pond-B + Pond-D)	2.23	0.89	185
El. conc. > 1600 ppm (PondA + Pond-B)	2.00	0.87	189
El. conc. < 350 ppm (Pond-C + Pond-D)	2.33	0.91	183

Table 2 Diversity index scores for archaeal clone libraries at Kirishima hot springs.

表 2 霧島温泉におけるアーキアの種多様性評価

試料	Shannon index (種多様性指数)	Coverage (網羅度)	解析クローン数
Pond-A (93°C, pH 2.6)	0.53	0.95	106
Pond-B (66°C, pH 2.0)	2.06	0.88	112
Pond-C (88°C, pH 2.4)	1.23	0.94	109
Pond-D (67°C, pH 2.3)	1.45	0.91	104
Temp. approx. 90°C (Pond-A + Pond-C)	1.58	0.95	215
Temp. approx. 70°C (Pond-B + Pond-D)	2.20	0.91	216
El. conc. > 1600 ppm (PondA + Pond-B)	1.99	0.92	218
El. conc. < 350 ppm (Pond-C + Pond-D)	1.61	0.95	213

3.2 今後の展望

以上の研究の他、西山らは、鹿児島県指宿温泉の海岸温泉（泉温 56～83°C）におけるバクテリアとアーキアの群集構造を、古典的な培養法と分子生物学的手法の両方を用いて解析している (Nishiyama *et al.*, 2014). この研究においても、特に分子生物学的手法による解析では未培養の種が多数検出されている。

70°Cを超えるような温泉は通常の生物にとって非常に過酷な環境であり、特に次の微細藻類の解説でも述べるように、そのような温度では真核生物は生育できない。一方、バクテリアやアーキアは、80°Cを超える環境にも多様な種が生育していることがわかってきた。そしてそれらの多くが未培養微生物であり、分類学的にも応用微生物学的にも興味深い研究対象となっている。そして日本にはまだまだ多くの“微生物が調べられていない温泉”が存在し、われわれの調査対象地も当面尽きないと思われる。

4. 温泉に生息する微細藻類

4.1 温泉微生物の種類

温泉微生物としてはバクテリアやアーキアの他に微細藻類 Microalgae が存在する (Fig. 2, 長島, 2008). 微細藻類は、水中で光合成を行い、二酸化炭素を吸収し酸素を発生する。温泉産藻類はシアノバクテリア Cyanobacteria (藍藻) などの原核藻類と、緑藻、珪藻、紅藻などの真核藻類に分けられる。

シアノバクテリアは細菌ドメインに属するが、光合成を行うので藻類 Algae の一種として、藍藻 Cyanophyta とよばれている。イデユアイミドリ *Mastigocladus* sp., フォルミジウム *Phormidium* sp., ユレモ *Oscillatoria* sp. などが温泉に分布している (長島, 2008). 真核藻類の紅藻類 Rhodophyta では、好酸性のイデユコゴメ *Cyanidium caldarium*, ガルディエリア *Galdieria sulphuraria*, シゾン *Cyanidioschyzon* など、珪藻類 Diatom ではハネケイソウ *Pinnularia* sp. などが温泉に分布している (Fig. 2).

4.2 温泉微生物の高温限界

水温は約 20℃ の常温から 80℃ 近くの高温まで生育しているが, シアノバクテリアなどの原核藻類は約 75℃ 近くまで, 紅藻, 珪藻類などの真核藻類は約 60℃ までが生育限界である (Madigan ら, 2003, 長島, 2010) (Table 3).

4.3 温泉微生物の温度と pH 分布

温度と微細藻類の関係に加えて, 水素イオン指数 (濃度) では, 酸性 (pH2-3) から中性 (pH6-7), 弱アルカリ性 (pH8-9) まで広く分布している (長島, 2006 より改変) (Fig. 3).

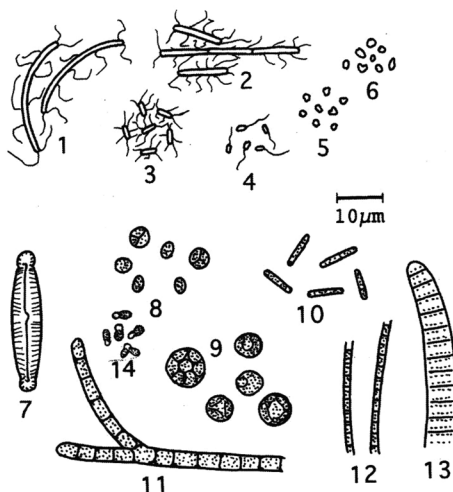


Fig. 2 Some microorganisms living in hot springs (Nagashima, 2008)

図 2 温泉に生息する微生物の種類

1-4 : Bacteria, 5-6 : Archaea, 7-14 : Microalgae. 1. *Thiovibrio*, 2. *Thermus*, 3. *Bacillus*, 4. *Acidithiobacillus*, 5. *Sulfolobus*, 6. *Thermoplasma*, 7. *Pinnularia*, 8. *Cyanidium*, 9. *Galdieria*, 10. *Synechococcus*, 11. *Mastigocladus*, 12. *Phormidium*, 13. *Oscillatoria*, 14. *Cyanidioschyzon*.

Table 3 Upper temperature limits for growth of living organisms

表 3 生物の生存に対する高温限界

種類 Group	高温限界 Upper temperature limits (°C)
真核微生物 Eukaryote	
原生動物 Protozoa	56
真核藻類 (緑藻, 珪藻, 紅藻) Algae	60
菌類 (真菌類) Fungi	62
原核微生物 Prokaryote	
真正細菌 (細菌, Bacteria)	
藍藻 (Cyanobacteria)	74
光合成細菌*Phototrophic bacteria	73
化学合成細菌**Chemotrophic bacteria	95
古細菌 (Archaea)	
好熱性細菌 Thermophilic bacteria	122

* Bacteria that synthesize organic matter with light energy but do not produce oxygen

**Bacteria that synthesize organic matter with the oxidation energy of inorganic matter

(Madigan et al., 2003, Nagashima, 2010)

Distribution of Microorganisms in Hot springs

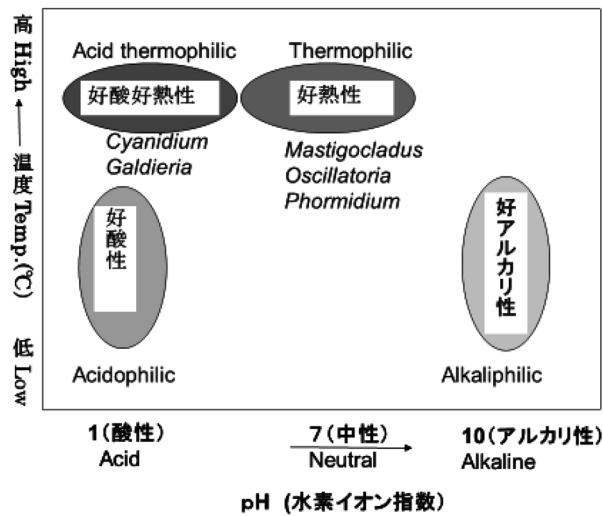


Fig. 3 Distribution of microorganisms in hot springs (Nagashima, 2006)

図 3 温泉の温度・pH と微生物の分布

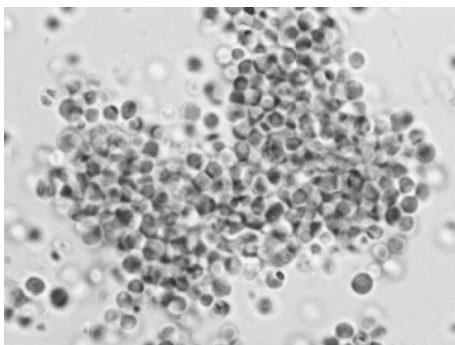


Photo 4 Micrograph of a red alga *Cyanidium caldarium*
Cell size, 3-5 μm . Isolated from Kusatsu hot springs, Gunma prefecture. (Nagashima, 2008)



Photo 5 Micrograph of Cyanobacteria, *Mastigocladus* sp.
Cell size, 5-7 μm . From Mine hot springs, Shizuoka prefecture. (Nagashima, 2012)

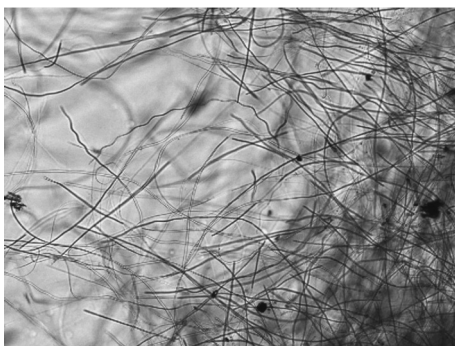


Photo 6 Micrograph of cyanobacteria, *Oscillatoria* sp.
Cell width, 2-4 μm . From Atagawa hot springs, Shizuoka prefecture. (Nagashima, 2012)

温泉地における微細藻類の分布例を示すと、北海道登別温泉、秋田県玉川温泉、群馬県草津温泉などの酸性温泉には単細胞紅藻イデコゴメ *Cyanidium caldarium* (Photo 4) やガルディエリア *Galdieria sulphuraria*, 珪藻フナガタケイソウ *Pinnularia* sp. など (長島, 2008), 群馬県四万温泉や秋田県鶴の湯温泉、静岡県峰温泉や熱川温泉などの中性や弱アルカリ性の温泉には、藍藻イデコアイミドリ *Mastigocladus* sp., フォルミディウム *Phormidium* sp., ユレモ *Oscillatoria* sp., シネココッカス *Synechococcus* sp. (Photo 5, 6) などが分布している (長島, 2012).

このような温泉産藻類は、単独に生息しているのではなく、多くはバクテリアや原生動物と共に自然界の温泉 (源泉) の生態系 Ecosystem を形成している。

引用文献

- Baross, J.A. (1998) : Do the geological and geochemical records of the early earth support the prediction from global phylogenetic models of a thermophilic ancestor. *Thermophiles : the keys to Molecular Evolution and the Origin of Life*, 3-18.
- Gold, T. (1992) : The deep, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89** (13), 6045-6049.
- Miller, S.L. and Lazcano, A. (1995) : The origin of life—did it occur at high temperatures? *J. Mol. Evol.*, **41**, 689-692.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., Parker, J. (2003) : *Brock Biology of Microorganisms*, 157, Prentice Hall, New Jersey.
- 長島秀行 (1995) : 群馬県草津温泉の微細藻類, *温泉科学*, **45**, 26-30.
- 長島秀行 (2006) : 温泉と微生物—温泉微生物の特徴 (2), *温泉*, **74** (2), 20-22.
- 長島秀行 (2008) : 草津温泉の微生物, *草津温泉—温泉を科学する* (白倉卓夫編著), 67-87., 上毛新聞社.
- 長島秀行 (2010) : 温泉微生物と社会, *温泉科学*, **60**, 278-286.
- 長島秀行 (2012) : 温泉に生きる生物, *科学フォーラム* 12月号, 26-31, 東京理科大学出版会.
- Nishiyama, M., Yamamoto, S. and Kurosawa, N. (2014) : Microbial Community Analysis of a Coastal Hot Spring in Kagoshima, Japan, Using Molecular- and Culture-based Approaches. *J. Microbiol.* **51**, 413-422.
- Pace, N.R. (1991) : Origin of life-facing up to the physical setting. *Cell*, **65**, 531-533.
- 産経ニュース : “死の水” にすむ謎の微生物. 生きる仕組みは全く不明. 日本の研究者が発見, <https://www.sankei.com/premium/news/171021/prm1710210010-n1.html>
- Satoh, T., Watanabe, K., Yamamoto, H., Yamamoto, S. and Kurosawa, N. (2013a) : Archaeal Community Structures in the Solfataric Acidic Hot Springs with Different Temperatures and Elemental Compositions. *Archaea*, 2013-723871, 1-11.
- Satoh, T., Watanabe, K., Yamamoto, H., Yamamoto, S., Kurosawa, N. (2013b) : Bacterial Community Structures in the Solfataric-Acidic Ponds in the Kirishima Geothermal Area, Kagoshima Prefecture. *J. Hot Spring Sci.* **63**, 100-117.
- 佐藤智子 (2015) : 鹿児島県霧島地域の高温・強酸性温泉における原核生物群集の生物多様性評価, *温泉科学*, **65**, 142-151.
- 杉森賢司ら (1988) : 特殊環境に生息する微生物 (1) 秋田・黒湯温泉に生息する好酸好熱性菌について, *東邦医学*, **34** (6), 508-515.
- 杉森賢司ら (1989a) : 箱根湯の花沢温泉 (含硫黄酸性泉) に生息する硫黄細菌の性状, *東邦大教養紀要*, **20**, 39-48.

- 杉森賢司ら (1989b) : 八幡平周辺の温泉に生息する好酸好熱性細菌, 温泉科学, **39** (4), 140-149.
- 杉森賢司 (1994) : 温泉の生物学 —特殊環境に生息する藻類と細菌類—, 温泉科学, **44** (4), 159-182.
- 杉森賢司 (2010) : 温泉・熱水・噴気, 温泉科学, **60** (2), 177-194.
- Sugimori K. *et al.* (1995) : Activity of sulfur-oxidizing bacteria in the acidic crater lake, Proceedings of the 8th International Symposium on Water-Rock Interaction, Russia, p 327-329, A.A. Balkema
- 高柳進之輔ら (1989) : 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, 温泉科学, **39** (4), 129-139.
- Takayanagi S. *et al.* (1997) : *Sulfolobus hakonensis* sp. nov., a novel species of acidothermophilic archaeon, Int. J. Syst. Bacteriol., **46** (2), 377-382.
- Takano B. *et al.* (1997) : Influence of sulfur-oxidizing bacteria on the budget of sulfate in Yugama Crater Lake, Kusatsu-Shirane volcano, Jap. Biogeochem., **38**, 227-253.
- Woese, C.R., Kandler, O. and Wheelis, M.L. (1990) : Towards a natural system of organisms : Proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eukarya. Pro. Natl. Acad. Sci. USA, **87**, 4576-4579.