

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月26日現在

機関番号：23401

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21580232

研究課題名（和文）有機汚濁水域における硫化水素の生成と消滅に関わる分子微生物生態学的研究

研究課題名（英文）Molecular microbial ecology of hydrogen sulfide production and degradation in organic-polluted aquatic environments

研究代表者

近藤 竜二（KONDO RYUJI）

公立大学法人福井県立大学・海洋生物資源学部・准教授

研究者番号：30244528

研究成果の概要（和文）：光合成硫黄細菌を網羅的に検出できる PCR プライマーの開発を行い、これを用いて底層に硫化水素が多量に蓄積している水月湖の水柱と東京湾の底泥を対象に、硫黄細菌の現存量と群集組成を分子生物学的に解析した。その結果、水月湖水柱では緑色硫黄細菌が、東京湾底泥では γ -プロテオバクテリアが主要な硫黄細菌であることが分かった。このように、硫黄細菌の群集組成は生息場所によって異なることが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：We developed new PCR primers for the rapid and sensitive detection and enumeration of *dsrA* in phototrophic purple and green sulfur bacteria simultaneously. The primers were applied to water and sediment samples from the Japanese meromictic Lake Suigetsu and the eutrophic Tokyo Bay, respectively. Phylogenetic analysis of the sequences of PCR products from lake water showed most clones were affiliated with brown-colored green sulfur bacteria within the Chlorobi, while γ -proteobacterial species from sediments. Sequences of cloned PCR products show a differential distribution of sulfur bacterial groups in different environments.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,900,000	1,170,000	5,070,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：水産学・水産学一般

キーワード：微生物・環境微生物

1. 研究開始当初の背景

有機汚濁の進行した水域の底泥あるいは底層水中では、硫酸還元細菌によって生成された硫化水素が蓄積し、直接的には底泥中や底層中のベントス・魚介類に対して毒性を示す。また、水中の溶存酸素の消費による貧酸素水塊の生成、還元状態の発達、赤潮や青潮の発生要因など間接的にも魚介類の生産に悪影響をおよぼす。沿岸海域、河口水域なら

びに養殖漁場などの有機物汚濁や漁場老化の進行程度とその過程を知るためには、硫化水素の動態に関与する硫酸還元細菌と硫酸酸化細菌の生態を詳細に調べる必要がある。

硫酸還元細菌の生態については、これまでに多くの研究が進み、汚濁水域における硫化水素生成の原因微生物としての役割だけではなく、嫌気環境下における有機物の最終分解者としての重要な機能を持っていること

も明らかにされてきた。さらに硫酸還元細菌の細胞数が底泥の有機汚濁と密接に関係することも明らかとなってきた。これらのことは、現場における活性測定に加えて、申請者が開発した機能遺伝子を標的とした遺伝子マーカーを用いた分子生物学的手法による新しい検出・計数法の開発によるところが大きい。

一方、硫黄酸化細菌については、生成された硫化水素を酸化するといった生態学的に重要な役割を担っていることが指摘されているにもかかわらず、その詳細な生態は不明な点が多い。これまでに、養殖漁場と非養殖漁場底泥中のクローン解析によって、硫酸還元細菌とともに硫黄酸化細菌が底泥の有機汚濁にレスポンスすることが示されており、有機汚濁に関与することが示唆される。このようなことから、硫黄酸化細菌も含めた水圏の硫黄循環過程を微生物学的に解明する必要がある。

硫黄酸化細菌の生態解明には、現場における細菌数や活性を正確に見積もる必要がある。しかし、従来の計数方法では培養を伴うとともに、特定の菌種しか計数できない限られた培地を用いることから、これまでの培養法で得られた計数値は過小評価されており現場における活性を必ずしも反映していないと考えられる。このため、遺伝子解析など分子生物学的手法を導入した簡便で迅速な細菌数と活性評価方法の開発が望まれている。

現在、数種の硫黄酸化細菌のゲノム配列が明らかにされている。硫黄酸化にかかわる遺伝子が同定され、系統的にかけ離れた菌種間でも共通して存在する遺伝子が明らかにされていることから、硫黄代謝にかかわる遺伝子を標的としたプローブの開発が可能であると考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、上記の背景のもと有機汚濁水域における硫化水素の酸化にかかわる硫黄酸化細菌の生態解明に資するため、硫黄酸化活性を反映する機能遺伝子の検索を行うとともに、その遺伝子プローブを作成し、分子生物学的手法による本細菌群の現場での分布や活性など生態学的な調査方法の確立を目的とする。さらに、本手法を、有機汚濁の進行する内湾の底泥および硫化水素の蓄積する汽水湖の水柱をモデル水域として現場に応用し、有機汚濁水域における本細菌群の動態と硫酸還元細菌および環境要因との関係から、硫化水素の生成および消滅のメカニズムを微生物学的に解明する。

3. 研究の方法

(1) 光合成硫黄細菌の特異的検出法の開発

① 細菌株

Deutsch Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ)からの光合成硫黄細菌株を入手し、各細菌株からFastDNA Spin Kitを用いてDNAを抽出した。また、以前の研究で用いた光合成硫黄細菌以外の細菌株から抽出したDNAをPCRの陰性対象として用いた。

② プライマーの設計

DNA データベースから入手した亜硫酸還元酵素遺伝子 (*dsrAB*) の塩基配列と本研究で新たに決定した塩基配列の多重アライメントを行い、光合成硫黄細菌に特異的な領域を検索し、*dsrA* 領域に2つのPCRプライマーを作成した。

FASTA プログラムを用いて既存の塩基配列と比較することによって、作成したPCRプライマーの特異性を調べた。さらに、光合成硫黄細菌ならびに非光合成硫黄細菌から抽出したDNAを用いてPCRを行い、PCR産物の有無によってPCRプライマーの特異性を検証した。

③ 定量PCRによる光合成硫黄細菌の計数

作成したPCRプライマーを用いてSYBR Green アッセイ法によるreal-time PCR法によって*dsrA* 遺伝子の定量を試みた。

(2) 水月湖の調査

水月湖心 (図1) において、2ヶ月に一回、各水深から水試料を採水した。フィルター上に捕集した細菌群集からゲノムDNAを抽出し、*dsrA* を標的としたPCRのクローン解析とreal-time PCR法によって光合成硫黄細菌の定量を行った。



図1. 水月湖の地図。●は調査定点を示す。

(3) 東京湾の調査

JAMSTEC/東京大学大気海洋研究所の淡青丸のKT-09-11研究航海で、東京湾の3定点(図2)から底泥を採取した。底泥からFastDNA Spin Kit for Soilを用いてDNAを抽出し、*dsrA* を標的としたPCRのクローン解析を行った。

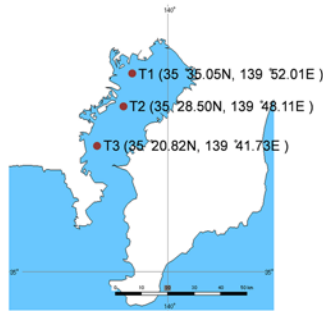


図 2. 東京湾の地図。丸は採泥地点を示す。

4. 研究成果

(1) PCR プライマーの作成と評価

光合成硫黄細菌ならびに硫酸還元細菌の *dsrAB* の塩基配列の多重アライメントを行い、光合成硫黄細菌に特異的な配列を検索したところ、*dsrA* 領域に光合成硫黄細菌に特異的な 2ヶ所の配列が見つかった (表 1)。この配列の特異性を、FASTA プログラムを用いて調べたところ、*Thiothrix nivea* を除いて、少なくとも 1塩基以上の配列が異なっていた (表 1)。この結果から、この 2ヶ所の配列を、光合成硫黄細菌を検出できる PCR プライマーとして用いた。

PCR プライマーの特異性について、細菌株から抽出した DNA を用いて調べたところ、2種類の硫酸還元細菌に非特異的な PCR 産物が検出された (図 3)。この 2種の硫酸還元細菌は、これまでの水月湖や海洋底泥のクローン解析で検出されなかった種である。

最終的に PCR プライマーが環境試料に適用可能かどうかを調べるために、密度成層湖である水月湖の酸化還元境界層および嫌気層の水から細菌細胞を集めて DNA を抽出し、PCR 産物のクローン解析を行った。全 79 クローンを解析した結果、全てのクローンは紅色硫黄細菌あるいは緑色硫黄細菌に近縁で

表 1 PCR プライマー領域の *dsr* 遺伝子のアライメント。

Microorganism	Strain no	Primer AF	Primer AB
Primer		5'-CAYGCGACGCGGATATATG-3'	5'-FCACTGCATCAGCGACCA-3'
Target		5'-CAYGCGACGCGGATATATG-3'	3'-FCACTGCATGTTGGCTGTGT-5'
Purple sulfur bacteria			
<i>Halobacterium salinarum</i>	DSM1180 ^T
<i>Halochromatium salexigenis</i>	DSM4395 ^T
<i>Halorhodospira halophila</i>	DSM244 ^T
<i>Mariprofundus flavescens</i>	DSM203 ^T
<i>Thiorhodococcus drevsii</i>	DSM1506 ^T
<i>Thiobacillus thiooxidans</i>	DSM4358 ^T
<i>Thiocapsa marina</i>	DSM5653 ^T
<i>Thiocystis gelatinosa</i>	DSM215 ^T
Green sulfur bacteria			
<i>Chlorobium phaeoacetabulum</i>	DSM206
<i>Chlorobium tepidum</i>	DSM12025 ^T
<i>Chlorobium limicola</i>	DSM257 ^T
<i>Chlorobium limicola</i>	DSM215 ^T
<i>Prosthecochloris aestuarii</i>	DSM271
<i>Chlorobium phaeovibrioides</i>	DSM261
Colorless sulfur bacteria			
<i>Thiobacillus denitrificans</i>	DSM12475 ^T
<i>Thiothrix nivea</i>	DSM208 ^T
Sulfate-reducing prokaryote			
<i>Archaeoglobus fulgidus</i>	DSM4304 ^TTC...T...A...CTC...TC...C
<i>Thermodesulfobacterium commune</i>	DSM2178 ^TTC...T...A...CTC...TC...C
<i>Thermodesulfobacterium islandicum</i>	DSM12570 ^TTCT...A...G...CT...T...C...T...C
<i>Desulfosulfolobus propionicus</i>	DSM2032 ^TTCC...T...G...CT...T...C...C...A...C
<i>Desulfosulfolobus alihologensis</i>	DSM9161 ^TAGGT...T...A...GC...CT...T...C...C...A...C
<i>Desulfococcus multivorans</i>	DSM2099 ^TTCC...T...A...CT...T...C...C...A...C
<i>Desulfotomaculum acetivorans</i>	DSM714 ^TTCC...T...A...CT...T...C...C...A...C
<i>Desulfosporosinus orientis</i>	DSM1565 ^TATCA...A...A...TT...T...C...C...A...C
<i>Desulfosarcina variabilis</i>	DSM2060 ^TTCC...T...A...CT...T...C...C...A...C
<i>Desulfosarcina africana</i>	DSM2603 ^TTCC...T...A...CT...T...C...C...A...C
<i>Desulfosarcina desulfurans</i>	DSM8425 ^TTTC...T...A...CT...T...C...C...A...C
<i>Desulfobacter postgatei</i>	DSM2034 ^TTCC...T...A...CT...T...C...C...A...C
<i>Desulfotomaculum ruminans</i>	DSM2154 ^TGCC...G...G...CT...T...C...C...A...C

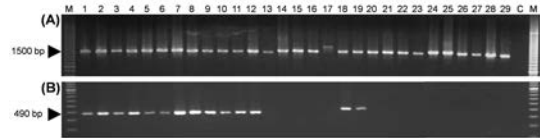


図 3. 各種細菌の 16S rDNA (A) と光合成硫黄細菌特異的プライマーを用いた *dsrA* 遺伝子 (B) の PCR 増幅。レーン番号は以下の通り: M, EZ Load™ 100 bp PCR Molecular Ruler; 1, *Allochromatium vinosum* DSM 180^T; 2, *Halochromatium salexigenis* DSM 4395^T; 3, *Halorhodospira halophila* DSM 244^T; 4, *Thiobacillus trueperi* DSM 13587^T; 5, *Thiocapsa marina* DSM 5653^T; 6, *Thiococcus pfennigii* DSM 226; 7, *Thiorhodococcus drevsii* DSM 1506^T; 8, *Chlorobium limicola* DSM 245^T; 9, *C. luteolum* DSM 273^T; 10, *C. phaeovibrioides* DSM 269^T; 11, *Prosthecochloris aestuarii* DSM 272; 12, *P. vibrioformis* DSM 261; 13, *Chloroflexus aurantiacus* DSM 635^T; 14, *Heliobacterium chlorum* DSM 3682^T; 15, *Thiobacillus denitrificans* DSM 12475^T; 16, *Thiomicrospira pelophila* DSM 1534^T; 17, *Desulfotomaculum geothermicum* DSM 3669^T; 18, *Desulfovibrio desulfuricans* DSM 642^T; 19, *Desulfovibrio africanus* DSM 2603^T; 20, *Desulfomicrobium norvegicum* DSM 1741^T; 21, *Desulfobacter postgatei* DSM 2034^T; 22, *Desulfobulbus* sp. DSM 2033; 23, *Desulfobulbus propionicus* DSM 2032^T; 24, *Desulfosarcina variabilis* DSM 2060^T; 25, *Desulfosporocinas orientis* DSM 765^T; 26, *Alteromonas macleodii* IAM 12920^T; 27, *Shewanella putrefaciens* IAM 1509^T; 28, *Flavobacterium aquatile* IAM 12316^T; 29, *Cytophaga matinoiflava* IAM 14170^T; and C, no template control.

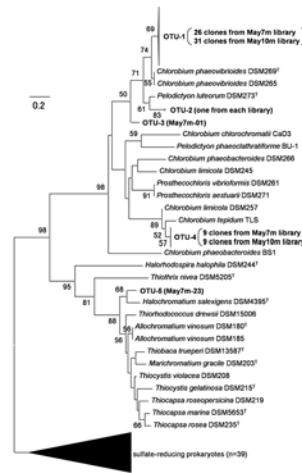


図 4. 水月湖の嫌気層から得られた *dsrA* 遺伝子の系統樹。水月湖から得られたクローンは太字で示す。樹上の数値はブートストラップ値をパーセントで、スケールバーは塩基置換距離を示す。

硫酸還元細菌に近縁なクローンは検出されなかった (図 4)。これらの結果から、本研究で作成した PCR プライマーは光合成硫黄細菌を特異的かつ網羅的に検出できるプローブとして用いることが出来ると判断した。

光合成硫黄細菌を計数するために、本研究で作成した PCR プライマーを用いた SYBR Green アッセイによる定量 PCR 法について検討した。水月湖から得られた主要な *dsrA* クローンを標準試料として用い、real-time PCR を行ったところ、 $10^9 \sim 10^3$ copies/ml の範囲で *dsrA* を定量することが可能であった。

(2) 水月湖の光合成硫黄細菌の分布と多様性

① 光合成硫黄細菌の分布

水月湖は表層が好気的な淡水、底層が硫化水素を多量に含む嫌気的な塩水で構成される部分循環湖である。好気層と嫌気層の境界には光合成硫黄細菌のブルームが原因と考えられる着色現象が観察される。この水月湖の水柱の細菌細胞をフィルター上に捕集して DNA を抽出し、real-time PCR によって光合成硫黄細菌を計数した。光合成硫黄細菌の *dsrA* 遺伝子は好気的な表層からは検出されなかったが、境界層以深からは検出された。境界層からは $1.3 \times 10^3 \sim 3.1 \times 10^6$ copies/ml、嫌気層からは $8.5 \times 10^3 \sim 8.3 \times 10^4$ copies/ml の *dsrA* 遺伝子が検出され、境界層に光合成硫黄細菌が最も多く存在することが明らかとなった (図 5)。

この光合成硫黄細菌数は水深や季節によって変化しており、夏季に多く検出される傾向が認められた。光合成硫黄細菌数の時空間的変動に影響をおよぼす環境要因について、Spearman's rank 相関解析を行ったところ、光量子や水温などとの相関は認められず、懸濁態有機窒素および濁度と正の相関関係が認められた。これらの因子は光合成硫黄細菌の細菌細胞そのものも含むため、光合成硫黄細菌数の変動に影響を与えている環境因子であるとは考えられず、細菌数の変動要因を明らかにすることはできなかった。

② 光合成硫黄細菌の多様性

dsrA 遺伝子の PCR 産物のクローン解析によって、水月湖水柱の光合成硫黄細菌の多様性解析を行った。PCR 産物が得られた各試料からそれぞれ 30~41 クローン (合計 529 クローン) の塩基配列を決定し、統計解析を行った。90% 以上の相同性を示した塩基配列を

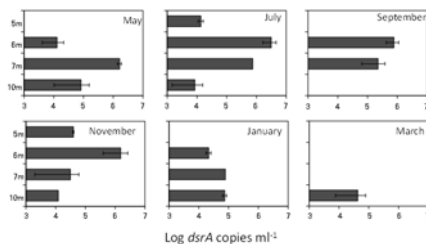


図 5. 水月湖水柱の光合成硫黄細菌の *dsrA* 遺伝子量の時空間的変動。縦軸は水深、エラーバーは標準誤差を示す。

同一の Operational Taxonomic Unit (OUT) としたところ、13 の OTU が得られた。緑色硫黄細菌の *Chlorobium phaeovibrioides* と *Pelodictyon luteolum* に近縁なクローンが最も多く検出され、水月湖の水柱の主要な光合成硫黄細菌は bacteriochlorophyll *e* を持つブラウンカラーの緑色硫黄細菌であることが明らかとなった (図 6)。このことから、水月湖の境界層で見られる淡赤色の水は、緑色硫黄細菌のブルームに起因していることが明らかとなった。

緑色硫黄細菌以外には γ プロテオバクテリアに属する *Halorhodospira halophila* に近縁なクローンが検出され、紅色硫黄細菌の存在も確認されたが、主要な細菌グループではなかった (図 6)。

水月湖水柱ライブラリー間の光合成硫黄細菌の群集組成の相違について、Sorensen similarity 指標で見たところ、25~100% であった。この相違について LIBSHUFF プログラムを用いて統計解析を行ったところ、 γ プロテオバクテリアに近縁なクローンが多く含まれるライブラリーは、緑色硫黄細菌が主要なライブラリーと有意に異なっていた (データ未記載)。このように、水月湖水柱では季節や水深によって光合成硫黄細菌の群集組成が異なることが示された。

(3) 東京湾底泥中の光合成硫黄細菌の多様性

富栄養化が進行し、多量の有機物と硫化水素が蓄積している東京湾の底泥中の硫黄細菌の群集組成を水月湖と同様の方法で解析した。定点 T1 では、浮泥および泥深 10 cm までの試料を、定点 T2 と T3 については浮泥について解析した。東京湾の泥からは、主に

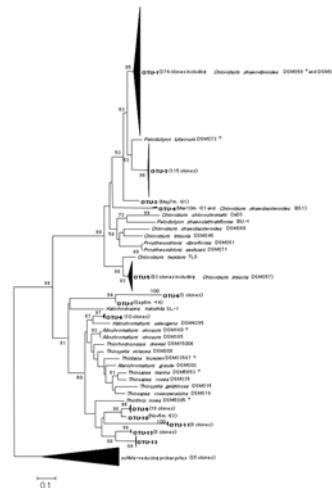


図 6. 水月湖の境界層および嫌気層から得られた *dsrA* 遺伝子の系統樹。水月湖から得られたクローンは太字で示す。樹上の数値はブートストラップ値をパーセントで、スケールバーは塩基置換距離を示す。

γ プロテオバクテリアに属するクローンが検出され、緑色硫黄細菌に近縁なクローンは検出されなかった(図7)。これらの細菌群の他、底泥の表層部からはαおよびβプロテオバクテリアに属するクローンが検出された。試料間の相同性および有意差検定を LIBSHUFF プログラムで行ったところ、何れの試料間にも硫黄細菌群集組成に有意な差は認められなかった(表2、表3)。東京湾底泥では、水月湖とは異なり、プロテオバクテリアに属する硫黄細菌が主要な構成種で、この細菌が還元型硫黄の酸化を担っていると考えられた。

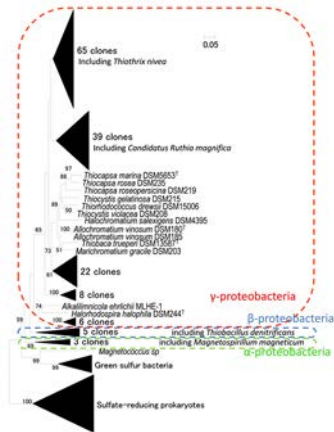


図7. 東京湾底泥から得られた dsrA 遺伝子の系統樹。底泥から得られたクローンは、クローン数のみを示した。樹上の数値はブートストラップ値をパーセントで、スケールバーは塩基置換距離を示す。

表2 東京湾 T1 地点の各深度の泥試料間の dsrA 遺伝子の組成の比較。

	Sorensen 相同性指数 (%)			
	1-2 cm	2-3 cm	4-5 cm	9-10 cm
0-1 cm	36.8 (0.681, 0.646)	31.6 (0.643, 0.979)	36.8 (0.388, 0.986)	27.6 (0.641, 0.881)
1-2 cm		30.0 (0.241, 0.919)	35.0 (0.649, 0.414)	19.4 (0.153, 0.476)
2-3 cm			30.0 (0.979, 0.167)	19.4 (0.745, 0.525)
4-5 cm				12.9 (0.042, 0.292)

カッコ内の数値は LIBSHUFF を用いて算出した有意水準確立を示す。カッコ内の右側は列に示した試料を行に示した試料と比較した確立、左側は行に示した試料を列に示した試料と比較した確立を示す。

表3 東京湾の3地点の浮泥試料間の dsrA 遺伝子の組成の比較。

	Sorensen 相同性指数 (%)	
	T2	T3
T1	25.0 (0.182, 0.773)	15.0 (0.180, 0.456)
T2		25.0 (0.998, 0.790)

カッコ内の数値は表2と同じ。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計8件)

- ① T. Okamura, Y. Mori, S. Nakano and R. Kondo (2012) Abundance and bacterivory of heterotrophic nanoflagellates in the meromictic Lake Suigetsu, Japan. *Aquatic Microbial Ecology*, 査読有、66(2)、149-158、DOI:10.3354/ame01565.
- ② R. Kondo, Y. Mori and T. Sakami (in press) Comparison of sulphate-reducing bacterial communities in Japanese fish farm sediments with different pollution levels. *Microbes and Environments*, 査読有、DOI:10.1264/jsme2.ME11278
- ③ 和田 実、吉永郁生、近藤竜二. (2012) 沿岸環境の保全と修復における微生物学的側面—有明海再生を目指して— はじめに. 日本水産学会誌、査読無、78(2)、274、DOI:10.2331/suisan.78.274
- ④ 近藤竜二. (2012) 沿岸環境の保全と修復における微生物学的側面—有明海再生を目指して— I-3. 汽水域の硫黄循環. 日本水産学会誌、査読無、78(2)、277、DOI:10.2331/suisan.78.277
- ⑤ R. Kondo, K. Shigematsu, N. Kawahara, T. Okamura, Y.H. Yoon, T. Sakami, H. Yokoyama and Y. Koizumi (2012) Abundance of sulphate-reducing bacteria in fish farm sediments along the coast of Japan and South Korea. *Fisheries Science*, 査読有、78(1)、123-131、DOI:10.1007/s12562-011-0439-3
- ⑥ Y. Mori, K.J. Purdy, B.B. Oakley and R. Kondo (2010) Comprehensive detection of phototrophic sulfur bacteria using PCR primers that target reverse dissimilatory sulfite reductase gene. *Microbes and Environments*. 査読有、25(3)、190-196、DOI:10.1264/jsme2.ME10109
- ⑦ 近藤竜二、森 裕美、岡村嵩彦、中野伸一 (2010) 水月湖～嫌気性微生物生態研究のための天然ラボ～、日本微生物生態学会誌、査読無、25(2)、70-74、http://ci.nii.ac.jp/vol_issue/nels/AA11551577/ISS0000458877_ja.html
- ⑧ 近藤竜二 (2009) 養殖場堆積物の微生物群集. 日本水産学会誌、査読無、75(4)、707-708、DOI:10.2331/suisan.75.707

[学会発表] (計30件)

- ① T. Sakami, R. Kondo, T. Kobayashi. An attempt to assess the environment by using microbial communities of the bottom sediments from marine areas of fish aquaculture. PICES 2011 Annual Meeting,

- Mechanisms of Marine Ecosystem Reorganization in the North Pacific Ocean, (2011年10月18日) Khabarovsk, Russia.
- ② 片岡剛文、本間隆満、中野伸一、近藤竜二. 遺伝子型の異なるアオコ原因藍藻 (*Microcystis aeruginosa*) の栄養塩濃度に対する増殖応答. 第27回日本微生物生態学会大会 (2011年10月8日) 京都市
- ③ 近藤竜二. 汽水域の硫黄循環. 平成23年度日本水産学会秋季大会 (2011年10月2日) 長崎市
- ④ 近藤竜二、森 裕美、坂見知子. 汚染度の異なる養殖漁場底泥中の硫酸還元細菌の群集構造の比較. 平成23年度日本水産学会秋季大会 (2011年9月29日) 長崎市
- ⑤ 岡村嵩彦、森 裕美、中野伸一、近藤竜二. 水月湖水柱における従属栄養性ナノ鞭毛虫の細菌捕食. 日本陸水学会第76回大会 (2011年9月23日) 松江市
- ⑥ Y. Mori and R. Kondo. Sequence analysis of reverse dissimilatory sulfite reductase gene in sediments of Tokyo Bay (東京湾底泥における“逆”亜硫酸還元酵素遺伝子の解析). 第26回日本微生物生態学会 (2010年11月25日) つくば市
- ⑦ 岡村嵩彦、森 裕美、中野伸一、近藤竜二. 嫌気環境の従属栄養性ナノ鞭毛虫; その現存量と細菌捕食. 日本陸水学会第75回大会、(2010年9月19日) 弘前市
- ⑧ Y. Mori, T. Okamura, T. Kataoka, S. Nakano, B.B. Oakley, K.J. Purdy and R. Kondo. Population dynamics of anoxygenic phototrophic sulfur bacteria in the meromictic Lake Suigetsu in Japan. 13th International Symposium on Microbial Ecology, (2010年8月27日) Seattle, USA.
- ⑨ T. Okamura, Y. Mori, S. Nakano and R. Kondo. Anaerobic heterotrophic nanoflagellates: their abundance and bacterivory in a Japanese meromictic lake. 13th International Symposium on Microbial Ecology, (2010年8月24日) Seattle, USA.
- ⑩ T. Kataoka, R. Kondo, Y. Hodoki, K. Ohbayashi, Y. Kobayashi and S. Nakano. PCR primers for separate detection of intra-specific genotypic variations in a bloom-forming cyanobacterium, *Microcystis aeruginosa*. 13th International Symposium on Microbial Ecology, (2010年8月24日) Seattle, USA.
- ⑪ 中野伸一、奥田 昇、天野一葉、大林夏湖、小林由紀、田中拓弥、程木義邦、渡邊 信、田辺雄彦、近藤竜二、廣石伸互、高尾祥丈、片岡剛文. アオコの分布拡大に関する生態・分子系統地理学的研究. 第57回日本生態学会大会 (2010年3月16日) 東京
- ⑫ 森 裕美、岡村嵩彦、中野伸一、B.B. Oakley, K.J. Purdy、近藤竜二. 水月湖における光合成硫黄細菌の分布と多様性. 第25回日本微生物生態学会 (2009年11月21日) 東広島市
- ⑬ 岡村嵩彦、森 裕美、藤田健吾、中野伸一、近藤竜二. 部分循環湖水柱の従属栄養性ナノ鞭毛虫の分布と細菌捕食. 第25回日本微生物生態学会 (2009年11月21日) 東広島市
- ⑭ K. Fujita, S. Nakano, T. Okamura, R. Kondo, Y. Mori, S. Yoshikawa and K. Ohki. Seasonal changes in vertical abundance and composition of planktonic ciliates in Lake Suigetsu. SIL Symposium on Global Change and Freshwater Environments, (2009年10月27日) Nanjing, China.
- ⑮ 森 裕美、岡村嵩彦、中野伸一、B.B. Oakley, K.J. Purdy、近藤竜二. PCR法による部分循環湖における光合成硫黄細菌の動態解析. 2009年日本ベントス学・日本プランクトン学会合同大会、(2009年10月18日) 函館市
- ⑯ 藤田健吾、中野伸一、近藤竜二、森 裕美、岡村嵩彦. 水月湖における繊毛虫の鉛直分布の季節変化と細菌摂食. 日本陸水学会第74回大会、(2009年9月17日) 大分市
- ⑰ T. Okamura, R. Kondo, Y. Mori, K. Fujita, S. Yoshikawa, K. Ohki and S. Nakano. Depth variations in heterotrophic nanoflagellate abundance in the meromictic Lake Suigetsu. The 14th International Symposium on River and Lake Environments, (2009年8月29日) Ueda, Nagano.
- [図書] (計1件)
- ① 近藤竜二. 硫黄循環と細菌の代謝、「増補改訂版 海の環境微生物学」石田祐三郎・杉田治男編、恒星社厚生閣、東京、2011年

6. 研究組織

(1) 研究代表者

近藤 竜二 (KONDO RYUJI)

福井県立大学・海洋生物資源学部・准教授
研究者番号：30244528

(2) 研究分担者

中野 伸一 (NAKANO SHIN-ICHI)

京都大学・生態学研究センター・教授
研究者番号：50270723

(3) 連携研究者

兼田 淳史 (KANEDA ATSUSHI)

福井県立大学・海洋生物資源学部・講師
研究者番号：70304649