

ダム湖のモニタリングで同定に注意を要する種 2. 藍藻

Problematic freshwater cyanobacteria taxa for the monitoring of Japanese artificial reservoirs

国立科学博物館・植物研究部 新山 優子
国立科学博物館・植物研究部 辻 彰洋
研究第三部 上席主任研究員 一柳 英隆

ダム湖に出現する藍藻の属および種について、分類学的現状や同定上の問題点について検討し、解説する。
キーワード：*Aphanizomenon gracile*、*Aphanizomenon*属、*Cuspidothrix issatschenkoi*、*Dolichospermum*属、*Microcystis*属、*Planktothrix*属、*Planktothricoides*属、*Pseudanabaena*属、*Raphidiopsis*属、*Sphaerospermopsis*属

We describe some comments on new combinations and taxonomically problematic cyanobacteria genera and species in Japanese artificial reservoirs.

Key words : *Aphanizomenon gracile* , *Aphanizomenon* , *Cuspidothrix issatschenkoi* , *Dolichospermum* , *Microcystis* , *Planktothricoides* , *Planktothrix* , *Pseudanabaena* , *Raphidiopsis* , *Sphaerospermopsis*

1. はじめに

河川水辺の国勢調査スクリーニング委員会・動植物プランクトンスクリーニンググループ（以下、スクリーニンググループとする）では、ダム湖に出現する動植物プランクトンの適切なモニタリングの実施を推進するために、動植物プランクトンの分類学的検討が重ねられてきた。その一環として、植物プランクトンに関しては国立科学博物館のホームページでチェックリストが公開されている（辻・新山2013-2018）。しかし、実際のところ、誤同定されやすい種が存在すること、また分類学的検討が加えられて提案された新しい学名と旧来の学名が混在するといった問題が生じている。昨年は、珪藻に関してスクリーニンググループで問題が提起された種の分類学的現状について検討された（辻・一柳 2018）。藍藻に関しては、アオコを形成する種のチェックリストとその分類学的コメント（辻・新山 2012）、およびネンジュモ目に関する分類学的問題点や類似種の比較（新山・辻 2013）はすでに発表した。本稿ではその後に発表された研究結果等を交えながら、本邦で報告されている浮遊性藍藻全般に関する同定上の問題点や注意すべき形質などについて分類学的検討を行う。

2. 問題となる浮遊性藍藻種の分類学的検討

(1) *Microcystis*属

本属はアオコ形成種として、さらに肝臓毒マイクロシスチンを産生することからも重要である。一方、種または培養株によって毒素産生の有無や強弱が異なることから、チェックリストでは種までの同定とした。細胞の大きさや群体の形態などから種の同定が可能と考えられる。細胞の大きさの計測には高倍率での顕微鏡観察が必要となる。しかし、成長段階によっては群体の形態が不明で種の同定が困難であることが想定される。そのような場合でも、細胞の直径や色、群体の形態や群体外縁の有無などを記録することは大切と考えられる。

なおOtsuka et al. (2001) はそれまで報告されていた*Microcystis*属の5種を*M. aeruginosa*のシノニムとした上で*M. aeruginosa*についてバクテリア命名規約に基づいて改めて新種記載を行った。しかし、これは新属の記載を伴っていないため無効である (Oren 2004)。また、バクテリア命名規約での種の定義は植物命名規約上の種名に影響を与えることはない。植物命名規約に基づく*Microcystis*属の種の区別は毒素産生の有無や強弱と関係していることが分かっているため、著者らは可能な限り種の同定を行うことが望ましいと考えている。

(2) *Pseudanabaena*属

本邦の水道水のカビ臭 (2-MIB ; 2-メチルイソボルネオール) の原因生物は、従来、藍藻の*Phormidium tenue*であるといわれてきた。これには糸状体が緑色

でカビ臭があり2-MIBを産生するPTG株と、糸状体が茶色でカビ臭がなく2-MIBを産生しないPTB株があるとされた。著者らはこれら両株および著者らが確立した新規培養株について形態的・生態的特徴および16S rRNA遺伝子の解析を行い、系統分類学的な関係を明らかにした。これらはすべて*Phormidium*属ではなく*Pseudanabaena*属であることを確認し、2-MIB産生種として琵琶湖由来の*Pseudanabaena foetida*と霞ヶ浦由来の*P. subfoetida*の2新種を発表した(Niiyama et al. 2016)。Tuji & Niiyama (2016)は名古屋城から分離され国立環境研究所に寄託されているNIES-512株が*Pseudanabaena foetida*と*P. subfoetida*の中間的な形態を持つことを明らかにし、これを新変種*P. foetida* var. *intermedia*として記載した。あわせて*P. subfoetida*を*P. foetida* var. *subfoetida*に組み換えた。さらに*P. yagii* (琵琶湖・霞ヶ浦) および*P. cinerea* (大分県芹沢ダム、小川原湖)の2-MIB産生新種を発表した(Tuji & Niiyama 2018)。これら本邦からカビ臭産生分類群として記載した3種5分類群のうち、*P. foetida*の3変種と*P. yagii*は糸状体が鮮青緑色であるが、*P. cinerea*は黒色である。著者らは2-MIB非産生種についても形態的特徴や遺伝子解析を行い、2-MIB産生種と比較した(辻・新山 2018)。その結果、細胞の大きさとトリコームや細胞の色だけから2-MIBの産生種と非産生種を区別することは困難であることがわかった。判別方法として提案されてきたW-L/W比(細胞の幅と細胞の長さとの比)による判定方法(木村ら 2013)および含有色素による判定方法(中村 1988)の妥当性についても検討した結果、*Pseudanabaena*属の2-MIB産生種/非産生種を判別する手段としてはどちらも使用できないことを明らかにした(辻・新山 2018)。

(3) *Planktothrix*属と*Planktothricoides*属

*Planktothrix*属と*Planktothricoides*属の種はどれも単独で浮遊する。どちらも細胞にアエロトープ(ガス胞が集合したもの)があり、顕微鏡下ではトリコーム全体が黒っぽく見える。本邦でアオコを形成すると報告があるのは*Planktothrix agardhii*、*Planktothrix isothrix* および*Planktothricoides raciborscii*の3種である。高倍率の顕微鏡で観察し、トリコームの幅、色、先端部の形態などを正確に計測した場合は種まで同定可能かもしれないが、そうでない場合はこの2属を含むグループに同定すれば十分と考えられる。

Oscillatoria tenuis Agardh ex Gomontは本来、細胞内にガス胞がなく、トリコームがマット状に集合する着生種である。ダム湖に出現するプランクトンとして

*Oscillatoria tenuis*と同定され、かつ細胞内にガス胞があるとされている場合は、誤同定と考えられる。

(4) *Aphanizomenon*属と*Cuspidothrix*属

*Aphanizomenon*属のトリコームは全体を通じて同じ幅で、細胞は長短の円筒形で先端細胞は長く伸びて透明になっている。またアキネートは長い円筒形である。トリコームが多数集合し、多くは紡錘形の束状の群体を形成する。このような群体を形成しているような場合はアキネートがなくとも*Aphanizomenon*属と見当がつけられる。ただし、*Dolichospermum affine*もトリコームが束状に集合するので注意する必要がある。トリコームや細胞をよく観察すれば両者は区別できる。*D. affine*の細胞は丸みを帯びており、先端細胞も細長く伸びることはなく、またアキネートは楕円形ないし長楕円形である。

*Cuspidothrix*属のうち日本で報告されているのは*C. issatschenkoi*だけである。本種はトリコーム先端部が段階的に明確に細くなり、先端は透明な毛状に尖って終わる。また常に単独で生育する点で束状に集合する*Aphanizomenon*属と異なる。*Cuspidothrix*属は、このような形態的な差異と遺伝子解析の結果を受けて*C. issatschenkoi*をタイプとして新設された属である。

(5) *Cuspidothrix issatschenkoi*と*Raphidiopsis*属

本邦では三方湖から*R. mediterranea* Skuja f. *major* Yoneda (Yoneda 1953) が報告されている。また渡辺(1985)は霞ヶ浦から、またWatanabe et al. (2003)は琵琶湖から*R. mediterranea* Skuja var. *grandis* Hillを報告している。しかしながら、本変種はトリコームが基本種の10倍以上に達するほど長く、先端部は徐々に細くなって毛状に終わる(Hill 1970; 渡辺1985)など、その形態的特徴は*Raphidiopsis*属のタイプである*R. curvata*と明らかに異なっており(Skuja 1937)、Hill (1970)が報告した本変種は、アキネートは生じているが異質細胞を欠く、*Cuspidothrix issatschenkoi*の生活環の一部と考えられる(Moustaka-Gouni et al. 2010; 辻・新山 2012; 新山・辻 2013)。おそらくYoneda (1953)のf. *major*も同様であろう。

(6) *Raphidiopsis*属と*Cylindrospermopsis*属

両属ともトリコームは比較的短く、両端または一端が細く尖っていて鞘はなく、アキネートはトリコーム中央部にできる。一方、*Cylindrospermopsis*属はトリコームの先端に異質細胞をつくるのに対し、*Raphidiopsis*属は異質細胞を全くつくりません。

大の差異であると考えられてきた。しかし、両属の種が同一の水域に出現すること、異質細胞をもたないトリコームはどちらの属か区別がつかないことなどから、未熟な*Cylindrospermopsis*属の種が*Raphidiopsis*属の種として扱われてきたのではないかとの疑問が以前からあった。最近、形態だけでなく遺伝子情報(16S rRNA遺伝子、16S-23S rRNA ITS領域およびその二次構造)の解析が進み、両属は単系統であり、別属として区別できないとの結果が得られた(Aguilera et al. 2018)。したがって、植物命名規約の先取権の原則により、*Cylindrospermopsis*属の種は*Raphidiopsis*属に移される。

(7) *Anabaena*属と*Dolichospermum*属

*Anabaena*属には付着性の種と浮遊性の種が含まれていたが、両者は形態と生育状況が異なるという理由からKomárek & Anagnostidis (1989)は、付着性を*Anabaena*亜属、浮遊性を*Dolichospermum*亜属とすることを提唱した。その後の遺伝子解析でも付着性の種と浮遊性の種は明らかに異質であることが分かり(Gogger et al. 2002, Rajaniemi et al. 2005a, 2005b)、細胞内にガス胞をもち、基本的にトリコームが単独で浮遊する種を*Dolichospermum*属とすることが提唱された(Wacklin et al. 2009)。*Dolichospermum*属は同じく浮遊性の*Aphanizomenon*属、*Cuspidothrix*属に近く、一方*Anabaena*属は付着性の*Cylindrospermum*属や*Nostoc*属に近縁であることが分かっている(Komárek et al. 2014)。

したがって、日本のダム湖のプランクトンとして出現し、時にアオコを形成するとされていた*Anabaena*属の種の多くは*Dolichospermum*属に移される。*Dolichospermum*属はトリコームの形態、細胞の形態と大きさ、アキネートの形態と大きさによって種を判別する。トリコームの形態が判別できても、アキネートがないと種のレベルまで同定することは不可能である。

(8) *Dolichospermum*属と*Sphaerospermopsis*属

*Dolichospermum*属と同様に浮遊性だが、遺伝子解析の結果から、明らかにこれと明瞭に区別できるグループがあることが分かった(Zapomélová et al. 2009, 2010; Tuji & Niyama 2010, 2012)。この新属*Sphaerospermopsis*属では、アキネートが球形で常に異質細胞に隣接し、トリコームの先端細胞は他の細胞に比べ幅が狭くやや伸びている。アキネートがないと種を同定することはもちろん、*Dolichospermum*属と区別

することも難しい。そのため、ダム湖のプランクトン・ホームページのチェックリストでは*Dolichospermum*属/*Sphaerospermopsis*属となっている。

*Dolichospermum*属と*Sphaerospermopsis*属の種の同定に関しては、新山・辻(2013)および国立科学博物館の浮遊性藍藻データベースのホームページ(辻・新山2018-2019)を参考にしていきたい。

(9) *Aphanizomenon gracile*について

本種は上記の*Aphanizomenon*属の種と異なり、群体を形成することはない。トリコーム先端の細胞にもガス胞があり透明ではなく、*Cuspidothrix*属のように尖った毛状になることもない。また、16S rRNA遺伝子解析の結果から、*Aphanizomenon*属とも*Dolichospermum*属とも明らかに異なるグループに含まれることが分かっている。今後の研究の進展により学名が変わる可能性がある。現状では、トリコームや細胞、異質細胞およびアキネートの形態や大きさから明瞭に本種と同定できる場合、*Aphanizomenon gracile*と判断すべきと考える。著者らの観察によると、霞ヶ浦では本種の出現頻度が増えている。

3. おわりに

国立科学博物館のホームページで公開されているダム湖の植物プランクトンの簡易同定チェックリストで「藍藻」はChroococcalesクロオコックス目、Oscillatorialesユレモ目、Nostocalesネンジュモ目の3目に分けられている(辻・新山2013-2018)。同じホームページの浮遊性藍藻データベースでも同様に3目に分けて90余種の浮遊性藍藻を詳述している(辻・新山2018-2019)。しかし形態的な特徴の比較だけでなく、分子系統解析やチラコイド配列の解析、生態的ならびに生理的特徴などを総合的に判断して分類学的検討を行う研究が多数発表されるようになり、従来の分類と矛盾する結果も得られるようになった。そのような研究結果の蓄積を受け、Komárekら(2014)は、藍藻を次の8目に分類した: Gloeobacteriales; Synechococcales; Spirulinales; Chroococcales; Pleurocapsales; Chroococcidiopsidales; Oscillatoriales; Nostocales。現在では世界中の多くの藍藻研究者はこれに従っている。これらのうちGloeobacteriales、Spirulinales、Chroococcidiopsidales、Nostocalesは単系統である。他の4目は多系統であることがわかっており、今後の研究によってさらなる分割や変更もあり得る(Komárek et al. 2014; Mareš 2018)。

上記の2で解説した属のうち、*Microcystis*属はChroococcalesに、*Planktothrix*属と*Planktothricoides*属はOscillatorialesに、*Pseudanabaena*属はSynechococcalesに、その他の属はすべてNostocalesに含まれる。Synechococcalesには*Synechococcus*属、*Aphanocapsa*属、*Merismopedia*属、*Coelosphaerium*属、*Snowella*属といった球形の細胞をもつ群体形成するものだけでなく、本稿で解説した*Pseudanabaena*属のほかにも*Planktolynghya*属、*Limnothrix*属といった糸状体のものが含まれる。

分類体系は、研究が進み新しい結果が蓄積されるにつれて変更されるものである。ダム湖の植物プランクトンの同定チェックリストもそれに応じて検討を重ね、よりわかりやすいもの、使いやすいものにしていくと考えている。

謝辞

本研究は、水源地環境センターが事務局を行う水源地生態研究会・データ活用研究グループ(中村太士グループ長)において、高村典子氏(国立環境研究所)が委員として参画したプランクトンモニタリングの手法改善と精度管理に関するプロジェクトの一環として行われ、水源地環境センターから助成を受けた。植物プランクトンのチェックリスト作成については、全国の国土交通省および水資源機構管理のダムから採水の協力をいただいた。また、本論は2018年1月26日に水源地環境センターで実施された「河川水辺の国勢調査(ダム)の同定(動植物プランクトン)に関する勉強会」において新山がコメントした内容をもとに加筆修正したものである。水源地環境センター、水源地研究会および各ダム管理事務所の方々に厚く御礼申し上げます。

参考文献

- 1) Aguilera A, Gómez E B, Kaštovský J, Echenique R O, Salerno G L (2018) The polyphasic analysis of two native *Raphidiopsis* isolates supports the unification of the genera *Raphidiopsis* and *Cylindrospermopsis* (Nostocales, Cyanobacteria). *Phycologia* 57: 130-146.
- 2) Gugger M, Lyra C, Henriksen P, Couté A, Humbert J -F, Sivonen K (2002) Phylogenetic comparison of the cyanobacterial genera *Anabaena* and *Aphanizomenon*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 52: 1867-1880.
- 3) Hill H (1970) A new form of *Raphidiopsis mediterranea* Skuja found in Minnesota lakes. *Phycologia* 9: 73-77.
- 4) 木村文宣、本間隆満、牛島健、古里栄一、田中靖 (2013) カビ臭発生 / 非発生に着目した藍藻綱ユレモ目の分類同定手法開発の試み. *ダム工学* 23: 290-299.
- 5) Komárek J, Anagnostidis K (1989) Modern approach to the classification system of cyanophytes. 4-Nostocales. *Archiv für Hydrobiologie, Supplement* 73, *Algological Studies* 56: 247-345.
- 6) Komárek J, Kaštovský J, Mareš J, Johansen J R (2014) Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera) 2014, using a polyphasic approach. *Preslia* 86:295-335.
- 7) Mareš J (2018) Mutilocus and SSU rRNA gene phylogenetic analyses of available cyanobacterial genomes, and their relation to the current taxonomic system. *Hydrobiologia* 811: 19-34.
- 8) Moustaka-Gouni M, Kormas K A, Polykarpou P, Gkelis S, Bobori D C, Vardaka E (2010) Polyphasic evaluation of *Aphanizomenon issatschenkoi* and *Raphidiopsis mediterranea* in a Mediterranean lake. *Journal of Plankton Research* 32: 927-936.
- 9) 中村寿子 (1988) 琵琶湖産のカビ臭原因藍藻類*Phormidium*の分類および生理学的検討 — 落射蛍光顕微鏡による MIB 産生・非産生株の分別計数. *用水と廃水* 30: 872-879.
- 10) 新山優子、辻 彰洋 (2013) 藍藻ネンジュモ目の浮遊性種の分類学的変更と類似種の比較. *陸水学雑誌* 74: 153-164.
- 11) Niiyama Y, Tuji A, Takemoto K, Ichise S (2016) *Pseudanabaena foetida* sp. nov. and *P. subfoetida* sp. nov. (Cyanophyta/ Cyanobacteria) producing 2-methylisoborneol from Japan. *Fottea* 16: 1-11.
- 12) Oren A (2004) A proposal for further integration of the cyanobacteria under the Bacteriological Code. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 54: 1895-1902.
- 13) Otsuka S, Suda S, Shibata S, Oyaizu H, Matsumoto S, Watanabe M M (2001) A proposal for the unification of five species of the cyanobacterial genus *Microcystis* Kützing ex Lemmermann 1907 under the rules of the Bacteriological Code. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 51: 873-879.
- 14) Rajaniemi P, Horouzek P, Kaštovská K, Willame R, Rantala A, Hoffmann L, Komárek J, and Sivonen K (2005a) Phylogenetic and morphological evaluation of the genera *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Trichormus* and *Nostoc* (Nostocales, Cyanobacteria). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 55: 11-26.
- 15) Rajaniemi P, Komárek J, Jinarejm J, Willame R, Hrouzek P, Kaštovská K, Hoffmann L, Sivonen K (2005b) Taxonomic consequences from the combined molecular and phenotype evaluation of selected *Anabaena* and *Aphanizomenon* strains. *Algological Studies* 117: 371-391.
- 16) Skuja H (1937) Süßwasseralgen aus Griechenland und leinasion. *Hedwigia* 77: 15-73.
- 17) 辻 彰洋, 一柳英隆 (2018) ダム湖のモニタリングにおいて同定上の注意を要する種 1. 珪藻. *水源地生態研究会* 2: 56-60.
- 18) 辻 彰洋, 新山優子 (2012) 日本産アオコ形成藍藻種のチェックリストおよび分類学的コメント(短報). *Bulletin of Plankton Society Japan* 59:30-34.
- 19) 辻 彰洋, 新山優子 (2013-2018) ダム湖のプランクトン. Available at: <http://www.kahaku.go.jp/research/db/botany/dam/about.html>
- 20) 辻 彰洋, 新山優子 (2018) *Pseudanabaena*属(シアノバクテ

- リア) の分類とカビ臭産生の判別形質. 日本水処理生物学会誌. 54 : 115-120.
- 21) 辻 彰洋, 新山優子 (2018-2019) 浮遊性藍藻データベース. Available at: <http://www.kahaku.go.jp/research/db/botany/aoko/>
- 22) Tuji A, Niiyama Y (2010) Phylogenetic study by the morphological and molecular analyses of Japanese planktonic *Anabaena* species. Bulletin of the National Museum of Nature and Science, Ser B 36: 71-80.
- 23) Tuji A, Niiyama Y (2012) Three new combinations of Japanese planktonic cyanobacteria species. Bulletin of the National Museum of Nature and Science, Ser B 38: 37-38.
- 24) Tuji A, Niiyama Y (2016) The identity and phylogeny of *Pseudanabaena* strain, NIES-512, producing 2-methylisoborneol (2-MIB) . Bulletin of the National Museum of Nature and Science, Ser B 42: 1-7.
- 25) Tuji A, Niiyama Y (2018) Two new *Pseudanabaena* (Cyanobacteria, Synechococcales) species from Japan, *Pseudanabaena cinerea* and *Pseudanabaena yagii*, which produce 2-methylisoborneol.
- 26) Wacklin P, Hoffmann L, Komárek J (2009) Nomenclatural validation of the genetically revised cyanobacterial genus *Dolichospermum* (Ralfs ex Bornet et Flahault) com. nova. Fottea 9:59-64.
- 27) 渡辺眞之 1985. 霞ヶ浦産浮遊性藍藻の研究 (2). 日本新産および稀産藻類6 種1 変種について. Bulletin of the National Science Museum, Series B 11:137-142.
- 28) Watanabe M F, Tsujimura S, Oishi S, Niki T, Namikoshi M (2003) Isolation and identification of homoanatoxin-a from a toxic strain of the cyanobacterium *Raphidiopsis mediterranea* Skuja isolated from Lake Biwa, Japan. Phycologia 42: 364-369
- 29) Yoneda Y (1953) The phytoplankton of Lake Mikata. Memories of the College of Agriculture, Kyoto University 66: 39-62.
- 30) Zapomélová E, Jezberová J, Hrouzek P, Hisem D, Řeháková K, Komárková J (2009) Polyphasic characterization of three strains of *Anabaena reniformis* and *Aphanizomenon aphanizomenoides* (Cyanobacteria) and their reclassification to *Sphaerospermum* gen. nov. (incl. *Anabaena kisseleviana*) . Journal of Phycology 45: 1363-1375.
- 31) Zapomélová E, Jezberová J, Hrouzek P, Hisem D, Řeháková K, Komárková J (2010) Polyphasic characterization of three strains of *Anabaena reniformis* and *Aphanizomenon aphanizomenoides* (Cyanobacteria) and their reclassification to *Sphaerospermum* gen. nov. (incl. *Anabaena kisseleviana*) . Journal of Phycology 46: 415.