

# 琵琶湖で新たにブルームを形成するようになった

## 微細藻類の分類学的・水処理生物学的研究

滋賀県立琵琶湖博物館 大塚 泰介・根来 健

### 1. はじめに

人間あるいは他の生物に有毒あるいは有害な影響を及ぼす藻類（ラン藻を含む）が大発生することを、HABs（Harmful Algal Blooms; 有害藻類ブルーム）と呼ぶ。浮遊藻類のブルーム（水の華）のうち、黄色ないしは橙色の鞭毛藻のブルームを「赤潮」、ガス胞をもち水面に集積するラン藻のブルームを「アオコ」と総称している。特にアオコは生態系破壊や有毒物質、カビ臭物質の産生による利水障害などを引き起すために問題とされており、ときに有毒種の発生により人体への影響も懸念される (Huisman *et al.* 2018)。淡水浮遊珪藻のブルームはアオコや淡水赤潮に比べて悪影響は小さいが、発生する種によっては浄水場で濾過障害の原因になることがある（石橋ら 2016; 根来 2022）。近年では琵琶湖南湖底におけるラン藻 *Microseira wollei* (Farlow ex Gomont) G.B.McGregor & Sendall ex Kenins の繁茂（高村ら 2019, 芳賀ら 2019）や、九州および関東を中心とした日本全国の河川上中流部での外来付着珪藻ミズタクチビルケイソウ *Cymbella janischii* (A.W.F.Schmidt) De Toni の繁茂（洲澤ら 2011, 洲澤・洲澤 2021）のように、底生微細藻類が大発生して環境に悪影響を及ぼす事例も増えてきている。

琵琶湖では 1977 年 5 月に、突如として黄金藻ウログレナ（当時は *Uroglena americana* G.N.Calkins と同定された）による淡水赤潮が発生した。ウログレナ赤潮の発生は 1978~1979 年にピークを迎えたが、その後減少し、2009 年を最後に赤潮になるほどの発生は起こっていない。しかし近年になっても、南湖では 4~5 月および 11~12 月を中心に優占種となることがしばしばある。

琵琶湖では 1983 年からアオコの発生が見られるようになった。当初はアナベナの一種（当時は *Anabaena macrospora* Klebahn あるいはその変種と同定された）を中心としており、琵琶湖南湖のみの発生であった。しかし 1994 年以降は北湖の港湾などでもアオコが発生しており、また主要構成種を経年的に変えながら現在まで発生を続けている。アオコに対する最も確実な対策は、一般に栄養塩負荷の削減であるとされる。しかし琵琶湖および内湖では、栄養塩負荷の削減により窒素やリンの濃度が低下したにもかかわらず、なおもアオコが発生し続けている。またそれまで琵琶湖でほとんど、あるいは全く観察されなかった種が、突如としてアオコの主要構成種となった例も少なくない（大塚ら 2023）。したがって、琵琶湖および内湖で新たにアオコを形成し、あるいは近く形成する懸念がある種を正しく分類し、その生理・生態を理解することが、有効な対策のための第一歩になる。

浄水場で濾過障害を引き起こす珪藻などのブルームも、広義の HAB と言える。濾過障害を引き起こす珪藻として最もよく知られるのが *Synedra acus* Kützinger である。本種は凝集剤を入れてもほとんど沈殿せず、濾過床表面付近で捕捉されて目詰まりを起こす濾過閉塞障害を引き起こす（石橋ら 2016）。しかし現在、このような濾過閉塞障害を引き起こす種は *S. acus* とは別の種で、*Ulnaria* 属や *Fragilaria* 属の複数種が含まれており、その中で *Ulnaria japonica* (F.Meister) Tuji が最も普通であることがわかってきた (Tuji 2009)。一方で小型の珪藻には、ピコ植物プランクトン（直径約 2  $\mu\text{m}$  以下のラン藻）やバラバラになった

*Microcystis* の細胞などと同様に、砂濾過層を通過してしまい濾過漏出障害を引き起こすものがある（根来 2022）。その原因は小型の *Cyclotella* 属などとされているが、ほとんど種レベルで同定されていない。

本研究の目的は、琵琶湖とその集水域で新たにブルームを形成するようになったか、今後その可能性がある微細藻類を正確に同定し、形態と分子の両面から分類学的に記述して、今後の HABs 対策に役立てることである。また、こうした分類学的な研究成果とともに、それぞれの種の発生状況および環境への影響や、海外などでの発生情報を集積して電子図鑑に掲載する準備を進めた。さらに最終年度である今年度は、これまで浄水場や環境アセスメントの現場で見逃されてきたと考えられる直径 3~5  $\mu\text{m}$  の超小型円盤形珪藻を定量する方法の検討も行った。

## 2. 材料と方法

### 2.1. 分類学的検討のためのプランクトン調査

琵琶湖南湖の烏丸半島（滋賀県草津市；35.073°N, 135.932°E）で、表層水およびネットプランクトンの採集を行った。アオコが発生する 7~10 月および珪藻のブルームが生じる 1~3 月を中心として、1 ヶ月に一回以上、不定期に採集を行った。他に、西の湖、浜大津周辺、今津漁港周辺でも不定期に調査を行った。ネットプランクトンは NXXX25 のネットを用いて、岸壁から投入・斜め引きを行うことによって非定量的に採集した。他にも寄せられる情報をもとに、琵琶湖集水域の様々な場所で試料採集を行った。2023 年 2 月以降の調査では、ポータブルマルチ水質計 MM-42DP（東亜 DKK）を用いて、現場水の水温、pH、電気伝導率を同時測定した。採集した試料は生体観察および保存用としたが、対象とする珪藻やラン藻が多いと思われた時には、試料の一部を国立科学博物館に送って単離培養と遺伝子解析に供した。

採集を行った当日に、生試料の顕微鏡観察を行った。光学顕微鏡写真を、微分干渉装置を備えた生物顕微鏡に取り付けた顕微鏡用 USB デジタルカメラ WRAYCAM-NOA2000（レイマー）によって撮影した。生物顕微鏡は BX60（オリンパス光学）を用い、2023 年 8 月以降は Eclipse Ni-U（NIKON）を併用した。撮影した写真を Photoshop 2022（Adobe）上で倍率調整し、必要に応じて計量形質を測定した。

採集した表層水試料を 1 L とり、酢酸ルゴール液を約 5 mL 加えてメスシリンダー内で 7 日間以上沈殿させ、上清を捨てて 50 倍に濃縮した。濃縮試料に対してさらに酢酸ルゴール液を約 0.1 mL 加えて追固定し、保存した。

珪藻被殻を観察する準備として、塩酸－熱濃硫酸－過酸化水素法（Ohtsuka & Kitano 2020）あるいはパイプユニッシュ法（南雲 1995）による濃縮試料のクリーニングを行った。洗浄試料の一部をプレウラックス（マウントメディア、富士フイルム和光純薬）で封入して永久プレパラートとした。上述のデジタルカメラにより、 $\times 100$  の油浸対物レンズ（N.A. = 1.40 または 1.45）を用いて明視野像あるいは微分干渉像を撮影した。また一部の試料については試料を電界放出形走査電子顕微鏡（FE-SEM）により観察して殻の微細構造を調べた。FE-SEM として 2023 年 3 月まで JSM-6301F（日本電子）、2023 年 4 月以降は JSM-IT700HR/LV（日本電子）を用いた。撮影した写真を Photoshop（Adobe）上で 2,000 倍に調整して計量形質を測定した。

### 2.2. 超小型円盤形珪藻の定量方法

上述の烏丸半島定点で、2025 年 2 月 27 日に得た試水を材料として、以下の 3 つの計数

方法による定量結果の比較検討を試みた。

- 1) SEMによる定量: まず、10 mL の試水を直径 25 mm、孔径 2  $\mu\text{m}$  の PCTE フィルタ (GVS) で吸引濾過法により濾過した。濾過面の直径は 16 mm であった。次に、フィルタの一部を切り取って直径 12.5 mm、厚さ 5 mm のアルミニウム製 SEM 試料台 (イーエムジャパン) にカーボンテープで貼り、ホットプレート上で約 80°C でゆっくり乾燥させた。この試料を、オートファインコーター JEC-3000FC (日本電子) を用いて、白金によりイオンコーティングした。SEM 観察には JSM-IT700HR/LV (日本電子) を用い、加速電圧 2.0 kV、2,000 倍で、およそ 1 mm 間隔で視野を移動しながら 54 視野を撮影した。珪藻被殻の同定計数は、パソコン上で撮影された写真を Windows 標準搭載のアクセサリであるフォト (マイクロソフト) 上で拡大表示して行った。
- 2) 倒立顕微鏡+プランクトン計数板による定量: まず、試水をプランクトン計数板 (松浪硝子工業) に注ぎ、倒立顕微鏡のステージ上に約 30 分間静置して、珪藻を沈殿させた。観察は倒立顕微鏡 IX70 (オリンパス光学) で 40 倍の対物レンズを用い、0.5 mm $\times$ 0.5 mm のマス目内に細胞の中心がある藻類を全て同定計数した。これを適当に間隔を開けながら 50 マス分くり返して計数値を得た。
- 3) 微分干渉顕微鏡+セキスイ検鏡プレートによる定量: 6 本の遠沈管に試水 10 mL ずつを注ぎ、自動遠心分離機で 450 G $\cdot$ 3 分間遠心分離した後、斜めに堆積した沈殿物を底に沈めるため手回し遠心分離機で約 250 G $\cdot$ 1 分間遠心分離して上澄みを捨てた。沈殿物を口径 0.22  $\mu\text{m}$  のシリンジフィルタで濾過した湖水で洗い、1 本の遠沈管に集めて、濾過湖水を加えて液量を 3 mL にした試料中に懸濁させた (20 倍濃縮)。この試料をセキスイ検鏡プレート (積水マテリアルソリューションズ) に注ぎ、微分干渉装置を備えた生物顕微鏡 BX60 (オリンパス光学) のステージ上に 10 分間静置して珪藻を全て底まで沈めた。接眼グリッド (10 mm $\times$ 10 mm; 40 倍対物レンズを用いた際にプレパラート上の 250  $\mu\text{m}$  $\times$ 250  $\mu\text{m}$  をカバーすることを確認済み) を用いて、その内側に細胞の中心がある藻類を全て同定計数した。およそ 1 mm 間隔で視野を移動しながら 100 視野を観察して計数値を得た。

### 3. 結果と考察

#### 3.1. 分類学的検討

3 年間の研究期間中に 12 種を分類学的検討の対象とした。そのうち 3 年間で研究の進展が見られた 9 種について概要を紹介する。

##### 3.1.1. *Raphidiopsis raciborskii* (Woloszynska) Aguilera et al. (図 1)

本種は近年、世界的に分布が拡大しているラン藻の一種である。高密度のアオコを形成し、毒を産生する株があることなどから、世界で最も悪名高いラン藻となりつつある (Padisák 1997)。本来は熱帯性の種だが、近年では温帯域に分布を拡大している。中国で水温 15°C 以下でも本種がブルームを引き起こした事例が報告されており、低水温耐性のある生態型の出現が示唆されている。

本種は 2022 年夏に琵琶湖でわずかに出現し、その後 10 月~12 月に琵琶湖博物館生態観察池でアオコを形成したので、その出現を論



図 1. *Raphidiopsis raciborskii*

文報告した（大塚ら 2023）。本種の日本からの報告はこれまで茨城県、東京都、石垣島（沖縄）のいくつかの湖沼に限られており、今回の報告が琵琶湖淀川水系からの初報告であった。琵琶湖博物館生態観察池では 2023 年 6～10 月に再び発生し、7～9 月には著しいブルーム（ $10^5$  トリコーム/mL 程度）を形成した。

本種がブルームを形成した琵琶湖博物館生態観察池では、2024 年 2 月中旬から実験的に池干しを進めてきた。その結果、2024 年には本種の発生は見られず、アオコの構成種は琵琶湖でよく出現する *Dolichospermum* の複数種に取って代わられた。

### 3.1.2. *Dolichospermum minisporum* sensu Ohtsuka et al. (図 2)

本種は 2020 年夏に琵琶湖南湖でブルームを形成し、*Dolichospermum minisporum* (M.Watanabe) Tuji & Niiyama と同定された。かび臭物質ジユオスミンを生成することが知られており、2020 年夏の琵琶湖南湖におけるかび臭発生の原因となった（野口ら 2022）。本種の琵琶湖からの出現は既に野口ら（2022）、大塚ら（2023）などにより報告されている。ただし大塚ら（2023）が示した顕微鏡写真は、未熟なアキネートを持つ他種を誤同定した可能性がある。

ところが辻彰洋氏（国立科学博物館）が琵琶湖産本種の遺伝子を分析したところ、琵琶湖産の株は *Dolichospermum* とは別属であることが示唆された。そのため琵琶湖に出現した本種がタイプ産地である千葉県印旛沼の *D. minisporum* と同種であるか否かを含め、形態および分子の両面からの分類学的再検討を始めている。



図 2. “*Dolichospermum minisporum*”

### 3.1.3. *Discostella* sp. (図 3, 4)

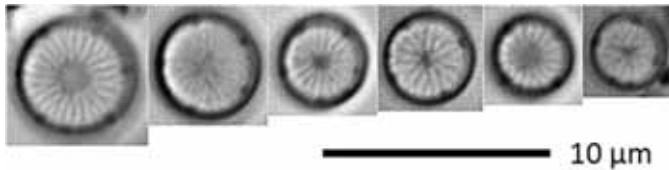


図 3. *Discostella* sp. (LM)

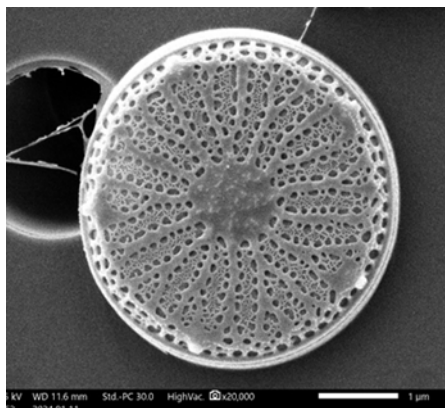


図 4. *Discostella* sp. (SEM)

本種は直径 3-5 μm の、ごく小型の円盤型珪藻である。例年、冬期に  $10^4$  cells/ml オーダーで大発生しているが、ほとんど認識されていない。琵琶湖南湖で 1979 年 11 月に採集された試料にも本種と思われる珪藻が大量に含まれていた（後藤敏一氏 私信）ので、近年になって琵琶湖に侵入した種ではない。

本種は、国立科学博物館のエキシカータで *Discostella* sp. Kasumi として報告された種 (Tuji 2014) と酷似している。琵琶湖産の本種と思われる写真は、辻・伯耆 (2001) で *Cyclotella glomerata* Bachmann として示されているが、後に Tuji & Williams (2006) が行ったタイプ標本の調査で *C. glomerata* はこれとは全く異なる種であることが明らかになっている。

文献調査の結果、本種は Chang & Chang-Schneider (2008) が *Discostella nana* (Hustedt) T.P.Chang の組み替え

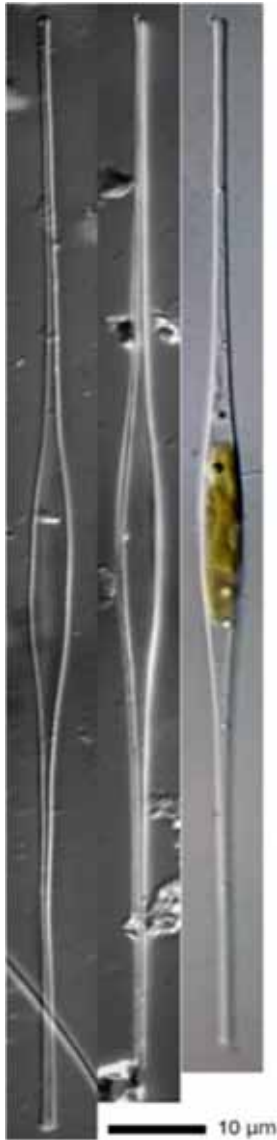


図 5. *Fragilaria longifusiformis* ssp. *eurofusiformis*

起こしておらず、また 2024 年 2 月から 7 月にかけて行われた池干し後にはほとんど発生しなくなった。現在、出現報告の論文執筆中である。

なお本種は日本に先立ち、中国でも 2010 年頃から見られるようになった (馬ら 2013)。

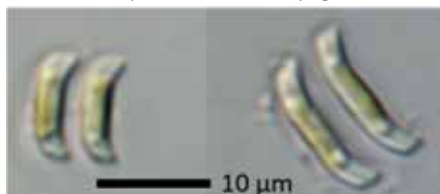


図 6. *Achnanthyidium catenatum* (LM)



10 μm

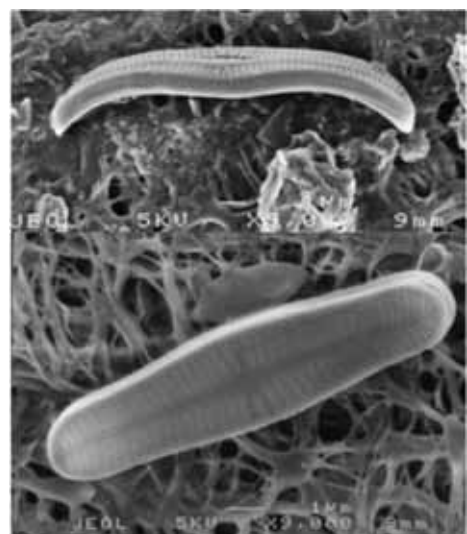


図 7. *Achnanthyidium catenatum* (SEM)

論文で示した電子顕微鏡写真と形態がよく一致することが明らかになった。しかし本種の条線は光学顕微鏡下でも十分に解像可能であるのに対して、*D. nana* の基礎異名である *Cyclotella nana* Hustedt (1957) の原図には条線が描かれておらず、Simonsen (1987) が示したタイプ写真でも、原記載とサイズが一致するものは条線がずっと細かいことが明らかになった。従って本種はこれとは別の種であり、おそらくは新種記載が必要になる。

#### 3.1.4. *Fragilaria longifusiformis* ssp. *eurofusiformis* Lange-Bertalot & S.Ulrich (図 5)

本種は浮遊性オビケイソウの一種で、おそらくは欧州原産の外来種である。2021 年 12 月頃から琵琶湖南湖で発生し、2022 年 1 月から西の湖でも発生が認められたので、本種の日本からの初産出を他水域からの出現情報とともに論文報告した (辻ら 2022)。

本種は 2024 年 1 月から、再び琵琶湖南湖で増加した。しかしこの期間に浄水場でろ過閉塞障害が報告されていないため、どうやら類似種 *Ulnaria japonica* などと異なり、ろ過閉塞障害を引き起こすことはないようである。

本種は琵琶湖にも出現する群体がねじれた *Fragilaria* sp. に近縁で、典型的な *Fragilaria* とは異なるクレードに属するため、近い将来に新たに設立される属に移される可能性がある (辻彰洋氏 私信)。

#### 3.1.5. *Achnanthyidium catenatum* (Bílý & Marvan) Lange-Bertalot (図 6, 7)

本種は *Achnanthyidium* 属としては 2 種しか知られていない真性の浮遊性珪藻である。アフリカ原産の外来種と考えられており、日本では 2021 年頃から井の頭池 (東京都) と鳴滝ダム (岡山県) でブルームを起こすようになった。依頼を受けて本種について調べていたところ、2022 年秋、琵琶湖博物館生態観察池の底泥上からも確認され、その後、水柱からもしばしば見いだされるようになった。ただし生態観察池ではブルームを



図 8. *Cymbella janischii*

### 3.1.6. *Cymbella janischii* (A.W.F.Schmidt) De Toni (図 8)

北米原産のミズワタクチビルケイソウ *C. janischii* は、近年、九州および関東を中心とした日本全国の河川上中流部に分布を広げている（洲澤ら 2011, 洲澤・洲澤 2021）。河床を広く覆って景観を損ねるとともに、定着するアユ個体数を著しく減少させた例がある（芦澤・加地 2019）。

本種は 2022 年 5 月に、安曇川の高島市朽木から近畿地方で初めて見つかった（麦倉ら 2022）。その後、最初に発見された村井橋下流では減少したが、その 200 m ほど上流の、マスの管理釣り場からの排水が支流から本流に流れ込む付近で安定して繁茂しているのが観察された。今年度の調査で、この地点で本種がつくる藻被の内部には、他の大型 *Cymbella* が 2 種混在していることが明らかになった。

### 3.1.7. *Cymbella compactiformis* B.Liu & D.M.Williams (図 9)

本種は主に河川の付着藻類として出現する中型のクチビルケイソウで、中国の長江流域から 2020 年に新種記載された（Liu *et al.* 2020）。日本では 2020 年頃から見られるようになった。琵琶湖流入河川では、天野川と犬上川から報告され、（泉野ら 2023）、他に琵琶湖の魴網上や滋賀県立大の環濠からも見つかっている。

本種のブルームは今のところ報告されていない。しかし近年、先述の外来種 *Cymbella janischii* のみならず、在来種 *Cymbella subturgidula*、

*Cymbella tumida* などクチビルケイソウのブルームが多発するようになり、漁業被害の事例（放流アユが居着かなくなる、漁網に大量に付着して漁の妨げとなる）もあることから、本種についても一応の警戒が必要である。

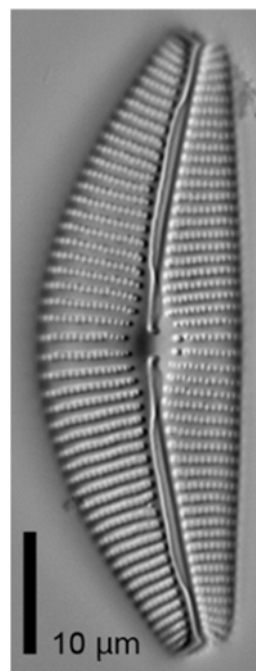


図 9. *Cymbella compactiformis*

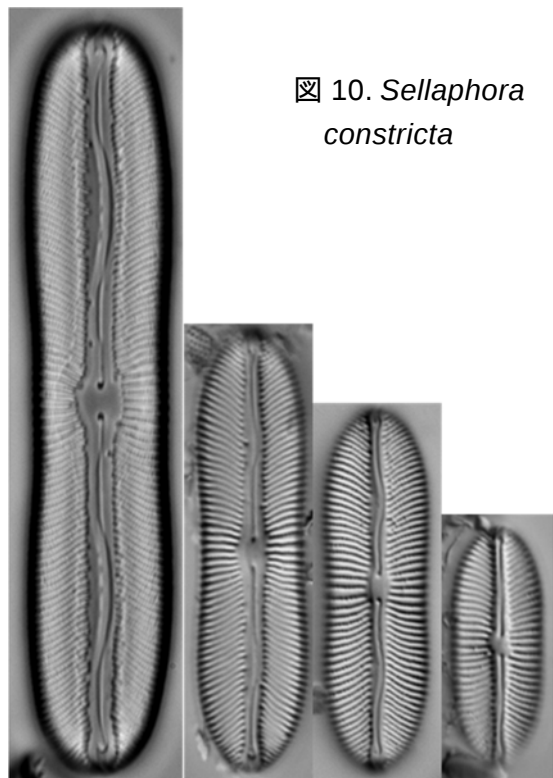


図 10. *Sellaphora constricta*

### 3.1.8. *Sellaphora constricta* Kociolek & Q-M.You (図 10)

本種は琵琶湖流入河川である犬上川で 2021 年に得られた試料中に僅かに含まれていた。2023 年夏から堅田内湖で急増し、一時期、ヨシ付着珪藻の優占種になることがあった。同種と思われるものが、2008 年には木津川（京都府）で（塩野暁子氏 私信）、2015 年から矢作川（愛知県）（内田・洲澤 2018）でも出現している。近年、九州の河川では砂泥上で優占す

ることがあるという（福留真樹氏私信）。

本種は 2017 年に中国南部の珠江流域から新種記載された (You *et al.* 2017)。私たちは当初、本種を *Sellaphora tanghongquii* Ni *et al.* (2022) と同定していた。ところが様々な方法で処理された日本産標本を観察した結果、2017 年に報告されていた本種と *S. tanghongquii* との違いが、単に殻の保存状態あるいはクリーニング方法の違いによるものであることが判明した。そこで現在、本種の日本からの初報告論文を、日本各地で本種を発見した人たちとともに準備中である。

### 3.1.9. *Uroglenopsis* sp. (図 11)

本種は 1977 年から琵琶湖で淡水赤潮を形成してきた種で、一般にはウログレナあるいはニセクスダマヒゲムシと呼ばれている。現在の分類基準では *Uroglena americana* G.N.Calkins あるいは *Uroglenopsis americana* (G.N.Calkins) Lemmermann とされている。

2022 年 4 月頃から、本種の小型で密な群体がしばしば見られるようになった。こうした小型群体では、細胞は極めて細長くなることがある。そのため本種とされてきたものに 2 種が混在していることが疑われた。そこで 2023 年 4 月～6 月に琵琶湖の北湖と南湖で、様々な時期に採集した様々な形状



図 11. *Uroglenopsis* sp.の様々な形態

の計 100 群体を単離し、辻彰洋博士（国立科学博物館）が *rbcL* 遺伝子を分析したところ、全て同種で遺伝的な変異もほとんどないことが明らかになった。琵琶湖産の本種は北米産 *U. americana* とは遺伝的にやや異なっており、むしろ欧州産の *Uroglenopsis botrys* (Pascher) Pascher に近縁であることが確認された。現在、国立科学博物館の辻彰洋博士らと共に、論文報告を準備している。また本種を新種記載すべきかどうかについても目下検討中である。

2024 年 11 月～2025 年 2 月に、琵琶湖南湖の烏丸半島周辺で本種が増殖・集積した。この際、比較的大型で細胞が密な群体や、たいへん小型で細胞が疎な群体も見られ、本種の形態変異の大きさが明らかになった。

## 3.2. 超小型円盤形珪藻の定量方法

### 3.2.1. SEM による定量

2,000 倍で撮影した写真では、珪藻の同定形質が概ね写り込んでいたため、対象種を含む小型円盤型珪藻の同定が可能だった（図 12）。ただしこの方法では生きていた珪藻は 2 枚の殻が合わさった状態で観察され、同定形質がよく現れる殻の裏面が観察できないので、同定はかなり困難だった。また、硬い殻や細胞壁をもたない藻類はほとんど観察できなか

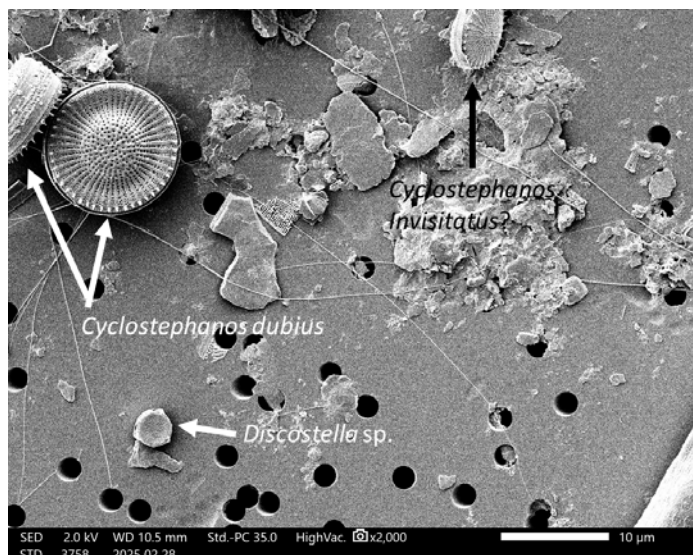


図 12. SEM 観察 (2,000 倍)

った。珪藻についても、変形したり割れたりしたものが数多く観察された。そこで今回、変形したり割れたりしていても被殻の全体が残っているものは計数し、ごく一部でも欠けているものは計数しなかった。

原水 8.25  $\mu\text{L}$  相当の観察で、超小型円盤形珪藻 *Discostella* sp. は 33 被殻が計数された。その他の円盤形珪藻は 7 種、計 58 被殻が観察された。これを 1 ml あたりに換算すると、*Discostella* sp. は  $4.0 \times 10^3$  cells/mL、その他の円盤形珪藻は  $7.0 \times 10^3$  cells/mL と算出された。

### 3.2.2. 倒立顕微鏡+プランクトン計数板による定量

プランクトン計数板中の試料を倒立顕微鏡で 40 倍の対物レンズを用いて観察したところ、ポリカーボネート材質による光学特性の悪さのためか、5  $\mu\text{m}$  以下の円盤形珪藻についてはゴミとの判別が難しかった。またその他の円盤形珪藻についても種同定はほぼ不可能だった (図 13)。原水 12.5  $\mu\text{L}$  相当の観察で、超小型円盤形珪藻 *Discostella* sp. は 22 細胞が、その他の円盤形珪藻は 34 細胞が観察された。これを 1 mL あたりに換算すると、*Discostella* sp. は  $1.8 \times 10^3$  cells/mL、その他の円盤形珪藻は  $2.7 \times 10^3$  cells/mL と算出された。

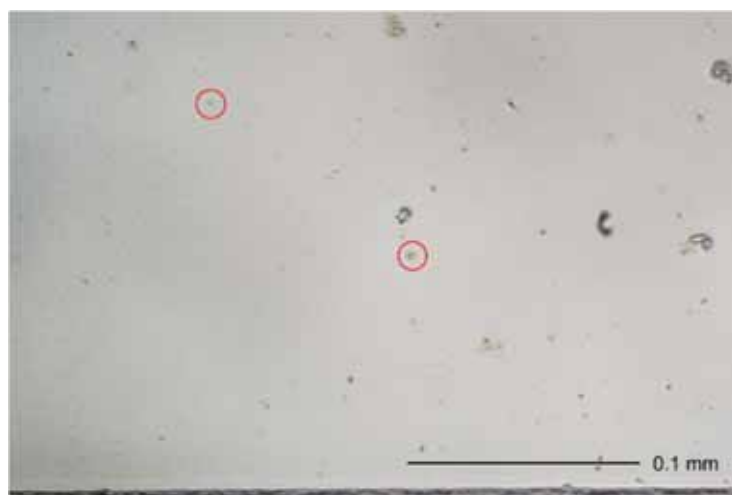


図 13. 倒立顕微鏡による観察 (400 倍)。○を付したところに超小型円盤形珪藻が認められた。

### 3.2.3. 微分干渉顕微鏡+セキスイ検鏡プレートによる定量

セキスイ検鏡プレートに注いだ試料を、微分干渉顕微鏡を用いて 40 倍の対物レンズを用いて観察したところ、直径 3-5  $\mu\text{m}$  の微小珪藻でもゴミとの判別がやや容易になった (図 14)。またその他の円盤形珪



図 14. 微分干渉顕微鏡による観察 (400 倍)。○を付したところに超小型円盤形珪藻が認められた。

藻については、*Cyclostephanos dubius* のように大型で頑健な構造を持つ種については種同定が可能になった。原水 8.75  $\mu\text{L}$  相当の観察で、超小型円盤形珪藻 *Discostella* sp. は 34 細胞が、その他の円盤形珪藻は 23 細胞が観察された。これを 1 mL あたりに換算すると、*Discostella* sp. は  $3.9 \times 10^3$  cells/mL、その他の円盤形珪藻は  $2.6 \times 10^3$  cells/mL と算出された。

### 3.2.4. 3 つの観察方法の比較

2025 年 2 月 27 日の烏丸半島周辺では超小型円盤形珪藻 *Discostella* sp. が優占していなかった ( $4 \times 10^3$  cells/mL 程度) が、それでも湖水 10  $\mu\text{L}$  程度の定量により、簡易検査としては信頼できる計数値が得られた。各定量法による結果を表 1 に示す。

SEM 観察は微細珪藻の種同定が可能な点で優れていた。しかし試料作成から写真撮影、同定までの一連の作業に 6 時間以上を要するため、早く結果が分かることが重要な浄水場などの現場には適さない。また、試料作成時に多くの珪藻の被殻を壊していた可能性がある。さらに細胞の生死判定ができないため、珪藻の殻骸が多い場合には細胞数を過大評価することになる。なお、壊れやすい藻類も計数対象に含めるために、水凍結乾燥法によるプレパレーションも試みたが、藻類の細胞が周縁に集まってしまうと定量性が確保できなかった。また効率化のために 1,000 倍で撮影した写真に基づく同定も試みたが、種同定はたいへん困難だった。

倒立顕微鏡＋プランクトン計数板による観察は最も簡易であるが、プランクトン計数板の光学特性の悪さにより、5  $\mu\text{m}$  以下の珪藻では見逃しが多くなった。一方、この方法では 10  $\mu\text{m}$  以下のクリプト藻 (*Komma*?) を他の方法よりも多く計数することができた。これは単なる偶然誤差の可能性もあるが、試料作成時に濾過や加熱、遠心分離などのプロセスを経ないこと、対物レンズの焦点深度が大きいことなどにより、硬い殻をもたない遊泳性の微小藻類をより有効に検出できた可能性もある。したがって倒立顕微鏡を用いた観察法は、微小鞭毛藻が優占する状況下では有効な検査方法たり得る。

表 1. 各定量法による定量結果の比較

#### SEMによる定量

| 種                                                     | カウント | 細胞密度<br>(cells/ $\mu\text{L}$ ) |
|-------------------------------------------------------|------|---------------------------------|
| <i>Discostella</i> sp.                                | 33   | 4.0                             |
| <i>Discostella wolterecki</i> ?                       | 1    | 0.1                             |
| <i>Stephanodiscus minutulus</i>                       | 11   | 1.3                             |
| <i>Stephanodiscus hantzschii</i> <i>tenuis</i>        | 2    | 0.2                             |
| <i>Stephanodiscus bideranus</i> var. <i>oestrupii</i> | 27   | 3.3                             |
| <i>Cyclostephanos dubius</i>                          | 7    | 0.8                             |
| <i>Cyclostephanos invisitatus</i>                     | 9    | 1.1                             |
| <i>Cyclotella atomus</i>                              | 1    | 0.1                             |
| (他の円盤形珪藻計)                                            | 58   | 7.0                             |
| <i>Aulacoseira ambigua</i>                            | 3    | 0.4                             |
| <i>Asterionella formosa</i>                           | 1    | 0.1                             |
| <i>Fragilaria</i> sp.                                 | 1    | 0.1                             |
| <i>Staurosirella</i> sp.                              | 2    | 0.2                             |
| <i>Sellaphora pupula</i>                              | 1    | 0.1                             |
| <i>Achnanthyidium</i> sp.                             | 1    | 0.1                             |
| <i>Nitzschia draveillensis</i>                        | 1    | 0.1                             |
| <i>Nitzschia fonticola</i>                            | 1    | 0.1                             |
| <i>Sellaphora saugerresii</i>                         | 2    | 0.2                             |
| <i>Sellaphora nigri</i>                               | 1    | 0.1                             |

#### 倒立顕微鏡による定量

| 分類群                              | カウント | 細胞密度<br>(cells/ $\mu\text{L}$ ) |
|----------------------------------|------|---------------------------------|
| <i>Discostella</i> sp.           | 22   | 1.8                             |
| (他の円盤形珪藻)                        | 34   | 2.7                             |
| <i>Asterionella formosa</i>      | 4    | 0.3                             |
| <i>Aulacoseira pusilla</i>       | 4    | 0.3                             |
| <i>Nitzschia subacicularis</i> ? | 2    | 0.2                             |
| <i>Nitzschia</i> sp.             | 1    | 0.1                             |
| <i>Komma</i> ?                   | 4    | 0.3                             |
| <i>Trachelomonas</i> ?           | 1    | 0.1                             |
| <i>Pseudanabaena</i> sp.         | 23   | 1.8                             |

#### 微分干渉顕微鏡による定量

| 分類群                         | カウント | 細胞密度<br>(cells/ $\mu\text{L}$ ) |
|-----------------------------|------|---------------------------------|
| <i>Discostella</i> sp.      | 34   | 3.9                             |
| (他の円盤形珪藻)                   | 23   | 2.6                             |
| <i>Asterionella formosa</i> | 5    | 0.6                             |
| <i>Fragilaria</i> sp.       | 2    | 0.2                             |
| <i>Pinnularia</i> sp.       | 1    | 0.1                             |
| <i>Chroomonas</i> ?         | 1    | 0.1                             |
| <i>Komma</i> ?              | 1    | 0.1                             |
| <i>Monoraphidium</i> ?      | 1    | 0.1                             |
| 球形の緑藻                       | 1    | 0.1                             |

遠沈濃縮した試水を微分干渉顕微鏡＋セキスイ計数プレートで観察する方法では、ごく小型の珪藻でもあまり見逃していないことがわかった。遠心分離によって細胞が破壊された形跡はほとんど見られなかった。葉緑体のコントラストを強調することにより珪藻の生死判定も容易となり、今回の観察では超小型円盤形珪藻 *Discostella* sp. がほとんど生細胞だったこと、他の円盤形珪藻の多くが葉緑体を含まない殻骸だったことも明らかになった。したがって今回試みた3つの方法の中では、微分干渉顕微鏡を用いた観察方法が、超小型円盤形珪藻が多く出現した際の検査方法として最も優れていたと言える。ただし本法を用いたとしても、超小型円盤形珪藻の正確な定量には相当の修練が必要である。

## 4．研究成果の統合と発信

### 4.1. 外来珪藻はなぜ次々と見つかるようになったか？

令和5年度水産環境保全委員会主催研究会「河川の異変-外来種ミズタクチビルケイソウの問題と最新知見-」（東北大学，2023年9月19日）のまとめとして月刊海洋で組まれた特集「河川の異変—外来種ミズタクチビルケイソウの問題と最新知見」に、大塚は上記研究会の発表者でないにもかかわらず寄稿することになった（大塚・辻 2024）。要旨は以下の通り。

近年、これまで日本から報告がなかった珪藻種の発見が相次いでいる。以前には日本国内の珪藻フロラ報告に全く現れなかった種が、ある時期から急増した場合、その種は外来種の疑いが強いと言える。本稿では日本の淡水域に近年になって侵入したと考えられる珪藻を紹介するとともに、考えられる侵入経路について考察する。

### 4.2 琵琶湖における環境変動と漁業生産の変化：瀬戸内海と比較して考える

標記シンポジウムを2024年9月27日に京都大学で開催し、大塚は企画責任者の一人として参画、根来・大塚の連名で「プランクトンの変動」というタイトルで発表を行った。本研究と特に関連が深い内容なので、以下にやや長めの要旨を示す。

滋賀県では1980年に「滋賀県琵琶湖の富栄養化の防止に関する条例」（通称：琵琶湖条例）を施行し、富栄養化対策に努めてきた。その結果、琵琶湖南湖では1990年代から全リン濃度が低下し始め、また2000年代から南湖・北湖の両方で全窒素濃度も低下を始めた。ところが琵琶湖におけるウログレナ赤潮発生は、富栄養化に抑制がかかりはじめる以前の1980年代には既に減少を始めていた。またアオコについては1983年に最初の発生が見られて以来、栄養塩濃度が低下し始めてからも収まることなく、構成種を変えながらほとんどの年に発生している。琵琶湖北湖では1998年頃から、付着藻類による魴網の汚損が顕著になってきた。当初、主な汚損生物はラン藻 *Phormidium* とされたが、やがて *Mougeotia* などの緑藻に代わり、2004年前後から珪藻中心にシフトした。2024年8月2日に西浅井町地先の魴網を汚損していた付着藻類中では接合藻アオミドロ *Spirogyra* が優占し、また珪藻のうちでは日本から数例しか報告がない *Rhopalodia novae-zelandiae* Hustedt が量的な優占種となっていた。最後に、琵琶湖以外の様々な湖沼や閉鎖性海域でも起こっている、貧栄養化しているのにHABsがかえって激化するパラドクスが生じるメカニズムを考察した。

### 4.3. 珪藻の固有種と外来種—外来種の増加は人新世の現象か？—

2025年日本プランクトン学会春季シンポジウム「珪藻研究の最前線」（東京海洋大学）に、大塚がコンビーナの一人として企画運営に関わり、また標記タイトルで発表をした。

本シンポジウムの講演内容は、「4.1. 外来珪藻はなぜ次々と見つかるようになったか？」とほぼ同じである。

#### 4.4. 電子図鑑「琵琶湖のプランクトン」

琵琶湖で新たに出現した、HAB を形成しうる微細藻類の分類は、検討すればするほど「わかっていないことがよくわかる」ばかりで、このままでは一向に現場で使える知識にならない。そこで見切り発車の格好で、電子図鑑の原稿作成を始めた。手始めにアオコをつくるラン藻 24 種について、琵琶湖とその集水域に出現する種を網羅する図鑑を作成している。この図鑑には、顕微鏡写真、大きさ、形態の特徴の他、琵琶湖で出現した時期、長期的盛衰、毒性、環境への影響などの情報を網羅し、引用文献もつけている。2024 年 5 月末までに公開準備を完了し、6 月中に公開予定である。

#### 5. 総括と今後の課題

近年になって琵琶湖でふえはじめた、あるいは認識されるようになった微細藻類の、可及的速やかな同定と情報提供が必要である。しかし本報告書でも分かるように、少ない研究者に対して種数が多すぎるために、論文執筆が追い付いていない。

浄水処理の現場で問題になる HAB の構成種については、その増加を手早く検出する技術の確立が必要である。たとえば、*Dolichospermum* のカビ臭物質生成種あるいは有毒種については、アキネートがよく発達する発生後期には、光学顕微鏡観察による同定が概ね可能になった。しかし「ミネルヴァの梟は黄昏時に飛び立つ」の格言通り、発生後期になってから種同定ができたとしても対策上は手遅れである。トリコームが未熟な発生初期に類似種と区別する技術を、形態と分子の両面から探っていく必要がある。

*Discostella* sp.のようなナノプランクトン下限に近いサイズの微細藻類が、濾過漏出障害が起こるレベルで増えてきたときに、いち早く検出する技術の開発も必要である。ただしこうした種は常にバックグラウンドで多少とも琵琶湖で出現しているので、危険水準をいち早く察知するためにはある程度の定量性がある検出法が必要となる。

何よりも重要なことは、次世代を担う「形態も分子もできる」微細藻類研究者・技術者の育成である。そのために、水処理生物基礎講座などと連携した技術講習や電子図鑑の整備が必要になる。

#### 6. 引用文献

- Chang T-P, Chang-Schneider H (2008) Zentrische Kieselalgen in Kemptener Seen. Berichte der Bayerischen Botanischen Gesellschaft 78: 5-15.
- 芳賀裕樹・酒井陽一郎・石川可奈子 (2019) 琵琶湖南湖における 2017 年 9 月の沈水植物の現存量の平面分布. 陸水学雑誌 80: 13-21.
- Huisman J, Codd GA, Paerl HW, Ibelings BW, Verspagen JMH, Visser PM (2018) Cyanobacterial blooms. Nature Reviews Microbiology 16: 471–483.
- Hustedt F (1957) Die Diatomeenflora des Flußsystems der Weser im Gebiet der Hansestadt Bremen. Abhandlungen des Naturwissenschaftlichen Verein zu Bremen 34(3): 181-440, 1 pl.
- 石橋健二・平島隆義・井上 剛・平木貞憲・三池純子 (2016) 浄水場における *Synedra acus* によるろ過閉塞障害の発生とその対応事例. 日本水処理生物学会誌 52: 85-91.
- 泉野央樹・洲澤多美枝・大塚泰介 (2023) 西日本 3 河川からの *Cymbella compactiformis* の出現. Diatom 39: 47-53.

- Liu B, Williams DM, Li Y, Tang, Z-S (2020) Two new species of *Cymbella* (Bacillariophyceae) from China, with comments on their valve dimensions. *Diatom Research* 35: 99-111.
- 馬 沛明・施 练东・赵 先富・张 俊芳・陈 威・胡 菊香 (2013) 一种淡水水华硅藻——链状弯壳藻(*Achnantheidium catenatum*). *湖泊科学* 25: 156-162.
- 南雲 保 (1995) 簡単で安全な珪藻被殻の洗浄法. *Diatom* 10: 88.
- 根来 健 (2022) 水中微小生物と浄水処理障害. *環境技術* 51: 161-165.
- Ni H-P, Guo J-S, Tang Z-B, Huang Y-Y, Kociolek JP, Li Y-L (2022) *Sellaphora tanghongquii* sp. nov. (Bacillariophyta, Sellaphoraceae), a new diatom species from the Southern China. *Phytotaxa* 573: 103-114.
- 野口暁生・藤原俊一郎・船岡英彰・片岡稔之 (2022) *Anabaena minispora* による高濃度のカビ臭の発生. 令和3年度全国会議(水道研究発表会)講演集, pp. 156-157.
- Ohtsuka T, Kitano D (2020) Diatom flora of a wet grassland on mineral soil conserved in the Ritsumeikan University Biwako-Kusatsu Campus in Shiga Prefecture, central Japan. *Diatom* 36: 1-12.
- 大塚泰介・根来 健・佐藤晋也・石川可奈子・辻 彰洋 (2023) 要注意！琵琶湖とその集水域の「ミクロの外来生物」. *地域自然史と保全* 45: 25-38.
- 大塚泰介・鈴木隆仁・辻 彰洋 (2023) 琵琶湖辺の池におけるラン藻 *Raphidiopsis raciborskii* のブルーム形成. *日本水処理生物学会誌* 59: 27-32.
- 大塚泰介・辻 彰洋 (2024) 外来珪藻はなぜ次々と見つかるようになったか？月刊海洋 56(10): 675-685.
- Padisák J (1997) *Cylindrospermopsis raciborskii* (Wołoszyńska) Seenayya et Subba Raju, an expanding highly adaptive blue-green algal species: Worldwide distribution and review of its ecology. *Archiv für Hydrobiologie, Suppl.* 107: 563-593.
- Simonsen R (1987) Atlas and catalogue of the diatom types of Friedrich Hustedt. J. Cramer, Berlin-Stuttgart.
- 洲澤多美枝・清野聡子・真山茂樹 (2011) 筑後川上流に大量出現した *Cymbella janischii* (A.W.F.Schmidt) De Toni と *Gomphoneis minuta* (Stone) Kociolek & Stoermer: 外来種珪藻の可能性について. *Diatom* 27: 58-64.
- 洲澤 譲・洲澤多美枝 (2021) 酒匂川(神奈川県)で採集された外来種ミズタケチビルケイソウ. *神奈川自然誌資料* 42: 87-93.
- 高村典子・馬渕浩司・中田聡史・吉田 誠・高村健二・西田一也・岩木眞穂・松崎慎一郎・今藤夏子・山口晴代・小熊宏之・山野博哉・焦 春萌・石川可奈子・酒井陽一郎・永田貴丸・芳賀裕樹・西野麻知子・牧野 渡 (2019) 試験研究報告 地方創生共同研究(生態系) 湖沼の生態系の評価と管理・再生に関する研究. 琵琶湖環境科学研究センター研究報告書 15. 4 pp.
- Tuji A (2009) The transfer of two Japanese *Synedra* species (Bacillariophyceae) to the genus *Ulnaria*. *Bulletin of the National Science Museum Tokyo Ser. B.* 35: 11-16.
- Tuji A (2014) Nos. 118. *Discostella* sp. Kasumi. In: Tuji A (ed.) *ALGAE AQUAE DULCIS JAPONICAE EXSICCATAE VI*, p. 20-21. National Museum of Nature and Science, Tsukuba, Japan.
- 辻 彰洋・伯耆晶子 (2001) 琵琶湖研究モノグラフ 琵琶湖の中心目珪藻. 滋賀県琵琶湖研究所, 大津.
- 辻 彰洋・中川 恵・溝渕 綾・大塚泰介 (2022) 淡水棲プランクトン珪藻 *Fragilaria*

*longifusiformis* ssp. *euofusiformis* の本邦における近年の出現. *Diatom* 38: 14-17.

Tuji A, Niiyama Y, Ichise S (2023) Distribution and Phylogeny of *Dolichospermum hangangense* (Nostcales, Cyanobacteria) Found in Japanese Lakes and Reservoirs. *Bulletin of the National Science Museum Ser. B* 49: 83-95.

Tuji A, Williams DM (2006) The identity of *Cyclotella glomerata* Bachmann and *Discostella nipponica* (Skvortzov) Tuji et Williams comb. et stat. nov. (Bacillariophyceae) from Lake Kizaki, Japan. *Bulletin of the National Science Museum Ser. B* 32: 9-14.

You Q-M, Kociolek JP, Cai M-J, Lowe RL, Liu Y, Wang Q-X (2017) Morphology and ultrastructure of *Sellaphora constrictum* sp. nov. (Bacillariophyta), a new diatom from southern China. *Phytotaxa* 327: 261-268.

## 7．本研究と関連した成果（2024 年度分のみ）

### 学会発表など

根来 健. 浄水処理（水道）と珪藻類. 日本珪藻学会第 45 回大会 公開シンポジウム「珪藻と社会」、2024 年 6 月 23 日、酪農学園大学.

根来 健・大塚泰介. プランクトンの変動. 令和 6 年度日本水産学会秋期大会水産環境保全委員会企画研究会 琵琶湖における環境変動と漁業生産の変化：瀬戸内海と比較して考える、2024 年 9 月 27 日、京都大学.

根来 健. 環境調査において過小評価される淡水産浮遊珪藻とその特性. 日本珪藻学会第 43 回研究集会 公開シンポジウム「珪藻が出ない!」、2024 年 10 月 20 日、琵琶湖博物館.

一瀬 諭・根来 健・大塚泰介・辻 彰洋. 琵琶湖南部・瀬田川に突然出現した *Coronia echeneis* (Ehrenberg ex Kützing) Ehrenberg について. 日本水処理生物学会第 60 回大会、2024 年 11 月 3 日、姫路市市民会館.

根来 健・大塚泰介. 琵琶湖で再増殖し始めた直鎖型 *Aulacoseira ambigua*. 日本水処理生物学会第 60 回大会、2024 年 11 月 3 日、姫路市市民会館.

根来 健・大塚泰介. 滋賀県安曇川中流域で増殖を始めた外来性ミズワタクチビルケイソウ. 日本陸水学会近畿支部会第 36 回研究発表会、2025 年 3 月 8 日、京都大学.

大塚泰介. 珪藻の固有種と外来種 外来種の増加は人新世の現象か? 2025 年日本プランクトン学会春季シンポジウム「珪藻研究の最前線」、2025 年 3 月 16 日、東京海洋大学.

### 雑誌記事

大塚泰介・辻 彰洋 (2024) 外来珪藻はなぜ次々と見つかるようになったか? 月刊海洋 56(10): 675-685.

### 新聞記事

大塚泰介 (2024)植物プランクトンの盛衰①～④. ビワハツ 琵琶湖博物館研究だより. 朝日新聞滋賀版 (2024 年 4 月 7 日、21 日、5 月 5 日、19 日)

### 書籍

石上三雄・一瀬諭・大塚泰介 (2024) びわ湖のプランクトン フォト&ムービー. 文理閣  
琵琶湖の小さな生き物を観察する会 (編) (2025)ミクロの世界によろこそ 琵琶湖博物館マイクログラフィウムから. 京都新聞出版センター (4 月刊行予定)