

# 河川水辺の国勢調査「ダム湖版」のための ハプト藻・ラフィド藻同定マニュアル（2024年3月版）

## 1. はじめに

河川水辺の国勢調査「ダム湖版」においては、植物プランクトンの藍藻綱、クリプト藻綱、渦鞭毛藻綱、黄金色藻綱、珪藻綱、ミドリムシ藻綱、緑藻綱が主な調査対象となっており、それ以外の植物プランクトンが出現した場合には、「その他」の扱いとしている。また、その他の鞭毛藻においては、「ラフィド藻・ハプト藻」が以前は同じ項目として整理されていた。しかしながら、ラフィド藻とハプト藻は進化的にも形態的にも全く異なる生物群であり、一緒に分類することは好ましいことではない。一方、ラフィド藻もハプト藻もほとんどが海産で淡水産の種類の出現頻度は多くはないものの、ブルーム（淡水赤潮）を形成する例も知られており、生態的には重要なグループである。にもかかわらずそれぞれのグループの特徴がはっきりと認識されていない可能性がある。そこで本稿では、ラフィド藻とハプト藻が別々のグループとして整理されることになったこの機会にあらためて両者のそれぞれの特徴を述べ、淡水産の種類に関して同定のポイントなどを解説する。

ラフィド藻とハプト藻は大違い。ラフィド藻は大きく、ハプト藻は小さい（図1）

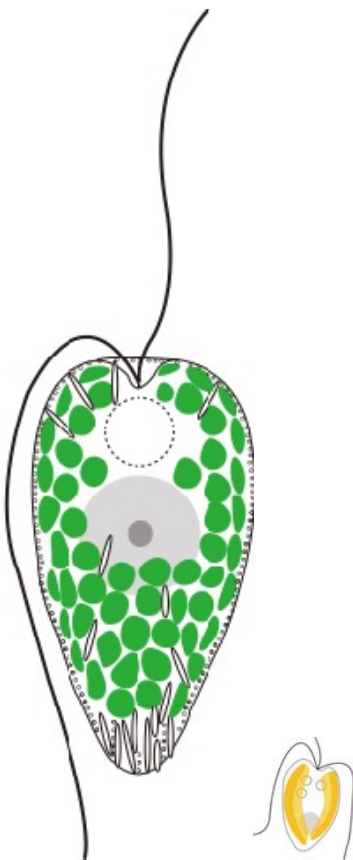


図1. 淡水産のラフィド藻（左）とハプト藻（右）を同じ倍率で比較した図。大きさからしていかに両者が異なるかわかるであろう。

## 2. ラフィド藻

淡水産のラフィド藻類は世界中に分布しているが、我が国においても広く分布する。時としてブルームを形成することが知られている。しかしながら、細胞がいわゆる裸で、殻などに守られていないために、固定サンプルでは細胞が破裂し、もとの形をとどめていない場合がほとんどである（図2）。したがって、特に現場でブルームを発見した場合には、一部のサンプルを「生」でしばらく冷蔵庫などに保存しておくことが望まれる。固定済みのサンプルの細胞が破裂して種類が同定出来ない場合の備えである。

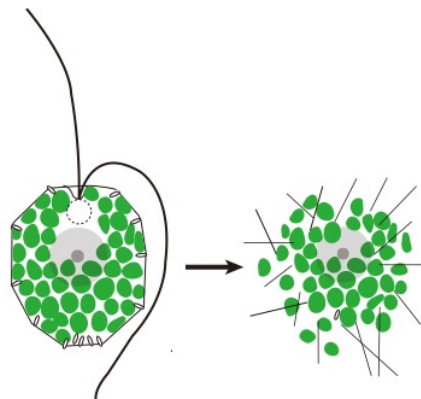


図2. ラフィド藻の細胞は固定などの刺激により容易に破裂する

ラフィド藻類（ラフィド藻綱）は珪藻類や黄金色藻類と同じ**不等毛植物門**に属する生物群である。不等毛の名が示すように細胞は2本ある鞭毛のそれぞれ形態や運動方法が異なるのが特徴である。ラフィド藻の一般的な特徴は（図3）、1）細胞は単細胞藻類としては比較的大きいものが多く、殻や細胞壁や鱗片で覆われておらずいわゆる「裸」の細胞をもつ（固定が困難）、2）鞭毛は2本で細胞前端付近のくぼみから伸び出す。比較的ゆっくりと泳ぐ。1本の鞭毛（前鞭毛）は前方に伸び、活発に波状運動をおこなうが、もう1本の鞭毛（後鞭毛）は細胞後方に伸び、曳航運動をおこなう、3）多数の葉緑体が細胞表面全体に分布する、4）海産のラフィド藻は褐色をしているが、淡水産のラフィド藻は緑色をしているのが特徴、5）射出装置をもつものがある。簡単に言えば、裸の細胞、多数の葉緑体、鞭毛藻としては比較的大型の細胞をもつことがラフィド藻類を不等毛類の他のグループから区別する主な特徴である。

## 3. 淡水産ラフィド藻の同定

**ラフィド藻は鞭毛藻としては大きい、緑色の葉緑体を多数もつのが特徴（図3-6）**

ラフィド藻はグループ全体でも10属程度と比較的小さい生物群であるが、そのうち淡水産のラフィド藻は3属が知られるのみである。すなわち、*Gonyostomum*（6種）、*Vacuolaria*（9種）、*Merotricha*（2種）の3属である。これらの淡水産のラフィド藻は高密度で繁殖して、ブルーム

を形成することがあるので生態的観点からも重要な植物プランクトンである。ここでは、属のレベルまで同定できれば十分であるので、以下に属の同定のポイントを示す (Fott in Huber-Pestalozzi 1968, 中山・山口 2018)。同定のポイントは生きている細胞をもとにしているので注意されたい。

### 淡水産ラフィド藻類の属の検索

1. 棒状の射出装置をもつ . . . . . 2
1. 棒状の射出装置をもたない . . . . . バキュオラリア属 (図 3A)
2. 棒状の射出装置が細胞全体に分布する . . . . . ゴニオストマム属 (図 3B)
2. 棒状の射出装置が細胞前端に集中して分布する . . . . . メロトリカ属 (図 3C)

\*射出装置：トリコシスト *trichocyst* とも呼ばれる。紡錘形の構造で細胞が刺激を受けると糸状の構造が射出される。これにより捕食者から身を守るのではとの説もある。

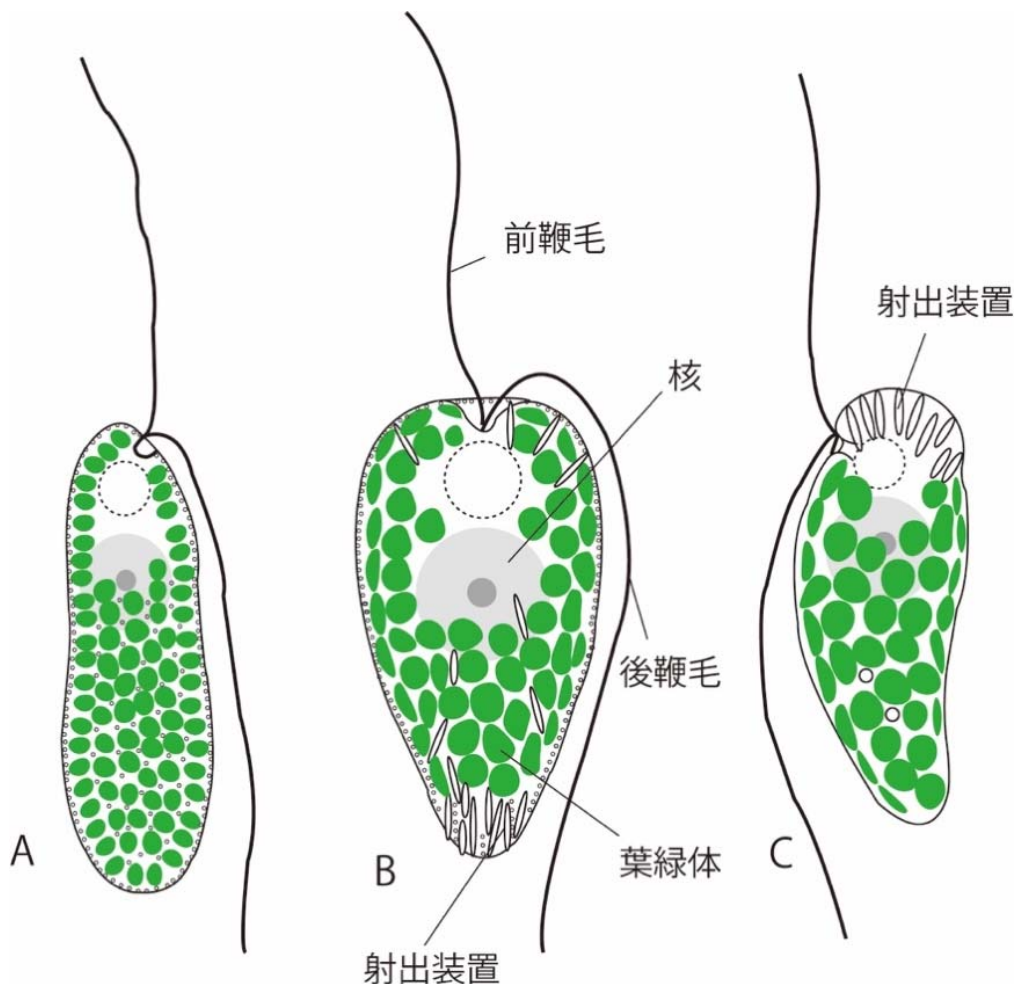


図 3. 淡水産ラフィド藻 3 属の特徴を示すスケッチ。A：バキュオラリア属 (*Vacuolaria*), B：ゴニオストマム属 (*Gonyostomum*), C：メロトリカ属 (*Merotricha*) (Fott in Huber-Pestalozzi 1968 より改変)

### 3-1. バキュオラリア属

細胞は卵形～楕円形でやや扁平（図4）。大きさは40～85ミクロン。核は比較的大きく、細胞の中央～前方に位置する。他の2属に見られる棒状の射出装置をもたない。葉緑体は、多数で細胞表面にびっしりと位置する。細胞表面には、光を反射する小顆粒が多数分布する。世界中に分布。時として大量に増殖してブルームを形成。



図4. バキュオラリア属の1種 *Vacuolaria virescens* (写真：筑波大学・中山剛氏提供)

### 3-2. ゴニオストマム属

細胞は楕円形または角ばった円形で扁平（図5）。大きさは40～90ミクロン。核は大きく、細胞のほぼ中央に位置する。葉緑体は多数で細胞表面にほぼびっしりと位置する。紡錘形の透明な射出装置が細胞表層に散在する。世界中に分布。時として大量に増殖してブルームを形成。特に *Gonyostomum semen*（図5左）は、ノルウェーやスウェーデンなどにおいて本種の発生している水域で水遊びなどを行った人が肌の炎症などの症状を訴える例が知られており本種のブルームを発見した際には注意が必要である（Hagmanら 2015）。

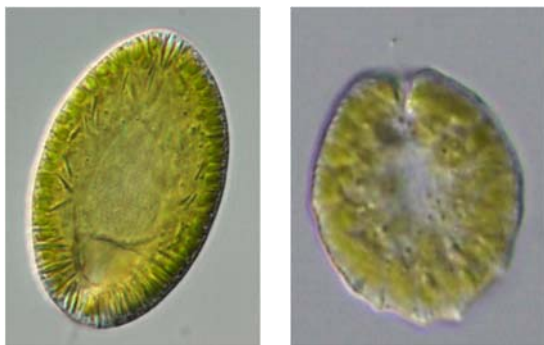


図5. ゴニオストマム属。 *Gonyostomum semen*（左）と *G. depressum*（右）（写真2枚とも：筑波大学・中山剛氏提供）

### 3-3. メロトリカ属

細胞は楕円形でやや扁平（図6）。大きさは40～70ミクロン。核は細胞のほぼ中央に位置する。葉緑体は多数、細胞表面にびっしりと分布する。射出装置は細胞の先端部分に多数集合する。世界中に分布。時として大量に増殖してブルームを形成する。



図 6.メロトリカ属の1種, *Merotoricha bacillata* (写真:筑波大学・中山剛氏提供)

#### 4. ハプト藻

ハプト藻類はハプト植物門に属する生物群で, 単細胞性または群体性。形態は多様性に富むがこのグループ全体に共通する特徴は, ハプトネマ (haptonema) と呼ばれる鞭毛のような糸状構造が1本, 2本の鞭毛の間にもつという点である (図6)。ハプトネマの長さは種によって様々で図6Aの様に細胞の何倍にも及ぶ長さのものもあれば, 図6Cのように短いハプトネマもある。種類によってはハプトネマをもつものの細胞の中に埋もれているようなごく短いものをもつものもある。長いハプトネマの場合には, 刺激を受けると図6Bのようにコイル状になることもある。ハプトネマは鞭毛に似ているものの構造は異なり, 機能としては, ハプトネマを介した基物への付着, センサー (障害物を検知), 捕食 (ハプトネマを使って細菌などの餌を捉える) などが知られている (筑波大学生物科学系植物系統分類学研究室ホームページ)。

ハプト藻の特徴はハプトネマをもつこと (図7)

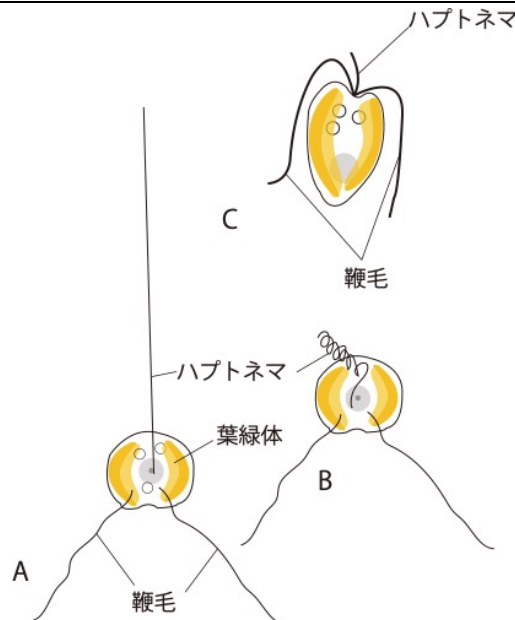


図7. 淡水産ハプト藻の模式図。A. クリソクロムリナ・パルバ *Chrysochromulina parva* (ハプトネマを伸ばした状態), B. *C. parva* (ハプトネマをコイル状に巻いたところ), C. プリムネシウム・パルブム *Prymnesium parvum*。

ハプト藻類の大部分の種類は海産種で 300 種以上が知られるが、淡水産の種はヒメノモナス属 *Hymenomonas*, クリソクロムリナ属 *Chrysochromulina*, アカンソイカ属 *Acanthoica*, アナカンソイカ属 *Anacanthoica*, パブロバ属 *Pavlova*, ディアクロネマ属 *Diacronema*, エクザンテマクリシス属 *Exanthemachrysis* の各属に所属する 10 種程度が知られるのみである。ここでは、ブルーム形成種として知られるクリソクロムリナ・パルバ (図 7A, B) とプリムネシウム・パルブム (図 7C) の 2 種類に関して言及する。

#### 4-1. クリソクロムリナ・パルバ *Chrysochromulina parva*

細胞は小さくてほぼ球形～角の丸い立方形 (図 7A)。大きさは 3~7 $\mu\text{m}$ 。2 本の鞭毛を持ち、通常はハプトネマを前に突き出し、鞭毛は後方に伸ばす (図 7A)。ハプトネマは 2 本の鞭毛の間から伸び出し 10~20 $\mu\text{m}$  程度で細胞長の 2~2.5 倍に達する。物にぶつかるなど刺激を受けるとハプトネマをコイル状に丸める性質がある (図 7B)。葉緑体は黄色で細胞の両側に 1 個ずつ位置する。細胞表面は有機質の鱗片に覆われるがこの鱗片は電子顕微鏡を使わないと確認できない。伊藤 (1989, 1990) によれば兵庫県の千刈貯水池, 烏原貯水池, 安場池からは春季に, 琵琶湖からは冬~春に本種が採集されている。このうち安場池では 59,000 細胞という高密度で出現したとの記録があり, ブルーム形成種として注意すべき種である。

#### 4-2. プリムネシウム・パルブム *Prymnesium parvum*

細胞は米粒型で, 細胞長は 8~10 $\mu\text{m}$  程度と小さい。細胞が米粒型をしていることから, クリプト藻の仲間と誤認される可能性はあるが, 本種の色調は黄色で, クリプト藻類のそれ (赤色, 青緑色など) とは異なること, 細胞の前端から伸びる 2 本の鞭毛の間から, 長くは無いものの顕微鏡でもはっきり認識できるハプトネマをもつことから, クリプト藻との区別は可能である。本種は, 一般的には汽水産種とされているが海水あるいは淡水での出現の記録もある。ブルーム形成種として知られるが, それに加えてプリムネシン (prymnesin) という毒性物質を生産することが知られている (例: Manning and La Claire II 2010)。この毒は主に魚類に対して毒性を示し, 家畜や人間に対しての毒性は知られていない。一見小さめのクリプト藻類に似た種類が出現した際には, ハプトネマの有無を確認することが重要である。

### 5. サンプルの採集・固定・計数

#### 5-1. ラフィド藻類

ラフィド藻類は細胞が脆弱で壊れやすいことから, プランクトンネットを用いての採集は不向きである (ネットとの接触などで細胞が破壊され, ネットの網目を塞いでしまう)。従ってラフィド藻の採集には調査マニュアル「動植物プランクトン調査編」で示されているバンドン採水器による採水が適している。

前述のようにラフィド藻類は細胞が浸透圧の変化に弱いためにルーチン的に行われる通常の調査の固定処理 (調査マニュアルによる) では, 細胞膜が破壊されるため形状を保持したままの固定は困難である。一方, 海産のラフィド藻類はしばしばブルームを形成し漁業被害などをもたら

す事から本グループの固定法の研究も以前から行われてきた。光学顕微鏡写真を撮影するための固定であれば、四酸化オスミウム (OsO<sub>4</sub>) の 1~2% 溶液で固定することにより比較的良く細胞形態を保持したまま固定できることが知られている (Hara ら 1994) が、四酸化オスミウムの毒性や非常に高価である事を考慮すると通常のプランクトン調査に用いることは現実的ではない。Katano ら (2009) の研究により、Hepes 緩衝液 (30mM) を用い、パラフォルムアルデヒド (1%) とグルタルアルデヒド (1%) の混合液に 0.5M のショ糖を加えて浸透圧調整をおこなった固定液が細胞の外形を保存しつつ固定ができることが示された。このような固定液は基本的には淡水産のラフィド藻にも応用可能とは思われるが、現場での実用化は難しいかもしれない。

ラフィド藻類の細胞数の計数のためには細胞の形を出来るだけ保ちつつ固定することが望ましいが、簡単なプロセスで固定することは難しい。したがって、竹本ら (2002) や小林ら (2021) が指摘するように、生細胞を用いて計数をおこなう他ないのが現状である。

#### 5-1-1. 必要な道具類

- 採水の方法と用具に関しては、調査マニュアル「動植物プランクトン調査編」に従う。
- メカニカルステージのついた倒立顕微鏡。ある程度高倍率まで観察できるなら実体顕微鏡も可。
- セディメントチャンバーあるいはスライドグラスとカバーグラス
- その他、必要なものに関しては、調査マニュアルの一般的な植物プランクトン調査に関して記載された内容に従う。

#### 5-1-2. 同定と計数

- ① 調査マニュアルにあるように、固定サンプル用以外に「固定しない試料も 50mL 採取」することが重要である (明らかなブルーム状態の場合には多め (100~200mL) に採取するのを勧める)。特に、ブルーム形成時には、属の同定までは行いたいので、その際の同定ではこの生サンプルを使用する (計数もこのサンプルを用いる)。
- ② 生サンプルは早めに顕鏡することが望ましいが、何日かは冷蔵庫等に入れておいても生存しているであろう。一般に鞭毛藻類は低温より高温に弱く、夏の室温などに放置すると鞭毛藻類はすぐに死んでしまうので注意が必要である。
- ③ ブルームなどのサンプルを用いての属の同定には、倒立顕微鏡または正立顕微鏡を用いて、スライドグラスの上にサンプルを滴下し、カバーグラスをかけて顕鏡する。比較的大きな細胞で、全体が緑色、多数の葉緑体をもっていればまず間違いなくラフィド藻であるので、上述の検索表に従い属名を決定する。
- ④ 上述のように計数のための固定法が開発されていないので、基本的には生細胞を用いてセディメントチャンバーを用いて計数をおこなう。ブルームなどで細胞数が多い時には、必要に応じて希釈する。
- ⑤ 通常の固定法による固定サンプルでもある程度変形していたとしてもラフィド藻であることが同定できるのであれば、計数は可能であろう。その場合には、属を同定せずラフィド藻の 1 種 (属不明) として構わない。



## 5-2. ハプト藻類

本稿で対象としたクリソクロムリナとプリムネシウムに関しては、調査マニュアル「動植物プランクトン調査編」で示されるルゴールまたはグルタルアルデヒドによる固定で問題ない。ルゴールの場合、葉緑体の色に変色するが、ハプト藻の同定の決め手はハプトネマを持つか否かのみで、この特徴は細胞の色調に左右されない。

### 5-2-1. 必要な道具類

- ▶ 採水の方法と用具に関しては、調査マニュアル「動植物プランクトン調査編」に従う。採水にはバンドン採水器を用いる。
- ▶ メカニカルステージのついた倒立顕微鏡あるいは正立顕微鏡。ハプト藻類は細胞サイズが小さいので高倍率（400倍など）での顕鏡が必要となる。
- ▶ セディメントチャンバーあるいはスライドガラスとカバーガラス
- ▶ その他、必要なものに関しては、調査マニュアルの一般的な植物プランクトン調査に関して記載された内容に従う。

### 5-2-2. 同定と計数

- ① 調査マニュアルに従って細胞を固定（ルゴール溶液あるいはグルタルアルデヒド溶液）する。
- ② 属の同定には、倒立顕微鏡または正立顕微鏡を用いて、サンプルを観察する。ハプトネマが観察されればハプト藻に間違いはない。ここで取り上げた2属はいずれもハプトネマは明瞭に細胞から突出しているため、気をつけて観察すれば見落とすことは無いであろう。ただし、クリソクロムリナの場合には長いハプトネマをコイル状に巻いている場合もあるので注意が必要である。
- ③ 細胞の計数も通常の植物プランクトンの方法を適用する。細胞が小さいので出来るだけ高倍率（400倍など）で観察をおこなう。
- ④ クリソクロムリナとプリムネシウムの違いは細胞の外形が異なることから、上述の図を参考にして属を同定する。

## 6. 引用文献

- Hagman, C.H.C., Ballot, A., Hjermmann, D. Ø., Skjelbred, B., Brettum, P. and Ptacnik, R. 2015. The occurrence and spread of *Gonyostomum semen* (Her.) Diesing (Raphidophyceae) in Norwegian lakes. *Hydrobiologia*. 744: 1-14.
- Hara, Y., Doi, K., and Chihara, M. 1994. Four new species of *Chattonella* (Raphidophyceae, Chromophyta) from Japan. *Jap. J. Phycol.* 42: 407-420.
- Huber-Pestalozzi, G. 1968. *Das Phytoplankton des Süßwassers, Systematik und Biologie*. 3 Teil. Cryptophyceae, Chloromonadophyceae, Dinophyceae 2. Auflage mit Neubearbeitung der Chloromonadophyceae von Professor Dr. B. Fott und neuestem Literaturverzeichnis (2nd Ed.), E.



Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart.

伊藤裕之 1989. 近畿地方の4湖沼における *Chrysochromulina parva* Lackely (プリムネシウム藻綱) の季節的消長。 *Jpn. J. Phycol.* 37: 117-122.

伊藤裕之 1990. 兵庫県南部の4湖沼における植物プランクトンの季節的消長：特に黄金藻について。 *Jpn. J. Limnol.* 51: 293-305.

Katano, T., Yoshida, M., Lee, Juyun, Han, Myung-Soo and Hayami, Y. 2019. Fixation of *Chattonella antiqua* and *C. marina* (Raphidophyceae) using HEPES-buffered paraformaldehyde and glutaraldehyde for flow cytometry and light microscopy. *Phycologia* 48: 473-479.

小林淳希・宮下洋平・大洞裕貴・織田さやか・田中邦明・松野孝平・山口篤・今井一郎 2021. 北海道渡島大沼および小沼における植物プランクトンの季節変動。 *Mem. Fac. Fish. Sci., Hokkaido Univ.* 60: 33-67.

Manning, S. R. and La Claire II, J. W. 2010. Prymnesins: Toxic metabolites of the golden alga, *Prymnesium parvum* Carter. *Mar. Drugs* 8: 678-704.

中山剛。山口晴代 2018. プランクトンハンドブック 淡水編。文一総合出版, 東京

竹本陽一・吉本勝弘・多田彰秀 2002. ラフィド藻 *Gonyostomum semen* の鉛直上昇移動に対する光と pH の影響。 *環境工学研究論文集* 39: 477-484.

筑波大学生物科学系植物系統分類学研究室ホームページ

<[https://www.biol.tsukuba.ac.jp/~ken/phycological\\_images/h/haptophytes.html](https://www.biol.tsukuba.ac.jp/~ken/phycological_images/h/haptophytes.html)>

文責：河川水辺の国勢調査「動物プランクトン」スクリーニング・グループ委員会 堀口健雄