

クリプト藻 *Urgorri complanatus* による汽水性赤潮の日本初記録

溝渕 綾*・土岡 宏彰・半田 信司

一般財団法人広島県環境保健協会 (〒730-8631 広島県広島市中区広瀬北町9-1)

Aya Mizobuchi*, Hiroaki Tsuchioka and Shinji Handa: Cryptophyte *Urgorri complanatus* causes red tides in brackish waters in Japan. Jpn. J. Phycol. (Sôru) 69: 10–13, March 10, 2021

Urgorri complanatus (Pyrenomonadales, Cryptophyceae) is a euryhaline cryptophyte originally described from a bloom in the Nervion River estuary, Spain. In this study, *U. complanatus* was identified from the blooms occurred in brackish waters in Ehime, Hiroshima, and Kochi prefectures in 2018–2020. Cells of the bloomed cryptophyte were ellipsoid, 16–24 μm in length, laterally asymmetrical, and possessing 4–6 lines of ejectosomes, three pyrenoids and an orange discoidal eyespot posteriorly located, which were consistent with those reported in *U. complanatus*. An 18S rDNA sequence determined from the NIES-4402 strain, isolated from Tenmagawa River estuary, Hiroshima in 2018, was closely related to the Spanish strain of *U. complanatus*. These results showed that *U. complanatus* has proliferated in Japanese estuaries, which are novel bloom records after the reports in southwestern European estuaries.

Key Index Words: bloom, Cryptophyta, plankton, pyrenoids, tidal area

Hiroshima Environment and Health Association, 9-1 Hirosekita-machi, Naka-ku, Hiroshima, Hiroshima 730-8631, Japan

*Author for correspondence: aya.mizobuchi@kanhokyo.or.jp

赤潮は、海域や淡水域ではよく知られた現象であるが、汽水域での報告は少なく、日本では、宍道湖(島根県)、湖山池(鳥取県)や淀沼(茨城県)といった汽水湖での発生が目目されている程度である(環境省 2014)。河川下流部で海水の影響を受ける感潮域(潮汐の変動によって水位が変動する場所)での赤潮発生事例としては、岡山県吉井川での *Cryptomonas stigmatica* Wislouch (岩本 2014)、沖縄県那覇市の2つの河川でのクリプトモナス科の藻類(藤崎ら 2012)、高知県中筋川での *Plagioselmis* sp. (畑ら 1987)、茨城県那珂川での *Cryptomonas* sp. および *Euglena* sp. (岩崎 1995) があげられる。これらは、*Euglena* sp. を除いてすべてクリプト藻の記録である。本報告では、広島県、高知県、愛媛県のいずれも河口付近の河川感潮域で確認された赤潮の原因種が、ピレノモナス目ゲミニゲラ科に属するクリプト藻 *Urgorri complanatus* Laza-Martinez であることが確認されたので報告する。本種は、Laza-Martinez (2012) により新属新種として報告された汽水性のクリプト藻で、2003年にスペイン・バスク州のネルビオン川河口の、低塩分の水域で発生した赤潮形成種として分離されたものである(Seoane *et al.* 2005)。本種は、当初クリプト藻の不明種として扱われていたが、スペイン産株(Cr1EHU)を用いて *U. complanatus* として新種記載されるとともに、フランスとポルトガルからも記録されている(Laza-Martinez 2012)。また、Seoane *et al.* (2012) は、原記載と同地域のカンダブリア海に面する河口、アジョとマリスマス・デ・サントーニャでの事例について、*U. complanatus* の種名を用いて報告

している。これらのビスケー湾の沿岸地域での一連の報告以外では、鳥取県の湖山池から *U. complanatus* の 18S rDNA の部分配列が検出されているが(Nishitani & Yamaguchi 2018)、赤潮形成の記録としては、今回が世界でも2番目の地域での報告となる。

試料は、広島県の天満川(太田川派川)で2018年6月15日、11月5日、2019年4月23日、猿候川(太田川派川)で2020年6月3日、高知県の中筋川(四万十川支川)で2019年1月31日、愛媛県の肱川で2019年5月15日に、いずれも赤潮発生時に着色した河川水を採水し(Fig. 1, Table 1)、微分干渉顕微鏡(Nikon Eclipse E600)による観察により、着色の原因種を同定した。また、広島県の天満川で2018年11月5日に採集した試料(SH-4297)からは無菌培養株SH-4297-e株を単離した。本株は、国立環境研究所微生物保存施設に寄託し、NIES-4402として保存されている。無菌培養株の単離は、実体顕微鏡(LEICA MZ7.5)下においてピペット洗浄法を用いて行い、培養はESM培地(岡市ら1982)の塩分を3.5倍希釈(およそ10 psu)したBESM液体培地を用い、22±1°C、白色蛍光灯下で、量子束密度50 μmol m⁻² s⁻¹、12時間明期12時間暗期の条件下で行った。NIES-4402株は、QIAamp DNA Mini Kit(Qiagen)を用いてDNA抽出を行った。18S rDNAの増幅には、ユニバーサルプライマーE21f(5'-ATCTGGTTGATCCTGCCAGT-3')、E1778r(5'-AATGATCCTTCCGCAGGTTTC-3') (平石 2001)を用いた。PCR増幅産物のシーケンス解析は、株式会社マクロジェン・

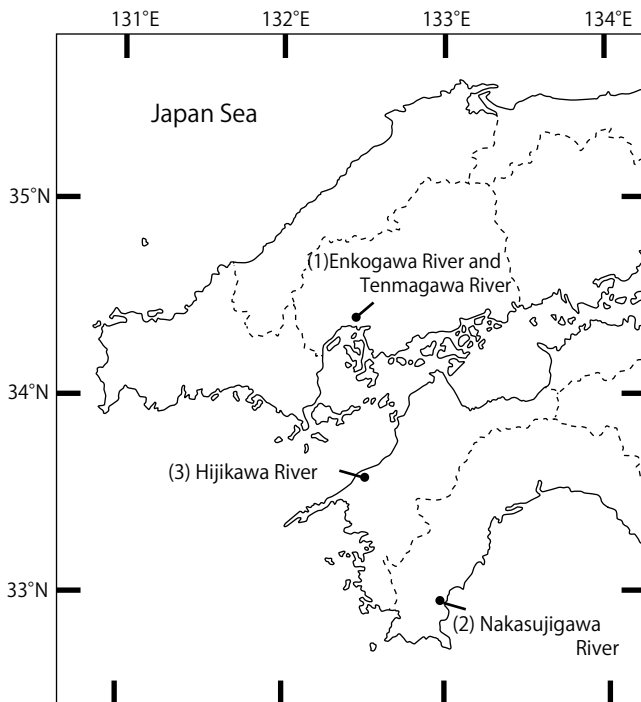


Fig. 1. Locations of the sampling sites of this study. Inner reaches of Enkogawa River and Tenmagawa River, Hiroshima, Hiroshima (1), Nakasujigawa River, Shimanto, Kochi (2), and Hijikawa River, Ozu, Ehime (3).

ジャパンに委託し、決定された塩基配列と原記載に用いたスペイン産株の塩基配列との比較を行った。

2018年から2020年にかけて河川の感潮域で確認された赤潮は、これまでに愛媛県、広島県および高知県の3県での事例で、いずれもクリプト藻が大増殖したものであった (Figs 2a, b)。それぞれの試料を観察した結果、いずれの細胞もピレノイドを3個もつ特徴から、*U. complanatus* と同定された。本種による赤潮の発生範囲は、いずれも河川の感潮域に当たり、広島県の天満川の赤潮のうち、2019年4月の発生時には、河口から約6.0 km 上流部に至るまで、河川水が帯状やまだら状に赤褐色に着色した様子が確認された。天満川での採水地点 (河口より5.7 km) の塩分は、2018年6月15日に4.0 psu、2018年11月5日に4.7 psu、2019年4月23日に2.8 psuであった。また、2020年6月の赤潮では、6月3日から11日にかけて天満川のほかに、太田川の複数の派川 (本川、元安川、京橋川、猿候川) で濃い着色が観察され、猿候川での採水地点 (河口より5.9 km) の塩分は1.5 psu、細胞密度は100,000 cells mL⁻¹であった。高知県の中筋川では、2019年1月31日に下流部で着色が確認され、採水地点 (四万十川合流部より上流3.0 km) での細胞密度は20,000 cells mL⁻¹であった。愛媛県の肱川では、2019年5月15日に河口付近から約6.0 km 上流部まで着色が確認され、採水地点 (河口より2.9 km) での塩分は5.2 psu、細胞密度は16,000 cells mL⁻¹であった。これらの赤潮発生事例において、*U. complanatus* がほぼ単独で

Table 1. Sampling date, location, salinity, and cell density of *Urgorri complanatus* blooms examined in this study.

Date	Sample No.	Location	Salinity (psu)	Cell density (cells mL ⁻¹)
15 Jun 2018	SH-4291	Tenmagawa River (Hiroshima, Hiroshima)	4.0	–
5 Nov 2018	SH-4297	Tenmagawa River (Hiroshima, Hiroshima)	4.7	–
31 Jan 2019	SH-4307	Nakasujigawa River (Shimanto, Kochi)	–	20,000
23 Apr 2019	SH-4312	Tenmagawa River (Hiroshima, Hiroshima)	2.8	–
15 May 2019	SH-4314	Hijikawa River (Ozu, Ehime)	5.2	16,000
3 Jun 2020	SH-4338	Enkogawa River (Hiroshima, Hiroshima)	1.5	100,000

赤褐色の着色の原因となっており、混在種がみられた場合でも2018年11月5日の天満川の試料では、珪藻 *Asterionella formosa* Hassall が総細胞数の2%、中筋川の試料では黄金色藻 *Chrysococcus* sp. が2%、および *Luticola* sp. を主体とした珪藻類が1%、肱川の試料ではユーグレナ藻 *Eutreptiella* sp. が1%と、淡水産の流下珪藻や汽水性種がごくわずかに混在しているに過ぎなかった。クリプト藻の増殖はダム湖などの淡水の湖沼でも一般的であるが、今回観察されたクリプト藻と大きさの類似した *Cryptomonas* の増殖についてみると、10,000 cells mL⁻¹ を超えることはまれで (国土交通省 2020)、本種による赤潮は相当高濃度といえる。なお、Laza-Martinez (2012) の *U. complanatus* の場合、本種の40,000 cells mL⁻¹ 近い細胞密度が記録されている。また、*U. complanatus* による赤潮は、着色が不均質で、わずかな位置や水深の違いによって濃度は大きく異なっている模様である。塩分は、採取地点のほとんどが赤潮発生範囲の上流部分であったこともあり、1.5–5.2 psu と比較的極めて、海水の5–15%程度の濃度であった。Laza-Martinez (2012) によれば、*U. complanatus* が増殖するための最適な塩分は10 psu とされるが、塩分に対して広い適応性を持ち、培養条件下では2–35 psu の範囲で増殖としている。この生理的特性により、塩分の変化が激しい感潮域に適応して赤潮を形成していると考えられる。赤潮発生の時期については、Laza-Martinez (2012) では春の終わりころから夏に多いとされているが、今回の日本での事例では、高知県中筋川で冬季にもみられており (水温9.8°C)、季節を問わず突発的に発生している模様である。なお、*U. complanatus* の赤潮による魚類のへい死や悪臭の発生など、環境に対する影響は確認されていない。

Urgorri complanatus は2本の不等長の鞭毛を持つ単細胞遊泳性種で、細胞は左右非対称の長い楕円型で、背腹に扁平である (Fig. 2c)。今回観察された藻体は、いずれの試料においても細胞の長さは16–24 μm (平均20 μm, n = 40)、幅は8–13 μm (平均10 μm, n = 40) で、原記載とほぼ一致する。

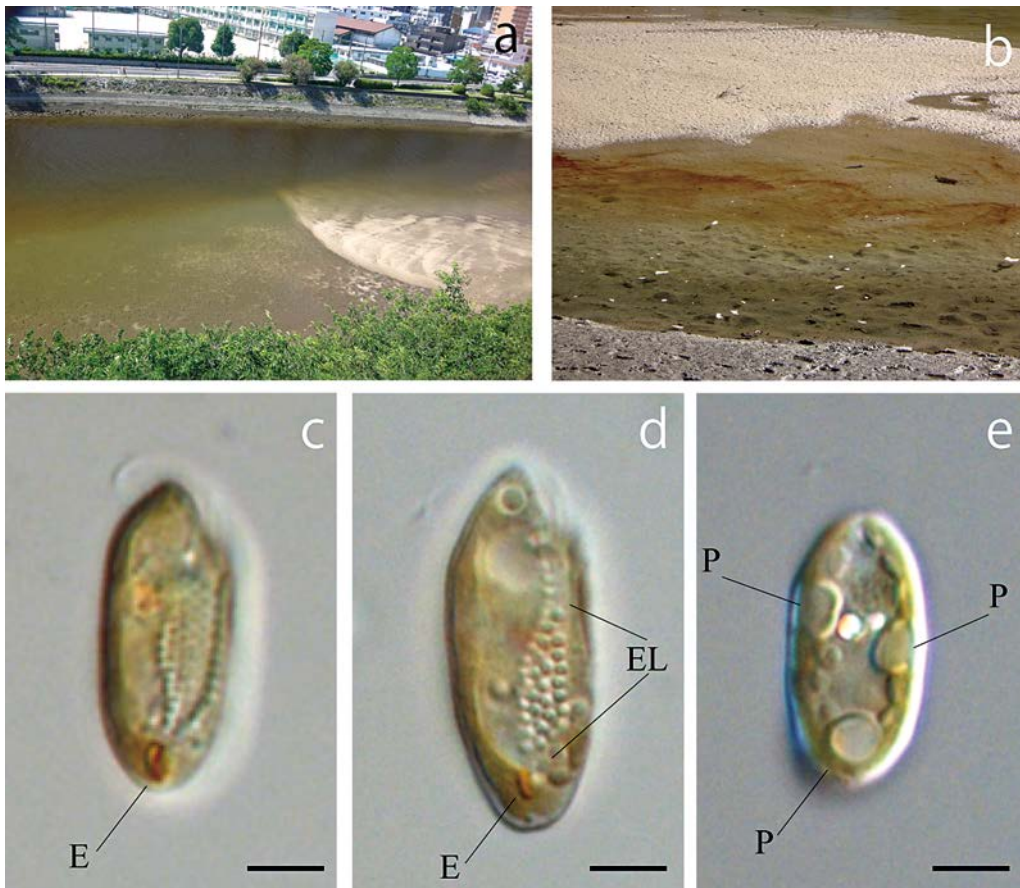


Fig. 2. Red tides and light microscopy of *Urgorri complanatus*. (a, b) The reddish-brown discoloration caused by the proliferation of *Urgorri complanatus* (Tenmagawa River, Hiroshima). (a) 8 June 2020, (b) 5 November 2018. (c, d) Typical cell shape in ventral view, showing the eyespot (E) in the cell posterior and ejectosome lines (EL). (e) Dorsal view showing the three pyrenoids (P). Scale bars = 5 μm . (c) SH-4314, (d) SH-4307, (e) SH-4291.

エジェクティソーム（射出体）は細胞腹面に粒状に並んでおり（Fig. 2d），原記載には複数列としか示されていないが，各地点の試料で観察した結果，4–6列が主体となっていた。葉緑体は2裂片で褐色，1個の眼点が核の後部に位置する（Figs 2c, d）。ピレノイドは球形で直径3–4 μm ，葉緑体の各裂片の前部にそれぞれ1個ずつ，および後部に1個の計3個有する（Fig. 2e）。この，ピレノイドを3個持つ特徴は，既知クリプト藻の中では唯一のものである。本種は，縦溝が発達しガレット（咽喉部と呼ばれる陥入部）が欠けていることも特徴であるが，光学顕微鏡では識別することができなかった。縦溝とガレットの有無や縦溝の長さは，クリプト藻の分類形質として重要であるが，走査型電子顕微鏡（SEM）による観察が必要となる形質であり，光学顕微鏡による判別は困難とされている（Novarino 2012）。

今回観察されたクリプト藻は，形態的に *U. complanatus* と同定されたが，系統的な関連を調べるため，本種の単離培養株（NIES-4402）の18S rDNAについて塩基配列を決定した結果，1,734塩基対が得られた（LC550391）。これをスペイン産株（Cr1EHU）の配列（JN050857）と比較した結果，共

通部分の1,696塩基対中の相違は2塩基のみ（99.9%の相同性）であった。相違の見られた2塩基は，JN050857における3'および5'末端直近でのそれぞれ1塩基の欠落で，解析精度の問題である可能性が高く，それらを除くと100%一致した。また，BLAST検索によると，未同定の海産プランクトンとして登録されている18S rDNA配列（FR874777）が，NIES-4402の配列と4塩基のみの相違（99.8%の相同性）であった。本データは，ノルウェー・ベルゲンの沿岸から得られたものである。この地域は氷河の融解水の影響を受けるフィヨルド地帯であり，塩分は低いことが想定され，*U. complanatus* の生育には好適な環境と思われる。また，Nishitani & Yamaguchi (2018)により，汽水湖である鳥取県の湖山池から得られた *U. complanatus* とされている18S rDNA配列（LC334058）は，部分配列（792 bp）ではあるが，スペイン産株とも広島県産株も共通部分では100%一致を示し，*U. complanatus* である可能性は高い。

クリプト藻による汽水域での赤潮発生の過去の記録を精査すると，*U. complanatus* によるものと推察される事例がいくつか見受けられる。Menezes & Novarino (2003)によりブ

ラジルの河口で報告された未記載のクリプト藻は、*Urgorri* と同じゲミニゲラ科に属する *Teleaulax* に似ているとされている。この事例に関して、Laza-Martinez (2012) は、本種が *U. complanatus* である可能性が高いと指摘している。確かに、論文中の顕微鏡写真において3個のピレノイドが確認できることや、出現した場所の塩分が2–30 psu に変動する汽水域であることなど、*U. complanatus* の特徴に合致している。日本での河川感潮域での赤潮の発生事例のうち、クリプトモナス科の一種としている沖縄県の事例も、論文中の顕微鏡写真（藤崎ら 2012: 図5）で、眼点と思われるオレンジ色の顆粒が細胞後方に認められることから、*U. complanatus* である可能性が高い。この報告では、ガレットが存在しピレノイドが1つと記録されている点は *U. complanatus* の形質とは異なるが、顕微鏡写真ではピレノイドが不明瞭で、ガレットは光学顕微鏡での判定が困難なことを考慮すると、これらの形質は不確定と判断される。河川の感潮域は都市部に位置することが多く、感潮域での赤潮の発生は景観への影響も含め着目されやすい。今後は本種の増殖要因を含め、広域的な発生範囲、季節的な消長や気象条件との関連など、詳細に調査を行ってきたい。

本調査に際し、高知県中筋川の試料は、「平成30年度 渡川水系水質採水分析業務, 国土交通省」、愛媛県肱川の試料は「平成31年度 肱川水質採水分析業務, 国土交通省」で採水された試料を利用させていただいた。ご協力いただきました関係者の皆様に心より感謝申し上げます。

引用文献

- 藤崎菜津子・仲宗根一哉・天願博紀 2012. 那覇市国場川及び久茂地川で発生した赤潮事例について. 沖縄県衛生環境研究所報 46: 111–114.
- 畑幸彦・西島敏隆・橋本尚之 1987. 中筋川下流域における淡水赤潮. 高知大学黒潮圏研究所報 1: 87–94.
- 平石明 2001. リボソーム RNA 遺伝子の塩基配列. 鈴木健一郎・平石明・横田明 (編) 微生物の分類・同定実験法. pp. 48–64. シュプリンガー・フェアラーク東京, 東京.

- 岩本俊樹 2014. 吉井川河口域で発生するクリプトモナス赤潮とその発生環境. 岡山水研報告 29: 56–60.
- 岩崎順 1995. 濁沼・那珂川河口域に発生する赤潮. 茨城内水試研報 31: 83–91.
- 環境省 2014. 日本の汽水湖～汽水湖の水環境の現状と保全～, 第3章 汽水湖の現状と課題, pp. 71–153. 2014年12月19日更新 (2020年5月21日閲覧). https://www.env.go.jp/water/kosyou/brackish_lake/chpt3.pdf
- 国土交通省 2020. 河川環境データベース. 2020年5月1日更新 (2020年5月19日閲覧). <http://www.nilim.go.jp/lab/fbg/ksnkankyo/index.html>
- Laza-Martinez, A. 2012. *Urgorri complanatus* gen. et sp. nov. (Cryptophyceae), a red-tide-forming species in brackish waters. J. Phycol. 48: 423–435.
- Menezes, M. & Novarino, G. 2003. How diverse are planktonic cryptomonads in Brazil? Advantages and difficulties of a taxonomic-biogeographical approach. Hydrobiologia 502: 297–306.
- Nishitani, G. & Yamaguchi, M. 2018. Seasonal succession of ciliate *Mesodinium* spp. with red, green, or mixed plastids and their association with cryptophyte prey. Sci. Rep. 8: 17189.
- Novarino, G. 2012. Cryptomonad taxonomy in the 21st century: The first 200 years. In: Wolowski, K., Kaczmarek, I., Ehrman, M. J. & Wojtal, A. Z. (eds.) Phycological report: Current advances in algal taxonomy and its applications: Phylogenetic, ecological and applied perspective. pp. 19–52. Institute of Botany Polish Academy of Sciences, Kraków.
- 岡市友利・西尾幸郎・今富幸也 1982. 有毒プランクトン研究法—試料の採集と培養. 日本水産学会 (編) 有毒プランクトン—発生・作用機構・毒成分. pp. 22–34. 恒星社厚生閣. 東京.
- Seoane, S., Laza, A., Urrutxurtu, I. & Orive, E. 2005. Phytoplankton assemblages and their dominant pigments in the Nervion River estuary. Hydrobiologia 549: 1–13.
- Seoane, S., Puente, A., Guinda, X. & Juanes, J. A. 2012. Bloom forming and toxic phytoplankton in transitional and coastal waters of Cantabria region coast (Southeastern Bay of Biscay, Spain). Mar. Pollut. Bull. 64: 2860–2866.

(2020年12月2日受付, 2021年1月29日受理)
通信担当編集委員: 岩滝 光儀