

上水試験方法 2020 年版 補遺

「生物障害の原因となる *Phormidium tenue* とその記載内容の取り扱いについて」日本水道協会 水質試験方法等調査専門委員会
微生物・生物部会

1. はじめに

藻類の分類学的研究の進展により分類体系は随時見直され、それに伴い藻類の学名は変更される。水質試験方法等調査専門委員会の微生物・生物部会では、この学名変更に対応するために、上水試験方法 2020 年版の改訂時に生物障害の原因となる藍藻類について新旧学名の対応表を作成し、掲載した。その中で、光学顕微鏡を用いた藻類の形態的観察に基づいた Geitler の旧分類体系¹⁾において *Phormidium tenue* Gomont 1892 の学名が与えられていた種は、形態に加えて、遺伝子、細胞内構造等に基づいて新たに示された Komárek および Anagnostidis の新分類体系²⁻⁶⁾では *Leptolyngbya tenuis* (Gomont) Anagnostidis et Komárek 1988 に変更されたことを記載している。その一方、水道分野でこれまで *Phormidium tenue* (*P. tenue*)とされてきた生物は、Komárek および Anagnostidis の新分類体系の *Pseudanabaena* 属の複数種に分類されることが明らかとなった⁷⁻¹⁰⁾。これにより、旧分類体系での *Phormidium tenue* Gomont 1892 という学名から新分類体系で *Leptolyngbya tenuis* (Gomont) Anagnostidis et Komárek 1988 に学名変更された生物は、これまで本邦の水道分野で *P. tenue* とされてきた生物とは異なるものであることが示された。また、検査機関によって異なる *Pseudanabaena* 属の種が同一の *P. tenue* として誤認識されてきたことも明らかになった。

以上の背景のもと、この補遺では、本邦の水道分野において、生物試験の実施における混乱を回避し、新しい科学的知見に基づき生物試験結果が正しく記録、報告される一助となるように、上水試験方法 2020 年版において「*Phormidium* 属」、「*Phormidium tenue*」等と記載されている箇所およびそれらの解釈について解説する。

2. 解説

2.1. 藍藻類の分類体系の変化

従来、藍藻類の分類は、光学顕微鏡による観察に基づいた Geitler の旧分類体系¹⁾が用いられてきた。一方、1983 年に開催された第 9 回国際藍藻研究会シンポジウムにおいて、当時の最新の知見を取り入れてこの分野をより発展させることが検討され、Komárek および Anagnostidis は 1985 年から 1990 年にかけて「Modern approach to the classification system cyanophytes」を 5 編 400 ページに及ぶ論文として発表し、新しい分類体系を提案した²⁻⁶⁾。この新分類体系は、従来から蓄積されてきた形態的、生態的特徴等の知見に加えて、遺伝子解析や透過型電子顕微鏡観察による細胞内構造等の新たに判明した情報を総合した検討結果に基づいて、それぞれの生物を分類し直している。

こうした分類形質の詳細な検討の結果、旧分類体系で同じ属として扱われていた生物が新分類体系では複数の属に再分類されたものも存在する。例えば、旧分類体系で *Anabaena* とされていた生物については、新分類体系では *Anabaena*、*Trichormus*、*Dolichospermum*、*Sphaerospermopsis* に移され、同様に *Phormidium* とされていた生物は、*Phormidium*、*Leptolyngbya*、*Pseudanabaena* 等に移されている。特に水

道に関係するユレモ目の生物のうち、旧分類体系で *Phormidium* あるいは *Oscillatoria* とされていた生物に関しては、新旧学名の対応が非常に複雑になっている。詳しくは、上水試験方法 2020 年版の V. 生物編 (p.336-337) に掲載した対応表を参照されたい。

2.2. 水道分野でこれまで *Phormidium tenue* として扱われたものは *Pseudanabaena* 属の複数の種であること

1) *Phormidium tenue* をめぐる分類と水道における本種の扱い

Phormidium tenue は 1892 年に Gomont により命名された¹¹⁾。Geitler によれば、その形態は「藻塊は鮮やかな青緑色で皮膚状に広がる。トリコームは真っ直ぐかやや曲がり、幅 1~2 μm 、鮮やかな青緑色で細胞間でわずかにくびれる。先端は細くなり、鞘は薄く粘液質で、クロールチンクヨードで紫色に変色する。細胞の長さは幅の 3 倍で 2.5~5 μm 、隔壁に沿って顆粒を有しない。カリプトラはない。」¹⁾と記されている。また形態のスケッチとしては、鞘がないトリコームが描写されている。

国内の図鑑では、水野の「日本淡水プランクトン図鑑」(1964 年初版発行)¹²⁾において本種が初めて記載された。同図鑑の 1977 年改訂版¹³⁾における形態の記述は Geitler¹⁾と若干異なるが、スケッチについては Geitler の図¹⁾と同様であった。1977 年に発行された廣瀬・山岸の「日本淡水藻図鑑」¹⁴⁾では、形態の記述は Geitler¹⁾と同様であった。

1970 年代になると国内の貯水池や湖沼等の水源において 2-MIB の発生が著しくなり、各地で浄水処理障害が報告されるようになった^{15,16)}。当時の分類、同定は、主に Geitler の「Cyanophyceae」¹⁾や廣瀬・山岸の「日本淡水藻図鑑」¹⁴⁾を基に行われ、*P. tenue* が 2-MIB を産生する浄水処理障害の代表的な原因生物として報告されるようになった。

こうした状況を反映して、水道分野においては、「上水試験方法 1985 年版」¹⁷⁾に初めて本種が記載された。1985 年版では、2-MIB 産生種として、写真とともに本種の形態の簡単な記述が掲載された。続いて、川北の「水道藻類分類解説」¹⁸⁾において Geitler¹⁾とほぼ同様の形態の詳細な記述とスケッチが掲載され、2-MIB 産生種として扱われた。さらに、「上水試験方法 1993 年版」¹⁹⁾において写真とスケッチが併せて紹介された。以降の上水試験方法や 1993 年(初版、2008 年改定版)の「日本の水道生物—写真と解説—」²⁰⁾でもおおむね同様の記述が行われて現在に至っている。

一方、2.1 にあるように 1985 年から 1990 年にかけて Komárek および Anagnostidis によって藍藻類の属以上のレベルの分類体系が大幅に見直された新分類体系が提唱された²⁻⁶⁾。*Phormidium tenue* Gomont 1892 は、トリコーム幅がおもに 4~12 μm で細胞の長さと同様の幅がほぼ等しい *Phormidium* 科ではなくトリコーム幅が最大で 4 μm までの *Pseudanabaena* 科の *Leptolyngbya* 属に移されて *Leptolyngbya tenuis* (Gomont) Anagnostidis & Komárek 1988 に学名が変更された。また、本種の形態については 2005 年に刊行された Komárek および Anagnostidis の「Cyanoprokaryota Part 2: Oscillatoriales」²¹⁾において以下のように詳しく記された。

藻塊は青緑色またはエメラルドグリーン、時には黄緑色からオリーブグリーンで、薄い膜状に広がり、通常は柔らかく、時おりやや硬い。糸状体は長く、真直で、平行に並び、時おり多少曲がって絡み合い、しばしば湾曲し、またはリング状に丸くなる。鞘は非常に薄く、通常は不明瞭で粘液性で、無色である。トリコームは青緑色、またはエメラルドグリーンからオリーブグリーン、真直で幅 0.8~2 μm 、ゆっくりと滑走、振動、または回転し、細胞間の隔壁は通常は明瞭、半透明で顆粒を持たず、多くはわずかに、あるいは弱くくびれるが、くびれない場合もある。先端部は時おり徐々にあるいは急に細くなり、また

曲がることもある。細胞の長さは幅のおおむね2~5倍で、1.5~7 μm 、細胞内容物は均一または顆粒状。先端細胞は多少細長く、曲がり、円錐形で、カリプトラや肥厚した外膜を持たない²¹⁾。一方、トリコームのスケッチについては Geitler¹⁾と同様の描写に加えて粘質鞘の記載があるものや細胞が非常に細長いトリコームの図も併せて示された。

Anagnostidis および Komárek による新分類体系²⁻⁶⁾の公表以後も、水道分野においては浄水処理における水質管理の一環である生物試験で電子顕微鏡的な細胞内微細構造の観察や遺伝子検査を日常的に行うことは困難であり、また *P. tenue* はかび臭原因生物の代表的な名前として浸透しており、学名の変更は過去のかび臭発生に関するデータとの照合を困難にする等の理由から、学術的な動向を注視しつつも学名変更には慎重な対応が必要とされた。一方、学会等では水源等に出現して *P. tenue* とされてきた生物の特徴は新分類体系における *Pseudanabaena* 科と一致することから、これを *Pseudanabaena* 科の生物として扱った研究が現れるようになり、わが国で *P. tenue* とされてきた生物の種名に混乱が生じることとなった。

2) *Phormidium tenue* とされた生物をめぐる新たな研究成果と課題および今後の対応

このような状況において、琵琶湖の *P. tenue* から確立された分離株を含む *P. tenue* 様の糸状性藍藻に関する詳細な分類学的研究が 2016~2018 年に辻・新山らによって公表された。それらの研究により、琵琶湖、霞ヶ浦、芹川ダム湖等から得られた *P. tenue* 様の藍藻は、新種を含む *Pseudanabaena* 属の複数の種に分類されること⁷⁻⁹⁾、これらは 2-MIB 産生能を有するもので 3 新種 5 分類群、2-MIB 非産生のものを含めると 10 分類群近くになること¹⁰⁾ が示された。加えて、これらの *Pseudanabaena* 属について遺伝子を用いた分子同定法を併用せずに細胞サイズや光学顕微鏡レベルでの形態観察のみで種を正確に同定することは極めて難しく、またかび臭産生の有無を識別するには遺伝子を用いた分子生物学的手法や質量分析等による培養株からの 2-MIB 産生の確認を組み合わせた調査を行う必要があることが指摘された¹⁰⁾。

これまで発行されている藍藻の図鑑は、新旧分類体系のいずれも「スケッチ」を基本としており、顕微鏡写真の掲載による詳細な描写はない。粘質鞘の状態や顕微鏡での見え方、細胞間のくびれや細胞の内部構造等の詳細に関して、スケッチからは十分に把握することはできない。したがって、従来の図鑑等でのスケッチや形態的な特徴の記述のみを基に *P. tenue* およびこれに類似した藍藻を正確に同定することは非常に難しいことを理解しておく必要がある。このような背景により、これまでの *P. tenue* およびこれに類似した藍藻の同定にはある程度の不確実さがあったことは否めず、水道分野において検査機関によって異なる *Pseudanabaena* 属の種を同一の *P. tenue* として報告していた可能性が考えられる。これらの課題については浅田および秋葉が「形態的特徴による藻類同定の限界点」として詳細に解説している²²⁾。

以上の点を踏まえて、水源における藻類の監視を行う上で、従来の顕微鏡による形態観察のみでは正確な分類が困難な生物については、今後は併せて遺伝子検査を相補的に用いることが望ましい。また水道分野において従来 *P. tenue* とされた糸状性藍藻類については、新分類体系では「*Pseudanabaena* sp.」

(*Pseudanabaena* 属と考えられるが色調や細胞サイズ等が明らかに異なる複数種が同時に出現している場合は「*Pseudanabaena* spp.」もしくは「複数種の *Pseudanabaena* 属藍藻」として扱うのが適当である。光学顕微鏡を用いた日常の水質検査の際は、例えば「*Pseudanabaena* 属を含む糸状性藍藻」等の表記で計数することが望ましい。同定の際には、国内で観察される主な生物については国立科学博物館のウェ

ブページ²³⁾において写真とともに解説されているため参考にされたい。また、学会や論文等において、水源における藻類の調査結果や藻類株を用いた実験結果を報告する際は、新分類の名称にカッコ書きで旧分類の名称を併記する方法^{24, 25)}も取られているので参考にされたい。なお、日常の水質検査においては、かび臭発生や浄水処理障害の有無との関連性を判断し、また過去の生物試験成績との連続性を保つ必要があるため、旧分類における学名や形態、かび臭物質産生能、生態等の特徴を詳細に記録しておくことが重要である。

3. 上水試験方法 2020 年版において *Phormidium* 等と記載された箇所の解釈

以上のこれまでの知見のもと、上水試験方法 2020 年版において *Phormidium* 等と記載された箇所は、以下の 3 通りに分類される。

- ① 異臭味（かび臭）の原因として試験対象となる生物や試験時に糸状体として計数する生物として *Phormidium*（フォルミジウム属）と記載されたもの
- ② 国内の水道分野において従来 *Phormidium tenue* とされてきたもの
- ③ 引用文献において *Phormidium*（フォルミジウム属）や *Phormidium tenue* と記載されたもの

①については、水道分野において従来 *P. tenue* とされてきたものも含まれるが、旧分類体系での *Phormidium autumnale*（新分類体系で *Microcoleus autumnalis* に学名変更）等、*Pseudanabaena* sp.以外の分類群の藍藻が含まれる記載であり、単純に *Pseudanabaena* sp.として扱うことはできないので注意が必要である。②については、かび臭（2-MIB）を産生する代表的な生物として記載された箇所であり、新分類体系において *Pseudanabaena* sp.として扱うことが適当である。③については、学名の変更について解説した箇所、計数方法の検討に用いられた生物名や調査対象試料から検出された生物名等として記載された箇所である。引用文献によっては水道分野において従来 *P. tenue* とされてきたものを示した可能性もあるが、①と同様にすべてを *Pseudanabaena* sp.として扱うことはできないので注意が必要である。また、以下の表 1 には、上水試験方法 2020 年版において *Phormidium* 等と記載された箇所とその解釈について整理したので参考にされたい。

謝辞

本補遺の作成にあたり、元東京都健康安全研究センター・保坂三継氏、滋賀県立琵琶湖博物館・根来健氏、日本水道協会・茂野誠一氏、神奈川県企業庁・北村壽朗氏、京都大学・浅田安廣氏には多大なるご指導とご協力を賜った。ここに記して深く謝意を表す。

表 1. 上水試験方法 2020 年版において *Phormidium* 等と記載された箇所およびその解釈

頁	行, 図表	節, 項目	解釈 a)
生物編			
310	表 V-1.2	7.1 試験対象生物	①
312	表 V-1.3	7.2 生物の計数単位	①
316	図 V-1.18	7.2 生物の計数単位	①
319	表 V-1.4	7.3 試験結果の整理	①
322	下から 3 行目	8.2.1 植物界の分類	②
335	下から 4 行目	8.5 生物名の取扱い	③
345	15	水道障害生物カラー写真	②
378-379	藍藻類 3	第 6 図版 異臭味 (かび臭) 障害原因生物	①
450	20, 25 行目	(2) 藍藻類用培地 a) CT 培地, b) BG-11 培地	①
460	24 行目	1.2 藻類増殖の潜在能力 (AGP) 試験 1) 供試藻類と培地 (3) 水道障害生物種	②
資料編			
70	下から 11 行目	7.4.1 湖沼、貯水池の生物 2) 異臭味障害 (1) かび臭	②
267	6 行目	1.2.2 標準計数板法とその他の方法の比較 1) 生物の分散	③
268	表 I-6.6	1.2.2 標準計数板法とその他の方法の比較 2) 計数值と変動係数の関係	③
269	図 I-6.6	1.2.2 標準計数板法とその他の方法の比較 5) 各試験方法の個別の問題点に対する検証	③
281	12 行目, 下から 2 行目	2.4 異臭味障害	①
282	図 I-6.16,	2.4 異臭味障害	①
	下から 1 行目	2.4.1 かび臭	②
283	表 I-6.13	2.4.1 かび臭	②
284	表 I-6.14,	2.4.4 障害生物数と異臭味障害,	①
	下から 14, 7, 4 行目	2.4.5 異臭味物質産生能	
285	表 I-6.15	2.4.5 異臭味物質産生能	①
290	下から 16 行目	3.1.2 河川	①
295	下から 4 行目	3.4 受水槽、高置水槽	③
296	3 行目	3.4 受水槽、高置水槽	③

a) ①～③の説明は、前ページ参照。

参考文献

- 1) Geitler, L. Cyanophyceae. In: Rabenhorst's Kryptogamen-flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz 14. Akad. Verlagsges. Leipzig. 1932, p.1-1196.
- 2) Anagnostidis, K. and Komárek, J. Modern approach to the classification system of cyanophytes. 1-Introduction. Arch. Hydrobiol. Suppl., 71, Algological Studies. 1985, 38/39, p.291-302.
- 3) Anagnostidis, K. and Komárek, J. Modern approach to the classification system of cyanophytes. 3-Oscillatoriales. Arch. Hydrobiol. Suppl., 80, Algological Studies. 1988, 51-53, p.327-472.
- 4) Anagnostidis, K. and Komárek, J. Modern approach to the classification system of cyanophytes. 5-Stigeonematales. Arch. Hydrobiol. Suppl., 86, Algological Studies. 1990, 59, p.1-73.
- 5) Komárek, J. and Anagnostidis, K. Modern approach to the classification system of cyanophytes. 2-Chroococcales. Arch. Hydrobiol. Suppl., 73, Algological Studies. 1986, 43, p.157-226.
- 6) Komárek, J. and Anagnostidis, K. Modern approach to the classification system of cyanophytes. 4-Nostocales. Arch. Hydrobiol. Suppl., 82, Algological Studies. 1989, 56, p.247-345.
- 7) Niiyama, Y., Tuji, A., Takemoto, K., and Ichise, S. *Pseudanabaena foetida* sp. nov. and *P. subfoetida* sp. nov. (Cyanophyta/Cyanobacteria) producing 2-methylisoborneol from Japan. Fottea. 2016, 16(1), p.1-11.
- 8) Tuji, A. and Niiyama, Y. The identity and phylogeny of *Pseudanabaena* strain, NIES-512, producing 2-methylisoborneol (2-MIB). Bull. Natl. Mus. Nat. Sci., Ser. B. 2016, 42(3), p.83-89.
- 9) Tuji, A. and Niiyama, Y. Two new *Pseudanabaena* (Cyanobacteria, Synechococcales) species from Japan, *Pseudanabaena cinerea* and *Pseudanabaena yagii*, which produce 2-methylisoborneol. Phycological Res. 2018, 66(4), p.291-299.
- 10) 辻彰洋, 新山優子. *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. 2018, 54(4), p.115-120.
- 11) Gomont, M.M. Monographie des Oscillariées (Nostocacées Homocystées), Ann. Sci. Nat. Bot., Ser. 1892, 7, p. 263-368.
- 12) 水野壽彦. 日本淡水プランクトン図鑑. 保育社, 1964.
- 13) 水野壽彦. 日本淡水プランクトン図鑑. 改訂版, 保育社, 1977.
- 14) 廣瀬弘幸, 山岸高旺 編. 日本淡水藻図鑑. 内田老鶴圃新社, 1977.
- 15) 乙幡恵, 諏訪通法. 山口貯水池に発生したかび臭. 第26回全国水道研究発表会講演集. 1975, p.347-349.
- 16) 矢野洋, 川田晴彦, 有本敏之, 阪上正明. かび臭物質 2-methyl isoborneol を産生する *Phormidium tenue* とその細菌叢. 第29回全国水道研究発表会講演集. 1978, p.470-472.
- 17) 日本水道協会. 上水試験方法 1985年版. 1985.
- 18) 川北四郎. 水道藻類分類解説. 日本水道協会, 1993.
- 19) 日本水道協会. 上水試験方法 1993年版. 1993.
- 20) 日本水道協会. 日本の水道生物-写真と解説-改訂版. 2008.
- 21) Komárek, J. and Anagnostidis, K. Cyanoprokaryota Part 2: Oscillatoriales, In: Büdel, B., Gärtner, G., Krienitz, L. and Schagerl, M., Eds., Süßwasserflora von Mitteleuropa, Bd. Elsevier GmbH, München, 2005, 19(2), p.1-759.
- 22) 浅田安廣, 秋葉道宏. 藻類監視における形態観察の重要性と課題. 水環境学会誌. 2023, 46(A), No.10, p.350-353.

- 23) 辻彰洋, 新山優子. ダム湖の植物プランクトン: 簡易同定チェックリスト. 国立科学博物館,
<https://www.kahaku.go.jp/research/db/botany/microalgae/dam/index.html> (2023年11月時点)
- 24) 江崎敦, 浅田安廣, 藤本尚志, 早坂泰彦, 鈴木孝俊, 山田晃平, 秋葉道宏. 形態学的特徴と遺伝子解析に基づく全国水道水源でのカビ臭原因物質産生藍藻類の存在調査. 水道協会雑誌. 2021, 90(5), p.2-12.
- 25) 末次竜太, 宇田川知穂, 中東寛和, 吉岡克英, 渡辺崇一, 三好幸一郎. 藍藻由来のかび臭合成酵素遺伝子簡易検出法の構築及び実態調査における検出結果の活用. 水道協会雑誌. 2023, 92(11), p.22-31.

水質試験方法等調査専門委員会 微生物・生物部会 委員

国立保健医療科学院・三浦尚之、国立医薬品食品衛生研究所・内野正、神奈川県企業庁・齊藤巧介、神奈川県内広域水道企業団・山下憲司、京都市上下水道局・藤原俊一郎、神戸市水道局・清水武俊、小田琢也、阪神水道企業団・片木孝徳、兵庫県企業庁・中西正、大分市上下水道局・高橋威一郎