

推進は、水道分野での緩和策となる。高低差で送水する配水経路の選択や直結給水への変更は、ポンプ送水による消費電力の削減につながる。また、配水管からの漏水はエネルギーの損失につながり、漏水率の低減化は一つの緩和策として挙げられる。例えば、東京都水道局では1955年から2007年までの52年間で、1年当たりの漏水量を3億4000万トン低下させた。これは250万人規模の都市の1年間の配水量に匹敵する水量であり、年間6.8万トンの二酸化炭素の排出削減と同等とされている<sup>10)</sup>。

#### D. 結論

既往の文献やインターネット等で公開されている情報をもとに、気候変動による水道システムへの影響と適応策・緩和策につきとりまとめた。特に過去25年の気候変動と水道に関連した文献を検索し、57件の文献を抽出し、その内容を整理した。わが国はこれまでにも渇水や台風などの被害を経験しておりそれらの影響への対策がとられているが、最近でも浄水場の浸水や高濁水によって断水が発生するなどの事例が発生している。また、気温の上昇や降雨の長期化にともなう濁水の長期化等、漸次的な変化への具体的な対応については知見がみられなかった。影響が顕在化していない気候変動の影響に対して、中長期的な視点で対策を進めていく必要があると考えられる。特に、井戸水や湧水など良好な水質の水源に依存してきた中山間地域の小規模な水道などでは、水源における水量や水質の変化を把握し、将来の変化に備えた対策を検討していくことが重要であると考えられる。

#### E. 参考文献

- 1) 文部科学省・気象庁・環境省・経済産業省訳（2007）気候変動2007：統合報告書 政策決定者向け要約（IPCC第4次評価報告書統合報告書政策決定者向け要約），[http://www.env.go.jp/earth/ipcc/4th/syr\\_spm.pdf](http://www.env.go.jp/earth/ipcc/4th/syr_spm.pdf)（2009年8月アクセス）
- 2) 環境省（2008）地球温暖化影響・適応委員会報告書、第3章水環境・水資源分野
- 3) 尾崎則篤、福島武彦、原沢英夫、小尻利治、河嶋克典（2001）異なる時間スケールの気温、降水量、及び日射量の変動が河川水温に及ぼす影響、土木学会論文集、678, pp93～103
- 4) 杉浦則夫（2008）気候変動にともなう水道の生物とその対策技術、全国水道研究発表会講演集、59, pp678～681.
- 5) 遠藤尚志、内田晴敏、与田博恭（1992）影響面から見た水道と地球環境問題、水道公論、28(11), pp31～35.
- 6) 国土交通省水資源部（2009）平成21年度版日本の水資源
- 7) 広津鍊一（2007）水道施設のリスク管理—宮崎市富吉浄水場の水没事故報告—、水道協会雑誌、第76卷第8号, pp31-37
- 8) 梅雨末期の豪雨で浸水 樫野川の洪水で浄水池、ポンプ、補機類などが冠水 山口市朝田浄水場、水道公論、45(8)70～77(2009).

- 9) 平成 21 年 8 月 3 日 水道産業新聞記事
- 10) 東京都水道局 (2008) 気候変動が水道事業に与える影響
- 11) 海老江邦雄, 伊藤陽司, 早川博, 永禮英明 (2007) 北見市水道水の断水に関する原因  
技術調査委員会報告書 (要約)
- 12) 北日本新聞社ホームページ,  
<http://www.kitanippon.co.jp/contents/appear/11/521.html> (2009 年 8 月アクセス)
- 13) 横浜市水道局ホームページ,  
<http://www.city.yokohama.jp/me/suidou/> (2009 年 8 月アクセス)
- 14) 東京都水道局ホームページ  
<http://www.waterworks.metro.tokyo.jp/index.html> (2009 年 8 月アクセス)
- 15) 土木学会 (2009) 地球温暖化対策特別委員会報告書
- 16) 厚生労働省健康局水道課 (2009) 平成 19 年度水道統計
- 17) 東京都気候変動東京会議, <http://www.c40tokyo.jp/> (2009 年 8 月アクセス)
- 18) Fulco Ludwig, Pavel Kabat, Henk van Schaik, Michel van der Valk (2008) Climate  
change adaptation in the water sector, Earthscan Publications Ltd.

#### F. 健康危険情報

該当なし

#### G. 研究発表

該当なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

該当なし

分担研究報告書 2

気候変動による水質・水量の変化と  
飲料水の水質管理への影響の評価  
(ダム貯水池における水質の長期変動の解析)

研究分担者 柳橋 泰生

## 分担研究報告書

# 気候変動による水質・水量の変化と飲料水の水質管理への影響の評価 (ダム貯水池における水質の長期変動の解析)

研究分担者： 柳橋 泰生 独立行政法人水資源機構環境室水環境課長

### A. 研究目的

気候変動による貯水池の水質への影響としては、水温の上昇による藍藻類の増殖、降雨パターンの変化による濁度の上昇等が考えられる。水資源機構が管理している施設をみても、平成20年では、51施設中25施設において植物プランクトンの異常増殖や濁水長期化などが確認されており<sup>①</sup>、気候変動による貯水池の水質への影響の有無やその程度については非常に関心が高いところである。

このため、本研究では、貯水池の水質の長期的変動および気候変動との関係を明らかにする。平成21年度は、水資源機構でこれまでに蓄積された水温や水質データの長期的変動の解析を試みた。

### B. 研究方法

水資源機構では現在51ダム貯水池、水路等の施設の管理を行っている。管理にあたっては、「ダム貯水池水質調査要領」((財)ダム水源地環境整備センター、平成8年1月)<sup>②</sup>等に準拠し、定期的に水質調査を実施している。また、一部の施設においては、自動観測装置により水温等を観測している。

このため、これらの水質調査等により蓄積されたデータを整理し、長期的変動を解析した。

#### (1) 定期調査結果の解析

水資源機構が管理している51施設のうち、長期的にデータが蓄積されている20のダム貯水池の定期調査結果について長期的変動をみた。表-1に示すように、最も長いものでは、1975年から2008年までの34年間のデータが蓄積されており、最も短いものは、2001年から2008年までの8年間であった。これらの貯水池では、原則として月1回、環境基準設定項目や富栄養化関連項目等の測定を実施している。なお、測定日は、各月中旬に行うことが多いが必ずしも一定ではない。

気候変動に関連する項目として、水温および富栄養化関連項目を選定し、長期的な変動の傾向をみた。

表-1 20 ダム貯水池の定期水質調査のデータ蓄積期間

ダム	測定期間	
Aダム	1975年5月～2008年12月	33年8カ月間
Bダム	1990年5月～2008年12月	18年8カ月間
Cダム	1975年12月～2008年12月	33年1カ月間
Dダム	1976年6月～2008年12月	32年7カ月間
Eダム	1999年1月～2008年12月	10年間
Fダム	1976年5月～2008年12月	32年8カ月間
Gダム	1990年1月～2008年12月	19年間
Hダム	1997年1月～2008年12月	12年間
Iダム	1975年1月～2008年12月	34年間
Jダム	1975年1月～2008年12月	34年間
Kダム	1976年5月～2008年12月	32年8カ月間
Lダム	1991年1月～2008年12月	18年間
Mダム	1999年1月～2008年12月	10年間
Nダム	1982年4月～2008年12月	26年9カ月間
Oダム	1988年1月～2008年12月	21年間
Pダム	1975年8月～2008年12月	33年5カ月間
Qダム	1975年5月～2008年12月	33年8カ月間
Rダム	1975年12月～2008年12月	33年1カ月間
Sダム	2001年1月～2008年12月	8年間
Tダム	1979年1月～2008年12月	30年間

## (2) 自動観測装置の観測結果の解析

長期間にわたり自動観測装置のデータが蓄積されている2つのダム貯水池の水温について長期的変動を解析した。

Dダムでは、1977年5月から2009年10月までの32年間余、Fダムでは、1992年1月から2008年12月までの17年間の水温データを解析の対象とした。Dダムのデータは、ダムサイト付近で毎正時観測されたデータを日単位で平均したものであり、Fダムのデータは、毎日9時にダムサイトの水深5m地点で観測されたものである。Dダムでは藍藻類の増殖抑制のため、1994年度に1基、1995年度に1基、1996年度に2基、1997年度に1基の曝気循環設備が設置されており、水深10～20mから曝気が行われている。このため、長期的変動の解析にあたっては、曝気の影響を受けないように、水深60mのデータを用いた。

## C. 結果及び考察

### (1) 定期調査結果の解析

20 のダム貯水池における各月の測定値について、その線形近似曲線（1 次）の傾きを示したのが表-2 である。気温の傾きと表層水温の傾きの相関係数  $r$  は 0.41、1/2 水深の水温とは 0.08、底層水温とは -0.23 であり、他と比較すると表層水温との相関が高かった。また、表層水温の傾きと表層クロロフィル a 濃度の傾きの相関係数  $r$  は、0.15、表層総リン濃度とは 0.35、表層総窒素濃度とは 0.17 であり、他と比較すると表層総リン濃度との相関が高かった。なお、表層総リン濃度の傾きと表層クロロフィル a 濃度の傾きの相関係数  $r$  は 0.38、表層総窒素濃度と表層クロロフィル a 濃度は -0.02 であった。

気温の傾きは、-0.11 °C/年 (Lダム) から 0.15 °C/年 (NダムおよびSダム) の範囲であり、0.05 °C/年より大きな上昇傾向のあるのが 8ダム、-0.05 °C/年より大きな低下傾向のあるのが 3ダムであった。表層水温の傾きは、-0.18 °C/年 (Bダム) から 0.33 °C/年 (Sダム) の範囲であり、0.05 °C/年より大きな上昇傾向のあるのが 4ダム、-0.05 °C/年より大きな低下傾向のあるのが 1ダムであった。1/2 水深の水温の傾きは、-0.26 °C/年 (Bダム) から 0.29 °C/年 (Lダム) の範囲であり、0.05 °C/年より大きな上昇傾向のあるのが 7ダム、-0.05 °C/年より大きな低下傾向のあるのが 4ダムであった。底層水温の傾きは -0.11 °C/年 (Eダム) から 0.33 °C/年 (Lダム) の範囲であり、0.05 °C/年より大きな上昇傾向のあるのが 3ダム、-0.05 °C/年より大きな低下傾向のあるのが 4ダムであった。表層水温、1/2 水深水温、底層水温ともに 0.05 °C/年より大きな上昇傾向のあるダムはなく、ともに -0.05 °C/年より大きな低下傾向にあるのは 1ダム (Bダム) であった。

富栄養化関連項目についてみると、表層のクロロフィル a 濃度の傾きは、-24 μg/L/年 (Iダム) から 12 μg/L/年 (Mダム) の範囲であり、10 μg/L/年より大きな上昇傾向のあるのが 2ダム、-10 μg/L/年より大きな低下傾向のあるのが 3ダムであった。Iダムは浅相曝気循環設備の導入以来アオコの発生が激減しており、その影響があるものと考えられる。表層の総リン濃度の傾きは、-0.02 mg/L/年が 1ダム (Kダム)、0.02 mg/L/年が 1ダム (Hダム) であり、それ以外のダムは、-0.01 mg/L/年から 0.01 mg/L/年の範囲にあった。表層の総窒素濃度の傾きは、-0.58 mg/L/年 (Lダム) から 0.29 mg/L/年 (DダムおよびTダム) の範囲であり、0.2 mg/L/年より大きな上昇傾向のあるのが 2ダム、-0.2 mg/L/年より大きな低下傾向のあるのが 3ダムであった。

以上のことから、20 ダム貯水池の気温、水温、富栄養化関連項目について、個々では上昇や低下の傾向はみられるものの、共通して水温が上昇しているというような一定の長期的変動の傾向はみられなかったといえる。

表-2 各ダム貯水池の線形近似曲線の傾き

ダム	気温 (°C/年)	表層水温 (°C/年)	1/2 水深 の水温 (°C/年)	底層水温 (°C/年)	表層		
					クロロフ ィル a 濃 度 ( $\mu\text{g/L}/$ 年)	総リン 濃度 (mg/L/ 年)	総窒素濃 度 (mg/L/ 年)
Aダム	0.00	0.02	-0.07	-0.04	3.25	-0.01	0.02
Bダム	-0.01	-0.18	-0.26	-0.07	-1.68	-0.01	-0.11
Cダム	0.07	0.04	-0.04	-0.01	7.70	0.00	-0.01
Dダム	0.04	0.00	0.07	0.01	3.43	-0.01	0.29
Eダム	0.04	0.01	-0.22	-0.11	-6.42	0.00	-0.18
Fダム	-0.07	-0.04	-0.07	-0.03	-10.22	-0.01	-0.01
Gダム	0.00	0.03	0.01	-0.07	0.80	0.00	-0.22
Hダム	0.11	0.11	0.00	-0.07	-2.96	0.02	-0.07
Iダム	0.07	0.00	0.07	0.04	-23.69	0.00	-0.07
Jダム	0.00	0.04	-0.01	0.00	-8.21	-0.01	0.18
Kダム	0.07	0.00	0.11	-0.01	-13.58	-0.02	-0.26
Lダム	-0.11	-0.03	0.29	0.33	11.28	0.01	-0.58
Mダム	-0.07	0.11	0.03	0.00	11.90	0.01	0.07
Nダム	0.15	0.04	0.00	0.03	1.97	0.01	0.15
Oダム	0.00	0.11	0.15	0.04	-1.35	0.00	-0.01
Pダム	0.04	0.03	0.04	0.07	-0.22	-0.01	0.03
Qダム	0.01	0.04	0.04	0.02	0.69	0.00	0.07
Rダム	0.07	0.04	0.02	0.02	1.10	-0.01	0.07
Sダム	0.15	0.33	0.22	0.03	-0.03	0.00	-0.02
Tダム	0.11	0.04	0.18	0.11	-3.32	-0.01	0.29

## (2) 自動観測装置の観測結果の解析

長期間にわたり自動観測装置のデータが蓄積されている 2 つのダム貯水池の水温について長期的変動を解析した。

Dダムでは、1977 年 5 月から 2009 年 10 月までの 32 年 6 カ月間のデータの長期的変動をみた。各月 10 日以上の欠測がある場合は月平均値を算出しなかった。月平均値を算出し、水深 60m 地点の水温の変化を示したのが図-1 である。12 カ月分の月平均値がある場合にのみ年平均を算出し、図-2 に示した。その結果、1977 年から 2009 年の間に 2 °C 程度水温が低下していることがわかった。月平均値 (n=282) に関して Seasonal Kendall Test<sup>3)</sup>を行

ったところ  $z$  値は 2.28 であり、有意な低下傾向がみられ、月別の任意の 2 観測期間の傾きの中央値は  $-0.01^{\circ}\text{C}/\text{年}$  であった。また、月平均値に対して線形近似曲線を引くと、その傾きは  $-0.02^{\circ}\text{C}/\text{年}$  であった。

なお、定期調査結果の解析では、D ダム貯水池の底層水温の傾きは  $0.01^{\circ}\text{C}/\text{年}$  と上昇傾向がみられる結果となり、自動観測の結果と逆の結果となったが、その原因としては、定期調査の測定回数が月 1 回と少なく、また、測定日も一定でないことが考えられる。

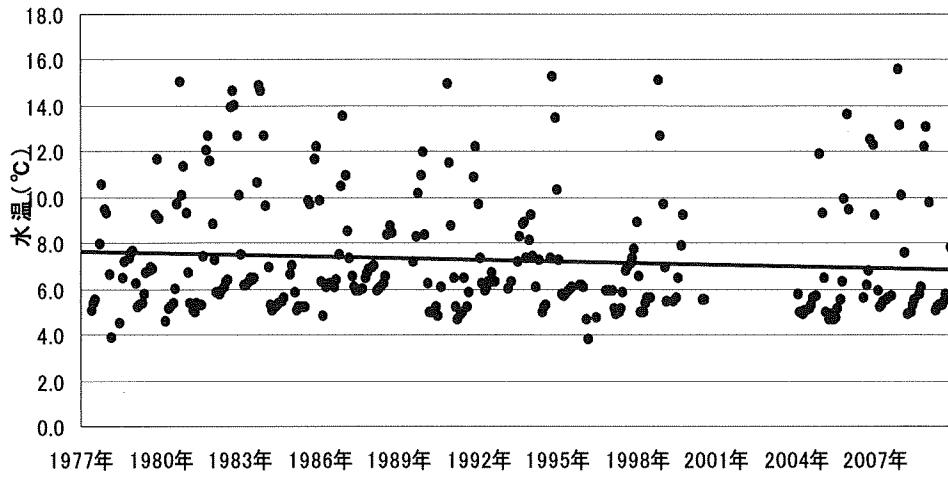


図-1 D ダムの水深 60m 地点の水温（月平均値）の変化

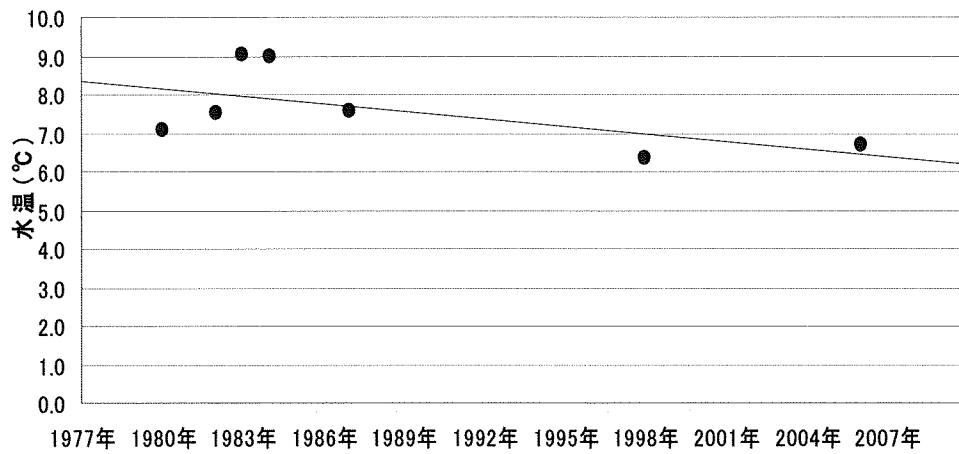


図-2 D ダムの水深 60m 地点の水温（年平均値）の変化

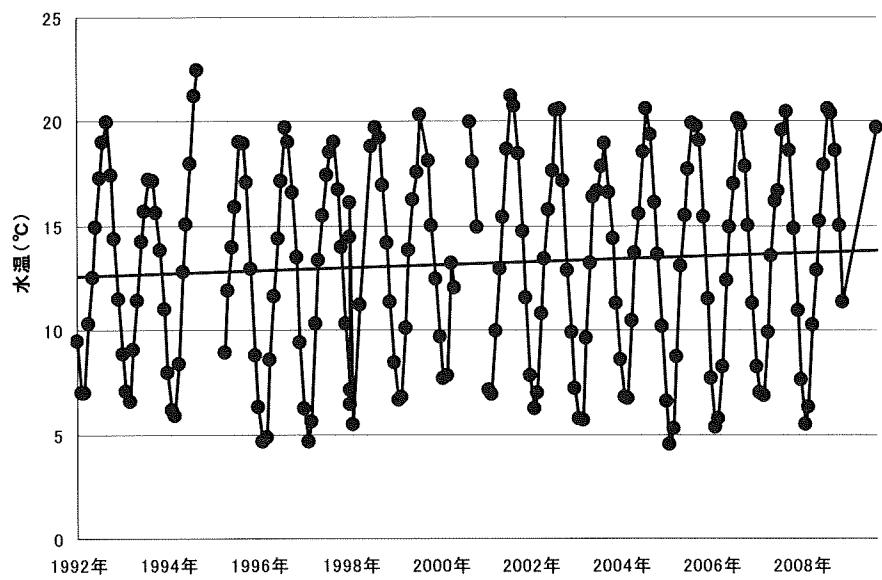


図-3 Fダムの水深5m地点の水温（月平均値）の変化

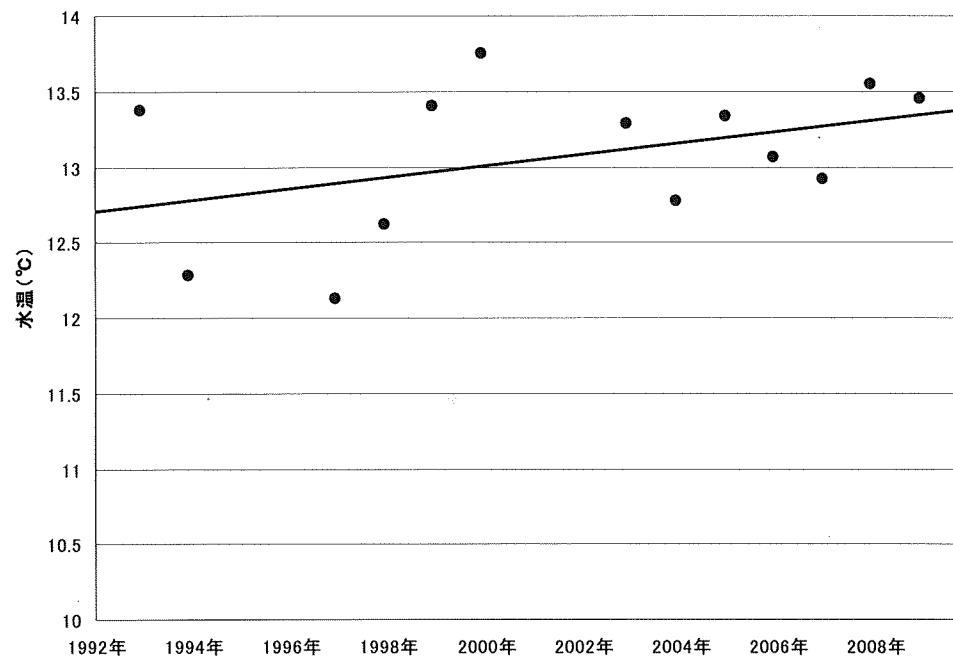


図-4 Fダムの水深5m地点の水温（年平均値）の変化

Fダムでは、1992年1月から2008年12月までの17年間のデータの長期的変動をみた。月平均値を算出し、水深5m地点の水温の変化を示したのが図-3である。各月10日以上の欠測がある場合は月平均値を算出しなかった。12カ月分の月平均値がある場合にのみ年平均を算出し、図-4に示した。その結果、1992年から2008年の間に1°C程度水温が上昇していることがわかった。月平均値(n=192)に関してSeasonal Kendall Testを行ったところz値は2.93であり、有意な上昇傾向がみられ、月別の任意の2観測期間の傾きの中央値は0.05°C/年であった。また、月平均値に対して線形近似曲線を引くと、その傾きは0.07°C/年であった。

なお、定期調査結果の解析では、Fダム貯水池の表層水温の傾きは-0.04°C/年と低下傾向がみられる結果となり、自動観測の結果と逆の結果となつたが、その原因としては、定期調査の測定回数が月1回と少なく、また、測定日も一定でないことが考えられる。

#### D. 結論

水資源機構において長期間にわたって蓄積されている定期調査結果および自動観測結果を用いて、気温、水温および富栄養化関連項目の長期的変動の傾向を解析した結果、以下のことが判明した。

- (1)各ダム貯水池で月1回測定が行われている定期調査結果について、線形近似し傾きを求めたところ、20のダム貯水池の気温、水温、富栄養化関連項目について、共通して上昇あるいは低下しているなどの一定の長期的変動の傾向はみられなかつた。
- (2)表層水温の線形近似曲線の傾きは、-0.18°C/年から0.33°C/年の範囲であり、0.05°C/年より大きな上昇傾向のあるのが4ダム、-0.05°C/年より大きな低下傾向のあるのが1ダムであった。1/2水深の水温の傾きは、-0.26°C/年から0.29°C/年の範囲であり、0.05°C/年より大きな上昇傾向のあるのが7ダム、-0.05°C/年より大きな低下傾向のあるのが4ダムであった。底層水温の傾きは-0.11°C/年から0.33°C/年の範囲であり、0.05°C/年より大きな上昇傾向のあるのが3ダム、-0.05°C/年より大きな低下傾向のあるのが4ダムであった。表層水温、1/2水深水温、底層水温とともに0.05°C/年より大きな上昇傾向のあるダムはなく、ともに-0.05°C/年より大きな低下傾向にあるのは1ダムであった。
- (3)長期間にわたり自動観測装置のデータが蓄積されている2つのダム貯水池の水温について長期的変動を解析したところ、一つのダム貯水池は、有意な低下傾向がみられ、月別の任意の2観測期間の傾きの中央値は-0.01°C/年であった。もう一つのダム貯水池は、有意な上昇傾向がみられ、月別の任意の2観測期間の傾きの中央値は0.05°C/年であった。

#### E. 参考文献

- 1) 独立行政法人水資源機構：平成20年水質年報、2009

- 2) (財) ダム水源地環境整備センター：ダム貯水池水質調査要領（改訂）、1996
- 3) D. R. Helsel and R. M. Hirsch: Statistical Methods in Water Resources, U.S. Geological Survey, Techniques of Water-Resources Investigations Book4, Chapter A3, USGS

**F. 健康危険情報**

該当なし

**G. 研究発表**

該当なし

**H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）**

該当なし

分担研究報告書 3

藻類増殖や渇水等、気候変動による水質・水量の変化と  
それに伴う飲料水の水質管理への影響評価

研究代表者	秋葉道宏
研究分担者	藤本尚志
研究分担者	柳橋泰生
研究分担者	山田俊郎

## 分担研究報告書

### 藻類増殖や渇水等、気候変動による水質・水量の変化と それに伴う飲料水の水質管理への影響評価

研究代表者： 秋葉 道宏 国立保健医療科学院水道工学部長

研究分担者： 藤本 尚志 東京農業大学応用生物科学部醸造科学科准教授

研究分担者： 柳橋 泰生 独立行政法人水資源機構環境室水環境課長

研究分担者： 山田 俊郎 国立保健医療科学院水道工学部主任研究官

#### A. 研究目的

近年、湖沼・貯水池を水源とする浄水場においてピコプランクトンによる濁度障害が発生し問題となっている。ピコプランクトンとは $0.2\sim2\mu\text{m}$ の大きさのプランクトンの総称であり、原核生物に属するものと真核生物に属するものが存在する。水道におけるクリプトスピリジウム等対策指針において、クリプトスピリジウム等による汚染のおそれがある場合、ろ過池またはろ過膜の出口の濁度を0.1度以下に維持することが義務づけられているが、ピコプランクトンの細胞数が高まると0.1度以下に維持することが困難になる。ピコプランクトンはこれまで落射蛍光顕微鏡による観察における蛍光の色調により、クロロフィルを主要アンテナ色素とする真核ピコプランクトン、フィコシアニンを主要アンテナ色素とする原核ピコプランクトン、フィコエリトリリンを主要アンテナ色素とする原核ピコプランクトンの3グループに分けて検討されている。しかしながら淡水域における属レベルの優占種や季節的消長に関する知見が不足している。本研究では、気候変動に対応する有効な飲料水質管理の方策を提示するための知見を得ることを目的として、分子生物学的手法によりどのような種類のピコプランクトンが存在するのか、その優占種、細胞数の季節変化を調べ、水温との関連性を評価する。さらには障害となっているピコプランクトンを分離・培養し増殖の温度依存性などについて検討を行う。本年は水源として群馬県草木ダムを対象として、湖沼水からピコプランクトンの遺伝子を抽出し、その遺伝子を大腸菌に組み込んでPCRにより増幅・解析するクローンライブラリー法により生物相を調べた。

#### B. 研究方法

群馬県草木ダムより平成21年6月12日、7月3日、8月19日、10月6日に採水した試料を用いた。遺伝子の抽出はLefrancら<sup>1)</sup>、クローンライブラリーの作成はRichardsら<sup>2)</sup>に従つて行った。採水した試料を孔径 $5\mu\text{m}$ のメンブレンフィルターによりろ過しナノプランクトンを除去した後、孔径 $0.2\mu\text{m}$ のポリカーボネート製のメンブレンフィルターにより吸引ろ過し集菌を行った。集菌したフィルターについてCTAB法によりゲノムDNAを抽出し、真核

生物の 18S rDNA 領域を特異的に増幅させるプライマーを用いて PCR を行った。この PCR 産物を TOPO TA Cloning Kit(invitrogen)を用いて大腸菌に挿入しコロニーを形成させ、形成したコロニーを任意で 48 コロニー選択し、挿入部分の遺伝子をコロニーPCR で増幅させた。この PCR 産物を制限酵素 *Hae*III を用いた RFLP 法 (Restriction Fragment Length Polymorphism)にてグルーピングを行った後、サイクルシーケンス法により塩基配列を特定した。RFLP 法により分けた 1 グループを 1OTU(operational taxonomic unit)とした。解析およびアライメントには、オートシーケンサー(ABI PRISM310)、Auto Assembler を用いた。また、得られた塩基配列をキメラチェック(RDP)後、近隣結合法に基づいて系統樹を作成した。

### C. 結果及び考察

#### C-1 RFLP 法によるクローンのグルーピング

図 1 に 10 月採水試料のクローニングにより増幅した 48 クローンの 18S rDNA について RFLP を行った写真を示す。グループ分けを行った結果、6 月は e0906-1~e0906-12 の 12OTUs、7 月は e0907-1~e0907-15 の 15OTUs、8 月は e0908-1~e0908-23 の 23OTUs、10 月は e0910-1~e0910-13 の 13OTUs に分けられた。光合成をおこなう真核ピコプランクトンは 6 月と 10 月に  $10^4$ cells/ml を超え、7 月と 8 月は 5000cells/ml 以下であったが、細胞数が低いときに OTU 数が増加する傾向が見られた。

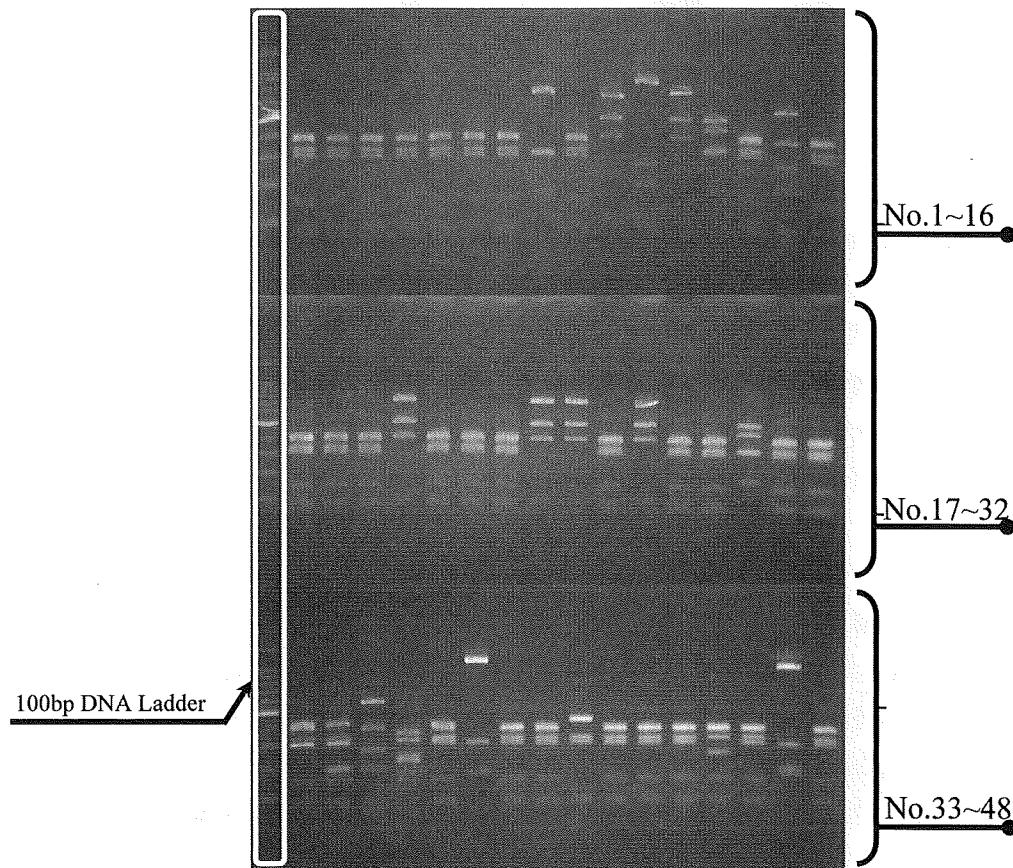


図 1 18S rDNA 領域の RFLP 写真(10 月試料)

## C-2 真核ピコプランクトンの各 OTU の 18S rDNA の相同性検索

グループ分けを行った各月の OTU の 18S rDNA 塩基配列の FASTA による相同性検索の結果を表 1~4 に示す。

表 1 各 OTU の 18S rDNA の相同性検索結果(6 月)

OTU	クローン数	近縁菌種	分類	スコア(相同性)
e0906-1	7	<i>Nerada mexicana</i>	ビコソエカ類	1441/1620[88.9%]
e0906-2	1	<i>Monomastix sp.</i>	プラシノ藻綱	1556/1670[93.1%]
e0906-3	1	<i>Diatoma tenue</i>	珪藻綱	1413/1649[85.6%]
e0906-4	2	<i>Exuviaella pusilla</i>	渦鞭毛藻綱	1431/1679[85.2%]
e0906-5	4	<i>Dolichomastix tenuilepis</i>	プラシノ藻綱	1399/1631[85.7%]
e0906-6	3	<i>Nerada mexicana</i>	ビコソエカ類	1404/1623[86.4%]
e0906-7	1	<i>Nerada mexicana</i>	ビコソエカ類	1345/1595[87.4%]
e0906-8	11	<i>Goniomonas sp.SH-1</i>	クリプト藻綱	1469/1658[88.5%]
e0906-9	2	<i>Exuviaella pusilla</i>	渦鞭毛藻綱	1471/1689[87.0%]
e0906-10	5	<i>Monomastix sp.</i>	プラシノ藻綱	1530/1645[93.0%]
e0906-11	1	<i>Hypochytrium catenoides</i>	サカゲツボカビ類	1558/1661[93.7%]
e0906-12	2	<i>Chroomonas sp.</i>	クリプト藻綱	1469/1685[87.1%]

表 2 各 OTU の 18S rDNA の相同性検索結果(7 月)

OTU	クローン数	近縁菌種	分類	スコア(相同性)
e0907-1	1	<i>Chrysochromulina parva</i>	ハプト藻綱	1649/1660[99.3%]
e0907-2	3	<i>Nerada mexicana</i>	ビコソエカ類	1432/1668[85.8%]
e0907-3	1	<i>Chlorella vulgaris</i>	緑藻綱	1681/1690[99.4%]
e0907-4	19	<i>Exuviaella pusilla</i>	渦鞭毛藻綱	1469/1704[86.2%]
e0907-5	5	<i>Goniomonas sp.SH-1</i>	クリプト藻綱	725/824[87.9%]
		<i>Proteomonas sulcata</i>	クリプト藻綱	787/880[89.4%]
e0907-6	6	<i>Assulina muscorum</i>	糸状根足虫綱	1438/1648[87.2%]
e0907-7	1	<i>Exuviaella pusilla</i>	渦鞭毛藻綱	1445/1665[86.7%]
e0907-8	2	<i>Goniomonas sp.SH-1</i>	クリプト藻綱	1488/1687[88.2%]
e0907-9	2	<i>Euglypha tuberculata</i>	糸状根足虫綱	1436/1703[84.3%]
e0907-10	2	<i>Placocista spinosa</i>	糸状根足虫綱	1417/1643[86.2%]
e0907-11	1	<i>Trebouxiophyte sp.</i>	トレボキシア藻綱	1549/1640[94.4%]
e0907-12	1	<i>Rhizophydium elyensis</i>	ツボカビ綱	1352/1643[82.2%]
e0907-13	1	<i>Assulina muscorum</i>	糸状根足虫綱	1408/1645[85.6%]
e0907-14	1	<i>Exuviaella pusilla</i>	渦鞭毛藻綱	1430/1667[85.7%]
e0907-15	1	<i>Assulina muscorum</i>	糸状根足虫綱	1436/1650[87.0%]

表3 各OTUの18S rDNAの相同性検索結果(8月)

OTU	クローン数	近縁菌種	分類	スコア(相同性)
e0908-1	2	<i>Chrysophyceae</i> sp.	黄金色藻綱	1423/1659[85.8%]
e0908-2	2	<i>Mychonastes homosphaera</i>	緑藻綱	1675/1694[98.9%]
e0908-3	1	<i>Prasiola</i> sp. GALW015488	トレボキシア藻綱	1561/1683[92.8%]
e0908-4	3	<i>Chrysamoeba mikrokonta</i>	黄金色藻綱	1555/1693[91.9%]
e0908-5	1	<i>Mallomonas annulata</i>	黄金色藻綱	1562/1695[92.2%]
e0908-6	3	<i>Trebouxiophyte</i> sp.	トレボキシア藻綱	1552/1644[94.4%]
e0908-7	3	<i>Trebouxiophyte</i> sp.	トレボキシア藻綱	1568/1681[93.3%]
e0908-8	4	<i>Gyrodinium galatheanum</i>	渦鞭毛藻綱	1532/1664[92.1%]
e0908-9	4	<i>Candida caryicola</i>	半子囊菌綱	1371/1625[84.4%]
e0908-10	3	<i>Placocista spinosa</i>	糸状根足虫綱	1429/1677[85.2%]
e0908-11	6	<i>Exuviaella pusilla</i>	渦鞭毛藻綱	1440/1663[86.6%]
e0908-12	2	<i>Goniomonas</i> sp. ATCC 50108	クリプト藻綱	1467/1645[89.2%]
e0908-13	1	<i>Goniomonas</i> sp. SH-1	クリプト藻綱	1465/1645[89.1%]
e0908-14	1	<i>Goniomonas</i> sp. ATCC 50108	クリプト藻綱	1471/1646[89.4%]
e0908-15	1	<i>Chlamydomonas noctigama</i>	緑藻綱	1634/1664[98.2%]
e0908-16	1	<i>Goniomonas</i> sp. SH-1	クリプト藻綱	1493/1697[88.0%]
e0908-17	1	<i>Chrysochromulina parva</i>	ハプト藻綱	1682/1692[99.4%]
e0908-18	1	<i>Rhizophydium sphaerotheca</i>	ツボカビ綱	1344/1636[82.2%]
e0908-19	1	<i>Exuviaella pusilla</i>	渦鞭毛藻綱	1480/1714[86.4%]
e0908-20	1	<i>Placocista spinosa</i>	糸状根足虫綱	1404/1649[85.2%]
e0908-21	1	<i>Nerada mexicana</i>	ビコソエカ類	1466/1635[89.7%]
e0908-22	1	<i>Mallomonas annulata</i>	黄金色藻綱	1507/1653[91.2%]
e0908-23	1	<i>Woloszynskia pascheri</i>	渦鞭毛藻綱	1543/1660[93.0%]

表4 各OTUの18S rDNAの相同性検索結果(10月)

OTU	クローン数	近縁菌種	分類	スコア(相同性)
e0910-1	22	<i>Goniomonas</i> sp. ATCC 50108	クリプト藻綱	1491/1678[88.9%]
e0910-2	8	<i>Goniomonas</i> sp. SH-1	クリプト藻綱	1463/1640[89.2%]
e0910-3	1	<i>Ostreococcus</i> sp.	プラシノ藻綱	1365/1627[83.9%]
e0910-4	6	<i>Oblongichytrium</i> sp.	ラビリンチュラ綱	1313/1665[78.9%]
e0910-5	1	<i>Monomastix</i> sp.	プラシノ藻綱	1545/1654[93.4%]
e0910-6	1	<i>Nerada mexicana</i>	ビコソエカ類	1413/1625[87.0%]
e0910-7	1	<i>Cochlodinium fulvescens</i>	渦鞭毛藻綱	1377/1680[82.0%]
e0910-8	2	<i>Nerada mexicana</i>	ビコソエカ類	1553/1678[92.6%]
e0910-9	2	<i>Halosphaera</i> sp.	プラシノ藻綱	1576/1700[92.7%]
e0910-10	1	<i>Goniomonas</i> sp. ATCC 50108	クリプト藻綱	1500/1690[88.8%]
e0910-11	1	<i>Paraphysomonas butcheri</i>	黄金色藻綱	1524/1642[92.8%]
e0910-12	1	<i>Mychonastes homosphaera</i>	緑藻綱	1678/1693[99.1%]
e0910-13	1	<i>Goniomonas</i> sp. SH-1	クリプト藻綱	1473/1643[89.7%]

草木ダムの真核ピコプランクトンとしてクリプト藻綱、ハプト藻綱、緑藻綱、トレボキシア藻綱、プラシノ藻綱とともに渦鞭毛藻綱、纖毛虫類などを含む分類であるアルベオラータや珪藻綱、従属栄養性であるビコソエカ類、糸状根足虫綱などを含む分類であるストラメノパイルに近縁な生物が存在することが明らかとなった。

6月はクリプト藻綱の *Goniomonas* 属、ビコソエカ類の *Nerada* 属、プラシノ藻綱の *Monomastix* 属に近縁なクローンが、7月は渦鞭毛藻綱の *Exuviaella* 属に近縁なクローンが、8月は渦鞭毛藻綱の *Exuviaella* 属、*Gyrodinium* 属、半子囊菌綱の *Candida* 属に近縁なクローンが、10月はクリプト藻綱の *Goniomonas* 属、ラビリンチュラ綱の *Oblongichytrium* 属に近縁なクローンが多く存在した。

クリプト藻綱、ストラメノパイルに近縁なクローンは6、7、8、10月すべての月で検出された。アルベオラータに近縁なクローンは6、7、8月検出された。一方、プラシノ藻綱に近縁なクローンは光合成をおこなう真核ピコプランクトン数が高い6月と10月に検出された。

このように草木ダムの真核ピコプランクトン群集は様々な分類群から構成され、光合成をするものとしないものが混在していることが明らかとなった。しかしながら多くの OTUにおいて近縁種との相同性が90%以下と低く、複数の新規の真核ピコプランクトンの存在が示唆された。

### C-3 クローニングにより得られた各 OTU の系統解析

クリプト藻綱に近縁な11OTUは既知種と分岐する二つのクラスターLK-B、LK-Cを形成した(図2)。アルベオラータにおいてe0908-8、e0908-23を除いて既知種と分岐するクラスターLK-AおよびLK-Dが形成された。ストラメノパイルは既知種と分岐するLK-Eを含む4つのクラスターに分かれた。そのほか、LK-Fは近縁種との相同性が80%未満のOTUからなるクラスターである。このように複数の新規の系統群の存在が示唆された。

### C-4 各分類群のクローン数の割合

各月において解析した48クローンについて各分類群の割合の推移を検討した(図3)。6月はクリプト藻綱とストラメノパイルの割合が大きいことが明らかとなった。7月はアルベオラータの割合が大きく80%を占め、8月はアルベオラータとストラメノパイルの割合が大きいことが明らかとなった。7月および8月はアルベオラータのクラスターLK-Aに含まれるクローンが多いが、これらが光合成をするのかどうかについては不明である。10月はクリプト藻綱の割合が大きい。このように真核ピコプランクトンの生物相が季節によって変化することが示唆された。6月、10月はピコプランクトンの細胞数が高く( $10^4$ 細胞/ml以上)、その時に、クリプト藻綱の割合が高いことから草木湖における主要なピコプランクトンはクリプト藻綱に属することが示唆された。

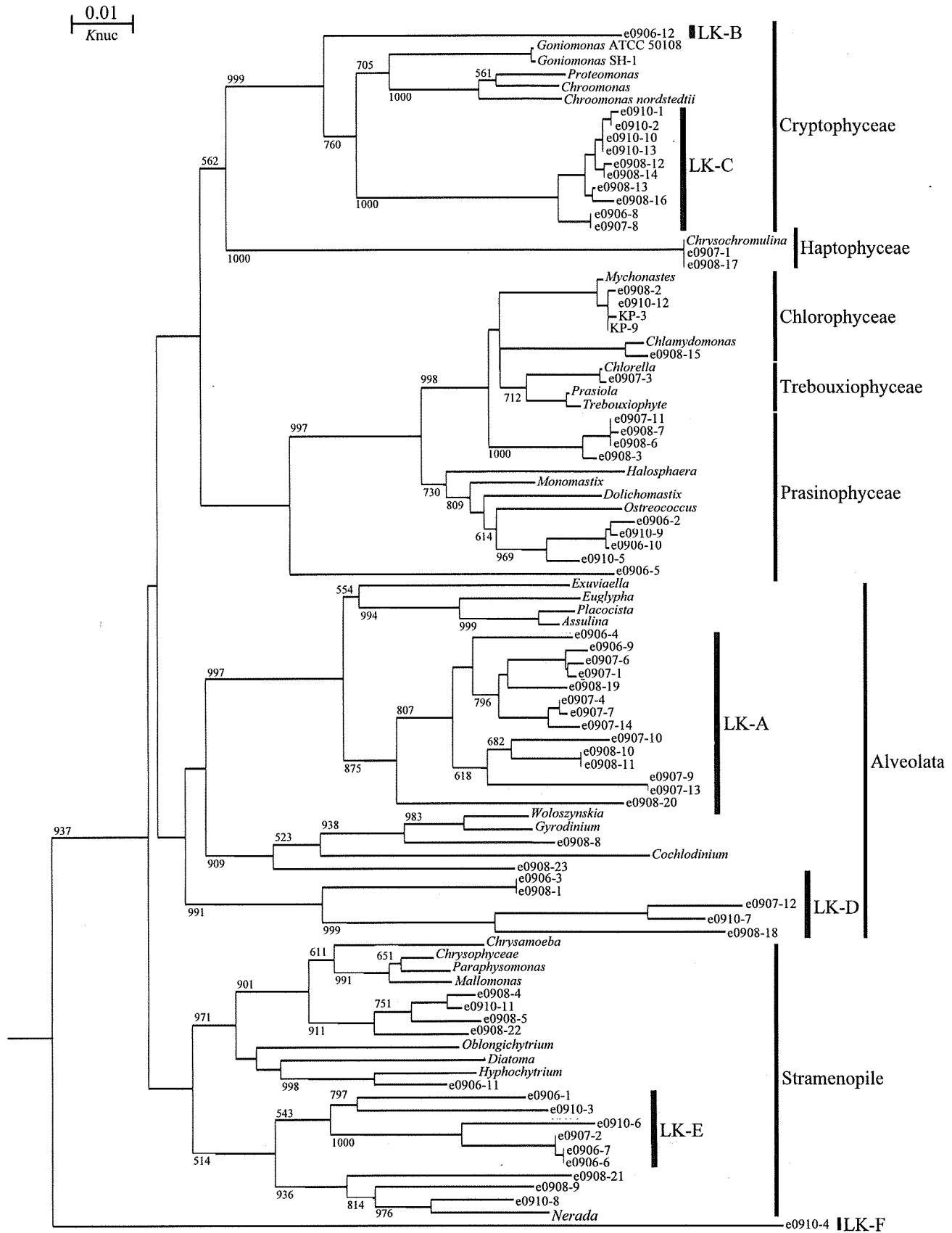


図 2 18S rDNAに基づく系統樹

※アウトグループ(*Plasmodium vivax*:DQ660817)は省略した

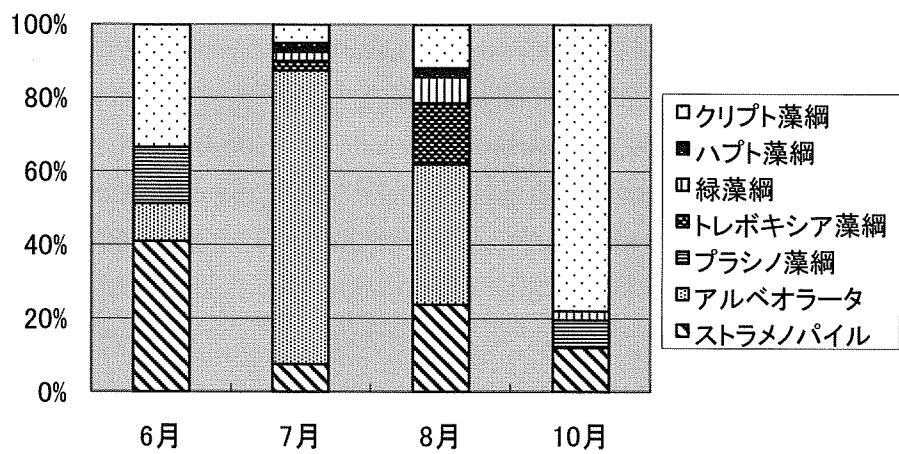


図3 各分類群のクローン数の割合の季節変化

#### D. 結論

気候変動に対応する有効な飲料水質管理の方策を提示するための知見を得ることを目的とし、分子生物学的手法によりどのような種類のピコプランクトンが存在するのか、その優占種、および季節変化を調べることを目的として検討を行った。群馬県草木ダムから6月、7月、8月、10月に試料を採取し、真核ピコプランクトンの群集構造について分子生物学的手法により解析した。各月の試料につき48クローンをRFLP法に基づいてグループ分けを行ったところ、6月は12OTUs、7月は15OTUs、8月は23OTUs、10月は13OTUsに分けられた。各グループについて18S rDNAの全長を解析しFASTAにより相同性検索を行ったところ、ハプト藻綱、クリプト藻綱、緑藻綱、渦鞭毛藻綱、プラシノ藻綱、ストラメノパイル、アルベオラータなどに近縁であり、多様な真核ピコプランクトンが存在することが明らかになった。系統樹を作成したところ、既知種と分岐するいくつかのクラスターが形成され、複数の新規の系統群の存在が示唆された。クローン数から評価すると6月はクリプト藻綱、ストラメノパイル、7月はアルベオラータ、8月はストラメノパイル、アルベオラータ、10月はクリプト藻綱に属するピコプランクトンの割合が高く、季節によって群集構造が異なることが示唆された。6月、10月は真核ピコプランクトンの細胞数が高く( $10^4$ 細胞/ml以上)、その時に、クリプト藻綱の割合が高いことから草木ダムにおける主要なピコプランクトンはクリプト藻綱に属することが示唆された。従来ピコプランクトンは落射蛍光顕微鏡を用いた観察により3グループに分けて定量されてきたが、実際の湖水中には多様なピコプランクトンが存在するため、本手法による優占種とその季節変化の解明、濁度障害原因種の特定とそのモニタリングは、気候変動の水道への影響を予測する上で有用と考えられる。

**E. 参考文献**

- 1) Lefranc, M., Thenot, A., Lepere, C. and Debroas, D., Genetic diversity of small eukaryotes in lakes differing by their trophic status, *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 5935-5942., (2005).
- 2) Richards, T.A., Vepritskiy, A. A., Gouliamova, D. E. and Nierzwicky-Bauer, S. A., The molecular diversity of freshwater picoeukaryotes from an oligotrophic lake reveals diverse, distinctive and globally dispersed lineages, *Environmental Microbiology*, 7(9), 1413-1425 (2005).

**F. 健康危険情報**

該当なし

**G. 研究発表**

該当なし

**H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）**

該当なし