

湖で検出されたクラスターとともに黄金色藻綱の根元から分岐する新規性の高いクラスターLK-Fを形成した(図5)。K2OCT2009はストラメノパイルの根元から分岐する新規のクラスターLK-Gを形成した。このように草木湖の真核ピコプランクトン群集の中に複数の未培養の系統群が存在することが明らかとなった。

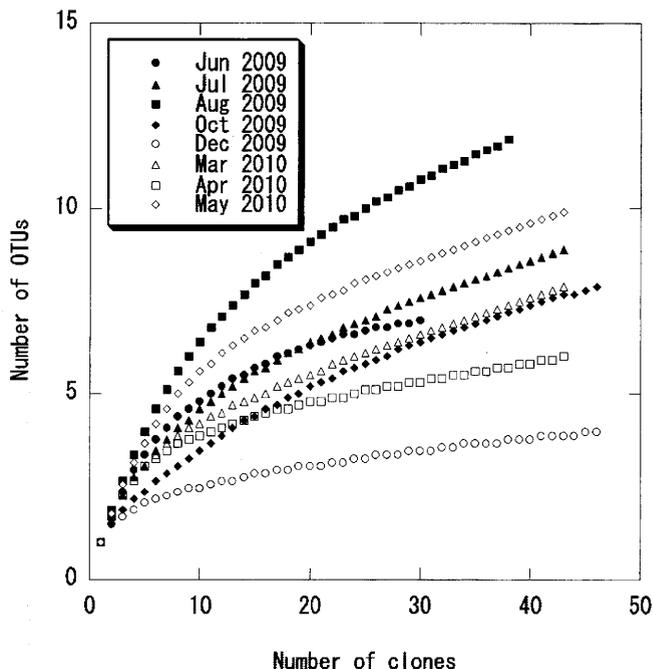


図2 各クローンライブラリーのクローン数と OTU 数の関係(レアファクションカーブ)

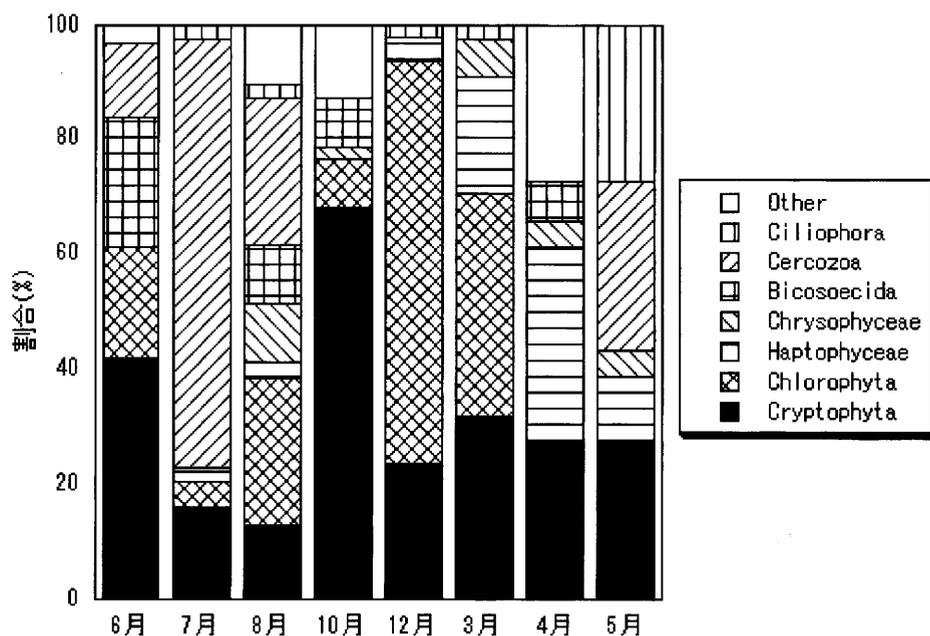


図3 草木湖で検出された真核ピコプランクトンの分類群の割合の推移

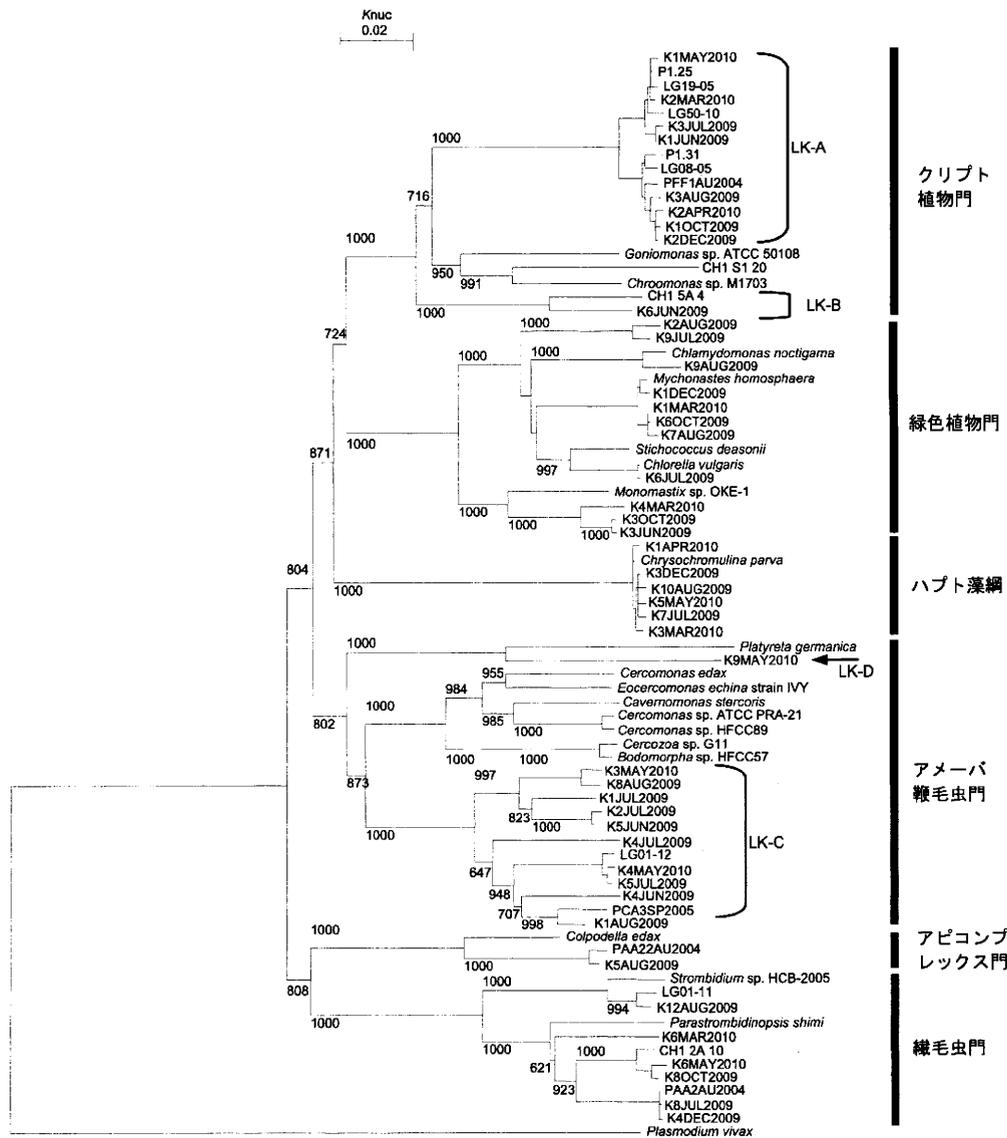


図4 草木湖から検出されたクローン(OTU)の18S rDNAに基づく系統樹 (光合成独立栄養の系統群、アメーバ鞭毛虫門、アルベオラータ)

草木湖で検出したクローンおよびその近縁種、Lefrancら¹⁾、Richardsら²⁾、Slapetaら⁴⁾、Lefevreら⁵⁾が検出したクローンの塩基配列約1580塩基に基づいて作成した。

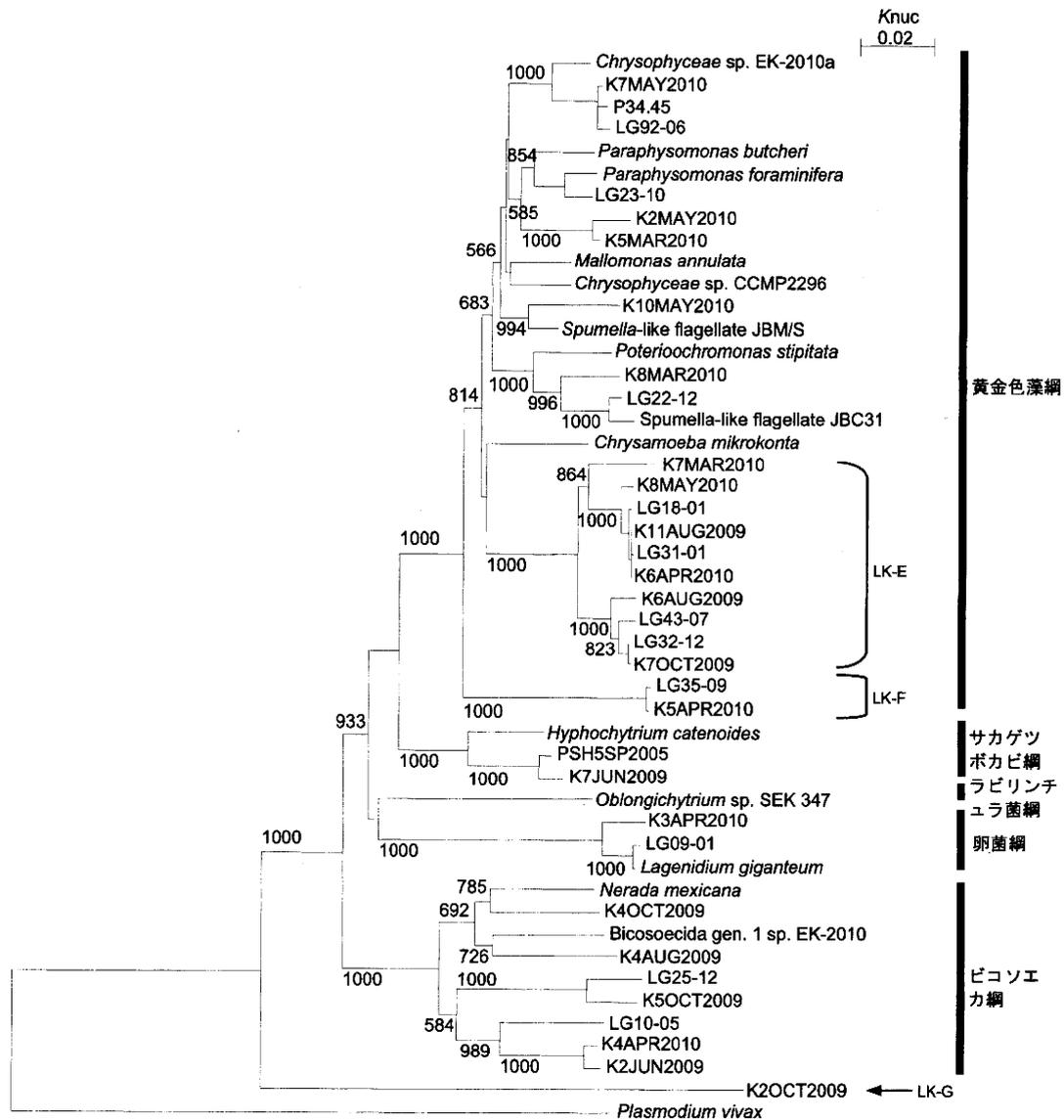


図5 草木湖から検出されたクローン(OTU)の18S rDNAに基づく系統樹 (ストラメノパイ
ル)

草木湖で検出したクローンおよびその近縁種、Lefrancら¹⁾、Richardsら²⁾、Slapetaら⁴⁾、Lefevreら⁵⁾が検出したクローンの塩基配列約1580塩基に基づいて作成した。

C-2 元宿浄水場の各処理工程における真核ピコプランクトン群集構造解析

草木ダム放流水、元宿浄水場着水井の真核ピコ植物プランクトンの細胞数(CH-type)は約 10^4 cells/ml程度であったが、沈殿水において 10^3 cells/ml以下となった。生物相を解析した結果、ダム放流水と着水井では表層水と同様に *Goniomonas* 属に近縁なクローンの数が多く優占種と考えられた(表 2)。

表 2 草木ダム放流水、元宿浄水場各処理工程の試料から検出された真核ピコプランクトンの相同性検索結果およびそのクローン数

門、綱	属	相同性(%)	検出されたクローン数			
			ダム放流水	着水井	沈殿水	ろ過水
緑色植物門	<i>Mychonastes homosphaera</i>	93.3~99.3	6	2	4	26
	<i>Nautococcus solutus</i>	98.0		1		
	<i>Pyrobotrys stellata</i>	99.9			1	
	<i>Scenedesmus</i> sp.	98.3			1	
	<i>Scenedesmus deserticola</i>	99.7			2	
	<i>Characiochloris sasae</i>	96.2		2		
	<i>Chlamydomonas noctigama</i>	98.2~98.3			5	3
	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	99.4			3	
	<i>Monomastix</i> sp.	93.1		1		
	<i>Monomastix opisthostigma</i>	93.2				1
	<i>Coccomyxa</i> sp.	99.6		2		
	<i>Myrmecia incisa</i>	97.0			2	
	<i>Cryptomonas</i> sp.	99.5			4	
	<i>Goniomonas</i> sp.	88.3~89.3	17	11		
ハプト藻綱	<i>Chrysochromulina parva</i>	99.5				
黄金色藻綱	未同定の株	91.5~97.1	1			
	<i>Mallomonas akrokomos</i>	95.4	6			
	<i>Mallomonas annulata</i>	92.0				
	<i>Paraphysomonas foraminifera</i>	89.9				
	<i>Spumella</i> sp.	99.2		1		
	<i>Synura uvella</i>	95.2		2		
	未同定の株	74.2~99.6	2		1	
珪藻綱	<i>Navicula cryptocephala</i>	99.9			2	
	<i>Achnanthyidium minutissimum</i>	99.5			1	
ピコソエカ綱	未同定の株	90.1~90.4		2	1	
	<i>Nerada mexicana</i>	90.5~92.9		4	1	
ラビリンチュラ菌綱	<i>Thraustochytrium multirudimentale</i>	74.0			1	
卵菌綱	<i>Lagenidium caudatum</i>	97.5			2	
	<i>Phytophthora undulata</i>	99.9			2	
繊毛虫門	<i>Arcuospathidium muscorum</i>	91.6	1			
	<i>Cryptocaryon irritans</i>	91.0	1			
	<i>Enchelys polynucleata</i>	93.6	2			
	<i>Parastrombidinopsis shimi</i>	93.0				
	<i>Rimostrombidium lacustris</i>	94.6	5			
	<i>Strobilidium caudatum</i>	93.5~94.6		1	3	
	<i>Theratromyxa weberi</i>	86.9			1	
アピコンプレックス門	<i>Colpodella edax</i>	93.8~97.3			3	
	<i>Colpodella pontica</i>	92.7			1	
	<i>Theileria bicornis</i>	80.4~80.5		2		
	<i>Xiphocephalus ellisi</i>	85.0			1	
	未同定の株	80.8		1		
渦鞭毛藻綱	<i>Cochlodinium fulvescens</i>	84.8		1		
	未同定の株	97.0			1	
クロメラ門	<i>Chromera velia</i>	93.0			1	
アメーバ鞭毛虫門	<i>Bodomorpha</i> sp.	87.9	4			
	<i>Cavernomonas stercoris</i>	87.8~88.5	3	2		
	<i>Cercozoa</i> sp.	87.9		3		
	<i>Eocercomonas echina</i>	85.4				
	<i>Platyreta germanica</i>	88.0				
	<i>Soil flagellate</i> AND21	87.3		2		
	<i>Candida caryicola</i>	84.0		1		
子囊菌門						
ストレプト植物下界	<i>Morus alba</i>	99.2			9	

沈殿水、ろ過水では *Scenedesmus* 属、*Chlamydomonas* 属といったナノサイズの藻類に近縁なクローンが検出されているが、これは孔径 5 μm のメンブレンフィルターによるろ過を行っていないためと考えられた。緑色植物門の *Mychonastes* 属は着水井ではそのクローン数の割合が 5%、沈殿水では 10% であるがろ過水では 57% となり、砂ろ過を通過しやすい生物であることが明らかとなった。試料採取時は濁度障害が起こっていなかったが、*Mychonastes* 属が濁度障害の原因種となる可能性が示唆された。

C-3 草木湖のピコシアノバクテリア群集構造解析

草木湖の主要なピコシアノバクテリアは single cell で存在する PE-type であることが明らかとなった。細胞数は $10^4 \sim 10^5$ cells/ml の間で推移し、10月に最大 1.2×10^5 cells/ml となった(図6)。細胞数が多い5月、8月、10月はいずれも水温が 16°C を超えており、ピコシアノバクテリア細胞数の増減に関わる因子の一つとして水温が示唆された。

クローンの 16S rDNA 塩基配列の相同性検索結果より、6月を除くすべての試料において *Synechococcus* sp. MH305 に近縁なピコシアノバクテリアが検出された(表3)。また、すべての試料において *Opiritatus* 属といった細菌が検出された。これは本研究で用いたプライマーがある特定の細菌群の遺伝子を増幅するためと考えられた。特に細胞数が少ない月では細菌が多く検出される傾向がみられた。

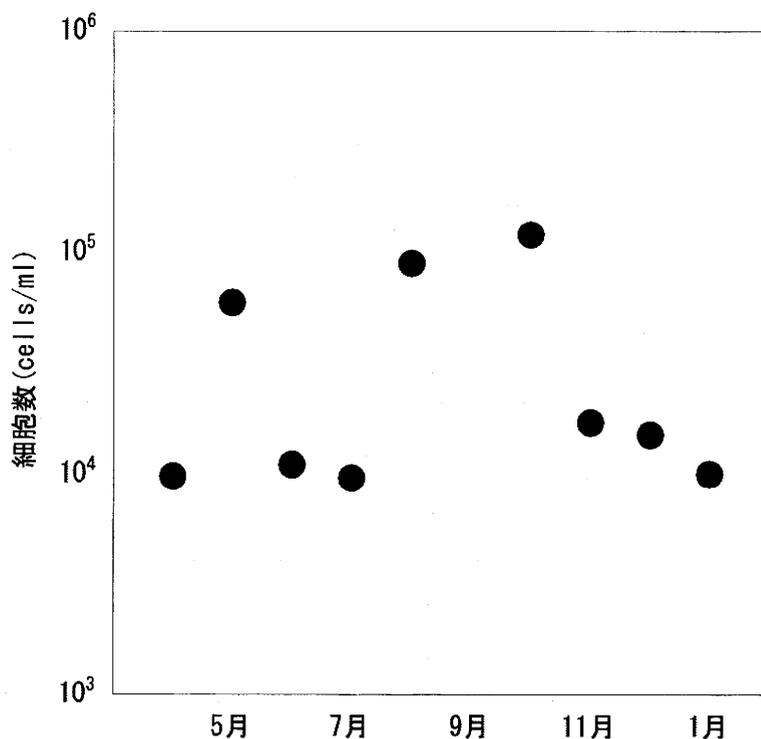


図6 草木湖における Single cell で存在するピコシアノバクテリア(PE-type)細胞数の推移

表3 草木湖で検出された OTU の FASTA による相同性検索結果

4月			
OTU	クローン数	近縁種	相同性
KP1APR2010	7	Uncultured cyanobacterium clone ADK-SGh02-76	98.20%
KP2APR2010	5	<i>Synechococcus rubescens</i> SAG3.81	99.40%
KP3APR2010	4	<i>Synechococcus rubescens</i> SAG3.81	96.80%
KP4APR2010	2	<i>Synechococcus</i> sp.MH305	99.50%
KP5APR2010	1	Uncultured cyanobacterium clone SHAB472	96.40%
細菌	26	<i>Opitutus</i> 属	
5月			
OTU	クローン数	近縁種	相同性
KP1MAY2010	38	<i>Synechococcus</i> sp. MH305	99.70%
KP2MAY2010	1	Uncultured cyanobacterium clone SHAB472	98.30%
細菌	6	<i>Opitutus</i> 属	
6月			
OTU	クローン数	近縁種	相同性
KP1JUN2010	1	<i>Synechococcus rubescens</i> SAG3.81	95.10%
KP2JUN2010	1	<i>Synechococcus</i> sp. Dim	95.90%
KP3JUN2010	1	Uncultured cyanobacterium clone GASp-WA2W2	95.00%
KP4JUN2010	1	Uncultured cyanobacterium clone SHAB472	97.70%
細菌	33	Verrucomicrobiales bacterium	
7月			
OTU	クローン数	近縁種	相同性
KP1JUL2010	17	<i>Synechococcus</i> sp. MH305	98.50%
KP2JUL2010	2	<i>Synechococcus</i> sp. BO0014	96.70%
KP3JUL2010	1	Uncultured cyanobacterium clone ADK-SGh02-76	93.30%
細菌	24	Verrucomicrobiales bacterium	
8月			
OTU	クローン数	近縁種	相同性
KP1AUG2010	8	<i>Synechococcus rubescens</i> SAG3.81	95.20%
KP2AUG2010	8	<i>Synechococcus</i> sp. MH305	99.00%
KP3AUG2010	6	<i>Synechococcus</i> sp.LBB3	96.90%
KP4AUG2010	1	Uncultured cyanobacterium clone ADK-SGh02-76	92.70%
KP5AUG2010	1	Uncultured cyanobacterium clone ADK-SGh02-76	97.10%
KP6AUG2010	1	<i>Synechococcus</i> sp. MH305	97.80%
KP7AUG2010	1	<i>Synechococcus</i> sp. BE0807D	96.70%
細菌	13	Verrucomicrobiales bacterium	
細菌	3	<i>Opitutus</i> sp.	
10月			
OTU	クローン数	近縁種	相同性
KP1OCT2010	43	<i>Synechococcus</i> sp. MH305	98.70%
KP2OCT2010	2	<i>Synechococcus rubescens</i> SAG3.81	96.80%
KP3OCT2010	1	<i>Synechococcus</i> sp. BE0807D	98.10%
細菌	1	Verrucomicrobiales bacterium	
11月			
OTU	クローン数	近縁種	相同性
KP1NOV2010	24	<i>Synechococcus</i> sp. MH305	98.90%
KP2NOV2010	5	<i>Synechococcus</i> sp. PS721	97.90%
KP3NOV2010	1	<i>Synechococcus</i> sp. PS680	97.00%
KP4NOV2010	1	Uncultured cyanobacterium clone SHAB472	96.50%
細菌	10	Verrucomicrobiales bacterium	
細菌	1	Opitutaceae bacterium	
細菌	1	Opitutae bacterium	

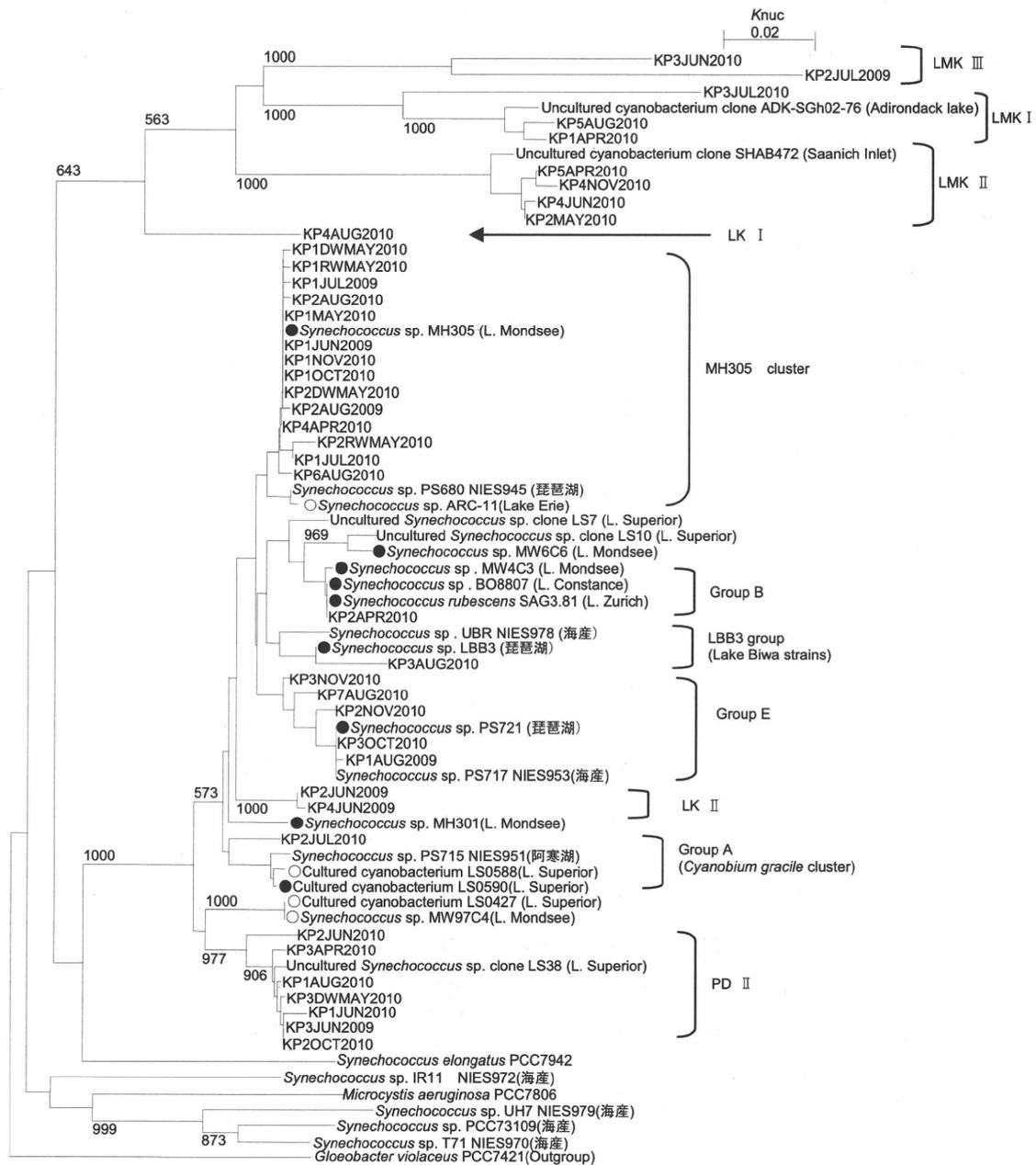


図7 草木湖から検出されたクローン(OTU)の16S rDNAに基づく系統樹
 約580塩基に基づいて作成
 LK I、LK II：草木湖において検出されたクラスター
 LMK I～LMK III：草木湖、宮ヶ瀬湖に共通して検出されたクラスター
 その他のクラスターは文献³⁾で報告されているクラスター
 ○はPC-typeを●はPE-typeを表す。

系統樹を作成したところ本研究で検出された OTU は 11 のクラスターに分かれることが明らかとなった (図 7)。PD II はスペリオル湖で報告されたクローンを含むクラスター、Group B はヨーロッパのコンスタンス湖、チューリッヒ湖、モンドシー湖から分離された PE-type のピコシアノバクテリアを含むクラスター、Group E は琵琶湖から分離された PE-type のピコシアノバクテリアおよびスペリオル湖で検出されたクローンを含むクラスター、LBB3 group は琵琶湖から分離された PE-type のピコシアノバクテリアおよびスペリオル湖で検出されたクローンを含むクラスターである。クローン数が多く、草木湖の主要なピコシアノバクテリアと考えられる OTU は MH305 cluster、PD II、LMK I に位置づけられることが明らかとなった。また LMK I、LMK II、LMK III、LK I は従来報告されている *Synechococcus* 属と根元から分岐する新規性の高い系統群であると考えられた。顕微鏡観察により PE-type が草木湖で発生しているピコシアノバクテリアであることがわかっているが、クローニングからも PE-type である MH305 cluster に位置づけられるクローンが多く検出されていることから、顕微鏡観察とクローニングの結果に整合性が見られた。

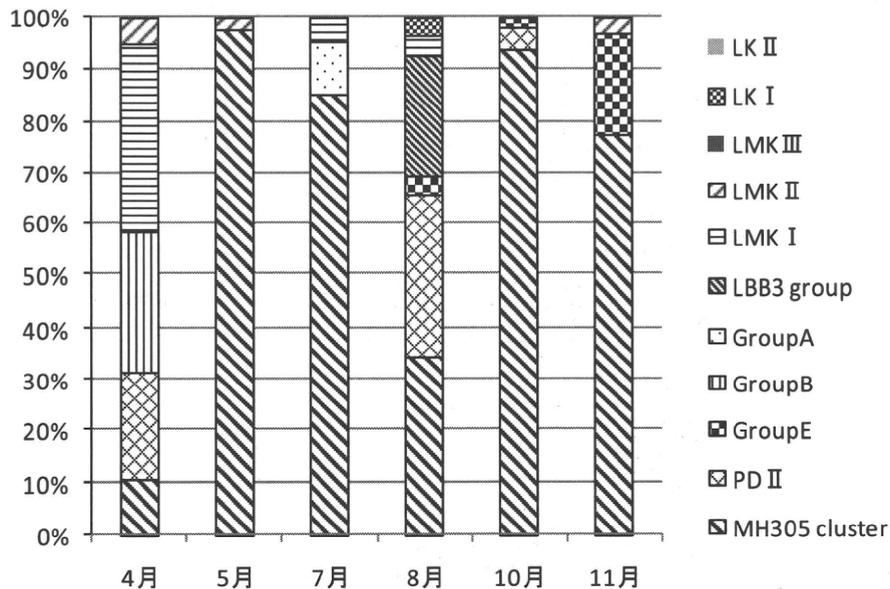


図 8 草木湖で検出された各系統群の割合の推移

各系統群の割合の推移を解析したところ 5、7、10、11 月は 70% 以上を MH305 cluster のクローンが占めており、4 月および 8 月はいくつかの系統群から構成されることが明らかとなった (図 8)。また、月によって構成される系統群やその割合が変化していることから、ピコシアノバクテリアの生物相は時期によって変化していることが示唆された。以上のことから MH305 cluster に位置するピコシアノバクテリアが草木湖における主要なピコシアノバクテリアの一つであることが明らかとなった。

C-4 宮ヶ瀬湖のピコシアノバクテリア群集構造解析

宮ヶ瀬湖では真核ピコ植物プランクトン(CH-type)はほとんど観察されず、PE-type が主要なピコシアノバクテリアであることが明らかとなった。 $10^4 \sim 10^5$ cells/ml のオーダーで推移し、10月に最大(2.6×10^5 cells/ml、single cell タイプ)となった(図9)。7月から11月の間、細胞サイズが $1 \sim 2 \mu\text{m}$ の群体形成性のPE-type が出現した。また、11月、12月は細胞サイズが $1 \mu\text{m}$ に満たない群体形成性のPE-type が出現した。PC-type について、9月以降観察した結果、 $0.3 \times 10^4 \sim 1.6 \times 10^4$ cells/ml 程度存在することが明らかとなった。クローニングにより得られた OTU について相同性検索を行ったところ、7月、8月、10月においてモンドシー湖からの分離株である *Synechococcus* sp. MW6B4 に近縁な OTU のクローン数が多いことが明らかとなった(表4)。群体形成性のピコシアノバクテリアが出現した10月の試料について、 $5 \mu\text{m}$ のメンブレンフィルターでろ過した試料とろ過しない試料で比較してみると、いずれも優占種と考えられる OTU は *Synechococcus* sp. MW6B4 に近縁であるが、ろ過しない試料で未培養のクローンに近縁な OTU が多く検出されていることが明らかとなった。 $5 \mu\text{m}$ ろ過試料で検出されなかったこれらの OTU は群体形成性のピコシアノバクテリアである可能性が示唆された。

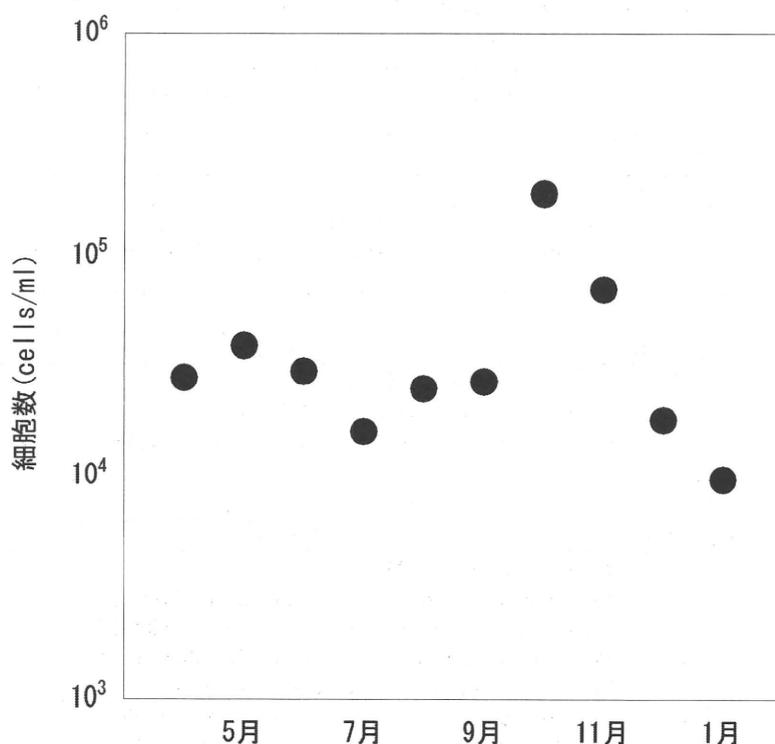


図9 宮ヶ瀬湖における Single cell で存在するピコシアノバクテリア(PE-type)細胞数の推移

表4 宮ヶ瀬湖で検出された OTU の FASTA による相同性検索結果

5月			
OTU	クローン数	近縁種	相同性
M1MAY2010F	25	<i>Synechococcus rubescens</i> SAG3.81	99.20%
M2MAY2010F	6	<i>Synechococcus</i> sp. MW10#1	98.60%
M3MAY2010F	5	<i>Synechococcus</i> sp. MW6B4	99.80%
M4MAY2010F	5	Uncultured cyanobacterium clone ADK-SGh02-76	97.50%
M5MAY2010F	1	<i>Synechococcus</i> sp. MH305	98%
M6MAY2010F	1	<i>Synechococcus rubescens</i> SAG3.81	97.80%
M7MAY2010F	1	Cyanobacterium LS123	96%
細菌	4		
7月			
OTU	クローン数	近縁種	相同性
M1JUL2010F	33	<i>Synechococcus</i> sp. MW6B4	99.80%
M2JUL2010F	4	<i>Synechococcus</i> sp. PS721	99.40%
M3JUL2010F	1	Uncultured cyanobacterium clone SHAB472	97.80%
M4JUL2010F	1	Uncultured cyanobacterium clone ADK-MOe02-64	94.60%
細菌	9		
7月(5μmろ過なし)			
OTU	クローン数	近縁種	相同性
M1JUL2010	20	<i>Synechococcus</i> sp. MW6B4	99.80%
M2JUL2010	12	<i>Synechococcus rubescens</i> SAG3.81	99.80%
M3JUL2010	2	<i>Synechococcus</i> sp. PS721	99.80%
M4JUL2010	2	Uncultured cyanobacterium clone ADK-SGh02-76	97.80%
M5JUL2010	2	Uncultured cyanobacterium clone GASP-MA1S1 C12	94.90%
M6JUL2010	1	<i>Synechococcus</i> sp. PS721	96.20%
M7JUL2010	1	Uncultured cyanobacterium clone TH f17	98.60%
M8JUL2010	1	Uncultured cyanobacterium clone SHWN night2 16S 752	95.50%
細菌	7		
8月			
OTU	クローン数	近縁種	相同性
M1AUG2010F	46	<i>Synechococcus</i> sp. MW6B4	99.40%
M2AUG2010F	1	Uncultured <i>Synechococcus</i> sp. clone LS255 WM May 5m 3-F3	99.50%
細菌	1		
10月			
OTU	クローン数	近縁種	相同性
M1OCT2010F	38	<i>Synechococcus</i> sp. MW6B4	100%
M2OCT2010F	1	<i>Synechococcus rubescens</i> SAG3.81	96.80%
M3OCT2010F	1	Uncultured <i>Synechococcus</i> sp. clone LS2 PD Sep 5m 7-A2	99.80%
細菌	8		
10月(5μmろ過なし)			
OTU	クローン数	近縁種	相同性
M1OCT2010	22	<i>Synechococcus</i> sp. MW6B4	99.80%
M2OCT2010	3	Uncultured cyanobacterium clone GASP-WA2W2_C07	95.20%
M3OCT2010	2	Uncultured cyanobacterium clone ADK-SGh02-76	99.80%
M4OCT2010	1	Uncultured cyanobacterium clone ADK-SGh02-76	98.40%
M5OCT2010	4	Uncultured cyanobacterium clone LW9m-1-3	99%
M6OCT2010	1	Uncultured cyanobacterium clone LW18m-3-58	99.40%
M7OCT2010	1	Uncultured <i>Synechococcus</i> sp. clone LS51 PD Sep 5m 7-E3	99.50%
細菌	14		

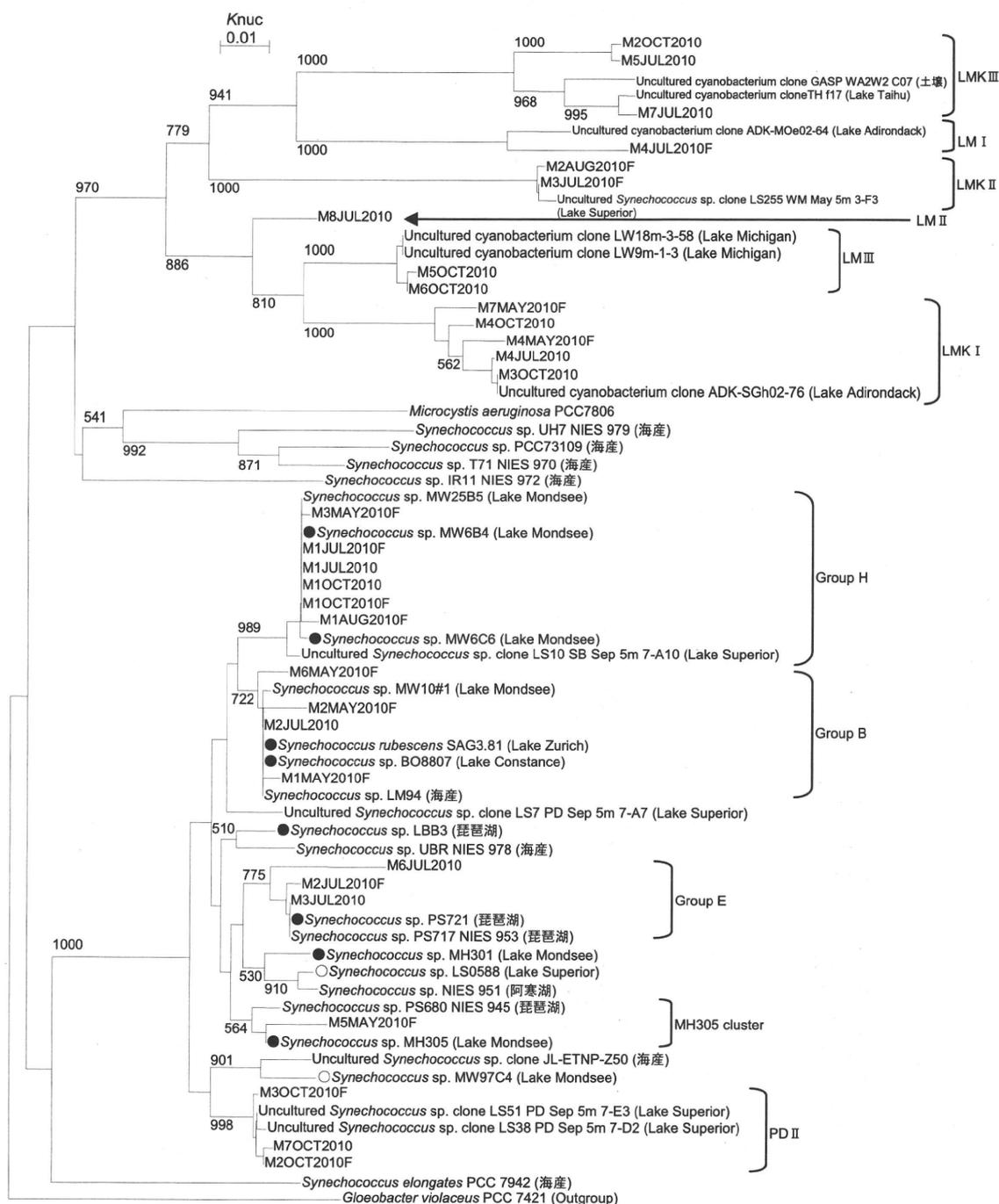


図 10 宮ヶ瀬湖から検出されたクローン(OTU)の 16S rDNA に基づく系統樹
 約 580 塩基に基づいて作成
 LM I、LM II、LM III：宮ヶ瀬湖において検出されたクラスター
 LMK I～LMK III：草木湖、宮ヶ瀬湖に共通して検出されたクラスター
 その他のクラスターは文献³⁾で報告されているクラスター
 ○は PC-type を●は PE-type を表す。

本研究で得られた OTU とその近縁種、代表的な *Synechococcus* 属等について近隣結合法により系統樹を作成した(図 10)。本研究で検出されたクローン(OTU)は 11 クラスターに分かれることが明らかとなった。クローン数が多く宮ヶ瀬湖の主要なピコシアノバクテリアと考えられる OTU は、Group H に位置づけられることが明らかとなった。Group B、Group H は PE-type のクラスターであり、顕微鏡観察で計数しているピコシアノバクテリアの遺伝子を検出できていることが示唆された。LM I ~ III、LMK I ~ III は従来報告されている *Synechococcus* 属と根元から分岐する新規性の高い系統群であると考えられた。

各系統群の割合の推移を解析したところ7、8、10月の5 μ mろ過試料では80%以上を Group H に属するピコシアノバクテリアが占めており、これらは Single cell タイプであることが示唆された(図 11)。5月は Group B の割合が多く、7月は Group H が高まることから、季節によって群集構造が変化することが示唆された。10月の5 μ m メンブレンフィルターろ過試料とろ過しない試料を比較してみると後者で、クラスター LMK I、LMK III、LM III が検出されていることから、これらは群体形成性のピコシアノバクテリアを含む系統群であることが示唆された。

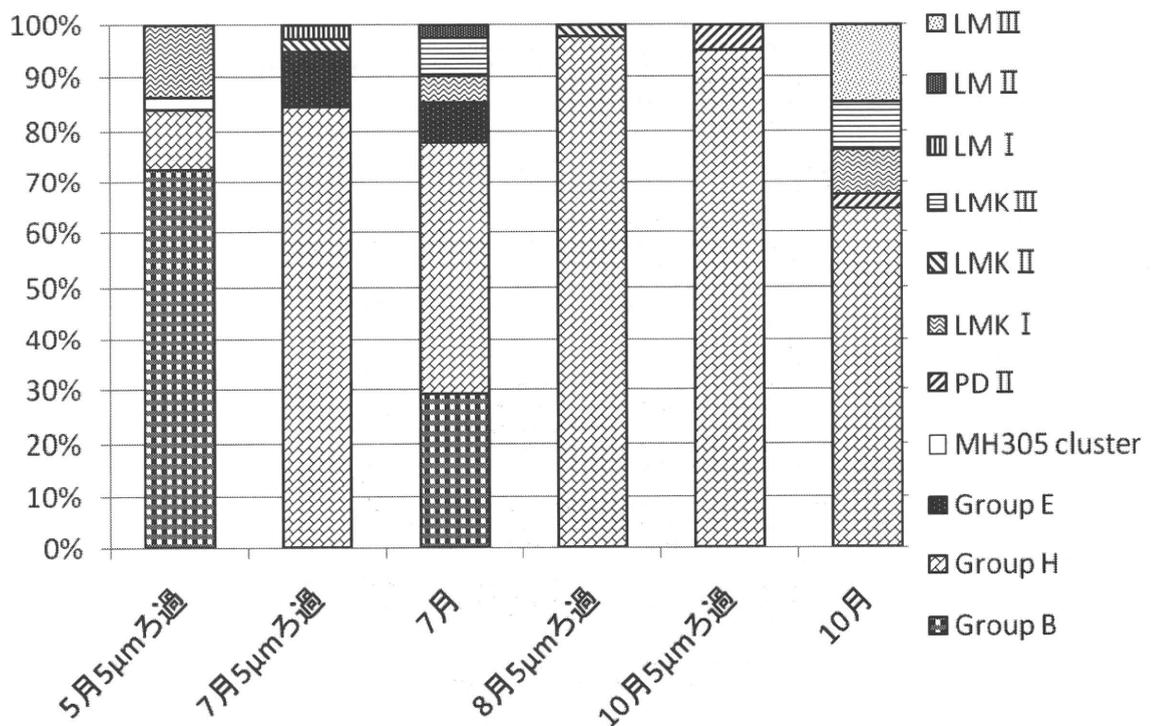


図 11 宮ヶ瀬湖で検出された各系統群の割合の推移

C-5 相模湖および長沢浄水場におけるピコシアノバクテリア群集構造解析

相模湖では CH-type のピコプランクトンは観察されなかった。Single cell で存在する PE-type のピコシアノバクテリアは 10^3 cells/ml のオーダーで推移し、宮ヶ瀬湖、草木湖より細胞数が低いことが明らかとなった。しかしながら細胞サイズが $1\mu\text{m}$ に満たない群体形成性の PE-type がほぼ年間を通じて出現した。超音波により分散化し定量を試みたが、分散すると自家蛍光が弱く、定量できなかった。PC-type は 8 月と 12 月において 2×10^4 cells/ml 程度観察された。群体形成性のピコシアノバクテリアが存在するため、 $5\mu\text{m}$ のメンブレンフィルターでろ過をせずに遺伝子の抽出を行った。

年間を通じて長沢浄水場沈殿水、ろ過水において PCR により 16S rDNA の増幅ができなかった(写真 1)。原水の細胞数が少ないことやピコシアノバクテリアの細胞が薬品により影響を受けていることが要因として考えられた。従って群集構造解析は相模湖水および長沢浄水場の着水井の試料について行った。

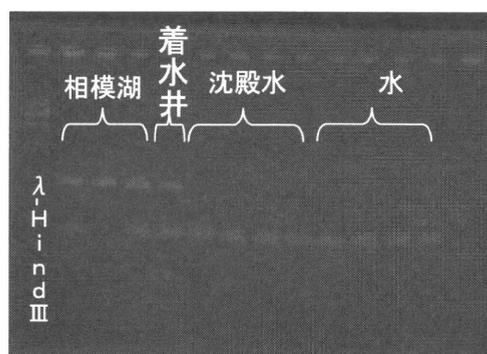


写真 1 PCR 産物の電気泳動写真(11月)

4 月の試料について、PCR 産物を制限酵素 *Hae*III により処理し電気泳動したところ、多くのクローンにおいて PCR 産物が切断されなかった(写真 2)。そこで制限酵素 *Msp* I を反応させたところ、すべてのクローンが切断できたので(写真 3)、以降、*Msp* I を使用した。

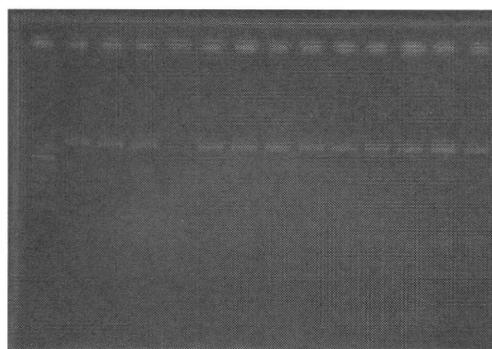


写真 2 PCR 産物を制限酵素 *Hae*III で処理後の電気泳動写真 (4月相模湖)
最左列は 100 bp DNA Ladder

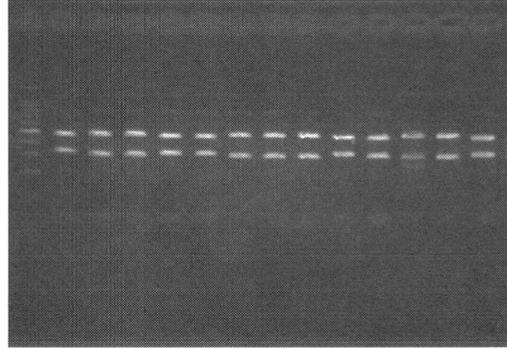


写真3 PCR産物を制限酵素 *Msp* I で処理後の電気泳動写真 (4月相模湖)
最左列は 100 bp DNA Ladder

相模湖表層水を試料としてクローニングにより得られた OTU について相同性検索を行ったところ、クローン数が多く優占種と考えられる OTU の近縁種は 4 月は Uncultured cyanobacterium clone TH_c210、5 月は Uncultured cyanobacterium clone TH_d331 であった(表 5)。これらは相模湖と同様に富栄養湖である中国の太湖で検出されたクローンである⁶⁾。TH_c210 と TH_d331 間の遺伝子の相同性は 97% であり、いずれも未培養のピコシアノバクテリアではあるが、4 月と 5 月で異なった *phylo*type のピコシアノバクテリアが優占していることが明らかとなった。長沢浄水場着水井の試料の優占種と考えられる OTU の近縁種は 4 月は Uncultured cyanobacterium clone TH_c210、5 月は Uncultured cyanobacterium clone TH_d331 であり、相模湖から長沢浄水場への導水過程で優占種の変化はないことが明らかとなった。8 月になると *Pseudanabaena* 属、*Microcystis* 属、*Anabaena* 属といったナノサイズのシアノバクテリアが多く検出され、ピコシアノバクテリアと考えられるクローン数は減少する傾向が見られた。相模湖で検出されたピコシアノバクテリアのクローンについて系統樹を作成したところ大きく 3 つの系統に分かれることが明らかとなった(データは示していない)。二つの系統はいずれも未培養のクローンからなる系統群で、従来のピコシアノバクテリアの培養株を含まないため新規性の高い系統群と考えられた。一つの系統は PE-type、PC-type の培養株が位置づけられている MH305 cluster、Group E、Group B、Group H を含む系統群である。このように相模湖では従来、分離・培養が行われていないピコシアノバクテリアが主要なピコシアノバクテリアであることが明らかとなった。

表5 相模湖および長沢浄水場着水井で検出された OTU の FASTA による相同性検索結果

4月相模湖表層			
OTU	クローン数	近縁種	相同性
S1APR2010	25	Uncultured cyanobacterium clone TH_c210	99.00%
S2APR2010	13	Uncultured cyanobacterium clone TH_c210	98.40%
細菌	10		
4月長沢浄水場着水井			
OTU	クローン数	近縁種	相同性
N1APR2010	30	Uncultured cyanobacterium clone TH_c210	99.20%
N2APR2010	2	Uncultured cyanobacterium clone TH_f17	98.30%
N3APR2010	1	Uncultured cyanobacterium clone TH_f17	94.60%
N4APR2010	1	Uncultured cyanobacterium clone TH_a71	92.40%
N5APR2010	1	Uncultured cyanobacterium clone TH_d221	98.50%
N6APR2010	1	Uncultured cyanobacterium clone ADK-SGh02-76	99.20%
N7APR2010	1	Uncultured cyanobacterium clone ADK-SGh02-76	95.10%
N8APR2010	1	Uncultured cyanobacterium clone CYN-2-4	97.40%
細菌	10		
5月相模湖表層			
OTU	クローン数	近縁種	相同性
S1MAY2010	38	Uncultured cyanobacterium clone TH_d331	99.10%
S2MAY2010	1	Uncultured cyanobacterium clone LiUU-11-408	98.40%
S3MAY2010	1	<i>Synechococcus</i> sp. MW25B5	99.50%
S4MAY2010	1	Uncultured cyanobacterium clone TH_f17	98.70%
細菌	7		
5月長沢浄水場着水井			
OTU	クローン数	近縁種	相同性
N1MAY2010	18	Uncultured cyanobacterium clone TH_d331	99.20%
N2MAY2010	6	Uncultured cyanobacterium clone TH_h60	99.40%
N3MAY2010	3	Uncultured cyanobacterium clone TH_c210	98.60%
N4MAY2010	3	Uncultured cyanobacterium clone TH_f17	97.10%
N5MAY2010	1	<i>Synechococcus rubescens</i> SAG 3.81	99.40%
N6MAY2010	1	<i>Synechococcus</i> sp. MH305	95.90%
細菌	12		
8月相模湖表層			
OTU	クローン数	近縁種	相同性
S1AUG2010	3	Uncultured cyanobacterium clone B109 10D	84.20%
S2AUG2010	3	Uncultured cyanobacterium clone TH_a71	99.00%
S3AUG2010	3	Uncultured cyanobacterium clone LiUU-11-408	97.30%
S4AUG2010	3	<i>Synechococcus</i> sp. MA0607F	98.00%
S5AUG2010	1	<i>Synechococcus</i> sp. MA0607K	93.40%
S6AUG2010	1	<i>Synechococcus</i> sp. MH305	93.60%
	14	<i>Pseudanabaena</i> 属	
	8	<i>Microcystis</i> 属	
細菌	12		
8月相模湖10m			
OTU	クローン数	近縁種	相同性
SH1AUG2010	4	<i>Synechococcus</i> sp. MA00607K	98.60%
SH2AUG2010	3	Uncultured cyanobacterium clone TH_d160	99.30%
SH3AUG2010	1	<i>Cyanobium</i> sp. JJ19B5	97.50%
	22	<i>Microcystis</i> 属	
	7	<i>Pseudanabaena</i> 属	
	4	<i>Anabaena</i> 属	
細菌	7		

D. 結論

分子生物学的手法により草木湖の真核ピコプランクトンの群集構造を解析した結果、年間を通じて高い割合を占めるクリプト植物門に近縁な種が主要な真核ピコ植物プランクトンであることが示唆された。草木湖で検出されたクリプト植物門に近縁なクローンはジョージ湖やパビン湖で検出されたクローンと近縁であり、貧栄養湖、貧・中栄養湖に一般的に出現するクリプト植物門の微生物と考えられた。草木湖を水源とする浄水場において原水、沈殿水、ろ過水について同様に検討したところ、ろ過水において緑色植物門の *Mychonastes* 属のクローンが著しく多く検出され、濁度障害の原因となる可能性が示唆された。

草木湖の主要なピコシアノバクテリアは PE-type であり 5 月、8 月、10 月に細胞数が高まることが明らかとなった。ピコシアノバクテリア群集は系統学的に 11 系統に分けられ、MH305 cluster に位置づけられるピコシアノバクテリアが優占種と考えられた。

宮ヶ瀬湖の主要なピコプランクトンは PE-type のピコシアノバクテリアであり、その細胞数は 5 月と 10 月にピークとなることが明らかとなった。細胞サイズが 1~2 μm の群体形成性の PE-type や細胞サイズが 1 μm に満たない群体形成性の PE-type が出現し、この点で草木湖と異なった。系統学的に 11 系統に分けられ、Group H に位置づけられるピコシアノバクテリアが優占種と考えられた。

相模湖では細胞サイズが 1 μm に満たない群体形成性の PE-type のピコシアノバクテリアが多く観察された。クローニングを行ったところ中国太湖で検出されたクローンに近縁なピコシアノバクテリアが主要なピコシアノバクテリアと考えられ、これまで分離されていないピコシアノバクテリアが発生していることが示唆された。

このように草木湖、相模湖、宮ヶ瀬湖のピコシアノバクテリアは水域ごとに優占種が異なることが示唆された。さらに、これまで分離されている *Synechococcus* 属と根元から分岐するいくつかの新規の系統群が存在することが明らかとなった。

各水域について細胞数の変動特性とその要因を明確にすると同時に、優占種を分離し、その温度特性等を評価する必要性が示唆された。さらに湖水と浄水場処理工程の生物相について、濁度障害の時期を中心に頻度を増やして解析する必要性が示唆された。

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 Nierzwicki-Bauer, S. A., The molecular diversity of freshwater picoeukaryotes from an oligotrophic lake reveals diverse, distinctive and globally dispersed lineages, *Environmental Microbiology*, 7, 1413-1425 (2005).
- 3) Ivanikova, N. V., Popels, L. C., McKay, R. M. L., Bullerjahn, G. S., Lake Superior supports novel clusters of cyanobacterial picoplankton, *Applied and Environmental Microbiology*, 73, 4055-4065

(2007).

4) Slapeta, J., Moreira, D., Lopez-Garcia, P., The extent of protist diversity: insights from molecular ecology of freshwater eukaryotes, *Proceedings of the Royal Society B*, 272, 2073-2081 (2005).

5) Lefevre, E., Bardot, C., Noel, C., Carrias, J. F., Viscogliosi, E., Amblard, C., Sime-Ngando, T., Unveiling fungal zooflagellates as members of freshwater picoeukaryotes: evidence from a molecular diversity study in a deep meromictic lake, *Environmental Microbiology*, 9, 61-71 (2007).

6) Tang, X., Gao, G., Qin, B., Zhu, L., Chao, J., Wang, J., Yang, G., Characterization of bacterial communities associated with organic aggregates in a large, shallow, eutrophic freshwater lake (Lake Taihu, China), *Microbial Ecology*, 58, 307-322 (2009).

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

松尾絵理子、森田真紀、藤本尚志、大西章博、鈴木昌治、遠本和也、柳橋泰生、山田俊郎、秋葉道宏、分子生物学的手法による草木湖のピコプランクトン群集構造解析、第44回日本水環境学会年会講演集 p. 478 (2010)

村田昌隆、藤本尚志、大西章博、鈴木昌治、遠本和也、岸田直裕、秋葉道宏、分子生物学的手法による草木湖の微小プランクトン群集の季節変化の解析、日本水処理生物学会第47回大会講演集 p. 13 (2010)

F. 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 4

浄水場における高濁度原水流入時の浄水処理に関する検討

研究分担者 伊藤 雅喜

平成 22 年度厚生労働科学研究（健康安全・危機管理対策総合研究事業）
分担研究報告書

気候変動に対応した飲料水管理手法の開発に関する研究
—— 浄水場における高濁度原水流入時の浄水処理に関する検討 ——

分担研究者 伊藤 雅喜 国立保健医療科学院 水道工学部 水道計画室長

A. 研究目的

浄水場における高濁度原水対策については「水道維持管理指針」をはじめ、様々な文献にて容易に調べる事が可能であるが、個々の浄水施設において水源水質や処理工程は固有のものであり例えば同じ水源であっても浄水施設が異なれば処理状況も異なるものと考えられる。浄水処理に携わる職員においても、他の浄水施設の状況を知る機会はあまり無く、またそういった研究もほとんどなされていないのが現状である。本年度の研究では複数の浄水場における実際の高濁度原水処理時のデータから各々の状況を分析する事によって浄水処理に影響を及ぼす因子を明らかにし、高濁度原水処理における指標となる資料を作成する事を目指して研究に着手した。

高濁度原水流入時における浄水処理において処理状況を調査・分析する事で浄水処理に影響を及ぼす因子を明確化、及びその影響力の大きさについて定量的に評価し、高濁度原水処理において、水源水質の違いが及ぼす影響、各因子の挙動や相関、浄水場規模の違いによる処理への影響等について調査し、高濁度原水処理において注目すべき共通項を見いだす事を目的とする。

B. 研究方法

1) データ収集

今回使用するデータは、実際に浄水場にて高濁度原水処理をした際のものであり、過去 3 年内の代表的な事例のデータを釧路市愛国浄水場、神奈川県内広域水道企業団(相模原浄水場、綾瀬浄水場)、石狩市厚田浄水場の 3 事業体から提供頂いたものである。

事業体の選択には以下の 3 項目を条件とした。

- ① 水源が河川表流水であり更に上流域の降雨等による高濁度原水流入が頻繁に発生している。
- ② 高濁度原水処理対応の体制が確立されている。
- ③ 水処理設備が類似(凝集沈殿+砂ろ過)しており、浄水場の規模(浄水能力)が異なる。
- ④ 凝集剤に PAC を使用している。

4 浄水場とも濁度の質は主に無機物(砂、粘土等)である。データ項目は、施設概要、水処理フロー、高濁度原水流入時の対応マニュアル及び実際の処理対応について、そして水質測定値や薬品注入率においては時系列データとして日誌やデジタルデータとして存在しているものとした。

収集したデータのうち、時系列データにおいては原水濁度の状態によって以下の 4 通りに分類し、分析した。

- ① 濁度上昇開始～ピーク時
- ② 濁度ピーク時～下降時(※下降時:濁度の変動がほぼ 0 になるまで)

2) データ分析・評価方法

データ分析には多変量解析の1つである重回帰分析による解析を試みた。

C. 研究結果と考察

1) 浄水場別による高濁度原水処理の現状

1-1) 釧路市愛国浄水場

1-1-1) 施設概要

- ・水源：釧路川の表流水
 - ※ 上流域には酪農地帯及び湿原が広がる、ダムは存在しない。
 - ・原水水質(※2009年度実績)
 - 濁度平均 11 度、色度平均 8 度、pH 平均 7.1、水温平均 8.9℃
 - ・高濁度原水流入要因：水源流域による降雨
 - ・計画 1 日最大給水量：109,100(m³/日)
 - ・濁度の質：シルト 66%、砂 24%、粘土 8%、礫 2%
 - ・凝集剤注入方式・能力：調節弁＋流量計比例制御、注入能力 20～150(mg/L)
 - ※注入率は手動で設定する。
 - ・凝集剤貯蔵量：100(m³)
 - ※2009年度 1 日あたり貯蔵量平均値
 - ・凝集沈殿池：スラリー循環型高速凝集沈殿池
 - ※沈殿処理水濁度 管理目標値：<0.7 度
 - ・急速ろ過池：単層砂ろ過
 - ※ろ過水濁度 管理目標値：<0.07 度
 - ・排水処理方式・能力：無薬注加圧脱水方式、処理能力平均 42(m³/日)
- 図-1 に水処理フローを示す。

1-1-3) 高濁度原水処理対応

以下に高濁度原水処理における実際の対応について説明する。

高濁度原水処理時は常にジャーテストを実施し、PAC 適正注入率を決定している。

① 河川上流域に多量の降雨あり。

- (1) 河川上流にて採水・水質測定及び濁水到達時間予測表の作成。
- (2) 配水池貯水量の確保
- (3) 着水井 pH 調整用硫酸注入停止。
- (4) 沈殿池内スラリー量の調整。(処理に影響のない範囲で減少させる)
- (5) 応援要員の確保。

② 取水濁度計(沈砂池後)で濁度上昇