

- 2010.
- 7) Parker A. Building climate change impacts and adaptations into Water Safety Plans for low income communities in African cities. IWA-WHO Water Safety Conference 2010, 2010.
- 8) 山本陽一, 新井規夫, 古川健太, 高松千尋.
- 気候変動が水道事業に与える影響に関する調査について. 第 62 回全国水道研究発表会講演集, 6-7, 2011.
- 9) 松江市総務部消防防災課. 12 月 31 日からの大雪について(第 19 報/最終報), 2011.

表1 米国の4水道事業体の主要特性¹⁾

水道事業体	場所	給水人口	主要気候変動リスク
EBMUD	カリフォルニア州 アラメダ郡、コントラ コスタ郡	130 万人	<ul style="list-style-type: none"> ・降雨流出タイミングの変化 ・給水量の減少 ・海水面の上昇
NYDEP	ニューヨーク州 ニューヨーク市	920 万人	<ul style="list-style-type: none"> ・濁度の上昇、富栄養化、合流式 下水道の越流 ・海水面の上昇
SPU	ワシントン州 シアトル市	140 万人	<ul style="list-style-type: none"> ・降雨流出タイミングの変化 ・給水量の減少 ・洪水リスクの増加および合流式 下水道の越流
スパータンバーグ 水道	南カリフォルニア州 スパータンバーグ市	18 万人	<ul style="list-style-type: none"> ・渇水および沿岸部の豪雨の増加

表2 ニューヨーク市における基準となる気候と年平均の変化のモデルによる予測¹⁾

気候変動の指標	基準 1971~2000	2020 年代	2050 年代	2080 年代
気温 (°C)	13	+0.6~1.4	+1.4~2.6	+2~3.9
降水量	1180 mm	+0~5%	+0~10%	+5~10%
海水レベルの上昇 (cm)	—	5.1~13	18~30	30~58
最大気温が 32°C を超える日数	14	23~29	29~45	37~64
最大気温が 38°C を超える日数	0.4	0.6~1	1~4	2~9
熱波の日数	2	3~4	4~6	5~8
降水量が 25 mm を超える日数	13	13~14	13~15	14~16
降水量が 51 mm を超える日数	3	3~4	3~4	4~4
降水量が 100 mm を超える日数	0.3	0.2~0.4	0.3~0.4	0.3~0.5

表3 シアトル市における2020年代、2040年代、2080年代における年平均気温と降水量の変化予測¹⁾

時期	気温 (°C)	降水量 (%)
2020 年代		
下限	+0.6	-9
平均	+1.1	+1
上限	+1.8	+12
2040 年代		
下限	+0.8	-11
平均	+1.8	+2
上限	+2.9	+12
2080 年代		
下限	+1.6	-10
平均	+3.0	+4
上限	+5.4	+20

表4 東京都水道局における将来の気候変化と渇水リスクへの影響⁸⁾

	想定される将来の気候変化	渇水リスクへの影響
気温	<ul style="list-style-type: none"> ・年平均気温は全ての流域で上昇しており、さらに今後も上昇が予想される。 ・年間を通して気温上昇が見込まれるが、特に春期と秋期で上昇量が大きい。 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 気温の上昇により都市用水の需要量が增大する。 ○ 蒸発散量の増加により、水資源賦存量が減少する。 ○ 蒸発散量の増加により、水田の水需要量が増加する。
降水量	<ul style="list-style-type: none"> ・2～4月の降水量が減少する可能性がある。 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 冬期の河川流量が減少し渇水が助長される可能性がある。 ○ ダム回復期の流入量が減少し、ダム貯水量が回復しない可能性がある。
降雪積雪	<ul style="list-style-type: none"> ・2～3月の積雪量が減少する可能性がある。 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 融雪出水が減少し、春先の農業用水需要量に対応できなくなる可能性がある。
河川流量	<ul style="list-style-type: none"> ・冬から春にかけての流出量が減少する可能性がある。 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 冬期の河川流量が減少し渇水が助長される可能性がある。 ○ 融雪出水が減少し、春先の農業用水需要量に対応できなくなる可能性がある。

表5 松江市で発生した雪害の状況

積雪期間	平成22年12月31日～平成23年1月1日にかけて山陰地方で記録的大雪 (松江市：31 cmの積雪)
人的被害	重傷1名、軽傷3名(除雪作業中の負傷)
電気	12月31日～1月6日まで延べ92,700戸停電
電話回線	12月31日～1月11日まで累計2,600件故障
水道	12月31日～1月6日まで合計1,957戸断水
交通	路線：運転見合わせ、道路：通行止め等多数の被害
孤立集落	旧美保関町、島根町の7地区、計302世帯が孤立(12/31～1/3)

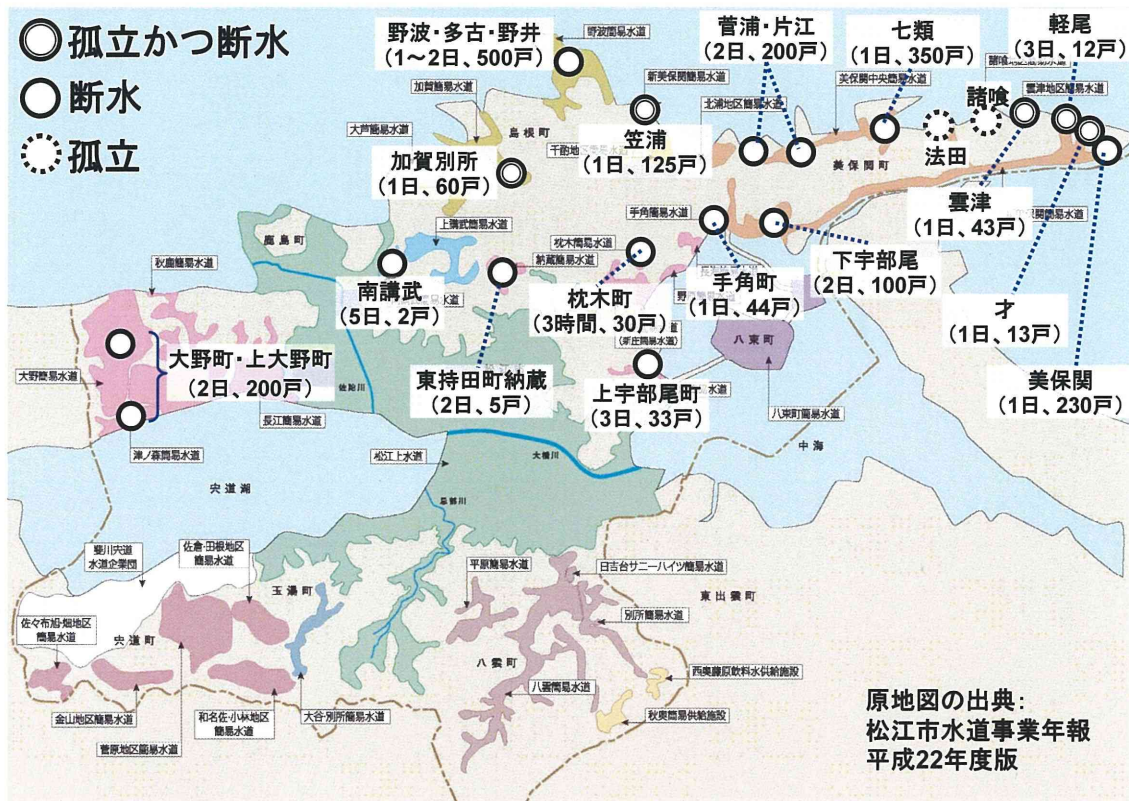


図1 大雪にともなう断水被害の発生状況(図中の日数は断水期間を示す)

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

厚生労働科学研究費補助金（健康安全・危機管理対策総合研究事業）
「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」
分担研究報告書

研究課題：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)

分担研究者 柳橋 泰生 福岡女子大学国際文理学部環境科学科教授

研究要旨

濁水にはさまざまな物質が含まれ、濁水対策は水道水質管理上きわめて重要である。気候変動により降雨強度が強くなり、ダム貯水池が長期間にわたって濁水化することが懸念されている。ダム貯水池の濁水は、一度発生すると数か月間継続することが多く、また、対策も難しいため、ダム管理者や下流利水者を悩ます問題である。これまでに降水量や河川流量の実測データが大量に蓄積されており、これを活用して、ダム貯水池の濁水の長期化の可能性を評価した。

自然条件等の違いで、ダム貯水池ごとに濁水長期化が起こる降水量・水の流入量が異なり、埼玉県のアダムでは、近傍の気象観測所で日降水量が 150 mm 以上になると濁水長期化が起こり、その降水量となる日数は、1930 年代からの降水量のデータに基づくほとんど変化はないが、1960 年代からのデータによると、50 年に 1 日程度増加していた。また、群馬県の B ダムでは、気象観測所の日降水量が 50 mm 以上になると濁水長期化が起こり、その日数は、1900 年代からのデータによるとほとんど変化がないが、1960 年代からのデータによると、10 年に 1 日程度増加していた。高知県の C ダムでは、濁水長期化を引き起こす日降水量の閾値は算定できなかったが、近くの気象観測所の 1890 年代からの約 120 年間の降水量のデータを解析したところ、時代による大きな変化は観察されなかった。

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。平成 21 年度は、水資源機構が管理している施設において、これまでに蓄積された水温や水質データ¹⁾の長期的変動の解析を行い、月 1 回実施している定期水質調査の線形近似による解析結果では一定の長期的変動の傾向はみられず、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、Seasonal Mann-Kendall 検定²⁾を行った結果、それぞれ有意な上昇傾向と低下傾向がみられた。

平成 22 年度は、定期水質調査結果についても Seasonal Mann-Kendall 検定を行うとともに、高緯度地域を含め全国のダム貯水池についても長期的傾向を把握するため、国土交通省が管理するダム貯水池³⁾にも解析対象を広げ、水温について長期的変動をみた。また、気候変動による降雨パターンの変化によるダム貯水池の濁水長期化の発生頻度等への影響を把握するため、近年において濁水長期化が発生した水資源機構のダム貯水池⁴⁾において、降水量、降水強度、流入水流量と濁水長期化の関係の解析を行った。

平成 23 年度は、長期間蓄積されている降水量データ⁵⁾を活用して、今後の濁水長期化の増減の可能性を評価した。

B. 研究方法

平成 22 年度に行った研究の結果、埼玉県に存在する A ダム貯水池の流入端付近に設置されている気象観測所において、日降水量がおおむね 150 mm 以上になると濁水長期化が発生することが判明した。この気象観測所では、昭和 52 年 6 月から降水量が観測されてデータが蓄積されていることから、経年変化を解析し、日降水量が 150 mm 以上となる日数を調査した。しかしながら、データ蓄積期間は 30 年余に過ぎない。約 7 km 離れたところにある気象観測所では、昭和 3 年 1 月から降水量が観測されていることから、このデータを用いてさらに長期のデータ (83 年間) による評価を行った。さらに、群馬県の B ダム貯水池および高知県の C ダム貯水池についても同様の解析を試みた。

C. 研究結果及び D. 考察

平成 22 年度の研究の結果、研究対象とした A ダム貯水池では、図-1 に示すように近傍の気象観測所 (ダム貯水池流入端付近) の日降水量がおおむね 150 mm 以上になると、貯水池や放流水に濁水現象が生じることが判明した。

このため、近傍の気象観測所 (以下、「a 観測所」という。) の過去のデータを解析した。1978 年 1 月から 2010 年 12 月までの 33 年間のデータについて、年降水量を図-2、日降水量が 150 mm 以上

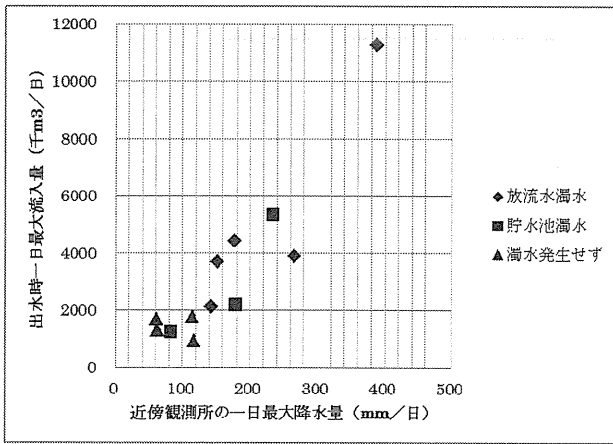


図-1 日降水量・流入量と濁水発生との関係

となった年間日数を図-3 に示す。年間降水量および日降水量が 150mm 以上となる日数は、僅かながら増加の傾向を示した。

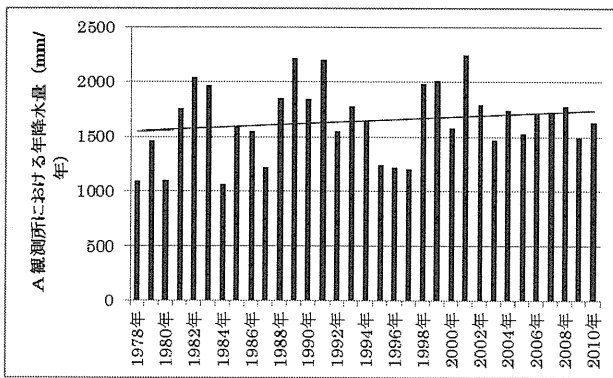


図-2 a 観測所における年間降水量の推移

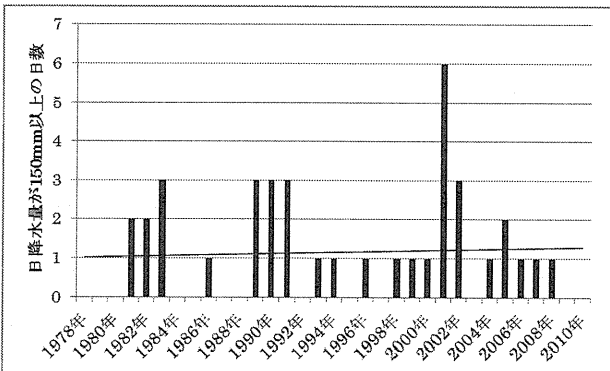


図-3 a 観測所において日降水量が 150mm 以上となった年間日数

次に、約 7 km 離れたところにある気象観測所（以下、「b 観測所」という。）では、昭和 3（1928）年からの降水量の観測データが蓄積されていることから、このデータの活用を検討した。

まず、a 観測所と b 観測所の日降水量の相関をみた。a 観測所において 100mm 以上の降水量があった日の b 観測所の降水量との比較を行ったところ、相関係数 r が 0.85 と高い値を示し、b 観測所の降水量は a 観測所の降水量の 0.76 倍程度であることがわかった。a 観測所は山間部にあり、標高

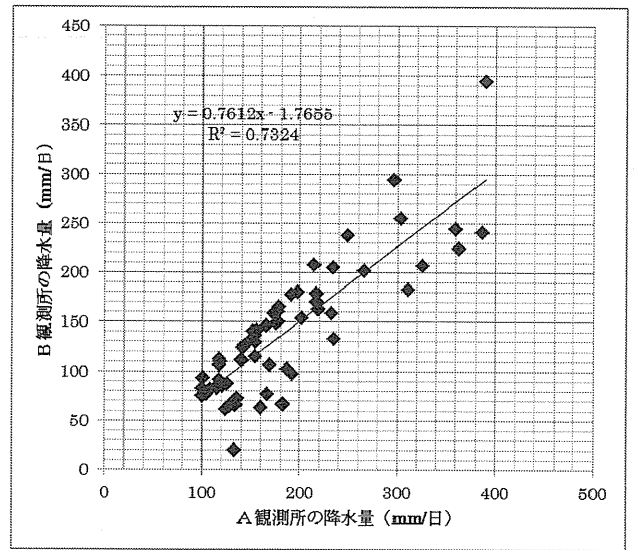


図-4 a 観測所と b 観測所の降水量の相関

が 400 m であるのに対し、b 観測所は盆地部にあり、標高が 232 m と約 170 m 低いところにあることも影響していると考えられる。このことから、A ダム貯水池において濁水が発生する目安となる a 観測所の降水量 150 mm に相当する b 測所の降水量を 100 mm と想定し、以下の解析を進めた。

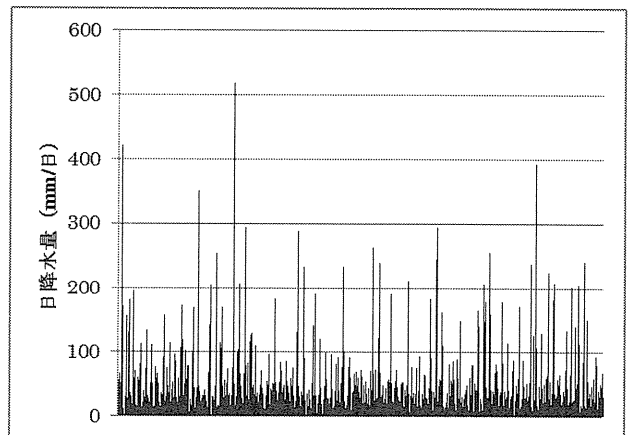


図-5 b 観測所の日降水量の推移

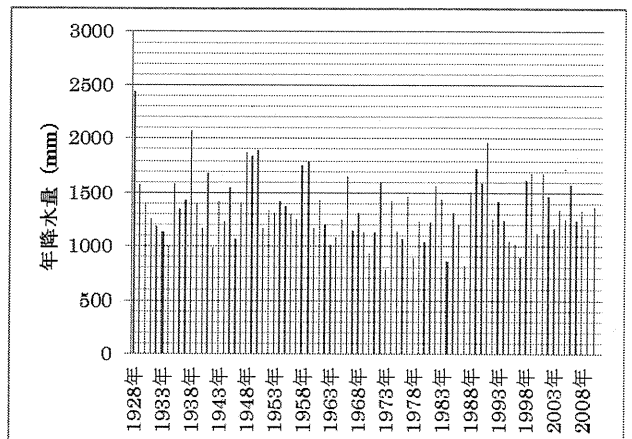


図-6 b 観測所の年降水量の推移

b 観測所における 1928 年 1 月から 2010 年 12 月までの 83 年間の日降水量の推移を図-5 に示す。

また、年降水量を図-6に示す。

b観測所において日降水量が100mm以上となった日数の推移を図-7に示した。また、10年ごとに年間平均日数を算出し、その推移を示したのが図-8である。下に凸の推移を示しており、1950年代から1970年代にかけて大雨が少ない時期があったことがわかる。したがって、これらのデータをもとに将来を予測した場合、1930年代から現在までのデータに基づき長期的傾向をみた場合は、ほぼ変化がないと評価できるのに対し、1960年代から現在までのデータからみた場合は、大雨がある年間日数は60年程度で1日増加していると評価することができる。また、周期的変動をしている可能性も示唆されるところである。

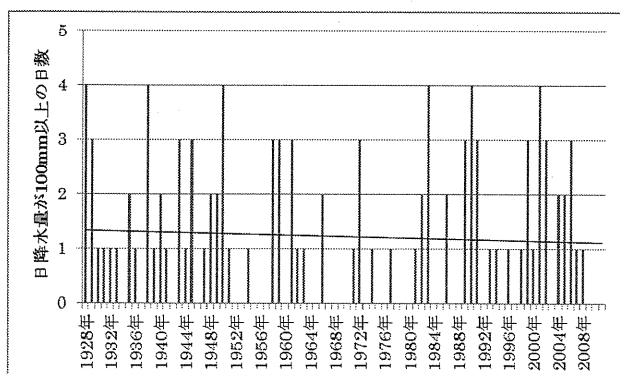


図-7 b観測所における日降水量が100mm以上の日数

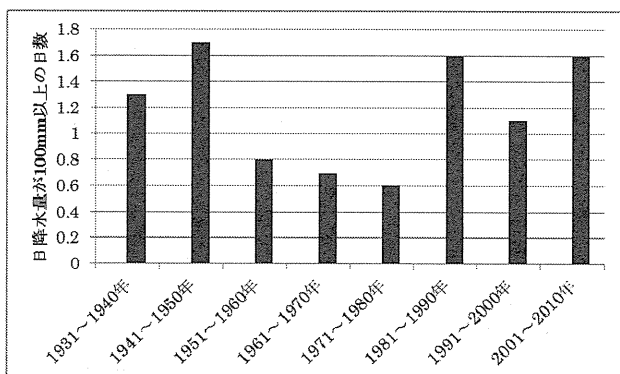


図-8 b観測所における日降水量が100mm以上の日数（10年ごとの平均値の推移）

同様の解析を群馬県に存在するBダム貯水池についても実施した。Bダム貯水池では、近傍のc観測所における日降水量が50mm以上となった際に濁水長期化が発生する傾向がみられた。c観測所では1977年11月から降水量が観測されており、30年程度のデータの蓄積がある。c観測所の近くではd観測所が1896年12月から降水量が観測されており、110年以上のデータの蓄積がある。両観測所は40km程度離れており、c観測所で50mm以上の日降水量があった日のd観測所の降水量との比較を行ったところ、相関係数rは0.60であり、一つの外れ値を除くと0.75となった。ま

た、d観測所の日降水量はc観測所の日降水量の0.4から0.6倍の値を示した。d観測所の年降水量の推移を図-9に示す。また、d観測所における日降水量が25mm以上となった日数の推移を図-10に示した。

10年ごとに年間平均日数を歳出し、その推移を示したのが図-11である。1960年代から1970年代にかけて大雨が少ない時期があったことがわかる。したがって、これらのデータをもとに将来を予測する場合、1900年代から現在までのデータから長期的傾向をみた場合は、ほぼ変化がないと評価できるのに対し、1960年代から現在までのデー

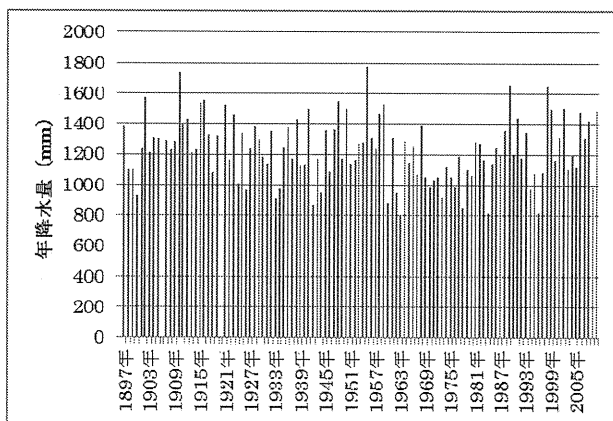


図-9 d観測所の年降水量の推移

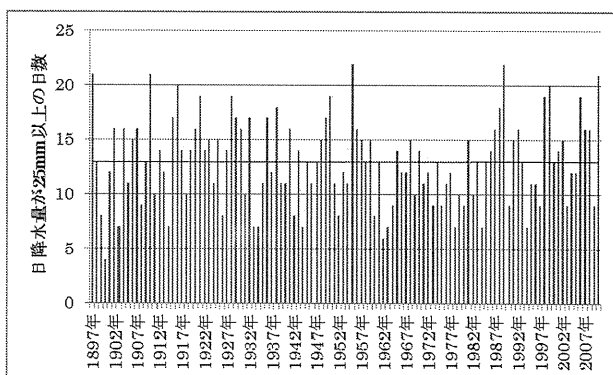


図-10 d観測所における日降水量が25mm以上の日数

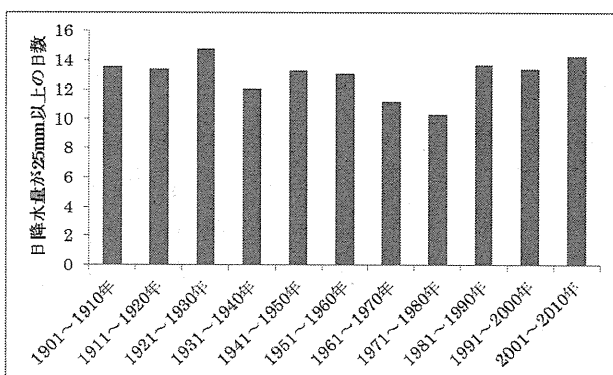


図-11 d観測所における日降水量が25mm以上の日数（10年ごとの平均値の推移）

タからみた場合は、大雨がある年間日数は10年

程度で1日増加していると評価することができる。

さらに、高知県に存在するCダム貯水池について解析を実施した。Cダム貯水池における濁水の発生については、データ解析の結果、日降水量に関する閾値が判明しなかったが、1886年1月から降水量が観測されているe観測所の降水量について、関東地方のb観測所やd観測所と同様の傾向がみられるかどうかを解析した。

e観測所における1891年以降の年降水量について10年ごとに平均した値の推移を図-12に示す。また、e観測所における日降水量が50mm以上および25mm以上となった日数の推移を図-13および図-14に示す。日降水量が50mm以上の日数に

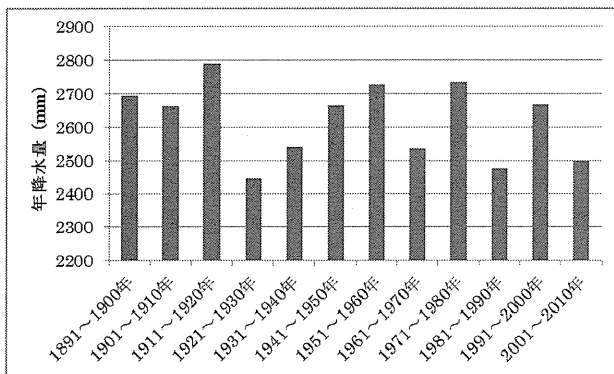


図-12 e観測所の年降水量の推移(10年ごとの平均値の推移)

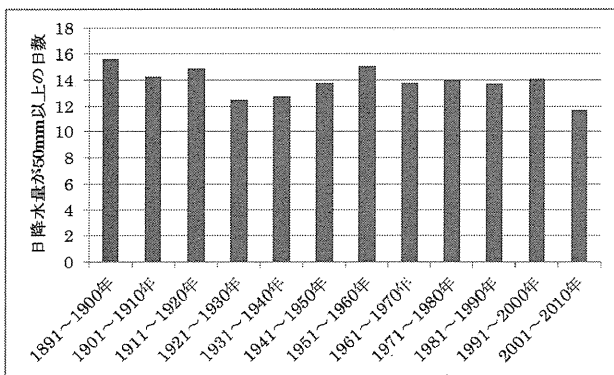
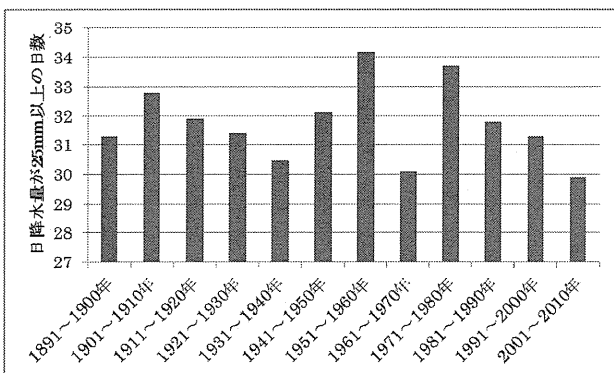


図-13 e観測所の日降水量が50mm以上の日数(10年ごとの平均値の推移)



については、時代による変化が小さいことがわかる。

図-14 e観測所の日降水量が25mm以上の日数(10年ごとの平均値の推移)

E. 結論

自然条件等の違いで、ダム貯水池ごとに濁水長期化が起こる降水量や水の流入量が異なる。

濁水長期化が観測された3つのダム貯水池について解析を行ったところ、次の結論を得た。

埼玉県のアダムでは、近傍の気象観測所で日降水量が150mm以上になると濁水長期化が起こり、その降水量となる日数は、1930年代からの降水量のデータに基づくとほとんど変化はないが、1960年代からのデータによると、50年に1日程度増加していた。

群馬県のBダムでは、気象観測所の日降水量が50mm以上になると濁水長期化が起こり、その日数は、1900年代からのデータによるとほとんど変化はないが、1960年代からのデータによると、10年に1日程度増加していた。

高知県のCダムでは、濁水長期化を引き起こす日降水量の閾値は算定できなかったが、近くの気象観測所の1890年代からの120年間の降水量のデータを解析したところ、時代による大きな変化は観察されなかった。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

柳橋泰生：ダム貯水池における水質の長期変動の解析、環境衛生工学研究、25(3)、2011。

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定も含む。)

該当なし

I. 参考文献

- 1) (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
- 2) D.R. Helsel and R.M. Hirsch: Statistical Methods in Water Resources, U.S. Geological Survey, Techniques of Water-Resources Investigations Book4, Chapter A3, USDS
- 3) 国土交通省：ダム諸量データベース、<http://www2.river.go.jp/dam/>
- 4) 水資源機構：水質年報、平成15年～平成21年
- 5) 気象庁：過去の気象データ検索、<http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/>

分担研究報告書 3

水源における水質・生物相の長期的変化の把握と
水道水質管理への影響の評価

研究分担者 藤本 尚志

厚生労働科学研究費補助金 (健康安全・危機管理対策総合研究事業)
「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」
分担研究報告書

研究課題：水源における水質・生物相の長期的変化の把握と水道水質管理への影響の評価

分担研究者 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

要旨

気候変動による水源の水質および生物相の長期的な変化を評価するための基礎的知見を得ることを目的として、水道水源となっているダム湖を対象とし、分子生物学的手法によりピコプランクTONの群集構造について検討を行った。また、浄水場工程水中のピコプランクTONを調査し濁度障害の原因種について検討を行った。さらにはピコプランクTONを分離・培養し増殖に及ぼす温度の影響について検討を行った。クローニングにより草木湖の真核ピコプランクTON群集を解析した結果、クリプト植物門、緑藻植物門、黄金色藻綱、ハプト藻綱といった独立栄養の系統、アメーバ鞭毛虫門、繊毛虫門といった従属栄養の系統の微生物が検出され、その群集構造は時期によって変化することが明らかとなった。真核ピコ植物プランクTONの細胞数は5~6月に高まる傾向が見られた。元宿浄水場のろ過水から、2010年5月は緑藻植物門の *Mychonastes* 属に、2011年6月は黄金色藻綱の *Spumella* 属に近縁なクローンが検出され、砂ろ過を通過しやすく濁度障害の原因となる可能性が示唆された。宮ヶ瀬湖、草木湖、相模湖のピコシアノバクテリアの群集構造を解析した結果、分離・培養されている系統と未培養の系統から構成され、水域によって、ピコシアノバクテリアの優占種が異なることが明らかとなった。宮ヶ瀬湖、草木湖ともに、15°Cを超える水温条件において細胞数が高まる傾向が見られ、水温が重要な因子であることが示唆された。宮ヶ瀬湖の各月のピコシアノバクテリア群集の違いをUniFracにより評価したところ、2010年5月から2011年2月にかけての群集構造の変化が大きいことが明らかとなった。長沢浄水場の沈殿水から未培養の系統や既に分離培養されている系統のピコシアノバクテリアが検出され、濁度障害の原因となる可能性が示唆された。草木湖から分離した緑藻植物門の *Mychonastes* 属は10~30°Cの間で、宮ヶ瀬湖から分離したピコシアノバクテリア M-1株は15~25°Cの間で生育が可能であり、ピコプランクTONの種類によって生育する温度範囲が異なることが明らかとなった。

A. 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TON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TONとは0.2~2 μ mの大きさのプランクTON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ポリジウム等対策指針において、クリプトスポ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、原水のピコプランクTON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TON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植物プランクTON(CH-type)、フィコシアニンを主要アンテナ色素とするピコシアノバクテリア(PC-type)、フィコエリトリンを主要アンテナ色素とするピコシアノバクテリア(PE-type)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た。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った。また、草木湖および相模湖を水源とする浄水場において各処理工程水の群集構造について検討を行った。

B. 研究方法

B-1 供試試料

群馬県草木ダム堰堤直上流から 2009 年 6 月 12 日、7 月 3 日、8 月 19 日、10 月 6 日、12 月 1 日、2010 年 3 月 1 日、4 月 20 日、5 月 24 日、6 月 22 日、7 月 22 日、8 月 24 日、10 月 5 日、11 月 9 日、12 月 7 日、2011 年 1 月 18 日、4 月 5 日、5 月 27 日、6 月 17 日、8 月 3 日、9 月 14 日、10 月 24 日、11 月 21 日、12 月 15 日に採水した試料を用いた。また、2010 年 5 月 24 日、2011 年 6 月 17 日の試料については放流水(取水深 10m)、桐生市水道局元宿浄水場着水井、高速沈殿池、ろ過池の試料も同様に検討を行った。

宮ヶ瀬湖については 2010 年 4 月 14 日、5 月 12 日、6 月 2 日、7 月 7 日、8 月 5 日、9 月 1 日、10 月 6 日、11 月 10 日、12 月 1 日、2011 年 1 月 12 日、2 月 2 日、3 月 2 日、4 月 13 日、5 月 18 日、6 月 8 日、7 月 6 日、8 月 3 日、9 月 28 日、10 月 12 日、11 月 9 日、12 月 7 日、2012 年 1 月 11 日、2 月 1 日に宮ヶ瀬湖ダム中央地点より採水した表層水を用いた。

相模湖については 2010 年 4 月 20 日、5 月 18 日、6 月 7 日、7 月 20 日、8 月 17 日、9 月 21 日、10 月 19 日、11 月 16 日、12 月 14 日、2011 年 1 月 18 日、2 月 15 日、4 月 25 日、5 月 24 日、6 月 21 日、7 月 19 日、8 月 16 日、9 月 20 日、10 月 18 日、11 月 21 日、12 月 20 日、2012 年 1 月 24 日に相模湖大橋地点より採水した表層水を用いた。川崎市上下水道局長沢浄水場においては 2010 年 4 月 21 日、5 月 19 日、6 月 8 日、7 月 21 日、8 月 8 日、9

月 22 日、10 月 20 日、11 月 17 日、12 月 15 日、2011 年 1 月 19 日、2 月 16 日、2011 年 4 月 25 日、5 月 24 日、6 月 21 日、7 月 19 日、10 月 18 日、11 月 21 日、12 月 20 日、2012 年 1 月 23 日に着水井から採水した試料、砂ろ過水、沈殿水を用いた。

B-2 細胞数の計測

試料を孔径 5 μm のメンブレンフィルターでろ過し、5 μm 以上のナノプランクトンを除去した後、孔径 0.2 μm のメンブレンフィルターで吸引ろ過を行った。これについて落射蛍光顕微鏡を用いて蛍光の色調の違いにより PE-type、PC-type、CH-type の 3 グループに分けて細胞数を計測した。

B-3 ピコプランクトンの群集構造解析

真核ピコプランクトンの群集構造解析は Lefranc ら¹⁾ Richards ら²⁾ に従って行った。ピコシアノバクテリアについては Ivanikova ら³⁾ に従って行った。試料を孔径 5 μm のメンブレンフィルターでろ過し、5 μm 以上のナノプランクトンを除去した後、孔径 0.2 μm のポリカーボネート製のメンブレンフィルターを用いた吸引ろ過により集菌を行った。群体形成性のピコシアノバクテリアが存在する場合は 5 μm のメンブレンフィルターでろ過せずに集菌を行った。ろ過量は試料中の細胞数に応じて 1~2L とした。ただし、元宿浄水場および長沢浄水場の沈殿水、ろ過水においては 10~20L とした。浄水場の沈殿水、ろ過水は基本的に 5 μm のメンブレンフィルターでろ過せずに集菌したが、2011 年 6 月の元宿浄水場については 5 μm のメンブレンフィルターでろ過したのち集菌した。集菌したフィルターから CTAB 法¹⁾ によりゲノム DNA を抽出した。得られたゲノム DNA を真核ピコプランクトンについては 18S rDNA 領域を特異的に増幅させるプライマー 3Fphp、1749Rphp²⁾、ピコシアノバクテリアについては酸素発生型光合成微生物の 16S rDNA を増幅させるプライマー 106F、789R³⁾ を用いて PCR を行った。こ

の PCR 産物をアガロースゲルおよび QIAquick Gel Extraction Kit (QIAGEN)を用いて精製を行った後、TOPO TA Cloning Kit (invitrogen)を用いてクローニングを行った。得られたクローンから任意で 48 クローンを選択し、挿入部分をコロニーPCRにより増幅させた。これを制限酵素 *Hae*IIIを用いた RFLP 法にてグループ分けを行った後、サイクルシーケンス法にて塩基配列を決定した。RFLP 法で分けた 1 グループを 1 OTU (operational taxonomic unit)とした。とした。草木湖の真核ピコプランクトン、宮ヶ瀬湖のピコシアノバクテリアについては各月において得られたクローン間の塩基配列の相同性が99%以上の場合、同一 OTU とした。塩基配列決定後 FASTA (EBI)による相同性検索を行い、OTU とその近縁種について近隣結合法もしくはベイズ法により系統樹を作成した。草木湖の真核ピコプランクトン、宮ヶ瀬湖のピコシアノバクテリアについては UniFrac を用いて群集構造の季節変化を評価した。UniFrac とは、複数の群集間で系統樹における branch の長さに基づき系統学的距離を測定する解析方法であり、この手法を用いることで、クローニングにより得られた複数の群集の特徴づけが可能となる。

B-4 ピコプランクトンの分離および増殖に及ぼす温度の影響

湖水を孔径 5 μm のメンブレンフィルターでろ過した後、数段階に希釈した。そして BG-11 寒天培地に塗抹し、21°C、1000 lx の条件で培養した。得られたコロニー群から単一コロニーを選択し CB 培地に接種し分離株とした。分離株については遺伝子解析を行った。さらに 10°Cから 30°Cの温度条件下培養を行い、増殖に及ぼす温度の影響を調べた。

C. 研究結果及び D. 考察

1) 草木湖のピコプランクトン群集構造解析

草木湖の自家蛍光を有するピコプランクトン群集は、真核ピコ植物プランクトン (CH-type)とピコシアノバクテリアの PE-type

から構成されることが明らかとなった(写真 1)。落射蛍光顕微鏡を用いて細胞数の測定を行った結果、真核ピコ植物プランクトンは 5 月および 6 月に 10^4 cells/ml 以上となり、夏期と冬期に減少する傾向が見られた(図 1)。2011 年においては 8 月においても 10^4 cells/ml 以上となった。真核ピコプランクトンについてクローニングを行ったところ、クリプト植物門、緑藻植物門、黄金色藻綱、ハプト藻綱といった独立栄養の系統、アメーバ鞭毛虫門、繊毛虫門、ピコソエカ綱といった従属栄養の系統の微生物が検出された(表 1)。2009 年 6 月から 2011 年 10 月までの間で検出された独立栄養性に位置づけられるクローンは 68OTUs、従属栄養性に位置づけられるクローンは 59OTUs に分かれることが明らかとなった。各 OTU とその近縁種について系統樹を作成したところ、検出頻度が高く、草木湖において主要な真核ピコプランクトンと考えられる OTU は独立栄養性の系統ではクリプト植物門、緑藻植物門、黄金色藻綱、ハプト藻綱、従属栄養性の系統ではアメーバ鞭毛虫門、繊毛虫門に位置づけられることが明らかとなった(図 2)。また、クリプト植物門、黄金色藻綱、渦鞭毛藻綱、アメーバ鞭毛虫門、アピコンプレックス門、ピコソエカ綱に近縁な OTU は系統樹において既知種の根元から分岐する新規性の高いクラスター A~G を形成した(図 2)。

UniFrac により光合成を行う系統の群集構造を評価したところ、*Goniomonas* 属等のクリプト植物門、*Spumella* 属等の黄金色藻綱、*Chrysochromulina* 属といったハプト藻綱が同時に検出された月は A のエリア、クリプト植物門、ハプト藻綱が同時に検出された月は B のエリア、クリプト植物門、*Mychonastes* 属等の緑藻綱が同時に検出された月は C のエリア、黄金色藻綱のみが検出された月は D のエリアにプロットされた(図 3)。また、2011 年は 1 月から 9 月にかけてプロット間の距離が大きく、他の年に比べて生物相の変化が大きいこ

とが示唆された。真核ピコ植物プランクトンの細胞数の多い月が同じ位置にプロットされるという傾向はみられなかった。次に従属栄養の系統の群集構造を評価したところ、*Bodomorpha* 属等のアメーバ鞭毛虫門、*Strombidium* 属等の繊毛虫が同時に検出された月はEのエリア、繊毛虫門のみが検出された月はFのエリアにプロットされ、代表的な従属栄養の群集であることが明らかとなった(図4)。

single cell で存在するピコシアノバクテリアのPE-typeの細胞数は $10^3 \sim 10^5$ cells/mlのオーダーで推移し、2010年10月、2011年5月に 10^5 cells/ml以上となった(図5)。細胞数が多い2010年5月、8月、10月、2011年5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、2010年6月、2011年9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2)。また、多くの試料において *Opitutus* 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。系統樹を作成したところ本研究で検出されたOTUは10のクラスターに分かれることが明らかとなった(図6)。PD IIはスペリオー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ー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ー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、未培養(3)に位置づけられることが明らかとなった。また未培養(1)~(3)のクラスター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。各系統群の割合の推移を解析したところ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。

2)元宿浄水場工程水のピコプランクトン生物相解析

元宿浄水場着水井では2010年5月はクリプト植物門の *Goniomonas* 属、緑藻綱の *Mychonastes* 属に近縁なクローンが検出されているが、放流水では検出されなかったマミエラ藻綱の *Monomastix* 属や渦鞭毛藻綱の *Cochlodinium* 属などの独立栄養の系統およびピコソエカ綱などの従属栄養の系統の微生物も検出された(表3、5)。また砂ろ過後のろ過水では検出される微生物の種類が少なくなり、*Mychonastes* 属に近縁なクローンが多く検出された。一方、2011年6月では2010年に比べ検出される微生物の種類が少なく、放流水、着水井では黄金色藻綱の *Uroglena* 属、沈殿水、ろ過水では同じ黄金色藻綱の *Spumella* 属に近縁なクローンが多く検出された(表4、6)。草木湖から放流された水は約20km流下し元宿浄水場に導水されている。草木湖放流水では検出されていなかったピコソエカ綱などに近縁な微生物が着水井で検出されるようになり、流下過程で河川由来の微生物が増加すること

が明らかとなった。2010年のろ過水では *Mychonastes* 属に近縁なクローンの割合が54%、2011年のろ過水では *Spumella* 属に近縁なクローンの割合が100%を占め、これらは砂ろ過を通過しやすい微生物であることが明らかとなった。緑藻綱の *Mychonastes* 属は球形もしくは卵形の藻類であり、草木湖では多くの採水月において検出されている。また黄金色藻綱の *Spumella* 属は光合成色素が退化し、捕食によって栄養を摂取する従属栄養性の微生物であり、*Spumella* sp. GOT220 に近縁なクローンは2011年1月に草木湖表層で検出されている。2010年5月、2011年6月採水時のろ過水の濁度はいずれも0.03度であり、濁度障害は起きておらず、濁度障害原因微生物の特定には至らなかった。

3) 宮ヶ瀬湖のピコプランクトン群集構造解析

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(写真2)。シングルセルで存在するPE-typeは $10^3 \sim 10^5$ cells/mlのオーダーで推移し、2010年は10月に最大(2.6×10^5 cells/ml)、2011年は11月に最大(7.8×10^4 cells/ml)となり、秋期に細胞数が高まることが明らかとなった(図7)。2010年7月から12月の間、および2011年5、6、7、9、11、12月、2012年1月において細胞径が $1 \mu\text{m}$ に満たない群体形成性のPE-typeが観察された(写真3)。

各月のクローンについて相同性検索を行ったところ、*Synechococcus* sp. MW6B4 や *S. rubescens* SAG3.81 といった分離・培養されているピコシアノバクテリアや未培養のクローンに近縁なクローンが検出された(表7)。2010年および2011年の7月までに検出されたクローンは44 OTUs に分けられた(M1~M44)。検出された回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 (M1~M5) は Group B、Group H、PD II、LM A、LM B に位置づけられることが明らかとなっ

た(図8)。LM A、LM B は *Synechococcus* 属の既知種と根元から分岐する新規性の高い系統群と考えられた。UniFrac により群集構造の評価を行ったところ(図9)、IおよびIIの部分にプロットが集まっているが、Iは Group B、Group H といった分離・培養されている *Synechococcus* 属を含む系統、IIは LM A、LM B といった未培養の系統に位置づけられるクローンから構成される。2010年5月から2011年2月にかけて月ごとにプロットの位置が大きく変化しており、群集構造が変化していることが明らかとなった。

4) 相模湖のピコプランクトン群集構造解析

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(写真4)。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2011年8月に細胞数が高まり、 3.6×10^4 cells/ml に達した(写真5)。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。

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、Uncultured cyanobacterium clone TH_d331 といった未培養のクローンに近縁な微生物が検出された(表8)。Uncultured cyanobacterium clone TH_d331 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⁾。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。PC-type が優占していた2011年8月において *Synechococcus* sp. MA0607K に近縁なクロー

ンが検出された。この株は PC-type であることが報告されており⁷⁾、顕微鏡観察結果とクローニング結果に整合性が見られ、クローニングにより群集構造が評価できていることが示唆された。

5)長沢浄水場工程水のピコプランクトン生物相解析

落射蛍光顕微鏡観察によって観察したところ着水井・沈殿池の試料で観察されるピコシアノバクテリアは single cell で存在する PE-type および群体形成性の PE-type が主であることが明らかとなった(写真 6~8)。CH-type は、PE-type に比べ、細胞数が著しく低かったため遺伝子解析はピコシアノバクテリアの 16S rDNA に着目して行った。着水井のシングルセルで存在する PE-type は、一年を通して 10^2 cells/ml ~ 2×10^3 cells/ml の間で推移し、5月~6月に最大となった。すべてのろ過水の試料ではゲノム DNA が確認出来ず、PCR でも 16S rDNA が増幅されなかった。試料中の細胞数が少なく、ゲノム DNA の抽出が出来なかったためと考えられた。沈殿水については、前塩素を停止した状態で採水することにより PCR が可能となった。2011年5月、6月は原水、沈殿水ともに Uncultured cyanobacterium clone TH_d331 といった未培養のクローンに近縁なクローンが検出された(表9)。10月から12月にかけて、それまで検出されなかった *Synechococcus* sp. PS723 といった分離・培養されている *Synechococcus* 属に近縁なクローンが検出された。本研究で検出された OTU は系統樹において大きく6つのクラスターに分かれることが明らかとなった(図10)。

クラスター I、IVは、着水井と沈殿池から検出されたクローンでほぼ占められ、Uncultured cyanobacterium clone TH_d331 や Uncultured cyanobacterium clone TH_c210、または Uncultured cyanobacterium clone ADK-SGh02-76 を含む未培養の系統群である。

クラスター IIIには分離・培養された基準株が存在せず、未培養のクローンからなる系統群である。クラスター VIは *Synechococcus* sp. MW6B4、*Synechococcus* sp. PS717 NIES953 に近縁なクローンからなり、10月、11月、12月の着水井および沈殿池から検出されたクローンが含まれた。このように長沢浄水場沈殿水において未培養の系統や既に分離・培養されている系統の微生物が検出され、これらの微生物が濁度障害の原因となる可能性が示唆された。

6)ピコプランクトンの分離および増殖に及ぼす温度の影響

草木湖から分離した CH-type のピコプランクトン6株を遺伝子解析した結果、すべて緑藻植物門 *Mychonastes homosphaera* と同種性が99%であり、*Mychonastes* 属であることが明らかとなった。元宿浄水場のろ過水で検出された微生物であり、濁度障害の原因となる可能性が高いピコプランクトンを分離できたと考えられる。宮ヶ瀬湖からはピコシアノバクテリアの PE-type を4株分離した。草木湖から分離した *Mychonastes* sp. KP-3 株は10~30°Cの間で、宮ヶ瀬湖から分離したピコシアノバクテリア M-1 株は15~25°Cの間で生育が可能であり、ピコプランクトンの種類によって生育する温度範囲が異なることが明らかとなった(図11、12)。*Mychonastes* 属は、草木湖において夏期、冬期においても検出されるが、これは10~30°Cの温度範囲で増殖できるためと考えられた。宮ヶ瀬湖において夏期、および水温が15°C以下において PE-type の細胞数が低下する傾向にあるが(図7)、これは培養実験において10°C、30°Cで増殖しないことと一致するものと考えられた。

E. 結論

ピコプランクトンはこれまで真核ピコ植物プランクトン(CH-type)、ピコシアノバクテリアの PC-type、PE-type の3グループに分けて調査が行われてきたが、遺伝子解析により真

核ピコプランクトン、ピコシアノバクテリアともに多様な生物種から群集が構成されていることが明らかとなった。また、その群集構造は時期によって変化していることが示唆された。真核ピコプランクトン、ピコシアノバクテリアともに未培養の系統の微生物が検出されることから、ピコプランクトン群集に関する理解を深め、気候変動による水源の水質および生物相の長期的な変化を評価する上で、これらの系統の微生物を分離・培養することが重要と考えられた。真核ピコ植物プランクトンは5月から6月といった春季から初夏、ピコシアノバクテリアは春季から初夏および秋期に細胞数が高まる傾向が見られ、気候変動にともない水温トレンドが変化した場合、細胞数が高まる時期が変化する可能性が示唆された。浄水場において濁度障害を引き起こす可能性のあるピコプランクトンの種類が明らかとなり、これらの微生物の除去技術や、水源における生態を解明することが今後の重要な課題と考えられた。

F. 健康危機情報

該当なし

G. 研究発表

1) 論文発表

該当なし

2) 学会発表

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)

山本隆広、藤本尚志、大西章博、鈴木昌治、尾崎武志、岸田直裕、秋葉道宏、分子生物学的手法による宮ヶ瀬湖のピコシアノバクテリ

ア群集構造解析、第45回日本水環境学会年会講演集 p. 726 (2011)

加藤理奈、藤本尚志、大西章博、鈴木昌治、遠本和也、山口 茂、吉口進朗、岸田直裕、秋葉道宏、分子生物学的手法による草木湖のピコシアノバクテリア群集構造解析、第45回日本水環境学会年会講演集 p. 727 (2011)

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む。)

該当なし

I. 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).

7) Jasser, I., Karnkowska-Ishikawa, A., Kozłowska, E., Krolicka, A. and

Lukomska-Kowalczyk, M., Composition of picocyanobacteria community in the Great Mazurian Lakes: isolation of phycoerythrin-rich and phycocyanin-rich ecotypes from the system--comparison of two methods, *Pol. J. Microbiol.* 59 (1), 21-31 (2010).

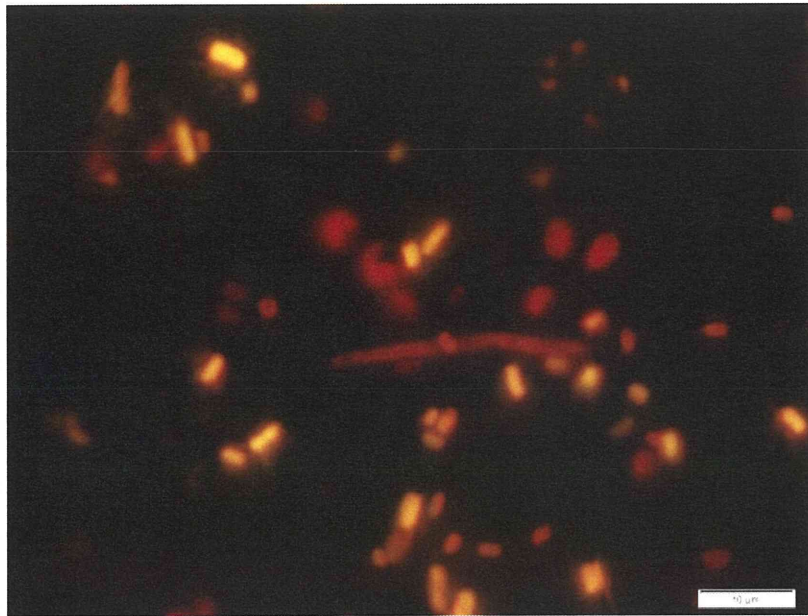


写真 1 草木湖に発生したピコプランクトンの落射蛍光顕微鏡写真 (B 励起)、赤く見えるのが CH-type、黄橙色に見えるのが PE-type

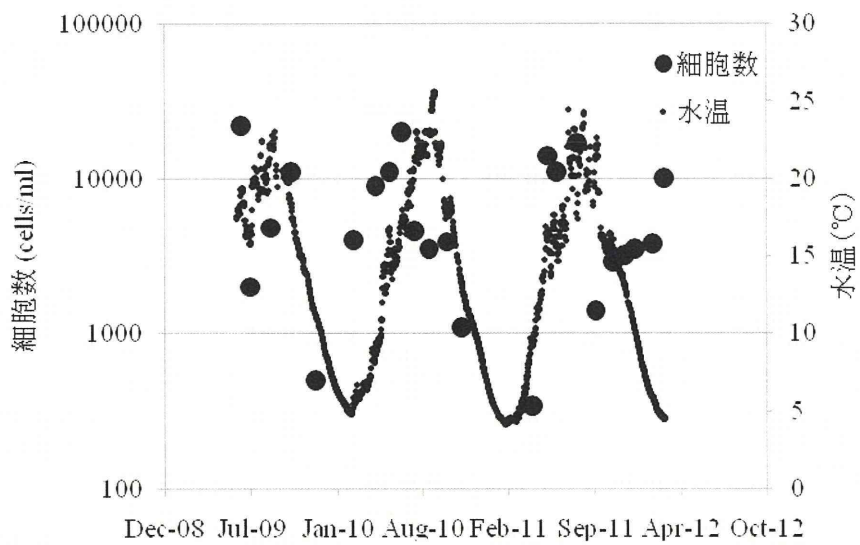


図 1 草木湖における真核ピコ植物プランクトン細胞数および水温の推移

表1 草木湖で検出された真核ピコプランクトンのクローンの相同性検索結果(1)

Sequence	No. of clones	Closest relative	Taxon	Identity (%)
K1JUN2009	11	<i>Goniomonas</i> sp. ATCC50108 (AY360454)	Cryptophyta	89.2
K2JUN2009	7	<i>Nerada mexicana</i> ATCC 50535 (AY520453)	Bicosoecida	89.9
K3JUN2009	6	<i>Monomastix</i> sp. OKE-1 (FJ493496)	Mamiellophyceae	93.6
K4JUN2009	2	<i>Bodomorpha</i> sp. HFCC57(DQ211596)	Cercozoa	86.9
K5JUN2009	2	<i>Cercomonas edax</i> (AF411269)	Cercozoa	86.1
K6JUN2009	2	<i>Chroomonas</i> sp. M1703 (AJ420699)	Cryptophyta	88.0
K7JUN2009	1	<i>Rhizidiomyces apophysatus</i> (AF163295)	Hyphochytriomycetes	94.3
K8JUN2009	1	<i>Monomastix</i> sp. OKE-1 (FJ493496)	Mamiellophyceae	93.6
K1JUL2009	20	<i>Cercomonas</i> sp. HFCC89 (DQ211598)	Cercozoa	87.1
K2JUL2009	7	<i>Bodomorpha</i> sp. HFCC57 (DQ211596)	Cercozoa	86.5
K3JUL2009	7	<i>Goniomonas</i> sp. ATCC50108 (AY360454)	Cryptophyta	88.1
K4JUL2009	3	<i>Bodomorpha</i> sp. HFCC57 (DQ211596)	Cercozoa	85.6
K5JUL2009	2	<i>Bodomorpha</i> sp. HFCC57 (DQ211596)	Cercozoa	87.8
K6JUL2009	1	<i>Chlorella vulgaris</i> CCAP211/82 (AM231736)	Trebouxiophyceae	99.9
K7JUL2009	1	<i>Chrysochromulina parva</i> CCMP 291 (AM491019)	Haptophyceae	99.5
K8JUL2009	1	<i>Parastrombidinopsis shimi</i> (AJ786648)	Ciliophora	93.5
K9JUL2009	1	<i>Stichococcus deasonii</i> UTEX 1706 (DQ275460)	Trebouxiophyceae	93.4
K1AUG2009	9	<i>Bodomorpha</i> sp. HFCC57 (DQ211596)	Cercozoa	87.4
K2AUG2009	1	<i>Stichococcus deasonii</i> UTEX 1706 (DQ275460)	Trebouxiophyceae	93.7
K3AUG2009	5	<i>Goniomonas</i> sp. ATCC50108 (AY360454)	Cryptophyta	88.9
K4AUG2009	4	<i>Bicosoecida</i> gen. 1 sp. EK-2010a (FJ971856)	Bicosoecida	89.3
K5AUG2009	4	<i>Colpodella edax</i> (AY234843)	Apicomplexa	93.8
K6AUG2009	3	<i>Paraphysomonas butcheri</i> (AF109326)	Chrysophyceae	92.6
K7AUG2009	2	<i>Mychonastes homosphaera</i> (AB025423)	Chlorophyceae	99.0
K8AUG2009	1	<i>Cavernomonas stercoris</i> (FJ790717)	Cercozoa	86.8
K9AUG2009	1	<i>Chlamydomonas noctigama</i> (AF008242)	Chlorophyceae	98.3
K10AUG2009	1	<i>Chrysochromulina parva</i> CCMP 291 (AM491019)	Haptophyceae	99.4
K11AUG2009	1	<i>Paraphysomonas butcheri</i> (AF109326)	Chrysophyceae	92.2
K12AUG2009	1	<i>Strombidium</i> sp. HCB-2005 (DQ487198)	Ciliophora	97.3
K13AUG2009	6	<i>Stichococcus deasonii</i> UTEX 1706 (DQ275460)	Trebouxiophyceae	94.4
K1OCT2009	32	<i>Goniomonas</i> sp. ATCC50108 (AY360454)	Cryptophyta	89.4
K2OCT2009	6	<i>Oblongichytrium</i> sp. SEK 347 (AB290575)	Labyrinthulomycetes	79.0
K3OCT2009	2	<i>Monomastix</i> sp. OKE-1 (FJ493496)	Prasinophyceae	93.2
K4OCT2009	2	<i>Nerada mexicana</i> ATCC 50535 (AY520453)	Bicosoecida	92.6
K5OCT2009	1	<i>Bicosoecida</i> gen. 1 sp. EK-2010a (FJ971856)	Bicosoecida	86.1
K6OCT2009	1	<i>Mychonastes homosphaera</i> (AB025423)	Chlorophyceae	99.2
K7OCT2009	1	<i>Paraphysomonas butcheri</i> (AF109326)	Chrysophyceae	92.8
K8OCT2009	1	<i>Parastrombidinopsis shimi</i> (AJ786648)	Ciliophora	93.2
K9OCT2009	1	<i>Monomastix</i> sp. OKE-1 (FJ493496)	Mamiellophyceae	93.5
K1DEC2009	32	<i>Mychonastes homosphaera</i> (AB025423)	Chlorophyceae	99.6
K2DEC2009	11	<i>Goniomonas</i> sp. ATCC50108 (AY360454)	Cryptophyta	88.6
K3DEC2009	2	<i>Chrysochromulina parva</i> CCMP 291 (AM491019)	Haptophyceae	99.6
K4DEC2009	1	<i>Parastrombidinopsis shimi</i> (AJ786648)	Ciliophora	93.3
K5DEC2009	1	<i>Mychonastes homosphaera</i> (AB025423)	Chlorophyceae	99.2