

DNA バーコーディングによるユスリカ類幼虫の種同定の試み

(芦田川河口湛水域の事例)

バンフィックコンサルタンツ(株) 岡田 泰明

バンフィックコンサルタンツ(株) ○ 渡部 健

国土交通省中国地方整備局福山河川国道事務所 竹 國 俊 一

国土交通省中国地方整備局福山河川国道事務所 前 田 直 樹

国土交通省中国地方整備局福山河川国道事務所 境 優 斗

論 文 要 旨

芦田川河口堰の湛水域では、春から初夏の時期にみられるユスリカの発生が問題となっている。現地では、ユスリカの発生や近隣住宅への飛来を抑制するため、弾力的放流の実施や電撃殺虫器の設置等による対策が実施され、併せて、ユスリカ発生状況調査を実施し、対策の効果等について検討している。当該水域の水質や底質環境の改善効果をより正確に検討するため、底質に含まれるユスリカ幼虫を調査しているが、本調査では、DNA バーコーディングによる種の同定を試みた。その結果、調査地域で確認されているユスリカ幼虫については、DNA バーコーディング分析により、種までの同定が概ね可能であることを示す結果を得た。採泥器等による底質の定量採取では、ユスリカ幼虫の生息密度や分布状況の不均一性により、一回のサンプリングで調査地域に生息するユスリカ相の網羅的な把握は困難であることに留意する必要があるが、従来の検鏡による種の同定と比較すると、同定スキルに依存せずにユスリカ幼虫の生息状況を種レベルで把握することが可能であることが示唆された。

キーワード：ユスリカ，DNA バーコーディング，河口堰，水質，底質環境

はじめに

芦田川河口堰の湛水域では、春から初夏の時期にみられるユスリカの発生が問題となっている。現地では、ユスリカの発生や近隣住宅への飛来を抑制するため、弾力的放流の実施や電撃殺虫器の設置等による対策が実施され、併せて、ユスリカ発生状況調査を実施し、対策の効果等について検討している¹⁾。ユスリカ成虫は比較的、種の同定がしやすいが、調査時に捕獲できるとは限らないことや、発生水域から離れた場所へ飛来することもあるため、当該水域の水質や底質環境の改善効果をより正確に検討するためには、底質に含まれるユスリカ幼虫について種の同定を行うことが重要である。ただし、ユスリカ類の幼虫は形態変異が乏しいため、検鏡での種の同定が難しく、一般に属レベルの同定にとどまるため、環境指標性を活かしきれていない。そこで、本調査では、ユスリカ類幼虫調査(底質サンプルの検鏡調査)に合わせて、同所でDNA分析用の検体を採取し、DNAバーコーディングによる種の同定を試みた。その結果、調査地域で確認されているユスリカ幼虫については、DNAバーコーディング分析により種までの同定が概ね可能であることを示す結果を得たので以下に報告する。

1. 調査方法

芦田川河口堰(広島県福山市)の湛水域の9か所(St.1~St.9)において、2022年5月~8月及び10月~11月の期間に月一回、エクマン・バージ型採泥器あるいはサーバーネットを用いて底質を定量採取し、底質中に含まれるユスリカ類幼虫を検鏡にて種の同定を行った。(以下、「幼虫検鏡調査」という)また、幼虫検鏡調査地点に隣接する河川敷で捕虫網を用いてユスリカ成虫を採取し、検鏡にて種の同定を行った。

2022年6月には、幼虫検鏡調査を実施した同日・同地点において、幼虫検鏡調査と同じ方法で底質からDNA分析用のユスリカ類幼虫の検体を採取し、環境DNA分析用に1Lの採水も行った。

ユスリカ類幼虫のDNA分析では、底質から採取したユスリカ類幼虫、及び環境DNAの検体について、mtDNAのCO I 遺伝子領域の一部を対象としてハイスループットシーケンサーにより塩基配列を決定し、ユスリカ標本DNAデータベース²⁾等を参照し相同性検索により種を同定した。(以下、ユスリカ類幼虫のDNA分析を「幼虫DNA分析」、環境DNA分析を「環境DNA分析」という)

2. 結果

6月の幼虫検鏡調査では15属のユスリカが確認され、このうちユスリカ属で3種、クロユスリカ属では1種が同定できたが、その他の13属では属までの識別となった。幼虫DNA分析では13属17種を検出し(表-1)、このうちの10属は幼虫検鏡調査で同定された属であり、幼虫検鏡調査で同定した2属に含まれる3種その他、幼虫検鏡調査では種が同定されなかった8属について計12種が検出された。一方、環境DNA分析では、14属22種が検出し、このうち8属は検鏡調査で同定された属で、これらの属から12種を検出した。

幼虫検鏡調査で確認された5属(トラフユスリカ属、カマガタユスリカ属、ニセコブナシユスリカ属、ナガレユスリカ属、ホソミユスリカ属)については、幼虫DNA分析では検出されなかった。このうちホソミユスリカ属を除く3属については、環境DNA分析でも検出されなかった。一方、幼虫DNA分析では幼虫検鏡調査では確認できていない分類群が3属3種、環境DNA分析では6属6種が検出された。

3. 考察

調査地域に生息するユスリカ類については、幼虫のDNAバーコーディング分析により、概ね種組成の把握が可能であると考えられた。一部の属では幼虫DNA分析と幼虫検鏡調査のデータに不整合がみられたが、今回の幼虫DNA分析では、幼虫検鏡調査に用いた検体と同所的に採取した検体を利用しているものの、検体間で含まれている種が異なっていた可能性がある。また、幼虫DNA分析で検出された属のグループと、不検出の属のグループ別に、通期(6回)の調査で確認された各属の幼虫の個体数を比較すると、幼虫DNA分析で検出された属のグループは、検出されなかった属のグループに比べて、捕獲数(通期の総数)が大きい傾向がみられた(図-1)。個体数の総数の大きさは、検体に個体が含まれる可能性の高

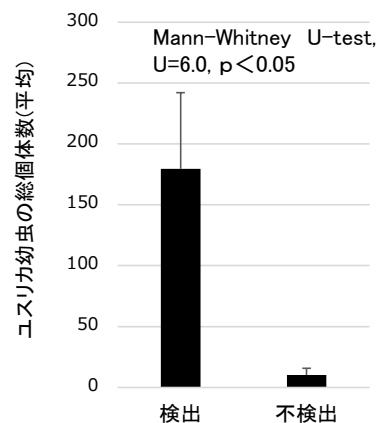


図-1 DNA分析検出状況別の検鏡確認個体数

さを示すと考えられることから、DNA分析で検出できなかった属については、分析で使用した検体に、当該の属の種が含まれていなかった、あるいは極めて少なかったことが影響している可能性がある。

採泥器等による底質の定量採取では、ユスリカ幼虫の生息密度や分布状況の不均一性により、一回のサンプリングで調査地域に生息するユスリカ相の網羅的な把握は困難であることに留意する必要があるが、従来の検鏡による種の同定と比較すると、同定スキルに依存せずにユスリカ幼虫の生息状況を種レベルで把握することが可能であることが示唆された。

参考文献

- 1) 国土交通省 中国地方整備局：芦田川河口堰定期報告書概要版，平成30年12月。
- 2) 国立環境研究所：ユスリカ標本DNAデータベース，<https://www.nies.go.jp/yusurika/>

表-1 ユスリカ幼虫のDNAバーコーディング分析結果

属名	種名	St1	St2	St3	St4	St5	St6	St7	St8	St9
ダングラヒメユスリカ属	オナガダングラヒメユスリカ							●		
ユスリカ属	オオユスリカ	●	●	●			●			
	<i>Chironomus fujitertius</i>				●	●				
ナガコブナシユスリカ属	イシガキユスリカ		●			●		●	●	
エダゲヒゲユスリカ属	ムナグロエダゲヒゲユスリカ			●	●	●		●	●	●
クロユスリカ属	クロユスリカ		●			●				
フトオウスギヌヒメユスリカ属	フトオウスギヌヒメユスリカ							●		
オオミドリユスリカ属	オオミドリユスリカ		●	●	●		●		●	●
コガタユスリカ属	ヒメコガタユスリカ	●	●							
カワリユスリカ属	シロアシユスリカ								●	●
ハモンユスリカ属	アサカワハモンユスリカ							●	●	●
	ニセヒロオビハモンユスリカ			●					●	●
	ハモンユスリカ属 sp.									●
カユスリカ属	ウスイロカユスリカ		●	●	●	●	●	●	●	●
	アミメカユスリカ					●				●
	カユスリカ属 sp.					●				
アシマダラユスリカ属	ユビグロアシマダラユスリカ	●		●	●		●	●	●	●
	ゴトウヒゲユスリカ							●		●
	ウナギケヒゲユスリカ						●			
	アシマダラユスリカ属 sp.			●			●	●	●	●
ヒゲユスリカ属	ヒゲユスリカ属 sp.		●	●				●	●	●
(ユスリカ科)	ユスリカ科 sp.							●		