

多摩川流域の水生昆虫類の遺伝的構造

2017年

倉西 良一
千葉県立中央博物館

共同研究者
東城幸治 信州大学 理学部

多摩川流域の水生昆虫類の遺伝的構造

2017 年

倉西良一
千葉県立中央博物館

共同研究者
東城幸治（信州大学 理学部）

目次

第1章 はじめに

1-1 研究の背景と目的

1-2 本調査・試験研究と既往研究との関連

1-3 調査地点と方法（特に遺伝子解析について）

第2章 多摩川におけるヒゲナガカワトビケラ属昆虫の分布とその遺伝子構造

2-1 ヒゲナガカワトビケラについて

2-2 研究方法

2-3 結果と考察

第3章 多摩川におけるトビケラ目昆虫の遺伝子

3-1 研究の背景

3-2 解析した昆虫とその遺伝子配列

第4章 総括

引用文献

謝辞

図の説明

第1章 はじめに

1-1 研究の背景と目的

生物多様性とは、生態系、種、遺伝子のそれぞれのレベルの多様性を包含する概念である(WWF,1989)。多摩川水系の生物多様性に関する研究でも、従来はそのほとんどの研究が種や生態系に関するものであり遺伝子レベルで多様性を論じたものはごく少数である。

種を構成する個々の個体群間や個体群内にも遺伝子レベルでは変異が含まれており、同種という枠でくくられるような単純なものではない。自然界ではこのような内部に遺伝的変異を含む種が、互いに関係しあって群集を構成している。生物群集が健全な状態で生態系の中で機能するためには、集団の遺伝的構造が一定レベルの多様性を持つことが重要で、このことから遺伝的変異を客観的に評価することが望まれている(Frankham, *et al.*, 2002)。

本研究は河川生態系の中の物質循環に大きな役割を果たす水生昆虫類の造網性のトビケラ類（特にヒゲナガカワトビケラ属）に着目しその遺伝子構造を解明、そして遺伝子構造の変異性から多摩川水系の生物多様性を捉えようとするものである。本研究で明らかにしたいのは、多摩川水系の上流から下流にかけてのさまざまな地点の造網性トビケラの遺伝子構造である。それらの変異パターンと地点間の類似性、個体群間の遺伝子のネットワークの強弱、特に多摩川水系内の上流から下流に至る流程内での遺伝的な変異の実態を解明したい。

従来の形態学情報のみに基づく種同定システムでは、同種とされた物は全て均一な集団と考えるのが慣例であった。しかし最近の遺伝子情報の解読、解析手法には大きな進展があり巨大な予算を必要としなくても遺伝子解析が可能な時代となった。遺伝子解析の結果を、既存の解析データと相同検索できるシステムが汎世界的な規模で運用中である。このシステムは大変便利なもので任意の遺伝子データを挿入し、検索すると既存（すでに登録されている）どの生物の遺伝子に該当するか、もしくは登録されている生物の遺伝子にどれだけ近いかが判別できる(Meier, 2008; Jinbo, *et al.*, 2011)。多摩川の水生昆虫の代表的な種の遺伝子データが登録されていれば、だれでも客観的に水生昆虫の種レベルの同定が可能となる。

これまで正確な種の同定には成虫のオスや終令幼虫が必要であった。任意の水生昆虫の正確な種同定に基づく遺伝子解析の結果が DDBJ/BOLD などの遺伝子登録サイトに掲載されていれば、卵や若齢幼虫、体の断片（組織片）から遺伝子を抽出し、解析、相同性検索をかければ極めて容易に同定が可能となる。形態や分布・生態情報からの種の同定は検索表や線描画の読解力（経験）に負う所が多く、一通りの種同定が

可能になるだけでも少なくとも数年の時間（経験）を要する。しかし分子同定の場合、数ヶ月の実習レベルで解析が可能となる。昆虫類の分子同定には、正確な同定に基づく参照システムの構築が必要でありこのシステムがあれば様々な応用的な研究にも活用が可能である。多摩川における水生生物の研究は、とうきゅう財団の研究助成があり先駆的な試みが多く、その後の河川環境研究の基礎となるものが多くあった。今回の研究課題で取り組む、遺伝子データベースへの参照データの登録（形態情報も含む）は今後の基礎研究の方向性を導くものである。

1-2 本調査・試験研究と既往研究との関連

とうきゅう環境財団より助成を受けた課題番号 187 番『多摩川水系のトビケラ相とその分布』（片桐一正代表）は一つの水系の水生昆虫相の研究としては、その種数の網羅から見ても最も優れた研究の一つと考えられている。この先行研究は本研究の重要な情報源となっている。

課題番号 278 番『多摩川水系に侵入した外来動物フロリダマミズヨコエビの分布拡散の現状と生態系への影響』（倉西良一代表）。私はこの研究を通して淡水動物の分散の検討をはじめ、遺伝子解析を利用した方法に着手する機会を得た（この結果は信州大学の東城幸治さんと共著で公開されることになった。この研究で遺伝子レベルでの多様性研究の重要性を強く認識した。

平成 22 年からはじまった東京大学の加賀谷隆さんの『多摩川における底生動物分布の長期的変化』も本研究に関連している。着眼点は異なるものの対象とする生物には多くの共通項があるため情報交換を行った。

生物多様性研究に遺伝子情報は欠かせないものになりつつある。カナダ政府は、国際バーコードオブライフ(The International Barcode of Life Project)に巨額の資金を提供し研究を強力に進めている。国際バーコードオブライフとは、世界の国々が協力して生物の標本を集め、DNA 配列を決定し、保全生態学のみならず生物種の同定分類を支援する情報プラットフォームを構築する国際プロジェクトである。これは遺伝子解析が自然への理解を格段に深め、人類の共有財産となると見込んでいるからである。日本でも魚類などの脊椎動物で国際バーコードオブライフに関連した動きがある。多摩川水系における水生昆虫類の遺伝的構造の研究は、これらの世界的な研究動向と機を同じくするもので、次世代の自然誌や保全生物学研究にも大きな影響を与えることが予測される(Rubinoff, 2006; Gonzalez *et al.*, 2009; Oba *et al.* 201; Zhou *et al.*, 2016 など)。

1-3 調査地点と方法（特に遺伝子解析について）

調査地点：多摩川水系全域を網羅できるよう東京都府中市から山梨県甲州市までの範囲、多摩川本流、浅川、秋川、日原川、小菅川、丹波川などの水系の計41地点で調査を行った。（図1, 2・表1）。St.1とした多摩川本流（府中市小柳町）は最も標高の低い海拔33 m であり、多摩川本流源流部一之瀬川（山梨県甲州市一之瀬高橋）は最も標高が高く1357 m であった。標高500 m 以下の調査地点として23地点、標高500 m から1000 m の間の調査地点が17地点、標高1000 m 以上の地点として11地点を設定した。

調査方法：トビケラ目昆虫幼虫は目合約1 mm の手網（D-フレームネット）を使用し溪流や河川内で採集を行った。水中の礫等を動かして底面に潜んでいる幼虫を掬い採り、礫を持ち上げ裏面に付いている幼虫をピンセットで採集した。トビケラ目昆虫の成虫は口径42 cm、目合約2 mmの捕虫網で溪流や河川河岸の灌木に静止する成虫を掬い採集した。またトビケラ目昆虫の成虫では、4 Wのブラックライトを2本装着した携帯式のランタンを使った灯火採集も行った。採集した幼虫と成虫は、現地において95%エチルアルコールで固定し約12時間後に95%エチルアルコールを入れ替え（脱水が進んで）遺伝子解析用の組織サンプルの保存性を高めた。移動に際しては凍結した保冷剤を入れた保冷箱にサンプルを入れ研究室に持ち帰った。検鏡には実体顕微鏡（OLYMPUS SZX16）を使用した。またSZX16に装着した写真撮影装置（DP20）を使用し、被写体深度を深くした写真を合成する場合には画像合成ソフト（Helicon Focus）を利用した。

実験室では実体顕微鏡を用いて種レベルの同定をしたのち、遺伝子サンプルを摘出した証拠標本に関しては写真を撮影し、個別標本番号を添付したバイアルに保存した。個別番号を添付したサンプルは冷蔵庫中で 2 °C で保存し、組織を抽出した後には -25 °C で冷凍保存した。

遺伝子解析に関する分析方法の手順と具体的な方法は以下の通りである（図3）。

（1）遺伝子の抽出には、成虫・幼虫ともに右の後脚組織を使用し、幼虫が小型個体の場合は組織量を増やすために前脚・中脚も使用した。組織は1.5 mlのエップENDORFチューブに入れた状態でペッスルを使い粉碎した。遺伝子の抽出はQiagen社の遺伝子抽出キット（DNeasy Blood and Tissue Kit）を使用した。

（2）PCR反応は、TakaraのZ-taqを使用し、ミトコンドリアのシトクロームオキシターゼサブユニット（C01）いわゆるバーコード領域の分析では以下のプライマーセットを使用した。

HCO2198, 5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3'

LCO1490, 5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3'

PCRの温度と時間条件は初めに94℃まで加熱し、その状態を1分間保った後二本鎖DNAを熱変成で解離させるため94℃を1秒間、プライマーが一本鎖DNAとアニーリング(結合)するために50℃を5秒間、DNAを伸長させるために72℃を15秒間保つという「熱変成-アニーリング(結合)-伸長」のサイクルを30回繰り返した。PCR反応を行う器材としてはASTEC社製GeneAtlas322を使用した。

(3) 電気泳動でPCRによる遺伝子の増幅を確認した後、PCR産物の精製を行った。精製にはExoSAP-IT(GE Healthcare UK, Buckinghamshire)を使用した。精製したPCR産物はシーケンス反応のテンプレートとして使用した。

(4) シーケンス反応には BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, California)を使用した。

(5) シーケンス反応後、エタノール沈殿・ヒートショックという一連の操作を行いABI 3130xl 全自動シーケンサー(Perkin Elmer/Applied Biosystems, California)で解析した。

(6) 塩基配列データは, CLC Workbench software (CLC bio, Aarhus)を使って整列させ, 塩基データの整合性はMEGA v5 (Tamura et al.2011)を使って検討した。

(7) 系統樹は MEGA v5 (Tamura et al.2011)を使って作製した。

(8) ハプロタイプネットワークは、 Statistical Parsimony Network (SPN) (Templeton et al., 1992) をPopART (Leigh and Bryant, 2015) を用いて作製した。

(9) バーコード領域を読みとった昆虫の塩基配列は、BLAST (Basic Local Alignment Search Tool)で検索をかけて既知の配列等との整合性などを考察した。

第2章 多摩川におけるヒゲナガカワトビケラ属昆虫の分布とその遺伝子構造

2-1 ヒゲナガカワトビケラについて

ヒゲナガカワトビケラ科昆虫(*Stenopsychidae*)は、シマトビケラ亜目(*Annulipalpia*)に属する昆虫で、トビケラ目昆虫としては体が大きく、長い触角、細長い前翅などの特徴的な形態をもっている(Schmid,1969)。この科に含まれる種は、記載されている種類だけで約120種あり、構成種数の観点では小規模な科であるといえる。ヒゲナガカワトビケラ科に含まれる属としては *Stenopsyche*属 (約100種が旧北区東部から東洋区にかけて分布、熱帯アフリカから1種が知られる)、*Stenopsychodes*属 (9種がオーストラリアに分布)、*Pseudostenopsyche*属 (3種が南米チリ南端に分布) などの3属が知られている(Morse,2017)。またアジア・アフリカ・オーストラリア・南米と太平洋を大きく隔てて分布する特異的な分布様式からゴンドアナ大陸起源の昆虫であるともいわれる。

日本において最も良く知られた水生昆虫の一種であるヒゲナガカワトビケラは世界的に見ると非常に偏った分布をしていて、さらにオーストラリアや南米に分布する *Stenopsychodes*属、*Pseudostenopsyche*属については幼虫が未だに見つかっていないなどその生態は未だに多く謎に包まれている(Holzental, 2007)。

ヒゲナガカワトビケラ属(*Stenopsyche*)は大陸アジアを代表する水生昆虫である。ヒゲナガカワトビケラ(*Stenopsyche marmorata* Navás)の幼虫は、溪流釣りをする人々にとってはクロカワムシという通称でよく知られた昆虫であり、長野県伊那谷(天竜川流域)では珍味「ザザムシ」として特に有名である(西村, 1987)。ヒゲナガカワトビケラは礫を河床とする溪流にもっともよくみられる昆虫であり国土交通省の「河川水辺の国勢調査」の対象河川の全てから記録されていることも特筆に値する(東城ら, 2017)。広く分布するだけではなく、その現存量も他の昆虫を時に圧倒する。河川の安定性を示す指標値の中に造網型係数というものがある。これはすべての水生昆虫の現存量に対してヒゲナガカワトビケラを中心とした造網型の水生昆虫の占める割合であり、造網型係数が高いという事は出水の時に河床が攪乱されていないことの証拠であるとされてきた。特に底生動物の現存量が多い場合、ほぼ例外なく造網型昆虫の占める割合が高い事が経験則から知られている(津田, 1959)。これはヒゲナガカワトビケラが日本の河川生態系において水中の有機物の分解者としての機能が卓越していることによる。

前出した伊那谷ではヒゲナガカワトビケラを対象にした「ザザムシ漁」が天竜川漁協管轄で行われ、数十年に渡る漁獲データが残っている。多い年には10トン以上の水揚げ(ヒゲナガカワトビケラ幼虫と幼虫の周辺の砂を含む)があり、台風や河川改修で川が荒れた年以外は連続して数トン以上の水揚げが記録されている。これら一連の「ザ

ザムシ漁」は世界に類をみないもので民族昆虫学を専門とするフランス人研究者が天竜川の「ザザムシ漁」を論文にまとめ世界に紹介している(Cesard,2015)。この卓越したヒゲナガカワトビケラ現存量と個体数は生態系の構成要素として極めて重要である。

本研究の共同研究者である信州大学東城幸治氏と東城グループは、ヒゲナガカワトビケラの分布域の広さ、つまり幅広い環境条件に適応して生息できるような「ハビタット・ジュネラリスト種」としての側面に着目し、その分布の背景の解明を進めてきた。斎藤・東城(2016)、東城ら(2017)は、日本全国や周辺地域のヒゲナガカワトビケラの成虫・幼虫の遺伝子を解析し遺伝的に大きく分化した複数の系統群をそこに見出した。ヒゲナガカワトビケラの場合、多くの遺伝子系統があるがゆえに河川の上流から下流、そして日本列島の北から南までの広域分布を成立させたのであろうと考えられるようになった。しかし各系統の由来や分布の詳細については未知な部分が多い。

本研究では多摩川水系に広く分布するヒゲナガカワトビケラの遺伝子系統を東城氏らの一連の研究で解析された日本列島とその周辺のヒゲナガカワトビケラの遺伝子系統とを直接比較することによって多摩川水系におけるヒゲナガカワトビケラの遺伝子構造を解析し成り立ちを考察した。

2-2 結果と考察

2-2-1. 多摩川水系におけるヒゲナガカワトビケラの分布

多摩川水系におけるヒゲナガカワトビケラの分布調査はすべて幼虫で行った。採集個体地点、遺伝子解析個体標本番号、採集地点の標高。採集年月日を表2に示した。調査を行った地点で、採集できなかったのはSt. 1、St. 2であった。この地点は河床が礫であり、本来であればヒゲナガカワトビケラの生息域であると考えられるが生息が認められなかった。St. 1、St. 2以外で遺伝子解析個体が含まれていないSt. 15、St. 20、St. 22、St. 28、St. 33、St. 35、St. 37、St. 38に関しては採集できたが解析不調でデータが出せなかったことによる。St. 32は細流でヒゲナガカワトビケラは生息していなかった。チャバネヒゲナガカワトビケラ(*Stenopsyche sauteri* Ulmer, 1907)はSt. 34でのみ見つかった。

2-2-2. 多摩川水系におけるヒゲナガカワトビケラの遺伝子構造とその分布

多摩川水系30地点から採集された96個体について遺伝子解析を行った。その結果を系統樹(近隣結合法で作製)にまとめたものが図4である。図5は東城さんらが解析したヒゲナガカワトビケラの系統樹と遺伝子系統を示している。この系統樹は日本列島全体とその周辺で採集されたヒゲナガカワトビケラの遺伝子を解析したもので、遺伝的に分化した8つのCladeが示されている。図6は図5のクレードを構成したヒゲナガカ

ワトビケラがどこで採集されたかを地図上に示したものである。図4の系統樹はほとんどが多摩川水系で採集されたヒゲナガカワトビケラではあるが、東城さんが解析した日本列島全体とその周辺で採集されたヒゲナガカワトビケラの遺伝子データも含めて作製した。図4は3つの部分からなり、AとBは最初の系統樹の上下部分を拡大したものである。

多摩川水系のヒゲナガカワトビケラで最も多く出現したのは図4の系統樹で上部を占める「CladeVIII」に属する系統である。この系統は日本全体に分布する（図6）。系統「CladeVIII」は多摩川水系のほぼ全域から出現した。分布域はSt. 3の標高71 mの所からSt. 36の標高1208 mまでを含んでいた。「CladeVIII」系統の遺伝子を持つ個体は、源流部では稀な存在であったがそれ以外の地域ではくまなく出現した。

「CladeVII」は図4の系統樹で「CladeVIII」の下に位置し、東城氏らの先行研究では本州中央構造線の西側から九州まで分布するとされていた系統であるが、図4の中でも参照データのみで多摩川での生息は確認されなかった。

「CladeVI」は、多摩川水系ではSt. 4: 東京都昭島市拝島町拝島橋（標高96 m）とSt. 6: 東京都青梅市友田町（標高128 m）の2箇所のみから見出された。St. 4は遺伝子解析した6個体中1個体だけがClade VI系統、St. 6は5個体解析した中で2個体だけがClade VI系統でそれ以外は広域分布系統の「CladeVIII」系統によって占められていた。この「CladeVI」系統は本州中央構造線の東から東北中部まで分布する系統（図6）であるが、多摩川での生息地点はごく僅かでも少数個体であった。「CladeVI」系統の多摩川での分布の詳細とこの分布の意味は今後の課題である。

「CladeIII」系統「CladeIV」系統はいずれも水系内の上流域（山地溪流から源流部）から見出される系統で、多摩川水系でも「Clade III」系統が（St. 17: 東京都西多摩郡奥多摩町日原（標高 629 m）、St. 36: 山梨県甲州市落合（標高1124 m）、St. 39: 山梨県甲州市一之瀬作場平（標高1317 m）といった山地源流部で見出された。St. 36, St. 39は山梨県塩山市の標高1300 mを超える場所ではあるがSt. 17は標高629 mの奥多摩町日原でありこの地域の個体群の遺伝子構造の詳細、なぜ標高1000 m以下の場所（奥多摩町日原）で「Clade III」系統が特異的に見つかるか今後の課題である。

「CladeIV」系統はSt. 36（前出）, St. 40: 山梨県甲州市一之瀬高橋（標高1357 m）といった標高1300 mを超える山梨県の山地源流部のみから見つかった。斎藤・東城2016、東城ら, 2017によると「CladeIII」「CladeIV」の両系統は本州中央構造線を分布の境界にしているとしていた。しかし多摩川水系では、「CladeIII」「CladeIV」の両系統が分布していて、本州中央構造線（糸魚川-静岡線）という分布境界線は当てはまらなかった。St. 36では「CladeIII」と「CladeIV」系統の幼虫が同所的に生息しているのが遺伝子構造の解析から明らかとなった。これは本研究における新知見である。

大陸や北海道東北部からサハリンに分布する「CladeI」系統、「CladeII」系統、「CladeV」系統、そして西日本に分布する「CladeVII」系統は多摩川水系からは見出されなかった。

2-2-3. 多摩川水系におけるヒゲナガカワトビケラのハプロタイプの詳細とそのネットワーク解析

多摩川水系 30 地点で採集されたヒゲナガカワトビケラ 96 個体の標本についてミトコンドリア DNA を用いた分析を行ったところ全部で 16 種類の異なった塩基配列(ハプロタイプ)が見出された(表 3)。ハプロタイプ 1 を持つものが 47 個体で最も多く、ハプロタイプ 2 が 16 個体、ハプロタイプ 3 とハプロタイプ 4 がそれぞれ 4 個体、ハプロタイプ 5 が 3 個体でハプロタイプ 6, ハプロタイプ 7, ハプロタイプ 8, ハプロタイプ 9, ハプロタイプ 10, ハプロタイプ 11, ハプロタイプ 12, ハプロタイプ 13, ハプロタイプ 14, ハプロタイプ 15, ハプロタイプ 16 がそれぞれ 1 個体であった。

同じデータセットを調査地点ごとにまとめたものが表 4 であり調査地点ごとに採集された個体のハプロタイプの詳細と個体数が記載されている。ハプロタイプ多様度の高かった地点はハプロタイプが 5 種類見られた St. 6: 東京都青梅市友田町(標高 128 m)であり採集されたヒゲナガカワトビケラの幼虫の 5 個体のハプロタイプが全て異なった。ハプロタイプ数が 3 であった調査地点は St. 4: 東京都昭島市拝島町拝島橋(標高 96 m)、St. 26: 東京都西多摩郡檜原村南郷下川乗(南秋川)(標高 381 m)、St. 36: 山梨県甲州市落合(標高 1124 m)の 3 地点であった。ハプロタイプ数が 2 であったのは、St. 7, St. 10, St. 17, St. 23, St. 24, St. 25, St. 29, St. 30 の 3 地点であり、残りの 16 地点はハプロタイプ数が 1 であった。

これらハプロタイプの関係性を視覚的に分かりやすく表現したのがハプロタイプネットワーク図(図 7)である。円の大きさは当該ハプロタイプの出現頻度(ここでは個体数)に比例する。円の内側にはどの調査地点で採集されたものかが示されている。円と円を繋ぐ直線上のスラッシュ数は塩基配列の変異数を表している。図 7 のハプロタイプ間の関係と見ると一番大きな円のハプロタイプ 1: (hap1) を中心としてハプロタイプ 14, ハプロタイプ 12, ハプロタイプ 10, ハプロタイプ 4, ハプロタイプ 2, ハプロタイプ 7, ハプロタイプ 3, ハプロタイプ 13 までが図 4 の系統樹の「CladeVIII」系統に入る。図 7 から「CladeVIII」系統が多摩川水系で最も繁栄しているといえる。

「CladeVIII」系統と相対的に近いものがハプロタイプ 6, ハプロタイプ 8, ハプロタイプ 9 である。これらは図 4 の系統樹の「CladeVI」系統に該当する。ハプロタイプ 16 は図 4 「CladeIV」系統に入る。ハプロタイプ 16 は「CladeVIII」系統の集団とは 16 塩基以上の置換を起こしている。残りのハプロタイプ 5, ハプロタイプ 11, ハプロタイプ 15 は図 4 の「CladeIII」系統に該当する。「CladeIII」「CladeIV」系統両者の間にも 12 塩基の変異を持つ。

ハプロタイプ1を中心とした「CladeVIII」系統が中心であるが、進化史的に「CladeVIII」に近い背景を歩んで来た「CladeVI」系統もごく少数派ではあるが存在する。「CladeIII」「CladeIV」に該当するハプロタイプをもつ個体も山地溪流（源流部）から出現した。「CladeIII」「CladeIV」の両系統は進化史的に「CladeVIII」や「CladeVI」とは異なる可能性が高い。

これまでヒゲナガカワトビケラは日本の河川に最も普通に生息する昆虫の一種で均一な集団であると考えられてきたが、東城氏らの一連の研究で内部に大きな多様性があることが分かってきた。今後はヒゲナガカワトビケラといってもその内部の遺伝子構造にまで踏み込んで環境影響評価などを行う必要があるだろう。

生物の分布は固定的なもので、明瞭な境界線があるように考えられる事も多いが本研究の結果はその考え方には否定的である。「CladeIII」「CladeIV」のように本州中央構造線からやや東に外れた場所で共存しているところが見出された事がその根拠である。分布境界線は動的な側面を持つ可能性がある。「CladeIII」と「CladeIV」のような集団が（同所的な分布をするにも関わらず）お互いの遺伝子が混ざってしまわず独立を保っているということは、系統間で強い生殖的隔離機構が働いている可能性がある。これらも今後の課題である。

第3章 多摩川におけるトビケラ目昆虫の遺伝子

3-1 研究の背景

生物種が異なればその生物の遺伝情報、遺伝子 DNA の 4 種類の塩基の配列が異なる。種特異的な変異の多い遺伝子座に着目してその塩基配列を分析すれば、既存のデータベースに照合することで、その生物種を特定することが可能になる。DNA の塩基配列を 4 色カラーで表示したものが商品識別に使われるバーコードに似ているので、特定の遺伝子座の配列の相同性から生物種を特定する事を DNA バーコーディングと呼ばれている (Hebert et al. 2003)。

河川に生息する水生昆虫は河川やその周辺のさまざまな環境の指標生物でもあり注目されてきた。多くの環境調査ではこれら生物種のリストが環境の現状把握の為に作製されるが、種までの同定は多くの苦痛と困難を伴うものであった。水生昆虫においても形態学に基づいた分類学専門家の数は減少し、後継者も育ちにくいという問題がある。DNA バーコーディングは、このような問題点を克服する試みとも考えられる。形態学に基づく種への同定は、長年の経験に基づく熟練作業を要する。一方、DNA 塩基配列の決定とデータベースへの照合は簡便で統一的な作業で実現でき、結果は極めて客観的である。

水生昆虫同定の大きな問題として、記載されている種類であっても全ての生活史状態で正確に同定できないことがある。若齢幼虫や卵、雌や蛹でさえ記載 (形態情報の登録) がされていないことが多い。従来の形態だけにに基づく分類同定システムでは未成熟個体 (若齢幼虫や卵) や未記載の雌、組織断片による同定はほぼ不可能であった。DNA バーコーディングはこうした現状を打開する一つの方法でもある。本研究では、トビケラ類の DNA バーコーディングを行い遺伝子データベースの充実を図るとともに形態画像情報をリンクして、一般に利用できる分類・同定・情報システムの構築も目指した。

3-2 解析したトビケラ目昆虫とその遺伝子配列

Rhyacophilidae ナガレトビケラ科

1. *Rhyacophila bilobata* Ulmer, 1907 フタタマオナガレトビケラ

【標本データ】RBK-12038, male, St. 36: 山梨県甲州市落合 多摩川 (源流部) ; 多摩川水系, 1208 m, 20120518

【注釈】DNA データベースで塩基配列を検索したところ Austria: Konrad-Hausern で採集された (*Rhyacophila dorsalis* voucher HMCAD0111-152) から得られた配列と 622 塩基中 539 (87%) の相同性を認めたが両種は形態で明瞭に区別できる別種である。今回 *Rhyacophila bilobata* の塩基配列として DDBJ に初めて登録される。

【図】 図 8-1.

【塩基配列】

```
GTGGGATCTTCATTAAGAATGATTATTCGAACTGAACTGGGAATGCCCGGTTCTTTAATTGGAAATGATCAAATTTATAATGTAGTAGTAACTGCATGCATTTATTATAAATT  
TTTTTTATAGTTATACCAATTATAATTGGAGGATTCGGAACTGACTAGTCCCCTTAATGTTAGGGGCTCCTGATATGGCGTTCGCCGGAATAAATAATATAAGATTTTGACTA  
CTTCCCCCTCTCTAACCTACTTATTATAAGAAGAATTGTGGAAAACGGGGCAGGGACAGGATGAACTGTTTATCCACCTTATCAGCCAATATCGGCCATATGGGAAGATCA  
GTTGATTTAACCAATTTTTCTCTCCATTTAGCTGGAGTTTCTTCTATTTTAGGGGCTATTAATTTTATTACCACAGTAATTAATATACGATCAAAGGGCATAACAATTAGATCAA  
ATACCCCTGTTTGTCTGATCTGTTGCTATTACTGCACTACTTCTTCTCTATCATTACCAGTTTTAGCGGGAGCTATTACTATGTTATTAACAGATCGAAATTTAAATACTTCT  
TTTTTTGACCCTGCGGGAGGGGAGACCAATTTTATATCAACATTTATTT
```

2. *Rhyacophila brevicephala* Iwata, 1927 ヒラアタマナガレトビケラ

【標本データ】 RBK-11999, male, St. 9, 東京都八王子市南浅川町狭霧橋(案内川;浅川上流多摩川水系), 255 m, 20120528. RBK-12064, male, St. 28, 東京都西多摩郡檜原村数馬雨乞滝 LT 南沢 (南秋川上流) ; 多摩川水系, 689 m, 20130611.

【注釈】 DNA データベースで塩基配列を検索したところ北海道大野町で採集された (*Rhyacophila brevicephala* voucher 08JPCAD-167) から得られた配列と 658 塩基中 620 (94%) 一致した。標本番号 11999 と標本番号 12064 では数塩基の置換が認められた。この種については、地域ごとに遺伝子配列に変異を持つ可能性があり日本各地の個体の遺伝子と形態を詳細に検討する事が望まれる。

【図】 図 8-2.

【塩基配列】

```
AACTCTTTACTTTATCTTTGGAATTTGAGCCGGTATAATAGGATCATCACTCAGTCTTATTATTGAACTGAATTAGGCATACCCGGAGCTTTAATTGGGAACGATCAAATTTA  
TAATGTAATAGTAACAGCTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTATAGTTATACCCATTATAATCGGAGGATTTGGAAATGATTAATCCCTTAATATTAGGAGSYCCAGATAT  
AGCATTTCTCGAATAAATAATATAAGATTTTGATTACTTCCCCTTCGTTAACCTCTTAACTATAAGAAGAATTGTAGAAAATGGAGCAGGAAGCTGGATGAACAGTTTATCC  
CCCTCTATCGGCTAATATTGGACATACTGGAAGCTCTGTAGATTTAAACAATTTTTCACTTCATTTAGCTGGTATTCTTCAATTTTAGGGGCTATCAACTTTATTACAACAGT  
TATTAATATACGATCAAAGGAATATCTCTAGACCAAATACCATTATTTATTTGATCTGTGCTATCACTGCTTACTTTTACTTCTTCTCTCCCTGTATTAGCAGGAGCTAT  
TACTATACTTCTAACTGACCGAAACCTAAATACATCATTCTTCGATCCAGCAGGAGTGGAGACCTATTCTTTATCAACATTTATTT
```

3. *Rhyacophila clemens* Tsuda, 1940 クレメンズナガレトビケラ

【標本データ】 RBK-11992, male, St. 28, 東京都西多摩郡檜原村数馬雨乞滝南沢 (南秋川上流;多摩川水系), 689 m, 20130619. RBK-12001, male, St. 28, 東京都西多摩郡檜原村数馬 雨乞滝南沢 (南秋川上流) ; 多摩川水系, 689 m, 20130610.

【注釈】 DNA データベースで塩基配列を検索したところ北海道中標津で採集された (*Rhyacophila mirabilis* voucher 100FCAD-012) から得られた配列と 658 塩基中 572 (87%) 一致した。*Rhyacophila mirabilis* とは形態で種を明瞭に区別できる別の種グループに所属する別種である。標本番号 11992 と標本番号 12001 では数塩基の置換が認められた。今回 *Rhyacophila clemens* の塩基配列として初めて登録される。

【図】 図 8-3.

【塩基配列】

```
AACTATATACTTTATTTTCGAAATTTGAGCTGGAATAGTGGGCTCATCTTTAAGAATAATTATTCGAACAGAATTAGGGATACCAGGCTCTTTAATTGGAAATGATCAAATTTT  
TAACGTAATTGTAACAGCTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTATGGTAATACCAATTATAATCGGAGGATTCGGAAATGATTAGTACCCTAATACTCGGAGCCCTGATAT  
AGCTTTTCCCGAATAAATAATATAAGATTTTGACTTCTCCCCCTCACTCTCTCTTACAATAAGAAGAATCGTTGAAAATGGAGCAGGAAGCTGGTTGAACGTATATCC  
CCCCTTATCCGCTAATATCGGACATGCTGGCAGATCTGTTGATCTTACCATTTTTTCCCTTCATTTAGCCGGAATTTCAATCTTAGGGCTATTAACCTTTATTACAACGT  
AATTAATATACGTTCTAAGGAATATCTTTAGATCAAATACCTCTATTCTGTGATCTGTTGCTATTACGGCCTTACTATTACTCTTTCTCTCCCTGTTTTAGCGGGAGCTAT  
TACTATATTATTAAGTATCGAACTTAAACTTCTTTCTTTGACCTGCTGGAGGGGATGATCAATTTCTTACCAACACTTATTT
```

4. *Rhyacophila kiyosumiensis* Kuranishi, 1990 キヨスミナガレトビケラ

【標本データ】RBK-12040, male, St. 36, 山梨県甲州市落合（多摩川源流部;多摩川水系）, 1208 m, 20130609. RBK-12076, male, St. 41, 東京都西多摩郡檜原村,（北秋川源流小滝;多摩川水系）, 748 m, 20130620.

【注釈】DNA データベースで塩基配列を検索したところ Canada: Ontario, Grey County, Western bank of Beaver Valley で採集された (*Rhyacophila brunnea* voucher 08ONCAD-0040) から得られた配列と 629 塩基中 542 (86%) の相同性を認めたが両種は形態で明瞭に区別できる別種である。標本番号 12040 と標本番号 12076 は塩基配列が完全に一致した。今回 *Rhyacophila kiyosumiensis* の塩基配列として DDBJ に初めて登録される。

【図】図 8-4.

【塩基配列】

```
CGGGTATAGTGGGATCATCATTAAAGAATAATTATTCGAACTGAACTCGGCATGCCAGGTTCAATTCGAAATGATCAAATCTACAATGTTATTGTTACTGCTCATGCATTGTTATAATTTTTTTCATAGTTATAACCTATTATAATCGGAGGCTTCGAACTGACTAGTACCTGTGATATTAGGAGCTCCAGATATGGCATTTCCTCGAATAAACACATAAGATTTTGACTTTTACCCCATCACTATCTCTTAATTATAAGAAGAACCCTAGAAAATGGAGCAGGTACAGGATGAACGGTTTATCCACCTCTTTCAGCTAATATTGGTCATATAGGAAGATCAGTTGATTTAACTATTTTTCACTACATTTAGCCGGTATTTCTCAATTTTAGGGGCAATTAATTTTCATTACCACAGTAATTAATACGATCTAAAGGAATACAATAGATCAAAATACCTTTATTCGTTGATCAGTAGCTATTACTGCTTTACTTCTTCTCTCTCTCCAGTTTTAGCGGGAGCAATTACTATACTATTAAGTATCGAAATCTAAACACCTCTTTTTTGATCCTGCAGGAGGGGAGATCCTATTTTGTATCAACATTTATTT
```

5. *Rhyacophila lambakanta* Schmid, 1970 ユミナガレトビケラ

【標本データ】RBK-12081, male, St. 40, 山梨県甲州市一之瀬高橋 5 (一之瀬川 ; 多摩川水系), 1357m, 20130721.

【注釈】DNA データベースで塩基配列を検索したところ Russia: Primorsky Krai, Primorsky Krai, Khasanskyi, Sukhaya River, Kedrovaya Pad NR で採集された (*Rhyacophila retracta* voucher TVTRI0081) から得られた配列と 658 塩基中 596 (91%) 一致した。*Rhyacophila retracta* とは同じ種群で近縁種ではあるが形態で明瞭に区別できる別種である。今回 *Rhyacophila lambakanta* の塩基配列として DDBJ に初めて登録される。

【図】図 8-5.

【塩基配列】

```
AACTTTTACTTTTATTTTTGGAATTTGAGCAGGAATAGTGGGATCGTCTTTAAGAATAATCATTGAACTGAATTAGGAATACCTGGATCTTTAATTGGTAATGATCAAATTTACAACGTAGTAGTTACTGCTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTCATAGTTATACTATTATAATCGGAGGATTTGAAATGACTTGTCCATTAATATTAGGAGCTCCAGATATAGCTTTTCCCGAATAAATAACATAAGATTTTATTACTCCCTCATCTATTACACTACTTACTATAAGAAGAATTGTAGAAAATGGAGCAGGAACAGGATGAACCTGTTTATCCCTCTTTCAGCTAATATTGGGCATAATGGAAGATCAGTAGATCTTGCTATTTTTCTCTTCATTAGCAGGAATTCCTCTATTTTAGGAGCAATTAATTTTCATTACCACAGTAGTTAATATACGAACTAAAGGAATATCTTTAGATCAAATACCTTTATTTGTTGATCTGCTGCTATTACTGCTTTTTACTTTTTACTTTTCTTTACTGTATTAGCAGGAGCTATTACCATATTATAACAGATCGAAATCTAAATACATCTTTTTTTGATCCAGCTGGAGGAGAGACCTATTTTATATCAACATTTATTT
```

6. *Rhyacophila lezeyi* Navás, 1933 レゼイナガレトビケラ

【標本データ】RBK-12036, male, St. 36, 山梨県甲州市落合（多摩川源流部 ; 多摩川水系）, 1208 m, 20130609. RBK-11849, larva, St. 21, 東京都西多摩郡檜原村藤原 (北秋川 ;

多摩川水系), 487 m, 20130522. RBK-12023, male, St. 41, 東京都西多摩郡檜原村(北秋川源流小滝; 多摩川水系), 748 m, 20130620.

【注釈】DNA データベースで塩基配列を検索したところ USA: California, Plumas Co., Plumas National Forest で採集された (*Rhyacophila vao* voucher RBCAD-0720) から得られた配列と 652 塩基中 585 (90%) の相同性を示したが、両種は同じ種群に属する近縁種ではあるが形態で明瞭に区別できる別種である。

標本番号 12036 と標本番号 11849 は塩基配列が完全に一致した。標本番号 12036 と標本番号 11849 では数塩基の置換が認められたが系統樹を作製すると同一クレードを形成する。これらと数塩基異なるのが標本番号 12023 ではあるが、成虫の雄交尾器の形態状態からは *Rhyacophila lezeyi* と同定された。今回 *Rhyacophila lezeyi* の塩基配列として DDBJ に初めて登録される。

【図】 図 8-6.

【塩基配列】

```
AACTCTATACTTCATTTTTGGAATTTGAGCAGGCATGGTAGGATCTTCTTTAAGAATAATTATTCGAACTGAATTAGGAATACCCGGATCTCTAATCGGTAATGATCAAATTTA  
TAACGTAGTAGTAACAGCTCATGCTTTTGTAAATAATTTTTTTATAGTTATACCAATTATAATCGGAGGCTTTGGAAACTGATTAGTTCCTTAATGTTAGGAGCTCCTGATAT  
AGCATTCCCGGTATAAATAAATAAGATTTGACTTTTACCCCATCTATTACATTACTACTATAAGAAGAATCGTAGAAAACGGAGCCGGTACTGGCTGAAGCTGTTTATCC  
CCCTTTATCGGCCAATATTGGACATATAGGAAGATCTGTAGATTAACCATTTTCTCCCTTCATCTTGTGGAATTTCTCAATTCTAGGAGCTATTAATTTTATTACCACAGT  
AATTAACATACGTGCTAAAGGAATATCTTTAGATCAAATACCATTATTTGTATGATCAGTAGCAATTACCGCTCTACTACTCTATCTTTACCTGTATTAGCAGGTGCAAT  
TACTATACTTCTAACCGATCGAAATTTAAATACATCATTTTTTGACCCGGCAGGAGGAGATCTATTTTATACCAACACTTATTC
```

7. *Rhyacophila nigrocephala* Iwata, 1927 ムナグロナガレトビケラ

【標本データ】 RBK-12060, male, St. 28, 東京都西多摩郡檜原村数馬雨乞滝(南沢:南秋川上流; 多摩川水系), 689 m, 20130611. RBK-11852, larva, St. 7, 東京都あきる野市留原(秋川; 多摩川水系), 167 m, 20130522.

【注釈】DNA データベースで塩基配列を検索したところ Canada: Ontario, Grey County, Western bank of Beaver Valley で採集された (*Rhyacophila brunnea* voucher 08ONCAD-0040) から得られた配列と 629 塩基中 542 (86%) の相同性を認めたが両種は形態で明瞭に区別できる別種である。標本番号 12060 と標本番号 11852 の塩基配列は完全に一致した。

【図】 図 8-7.

【塩基配列】

```
TTTTGGAATTTGAGCTGGTATAGTAGGCTCTTCTTTAAGAATAATTATTCGTAAGTGAATTAGGAATACCAGGATCTTTAATCAGAAATGATCAAATTTATAACGTAGTAGTTAC  
CGCTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTCATAGTAATACCAATCATAATTTGGGGGATTCGAAATTTGACTAGTTCCTTAATAGTAGGAGCACCTGATATAGCTTTCCCTCGTAT  
AAATAATATAAGATTTGACTTCTCCACCTTCTCTCACTCTATTAACATAAGAAGAATCGTAGAAAACGGTGCAGGACTGGATGAAGCTGTTTACCACCTCTATCAAGAAA  
TATCGGTCATGCTGGAAGTTCAGTAGATTTAACAATTTTTCTTTACATTTAGCAGGAATTTCTCTATTTTAGTGCCATTAACCTTTATCACTACTGTAATAAACATACGATC  
AAAAGGAATATCTTTGACCAATACCTTTATTTGTCTGATCAGTAGCTATTACCGCACTTCTTCTTCTTTTACCTGTATTAGCTGGAGCAATTACTATATTATTAAC  
TGATCGAAATTTAAATACTTCTTTTTTTGATCCTGCAGGAGTGGAGACCCATTCTCTATCAACACTTATTT
```

8. *Rhyacophila transquilla* Tsuda, 1940 トランスクィラナガレトビケラ

【標本データ】 RBK-11986, male, St. 8, 東京都あきる野市小中野秋川溪谷(秋川; 多摩川水系), 178 m, 20120520. RBK-12039, female, St. 36, 山梨県甲州市落合(多摩川源

流部;多摩川水系), 1208 m, 20130609. RBK-12041, female, St. 36, 山梨県甲州市落合(多摩川源流部;多摩川水系), 1208 m, 20130609.

【注釈】DNA データベースで塩基配列を検索したところ北海道京極町ふきだし公園で採集された(*Rhyacophila arefini* voucher 08JPCAD-174)から得られた配列と 648 塩基中 616 (95%)一致した。*Rhyacophila arefini* とは同じ種群であるが形態で明瞭に区別できる別種である。標本番号 12039 と標本番号 12041 は塩基配列は完全に一致したため、これらは同種であるといえる。また標本番号 11986 は、前者と 5 塩基のみの置換がみられるだけであり同種であることが示唆される。今回 *Rhyacophila transquilla* の塩基配列として DDBJ に初めて登録される。

【図】 図 8-8.

【塩基配列】

```
TTTATTTTGGAAATTTGAGCAGGAATAGTAGGCTCTTCTCTTAGAATAATTATTCGAACAGAATTAGGAATACCAGGATCATAATTGGAACGATCAAATTTATAATGTAGTT  
GTAACAGCTCATGCATTTATTATAATTTTTTTATAGTAATACCAATTATAATTGGAGGATTCGGAACTGATTAGTACCCTTAATGTTAGGAGCTCTGATATAGCTTTTCCT  
CGTATAAACAATATAAGATTTTGACTTCTACCACCTTCATTAATACTAATAAGTAGAATGTAGAAAAATGGTCAGGAAGCTGGATGAACAGTTTATCCCCCTTTATCA  
AGAAATATTGGTCATAATGGAAGTTCTGTTGATTAACATTTTTCTTTACATCTTGCTGGAGTTTCATCTATTTAGGTGCAATTAATTTTATTACAACCTGATTAATATA  
CGATCTAAGGGAATATCTTTAGATCAAATACCGCTATTCGTTTGATCTGTAGCTATTACAGCTCTTCTTTTATTATCCCTTCTGTACTAGCAGGGGCTATTACAATACTT  
TAACTGATCGTAATTTAAATACCTCATTTTTGATCCCGCTGGAGGAGGGATCCTATTTTATATCAACATTTATTT
```

9. *Rhyacophila yamanakensis* Iwata, 1927 ヤマナカナガレトビケラ

【標本データ】RBK-12065, male, St. 28, 東京都西多摩郡檜原村数馬雨乞滝南沢(南秋川上流;多摩川水系), 689 m, 20130611. RBK-11853, larva, St. 7, 東京都あきる野市留原(秋川;多摩川水系), 167 m, 20130522.

【注釈】DNA データベースで塩基配列を検索したところロシア沿海州で採集された(*Rhyacophila angulata* voucher TVTRI0237)から得られた配列と 628 塩基中 646 (97%)の相同性を認めたが両種は形態で明瞭に区別できる別種である。今回 *Rhyacophila yamanakensis* の塩基配列として DDBJ に初めて登録される。

【図】 図 8-9.

【塩基配列】

```
TATTTTGGAACTGAGCAGGAATAGTGGGATCCTCTTTAAGAATAATTATTCGAACAGAATTAGGAATACCAGGATCACTAATTGGAATGATCAAATTTACAATGTTGTAGTA  
ACTGCTCAGCATTGTTATAATTTCTTTATAGTAATACCAATTATAATTGGAGGATTTGGTAATTGATTAGTTCCACTAATACTAGGAGCCCCAGATATAGCCTTTCTCCT  
ATAAATAACATAAGATTTTGATTGTTACCTCCATCATTAACTATAAGAAGAATTGTAGAAAAATGGAGCAGGCACAGGTTGAAGTGTATCCCCCTCTTTTCATCT  
AATATCGGCCATAGAGGAAGATCAGTAGATTTAACTATTTTTTCATTACATTTAGCAGGAATCTTCAATTTTAGGAGCAATTAATTTTATCACAACCTGTAATTAATATACGA  
TCTAAAGGAATAAATTAGATCAAATACCTTATTTGTTGATCAGTAGCAATTACAGCATTATTACTTCTTCTTACTACCTGTACTAGCAGGAGCTATCACTATATTATTA  
ACAGATCGAAATTTAAATACATCATTTTTGATCCTGCTGGAGGAGGAGATCCAATTTTATATCAACACTTATTT
```

Hydrobiosidae カワリナガレトビケラ科

1. *Apsilochorema sutshanum* Martynov, 1934 ツメナガナガレトビケラ

【標本データ】RBK-12099, female, St. 28, 東京都西多摩郡檜原村数馬雨乞滝(南沢:南秋川上流;多摩川水系), 689 m, 20130619.

【注釈】 DNA データベースで塩基配列を検索したところ北海道恵庭市漁川で採集された (*Apsilochorema sutshanum* voucher 08JPCAD-048) から得られた 649 塩基中 648 (99%) の相同性が認められた。他には北海道中標津で採集されたもの voucher 08JPCAD-050 とも 99% の高い相同性を示した。Russia: Primorsky Krai, Nakhodkinski District, tributary of Shirokaya River で採集された個体とは 650 塩基中 618 (95%) の相同性であり、大陸とは遺伝的な変異のある事が示唆された。

【図】 図 8-10.

【塩基配列】

```
TTTTATTTTCGGAATTTGAGCTGGAATACTAGGAACTCTTTAAGACTATTAATTCGGGTAGAATTAGGTAGCCCGGATCATTAATTAATAATGATCAAATTTATAACGTAAT
CGTCACAGCCCATGCCTTCATTATAATTTTTTTATGGTTATGCCAATTATAATGGGGGATTGGAACTGACTTGTTCCTTAATAATCGGAGCCCCGATATGGCATTTC
ACGAATAAATAATAAGATTTGAATATTACCTCCTAGCCTATTTCTCTAATTAGAAGAAGTTTGTAGAAAGAGGAGCAGGAACAGGTTGAACTGTATACCCCTCTTTC
TTCTAATATCTCACACGCTGGGGGTCAGTTGATTAGCTATTTTTCTCTCCACTAGCAGGAATTCCTCAATTTAGGAGCCGTAACTTTATTTCAACGATTATAAATAT
ACGAACTAACGGAATTAGTTGGACCGAACACCCCTATTTGTTGATCCGTAGGAATCACAGCCCTTCTTCTTCTTCTCTACCAGTCTGGCCGGAGCTATTACCATATT
ATTAACGACCGAACTTAAATACCTCTTCTCGACCCTACGGGTGGGGGGACCTATTTATACCAACATTATTT
```

Glossosomatidae ヤマトビケラ科

1. *Glossosoma altaicum* (Martynov, 1914) アルタイヤマトビケラ

【標本データ】 RBK-12104, male, St. 28, 東京都西多摩郡檜原村数馬雨乞滝 (南沢; 南秋川上流; 多摩川水系) 689 m, 20130619. RBK-12127, St. 28, 東京都西多摩郡檜原村数馬雨乞滝 (南沢, 南秋川上流; 多摩川水系), 689 m, 20130619.

【注釈】 DNA データベースで塩基配列を検索したところ Mongolia: Arhangay, Tariat, Nariin Gichgenii で採集された (*Glossosoma altaicum* voucher ID-01406) から得られた配列と 651 塩基中 599 (92%) の相同性を認めた。この種は地域ごとに異なった遺伝子組成を持つ可能性が高い。また形態学的には異なる *Glossosoma neffi* (北海道恵庭市産) という種と比較したところ 651 塩基中 612 (94%) の相同性を認めた。標本番号 12104 と標本番号 12127 には 1 塩基のみ異なっていた。

【図】 図 8-11.

【塩基配列】

```
TATTTATTTTGGGAATTTGAGCAGGAATACTAGGAACAGCATTAAAGAATGCTAATTCGATTAGAATTAAGAACTTCGGGCTACTTAATTTGGAAACGATCAAATTTATAATGTA
ATTGTAACCGCCCATGCTTTTGAATAATTTTTTTATAGTTATACCAATTATAATTTGGAGGATTGGTAATTGATTAGTACCCTTATATTAGGAGCCCGATATAGCCCTT
CCCCGACTCAATAATAAGATTTTGATTATTACCCCTTCTTTAACAATTTCTTTAATAAGAAGAATAGTGGAAATGGCGCTGGCACTGGGTGAACCGTTTACCCCTCTA
TCATCTAATTTAAGCCATATTGGAAGATCAGTAGATTAAACAATTTTTACTACTACATTTAGCTGGCATTCTCTATTTTAGGGCAATTAATTTTATTACCACAGTAATTAAT
ATACGATCTAGATACATAAACTTAAATATAATGCCCTTATTTGTATGATCAGTACTAATTACAGCTATTTTATTATTACTTTTCATTGCCTGTATTAGCCGGAGCTATTACTATA
CTATTAACAGATCGTAATCTAAACACTAATTTTTTCGACCCTGCTGGAGGGGGAGACCCGATTTCTATATCAACATTTATTC
```

2. *Glossosoma nichinkata* Schmid, 1971 サドヤマトビケラ 【標本データ】

RBK-12089, male, St. 40, 山梨県甲州市一之瀬高橋 5 (一之瀬川; 多摩川水系), 1357m, 20130721. RBK-12102, male, St. 28, 東京都西多摩郡檜原村数馬雨乞滝 (南沢, 南秋川上流; 多摩川水系), 689 m, 20130619.

【注釈】 DNA データベースで塩基配列を検索したところ北海道斜里町で採集された

(*Glossosoma ussuricum* voucher 08JPCAD-039) から得られた配列と 629 塩基中 583 (93%) 一致した。*Glossosoma ussuricum* とは同属で近縁種あるが形態で明瞭に区別できる別種である。標本番号 12086 と標本番号 12102 は 1 塩基のみ異なっていた。今回 *Glossosoma nichinkata* の塩基配列として DDBJ に初めて登録される。

【図】 図 8-12.

【塩基配列】

```
CCGGAATACTAGGAACATCTTTAAGTATACTAATACGTATAGAATTAAGAACTTCTGGTTATTTAATTGAAACGATCAAATTTATAACGTAATTGTAAGTCTCATGCTTTTG  
TAATAATTTCTTTATAGTTATAACCAATTATAAATGGAGGATTGGCAATTGATTAGTACCTTTAATATTAGGAGCTCCTGATATAGCCTTCCCTCGACTTAATAATATAAGAT  
TTGACTATTACCGCTTCATTAACATTTTTATTAATAAGAAGAATAGTAGAAAATGGAGCTGGTACTGGTTGAACAGTTTATCCTCCACTATCATCTAATTTAAGACATATTG  
GTAGATCCGTAGATCTAACAATTTTTCATTACATTTAGCAGGTATTCTTCAATTTAGGGGCTATTAATTTTATTACAACAGTAATCAATATACGATCCAGATATATAAATT  
TAAATATAATACCGTTATTTGTTGATCAGTATTAATACAGCCATTTTATTACTTTCTTTACCTGTATTAGCAGGAGCTATTACTATACTTTTAACTGATCGAAATTTAA  
ATACAAACTTTTTCGACCTGCAGGAGGTGGAGACCAATTTTATATCAACATTTATTC
```

3. *Glossosoma ussuricum* (Martynov, 1934) イノプスヤマトビケラ

【標本データ】RBK-12101, male, St. 28, 東京都西多摩郡檜原村数馬 雨乞滝 南沢 (南秋川上流) ; 多摩川水系, 689 m, 20130619. RBK-12101, St. 28, 東京都西多摩郡檜原村数馬 雨乞滝南沢 (南秋川上流) ; 多摩川水系, 689 m, 20130619. RBK-12119, male, St. 28, 東京都西多摩郡檜原村数馬 雨乞滝南沢 (南秋川上流) ; 多摩川水系, 689 m, 20130619. RBK-12087, male, St. 40, 山梨県甲州市一之瀬高橋 5 一之瀬川 ; 多摩川水系, 1357 m, 20130721. RBK-12103, male, St. 28, 東京都西多摩郡檜原村数馬 雨乞滝南沢 (南秋川上流) ; 多摩川水系 689 m, 20130619.

【注釈】DNA データベースで塩基配列を検索したところ北海道千歳市千歳川で採集された (*Glossosoma ussuricum* voucher 08JPCAD-037) から得られた配列と 658 塩基中 655 (99%) 一致した。同じ相同率が、北海道清里町 voucher 08JPCAD-039 からも見出された。Russia: Primorsky Krai, Vladivostok vicinity, unnamed Stream (Stinky Stream) で採集された voucher TVTRI0135 でも 653 塩基中 655 (99%) の高い相同性がみられ、広範囲に同じハプロタイプが存在する。今回解析した個体中にも 1 塩基程度の置換はみられたが高い相同性を示した。

【図】 図 8-13.

【塩基配列】

```
RBK-12102: AACATTATATTTTATTTTGGAAATTTGAGCCGGAATACTAGGAACATCATTAAAGAATACTAATTCGTATAGAATTAAGAACTTCTGGATATTTAATTGAAACG  
ATCAAATTTATAATGTGATTGTAACCTGCTCACGCATTGTAAATAATTTCTTTATAGTTATAACCAATTATAAATGGAGGATTCGGTAATTGATTAGTTCTTTAATATTAGGAG  
CCCCAGATATGGCTTTCCCTCGACTTAATAATATAAGATTTTGATTATTACCTCCATCTTTAACATTCTTATTAATAAGAAGAATAGTAGAAAATGGAGCAGGTACTGGTTGAA  
CCGTTTATCCTCCACTGCTTCTAATTTAAGCCATATTGGAAGATCAGTAGATTTAACAATTTTCTCACTACATTTAGCCGGTATTTCTTCAATTTTAGGGGCTATTAATTTCA  
TTACAACAGTAATTAATATACGATCTAGATATATAAATTTAAATATAATACCTTTATTTGTTGATCAGTATTAATTACAGCCATTTTACTATTACTATCTTTACCTGTATTAG  
CTGGAGCTATTACTATATTTAATACAGATCGAAATTTAAATACAAACTTCTTCGACCCAGCAGGAGGAGCGATCCAATTTTATATCAACATTTATTC
```

Philopotamidae カワトビケラ科

1. *Chimarra tsudai* Ross, 1956 ツダコタニガワトビケラ

【標本データ】RBK-11988, male, St. 8, 東京都あきる野市小中野秋川溪谷(秋川; 多摩川水系), 178 m, 20120520. RBK-12078, male, St. 41, 東京都西多摩郡檜原村(北秋川源流小滝; 多摩川水系), 748 m, 20130620. RBK-12032, female, St. 25-1, 東京都西多摩郡檜原村南郷(南秋川; 多摩川水系), 362 m, 20130522. RBK-12078, female, St. 41, 東京都西多摩郡檜原村(北秋川源流小滝; 多摩川水系), 748 m, 20130620.

【注釈】DNA データベースで塩基配列を検索したところブータンで採集された(*Chimarra oreithyia* voucher 08HMCAD-227)から得られた配列と 658 塩基中 580 (88%) 一致した。*Chimarra oreithyia* とは同属であるが形態で明瞭に区別できる別種である。標本番号 12078 と標本番号 12032、標本番号 12078 は塩基配列が完全に一致するか 1 塩基のみの置換であったが標本番号 11988 は 10 塩基の置換が認められた。形態的には区別出来ないが遺伝子組成に変異のある集団を内包している可能性がある種だと考えられる。今回 *Chimarra tsudaia* の塩基配列として DDBJ に初めて登録される。

【図】図 8-14.

【塩基配列】

```
AACATTATATTTTATTTTGGATTATGATCAAGAATACTCGGATTATCCTTAAGAATGCTAATTCGTTTAGAAGCTTAGAACCCAGGAGCTTTAATTGGAAATGATCAAATTTT  
CAATTCAATTGTAACAGCCCATGCATTCATTATAATTTTTTTATAGTTATACCTATTATAATCGGAGGATTGGAAACTGATTAGTTCCTTTAATATTAGGAGCTCCTGATAT  
GGCTTCCAGGAATAAATAAGATTTTGGTTCCTCCCCCTCATTATTTTTTTATTTTGGTATATTAATAGATAATGGAGCTGGAAACAGGTTGGACAGTTTATCC  
TCCTCTCTGCCAATATTTCTCATATAGGAAAGGCTGTCGATTAAACAATTTCTCTCTCATTAGCTGGAATTTTCATCAATTTAGGGGCTGTGAATTTTATTCTACAAT  
TATTAATATACGCTTAAATTTTATAACTTGTATCAACTACCTTTATTTACTTGTATCAGTAATTTACCACAATTTTATTACTTCTTTTCATTACCTGTTTTAGCTGGCGCTAT  
TACTATACTCTAACAGATCGTAATATAACTTCTTTTTTGTATCCGGCTGGTGGGGGAGACCTATTTTATACCAACATTTATTT
```

2. *Dolophilodes commata* (Kobayashi, 1980) コンマタニガワトビケラ

【標本データ】RBK-12118, male, St. 28, 東京都西多摩郡檜原村数馬雨乞滝(南沢, 南秋川上流; 多摩川水系), 689 m, 20130619.

【注釈】DNA データベースで塩基配列を検索したところ Japan: Kinki, Nara, R. Kumano, Kami-Kitayama で採集された(*Dolophilodes commata* voucher 100FSI-0303)から得られた配列と 643 塩基中 641 (99%) 一致した。この高い相同性は分析された個体が同種である事を強く示唆している。

【図】図 8-15.

【塩基配列】

```
TTATATTTTGGAAATTTGAGCTAGAATACTAGGGCTTTCTTTAAGTCTTTAATTCGATTAGAACTAAGAATTCGCGATCATTAAATGGCAACGATCAAATCTTTAATTCAAAT  
GTTACAGCTCAGCCTTCATTATAATTTTTTTATAGTAATACCCATTATAATTTGGAGGGTTGGAAATGACTAGTTCTCTTATATTAGGAGCCCTGACATAGCTTTCCCT  
CGAATAAATAATATAAGATTCTGATTTTTACCCCATCGCTTTTTTTAATTTTTGGCATACTTATAGATAATGGAGCTGGAAGTGGGTGAACCGTTTACCCCACTCTCT  
GCAAATATTTCCACATAGGAAAGTCAGTAGATTTAACTATTTCTCTCTTCATTAGCTGGAATTTCTCAATTTAGGAGCTATTAATTTTACTACTACAAATTTAACATA  
CGATCTAACTACATAACCTTTGATCGAATACCTTTTTTGTGATCAGTAGGAATTAAGTCTATTTACTTCTCTCTCTTCTTCTTCTAGCAGGAGCTATTACCATCTT  
TTAACAGATCGAAATTTAATACATCATTTTTTGACCCTGCAGGTGGGGGAGATCCAATTTCTTTATCAACATTTATTT
```

3. *Dolophilodes japonica* (Banks, 1906) タニガワトビケラ

【標本データ】RBK-12005, male, 28, 東京都西多摩郡檜原村数馬雨乞滝(南沢, 南秋川上流; 多摩川水系), 689 m, 20130610. RBK-12019, male, 41, 東京都西多摩郡檜原村(北秋川源流小滝; 多摩川水系), 748 m, 20130620.

【注釈】DNA データベースで塩基配列を検索したところ北海道恵庭市で採集された (*Dolophilodes japonica* voucher 08JPCAD-133) から得られた配列と 658 塩基中 653 (99%) 完一致した。またブータンから採集された *Dolophilodes torrentis* voucher 08HMCAD-235 とは 657 塩基中 594 (90%) の相同性を示したが形態で明瞭に区別できる別種である。標本番号 12005 と標本番号 12019 は 1 塩基のみ異なっていた。今回 *Dolophilodes japonica* の塩基配列として DDBJ に初めて登録される。

【図】図 8-16.

【塩基配列】

```
AACTTTATATTTTATTTTGGAAATTTGAGCCAGAATATTTGGGTCTTTCCTTAAGTCTTTTAATTCGATTAGAATTAAGAATCCAGGATCTTAAATGGAAACGATCAAATTTT  
TAATTTCTATGTTACAGCTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTATAGTTATGCCATTATAATTTGGGGGATTCGGAAATGATTAGTTCTCTAATGTTGGGAGCTCCTGATAT  
AGCCTTCCCAGCAATAAATAATATAAGATTTTGATTTTACCACCTTCATTATTTTTTAATTTTGGTATACTTATAGACAATGGGGCAGGAACGGATGAACAGTTTACCC  
CCCCTTTCTGCTAATTTTACATATAGGGAAATCTGTAGATCTAACAATTTTTCTTTACATCTAGCTGGAATTTCTTCTATTTTAGGAGCAATTAATTTTATTACAACATAT  
TATTAATATACGTTCCAATTTTATAACCTTTGATCGCATACCTTTATTTGTTGATCAGTAGGATTTACCAGCAATCTTATTACTTCTATCTTTACCCGTATTAGCAGGAGCTAT  
TACTATATTATTAAGTATCGAAATTTAAATACATCATTTTTTCGACCCAGCCGGTGGAGGGATCTATTTTATACCAACACTTATTC
```

4. *Kisaura nozakii* (Kuhara, 1999) ノザキタニガワトビケラ

【標本データ】RBK-12014, male, St. 28, 東京都西多摩郡檜原村数馬雨乞滝(南沢, 南秋川上流; 多摩川水系), 689 m, 20130610.

【注釈】DNA データベースで塩基配列を検索したところ Taiwan: Yilan County, Yilan で採集された (*Kisaura* sp. n. RB TW1 voucher 08TWTRI-020) から得られた配列と 651 塩基中 582 (89%) の相同性を示したが、参照した配列は別種のものであろう。*Kisaura nozakii* の塩基配列として DDBJ に初めて登録される。

【図】図 8-17.

【塩基配列】

```
AACACTTTATTTTATTTTGGTATTGATCTAGAATATTAGGATTATCTTTAAGATTATTAATTCGCACAGAATTGAGAATACCTGGATCTTAAATGGTAATGATCAAATTTT  
TAATTTCTATCGTCACAGCTCATGCTTCATTATAATTTTTTTATAGTTATACCAATTATAATCGGAGGATTCGGTAATGATTAGTTCTCTTAAATATTAGGAGCCCCTGATAT  
AGCATTCCCAGCAATAAATAATATAAGTTTTGATTTCTACCCCTCATTATTTTTCTTATTTTGGAAACTTATAGATAATGGAGCTGGTACAGGTTGAACAGTATAACC  
CCCTCTTTCGCAATATTTCTCATATAGGAAAAGCCGTAGATTTAACTATTTCTCCCTCATATAGCAGGAATTTCTTCAATTTTAGGTGCCATTAATTTTATTACTACAAT  
TATTAATATACGTTCTAATTTTATAAGATTTGACCGTATACCTTTATTTGTTGATCTGTAGGAATTACAGCAATTTCTTTTATTATCTTTACCTGTATTAGCAGGAGCTAT  
TACTATATTATTAACCGACCGAAACTTAAATACTTCATTTTTTGTATCCAGCAGGAGGAGAGCCCAATTTTATATCAACATCTATTT
```

5. *Kisaura minakawai* Arefina, 2005 キサウラ属の一種 (和名なし)

【標本データ】RBK-12095, male, St. 28, 東京都西多摩郡檜原村数馬雨乞滝(南沢, 南秋川上流; 多摩川水系), 689 m, 20130619. RBK-12113, female, St. 28, 東京都西多摩郡檜原村数馬雨乞滝(南沢, 南秋川上流; 多摩川水系), 689 m, 20130619. RBK-12028, female, St. 25-1, 東京都西多摩郡檜原村南郷(南秋川; 多摩川水系), 362 m, 20130522.

【標本データ】DNA データベースで塩基配列を検索したところ北海道恵庭市漁川で採集された (*Kisaura minakawai* voucher 08JPCAD-141) から得られた配列と 658 塩基中

646 (98%) の相同性を示した。標本番号 RBK-12095、RBK-12113 の配列は完全に一致していたが、標本番号 RBK-12028 はこれらと 1 塩基置換が認められた。

【図】 図 8-18.

【塩基配列】

```
RBK-12095: TACTTTATATTTTATTTTGGTATTTGATCTAGAATACTTGGCTTATCTTTAAGAATACTTATTCGAACAGAATTAAGAATACCAGGTTTCATTAATTGAAATG
ATCAAATTTTAACTCTATTGTAACAGCTCATGCTTTTATTATAATTTTATAGTTATACCTATTATAATTGGAGGATTTGAAATGATTAGTGCCTCTGATACTCGGAG
CCCCAGATATAGCCTTCCCCGAATAAATAATATAAGATTCTGATTTCTCCACCATCATTATTTTCTTATTTTGGGATACTCATAGATAATGGTGCAGGAACGGGCTGAA
CTGTTACCCCTCTTCTCTAATATTCTCATATAGGAAAGGCAGTAGATTTAACTATTTTCTCTCATATAGCCGGTATTCTTCAATTCTCGGAGCTATTAATTCA
TTACAACAATTATAATACGATCAAATTTATAAGATTGATCGAATACCTTTATTTGTCTGATCTGTGGGCATCACAGCAATTTCTTCTTTTATCTTTACCGGATTAG
CGGGAGCTATTACTATACTATTAACATGATCGAAATCTAAATACATCATTCTTTGACCCAGCAGGAGGGGAGATCCTATTTTATACCAACATTTATTT
```

6. *Kisaura* sp. キサウラ属の一種

【標本データ】

RBK-12027, male, St. 25-1, 東京都西多摩郡檜原村南郷(南秋川；多摩川水系), 362 m, 20130522.

【注釈】 RBK-12027: DNA データベースで塩基配列を検索したところ北海道恵庭市で採集された (*Kisaura minakawai* voucher 08JPCAD-118) から得られた配列と 658 塩基中 645 (98%) の相同性を示した。ロシア沿海州から採集された *Kisaura aurscens* voucher 11TVCAD-034 とは 658 塩基中 589 (90%) の相同性を示したが、両種は形態で明瞭に区別できる別種である。本研究で扱った個体は *Kisaura minakawai* とは形態学的によく似た近縁種ではあるがいくつかの形態形質で両者は明瞭に区別でき、塩基配列には 19 塩基の置換が認められた。この種は未記載種 (新種) であると考えられる。

【図】 図 8-19.

【塩基配列】

```
RBK-12027_Kisaura_sp: TACTTTATATTTTATTTTGGTATTTGATCTAGAATACTTGGCTTATCTTTAAGAATGCTTATTCGAACGAATTAAGAATACCAGGTTTCATT
AATTGAAATGATCAAATTTTAACTCTATTGTAACAGCTCATGCTTTTATTATAATTTTATAGTTATACCTATTATAATTGGAGGATTTGAAATGATTAGTACCTCT
GATACTCGGAGCCAGATATAGCCTTCCCCGAATAAATAATATAAGATTCTGATTTCTCCACCATCATTATTTTCTTATTTTGGGATACTCATAGATAATGGTGCAGG
AACAGGCTGAAGTGTACCCCTCTTCTCTAATATTCTCATATAGGAAAGGCAGTAGATTTAACTATTTTCTCTCATATAGCTGGTATTCTTCAATTCTCGGAGC
TATTAATTCATTACAACAATTATAATACGATCAAATTTATAAGATTGATCGAATACCTTTATTTGTTGATCTGTGGGATTACAGCAATTTCTTCTTTTATCTTT
ACCAGTATTAGCAGGAGCTATTACTATACTATTAACATGATCGAAATCTAAATACATCATTCTTTGATCCAGCAGGAGGGGGGATCCTATTTTATACCAACATTTATTT
```

7. *Wormaldia fujinoensis* Kobayashi, 1980 フジノタニガワトビケラ

【標本データ】 RBK-12077, male, St. 41, 東京都西多摩郡檜原村(北秋川源流小滝；多摩川水系), 748 m, 20130620.

【注釈】 DNA データベースで塩基配列を検索したところ TUSA: Washington, North Cascades National Park, Newhalem で採集された (*Wormaldia anilla* voucher BIOUG02786-C04) から得られた配列と 617 塩基中 534 (87%) の相同性を示したが、両種は形態で明瞭に区別できる別種である。*Wormaldia fujinoensis* の塩基配列として DDBJ に初めて登録される。

【図】 図 8-20.

【塩基配列】

TGGTATTGATCTGGTATATTAGGATTATCTTTAAGTCTTCTAATCCGAAGTGAATTAAGAATCCAGGATCATTAAATGGTAATGACCAAACTCTCAATTCTATCGTTACTGC
TCATGCTTTTATTATAATTTTTTCATAGTTATACCCATTATAAATGGAGGATTCGGAATGATTAATCCCTAATATTAGGAGCTCCTGATATGGCATTCCCTCGAATAAA
TAACATAAGATTCTGATCCACCCCTCTTATTTTTTTAATTTTTGGAATACTAATAGATAGTGGAGCTGGTACTGGGTGAACAGTTTACCCCTTATCAAGAAATAT
TTCACATTTAGGTAAGCAGTAGATTTAACTATTTCTCTCCATATAGCAGGAATTCGTCATTTAGGAGCTAATTAATTTATCACCACAGTAATTAATATACGCACAAA
TTATATAACACTAGATCGAATACCTTTATTAATTTGATCTGTTTTAATTTACTGCAATTTACTCTTGTATCATTACCTGTATTAGCAGGAGCTATCACTATATTACTTACTGA
CCGAAACTTAAATACATCATTTCGACCCAGCAGGAGGAGACCAATCTTTATCAACACTTATTT

8. *Wormaldia* sp. J ヒメタニガワトビケラ属の一種

【標本データ】RBK-12006, male, St. 28, 東京都西多摩郡檜原村数馬雨乞滝(南沢, 南秋川上流; 多摩川水系), 689 m, 20130610.

【注釈】DNA データベースで塩基配列を検索したところ Austria: Austria inferior, Kogelsbach で採集された (*Wormaldia copiosa* voucher 07HMCAD-0344) から得られた配列と 658 塩基中 583 (89%) の相同性を示したが両種は形態で明瞭に区別できる別種である。*Wormaldia* sp. J の塩基配列として DDBJ に初めて登録される。

【図】図 8-21.

【塩基配列】

AACATTATACCTCATATTTGGAAGTCTGATCAGGAATACTAGGATTATCTTTAAGAATATTAATTCGAAGTGAATTAAGAATCCAGGATCTTTAATGGAAATGATCAAATTTT
CAATTCAATTGTAACAGCTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTATAGTAATACCTATTATAATGGAGGTTTGGAAATGACTAGTTCCTAATACTAGGAGCTCCAGACAT
AGCATTTCCTCGAATAAATAAATAAGATTTTGATTTTTACCCCATCATTATTTTTTTAATTTTTGGAATATTAATAGATAATGGAGCAGGAAGTGGATGAAGTGTATCC
CCCTCTCTAGAAATATCTCCATTTAGGAAAAGCAGTTGACCTAACAATTTTTCTACTCATATAGCAGGAATTTCTTATTCTAGGAGCAATTAATTTTATTACCACAGT
AATTAATATACGATCCCATTTATATCATTAGACCGAATACCTCTATTAGTCTGATCTGAATAAATTAATGCTATTTTATTATTATCTCTCCAGTTTTAGCGGGAGCCAT
TACTATATTATTAAGTACCGAAACCTAAATACATCATTTTTTGATCTGACAGGAGGGGAGATCCAATTTTATACCAACATCTTTTT

Psychomyiidae クダトビケラ科

1. *Psychomyia morisitai* Tsuda, 1942 モリシタクダトビケラ

【標本データ】RBK-12034, male, St. 25-1, 東京都西多摩郡檜原村南郷(南秋川; 多摩川水系), 362 m, 20130522.

【注釈】DNA データベースで塩基配列を検索したところ静岡県で採集された (*Psychomyia morisitai*) AB764095 から得られた配列と完全に一致した。他には北海道千歳市千歳川 voucher 08JPCAD-187、658 塩基中 630、阿寒町イベシベツ川 voucher 08JPCAD-189、630 塩基中 603 という相同率認められた。

【図】図 8-22.

【塩基配列】

AACTTTATATTTTATTTTTGGAATCTGAGCTAGTTAATTTGGAAGTCTCATTAAAGAATAATCATTGCAATTAAGAATTAAGAATCCAGGATCATTTTTAGGAAATGATCAAATTTA
TAATTCATTTGTTACTATTACGCTTTTATTATAATTTTTTTATAGTAATACCTGTTATAATGGAGGATTTGGAAATGATTAGTACCTTTAATATTAGGAGCTCCTGATAT
AGCATTTCCTCGAATAAATAAATAAGATTTTGATTTCTACCTCTCTATTTTTTTTTAATTTTCATCTATATTATAGATAAAGAGCAGGAAACAGGATGAACAGTTTACCC
ACCTTTATCTAATAATATATTTTATTTCAGGTAAGCTGTTGATTTTCAATTTTCTCTCTCATTAGCAGGAATCTCATCAATTTTAGGAGCAATCAATTTTATTACAATAT
TATTAACATAAAATTAAGAATAATTAATTTGATTTTACCTTTATTTGCTGATCAATTTGGAATTAACAGCTTTATTATTACTTTTATCATCATTACCAGTATTAGCTGGAGCTAT
TACTATATTATTAAGTACCGAAATTTAAATACTCATTTTTTGACCCAGCAGGAGGGGGGATCCTATTCTTTATCAACATTTATTT

Xiphocentronidae キブネクダトビケラ科

1. *Melanotrichia forficula* (Kobayashi, 1964) クロクダトビケラ

【標本データ】RBK-12061, male, St. 28, 東京都西多摩郡檜原村数馬雨乞滝(南沢, 南秋川上流; 多摩川水系), 689 m, 20130611. RBK-12062, male, St. 28, 東京都西多摩郡檜原村数馬雨乞滝(南沢, 南秋川上流; 多摩川水系), 689 m, 20130611.

【注釈】DNA データベースで塩基配列を検索したところ Costa Rica: Guanacaste, Area de Conservacion で採集された(*Xiphocentronidae* sp. BIOUG19725-B01) から得られた配列と 583 塩基中 488 (86%) の相同性を認めたが両種は形態で明瞭に区別できる別種である。*Melanotrichia forficula* の塩基配列として DDBJ に初めて登録される。

【図】図 8-23.

【塩基配列】

```
GGAACCTCCTTAAGAATAATTATTCGAATTGAATTGAGAAGCTCCCAATTCATTCTAGGAAACGATCAAATTTATAATTC AATTGTAACAATCCATGCCTTCGTTATAATTTTC
TTCATAGTAATACCTATTATAATCGGAGGATTTGGAAATTTGATTAGTTCCTTTAATACTTTTCAGCTCCTGATATAGCCTTCCCGAATAAATAATTTAAGATTTTGATTCTA
CCCCATCTCTTTCTTAATCTAGAAATTTATAGATTCAGAATAGGAACGGGATGAAGTGTATATCCTCCCTATCAAATAACCTTTCCATTCAGGAAAAGCCGTT
GATATCTCCATCTTCTCACTACATCTAGCAGGAGTATCGTCAATTTAGGGGCAATTAATTTTATCACCACAATTATTAACATAAAATTAATAAATATATCATTGATTCAATC
CCTCTATTCTGTGATCAGTAGGAATCACTGCTTATTACTTCTTCTATCACTACCAGTACTAGCCGGAGCAATTACTATACTTCTAAGTATCGAAACCTAAATACATCATT
TTTGATCCTAACGGGGGAGGAGATCCAATTTCTATATCAACATCTATTT
```

2. *Melanotrichia kibuneana* (Tsuda, 1942) キブネクダトビケラ

【標本データ】RBK-12004, male, St. 28, 東京都西多摩郡檜原村数馬雨乞滝(南沢, 南秋川上流; 多摩川水系), 689 m, 20130610.

【注釈】DNA データベースで塩基配列を検索したところ中国 (Guangdong, Ru-yuan County, Nan-ling, National Nature Preserve) で採集された(*Melanotrichia* sp. 09CNCAD-0081) から得られた配列と 648 塩基中 562 (87%) 一致した。参照した配列 *Melanotrichia* sp. の配列は別種のものであろう。*Melanotrichia kibuneana* の塩基配列として DDBJ に初めて登録される。

【図】図 8-24.

【塩基配列】

```
TTTTATTGGAATTTGATCAAGACTTATCGGAACCTCATTGAGTCTTATTATTCGAATTGAATTAAGAACCCCAACTCTTTT TAGGAAATGATCAAATTTATAATTTCTATT
GTTACAATTCACGCTTTTATTATAATTTCTTTATAGTTATACCTATCATAAATGGAGGATTCGGAAATGATTAGTTCCATTAATATTATCTGCCCGGATATAGCTTTCCCA
CGAATAAACAACCTAAGATTTTGATTCTACCTCCATCAATTTTATTCTTATCTCAAGTATATTTATAGACTCAAGAATAGGAAGTGGATGAAGTGTACCTCCCTCTCC
AATAATCTTTCCACTCAGGGAAGCTGTGATTTCAATTTCTCTCTCACTTAGCCGGAATTTCTTATTTTAGGAGCAATTAATTTTATTACTACCATCATTAAATATA
AAATTAATAAATATTTCAATTTGATTCAATCCCTCTATTTGTCTGATCAGTAGGAATTAAGTCTTTTATTACTTCTTTCTCTCCAGTTTATAGCAGGTGCTATTACCATACTA
TTAACGGATCGAAACCTCAATACATCTTTTTTTGATCCTAAACGGAGGAGGAGACCAATTTTATATCAACATCTATTC
```

Polycentropodidae イワトビケラ科

1. *Nyctiophylax kisoensis* (Tsuda, 1942) キソイワトビケラ

【標本データ】RBK-12017, male, St. 28, 東京都西多摩郡檜原村数馬 雨乞滝(南沢, 南秋川上流; 多摩川水系), 689 m, 20130610. RBK-12106, female, St. 28, 東京都西多摩郡檜原村数馬 雨乞滝(南沢, 南秋川上流; 多摩川水系), 689 m, 20130619.

RBK-12012, female, St. 28, 東京都西多摩郡檜原村数馬 雨乞滝(南沢, 南秋川上流; 多摩川水系), 689 m, 20130610. RBK-12011, female, St. 28, 東京都西多摩郡檜原村数馬

雨乞滝(南沢, 南秋川上流; 多摩川水系), 689 m, 20130610. RBK-12030, female, St. 25-1, 東京都西多摩郡檜原村南郷(南秋川; 多摩川水系), 362 m, 20130522.

【注釈】 DNA データベースで塩基配列を検索したところ Finland: Lapland, Ostrobothnia borealis で採集された (*Plectrocnemia conjuncta* voucher ARin-2014F075) から得られた配列と 662 塩基中 593 (90%) の相同性を示したが両種は形態で明瞭に区別できる別種である。今回 *Nyctiophylax kisoensis* の塩基配列として DDBJ に初めて登録される。

【図】 図 8-25-1, 図 8-25-2.

【塩基配列】

```
AACAATATATTTTCATTTTTGGAATCTGATCAAGATTAATTGGTACAACATTAAGATTAATAATCCGAATTGAATTAAGAACTTCAGGATCATTATAATAAATGACCAAAATTTA  
TAATTCGGTTGTAACCTTACATGCTTTCATTATAATTTTTTTATAAATTATACCCCTTAATAAATGGAGGATTTGGAAATGATTAGTTCCTTTAATAATTCAGCCCTGACAT  
AGCCTTCCCTCGAATAAATAAATAAGATTCTGATTATTACCCCTCAATTTCTTTTAATTTTCAGGAATATTTATAGATAATAGAGTAGGTACAGGTTGAACTGTATATCC  
CCCATTATCTAATAATATATTTTCACTCCGGAAAAGCAGTAGATATCTCAATTTTTCTCTACATCTTGCAAGAAATTCCTCAATCCTAGGAGCAATTAATTTTATTCAACAAT  
TATAAATATAAAAAATAAAAAATATCCATTAACATAATCCATTATTTGTTTGATCAATAAAAATTACTGCAATCTTACTTCTACTATCTCTCCGGTTTTAGCTGGAGCTAT  
TACTATATTATAACAGATCGAAATCTTAATACTTCATTTTTTGACCCAGCAGGAGGAGATCCTATTTTATACCAACATTTATTT
```

Arctopsychidae アミメシマトビケラ科

1. *Arctopsyche spinifera* Ulmer, 1907 アミメシマトビケラ

【標本データ】 RBK-11001, larva, St. 39, 山梨県甲州市一之瀬作場平(一之瀬川; 多摩川水系), 1317 m, 20120518. RBK-12074, male, St. 40, 山梨県甲州市一之瀬高橋 5(一之瀬川; 多摩川水系), 1357 m, 20130721.

【注釈】 DNA データベースで塩基配列を検索したところ最も似ていたものは沿海州ロシアで採集された *A. palpata* で 658 塩基中 582 (88%) が同じ配列であった。今回採集された材料からは、成虫と幼虫が完全に同じ配列であったことから成虫と幼虫の関係が遺伝子組成から明らかとなった。今回 *Arctopsyche spinifera* の塩基配列として DDBJ に初めて登録される。

【図】 図 8-26.

【塩基配列】

```
CTCCCTATATTTTCATTTTTGCGTTTATGATCAGGAATAAATGGATCATCAATAAGATTAATTTTCGAACTGAATTAAGAACTCCAGGAGATTAATTGGAAATGATCAGATTTA  
TAATGTAATTGTTACAGCTCATGCATTTGTGCATAATTTCTTTATAGTTATACCAATTATAAATGGGGGATTTGGAAATGATTAATTCCTCTAATAATAGGAGCTCCTGACAT  
AGCATTTCCTCGAATAAATAAATAAGGTTTTGACTGCTTCCCCCTCATTAAATTTCTAATTTTTAGAAAGATTAATTAATAATGGAGCAGGCACAGGGTGAACAGTTTACCC  
ACCCCTATCGTCCAATCTATCTCAGATAGGAAGATCTGTAGATTAACATTTTTCTCTACATTTAGCAGGAATTCATCAATTTTAGGAGCTATTAACCTCATTACAACAAT  
CTTTAATATAAAATTTAAAAATATAAACTTAGACCTAATACCTTTATTTGATGATCAGTTTAATTAATCTGCTGTATTACTTCTCTCTACCAGTACTAGCTGGAGCTAT  
TACAATATTACTAACTGACCGAAATATTAACACTTCATTTTTTGACCCAGCAGGAGGAGTGAACCAATTTCTATATCAACACCTATTT
```

Hydropsychidae シマトビケラ科

1. *Diplectrona* sp. ミヤマシマトビケラ属の一種

【標本データ】 RBK-11863, larva, St. 25-2, 東京都西多摩郡檜原村南郷矢沢(南秋川支流矢沢; 多摩川水系), 504 m, 20130523.

【注釈】 DNA データベースで塩基配列を検索したところ最も似ていたものは台湾で採集された *Diplectrona* sp. XZ TW1 voucher 08TWTRI-018 で 651 塩基中 569 (87%) が同

じ配列であった。参照した配列は別種のものであろう。*Diplectrona* 属の成虫の配列解読が望まれる。

【図】 図 8-27.

【塩基配列】

```
AACTCTATACTTCATTCTAGGAATTTGATCAGGCTGATTGGCTCATCATTAAAGACTAATCATTGAACTGAAGTTAGTAGACCAGGATCTTTATTGGAAACGATCAAATTTA  
TAATGTAATCGTTACAGCTCAGCCTTTTATTATAATTTTTTTATAGTTATACCCATTATAATCGGAGGGTTGGTAATTGATTAGTACCTTTATACTAGGATCTCCTGATAT  
AGCCTTCCCTCGTATAAATAATATAAGATTTTGATTCTCCCCCATCTTTGTCCTTACTGATCTCAAGAAGACTAATTAATTCAGGAGCAGGAACAGGATGAACAGTTATCC  
CCCTTTCCCTCAAATCTATCTCATTAGGATCATCCGTTGATCTAACTATTTCTCTTTCATCTCGCAGGAATCTCATCAATTCAGGAGCTGTAAATTTATCACTACCAT  
CCTAAATATAAAATTTTTTAACTTAAACTATGATATAATTCCTCTATTTGTTTGATCTGTTTAAATTACAGCAGTCTTCTACTTCTGCTCTTCTGTTTTAGCAGGAGCCAT  
CACCATGCTTTTAAACAGATCGAAACTTAAATACATCATTTTTTGACCTGCAGGAGGGGAGATCCAATTCTTACCAACACTTATTC
```

2. *Homoplectra* sp. シマトビケラ科の一種 (属名なし)

【標本データ】 RBK-12075, male, St. 41, 東京都西多摩郡檜原村(北秋川源流小滝; 多摩川水系), 748 m, 20130620.

【注釈】 DNA データベースで塩基配列を検索したところ USA: California, Mendocino, tributary to Burger Creek at Pear Pen Canyon, で採集された (*Homoplectra oaklandensis* voucher DERcc010) から得られた配列と 561 塩基中 656 (86%) の相同性を認めたが両種は形態で明瞭に区別できる別種である。今回採集されたこの個体は新属新種である事も視野にいれ検討を考えている。

【図】 図 8-28.

【塩基配列】

```
TACCTTATATTTTTATTGGAGTATGATCAGGATTGATCGGGTCTCTATAAGAATAATTATTGAACTGAATTAAGAACACCTGGATCTTTAATTGGAAATGATCAAATTTA  
TAATGTTATTGTTACTGCTCAGCATTTTATTATAATTTCTTTATAGTTATACCTATTATAATTGGAGGATTGGAAATGATTAGTGCCTTTAATATTAGGATCACCTGATAT  
AGCCTTCCACGAATGAATAATATAAGATTTTGATTCTACCCCATCTTTAATTTCTATTATCAAGAAGATTAATGAACTCAGGAGCTGGTACAGGATGAACAGTATATCC  
TCCCTATCTTCAAATCTATGCCATCTAGGTAGGCTGTTGATCTCACAATTTTTCTCTTCAATTAGCAGGAATTCATCTATTCTAGGAGCTATAATTTTATTACAACAT  
CCTAAACATAAAATTTAAACAATTTAAACTATGATATAATCCCCATTTGTTTGATCTGCTTAAATTAATCTGCTGACTTCTTTTATCTTTACCAGTATTAGCTGGAGCTAT  
TACTATGTTACTAACTGATCGAAATTTAAATACTTCTTTTTTCGACCCAGCAGGAGGGGAGATCCAATCTTGATATCAACACTTATTC
```

3. *Hydropsyche albicephala* Tanida, 1986 シロズシマトビケラ

【標本データ】 RBK-11883, larva, St. 24, 東京都西多摩郡檜原村倉掛白岩沢(倉掛川, 北秋川上流; 多摩川水系), 648 m, 20130522. RBK-12013, male, St. 28, 東京都西多摩郡檜原村数馬雨乞滝(南沢, 南秋川上流; 多摩川水系), 689 m, 20130610. RBK-11862, larva, St. 25-2, 東京都西多摩郡檜原村南郷矢沢(南秋川支流矢沢; 多摩川水系), 504 m, 20130523. RBK-12015, male, St. 28, 東京都西多摩郡檜原村数馬雨乞滝(南沢, 南秋川上流; 多摩川水系), 689 m, 20130610. RBK-12080, female, St. 40, 山梨県甲州市一之瀬高橋 5 (一之瀬川; 多摩川水系), 1357 m, 20130721. RBK-11848, larva, St. 21, 東京都西多摩郡檜原村藤原(北秋川; 多摩川水系), 487 m, 20130522.

【注釈】 DNA データベースで塩基配列を検索したところ北海道根室支庁で採集された (*Ceratopsyche albicephala* voucher 08JPCAD-503) から得られた配列と 658 塩基中 657 (99%)、浮島湿原(上川) voucher 08JPCAD-505、658 塩基中 656 (99%) 一致した。

Ceratopsyche は近年新しいシマトビケラ属の亜属として提唱されたもので十分にコンセンサスが得られていないためここでは *Hydropsyche* 属を用いた。地域間の遺伝子構造の変化に乏しい種であることが推測される。

【図】 図 8-29-1, 図 8-29-2.

【塩基配列】

```
ATATTTGGTATTTGATCAGGATTAATTGGATCTTCTTAAGTTTTATTATTTCGAATAGAATTAAGAACCCTGGAAGATTATTGGAAATGATCAAATTTATAATGTAATTGTT
ACATCTCATGCTTTCATCATAATTTTTTATAGTGATGCCATCATAATGGGGGATTGGAAATGATTAGTTCCTTAATATTGGGATCCCCAGACATGGCCTTTCCTCGA
ATAAATAATCTTAGATTTTGATTTCTTCCCCCTCTCATTTCCTTCTTTAAGAAGTATAACTAACTCTGGAGCCGGCACTGGTTGAACAGTTTACCCACCTTATCCTCA
AATCTATCCCATGCTGGAAGATCTGTAGATTTAACTATTTTTCTTTACACATAGCAGGAATTTCTCAATTTTAGGAGCTATTAATTTTATTCTACTATTATAAATATAAAA
TTTTAAAAATTTAAATTTGAAATAATTCCTCTATTTGCTGATCTATTTAATTACTGCTGTTTTACTTCTCTTTCATTACCTGTATTAGCAGGAGCTATCACCATACTTTTA
ACAGATCGAAATTTAAATACATCTTTTTTGACCCAGCTGGAGGGGGGATCCTATTTTATATCAACATTTATTT
```

4. *Hydropsyche orientalis* Martynov, 1934 ウルマーシマトビケラ

【標本データ】 RBK-12107, female, St. 28, 東京都西多摩郡檜原村数馬雨乞滝(南沢, 南秋川上流; 多摩川水系), 689 m, 20130619. RBK-12029, female, St. 25-1, 東京都西多摩郡檜原村南郷(南秋川; 多摩川水系), 362 m, 20130522. RBK-11854, larva, St. 7, 東京都あきる野市留原(秋川; 多摩川水系), 167 m, 20130522. RBK-12091, female, St. 28, 東京都西多摩郡檜原村数馬(南沢, 南秋川上流; 多摩川水系), 689 m, 20130619. RBK-12109, female, St. 28, 東京都西多摩郡檜原村数馬雨乞滝(南沢, 南秋川上流; 多摩川水系), 689 m, 20130619.

【注釈】 標本番号 RBK-11854: DNA データベースで塩基配列を検索したところ滋賀県朽木村で採集された(*Ceratopsyche orientalis* voucher 07CJCAD-003)から得られた配列と完全に一致した。他には北海道阿寒町 voucher 08JPCAD-525、恵庭市 voucher 08JPCAD-435 などで採集されたものとも 630 塩基中 629 が同じであった。標本番号 RBK-11854, RBK-12091, RBK-12109, RBK-12029 はすべて同じハプロタイプであった。これらと 2 塩基置換が認められた標本番号 RBK-12107: DNA データベースで塩基配列を検索したところ滋賀県朽木村で採集された(*Ceratopsyche orientalis* voucher 07CJCAD-0031)から得られた配列と完全に一致した。他には北海道阿寒町 voucher 08JPCAD-525、宗谷支庁 08JPCAD-440 などで採集されたものとも 640 塩基中 639 が同じであった。

【図】 図 8-30.

【塩基配列】

```
GGTATTTGATCTGGACTAGTAGGATCTTCACTAGTTTTATTATTTCGAATAGAAGTACTAGAACTCCTGGAAGATTATTGGAAATGATCAAATCTATAATGTAAGTTGTAACAGCT
CACGCTTTCATTATAATTTTTTATGTTTATACCCATCATAATCGGAGGATTCGGGAACTGACTCGTTCCCTAATACTGGGATCCCCAGATATGGCCTTCCCTCGAATAAAT
AACCTCAGGTTTTGGTTCTACCGCTTCCCTATTATTCCTCTTTAAGAAGAATAACTAATTCAGGAGCTGGAACAGGATGAAGCTGTTTACCCCTTACTTCTAATCTA
TCTCATGCTGGAAGATCAGTAGACTGACTATTTTTCTCTCCATATAGCAGGAATCTTCAATTTTGGGGCCATTAATTTTATCTCTACTATTATAAATATAAATTTAAA
AATTTAAATTTGAAATAATTCCTTATTGCTGATCAATCTAATTACTGCTGTATTATTACTTCTTCTTCCCTGCTGCTTAGCTGGAGCTATCACTATATTATAACAGAT
CGAAATTTAAACACATCTTTTTGACCCAGCGGGTGGAGGAGACCAATTTTATATCAACATTTATTT
```

5. *Hydropsyche* sp. 1 シマトビケラ属の一種

【標本データ】RBK-12079, female, St. 40, 山梨県甲州市一之瀬高橋 5(一之瀬川；多摩川水系), 1357 m, 20130721. RBK-12092, female, St. 28, 東京都西多摩郡檜原村数馬雨乞滝(南沢, 南秋川上流；多摩川水系), 689 m, 20130619.

【注釈】DNA データベースで塩基配列を検索したところ China: Inner Mongolia, 80 km NE from Xin Barag, Zuoqi で採集された (*Ceratopsyche kozhantschikovi* voucher 08HMCAD-194) から得られた配列と 652 塩基中 587 (90%) 一致した。 *Ceratopsyche kozhantschikovi* とは同属であるが形態で明瞭に区別できる別種である。

【図】 図 8-31.

【塩基配列】

```
TACCCTTTATTTTATATTCGGAATTTGATCTGGATTAGTAGGATCTTCATTAAGTTTTATTATTTCGAATAGAATTAAGAACTCCAGGAAGATTTATTGGAAACGATCAAATTTA  
TAATGTTATGTTACATCTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTATAGTAATACCAATTATAATTGGAGGATTTGGAAACTGATTAGTTCATTAATATTGGGATCTCCAGATAT  
AGCCTTTCCCGAATAAATAATCTTAGATTTTGATTTTTACCCCTTCATTAGTCTTTTCCTTTAAGAAGAATAACAAATTCAGGAGCAGGAAGTGGATGAACAGTTTATCC  
TCCTTTATCTTAATTTATCAGATGCAGGAAGATCCGTAGATCTTACTATTTTTTCCTTACATATAGCTGGAATTTCCCTCAATTTAGGGGCCATTAATTTTATTCTACTAT  
TATAAATATAAAATTTAAAAATTTAAATTTTGAATAATTCCTTTATTTGTTTGATCAATTCTAATTACTGCAGTATTACTTCTTATCTTACCAGTATTAGCTGGAGCCAT  
TACTATGCTTTAACTGATCGAAATTTAAATACTTCTTCTTTGATCCTGCAGGAGTGGGGATCCAATTTCTATATCAACATCTATTT
```

6. *Hydropsyche* sp. 2 シマトビケラ属の一種

【標本データ】RBK-12094, female, St. 28, 東京都西多摩郡檜原村数馬雨乞滝(南沢, 南秋川上流；多摩川水系), 689 m, 20130619. RBK-12108, female, St. 28, 東京都西多摩郡檜原村数馬(南沢, 南秋川上流；多摩川水系), 20130619

【注釈】DNA データベースで塩基配列を検索したところ Belgium: Limburg, Oostham で採集された (*Hydropsyche pellucidula* voucher UA-SG-TRICH-D12) から得られた配列と 635 塩基中 549 (86%) 一致した。 *Hydropsyche pellucidulai* とは同属であるが形態で明瞭に区別できる別種である。

【図】 図 8-32.

【塩基配列】

```
CTGATCTGGTTAGTTGGATCTTCCCTTAGATTTATTATTTCGAATAGAATTAAGAACTCCTGGTAGATTTATTGGTAATGATCAAATCTATAATGTTATTGTTACCTCTCATGC  
CTTTATTATAATTTTTTTTATGGTAATACCCATCATAATTGGAGGCTTCGGAAATGACTTGTTCCTCTAATACTAGGATCCCTGACATAGCTTTTCCCTCGCATAAATAATTT  
AAGATTTTGATTCCTACCTCCTCCCTTATATTCCTATTATTAAGAAGAATAACAAATTCAGGGGCAGGAACAGGATGAAGTGTACCACCCCTTTCTCAAACCTCTCTCA  
TGCAGGGAGATCAGTTGATTTAACTATTTTTCCCTCCATATAGCTGGAATCTCCTCTATTTAGGAGCAATTAATTTTATTCAACTATTATAAATATAAAATTTAAAAATTT  
AAATATGAAATAATCCCTATTGCTGATCTATTTAATTACAGCAGTCTTTTATTGTTATCACTCCAGTCCCGAGGAGCAATTACCATACTACTACTGACCGAAA  
CTTAAATACTTCTTTTTTGACCCCTGCTGGGGAGGAGACCAATTTTATACCAACATCTATTT
```

Lepidostomatidae カクツツトビケラ科

1. *Lepidostoma bipertitum* (Kobayashi, 1955) ヒロオカクツツトビケラ

【標本データ】RBK-12111, male, St. 28, 東京都西多摩郡檜原村数馬雨乞滝(南沢, 南秋川上流；多摩川水系), 689 m, 20130619.

【注釈】DNA データベースで塩基配列を検索したところ Taiwan: Yilan County, Yilan, 1 km W. of Mingchi で採集された (*Lepidostoma* sp. XZ TW1 voucher 08TWTRI-023) から得られた配列と 647 塩基中 596 (92%) 一致した。参照した voucher 08TWTRI-023 の配

列は別種のものであろう。今回 *Lepidostoma bipertitum* の塩基配列として DDBJ に初めて登録される。

【図】 図 8-33.

【塩基配列】

```
TTTATTTTGGTCTTTGATCAGGAATAGTTGGAACCTCATTAAAGAATAATCATTGGAACCTGAATTATCAACCCCAATCTTTAATTATAAATGATCAAATTTATAATGTTTAA  
GTTACAGCCCATGCTTTTATTATAATTTCTTTATAGTTATACCAATTATAATTGGAGGATTGGAAATGACTTGTACCCCTTATAATTGGAGCTCCTGACATAGCTTTCCCC  
CGAATAAATAATAAGATTTTGACTTTTACC GCCCTCACTAAATTTCTTTAATTAGATCAATTGTTGAAAGAGGAACCGGAACCTGGATGAACAGTGTATCCTCCTTTATCA  
GCTAATATTGCTCATGCAGGTAGTTCTGTAGATATCTCAATTTCTCCCTCATTAGCAGGAATTTCTCAATTTTAGGGGCTATTAACCTCATTCTACTTGTATTAATATG  
CGATCTCCTTTAATCTATTTAGATCGAATACCTTTATTTGTATGATCAGTAGCTATTACTGCTTACTCTTACTTTTATCTCTCTCTGTATTAGCAGGAGCTATTACCATACTT  
TTAACAGACCGAAATTTAATACATCATTTTTTGACCCCTCAGGGGGGAGACCCTATTTTATATCAACATCTATTT
```

2. *Lepidostoma japonicum* (Tsuda, 1936) コカクツツトビケラ

【標本データ】RBK-11998, male, St. 28, 東京都西多摩郡檜原村数馬雨乞滝（南沢，南秋川上流；多摩川水系），689 m, 20130619.

【注釈】DNA データベースで塩基配列を検索したところロシア沿海州で採集された (*Lepidostoma elongatum* voucher TVTRI0004) から得られた配列と 658 塩基中 594 (90%) 一致した。*Lepidostoma elongatum* とは形態で明瞭に区別できる別種である。今回 *Lepidostoma japonicum* の塩基配列として DDBJ に初めて登録される。

【図】 図 8-34.

【塩基配列】

```
AACAATTTATTTTATTTTGGAAATATGATCAGGAATAGTAGTACTTCATTAAAGAATAATTATTGGAACCTGAATTATCGACCCCTCAGTCATTATAAATGATCAAATTTA  
TAACGTTTTAGTAACAGCCCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTATAGTAATACCTATTATAATTGGAGGATTGGAAATGACTTGTCCCTTATAATCGGAGCTCCTGATAT  
AGCTTTCCCTCGAATAAATAATAAGATTTCTGATTATTACCCCTCTTTAAATTTCTTTAATTAGATCAATTGTAGAAAGAGGTACCGTACTGGATGAACAGTTTATCC  
CCCTCTATCAGCTAATATTGCTCATGCTGGAAGTTCAGTAGATATCTCTATTTTCTTTACATTTAGCAGGAATTTCTCTATTTTAGGAGCAATTAATTTTATTTCCACATG  
TATTAACATACGATCTCCCTAATTTATTAGATCGTATACCTCTTTTCGTTGATCGGTAGCTATTACCGCCCTACTTCTTCTCTCTCTCTCTGTATTAGCAGGAGCTAT  
TACTATACTTTTAAACAGATCGAAATTTAAATACTTCTTTCTTTGATCCTGCAGGAGGAGACCCAATTTTATCAACATCTATTT
```

3. *Lepidostoma kasugaense* (Tani, 1971) カスガクツツトビケラ

【標本データ】RBK-12020, male, St. 41, 東京都西多摩郡檜原村（北秋川源流小滝；多摩川水系），748 m, 20130620.

【注釈】DNA データベースで塩基配列を検索したところロシア沿海州で採集された (*Lepidostoma albardanum* voucher TVTRI0130) から得られた配列と 626 塩基中 562 (90%) の相同性を認めたが両種は形態で明瞭に区別できる別種である。今回 *Lepidostoma kasugaense* の塩基配列として DDBJ に初めて登録される。

【図】 図 8-35.

【塩基配列】

```
ATAGTCGGAACCTCTTTAAGAATAATTATTGCTACTGAATTATCAACCCCAATCCCTAATTTATAAATGATCAGATTTATAATGTTTTAGTTACAGCCCATGCTTTTATTATA  
ATTTCTTTATAGTTATACCTATCATAATCGGAGGATTGGAAATGACTTGTCCCTAATAATTGGAGCTCCTGATATAGCATTTCCCGAATAAATAATAAGATTTTGA  
CTTCTACCCCTCTTTAAATTTTTTATTAATTAGATCAATTGTAGAAAGAGGAACCTGGTACAGGATGAACCTGTTTACCCCTCTCTCTGCTAATATTGCACATGCGGGAAGT  
TCAGTAGACATTTCAATTTCTCTTACATTTAGCGGGGATTTCTCTATTTTAGGGCAATTAATTTTATTTCCACTTGCATTAATATACGATCTCCTTTAATTTATTTAGAT  
CGAATACCTTTATTTGTTGATCAGTAGCCATTACTGCACTACTTTACTTCTTCTCTACCTGTTTAGCAGGAGCTATTACTATACTTTAACAGATCGAAATCTAAATACT  
TCATTTTTGATCCATCAGGAGGGGAGATCCTATTCTTTACCAACATTTATTT
```

Goeridae ニンギョウトビケラ科

1. *Goera japonica* Banks, 1906 ニンギョウトビケラ

【標本データ】RBK-12016, male, St. 28, 東京都西多摩郡檜原村数馬雨乞滝（南沢, 南秋川上流；多摩川水系), 689 m, 20130610. RBK-12100, male, St. 28, 東京都西多摩郡檜原村数馬雨乞滝（南沢, 南秋川上流；多摩川水系), 689 m, . 20130619. RBK-12112, male, St. 28, 東京都西多摩郡檜原村数馬雨乞滝（南沢, 南秋川上流；多摩川水系), 689 m, 20130619.

【注釈】DNA データベースで塩基配列を検索したところ北海道恵庭市で採集された (*Goera japonica* voucher 08JPCAD-044) から得られた配列と 658 塩基中 657 (99%) 一致した。また同じく恵庭市から採集された *Goera japonica* voucher 08JPCAD-047 とは 658 塩基中 642 (98%) の相同性を示した。

【図】 図 8-36.

【塩基配列】

```
AACAATTTATTTTATTTTGGTATTTGATCAGGAATAGTAGGAACATCTTTAAGAATAATTATTCGAAGTGAATTAAGAAGTATTGAATCTTTAATTAATAAATGACCAAATTTA  
TAATGTTTTACTTACAGCTCATGCTTTTATTATAATTTCTTTATAGTTATACCTATTATAATGGAGGATTCGGAAATGATTAGTTCCTTTAATAATGGAGCCCCGATAT  
AGCTTTCCTCGAATAAATAACATAAGATTTTGATTCTTACCCCTCATTAATTTTATTAATTAGATCTTTAGTAGAAAGAGGGACAGGAACGGGTTGAACAGTGTACCC  
CCCGTATCTAGAAATTTAGCTCATGCTGGAAGATCAGTAGATATTTCTATTTTAGATTACATTTAGCAGGAATTTCTTATTCTAGGAGCTATTAATTTTATTCTACTAC  
ATTAATATACGAAGAAATTTAATTTCTTAGACCGTATTTCTTTATTTGTATGATCAGTAATAATTACCGATTACTTTTATTACTATCTTTACCTGTCCTAGCAGGAGCTAT  
TACAATATTATTAACCGATCGTAATTTAAATACTTCATTTTGTACCCAGCAGGAGGGGAGACCAATTTTATACCAACATTTATTT
```

Leptoceridae ヒゲナガトビケラ科

1. *Mystacides azureus* (Linnaeus, 1761) アオヒゲナガトビケラ

【標本データ】RBK-12086, male, St. 40, 山梨県甲州市一之瀬高橋 5 (一之瀬川；多摩川水系), 1357 m, 20130721.

【注釈】DNA データベースで塩基配列を検索したところ Primorsky Krai, Artyom vicinity, Small reservoir Ozernye Kluchi で採集された (*Mystacides dentatus* voucher TVTRI0165) から得られた配列と 658 塩基中 650 (99%) 一致した。バーコード領域塩基配列 99% の高い相同性は同一種を強く示唆する物である。今回私が解析に使用した材料は雄個体であり、形態分類における同定には問題がないものとする。一方、*Mystacides dentatus* voucher TVTRI0165 は同定ステージが雌成虫であり誤同定が示唆される。*Mystacides azureus* で遺伝子登録されたデータを参照すると Iraq: Sulaymaniyah, Sulaymaniyah District, Sarchnar Subdistrict, Delezha Stream で採集され、John Morse さんが同定された個体 (*Mystacides azureus* voucher 12IQTRA-0020) から得られた配列と 658 塩基中 630 (96%) 一致した。相同性 96% も低い値ではなく同種であることを示唆する。結論としては DNA データベース *Mystacides dentatus* voucher TVTRI0165 は *Mystacides azureus* の誤同定であると考えられる。

【図】 図 8-37.

【塩基配列】

AACTTTATATTTATTTTGGAAATTTGATCTGGTTATTAGGAACATCTCTTAGGATTCTAATTCGAACTGAATTAAGAATACCTAATTCCTTAATTAATAATGATCAAATTTA
TAATACTTTAGTAAGTCTCATGCTTTATTATAATTTTTTTATAGTAATACCCATTATAATGGTGGATTGGCAATTGATTAGTCCCATTAATAATGGTGCCCCAGATAT
AGCATTCCACGAATAAATAACATAAGATTTTGACTTCTCTCCATCCTTAAATTTTTTACTATTAAGAAGGTTAGTTGAAAGAGGAACAGGAAGCTGGTTGAAGTGTACCC
TCCTCTTGCAAGAAATATTGCTCATATGGGAAATCTGTTGATTATCAATTTTTCTTTACATATAGCTGGCATTCTCTATTTTAGGAGCTATAATTTTACTACTTG
TATAAATATAAAATTTAAGAATAAAATAGACCAATTACCTTTATTGTATGATCTGTTATAATTACAGCTTTATTATTACTTTTCATTGCCAGTATTAGCAGGAGCTAT
TACTATATTATTAACAGATCGAAATTTAAATACATCATTTTTTGACCCAGCAGGAGGTGGTATCCTATTCTTTATCAACATTTATTT

2. *Setodes shirasensis* Kobayashi, 1984 シラセトトビケラ

【標本データ】RBK-12105, male, St. 28, 東京都西多摩郡檜原村数馬雨乞滝（南沢，南秋川上流；多摩川水系），689 m, 20130619.

【注釈】DNA データベースで塩基配列を検索したところ Sweden: Vastra Gotaland, V. Goetaland, Oeresjoen at Hyttenaes で採集された (*Setodes argentipunctellus* voucher ARin-2012F221) から得られた配列と 660 塩基中 596 (90%) 一致した。 *Setodes argentipunctellus* とは同属であるが形態で明瞭に区別できる別種である。今回 *Setodes shirasensis* の塩基配列として DDBJ に初めて登録される。

【図】図 8-38.

【塩基配列】

AACTTTATATTTATTTTGGGATTTGATCAGGTCTTTAGGAACCTCCTTAAGAATTATTATTCGAAACAGAATTAAGAATACCTAGATCACTTATTAATAATGACCAAATTTA
TAATACGTTAGTAACAGCTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTATAGTAATACCTATTATAATCGGAGGATTGGAAATGATTAATCCCTTAATAATGGAGCGCCAGATAT
AGCCTTTCCACGAATAAATAATATAAGATTTTGATTACTTCTCCCTCATTAAATTTTTTACTACTAAGAAGACTTATTGAAAGAGGAACCGGAAGCTGGTTGAACAGTTTACCC
ACCATTAGCTAGAAATATTGCTCATATGGGAAATCAGTTGATTATCAATTTTTCTTTACATATAGCAGGAATCTCATCTATTTTAGGAGCTATAACTTTATTACAACCTG
TTAAATATAAACTTAAATAATTAACCTAGATCAATTACCATTATTCGATGATCAGTAATAATTACAGCTTTATTATTACTTTTATCTTTACCTGTTTAGCAGGAGCTAT
TACAATATTATTAACCGATCGAAATTTAAATACTTCTTTTTTTGATCCTGCTGGAGGAGGATCCCATTTTATACCAACATTTATTT

Odontoceridae フトヒゲトビケラ科

1. *Psilotreta kisoensis* Iwata, 1928 フタスジキソトビケラ

【標本データ】RBK-11997, male, St. 28, 東京都西多摩郡檜原村数馬雨乞滝（南沢，南秋川上流；多摩川水系），689 m, 20130619. RBK-12003, male, St. 28, 東京都西多摩郡檜原村数馬雨乞滝（南沢，南秋川上流；多摩川水系），689 m, 20130610.

【注釈】DNA データベースで塩基配列を検索したところロシア沿海州で採集された (*Psilotreta falcula* voucher TVTRI0017) から得られた配列と 649 塩基中 587 (90%) 一致した。 *Psilotreta falcula* とは形態で明瞭に区別できる別種である。今回 *Psilotreta kisoensis* の塩基配列として DDBJ に初めて登録される。

【図】図 8-39.

【塩基配列】

TTTTATTTTGGAAATTTGAGCCAGAATATTGGGAACTCTTTAAGATTATTAATTCGATTAGAATTAAGATCTACCGGATCATTAAATTAATAATGATCAAATTTATAACCTT
AGTGACCGCCCATGCCCTTATCATAATTTTTTCATAGTTATACCAATCATAATGGAGGATTGGAACTGACTTGTACCTTTAATACTAGGCGCCCTGACATAGCCTTCCC
TCGTATAAATAATATGAGTTTTGACTTCTGCCCTTCTTTGAATTTCTTTTATTAGAAGAATAATCGAAATGGAGCAGGAAGCTGGATGAACAGTTTACCCGCCTTTATC
TAGAAATATCGCTCATGCAGGAGCTCAGTTGATTAAACAATTTTTCTCTTCATTTAGCGGGAATCTCCTCAATTTTAGTGCTATTAATTTTATTTCCACTATTATAAATAT
ACGATCTCATTAACTCTAGATCGAATTCCTTTATTCGTTGATCAGTAATAATTACAGCAATCCTTCTACTTCTTTCCACTTCCAGTTCTTGAGGAGCAATTACTATACT
TTAACTGATCGAAATATAAATACATCTTTTTTTGACCTGTGGAGGAGGGACCAATTTTATACCAACATTTATTT

Sericostomatidae ケトビケラ科

1. *Gumaga orientalis* (Martynov, 1935) グマガトビケラ属の一種

【標本データ】 RBK-12067, male, St. 28, 東京都西多摩郡檜原村数馬雨乞滝(南沢, 南秋川上流; 多摩川水系), 689 m, 20130611.

【注釈】 DNA データベースで塩基配列を検索したところスウェーデンのチームが解析した(*Gumaga okinawaensis* voucher NHRS:DP5) から得られた配列と 662 塩基中 582 (88%) の相同性を認めた。*Gumaga* 属は形態的の違いが微少であるので、遺伝子の変異を使用した分類学的再検討が望まれる。今回 *Gumaga orientalis* の塩基配列として DDBJ に初めて登録される。

【図】 図 8-40.

【塩基配列】

```
AACACTTACTTTTTATTGGATTATGAGCAGGTATAATTGGATCATCTTAAAGATTATTAATTCGAATTGAATTAAGAACACCTGATTCATTAATTAATAATGATCAAATTTA  
CAATGTTCTTGTAACAGCCCATGCTTTTATTATAATTTCTTTATAGTAATACCAATTATAATTGGAGGATTGGAAATTGATTAGTCCATTAATACTAGGAGCTCCAGATAT  
AGCATTCCCGAATAAATAAATAAGATTTGATTACTTCCTCCTTTAAATTTATTATTATTAGAAGAATAGTAGAAAGAGGAACAGGAAGCTGGATGAACAGTTTACCC  
CCCTTTATCTAGTAATCTAGCTCATACTGGATCATCAGTAGATTTATCAATTTTTCATTACATTTAGCTGGAATTCATCAATTTTAGGAGCTATTAATTTATTACAACAAT  
AATAAATATACGTTTCATTAGGAATATCTTATGATCGAATACCTTTATTTGCTTGATCAGTTCTTATTACAGCAGTTCTATTACTTCTTTCTTTACCTGTATTAGCAGGTGCTAT  
TACTATACTTTAACAGATCGAAATTTAAACACCTCATTTTTTGACCCGCTGGAGGGGAGACCCTATTTTATATCAACATTTATTT
```


第4章 総括

多摩川水系 30 地点から採集された 96 個体のヒゲナガカワトビケラ属昆虫について遺伝子解析（ミトコンドリア DNA, C01 領域）を行ったところ以下の事が明らかとなった。

1) 多摩川水系に分布するヒゲナガカワトビケラは、遺伝子からみると大きく 4 つの集団として認識することができた。

2) 多摩川のほぼ全域から出現し、他の遺伝子系統を圧倒していたのは先行研究で「CladeVIII」としていた日本列島(北海道から九州)まで分布していた集団であった。

3) 先行研究で「CladeVI」とされていた本州中央構造線の東から東北中部まで分布する遺伝子系統は、多摩川水系では中流部に局地的に出現し個体数も少なかった。

4) 多摩川水系源流部では「CladeIV」「CladeIII」が出現した。これらは先行研究でも河川上流部にみられる遺伝子系統であり、両系統は本州中央構造線の東西で分布域が異なるとされていたが、本研究では「CladeIII」が従来考えられていた分布域を飛び越えて出現し、「CladeIV」と同所的に出現した場所もあった。多摩川水系は地理的に本州中央構造線に比較的近い事もあり「CladeIII」の個体は偶然飛来したものに由来したものである可能性があるが、非常に近縁な「CladeIV」と「CladeIII」がどのような生殖的隔離機構を持つのか注目される。

5) 「CladeVIII」と「CladeVI」は塩基配列の置換率から推測して、多摩川に生息する「CladeIV」と「CladeIII」といった遺伝子系統よりも相対的に似通った歴史的背景を背負っているものと考えられた。

6) これまでヒゲナガカワトビケラは均一な集団であると考えられてきた。しかし水系全体で考えるとその内部には大きな遺伝的な多様性があることが明らかになった。今後はヒゲナガカワトビケラのようなレッドデータブックに種名が記載される様な種ではなくても内部の遺伝子構造にまで踏み込んで環境影響評価などを行う必要が生じるであろう。

7) 多摩川水系に生息するトビケラ目昆虫について遺伝子解析（ミトコンドリア C01:バーコード領域）を行った。解析できた種類はナガレトビケラ科 9 種、カワリナガレトビケラ科 1 種、ヤマトビケラ科 3 種、カワトビケラ科 8 種、クダトビケラ科 1 種、キブネクダトビケラ科 2 種、イワトビケラ科 1 種、アミメシマトビケラ科 1 種、シマトビケラ科 6 種、カクツツトビケラ科 3 種、ニンギョウトビケラ科 1 種、ヒゲナガトビケラ科 2 種、フトヒゲトビケラ科 1 種、ケトビケラ科 1 種で計 14 科 40 種であった。

8) 遺伝子解析した 40 種のうちすでに DNA データベース (DDBJ) に種名で登録されていたのは 16 種（この中には分類学的な問題や明らかな誤同定種を含む）であったが今回の研究で少なくとも新たに 24 種登録される。これらの遺伝子データは今後の研

究者が多摩川の水生昆虫を知ろうとした折りに、大きな手助けになることが期待される。これからも多くの水生昆虫の遺伝子が解析され、形態形質を解析する標本資料と合わせて共有化されることにより、新たな研究が進展する事を望む。

引用文献

- Césard, N., Komatsu S., Iwata A. 2015. Processing insect abundance: trading and fishing of *zazamushi* in central Japan (Nagano Prefecture, Honshū Island). *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 11: 78 (1-20). DOI 10.1186/s13002-015-0066-7
- Frankham, R., J. D. Ballou, and D. A. Briscoe. 2002. *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge University Press, New York.
- Gonzalez, M. A., Baraloto, C., Engel, J., Mori, S. A., Petronelli, P., Riera, B., Roger, A., Thebaud, C. and Chave, J. 2009. Identification of Amazonian trees with DNA barcodes. *PLOS ONE*, 4, e7483.
- Hebert P. D. N., Cywinska A., Ball S. L. and deWaard J.R. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceeding of Biological Sciences*, 270(1512): 313-321.
- Holzenthal, Ralph W., Blahnik, Roger J., Prather, Aysha L., Kjer, Karl M. 2007. Order Trichoptera Kirby, 1813 (Insecta), caddisflies. *Zootaxa* 1668: 639-698.
- Jinbo, U., Kato, T. and Ito, M. 2011. Current progress in DNA barcoding and future implications for entomology. *Entomological Sciences* 14: 107-124.
- Meier, R. 2008. DNA sequences in taxonomy: Opportunities and challenges. *In Wheeler, Q. D. ed.: The New Taxonomy*, CRC Press, Boca Raton, 95-127.
- Morse, J.C. 2017. Trichoptera World Checklist. Available from <http://entweb.clemson.edu/database/trichopt/index.htm>(accessed 31 October 2017).
- 西村登. 1987. ヒゲナガカワトビケラ (日本の昆虫9) . 文一総合出版.
- Oba Y., Ôhira H., Murase Y., Moriyama A. and Kumazawa Y. 2015. DNA barcoding of Japanese click beetles (Coleoptera, Elateridae). *PLOS ONE* 10(4): e0124857.

- Rubinoff, D. 2006. Utility of mitochondrial DNA barcodes in species conservation. *Conservation Biology* 20: 1026-1033.
- 齋藤梨絵・東城幸治. 2016. 「ハビタット・ジェネラリスト種」ヒゲナガカワトビケラにおける隠れた遺伝的多様性：分子系統地理とハビタット特性. *昆虫と自然* 51(2):20-23.
- Schmid, F. 1969. La famille des Stenopsychides (Trichoptera). *Canadian Entomologist*, 101, 187-224.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M. and Kumar, S. 2011. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol. Biol. Evol.*, 28, 2731-2739.
- Templeton A.R, Crandall K. A. and Charles F. S. 1992. A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data. III. Cladogram estimation. *Genetics* 132:619-633.
- 東城幸治・加藤慎也・齋藤梨絵. 2017. 「ざざむし」の主要昆虫であるヒゲナガカワトビケラの系統地理：ハビタット・ジェネラリスト種における隠れた遺伝的多様性. *昆虫DNA研究会ニュースレター* 26: 21-29.
- 津田松苗. 1959. 川の底棲動物の現存量をめぐる諸問題，特に造網型昆虫の重要性について. *陸水学雑誌* 20: 86-92.
- World Wildlife Fund (WWF). 1989. The Importance of Biological Diversity. WWF. Gland, Switzerland.
- Zhou, X., Frandsen P.B., Holzenthal R.W., Beet C.R., Bennett K.R., Blahnik R.J., Bonada N., Cartwright D., Chuluunat S., Cocks G.V., Collins G.E., deWaard J., Dean J., Flint Jr.O.S., Hausmann A., Hendrich L., Hess M., Hogg I.D., Kondratieff B.C., Malicky H., Milton M.A., Morinière J., Morse, J.C., Mwangi F.N., Pauls S.U., Gonzalez M.R., Rinne A., Robinson J.L., Salokannel J.,

Shackleton, B. Smith, A. Stamatakis, R. StClair, Thomas J.A., Carmen Zamora-Muñoz M., Ziesmann T., and Kjer.K.M. 2016. The Trichoptera barcode initiative: A strategy for generating a species-level Tree of Life. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 371: 20160025. <http://dx.doi.org/10.1098/rstb2016.0025>

謝辞

本研究の遂行にあたり佐土哲也さんには遺伝子解析、土井学さんには現地調査と標本整理、倉西知子さんには現地調査、嶋本習介さんには全遺伝子の抽出、楡引颯太さんには図の作製、斎藤梨絵さんにはヒゲナガカワトビケラの参照データの提供、後藤亮さんには遺伝子データ解析、加賀谷隆さんには調査地点の選定等で大変お世話になった。ここに記して感謝の意を表する。

図の説明

図 1. 調査地点（多摩川水系）

図 2. 調査地点の景観

図 3. 遺伝子解析の方法（採集したサンプルからの遺伝子の抽出、解析までの一連の操作）

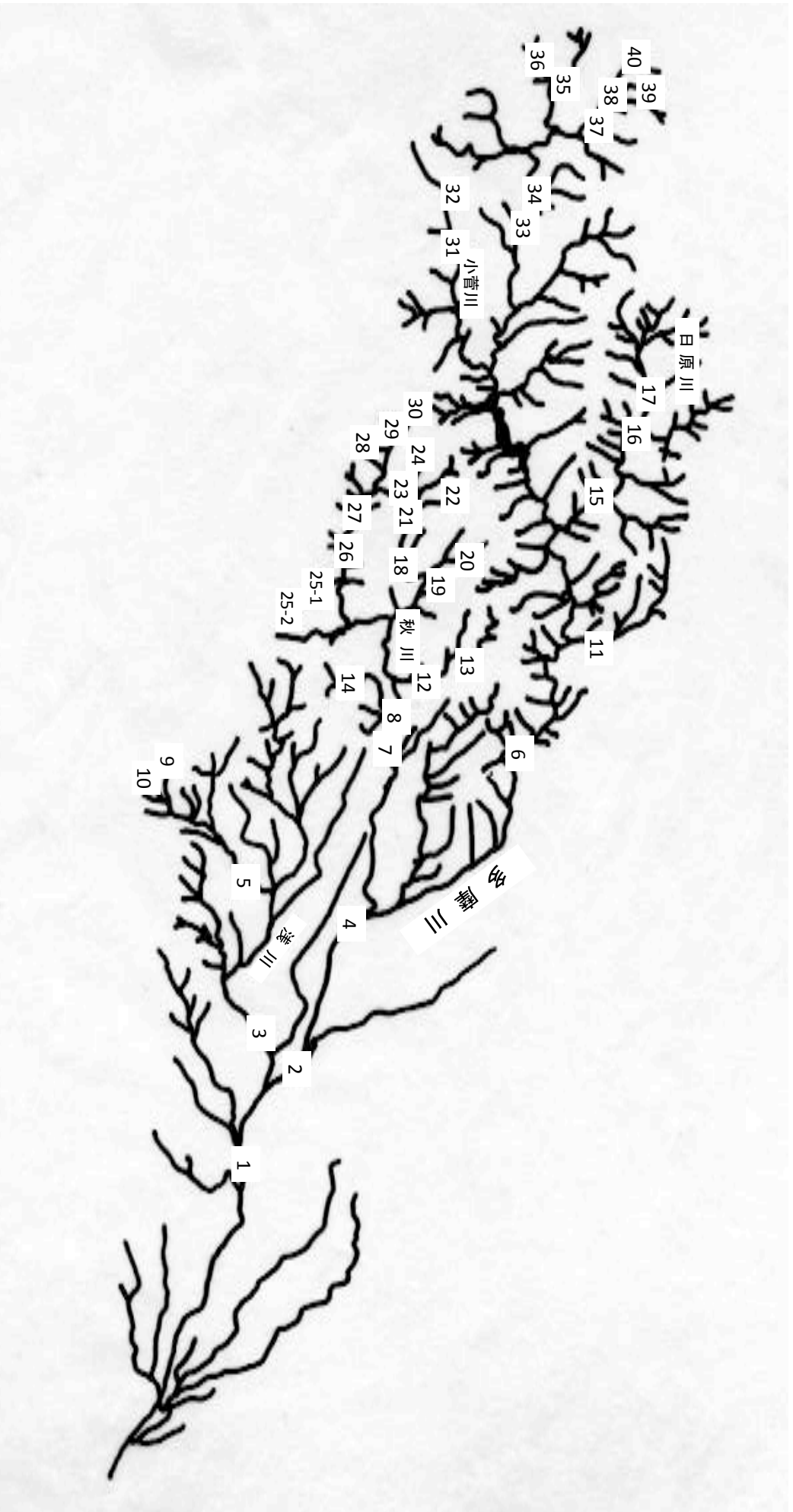
図 4. 多摩川水系で採集されたヒゲナガカワトビケラのミトコンドリア DNA CO1 領域（630bp）の塩基配列に基づく分子系統樹（全国各地で採集された参照データを含めて近隣接合法で解析）

図 5. ヒゲナガカワトビケラの分布域全体（日本とその周辺）ミトコンドリア DNA CO1 領域（636bp）の塩基配列に基づく最尤法で作製された分子系統樹（東城ら 2017 より引用）本文中 Clade はこの図のものが該当する

図 6. 各 Clade を形成したヒゲナガカワトビケラの地理的分布図（斎藤・東城 2016 を引用・一部改変）

図 7. 多摩川水系で採集されたヒゲナガカワトビケラのミトコンドリア DNA CO1 領域にみられたハプロタイプのネットワーク。Statistical Parsimony Network (SPN) を PopART (Leigh and Bryant, 2015) を用いて作製

図 8. 遺伝子解析を行った多摩川水系で採集されたトビケラ目昆虫の証拠標本





St. 3



St. 4



St. 5



St. 7



St. 8



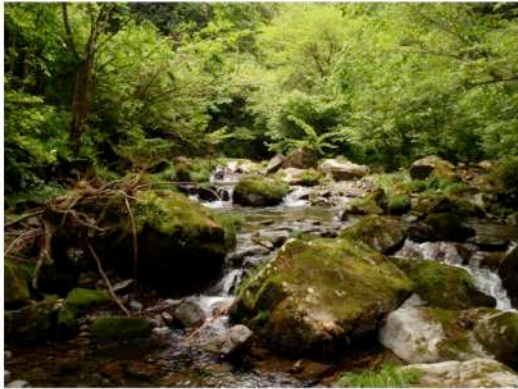
St. 9



St. 10



St. 11



St. 13



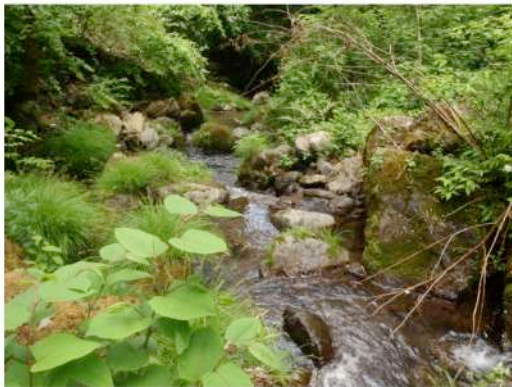
St. 15



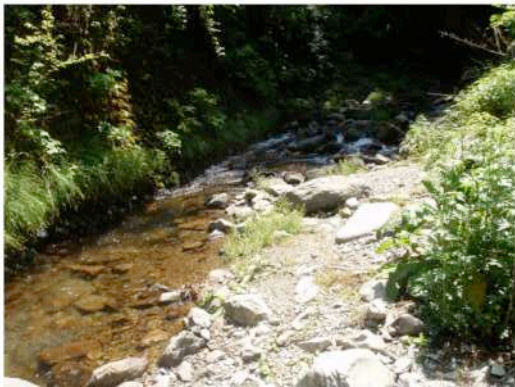
St. 17



St. 19



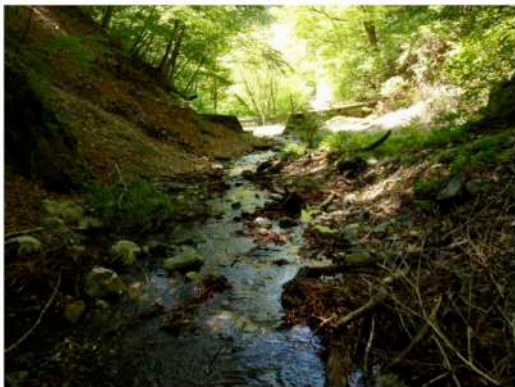
St.22



St. 29



St. 31



St. 32



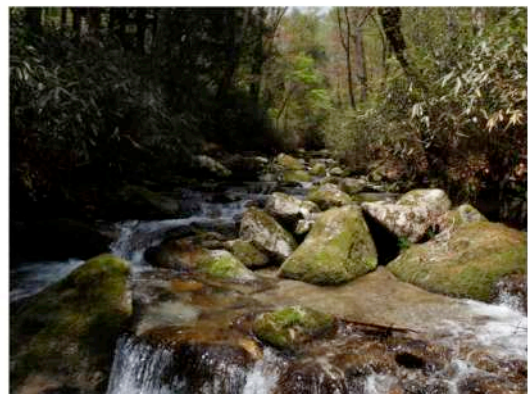
St. 34



St. 36



St. 38



St. 39

表1. 多摩川水系 調査地点

地点略号	地名	河川名:水系	採集年月日	調査地点緯度経度	標高
St.1	東京都府中市小柳町	多摩川;多摩川水系	20121103	35.651306,139.501444	33 m
St.2	東京都日野市石田	多摩川;多摩川水系	20121103	35.678965,139.420688	63 m
St.3	東京都日野市川辺堀之内 高幡橋そば 駒形公園	浅川;多摩川水系	20120528	35.665856,139.403307	71 m
St.4	東京都昭島市拝島町 拝島橋	多摩川;多摩川水系	20120528	35.704199,139.339406	96 m
St.5	東京都八王子市並木町 横山橋	南浅川;多摩川水系	20120528	35.653056,139.300278	144 m
St.6	東京都青梅市友田町	多摩川;多摩川水系	20121103	35.761331,139.297049	128 m
St.7	東京都あきる野市留原	秋川;多摩川水系	20130522	35.722563,139.225252	167 m
St.7	東京都あきる野市留原	秋川;多摩川水系	20130611	35.722563,139.225252	167 m
St.8	東京都あきる野市小中野 秋川溪谷	秋川;多摩川水系	20120520	35.726389,139.216111	178 m
St.9	東京都八王子市南浅川町 案内川 狭霧橋	案内川(浅川上流);多摩川水系	20120528	35.616959,139.251645	255 m
St.10	東京都八王子市南浅川町 中沢川	中沢川(浅川上流);多摩川水系	20120528	35.612808,139.254134	259 m
St.11	東京都西多摩郡奥多摩町大丹波	大丹波川;多摩川水系	20121114	35.844859,139.153379	373 m
St.12	東京都あきる野市養沢	養沢川;多摩川水系	20120519	35.746112,139.185255	281 m
St.13	東京都あきる野市養沢(養沢鍾乳洞付近)	養沢川;多摩川水系	20120520	35.768644,139.166372	426 m
St.14	東京都あきる野市戸倉 盆堀川	盆堀川(秋川上流);多摩川水系	20130522	35.711308,139.184740	291 m
St.15	東京都西多摩郡奥多摩町水川1	日原川;多摩川水系	20121114	35.822285,139.081657	400 m
St.16	東京都西多摩郡奥多摩町水川2	日原川;多摩川水系	20121114	35.848518,139.035523	579 m
St.17	東京都西多摩郡奥多摩町日原	日原川;多摩川水系	20121114	35.850987,139.028742	629 m
St.18	東京都西多摩郡檜原村小沢	北秋川;多摩川水系	20130522	35.735557,139.124959	337 m
St.19	東京都檜原村神戸	秋川上流(神戸川);多摩川水系	20120520	35.747500,139.120000	359 m
St.20	東京都檜原村神戸岩	秋川上流(赤井沢);多摩川水系	20120520	35.754749,139.112470	417 m
St.21	東京都西多摩郡檜原村藤原	北秋川;多摩川水系	20130522	35.740000,139.082222	487 m
St.22	東京都西多摩郡檜原村藤原惣角沢	惣角沢(北秋川上流);多摩川水系	20130522	35.750500,139.080198	583 m
St.23	東京都西多摩郡檜原村倉掛	倉掛川(北秋川上流);多摩川水系	20130522	35.737996,139.065349	608 m
St.24	東京都西多摩郡檜原村倉掛白岩沢	倉掛川(北秋川上流);多摩川水系	20130522	35.739633,139.060371	648 m
St.25-1	東京都西多摩郡檜原村南郷	南秋川;多摩川水系	20130522	35.703363,139.129679	362 m
St.25-2	東京都西多摩郡檜原村南郷矢沢	南秋川支流矢沢;多摩川水系	20130523	35.685324,139.137922	504 m
St.26	東京都西多摩郡檜原村南郷下川乗	南秋川;多摩川水系	20130611	35.704477,139.121713	381 m
St.27	東京都西多摩郡檜原村南郷 上川乗	南秋川;多摩川水系	20130523	35.702074,139.111483	398 m
St.28	東京都西多摩郡檜原村数馬 雨乞滝	南沢(南秋川上流);多摩川水系	20130610	35.722513,139.049214	689 m
St.28	東京都西多摩郡檜原村数馬 雨乞滝 LT	南沢(南秋川上流);多摩川水系	20130610	35.722513,139.049214	689 m
St.28	東京都西多摩郡檜原村数馬 雨乞滝 SW	南沢(南秋川上流);多摩川水系	20130611	35.722513,139.049214	689 m
St.28	東京都西多摩郡檜原村数馬 雨乞滝	南沢(南秋川上流);多摩川水系	20130619	35.722513,139.049214	689 m
St.29	東京都西多摩郡檜原村数馬 九頭竜神社そば	南秋川;多摩川水系	20130523	35.726569,139.043891	696 m
St.30	東京都西多摩郡檜原村数馬 夢の滝	三頭沢;多摩川水系	20130610	35.732691,139.039660	793 m
St.31	山梨県北都留郡小菅村川久保	小菅川;多摩川水系	20120519	35.761389,138.936667	663 m
St.32	山梨県北都留郡小菅村白糸の滝(細流)	小菅川支流;多摩川水系	20120519	35.755306,138.902485	853 m
St.33	山梨県北都留郡丹波山村奥秋1	丹波川;多摩川水系	20130609	35.792376,138.913012	619 m
St.34	山梨県北都留郡丹波山村奥秋2	丹波川;多摩川水系	20120518	35.792249,138.913858	617 m
St.35	山梨県甲州市藤尾	高橋川;多摩川水系	20120518	35.805580,138.827212	1111 m
St.35	山梨県甲州市塩山一之瀬高橋3	高橋川;多摩川水系	20130609	35.815882,138.820345	1192 m
St.36	山梨県甲州市落合	多摩川(源流部);多摩川水系	20120518	35.797778,138.813056	1208 m
St.36	山梨県甲州市塩山一之瀬高橋1	多摩川(源流部);多摩川水系	20130609	35.798271,138.815796	1190 m
St.36	山梨県甲州市塩山一之瀬高橋2	多摩川(源流部);多摩川水系	20130609	35.803695,138.825644	1124 m
St.37	山梨県甲州市塩山二之瀬	一之瀬川;多摩川水系	20130609	35.827844,138.848892	1094 m
St.38	山梨県甲州市塩山一之瀬高橋	高橋川;多摩川水系	20120518	35.816125,138.820517	1194 m
St.39	山梨県甲州市一之瀬作場平	一之瀬川;多摩川水系	20120518	35.837525,138.822191	1317 m
St.39	山梨県甲州市塩山一之瀬高橋4	中川;多摩川水系	20130609	35.841978,138.830817	1348 m
St.40	山梨県甲州市一之瀬高橋5	一之瀬川;多摩川水系	20120518	35.842256,138.830516	1357 m
St.40	山梨県甲州市一之瀬高橋5 LT	一之瀬川;多摩川水系	20130721	35.842256,138.830516	1357 m

表2. ヒゲナガカワトビケラ科昆虫遺伝子解析個体データ

地点番号	標本番号	種名	調査地点地名	標高 (m)	採集年月日
St. 3	11956	Stenopsyche marmorata	日野市川辺堀之内	71	20120528
St. 3	11957	Stenopsyche marmorata	日野市川辺堀之内	71	20120528
St. 3	11958	Stenopsyche marmorata	東京都日野市川辺堀之内 高幡橋そば 駒形公園	71	20120528
St. 3	11959	Stenopsyche marmorata	東京都日野市川辺堀之内 高幡橋そば 駒形公園	71	20120528
St. 3	11960	Stenopsyche marmorata	東京都日野市川辺堀之内 高幡橋そば 駒形公園	71	20120528
St. 3	11961	Stenopsyche marmorata	東京都日野市川辺堀之内 高幡橋そば 駒形公園	71	20120528
St. 4	11946	Stenopsyche marmorata	東京都昭島市拝島町 拝島橋	96	20120528
St. 4	11947	Stenopsyche marmorata	東京都昭島市拝島町 拝島橋	96	20120528
St. 4	11948	Stenopsyche marmorata	東京都昭島市拝島町 拝島橋	96	20120528
St. 4	11949	Stenopsyche marmorata	東京都昭島市拝島町 拝島橋	96	20120528
St. 4	11950	Stenopsyche marmorata	東京都昭島市拝島町 拝島橋	96	20120528
St. 4	11951	Stenopsyche marmorata	東京都昭島市拝島町 拝島橋	96	20120528
St. 5	11953	Stenopsyche marmorata	東京都八王子市並木町 横山橋	144	20120528
St. 5	11954	Stenopsyche marmorata	東京都八王子市並木町 横山橋	144	20120528
St. 6	11940	Stenopsyche marmorata	東京都青梅市友田町	128	20121103
St. 6	11941	Stenopsyche marmorata	東京都青梅市友田町	128	20121103
St. 6	11942	Stenopsyche marmorata	東京都青梅市友田町	128	20121103
St. 6	11943	Stenopsyche marmorata	東京都青梅市友田町	128	20121103
St. 6	11944	Stenopsyche marmorata	東京都青梅市友田町	128	20121103
St. 7	11850	Stenopsyche marmorata	東京都あきる野市留原	167	20130522
St. 7	11851	Stenopsyche marmorata	東京都あきる野市留原	167	20130522
St. 8	11985	Stenopsyche marmorata	東京都あきる野市小中野 秋川溪谷	178	20120520
St. 9	11966	Stenopsyche marmorata	東京都八王子市南浅川町 案内川 狭霧橋	255	20120528
St. 9	11967	Stenopsyche marmorata	東京都八王子市南浅川町 案内川 狭霧橋	255	20120528
St. 10	11935	Stenopsyche marmorata	東京都八王子市南浅川町 中沢川	259	20120528
St. 10	11936	Stenopsyche marmorata	東京都八王子市南浅川町 中沢川	259	20120528
St. 10	11937	Stenopsyche marmorata	東京都八王子市南浅川町 中沢川	259	20120528
St. 10	11938	Stenopsyche marmorata	東京都八王子市南浅川町 中沢川	259	20120528
St. 11	11981	Stenopsyche marmorata	東京都西多摩郡奥多摩町大丹波	373	20121114
St. 11	11982	Stenopsyche marmorata	東京都西多摩郡奥多摩町大丹波	373	20121114
St. 12	12070	Stenopsyche marmorata	東京都あきる野市養沢	281	20120519
St. 12	12071	Stenopsyche marmorata	東京都あきる野市養沢	281	20120519
St. 13	11041	Stenopsyche marmorata	東京都あきる野市養沢(養沢鍾乳洞付近)	426	20120520
St. 13	11042	Stenopsyche marmorata	東京都あきる野市養沢(養沢鍾乳洞付近)	426	20120520
St. 13	11045	Stenopsyche marmorata	あきる野市養沢	281	20120520
St. 14	11891	Stenopsyche marmorata	東京都あきる野市戸倉 盆堀川	291	20130522
St. 14	11892	Stenopsyche marmorata	東京都あきる野市戸倉 盆堀川	291	20130522
St. 14	11893	Stenopsyche marmorata	東京都あきる野市戸倉 盆堀川	291	20130522
St. 16	11975	Stenopsyche marmorata	東京都西多摩郡奥多摩町氷川2	579	20121114
St. 17	11971	Stenopsyche marmorata	東京都西多摩郡奥多摩町日原	629	20121114
St. 17	11972	Stenopsyche marmorata	東京都西多摩郡奥多摩町日原	629	20121114
St. 17	11973	Stenopsyche marmorata	東京都西多摩郡奥多摩町日原	629	20121114
St. 18	11869	Stenopsyche marmorata	東京都西多摩郡檜原村小沢	337	20130522
St. 18	11870	Stenopsyche marmorata	東京都西多摩郡檜原村小沢	337	20130522
St. 19	11049	Stenopsyche marmorata	東京都檜原村神戸	359	20120520
St. 19	11050	Stenopsyche marmorata	東京都檜原村神戸	359	20120520
St. 19	11055	Stenopsyche marmorata	東京都檜原村神戸	359	20120520
St. 19	11057	Stenopsyche marmorata	東京都檜原村神戸	359	20120520
St. 19	11051	Stenopsyche marmorata	檜原村神戸	359	20120520
St. 19	11056	Stenopsyche marmorata	檜原村神戸	359	20120520
St. 21	11888	Stenopsyche marmorata	東京都西多摩郡檜原村藤原	487	20130522

表2. ヒゲナガカワトビケラ科昆虫遺伝子解析個体データ

St. 21	11889	<i>Stenopsyche marmorata</i>	東京都西多摩郡檜原村藤原	487	20130522
St. 21	11890	<i>Stenopsyche marmorata</i>	東京都西多摩郡檜原村藤原	487	20130522
St. 21	11846	<i>Stenopsyche marmorata</i>	東京都西多摩郡檜原村藤原	487	20130522
St. 21	11847	<i>Stenopsyche marmorata</i>	東京都西多摩郡檜原村藤原	487	20130522
St. 23	11884	<i>Stenopsyche marmorata</i>	東京都西多摩郡檜原村倉掛	608	20130522
St. 23	11885	<i>Stenopsyche marmorata</i>	東京都西多摩郡檜原村倉掛	608	20130522
St. 24	11879	<i>Stenopsyche marmorata</i>	東京都西多摩郡檜原村倉掛白岩沢	648	20130522
St. 24	11880	<i>Stenopsyche marmorata</i>	東京都西多摩郡檜原村倉掛白岩沢	648	20130522
St. 24	11881	<i>Stenopsyche marmorata</i>	東京都西多摩郡檜原村倉掛白岩沢	648	20130522
St. 24	11882	<i>Stenopsyche marmorata</i>	東京都西多摩郡檜原村倉掛白岩沢	648	20130522
St. 25-1	11855	<i>Stenopsyche marmorata</i>	東京都西多摩郡檜原村南郷	362	20130523
St. 25-1	11856	<i>Stenopsyche marmorata</i>	東京都西多摩郡檜原村南郷	362	20130523
St. 25-1	11857	<i>Stenopsyche marmorata</i>	東京都西多摩郡檜原村南郷	362	20130523
St. 25-2	11859	<i>Stenopsyche marmorata</i>	東京都西多摩郡檜原村南郷矢沢	504	20130523
St. 25-2	11860	<i>Stenopsyche marmorata</i>	東京都西多摩郡檜原村南郷矢沢	504	20130523
St. 25-2	11861	<i>Stenopsyche marmorata</i>	東京都西多摩郡檜原村南郷矢沢	504	20130523
St. 26	11926	<i>Stenopsyche marmorata</i>	東京都西多摩郡檜原村南郷下川乗	381	20130611
St. 26	11927	<i>Stenopsyche marmorata</i>	東京都西多摩郡檜原村南郷下川乗	381	20130611
St. 26	11928	<i>Stenopsyche marmorata</i>	東京都西多摩郡檜原村南郷下川乗	381	20130611
St. 26	11929	<i>Stenopsyche marmorata</i>	東京都西多摩郡檜原村南郷下川乗	381	20130611
St. 27	11864	<i>Stenopsyche marmorata</i>	東京都西多摩郡檜原村南郷上川乗	398	20130523
St. 27	11865	<i>Stenopsyche marmorata</i>	東京都西多摩郡檜原村南郷上川乗	398	20130523
St. 29	11874	<i>Stenopsyche marmorata</i>	東京都西多摩郡檜原村数馬 九頭竜神社	696	20130523
St. 29	11875	<i>Stenopsyche marmorata</i>	東京都西多摩郡檜原村数馬 九頭竜神社	696	20130523
St. 29	11876	<i>Stenopsyche marmorata</i>	東京都西多摩郡檜原村数馬 九頭竜神社	696	20130523
St. 30	11901	<i>Stenopsyche marmorata</i>	東京都西多摩郡檜原村数馬 夢の滝	793	20130610
St. 30	11902	<i>Stenopsyche marmorata</i>	東京都西多摩郡檜原村数馬 夢の滝	793	20130610
St. 30	11903	<i>Stenopsyche marmorata</i>	東京都西多摩郡檜原村数馬 夢の滝	793	20130610
St. 30	11904	<i>Stenopsyche marmorata</i>	東京都西多摩郡檜原村数馬 夢の滝	793	20130610
St. 30	11905	<i>Stenopsyche marmorata</i>	東京都西多摩郡檜原村数馬 夢の滝	793	20130610
St. 30	11907	<i>Stenopsyche marmorata</i>	東京都西多摩郡檜原村数馬 夢の滝	793	20130610
St. 30	11908	<i>Stenopsyche marmorata</i>	東京都西多摩郡檜原村数馬 夢の滝	793	20130610
St. 30	11909	<i>Stenopsyche marmorata</i>	東京都西多摩郡檜原村数馬 夢の滝	793	20130610
St. 30	11910	<i>Stenopsyche marmorata</i>	東京都西多摩郡檜原村数馬 夢の滝	793	20130610
St. 31	11028	<i>Stenopsyche marmorata</i>	山梨県北都留郡小菅村川久保	663	20120519
St. 31	11029	<i>Stenopsyche marmorata</i>	小菅村川久保	663	20120519
St. 31	11031	<i>Stenopsyche marmorata</i>	小菅村川久保	663	20120519
St. 34	11932	<i>Stenopsyche sauteri</i>	山梨県北都留郡丹波山村奥秋2	617	20120518
St. 36	11894	<i>Stenopsyche marmorata</i>	山梨県甲州市落合	1124	20130609
St. 36	11895	<i>Stenopsyche marmorata</i>	山梨県甲州市落合	1124	20130609
St. 36	11896	<i>Stenopsyche marmorata</i>	山梨県甲州市落合	1124	20130609
St. 36	11922	<i>Stenopsyche marmorata</i>	山梨県甲州市塩山一之瀬高橋1	1208	20130609
St. 39	11917	<i>Stenopsyche marmorata</i>	山梨県甲州市塩山一之瀬高橋4	1348	20130609
St. 39	11918	<i>Stenopsyche marmorata</i>	山梨県甲州市塩山一之瀬高橋4	1348	20130609
St. 40	12073	<i>Stenopsyche marmorata</i>	山梨県甲州市一之瀬高橋5	1357	20130721

表3. 多摩川水系のヒゲナガカワトビケラのミトコンドリアのCO1領域のハプロタイプ一覧

hap_1 = 47	hap_2 = 16
St.8_11985_Akikawaikoku_178m	St.3_11956_Hachiojishi_MinamiAsakawa_144m
St.9_11966_Annaigawa_Minamiasakawa_255m	St.3_11957_Hachiojishi_MinamiAsakawa_144m
St.9_11967_Annaigawa_Minamiasakawa_255m	St.3_11958_Hachiojishi_MinamiAsakawa_144m
St.10_11936_Nakazawagawa_259m	St.3_11959_Hachiojishi_MinamiAsakawa_144m
St.10_11938_Nakazawagawa_259m	St.3_11960_Hachiojishi_MinamiAsakawa_144m
St.11_11981_Ootanbagawa_373m	St.3_11961_Hachiojishi_MinamiAsakawa_144m
St.11_11982_Ootanbagawa_373m	St.4_11946_Akishimashi_Hajjima_128m
St.13_11042_Youzawakawa2_426m	St.4_11949_Akishimashi_Hajjima_128m
St.13_11045_Youzawakawa_426m	St.4_11950_Akishimashi_Hajjima_128m
St.14_11891_Bonborigawa_291m	St.5_11953_Hachiojishi_MinamiAsakawa_144m
St.14_11892_Bonborigawa_291m	St.5_11954_Hachiojishi_MinamiAsakawa_144m
St.14_11893_Bonborigawa_291m	St.6_11941_OumeshiTomoda_128m
St.16_11975_Nippara_Hikawa2_579m	St.7_11851_Akikawa_Kotohara_167m
St.17_11971_Nipparagawa_629m	St.12_12070_Youzawakawa1_281m
St.17_11973_Nipparagawa_629m	St.12_12071_Youzawakawa1_281m
St.18_11869_Kitaakikawa_337m	St.26_11929_MinamiakikawaShimokawanori_381m
St.19_11049_Kanotogawa_359m	
St.19_11050_Kanotogawa_359m	hap_3 = 4
St.19_11055_Kanotogawa_359m	St.4_11947_Akishimashi_Hajjima_128m
St.19_11056_Kanotogawa_359m	St.4_11951_Akishimashi_Hajjima_128m
St.19_11057_Kanotogawa_359m	St.6_11942_OumeshiTomoda_128m
St.21_11846_Kitaakikawa2_487m	St.7_11850_Akikawa_Kotohara_167m
St.21_11847_Kitaakikawa2_487m	
St.21_11888_Kitaakikawa2_487m	hap_4 = 4
St.21_11889_Kitaakikawa2_487m	St.23_11884_Kurakakekawa2_608m
St.23_11885_Kurakakekawa2_608m	St.25-1_11859_Yazawa_504m
St.24_11880_Kurakakekawa1_648m	St.30_11901_MizusawaYumenotaki_793m
St.24_11881_Kurakakekawa1_648m	St.36_11896_IchinoseTakahashi2_1124m
St.24_11882_Kurakakekawa1_648m	
St.25-1_11855_Minamiakikawa_362m	hap_5 = 3
St.25-1_11856_Minamiakikawa_362m	St.36_11894_IchinoseTakahashi2_1124m
St.25-1_11857_Minamiakikawa_362m	St.39_11917_IchinoseTakahashi4_1348m
St.25-1_11860_Yazawa_504m	St.39_11918_IchinoseTakahashi4_1348m
St.26_11927_MinamiakikawaShimokawanori_381m	
St.26_11928_MinamiakikawaShimokawanori_381m	hap_6 = 1
St.27_11864_Minamiakikawa_398m	St.4_11948_Akishimashi_Hajjima_128m
St.29_11876_Minamiakikawa_696m	
St.30_11902_MizusawaYumenotaki_793m	hap_7 = 1
St.30_11903_MizusawaYumenotaki_793m	St.6_11940_OumeshiTomoda_128m
St.30_11904_MizusawaYumenotaki_793m	
St.30_11905_MizusawaYumenotaki_793m	hap_8 = 1
St.30_11907_MizusawaYumenotaki_793m	St.6_11943_OumeshiTomoda_128m
St.30_11908_MizusawaYumenotaki_793m	
St.30_11909_MizusawaYumenotaki_793m	hap_9 = 1
St.31_11028_Kosugekawa_663m	St.6_11944_OumeshiTomoda_128m
St.31_11029_Kosugekawa_663m	
St.31_11031_Kosugekawa_663m	hap_10 = 1
	St.10_11937_Nakazawagawa_259m
	hap_11 = 1
	St.17_11972_Nipparagawa_629m
	hap_12 = 1
	St.24_11879_Kurakakekawa1_648m
	hap_13 = 1
	St.26_11926_MinamiakikawaShimokawanori_381m
	hap_14 = 1
	St.29_11875_Minamiakikawa_696m
	hap_15 = 1
	St.36_11918_IchinoseTakahashi2_1124m
	hap_16 = 1
	St.40_12073_IchinoseTakahashi5_1357m

表4. 多摩川水系各調査地点ごとのヒゲナガカワトビケラのミトコンドリアCO1領域ハプロタイプ出現頻度

Hachiojishi_MinamiAsakawa_st3	Individuals = 6	Haplotypes = 1
hap_2	6	1

Akishimashi_Hajima_st4	Individuals = 6	Haplotypes = 3
hap_2	3	0.5
hap_3	2	0.33
hap_6	1	0.17

Hachiojishi_MinamiAsakawa_st5	Individuals = 2	Haplotypes = 1
hap_2	2	1

OumeshiTomoda_st6	Individuals = 5	Haplotypes = 5
hap_2	1	0.2
hap_3	1	0.2
hap_7	1	0.2
hap_8	1	0.2
hap_9	1	0.2

Akikawa_Kotohara_st7	Individuals = 2	Haplotypes = 2
hap_2	1	0.5
hap_3	1	0.5

Akikawakeikoku_st8	Individuals = 1	Haplotypes = 1
hap_1	1	1

Annaigawa_Minamiasakawa_st9	Individuals = 2	Haplotypes = 1
hap_1	2	1

Nakazawagawa_st10	Individuals = 3	Haplotypes = 2
hap_1	2	0.67
hap_10	1	0.33

Ootanbagawa_st11	Individuals = 2	Haplotypes = 1
hap_1	2	1

Youzawakawa1_st12	Individuals = 2	Haplotypes = 1
hap_2	2	1

Youzawakawa2_st13	Individuals = 2	Haplotypes = 1
hap_1	2	1

Bonborigawa_st14	Individuals = 3	Haplotypes = 1
hap_1	3	1

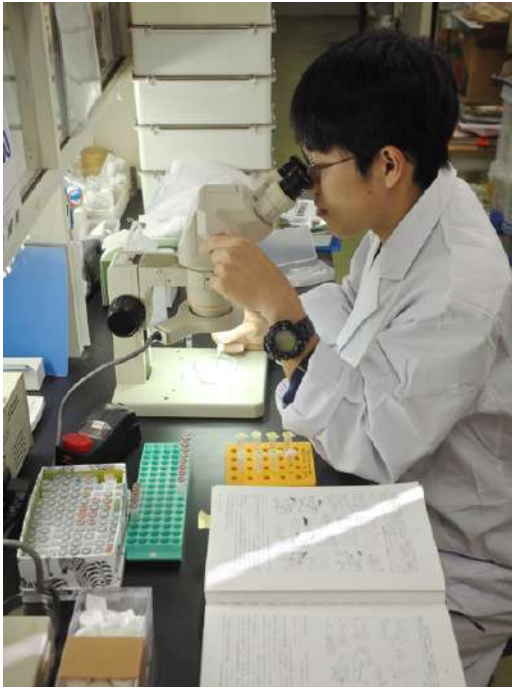
Nippara_Hikawa_st16	Individuals = 1	Haplotypes = 1
hap_1	1	1

Nipparagawa_st17	Individuals = 3	Haplotypes = 2
hap_1	2	0.67
hap_11	1	0.33

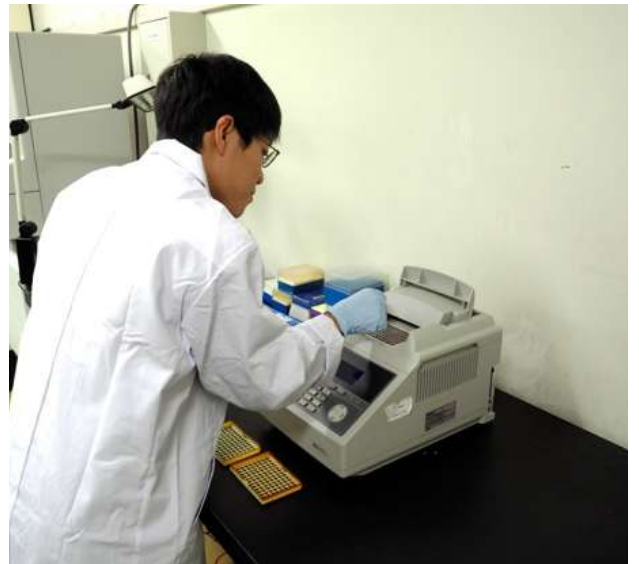
Kitaakikawa_st18	Individuals = 1	Haplotypes = 1
hap_1	1	1

表4. 多摩川水系各調査地点ごとのヒゲナガカワトビケラのミトコンドリアCO1領域ハプロタイプ出現頻度

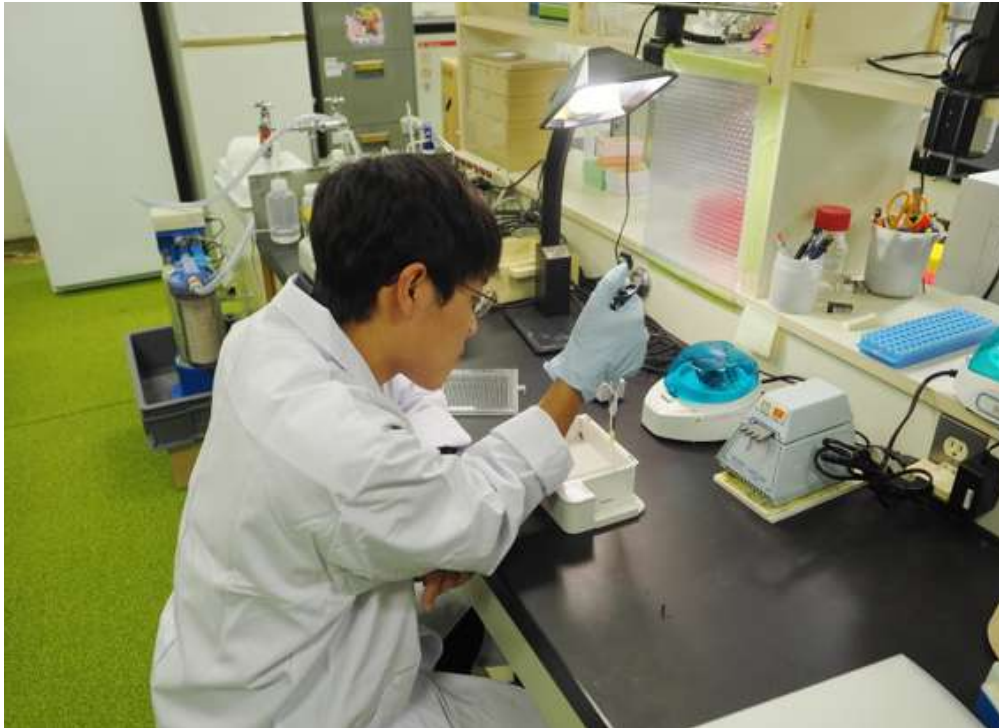
Kanotogawa_st19	Individuals = 5	Haplotypes = 1
hap_1	5	1
Kitaakikawa2_st21	Individuals = 4	Haplotypes = 1
hap_1	4	1
Kurakakekawa2_st23	Individuals = 2	Haplotypes = 2
hap_1	1	0.5
hap_4	1	0.5
Kurakakekawa1_st24	Individuals = 4	Haplotypes = 2
hap_1	3	0.75
hap_12	1	0.25
Minamiakikawa_st25_1	Individuals = 5	Haplotypes = 2
hap_1	4	0.8
hap_4	1	0.2
MinamiakikawaShimokawanori_st26	Individuals = 4	Haplotypes = 3
hap_1	2	0.5
hap_2	1	0.25
hap_13	1	0.25
Minamiakikawa_st27	Individuals = 1	Haplotypes = 1
hap_1	1	1
Minamiakikawa_st29	Individuals = 2	Haplotypes = 2
hap_1	1	0.5
hap_14	1	0.5
MizusawaYumenotaki_st30	Individuals = 8	Haplotypes = 2
hap_1	7	0.88
hap_4	1	0.13
Kosugekawa_st31	Individuals = 3	Haplotypes = 1
hap_1	3	1
IchinoseTakahashi2_st36	Individuals = 3	Haplotypes = 3
hap_4	1	0.33
hap_5	1	0.33
hap_15	1	0.33
IchinoseTakahashi4_st39	Individuals = 2	Haplotypes = 1
hap_5	2	1
IchinoseTakahashi5_st40	Individuals = 1	Haplotypes = 1
hap_16	1	1



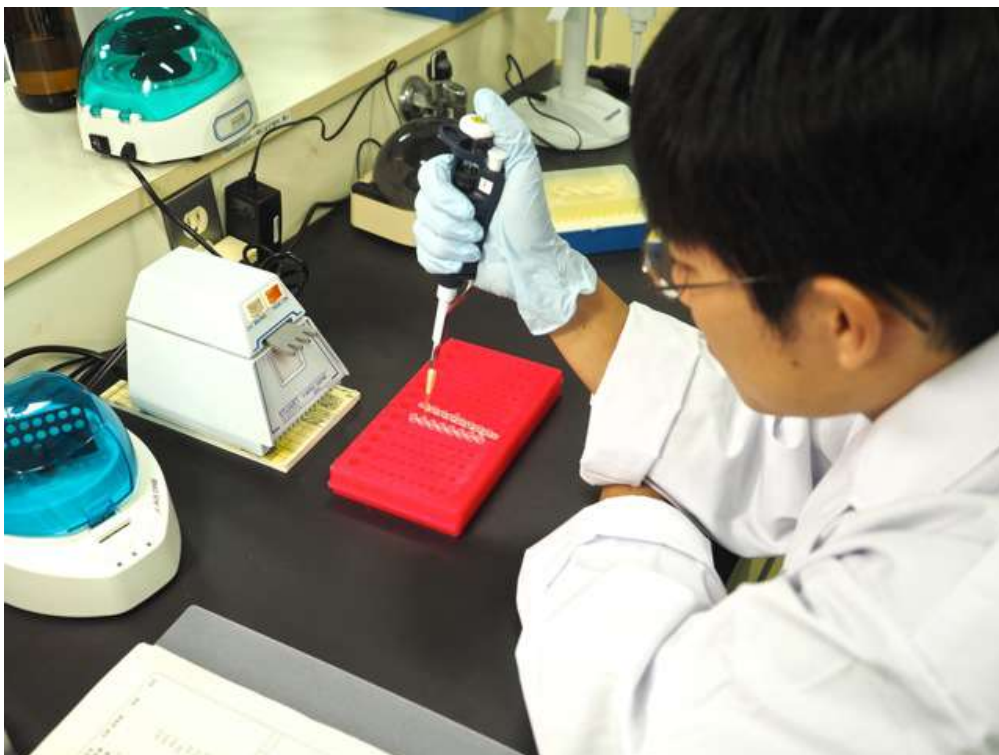
(1) 標本より組織摘出と粉碎
QIAGENキットを使ったTotal DNA抽出



(2) PCR



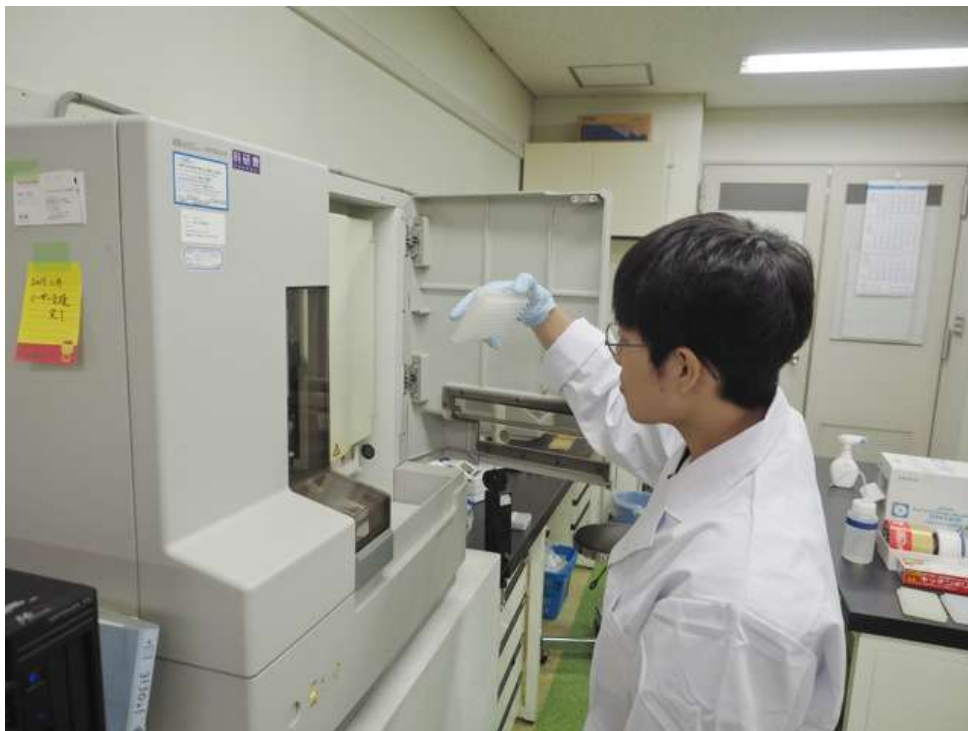
(3) 電気泳動/PCR産物の精製



(4) シーケンス反応

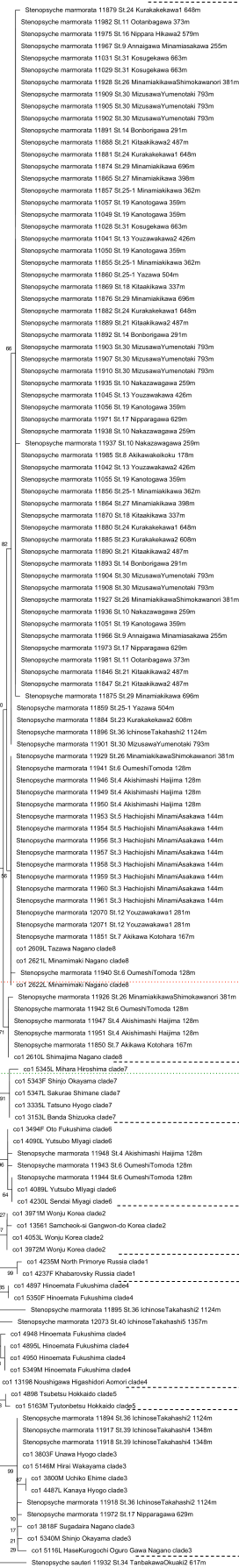


(5) エタノール沈殿/シーケンス準備



(6) シーケンサーでの分析

A



Clade VIII 多摩川水系全体
広域分布系統

B



VII 多摩川水系不在

Clade VI (St.4, St.6)

II 多摩川水系不在

I 多摩川水系不在

Clade IV (St.36, St.40)

V 多摩川水系不在

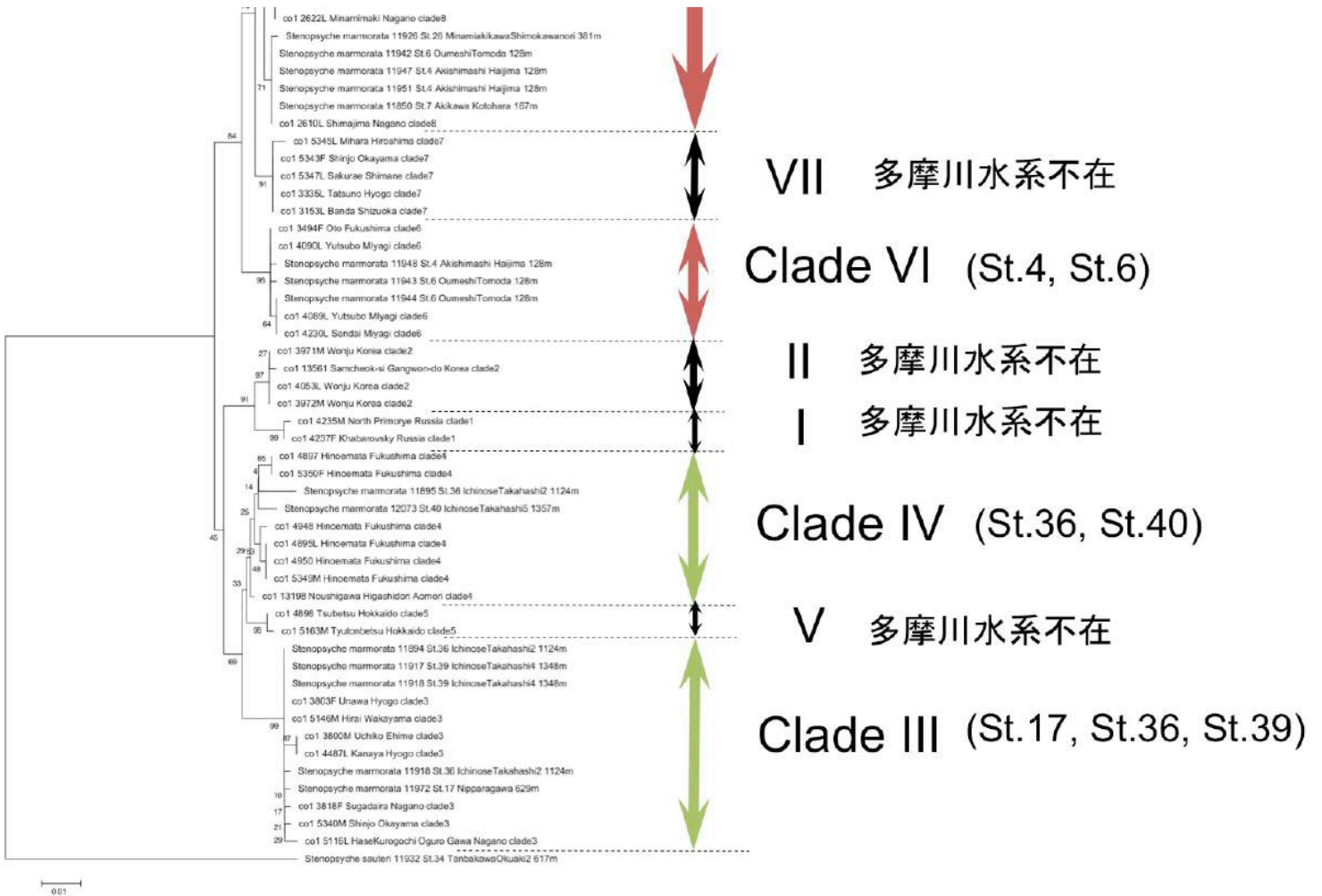
Clade III (St.17, St.36,
St. 39)

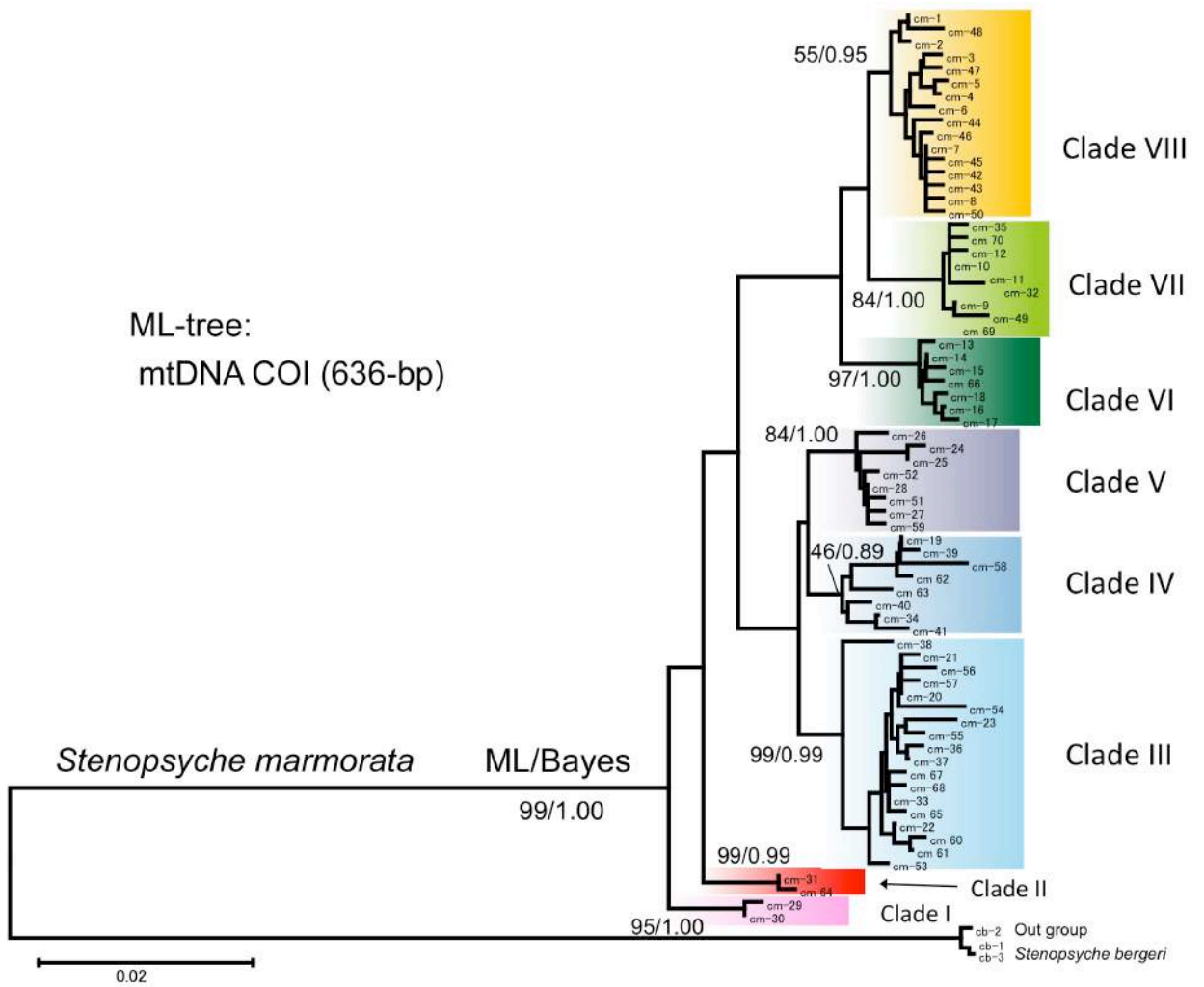
A

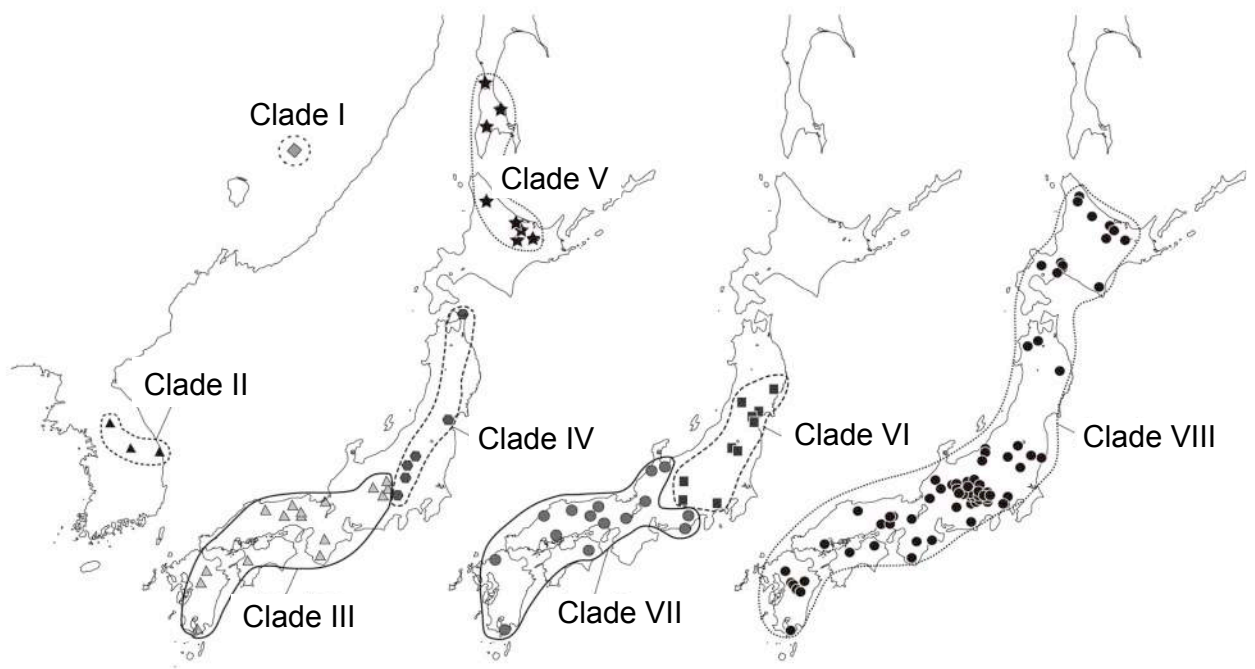


広域分布系統 Clade VIII

B







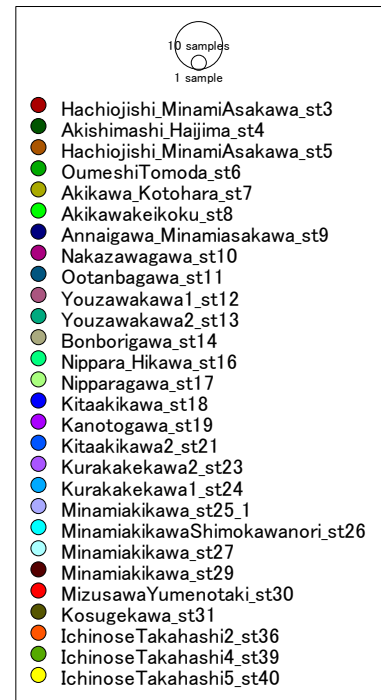
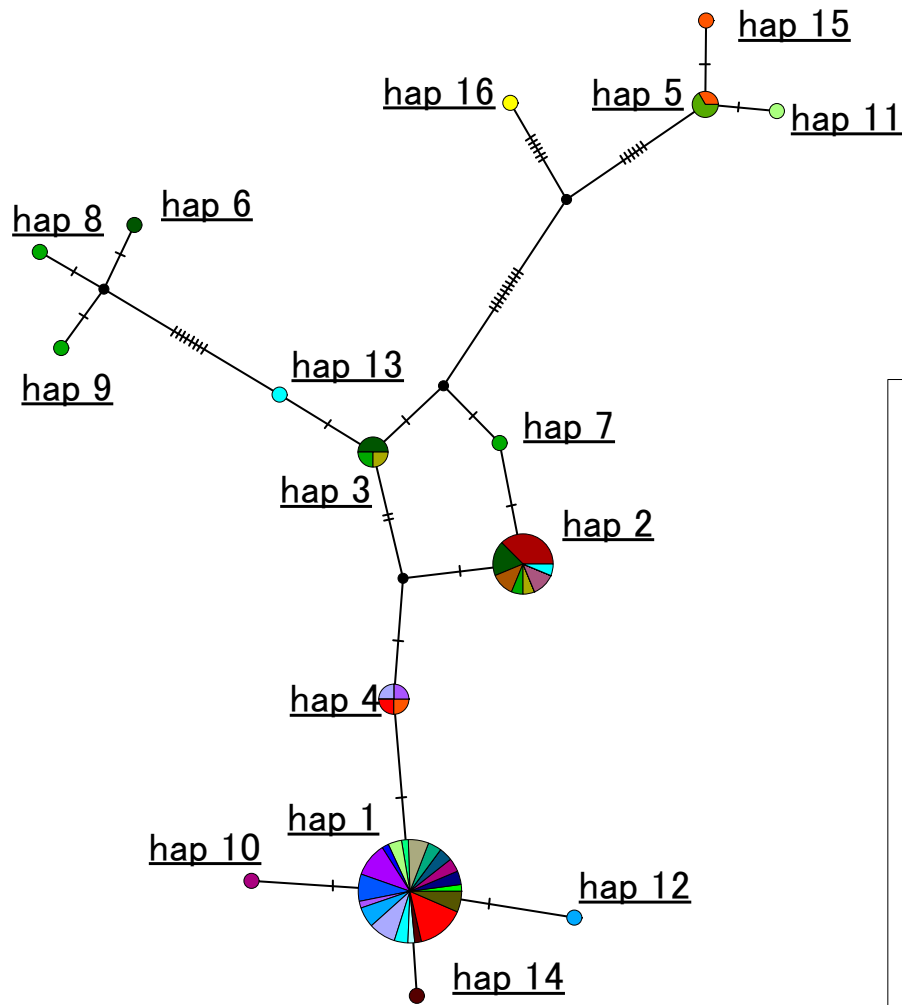


图8-1



12038
R. bilobata



12038
R. bilobata



图8-2



12064

R. brevicephala



图8-3

11992

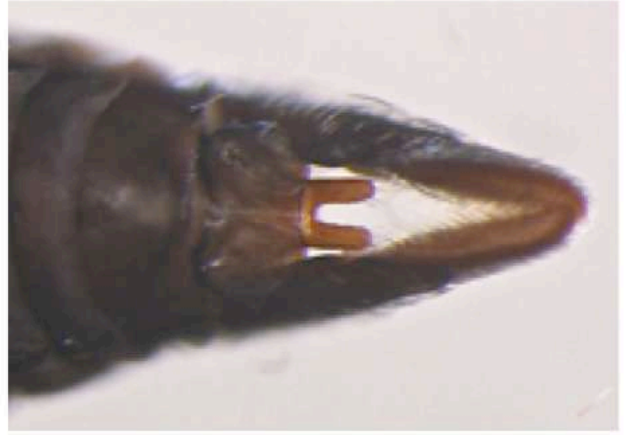
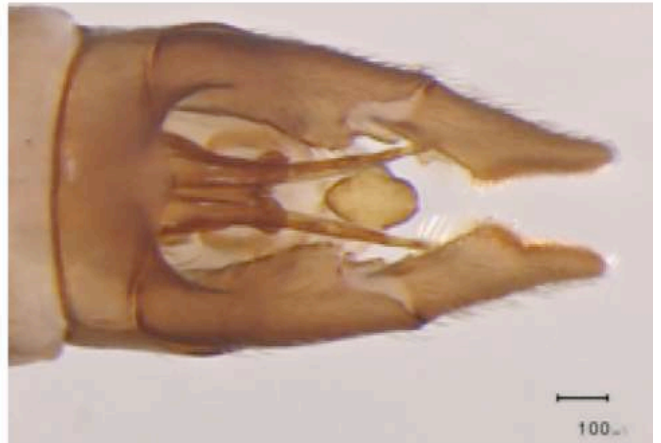


图8-4



12040
R. kiyosumiensis

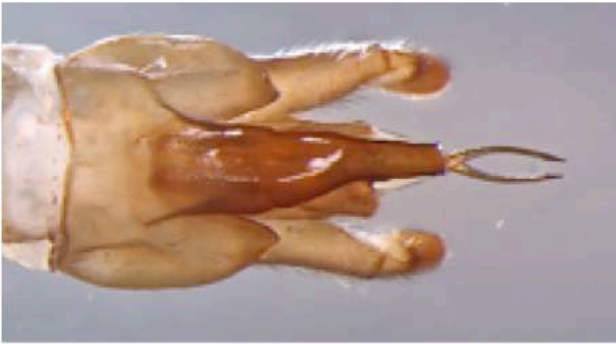


图8-5



R. lambakanta

12081



R. lambakanta

12081



图8-6



R. lezeyi

12036



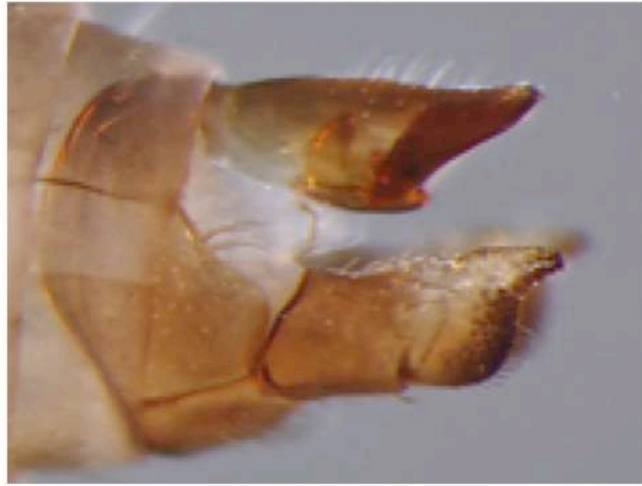
12036

R. lezeyi



11849

图8-7



R. nigrocephala
12060

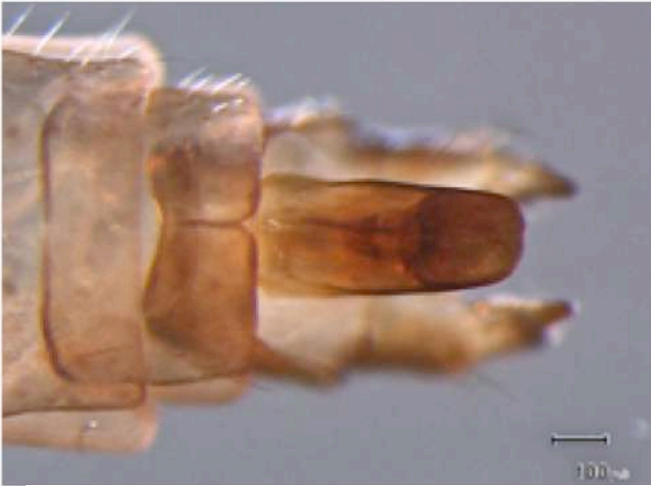


图8-8



11986
R. tranquilla



R. tranquilla
12041



图8-9



R. yamanakaensis

12065



R. yamanakaensis

11853



12065

图8-10

Apsilochorema sutshanum



图8-11

RBK-12104

Glossosoma altaicum
(Martynov, 1914)



RBK-12104

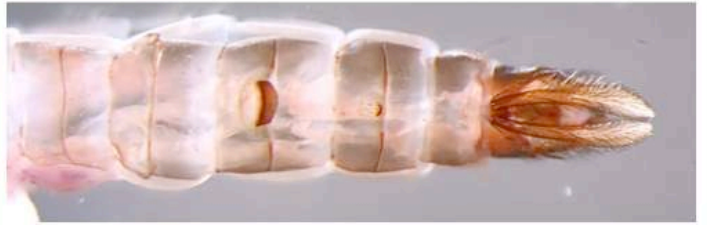
Glossosoma altaicum
(Martynov, 1914)



图8-12

RBK-12102

Glossosoma nichinkata
Schmid, 1971



RBK-12102

Glossosoma nichinkata
Schmid, 1971



图8-13



RBK-12101

Glossosoma ussuricum
(Martynov, 1934)



RBK-12101

Glossosoma ussuricum
(Martynov, 1934)



图8-14



RBK-12078

Chimarr tsudai
Ross, 1956



RBK-12032

Chimarr tsudai
Ross, 1956



図8-15



RBK-12118

Dolophilodes commata
(Kobayashi, 1980)



図8-16

12019

Dolophilodes japonica
(Banks, 1906)



图8-17

12027

Kisaura nozakii
(Kuhara, 1999)



Kisaura minakawai



图8-19



12027
Kisaura sp.



Wormaldia fujinoensis



图8-21

12006

Wormaldia sp. J

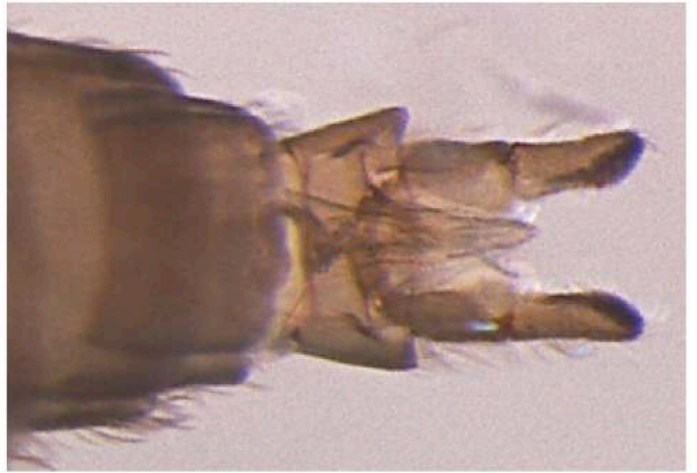
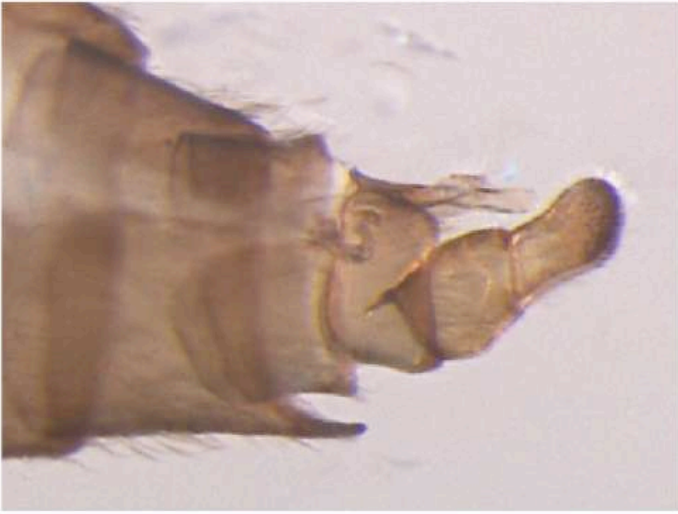


图8-22

12034

Psychomyia morisitai
Tsuda, 1942



12034

Psychomyia morisitai
Tsuda, 1942



图8-23



12061

Melanotrichia forcifcula
(Kobayashi, 1964)

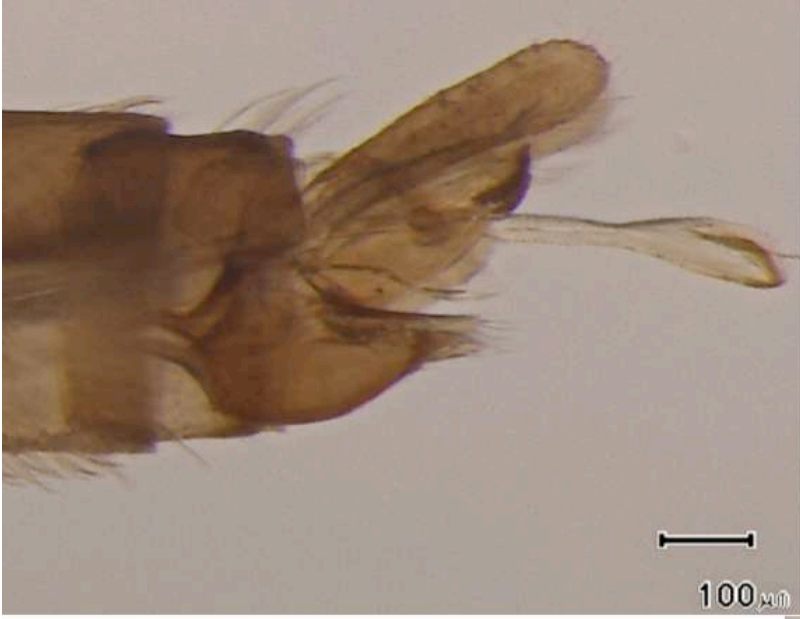


12061

Melanotrichia forcifcula
(Kobayashi, 1964)

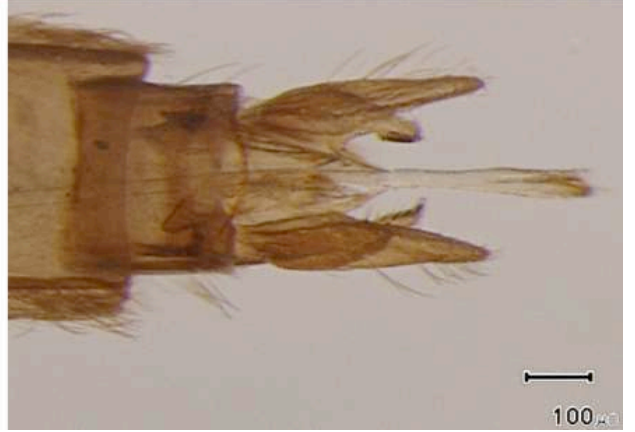


图8-24



12004

Melanotrichia kibuneana
(Tsuda, 1942)



12004

Melanotrichia kibuneana
(Tsuda, 1942)



図8-25・1

12017

Nyctiophylax kisoensis
(Tsuda, 1942)



12017

Nyctiophylax kisoensis
(Tsuda, 1942)



図8-25・2



12017

Nyctiophylax kisoensis
(Tsuda, 1942)

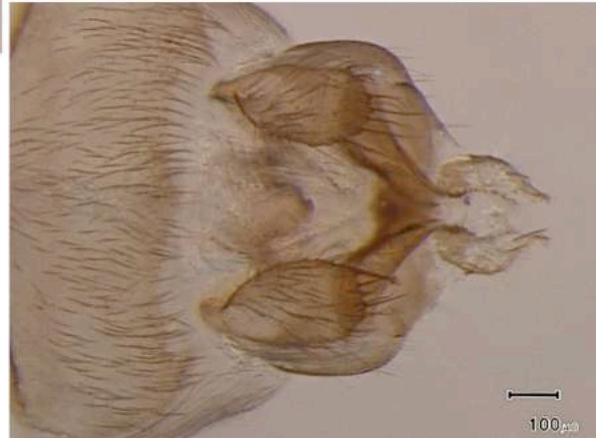


图8-26

12074

Arctopsyche spinifera
Ulmer, 1907



12074

Arctopsyche spinifera
Ulmer, 1907



图8-27

11863

Diplectrona sp.



图8-28



12075

Homoplectra sp.



12075

Homoplectra sp.

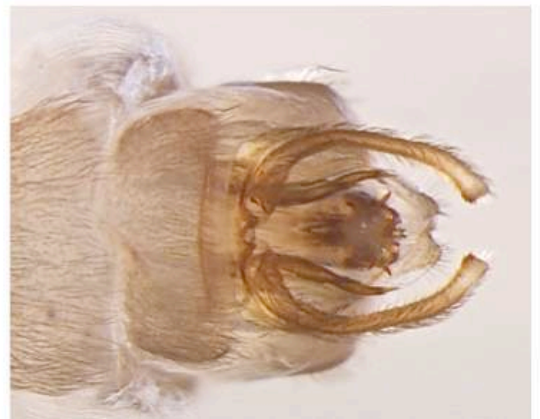
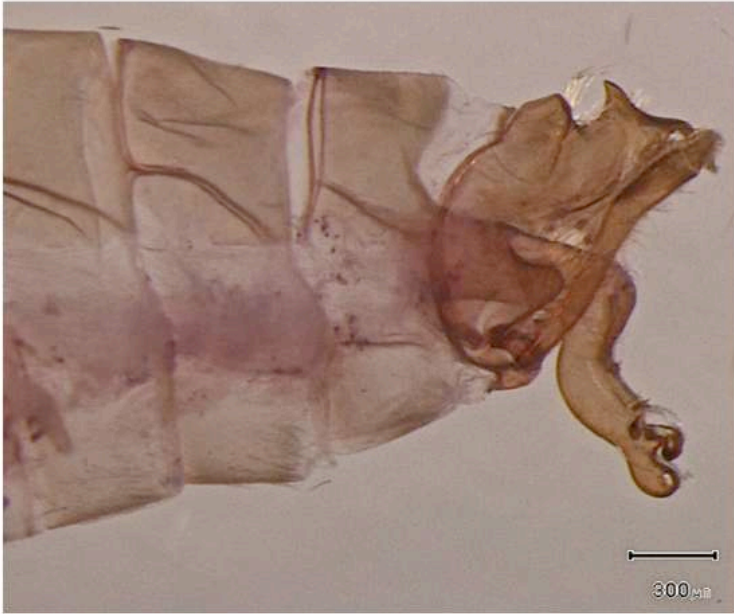
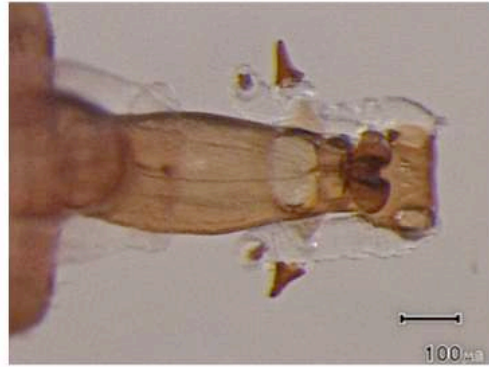


图8-29·1



12015

Hydropsyche albicephala
Tanida, 1986



Hydropsyche albicephala
Tanida, 1986



图8-29·2

12080

Hydropsyche albicephala
Tanida, 1986



图8-30



Hydropsyche orientalis
Martynov, 1934



图8-31

12079

Hydropsyche sp. 1



图8-32



12094
Hydropsyche sp. 1



图8-33

RBK-12111

Lepidostoma bipertitum
(Kobayashi, 1955)



图8-34

RBK-11998

Lepidostoma japonicum
(Tsuda, 1936)



图8-35

RBK-12020

Lepidostoma kasugaense
(Tani, 1971)



RBK-12020

Lepidostoma kasugaense
(Tani, 1971)

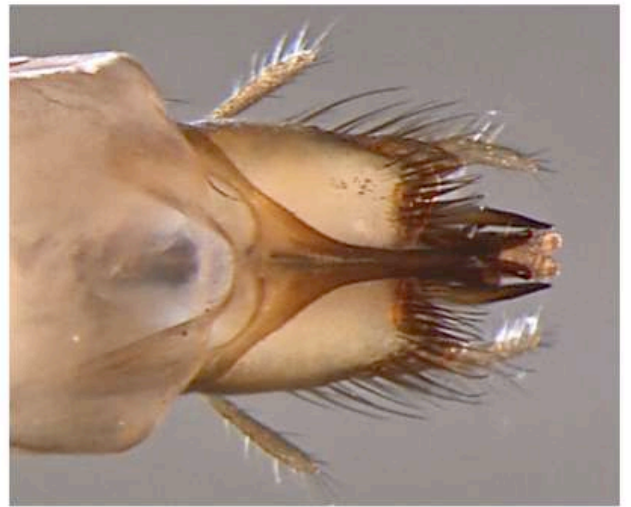


图8-36



RBK-12016

Goera japonica Banks,
1906



RBK-12016

Goera japonica Banks,
1906



图8-37

RBK-12086

Mystacides azureus
(Linnaeus, 1761)



图8-38

RBK-12105

Setodes shirasensis
Kobayashi, 1984

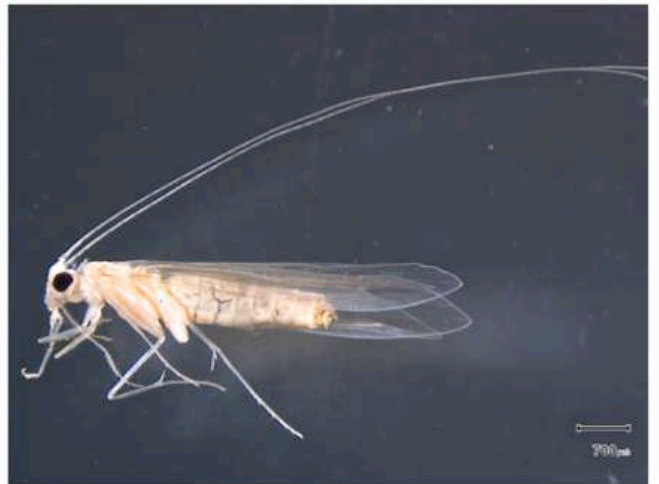


図8-39

RBK-12003

Psilotreta kisoensis
Iwata, 1928



图8-40

RBK-12067

Gumaga orientalis
(Martynov, 1935)



RBK-12067

Gumaga orientalis
(Martynov, 1935)



多摩川流域の水生昆虫類の遺伝的構造

(研究助成・学術研究VOL. 39—NO. 324)

著者 倉西 良一

発行日 2017年11月

発行者 公益財団法人とうきゅう環境財団

〒150-0002

東京都渋谷区渋谷1-16-14 (渋谷地下鉄ビル内)

TEL (03) 3400-9142

FAX (03) 3400-9141

<http://www.tokyuenvironment.or.jp/>