

特集：ユスリカ多様性研究を DNA バーコーディングにより進化させる

短 報 [Note]

諏訪湖沖帯におけるユスリカ類幼虫の水平分布と オオユスリカ個体群の遺伝的構造

平林公男¹⁾・宮原裕一²⁾・花里孝幸²⁾・今藤夏子³⁾・上野隆平³⁾・高村健二³⁾

Horizontal distribution of chironomid larvae and genetic structure of *Chironomus plumosus* population offshore in Lake Suwa, Central Japan

Kimio Hirabayashi¹⁾, Yuichi Miyabara²⁾, Takayuki Hanazato²⁾, Natsuko Kondo³⁾, Ryuhei Ueno³⁾, Kenzi Takamura³⁾

Abstract

In the shallow and eutrophic Lake Suwa of Central Japan, water quality has been markedly restored since the end of 1990s, and the chironomid larval community in the lake may have changed accordingly. The objectives of this study were twofold: to clarify (1) the current horizontal distribution of two chironomids, *Propsilocerus akamusi* and *Chironomus plumosus*, in Lake Suwa and (2) the genetic structure of *C. plumosus* in the lake. The average larval densities of *P. akamusi* and *C. plumosus* offshore in the lake were 900 and 600 individuals per m², respectively. Relative to the findings of a 2001 survey, *C. plumosus* larvae increased. Eight haplotypes were recognized in the cytochrome c oxidase subunit I (COI) sequences of *C. plumosus* larvae offshore in Lake Suwa, while more were found near the lake center. The phylogenetic tree based on the COI sequences suggests that *C. plumosus* specimens in Lake Suwa were of the same single lineage as those in several other Japanese lakes, while they diverged from the lineages of Russian specimens.

Keywords: *Chironomus plumosus*, haplotype, genetic structure, horizontal distribution, larval density

摘 要

長野県の諏訪湖では、湖水の浄化に伴って 1990 年代の終わりから生物群集が大きく変化し、湖内におけるユスリカ類の幼虫の分布や密度にも大きな変化が予想された。本研究では、その実態を明らかにす

¹⁾ 〒 386-8567 長野県上田市常田 3-15-1 信州大学学術研究院理工学域繊維学系 Institute of Textile and Science, School of Science and Technology, Academic Assembly, Shinshu University, 3-15-1 Tokida, Ueda, Nagano 386-8567, Japan

²⁾ 〒 392-0027 長野県諏訪市湖岸通り 5-2-4 信州大学山岳科学研究所山地水環境教育研究センター Research and Education Center for Inland Water Environment, Institute of Mountain Science, Shinshu University, 5-2-4 Kogan-dori, Suwa, Nagano 392-0027, Japan

³⁾ 〒 305-8506 茨城県つくば市小野川 16-2 国立環境研究所生物・生態系環境研究センター National Institute for Environmental Studies, 16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305-8506, Japan

るために、湖の沖帯全域でユスリカ類の分布と密度を調べた。また、沖帯における優占種の一つであるオオユスリカについて、遺伝的構造の解明を試みた。2013年3月に、沖合の17地点で調査を行った結果、オオユスリカとアカムシユスリカの幼虫の平均密度は、それぞれ600個体 m^{-2} 、および900個体 m^{-2} であった。諏訪湖における現在のユスリカ類幼虫の生息密度は、湖の水質が改善し始めた2000年代初頭に比べるとやや増加していると推定された。中でもオオユスリカ幼虫の増加は顕著であった。諏訪湖沖帯のオオユスリカ幼虫についてミトコンドリアCOI(658bp)の塩基配列を解読した結果、8つのハプロタイプが検出され、水深が深い地点ほど多くのハプロタイプが見られた。諏訪湖産オオユスリカでの配列は、茨城県産や琵琶湖産を含む他の日本産のオオユスリカとは極めて類似していたが、ロシア産のオオユスリカとは大きく異なっていた。

キーワード：オオユスリカ、ハプロタイプ、遺伝的構造、水平分布、幼虫密度

(2016年3月29日受付：2016年6月27日受理)

はじめに

長野県の諏訪湖では、1990年代の終わりから水質が改善し(長野県, 2015)、これに伴って、アオコの発生量が激減するなど、生物群集に大きな変化が観察されている(本間・朴, 2005; 中村ら, 2010; 朴, 2009; 二本ら, 2015; Hanazato et al., 2009; 永田・平林, 2009)。また、1990年代前半まで沖帯から大量発生していた大型ユスリカ類の湖畔への飛来量も激減した(永田・平林, 2009; Hirabayashi et al., 2003)。近年の諏訪湖では、比較的良好な水質が維持されているにもかかわらず、アオコの発生量は一時期に比べて増加傾向にあり、ユスリカ類の幼虫密度も、湖心で増加傾向にある(信州大学諏訪湖定期調査観測グループ, 未発表)。

湖沼における底生動物の年変動モニタリング調査では、湖心の値で湖全体を代表させている報告が多く(例えばJonasson, 1972; Iwakuma, 1986a; Iwakuma, 1986b; Frank, 1982)、これまで諏訪湖でも同様であった。一方、諏訪湖では、近年の湖水浄化に伴って、底生動物群集、特にユスリカ類幼虫の分布のパターンやその密度に水平的な変化も予想されたため、本研究では、沖帯全域におけるユスリカ類に焦点をあて、近年の分布とその密度を明らかにすることを目的とした。

諏訪湖沖帯で優占するユスリカ類の一つであるオオユスリカは、分類学的に課題の多い種類である。狭義のオオユスリカ *Chironomus plumosus* (Linnaeus, 1758) に加えて、形態が類似する近縁種や、細胞遺伝学的な特徴だけで区別される種も報告されており(Golygina et al., 2003, 2007)、これらは一括して、広義のオオユスリカ *Chironomus plumosus*、あるいは、オオユスリカ種群

(*Chironomus plumosus* group) として扱われることが多い(Moller Pillot, 2009)。

諏訪湖では、幼虫の唾液腺染色体の研究から *Chironomus suwai* Golygina and Martin, 2003 が記載されているが(Golygina et al., 2003)、その分類学的実体は不明である(Kondo et al., 2016; Moller Pillot, 2009)。そこで本研究では、Orendt and Spies (2012) の検索表で *C. plumosus* と同定される分類群をオオユスリカとし(広義の *C. plumosus*)、諏訪湖における遺伝的構造の実体を明らかにすることも目的のひとつとした。

調査地の概要

諏訪湖は、長野県の中央部に位置し、表面積: 13.3 km^2 、最大水深: 6.5 m、平均水深 4 m の浅い富栄養湖である。湖周辺は、諏訪市、下諏訪町、岡谷市の2市1町に囲まれ、湖面積の40倍に相当する531.1 km^2 という広い集水域を有する(田中, 1992)。湖水の浄化に成功した我が国で数少ない自然湖沼の一つである(宮原, 2009; 田淵, 2009)。

諏訪湖におけるユスリカ類の研究は、1930年代から現在に至るまで、湖底における幼虫密度や、湖からの成虫発生量が年ごとに記録されている(Yamagishi and Fukuhara, 1971; 平林ら, 2001; Hirabayashi et al., 2003; 中里ら, 2001; Nakazato and Hirabayashi, 1998; Nakazato et al., 1998)。世界では、Lake Esrom (Jonasson, 1972) や Lake Balaton (Specziar and Voros, 2001) など、我が国でも、霞ヶ浦(Iwakuma, 1986a) や河口湖(Hirabayashi et al., 2011) など、複数年にわたってユスリカ幼虫の密度が記録されている湖沼はあるが、諏訪湖ほど長期

にわたってユスリカ類の観測データが詳細に記録・蓄積されている湖沼は数少ない。諏訪湖湖心に生息する主なユスリカ類は、オオユスリカ、アカムシユスリカ *Prosilocerus akamusi* (Tokunaga, 1938), ウスイロカユスリカ *Procladius choreus* (Meigen, 1804) などであり、4 m 以深の湖底では、オオユスリカおよびアカムシユスリカが優占種になっている (Yamagishi and Fukuhara, 1971)。

材料と方法

2013年3月22日に湖心を含む諏訪湖全域の沖合で、底生動物の密度と現存量を知るために、湖の東西方向と南北方向に合計17地点 (Fig. 1; St. 1 - St. 17, 水深2.7 m ~ 6.2 m, 平均水深 5.3 ± 1.0 m; 湖心は St. 16) を設定し、エクマン・バージ採泥器 (表面積 $15 \text{ cm} \times 15 \text{ cm}^2$) を用いて、1地点あたり2 - 4回の採泥を行った。調査を実施した3月下旬は、オオユスリカ幼虫にとっては春期の羽化の直前、アカムシユスリカ幼虫にとっては掘潜前の時期にあたり、両種とも湖底表層での現存量が1年で最も高い時期にあたる (Yamagishi and Fukuhara, 1972)。調査地点の緯度と経度はGPSを利用して記録した。採集した底泥は、1回ごとにサーバーネット (NGG66, メッシュサイズ0.25 m) でふるった後、ビニール袋に入れて冷蔵し、実験室に持ち帰った。持ち帰った試料は直ちにオオユスリカの4齢幼虫を拾い出し、その一部を遺伝子解析用のサンプルとし、残りは10%ホルマリンで固定

した。固定した試料は、後日、実体顕微鏡下で水生貧毛類、線虫類、ユスリカ類の幼虫に分けて個体数を計測した。ユスリカ類については Andersen et al. (2013) の検索表を用いて同定し、ユスリカ属 *Chironomus* については、Orendt and Spies (2012) の検索表にしたがって種を同定した。齢の判定には、山岸ら (1976) の頭幅での判定基準値を用いた。

オオユスリカの遺伝的構造を明らかにするために、諏訪湖沖帯から採集した計26個体の幼虫 (< 4 m, 2個体; 4-5 m, 8個体; 5-6 m, 12個体; 6 m<, 4個体) について遺伝子解析を行った。解析に用いた標本は、個体ごとに99.5%のエタノールで保存した後、試料全体を用いて粗抽出 (Kondo et al., in press) もしくは Genra Puregene Tissue Kit (QIAGEN) を用いてDNA抽出を行った。抽出したDNAについてミトコンドリア遺伝子COIの部分領域に結合するプライマー LCO1490 と HCO2198 (Folmer et al., 1994) を用いてPCR増幅を行い、増幅断片の塩基配列658bpのシーケンスを得た (アクセッション番号 LC050898 ~ 902, LC096179 ~ 80)。さらに、ロシア・シベリア産のオオユスリカ幼虫、および、霞ヶ浦を含む茨城県内や琵琶湖、礼文島の久種湖から採集したオオユスリカ幼虫の試料の塩基配列も合わせ、全60個体の塩基配列について MEGA6 (Tamura et al., 2013) アラインメントを行った。これらの配列は、先行研究のために我々の研究グループで解析したもので、DDBJ (DNA Data Bank of Japan, <http://www.ddbj.nig.ac.jp/index-j.html>)

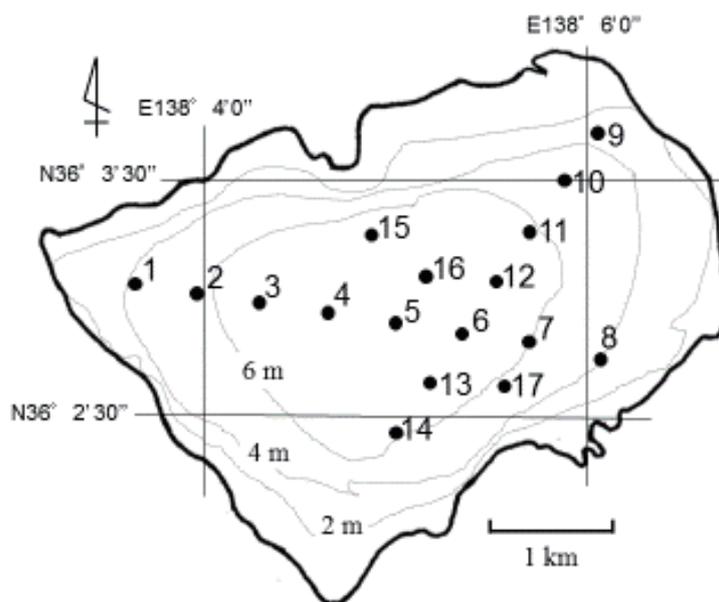


Fig. 1. Maps showing location of Lake Suwa, isopleths of depth (m), and sampling stations.

図1. 諏訪湖における調査地点 (St. 1 - St. 17) の概要。

等の国際塩基配列データベースに登録・公開されている (AB740253 ~ 59, AB740262 ~ 3, AB838648)。アラインメントの結果, 658 bp が完全に一致した配列を同じハプロタイプとし, 1 bp でも異なる場合は異なるハプロタイプとした。また, 全ハプロタイプについて, MEGA6 (Tamura et al., 2013) によってモデル選択を行い, T92+G で最尤法を用いて系統樹を作成した。外群にはヤマトユスリカ *Chironomus nipponensis* Tokunaga, 1940 (AB740246) を用いた。

調査時には, 調査地点ごとに, 水深, 底泥表層 3cm の有機物含量 (灼熱減量 IL として評価), 底泥温 (MT, 表層 3 cm), 底泥直上水中の溶存酸素濃度 (DO), 水温 (WT), 電気伝導度 (EC) および pH を測定した。表層泥と底泥直上水の採集には重力式コアサンプラー (離合社) を用いた。直上水中の EC と pH は EC/pH メータ (TOA DKK; WM-22EP) で, 水温と泥温は温度計 (Water Proof Digital Thermometer; -50 to 300°C ; CE) を用いて測定した。また, 計測後の直上水は, サイフォンで酸素瓶に移し, ウィンクラー法で溶存酸素量を分析した。底泥の有機物含量の測定は, 磁製のつぼに入れた表層泥を 450°C, 3 時間, 電気炉で焼き, 灼熱減量として算出した。

環境要因と底生動物群集の密度 (本文では, 平均値 ± 標準偏差を表記) との相関関係の有意性を, Kendal の順位相関係数 (統計ソフト NAP Ver. 4, 医学書院) を用いて調べた。

結果と考察

底生動物群集の現状と課題

調査地点における環境要因の測定結果を Table 1 に示

Table 1. Mean values and standard deviations (SD) of environmental factors and benthic macroinvertebrate densities for survey with 17 sampling points on March 22, 2013.

表 1. 全 17 調査地点における主な環境因子と底生動物群集の生息密度 (平均値 ± 標準偏差) の概要 (2013 年 3 月 22 日)。

Environmental factors	mean	±	SD
Depth (m)	5.4	±	0.7
Dissolved Oxygen (DO mg/L)	8.0	±	0.5
pH	7.3	±	0.2
Water Temperature (WT °C)	8.4	±	0.6
Mud Temperature (MT °C)	8.1	±	0.2
Electric Conductivity (EC mS/m)	15.9	±	0.7
Ignition Loss (IL %)	13.6	±	1.3
Benthic macroinvertebrates (Ind. No./ m ²)			
Total Oligochaetes	5236.6	±	3708.0
Total Nematoda	53981.7	±	40272.5
Total Chironomidae	1654.9	±	614.1
<i>Chironomus plumosus</i>	593.5	±	164.0
<i>Prosilocerus akamusi</i>	888.9	±	595.0
<i>Procladous choreus</i>	146.4	±	137.7

した。水温, DO, pH, EC, 底泥温は, どの地点でもほぼ同一の値を示した。底泥表層 3 cm の灼熱減量は, 11.2 (St. 15) ~ 15.7 (St. 7) % の範囲を示し, 全 17 地点の平均値は 13.6 ± 1.2% であった (Fig. 2)。灼熱減量は湖南部から南東側にかけての水深 6 m 付近で 15% 以上と高かった。

湖沖帯全域における底生動物群集の平均密度は, 水生貧毛類が 5236.6 ± 3708.0 個体 m⁻², 線虫類が 53981.7 ± 40272.5 個体 m⁻², ユスリカ類 (幼虫と蛹) が 1654.9 ± 614.1 個体 m⁻² であった。ユスリカ類の種類毎では, オ

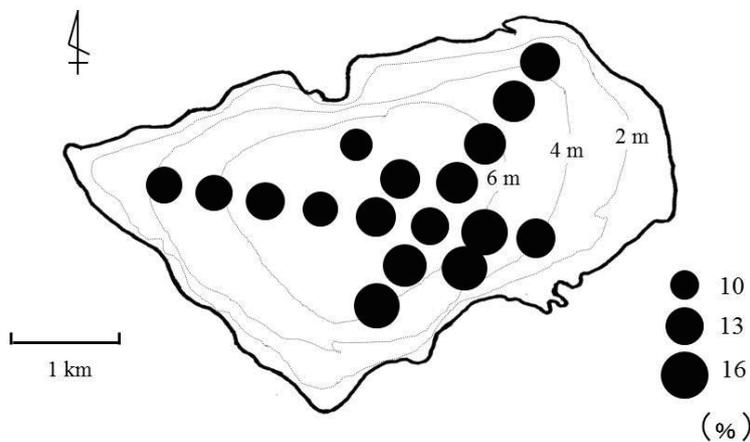


Fig. 2. Horizontal distribution of ignition loss of the sediments in Lake Suwa.

図 2. 諏訪湖底泥表層における灼熱減量の水平的な分布。

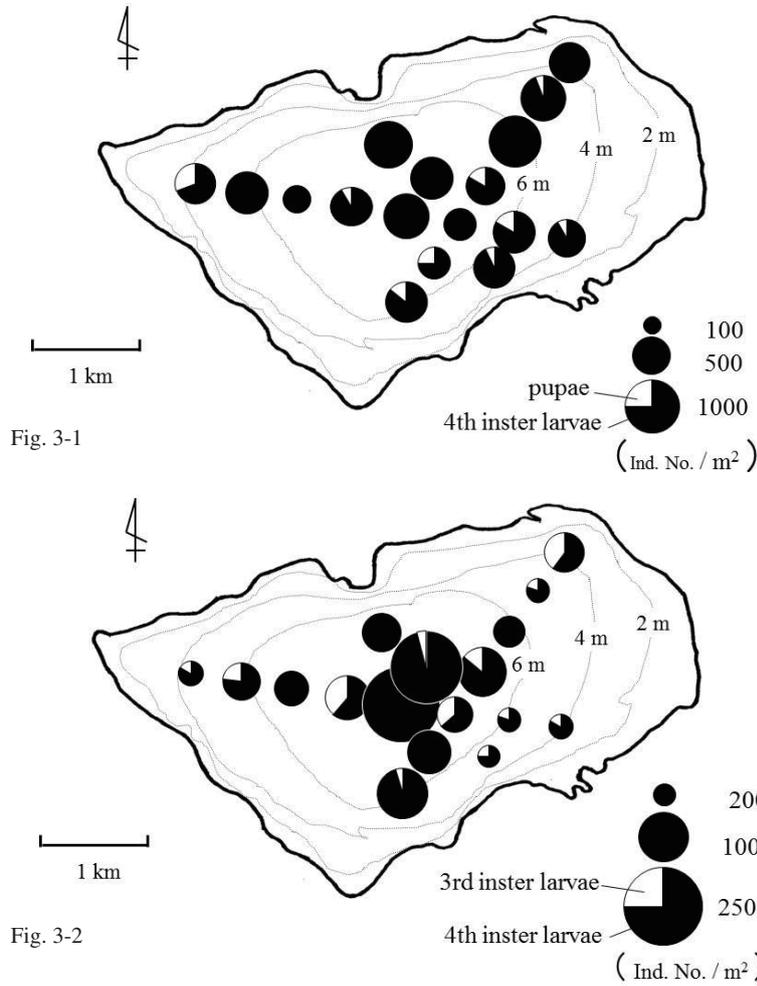


Fig. 3. Horizontal distribution of densities of two large chironomid larvae, *Chironomus plumosus* (Fig. 3-1) and *Propsilocerus akamusi* (Fig. 3-2), in Lake Suwa on March 22, 2013.

図3. 諏訪湖における2種の大型ユスリカ幼虫（オオユスリカ *Chironomus plumosus* : 図3-1とアカムシユスリカ *Propsilocerus akamusi* : 図3-2）の生息密度の水平分布（2013年3月22日）。

オオユスリカ幼虫は 593.5 ± 164.0 個体 m^{-2} 、アカムシユスリカ幼虫は 888.9 ± 595.0 個体 m^{-2} 、ウスイロカユスリカ幼虫は 146.4 ± 137.7 個体 m^{-2} であった (Table 1)。Fig. 3 にオオユスリカとアカムシユスリカの幼虫の水平分布を示す。今回の調査は、オオユスリカの羽化期直前にあたったため、オオユスリカは蛹と4齢幼虫の占める割合が高かった。地点毎に密度にばらつきはあるものの、概ね湖全体にほぼ均一に分布していた。一方、アカムシユスリカは3齢と4齢幼虫の占める割合が高く、生息密度は St. 5 と St. 16 (湖心) で高く、湖の南東部 (St. 7, 8, 17) や湖西部 (St. 1) で低かった。水深が深くなるにしたがって、水生貧毛類と線虫類の個体数密度は有意に減少したが、灼熱減量とユスリカ類の密度との間に有意な関係は認められなかった (Table 2)。

水深4m以深の地点（水深2.7mの1地点を除く16地点中）を、オオユスリカ幼虫とアカムシユスリカ幼虫の生息密度の高い順位で並べると、湖心付近は、それぞれ3番目 (711.1 個体 m^{-2}) および1番目 (2444.4 個体 m^{-2}) に位置する。調査地点を通した平均密度は、それぞれ 594.4 ± 169.3 個体 m^{-2} および 902.8 ± 611.7 個体 m^{-2} であるので、アカムシユスリカ幼虫は、湖心付近で特に密度が高いことがわかる。

過去に諏訪湖で行われた同時期の調査結果として、平林ら (1987) は、1986年3月に湖内の57地点で行った調査で、アカムシユスリカ幼虫の密度が $0 - 9946$ 個体 m^{-2} の範囲で、2500 個体 m^{-2} の以上の地点が調査地点全体の90%以上を占めていたことを記録している。また、水深4m以深の32地点でのオオユスリカ幼虫の平均密

Table 2. Correlation matrix for the environmental variables and densities of benthic macroinvertebrates.

表 2. 主な環境因子と底生動物群集との相関行列.

	Ignition loss	<i>C. plumosus</i>	<i>P. akamusi</i>	Total chironomids	Oligochaetes	Nematoda
Water depth	0.009	0.004	0.322	0.100	-0.939 **	-0.654 **
Ignition loss	-	0.100	0.243	0.219	0.127	0.256
<i>C. plumosus</i>		-	0.229	0.507 *	-0.135	0.006
<i>P. akamusi</i>			-	0.922 **	-0.272	-0.435
Total chironomid				-	-0.123	-0.333
Oligochaetes					-	0.615 **
Nematoda						-

** $p < 0.01$ * $p < 0.05$

度を 566 ± 265 個体 m^{-2} と記録している。今回の調査結果を 1986 年の結果と比較すると、オオユスリカ幼虫はほぼ同程度であるが、アカムシユスリカ幼虫の密度の 1/3 以下に減少していることがわかる。

また、Hirabayashi et al. (2003) は 2001 年 3 月に 60 地点 (平均水深 4.1 ± 1.5 m) で行った調査で、オオユス

リカ幼虫の平均密度を 3 個体 m^{-2} (0 – 60 個体 m^{-2} の範囲)、アカムシユスリカ幼虫の平均密度を 75 個体 m^{-2} (0 – 200 個体 m^{-2} の範囲) と記録している。今回の調査結果は、これに比べて、オオユスリカで 200 倍、アカムシユスリカで 1.2 倍高い。以上のことから、現在のユスリカ類幼虫の生息密度は、1986 年の密度には至っていない

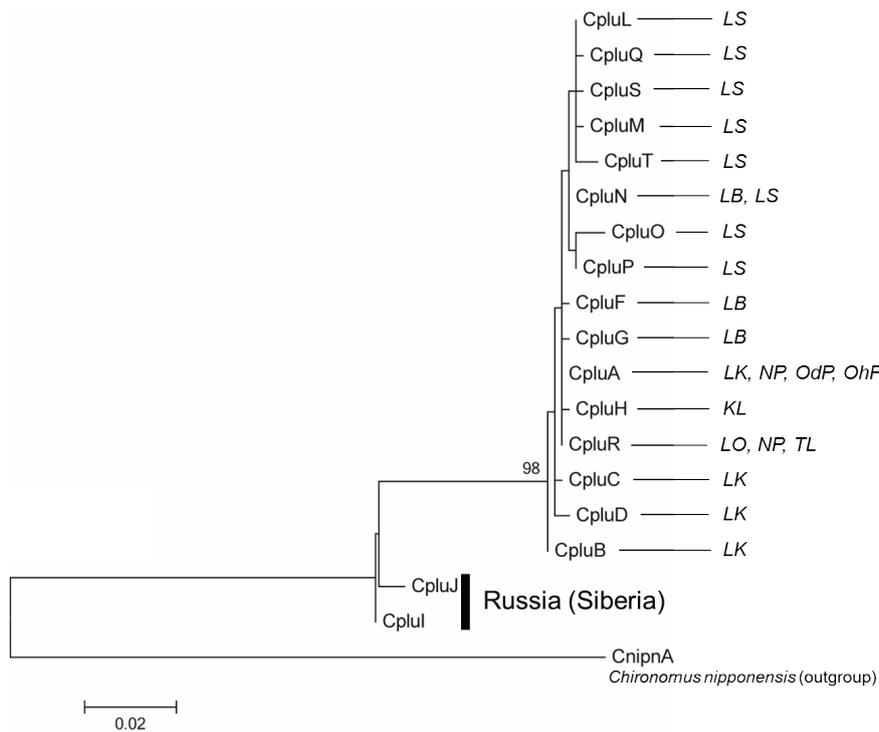


Fig. 4. Maximum likelihood tree of *Chironomus plumosus*. Only > 80 % bootstrap value is shown at a node. Abbreviated name of each collection site is shown next to the name of the haplotype. KL: Kushu Lake, Rebun Island, Hokkaido; LB: Lake Biwa; LK: Lake Kasumigaura, Ibaraki; LO: Lake Onuma (Konuma), Hokkaido; LS: Lake Suwa; NP: experimental pond of National Institute for Environmental Studies, Ibaraki; OdP: Odashin' ike Pond, Ibaraki; OhP: Ohgataoike Pond, Ibaraki; TL: Teganuma Lake, Chiba.

図 4. オオユスリカ *Chironomus plumosus* 幼虫のミトコンドリア COI(658 bp) の系統樹 (最尤法, ML: ブートストラップ値 < 80% は省略).

いものの、湖の水質が大きく変わりはじめた 2000 年代初頭に比してやや増加する傾向にあると推測される。特にオオユスリカ幼虫については増加が顕著であることが示唆される。ユスリカ類幼虫の餌量の指標となる湖底泥表層の灼熱減量は、湖全体の平均値で 1980 年代に $14.3 \pm 2.5\%$ (最高値は 17.5%, Hirabayashi et al., 1987), 2000 年代に $12.0 \pm 2.8\%$ (最高値は 15.6%, Hirabayashi et al., 2003) が記録されている。本調査の値 (13.6 ± 1.3 ; 最高値 15.7%) は沖帯に限られているために単純には比較できないが、2000 年代当初から大きな変化はないと推測された。ユスリカ類の増減の要因については不明であり、今後継続した調査が必要である。

諏訪湖におけるオオユスリカ個体群の遺伝的構造

塩基配列が読めなかった 1 個体を除く 25 個体の諏訪湖産オオユスリカで得られたミトコンドリア COI (658 bp) の塩基配列を解析した結果、8 つのハプロタイプが検出された。最も出現頻度が高かったのは L タイプで、調査した全 25 個体のうち、15 個体で確認された (全体の 60.0%)。次いで出現頻度の高かったのは N タイプ (4 個体, 16.0%) であった。残りの M, O, P, Q, S, T の各タイプは、1 個体ずつ (各 4%) 確認された。L タイプは 3 地点を除く全ての地点で確認された。一方、N タイプは湖の中央部 (水深 5.7 - 5.9 m) に多かった。ハプロタイプの水深毎の出現数は、水深 4 m 未満では 1 タイプ、4 m ~ 5 m では 2 タイプ、5 m ~ 6 m では 7 タイプ、それより深部では 1 タイプであった。諏訪湖全体で見ると、湖中央部の水深 5 ~ 6 m で多くのハプロタイプが確認された。

Fig. 4 に、系統樹 (最尤法) を示した。諏訪湖のオオユスリカ個体群に遺伝的分化は見られず、諏訪湖のオオユスリカに複数種 (*C. suwai* と *C. plumosus*) が含まれるという可能性は支持されなかった。また、諏訪湖産オオユスリカは、茨城県の湖沼や滋賀県の琵琶湖、北海道の久種湖のオオユスリカとは別のクレードを形成したが、ブートストラップ値が低いいため、諏訪湖産のみが遺伝的に分化しているとは結論できなかった。ただし、本研究で用いた COI は進化速度が遅いため、オオユスリカ近縁種群の種判別のためには解像度が低すぎる可能性があり、今後、他の遺伝子領域を使った解析が必要である (Polukonova et al., 2009; Kondo et al., in press)。一方、これら日本産オオユスリカとロシア・シベリア産のオオユスリカとは、遺伝的に大きく異なることが示唆された。オオユスリカ種群の内部構造を解明し、分類学的混乱を解消するためには、今後、世界各地のオオユスリカ種群

を対象にして、進化速度の異なるさまざまな遺伝子領域で塩基配列を比較することによって系統関係を解明するとともに、形態や細胞遺伝学的な比較によって、これまで記載された種群や隠蔽種との対応を明らかにすることが必要である。

謝 辞

本研究は、科学研究費基盤研究 A (現課題番号 24241078 研究代表者 高村健二) 「DNA バーコーディングを適用したユスリカ科昆虫の水質指標性と多様性の研究」の補助を受けて行われた。本研究を遂行するにあたり、琵琶湖の試料を提供していただいた井上栄壮氏、久種湖の試料を提供していただいた小林貞氏に心より感謝申し上げる。また、諏訪湖調査の実施について、フィールド・実験室内でサポートをしていただいた武田昌昭氏にお礼を申し上げる。

引用文献

- Andersen, T., P. S. Cranston and J. H. Epler (2013): The larvae of the Chironomidae (Diptera) of the Holarctic Region -Keys and diagnoses. Insect Systematics & Evolution, Supplement No. 66.
- 二木功子・斎藤梨絵・中村剛也・宮原裕一・東城幸治・花里孝幸・朴虎東 (2015): 諏訪湖の水質改善に伴う糸状緑藻 *Mougeotia* 属の出現. 陸水学雑誌, 76: 99-109.
- Golygina, V. V., J. Martin, I. I. Kiknadze, M. Siirin, O. V. Ivanchenko and E. A. Makarchenko (2003): *Chironomus suwai*, a new species of the *plumosus* group (Diptera, Chironomidae) from Japan. Aquatic Insects, 25: 177-189.
- Golygina, V. V., I. I. Kiknadze, A. G. Istomina, L. I. Gunderina, L. A. Miroshnichenko and V. D. Gusev (2007): Cytogenetic divergence of genomes in *Chironomus plumosus* group (Diptera: Chironomidae). Comparative Cytogenetics, 1: 17-32.
- Folmer, O., M. Black, W. Hoeh, R. Lutz and R. Vrijenhoek (1994): DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. Molecular Marine Biology and Biotechnology, 3: 294-299.
- Frank, C. (1982): Ecology, production and anaerobic metabolism of *Chironomus plumosus* L. larvae in a shallow lake. I. Ecology and production. Archiv für Hydrobiologie, 94: 460-91.
- Hanazato, T., T. Nagata, M. Sakuma, H. D. Park, K.

- Hirabayashi and K. Takei (2009) : Changes in ecosystem structure associated with the restoration of water quality in the shallow eutrophic Lake Suwa, Japan. *Verhandlungen der Internationalen Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie*, 30: 1085-1087.
- Hirabayashi, K., T. Hanazato and N. Nakamoto (2003): Population dynamics of *Prosilocerus akamusi* and *Chironomus plumosus* (Diptera : Chironomidae) in Lake Suwa in relation to changes in the lake's environment. *Hydrobiologia*, 506-509: 381-388.
- Hirabayashi, K., T. Hanazato, M. Ogawara, M. Sakuma and N. Nakamoto (2003): Longterm investigation of *Prosilocerus akamusi* (Tokunaga) midges (Diptera, Chironomidae) from a shallow eutrophic Lake, Suwa, in Central Japan-An attempt to forecast the massive emergence of adult midges. *Medical Entomology and Zoology*, 54: 89-96.
- 平林公男・中里亮治・沖野外輝夫 (2001): 諏訪湖におけるユスリカ研究 (2) 不快昆虫としての成虫とその防除対策に関する検討. *陸水学雑誌*, 62:139-149.
- 平林公男・安田香・那須裕・釘本完 (1987): 水質指標生物としてのユスリカ. *日本衛生学会誌*, 42:182.
- Hirabayashi, K., K. Yoshizawa, N. Yoshida, K. Ariizumi and F. Kazama (2011): Population dynamics of chironomid larvae in a eutrophic-mesotrophic lake, Lake Kawaguchi, Japan. In: *Contemporary Chironomid Studies, Proceedings of the 17th International Symposium on Chironomidae*, X. Wang and W. Liu (eds.): 296-264. Nankai University Press, Tenshin.
- 本間隆満・朴虎東 (2005) : 諏訪湖における *Microcystis* 種組成, 及び細胞あたりの microcystin 含有量の変動. *陸水学雑誌*, 66: 191-195.
- Iwakuma, T. (1986a): Ecology and production of *Tokunagayusurika akamusi* (Tokunaga) and *Chironomus plumosus* (L.) (Diptera: Chironomidae) in a shallow eutrophic lake. Ph. D thesis, Kyushu University, Japan.
- Iwakuma, T. (1986b): Factors controlling the secondary productivity of benthic macroinvertebrates in freshwaters: a review. *Japanese Journal of Ecology*, 36: 169-187.
- Jonasson, P. M. (1972): Ecology and production of the profundal benthos in relation to phytoplankton in Lake Esrom. *Oikos Supplement*, 14: 1-148.
- Kondo, N. I., R. Ueno, K. Ohbayashi, V. V. Golygina and K. Takamura (2016): DNA barcoding supports reclassification of Japanese *Chironomus* species (Diptera: Chironomidae). *Entomological Science*, 19: 337-350.
- 宮原裕一 (2009) : 諏訪湖における水質浄化対策と水質変動. *水環境学会誌*, 32: 222-225.
- Moller Pillot, H. K. M. (2009): *Chironomidae Larvae -Biology and Ecology of the Chironomina*. KNNV Publishing, The Netherlands.
- 長野県 (2015): 平成 26 年度公共用水域及び地下水の水質測定結果. <http://www.pref.nagano.lg.jp/mizutaiki/kurashi/shizen/suishitsu/25jyoujikanshikeka.html>
- 永田貴丸・平林公男 (2009) : 水質変化に伴う動物相の変化. *水環境学会誌*, 32: 238-241.
- Nakazato, R. and K. Hirabayashi (1998): Effect of larvae density on temporal variation in life cycle patterns of *Chironomus plumosus* (L.) (Diptera: Chironomidae) in the profundal zone of eutrophic Lake Suwa during 1982-1995. *Japanese Journal of Limnology*, 59: 13-26.
- Nakazato, R., K. Hirabayashi and T. Okino (1998): Abundance and seasonal trend of dominant chironomid adults and horizontal distribution of the larvae in eutrophic Lake Suwa, Japan. *Japanese Journal of Limnology*, 59: 443-455.
- 中里亮治・平林公男・沖野外輝夫 (2001): 諏訪湖におけるユスリカ研究 (1) 幼虫に関する知見を中心に. *陸水学雑誌*, 62:127-137.
- 中村剛也・本間隆満・宮原裕一・花里孝幸・朴虎東 (2010) : 諏訪湖における藍藻の現存量・種組成変化に及ぼす滞留時間の影響. *水環境学会誌*, 33: 123-129.
- Orendt, C. and M. Spies (2012): *Chironomus* (Diptera: Chironomidae), Key to the larvae of importance to biological water analysis in Germany and adjacent areas. Reprint with minor corrections. Leipzig, 24p. ISBN 978-3-00-038789-0
- 朴虎東 (2009): 諏訪湖で起きたアオコの激減とラン藻組成の変化. *水環境学会誌*, 32: 229-231.
- Polukonova, N. V., A. G. Djomin, N. S. Mugue and E. V. Shaikovich (2009): Comparison of *Chironomus usenicus* and *Chironomus curabilis* with species of the group *plumosus* (Diptera) inferred from the mitochondrial DNA gene *COI* and by the polytene chromosomes banding pattern. *Russian Journal of Genetics*, 45: 899-905.
- Specziar, A. and L. Voros (2001): Long-term dynamics of Lake Balaton's chironomid fauna and its dependence on the phytoplankton production. *Archiv für Hydrobiologie*, 152: 119-142.
- 田淵俊雄 (2009): 湖沼の流域特性と水質改善－諏訪湖と霞ヶ浦の事例から. *水環境学会誌*, 32: 226-228.

Tamura, K., G. Stecher, D. Peterson, A. Filipski and S. Kumar (2013): MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30: 2725-2729.

田中正明 (1992): 日本湖沼誌. 名古屋大学出版会. 名古屋.

Yamagishi, H. and H. Fukuhara (1971) : Ecological studies on Chironomids in Lake Suwa, 1. Population dynamics of two large Chironomids, *Chironomus plumosus* L. and *Spaniotoma akamusi* Tokunaga. *Oecologia*, 7: 309-327.

Yamagishi, H. and H. Fukuhara (1972) : Vertical migration of *Spaniotoma akamusi* larvae (Diptera : Chironomidae) through the bottom deposits of Lake Suwa., *Japanese Journal of Ecology*, 22 : 226-227.

山岸宏・古田能久・福原晴夫 (1976) : 生態学研究法講座 24 水界生物生態研究法 I - 淡水の魚類とベントス. 共立出版.