

河川水辺の国勢調査「ダム湖版」のための カイアシ類同定・計数マニュアル（2023年12月版）

1. はじめに

このマニュアルの目的はカイアシ類の同定の統一と精度の向上を図ることを目的としたもので、波下線を付けた説明は必ずその通りに行う。

ダム湖で採集されるカイアシ類は、通常カラヌス目かケンミジンコ目である。カイアシ類はノープリウス幼生（以下、ノープリウス）6期とコペディド幼体（以下、幼体）5期の脱皮令を経て、最終脱皮で成体になる（図1）。発生過程で体や付属肢の節数、棘や刺毛の数、節の形などが変化するが、図鑑に記載されるのは成体であるため図鑑で種まで同定できるのは成体に限られる。そのため、カイアシ類の種レベルの同定は成体についてのみ行う。

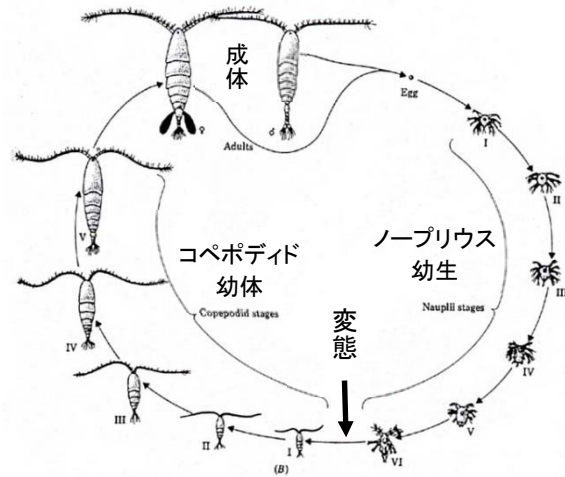


図1. カイアシ類の発育段階模式図

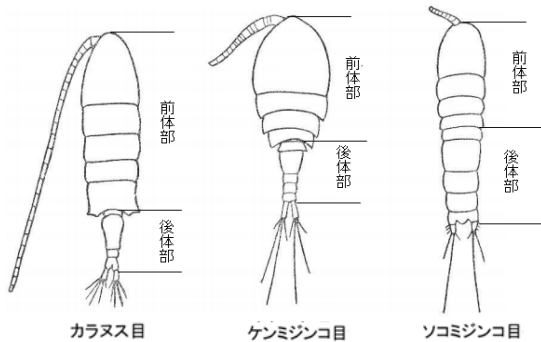


図2. カラヌス目，ケンミジンコ目，ソコミジンコ目の形態の違い（水野 1964²⁾ を改変）

ダム湖のプランクトン中に出現するカイアシ類はカラヌス目とケンミジンコ目の他に、稀にソコミジンコ目が採集されることがある。この3目は図2に示したように体型が大きく異なる。具体的には、この調査の準拠文献『日本淡水動物プランクトン検索図説』¹⁾（以下、『検索図説』）の1頁目に説明されているが、低倍率検鏡でも容易に分かるのは形態を次の表にまとめる。

	カラヌス目	ケンミジンコ目	ソコミジンコ目
体型	前体部は細長く、後体部は前体部より明瞭に細い	前体部は紡錘形で、生殖節より後の節は明瞭に細い	体節の幅が前2目と比べてほぼ同様
第1触角	長く、頭部を大きく超える	短く、前体部よりかなり短い	短く、頭部より短い

なお、淡水のソコミジンコ目はすべて底生性であり、稀に見つかった偶然水中に舞い上がったものを採集されたものと考えられる。

カイアシ類の種の同定は、顕微鏡下での解剖など図鑑には書かれていない技術が必要になる。本マニュアルではその技術とともに、この調査における計数法を解説する。

2. カイアシ類の種同定

2-1) 成体・幼体の区別

図鑑に掲載されている形態はすべて成体であり、そのため、種を同定する前に必ず成体であることを確認しなければならない。成体は次のいずれかの形態で幼体と識別できる（丸数字は図 3 の番号に対応）。

- ①卵塊を持つ個体は成体雌である（卵塊がない成体雌もあり、卵囊がない個体が幼体とは限らない）。
- ②成体雄は第 1 触角が片方（カラヌス目）か両方（ケンミジンコ目）が変形して把握型になる（幼体は変形しない。雄の成体確認はこの形質が最も確実）。
- ③成体雌は生殖節（カラヌス目では後体部の 1 節目、ケンミジンコ目では 2 節目）の内部に生殖器官が確認できる（幼体の節内部は一様で構造物はない）。ただし、幼体でも節の中心に消化管が見えることがある。
- ④成体雄の後体部節数（尾叉を除く）はカラヌス目では 5 節、ケンミジンコ目では 6 節である（幼体はカラヌス目では 4 節以下、ケンミジンコ目では 5 節以下）。
- ⑤カラヌス目成体雌とケンミジンコ目成体雌雄は、肛門節（尾叉の前の節）の長さが前節と比べて同程度か短い（幼体では肛門節は前節より 1.5 倍以上長い）。

2-2) 同定規準と表記方法

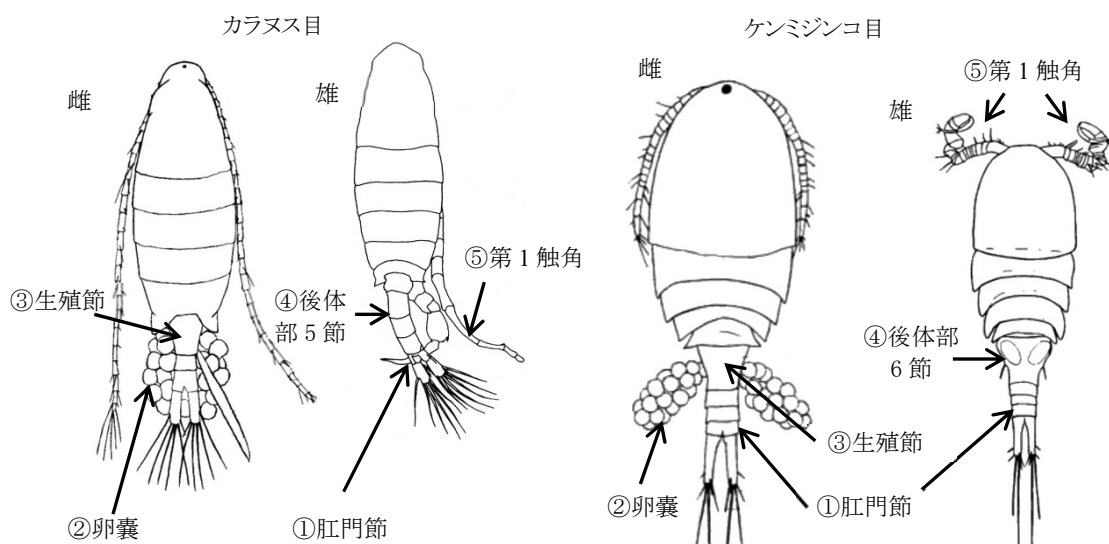


図 3. カラヌス目とケンミジンコ目の成体の特徴 (Ueda & Ohtsuka³⁾ と Witty⁴⁾を改変)。

カイアシ類の同定は原則として『検索図説』に準拠し、以下の 6 項目のルールに従う。

- (1) ダム湖の主要カラヌス目はヒゲナガミジンコ科 (Diaptomidae) であるが、『検索図説』では主に雄の第 1 触角と第 5 胸脚を使って種の検索を行っており、雌の同定ができない。そのため、ヒゲナガミジンコ科の雌成体の種同定は次の検索表に従って同定する。

『検索図説』に掲載されているヒゲナガミジンコ科雌の種の検索

1. 生殖節両側に顕著な突出部があり，右側の突出部は先端が後方を向く；前体部左後端背面観は外側に尖る…………… *Neurodiaptomus pachypodius* (図 5-5)
 - 生殖節は右側後端が後方に突出して先端が尖る；前体部後端背面観は右側が 2 山形に尖る…………… *Neurodiaptomus formosus* (図 5-4)
 - 生殖節は右側前方に先端が後方を向く尖った突起がある；前体部後端背面観は左側が外側に向いて尖る…………… *Heliodiaptomus kikuchii* (図 5-8)
 - 生殖節または前体部後端背面観が上記と異なる…………… 2
2. 尾叉の長さは幅の 2 倍以上ある；…………… *Heliodiaptomus nipponicus* (図 5-7)
 - 尾叉の長さは幅の 2 倍未満…………… 3
3. 第 4 胸節（第 5 胸節と癒合）の背面に顕著な突起があり，通常尖る；前体部後端背面観は左右とも外側に突出し，尖る…………… 4
 - 第 4 胸節の背面に通常な突起はない（突起があっても丸い）か，前体部後端背面観が左右または右が外側に突出して尖ることはない…………… 5
4. 第 1 触角は末 6 節が尾叉末端を超える；第 5 胸脚底節（第 1 節目）外側の突起の長さは内肢の半分程度…………… *Sinodiaptomus valkanovi* (図 5-1)
 - 第 1 触角は末 2 節が尾叉末端を超える；同突起の長さは内肢と同程度…………… *Sinodiaptomus sarsi* (図 5-2)
5. 生殖節前方の右側が顕著に突出し，先端に短い棘がある；第 5 胸脚底節外側に顕著な尖った突起がある…………… *Neodiaptomus schmackeri* (図 5-9)
 - 生殖節右側に顕著な突出はないか，第 5 胸脚底節外側に顕著な尖った突起はない…………… 6
6. 第 1 触角第 1 節に長大な刺毛がある（図は『検索図説』参照）；生殖節背面観は右側が突出する…………… *Nordodiaptomus alaskaensis* (図 5-11)
 - 第 1 触角第 1 節に長大な刺毛はない；生殖節側面右側に突出部はない…………… 7
7. 前体部後端背面観は左が張り出し，右側は尖った突出がない；第 5 胸脚外肢第 2 節はほぼ直線的かやや外側にカーブし，内肢は先端が細くなり末端に刺毛を欠く…………… *Eodiaptomus japonicus* (図 5-6)
 - 前体部後端背面観は両側ともほぼ同様に尖る；第 5 胸脚外肢第 2 節は内側にカーブし，内肢は先端に 2 刺毛を持つ…………… 8
8. 第 5 胸脚外肢第 1 節は第 2 節より長い；同，内肢先端の刺毛は短く内肢長の数分の 1…………… *Acanthodiaptomus pacificus* (図 5-3)
 - 第 5 胸脚外肢第 1 節は第 2 節とほぼ同長；同，内肢先端の刺毛は長く，内肢長よりやや短い…………… *Tropodiaptomus oryzanus* (図 5-10)

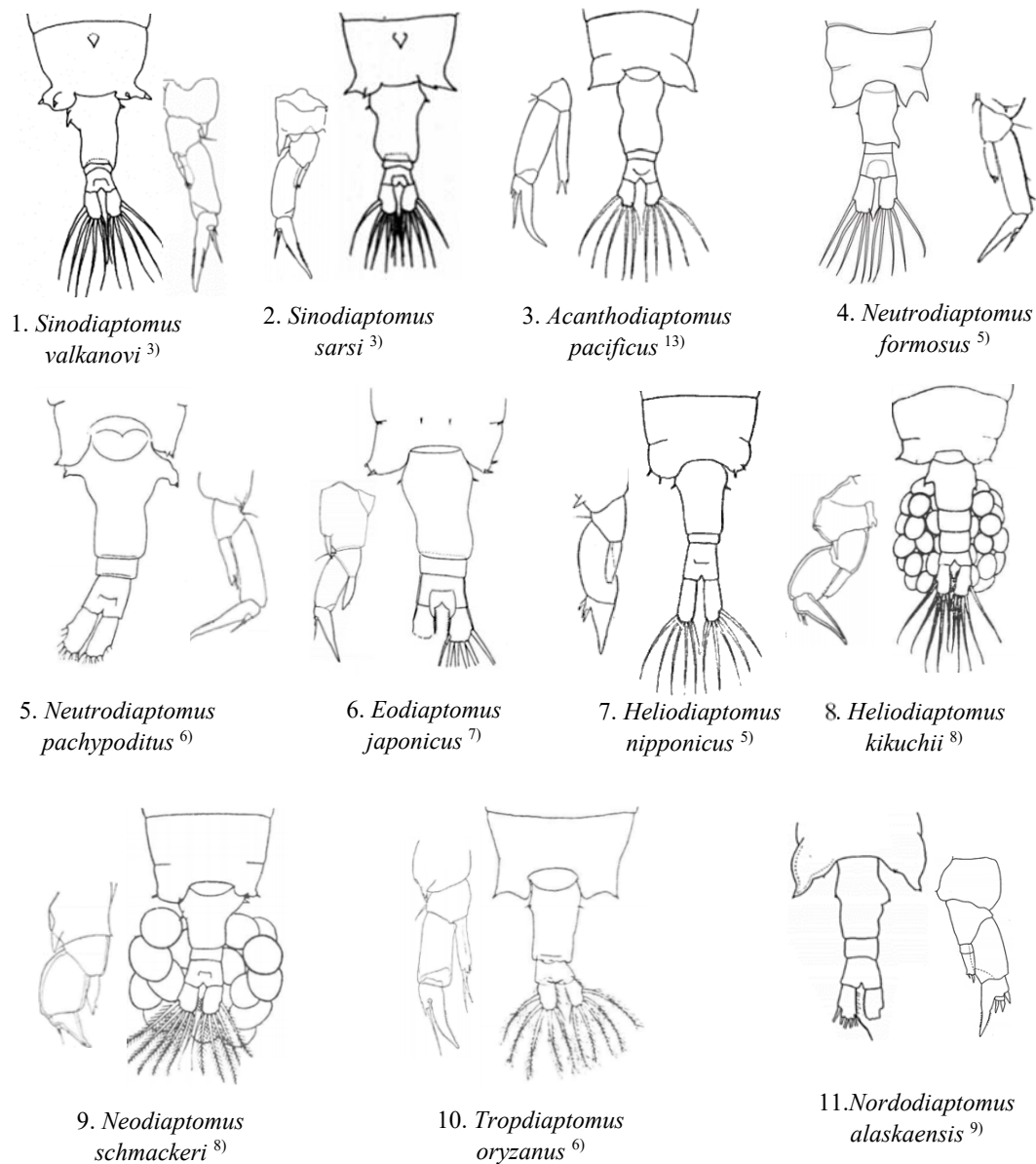


図5. 日本産カラヌス目ヒゲナガミジンコ科雌の前体部末節と後体部，および第5胸脚。

- (2) ケンミジンコ目の種同定は雌の成体についてのみ行う。ただし，*Diaicyclops* 属と *Mesocyclops* 属は種を同定せず，属名だけで「*Diaicyclops* (adult_female)」(和名は「ディアキクロプス属(成体_雌)」)のように表記する。その理由は、『検索図説』ではケンミジンコ目はほとんど雌の形態のみが検索に使われ，雄の種同定が困難であること，*Diaicyclops* 属は全体像が似たものが多く種の識別が容易ではないこと，*Mesocyclops* 属は *M. rutneri* 1種のみが『検索図説』に記載されているが，日本には複数の種が分布することが明らかになっているためである。雄の成体は種同定はせずに「*Cyclopoida* (adult_male)」(和名は「ケンミジンコ目(成体_雄)」)としてまとめる。なお、『検索図説』でケンミジンコ目の属が分からない場合は，富川・鳥越(2009)10)の検索表を使って属を同定する。
- (3) ソコミジンコ目については成体・幼体を区別せず，「*Harpacticoida*」(和名は「ソコミジンコ目)」と表記する。

(4) 『検索図説』で同定できなかったカラヌス目雌雄成体およびケンミジンコ目雌成体の不明種は次の①-④の方法で表記する。

① 『検索図説』掲載種以外の種を他の文献で同定した場合は、その種名を上記と同様に表記し、同時に同定に用いた文献名（本はその題名，論文は著者と発表年号）を備考欄に記述する。

② 『検索図説』掲載種以外の不明種は、同定できた分類階級名に sp. を付け、「Cyclops sp. (adult_female)」（種和名は「ケンミジンコ属 sp. (成体_雌)」）のように表記する。不明種が2種以上いる場合は sp. の代わりに spp. を使う。つまり、sp. や spp. は『検索図説』に掲載されていない種であることを示す（このルールはカイアシ類にのみ適用する）。

③ 『検索図説』掲載種かどうか不明な成体は、同定できた分類階級名を sp. や spp. を付けずに「Cyclops (adult_female)」（和名はケンミジンコ属（成体_雌）」）のように表記する。

(5) カラヌス目とケンミジンコ目の幼体は属以上で同定可能な分類階級で同定し、「Cyclops (copepodid)」（和名は「ケンミジンコ属（幼体）」）のように表記する。幼体の属を同定できるのは、特徴的な形態を持つ属を除き、その属の成体が同時に出現した場合に限る。

(6) カイアシ類のノープリウスはすべて「Copepoda (nauplius)」（和名「カイアシ綱(ノープリウス)」）としてまとめる。

3. 同定作業

『河川水辺の国勢調査基本調査マニュアル[ダム湖版]』（以下、『調査マニュアル』）V-18 ページには「原則採集した全量を計数する」とされているが、カイアシ類は幼体やノープリウスに比べて成体の数が非常に少ないこともあるので、同定のための検鏡は計数作業の前に必ず全量について行う。

3-1) 必要な道具類

○試料からの標本抽出

- ① 実体顕微鏡またはメカニカルステージの付いた生物顕微鏡
- ② 方眼シャーレ（生物顕微鏡で抽出作業を行う場合はラフターセル等を使う—3-2）を参照）
- ③ 先端を切り落として吸口を大きく（内径 3~4 mm）した駒込ピペット（以下、広口ピペットと呼ぶ）；サンプル瓶からシャーレに少量ずつ取り出す際に使用
- ④ ホールスライドガラス（特厚が望ましい）；シャーレから抽出した個体を一時的に入れる
- ⑤ 『離合社』の「微生物用ピンセット」（または同等品）
- ⑥ 乳酸（70%程度に希釈したもの）

○標本の解剖および検鏡

- ⑦ 生物顕微鏡か倒立顕微鏡
- ⑧ 解剖針 2 本：径 0.1 mm の昆虫針（推奨は『昆虫文献六本脚』（<http://kawamo.co.jp/ropon-ashi/>）の「標本用具」にある径 0.1 mm 微針）を割り箸や竹串の先端に接着したもの
- ⑨ 眉毛針（竹串や割り箸の先端に眉毛を接着したもの）；顕微鏡下で標本や解剖片の移動に使用
- ⑩ アルコールランプかライター；乳酸の加熱用

3-2) 手順

アオコ群体を多量に含む試料は塩素系液体漂白剤を 1/1000 量加えて卓上超音波洗浄機に数 10 秒かけると群体が破壊され、観察しやすくなる。この方法は動物プランクトンも破損する可能性があるため、初めての時は試料の一部で試してからにする。

アルコールに保存した試料は、顕微鏡下で標本が動き検鏡や抽出が難しくなるため、1/10 程度の保存用サンプルを分けた後、残りにホルマリンを 1%濃度になるように加えて検鏡用にする。同定作業は次の手順で行う。

(1) 広口ピペットを使って適量の試料を方眼シャーレに移し、実体顕微鏡を使って同定対象になる成体を探す。適量とはシャーレの底にプランクトンや懸濁物が重なっても、その下のカイアシ類が見づらくなならない程度の量をいう。大型のゴミ等があれば検鏡前にピンセットで取り除く。

(2) 実体顕微鏡下で、シャーレをゆっくり方眼線に沿って動かしながら、2-1) で説明した成体の特徴に注目してカラヌス目雌雄とケンミジンコ目雌の成体を探す。その際、小型の種は成体でも小さいので、小型種の成体を見落とさないように注意する。実体顕微鏡では成体の特徴が識別しにくい場合は生物顕微鏡を使う。その際、計数盤としてラフターセル（プランクトン計数用枠付きスライドグラス）か、容量 5mL 以上の界線付計数皿（**図 6**）を自前で作るとよい



図 6. 生物顕微鏡用計数皿の参考例。

（参考例の作り方は『日本の海産プランクトン図鑑第 2 版』¹¹⁾ 23 頁に掲載されている）。なお、参考例はアクリル板を使っているが、アクリル板はアルコールに溶けるためアルコール保存の試料には使えない。

(3) 成体らしき個体を見つけたら微生物用ピンセットを使い、標本を押しつぶさないようにやさしく挟んで抽出して乳酸溶液を滴下したホールスライドガラスに移す。複数の成体が見つかる場合は 1 種につき 3 個体ほど抽出すればよい。同じ試料中の個体が別種であればほとんど例外なく体長、体形、尾叉のいずれかに違いがある。試料全量を検鏡するまでここまでの作業を繰り返す。

(4) 抽出した個体は生物顕微鏡を使い、2-2) の説明に従って種を同定する。付属肢の節数などを観察することが必要な場合は、スライドガラスの下からアルコールランプかライターで炙り、乳酸から蒸気が出始めるまで熱すると、標本が半透明になって殻の構造が見やすくなり、かつ関節部が柔らかくなって付属肢を動かしやすくなる。さらに解剖も容易になる。加熱の際、乳酸を沸騰させたり、標本が干出したりしないように注意する。加熱したあとは触れる程度に冷えてから顕微鏡で観察する。標本が十分に半透明にならない場合は、加熱を繰り返す。

(5) 眉毛針を使って標本を乳酸のたまりの縁まで移動し、仰向けや横向けにして高倍率で検鏡すれば、解剖しなくても付属肢の構造を観察できることがある。半透明になった胸脚は重なっていても、焦点を合わせるだけで下側の肢まで観察できる。複数の脚の下になって見えにくい場合は、眉毛針を使って図7のように上になった肢を反対側に倒すことで観察できる。脚が倒しにくい場合は、乳酸を加熱して関節を柔らかくする。

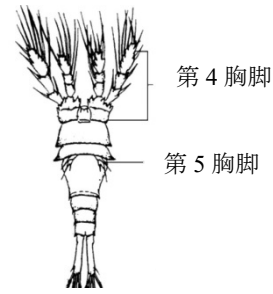


図7. ケンミジンコ目の雌を、腹側を上にして第4胸脚を前に倒し、第5胸脚が見えるようにした状態 (Witty⁴⁾ を改変)。

- (6) 上記の方法で付属肢がよく見えない場合、実体顕微鏡下で解剖針2本を使って標本を解剖し、生物顕微鏡に移して観察する。解剖は、付属肢を体から切り離そうとするのではなく、背側から針を刺して体部をいくつか切断すると付属肢を傷めない。切断した体節に複数の付属肢が付いている場合は、それを無理に分けようとせず、それぞれの付属肢に焦点を合わせたり、眉毛針で裏返したりして、できるだけそのまま観察する。
- (7) 抽出した個体が未掲載種か未同定種の成体の場合、その個体の全体像、尾叉、および特徴となる形態にそれぞれ焦点を合わせた顕微鏡写真を撮影する。それらの個体は、未解剖の場合は元試料に戻して『基本調査マニュアル』に指定された方法で保管する。ただし、元試料にプランクトンや懸濁物が多い場合、その個体に戻すと再抽出が困難になるため、別のスクリーバイアルに保管する。解剖した標本は、解剖片を見失う可能性があるため、スクリーバイアルに保管せず、新しいホールスライドガラスに希釈グリセリンを滴下し、そこに解剖片を埋入した後、カバーガラスを掛けて4辺に速乾性接着剤かマニキュアを塗って固定する。元試料と別に保管した場合は、種と元試料が分かるラベルを貼っておく。

4. 計数作業

計数作業は『基本調査マニュアル』5.3.2にある動物プランクトンの計数方法に従って行うが、効率的にかつ統一した方法で行えるように、カイアシ類以外の動物プランクトンを含めて計数方法をより詳しく説明する。

4-1) 必要な道具類

- ①メカニカルステージがある生物顕微鏡または倒立顕微鏡
- ②ラフターセル (サンプルの量が多い場合は、図6に示した計数皿)
- ③広口ピペット (『基本調査マニュアル』5.3.2では「吸口を大きくしたメスピペット」としているが5 mL か 10 mL の目盛付駒込ピペットでよい)
- ④メスシリンダー (試料の量に応じて10~100 mLのいずれか)

4-2) 計数手順

- (1) あらかじめ空の計数板を顕微鏡のメカニカルステージにセットする。この手順は、試料を入れ

た計数板を手を持って動かすと、水の動きでプランクトンが計数板の中央に偏ってしまうためである。

- (2) 試料をメスシリンダーに移し、静置沈殿法で濃縮する。これを、数回に分けて計数板に入れて検鏡するが、計数板上のプランクトンが多すぎると計数が難しくなり、少なすぎると作業効率が悪くなるため、メスシリンダー内の濃縮試料の水量を適切になるように調整する。適切な水量とは、一般的にはプランクトン沈殿量の10倍程度であるが、プランクトンの組成によって異なる。次の手順において計数板上のプランクトン量が不適切な場合は、一旦シリンダーに戻して、水の量を増やすか、さらに濃縮する方法で調整する。調整し終えたメスシリンダー内の水の量を記録する。
- (3) 広口ピペットで試料をよく攪拌し、最後にピペット内の水をすべて押し出してから計数板の容量だけ水を速やかに吸い上げ、それをメカニカルステージ上の計数板に流し入れ、直ちにそのピペットで水を計数板全面に行き渡るように広げる。この攪拌と吸い上げの操作は、試料中のプランクトンを定量的に分注するためのものであり、この操作が上手くできなければ、分注量の個体数から全量中の個体数を計算してはいけない。
- (4) 容量2 mL以上の計数板の場合は、計数板に試料を流し入れてから1分以上プランクトンが沈むまで待つ。
- (5) 計数板を横方向に移動しながら、界線間の各分類群の個体数を数えていく。検鏡倍率は、最初は種同定を行うために総合倍率100倍が必要であるが、2回目以降の分注において外見で見分けられるように慣れてきたら、低倍率検鏡（通常40倍）でもよい。ただし、その場合でも、それまでと異なる種と思われる個体を発見したら倍率を上げて検鏡することは言うまでもない。個体を計数板から抽出して同定する必要がある場合は、メカニカルステージの目盛でその位置を記録し、その分注量の計数が終わってからその位置に戻って探し、抽出する。
- (6) 分注試料のプランクトン計数が終わった時点でそれまでの計数値が50以上になった分類群は、計数済み分注量から m^3 当たりの個体数を計算してよい。ただし、カイアシ類（ノープリウスは除く）とミジンコ類は小型動物プランクトンとは違い、広口ピペットで吸い上げる方法では定量的に分注することは困難なため、必ず全量（保存用アルコールサンプルを除く）を数える。
- (7) 最後の分注ではメスシリンダーを少量の水で洗い、その水も一緒に計数板に入れて計数を行う。洗いを加えると計数板の容量を超える場合は、洗わずに最後に残った試料を計数板に入れて計数し、その後で洗い水だけを計数板に入れて計数する。

引用文献

- 1) 水野寿彦・高橋永治（2000）『日本淡水動物プランクトン検索図説 改訂版』。東海大学出版会。
- 2) 水野寿彦（1964）『日本淡水動物プランクトン図鑑』。保育社。
- 3) Ueda, H. & S. Ohtsuka (1998) Redescription and taxonomic status of *Sinodiaptomus valkanovi*, a common limnoplanktonic calanoid copepod in Japan, with comparison to the closely related *S. sarsi*. *Hydrobiologia*,

379: 159–168.

- 4) Witty, L.M. (2004) Practical Guide to Identifying Freshwater Crustacean Zooplankton, 2nd edition. Cooperative Freshwater Ecology Unit. (<http://www3.laurentian.ca/livingwithlakes/wp-content/uploads/2012/06/Zooplankton-Guide-to-Taxonomy.pdf>)
- 5) Ueda, H., K. Tomikawa & S. Ohtsuka (2020) Redescription of the freshwater calanoid copepod *Neurodiaptomus formosus* with key to females of diaptomid species in Japan. Plankton Benthos Res. 15: 178–184. (J-Stage で入手可)
- 6) 水野寿彦 (1984) 日本の陸水産 Calanoida. 『中国／日本淡水産橈脚類』たたら書房, pp. 475–499.
- 7) Ranga Reddy, Y. (1994) “Copepoda: Calanoida: Diaptomidae”, SPB Academic Publishing.
- 8) 沈嘉瑞・宋大祥 (1984) 哲水蚤目. 『中国／日本淡水産橈脚類』たたら書房, pp. 65–185.
- 9) Wilson, M.S. (1951) A new subgenus of *Diaptomus* (Calanoida, Calanoida), including an Asiatic species and a new species from Alaska. J. Wash. Acad. Sci., 41: 168–179.
- 10) 富川光・鳥越兼治 (2009) 日本産ケンミジンコ科 (甲殻亜門: カイアシ亜綱: ケンミジンコ目) の属の同定法. 広島大学大学院教育学研究科紀要第二部, 58 : 19–26. (広島大学のリポジトリで入手可)
- 11) 末友靖隆 (編) (2013) 『日本の海産プランクトン図鑑第2版』. 共立出版.
- 12) Motoda, S. (1959) Devices of simple plankton apparatus. Mem. Fac. Fish. Hokkaido Univ., 7: 73–94. (北海道大学のリポジトリで入手可)
- 13) Kikuchi, K. (1928) Freshwater Calanoida of middle and south-western Japan. Mem. Coll. Sci. Kyoto Imper. Univ. Ser. B, 4: 65–79, pls.18–22.

文責：河川水辺の国勢調査「動物プランクトン」スクリーニング・
グループ委員会 上田拓史

注：このファイルは、現在、

「河川環境データベース」(<http://www.nilim.go.jp/lab/fbg/ksnkankyo/>)

↓

「河川水辺の国勢調査の各リンク」の「生物種目録」

(<http://www.nilim.go.jp/lab/fbg/ksnkankyo/mizukokuweb/system/seibutsuList.htm>)

↓

「種の同定にあたっての参考文献および留意事項」の「浮遊性カイアシ類同定計数マニュアル」

(http://www.nilim.go.jp/lab/fbg/ksnkankyo/mizukokuweb/system/DownLoad/bunken/plancton_bunken_tyousa2.pdf)

にあります。