



# HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	尾瀬ヶ原湿原で採集されたミジンコ属 (Daphnia) について
Author(s)	占部, 城太郎; Urabe, Jotaro; 大槻, 朝 他
Citation	低温科学, 80, 403-408
Issue Date	2022-03-31
DOI	<a href="https://doi.org/10.14943/lowtemsci.80.403">https://doi.org/10.14943/lowtemsci.80.403</a>
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/84963">https://hdl.handle.net/2115/84963</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	28_p403-408_LT80.pdf



# 尾瀬ヶ原湿原で採集された ミジンコ属 (*Daphnia*) について

占部 城太郎<sup>1)</sup>, 大槻 朝<sup>1)</sup>, 牧野 渡<sup>1)</sup>, 福原 晴夫<sup>2)</sup>

2021年4月1日受付, 2021年5月17日受理

2017年10月に尾瀬ヶ原湿原で採集された *Daphnia* 6個体の 12S rRNA の DNA 塩基配列を調べたところ, 2つのミトタイプが検出された. この配列をさまざまな *Daphnia* 種と比較したところ, *D. dentifera* の塩基配列に最も近いことがわかった. さらに, 近隣地域で採集された個体との分子系統関係を調べたところ, 近隣の栃木や福島の水沼で採集された *D. dentifera* 個体とクレードを形成した. この結果から, 尾瀬ヶ原で採集された個体は *D. dentifera* であり, 尾瀬を含む南東北の *D. dentifera* 個体群と北東北や三陸・中部地域との個体群の間では, 現在, 遺伝子交流がほとんどないことが示唆された.

## *Daphnia* species in Ozegahara mire identified with genetic information

Jotaro Urabe<sup>1</sup>, Hajime Ohtsuki<sup>1</sup>, Wataru Makino<sup>1</sup>, Haruo Fukuhara<sup>2</sup>

This study examined genetically *Daphnia* specimens collected in October 2017 at Ozegahara mire (Gunma Prefecture) to identify species and to clarify phylogenetic relationships *Daphnia* individuals collected in the vicinity areas. The DNA sequence of 12S rRNA was congruent with those of *D. dentifera*. A phylogenetic analysis with *D. dentifera* specimens collected mainly in the Japan Islands showed that the specimens collected in Ozegahara mire were clustered with those collected in the north Tohoku area, including Fukushima Prefecture. The result suggests low gene flow between the current populations in the north-Tohoku and other areas in Japan.

キーワード: 尾瀬ヶ原湿原, *Daphnia* 属, 動物プランクトン, 分子系統, ミジンコ, 12S rRNA  
Ozegahara mire, *Daphnia*, zooplankton, molecular phylogeny, water flea, 12S rRNA

## 1. はじめに

ミジンコ類 (Cladocera) は湖沼のプランクトンを特徴づける動物群であるが, 狭義のミジンコ, すなわちミジンコ属 (*Daphnia* O. F. Mueller, 1785) では, 種同定のための形態的特徴に乏しく, また形態の可塑性も大きいため, 分類がしばしば混乱してきた (Benzie, 2005; Adamowicz et al., 2009; Kotov, 2015). さらに, *Daphnia* 属の形態的可塑性を考慮せず, 既存の図鑑等に掲載されている種とは形態が異なるといった理由で新種記載がされて来たことも, 種同定の困難さに拍車をかけてきた. 例えば, Kotov (2015) は, *Daphnia* 属とされる 361 種の記載を精査し,

責任著者

占部城太郎

東北大学大学院生命科学研究科水圏生態分野

Tel: 022-795-6681, Fax: 022-795-6686

urabe@tohoku.ac.jp

1) 東北大学大学院生命科学研究科

2) 河北潟湖沼研究所

〒929-0342 石川県河北郡津幡町北中条ナ 9-9

1 Graduate School of Life Sciences, Tohoku University,  
Sendai 980-8578, Japan

2 Kahokugata Lake Research Institute, Tsubata-machi,  
Kahoku-gun, Ishikawa 929-0342, Japan

その70%以上は種として扱うことに疑問が残ると指摘している。このため、*Daphnia* 属の種同定には、形態的検討だけでなく、DNA塩基配列による分子系統分類とあわせて行うことが不可欠とされている (Adamowicz et al., 2009; Kotov, 2015)。

我が国で入手できる図鑑では、湖沼に産する *Daphnia* 属として、上野 (1973) は11種、水野 (1991) は14種、田中 (2017) は16種を掲載している。しかし、その多くは欧州で記載された *Daphnia* 種と形態が類似していることを根拠に分類したものである。これら図鑑に掲載されている種のうち、これまでDNA塩基配列により我が国湖沼での分布が確認されているのは *D. pulex* Leydig, 1860; *D. pulicaria* Forbes, 1893; *D. galeata* Sars, 1864; *D. ambigua* Scourfield, 1947; *D. tanakai* Ishida, Kotov & Taylor, 2006; *D. magna* Straus, 1820; *D. longiremis* Sars, 1862; *D. cristata* Sars, 1862 の8種である (表1)。この他にDNA塩基配列から、上記図鑑には掲載されていない *D. dentifera* Forbes, 1893 (Ishida et al., 2011), *D. mitsukuri* Ishikawa, 1896 (Maruoka et al., 2019), *D. ishidai* Kotov, Garibian, Bekker, Tayler and Karavanov, 2020 (Kotov et al., 2020), *D. sinensis* Gu, Xu, Li, Dumont et Han, 2013 (Makino et al., 2017) の分布が我が国で確認されている。これら日本に生息する *Daphnia* 属の詳細は Makino et al. (in prep) で報告し、考察する予定である。

尾瀬ヶ原湿原では池塘や尾瀬沼に *Daphnia* 属 が分布していることが報告されてきた。それら研究では、尾瀬ヶ

原湿原の *Daphnia* 種は、*D. longispina* (上野, 1954; Kurasawa, 1982; Hanazato and Nohara, 1992) あるいは *D. rosea* と同定されている (平, 2000)。しかし、日本各地の湖沼で採集した *Daphnia* 属のDNA塩基配列を調べた Ishida et al. (2011) や So et al. (2015) の研究では、*D. longispina* や *D. rosea* は確認されていない。また、近年では分子系統解析から *D. rosea* や *D. hyalina* とされる種は、*D. longispina* のシノニムとするのが妥当であるとの結果も示されている (Peterusek et al. 2008)。幸いなことに、2017年から行われた第4次尾瀬総合学術調査では複数の池塘で動物プランクトンが採集され、その中に *Daphnia* 属の個体が含まれていた。そこで本研究では、尾瀬ヶ原湿原の池塘で採集された *Daphnia* 個体について、*Daphnia* 属の分子系統分類に広く使われている12S rRNA (Tayler, 1996; Ishida, 2011; Maruoka et al., 2018) のDNA塩基配列を調べて種同定を行うとともに、他地域の同種個体との分子系統関係を解析した。

## 2. 材料と方法

尾瀬ヶ原湿原上田代にある3つの池塘, KA1-04, KA4-47, KA1-08 (2ヶ所) で2017年10月20日に動物プランクトンを採集した。各池塘の位置は、金井 (1999) の付図4を参照されたい。池塘のおよその水深・開水面面積は、KA1-04では1.7 m・920 m<sup>2</sup>, KA4-47では1.1 m・100 m<sup>2</sup>, KA1-08では1.2 m・1370 m<sup>2</sup>であった (永坂ほ

表1: 我が国で出版されている動物プランクトン図鑑に掲載されている *Daphnia* 種と、DNA塩基配列で分布が確認されている *Daphnia* 種。

日本淡水生物学	日本淡水動物プランクトン検索図鑑	日本産ミジンコ図鑑	DNA塩基配列での分布確認種	
上野 (1973)	水野・高橋 (1991)	田中・牧田 (2017)		
<i>D. magna</i>	<i>D. magna</i>	<i>D. magna</i>	<i>D. magna</i>	De Gelas and De Meester (2005)
<i>D. similis</i>	<i>D. similis</i>	<i>D. similis</i>		
<i>D. pulex</i>	<i>D. pulex</i>	<i>D. pulex</i>	<i>D. sinensis</i>	Makino et. al (2017)
		<i>D. pulicaria</i>	<i>D. pulex</i>	So et al. (2015)
<i>D. biwaensis</i>	<i>D. biwaensis</i>	<i>D. biwaensis</i>	<i>D. pulicaria</i>	Urabe et al. (2003)
	<i>D. obtusa</i>	<i>D. obtusa</i>		
	<i>D. ambigua</i>	<i>D. ambigua</i>	<i>D. mitsukuri</i>	Maruoka et al. (2019)
<i>D. longispina</i>	<i>D. longispina</i>	<i>D. longispina</i>	<i>D. ambigua</i>	Makino et al. (2017)
	<i>D. rosea</i>	<i>D. rosea</i>	<i>D. dentifera</i>	Ishida et al. (2011)
			<i>D. ishidai</i>	Kotov et al. (2020)
<i>D. ezoensis</i>	<i>D. ezoensis</i>	<i>D. ezoensis</i>		
<i>D. hyalina</i>		<i>D. hyalina</i>		
<i>D. galeata</i>	<i>D. galeata</i>	<i>D. galeata</i>	<i>D. galeata</i>	Ishida & Taylor (2007)
<i>D. cucullata</i>	<i>D. cucullata</i>	<i>D. cucullata</i>		
		<i>D. tanakai</i>	<i>D. tanakai</i>	Ishida et al. (2006)
	<i>D. cristata</i>	<i>D. cristata</i>	<i>D. cristata</i>	Makino et al. (in prep.)
<i>D. longiremis</i>	<i>D. longiremis</i>	<i>D. longiremis</i>	<i>D. longiremis</i>	Makino et al. (in prep.)

か, 2021). 動物プランクトンの採集は, 各池澮の岸から目合 100  $\mu$  m (NXX13) のプランクトンネットを投げ込み, 水平曳きにより行った. 採集した動物プランクトンは環境省自然環境局生物多様性センター (2009) の動物プランクトン DNA 試料採集方法により, 現地にて 50% エタノールで固定し, 漸次濃度を上げ, 最終的に 99% エタノールに置換して保存した. 採集を行った 3 つの池澮の 4 採集箇所のうち, 池澮 KA1-04 と KA4-47 の試料には *Daphnia* 個体が含まれており, それら試料を本研究に用いた.

*Daphnia* の遺伝解析にあたっては, 抱卵している成熟個体を池澮 KA1-04 から 4 個体, KA4-47 から 2 個体を無作為に選んで行った. 各個体は個別に QuickExtract™ DNA Extraction solution (Epicentre) 中で, 65°C に 2 時間, その後 95°C に 10 分間の温度条件で処理することで DNA を抽出した. 12S rRNA 領域を増幅する PCR および塩基配列決定には Taylor et al. (1996) のプライマーを使用した. PCR の温度条件は, 94°C 2 分間の初期変性の後, 98°C 10 秒間, 50°C 30 秒間, 68°C 30 秒間を 30 サイクル行った. 実験のより詳細な方法については Maruoka et al. (2018) のとおりである. 尾瀬で採集された *Daphnia* 個体の分子系統解析は, 付表 1 に示した種及び Ishida et al. (2011) で報告されている個体の DNA 塩基配列を用いて行った. この他に, 2017 年 4 月に愛知県常滑市の溜池で採集された *D. ambigua* および

2011 年 9 月に富山県立山連峰ミクリガ池で採集された *D. tanakai* の固定サンプル, 筆者らの研究室で継代飼育されている宮城県大沢ため池で 2007 年に採集された *D. pulex* についても上記と同様の方法で塩基配列を調べ本研究の解析に用いた. 塩基配列のアラインメントおよび分子系統樹の作成は Mega X (Kumar et al., 2018) を用いて行った. 分子系統は進化距離として Kimura 2-parameter を使用した近隣結合法 (NJ 法) により作成し, ブートストラップ解析は 1000 回繰り返して行った.

本研究で調べた尾瀬ヶ原湿原の *Daphnia* 個体の塩基配列は DDBJ (DNA Data Bank of Japan; <https://www.ddbj.nig.ac.jp/index.html>) に登録されている (付表 1).

### 3. 結果と考察

尾瀬ヶ原湿原で採集した *Daphnia* 計 6 個体の 12S rRNA の塩基配列 429bp を調べた結果, 池澮 KA1-04 と KA4-47 からそれぞれ 1 つのミトタイプが検出された. そこで, 本研究では各ミトタイプを池澮番号で識別した (Oze\_KA1-04, Oze\_KA4-47). この配列を既存報告の *Daphnia* 種と比較したところ, *D. longispina* や *D. rosea* とは異なり, *D. dentifera* の配列と最も近いことがわかった (図 1). さらに, Ishida et al. (2011) が報告している日本各地の湖沼で採集された *D. dentifera* 個体との分子系統関係を調べたところ, 尾瀬ヶ原湿原で採集した

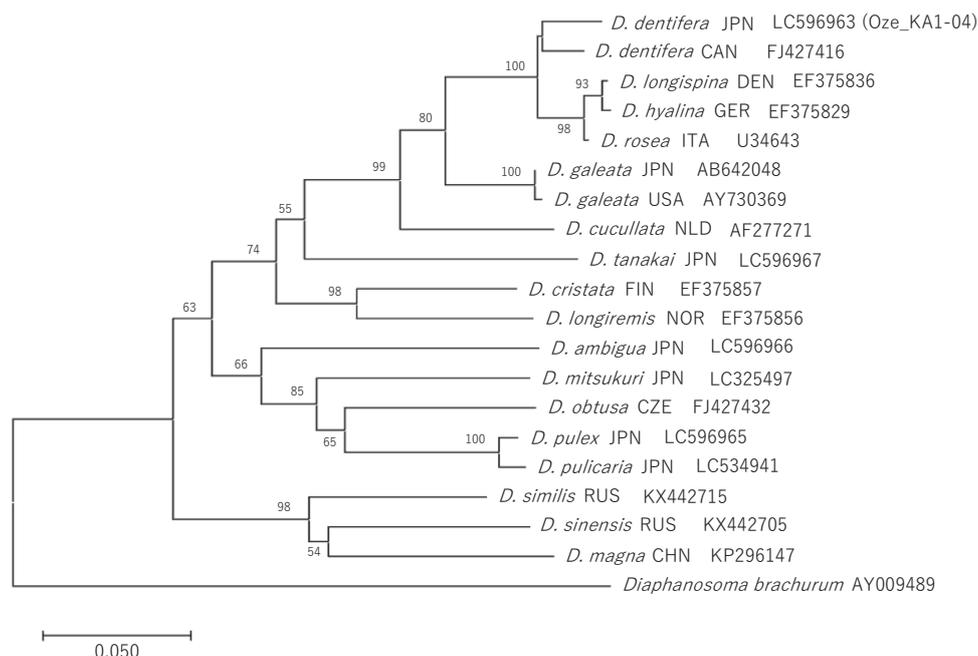


図 1: 尾瀬ヶ原湿原で採集された *Daphnia* 個体 (Oze\_KA1-04) と *Daphnia* 種との分子系統関係. 分子系統樹は, *Diaphanosoma brachyurum* を外群とし, 12S rRNA 遺伝子 391bp の DNA 塩基配列をもとに近隣結合法 (NJ 法) により作成した. 系統樹に添えてある数字は, 確率 50% 以上の Bootstrap 値 (1000 回). 各種の DNA 情報の出典は付表 1 に示した.

*Daphnia* 個体は栃木県の西ノ湖 (Tcg17) や湯の湖 (Tcg19), 福島県の会津駒ヶ岳・中門大池 (Fsm22) や西会津野沢の大沼 (Fsm24) で採集された個体とクラスターを形成した (図2). 特に, 尾瀬ヶ原湿原で採集した *Daphnia* のうち Oze\_KA4-47 は会津駒ヶ岳・中門大池で採集された個体 (Fsm22) と 12S rRNA の塩基配列が一致した.

*D. dentifera* は北米 Yellowstone 国立公園の沼沢で Forbes (1983) により採取され記載された種である. 本種は Brooks (1953) により形態についての詳細な検討が行われ, その論文でも *D. dentifera* と記述された. しかし, その後 Brooks (1957) は, 北米で *D. longispina* と同定されてきた個体とあわせて *D. rosea* とするのが

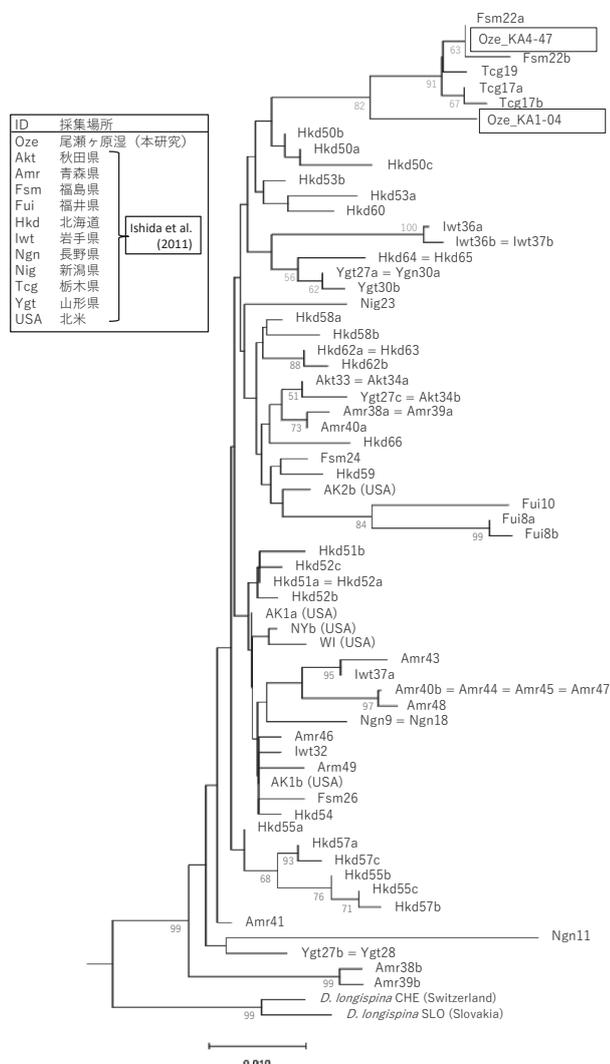


図2: 尾瀬ヶ原湿原で採集された *Daphnia* 個体 (Oze\_KA1-04, Oze\_KA4-47) と Ishida et al. (2011) が報告している日本各地及び北米で採集された *D. dentifera* 個体の分子系統関係. 分子系統樹は, 欧州産の *D. longispina* を外群とし, 12S rRNA 遺伝子 429bp の DNA 塩基配列をもとに近隣結合法 (NJ 法) により作成した. 系統樹に添えてある数字は, 確率 50% 以上の Bootstrap 値 (1000 回).

妥当と結論づけた. しかし, Taylor et al. (1996) は, *D. longispina* や *D. rosea* の原記載地が欧州であることを背景に, それらと北米産の個体とでは 12S rRNA の塩基配列が種レベルを超えて異なることから, 北米産の個体 (*D. rosea* s.l.) には北米で記載された *D. dentifera* を復活させてそれを種名として用いることを提案した. Ishida and Taylor (2007a) は日本にも北米産と同じ *D. rosea* s.l. (*D. dentifera*) が広く分布していることを明らかにし, 北米個体との系統関係を詳細に検討した. その結果, 日本の *D. rosea* s.l. は遺伝的多様性が北米に比べて高く, しかも系統的に古い遺伝子型も含まれることを発見した. Ishida and Taylor (2007a) は, 日本列島は最終氷河期に氷河に覆われなかったため各所に湖沼が残され, これらが退避地 (refugia) となったため, 日本では *D. rosea* s.l. の古い系統が保存され, 多様性も高いのではないかと推察している. なお, 日本産と北米産の *D. rosea* s.l. の 12S rRNA の塩基配列の違いは最大でも 2% 以下であり, それぞれ単系統にならない (Ishida and Taylor, 2007a, 図2). よって, 日本産の *D. rosea* s.l. も Taylor et al. (1996) にしたがって *D. dentifera* とすることが妥当といえる (Ishida et al., 2011).

12S rRNA による解析の結果, 今回調べた尾瀬ヶ原の *D. dentifera* 個体は, 福島県や栃木県で採集された個体とクレードを形成していた. この結果は, 尾瀬を含む南東北の *D. dentifera* 個体群と北東北や北陸地域の個体群との間ではしばらく遺伝交流がなかったことを示唆している.

*D. dentifera* は *D. galeata* と交雑し雑種を形成することが知られている (Ishida and Taylor, 2007b; Ishida et al., 2011; Ma et al., 2019). 一般に *D. galeata* は日本国内では底緯度・低標高の大きな湖沼に分布し, 頭部形態は尖頭型から丸頭型まで多様である. 一方, *D. dentifera* は高緯度・高標高の池沼に分布し尖頭型にならない (Ishida et al., 2011). 今回調べた *D. dentifera* の頭部形態は尖頭型ではなかった. しかし, Ishida et al. (2011) によれば, 尾瀬ヶ原湿原 (36° 56'N, 標高約 1400 m) は *D. dentifera* と *D. galeata* の分布が重なる緯度・標高に位置している. よって, 尾瀬ヶ原湿原の *Daphnia* 個体が *D. dentifera* と *D. galeata* との雑種である可能性は排除できない. この点については, 核 DNA での検討が必要である.

本研究では, 2つの池塘から採集した6個体を調べた結果であり, 尾瀬ヶ原湿原全体では他の *Daphnia* 種が分布している可能性もある. 例えば, *D. tanakai* は中部山岳地帯 (Ishida et al., 2006) のみならず, 蔵王連峰の

湿原にも分布している (Iwabuchi et al., 2017). 尾瀬ヶ原湿原のミジンコ類相の把握には、遺伝解析を含めたさらなる調査が必要である。

## 謝辞

本研究は第4次尾瀬総合学術調査の一環として、関係各機関の許可の下で行われた。現地調査にあたっては野原精一博士 (国立環境研究所) のご協力を得た。ここに記して感謝いたします。

## 引用文献

- Adamowicz, S. J., A. Petrusek, J. K. Colbourne, P. D. Hebert and J. D. Witt (2009) The scale of divergence: a phylogenetic appraisal of intercontinental allopatric speciation in a passively dispersed freshwater zooplankton genus. *Mol. Phylogenet. Evol.*, **50**, 423-436.
- Benzie, J. A. (2005) *The genus Daphnia (including daphniopsis) (anomopoda: daphniidae)* (Vol. 21). Kenobi Productions.
- Brooks, J. L. (1953) Re-descriptions of *Daphnia pulex* var. *pulicaria* Forbes, *D. thorata* F. and *D. dentifera* F. *Ame. Midl. Nat.*, **49**, 772-800.
- Brooks, J. L. (1957) The systematics of north American *Daphnia*. *Mem. Conn. Acad. Arts. Sci.*, **13**, 1-180.
- De Gelas, K., and L. De Meester (2005) Phylogeography of *Daphnia magna* in Europe. *Mol. Ecol.*, **14**, 753-764.
- Hanazato, T. and S. Nohara (1992) Seasonal succession and vertical distribution of zooplankton in Lake Ozenuma. *Jpn. J. Limnol.*, **53**, 55-63.
- Ishida, S., A. A. Kotov and D. J. Taylor (2006) A new divergent lineage of *Daphnia* (Cladocera: Anomopoda) and its morphological and genetical differentiation from *Daphnia curvirostris* Eylmann, 1887. *Zool. J. Linnean Soc.*, **146**, 385-405.
- Ishida, S. and D. J. Taylor (2007a) Mature habitats associated with genetic divergence despite strong dispersal ability in an arthropod. *BMC Evol. Biol.*, **7**, 52.
- Ishida, S. and D. J. Taylor (2007b) Quaternary diversification in a sexual Holarctic zooplankton, *Daphnia galeata*. *Mol. Ecol.*, **16**, 569-582.
- Ishida, S., A. Takahashi, N. Matsushima, J. Yokoyama, W. Makino, J. Urabe and M. Kawata (2011) The long-term consequences of hybridization between the two *Daphnia* species, *D. galeata* and *D. dentifera*, in mature habitats. *BMC Evolutionary Biology*, **11**, 209.
- Iwabuchi, T., H. Togashi, S. Okubo, Y. Tsuchiyama, H. Yamaguchi, J. Hidema and J. Urabe (2017) pH as a key factor defining the niche space of the alpine crustacean species *Daphnia tanakai*. *Limnol. Oceanogr.*, **62**, 189-199.
- 金井弘夫 (1999) 尾瀬ヶ原の池澁地図と水生植物5種の分布消長。尾瀬の総合研究, (尾瀬総合調査団編): 377-471. 尾瀬総合学術調査団, 前橋市。
- 環境省自然環境局生物多様性センター (2009) モニタリングサイト 1000 陸水域調査湖沼調査マニュアル (第5版), 環境省自然環境局生物多様性センター, 山梨県富士吉田。
- Kotov, A. A. (2015) A critical review of the current taxonomy of the genus *Daphnia* OF Müller, 1785 (Anomopoda, Cladocera). *Zootaxa*, **3911**, 184-200.
- Kotov, A. A., P. G. Garibian, E. I. Bekker, D. J. Taylor and D. P. Karabanov (2020) A new species group from the *Daphnia curvirostris* species complex (Cladocera: Anomopoda) from the eastern Palaearctic: taxonomy, phylogeny and phylogeography. *Zool. J. Linnean Soc.* in press.
- Kumar, S., G. Stecher, M. Li, C. Knyaz and K. Tamura (2018) MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol. Biol. Evol.*, **35**, 1547-1549.
- Kurasawa, H., H. Hayasi, T. Okino, Y. Watanabe, M. Ogawa, T. Morita, Y. Isobe, H. Fukuhara and A. Ootaka (1982) Ecological studies on zooplankton and zoobenthos in the pools of the Ozegahara moor. In Hara H., S. Asahina, Y. Sakaguti, K. Hogetsu and N. Yamagata (eds.), *Ozegahara: Scientific Researches on the Highmoor in Central Japan: 277-298*. Japan Society for the Promotion of Science, Tokyo.
- Ma, X., W. Hu, P. Smilauer, M. Yin and J. Wolinska (2019) *Daphnia galeata* and *D. dentifera* are geographically and ecologically separated whereas their hybrids occur in intermediate habitats: A survey of 44 Chinese lakes. *Mol. Ecol.*, **28**, 785-802.
- Makino, W., N. Maruoka, M. Nakagawa and N. Takamura (2017) DNA barcoding of freshwater zooplankton in Lake Kasumigaura, Japan. *Ecol. Res.*, **32**(4), 481-493.
- Makino, W., K. Chen, N. Maruoka, H. Ohtsuki, M. Yin and J. Urabe. The present species diversity of *Daphnia* (Crustacea; Cladocera) at the hotspot of their diversity. (in prep.)
- Maruoka, N., H. Ohtsuki, W. Makino and J. Urabe (2018) Rediscovery after almost 120 years: Morphological and genetic evidence supporting the validity of *Daphnia mitsukurii* (Crustacea: Cladocera). *Zool. Sci.* **35**, 468-475.
- 水野寿彦 (1991) ミジンコ亜綱. 日本淡水動物プランクトン検索図説 (水野寿彦・高橋永治編): 126-180. 東海大学出版, 東京。
- 永坂正夫, 福原晴夫, 高野典礼, 藤原英史 (2021) 尾瀬ヶ原湿原におけるヒツジグサ (*Nymphaea tetragona*

- Georgi) の特徴的な池塘内分布の分析. 陸水学雑誌, **82**, 189-201.
- Petrusek, A., A. Hobæk, J. P. Nilssen, M. Skage, M. Černý, N. Brede and K. Schwenk (2008) A taxonomic reappraisal of the European *Daphnia longispina* complex (Crustacea, Cladocera, Anomopoda). *Zool. Scr.* **37**, 507-519
- So, M., H. Ohtsuki, W. Makino, S. Ishida, H. Kumagai, K. G. Yamaki and J. Urabe (2015) Invasion and molecular evolution of *Daphnia pulex* in Japan. *Limnol. Oceanogr.*, **60**, 1129-1138.
- 平 誠 (2000) 尾瀬ヶ原の池塘における甲殻類プランクトン群集の種組成と現存量. 陸水学雑誌, **61** (3), 233-239.
- 田中正明, 牧田直子 (2007) 日本産ミジンコ図鑑. 共立出版, 東京.
- Taylor, D. J., P. D. Hebert and J. K. Colbourne (1996) Phylogenetics and evolution of the *Daphnia longispina* group (Crustacea) based on 12S rDNA sequence and allozyme variation. *Mol. Phylogenet. Evol.*, **5**, 495-510.
- Urabe, J., S. Ishida, M. Nishimoto and L. J. Weider (2003) *Daphnia pulicaria*, a zooplankton species that suddenly appeared in 1999 in the offshore zone of Lake Biwa. *Limnology*, **4**, 35-41.
- 上野益三 (1973 (枝角目. 日本淡水生物学 (上野益三監修): 409-430. 北隆館, 東京.
- 上野益三 (1954) 尾瀬ヶ原池沼並に尾瀬沼の動物性プランクトン. 尾瀬ヶ原, (尾瀬ヶ原総合学術調査団編): 690-701. 日本学術振興会, 東京.
- 文献** (本文中で引用した文献を除く)
- Adamowicz, S. J., P. D. N. Hebert and M. C. Marinone (2004) Species diversity and endemism in the *Daphnia* of Argentina: a genetic investigation. *Zool. J. Linn. Soc.*, **140**, 170-205.
- Richter, S., A. Braband, N. Aladin and G. Scholtz (2001) The phylogenetic relationships of "predatory waterfleas" (Cladocera: Onychopoda, Haplophoda) inferred from 12S rDNA. *Mol. Phylogenet. Evol.*, **19**, 105-13.
- Popova, E. V., A. Petrusek, V. Korinek, J. Mergeay, E. I. Bekker, D. P. Karabanov, Y. R. Galimov, T. V. Neretina, D. J. Taylor and A. A. Kotov (2016) Revision of the Old World *Daphnia* (*Ctenodaphnia*) *similis* group Cladocera: Daphniidae). *Zootaxa*, **4161**, 1-40.
- Schwenk, K., D. Posada and P. D. Hebert (2000) Molecular systematics of European *Hyalodaphnia*: the role of contemporary hybridization in ancient species. *Proc. Biol. Sci.* **267**, 1833-1842.
- Taylor, D. J., H. L. Sprenger and S. Ishida (2005) Geographic and phylogenetic evidence for dispersed nuclear introgression in a daphniid with sexual propagules. *Mol. Ecol.* **14**, 525-537.
- Tsugeki, K. N., M. N. Honjo and M. Kuwae (2020) Intraspecific variation in ephippial size between *Daphnia galeata* and *D. pulicaria* in Lake Biwa, Japan. *Limnology* (in press).

附表1: 図1の作成に用いた *Daphnia* 種の採集地および DNA 塩基配列の GenBank アセクション番号と出典文献.

<i>Daphnia</i> 種	採集地	GenBank Accession 番号	文献
<i>D. dentifera</i>	尾瀬 KA1-04	LC596963	本研究
<i>D. dentifera</i>	尾瀬 KA4-47	LC596964	本研究
<i>D. dentifera</i>	カナダ	FJ427416	Adamowicz et al. (2009)
<i>D. galeata</i>	日本	AB642048	Ishida et al. (2011)
<i>D. galeata</i>	アメリカ	AY730369	Taylor et al. (2005)
<i>D. longispina</i>	デンマーク	EF375836	Petrusek et al. (2008)
<i>D. rosea</i>	イタリア	U34643	Taylor et al. (1996)
<i>D. hyalina</i>	ドイツ	EF375829	Petrusek et al. (2008)
<i>D. cucullata</i>	オランダ	AF277271	Schwenk et al. (2000)
<i>D. obtusa</i>	チェコ	FJ427432	Adamowicz et al. (2009)
<i>D. mitsukuri</i>	日本	LC325497	Maruoka et al. (2018)
<i>D. ambigua</i>	日本	LC596966	本研究
<i>D. tanakai</i>	日本	LC596967	本研究
<i>D. pulex</i>	日本	LC596965	本研究
<i>D. pulicaria</i>	日本	LC534941	Tsugeki et al. (2020)
<i>D. similis</i>	ロシア	KX442715	Popova et al. (2016)
<i>D. sinensis</i>	ロシア	KX442705	Popova et al. (2016)
<i>D. magna</i>	中国	KP296147	Cheng et al. (unpubl.)
<i>Diaphanosoma brachyurum</i>	ドイツ	AY009489	Richter et al. (2001)