

# 岩手県高松の池から採集された*Eucyclops roseus* Ishida, 1997 (カイアシ綱, キクロプス目, キクロプス科) とその種内変異に関する考察

菅 孔太郎<sup>1)\*+</sup>, 佐々木あゆ<sup>2)+</sup>, 伊藤 えみ<sup>2)</sup>, 松政 正俊<sup>1)</sup>

(受理 2023年12月8日)

New record of *Eucyclops roseus* Ishida, 1997 (Copepoda: Cyclopoida: Cyclopidae) from Takamatsunoike Pond, Iwate Prefecture, Japan, with discussions of its intraspecific genetic and morphological variation

Kotaro KAN<sup>1)\*+</sup>, Ayu SASAKI<sup>2)+</sup>, Emi ITOH<sup>2)</sup> and Masatoshi MATSUMASA<sup>1)</sup>

## 要旨

2023年3月6日に岩手県盛岡市の高松の池において、県内2例目となる淡水性カイアシ類である*Eucyclops roseus* Ishida, 1997が得られた。得られた標本は、①肛門板が顕著に凸である、②尾叉末端刺毛の最外方とその内側のものとの間が広く空いている、③第2触角基節後面の遠位端に顕著な微棘群がある、④尾叉外縁の鋸歯は末端に向かうにつれて大きくなる、⑤第1小顎のpalpに円状の微棘列があるという本種の形態的条件をすべて満たしていた。一方で、これまでヨーロッパなどから報告されていた種内変異（第4胸脚底節刺におけるsetulation patternの非対称性）が国産標本においても観察された。このため、*E. roseus*を含む*E. serrulatus* groupの同定形質として本形質を使用する際には注意が必要である。また、本研究で得られた*E. roseus*のミトコンドリア12S rRNA遺伝子の配列のBLAST検索の結果、ウクライナ産およびドイツ産の個体の配列との間に同種と判断できるレベルの相同性（92%台）が確認された。本研究で得られた遺伝子配列はアクセッション番号LC785700-LC785706でDDBJ/ENA/GenBankの国際塩基配列データベースに登録された。

**Keywords:** coxal spine P4, DNA analysis, *Eucyclops serrulatus*, freshwater copepoda, intraspecific variation

<sup>1)</sup> 岩手医科大学 教養教育センター 生物学科

Department of Biology, Center for Liberal Arts and Sciences, Iwate Medical University, 1-1-1 Idai-dori, Yahaba, Shiwa, Iwate 028-3694, Japan

<sup>2)</sup> 岩手医科大学 医学部医学科 第3学年

Third year student of School of Medicine, Department of Medicine, Iwate Medical University, 1-1-1 Idai-dori, Yahaba, Shiwa, Iwate 028-3694, Japan

\* Corresponding author: Kotaro Kan, E-mail: kotaroka@iwate-med.ac.jp, kotaro.kan@gmail.com

+ Equal contribution

## 1. はじめに

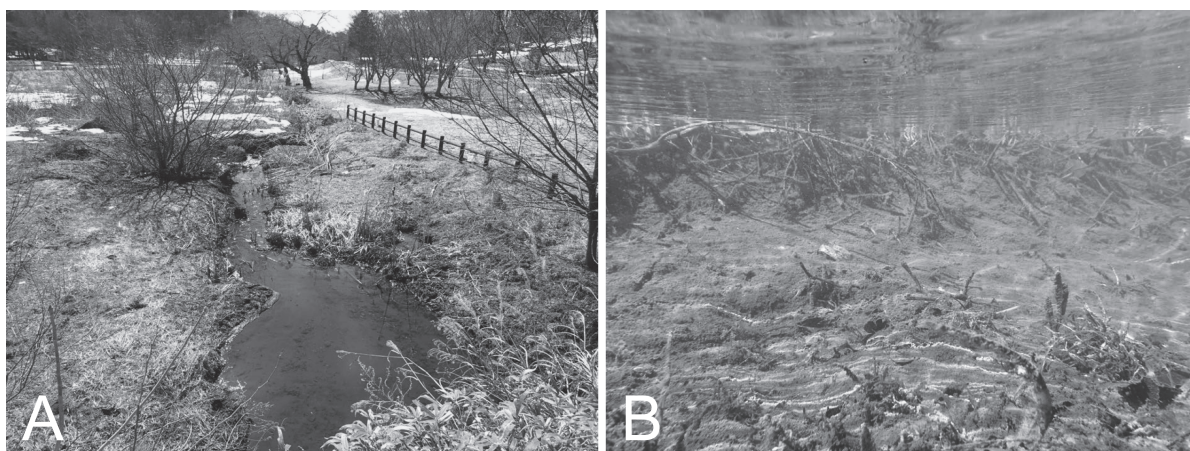
カイアシ類は、節足動物門 甲殻亜門 カイアシ綱に属する生物の総称であり（大塚・田中 2020）、主に海産であるが、一部のグループは池や川、湖、水田などの淡水域にも生息し、熱帯域から寒帯域まで広く分布している。大部分の種は浮遊性であるが、中には底生性や寄生性のものも存在する。岩手県においては、これまで少なくとも3目4科18属31種の地下水性種を含む淡水性カイアシ類（寄生性種を除く）が記録されている（阿部ほか 2021）。本研究では、2023年3月6日に岩手県盛岡市の高松の池においてカイアシ類の調査を行ったところ、*Eucyclops (Eucyclops) roseus* Ishida, 1997と思われる種が採集された。

本種は沖縄県国頭村の比地川から採集された標本に基づき新種として記載され、同時に行われた標本検討によってドイツにも分布することが確かめられた（Ishida 1997）。その後のアフリカのヴィクトリア湖での発見（Ishida 1998）を皮切りに、世界各地から報告が続き、これまでに韓国（Lee et al. 2005, Chang 2012）、中国（Chertoprud et al. 2017）、ロシア（Hołyńska et al. 2021）、ウズベキスタン（Gaponova & Hołyńska 2022）、南イラク（Anufriieva et al. 2014）、ウクライナ（Anufriieva et al. 2014, Anufriieva & Shadrin 2016）、ルーマニアおよびハンガリー（Gaponova & Hołyńska 2022）、スーダン（Idris & Mohamed 2015）から記録されている。このうちウクライナの分布に関しては東アジア由来の個体が帰化したものと考えられており、現地の生態系への影響が危惧されている（Anufriieva et al. 2014, Anufriieva & Shadrin 2016）。

本種は国内では北海道から西表島にかけて広く分布することが報告されているが（石田 2002）、岩手県においては、岩手医科大学矢巾キャンパスの貯水池からの報告（阿部ほか 2021）がこれまでの唯一の記録である。本研究では、矢巾キャンパスから12 km北に位置する高松の池から得られた*E. roseus*について、その微細形質を含む形態を精査するとともに、阿部ほか（2021）によって解析されたミトコンドリアCOI遺伝子に加え、ミトコンドリア12S rRNA遺伝子および核18S rRNA遺伝子の塩基配列を取得し、国際塩基配列データベースに登録されている配列との比較を行った。

## 2. 材料と方法

採集は、2023年3月6日の11時頃に岩手県盛岡市の高松の池にて行った。高松の池は1630年頃に築造された人口溜池であり、満水面積 10.5 ha、最大水深 3.7 mの本池と、その上流部に連なる満水



**Figure 1.** Landscape of sampling site in Shisuien, Takamatsunoike Pond, Iwate Prefecture on 6 March 2023.  
A: View of the influent water from upstream. B: Underwater image below the surface at the sampling site.

面積 1.1 haの芝水園からなっている（佐藤 1982）。高松の池からのカイアシ類の記録としては、牧（1982）による本池からのケンミジンコ属の一種（*Cyclops* sp., 池水 1 Lあたり470個体）の報告が唯一と思われる。採集は、多目的芝生広場（旧盛岡競馬場跡地）を貫流して芝水園北側に流入する水路（39.726817 N, 141.146913 E）（Fig. 1）において実施し、柄付小型プランクトンネット（ケニス, HP）を用いて表層および底層を水平に曳網した結果、プランクトンネットの底管には多くの動物プランクトンが視認された。採集地点の最大水深は 30 cm, デジタル水質計（HORIBA, WQ-320J）の水温表示は 4℃であった。得られたプランクトンサンプルは、125 μmのメッシュで濾過したのち 70%エタノールで固定し、4℃で保管した。

キクロプス目（Cyclopoida）ではオスが記載されていない種が多く、検索表はメスのみで作られていてオスの種同定が不可能なため（上田 2018）、本研究ではメス成体のみを観察した。2個の卵囊をもつメス成体を実体顕微鏡（Olympus, SZX7, SZX12）下で選別し、デジタル一眼カメラ（Olympus, E-M1 Mark II）で全体写真を撮影した。その後、割り箸の先端にシガ微針（志賀昆虫, No.251）を接着して作成した解剖針を用いて解剖を行い、エタノールもしくはグリセリンで封じたプレパラートを作成して生物顕微鏡（Olympus, BX51）を用いて形態観察を行い、デジタルカメラ（Olympus, DP71）によって拡大画像を撮影した。

キクロプス目の属および亜属までの同定は富川・鳥越（2009）とAlekseev（2019）の検索表にしたがい、水野（1977）と水野・高橋（2000）も参照した。ノコギリケンミジンコ属（*Eucyclops*）の種同定はChang（2012）、Alekseev（2019）、Alekseev（2023）の検索表にしたがい、Ishida（1997）、石田（2002）、Anufriieva et al.（2014）、Gaponova & Hołyńska（2022）も参照した。

同定形質のひとつである尾叉の長さとの比（L/W）の算出にあたっては、石田（2002）の方法にしたがい、尾叉の最大長と最大幅（Fig. 3F）を取得画像から計測した。体長は石田（2002）の方法と同様に吻端から刺毛を除く尾叉末端までの長さとした。第2触角の基節における微棘群の区分はGaponova & Hołyńska（2022）にしたがった。

DNA解析では、選定された*E. roseus* 3個体のうち2個体は体全体を、1個体は卵囊2個をサンプルとして使用し、ミトコンドリアDNAのCOI, 12S rRNAおよび核DNAの18S rRNAの遺伝子領域の部分配列を取得した。DNAの抽出はRichlen & Barber（2005）の方法にしたがい、Chelex100（Bio-Rad社）を10%となるように加えたTEバッファー（pH 8.0）を使用し、95℃で20分間インキュベートした。抽出したDNA（無希釈）を鋳型として、PCR法によりミトコンドリアCOI遺伝子部分配列の増幅を行った。PCRは1サンプルあたり1 μlの鋳型、8.8 μlの滅菌蒸留水（DDW）、10 μlの2×KOD One PCR Master Mix -Blue-（東洋紡）、各0.1 μlのフォワードプライマーとリバースプライマー（濃度 50 μM）を含む20 μlの反応液で行った。COIのプライマーペアは初めにMeyer（2003）のdgLCO-1490とdgHCO-2198、およびFolmer et al.（1994）のLCO1490とHCO2198を使用したが、DNAの増幅が確認できなかったため、Prosser et al.（2013）のZplankF1\_t1とZplankR1\_t1を使用した（Table 1）。12Sおよび18SのプライマーペアはそれぞれMachida et al.（2004）のL13337-12SとH13845-12S、Spears et al.（1992）の18s329と18sIを使用した（Table 1）。PCRのサイクル条件は、COIでは98℃ 10秒、43℃ 5秒、68℃ 1秒の3ステップを5サイクルの後、98℃ 10秒、49℃ 5秒、68℃ 1秒の3ステップを35サイクル、12Sと18Sでは98℃ 10秒、50℃ 5秒、68℃ 1秒の3ステップを40サイクルとした。PCR産物は、1.6%アガロースゲルを用いた電気泳動で目的断片長の増幅の有無の確認を行った後、Enz-Sap（EdgeBioSystems社）で精製を行った。シーケンスプライマーは、COIについてはMessing（1983）のM13FとM13Rを、他の2領域についてはPCRプライマーと同じものを使用し、シーケンス解析はEurofins Genomics社（東京）によって行われた。フォワードおよびリ

**Table 1.** List of PCR and sequence primers used in the present study.

Gene	Primer	Usage	Sequence (5'→3')	Reference
COI	ZplankF1_t1	PCR (forward)	TGTAACACGACGGCCAGTTCTASWAATCATAA RGATATTGG	Prosser et al. (2013)
COI	ZplankR1_t1	PCR (reverse)	CAGGAAACAGCTATGACTTCAGGRTGRCCRAAR AATCA	Prosser et al. (2013)
COI	M13F	Sequencing (forward)	TGTAACACGACGGCCAGT	Messing et al. (1983)
COI	M13R	Sequencing (reverse)	CAGGAAACAGCTATGAC	Messing et al. (1983)
12S	L13337-12S	PCR (forward)	YCTACTWTGYTACGACTTATCTC	Machida et al. (2004)
12S	H13845-12S	PCR (reverse)	GTGCCAGCAGCTGCGGTTA	Machida et al. (2004)
18S	18s329	PCR (forward)	TAATGATCCTTCCGCAGGTT	Spears et al. (1992)
18S	18sI	PCR (reverse)	AACTCAAAGGAATTGACGG	Spears et al. (1992)

**Table 2.** Ratio of length to maximum width (L/W) of caudal rami and the DDBJ/ENA/GenBank accession numbers of the specimens used in the present study.

Individual no.	Caudal rami L/W	Accession number (length: bp)		
		COI	12S	18S
1	5.4	-	-	-
2	4.8	-	-	-
3	5.6	-	-	-
4	5.0	-	-	-
5	4.6	-	-	-
6	5.0	-	-	-
7 <sup>1</sup>	6.1	-	-	LC785706 (630)
8 <sup>2</sup>	-	LC785700 (658)	LC785702 (413)	LC785704 (630)
9 <sup>2</sup>	-	LC785701 (652)	LC785703 (413)	LC785705 (624)

<sup>1</sup> Only egg sacs were used for DNA analysis. <sup>2</sup> Morphology was not examined.

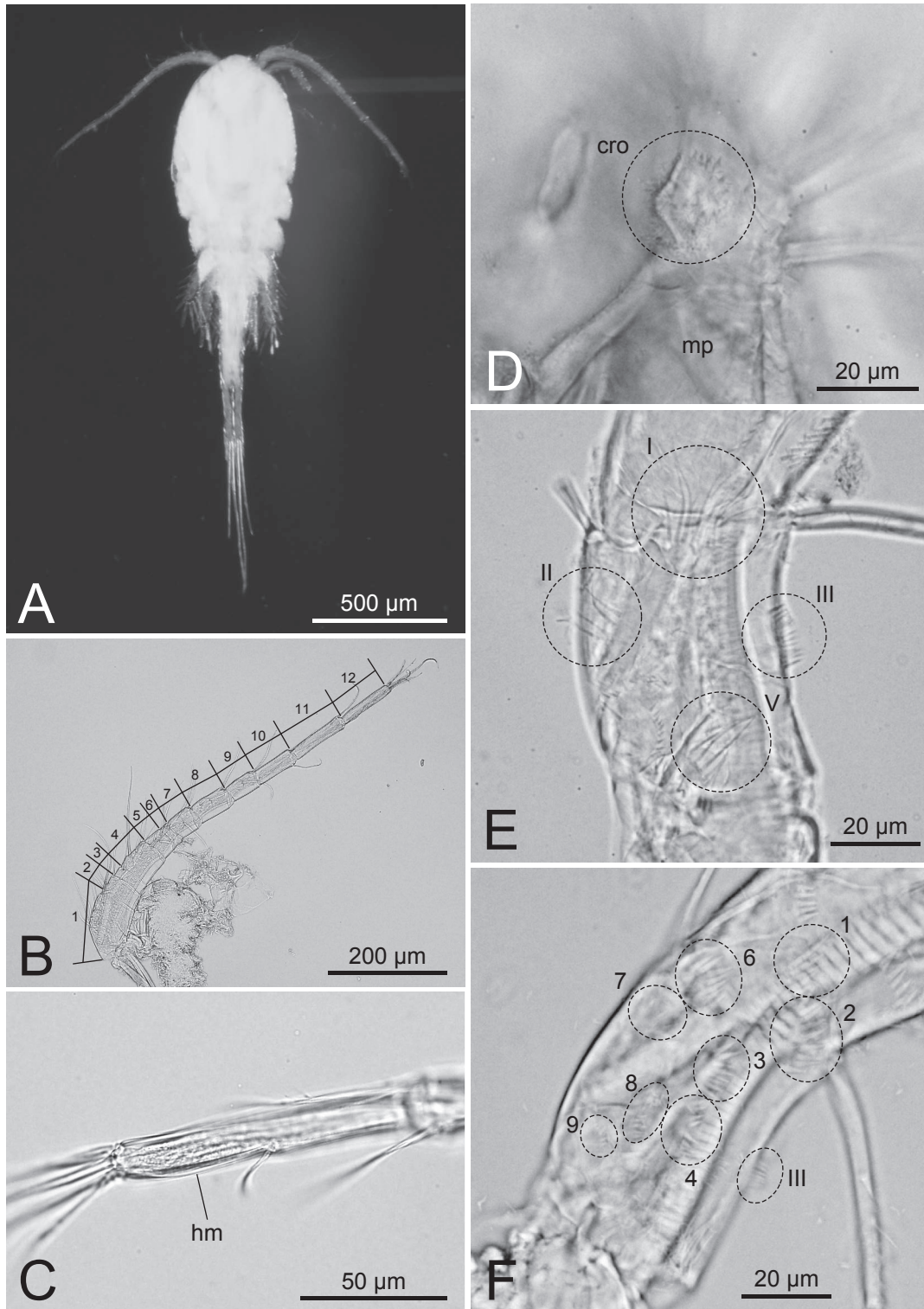
ベースの相補的配列はMEGAX ver.10.2.6 (Kumar et al. 2018) を用いてアセンブルを行った。本研究で得られた各遺伝子の部分配列は、Table 2 に記載のアクセッション番号でDDBJ/ENA/GenBank の国際塩基配列データベースに登録を行い、NCBI (National Center for Biotechnology Information, USA) Webサイト (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) のBLAST (Basic Local Alignment Search Tool) を用いた相同性検索により国際塩基配列データベースに登録されている塩基配列との比較を行った。

一般に、核遺伝子は高度に保存的な遺伝子領域であり、キクロプス科のカワリオオケンミジンコ *Macrocyclops albidus* (Jurine, 1820) のように汎世界的な分布を示しながらも大陸間で18Sの配列が完全に一致するようなケースもみられる (Karanovic & Krajicek 2012)。本研究では、核遺伝子よりも進化速度が速く、近縁種間での系統関係の推定に使用されることが多いミトコンドリア遺伝子を用い、形態同定の妥当性を検証した。

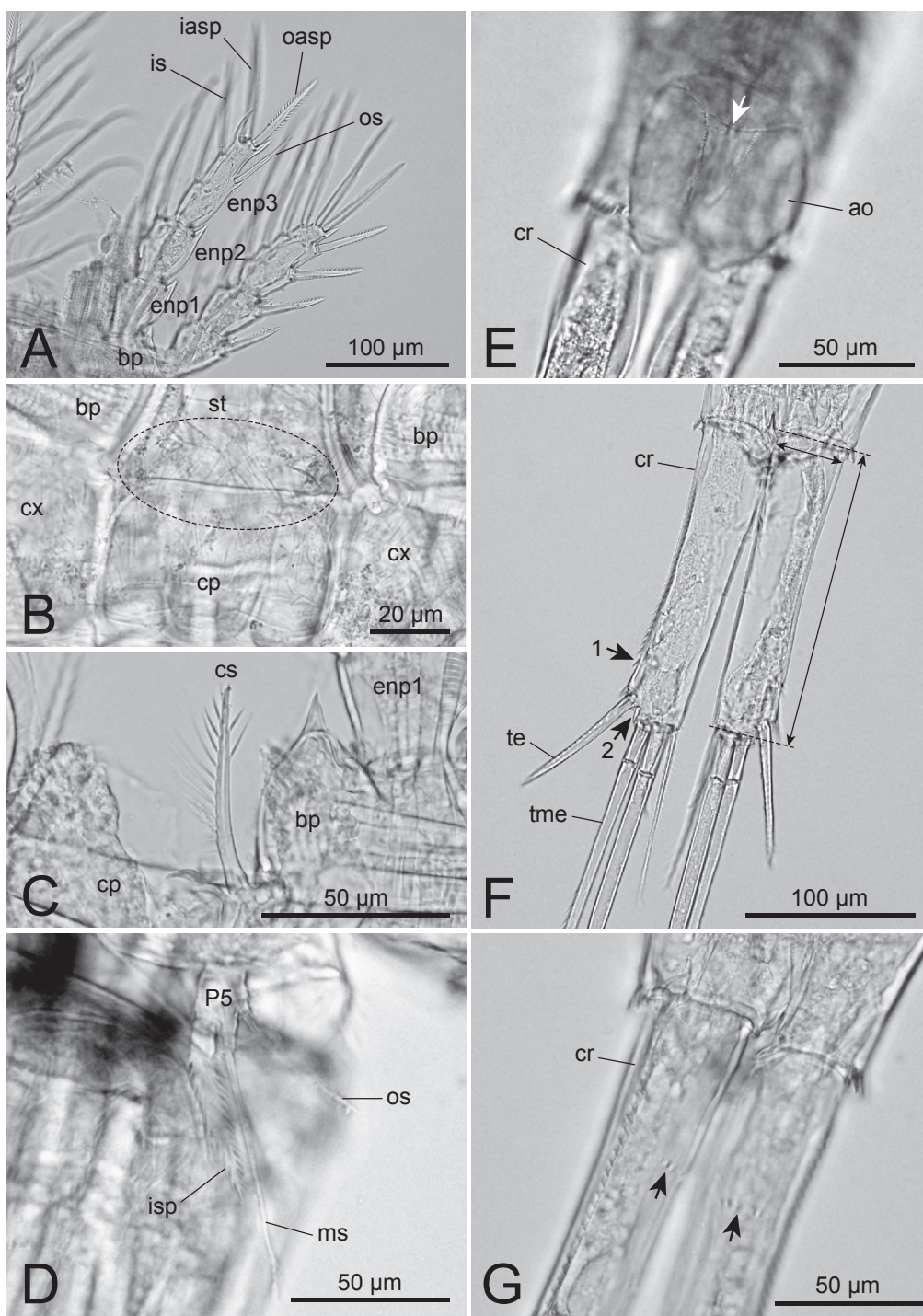
### 3. 結果

#### 3. 1. 高松の池から採集された *Eucyclops roseus* Ishida, 1997 (メス成体) の形態

体長は 1.4 mmであった (Fig. 2A; confirmed in ind. no. 7 in Table 2)。第1触角は12節で (Fig. 2B; no. 1-7)、末節には透明膜がみられた (Fig. 2C; no. 3, 4, 6, 7)。第1小顎のpalpの側面には円状の



**Figure 2.** Stereomicrograph (A) and Light micrographs (B-F) of female of *Eucyclops roseus* collected in the influent water in Shisuien, Takamatsunoike Pond. **A:** Fixed specimen of ind. no. 7 in Table 2, dorsal view. Egg sacs were removed for DNA analysis. **B:** A1 (antennula) (第1触角) of ind. no. 6, showing the boundaries of the 12 segments. **C:** Distal segment of A1 (第1触角末端節) of ind. no. 7. **D:** A circular row of spinules of maxillular palp (第1小顎のpalpの円状の微棘列) of ind. no. 6. **E:** A2 (antenna) basis (第2触角基節) of ind. no. 6, frontal view. **F:** A2 basis of ind. no. 6, caudal view. **cro:** circular row of spinules(円状の微棘列), **hm:** hyaline membrane(透明膜), **mp:** maxillular palp (第1小顎のpalp).



**Figure 3.** Light micrographs of female of *Eucyclops roseus* collected in the influent water in Shisuien, Takamatsunoike Pond. **A:** P4 (第4胸脚) of ind. no. 6 in Table 2. **B:** P4 coupler (第4胸脚連結板) of ind. no. 6. **C:** Coxal spine of P4 (第4胸脚底節刺) of ind. no. 6. **D:** P5 (第5胸脚) of ind. no. 6. **E:** Anal operculum (肛門板) of ind. no. 7. **F:** Caudal rami (尾叉) of ind. no. 6, dorsal view. **G:** Caudal rami of ind. no. 6, ventral view. **ao:** anal operculum (肛門板), **bp:** basipodite (基節), **cp:** coupler (連結板), **cr:** caudal ramus (尾叉), **cs:** coxal spine (底節刺), **cx:** coxa (底節), **ep1:** 1st endopodal segment (内肢第1節), **ep2:** 2nd endopodal segment (内肢第2節), **ep3:** 3rd endopodal segment (内肢第3節), **iasp:** inner apical spine (内側頂端の刺), **is:** inner seta (内側の刺毛), **isp:** inner spine (内縁刺), **ms:** medial seta (中央の刺毛), **oasp:** outer apical spine (外側頂端の刺), **os:** outer seta (外側の刺毛), **P5:** 5th pereopod (第5胸脚), **st:** setules (細毛), **te:** terminal external seta (末端の外側の刺毛), **tme:** terminal medium external seta (末端の中間外側の刺毛).

微棘列がみられた (Fig. 2D; no. 6). 第2触角基節前面のI区とII区には毛状の微棘群がみられ (Fig. 2E; no. 1, 3, 5, 6), 基節後面の外側遠位端の1区には微棘群がみられた (Fig. 2F; no. 2, 4, 6). 第4胸脚はそれぞれ3節の内肢と外肢からなり, 内肢3節目の末端には隣接する刺よりも短い長さの刺毛がみられた (Fig. 3A; no. 2-4, 6, 7). 第4胸脚の連結板の後縁には細毛がみられた (Fig. 3B; no. 2, 4, 6). 第4胸脚の底節刺については, 内縁と外縁でsetulation patternが非対称である, すなわち内縁は全体的に細毛で覆われているが外縁には末端部にしか細毛がないという特徴を左右の底節刺で共通してもつ個体がみられた一方で (no. 5), 左右の底節刺のうち一方のsetulation patternが非対称 (Fig. 3C; no. 6) で, もう片方が対称 (つまり内縁外縁ともに全体が細毛で覆われている) という, 異なる特徴をあわせもつ個体も確認された. 第5胸脚は著しく退化して1節からなり, 1刺2刺毛がみられ, 内縁刺と外側の刺毛はほぼ等長であった (Fig. 3D; no. 1-7). 肛門板は顕著に凸型であった (Fig. 3E, 矢印; no. 7). 尾叉の長さとの幅の比 (L/W) は4.6-6.1 (average  $\pm$  SD:  $5.2 \pm 0.49$ ) であり (Table 2), 尾叉外縁には末端に向かうにつれて大きくなる鋸歯がみられた (Fig. 3F, 矢印1; no. 1-7). 尾叉末端の尾刺毛は最外方とその内側のものとの間が広く空いていた (Fig. 3F, 矢印2; no. 2-7). 尾叉腹側の中央よりやや基部側には, 横に1列の棘列が見られた (Fig. 3G; no. 6, 7)

### 3. 2. DNA解析

DNA解析の結果, 体全体を解析に供した*E. roseus* 2個体からはCOI, 12S rRNA, 18S rRNA領域のすべての配列が, 卵囊のみを解析に供した1個体からは18S rRNA領域の配列のみが得られた (Table 2). いずれの遺伝子領域においても, 配列は個体間で完全に一致していた. BLAST検索の結果, 本研究で得られたCOI配列 (Accession number: LC785700, LC785701) は, 阿部ほか (2021) によって岩手医科大学矢巾キャンパス貯水池から報告されている*E. roseus*の配列 (LC654669) とそれぞれ97.42%と97.39%で一致し (Query cover: 100%), 次いでYoung et al. (unpublished) による*Eucyclops* sp. の配列 (KJ020567) とそれぞれ87.21%と87.12%で一致した (Query cover: 99%, 100%). 12S rRNA遺伝子の配列 (LC785702, LC785703) は, Hamrová et al. (2012) によってウクライナとドイツから報告されている*E. cf. serrulatus* clade IVの配列 (JX134320, JX134309) とそれぞれ92.76%と92.56%で一致した (Query cover: 93%). 18S rRNA遺伝子の配列 (LC785704, LC785705, LC785706) は, Park et al. (unpublished) の韓国産Invertebrate environmental sampleの配列 (GU070895) や, Alekseev et al. (2006) のロシア産*E. (Denticyclops) macruroides* (Lilljeborg, 1901) の配列 (AJ746329) およびSpears and Abele (1997) の*E. (E.) serrulatus* (Fischer, 1851) の配列 (L81940) と100%一致した (Query cover: 100%).

### 4. 考察

本研究で検討された標本は, ①第1触角の節数, ②第2触角基節前面の遠位端における2グループの微棘群の有無, ③第4胸脚内肢3節目の末端の刺毛の長さ, ④第5胸脚の節数と内縁刺の長さ, ⑤尾叉の長さとの内側の刺毛の有無, 外側の鋸歯の発達具合などの特徴から, 富川・鳥越 (2009) とAlekseev (2019) にしたがいのコギリケンミジンコ属*Eucyclops*亜属に属する種であると判断された. さらに, 石田 (2002) やLee et al. (2005) における*E. roseus*の判別形質, すなわち①肛門板が顕著に凸である (Fig. 3E, 矢印), ②尾叉末端刺毛の最外方とその内側のものとの間が広く空いている (Fig. 3F, 矢印2), ③第2触角基節後面の先端部に顕著な微棘群がある (Fig. 2F), ④尾叉外縁の鋸歯は末端に向かうにつれて大きくなる (Fig. 3F, 矢印1), ⑤第1小顎のpalpに円状の微棘列がある (Fig. 2D) といった点が観察されたことから, 本研究で高松の池から採集された標本は*E.*

*roseus*であると判断された。本研究のCOI配列と阿部ほか(2021)の*E. roseus*の配列の差異(3%)はMakino et al. (2017)が示している淡水動物プランクトンのCOI配列の種内変異の閾値(7%)の範囲内であったことから、本研究の標本が*E. roseus*であることが確かめられた。本種のCOI配列の国際塩基配列データベースへの登録は本研究が2例目となる。

Alekseev & Defaye (2011)はアフリカのマラウイ湖産の*E. (E.) agiloides* (Sars, 1909)の標本の検討に基づき、*E. roseus*を*E. agiloides*の亜種に位置づけ、その後のAlekseev (2019)も同様の見解を示している。これに対してAnufrieva et al. (2014)は、Alekseev & Defaye (2011)で検討されたマラウイ湖産標本は、Sars (1909)の*E. agiloides* (タイプ産地: ヴィクトリア湖)とは別種である可能性があり、*E. agiloides*の形態が十分に解明されない限りは*E. roseus*は独立した種として扱うことが適切であると指摘している。その後、Hołyńska et al. (2021)はロンドン自然史博物館に所蔵されていた*E. agiloides*のホロタイプ標本とパラタイプ標本の検討結果をもとに*E. roseus*を独立種として扱うべきであると結論付けた。ところが、Alekseev (2023)は、Hołyńska et al. (2021)の再記載には不備があるために部分的にのみ有用であると述べ、亜種関係の見直しは行っていない。以上のように、本種の分類学的位置付けについては統一的な見解が得られていないのが現状である。このため、本研究では暫定的な判断として、国内におけるこれまでの記録に倣って*E. roseus*を独立種として扱った。

*Eucyclops roseus*の第2触角基節には2グループの毛状の微棘群が存在することが知られているが、Alekseev & Defaye (2011)やAlekseev (2019)では基節の後面、Ishida (1997)や石田 (2002)、Lee et al. (2005)、Chang (2012)、Anufrieva et al. (2014)、Idris & Mohamed (2015)、Gaponova & Hołyńska (2022)では基節の前面でみられるとされている。この前後関係については、阿部ほか(2021)において再確認の必要性があると指摘されている。本研究において2グループの毛状の微棘群の位置を未解剖の状態を検証した結果、第2触角基節の「前面」に存在することが確認された。

Ishida (1997)や石田 (2002)における*E. roseus*のスケッチ(それぞれFig. 21, Fig. 12o)、および阿部ほか(2021)の本種の形態の記載文からは、第4胸脚底節刺のsetulation patternが内縁と外縁で対称であることが読み取れる。しかし本研究では少なくとも2個体において当部位のsetulation patternが非対称であった(Fig. 3C)。国産標本に関する上記以外の記録(石田ほか 1991, as *E. serrulatus*; Kawabata & Defaye 1994, as *E. cf. serrulatus*; 石田 1994, as *E. speratus*; Ueda et al. 1996a, as *E. cf. speratus*; Ueda et al. 1996b, as *E. cf. speratus*; Ueda & Ishida 1997, as *E. cf. speratus*; Ishida 1998; 大高ほか 1999; Ishida & Hiruta 1999; 石田・大高 2005)はスケッチや形態の記載文を欠いているため、真偽のほどは不明であるが、この形質の種内変異の報告は国内初と思われる。一方、国外においては、Chang (2012)の韓国産標本のスケッチ(Fig. 23H)やAnufrieva et al. (2014)のクリミア半島産標本のスケッチ(Fig. 3D)、Gaponova & Hołyńska (2022)のウクライナ・キーウ産標本の顕微鏡画像(Fig. 5C)において、底節刺の非対称なsetulation patternが示されている。また、Anufrieva et al. (2014)は、南イラクの個体群内、あるいは1個体の左右においてさえも、対称・非対称の両方のsetulation patternがみられたことを報告している。したがって、Anufrieva et al. (2014)が指摘しているように、このように種内でも変わりうる形質を*E. roseus*を含む*E. serrulatus* groupの同定形質として重要視すること(Alekseev et al. 2006, Alekseev & Defaye 2011)には問題があると考えられる。

本研究の*E. roseus* 7個体の尾叉のL/Wの変異幅(4.6-6.1)は、これまでの国産標本における報告、すなわちKawabata & Defaye (1994, as *E. cf. serrulatus*)における石川県産標本(5.2-6.8)、Ueda et al. (1996b, as *E. cf. speratus*)における山口県産標本(4.7-6.6)、Ueda et al. (1996a, as *E.*



cf. *speratus*) における宮崎県産標本 (5.2-6.6) の値と概ね一致した。また, Gaponova & Holyńska (2022) におけるウクライナおよびその近隣諸国の標本の変異幅 (4.2-6.5) も, これらと大差ない値であった。Alekseev et al. (2019) は, ノコギリケンミジンコ亜属の検索表の3番目の分岐において, 尾叉のL/Wが3.6-6 か > 6 のいずれかで, 以降のグループを二分している。*Eucyclops roseus*は, 原記載のL/Wが5であること (Ishida 1997) を理由にL/W=3.6-6のグループに含められていると考えられるが, 上述のようにL/Wが6より大きい個体については*E. serrulatus*などの他種に誤同定される恐れがある。したがって, 少なくとも*E. roseus*の種同定においては, 尾叉のL/Wは厳密な意味では実用的な検索形質になり得ないことに留意する必要があるだろう。

*Eucyclops roseus*がヨーロッパから相次いで記録されるようになったのは比較的最近のことである。Anufrieva et al. (2014) と Anufrieva & Shadrin (2016) は, それぞれウクライナのクリミアとルガンスクから本種を記録し, ①本種はthermophilic speciesであること, ②本種はヨーロッパではこれまでドイツのオルデンブルクからのみ記録されていること (Ishida 1997), ③本種は形成されて間もない水域から得られたこと, ④ウクライナは旧北区の東西を行き来する渡り鳥の通過地点となっていることを理由に, 本種は渡り鳥によって東アジアからもたらされた外来種であると結論付けた。その後, Gaponova & Holyńska (2022) は, ウクライナとその近隣諸国における本種の膨大な出現記録を報告し, これまで本種がヨーロッパにおいて*E. serrulatus*として誤同定されてきた可能性があることを指摘するとともに, 東ヨーロッパ南部は*E. roseus*の自然分布域の一部であるとの見方を示した。これらの記録に記載されている本種の形態と高松の池の標本の形態は概ね一致していた。本研究で得られた12S rRNA遺伝子の配列は, Hamrová et al. (2012) によってウクライナのキーウとドイツのハンブルクから報告されている*E. cf. serrulatus* clade IVの配列と92%台で一致した。Bláha et al (2010) がキクロプス科*Acanthocyclops*属において種間の12S rRNA遺伝子の遺伝的距離 (K2P) が12.4-19.4%であると報告していることを踏まえると, *E. cf. serrulatus* clade IVは*E. roseus*であると判断できる。なお, Gaponova & Holyńska (2022) は, このウクライナ産*E. cf. serrulatus* clade IVの採集地点において*E. roseus*の存在を確認していることから, clade IVの2個体は*E. roseus*である可能性が高いと推測しているが, 本研究の12S rRNA遺伝子のBLAST検索の結果からもこの推測が支持された。今後, ヨーロッパの*E. roseus*の由来 (在来か外来か) を明らかにするためには, アジア, ヨーロッパ, アフリカ各地における網羅的なDNA情報の集積・比較が必要であると思われる。

## 5. 謝辞

盛岡市都市整備部公園みどり課, 岩手県立博物館の高橋雅雄専門学芸調査員, 日本野鳥の会もりおかの熊谷淳一事務局次長には, 調査についての便宜を図っていただいた。石巻専修大学理工学部生物科学科の阿部博和准教授にはDNA解析ならびに本稿の執筆に関して多大なるご指導をいただいた。広島大学の長澤和也名誉教授にはカイアシ類の文献についてご教示いただいた。本研究は, 岩手医科大学医学部第3学年の共同第1著者 (佐々木) の研究室配属プログラムの一環として行われたものである。本学教養教育センター生物学科の三枝聖准教授, 内藤雪枝助教には, 学生の受け入れや研究機器の使用等についてご配慮いただいた。この場を借りて心より感謝申し上げる。

## 6. 引用文献

阿部博和, 佐々木あゆ, 伊藤えみ: 15年の時を経て形成されたプランクトンの世界を覗く ~岩手医科大学矢巾キャンパスの貯水池に生息するカイアシ類~。岩手医科大学教養教育研究年報, 56: 7-19. (2021)

- Alekseev, V.R.: Revision of the genus *Eucyclops* (Claus, 1893) and subfamily Eucyclopinae of the world fauna. *Arthropoda Selecta*, 28 : 490–514. (2019)
- Alekseev, V.: The modern distribution of two *Eucyclops* (*Eucyclops*) Claus, 1893 species (Cyclopoida: Copepoda) as a reflection of the Tethys Sea evolution. *Hydrobiologia*, <https://doi.org/10.1007/s10750-023-05198-3>. (2023)
- Alekseev, V.R. and Defaye, D.: Taxonomic differentiation and world geographical distribution of the *Eucyclops serrulatus* group (Copepoda, Cyclopidae, Eucyclopinae). In: Defaye, D., von Vaupel Klein, J.C. and Suárez-Morales, E. (eds). *Studies on Freshwater Copepoda: A Volume in Honour of Bernard Dussart*. *Crustaceana Monographs*, 16. Brill, Leiden. pp. 41–72. (2011)
- Alekseev, V.R., Dumont, H.J., Pensaert, J., Baribwegure, D. and Vanfleteren, J.R.: A redescription of *Eucyclops serrulatus* (Fischer, 1851) (Crustacea: Copepoda: Cyclopoida) and some related taxa, with a phylogeny of the *E. serrulatus*-group. *Zoologica Scripta*, 35 : 123–147. (2006)
- Anufriieva, E.V. and Shadrin, N.V.: Current invasions of East Asian cyclopoids (Copepoda, Cyclopoida) in Europe: new records from eastern Ukraine. *Turkish Journal of Zoology*, 40 : 282–285. (2016)
- Anufriieva, E., Holyńska, M. and Shadrin, N.: Current invasions of Asian cyclopid species (Copepoda: Cyclopidae) in Crimea, with taxonomical and zoogeographical remarks on the hypersaline and freshwater fauna. *Annales Zoologici*, 64 : 109–130. (2014)
- Bláha, M., Hulák, M., Slouková, J. and Těšitel, J.: Molecular and morphological patterns across *Acanthocyclops vernalis-robustus* species complex (Copepoda, Cyclopoida). *Zoologica Scripta*, 39 : 259–268. (2010)
- Chang, C.Y.: Continental Cyclopoids I. *Invertebrate Fauna of Korea*, 21 : 1–92. (2012)
- Chertoprud, E.S., Sinev, A.Y. and Dimante-Deimantovica, I.: Fauna of Cladocera and Copepoda from Xinjiang Uyghur Autonomous Region (China). *Zootaxa*, 4258 : 561–573. (2017)
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R. and Vrijenhoek, R.: DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome *c* oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3 : 294–299. (1994)
- Gaponova, L. and Holyńska, M.: New data on the Western Palearctic distribution of *Eucyclops roseus* (Copepoda: Cyclopidae), with notes on its taxonomic relationships. *North-Western Journal of Zoology*, 18 : 135–142. (2022)
- Hamrová, E., Krajicek, M., Karanovic, T., Černý, M. and Petrusek, A.: Congruent patterns of lineage diversity in two species complexes of planktonic crustaceans, *Daphnia longispina* (Cladocera) and *Eucyclops serrulatus* (Copepoda), in East European mountain lakes. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 166 : 754–767. (2012)
- Holyńska, M., Sługocki, Ł., Ghaouaci, S. and Amarouayache, M.: Taxonomic status of Macaronesian *Eucyclops agiloides azorensis* (Arthropoda: Crustacea: Copepoda) revisited—morphology suggests a Palearctic origin. *European Journal of Taxonomy*, 750 : 1–28. (2021)
- Idris, G.M. and Mohamed, El-A.El-R.: Taxonomy and geographical distribution of freshwater Cyclopidae (Crustacea: Copepoda) of the Sudan. *Sudan Journal of Science*, 7 : 36–66. (2015)
- 石田昭夫：多摩川上流域のカイアシ類. *陸水学雑誌*, 55 : 125–129. (1994)
- Ishida, T.: *Eucyclops roseus*, a new Eurasian copepod, and the *E. serrulatus-speratus* problem in

- Japan. Japanese Journal of Limnology, 58 : 349-358. (1997)
- Ishida, T.: *Eucyclops biwensis*, a new cyclopoid copepod (Crustacea) from Lake Biwa, Japan, with records of a morphologically identical population of the new species and *E. roseus* from Lake Victoria, Kenya. Bulletin of the Biogeographical Society of Japan, 53 : 23-27. (1998)
- 石田昭夫：日本産淡水ケンミジンコ図譜. 日本生物地理学会会報, 57 : 37-106. (2002)
- Ishida, T. and Hiruta, S.: *Eucyclops speratus* from Japan (Crustacea: Copepoda: Cyclopoida). Biogeography, 1 : 87-91. (1999)
- 石田昭夫, 大高明史：青森, 岩手, 秋田の淡水カイアシ類. 陸水生物学報, 20 : 1-4. (2005)
- 石田昭夫, 橋本進, 高田祐子:1990年の屈斜路湖の浮遊性および底生性甲殻類について. 北海道さけ・ますふ化場研究報告, 45 : 61-64. (1991)
- Karanovic, T. and Krajicek, M.: When anthropogenic translocation meets cryptic speciation globalized bouillon originates; molecular variability of the cosmopolitan freshwater cyclopoid *Macrocyclus albidus* (Crustacea: Copepoda). International Journal of Limnology, 48 : 63-80. (2012)
- Kawabata, K. and Defaye, D.: Description of planktonic copepods from Lake Kahoku-gata, Japan. Japanese Journal of Limnology, 55 : 143-158. (1994)
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C. and Tamura, K.: MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. Molecular Biology and Evolution, 35 : 1547-1549. (2018)
- Lee, J.M., Min, G-S. and Chang, C.Y.: *Eucyclops serrulatus* species group (Copepoda: Cyclopoida: Cyclopoidae) from Korea. The Korean Journal of Systematic Zoology, 21 : 137-156. (2005)
- Machida, R.J., Miya, M.U., Nishida, M. and Nishida, S.: Large-scale gene rearrangements in the mitochondrial genomes of two calanoid copepods *Eucalanus bungii* and *Neocalanus cristatus* (Crustacea), with notes on new versatile primers for the srRNA and COI genes. Gene, 332 : 71-78. (2004)
- 牧陽之助：微生物相からみた高松池の水質汚濁の現状. 高松池現況調査報告書（盛岡市, 岩手大学 編）. 盛岡市, 岩手大学. pp. 39-49. (1982)
- Makino, W., Maruoka, N., Nakagawa, M. and Takamura, N.: DNA barcoding of freshwater zooplankton in Lake Kasumigaura, Japan. Ecological Research, 32 : 481-493. (2017)
- Messing, J.: New M13 vectors for cloning. Methods in Enzymology, 101 : 20-78. (1983)
- Meyer, C.P.: Molecular systematics of cowries (Gastropoda: Cypraeidae) and diversification patterns in the tropics. Biological Journal of the Linnean Society, 79 : 401-459. (2003)
- 水野寿彦：日本淡水プランクトン図鑑. 保育社. 353 pp. (1977)
- 水野寿彦, 高橋永治：日本淡水動物プランクトン検索図説. 東海大学出版会. 551 pp. (2000)
- 大高明史, 加藤秀男, 上野隆平, 石田昭夫, 安倍弘, 井田宏一, 森野浩：十和田湖の底生動物相. 国立環境研究所研究報告, 146 : 55-71. (1999)
- 大塚攻, 田中隼人：顎脚類（甲殻類）の分類と系統に関する研究の最近の動向. タクサ, 48 : 49-62. (2020)
- Prosser, S., Martínez-Arce, A. and Elias-Gutiérrez, M.: A new set of primers for COI amplification from freshwater microcrustaceans. Molecular Ecology Resources, 13 : 1151-1155. (2013)
- Richlen, M.L. and Barber, P.H.: A technique for the rapid extraction of microalgal DNA from single live and preserved cells. Molecular Ecology Notes, 5 : 688-691. (2005)

- Sars, G.O.: Zoological results of the third Tanganyika expedition, conducted by Dr. W. A. Cunningham, F.Z.S., 1904-1905. Report on the Copepoda. Proceedings of the Zoological Society of London, 79 : 31-77. (1909)
- 佐藤晃三 : 高松池の概要および水収支. 高松池現況調査報告書 (盛岡市, 岩手大学 編). 盛岡市, 岩手大学. pp. 1-16. (1982)
- Spears, T. and Abele, L.G.: Crustacean phylogeny inferred from 18S rDNA. In: Fortey, R.A. and Thomas, R.H. (eds). Arthropod Relationships, Chapman and Hall, London. pp. 169-187. (1997)
- Spears, T., Abele, L.G. and Kim, W.: The monophyly of brachyuran crabs: a phylogenetic study based on 18S rRNA. Systematic Biology, 41 : 446-461. (1992)
- 富川光・鳥越兼治 : 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. (2009)
- 上田拓史 : 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 (2018年12月改訂版). 国土交通省河川水辺の国勢調査 河川環境データベースシステム. <http://www.nilim.go.jp/lab/fbg/ksnkankyo/mizukokuweb/system/seibutsuList.htm> (2018) 最終アクセス : 2023年10月17日
- Ueda, H. and Ishida, T.: Species composition and description of limnoplanktonic copepods from Okinawa. Plankton Biology and Ecology, 44 : 41-54. (1997)
- Ueda, H., Ishida, T. and Imai, J.: Planktonic cyclopoid copepods from small ponds in Kyushu, Japan. I. Subfamily Eucyclopinae with descriptions of micro-characters on appendages. Hydrobiologia, 333 : 45-56. (1996a)
- Ueda, H., Ohtsuka, S. and Kuramoto, T.: Cyclopoid copepods from a stream in the limestone cave Akiyoshido. Japanese Journal of Limnology, 57 : 305-312. (1996b)