



1978 年以降の再確認となった京都府宇治川産のツチフキ

岡田龍也^{1,2}・重里憲広²・芝原 知³・杉山智治³

Author & Article Info

¹ 近畿大学農学部 (奈良市)

r_okada@mail.a-kankyo.info (corresponding author)

² 有限会社エー環境研究所 (大阪市)

aie@a-kankyo.info

³ 日本工営株式会社大阪支店 (大阪市)

a6828@n-koei.co.jp

Received 04 August 2023

Revised 14 August 2023

Accepted 19 August 2023

Published 21 August 2023

DOI 10.34583/ichthy.35.0_10

Ryuya Okada, Norihiro Shigesato, Tomo Shibahara and Tomoharu Sugiyama. 2023. Records of the Chinese False Gudgeon, *Abbottina rivularis* (Cyprinidae) from the Uji River in Kyoto Prefecture, Japan since 1978. Ichthy, Natural History of Fishes of Japan, 35: 10–15.

Abstract

The Chinese False Gudgeon, *Abbottina rivularis* (Basilewsky, 1855) (Cyprinidae), was rediscovered from the Uji River, the Yodo River basin, Kyoto Prefecture, Japan since 1978. Molecular phylogenetic analysis based on sequences of the cytochrome *b* region of the mitochondrial DNA of the present specimens with sequences from previous studies indicated that the haplotypes of the Uji River specimens were included in the Honshu clade of the Japanese lineage, which had been suggested as endemic to Japan in the previous study.

宇治川は京都府を流れる一級河川であり、日本最古の湖である琵琶湖を源流として大阪湾に注いでいる (Fig. 1). 上流の滋賀県内では瀬田川、中流の京都府内では宇治川、下流の大阪府内では淀川と名前を変えていくのが特徴的である (国土交通省, 2000). 川瀬ほか (2017) に準じ、本稿では瀬田川、宇治川、淀川を合わせて淀川流域と呼称する。

ツチフキ *Abbottina rivularis* (Basilewsky, 1855) は、コイ目コイ科に分類される体長 4–8 cm ほどの小型の純淡水魚で、日本を含む東アジアに広く分布する (中村, 1969; Vidthayanon and Kottelat, 1995; 細谷, 2001). 本種は、平野部の池沼や河川の浅い砂泥底など止水域もしくは流れの緩やかな環境に好んで生息する (細谷, 2001; 川瀬, 2019). 本種の雄は雌よりも顕著に大きくなり、産卵期に

あたる 4–7 月になると、胸鰭前縁の追星の出現や背鰭の伸長などの顕著な二次性徴を示す (塚原, 1954; 川瀬, 2019). 本種は、日本国内では濃尾平野以西の本州と九州北部に自然分布するが、関東平野の一带、東北地方および北陸地方の一部で国内移入が確認されており、濃尾平野と九州地方の一部の個体群も国内の他地域からの移入の可能性が高いと報告されている (Jang-Liaw et al., 2019). また、琵琶湖を含む近畿地方のツチフキ個体群についての在来性は不明である (Jang-Liaw et al., 2019). 淀川流域において、本種の分布域は限られ、個体数が少なく、近年では確実な採集記録がないという理由から京都府レッドリストで絶滅寸前種、大阪府レッドリストでは絶滅危惧 I 類に指定されており、保全の上で危機的な状況にある (大阪生物多様性保全ネットワーク, 2014; 京都府環境部自然環境保全課, 2015). 最近、小粥ほか (2023) は、京都府内の白川、鴨川、桂川などの複数地点から本種を報告し、これは京都府からの 38 年ぶりの再確認となった。一方、宇治川では 1978 年を最後に本種の生息確認の報告はない (長田, 1978; 河合, 2003; 平松・内藤, 2009; 川瀬, 2019).

著者らは、国土交通省近畿地方整備局琵琶湖河川事務所より受託した調査業務において、宇治川でツチフキを採集したので報告する。また、近畿地方に分布するツチフキ個体群の在来性を検証する一助とするため、宇治川で採集された個体の遺伝的特徴 [ミトコンドリア DNA (mtDNA)] についても報告する。なお、本稿に記載したデータは、琵琶湖河川事務所より許可を得て使用した。

材料と方法

標本採集 2021 年 10 月 12 日に京都府の宇治川で、タモ網を用いて 1 個体のツチフキを採集した (Fig. 2). 生息保護の観点から採集場所の詳細は記載しない。日本魚類学会の「研究材料として魚類を使用する際のガイドライン」に基づき、本調査業務のアドバイザーから、採集したツチフキの個体群に与える影響を回避するため、採集個体を放流するよう指示を受けた。そのため、標準体長の計測、外部形態の観察 (種同定)、写真撮影および DNA 解析用の

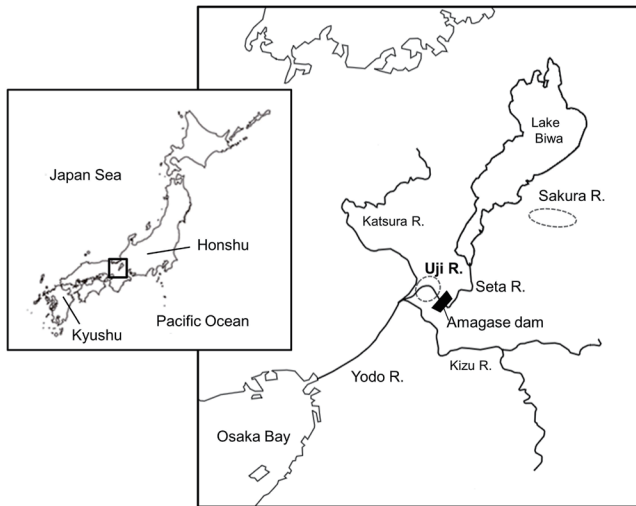


Fig. 1. Map showing the collection locality (dotted circle) in the Uji River, Yodo River basin, Japan.

試料採取を行った後、採集個体は直ちに放流した。標準体長は、ノギスを用いて 1 mm の精度で計測した。外形形態を観察は、細谷 (2013) と川瀬 (2019) を参考にした。DNA 解析用の試料は、右胸鰭の一部 (数 mm) を切り取り、工業用アルコールの「エコノール (今津薬品工業株式会社)」で固定した。試料は、近畿大学農学部で保存されている。採集個体の写真は、神奈川県立生命の星・地球博物館の魚類写真資料データベース (KPM-NR 238163A-E) に登録・保管されている。同館における資料番号は、博物館の電子データベース上では桁を埋めるための 0 を含めた 7 桁の数字が用いられているが、ここでは有効数字で表記した。

DNA 分析の比較のため、2021 年 10 月 16 日に滋賀県の佐久良川から、上記と同じ方法で採集・試料採取したツチフキを用いた。

DNA 分析 宇治川から採集されたツチフキ 1 個体、佐久良川から採集されたツチフキ 2 個体を供試材料とした。試料からゲノム DNA 抽出キット QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN 社) を用いて全 DNA を抽出した。抽出した DNA サンプルについて、mtDNA のチトクローム *b* (*cytb*) 領域を PCR 法によって増幅した。プライマーセットとして L14724 (5'-TGA CTT GAA RAA CCA YCG YYG-3') (Palumbi et al., 1991) と H15915 (5'-ACC TCC GAT CYC GGA TTA CAA GAC-3') (Aoyama et al., 1999) を用い、反応は 94°C 2 分の熱変成後、94°C 15 秒、49°C 15 秒、72°C 30 秒のサイクルを 30 回繰り返す、最後に 72°C 5 分の伸長反応を行った。PCR 産物は 1% アガロースゲル上で電気泳動を行い、紫外線照射によって増幅断片像を確認した。目的領域の正常な増幅を確認した後、PCR 産物を NucleoSpin® Gel and PCR Clean-up (タカラバイオ株式会社) を用いて精製し、サイクルシーケンシング反応の鋳型として用いた。なお、この時の反応プライマーは PCR 増幅時と同じものを用い、Applied Biosystems 3730xl DNA Analyzer を

用いたシーケンシング分析をしている株式会社マクロジェン・ジャパンに依頼した。得られた塩基配列は DDBJ/EMBL/GenBank のデータベースに登録した (accession no. LC735654–735656)。

本研究で得られた宇治川と佐久良川産のツチフキの塩基配列情報に、Jang-Liaw et al. (2019) および小粥ほか (2023) によって報告された本種の全ての日本国内由来 (本州サブクレード、九州サブクレード) および一部の中國大陸由来 (大陸南部クレード) の塩基配列データを加え (JX137559–137629, JX137631, JX137633–137634, JX137636–137676, LC743565–743579), 系統解析ソフトの MEGA 11 ver. 11.0.13 (Tamura et al., 2021) に実装されている Clustal W および目視観察によってアライメントした。全ての塩基配列 (970 bp) について、最もシンプルな遺伝距離モデルである *p*-distance を用いて距離行列の計算を行い、近隣結合法により樹形図を構築した。樹形の信頼性を統計学的に評価するため、1000 回のブートストラップ分析を行った。上記の計算には MEGA 11 を用いた。なお、外群にはカマツカ *Pseudogobio esocinus* (AB793802; Tominaga et al., 2015) とヨドゼゼラ *Biwia yodoensis* (AB499046; Watanabe et al., 2010) を用いた。

ハプロタイプ間の遺伝的関係を明らかにするため、統計学的最節約法 (Clement et al., 2000) に基づいてハプロタイプネットワークを作成した。ハプロタイプネットワークの推定・描画には PopART ver. 1.7 (Leigh and Bryant 2015) に実装されている TCS Network を用いた。

ツチフキの *cytb* 領域を対象として系統地理学的研究を行った Jang-Liaw et al. (2019) は、大陸北部クレード (NCL) や 2 つの大陸南部クレード (SCL1 と SCL2) の他に、日本クレード (JL) の中に本州に分布するハプロタイプで形成されたサブクレードである JL1 と九州に分布するハプロタイプで形成されたサブクレードである JL2 を報告している。本稿では、小粥ほか (2023) に従い、日本クレードの中の 2 つのサブクレードをそれぞれ本州サブクレード (JL1)、九州サブクレード (JL2) と呼称した。

結 果

宇治川で採集されたツチフキ (1 個体、標準体長 66 mm) は、1 対の短い口髭をもつ、胸部腹面が無鱗、口唇に乳頭状突起がないなどの形態的特徴を有しており、細谷 (2013) と川瀬 (2019) が報告した本種の特徴と一致した。採集時期が繁殖期ではなく、二次性徴が発現しておらず、本個体の性別は判別できなかった。調査個体は、流れの緩やかな水際植生部で採集され、採集場所の水深 0.6–1.4m 程度の砂底であった。採集場所ではタイリクバラタナゴ *Rhodeus ocellatus ocellatus*, オイカワ *Opsariichthys platypus*, モツゴ *Pseudorasbora parva*, カマ



Fig. 2. Photograph of *Abbottina rivularis* collected from the Uji River, Yodo River basin. KPM-NR 238163A, 66 mm SL. Photo by N. Shigesato.

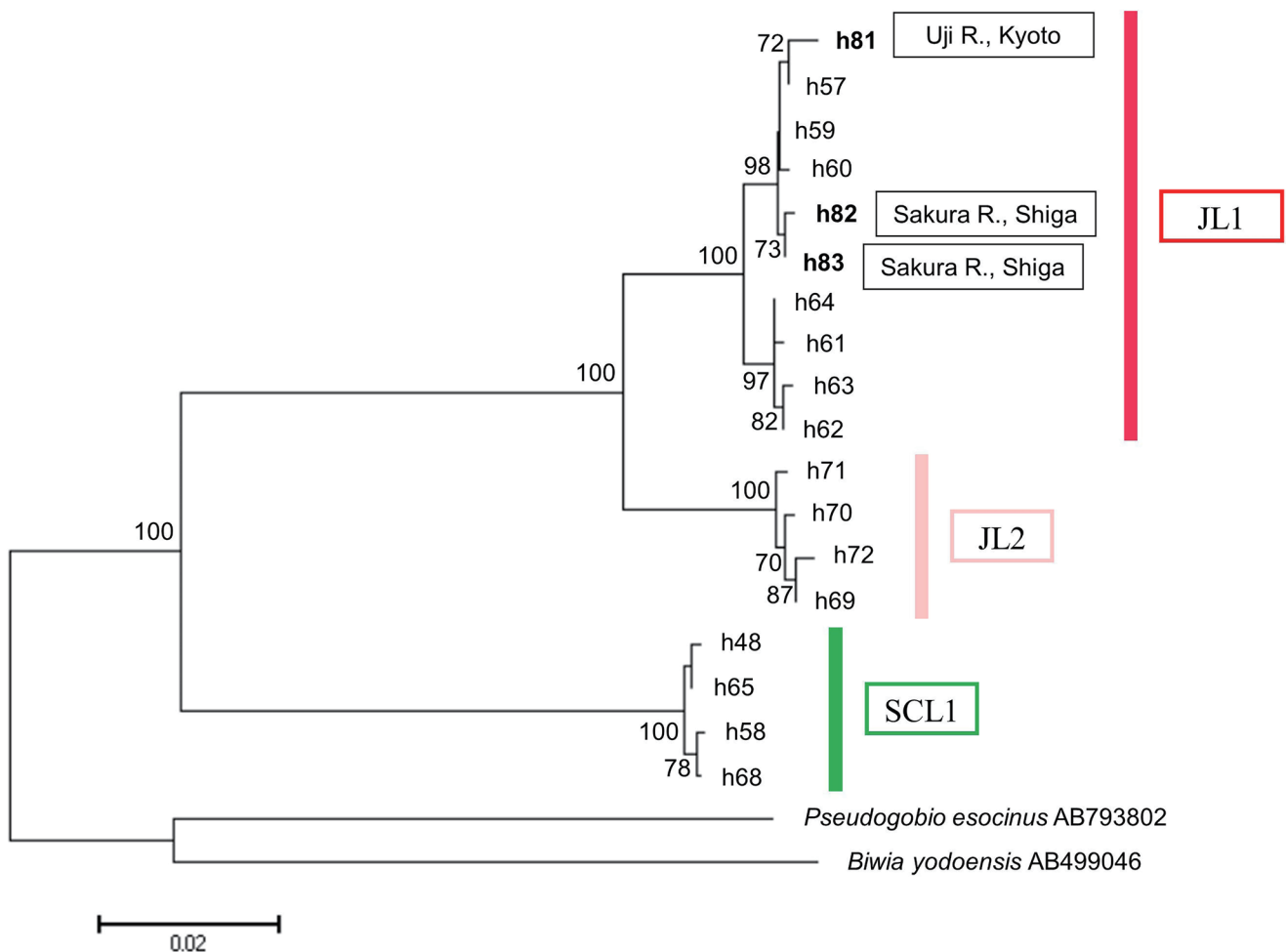


Fig. 3. Neighbor-joining tree based on *cytb* sequences (970 bp) of *Abbottina rivularis* with bootstrap probabilities (>70 %) from 1,000 resamplings of major nodes. The tree is rooted with *Pseudogobio esocinus* and *Biwia yodoensis* as outgroups. Haplotypes h81–h83 in bold are newly identified in this study. The nucleotide sequences of haplotypes h48, h57, h59–h65, and h68–h72 are cited from Jang-Liaw et al. (2019). Abbreviations of lineages: JL1 (Honshu) and JL2 (Kyushu) Japanese sub-lineages, and the SCL1 southern continental lineage (Jang-Liaw et al., 2019). Haplotypes and accession numbers correspond to those in Table 1. Specimens which collected in this study are shown by open boxes.

ツカ *Pseudogobio esocinus*, チュウガタスジシマドジョウ *Cobitis striata striata*, ナマズ *Silurus asotus*, ブルーギル *Lepomis macrochirus macrochirus*, オオクチバス *Micropterus*

nigricans, ヌマチチブ *Tridentiger brevispinis*, ゴクラクハゼ *Rhinogobius similis*, カムルチー *Channa argus* も採集された。

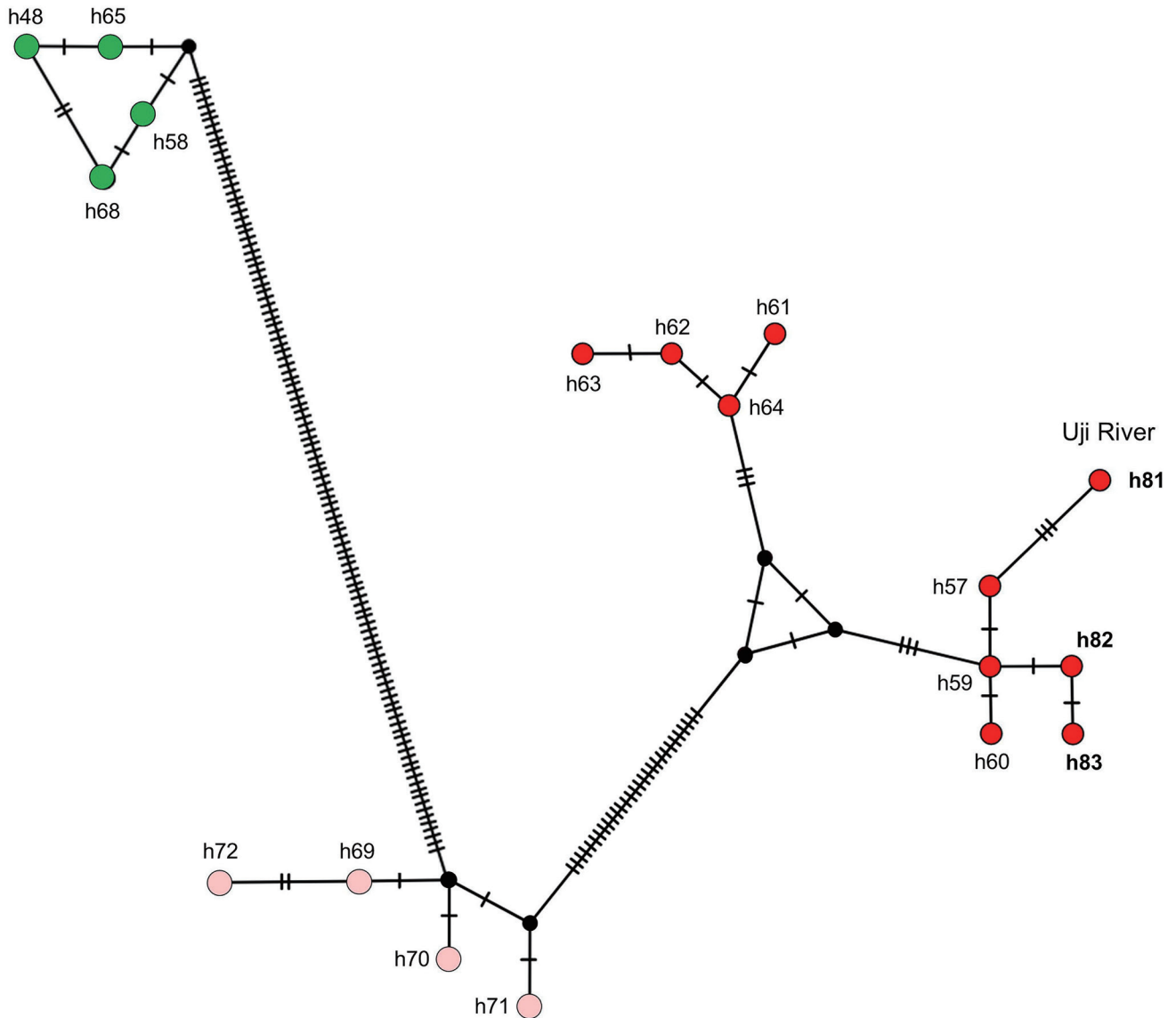


Fig. 4. Statistical parsimony networks of *Abbottina rivularis* based on *cytb* sequences (970 bp). The number on each circle indicates the haplotype, as shown in Table 1. Small circles without numbers signify possible missing haplotypes. Nucleotide substitutions are indicated by bars in each branch between haplotypes. Haplotype colors and lineages same as those in Fig. 3.

本研究で調査したツチフキ 3 個体（京都府宇治川産の 1 個体と滋賀県佐久良川産の 2 個体）の *cytb* 遺伝子領域の塩基配列は、それぞれの個体で異なるハプロタイプ（宇治川：h81、佐久良川：h82, h83）として認められた。

先行研究で決定された配列情報を加えた樹形図では、Jang-Liaw et al. (2019) が報告した本州サブクレード (JL1)、九州サブクレード (JL2)、および大陸南部クレード (SCL1) が認められ、それぞれの単系統性は 100% のブートストラップ値で支持された (Fig. 3)。さらに、本州サブクレード内には明瞭に区別される 2 つの単系統群が形成された (ブートストラップ値 97–98%)。本研究の宇治川と佐久良川のツチフキは 3 個体とも本州サブクレードに含まれ、Jang-Liaw et al. (2019) および小粥ほか (2023) が報告したハプロタイプ (h57, h59, h60) とともに単系統群を形成した。本州サブクレードのうち、もう一方の単系統群は、岡山県の倉敷市から確認されたハプロタイプ (h61 から h64)

のみを含む (Jang-Liaw et al., 2019)。

ハプロタイプネットワークは樹形図と同様に本州サブクレード、九州サブクレード、大陸南部クレード、および本州サブクレード内の 2 つの単系統群がみられた (Fig. 4)。宇治川産のハプロタイプ (h81) はハプロタイプ h57 に近縁であり、3 塩基の違いが認められた (塩基置換率 0.31%)。佐久良川産の 2 つのハプロタイプ (h82, h83) は、近縁なハプロタイプ h59 とそれぞれ 1 塩基と 2 塩基の違いが認められた。

考 察

宇治川産のハプロタイプ (h81) と佐久良川産の 2 つのハプロタイプ (h82, h83) が含まれた単系統群のうち、ハプロタイプ h57 は新潟県 (長岡市)、茨城県 (常陸太田市)、滋賀県 (琵琶湖・草津市)、および京都府 (鴨川・桂川) などから、h59 は愛知県 (一宮市)、滋賀県 (琵琶湖)、京

都府（白川，鴨川，桂川），および和歌山県（和歌山市）などから，h60 は岐阜県（養老郡）から，それぞれ採集されている（Jang-Liaw et al., 2019；小粥ほか，2023）．これらの3つのハプロタイプについて，Jang-Liaw et al. (2019) は，近畿地方（京都府と滋賀県：琵琶湖と流出河川）と濃尾平野（愛知県と岐阜県）以外の地域から検出されたものは他地域からの移入個体群である可能性が高いとした．さらに，Jang-Liaw et al. (2019) は，近畿地方と濃尾平野の個体群間に明瞭な遺伝的分化が認められないことから，少なくとも後者は前者からの移入である可能性を指摘したが，近畿地方（琵琶湖）の個体群の在来性についてはデータの不足により判断を避けた．なお，琵琶湖のツチフキ個体群については，Jang-Liaw et al. (2019) による遺伝学的研究の以前から，外来とする説（中村，1969；松田ほか，1980）と在来とする説（細谷，2001）があり，意見がわかれている．

本研究で確認された宇治川と佐久良川産のハプロタイプ（h81 から h83）は，先行研究で報告されたいずれのハプロタイプとも一致しない．また，宇治川のハプロタイプ（h81）は，最も近縁なハプロタイプ（h57）と比較して，3塩基の違いではあるもののクレード内の他のハプロタイプ間の差異と相対的に大きな変異がみられた．一方で，本研究の採集地点から距離が近い京都府（白川・鴨川・桂川）から得られたハプロタイプは，移入が疑われる地域を除くと近畿地方から得られた既知のハプロタイプと同一である（Jang-Liaw et al., 2019；小粥ほか，2023）．小粥ほか（2023）が述べた通り，現状では近畿地方（特に琵琶湖とその流出河川である淀川流域）におけるサンプリングの網羅性が低く，宇治川および佐久良川産のハプロタイプを含めて，近畿地方に出現するハプロタイプの在来性は現状では判断できない．2022 年に大阪府内の淀川流域からも，

Table 1. Sampling localities, mitochondrial haplotypes and GenBank accession numbers of *Abbottina rivularis* and additional species for the material analyzed in the present study.

Species	Locality	N	Haplotype (Accession No.)	Reference
<i>Abbottina rivularis</i>	Uji-gawa R., Kyoto	1	h81 (LC735654)	present study
	Sakura-gawa R., Shiga	1	h82 (LC735655)	present study
		1	h83 (LC735656)	present study
	Nagaoka, Niigata	8	h57 (JX137559–137566)	Jang-Liaw et al. (2019)
	Hitachi-Ota, Ibaraki	8	h57 (JX137567–137574)	Jang-Liaw et al. (2019)
	Katori, Chiba	1	h58 (JX137575)	Jang-Liaw et al. (2019)
	Ichinomiya, Aichi	18	h59 (JX137576–137593)	Jang-Liaw et al. (2019)
	Yoro, Gifu	1	h60 (JX137594)	Jang-Liaw et al. (2019)
	Lake Biwa, Shiga	1	h57 (JX137599)	Jang-Liaw et al. (2019)
		6	h59 (JX137595–137598, JX137600–137601)	
	Kusatsu, Shiga	1	h57 (JX137602)	Jang-Liaw et al. (2019)
	Shira-kawa R., Kyoto	1	h59 (LC743565)	Kogayu et al. (2023)
	Kamo-gawa R., Kyoto	5	h57 (LC743566, LC743568–743571)	Kogayu et al. (2023)
		1	h59 (LC743567)	
	Katsura-gawa R., Kyoto	7	h57 (LC743572–743575, LC743577–743579)	Kogayu et al. (2023)
		1	h59 (LC743576)	
	Wakayama, Wakayama	1	h59 (JX137603)	Jang-Liaw et al. (2019)
	Kurashiki, Okayama	7	h61 (JX137604, JX137613–137617, JX137619)	Jang-Liaw et al. (2019)
		1	h62 (JX137605)	
		1	h63 (JX137606)	
		7	h64 (JX137607–137612, JX137618)	
	Onga, Fukuoka	14	h48 (JX137620–137628, JX137631, JX137633–137634, JX137636–137637)	Jang-Liaw et al. (2019)
		1	h65 (JX137629)	
	Nakama, Fukuoka	4	h48 (JX137638–137641)	Jang-Liaw et al. (2019)
	Fukutsu, Fukuoka	6	h48 (JX137642–137647)	Jang-Liaw et al. (2019)
	Shimizu, Fukuoka	1	h68 (JX137648)	Jang-Liaw et al. (2019)
	Taromaru, Fukuoka	1	h68 (JX137649)	Jang-Liaw et al. (2019)
	Tachiarai, Fukuoka	1	h69 (JX137650)	Jang-Liaw et al. (2019)
		4	h70 (JX137651, JX137653–137654, JX137656)	
		2	h71 (JX137652, JX137655)	
	Taku, Saga	7	h48 (JX137657–137663)	Jang-Liaw et al. (2019)
	Yanagawa, Fukuoka	1	h72 (JX137664)	Jang-Liaw et al. (2019)
	Arao, Kumamoto	3	h48 (JX137665–137667)	Jang-Liaw et al. (2019)
	Nagasu, Kumamoto	7	h48 (JX137668–137674)	Jang-Liaw et al. (2019)
	Tamana, Kumamoto	2	h48 (JX137675–137676)	Jang-Liaw et al. (2019)
	Shaoxing, Zhejiang	1	h48 (—)	Jang-Liaw et al. (2019)
<i>Pseudogobio esocinus</i>	Daido-gawa R. (Yodo R. s.), Shiga	—	(AB793802)	Tominaga et al. (2016)
<i>Biwia yodoensis</i>	Katsura-gawa R., Kyoto	—	(AB499046)	Watanabe et al. (2010)

同府から約 30 年ぶりの記録となるツチフキが確認されており (川瀬ほか, 2023), 個体群保全の方向性を見極める上でも本種の近畿地方個体群の在来性の検証は急務といえる。Jang-Liaw et al. (2019) は, mtDNA の *cytb* 領域, および核 DNA の 3 領域を用いた解析では近畿地方内の地域個体群間における遺伝的差異がほとんど認められなかったことを報告しており, 今後はより多くの情報を持つ網羅的なゲノム解析が求められるであろう。

謝 辞

本稿を執筆するにあたり, 近畿大学農学部 of 北川忠生教授には, 研究設備や実験器具の使用を許可していただいた。滋賀県立琵琶湖博物館の川瀬成吾博士には貴重な御意見をいただいた。Ichthy 担当編集委員の松沼瑞樹博士と匿名の査読者には原稿に対して適切なお助言をいただいた。ここに記し, 厚く御礼申し上げる。

引用文献

Aoyama, S., S. Watanabe, S. Ishikawa, M. Nishida and K. Tsukamoto. 1999. Are morphological characters distinctive enough to discriminate between two species of freshwater eels, *Anguilla celebesensis* and *A. interioris*? Ichthyological Research, 47: 157–161.

Clement, M., D. Posada and K. Crandall. 2000. TCS: a computer program to estimate gene genealogies. Molecular Ecology, 9: 1657–1660.

平松和也・内藤 馨. 2009. 淀川城北ワンド群の魚類群集の変遷. 関西自然保護機構会誌, 31: 57–70.

細谷和海. 2001. ツチフキ, p. 316. 川那部浩哉・水野信彦 (編) 山溪カラー図鑑 日本の淡水魚. 第 3 版. 山と溪谷社, 東京.

細谷和海. 2013. コイ科, pp. 308–327, 1813–1819. 中坊徹次 (編) 日本産魚類検索 全種の同定. 第 3 版. 東海大学出版会, 秦野.

Jang-Liaw, N.-H., K. Tominaga, C. Zhang, Y. Zhao, J. Nakajima, N. Onikura and K. Watanabe. 2019. Phylogeography of the Chinese false gudgeon, *Abbottina rivularis*, in East Asia, with special reference to the origin and artificial disturbance of Japanese populations. Ichthyological Research, doi: 10.1007/s10228-019-00686-w (Mar. 2019), 66: 460–478 (Nov. 2019).

河合典彦. 2003. 大規模河川改修が淀川の水環境にもたらした功罪—淀川下流域の城北ワンド群を中心に—. 海洋と生物, 25: 467–475.

川瀬成吾・石橋 亮・内藤 馨・山本義彦・鶴田哲也・田中和大・木村亮太・小西雅樹・上原一彦. 2017. 淀川における外来魚類の生息状況. 保全生態学研究, 22: 199–212. [URL](#)

川瀬成吾. 2019. ツチフキ, pp. 166–167. 細谷和海 (編) 山溪ハンディ図鑑 増補改訂 日本の淡水魚. 山と溪谷社, 東京.

川瀬成吾・山本義彦・鶴田哲也・田中耕司. 2023. 大阪府淀川におけるツチフキ (コイ科カマツカ亜科) の再発見. Ichthy, Natural History of Fishes of Japan, 33: 14–20. [URL](#)

小粥淳史・北尾圭梧・三内悠吾・大貫溪介. 2023. 京都府より 38 年ぶりに得られたツチフキ *Abbottina rivularis* の記録. 魚類学雑誌, doi: 10.11369/jji.22–033 (May 2023).

国土交通省. 2000. 淀川. 国土交通省ホームページ. [URL](#) (21 June 2023)

京都府環境部自然環境保全課. 2015. 京都府レッドデータブック 2015 第 1 巻 野生動物編. 京都府環境部自然環境保全課, 京都. 503 pp.

Leigh, J. W. and D. Bryant. 2015. PopART: Full-feature software for haplotype network construction. Methods in Ecology and Evolution, 6: 1110–1116. [URL](#)

松田尚一・前畑政善・秋山廣光・松田征也・桑原雅之. 1980. 湖国びわ湖の魚たち. 第一法規出版, 東京. 189 pp.

長田芳和. 1978. 魚類, pp. 32–36. 淀川河川敷生態調査団 (鉄川 精) (編) 宇治川河川敷生態調査報告書. 近畿建設協会, 大阪.

中村守純. 1969. 日本のコイ科魚類: 日本産コイ科魚類の生活史に関する研究. 資源科学研究所, 東京. 455 pp.

大阪生物多様性保全ネットワーク. 2014. 大阪府レッドリスト 2014. 大阪府環境農林水産部みどり・都市環境室, 大阪. 48 pp. [URL](#)

Palumbi, S., A. Martin, S. Romano, W. O. McMillian, L. Stice and G. Grabowski. 1991. The simple fool's guide to PCR. University of Hawaii, Honolulu. 45 pp.

Tamura, K., G. Stecher and S. Kumar. 2021. MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis. Version 11. Molecular Biology and Evolution, 38: 3022–3027. [URL](#)

Tominaga, K., J. Nakajima and K. Watanabe. 2015. Cryptic divergence and phylogeography of the pike gudgeon *Pseudogobio esocinus* (Teleostei: Cyprinidae): a comprehensive case of freshwater phylogeography in Japan. Ichthyological Research, doi: 10.1007/s10228-015-0478-3 (July 2015), 63: 79–93 (Jan. 2016).

塚原 博. 1954. ツチフキの産卵習性. 魚類学雑誌, 3: 139–143. [URL](#)

Vidthayanon, C. and M. Kottelat. 1995. First record of *Abbottina rivularis* (Cyprinidae: Gobioninae) from the Mekong basin. Japanese Journal of Ichthyology, 41: 463–465. [URL](#)

Watanabe, K., S. Kawase, T. Mukai, R. Kakioka, J.-I. Miyazaki and K. Hosooya. 2010. Population divergence of *Biwia zezera* (Cyprinidae: Gobioninae) and the discovery of a cryptic species, based on mitochondrial and nuclear DNA sequence analyses. Zoological Science, 27: 647–655.