

平成 30 年 6 月 13 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26450470

研究課題名(和文) 農業害虫の同定および種の多様性管理のためのコガネムシ上科DNAバーコーディング

研究課題名(英文) DNA barcoding of Scarabaeoidea for identification of agricultural pests and species diversity management

研究代表者

細谷 忠嗣 (Hosoya, Tadatsugu)

九州大学・持続可能な社会のための決断科学センター・准教授

研究者番号：90467944

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：DNAバーコーディングは特定の遺伝子領域の短い塩基配列を登録し、生物の検索・同定を促進するテクニックである。本研究は日本産コガネムシ上科甲虫のDNAバーコード情報の蓄積を進めることにより、農業害虫や外来種の早期・簡便な同定・判別を可能にしていくとともに、種の多様性管理のためのデータベースの構築を進めることを目指した。これまでにコガネムシ上科甲虫584分類群(種・亜種)のうち319分類群(54.6%)を収集・同定することができた。うち52分類群の294個体について塩基配列を決定し、日本産コガネムシ上科甲虫DNA barcodeデータベース(JScaBOL)を開設し、情報の集積を進めている。

研究成果の概要(英文)：DNA barcoding is a taxonomic method that uses a short genetic marker in an organism's DNA to identify it as belonging to a particular species. The most commonly used barcode region for animals is a segment of approximately 600 base pairs of the mitochondrial gene cytochrome oxidase subunit I (COI). This study reports on the DNA barcoding of Japanese scarabaeoid beetles to enable their rapid and accurate identification for agricultural pest control, biodiversity analysis, detection of invasive species and imported pet beetle, and environmental impact assessment.

I collected and identified 319 taxa (54.6%) among 584 taxa (species & subspecies) in Japanese Scarabaeoid beetles. I determined sequence of 294 individuals in 52 taxa. In addition, I established "JScaBOL DNA Barcode Database of Japanese Scarabaeoid Beetles" and accumulated the information of DNA Barcode data and specimen data in this database.

研究分野：昆虫地理学

キーワード：DNAバーコーディング コガネムシ上科甲虫 農業害虫 同定 種多様性 保全管理 系統地理

## 1. 研究開始当初の背景

DNA バーコーディングは、特定の遺伝子領域の短い塩基配列である DNA バーコードを種の表徴として登録し、それに基づいて生物の検索・同定を促進するテクニックである (Hebert et al., 2003). 種の違いを反映する遺伝子領域を標準的な DNA バーコードとして用いることにより、DNA 塩基配列に基づいて種名を特定していく。昆虫を含む動物においては、ミトコンドリア DNA のシトクロームオキシダーゼサブユニット I (COI) 遺伝子の 5' 端の 648 塩基対の領域が標準的なバーコード領域として規定されている。生物分類学の網羅的な学術データベースとしての役割が期待されており、近縁種の同定や隠蔽種の検出、組織断片などの不完全な標本からの種識別、同定が困難な卵や幼虫からの識別など、様々な利用が期待されるとともに、病害虫の特定や農水産物の品種判定などの応用分野においても活用されている。また、種内の各亜種や地域の個体の DNA バーコードを蓄積することにより、その種における遺伝的多様性に関する情報の蓄積ができ、生物多様性の保全の基礎的データとなりうる。

甲虫目に属するコガネムシ上科は、現在コガネムシ科やクワガタムシ科、センチコガネ科など 14 科に分けられており、全世界から約 35,000 種が記録されている (Grebennikov & Scholtz, 2004). 日本には 10 科に含まれる約 100 属の約 450 種が分布している (岡島・荒谷監修, 2012). 本上科は、生きた植物体からその腐植物や糞、腐肉、菌類、さらにはコブスジコガネ科のように動物の毛や羽根といったケラチンを専食する群など、非常に幅広い多様な食性を獲得することにより繁栄してきた一群である。また、クワガタムシ科やコガネムシ科カブトムシ亜科などのように、雄間闘争に伴う著しい性的二型の発達が見られる群があるなど、多様な生態や形態の進化などについて大変興味を持たれる分類群である。

応用面では、サトウキビを加害するケブカアカチャコガネやアオドウガネのような食葉性コガネムシの一部が農作物の根や葉、果実などを食害する重要害虫として知られている。また、食糞性コガネムシなどは、生態系の中で獣糞や動物遺骸の分解者として有益に機能しており、特に牧場の牛糞の分解者として重要な役割を果たしている。

また、日本のコガネムシ上科相は島嶼や山地個体群に多くの亜種が認識されており、高い地域固有性を有している。現在まだ認識されていない多くの保全上重要な進化的重要単位 (ESU) が各地に存在しているものと考えられる。

## 2. 研究の目的

コガネムシ上科甲虫における DNA バーコードは、Barcode of Life Data Systems (BOLD) によると 1500 種以上の 7600 個体以上の塩基

配列が決定されていた。日本産の本上科のバーコード領域として登録されていた種はきわめて少なく、クワガタムシ科の約 15 種とコガネムシ科 4 種のみと限られていた。現在の状態では、国内のコガネムシ上科甲虫に対する同定ツールとして機能していない。

本プロジェクトでは、以下の 3 点を特に重視しながら DNA バーコード情報を蓄積していく。

1. 農林作物を加害する食葉性コガネムシ類
2. 分布を拡げている外来種・外来亜種
3. 遺伝的分化の進んだ ESU が存在する可能性のある島嶼域の個体群、および高標高に分布する分類群の各山地の個体群

これらを中心として DNA バーコード情報の蓄積を進めることにより、農業害虫や外来種の早期・簡便な同定・判別を可能な状態にしていくとともに、種の多様性管理のためのコガネムシ上科甲虫 DNA バーコード・データベースの構築を進め、生物多様性のモニタリングへの活用を図っていく。

## 3. 研究の方法

本研究では、主に以下の手順で研究を進めていった。まず、(1) サンプルの収集と同定、およびそれらのリスト化、(2) DNA バーコード領域の塩基配列の決定、(3) サンプル情報および DNA 塩基配列のデータベース登録、である。次に、それらの情報を元に、(4) 農林害虫や外来種の同定・判別への応用、(5) 種における地理的な遺伝的多様性の把握、について検証を行った。

## 4. 研究成果

- (1) サンプルの収集と同定、およびそれらのリスト化

北海道十勝地方、東北の青森県、四国の徳島県、八重山諸島 (石垣島・西表島) および中部山岳地として長野県において、サンプル採集調査を行い、各地のサンプルを収集した。また、昆虫学会や応用動物昆虫学会、甲虫学会、コガネムシ研究会の大会において、またコガネムシ研究会の会誌や各地の昆虫同好会のメーリングリスト、Facebook など、全国のコガネムシ上科甲虫の各分類群の専門家や各地の昆虫同好者にプロジェクトへの協力依頼を行い、協力者のネットワーク形成を行った。このネットワークを元に、各地からの協力体制を構築し、最終的に 16 名の協力者から各地のサンプルを提供していただいた。

採集したサンプルや協力者から得られたサンプルは順次同定作業を進め、DNA バーコード用コガネムシ上科サンプルリストを作成した。現時点で同定が終了しているサンプルでは、コガネムシ上科甲虫 584 分類群 (種・亜種) のうち 319 分類群を確認できており、日本産の分類群のうち 54.6% を収集・同定できたことになる。その内訳は、クワガタムシ科の 91/102 分類群 (89.2%)、クロツヤム

シ科 1/1 分類群 (100%), コブスジコガネ科 9/16 分類群 (56.3%), ムネアカセンチコガネ科 3/4 分類群 (75%), センチコガネ科 4/4 分類群 (100%), アカマダラセンチコガネ科 2/5 分類群 (40%), マンマルコガネ科 2/2 分類群 (100%), アツバコガネ科 1/2 分類群 (50%), ヒゲブトハナムグリ科 2/2 分類群 (100%), コガネムシ科ニセマグソコガネ亜科 2/6 分類群 (33.3%), マグソコガネ亜科 37/91 分類群 (40.7%), タマオシコガネ亜科 (ダイコクコガネ亜科) 21/49 分類群 (42.9%), ハナムグリ亜科 37/57 分類群 (64.9%), トラハナムグリ亜科 9/13 分類群 (69.2%), ヒラタハナムグリ亜科 4/8 分類群 (50%), スジコガネ亜科 32/58 分類群 (55.2%), カブトムシ亜科 10/12 分類群 (83.3%), コフキコガネ亜科 51/151 分類群 (33.8%), テナガコガネ亜科 1/1 分類群 (100%) である。まだ、未同定サンプルも残されており、最終的には 60% 程度の分類群を収集できていると思われ、コガネムシ上科甲虫 DNA バーコード用の主要部分を網羅したサンプルシリーズを形成することができたとと言える。

#### (2) DNA バーコード領域の塩基配列の決定

初期の実験において、DNA バーコード領域の PCR に用いられる標準プライマーセット (LC01490 と HC02198) は、コガネムシ上科甲虫においては PCR 効率が悪い種や個体が多いことが示された。そのため、代替プライマーの検討実験を行い、LC01490 と COIA1 のプライマーセットが良好な PCR 効率を示すことが確認され、標準プライマーセット (LC01490 と HC02198) と代替プライマーセット (LC01490 と COIA) を併用し、一部の個体で増幅範囲の狭い COIS と COIA のセットで実験を行った。

塩基配列の決定は、クワガタムシ科とコガネムシ科カブトムシ亜科、およびテナガコガネ亜科を中心に各科・亜科について決定を進め、52 分類群の 294 個体について決定した (一部、日本周辺の外国産個体を含む)。

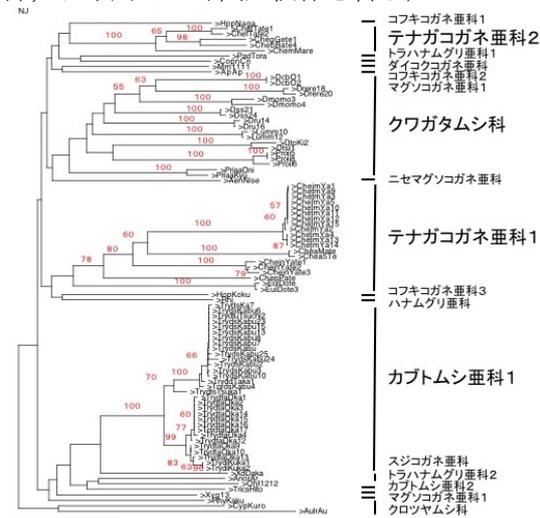


図 1. 日本産コガネムシ上科甲虫のバーコード領域の

塩基配列を用いた近隣結合樹の例 (一部外国産を含む)。

#### (3) サンプル情報および DNA 塩基配列のデータベース登録



行先に掲載したミヤマツツガタ (北海道・十勝)  
*Laconus maculiferonatus* Motschulsky, 1861

日本産コガネムシ上科甲虫 DNA barcode データ  
ベース (JScaBOL) によること!

図 2. 日本産コガネムシ上科甲虫 DNA barcode データベース (JScaBOL)。

塩基配列を決定した個体のサンプル情報および DNA 塩基配列データをデータベース化するために、「昆虫学データベース (KONCHU)」 (<http://konchudb.agr.agr.kyushu-u.ac.jp/index-j.html>) 内に、「日本産コガネムシ上科甲虫 DNA barcode データベース (JScaBOL)」を開設した。このデータベースは、塩基配列データの他に、GenBank Accession No. や使用したプライマーといった情報とともに、GBIF (地球規模生物多様性情報機構) の標準書式 Darwin Core に従って学名、採集年月日、採集地、採集者、性別など 40 項目を収録している。現時点では、66 件の登録にとどまっているが、今後結果を論文化した後は順次データの登録を進めていく。

#### (4) 農林害虫や外来種の同定・判別への応用

コガネムシ上科甲虫のうち農林害虫と考えられているもの (日本応用動物昆虫学会, 2006) は 72 分類群あり、そのうち 51 分類群について収集することができた。また、国内外来種としての問題を抱えたものを含めた外来種および外来種と疑われているものは 18 分類群あり、そのうち 9 分類群について収集することができた。

このうち、塩基配列を決定できた分類群はまだ一部であり、現時点では農林害虫や外来種の早期・簡便な同定・判別を行うツールとするには情報の集積が足りない。今後、収集したサンプルシリーズの更なる塩基配列決定とデータベース化を急ぐ必要がある。

#### (5) 種における地理的な遺伝的多様性の把握

コガネムシ上科甲虫のうち環境省レッドリスト (環境省, 2012) で準絶滅危惧 (NT) 以上のランクに指定されているものは 31 分類群あり、そのうち 16 分類群について収集することができた。このうち、天然記念物でもあるヤンバルテナガコガネについては、COI 遺伝子の遺伝的多様性の把握を行い、ある程度の遺伝的多様性を有することを確認している。

また、保全を考える際に重要な単位となる進化的に重要な単位 (ESU) が、コガネムシ

上科甲虫の種内でどの程度見られるのかを把握するために、島嶼地域にも分布し、いくつかの亜種に別れているクワガタムシ科のノコギリクワガタやヒラタクワガタ、コガネムシ科カブトムシ亜科のカブトムシを中心に複数地点、複数個体を用いた解析を行った。

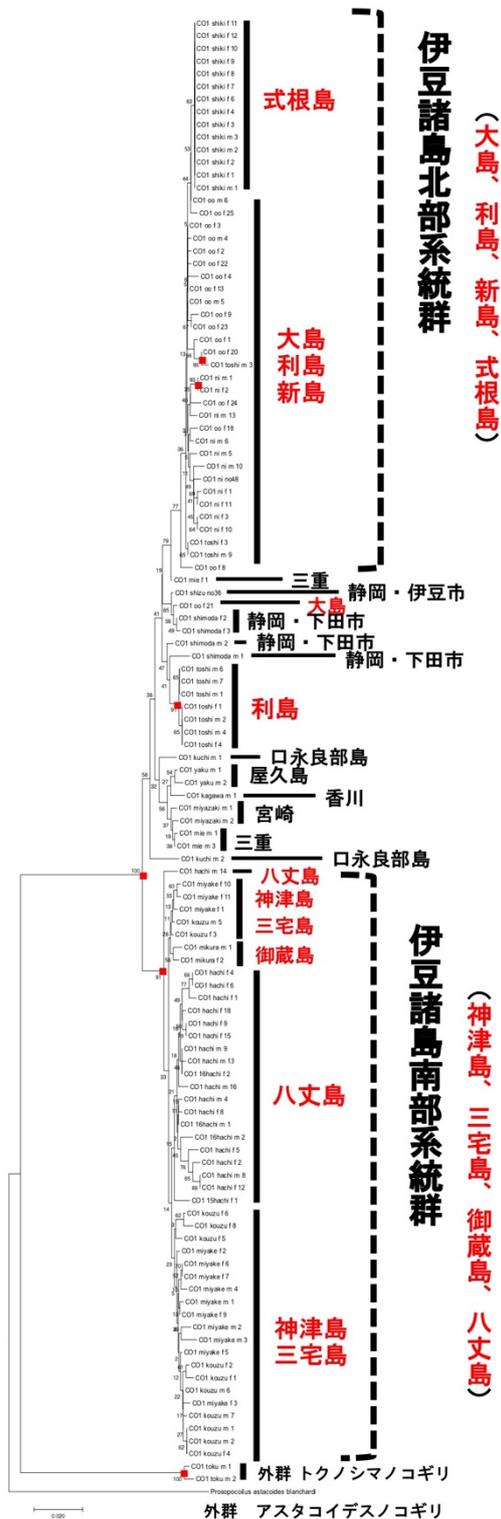


図3. 伊豆諸島のノコギリクワガタ類における遺伝的多様性の例。

以下で述べるハチジョウノコギリクワガタを除き、どの種も種としては1つのクレ

ドにまとまり、種の判別は明確にできることが示された。また、それぞれ種内で遺伝的な多型を有していることが確認され、特に亜種間や主要な島嶼間で明白な遺伝的な分化が見られた。これらの遺伝的多様性が、今後の多様性の保全を考えていく場合の進化的に重要な単位 (ESU) になると考えられた。しかし、種のまとまりとは異なり、種内の亜種や島嶼集団は必ずしも明確なクレードを形成しないものも見られ、一部の亜種間や島嶼間において移動やそれに伴う交雑が生じていることが示唆された。

ノコギリクワガタ類においては、DNA バーコード領域からは種-亜種-地域集団の階層構造がうまく対応していないことが明らかとなった。種ハチジョウノコギリクワガタはほぼ1つのクレードにまとまるものの、種ノコギリクワガタのクレードの中に完全に内包されてしまい、伊豆諸島南部のノコギリクワガタの集団との遺伝的な差異も極めて小さなものであった。

また、ヒラタクワガタにおいては、日本本土亜種が分布する九州北部の広い範囲でツシマヒラタクワガタのハプロタイプが検出され、九州北部が起源の異なる2亜種群の分布が接触し、闘ぎ合っている得意な地域であることが明らかとなった。

このような種内の亜種間や地域間の遺伝的な分化や多様性の把握は、DNA バーコード情報を蓄積することによって、より明確になっていくことが期待される。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計13件)

- ① Hosoya, T., Murai, Y., Kuramitsu, K. & Konagaya, T. 2017. New records of aquatic beetles (Coleoptera, Dytiscidae and Hydrophilidae) from Kodakara-jima and Taira-jima Islands in the Tokara Islands, the Ryukyu Archipelago, Japan. *Elytra New Series*, 7: 17-19. 査読有
- ② Hosoya, T. & Tanahashi, M. 2017. New record of dytiscid beetle (Coleoptera, Dytiscidae) from Kuchino-shima Island in the Tokara Islands, the Ryukyu Archipelago, Japan. *Elytra New Series*, 7: 15-16. 査読有
- ③ 細谷忠嗣. 2017. アマミノコギリクワガタ・トカラ列島亜種の系統地理. 昆虫と自然, 52(5): 19-23. 査読無
- ④ 荒谷邦雄・細谷忠嗣. 2016. ペット甲虫類の外来種問題-意図的導入の罪過とその贖罪. 昆虫と自然, 51(14): 12-17. 査読無
- ⑤ Yoshitake, H., Kojima, H. & Hosoya, T. 2016. Records of 18 weevils

- (Coleoptera, Curculionoidea) new to the fauna of Tairajima Is., the Tokara Islands, Nansei Islands, Southwestern Japan. *Elytra New Series*, 6: 189-191. 査読無
- ⑥ Hosoya, T. 2016. DNA Barcoding of Japanese Scarabaeoid Beetles (Coleoptera, Scarabaeoidea). XXV International Congress of Entomology. 査読無 doi: 10.1603/ICE.2016.112599
- ⑦ Hosoya, T. 2016. Notes on the establishment of an exotic dung beetle, *Ataenius picinus* Harold (Coleoptera, Scarabaeidae, Aphodiinae) and dung beetle fauna of Takara-jima Island, the Tokara Islands, the Ryukyu Archipelago, Japan, in October 2015. *Kogane*, (18): 89-93. 査読有
- ⑧ Kato, D., Tachi, T. & Hosoya, T. 2016. Records of Limoniidae (Diptera, Nematocera) from Kodakara-jima Island, Tokara Islands, Japan. *Makunagi, Acta dipterologica*, (27): 5-10. 査読有
- ⑨ 細谷忠嗣・柿添翔太郎・鈴木良芽. 2016. 剣山の高標高地において腐朽材外で観察されたツノクワガタの記録. 鯉角通信, (32): 44-45. 査読無
- ⑩ 細谷忠嗣. 2014. 日本産コガネムシ上科甲虫の DNA バーコーディングプロジェクト. 鯉角通信, (29): 19-27. 査読無
- ⑪ Hosoya, T. 2014. Scarabaeid dung beetle fauna of Kodakara-jima Island, the Tokara Islands, the Ryukyu Archipelago, with special reference to establishment of an exotic dung beetle, *Ataenius picinus* Harold (Coleoptera, Scarabaeidae, Aphodiinae). *Elytra New Series*, 4: 271-275. 査読有
- ⑫ Hosoya, T. 2014. Notes on establishment of an exotic dung beetle, *Ataenius picinus* Harold (Coleoptera, Scarabaeidae, Aphodiinae) in Takara-jima Island, the Tokara Islands, the Ryukyu Archipelago, Japan. *Kogane*, (16): 95-98. 査読有
- ⑬ Hosoya, T. 2014. Re-identification of the species of *Aphodius (Aganocrossus)* (Coleoptera, Scarabaeidae, Aphodinae) in the Tokara Islands and Kami-Mishima, Kagoshima prefecture, Japan. *Elytra New Series*, 4: 121-124. 査読有
- [学会発表] (計 15 件)
- ① Wu Yajiao・細谷忠嗣・楠見淳子・荒谷邦雄, 日本産オニクワガタ属の分子系統解析. 平成 29 年度九州・沖縄昆虫研究会・日本鱗翅学会九州支部合同大会. 2017.
- ② 及川優介・細谷忠嗣・楠見淳子・荒谷邦雄, 伊豆諸島のノコギリクワガタ類における分子系統学的研究. 平成 29 年度九州・沖縄昆虫研究会・日本鱗翅学会九州支部合同大会, 2017.
- ③ 王 梓・細谷忠嗣・楠見淳子・荒谷邦雄, 中国大陸に生息しているヒラタクワガタ類の分子系統解析. 平成 29 年度九州・沖縄昆虫研究会・日本鱗翅学会九州支部合同大会, 2017.
- ④ 土肥聖知・楠見淳子・荒谷邦雄・細谷忠嗣, 北部九州および周辺地域に分布するヒラタクワガタ二系統群の集団遺伝学的解析. 日本甲虫学会第 8 回大会, 2017.
- ⑤ 星野光之介・細谷忠嗣・荒谷邦雄, 日本列島と周辺地域におけるネプトクワガタ属 *Aegus* の分子系統および形態分類との比較. 日本甲虫学会第 8 回大会, 2017.
- ⑥ 荒谷邦雄・楠見淳子・三島達也・小田切頭一・田中良尚・細谷忠嗣, 日本産タテヅノマルバネ (サンダースマルバネ) クワガタ種群の最近の話題. 日本甲虫学会第 8 回大会, 2017.
- ⑦ 星野光之介・細谷忠嗣・荒谷邦雄, 日本列島と周辺地域におけるネプトクワガタの系統地理学的研究. 日本昆虫学会第 77 回大会, 2017.
- ⑧ 荒谷邦雄・細谷忠嗣・小田切頭一・田中良尚・杉本美華, 日本産大型マルバネクワガタ類の実効的な保全対策の確立を目指して. 日本昆虫学会第 77 回大会, 2017.
- ⑨ 細谷忠嗣, 日本産コガネムシ上科甲虫 DNA バーコーディングプロジェクトの進行状況 その 2. 日本甲虫学会第 7 回大会, 2016.
- ⑩ 荒谷邦雄・細谷忠嗣・小田切頭一・楠見淳子, ペット甲虫類をめぐる国内外来種問題の現状. 日本甲虫学会第 7 回大会, 2016.
- ⑪ 荒谷邦雄・小田切頭一・細谷忠嗣, 偶発的な分散は地域の主要なファウナ形成にどこまで寄与するか? 日本昆虫学会第 76 回大会・第 60 回日本応用動物昆虫学会大会合同大会, 2016.
- ⑫ 荒谷邦雄・細谷忠嗣, ペット甲虫類における外来種問題 ~意図的導入の罪過とその贖罪~. 日本昆虫科学連合・日本学術会議農学委員会応用昆虫学分科会・日本昆虫学会・日本応用動物昆虫学会共催公開シンポジウム「昆虫類をめぐる外来種問題と対策」, 日本昆虫学会第 76 回大会・第 60 回日本応用動物昆虫学会大会合同大会, 2016.
- ⑬ 細谷忠嗣, 琉球列島のコガネムシ上科甲虫の系統地理、多様性、保全. シンポジウム「島嶼生態系の多様性とその保全」, 日本昆虫学会第 75 回大会, 2015.
- ⑭ 細谷忠嗣, 日本産コガネムシ上科甲虫 DNA バーコーディングプロジェクトの進行状況. 日本甲虫学会第 6 回大会・日本昆虫分類学会第 18 回大会合同大会, 2015.
- ⑮ 荒谷邦雄・細谷忠嗣, 生物多様性の解明と保全・利用への動物分類学の応用 ~

人気昆虫カブトムシ・クワガタムシを例に～. 日本動物学会第50回大会記念講演会「世界の動物に名前をつけよう ～動物分類学への招待～」, 2014.

[図書] (計 3件)

- ① 荒谷邦雄・細谷忠嗣, 2016. 奄美群島固有のクワガタムシ類の自然史. In. 水田拓編著, 奄美群島の自然史学 亜熱帯島嶼の生物多様性, pp. 36-56. 東海大学出版会, 平塚.
- ② 細谷忠嗣, 2015. クワガタムシと琉球列島の地史の関係. In. 大島康宏編, 三重県総合博物館第7回企画展「あんな虫、こんな虫、そんな虫 ～身近な小さな生きものたち～」解説書, pp. 28-29. 三重県総合博物館, 津.
- ③ 細谷忠嗣, 2015. 外来種による危機. In. 日本生態学会編・巖佐庸・舘田英典担当編集, 現代の生態学1巻 集団生物学, pp. 347-366. 共立出版, 東京

[産業財産権]

○出願状況 (計 0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況 (計 0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

[その他]

ホームページ等  
日本産コガネムシ上科甲虫 DNA barcode データベース (JScabOL)  
<http://konchudb.agr.agr.kyushu-u.ac.jp/jscabol/index-j.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

細谷 忠嗣 (HOSOYA, Tadatsugu)

九州大学・持続可能な社会のための決断科学センター・准教授

研究者番号：90467944

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：

### (4) 研究協力者

吉澤 聡史 (YOSHIZAWA, Satoshi)

柿添 翔太郎 (KAKIZOE, Showtaro)

鈴木 良芽 (SUZUKI, Ryoga)