

日本産コメツキムシ科の DNA バーコーディング

大場裕一（名古屋大学大学院生命農学研究科）

はじめに

コメツキムシは、どれも似たような姿かたちで分類がとても難しい。ビーティング採集をすると必ず落ちてきて、ネットの上でパチンパチン跳ねているが、よくわからないからということで、甲虫愛好家にもあまり相手にされることはない。

かくいう私も、甲虫は好きだがコメツキムシに特に興味がある訳ではなかった。しかし、本業である発光生物の研究を進める中で、中南米のヒカリコメツキを扱ったことをきっかけに、コメツキムシ科の世界に足を踏み入れた。そして、後述する大平仁夫博士に出会い、とうとう光らない日本のコメツキムシまで好きになり、研究対象にしてしまったというわけである。

ここでは、最近われわれが発表した日本産コメツキムシ科の DNA バーコーディングの論文¹⁾について紹介したい。この論文はオープンアクセスなので、インターネット環境があれば誰でも無料で内容を閲覧できる²⁾。

なぜコメツキムシなのか

コメツキムシは、分類が難しい上に、正しく分類ができる専門家がきわめて少ない。その一方で、冒頭にも述べたとおり、昆虫採集をすると必ず捕れてくることから、正確な分類はアセスメントや目録作りの際に必ず必要となる。また、種によっては幼虫が農作物の根に被害を与える例が知られており、正しい同定は害虫防除の観点からも重要である（ただし、樹皮下のカミキリやタマムシ、土中のコガネムシなどの幼虫を捕食する「有益な」コメツキムシも多いことを、コメツキムシ好きのひとりとして補足しておく）。なによりも、自分が採った虫の名前が分からないのは残念だ。私自身も、いまだによく分からないものが多い。これらの問題を解決するひとつの手段が、DNA バーコーディングである。

なぜ DNA バーコーディングを行うのか

DNA バーコーディングとは、特定の遺伝子配列断片の塩基配列情報を使って、迅速かつ正確に種同定を行うための手法である。DNA バーコーディングだけで種同定が必ず可能かどうかについては議論のあるところであるが、少なくとも専門の分類学者ではない研究者がもっとも可能性の高い種名にたどりつくための極めて有効なツールであることは間違いない。

昆虫を含む動物では、シトクローム *c* オキシダーゼ・サブユニット I (*COI*) の部分配列約 650 塩基を使用することが国際ルールとなっており、解析されたデータは国際バーコードオブライフ・システム (BOLD)³⁾ に登録される。その際には、証拠標本の写真とシーケンス生データを併せて提出することが推奨されており、これにより情報の正確さが担保されている (図 1)。

登録されたデータにはインターネットを通じてフリーでアクセスすることが

できる。たとえば、種名を知りたい未知サンプルがあった場合、その *COI* 部分配列を解析し、その情報を **BOLD** 内の **Identification Request** ⁴⁾ に入力する。そして、**submit** ボタンを押すとわずか1分以内にデータベースの検索が終了し、もっとも可能性の高い種の名前が表示される (図2)。

このとき、種名を知りたい分類群のデータライブラリーが充実していれば、高い確率で正しい種名が検索される。当然ながら、データライブラリーが充実していなければ、正確な種名は表示されないかもしれないが、少なくとも何に近い仲間なのか (属名や近縁な種の名前) くらいまではだいたいたどり着ける。

バーコーディング・ライブラリーのクオリティー

今回われわれは、日本産コメツキムシ科のうちの **762** 個体 **275** 種の解析を行った。日本には現在までに約 **600** 種類のコメツキムシが記載されているが、その約半分を解析したことになる。

なんだ半分か、と思われたかもしれないが、これだけのサンプルを集める労力は並大抵ではなかった。全国の昆虫愛好家の方々の手を借りて10年近く集め続けきたが、最近ではもはや新しい種の追加がほとんどなくなっていた。ちなみに、保育社の原色日本甲虫図鑑に載っている種 (写真なしで記述のみの種も含む) については、その約8割をカバーしている。サンプリング地点も、北海道から伊豆諸島、奄美、沖縄までを網羅している。おそらく、現在の日本のどこかでふつうに捕れるコメツキムシはほぼすべて解析済み、と言ってもそう間違っていないだろう。

扱った種数の3倍近い個体数を解析している理由は、塩基配列の種内変異を考慮しているからである。そのため、1つの種につき複数個体を解析する場合は、できるだけ離れた産地の個体を解析するようにした。

もちろん、離島の固有種のように他の産地を得ることができないものや、まれにしか採集できないものなどについては、1個体のみの解析となったものもある。その一方、クシコメツキ、ヒゲコメツキ、サビキコリなどといったごく普通種についてはできるだけ日本全国からまんべんなくサンプルを集めて10個体以上の解析を行っている。こうした点でも、われわれの解析した **762** 個体は、それなりのクオリティーをもっていると考えている。

DNA バーコーディングの質に関して、もうひとつ重要なことに、解析した種が正しく同定されているかどうかという点が挙げられる。**BOLD** データベースを調べると、**sp.**として登録されているもの (ひどいものだと、目の名前の **sp.** になっている) や、証拠写真を見ただけで科レベルから間違っているようなものなども散見される。これでは、バーコーディングとして使いモノにならないことは言うまでもない。

その点、われわれが解析に用いたサンプルはすべて、コメツキムシ科に精通した昆虫分類学の専門家である大平仁夫博士に種同定をしていただいた。さらに、遺伝子解析の結果、誤同定やサンプルの取り違いの可能性があったものに関しては、大平博士に再度同定を依頼するとともに、遺伝子解析をやりなおしている。いうならば、大平先博士が積み上げてきたプロフェッショナルの知識が、データベースとして世界中の誰でもアクセスできるようになったのである。

思いがけない発見：ホットスポットの生物多様性

もともと DNA バーコーディングはカナダのゲルフ大学から始まり、現在はアメリカとヨーロッパでとくに盛んに行われている国際プロジェクトである。その一方で、日本も含めたその他の地域では、プロジェクトが進行しているという話はよく聞くが実際の論文として網羅的なバーコーディング解析の成果が世に出ているものは多くない。

コンセプトとしては、もともと DNA 情報だけで種が同定できるという触れ込みであったが、現在は種同定のための「補助ツール」であるというのが一般的な認識である。しかし、遺伝子配列だけで種同定を可能にできないかという議論がまた再燃しており、最近、BOLD に遺伝子配列情報のみから種を判定する基準である BIN (Barcode Index Number) 解析システムが実装された。この BIN を使えば、昆虫、鳥、魚、などで、その 90% が正しく同定できる (形態学的種と BIN が 1 対 1 でマッチする) という⁵⁾。

ところが、今回のコメツキムシ科のデータを BIN システムで分析してみたところ、驚いたことに形態にもとづく種の 64% しか BIN システムの基準に当てはまらなかった。すなわち、残りの 4 割は、1 種なのに BIN システムでは複数種に分けられたもの、もしくは、複数種なのに BIN システムでは 1 種とされたもの、あるいはその混合であった (ヒゲコメツキ、クシコメツキ、ミヤマヒサゴコメツキ、シモフリコメツキ類、ヒメサビキコリ類などでの個別具体例については、論文を参照のこと)。

なぜこんなことになったのだろうか。日本のコメツキムシの分類が未熟なだけじゃないか? という向きもあるかもしれないが、私はそう単純ではないと思う。確かに、まだ議論の余地のある種が日本のコメツキムシに存在することは間違いない。しかし、基本的にはすべて世界基準の昆虫分類体系に厳密に準じて記載されたものである。つまり、日本のコメツキムシ分類が未熟であるとするならば、それは、欧米で成立した種の同定基準を日本の生物相にそのまま当てはめて良いかどうかの検討が未熟だった (十分ではなかった) というのではないだろうか。

実は、BIN システムは既存のデータをもとに経験的に構築されたものである。そして、その元となったデータには、基本的に欧米の生物相を対象に欧米で行われたものが使われている。今回のわれわれの解析結果は、欧米以外の生物相ではじめて行われた BIN 解析である。

欧米を旅行したことのある昆虫愛好家は感じているかもしれないが、北米やヨーロッパは基本的に生物多様性が低い。日本にほぼ匹敵する面積を有するイギリスには、コメツキムシ科はわずか 73 種しかいない⁶⁾。一方、日本は生物多様性が非常に高いことで知られ、全世界から選定された「生物多様性ホットスポット」34 カ所にもリストされている⁷⁾。

結論を述べると、「生物多様性の高い地域の生物相では、生物多様性の低い欧米とは種と種の区切りが異なっているのではないか」というのが私の仮説である。つまり、今回の結果は、日本を含めた生物多様性の高い地域における分類学の在り方に対して、新たな問題を投げかけている可能性がある。「日本の生物

は分類が難しい」という話を耳にすることがあるが、ひよっとすると、これこそがその難しさの正体なのかもしれない。ぜひ、いろいろな分類群の分類学者からご意見をうかがいたいところである。

このあたりの大胆な仮説については、今回の論文には十分に盛り込めなかったが、今後こうしたホットスポットの生物相についてバーコーディングが進められた場合、われわれが見つけた「BIN との矛盾」がさらに多く見つかるのではないかと考えている。今回共同研究を行った名古屋市立大学の生物多様性研究センターでは、現在、タイやインドネシアなどの生物相にも DNA バーコーディングを拡張している。

なお、BOLD は、データベースを作成したあとからもデータの追加や修正が可能である。今後も引き続き名市大との共同で、日本産コメツキムシ科のバーコーディング・プロジェクト (JEBP) を拡充・改良してゆく予定なので、これからも多くの方々からの試料提供をお願いしたい。

一見地味なコメツキムシから、ホットスポットの生物多様性という大きなテーマにつながってゆくことを夢見ている。

謝辞

名古屋市立大学生物多様性研究センターの熊澤慶伯博士・森山昭彦博士・村瀬幸雄氏には、膨大なサンプルの整理とシーケンス解析、証拠標本の写真撮影、データの整理で多大な協力をいただいた。とくに熊澤博士には、BIN 解析に関するたくさんの議論をしていただき、論文の内容を深めることができた。標本の同定に関して大平仁夫博士とやりとりさせていただいた手紙の山は、私の財産である。この財産をデータベース化して、世界共通の財産にできたことは良かったと思っている。浅学の私のしつこい問い合わせに、10 年以上も暖かく力を貸してくださっている大平博士には最大の感謝の気持ちを表したい。そのほかに、サンプルを提供してくださった全国の昆虫愛好家の方々にも感謝したい。楽しい昆虫採集の合間に、採ったコメツキムシをエタノールのボトルに入れていちいちラベリングする面倒さはよくわかる。さいごに、日本での DNA バーコーディングプロジェクトを推進し、煩雑な BOLD へのデータ登録にも助力いただいた、日本 DNA バーコードオブライフ・イニシアチブ (JBOLI)⁸⁾ のスタッフにも深く感謝の意を述べたい。なお、今回解析した全データは、JBOLI のデータベース (JBOLI-DB) にも登録されているので、ウェブサイトを通して和名も含めた日本語でのデータ閲覧を行うこともできる⁹⁾。

参考文献

- 1) Oba Y., Ôhira H., Murase Y., Moriyama A. and Kumazawa Y. (2015) DNA barcoding of Japanese click beetles (Coleoptera, Elateridae). *PLOS ONE* 10: e0116612.
- 2) <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0116612>
- 3) <http://www.boldsystems.org>
- 4) http://www.boldsystems.org/index.php/IDS_OpenIdEngine

- 5) Ratnasingham S. and Hebert P.D.N. (2013) A DNA-based registry for all animal species: the Barcode Index Number (BIN) system. *PLOS ONE* 8: e66213.
- 6) Mendel H. (2012) Elateridae. *In*: Duff A.G., editor. Checklist of Beetles of the British Isles, 2nd ed. Buckinghamshire, UK: Pemberley Books. pp. 62-64.
- 7) Mittermeier R.A., Gil P.R., Hoffmann M., Pilgrim J., Brooks T., Mittermeier, C.G., Lamoreux J., da Fonseca G.A.B., Seligmann P.A. and Ford H. (2005) Hotspots Revisited. Monterrey, Mexico: CEMEX. 390 p.
- 8) <http://www.jboli.org>
- 9) <http://db.jboli.org/datasets/JEBP>

図キャプション

図 1. (左) 日本産コメツキムシ科バーコーディング・データは, BOLD のウェブサイト上に JEBP のプロジェクトコードで登録されている. (右) 愛媛県産ヒゲコメツキの登録データ. 採集場所, 採集日, シーケンス生データ, 証拠写真が閲覧できる. 標本の保管場所が明示されているので, 第三者が証拠標本そのものにアクセスすることもできる.

図 2. (左) データベースに登録されていない標本から得た塩基配列を BOLD の Identification Request で検索してみる. (右) クロツヤクシコメツキ *Melanotus annosus* であるという検索結果が即座に表示された.

