

## オサムシを教材とした遺伝子解析実験の可能性

【大学院同窓会委員】 谷 良夫 榊田 容子

【大学教職員】 笠原 恵

[はじめに]

オサムシ類はベイトトラップ法により罾を仕掛けておけば早朝に巡回するだけで毎日継続的な観察・採集が可能である。

研究者が多く、データベースも充実していることから、高等学校の生物の授業における遺伝の実験材料としての可能性を検討した。

[方法]

2010年7月から12月にかけて学校周辺(図1)に、さなぎ粉を誘引剤としてベイトトラップ(落とし穴)を仕掛け、オサムシ・ゴミムシ類の採集調査を継続的に(ほぼ毎日)行った。採集個体は酢酸エチルで固定し、すべて乾燥標本にし、種の同定・性別の鑑定を行った。

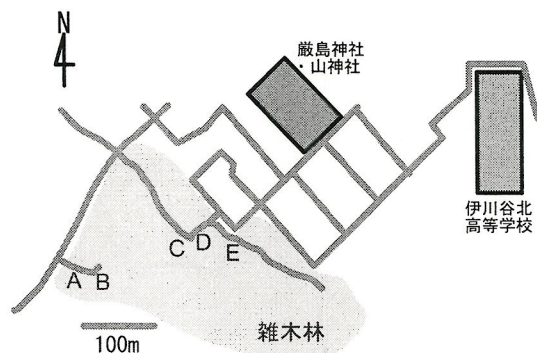


図1 A・B・C・D・Eが5地域に分けた採集地

さらに乾燥標本から DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN) を用いて、標本から

DNA を抽出し、ミトコンドリアDNAの各領域についてユニバーサルプライマーを用いてDNA増幅を試みた。PCR産物はアガロースゲル(2%)を用いて電気泳動した。

さらに業者委託により塩基配列各を決定し、ゴミムシの種間変異の解析およびアトボシアオゴミムシの多型解析を行った。

[結果]

今回採集されたのは普通種ばかりであったが、各種とも出現時期は限定されており、入れ替わりがはっきりしていた(図2, 図3)。採集された個体数が比較的多い種の変動を図2に示した。8月にアトボシアオゴミムシ(8月採集:47個隊)、9月にセアカヒラタゴミムシ(9月採集:48個隊)があげられる。10月に入ると一転して、*Synuchus* sp. と体長約10mmの体色の黒いゴミムシ(小型黒ゴミムシ)が採集された。この小型黒ゴミムシは、おそらく同一種であると思われるが、種の同定は不可能であった。採集個体数は *Synuchus* sp. (10月採集:86個体) 小型黒ゴミムシ(10月採集:156個体)

採集された個体数が比較的小さい種の変動を図3に示した。7月にミイデラゴミムシ(7月採集:7個隊)、8月にオオホソクビゴミムシ(8月採集:15個体)、9月にクビボソゴミムシ(9月採集:5個隊)が入れ替わり採集された。

採集地をA・B・C・D・Eの5地域に分け

て(図1)、採集時期による個体数変動を調べた。各種とも個体数の一番多い分布の中心は固定していた。アトボシアオゴミムシはA地点、セアカヒラタゴミムシはC地点、ミイデラゴミムシはD地点が一番多かった。

性別判定可能な全採集個体について雄雌比を算出した結果、雌の個体数の割合は66%であった。ゴミムシ類では各種とも雌の比率の方が大きかった(表1)。ゴミムシ各種ではセアカヒラタゴミムシでは83%、オオゴミムシでは83%、アトボシアオゴミムシでは67%、*Chlaenius* sp.では67%であった。これに対し、ゴミムシ類以外においてはヤコンオサムシで40%、マイマイカブリでは25%、コブマルエンマコガネでは28%と雄の比率の方が大きかった。

ミトコンドリアDNAの12S・16S・チトクロムbについて増幅を試みたがほぼすべての種において成功したのは16Sのみであった(図5)。PCR産物を業者受託シーケンス解析に出して配列を確定した。キマワリ以外はすべて良好なシーケンスを行うことができた。キマワリは細菌類のDNAを増幅していたことがBLASTにより確認された。この結果をもとに多変量解析を行い、ミトコンドリアのグループ分けを行った(図6)。この結果6グループ(A・B・C・D・E1・

E2・E3)に分けることができた。おおむね各グループことに対応したまとまった分類群がみられたが、一部は混在していた。具体的には、アトボシアオゴミムシは多くがE3を持つが、E1を持つ個体も見られた(図6)。

これに対し12S rRNAおよびEF1a1などの各DNAについてはDNA増幅の結果、複数のバンドが出現してシーケンスがうまくできるサンプルは少なかった。また何とかシーケンスできたサンプルについても3分の1は細菌類のDNAは困難であった。

#### [考察]

今回採集したゴミムシ類およびオサムシ類は共にオサムシ科に属し、動物を主食とし形態的特徴もよく似ている(上野・黒澤ほか1985)。オサムシに関しては先行研究が数多くなされており、食性・生活史なども詳しく報告されている種が多い(川那部2008)。今回の調査ではオサムシ類は2種10個体しか採集されなかった。これに対し、ゴミムシは14種517個体採集された。特に個体数が多かったのはセアカヒラタゴミムシ73個体、アトボシアオゴミムシ80個体、*Synuchus* sp.98個体、小型黒ゴミムシ185個体であった。

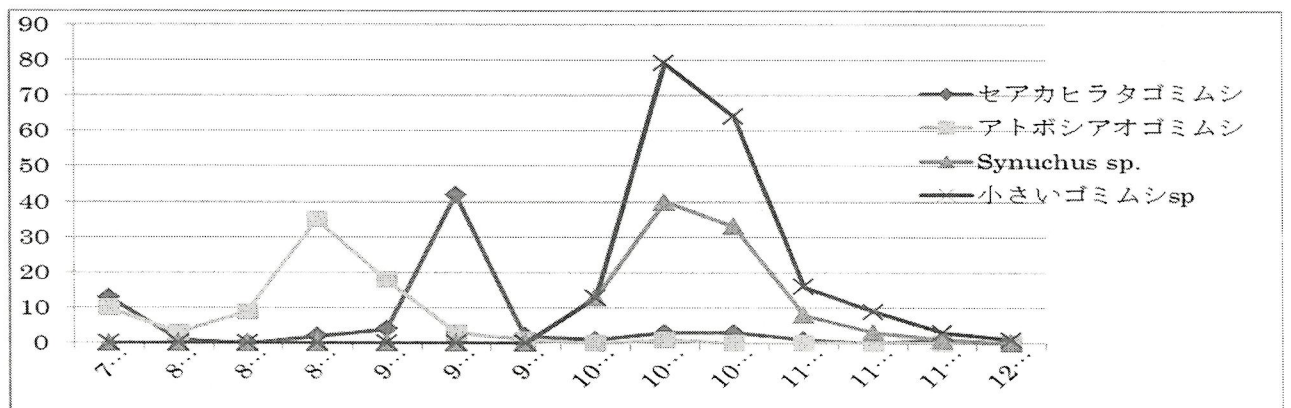


図2 際集された個体数が多い種類

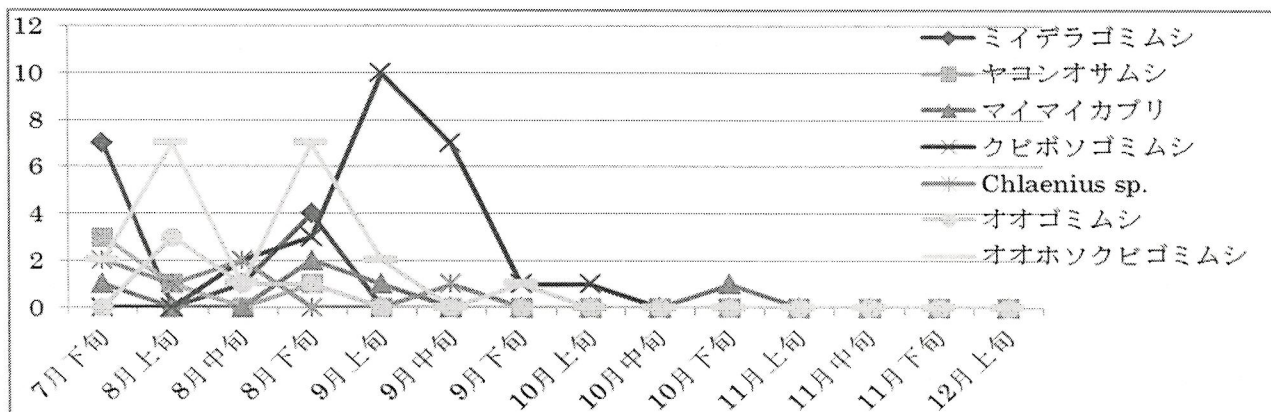


図3 採集された個体数が少ない種類

表1 採集された昆虫類の雄・雌の比

分類	種名	雄の割合	雌の割合	全個体数
ゴミムシ類	セアカヒラタゴミムシ	17%	83%	59個体
	オオゴミムシ	17%	83%	6個体
	アトボシアオゴミムシ	33%	67%	69個体
	<i>Chlaenius sp.</i>	33%	67%	6個体
オサムシ類	ヤコンオサムシ	60%	40%	5個体
	マイマイカブリ	75%	25%	4個体
コガネムシ科	コブマルエンマコガネ	72%	28%	25個体
	判定できた種の全て	34%	66%	177個体

ミイデラゴミムシは、水辺に近い湿った環境を好む種である。池のすぐ横にあったD地点に多かった。

セアカヒラタゴミムシはC地点に多く、トラップをかける際にも目が見つかるほどであった。このセアカヒラタゴミムシは7月に出現した後に、8月には出現しなくなった。9月に再び現れた時、雌の割合は7月の77%から85%に約8%増加していた(図4)。

アトボシアオゴミムシもセアカヒラタゴミムシと同様に雌の比率が高かった。しかしセアカヒラタゴミムシの雌の比率は秋に増加したのに対しアトボシアオゴミムシでは

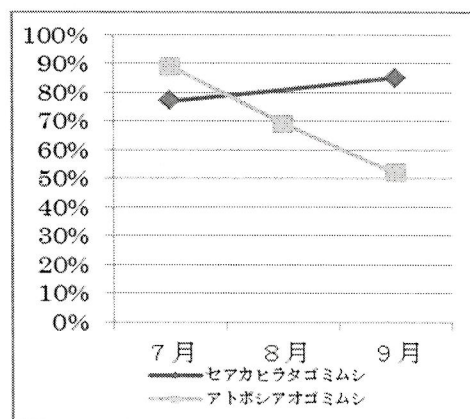


図4 7月～9月にかけて採集された雌の割合

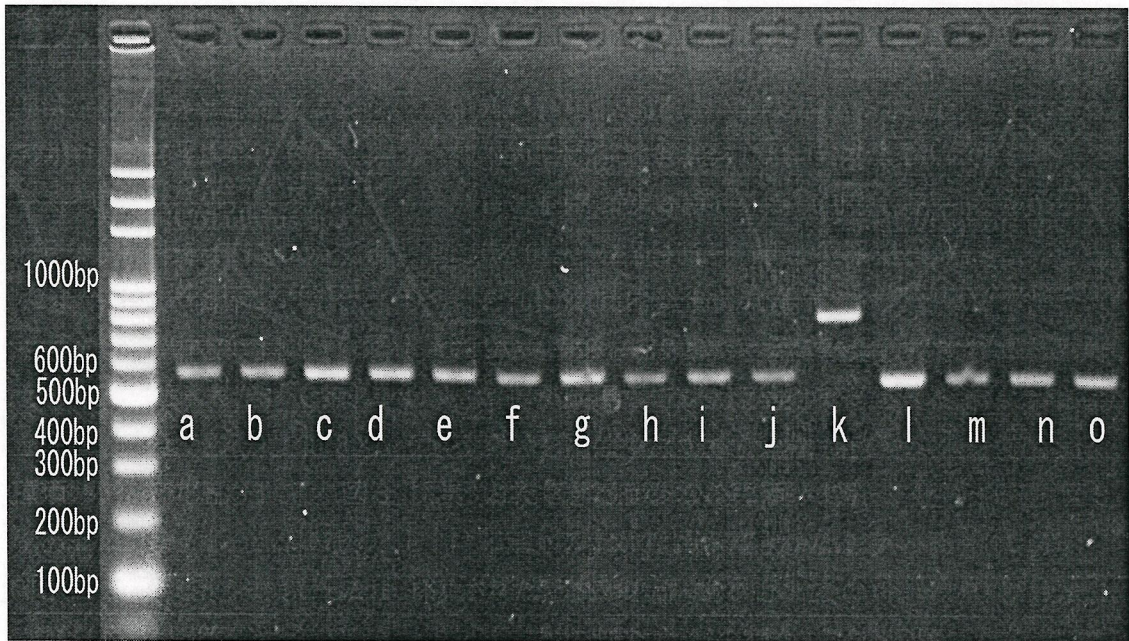


図5 16S リボゾーム RNA 領域の増幅結果

\* a - b : ヤコンオサムシ、c : マイマイカブリ、d : クビボソゴミムシ、e : スジアオゴミムシ、f : ミイデラゴミムシ、g - j : アトボシアオゴミムシ、k : キマワリ、l - o : モンカゲロウ

7月では89%、8月では69%、9月では52%と、7月から9月にかけて雌の比率の減少が見られた。

成虫になる時、多くの昆虫は雄が雌より先に羽化し、雌はそのあとに遅れて羽化することが多い。このため初夏はオスの割合が大きいことが一般的である。ゴミムシの場合、雌のほうが常に大きかった。

似たような種が同じ場所で生活する場合、活動時間・季節、餌の種類、といった生活の要素（生態的ニッチ）の違いによって、種間競争を避けられていることが多いといわれている。このことから今回、ゴミムシ類各種が出現時期を入れ替わるようにして採集されていたのは、種間競争を避けるためだと思われる。

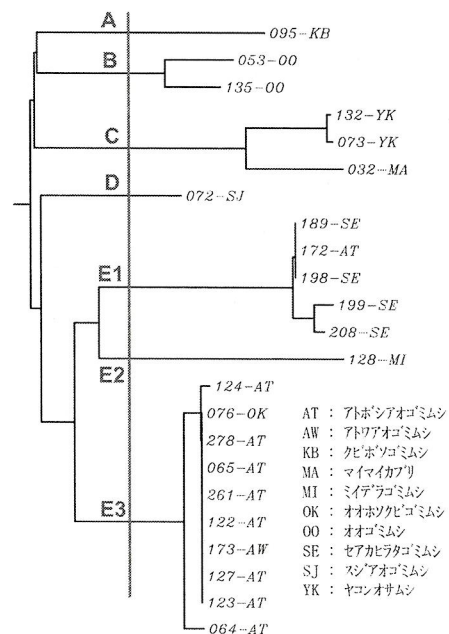


図6 16S rRNA のシーケンス結果によるミトコンドリア DNA のグループ分け

このような例はヤコンオサムシとオオクロナガオサムシの観察において報告されている(曾田 2000)。中国・近畿地方に広く住むヤコンオサムシ、東海地方から近畿地方南部に住むオオクロナガオサムシは雑木林の落ち葉の下に住むミミズや昆虫などの動物を主食とするオサムシである。両者の生息域が重なる京都での観察によると、両者の出現時期はあまり重ならず、ヤコンオサムシは8月の成果に出現し、オオクロナガオサムシは8月は仮眠して、初夏と秋に出現する。ヤコンオサムシは春になると活動を始めて繁殖し、夏に新成虫が出現して、秋には休眠に入る。これは新成虫が7月から出現する春繁殖型に相当する。これに対しオオクロナガオサムシは初夏に新成虫が出現したあとすぐに活動をやめて夏眠をし、秋になって繁殖する。孵化した幼虫は冬を挟んで発育する秋繁殖型に相当する。

今回採集した、セアカヒラタゴミムシとアトボシアオゴミムシをこれらのオサムシと比較すれば、アトボシアオゴミムシは春繁殖型、セアカヒラタゴミムシは秋繁殖型の可能性がある。曾田(2000)らは、夜に野外観察を行いオサムシの捕食活動を直接確認し、主食を確認した。オサムシと違いゴミムシは野外での捕食活動を観察することは難しく、主食を同定する方法は、困難であるので、この2種のゴミムシの主食に関するデータは得られていない。

オサムシでは、繁殖期に入ると卵巣の末端の卵細胞が卵黄を蓄積して膨らんでくる。また卵巣小管の末端に残る黄体の有無より、その雌が産卵を経験しているかどうかを判定することができる曾田(2000)。ゴミムシにおいても、採集した雌個体の卵巣を観察することにより、繁殖時期および経産個体を特定することが可能であると思われる。

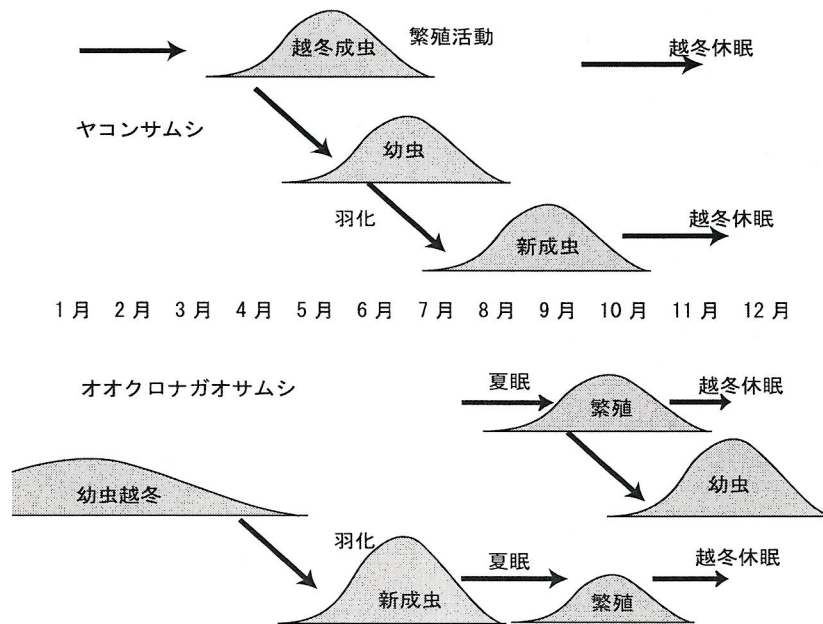


図6 2種のオサムシの季節的生活環

\*曾田貞滋「オサムシの春夏秋冬—生活史の進化と種多様性」より

来年は4月からトラップを仕掛けて採集しようと思う。また、採集したセアカヒラタゴミムシやアトボシアオゴミムシの雌を解剖をして、卵巣の観察を行い、繁殖時期を決定したい。あわせてオサムシ類の雌の解剖も行い、先行研究と比較したい。

このように遺伝子解析が進んでいるオサムシではなくゴミムシのほうが高校での実験材料として優れているようである。その際は核DNAではなくミトコンドリアDNAを使うほうがよいと思われる。ただゴミムシのミトコンドリアDNAについては先行研究が乏しいので今後の教材開発のための基礎研究が強く望まれる。まずはある程度まとまった予算を立てて、データベースに配列登録を数多く行い、解析環境を整えることが必要である。今回の研究が第一歩となることを期待します。

[引用文献]

上野俊一，黒澤良彦，佐藤正孝．1985．原色日本甲虫図鑑（Ⅱ）．514pp．保育社，大阪．

大澤省三，蘇智慧，井村有希．2002．DNAでたどるオサムシの系統と進化．264pp．哲学書房，東京．

川那部浩哉．2008．オサムシ—飛ぶことを忘れた虫の魅惑—．222pp．八坂書房，東京．

川井信矢，堀繁久，河原正和，稲垣政志．2008．日本産コガネムシ上科図説 第1巻 食糞群〈普及版〉．197pp．昆虫文献 六本脚，東京．

曾田貞滋．2000．オサムシの春夏秋冬—生活史の進化と種多様性 生態学ライブラリー—8．247pp．京都大学学術出版会，京都．