

短報 Short Report

広島県呉市の仁方湾で採集された絶滅危惧種タガメ
Kirkaldyia deyrolli (半翅目：コオイムシ科) の記録，形態
及び分子系統

谷 聖太郎¹・長尾元椰²・野崎このは³・河合幸一郎¹

A record of the endangered giant water bug *Kirkaldyia deyrolli* (Hemiptera:Belostomatidae) collected from Nigata Bay, Kure City, Hiroshima Prefecture, Japan, with morphology and molecular phylogeny

Shotaro TANI¹, Motoya NAGAO², Konoha NOZAKI³ and Koichiro KAWAI¹

要旨：タガメ *Kirkaldyia deyrolli* (Vuillefroy, 1864) は、日本国内において絶滅が危惧される水生半翅類であり、その記録情報は本種の生息状況の推定に重要である。また、近年の遺伝子解析により、本種に隠蔽種が含まれる可能性が示唆されており、分類学的再検討には形態とともに分子系統学的情報も重要である。

本誌では、2022年7月に広島県呉市仁方湾にて採集された1個体について、その採集記録情報と標本のデポジトリを公開し、いくつかの形態的特徴を示した。また、標本のミトコンドリア COI の部分塩基配列を決定し、分子系統解析を行った結果、標本は中国地方の他の地域に生息が確認された集団に属したことから、周辺の地域個体群に属する可能性がある。さらに、採集状況から、標本個体は近隣地域、または遠方より飛来した可能性があり、正確な生息地の推定はできなかったものの、今回の記録は呉市において近年途絶えていたタガメの記録を更新するものとなり、周辺地域の個体群の回復が期待される。

キーワード：水生半翅類，絶滅危惧種，分子系統解析，ミトコンドリア COI 領域

Abstract: The giant water bug *Kirkaldyia deyrolli* (Vuillefroy, 1864) is a large aquatic hemiptera endangered in Japan, and collection records are important for estimating the habitat status of this species. Recent genetic analysis suggests that this species may include cryptic species. Thus, the collection of morphological and phylogenetic information is important for reexamining the taxonomy of *K. deyrolli*.

In this article, we published the collection record information and the specimen depository for one individual of the species collected in Nigata Bay, Kure City, Hiroshima Prefecture in July 2022. Some morphological characteristics are discussed. Additionally, we determined the partial sequences of mitochondrial *COI* in the specimen and conducted molecular phylogenetic analysis. As a result, we determined that the specimen shared characteristics with species populations that were confirmed to inhabit other areas of the Chugoku region by previous studies. Therefore, the individual may have belonged to a surrounding regional population and may have flown to the collection area from elsewhere, so it was not possible to accurately establish the original habitat of the specimen. However, this confirms the record of the giant water bug in Kure City, and until then, the record had been lost in recent years. It gives us hope that populations in the surrounding areas may recover in the future..

Keywords: Aquatic hemiptera, endangered species, molecular phylogenetic analysis, mitochondrial COI gene

1 広島大学大学院 統合生命科学研究科：Graduate School of Integrated Science for Life, Hiroshima University

2 京都大学大学院 農学研究科：Graduate School of Agriculture, Kyoto University

3 広島大学 総合科学部：School of Integrated Arts and Science, Hiroshima University

I. はじめに

タガメ *Kirkaldyia deyrolli* (Vuillefroy, 1864) は、カメムシ目コオイムシ科に属する水生半翅類である。本種はロシア極東部から朝鮮半島、中国、及びベトナムにかけて分布し、台湾や日本列島を含めた島嶼部にも生息する (Montandon, 1909; Polhemus, 1995; Perez Goodwyn, 2006; Sareein et al., 2019)。日本国内では北海道・本州・四国・九州・対馬・南西諸島に分布し、抽水植物が豊富な止水域や緩流に生息する (林・宮本, 2016; 中島ら, 2020)。体型は扁平な楕円形で、体長は 48.0–65.0 mm にも及ぶ日本最大級の水生昆虫である (中島ら, 2020)。本種は捕食肉食性であり、幼虫・成虫ともに鎌状の前肢で小動物を捕え、針状の口器を刺して吸汁する。また、雌が水面から突き出した植物茎などに産付けた卵塊を雄が孵化まで保護する繁殖行動が知られる (中島ら, 2020)。

本種はかつて身近な水田や池沼に見られたが、農業により 1960 年代以降各地で絶滅した (中島ら, 2020)。これには、農業汚染や開発・圃場整備などに伴った生息環境の悪化が寄与したとされ (野崎, 2021)、環境省レッドリスト 2020 において絶滅危惧 II 類 (VU) (環境省, 2020)、広島 RDB (2021 年版) において絶滅危惧 I 類 (CR+EN) に選定されている (野崎, 2021)。同時に、本種は売買目的での採集圧も危惧されており (野崎, 2021)、こうした状況から、2020 年の種の保存法の改正に伴って「特定第二種国内希少野生動植物種」に指定され、販売や頒布等を目的とした捕獲等、譲渡し等、陳列・広告、及び輸出が原則禁止となった。このように、かつて全国的に生息し身近な存在であった本種を取り巻く状況は芳しくなく、生息状況の推定と保全活動が急務である。

また、本種は分類学的に曖昧な状態にある。本種はかつて *Lethocerus* Mayr, 1853 に属したが、Perez Goodwyn (2006) によりタガメ亜科の再分類が行われた際、本種は頭部の形状や前脚腿節内側の毛束縦列の非対称性などの違いで *Lethocerus* と区別され、*Kirkaldyia* Montandon 1909 に転属となった。しかしながら、触角及び雄の生殖器等の形状において、属を定義づけられる質的特徴は見出されていない (林・宮本, 2016)。さらに、Sareein et al. (2019) は、タガメ亜科のミトコンドリア (CO1) に基づいた遺伝的系統群を解析し、本種 *K. deyrolli* は大きく 2 つの系統から構成されることを見出した。この 2 系統の遺伝子距離は、タガメ亜科の別種における種内の遺伝子距離よりも著しく大きいことから、タガメ *K. deyrolli* の中に隠蔽種が存在する可能性が示唆された。したがっ

て、本種に関しては何らかの形質に基づいて分類学的な再検討が行われる余地があり、この際には標本の形態形質とともに分子系統学的情報が重要になると考えられる。

こうした状況の中、2022 年 7 月、広島県呉市において、広島大学附属調査船による魚類生態調査の際に、本種 1 個体が採集された。そこで本稿では、絶滅危惧種である本種の保全や分類研究に資する情報の提供を目的として、本標本 (以下呉市標本) の採集記録、デポジトリを含めた基本的情報を標本の形態的特徴とともに示す。また、系統比較に有用な遺伝子領域の塩基配列を決定し、他の地域のデータと系統比較を行い、標本の産地、系統について考察した。

II. 標本の採集状況

本稿で取り扱ったタガメ標本は、2022 年 7 月 26 日、呉市仁方町に面する仁方湾の海上にて、著者の一人である長尾ほかが広島大学附属小型調査船からぬす丸に乗船し魚類調査を行っていた際に発見し、採集したものである (各位敬称は謝辞に記載した)。採集地点は岸から約 200 m ほどの湾内の海面上 (34.212256N, 132.661769E) であり、潮流により形成された表層漂流物の集塊中から発見され、採集時には既に死亡していた。採集後、標本は速やかに冷凍固定され、これを解凍したものを谷が乾燥標本とした。なお、作成時に既に乾燥が進行しており、破損の恐れがあったために、触角を収納状態のまま標本とした。以後は、広島大学総合博物館の登録標本 (HUM-Ins-0004266) として保管されている。

III. 標本の形態について

ここでは、呉市標本の外部形態を観察により得られた情報、及び形態的特徴について示す。なお、各部の長さは ImageJ 1.53a (Abramoff et al., 2004) の Measure 機能を用いて写真から計測した。

1. 基本情報

標本個体は成虫であり、亜生殖板の形状から雌と判別された (図 1 D)。体長は頭部前縁から腹部末端まで 67.52 mm であった。頭幅は 10.20 mm であり、複眼幅は 3.82 mm、複眼間距離は 2.56 mm であった。前胸背板の最大長は 9.71 mm で、最大幅は 22.84 mm であった。

2. 分類形質 (記相)

以下に、Perez Goodwyn (2006) 及び Sareein et al.



図1 タガメ標本各部

A: 背面, B: 腹面, C: 後脚脛節腹面の突起 (矢印部), D: 亜生殖板, E: 頭部, F: 頭部及び前脚内側, G: 前脚腿節内側。EW: Eye width (複眼幅), SW: Synthlypsis width (複眼間距離), HW: Head width (頭幅)。

(2019) に基づく *Kirkaldyia* 属の記相 (Diagnosis) のうち, 標本において確認されたものを列挙する。

頭部: 複眼幅 (3.04 mm) は複眼間距離 (2.56 mm) より広い (図 1 E)。

前胸背板: 幅は長さの 2 倍以上 (2.35 倍)。斑紋は不明瞭 (図 1 A)。

前脚: 腿節内側に非対称的な毛束縦列 (溝) がある (図 1 G)。

後脚: 脛節腹面内側の突起は鈍い (図 1 C 矢印)。

IV. 周辺の生息状況

同呉市における過去のタガメの記録について, 住岡 (2018) は, 呉市内における本種の生息状況について「二河川での記録のみ。それ以降は記録はない」とし, さらに「現状の生息状況は不明で, 近年の観察事例もない」とした。今回の仁方湾における記録は, 同市において長期間途絶えていた本種の記録を更新するものとなった。

また, 広島県下における生息状況について, 野崎・野崎 (2011) の調査により, 2010 年に広島県廿日市市にて本種が拾得されている。さらに, 隣接県を含めた生息状況について, 株式会社ウエスコ九州支社 (福岡市) の野崎達也氏, 元広島市森林公園こんちゅう館 (広島市) の坂本充氏, 広島県環境保健協会 (広島市)

の中西毅氏によると, 広島県に残存する個体群の分布は主に県西部に限られ, 隣接する山口県では岩国市など県東部に分布するとのことだった。さらに, タガメの飛翔力の高さから, 広島県西部および山口県の個体群は相互に分散を繰り返している可能性がある (野崎・坂本, 私信) とのことだった。

V. 分子系統解析

1. 方法

呉市標本からゲノム DNA を抽出し, ミトコンドリアゲノムのチトクローム c オキシダーゼサブユニット 1 (CO1) 領域の一部をポリメラーゼ連鎖反応法 (PCR) によって増幅し, DNA シーケンスによって配列を決定した。この配列データと他の本種の塩基配列データ群と統合し, 系統比較を行った。

2. DNA の抽出と増幅

前胸腹板の一部 (図 1 B, 白矢印で示した部分) を 2 mm 角程度で切り出し, この切片から NucleoSpin Tissue kit (Macherey-Nagel, Düren, Germany) を用いてゲノム DNA の抽出液を作成し, PCR に用いた。

PCR は, はじめ動植物の系統比較に広く使用される LCO1490 及び HCO2198 (Folmer et al., 1994) のプライマーセットを用いて実施したが, これが正常に機能しなかったため, このセットによる増幅領域を内包し

た 805 bp を増幅するプライマーセット：KdCO1F (5'-TCGACAAACCACAGGGATATCG -3') 及び KdCO1R (5'-GGTGGGCTCACACTACGAAT -3') を新たに用いた。これは、Nakasato et al. (2020) によって決定されたタガメのミトコンドリアゲノムデータ (GenBank ID: LC567844) を鋳型として、Primer 3 Plus (Untergasser et al., 2012) を用いて設計し、製造をユーロフィンジェノミクス (東京) に依頼した。

DNA ポリメラーゼに KOD FX Neo (東洋紡, 大阪) を用い、付属のキットで PCR 反応液を調整し、この反応液に前述の DNA 抽出液 3 μL を加えて PCR を実施した。

PCR 条件は、最初に 94℃ で 2 分の熱変性の後、94℃ で 30 秒の熱変性、52℃ で 40 秒のアニーリング、72℃ で 1 分の伸長反応のサイクルを 35 回行い、最後に 72℃ で 10 分の伸長反応を行って終了した。

PCR 産物の DNA 増幅は、2% (w/v) アガロースゲル下での電気泳動によって確認し、FastGene Gel/PCR Extraction Kit (日本ジェネティクス, 東京) により精製を行った後、NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific K. K, Tokyo) により DNA 量の測定を行い、ユーロフィンジェノミクスにシーケンシングを依頼した。

3. 分子系統解析

決定された塩基配列、および国際塩基配列データベース (INSD) 上に登録された塩基配列データを統合し、各地のタガメ個体群との系統比較を行った。

系統解析には MEGA X for MacOS (Stecher et al., 2020) を用い、両側シーケンスデータの統合、アラインメント、および系統樹の作成を行った。系統比較には、INSD より個別に産地情報が参照できる配列データを引用して用いた。(アクセッション番号と引用情報は表 1 参照) 遺伝子距離の推定には Tamura (1992) モデルを用い、ブートストラップ法の計算回数を 1000 回として、最尤法による分子系統樹を作成した。

表 1 分子系統解析に用いた塩基配列データ

種	Acc. No.	引用
	LC777621	本研究
	LC567844	Ribeiro et al. 2018
<i>K. deyrolli</i>	MK926425-432	Sereein et al. 2019
	MN053177-203	Sereein et al. 2020
	LC567844	Nakasato et al. 2020
	LC659996-997	Hayashi et al 2021
<i>L. indicus</i>	MK926410	Sereein et al. 2019

4. 結果

シーケンシングの結果、下流 32 bp は正確な配列決定ができなかったために、総長 773 bp の塩基配列が決定された。このデータは DDBJ の塩基配列登録システムを通じて INSD に登録された (Acc. No. は表 1 を参照)。他データとのアラインメント後、453 bp の塩基配列データが系統解析に使用された。



図 2 タガメ *K. deyrolli* のミトコンドリア CO1 遺伝子に基づく最尤法による系統樹
 各ノードの数字は、計算回数 1000 回におけるブートストラップ値を示す。

統合データを用いて作成した分子系統樹を図2に示す。系統樹上で、タガメ系統群は互いに平均遺伝子距離 11.8% の2系統に分岐した。一方は日本(島根県・熊本県大都町)及び、大韓民国(濟州島・喬桐島)由来の個体により構成され、もう一方は、北朝鮮(平壤)および日本(島根県雲南市)由来の個体により構成された。呉市標本に由来する塩基配列は前者に属し、そのうち島根・熊本・濟州島・喬桐島由来の個体と同一の配列を有し、これらは同じハプロタイプ集団に属すると推定された。

VI. 考察

1. 分子系統による個体群推定

Sareein et al. (2019) で言及された通り、タガメ *K. deyrolli* の遺伝子系統は2系統に大きく分化し、ともに日本、及び朝鮮半島由来の個体により構成される。さらに、この系統のうち一方には、日本-朝鮮半島の間で海洋を隔てているにもかかわらず、同一の配列を有するハプロタイプ集団が複数存在する。したがって、この系統においては、北東アジア広域に比較的分化の小さい集団が生息し、それぞれの地域特異性は低いという集団遺伝学的特徴がある。遺伝子解析により、呉市標本もこの広範な生息域を有する系統に属し、さらにこのうち最大多数の産地に由来するハプロタイプ集団に属することが明らかとなった。上述のタガメの集団遺伝学的特性から、遺伝子系統により詳細な生息地域を推定することはできない。したがって、放虫や飼育個体の逸出など人為的移動の可能性を否定できないものの、島根県において同ハプロタイプ集団が生息することから、呉市標本は周辺の地域個体群に属する可能性がある。今後、廿日市市や岩国市の近隣集団と分子系統の比較を行い、呉市標本のより正確な個体群推定を行う必要がある。

2. 採集状況と生態に基づいた産地推定

本誌で扱ったタガメ標本は海上で採集された点で特徴的であるが、本種は池沼や河川緩流域に生息する淡水生種であり(中島ら, 2020)、採集地点である海水域は生息地に適さない。したがって、呉市標本は何らかの要因による移動の後、生息域外にて採集されたものと推定される。

この要因として前述の人為的移動や河川流・海流の影響は否定できないが、標本個体が周辺の地域個体群に属する場合は、その能動的な移動によるものと推測される。タガメ類は強い正の光走性を有し、夜間の分散飛行中に街灯に引き寄せられることが知られ、

“electric light bugs” と呼ばれる (Menke, 1979; Choi et al., 2009)。呉市標本採集地の仁方湾は呉市仁方町や川尻町に面し、沿岸を含めて周辺には多くの街灯がある。したがって、標本個体は夜間に周辺から街灯に飛来した後、川面や海面に着水し、餌不足や脱水により死亡した状態で漂流物集塊中に留まっていたと推測することができる。

この場合、タガメ類の光走性の感知距離は約 3 km であることから (Duvirad, 1974)、一度の飛翔で湾周辺に到達し死亡したとすれば、仁方湾周辺の 3 km 程度(呉市広の東部から仁方町、川尻町西部、下蒲刈町下島にかけての地域)に未発見、あるいは新たに創出された生息地が存在する可能性がある。あるいは、タガメは食料不足に瀕した際に複数回の飛翔移動を行う (Ohba & Takagi, 2005) ことから、標本個体は複数回の飛翔を経て広島県西部-山口県の個体群、または別の個体群の生息地から移動してきた可能性もある。

いずれにしても、長期に渡って周辺で記録のなかった本種が再び採集されたことは、周辺地域の個体群の回復を期待させるものである。今後の周辺個体群の動向について、継続的な調査が望まれる。

【謝辞】

本誌の執筆にあたり、株式会社ウエスコ九州支社の野崎達也氏、広島県環境保健協会の中西毅氏、元広島市森林公園こんちゅう館の坂本充氏の有識者の皆様には、近隣のタガメの生息状況について情報をいただいた。また、京都大学の市川光太郎准教授、広島大学の河合賢太郎助教、同大学院附属竹原ステーションの近藤裕介助教、岩崎貞治技術職員、生物生産学部(当時)の伊藤翔太氏、京都大学大学院農学研究科(当時)の西川寛太郎氏の皆様には、標本の採集及び写真提供に際し多大なご協力をいただいた。各位に対して、ここに厚く感謝を申し上げます。

【引用文献】

- 環境省 (2020): 環境省レッドリスト 2020 別添資料 3. URL: <https://www.env.go.jp/press/107905.html> (2023年8月27日閲覧)
- 住岡昭彦 (2018): タガメ. ひろしま自然の会 編: 『レッドデータブックくれ〜呉市の絶滅のおそれのある野生動植物〜』くれ環境市民の会, 32.
- 中島 淳・林 成多・石田和男・北野 忠・吉富博之 (2020): 『ネイチャーガイド 日本の水生昆虫』文一総合出版.
- 野崎達也・野崎陽子 (2011): 広島県の水生半翅類. 比婆科

- 学. 238 : 1–14.
- 野崎達也 (2022) : タガメ. 生物多様性広島戦略推進会議 希少生物分科会 編 : 『広島県の絶滅のおそれのある野生生物 (第4版) レッドデータブックひろしま 2021』 広島県環境県民局自然環境課, 199.
- 林 正美・宮本正一 (2016) : 半翅目 Hemiptera. 川合禎次・谷田一三 編 : 『日本産水生昆虫 科・属・種への検索 第三版』 東海大学出版, 329–428.
- Abbramoff, M. D., P. J. Magalhães and S. J. Ram (2004): Image processing with ImageJ. *Biophotonics intern*, 11, 36–42.
- Duvirad D. (1974): Flight activity of Belostomatidae in central Ivory Coast. *Oecologia*, 15, 321–328.
- Folmer, O., M. Black, W. Hoeh, R. Lutz and R. Vrijenhoek (1994): DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol Mar Biol Biotechnol*, 3, 294–297.
- Choi, H., H. Kim and J. G. Kim (2009): Landscape analysis of the effects of artificial lighting around wetland habitats on the giant water bug *Lethocerus deyrollei* in Jeju Island. *J Ecol Field Biol*, 32, 83–86.
- Hayashi, M., R. Souma, G. Yoshinari and M. Nakamura (2021): DNA barcodes of aquatic insects of Shimane Prefecture, Japan. (Unpublished)
- Menke A. S. (1979): Family Belostomatidae – giant water bugs, electric light bugs, toe biter. Menke A.S. ed. : *The Semiaquatic and Aquatic Hemiptera of California (Heteroptera: Hemiptera)* . University of California Press, California, 76–86.
- Montandon A. L. (1909): Belostomidae et Nepidae. Notes diverses et descriptions d'espèces nouvelles. *Bulletin de la Société des Sciences, Bucarest*, 18, 137–147.
- Nakasato, J., H. Okuyama, S. Ohba and J. Takahashi (2020): Complete mitochondrial DNA sequence of the giant water bug *Kirkaldyia deyrolli* (Hemiptera: Belostomatidae). *Mitochondrial DNA B Resour.* 5, 3739–3740.
- Ohba S. and Takagi H. (2005): Food shortage affects flight migration of the giant water bug *Lethocerus deyrolli* in the prewintering season. *Limnology*, 6, 85–90.
- Polhemus J. T. (1995): Belostomatidae. Aukema B, Rieger C (eds): *Catalogue of the Heteroptera of the Palaearctic Region. Volume 1. Enicocephalomorpha, Disporomorpha, Nepomorpha, Gerromorpha and Leptopodomorpha*, The Netherlands Entomological Society, Wageningen, 19–23.
- Perez Goodwyn P. J. (2006) : Taxonomic revision of the subfamily Lethocerinae Lauck & Menke (Heteroptera: Belostomatidae). *Stuttgarter Beitrage zur Naturkunde, Serie A (Biologie)* , 695, 1–71.
- Ribeiro, J. R. I., S. Ohba, D. Pluot-Sigwalt, F. Stefanello, W. Bu, S. E. Meyin-A-Ebong and E. Guilbert (2018): Phylogenetic analysis and revision of subfamily classification of Belostomatidae genera (Insecta: Heteroptera: Nepomorpha). *Zool. J. Linn. Soc.*, 182, 319–359.
- Sareein, N., J. H. Kang, S. W. Jung and C. Phalaraksh (2019): Taxonomic review and distribution of giant water bugs (Hemiptera: Belostomatidae: Lethocerinae) in the Palearctic, Oriental, and Australian regions. *Entomol. Res.*, 49, 462–473.
- Sareein, N., J. H. Kang, T. J. Yoon, C. Han, C. Phalaraksh and Y. J. Bae (2020): Effect of artificial light at night on the genetic diversity of Asian giant water bugs (Hemiptera: Belostomatidae: Lethocerus and Diplonychus). (Unpublished)
- Tamura, K. (1992): Estimation of the number of nucleotide substitutions when there are strong transition-transversion and G+ C-content biases. *Mol. Biol. Evol.*, 9, 678–687.
- Stecher, G., K. Tamura and S. Kumar (2020): Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) for macOS. *Mol. Biol. Evol.*, 37, 1237–1239.
- Untergasser, A., I. Cutcutache, T. Koressaar, J. Ye, B. C. Faircloth, M. Remm and S. G. Rozen (2012): Primer3 – new capabilities and interfaces. *Nucleic Acids Res.*, 40, e115.

(2023年8月31日受付)

(2023年11月22日受理)