

ミトコンドリア DNA から推定されたスジグロボタルの分子系統

日和佳政・草桶秀夫

A molecular phylogeny of *Pristlycus sagulatus*(Coleoptera, Lampyridae) estimated from mitochondrial DNA

Yoshimasa Hiyori and Hideo Kusaoke

Abstract

In order to examine molecular phylogenetic relationship between the Japanese firefly *Pristlycus sagulatus* (Coleoptera) and the Luciolinae species, partial mitochondrial 16SrRNA, ND5, CO1, and CO2 genes were constructed by using 18 lampyridae species. The phylogenetic tree showed five major lineages of Luciolinae, Lampyrinae, *Cyphonocerus*, *Drilaster* and *Rhagophthalmus*. Even though *P. sagulatus* had been classified as Lampyrinae, it was included in the Luciolinae clade by our molecular phylogenetic analysis based on mtDNA sequences.

1. はじめに

日本列島には約 50 種のホタルが生息している。ホタル亜科はこのうち 10 種で構成されており、日本の代表的な水生ホタルである、ゲンジボタル(*Luciola cruciata*)やヘイケボタル(*Luciola lateralis*)もこのグループに含まれる。鈴木らは、ミトコンドリア 16S rRNA 遺伝子に基づく日本産ホタルの分子系統解析によって、オバボタル亜科に分類されているスジグロボタル (*Pristlycus sagulatus*)が、ホタル亜科のクレードに含まれることを明らかにしている (1997)。しかしながら、川島ら (2003) は、日本産ホタルのチェックリストの中で、スジグロボタルをこれまで通り、オバボタル亜科に分類している。本種は成虫形態がオバボタルに類似しているが (図 1)、幼虫形態はヒメボタルに類似している (図 2)。また、幼虫は採餌の際一時的に水中に入りカワニナを捕食することが知られている。このような半水生的な生活様式を持つ本種は、ゲンジボタルやヘイケボタルなどの水生ホタルの進化を考える上でも非常に興味深い。

本研究では、日本産ホタル亜科の類縁関係とスジグロボタルの系統的位置を再検討するため、16 種の日本産ホタルと 2 種の外国産ホタルについて、ミトコンドリア遺伝子を用いた分子系統解析を行ったので報告する。

スジグロボタル成虫

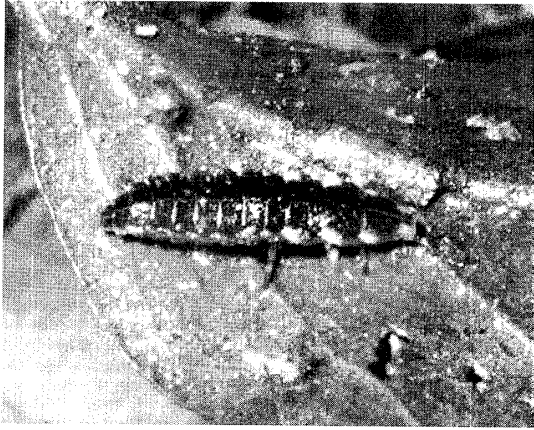


オバボタル成虫

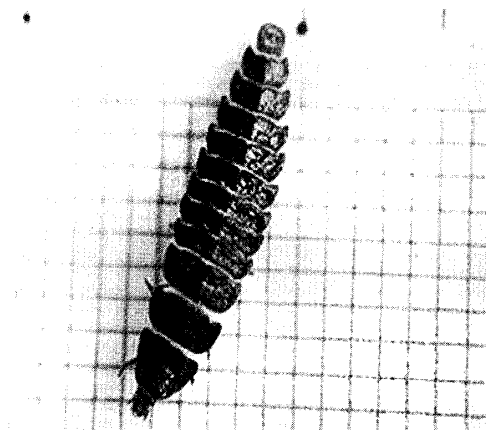


図 1 スジグロボタルとオバボタルの成虫形態

スジグロボタル幼虫



ヒメボタル幼虫



<http://www.nihon-hotaru.com/Question/zukan.html>より引用 <http://hitoshizen.jp/> より引用

図 2 スジグロボタルとヒメボタルの幼虫形態

表 1 分子系統解析に用いたホタル

No.	日本名	学名	科・亜科	採集地
1	ゲンジボタル	<i>Luciola cruciata</i>	ホタル亜科	長野県辰野町
2	ヘイケボタル	<i>Luciola lateralis</i>		山梨県笛吹市
3	ヒメボタル	<i>Luciola parvula</i>		福井県大野市朝日前坂
4	ヤエヤマボタル	<i>Luciola filiformis yayeyamana</i>		沖縄県竹富町
5	クメジマボタル	<i>Luciola owadai</i>		沖縄県久米島町
6	ツシマヒメボタル	<i>Luciola tsushimana</i>		長崎県対馬市
7	オキナワスジボタル	<i>Curtos okinawanus</i>		沖縄県国頭村
8	キイロスジボタル	<i>Curtos costipennis</i>		沖縄県竹富町
9	クロイワボタル	<i>Luciola kuroiwa</i>		沖縄県久米島町
10	タイ産ホタル	<i>Luciola</i> sp. (Thailand)		Chiang Mai pref. Thailand
11	ヨーロッパ産ホタル	<i>Luciola italica</i> (Italia)		Fortunago Pavia Italia
12	スジグロボタル	<i>Pristolycus sagulatus</i>	オバボタル亜科	福井県福井市末
13	アキマドボタル	<i>Pyrocoelia lufa</i> (AF450248)		遺伝子バンク
14	オオオバボタル	<i>Lucidina accensa</i>		福井県池田町稲荷
15	オバボタル	<i>Lucidina biplagiata</i>	ミナミボタル亜科	千葉県酒々井町
16	カタモンミナミボタル	<i>Drilaster axillaris</i>		福井県越前町茗荷
17	ムネクリイロボタル	<i>Cyphnocerus ruficollis</i>	クシヒゲボタル亜科	新潟県糸魚川市
18	イリオモテボタル	<i>Rhagophthalmus ohbai</i> (AB267275)	オオメボタル科	遺伝子バンク

2. 材料と方法

解析に用いたスジグロボタルは、2006年6月19日に福井県福井市末で採集された個体を用いた。スジグロボタル以外のホタルは、日本に生息する15種類、ヨーロッパに生息する *Luciola italica*、およびタイに生息する *Luciola* 属の一種を含めた合計17種について解析を行った。スジグロボタルを含めた合計18種のうち、アキマドボタルとイリオモテボタルのDNA配列は、遺伝子バンクに登録されている配列を用いた(表1)。また系統樹の根元を決定するため、外群としてベニボタルを用いた。DNA解析は、ミトコンドリア遺伝子をPCRによって増幅し、精製後オートシーケンサーによって塩基配列を決定した。決定された塩基配列は、分子系統解析ソフトを用いて分子系統樹を作成した。

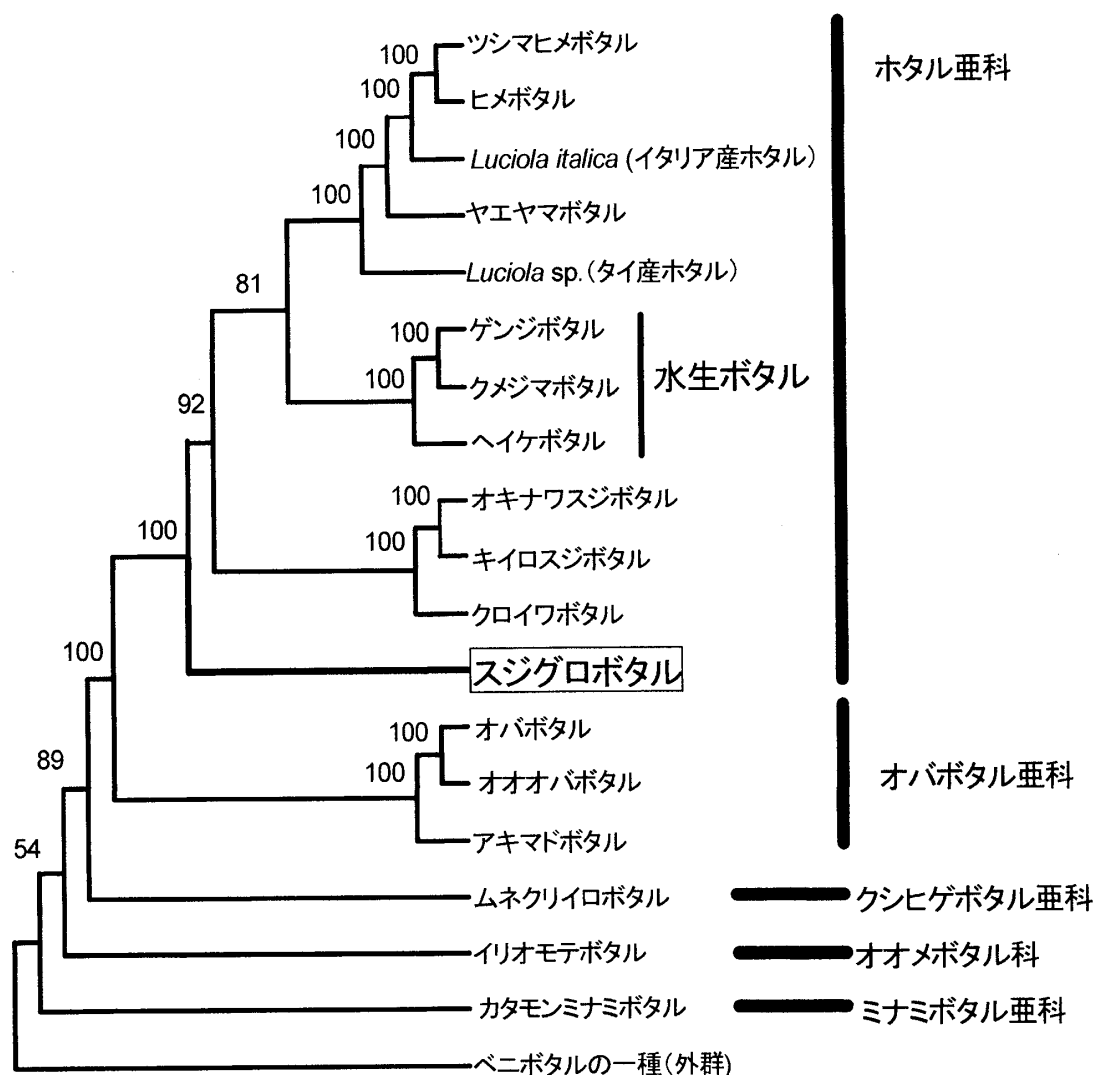


図 3 ミトコンドリア遺伝子から推定されたホタルの系統樹

3. 結果と考察

18 種類のホタルと外群のベニボタルについて、ミトコンドリア遺伝子 16SrRNA, ND5, CO1, CO2 の各遺伝子を用いた分子系統解析を行った結果、オバボタル亜科に分類されているスジグロボタルは、鈴木らの結果と同様、ホタル亜科のグループに含まれることが明らかとなった (図 3)。また、分岐の信頼性を示す数値も 100% と高かった。系統樹を見ると、スジグロボタルの分岐は、ホタル亜科のグループの中で最も根元に近く、最初に分岐している。一方、ゲンジボタルやヘイケボタルなどの水生のホタルは、スジボタル属とクロイワボタルに次いで分岐しており、ゲンジボタル、クメジマボタルおよびヘイケボタルの 3 種は 1 つのグループを形成している。このように、スジグロボタルと 3 種の水生ボタルは、グループを形成せず密接な類縁関係は認められなかった。図 3 の分子系統樹において、グループを形成する 3 種の水生ボタルの幼虫には、鰓器官があり水中での呼吸が可能である。しかし、スジグロボタルの幼虫には、鰓器官は存在せず、3 種の水生ボタルと異なり外部形態も陸生のヒメボタル幼虫に酷似している (大場 2004)。これらのことから、スジグロボタルの半水生という生活様式は、鰓器官を持つゲンジボタルやヘイケボタルなどの水生ボタルとは直接

関係が無く、各系統が進化の過程で個別に獲得した生活様式であると考えられる。水生ボタルの中には、鰓器官を持たない種も存在するため、これらのホタルとスジグロボタルとの類縁関係についても、調査の必要があると考えられる。また、図3の分子系統樹で、ホタル亜科のクレードに含まれたスジグロボタル以外のホタル亜科の成虫は、夜行性で発光器官が発達しており光による個体間のコミュニケーションを行う。しかし、スジグロボタルの成虫には発光器官が認められず、昼行性でオバボタル亜科に見られる匂いによる個体間のコミュニケーションを行う。このようにスジグロボタルは、成虫にオバボタル亜科の特徴、そして幼虫にホタル亜科の特徴を併せ持ち、遺伝的にホタル亜科に近縁という特異な存在であり、ホタル亜科の進化を考える上で重要なホタルである可能性が高い。今後、近縁種も含めた分類学的な再考察が望まれる。

4. 謝辞

本研究を遂行するにあたり、サンプルをご提供いただいた、全国ホタル研究会の皆様深く感謝申し上げます。なお本研究は、文部科学省私立大学学術高度推進事業オープンリサーチ・センター整備事業の助成（2005－2009）を受けて行われているものであり、ここに謝意を表す。

5. 参考文献

Itsuro Kawashima, Hirobumi Suzuki, Masataka Sato 2003. A check-list of Japanese fireflies (Coleoptera, Lampyridae and Rhagophthalmidae), *Jpn. J. Ent.*, 9(2): 241-261.

大場信義 2004. ホタル点滅の不思議－地球の奇跡, 横須賀市自然・人文博物館.

草桶秀夫, 日和佳政 2002. ホタルの分子系統と遺伝的分化, 昆虫と自然 37 (14) .

日和佳政, 井上大慈, 佐久間慎介, 草桶秀夫 2007. 日本に生息するホタル亜科の分子系統, 日本進化学会第9回大会要旨集 p111.

Hirobumi Suzuki 1997. Molecular phylogenetic studies of Japanese fireflies and their mating systems. *TMU Mulletin of Natural History*, No. 3: 1-53.

(平成20年3月31日受理)