

# ミトコンドリアDNA配列から推定した近畿地方における ヒメボタルの遺伝的類縁関係

日和佳政\*・草桶秀夫\*\*

## Genetic relationship of the *Luciola parvula* inferred from Mitochondrial DNA sequences in the Kinki district

Yoshimasa Hiyori\*, Hideo Kusaoke\*\*

### Abstract

In our previous study, we found that the genetic population of *Luciola parvula* was divided into five groups in Japanese islands except for Hokkaido island by the mitochondrial DNA sequence analyses, and they were distributed to the different areas geographically. In this study, the genetic population in Kinki district was divided into three groups, that is, two groups of an eastern area from Himeji city Hyogo and a western area from Sanda city, Hyogo in Honsyu island and one group of eastern Shikoku and Awaji islands. Himeji and Sanda cities showed a boundary place of two groups in Honsyu island. The genetic populations will be related to the geological structure in the formation of Japanese islands.

### 1. はじめに

ヒメボタルは本州，四国および九州に生息する日本固有の陸生のホタルである。これまで全国のヒメボタル(*Luciola parvula*)について遺伝子解析を行った結果，主に5つの遺伝的グループの存在が明らかとなった(草桶，2004)。ヒメボタルの遺伝的構造は，ゲンジボタル(*Luciola cruciata*)やヘイケボタル(*Luciola lateralis*)と同様，地域によって異なっていることが示された。また，ヒメボタルの遺伝的グループ間の塩基配列の違いは，ミトコンドリアND5遺伝子において，平均で9.3%と非常に大きな違いがあり種間レベルの変異が認められた。

これまでの遺伝子解析の結果から，ヒメボタルの遺伝的グループの分布において近畿地方は3つのグループの境界領域であり，遺伝的に大きく隔てられた個体群同士が隣接して生息している(Fig. 1)。この地域のヒメボタルは山地から丘陵地、そして平地まで多様な環境に生息している。特に北摂地域の平地から丘陵地では，住宅街の緑地や果樹園など，人間生活の身近な場所にも生息するため，この地域ではヒメボタルに対する人々の関心が高く，保護活動や人工飼育が行われている。

しかし，ヒメボタルのように遺伝的グループ同士が非常に隔てられている個体群においては，そのホタルの遺伝的多様性の保全を考慮した上で，人工飼育や保護活動を行うことが重要である。

本研究では，遺伝的多様性の保全を図り，ヒメボタルの保護活動を行うことを目的として，遺伝的グループの境界領域である近畿地方のヒメボタルについて遺伝子解析を行い，その境界領域を詳細に調査したので報告する。

\* 福井工業大学大学院・応用理化学専攻・生命科学分野

\*\* 環境・生命未来工学科

## 2. 材料と方法

解析に用いたヒメボタルは、全国ホタル研究会会員の方々から提供されたもの、および、当研究室で採集したものを用いた。DNA 解析には、ミトコンドリア DNA の ND5 遺伝子を PCR によって増幅し、Dye terminator 法によって塩基配列を決定した。決定された塩基配列はどの配列からも 1 塩基以上異なった場合 1 つのハプロタイプと

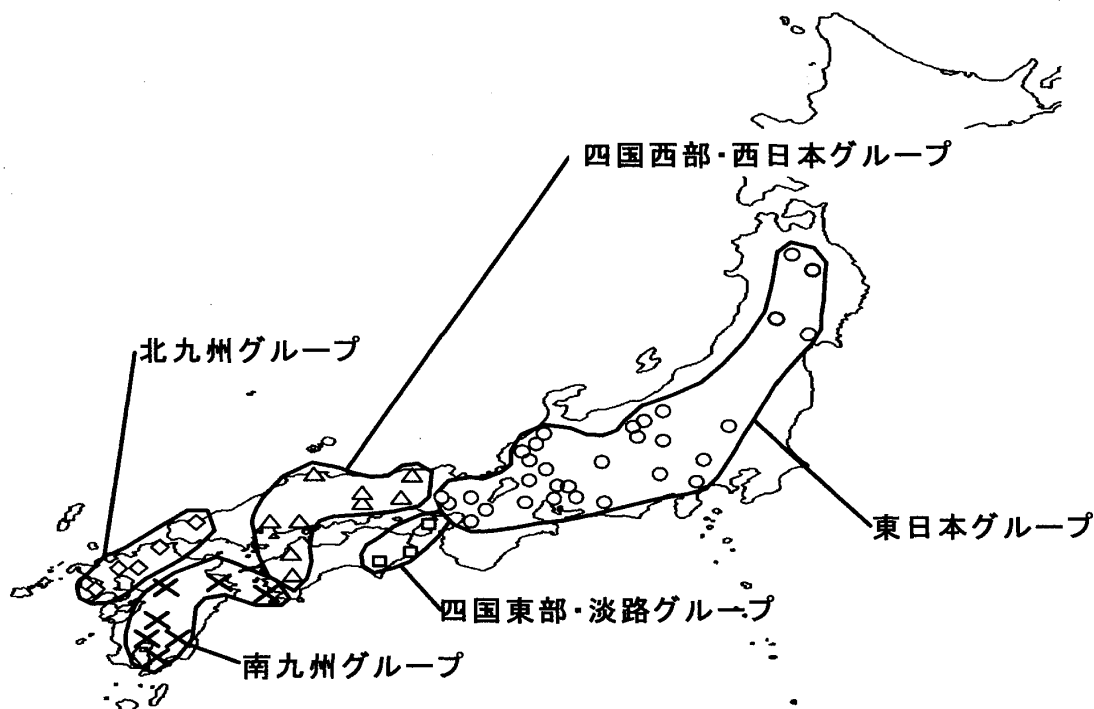


Fig.1 系統解析から得られた、ヒメボタルの遺伝的グループの地理的分布

して分類し、MEGA3.1 : Molecular Evolutionary Genetics Analysis software (Kumar et al., 2005) , を用いて分子系統解析を行った。系統樹の構築には近隣結合法 (NJ 法) および最節約法 (MP 法) を用い、系統樹の各分岐の信頼性は 10000 回繰り返しによるブートストラップテストによって評価を行った。その後、構築された系統樹の樹形および分岐の信頼性から遺伝的グループを決定し、各グループの地理的分布状況を調査した。

## 3. 結果と考察

草桶ら(2004)のこれまでの研究において、ヒメボタルは南九州グループ、北九州グループ、四国西部・西日本グループ、四国東部・淡路グループおよび東日本グループの 5 つに分けられることを明らかにしてきた(Fig.1)。この解析から近畿地方は、東日本グループ、四国西部・西日本グループそして四国東部・淡路グループの 3 つの遺伝的グループの境界領域であることがわかった。今回の解析で我々は、これらの境界領域の詳細を明らかにするため、これまで解析した配列を含め、近畿地方を中心に 13 地域 20 個体のヒメボタルについて 933bp の塩基配列を用いて分子系統解析を行った。その結果、16 個のハプロタイプが見出され、これらのハプロタイプをもとに系統樹を構築した結果、NJ 法および MP 法のどちらの系統樹も独立性の高い 3 つのクレードが認められた(Fig. 2)。

これらの 3 つのグループの地理的分布を図 3 に示した。Fig. 3 からわかるように、

グループ I とグループ III の境界は兵庫県日高町と兵庫県姫路市を南北に結んだ東側と、兵庫県三田市と大阪府池田市を結んだ西側の領域に存在すると思われる。また、グループ I, III とグループ II の境界は明石海峡から友ヶ島水道に至る海峡によって隔てられているものと考えられる。

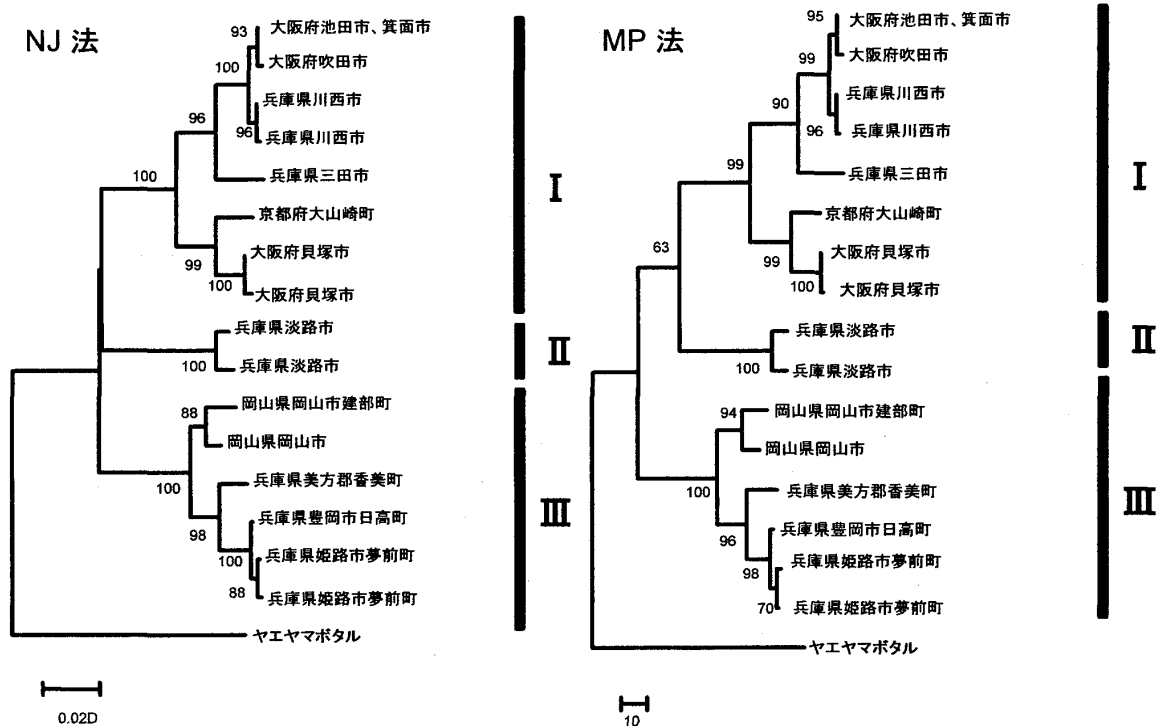


Fig. 2 ミトコンドリア ND5 遺伝子をもとにした近畿地方におけるヒメボタルの分子系統樹

※アウトグループとしてヤエヤマボタルを用いた。各分岐の横に示された数字は分岐の信頼性(%)を示す。

今回見出された遺伝的グループの境界のうち、グループ I, III とグループ II の境界は海峡が遺伝的分化に影響を与えていることが示唆されるが、グループ I とグループ III の境界領域には、海峡や高い山脈などの個体間の移動の障壁になるような地理的要因は存在しない。しかし、この領域は加古川流域から氷上盆地を通り由良川流域へ抜ける、氷上回廊と呼ばれる本州の中で太平洋側から日本海側を結ぶ最も低い地域が存在し（藤田, 1983）、グループ I とグループ III の境界はこの地域に一致する。この地域は最も標高の高い場所でも 100m 程度しかないので温暖な時期が訪れ、海水面が上昇すると、容易に水没すると考えられる。したがって、この地域が日本列島の形成過程において気候変動や地殻変動により繰り返し水没したと推察される。このことは、メスが飛翔できないため移動能力の少ないヒメボタルにとって、個体群同士の移動の障壁になったものと考えられる。また八木ら（2006）は、ヒメボタルの発光時刻の調査によって、この地域が日没後 1~2 時間後に発光する個体が最大になる宵型と、夜半過ぎに発光する個体が最大になる深夜型の境界領域であると述べている。ヒメボタルの成虫の発光は交配のために行われる行動であることから、このような活動時間の違いは、仮にグループ間で個体の移動が生じたとしても交配が成立する確率は低いと考えられる。したがって、交雑が起りにくくグループ間において遺伝子の浸透が妨げられている可能性も推察できる。このようなことから、グループ I とグループ III の間の遺伝的分化には地形的要因の他に生活史などの生態的要因も関与していると考えられる。

このように、ヒメボタルの個体群において近畿地方が遺伝的にも生態的にも境界領域であるということは、ヒメボタルの起源や分布過程を知る上で非常に興味深い。現在この地域の個体群に対して、さらに遺伝子解析を行い、詳細な境界領域の調査を行っている。

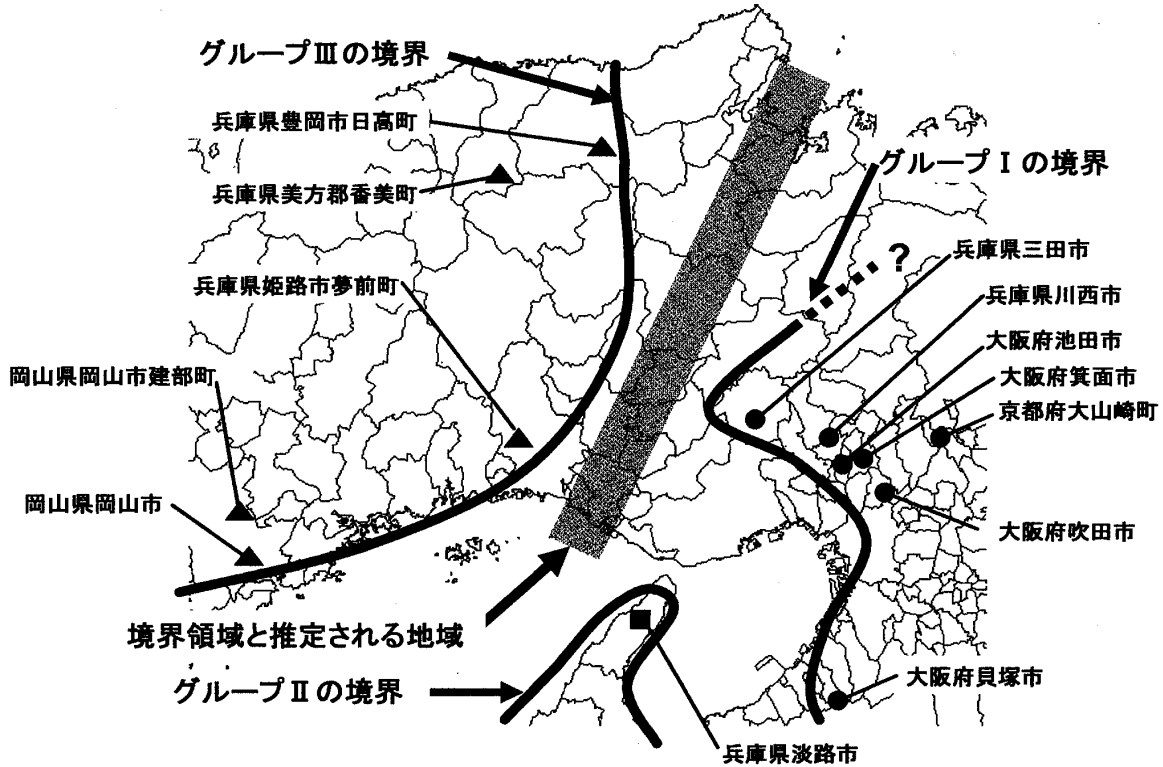


Fig. 3 系統樹から推定された近畿地方におけるヒメボタルの遺伝的グループの地理的分布

#### 4. 謝辞

本研究を遂行するにあたり、ヒメボタルサンプルをご提供いただいた、全国ホタル研究会会員の皆様に深く感謝申し上げます。特にサンプル採集に積極的にご協力いただいた、兵庫県立人と自然の博物館の八木剛氏、神戸大学農学部安岡拓郎氏、そして今城香代子氏には重ねて御礼申し上げます。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. 引用文献

Kumar, S., Tamura, K., Jakobsen, I. B. & Nei, M. 2005. MEGA3.1: Molecular Evolutionary Genetics Analysis software, Arizona State University, Tempe, Arizona, USA.

日和佳政, 馬場弘孝, 草桶秀夫 2004, 遺伝子から見たホタル個体群の地理的分布と遺伝的分化. 全国ホタル研究会誌, (37): 23-27.

藤田和夫 1983, 日本の山地形成論 地質学と地形学の間, 倉樹書房.

八木剛, 安岡拓郎 2006, ヒメボタルの発光時刻の地理的変異, 日本昆虫学会第66回大会講演要旨, P65.

(平成19年3月30日受理)