

遺伝子から見たヒメボタルの体型と地理的分布

日和 佳政*・森 映智*・馬場 弘孝*・草桶 秀夫(福井県福井市)

はじめに

ヒメボタル *Hotaria parvula* は北海道を除く本州から四国, 屋久島を含む九州に分布する陸生のホタルで, 体の大きさ, 前胸背の斑紋, 幼虫の体色など, 形態的に多くの変異が見られる。オスの体長約 8 mm, 飛翔時における発光間隔が 0.9 秒の大型と体長 6 mm, 発光間隔 0.5 秒の小型の 2 生態型も知られている (大場, 1990; 2000)。また, 遺伝的にも個体間に大きな変異があり, アロザイム分析によって, 大型ヒメボタルと小型ヒメボタルは遺伝的分化が生じていると報告されている (佐藤, 1998; 鈴木ら, 1993; Suzuki *et al.*, 1993)。さらに, ヒメボタルのメスは後翅が退化して飛翔することができない (大場・中根, 1981) ため, ヒメボタルは個体間の移動が制限され, 地域間での遺伝的交流が起こりにくく, 地域固有の遺伝的変異を蓄積しやすいと考えられる。したがって, ヒメボタルは遺伝的多様性や分布過程を研究するには良い研究材料である (2005: 草桶)。

我々はこれまでミトコンドリア ND5 遺伝子と 16SrRNA 遺伝子の塩基配列を用い, ヒメボタルの地域個体間について遺伝的類縁関係を調べてきた。その結果, ヒメボタルは, 4 つの遺伝的グループに分けられることを見出した (日和ほか, 2004)。これら 4 つのグループは地理的に異なっ

た地域に分布した。

本研究では, これら 4 つの遺伝的グループについて体長と体幅の計測を行い, 体の大きさと遺伝的分化との関係について調べたので報告する。

2. 材料と方法

1. 分子系統解析

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 遺伝子と 16SrRNA 遺伝子の一部を PCR によって増幅し, Dye terminator 法によって塩基配列を決定した (日和ら, 2004)。決定された塩基配列は Mukai らの方法 (Mukai *et al.*, 1997) によってハプロタイプ別に分類した。

分子系統解析は MEGA3.1: Molecular Evolutionary Genetics Analysis software (Kumar *et al.*, 2005) を用いて行った。近隣結合法 (NJ 法) によって分子系統樹を作成し, 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, その地理的分布図を作成した。

2. ヒメボタルの大きさの計測

全国から採集されたヒメボタルについて, 1 採集地あたり 1 個体から 3 個体の

体幅および体長を顕微鏡下に測定した。
 ホタルの体型は（大型，小型）は，7 mm
 以下を小型，7 mm以上を大型と定義した。
 遺伝的グループと体型（大型，小型）

との関係を検討するため，各遺伝的グル
 ープにおける体幅に対する体長の関係を
 求めた。

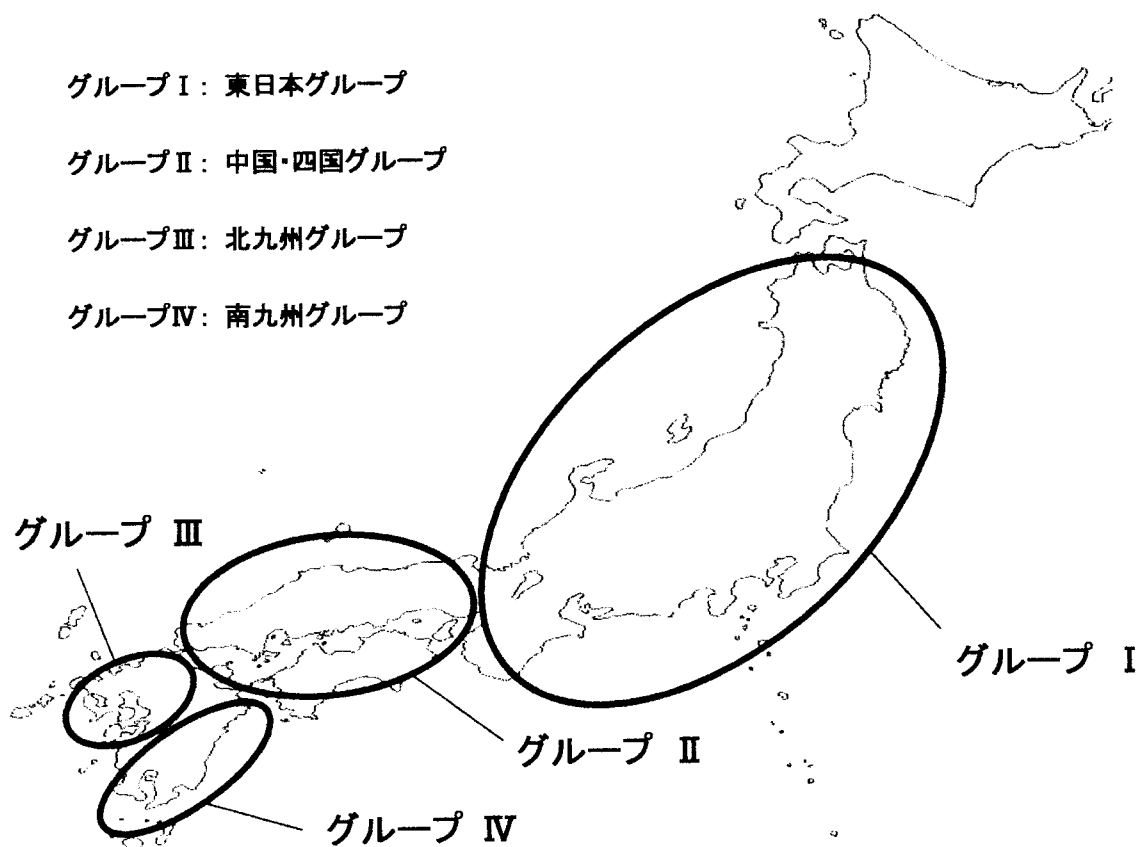


図 1. 遺伝子から推定されたヒメボタルの遺伝的集団の分布図

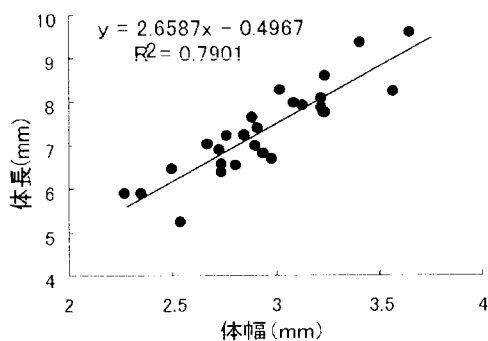


図 2. ヒメボタルの体幅と体長との関係

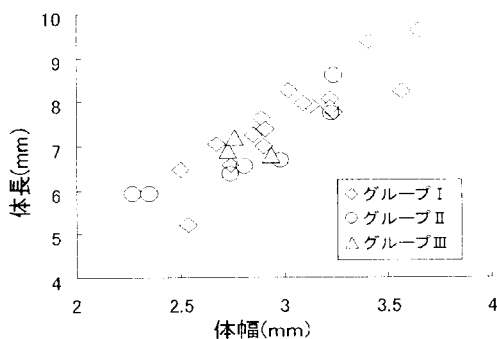


図 3. ハプロタイプグループごとの体幅
 と体長との関係

3. 結果と考察

日本列島39箇所のヒメボタルについて、体幅と体長との関係を調べた。その結果、体幅と体長には相関があり、ヒメボタルは連続的に分布し、大型と小型の個体間に明確な違いは見出されなかった(図2)。また、体型の頻度分布は、体幅が2.5mmから3.0mm、体長が6.0mmから8.5mmの個体群が多いことが明らかとなった。体長の違いによる地理的分布図を作成したところ、8.5mm以上の大型のヒメボタルは、本州の近畿地方より東側に見出される傾向にあった。一方、体長7.0mm以下の小型のヒメボタルは、九州から東北地方まで広い範囲に分布した。

次に、体の大きさと4つの遺伝的集団とがどのような関係にあるのかを調べた。その結果、グループⅠとⅡは連続して分

布した(図3)。グループⅢとグループⅣは解析したサンプル数が少なかったため、体の大きさと遺伝的集団との関連性を調べることができなかった。

大きな遺伝的グループを示した東日本グループ(グループⅠ)について、体型と遺伝的分化との関係を調べた。その結果、ヒメボタルは、小型から大型へと分化している傾向が見出された(図4)。また、分子系統樹から判断して、東北から北陸地方にかけての標高600m以下の低地に生息する体長7mm以下の小型のヒメボタルは、系統樹の根元付近(図4のAで示した部分)にあることから、この小型のでヒメボタルが祖先的あり、ヒメボタルは小型から大型へと分化しながら分布を拡大したものと推察される。

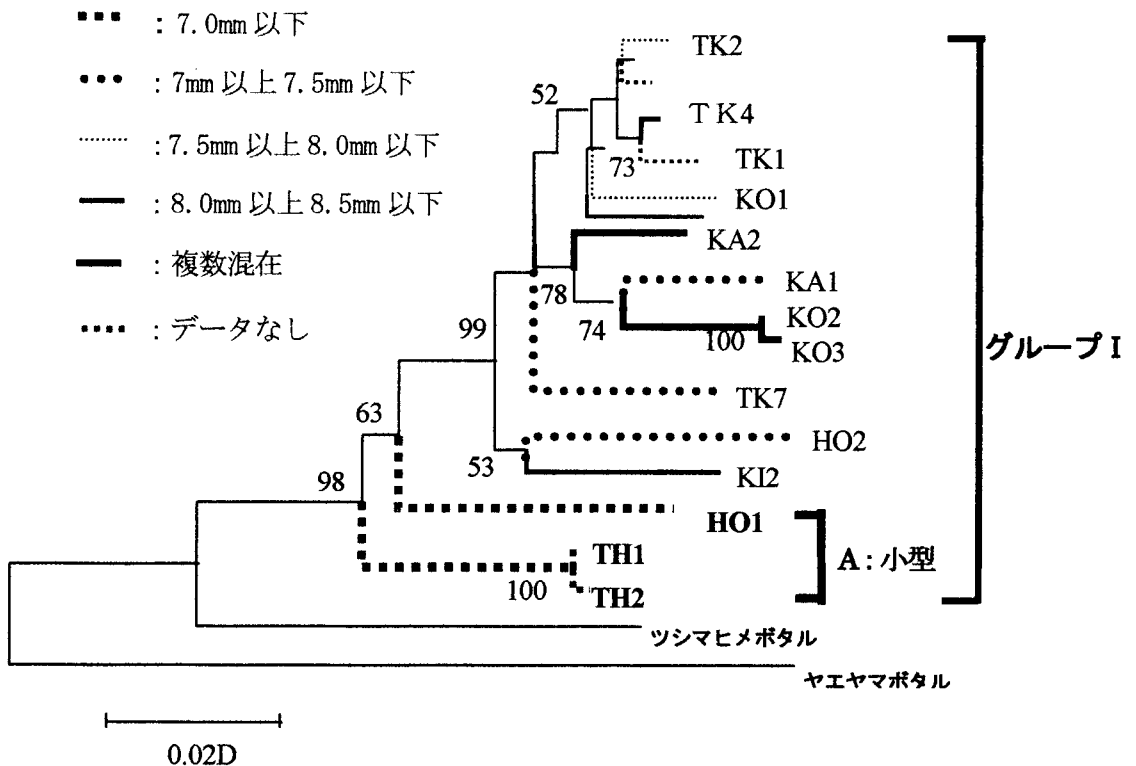


図4. ミトコンドリアND5遺伝子に基づく東日本グループの系統樹

* 外群はツシマヒメボタルとヤエヤマボタルを用いた。Dは進化距離を示し、分岐点の信頼性を示す。ハプロタイプの記号はTH: 東北, KA: 関東, KO: 甲信越, TK: 東海, HO: 北陸, KI: 近畿, のそれぞれの地域を示す。記号の後の数字は、その地域のハプロタイプ番号である。

結論

ヒメボタルは、小型から大型へと遺伝的に分化したことが推論された。しかしながら、ヒメボタルは、日本列島で連続的に分布し、遺伝的グループ間での大型、小型の体型の違いは見出されなかった。今後、成虫の体型ばかりでなく、幼虫時の形態が遺伝的分化にどのような影響を与えているかを調べることが望まれる。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、ホタルの採集にご協力いただいた全国ホタル研究会会員およびホタルの保護活動に関わっておられる方々に深く感謝申し上げます。特に、全国ホタル研究会会員の永江秀作氏、三矢和夫氏、および、三石暉弥博士には精力的にホタルサンプルの採集にご協力いただいた。重ねて感謝申し上げます。

尚、本研究は、文部省私立大学学術研究高度化推進事業オープン・リサーチ・センター整備事業の助成(2005-2009)を受けて行われたものであり、ここに謝意を表す。

引用文献

- 大場信義 1990, ヒメボタルの2型. 全国ホタル研究会誌, (23):6.
- 大場信義 2000, ヒメボタル2生態型の発光パターンと発光コミュニケーション. 横須賀市博研報(自然), (47):1-22.
- Kumar, S., Tamura, K. & Nei, M. 1993, MEGA: Molecular Evolutionary Genetics Analysis, Version 1.01. The Pennsylvania State University, University Park, PA 16802.
- Kumar, S., Tamura, K., Jakobsen, I. B. & Nei, M. 2005, MEGA3.1: Molecular Evolutionary Genetics Analysis software, Arizona State University, Tempe, Arizona, USA.
- 草桶秀夫 2005, ホタルの発光と系統進化. 化学と生物, 43:351-353.
- 佐藤安志 1998, アロザイムからみたホタルの遺伝的変異と種分化. 昆虫と自然, 33(7):19-25.
- 鈴木浩文・佐藤安志・藤山静雄・大場信義 1991, ヒメボタル2型の遺伝的分化. 全国ホタル研究会誌, (24):11-12.
- 鈴木浩文 1998, DNAレベルでみた日本産ホタルの系統進化. 昆虫と自然, 33(7):11-18.
- 日住和政, 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.
- Suzuki, H., Sato, Y., Fujiyama, S., and Ohba, N. 1993. Genetic differentiation between ecological two types of the Japanese firefly, *Hotaria parvula*: An electrophoretic analysis of allozymes. *Zool. Sci.* 10: 697-703.
- 中根猛彦・大場信義 1981, ホタルの観察と飼育. ニューサイエンス社.
- Mukai, T., Naruse, K., Sato, T., Shima, A. & Morisawa, M. 1997, Multiregional introgressions inferred from the mitochondrial DNA phylogeny of a hybridizing species complex of gobiid fishes, genus *Tridentiger*. *Molecular Biology and Evolution*, 14: 1258-1265.
- * 福井工業大学大学院・応用理化学専攻・バイオテクノロジー研究室