

ゲンジボタルの遺伝的分化と多様性 から見た移植の問題点

日和 佳政*・佐久間 慎介*・柑子木 郁也*・草桶 秀夫* (福井県福井市)

1. はじめに

ゲンジボタル *Luciola curciata* は豊かな里山のシンボルとして取り上げられ、地方自治体や保護団体によって盛んに保護活動が行われている。一方では、地域固有のゲンジボタルの保護に対する認識が低く、人為的かつ大規模な移入による自然個体群の遺伝的攪乱が危惧されている。このような現状を踏まえ、地域の個体群の遺伝的類縁関係から地域集団内の遺伝的集団構造を解明することは、その地域固有のホタルの遺伝子を保全するという観点から重要である(草桶ほか, 2007)。

我々のこれまでの研究においてゲンジボタルは、日本列島において4つの大きな遺伝的グループに分かれることを明らかにしてきた(草桶ほか, 2001; 草桶, 2005)。また増本ら(2006)は、山口県下関市豊田町のゲンジボタルについて遺伝的多様性の調査を行い、狭い地域においても非常に高い遺伝的多様性を示すことを明らかにしている。このようなことから、ゲンジボタルの移植を行う際には、遺伝的多様性の保全を考慮することが必須であり、本来地域ごとに遺伝的多様性を調査することが望ましい。そこで本研究では、福井県内を流れる日

野川、九頭竜川、足羽川、南川の4つの一級河川水系に生息するゲンジボタル集団について、遺伝的多様性と遺伝的分化の有無を調査した。

2. 材料と方法

解析に用いたゲンジボタルは、2006年と2007年に福井県内を流れる日野川、九頭竜川、足羽川、および南川の支流37地域から採取した、114個体のゲンジボタルを用いた。図1に嶺北地域の九頭竜川、足羽川および日野川の各水系と嶺南地域の南川水系のサンプル採集場所を示す。解析に用いた遺伝子配列は、ミトコンドリアDNAのNADHデヒドロゲナーゼサブユニット5 (ND5) 遺伝子の一部を用いた。ND5遺伝子はPCR法によって増幅し、Dye terminator法を用いてシーケンス反応を行い、オートシーケンサーによって塩基配列を決定した。決定した塩基配列のうち1塩基以上異なる配列を示した場合、それぞれ1つのハプロタイプとして扱った。遺伝的多様性および遺伝的分化の調査には、ARLEQUIN3.1プログラムを用いた。我々は、4つの河川流域に生息するゲンジボタルをそれぞれの集団として定義し、分子分散解析(AMOVA)を行い、ハプロタイプ多様度(h)、塩基多様度

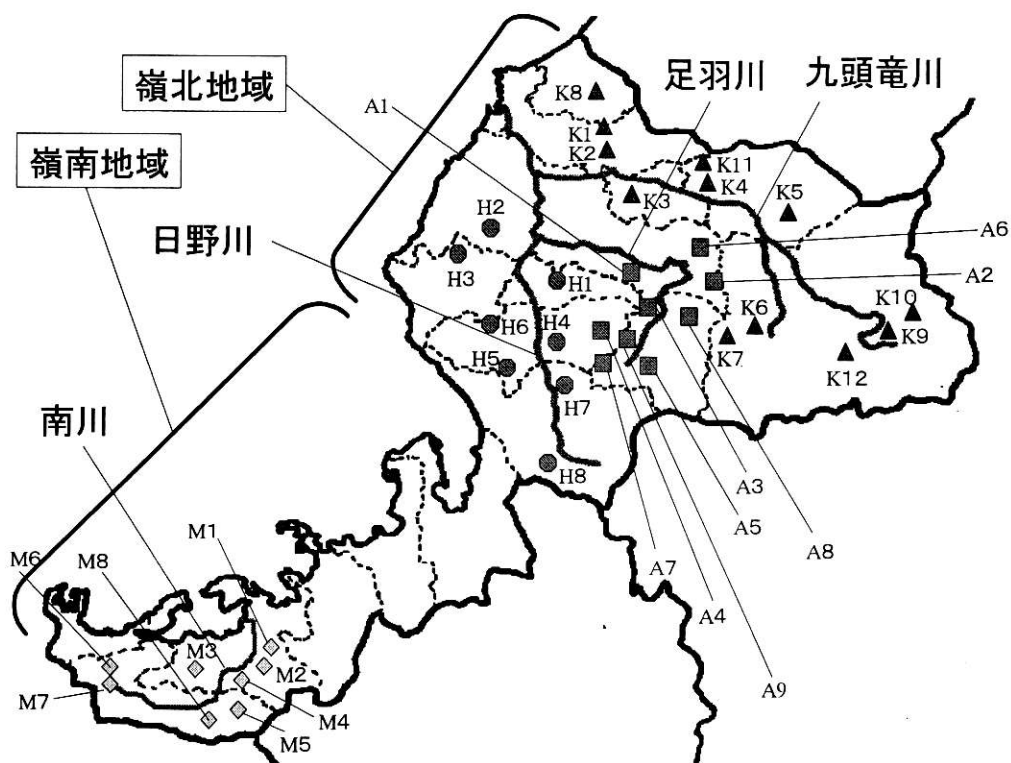


図 1. 福井県九頭竜川、日野川、足羽川および南川水系におけるゲンジボタルの採集場所

(P_i) そして集団間の遺伝的分化係数 (F_{st}) を求めた。また、ハプロタイプ間の類縁関係を示す、ハプロタイプネットワークはNETWORK4.2.0.1を用いて作成した。

3. 結果と考察

福井県内を流れる4つの河川の支流37れ検出された。また各水系には、共通し地域から採取した114個体のゲンジボタルを解析し、801bpの塩基配列を決定した。決定した塩基配列を解析した結果、日野川水系から7個、足羽川水系から10個、九頭竜川水系から10個、そして南川水系では9個のハプロタイプが、それぞ

れ存在するハプロタイプが認められた。

次に、4つの河川水系に生息する集団の遺伝的多様性を調べた。遺伝的多様性 (Genetic diversity) とは、集団、種、あるいは種グループの遺伝的変異の大きさを表すもので、ここでは、ゲンジボタルの各集団内の個体間にみられる遺伝的変異の大きさを示している。表1に日野川、九頭竜川、足羽川、および南川の4水系に生息する集団のハプロタイプ多様度と塩基多様度を示す。この表から、各水系集団における塩基多様度は低いものの、ハプロタイプ多様度は、0.706から0.876と4つの河川全てにおいて高い値を示し、足羽川水系集団において最も高

表 1. 福井県の4つの河川に生息するゲンジボタル集団の遺伝的多様性

集団名	足羽川水系	日野川水系	九頭竜川水系	南川水系
解析個体数	32	24	40	22
ハプロタイプ多様度 (Hb)	0.876	0.761	0.695	0.706
塩基多様度 (P_i)	0.004	0.002	0.002	0.003

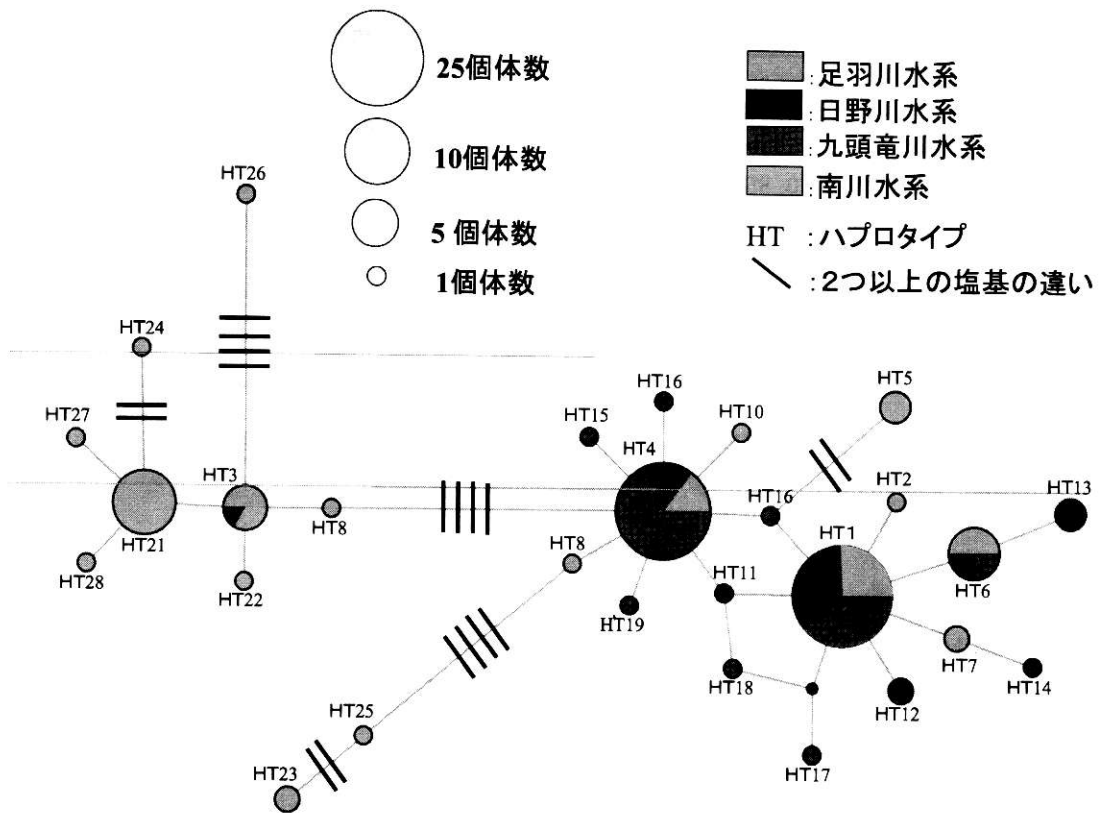


図 2. 福井県九頭竜川，日野川，足羽川および南川水系における
ゲンジボタルのハプロタイプネットワーク

い多様性が示された。このことから、福井県を流れる4つの河川水系に生息するゲンジボタル集団は、高い遺伝的多様性を持つことが明らかとなった。

本研究において検出されたハプロタイプ同士の類縁関係を調査するため、NET-WORK4.2.0.1を用いてハプロタイプネットワークを作成した(図2)。その結果、ハプロタイプHT1とHT4、及びHT6は、嶺北地域の3河川水系に共通して存在しているが、各水系でその頻度は異なっていた。また、南川水系集団は、他の3つの河川水系集団と共通したハプロタイプを1つしか示さず、ほぼ固有のハプロタイプであった。このことから、嶺北地域の3つの河川水系集団間と、嶺南地域の南川水系集団間で遺伝的分化が起きているかどうかを明らかにするために、遺伝的分化係数(Fst値)を求めた。遺伝的分化係数とは、集団間の遺伝的分化の程度

を示す値で、一般的にこの値が0.15以上の場合、分化が起きていることを示す。嶺北地域の日野川、九頭竜川および足羽川の3水系集団と嶺南地域の南川水系集団間で、この遺伝的分化係数を求めたところ、0.648から0.759と非常に高い値を示した。したがって福井県に生息するゲンジボタルは、嶺北地域の集団と嶺南地域の集団の間で遺伝的な独立性が高いことが示唆された。今回解析を行った嶺北地域の3水系と嶺南地域の南川水系は、直線距離で約90kmと地理的に離れており、嶺北地域の3水系とは、敦賀付近で山地によって隔てられている。従って、このような地理的な障壁によって、集団間の遺伝子流動が極端に少なく、集団間の遺伝的分化に影響を及ぼしていると考えられる。

次に、我々は、嶺北地域における3つの河川水系集団間で遺伝的分化が起きて

表 2. 嶺北地域の 3 河川における東西 6 集団の遺伝的多様性

集団名	足羽川		日野川		九頭竜川	
	西側	東側	西側	東側	西側	東側
個体数	10	13	9	14	28	9
ハプロタイプ多様度	<u>0.858</u>	<u>0.939</u>	0.629	<u>0.861</u>	<u>0.833</u>	0.662
塩基多様度	0.003	0.005	0.001	0.004	0.002	0.002
ハプロタイプの数	7	8	4	5	5	7

足羽川の両側集団と足羽集団に隣接する集団で遺伝的多様性が大きい（下線部）

表 3. 3 河川の東西 6 集団における遺伝的分化係数 (Fst 値)

集団名	足羽川		日野川		九頭竜川	
	西側	東側	西側	東側	西側	東側
足羽川	西側					
	東側	0.010				
日野川	西側	-0.001	<u>0.158</u>			
	東側	-0.010	-0.043	0.010		
九頭竜川	西側	-0.054	0.010	<u>0.154</u>	0.037	
	東側	<u>0.150</u>	0.051	<u>0.250</u>	0.116	0.010

Fst 値：遺伝子分化係数 Fst 値 > 0.15 の場合：分化が起きている。

いるかどうかを明らかにするため、日野川、九頭竜川および足羽川の水系集団をそれぞれの河川について東側と西側に細分化し、合計 6 つの集団について遺伝的多様性と遺伝的分化の有無を調査した。表 2 は 3 つの河川の西側と東側、でのハプロタイプ多様度、塩基多様度、およびハプロタイプの数を示している。この表から足羽川の両側および足羽川水系集団に隣接する九頭竜川西側と日野川東側集団では、ハプロタイプ多様度が高い値を示した。すなわち、これらの集団では、日野川西側集団および九頭竜川東側集団より、遺伝的多様性が大きいことを示唆している。足羽川水系および九頭竜川西側と日野川東側集団では、3 つの河川水系の支流同士が隣接しており、支流同士を隔てる山の稜線の標高も低い箇所が多い。従ってこれらの河川集団間には、日野川と九頭竜川からの遺伝子流動があるため、足羽川集団と隣接する九頭竜川西側集団および日野川東側集団のハプロタイプ多様度が高くなっていると考えられる (図 3)。表 3 に AMOVA 解析によって得られた 6 つの水系集団間における FST 値

を示す。その結果、足羽川水系集団を挟んだ、九頭竜川の東側集団と日野川の西側集団間の Fst 値が、0.250 と最も高かった。この値は、0.15 以上となっていることから、九頭竜川東側集団と日野川の西側集団間に、遺伝的な独立性が示された。これらの 2 つの水系集団間で地理的に最も近い 2 地点は、九頭竜川水系の西側に位置する永平寺町吉野と日野川水系西側の福井市末であり、これらの 2 地点間の距離は 17km であった (図 3)。これらの結果は、生息地の距離が 17km 以上離れた 2 地点のホタルの個体群間には、遺伝子流動が少ないことを示すもので、これ以上離れた地点からのゲンジボタルの移植は、遺伝的かく乱につながるものと考えられる。一方、隣接する 2 つの水系集団間では、FST 値が 0.15 以下となり、これらの水系集団間では分化が起きていないことが示された。遺伝的分化が示されなかった集団間の距離は、ほぼ 10km から 20km の範囲内であった。この範囲内では、ホタル個体間の移動は、自然状態において可能なため、集団間に遺伝子流動が生じており、遺伝的な独立性が低くなっている

と思われる。これらの結果を踏まえると、ゲンジボタルの移植を行う場合、採集地域と移植地域との距離が、10km以内であ

れば遺伝的攪乱につながる可能性が低いと考えられる。

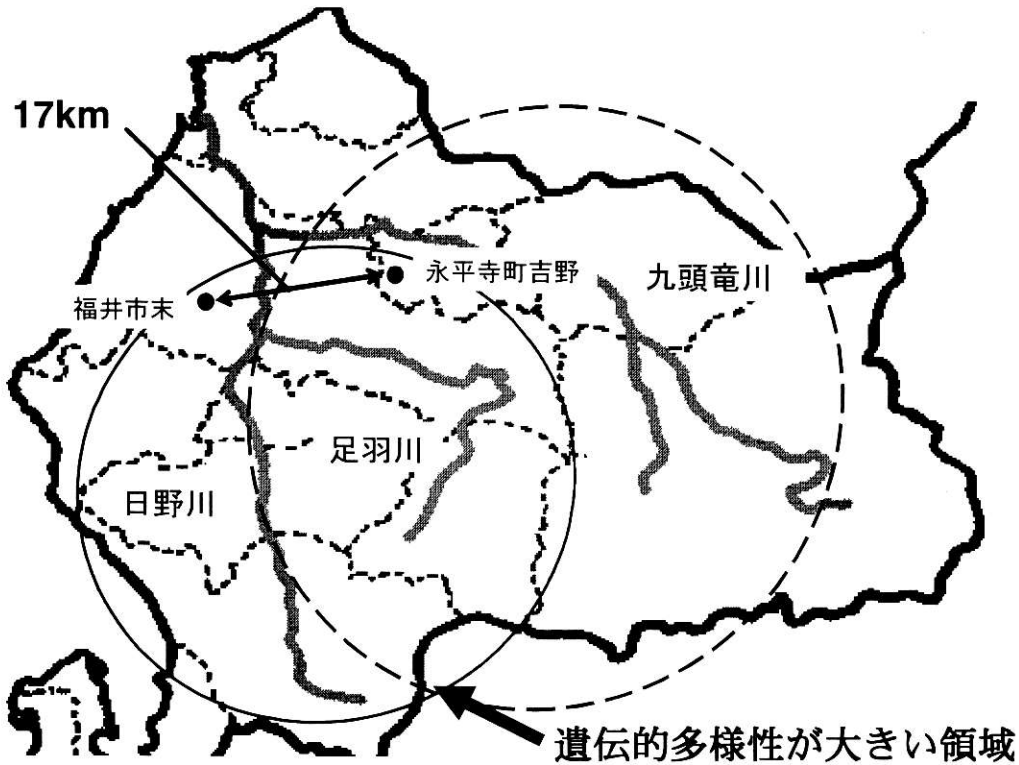


図3. 福井県嶺北地域におけるゲンジボタルの遺伝的多様性

4. 結論

本研究では、福井県に生息するゲンジボタルについて、保全遺伝学的観点から人工移植が問題となる地理的範囲を4つの河川水系集団間で調査した。その結果、福井県内の嶺北地域と嶺南地域では、遺伝的集団構造が大きく異なっていることが明らかとなった。また、嶺北地域の3つの1級河川水系集団間の遺伝的分化を調べた結果、足羽川水系集団を挟んだ、17km以上離れた九頭竜川と日野川水系間では、遺伝的分化が認められた。一方、10kmから20km離れた隣接する2つの水系間では遺伝的分化が認められなかった。

昨年の全国ホタル研究大会にて「ホタル類等、生物集団の新規・追加移植および環境改変に関する指針」を定めているが、その中で移植を行う際は、対象地域

と当該種の繁殖交流が可能なが範囲より採取したものをを用いることが強く推奨されている。本研究の結果から、福井県におけるゲンジボタルの繁殖交流可能範囲は、10kmから20kmであると推定される。このようなことを踏まえ、著者らは移植を行う際は、同河川流域内でも移植対象地域の半径約10km以上離れたところからのホタルの移内入は、避けるべきであることを提案する。ゲンジボタルは、成虫の発光間隔域や前胸背の十字紋が、地域によって異なることなど生態的、形態的に地域固有の個体群が見られる。

本研究から、ゲンジボタルの人工移植を行う場合、当該地域の生態系に十分配慮した上で、採集場所と移植場所との距離が、同一河川流域内の半径約10km以内で行うことが望ましいと思われる。また

幼虫飼育の際は、集団内での近親交配を避けるために、複数の親由来の個体を飼育し、当該地域に導入することが望まれる。生態系の保全という観点から、ホタルの地域固有の遺伝的集団を保全することは、今後益々、重要になると考える。

5. 謝辞

本研究を遂行すにあたり、サンプルをご提供いただいた、全国ホタル研究会の皆様へ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。

引用文献

草桶秀夫 2005. ホタルの発光と系統進化. 生物と化学, 43:351-353.

日和佳政, 水野剛志, 草桶秀夫 2007.

人工移入によるゲンジボタルの地域個体群の遺伝的構造への影響. 全国ホタル研究誌, (40):25-27.

増本育子・若尾拓志・尾田敏範・北村徹新田朗・川野敬介 2006. 遺伝子解析による豊田地域に生息するゲンジボタルの集団構造について. 全国ホタル研究誌, (39):25-31.

吉川貴浩・井出幸介・窪田康男・中村好弘・武部寛・草桶秀夫 2001. ミトコンドリアND5遺伝子の塩基配列から推定されたゲンジボタルの種内変異と分子系統. 昆虫ニューシリーズ, 4:117-127.

* 福井工業大学大学院・応用理化学専攻
・生命科学分野