

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 30 日現在

機関番号：33401

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2012

課題番号：21510246

研究課題名（和文）ホタルの遺伝的多様性解析による保全遺伝学的研究

研究課題名（英文） Conservative genetic studies by genetic diversity analyses of fireflies

研究代表者

草桶 秀夫（KUSAOKE HIDEO）

福井工業大学・工学部・教授

研究者番号：50169976

研究成果の概要（和文）：日本の代表的なホタルであるゲンジボタルおよびヘイケボタルは、ND5 遺伝子の塩基配列に基づく種内変異と分子系統解析によって、遺伝的変異が大きく、高い遺伝的生物多様性をもつことを明らかにした。特に、ゲンジボタルでは、ハプロタイプ間の分子系統関係からハプロタイプの生息地を推定する手法を確立した。この手法は、人為的に移植されたゲンジボタルの場合、どこから移植されたかを推定するのに有用である。

研究成果の概要（英文）：The genetic diversity of typical fireflies of Japan, *Luciola cruciata* and *Luciola lateralis* was investigated. These fireflies have large genetic variation and high genetic biodiversity by the analysis of their intraspecific genetic variation and the molecular phylogeny inferred from the mitochondrial ND5 gene sequences. In particular, the method for estimating the habitat from haplotypes of *Luciola cruciata* was established. This approach can be useful to determine from where the firefly is transplanted.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010 年度	700,000	210,000	910,000
2011 年度	700,000	210,000	910,000
2012 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：環境学

科研費の分科・細目：環境保全学・環境モデリング・保全修復技術

キーワード：環境・生態系影響、ホタル、生物多様性

1. 研究開始当初の背景

日本には、約 50 種のホタルが生息する。

特に、ゲンジホタルは、きれいな川に生息し、古くから日本人に親しまれており、夏の風物詩ともなっている、環境指標生物である。ゲンジボタルとともに、幼虫時田んぼなどの水中に生息するヘイケボタルや一生陸に生息するヒメボタルも、光る姿がきれいであることから、日本人に親しまれてきたホタルである。これらのホタルは近年、人間活動の環境改変の影響によって、各地で個体群の減少が目立っている。また、環境教育や観光資源としてホタルを利用するニーズが高く、人為的かつ大規模な移入も行われている。ホタルが生息している里地里山は、人間にとって住みやすい安定した良好な環境であり、ホタルを保護、保全し、安定した個体群を維持することが重要であると考えられる。

申請者は、ゲンジボタル、ヘイケボタル、および、ヒメボタルを中心として日本産ホタルのミトコンドリア DNA の塩基配列から分子系統解析を行ってきた。その結果、ゲンジボタル、ヘイケボタル、および、ヒメボタルの分子系統解析からハプロタイプグループの地理的分布を明らかにしてきた。これらの分子系統的研究は、申請者が先導的に行ってきたもので、その意義は大きいと考える。現在、ホタルの遺伝子レベルでの研究は申請者のみであり、環境の保全や自然保護という観点から本研究を実施する意義は大きく、その波及効果も大変大きいと考える。

## 2. 研究の目的

ゲンジボタルは、町おこしを目的に日本各地でホタル観察会を実施しているところが多い。しかしながら、ホタルの人為的かつ大規模な移入が行われており、遺伝的多様性の減少や地域固有の遺伝的集団の攪乱を招く恐れがあり、早急な対策が求められている。本研究においてゲンジボタルの地域集団のホタルの保護を目的に、遺伝的多様性の解析による保全遺伝学的な研究を押し進める。

保全遺伝学的観点から見ると、隣接する大きな河川流域間で、遺伝的多様性が存在することが推測される。遺伝的多様性が存在すると、異なる河川からの人工的移植でも、遺伝子攪乱を招く恐れがある。そこで、福井県の隣接する河川流域をモデル系としてゲンジ

ボタルの遺伝的多様性を明らかにし、どのような環境保全が必要かについて検討する。環境保全遺伝学的視点から、ゲンジボタルおよびヘイケボタルのND5 遺伝子の塩基配列に基づき、これらのホタルの種内変異と分子系統からホタルの類縁関係の解明、および、ホタルの遺伝的多様性を明らかにする。

## 3. 研究の方法

本研究は、ゲンジボタルおよびヘイケボタルについて、ミトコンドリア DNA の塩基配列から地域集団の遺伝的多様性を明らかにし、保全遺伝学的視点から研究を押し進めるものである。すなわち、ゲンジボタルのミトコンドリア内 ND5 遺伝子の塩基配列から地域集団の遺伝的多様性を明らかにする。ホタルの移入可能な範囲を推定するモデル系として、福井県の隣接する一級河川である、九頭竜川、足羽川、および、日野川流域に生息するゲンジボタル個体群の遺伝的集団構造の解析を試みる。

このように、日本産ホタルのミトコンドリア内のND5 遺伝子のPCR法による合成、塩基配列の決定、および、塩基配列から分子系統解析の手法により、地域間のホタルの類縁関係及び遺伝的多様性を解明する。

## 4. 研究成果

平成 21 年度と 22 年度において、ゲンジボタルおよびヘイケボタルのND5 遺伝子の塩基配列に基づき、ゲンジボタルおよびヘイケボタルは、高い遺伝的多様性を示すことを明らかにしてきた。これまでの著者らの研究で、ゲンジボタルのND 遺伝子の塩基配列に基づき、ハプロタイプグループは、分布域の異なる 8 つのグループに分けられた。これらの 8 つのゲンジボタルの地域集団は、それぞれ遺伝的多様性が高いことを明らかにしている。最近、町おこしや地域の活性化を目的に、人工飼育された幼虫や成虫を自然界に放流することが急増している。このような遠く離れた人為的放流は環境保全という点からも大きな問題である。

平成 23 年度において、人為的に放流されたゲンジボタルがどのような場所から放流されたかを同定する 2 つの手法を確立した。

1つの方法は、PCRによる遺伝子合成法であり、放流されたゲンジボタルを簡便に7つのグループに分類・同定する方法である。もう1つの方法は、ND5 遺伝子の塩基配列に基づき、分子系統樹からゲンジボタルが持ち込まれた場所を推定する方法である。

平成 24 年度には実際放流したと思われるホタルについて、遺伝的グループの判別法および塩基配列に基づく分子系統樹からの類縁関係による判別法により、放流したゲンジボタルがどのような場所から放流したかを明らかにした。

本研究におけるゲンジボタルの地域集団内の遺伝的集団構造を解明した環境保全遺伝学的研究は、ゲンジボタルの地域間の類縁関係を明らかにするとともに、人為的に放流したホタルの移入先の同定法を確立したものであり、環境保全と言う点からも意義は大きいと考える。ゲンジボタルおよびヘイケボタルを中心にこれらのホタルのND5 遺伝子の塩基配列に基づき、ホタルの種内変異と分子系統からホタルの遺伝的多様性を明らかにした。

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 7件)

- ① 草桶秀夫、1級河川水系のゲンジボタル個体群の遺伝的多様性、昆虫DNA研究会ニュースレター、査読無、11、2009、20-23、<http://insectdna.web.fc2.com/>
  - ② 草桶秀夫、福井県で見られるヒメボタル、草桶秀夫、査読無、4号、2009、18-21
  - ③ 日和佳政、草桶秀夫、ゲンジボタルの遺伝的多様性と地域個体群の遺伝的判別法、昆虫DNA研究会ニュースレター、査読無、13、2010、23-29、<http://insectdna.web.fc2.com/>
  - ④ 日和佳政、草桶秀夫、遺伝子解析による移植されたゲンジボタルの移植元判別法、全国ホタル研究会誌、査読有、43、2010、27-32、<http://www.geocities.jp/zenhoken/>
  - ⑤ 日和佳政、草桶秀夫、遺伝子から見た日本と世界のホタルの類縁関係、全国ホタル研究会誌、査読有、43、2010、46-50、<http://www.geocities.jp/zenhoken/>
- ⑥ 草桶秀夫、蛍の遺伝子解析による地域個体群の遺伝的判別法、草桶秀夫、査読無、6号、2010、18-23
  - ⑦ 草桶秀夫、木村和裕、日和佳政、遺伝子から見たゲンジボタルの生物多様性と人為的放流の問題点、全国ホタル研究会誌、査読有、44、2011、13-19、<http://www.geocities.jp/zenhoken/>

〔学会発表〕(計 22件)

1. 草桶秀夫、ゲンジボタル個体群の遺伝的多様性、日本進化学会、2009年9月4日、北海道大学
2. 草桶秀夫、水系でのゲンジボタル個体群の遺伝的多様性、昆虫DNA研究会、2009年5月17日、大阪府立大学
3. 草桶秀夫、遺伝子から見たヒメボタル地域個体群の集団構造、陸生ホタル生態研究会、2009年9月26日、都立八王子労政会館
4. 草桶秀夫、ゲンジボタルの遺伝的多様性と地域個体群の遺伝的判別法、昆虫DNA研究会、2010年5月23日、名古屋大学
5. 草桶秀夫、遺伝子解析による移植されたゲンジボタルの移植元判別法、全国ホタル研究大会、2010年7月17日、志賀高原総合会館
6. 草桶秀夫、遺伝子から見た日本と世界のホタルの類縁関係、全国ホタル研究大会、2010年7月17日、志賀高原総合会館
7. 草桶秀夫、1級河川水系におけるゲンジボタル個体群の遺伝的多様性、日本昆虫学会、2010年9月19日、山形大学
8. 草桶秀夫、ホタルと環境、福井県産学連携、2011年6月11日、福井市アオッサ
9. 草桶秀夫、木村和裕、遺伝子から見たゲンジボタルの生物多様性と人為的放流の問題点、全国ホタル研究大会、2011年6月11日、岡山県鏡野町上齊原文化センター
10. 草桶秀夫、ホタルから見た環境問題と町おこし、石川県ホタルの会、2011年11月3日、石川県女性センター(招待講演)
11. 有里美彦、草桶秀夫、ミトコンドリアN

- D5 遺伝子から見た福井県に生息するヒメボタルの遺伝的多様性、日本化学会近畿支部北陸地区研究発表会、2011年11月18日、金沢大学
12. 木村和裕、有里美彦、草桶秀夫、PCR法および塩基配列法によるゲンジボタルの遺伝的グループの判別、日本化学会近畿支部北陸地区研究発表会、2011年11月18日、金沢大学
  13. 長谷川喬之、草桶秀夫、ゲンジボタルのマイクロサテライト配列の検討、日本化学会近畿支部北陸地区研究発表会、2011年11月18日、金沢大学
  14. 有里美彦、大久保嘉昭、草桶秀夫、ミトコンドリアDNAの塩基配列に基づくヒメボタルの集団構造解析、日本化学会近畿支部北陸地区研究発表会、2012年11月17日、福井大学
  15. 長谷川喬之、平林佑一郎、草桶秀夫、ゲンジボタルのマイクロサテライトDNAの単離と多型解析、日本化学会近畿支部北陸地区研究発表会、2012年11月17日、福井大学
  16. 木村和裕、稲葉直人、草桶秀夫、塩基配列法による人為的放流されたゲンジボタルの地域固有性の判別、日本化学会近畿支部北陸地区研究発表会、2012年11月17日、福井大学
  17. 長谷川喬之、平林佑一郎、草桶秀夫、ゲンジボタルのマイクロサテライトDNAの単離と多型解析、日本進化学会、2012年8月24日、首都大学東京
  18. 有里美彦、大久保嘉昭、草桶秀夫、ミトコンドリアDNAの塩基配列に基づくヒメボタルの集団構造解析、日本進化学会、2012年8月24日、首都大学東京
  19. 木村和裕、稲葉直人、草桶秀夫、塩基配列法による人為的放流されたゲンジボタルの地域固有性の判別、日本進化学会、2012年8月24日、首都大学東京
  20. 草桶秀夫、ホテルから見た光の魅力と環境保全、日本照明学会北陸支部、2013年1月28日、富山大学（招待講演）
  21. 草桶秀夫、生き物から見た環境保全と市

民の憩い、守山市ホテルの森資料館、2013年1月28日、守山市ホテルの森資料館（招待講演）

22. 草桶秀夫、生き物から見た環境保全と市民の憩い、2013年3月17日、福井市環境ミーティング（招待講演）

〔図書〕（計 1 件）

- ① 草桶秀夫、久野印刷（株）、自然再生ふくいガイドブック、2009年、8月、久野印刷（株）

## 6. 研究組織

研究代表者

草桶 秀夫 (KUSAOKE HIDEO)

福井工業大学・工学部・教授

研究者番号：50169976