



No.46

2013年1月20日

陸生ホタル生態研究会

電話 Fax: 042-663-5130

Em: rikuseihotaru.07@jasmine.ocn.ne.jp

HP: <http://rikuseihotaru.jp>

茨城県に生息するゲンジボタルの遺伝子解析

平成24年8月27日

福井工業大学 草桶 秀夫

【目的】

最近、ゲンジボタル(*Luciola cruciata*)は人為的かつ大規模な移出入が行われ、遺伝的多様性の減少が危惧される。本研究では、遺伝子解析により人為的に放流されたホタルが、どのような場所から持ち込まれたかを明らかにする目的で、茨城県に生息する13か所の人為的放流が予想されるゲンジボタルについて、遺伝子解析を行った。

【実験方法】

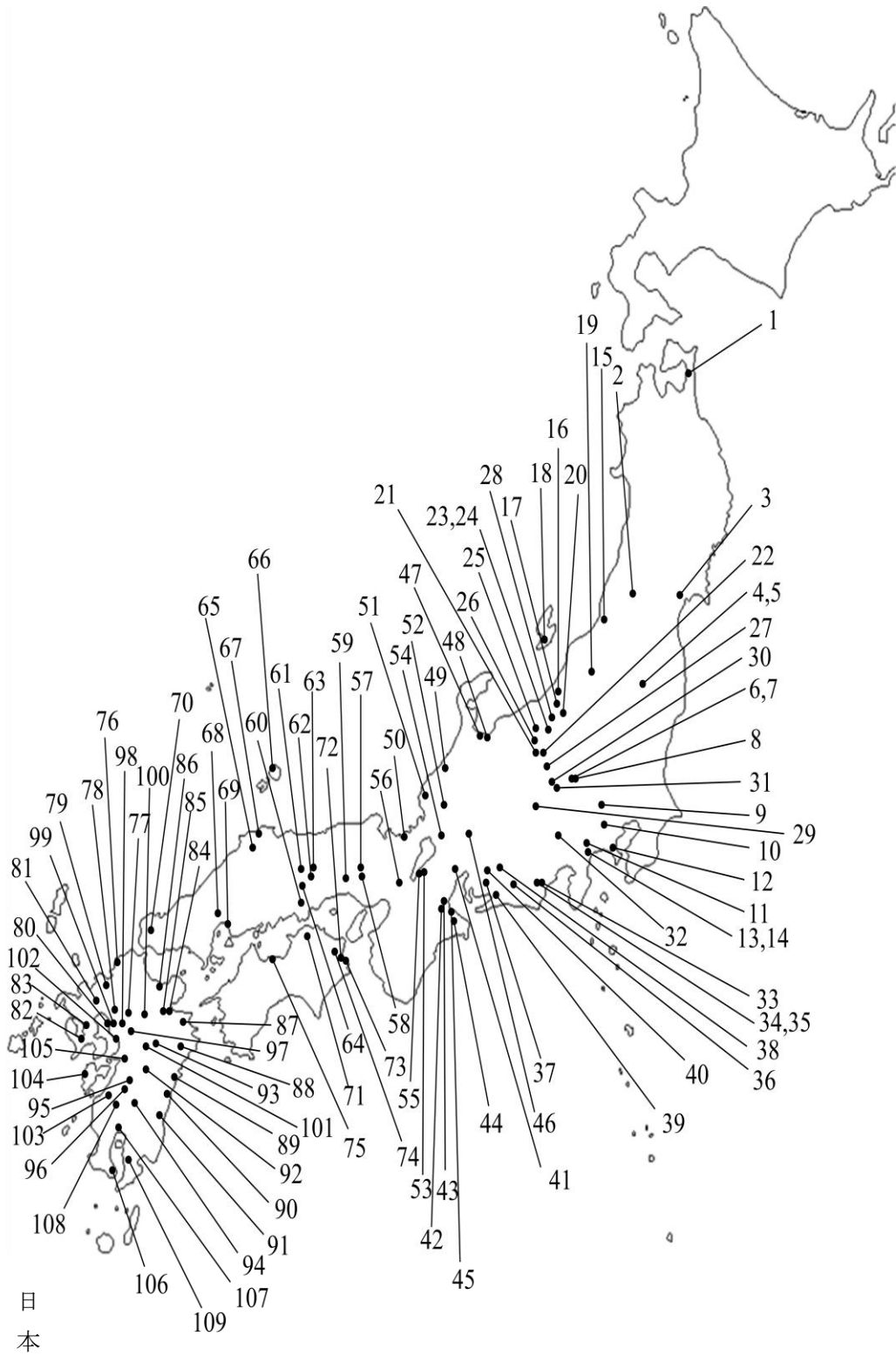
茨城県内にて人為的に放流されたと思われる13か所36個体のゲンジボタルを採取した。これらのゲンジボタルの足3本から全DNAを抽出した後、ミトコンドリアND5遺伝子領域をPCR法によって増幅した。次いで、DNAシーケンサーを用いてND5遺伝子の塩基配列の決定を行い、その塩基配列から系統樹を作成し、今回得られたハプロタイプを8つのハプロタイプグループに分けた。さらに茨城県のハプロタイプと他地域のハプロタイプとの類縁関係を調べた。

【結果】

結果については、前回説明したデータです。

【結論】

1. 今回調べた茨城県に生息するゲンジボタル36個体から、14個の新規なハプロタイプが見出された。
2. ゲンジボタル36個体から、いずれも人為的に遠く離れた場所から放流された個体が見出されなかった。ただし、遠く離れた場所とは、放流前の自然発生している場所と放流した場所との距離がおおむね、数十km離れている場合をいう。
3. 茨城県のゲンジボタル36個体は、すべて自然発生しているホタルであるか、または、近くに自然発生しているホタルを今回解析した場所に放流したものであるか、いずれかの個体であると類推した。
ただし、近くに自然発生している場所とは、放流前の自然発生している場所と放流した場所との距離がおおむね、約10km以内しか離れていない場合をいう。



日本地図上の採集場所

No.	採集場所
1	青森県上北郡横浜町
2	山形県上山市鶴脛町
3	宮城県仙台市太白区
4	福島県郡山市鶴見坦
5	福島県郡山市咲田
6	群馬県藤岡市下栗須
7	群馬県藤岡市下栗須
8	群馬県多野郡吉井町
9	埼玉県入間郡越生町
10	東京都昭島市松原町
11	神奈川県足柄上郡開成町
12	神奈川県逗子市逗子
13	神奈川県小田原市飯田岡
14	神奈川県小田原市飯田岡
15	新潟県岩船郡神林村
16	新潟県三島郡越路町
17	新潟県中魚沼郡川西町
18	新潟県佐渡郡羽茂町
19	新潟県中蒲原郡村松町
20	新潟県南魚沼郡塩沢町
21	長野県長野市篠ノ井
22	長野県長野市松代
23	長野県志賀高原
24	長野県志賀高原石ノ湯
25	長野県長野市飯綱
26	長野県長野市芋井
27	長野県小県郡真田町
28	長野県下水内郡栄村
29	長野県上伊那郡辰野町

No.	採集場所
30	長野県北佐久郡望月町
31	長野県南佐久郡臼田町
32	山梨県西八代郡下部町
33	静岡県志太郡岡部町
34	静岡県藤枝市志太
35	静岡県藤枝市滝ノ谷
36	静岡県天竜市神沢区
37	愛知県額田郡額田町
38	愛知県北設楽郡津具村
39	愛知県豊橋市嵩山町
40	愛知県東加茂郡足助町
41	三重県桑名郡多度町
42	三重県一志郡一志町
43	三重県久居市榊原町
44	三重県度会郡玉城町
45	三重県松坂市久保町
46	岐阜県関市下有知
47	富山県高岡市本保
48	富山県富山市古洞
49	石川県江沼郡山中町
50	福井県小浜市加斗
51	福井県福井市清水町
52	福井県今立郡池田町
53	滋賀県甲賀郡土山町
54	滋賀県坂田郡伊吹町
55	滋賀県守山市三宅町
56	京都府長岡京市奥海印寺
57	兵庫県多加郡加美町
58	兵庫県多加郡八千代町

No.	採集場所
59	兵庫県 飾磨郡 夢前町
60	岡山県 岡山市 祇園
61	岡山県 苫田郡 鏡野町
62	岡山県 久米郡 柵原町
63	岡山県 勝田郡 勝北町
64	岡山県 御津郡 建部町
65	島根県 飯石郡 三刀屋町
66	島根県 隠岐島 那久路
67	島根県 松江市 法吉町
68	広島県 広島市 安芸区
69	広島県 呉市 宮原
70	山口県 豊浦郡 豊田町
71	香川県 香川郡 塩江町
72	徳島県 小松島市 田浦町
73	徳島県 那賀郡 那賀川町
74	徳島県 徳島市 入田町
75	愛媛県 新居浜市 星原町
76	福岡県 宗像市 昼掛
77	福岡県 八女郡 矢部村
78	福岡県 八女市 山内
79	福岡県 筑紫郡 那珂川町
80	福岡県 大牟田市 有明町
81	佐賀県 小城郡 小城町
82	長崎県 西彼杵郡 多良見町
83	長崎県 東彼杵郡 千綿町
84	大分県 大分郡 狭間町
85	大分県 大分郡 庄内町
86	大分県 中津市 牛神町
87	大分県 臼杵市 戸室
88	宮崎県 西臼杵郡 北川町

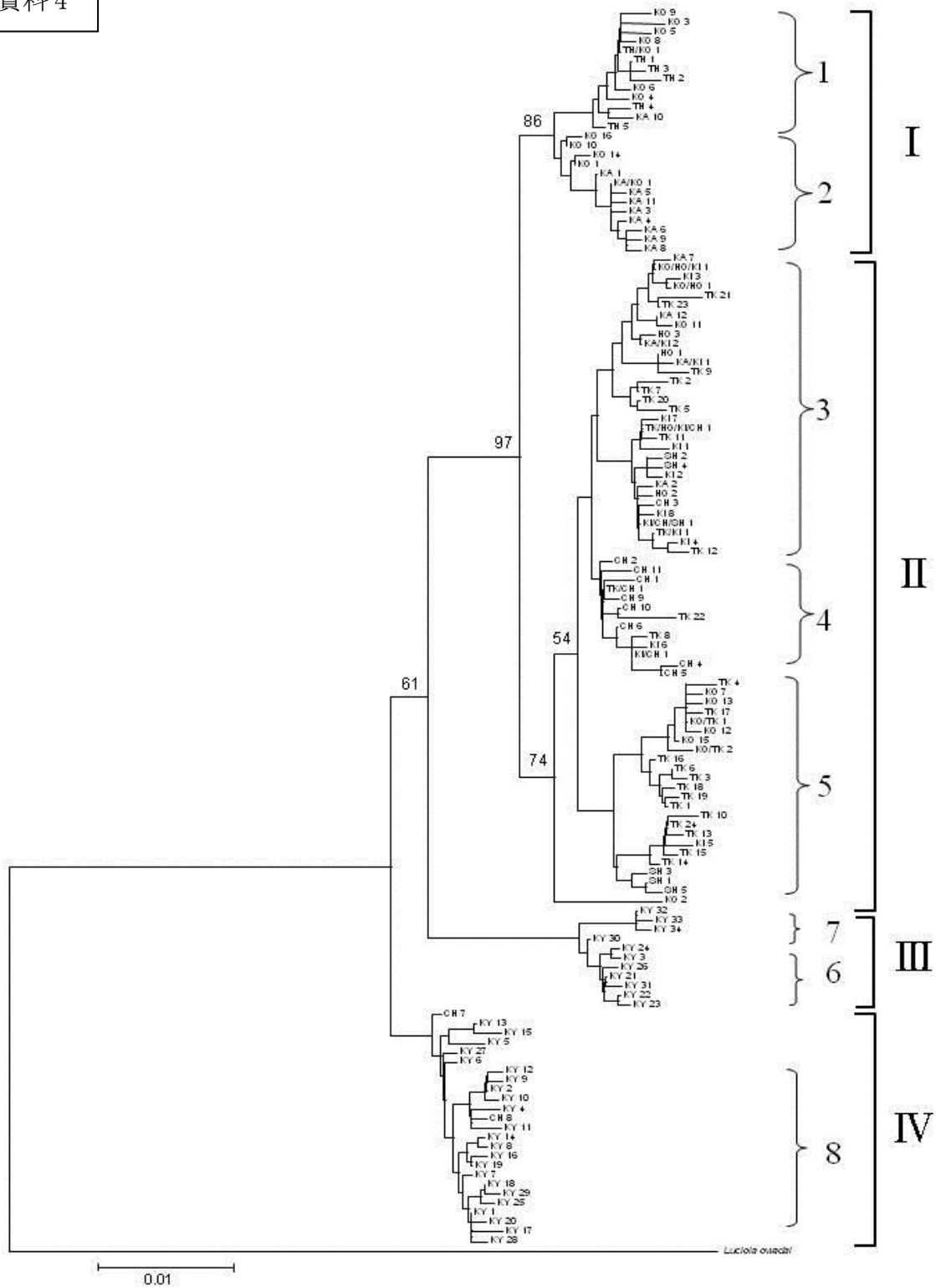
No.	採集場所
89	宮崎県 日向市 小原区
90	宮崎県 児湯郡 木城町
91	宮崎県 宮崎市 池内町
92	宮崎県 東臼杵郡 椎葉村
93	宮崎県 西臼杵郡 高千穂町
94	宮崎県 小林市 大字南西方
95	熊本県 球磨郡 五木村
96	熊本県 球磨郡 山江村
97	熊本県 菊池郡 旭志村
98	熊本県 山鹿市 久原
99	熊本県 玉名郡 南関町
100	熊本県 阿蘇郡 小国町
101	熊本県 上益城郡 清和村
102	熊本県 熊本市 河内町
103	熊本県 水俣市 湯出
104	熊本県 天草郡 天草町
105	熊本県 下益城郡 豊野村
106	鹿児島県 指宿市 新永吉
107	鹿児島県 始良郡 加治木町
108	鹿児島県 大口市 鳥巢
109	鹿児島県 鹿屋市 川東町

資料 3

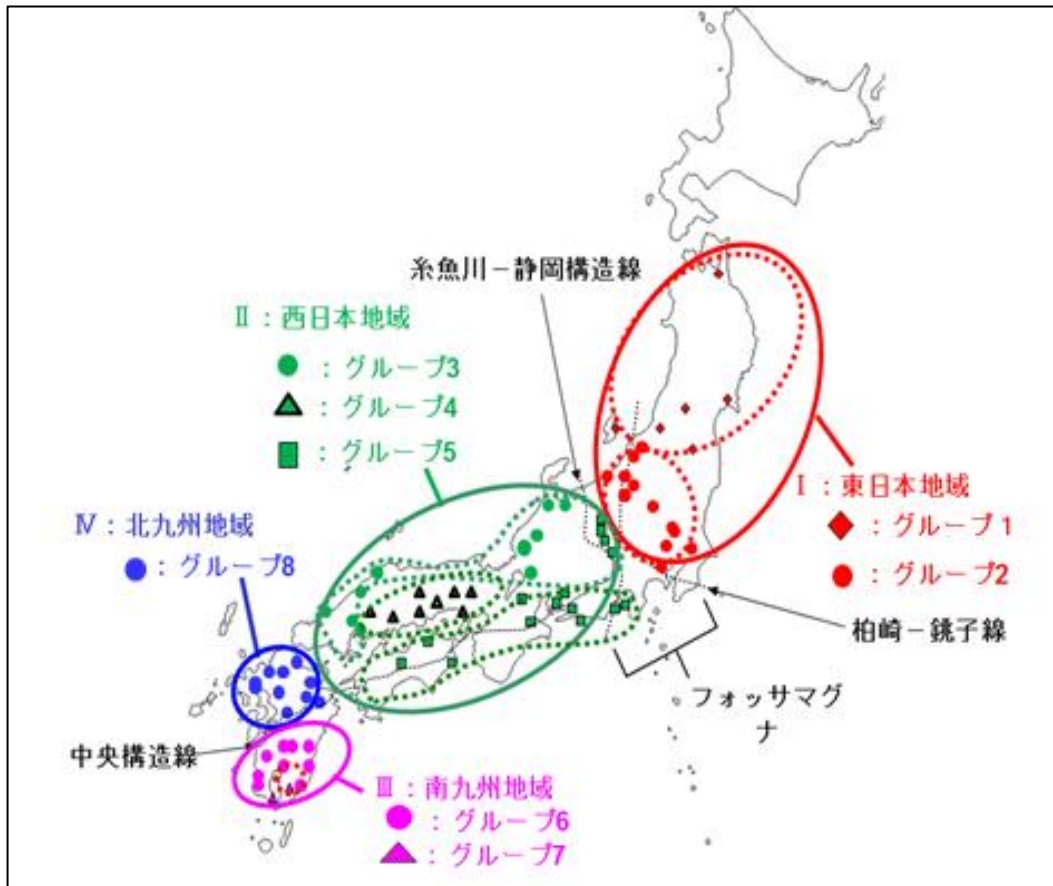
全国のハプロタイプ

ハプロタイプ	サンプルNo.	ハプロタイプ	サンプルNo.
TH/KO 1	1a, 2a, 2b, 2c, 3b, 15b, 15c, 16a, 18b, 18c, 19a, 19b	HO 2	50a, 50b
TH 1	3c, 4c, 5b, 5c	HO 3	51a
TH 2	4a	KI 1	59b, 59c
TH 3	4b	KI 2	53b
TH 4	5a	KI 3	54b
TH 5	3a	KI 4	55a
KA 1	7a, 9a, 9b, 9c	KI 5	55c
KA 2	10a, 10b, 10e, 10f	KI 6	57b
KA 3	11a, 11c	KI 7	58a
KA 4	7b	KI 8	59a
KA 5	7c	KI/CH 1	57a, 61c, 62a, 62c, 63b, 64a, 64b, 64c
KA 6	8b	KI/CH/SH 1	54c, 57c, 58c, 61b, 63c, 74a, 74b
KA 7	10c	CH 1	69a, 69c
KA 8	12a	CH 2	60b
KA 9	12b	CH 3	61a
KA10	12c	CH 4	68b
KA11	14a	CH 5	68c
KA12	14c	CH 6	69b
KA/KI 1	13a, 13b, 13c, 14b, 53a, 53c	CH 7	70a
KA/KI 2	10d, 56b	CH 8	70b
KA/KO 1	6a, 6b, 6c, 8a, 8c, 11b, 27a, 27c, 31a	CH 9	65a
KO 1	17a, 20a, 21a, 21b, 22c, 30a, 30b, 30c	CH10	65c
KO 2	32a, 32c	CH11	66a
KO 3	15a	SH 1	71a, 71b, 71c, 72b, 72c, 73a, 73c, 75a, 75c
KO 4	16b	SH 2	72a
KO 5	16c	SH 3	73b
KO 6	17b	SH 4	74c
KO 7	17c	SH 5	75b
KO 8	18a	KY 1	77a, 77b, 78a, 78c, 83b, 87b, 88b, 93a, 97a, 98c, 100a,
KO 9	19c		100b
KO10	21c	KY 2	76c, 78b, 86c
KO11	29c	KY 3	88c, 91b, 105a, 105b
KO12	25a	KY 4	77c, 79c, 99b, 99c
KO13	25b	KY 5	84a, 85b
KO14	25c	KY 6	86a, 86b
KO15	26b	KY 7	82b, 85c
KO16	27b	KY 8	82a, 82c, 81a, 81c
KO/HO 1	29a, 51b, 52a	KY 9	76a
KO/HO/KI 1	29b, 51c, 52b, 54a	KY10	76b
KO/TK 1	20b, 22a, 22b, 23a, 23b, 23c, 24a, 24b, 24c, 26a, 26c,	KY11	79a, 98b
	28a, 28b, 28c, 33b, 35c	KY12	79b
KO/TK 2	32b, 34c	KY13	80a
TK 1	33a, 33c, 35a, 35b, 36b, 39a, 40a, 40c	KY14	80b, 81b
TK 2	34a, 34b	KY15	80c
TK 3	36a, 40b	KY16	85a
TK 4	36c	KY17	87a
TK 5	37a	KY18	87c, 100c
TK 6	37b	KY19	88a, 98a
TK 7	46a	KY20	83a
		KY21	89b, 89c, 90a, 90b, 91a, 91c, 92a, 92b, 92c, 93b, 93c,
TK 8	46b		95a, 95b, 95c, 101c, 103a, 103b, 104a, 107a, 108c
TK 9	46c	KY22	94b, 94c, 103c, 107b, 108a, 108b
TK10	42b	KY23	96b, 96c
TK11	42c	KY24	101a, 101b
TK12	43b	KY25	102a, 102b, 102c
TK13	43c	KY26	96a
TK14	44b	KY27	97b
TK15	44c, 45b	KY28	97c
TK16	38a	KY29	99a
TK17	38b	KY30	94a
TK18	38c	KY31	89a
TK19	39b	KY32	106a
TK20	39c	KY33	106b
TK21	41a	KY34	109a, 109b
TK22	41b		
TK23	41c		
TK24	45a, 45 b		
TK/CH 1	37c, 60a, 60c, 62b, 68a, 70c, 65b, 66b, 67a	TH : 東北 KA : 関東 KO : 甲信越 TK : 東海 HO : 北陸 KI : 近畿	
TK/HO/KI/CH	50c, 58b, 63a, 42a, 43a, 56a, 56c	CH : 中国 SH : 四国 KY : 九州	
TK/KI 1	55b, 44a		
HO 1	47a, 47b, 47c, 48a, 48b, 48c, 52c, 49a		

資料 4



ゲンジボタルにおけるハプロタイプのND5 遺伝子の塩基配列にもとづくNJ法による分子系統樹



ゲンジボタルの遺伝子的グループの地理的分布

遺伝子グループの地域

	遺伝的グループ	PCR 法による判別可能な遺伝的グループ*	地域名
東日本 I	グループ 1	グループ ①	本州東日本：東北地域
	グループ 2	グループ ②	本州東日本：関東・甲信越地域
西日本 II	グループ 3	グループ ③	本州西日本：北陸、中国地域
	グループ 4		本州西日本：近畿、中国地域
	グループ 5	グループ ④	本州西日本：東海・甲信越および四国地域
南九州 III	グループ 6	グループ ⑤	南九州地域：九州山地と霧島山との間
	グループ 7	グループ ⑥	南九州地域：霧島山より南側
北九州 IV	グループ 8	グループ ⑦	北九州地域九州山地より北側

資料 6

本研究で調べたゲンジボタルの採集場所

採集場所	個体数
(1) 水戸市桜川 榎戸橋	3
(2) 常陸太田市金砂郷町 山田川支流	3
(3) 常陸大宮市 緒川本流と支流の合流点	3
(4) 鹿嶋市山之上谷津田の流れ	3
(5) 常陸太田市南西部 里川支流	3
(6) 常陸太田市南東部 茂宮川	1
(7) 笠間市 桜川上流域	3
(8) 水戸市 上国井町水戸内の水路	3
(9) つくば市 逆川支流	3
(10) 久慈郡大子町高田滝の上の小川	3
(11) 久慈郡大子町池田仁ヶ崎沢	3
(12) 東茨城郡城里町 岩船川	2
(13) 北茨城市 花園川	3

資料 8-1

茨城県のゲンジボタルハプロタイプと他地域のそれとの類縁関係

サンプルNo.	新規ハプロタイプ	近縁なハプロタイプ	同一なハプロタイプ	近縁な地域名	遺伝的グループ
(1)-1	IB1	TH1		宮城県 仙台市 太白区 福島県 郡山市 鶴見坦 福島県 郡山市 咲田	1
		TH2		福島県 郡山市 鶴見坦	
(1)-2	IB2	TH1		宮城県 仙台市 太白区 福島県 郡山市 鶴見坦 福島県 郡山市 咲田	1
		TH2		福島県 郡山市 鶴見坦	
(1)-3	IB3	TH1		宮城県 仙台市 太白区 福島県 郡山市 鶴見坦 福島県 郡山市 咲田	1
		TH2		福島県 郡山市 鶴見坦	
(2)-1			IB3		1
(2)-2	IB4	KO5		新潟県 三島郡 越路町	1
		KO8		新潟県 佐渡郡 羽茂町	
		IB8			
		IB10			
(2)-3			IB3		1
(3)-1			IB3		1
(3)-2			IB3		1
(3)-3			IB3		1
(4)-1	IB5	KA1		群馬県 藤岡市 下栗須 埼玉県 入間郡 越生町	2
		KO1		新潟県 中魚沼郡 川西町 新潟県 南魚沼郡 塩沢町 長野県 長野市 篠ノ井 長野県 長野市 松代	
				長野県 北佐久郡 望月町	
		KO10		長野県 長野市 篠ノ井	
(4)-2			IB5		
(4)-3	IB6	KA1		群馬県 藤岡市 下栗須 埼玉県 入間郡 越生町	
		KO1		新潟県 中魚沼郡 川西町 新潟県 南魚沼郡 塩沢町 長野県 長野市 篠ノ井 長野県 長野市 松代	
				長野県 北佐久郡 望月町	
		KO10		長野県 長野市 篠ノ井	

資料 8-2

茨城県のゲンジボタルハプロタイプと他地域のそれとの類縁関係

サンプルNo.	新規ハプロタイプ	近縁なハプロタイプ	同一なハプロタイプ	近縁な地域名	遺伝的グループ
(5)-1			IB3		1
(5)-2	IB7	KA10 IB13		神奈川県 逗子市 逗子	1
(5)-3			IB3		1
(6)-1	IB8	KO5 KO8 IB4 IB10		新潟県 三島郡 越路町 新潟県 佐渡郡 羽茂町	1
(7)-1			IB3		1
(7)-2	IB9	TH1 TH2		宮城県 仙台市 太白区 福島県 郡山市 鶴見坦 福島県 郡山市 咲田 福島県 郡山市 鶴見坦	1
(7)-3			IB3		1
(8)-1			IB3		1
(8)-2			IB3		1
(8)-3			IB3		1
(9)-1			IB3		1
(9)-2			IB3		1
(9)-3			IB3		1
(10)-1	IB10	KO5 KO8 IB4 IB8		新潟県 三島郡 越路町 新潟県 佐渡郡 羽茂町	1
(10)-2			IB3		1
(10)-3	IB11	TH1 TH2 IB12		宮城県 仙台市 太白区 福島県 郡山市 鶴見坦 福島県 郡山市 咲田 福島県 郡山市 鶴見坦	1
(11)-1	IB12	TH1 TH2 IB11		宮城県 仙台市 太白区 福島県 郡山市 鶴見坦 福島県 郡山市 咲田 福島県 郡山市 鶴見坦	1
(11)-2			IB3		1
(11)-3			IB3		1
(12)-1	IB13	KA10 IB7		神奈川県 逗子市 逗子	1
(12)-2	IB14			本州東日本:東北地域	1
(13)-1			IB3		1
(13)-2			IB3		1
(13)-3			IB3		1

結 論

1. ゲンジボタル 36 個体から、茨城県で 14 個の新規なハプロタイプが見出された。
2. 茨城県のゲンジボタル 36 個体は、人為的に放流されたものではなく、すべて自然発生しているホタルであると類推した。

2 あとがき

(1) 茨城県のゲンジボタル遺伝子解析について

陸生ホタル研は、2009年度の調査研究の一つとして、「ゲンジボタルの種分化の謎解きに取り組みます」という項目を掲げました。これは、2008年度に福岡県久留米市在住の、今坂正一氏が、長崎県島原市のゲンジボタルと東京都八王子市小山内裏公園のゲンジボタルの形体を詳細に分析比較検討した結果、「日本のゲンジボタルには種分化が起きているのではないか」という問題提起を受けての取り組みでした。今坂氏は、その後もご自身のネットワークを通じて独自の標本採集も行いその形体を詳しく分析し、結果を月報に掲載してきました。月報39号では、「形体解析でも、ゲンジボタルの東型・西型の区別ができる」という、画期的な成果をあげました。また、この今坂氏の研究の中で新潟県、山梨県、東京都、埼玉県、茨城県から西型のゲンジボタルが見つかったことから、従来から言われてきた西日本地域からの東日本地域にたいするゲンジボタルの持ち込みが改めて問題になりました。各地で標本採集にあたって下さった方々の中でも、茨城県水戸市在住の吾妻正樹氏は、長年茨城県下でこの持ち込み問題を中学生時代から30年以上にわたり現場で自らも体験してきており、事の重大さを憂いておられました。そこで、この吾妻氏が採集した茨城県下のゲンジボタルの成虫標本の一部を福井工業大学の草桶秀夫先生にお願いして、西日本のどこから持ち込まれたのか明らかにするための遺伝子解析をしていただきました。なお、この為の費用は全て草桶先生の研究費でまかなっていただきました。心から厚く御礼申し上げます。有難うございました。

解析結果は、今回の標本で見ると上記の通り13箇所の全て茨城県内のゲンジボタルでした。と言うことはこれらの場所に長年にわたり放流されてきたゲンジボタルは、現状では定着していないということです。これは、長年現地でゲンジボタルを見続けてきた吾妻氏にとっては予想外の結果でした。この点については、後日、吾妻正樹氏にコメントを頂き月報に掲載いたします。ただ、13箇所のうち常陸大宮については、今坂氏も形体解析をしましたが、その結果では西日本型となっています。したがってここでは、持ち込まれたものが一部定着しているようです。

(2) 事務局のPC問題

1月早々、事務局のPCが不調でご迷惑をお掛けしましたが、その後回復しましたのでご安心ください。

(3) 月報45号に掲載しました折爪岳で千葉・小俣が採集し小俣が撮影した陸貝類の写真ですが、これは、栗飯原一郎氏の折爪岳の貝類の同定報告とは、全く関係なく別のものです。解説を付けずに掲載し栗飯原氏には大変ご迷惑をお掛けしました。謹んでお詫びして訂正いたします。

(4) 45号では皆さん方の写真を借用しましたが、後、お一人「大西蘭子」氏のお名前が落ちていました。追加いたします。大変失礼いたしました。お許しください。