

ゲンジボタル明滅周期の地理的分布と

ミトコンドリア DNA 多型の関係

元静岡県立池新田・藤枝東・掛川西高校教諭 現榛原高校教諭 松下 保男

事務局長小俣軍平さんの三顧の礼にお応えして、今までのゲンジボタルの明滅周期とミトコンドリア DNA 塩基配列多型に関する研究の一部を述べさせていただきます。

【 研究の概要 】

まず、明滅周期についてです。皆さんご存じだと推察しますが、最初にゲンジボタルの発光地域性を示したのは、神田左京氏で、独自出版した「ホタル」（1935）(*1)に記述があります。この中でゲンジボタルの岐阜市北部の明滅周期（間隔）は約 2 秒で甲府市北部では約 4 秒を示したと述べています。同時に気温が変化しても明滅周期変化はなかったとしています。

これに対して近年、井口豊さんらにより気温による明滅周期の変化が指摘(*2)されています。1993 年に池新田高校のグループも気温変化に伴って明滅周期が変化するのではないかと考えて調査研究を始めています。池新田高校での研究は 1997 年まででしたが、その後卒業生と共に調査範囲を広げ、1999 年からは 1 人で鹿児島～秋田・岩手まで明滅周期と気温の関係の調査を行ってきました。

また、ミトコンドリア COII 遺伝子(*3)、および ND5 遺伝子(*4)の DNA 配列比較が 25 年ほど前から行われています。掛川西高校でも 2014 年から ND5 遺伝子について、静岡県および神奈川県の一部で DNA 塩基配列多型の解析を始めました。高校生でも DNA の解析ができるようになったからです。それまでの観測から、伊豆半島・神奈川県在来個体群のゲンジボタルの明滅周期が、静岡県中西部在来個体群のものと異なることには気づいていましたので、掛川西高校での遺伝子研究はこの境界付近のゲンジボタルミトコンドリア DNA 多型に着目していました。技術的には広範囲の解析も可能なのですが、生徒自身が許可を得るなどして採集した個体だけで実験していたため静岡県内、一部の神奈川県個体群のみで実験をしています。

【 ① 明滅周期と気温の関係について 】

池新田高校生物部（後に自然科学部）の生徒達とゲンジボタルの明滅周期について観察を始めたのは1993年のことでした。この年は大まかな調査でしたが、観測していた2つの個体群で気温による明滅周期変化が見られたことから、おそらく明滅周期は気温変化に伴って変化するという考えに至りました。

1994年と1995年、池新田高校近くの篠ヶ谷川個体群で生徒と一緒に注意深く観察した結果をグラフに示したものを図1に青で示します。（比較のために1997年に観察した滋賀県黒田川個体群を赤で示しています。）

図1の1点は手動ストップウォッチで発光最大直後から次の最大発光直後の間隔を連続計測（5～15明滅）したデータから、最大値と最小値を除いて平均した明滅周期を示しています。計測対象は雄と思われる飛翔発光のみです。気温は明滅計測直後の胸高気温を計測しています。気温の計測には細心の注意を配り、最小目盛り

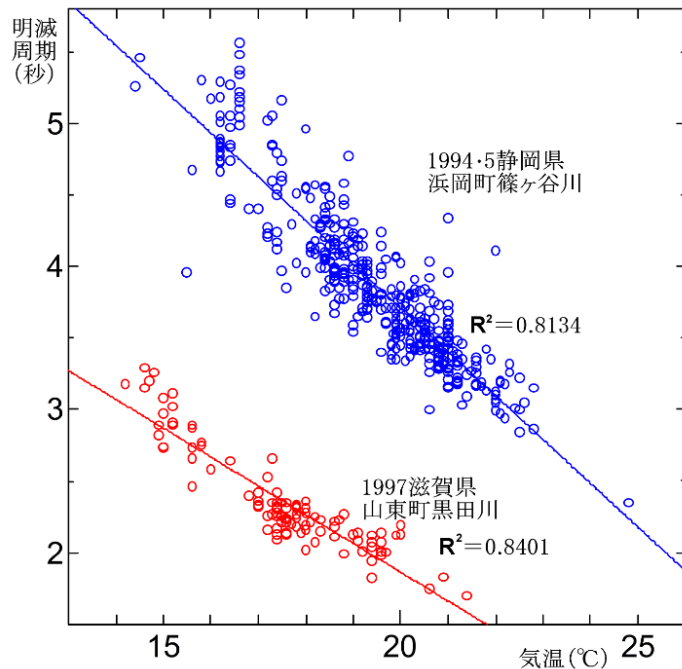
0.2℃の温度計を5分以上、外気中においてから気温を計測しています。これは温度計を保護筒から取り出した直後の数分間、保存環境温度が強く計測値に影響を与えるためです。同様に温度計を地面に置いた場合などでもしばらくは記録を中断しています。気温測定に細心の注意を払わないと良い再現性を得ることはできません。また、同時明滅と呼ばれる現象は観察者の背後との同調を判別できないことから、特別扱いをしていません。

1995年、図1と同様の調査を生徒共に静岡県中部から岐阜県西部の個体群で実施し、地図上に図示したものが図2です。図2に示す結果などを「ゲンジボタルの分布境界線を探るⅡ～発光間隔・移動度調査・交雑実験を手かがかりにして～」と題して生徒論文にまとめ、日本学生科学賞に応募しました。この論文はこの年の環境庁長官賞（現在の環境大臣賞）を受賞しています。

翌1996年、さらに岐阜県内の木曽川・長良川・揖斐川上流部の調査を行い、「木曽川周辺に2秒周期型と4秒周期型の分布境界が存在すること（図3）」「分布境界付近でゆるやかに明滅周期の変化が起きていること（図3）」「滋賀県山東町（現米原市）個体（約2秒周期）と静岡県浜岡町（現御前崎市）個体（約4秒周期）の実験的な雑種第1代が、中間的な約3秒周期で明滅すること（図5）」の3点をまとめて「ゲンジボタルの分布境界線を探るⅢ」として生徒論文にまとめています。この論文は静岡県知事賞を受賞しました。

図3作成当時には、実験的な雑種第1代の明滅周期が中間的な値を示すことがわかって

図1 縦軸を整数軸で表したゲンジボタルの明滅周期変化



いましたから、木曽川周辺を境界に交雑が起きて緩やかな明滅周期変化が起こっているの
だろうと考えていました。このため、2 秒周期を西日本型、2 秒より少し長い周期を西日本
2 型、3 秒周期を中間型、4 秒周期を東日本型、4 秒より少し短い周期を東日本 2 型とし、
記号化して地図上に表しています。

注：図 2 のグラフデータは図 1 のような飛翔毎に平均した明滅周期ではなく、観察した全て
の明滅周期をグラフ上にプロットしています。飛翔毎のデータ処理も同時に行い、試行錯誤
をしていましたが、1995 年には高校生のわかりやすさを優先してこのような処理をしていま
した。どちらの処理でも近似直線にほとんど差はありません。

図 2 にある 2 秒周期型の近似直線（点線）は当時大東町（現掛川市）に移植された個体群
（1995）のデータを使っています。本来は滋賀県などで調査を行いたかったのですが、10 人
以上の生徒を伴って宿泊を伴う遠距離の観察をすることは、経済的にも部活動としてもなか
なか許されませんでした。大東町の個体群は奈良県の業者から導入されたゲンジボタルでし
たので、西日本在来種の性質を示すかどうか不安でしたが、他に選択肢が無かったのです。
入賞などの実績を得るようになると、不思議なもので資金的にも余裕が生まれて、翌年には
遠距離の複数回調査もやりやすくなりました。図 1 に示した滋賀県山東町黒田川は 1997 年
に、学校の活動とは別にこの研究の中心となった卒業生と共に調査したものです。図 2 で使
用した大東町の移植種と比較してみると、黒田川データは少し小さいばらつきを見せている
ものの、ほぼ同じ特徴を示しています。今考えるとラッキーでした。現在は黒田川個体群を
2 秒型の基準としています。

～生徒の研究と自分自身の研究～

生徒の研究指導においては、実験方法の指導だけでなく方向性を示したりしなければなり
ません。生徒の成長と能力によってどこまでやれるのかを見計らいながら指導をしてきまし
た。しかし、成果として認められるレベルになると黙って見ていることもあえてやっていま
した。先々研究者や技術者になるためには、自分自身で方向性を見いだせるようにならない
といけないからです。方向性が間違っていると思う場合には議論して修正しようとしましたが、
最終的に失敗しても自分で考えた方向性でそのまま研究を続けさせることもありまし
た。失敗することで学ぶことも非常に重要です。このため、DNA を扱う研究では本来必要な
試薬量の倍以上を使っていました。一般には考えにくいと思いますが、高校生を相手にして
きちんとした教育をしようとするこのようになるのです。

私自身の研究成果を出すことより生徒を育てることに重点を置いていたため、「なぜここ
までわかっていて先を進めなかったのか」と感じる方もいらっしゃるかもしれません。自分
の研究として全国を歩いてゲンジボタルを観察していますから、手に入れようとすれば全国
各地のゲンジボタルが手に入ります。これを使って DNA 分析をしていればもっと大きな成
果がすでに出ているでしょう。しかし、「自分で採取したサンプル・データを中心にして研
究させること」は生徒達を成長させるためにどうしても必要なことだと考えていたため、こ
のような結果となっていると考えていただきたいと思います。

「やり残している」と考えることはかなりあります。今後は高校を離れて、機会を探りな
がら自分自身の疑問を解いて研究すること続けようと考えています。

図2 静岡・愛知・岐阜のゲンジボタル明滅周期
1995年、池新田高校「ゲンジボタルの分布境界線を探るⅡ」
より転載

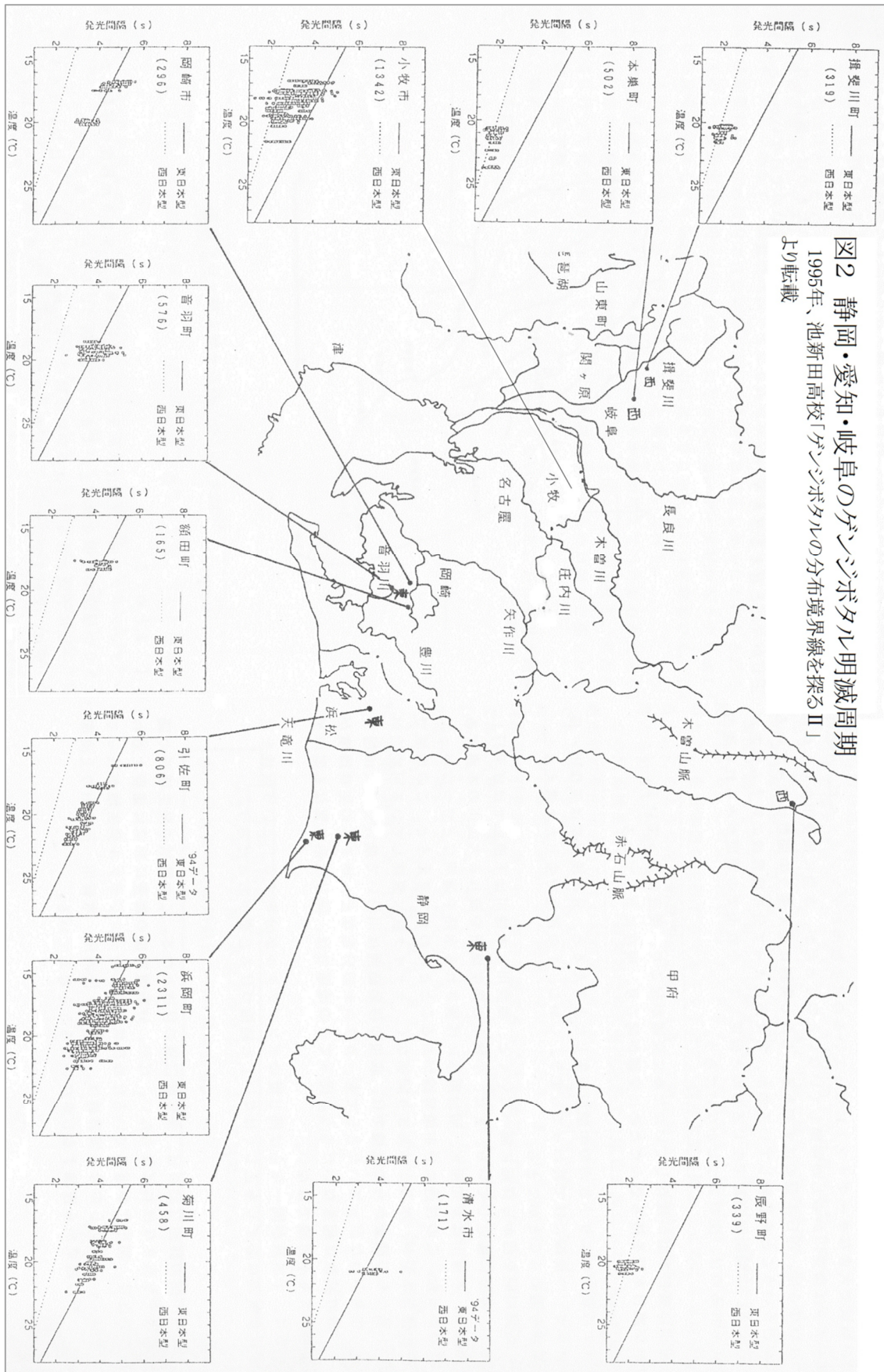


図3 1994年～1996年に調査したゲンジボタルの明滅周期分布
ゲンジボタルの分布境界線を探るⅢより作成

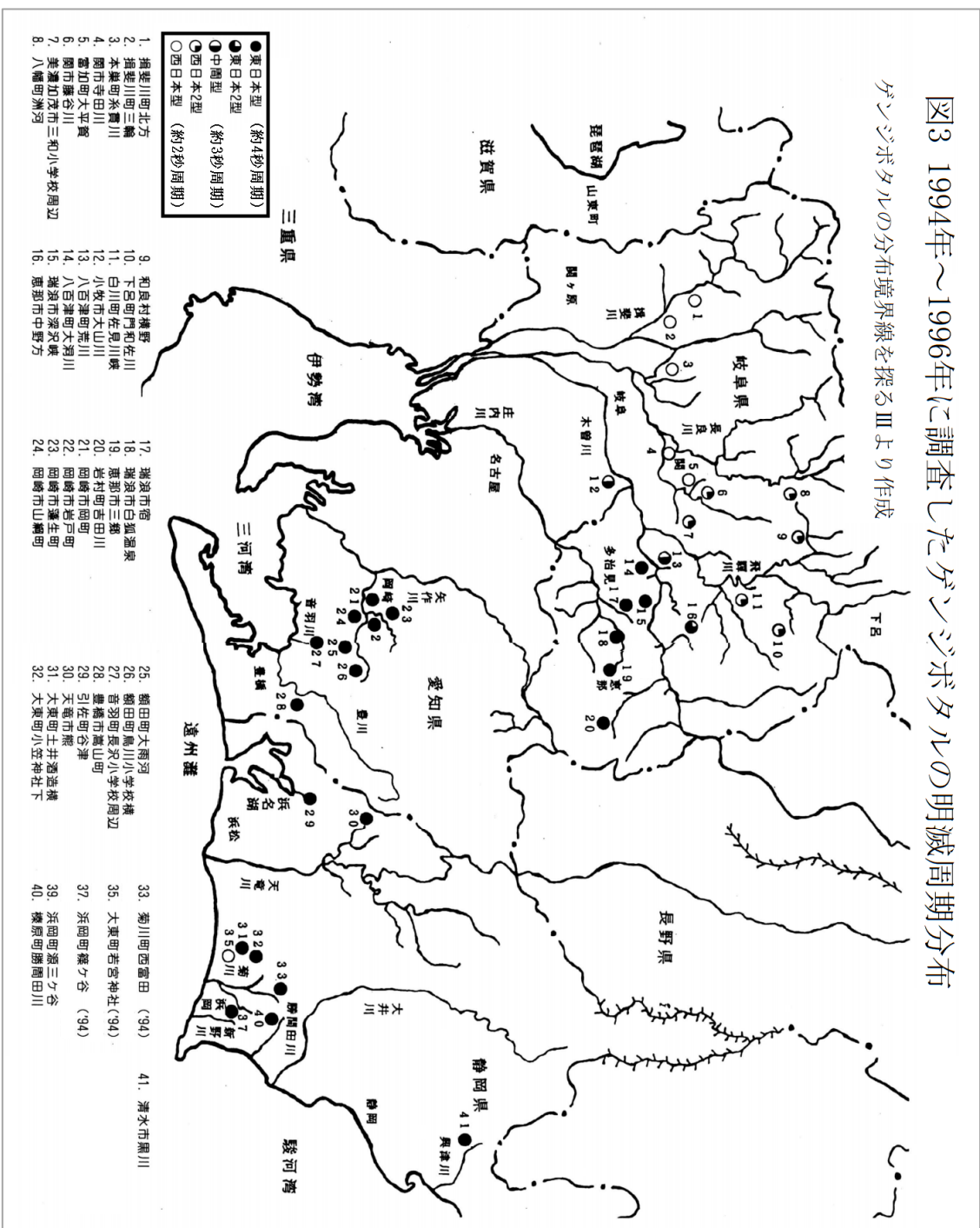


図2と図3が描かれた時代にはWindowsが無くMS-DOSで処理をしていました。機材も十分でなく、画像処理のほとんどは手作業で行っていました。手書きの地図にグラフや地名などを糊で貼り付けて作成しています。このため、デジタルデータとしての原版が残っていません。

論文そのものも池新田高校に保管されておらず、何回かコピーを繰り返した図から、今回デジタルデータを起こしています。このため不鮮明な図となっていますがご容赦ください。

さて、図 1、図 2 のグラフは当時の高校生が処理しやすいように縦軸（周期軸）を整数軸にしています。しかし、調査初期からこの気温による明滅周期の変化を変温生物の酵素反応速度の変化だろうと予想していたため、周期軸を対数軸で示したほうが良いだろうと考えていました。図 1 にこの処理をしたものが図 4 です。図 4 の近似曲線の決定係数 (R^2) が図 1 の近似直線のものより大きいため、「同一個体群の明滅周期は気温を大きな要因とする指数関数で表すことができる」と考えられるでしょう。また、図 4 から 10°C あたりの明滅周期の変化率 (Q_{10}) が約 2 (2 倍) であることが読み取れます。これは、一般的な化学反応の温度による速度変化とほぼ合致します。(簡単に言えば、もし 15°C で 4.0 秒周期だとすると同じ個体の発光は 25°C の時約 2.0 秒周期となるということです。*5)

この変化率 (Q_{10}) はゲンジボタルなら、どの個体群でも同じなのでしょう。残念ながらこの問題に対する明確な答えはまだ得られていません。ただ、九州北部～関東西部の個体群および、実験的雑種第 1 代 (図 5) の結果では、ほぼ同じ変化率が得られています。

1998 年頃までに観測した個体群データから、観察気温範囲が 5°C 以上あることを目安にいくつかの個体群の Q_{10} を求めてみたところ $2.16(\pm 0.12)$ の範囲におさまりました。 Q_{10} を 2.16 と仮定すれば観察された明滅周期を特定の気温に補正することができるだろうと考え、図 4 に示すようにして気温 20°C に補正した明滅周期を計算して地図上に示したものが図 6 です。図 6 のデータには移植放流が明確になっている個体群は含まれていません。これについては後日機会があれば公表したいと考えます。

図 6 の分布から、岐阜市北部付近は 2 秒強、甲府市北部付近は 4 秒弱 (18°C では約 4 秒) と推定することができるでしょう。これは神田左京氏の記述とほぼ一致します。

図4 縦軸を対数軸で示したゲンジボタルの明滅周期変化

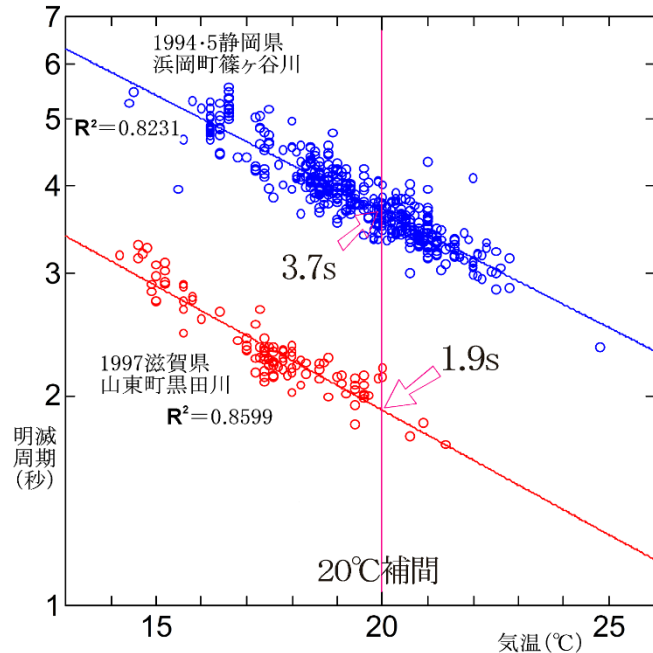


図5 F1 (滋賀-静岡) ゲンジボタルに見られた明滅周期の変化

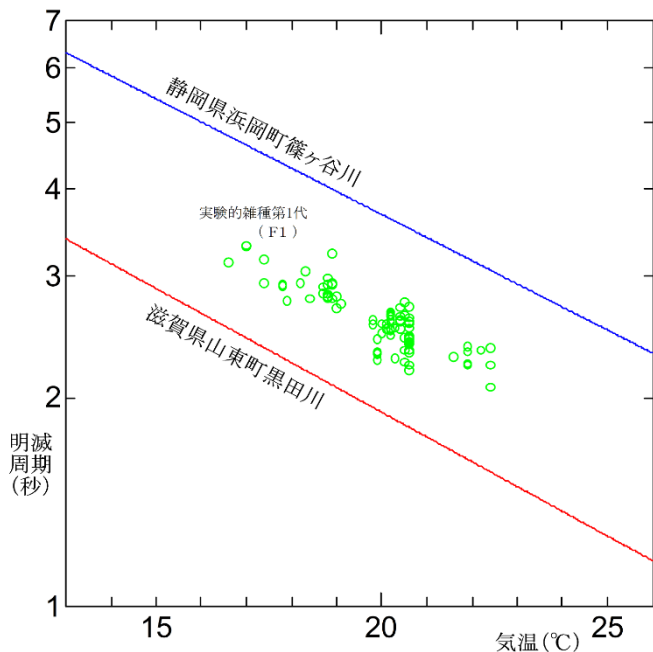
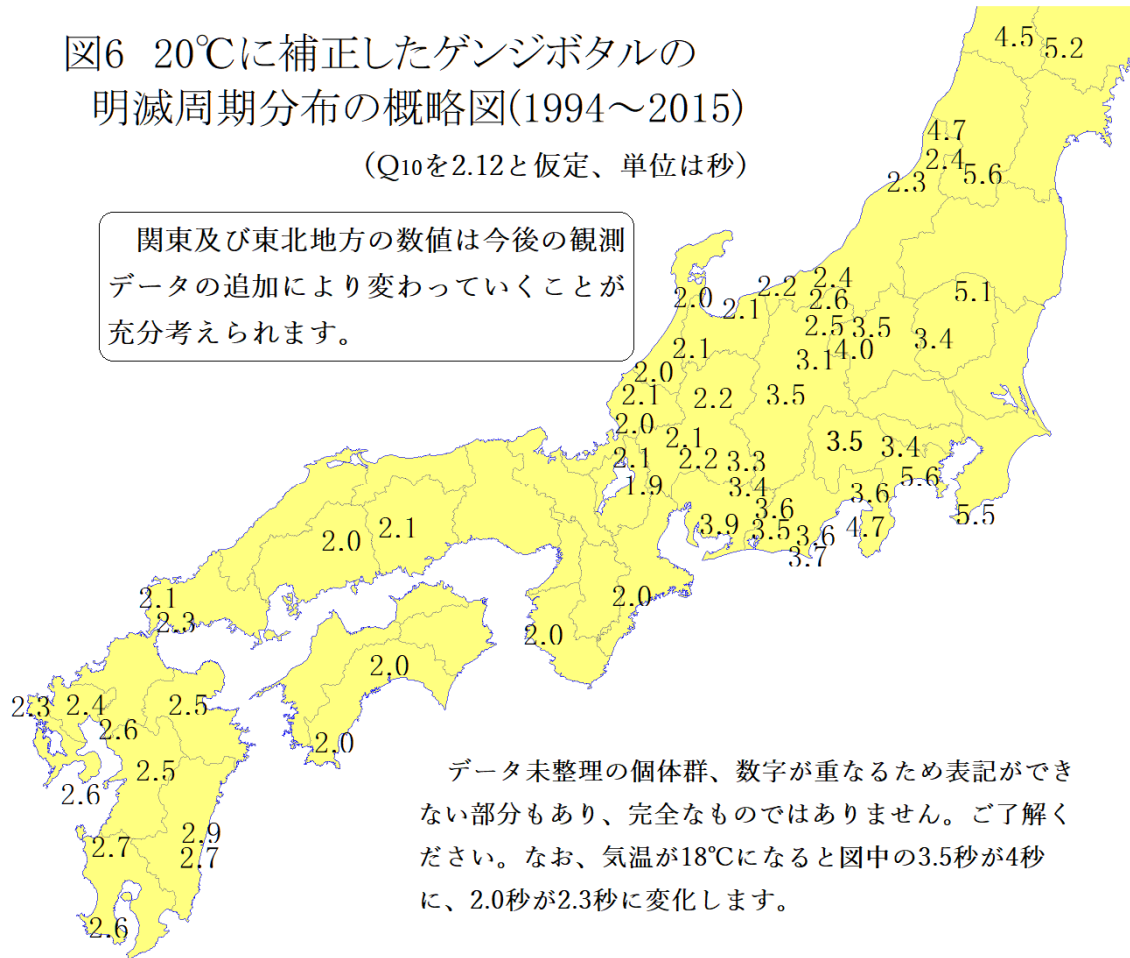


図6 20℃に補正したゲンジボタルの
明滅周期分布の概略図(1994～2015)

(Q10を2.12と仮定、単位は秒)



また、東海地区の2秒周期と4秒周期の境界は名古屋付近からほぼ木曽川に沿って北東方向に伸びています。さらに、伊豆半島・関東南部・房総半島・東北地方には4秒より長い周期の個体群が分布し、九州には中国・四国・近畿と比較して少し長い周期で明滅する個体群が分布することもわかります。

この調査方法には問題点もいくつかあります。関東から東北の地域には、飛び始めの時刻から1時間程度でほとんど飛ばなくなってしまう個体群が多いため、短い時間で十分な数のデータをとることが難しいのです。さらに明滅周期が長いことから10明滅を計測するためには1分ほど飛翔を追いかけていなければなりません。発生数が多い場合には調べている個体を見失うことは茶飯事です。このため、一晩に多くても15～20飛翔程度のデータしか得ることができません。1カ所で30飛翔以上の観測を目標とし、さらにできるだけ広い気温範囲のデータを得るため、1つの発生地を数日かけて調査している場合もあります。遠方の場合には数年かけていることもあります。それでも思うようなデータは集まらないのです。

同じ事が九州南部の個体群にもあてはまります。明滅周期は多少短く、関東より観察が容易ですが、飛翔時間が短いのです。個体群によっては22時を過ぎると静止状態でも明滅しなくなり、生息すら確認することができなくなります。比較的調査しやすい静岡県中部・西部で観測・研究を始めたことは幸運だったと考えています。関東で始めていたらここまでたどり着くことはなかったかもしれません。

【 ② 遺伝子解析と明滅周期との関係 】

アイソザイムによる研究(1990 頃)、ミトコンドリアの COII(2000 *3)、および ND5 (2001 *4) 遺伝子の DNA 配列比較、核ゲノムの RAD-seq による分析(2020 *6)などゲンジボタルについては多くの遺伝子解析論文が発表されています。いずれも時代に応じた優れた発想と研究に基づいたものだと思います。しかし、明滅周期との関連を論じた部分では、議論が不十分になっていると思っています。これにはサンプル採集者と DNA 分析者が一致していないなどの要因もあると思われますが、明滅周期などの野外観察調査が不十分だったことが大きな要因だろうと考えています。まず遺伝子解析によって何がわかるのかを理解していないと議論ができませんから簡単に説明をします。

②-1 遺伝子解析で何がわかるのか(*7)

ここで、注意が必要なのは、遺伝子解析は「何の目的で何を調べているのか」ということです。それぞれの解析方法でどのようなことがわかるのか、簡単に説明してみます。

A アイソザイムを使った分析方法

まず、アイソザイム（アロザイムとも言います）による解析方法です。この方法は生物の活動を支えている酵素の多様性を使って系統を調べる方法です。ヒトで酵素の多様性としてよく知られているのは、アルコールを分解する酵素の多様性です。分解能力の高い酵素遺伝子を持つヒトはお酒に強いですし、分解能力の低い酵素遺伝子を持つ、あるいはこの酵素そのものが全くないヒトは下戸になります。（ちなみに私は下戸です。）アイソザイム分析では、この同じはたらきをする酵素の多様性（分子量の大きさの違い）を使って類縁関係などの系統解析を行います。酵素は DNA の遺伝情報に基づいて作られますから、DNA の違いを間接的に調べることになります。食品産業技術総合研究機構の佐藤安志さんにゲンジボタルでの手法を教えていただき、藤枝東高校でタンボポの系統解析に応用しましたが、温度管理など実験が難しく成功しませんでした。高校生には無理ですね。

この方法では、酵素が行動や形態に関係していれば、類縁関係以外のこともわかる可能性はありますが、直接行動や形態に関係していない酵素を使う場合が多く、類縁関係以外の解析ができることは希です。現在はあまり使われていないと思います。

B ミトコンドリア DNA 分析

次に、現在一番よく知られているミトコンドリア DNA 解析です。ミトコンドリアは細胞内に含まれている酸素を使ってエネルギーを取り出す細胞内構造物です。元々は酸素を好む細菌だったと考えられていますが、この細菌がヒトやゲンジボタルなどの核のある生物に共生して細胞小器官に変化したものと考えられています。実際に細菌の持つ DNA に近いものを遺伝子として持っています。

この遺伝子の子孫への伝わり方はちょっと特殊です。受精の際に父親の精子にあるミトコンドリアは子供に伝わらず、母親の卵細胞に含まれるミトコンドリアしか伝わらないの

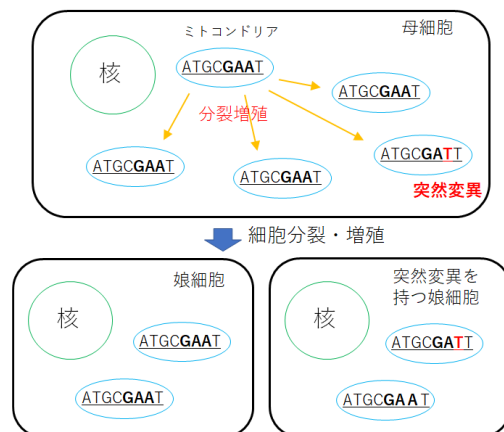
です。このため遺伝子が母親からのみ伝わる母系遺伝と呼ばれる遺伝をします。特殊な遺伝様式のため、何世代もの遺伝を考えると核にある遺伝子より個体群から消えやすいなど、系統解析で問題になることがあります。しかし、原則 1 匹の生物に 1 種類のミトコンドリア DNA しかないため、核遺伝子と比べると実験はやりやすいのです。最近よく知られるようになった PCR 装置さえあれば、優秀な高校生なら実験研究は可能です。

実際にどのように解析するのか簡単に説明しましょう。DNA は ATGC の記号で省略される 4 種類の塩基（有機塩基）が結合したヌクレオチドという物質が結合した構造をしています。一般には ATGC の並びで示される事が多く、ATGCTAGAGAAT・・・などのように塩基が並んでいると考えていただいても充分です。この ATGC がどのように並ぶかが遺伝子の暗号となっています。細胞内ではこの暗号に基づいてアミノ酸が結合し、タンパク質が作られます。たとえば GAA と 3 個の塩基が並んでいる（コドンと言います）とグルタミン酸というアミノ酸がタンパク質に組み込まれます。最後の A が T に変わって GAT と並ぶと、アスパラギン酸というアミノ酸が組み込まれるというしくみです。

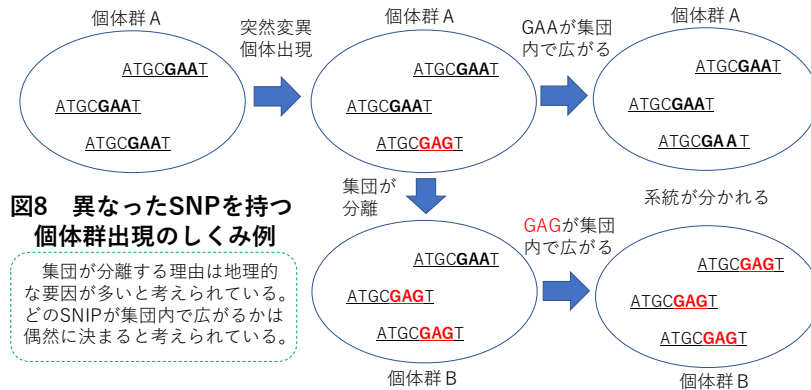
ミトコンドリアが増える際に DNA はコピーされます。ミトコンドリアが細胞内で分裂増殖する時にコピーされた DNA が分かれて新しいミトコンドリアに伝わっていきます。この時、巧妙なしくみで DNA のコピーミスを少なくしているのですが、それでもわずかに間違いが起こることがあります。この間違いを **突然変異** と言います。突然変異が起こると上記の GAA と GAT のように組み込むアミノ酸が変わってしまうことがあります。すると、タンパク質の性質も変化してしまう場合があります。タンパク質の性質が変わると、変化によってはミトコンドリアとしての機能が失われてしまい、結果的に突然変異を起こした DNA（ミトコンドリア）は子孫に伝わらず消えてしまうことが多いと考えられています。

一方、アミノ酸が変化しても似たような構造をしたアミノ酸だとタンパク質の性質がほとんど変わらないこともあります。また、上記の突然変異が GAA から GAG に変わった場合には、アミノ酸はグルタミン酸のままで変わりません。3 つ並んだ塩基の 3 番目に突然変異が起こってもアミノ酸が変わらない組み合わせがいくつかあるのです。このようなアミノ酸の変化を伴わない塩基の変化を **ナンセンス突然変異** と言います。ナンセンス突然変異はタンパク質の構造に全く影響しないので、突然変異の中では残りやすい DNA の変化なのです（滅多に起こることではありません）。実際にゲンジボタルのミトコンドリア DNA で見つかる塩基の違い（SNP：一塩基多型と言います）を調べてみると、多くはこのナンセンス突然変異です。

図7 ミトコンドリア突然変異の伝わり方



この SNP が個体群の中で広がる（さらに滅多には起こりません）と、その個体群から分かれた個体群にも同じ SNP が見られるようになります。ミトコンドリア DNA を使った系統解析では、この SNP が広がっていく現象を



使って、「ゲンジボタルがどのように広がっていったかを推定できる」と考えるのです。要するにゲンジボタルのミトコンドリア DNA 分析は個体群の類縁関係を推定できるものなのですが、類縁関係の推定以上の事はできません。ミトコンドリアの COII 遺伝子にせよ、ND5 遺伝子にせよ、有機物からのエネルギー取り出しに関わる酵素タンパク質遺伝子の一部分にすぎないので、これが明滅周期など複雑な行動の発現に関わるとは考えにくいのです。

1980 年代の後半にヒトミトコンドリアで同じような研究がなされました。これによって、ヒトの約 20 万年前アフリカ単一起源説が有力説と言われるようになりましたが、その後、ヒトの祖先と思われる化石からゲノムが研究されるようになると、どうも 20 万年前よりかなり以前に広がった他のヒト属の遺伝子も受け継いでいることがわかり、多地域進化説も一概に否定されなくなりました。古くは現在のアジア人と類人猿の中間的な姿で描かれたネアンデルタール人の復元図が、人類の化石ゲノム研究から現在は金髪碧眼で描かれるようになっています。面白いことですね。ゲンジボタルもゲノム解析が進めばもっといろいろなことがわかってくると考えられます。

C ゲノムの分析

現在は、考えている生物を作っている核に含まれる遺伝子の 1 セットを「ゲノム」と定義しています。細菌類を除く生物はこのゲノムを 2 セット持っています。1 セットは父親由来、もう 1 セットは母親由来のゲノムです(*8)。

核に含まれる全ての DNA の塩基配列を読み取り、どんな遺伝子があるのか分析することを（全）ゲノム解析といいます。すでにヒトでは 2003 年に全ゲノム解析が終わっていますが、ゲンジボタルでは終わっているのかな？というレベルです。技術的には可能でしょうが、全ゲノム解析にはまだ多額の費用が必要なのです。解析費用は少しずつ安くなっていますが、この原稿を書いている時点で 1 個体のゲノム解析に少なくとも 50～100 万円は必要だろうと思っています。明滅周期を決定している遺伝子を探すためには少なくとも数 10 個体の解析をしなければなりませんから、最低でも一千万円程の予算を考えなければなりません。たかがゲンジボタルの研究に、さらに成功するかどうかわからないものに対して一千万円は、なかなか用意できる金額ではありません。（「退職金を投じれば」という冗談もありましたが、離婚を前提に話をしなければなりません。できませんね。）

予算的に全ゲノムは解析できないが、ミトコンドリア DNA では満足できる系統解析ができない。何とかゲノムの遺伝子で系統解析ができないかという要求に対して考案されたのが RAD-seq と呼ばれる方法です。DNA を特別な場所で切断する方法があって、この切断した場所の近くにある SNP を比較することで系統解析をおこなうという方法です。ゲノムを使っているためミトコンドリア DNA 解析独特の癖がなくなり、より有意義な系統解析ができると考えられています。ゲノムには父方由来と母方由来の 2 種類の DNA が含まれているため、1 個体に 1 種類しかないミトコンドリア DNA と比較すると分析は面倒です。しかし、全ゲノム解析に比べればかなり安く実験が可能ですし、偶然に目的の遺伝子に含まれる変異をつかむ可能性もあります。運が良ければ系統解析だけでなく運動や行動などの遺伝子を捕まえることができる可能性もあるため、RAD-seq を使った系統解析は頻繁に行われるようになっていきます。

②-2 掛川西高校で行ったミトコンドリア DNA を使った系統解析

2014 年に掛川西高校科学部へ DNA 分析技術を導入しようと考えました(*9)。理数科を設置した学校ですが、科学系の研究実績があまりない学校でしたので、なんとかならないか考えたのです。導入にあたって静岡大学理学部の徳元俊伸教授に生徒への実験技術・解析方法の指導をお願いできないか相談したところ、快く引き受けていただきました。題材は何が良いかわからなかったのですが、とりあえずゲンジボタルのサンプルはありまして、福井工業大学のグループが詳細なデータを公開してくれていた(*4)、手頃だということでゲンジボタルのミトコンドリア ND5 遺伝子を使って実習・研究を始めました。

静岡大学での実習から発展した研究を 2019 年に掛川西高校の生徒がまとめたものが図 9 です。Group I と Group II の分類は、図 10 に示す福井工業大学の ND5 遺伝子の研究によるグループ分類に従ったものです。

図9 静岡県と神奈川県西部に見られるゲンジボタル
ND5 遺伝子の多型3系統とその分布

	67	70	81	129	213	216	234	246	318	325	359	399	402	432	480	510	573	575	600	654	678	数
A	T	A	C	C	G	C	C	G	C	C	T	A	C	C	T	T	A	T	A	T	T	24
B	T	A	T	T	G	C	C	G	C	C	T	G	C	C	C	T	A	T	A	T	T	22
C	T	A	T	T	A	T	T	A	T	C	T	A	T	T	T	C	A	C	A	T	T	19

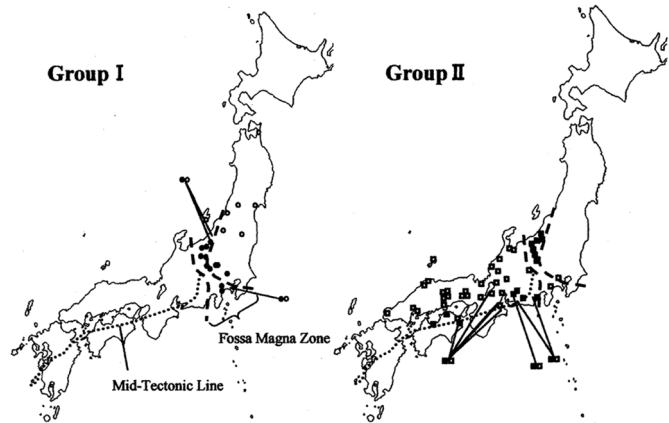


福井工大の研究から、Group II-A は静岡県西部から愛知県に分布し、Group II-B は静岡県中・西部から山梨、長野に分布する小グループだということがわかっています。静岡県内は Group II-A と Group II-B が混在しています。

この結果から、太平洋側では静岡県沼津市付近を分布境界として、東西で ND5 塩基配列が大きく変化することを確認できます。言い換えれば、沼津付近を境界にして東西でゲンジボタルの類縁関係が遠くなると考えることができます。図 10 と比較すると境界はだいたい同じ位置ですが福井工業大学の研究では伊豆半島が空白地帯だったため少しずれた形になっています。

ミトコンドリア ND5 による分布図（図 9）と明滅周期による分布図（図 6）を比較すると、明滅周期は沼津付近でも変化が見られますが、木曽川付近に見られる 2 秒周期、4 秒周期の境界とは一致していません。沼津より東側の伊豆半島と神奈川県では 4 秒より長い周期が見られて、確かに 4 秒周期との境界を生じていますが、今まであやふやだった 2 秒周期と 4 秒周期の境界とは全く違うことはわかんと思います。

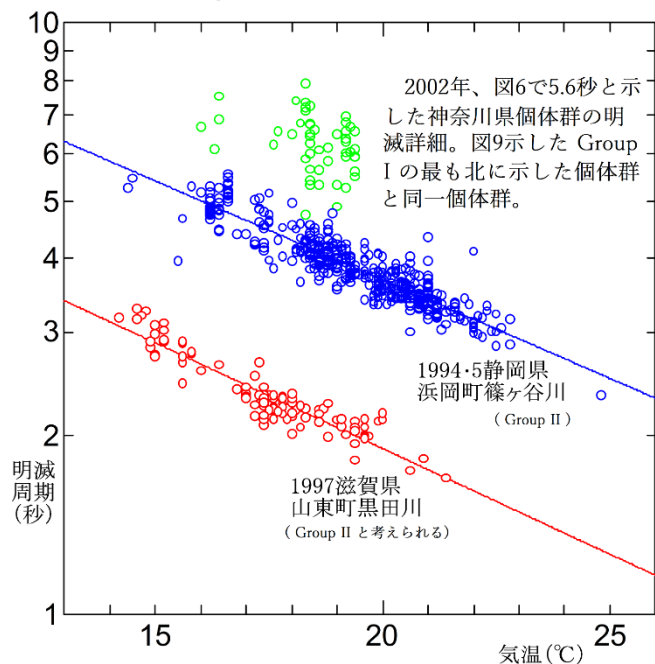
図10 GroupIとGroupIIの分布



福井工業大学の論文(*4)より転載

さて、では ND5 遺伝子で見た Group I に属する個体群の明滅周期はどうなるのでしょうか。これをグラフ化した例が図 11 に緑で示した明滅です。この個体群は図 5 に 5.6 秒周期と示した神奈川県の個体群です。同じ個体群を生徒が DNA を分析して Group I であることを確認しています。この個体群は Group I に属する個体群の中でも比較的長い明滅周期を持っていると考えられます。関東・東北個体群の全グラフを示すことは時間的にも紙面的にもできませんので省略しますが、およその形は想像できると思います。

図11 ND5-Group I 個体群のゲンジボタル明滅周期と気温



ここで気になるのはミトコンドリア ND5 遺伝子 Group I の多型を持つゲンジボタルが全て 20℃で 4 秒を越える長い明滅周期を持っているかということです。残念ながら生物はそんなに単純ではありません。図 9 に示された Group I の南から 3 番目と 4 番目、伊豆半島の付け根に近い部分に生息する個体群では 20℃で 3.6～3.7 秒の明滅周期が観測されています。調査初期から少し周期が長いなどは感じていましたが、それでも静岡県西部の個体群と同じ明滅だと考えていました。伊豆半島は先端部だけが特殊な明滅周期だと思っていたほどです。なぜこのようになるのか、まだ理由を見つけることはできていません。

2016 年～2019 年に掛川西高校の生徒自身が神奈川県まで足を伸ばして明滅周期を計測

し、同時にミトコンドリア DNA・ND5 遺伝子の解析を行ってまとめたデータがあります。研究詳細は以下のリンク先をご覧ください。

<https://gakusyu.shizuoka-c.ed.jp/science/ronnbunshu/h28/163166.pdf> (静岡県高校生徒論文集)

<https://gakusyu.shizuoka-c.ed.jp/science/ronnbunshu/h30/183036.pdf> (静岡県高校生徒論文集)

<https://www.milive.jp/live/19sobun/bb05/> (河合塾-みらいぶ)

これらの研究からミトコンドリア DNA 多型による大きな境界（静岡県沼津市～新潟県あたり）と、明滅周期の「長さ」の境界とは直接関連していないだろうと考えています。西日本型が 2 秒周期あるいは短周期、東日本型が 4 秒周期あるいは長周期という固定観念を取り去るべきでしょう。明滅周期のような複雑な行動は核遺伝子に依存すると考える方が自然ですので、ミトコンドリア遺伝子と異なった分布境界があっても不思議な事ではありません。（一致していても不思議ではありません。どちらも起こりうることですが、偶然一致していないのでしょう。）

【 ③ ゲンジボタル多型分布要因の推定 】

明滅周期とミトコンドリア遺伝子多型の分布の関連性はあまりないと考える一方で、静岡県沼津市～新潟県のミトコンドリア DNA による分布境界と全ゲノム解析に見られる大きな分布境界はかなり一致しているだろうと予想しています。

2008 年に沼津市付近の明滅周期の境界をはさんだ形で、御前崎市未交尾♀数個体（20℃ 3.7 秒周期群）と伊豆半島♂数個体（20℃ 4.7 秒周期群）を使って交配実験を試みたことがあります。しかし、交尾・産卵を観察することはできませんでした。1995 年には同じ方法で交配に成功していますから、この 2 つの実験を比較して沼津市付近を境界にして、東西の個体群で交配が起こらないか、起こりにくい可能性があるのではないかと考えました。また、まだ調査が不十分であり公表したくないのですが、沼津－新潟県境界線付近の個体群で、境界線の東西に生息する明滅を示す個体が混在する個体群を 3 箇所で見えます。この中のひとつの個体群を 4 年連続調査していますが、年変動はあるものの、混在状況は変化していないように見えます。また、1995 年の交配実験結果のような中間的な発光が見られないのです。混在状況が長年変化しないようなら、境界をはさんで交配が起こらないか、起こりにくいと言えるのではないかと考えています。

一方、掛川西高校での実験結果を踏まえるなら確率はわずかであっても交配は起こっていると考えるべきでしょう。多くの生物では交配確率が低いとすると、別個体群から偶然入った雑種の遺伝子は、世代を経る中で個体群の中にほぼ残らないと考えるのが一般的だと思っています。しかし、長年観察する中で、ゲンジボタルは個体数の年変動が激しい生物であると感じています。個体数年変動が激しいなら、数年あるいは数 10 年に一度、個体数が激減します。交配により生じた個体が偶然この少なくなった個体の中に残るなら、雑種の遺伝子が個体群内に残る確率が高まると考えられます。Group I と Group II の分布境界ではこんな現象が起きて、伊豆半島付け根に見られるような個体群が生じたのではないかと想像しているのですが、今のところ証明するデータはありません。

実際に境界付近でどんなことが起こっているのか未知数ですが、ゲンジボタルがまさに

進化しようとする経過を目の当たりにしている可能性を感じています。

現在のゲンジボタル研究の現状を見ていると、DNA やゲノムによる研究が先行してしまって、統一的な視点を持った野外調査が追いついていない状況ではないでしょうか。形態や行動の違いはゲノムの違いに由来する事は間違いないでしょう。しかし、ゲノム解析による違いがわかっても形態や行動の違いがわからなければゲノムの違いが何を意味するのかわかりません。特に野外行動調査が圧倒的に不足していると感じています。

ゲンジボタルは、放流や人工繁殖によって本来あるべき姿が失われつつあり、ゲノムを分析しても相違する部分が何を意味するのかわからなくなる可能性も大きい状況でしょう。1990 年代の後半に「もう間に合わないかもしれない。でも誰かがバカになってやらないと真実はつかめない。」そう思って始めた明滅周期の調査ですが、なんとか間に合ったのかもしれません。この研究が今後のゲンジボタル研究の一助になればと思っています。

なお、ミトコンドリア ND5 遺伝子の多型分布とほぼ一致する行動は、明滅周期の「長さ」以外として観察できていると考えています。およその予想はできていますが、データ整理ができていませんので後に機会があれば公表します。

【 ④ 研究に携わった方々 】

私も歳をとりましたので、今後のために研究に携わった主要な方々を紹介しておきます。明滅周期の観測については池新田高校の共同顧問だった大庭弘義氏、篠田聖児氏、主になって論文をまとめた生徒の水野奈津子さんです。DNA の解析については掛川西高校の共同顧問だった鈴木拓也氏、静岡県西部の個体群について論文をまとめたのは横井佑美さん、神奈川県の個体群についてまとめたのは冨田敦幹君です。それぞれ調査方法・結果などについて詳しいと考えています。

【 ⑤ 謝辞 】

観察・調査期間は 20 年を越えます。子育ての期間と重なりましたので家族には大きな負担をかけました。また、調査・研究にあたり龍谷大学遊磨正秀教授をはじめ、列举することができないほど多くの方々にお世話になりました。家族・皆様に深く感謝いたします。

これらの調査研究にあたっては文科省科研費、静岡県科研費、山崎自然科学教育振興会、文科省中高生の科学部活動振興プログラム、同・中高生の科学研究実践活動推進プログラムからの助成を得ています。（自費が最も多いことは間違いありませんが）

【 ⑥ 参考文献・補足事項 】

(*1) 神田左京 1935 ホタル 日本発光生物研究会

(*2) <https://biolab.sakura.ne.jp/iguchi-lab.html>(井口研究室)にリンクがあります。

(*3) ミトコンドリア DNA から見たゲンジボタル集団の遺伝的な変異と分化 鈴木博文・佐藤安志・大場信義 http://zenhoken-std.sakura.ne.jp/ZHJ_pdf31-40/ZHJ33_30-34.pdf

(*4) 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 吉川貴浩・井出幸介・窪田康男・中村好宏・武部寛・草桶秀夫

*Jpn.J.Ent.(N.S.)*4(4):117-127,December 25,2001

(*5) 物理化学的にはアレニウスの式として表されます(詳細略)。多くの高校化学の教科書に「反応温度が 10℃上昇すると 2〜3 倍の反応速度になることが多い。」と記述されています。

(*6) Evaluation of the population structure and phylogeography of the Japanese Genji firefly, *Luciola cruciata*, at the nuclear DNA level using RAD-Seq analysis Dai-ichiro Kato, Hirobumi Suzuki, Atsuhiko Tsuruta, Juri Maeda, Yoshinobu Hayashi, Kazunari Arima, Yuji Ito & Yukio Nagano *Scientific Reports* volume 10, Article number: 1533 (2020)

(*7) 説明にあたって高校「生物基礎」に記される遺伝の知識がある前提で進めています。ほとんどの高校生が学習する内容ですので、内容は易しく、教科書等がなくてもインターネット動画などで知識を得ることができます。必要に応じて参考にしてください。

(*8) 近年「遺伝子」の定義があいまいになってきていますので、今後ゲノムの定義も変わってくるかもしれません。核に含まれる DNA は遺伝子以外の部分が長いのですが、ゲノム分析というと遺伝子以外の DNA 分析を含む事がかなりあります。

(*9) 掛川西高校の DNA を使った研究で最も大きな成果と言えるのは、ゲンジボタルではなく鳥類空中環境 DNA の検出でしょう。セキツイ動物の DNA を空中から検出した世界最初の報告です。国内では文部科学大臣賞を 2 回、世界では ISEF2019 で部門 2 位を受賞しています。この研究では静岡市立日本平動物園、静岡県立大学河原崎泰昌准教授、日本野鳥の会宮本勝海氏他、多くの方々に多大なご尽力をいただいています。

松下保男 先生の論文について

陸生ホタル生態研究会事務局 小 俣 軍 平 (文責)

古い話になりますが、板当沢ホタル調査団が発足して 2 年目 (2000 年) のことでした。鈴木浩文先生から、「高校生の研究ですが、こんな立派な研究がありますよ」と、静岡県立池新田高校生物部の、ゲンジボタルの西型・東型に関する発光パターンの調査研究論文を、ご紹介頂きました。

当時、ゲンジボタル成虫の発光パターンについては、大場信義先生の「糸魚川～静岡線を境に、西型 (2 秒) ・東型 (4 秒) の二つのタイプに分かれる」との研究がマスコミを通じて大きく報道されており、これが間違いないものと、私たちは納得していました。

ところが、頂いた論文の内容は、大場先生の西型・東型説を「本当かな？」と、静岡県下で御前崎から太平洋沿いに愛知県、岐阜県境まで調査したものでした。しかも、結果はこの地域は、糸魚川～静岡線より西に在りながら、西型のゲンジボタルではなく、東型のゲンジボタルであるという報告でした。

この高校の部活の指導教官が松下保男先生でした。よく、衝撃的とか晴天の霹靂とかいわれますが、そのときの驚きは、「高校生でも、こんな凄いことができるのか」と今でも昨日のことのよう思い出されます。

あれから 21 年になりましたが、ゲンジボタル成虫の発光間隔を巡る問題は、温度変化の

問題、遺伝子解析を巡る西型・東型・関東型の分布問題、地質学のフォッサマグナの東の境界線問題・水没していた期間とゲンジボタルの変異などとの関わりで、一段と複雑化した感じさえします。しかし、こうしたフィールドに密着した根気と手間暇のかかる生態研究については、研究報告そのものが少なく、高校生の研究となると一般にはほとんど知られていません。

そこで、この度松下先生にお願いして、1995年の池新田高校の研究から現在まで、静岡県立高校生の研究を中心に、この問題に関する研究がどのような状況になっているのかご教示頂きました。

松下先生は、現在教職の傍ら全国各地を訪れて、ゲンジボタルの生態研究に取り組んでおられます。その結果から、ゲンジボタル成虫の発光間隔と温度変化について、これまで私たちが文献では知ることのできなかった問題があることを、今回詳細にご指摘いただきました。その中でも7ページの6図には、大変驚かされました。

本州北端から四国・九州南端まで、20年以上にわたり高校で教鞭を執りながらの調査です。しかも、調査対象のゲンジボタルの羽化する時期は限られた日時です。成虫の発光間隔を観察するには、当日の気象条件も関わります。遠方からの出向で、調査地の土地勘はほとんど無いに等しいと想われます。通常の生物の生態研究と違い難度の高い調査です。

プライベートな問題としては、自家用車と高速道路を利用しますので、経済的な問題も避けては通れません。体力にも限界があります。常人にはできない調査研究です。図表を見ながら「凄い！！」と、頭が下がりきりです。

見知らぬ土地での夜間の単独調査は、時に身の危険が伴います。私は、板当沢時代から陸生ホタル研にかけて10年間程、マドボタル属の調査で各地を回りました。その際に山中で午後8時から10時頃、事件に関わる車に出合ったことが、兵庫県・静岡県・青森県と3回あります。幸いな事に、その都度うまくかわすことができましたが、今思い出しても身震いします。

今回初心者向けにゲンジボタルの遺伝子解析に関わる諸問題についても、入門講座風に触れていただきました。この点については、私たちは分からないことばかりで、これから本腰を入れて勉強しなければなりません。

現在は高校もコロナ対策で先生方は超多忙な毎日です。そんな中で突然の不躰なお願いに応じて下さった松下先生に、事務局一同心から厚く御礼申し上げます。ありがとうございます。

あとがき

九州の南端鹿児島県では、立春前から早くもゲンジボタル幼虫の上陸が始まっているようですが、昨年からコロナ感染拡大の深刻化で、フィールドでの多人数での調査が大変難しくなっています。みんなで集まって開く学習会・研究会も、三密の回避で開催が不可能になりましたので、もっぱら個別の研究になります。

ただしかし、これも調査地まで移動手段に交通機関を使いますので、コロナ感染の危険性は増すばかりです。期待される予防接種も、いつになったら可能なのか、現在のところ明確な期日は不明です。

次にホタルの遺伝子解析で皆さん方よくご存じの草桶秀夫先生が、この度新しく全国組

織の「特定非営利活動法人 日本ホタル再生ねっと」を立ち上げ、「ホタル再生 創刊号（第1号）」を届けてくださいました。草桶先生のお手紙によりますと、

「2019年11月に特定非営利活動法人（NPO法人）「日本ホタル再生ねっと」を立ち上げました。本法人は、ホタルを生き物の指標として人と生き物が共生する環境保全とまちづくりに貢献することを目的とし、福井県を拠点とする全国組織の社会貢献団体です。」

ということです。理事長は草桶秀夫先生です。

ホタルと里山保全と環境問題は、全国的に見てもこの問題に取り組む人々の高齢化が進み、後継者がみつからず活動はイベント中心となり、運動の基盤となる一番大切な生態研究はなおざりにされて、危機的な状況です。それだけに、草桶先生が今回立ち上げたNPO法人組織の今後の活動が注目されます。