

Kontyû, Tokyo, 55 (3): 437-449. September 25, 1987

ヨモギハムシの地理的個体群間のアロザイム変異

坂上 清一¹⁾・藤山 静雄²⁾

信州大学理学部生物学教室, 〒390 松本市旭 3-1-1

Allozymic Variation among Geographic Populations of *Chrysolina aurichalcea* (Coleoptera, Chrysomelidae)

Sei'ichi SAKANOUÉ¹⁾ and Shizuo FUJIYAMA²⁾

Department of Biology, Faculty of Science, Shinshu University,
Asahi-machi, Matsumoto City, 390 Japan

Abstract Genetic variation and differentiation among nine geographic populations (Yakushima, Miyazaki, Fukuoka, Kochi, Matsumoto, Utsukushigahara, Miho, Akita, and Wakkanai) of *Chrysolina aurichalcea* (MANNERHEIM) in Japan were studied by electrophoresis. Allozymic variation in general protein products of 4 genetic loci (Pt-1, Pt-2, Pt-3, Pt-4) and enzyme products of 7 genetic loci (Amy, Cat, G-6-pd, Lap, Me, Got, Mdh) was examined. The proportion of polymorphic loci to all loci of the populations examined was 0.439 and average heterozygosity of intrapopulation was 0.139. Levels of average heterozygosity did not vary significantly among populations. Pt-3 locus was diagnostic, indicating south-to-north geographic cline in allele frequency. Average genetic distance between populations was 0.035. Based on genetic distance values, the geographic populations could be divided into two groups, Utsukushigahara-Wakkanai groups and the others. The genetic distances of intragroup and intergroup were 0.019 and 0.058, respectively. The reason why the Utsukushigahara population is genetically similar not to the neighboring Matsumoto population but to the distant Wakkanai population is discussed in relation to three possible explanations.

緒 言

ヨモギハムシ *Chrysolina aurichalcea* (MANNERHEIM) は、ヨモギ *Artemisia princeps* PAMP. をおもな食草とする1化性の昆虫で、旧北区から東洋区にかけて分布している (GRESITT & KIMOTO, 1963). 本種はこのように広い分布域をもつが、後翅が退化し一般に飛翔能力がないため活発な移動はおこなわないと思われる。³⁾ SUZUKI & SAKURAI (1978) は本種の色彩多型の地理的分布を詳細に

1) 現在の所属: 〒389-02 長野県北佐久郡御代田町塩野 農林水産省草地試験場山地支場.

Present address: Alpine Region Branch, National Grassland Research Institute, Miyota, Nagano, 389-02 Japan.

2) 別刷請求等の問合せは藤山静雄宛てにお願いします.

Please address all correspondence to Shizuo FUJIYAMA.

3) 1977年、富山県下で数頭の雌の飛翔個体が鈴木により発見されているが、現在のところこれらの個体は例外的なものと考えられている (SUZUKI, 1978).

調べたが、各型の頻度が地域によって大きく異なることを報告した。そしてその原因の1つとして、本種の移動能力が乏しいことを挙げた。したがって、それぞれの地域個体群は、おのおのの環境によく適応した性質をもっていると考えられる。

このような適応現象を明らかにするため、本種のさまざまな属性の地理的変異についての研究が進められてきた(藤山, 1986 参照)。FUJIYAMA (1979) は、松本市周辺の本種の二色彩型の頻度分布パターンを明らかにし、そのパターンが自然選択によって保持されていると考察した。藤山ら (1981) は、本種の幼虫の発育に及ぼす温度の影響を3つの系統で比較し、それらの有効積算温度恒数がそれぞれの採集地の年平均気温と相応して異なることを明らかにした。また、藤山・長谷部 (1984) や長谷部ら (1984) はそれぞれ、本種の卵休眠と成虫休眠の地理的変異について研究し、それらの期間や成虫休眠の光周反応が地理的個体群間で遺伝的に異なることを示した。これらの研究のうち、長谷部ら (1984) は成虫休眠の遺伝の性質も調べた。その際に屋久島個体群と美ヶ原個体群の交配を行ったが、それらの間の雑種第2代の生存率がいちじるしく低く十分な遺伝的分析ができなかったことを報告している。このことから、本種の地理的個体群の間にはかなりの遺伝的差異が存在すると予想できる。その遺伝的差異を定量的に測定し、この虫の適応的進化をその生理生態学的特徴や生息環境と関連づけて考察することはたいへん興味深い。

タンパク質のゲル電気泳動法は、遺伝的・生化学的情報を得るために数多くの生物に適用され、集団間の遺伝的分化の量に関する情報も与えてきた (AVISE, 1975; AYALA, 1975)。

そこで本研究では、ゲル電気泳動法を用いて、ヨモギハムシの地理的個体群間の遺伝的分化の程度を調べた。以下にその結果を報告する。また、これまでに得られた生理生態学的知見や環境要因の知見と照らしあわせて、本種の地理的個体群間の遺伝的分化の原因についても考察する。

材料と方法

昆虫の採集と飼育

調査した地域個体群は、Fig. 1 に示した稚内市 (北海道)、秋田市 (秋田県)、美ヶ原高原 (長野県)、松本市 (長野県)、美浦町 (茨城県)、高知市 (高知県)、福岡市 (福岡県)、宮崎市 (宮崎県)、屋久島 (鹿児島県) の9つである。成虫を秋から冬に採集した。その際、各地点とも少なくとも50個体を採集した。

材料には、原則として採集してきた虫の次世代の幼虫と成虫を用いた。しかし、美ヶ原個体群と稚内個体群については、飼育した幼虫と採集してきた世代の成虫を用い、宮崎個体群については幼虫、成虫とも室内で累代飼育したものを使用した。

成虫を15°C, L:D=11:13の条件下におき産卵させた。卵には休眠が存在する(藤山ら, 1983)ので4°Cで低温処理を行った。その後、卵を20°Cの条件下におき、ふ化した幼虫を供試虫とした。この虫を20°C, L:D=16:8の条件下で育てた。幼虫を用いて調査する場合には4齢時に実験を行った。一方、成虫を用いる場合には、長谷部ら(1984)の成虫休眠についての報告を参考にし、羽化後15°C, L:D=11:13の条件下におき休眠を終了させた後、実験に用いた。なお、飼育の際の餌にはヨモギを用いた。

電気泳動法

本研究では、スラブ状ゲルによるディスク型電気泳動法で調査を行った。調査したタンパク質とその略号は、General protein (Pt), Amylase (Amy), Catalase (Cat), Glucose-6-phosphate dehy-

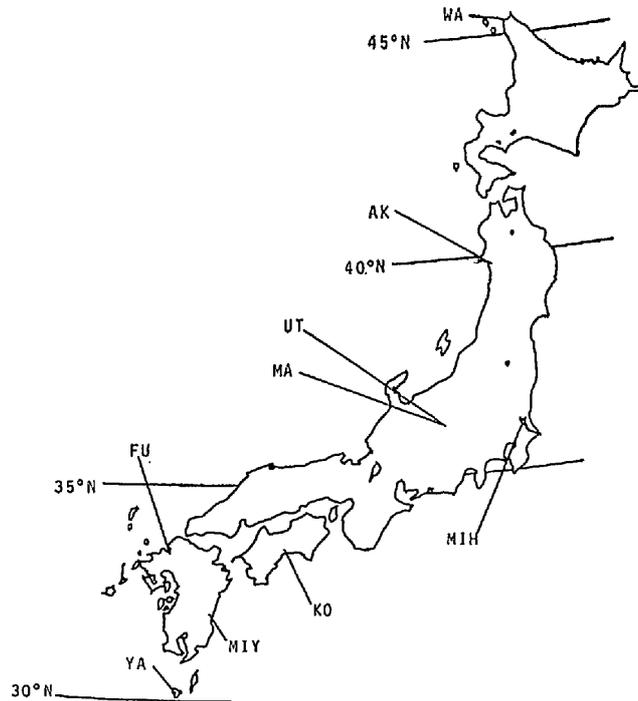


Fig. 1. Localities of populations used in this experiment. Codes of populations are YA=Yakushima pop., MIY=Miyazaki pop., FU=Fukuoka pop., KO=Kochi pop., MA=Matsumoto pop. (alt. 620 m), UT=Utsukushigahara pop. (alt. 2,000 m), MIH=Miho pop., AK=Akita pop., and WA=Wakkanai pop.

drogenase (G-6-pd), Leucine aminopeptidase (Lap), Malic enzyme (Me), Glutamate oxaloacetate transaminase (Got), Malic dehydrogenase (Mdh) である。以後この略号を用いる。4 齢幼虫を用いて調査を行ったタンパク質は, Pt, Amy, Cat, G-6-pd, Lap, Me であり, 成虫を用いたものは Got と Mdh である。

i) 粗酵素液の作製

a. 幼虫—24 時間以内に 4 齢となった幼虫を 2 日間摂食させ, その後餌に含まれているタンパク質による影響を防ぐために 1 日間絶食させた。この幼虫を 0.125 モルのトリス・塩酸緩衝液 (pH=7.0), 0.4 ml で氷冷磨砕した。磨砕液を 1.5 ml の遠沈管に入れ, 12,000 r.p.m. で 5 分間遠心分離した。その上清に 60% のグリセロール, 0.2 ml と 0.08 モルのチオグリコール酸 (pH=6.8) を加え -20°C で保存した。

b. 成虫—休眠から覚めた成虫を 1 日間絶食させ 0.125 モルのトリス・塩酸緩衝液 (pH=7.0) 0.6 ml で氷冷磨砕した。磨砕液を 12,000 r.p.m. で 5 分間遠心分離し, その上清に 60% のグリセロール, 0.2 ml を加え -20°C で保存した。

ii) ゲルの作製

本研究では支持体としてアクリルアミドを用い, ゲルの作製は宮崎 (1981) に従った。

各タンパク質のゲル濃度は, Pt, Amy, G-6-pd が 7%, Cat, Me, Mdh が 5%, Lap が 6.5%, Got が 8% とした。

iii) 電気泳動

先導色素の Bromphenol blue (以後 BPB と略す) が濃縮ゲル中にあるときは、ゲル 1 枚あたり 11 mA の定常電流を流し、BPB が分離ゲルに入る直前に電流を 13 mA に上げた。BPB が分離ゲルに入り約 5 cm 移動した時点で電流を止めた。

iv) 染色

大部分のタンパク質の染色には STEINER & JOSLYN (1979) の方法を用いた。ただし、Pt は Amido black 10 B で染色し、Cat と Me には竹尾 (1970) の方法を用いた。

データの記録と解析

先に用いた各タンパク質の略号を、慣例に従い、それぞれのタンパク質を指令する遺伝子座の略号を示すものとしても使用した。したがって、個々のアロザイムは対立遺伝子としても扱った。複数の遺伝子座をもつタンパク質システムでは、明確に計測できる遺伝子座だけを後の解析に用い、ゲルの原点に近いものから順に数字をつけて表示した。対立遺伝子の表示には BPB に対する相対移動度を用いた。本文中では、このことを遺伝子座の略号の右肩に相対移動度をつけて表示した。それぞれの遺伝子座に関して、各地域個体群の調査個体数は、平均で約 45 個体である。ただし、美浦個体群の G-6-pd は未調査である。

もっとも頻度の高い対立遺伝子の頻度が 99% 以下のとき、その遺伝子座を多型的であるとした。ヘテロ接合体率 (H_E) は次の式によって計算した。

$$H_E = 1 - \sum x_i^2$$

ここで x_i は任意の遺伝子座における i 番目の対立遺伝子の頻度である。したがって、地域個体群の平均ヘテロ接合体率は調査したすべての遺伝子座の H_E の平均である。各地域個体群の各遺伝子座で観察された遺伝子型頻度が、ハーディ・ワインベルグの平衡状態から有意に偏っているかどうかを、 χ^2 法を用いて検定した。地域個体群間の平均ヘテロ接合体率の異質性を調べるため、DUNCAN (1955) の new multiple range test を用いて検定した。また地域個体群間での各遺伝子座の対立遺伝子頻度組成の異質性を調べるため、 χ^2 法で検定した。地域個体群間の遺伝的分化の程度は、平均ヘテロ接合体率および Nei (1972) の遺伝的距離を計算することによって示した。ただし、今回計算した遺伝的距離は、Nei (1978) の方法により補正した。

結 果

調査した遺伝子座で観察できたアロザイムの相対移動度と遺伝子型を、模式図にして Fig. 1 に示す。ヨモギハムシで調査した 11 遺伝子座のうち、Pt-1, Pt-4, Amy, Got の 4 つは、全地域個体群で単型の遺伝子座であった。多型的遺伝子座の対立遺伝子頻度を Table 1 に示す。

多型的遺伝子座の観察結果は次のとおりであった。

Pt: 4 齢幼虫の抽出液には複数のタンパク質遺伝子座を観察できた。これらのうち、明確に計測できたものは 4 遺伝子座であり、ゲルの原点に近いものから Pt-1, Pt-2, Pt-3, Pt-4 とした (Fig. 2)。多型的遺伝子座は Pt-2 と Pt-3 で、それぞれ 2 つの対立遺伝子が存在した。多型的遺伝子座において、ヘテロ接合体はゲル上に 2 本のバンドを示した。

Pt-2 に関しては、各地域個体群とも優占する対立遺伝子は Pt-2^{0.68} である。Pt-2^{0.68} の頻度は 0.010 から 0.030 と低く、福岡、高知、松本、秋田の個体群には存在しなかった。

Pt-3 に関しては、その対立遺伝子頻度が南北にわたり勾配をなしていた。すなわち Pt-3^{0.68} は南

Table 1. Allele frequencies at 7 polymorphic loci in 9 populations of *C. aurichalcea*. Codes of populations see Fig. 1.

Locus	Allele	Allele frequencies of each population								
		YA	MIY	FU	KO	MIH	MA	UT	AK	WA
Pt-2										
n*		50	50	50	50	50	50	44	32	50
	0.56	0.030	0.020	0	0	0.010	0	0.011	0	0.010
	0.58	0.970	0.980	1.00	1.00	0.990	1.00	0.989	1.00	0.990
Pt-3										
n		48	49	44	47	48	50	44	33	48
	0.68	0.844	0.959	0.818	0.691	0.365	0.570	0.625	0.515	0.438
	0.72	0.156	0.041	0.182	0.309	0.635	0.430	0.375	0.485	0.562
Cat										
n		50	50	50	50	50	50	44	33	50
	0.45	0	0	0	0	0	0	0	0	0.060
	0.49	1.00	1.00	1.00	0.990	0.970	1.00	1.00	0.985	0.940
	0.58	0	0	0	0.010	0.030	0	0	0.015	0
G-6-pd										
n		49	40	50	50	—	50	39	30	47
	0.21	0.214	0.350	0.340	0.450	—	0.400	0.359	0.300	0.532
	0.24	0.684	0.587	0.600	0.540	—	0.410	0.641	0.600	0.415
	0.27	0.102	0.063	0.060	0.010	—	0.190	0	0.100	0.053
Lap										
n		50	50	49	50	50	50	40	29	47
	0.50	0	0	0	0	0	0	0.062	0	0.191
	0.52	0	0	0	0	0	0	0.075	0	0.064
	0.54	0	0	0	0	0	0	0.450	0	0.287
	0.56	0	0	0	0	0	0	0.212	0	0.213
	0.58	0	0	0	0	0	0	0.088	0	0.085
	0.60	0.020	0.050	0.123	0.040	0	0.010	0.075	0	0.053
	0.62	0.090	0.230	0.163	0.200	0.120	0.110	0.025	0.138	0.011
	0.64	0.790	0.720	0.602	0.690	0.880	0.810	0.013	0.793	0.096
	0.67	0.100	0	0.112	0.070	0	0.070	0	0.069	0
Me										
n		50	50	50	50	50	50	44	33	50
	0.19	0	0.370	0	0	0	0	0	0	0
	0.30	1.00	0.630	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Mdh										
n		50	27	26	44	26	50	52	22	35
	0.21	0	0	0.019	0	0	0	0	0	0
	0.24	0	0	0.096	0.011	0	0.010	0	0	0
	0.29	0.040	0	0	0.045	0	0.020	0.019	0.068	0.129
	0.47	0.960	1.00	0.885	0.943	1.00	0.970	0.981	0.932	0.871

* Letter n represents the number of individuals examined.

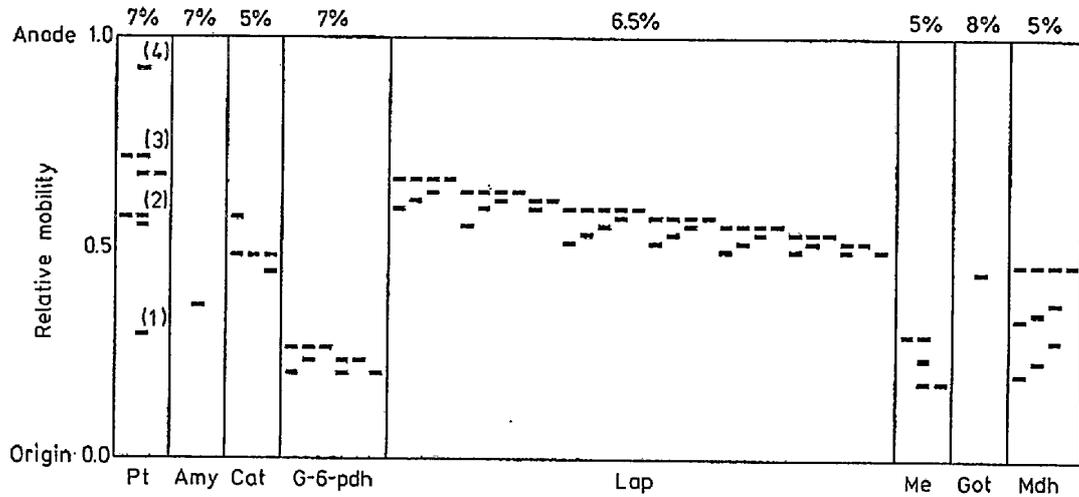


Fig. 2. Schematic presentation of relative mobility of allozymes and typical genotypes observed in *Chrysolina aurichalcea* populations.

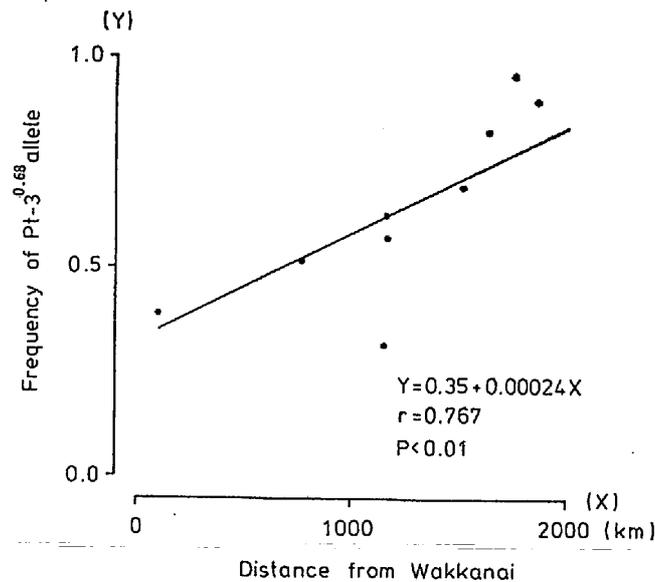


Fig. 3. Geographical cline of frequencies of Pt-3^{0.68} allele in *Chrysolina aurichalcea*.

方個体群ほどその頻度が高く、北方個体群ほど低い(それゆえ Pt-3^{0.72} では逆の現象となる)。この現象が自然選択によって引き起こされたものなのか、それとも各地域個体群で過渡的に見られる現象、すなわち遺伝子拡散の時期が南北にわたって連続的に異なっていたことによって引き起こされたものなのか、を決定することはできなかった。ここでこの関係を定量的に示すため、稚内から各地域への直線距離と Pt-3^{0.68} の頻度の関係を Fig. 3 に示す。その関係は直線的な回帰を示し、有意に相関する ($r=0.77$, $P<0.01$)。美浦個体群における頻度は回帰直線からかなりはずれているが、その原因は現在のところ明らかではない。

Cat: 各地域個体群を合わせてみると、3つの対立遺伝子、Cat^{0.45}, Cat^{0.49}, Cat^{0.58} を検出できた。ヘテロ接合体の個体は2本のバンドを示し、単量体の酵素であると思われる。

各地域個体群とも、優占する対立遺伝子は $Cat^{0.49}$ であった。 $Cat^{0.58}$ の頻度は 0.010 から 0.030 と低く、屋久島、宮崎、福岡、松本、美ヶ原、稚内の個体群には存在しなかった。 $Cat^{0.46}$ は稚内個体群にしか存在せず、その頻度は 0.060 であった。

G-6-pd: 3つの対立遺伝子、 $G-6-pd^{0.21}$ 、 $G-6-pd^{0.24}$ 、 $G-6-pd^{0.27}$ を検出できた。ヘテロ接合体の個体は 2本のバンドを示し、単量体の酵素であると思われる。 $G-6-pd^{0.27}$ の頻度は 0.010 から 0.102 と低く、美ヶ原個体群には存在しなかった。他の 2つの対立遺伝子はどの地域個体群でも中間的な頻度で存在した。

Lap: 4つの遺伝子座が存在すると思われるが、明確に計測できた遺伝子座はもっとも速く移動する活性体である。対立遺伝子の数は多く、9つ、すなわち $Lap^{0.50}$ 、 $Lap^{0.52}$ 、 $Lap^{0.54}$ 、 $Lap^{0.56}$ 、 $Lap^{0.58}$ 、 $Lap^{0.60}$ 、 $Lap^{0.62}$ 、 $Lap^{0.64}$ 、 $Lap^{0.67}$ を観察できた。ヘテロ接合体の個体は 2本のバンドを示し、単量体の酵素であると思われる。同様な例として、STOCK & AMMAN (1980) は、キクイムシの一種 *Dendroctonus ponderosae* で本酵素がヘテロ接合体の状態では 2本のバンドを示すことから、単量体であることを示唆している。

美ヶ原と稚内の個体群では対立遺伝子の数が多く、他の地域個体群には存在しない対立遺伝子、 $Lap^{0.50}$ 、 $Lap^{0.52}$ 、 $Lap^{0.54}$ 、 $Lap^{0.56}$ 、 $Lap^{0.58}$ が存在した。

Me: 2つの対立遺伝子、 $Me^{0.19}$ と $Me^{0.30}$ が存在した。Table 1 より明らかなように、前者は宮崎個体群でのみ見られ、この個体群だけで多型を示した。ヘテロ接合体の個体は 3本のバンドを示し、2量体の酵素であると思われる。JACOBSON & HSIAO (1983) は、コロラドハムシ *Leptinotarsa decemlineata* で本酵素がヘテロ接合体の状態では 2本のバンドを示すことから、単量体であると報告している。

Mdh: 4つの対立遺伝子、 $Mdh^{0.21}$ 、 $Mdh^{0.24}$ 、 $Mdh^{0.29}$ 、 $Mdh^{0.47}$ を検出できた。ヘテロ接合体の個体は 3本のバンドを示し 2量体の酵素であると思われる。JACOBSON & HSIAO (1983) は、コロラドハムシで、本酵素がヘテロ接合体の状態では 3本のバンドを示すことから、2量体であると報告している。各地域個体群とも、優占している対立遺伝子は $Mdh^{0.47}$ であった。 $Mdh^{0.21}$ は福岡個体群にのみ存在し (頻度 0.019)、 $Mdh^{0.24}$ は福岡、高知、松本の個体群に存在した (頻度 0.010 から 0.096)。また、 $Mdh^{0.29}$ は、宮崎、福岡、美浦の個体群を除く地域個体群に存在した (頻度 0.019 から 0.129)。

各地域個体群の多型的遺伝子座の割合と多型的遺伝子座のヘテロ接合体率および各地域個体群の平均ヘテロ接合体率を Table 2 に示す。各地域個体群内の多型的遺伝子座の割合の平均値は 0.439 であり、平均ヘテロ接合体率の平均値は 0.139 であった。NEVO (1978) によると、他の生物でのこれらの値は、多型的遺伝子座の割合が、0.147 (哺乳類の平均値) から 0.431 (ショウジョウバエの平均値) であり、平均ヘテロ接合体率が、0.036 (哺乳類) から 0.140 (ショウジョウバエ) であるという。したがって、ヨモギハムシの多型的遺伝子座の割合と平均ヘテロ接合体率が、他の生物種での値に近いことがわかる。しかし分類群によりこの値に違いが見られるので、鞘翅目についてのデータをまとめて Table 3 に示した。表から、ヨモギハムシの地域個体群の多型的遺伝子座の割合と平均ヘテロ接合体率が、鞘翅目昆虫の値の平均値に近いことがわかる。

各地域個体群の各遺伝子座で観察されたヘテロ接合体率を Table 4 に示す。 χ^2 検定の結果、美ヶ原、秋田、稚内の個体群の G-6-pd でヘテロ接合体がハーディ・ワインベルグの平衡状態から期待される数よりも有意に多く、屋久島、宮崎、福岡、高知、稚内の個体群の Lap でヘテロ接合体が有意に少なかった。この原因としては、選択交配、連鎖、不十分なサンプルサイズ、Wahlund 効果、自然選択、移動、silent allele の存在、などが考えられるが、これらのうちどれによるのか明らかで

Table 2. Proportion of polymorphic loci (P) and expected average heterozygosity at 7 polymorphic loci in 9 populations of *C. aurichalcea*. Numbers in right-hand column represent average heterozygosity per population, and those in bottom row represent average heterozygosity per locus. Codes of populations see Fig. 1.

Pop.	P	Expected frequencies							
		Pt-2	Pt-3	Cat	G-6-pd	Lap	Me	Mdh	Ave.
YA	0.455	0.058	0.263	0.000	0.476	0.357	0.000	0.077	0.112
MIY	0.455	0.039	0.079	0.000	0.529	0.426	0.466	0.000	0.140
FU	0.364	0.000	0.298	0.000	0.521	0.583	0.000	0.207	0.146
KO	0.455	0.000	0.427	0.020	0.506	0.477	0.000	0.109	0.140
MIH	0.400	0.020	0.464	0.058	—	0.211	0.000	0.000	0.075
MA	0.364	0.000	0.490	0.000	0.636	0.327	0.000	0.059	0.137
UT	0.455	0.022	0.469	0.000	0.460	0.729	0.000	0.037	0.156
AK	0.455	0.000	0.500	0.030	0.540	0.347	0.000	0.127	0.140
WA	0.545	0.020	0.492	0.113	0.542	0.812	0.000	0.225	0.200
Ave.	0.439	0.018	0.387	0.025	0.526	0.474	0.052	0.093	0.139

Table 3. Levels of genetic variation observed in natural populations of coleopterous species.

Species	P	H	Reference
<i>Agonum decorum</i>	0.498 (0.333–0.647)*	0.203 (0.134–0.266)*	LIBBHERR, 1983
<i>Dendroctonus jeffreyi</i>	0.388 (0.294–0.353)*	0.135 (0.107–0.153)*	HIGBY and STOCK, 1982
<i>Dendroctonus jeffreyi</i>	0.333 (—)*	0.138 (—)	STOCK <i>et al.</i> , 1984
<i>Dendroctonus ponderosae</i>	0.300 (0.267–0.333)*	0.117 (0.104–0.114)*	STOCK and AMMAN, 1980
<i>Dendroctonus ponderosae</i>	0.331 (0.294–0.353)*	0.143 (0.135–0.167)*	HIGBY and STOCK, 1982
<i>Dendroctonus ponderosae</i>	0.307 (0.235–0.333)*	0.120 (0.103–0.142)	STOCK <i>et al.</i> , 1984
<i>Dendroctonus pseudotsuga</i>	0.393 (0.357–0.429)*	0.288 (0.267–0.309)*	STOCK <i>et al.</i> , 1979
<i>Dendroctonus terebrans</i>	0.351 (0.250–0.429)*	0.123 (0.115–0.131)	ANDERSON <i>et al.</i> , 1983
<i>Diabrotica barberi</i>	0.487 (0.300–0.600)	0.081 (0.053–0.123)	MCDONALD <i>et al.</i> , 1985
<i>Ips calligraphus</i>	0.750 (0.571–0.857)	0.114 (0.039–0.150)	ANDERSON <i>et al.</i> , 1983
<i>Leptinotarsa decemlineata</i>	0.515 (0.445–0.636)	0.206 (0.092–0.235)	JACOBSON and HSIAO, 1983
<i>Leptinotarsa haldemani</i>	0.364 (—)	0.164 (—)	JACOBSON and HSIAO, 1983
<i>Otiorrhynchus scaber</i>	0.830	0.309	SUOMALAINEN and SAURA, 1983
<i>Strophosomus capitatus</i>	0.440	0.170	SUOMALAINEN and SAURA, 1983
Average	0.449	0.165	
<i>Chrysolina aurichalcea</i>	0.439 (0.364–0.545)	0.139 (0.075–0.200)	Present study

P represents proportion of polymorphic loci. H represents average heterozygosity. Values in parentheses represent range of P and H, respectively. * Values were calculated from data by the present authors.

Table 4. Observed average heterozygosity at 7 polymorphic loci in 9 populations of *C. aurichalcea*. Codes of populations see Fig. 1.

Pop.	Observed frequencies							Ave.
	Pt-2	Pt-3	Cat	G-6-pd	Lap	Me	Mdh	
YA	0.060	0.188	0.000	0.347	0.220*	0.000	0.080	0.081
MIY	0.040	0.082	0.000	0.675	0.040**	0.460	0.000	0.118
FU	0.000	0.273	0.000	0.540	0.388*	0.000	0.231	0.130
KO	0.000	0.362	0.020	0.680	0.300*	0.000	0.144	0.134
MIH	0.020	0.563	0.060	—	0.240	0.000	0.000	0.088
MA	0.000	0.500	0.000	0.720	0.220	0.000	0.060	0.136
UT	0.023	0.523	0.000	0.667*	0.475	0.000	0.038	0.157
AK	0.000	0.545	0.030	0.800**	0.310	0.000	0.136	0.166
WA	0.020	0.500	0.120	0.787**	0.404**	0.000	0.257	0.190
Ave.	0.018	0.393	0.026	0.652	0.289	0.051	0.102	0.134

* Statistical significance at 0.05 probability level for fit of heterozygosity to HARDY-WEINBERG expectation.

** That at 0.01 probability level.

Table 5. Genetic diversity among 9 populations of *C. aurichalcea*.

Locus	Hr	Hs	Dst	Gst
Pt-2	0.018	0.018	0.000	0.000
Pt-3	0.456	0.387	0.069	0.151
Cat	0.026	0.025	0.001	0.038
G-6-pd	0.548	0.526	0.022	0.040
Lap	0.603	0.474	0.129	0.214
Me	0.082	0.052	0.030	0.366
Mdh	0.094	0.093	0.001	0.011
Ave.	0.166	0.139	0.027	0.163

Hr: Total gene diversity. Hs: Gene diversity within populations. Dst: Gene diversity among populations. Hr=Hs+Dst. Gst: Differentiation among populations. Gst=Dst/Hr=(Hr-Hs)/Hr.

Table 6. Estimates of Nei's genetic distance for 9 populations of *C. aurichalcea*. Codes of populations see Fig. 1.

	YA	MIY	FU	KO	MIH	MA	UT	AK	WA
YA	—	0.020	0.009	0.014	0.030	0.017	0.058	0.018	0.070
MIY		—	0.021	0.025	0.058	0.036	0.073	0.040	0.089
FU			—	0.008	0.033	0.017	0.044	0.019	0.052
KO				—	0.018	0.009	0.047	0.011	0.045
MIH					—	0.008	0.070	0.008	0.053
MA						—	0.059	0.008	0.048
UT							—	0.057	0.017
AK								—	0.050
WA									—

ない。

地域個体群間では、平均ヘテロ接合体率に異質性は認められなかった。一方、Pt-2を除く多型的遺伝子座では、その対立遺伝子頻度の組成に地域個体群間で異質性がみられた。

地域個体群間の全般的な分化の程度を示すため、平均ヘテロ接合体率を用いて計算を行った。その結果を Table 5 に示す。個体群間の分化の程度 (differentiation among populations: G_{ST} と略称) は 0.163 であった。これは、本種の 9 地域個体群の全変異の 83.7% が地域個体群内の対立遺伝子頻度の組成に起因し、16.3% が地域個体群間の対立遺伝子頻度の組成の違いに起因することを意味している。

特定の地域個体群の間での分化の程度を比較するために、遺伝的距離を計算した。その結果を Table 6 に示す。表の遺伝的距離の平均値は 0.035 であり、ショウジョウバエの地域個体群間の値 (AYALA, 1975; AYALA *et al.*, 1974; AVISE, 1975, 平均して 0.028) に近く、昆虫での平均的な値であった。

考 察

多数の遺伝子座に関する平均的な分化の程度を知るために、平均ヘテロ接合体率が用いられている (詳細はたとえば大羽, 1977, 参照)。ヨモギハムシの G_{ST} は 0.163 であり、電気泳動法により検出可能な遺伝的変異の 16.3% が地域個体群間の対立遺伝子組成の違いに起因していた。SOFIELD *et al.* (1984) はアブ科の *Tabanus nigrovittatus* と *T. conterminus* の G_{ST} を求めた。それぞれ 4.4% および 1.1% という値を推定し、地域個体群間でかなりの遺伝子交換が存在することを示唆した。また、MCDONALD *et al.* (1985) はハムシの一種 *Diabrotica barberi* で G_{ST} を 9.8% と推定した。彼らは、この虫の移動能力は乏しいので、地域個体群間の高い遺伝的類似は遺伝子拡散によるのではなく、なんらかの生態的な選択によると考察した。ヨモギハムシの G_{ST} は 16.3% であり、*D. barberi* での値に比べて少し高い。すなわち、地域個体群間の分化が比較的進んでいる。それでも一般的にみて *D. barberi* と同様、地域個体群間の遺伝的類似度が高いようである。ヨモギハムシは一般に飛翔せず、移動能力が乏しいと考えられるので、地域個体群間の高い遺伝的類似度は、*D. bar-*

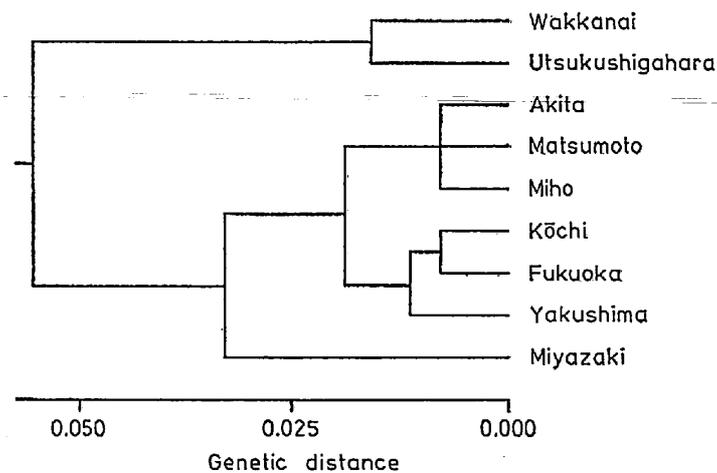


Fig. 4. Genetic relationships among 9 populations of *Chrysolina aurichalcea* made by MOUNTFORD's method, using NEI's genetic distance.

beri で示唆されたのと同様なんらかの共通の選択圧による可能性が考えられる。

地域個体群間の遺伝的関係を視覚的にするため、Table 6 の数値を用い、Mountford 法 (MOUNTFORD, 1962) によりデンドログラムを作製した。結果を Fig. 4 に示した。図より、ヨモギハムシは大きく 2 つのグループに分かれている。すなわち、美ヶ原と稚内の個体群のグループとその他の地域個体群のグループである。この結果は、両グループ間での Lap の対立遺伝子組成の違いによるところが大きい。後のグループでは、宮崎個体群を除き地理的に近い個体群間ほど遺伝的距離が減少し、遺伝的類似度が高くなっている。

グループ内の遺伝的距離の平均値は前者で 0.017、後方で 0.020 であるが、グループ間の遺伝的距離の平均値は 0.058 である。グループ間の分化はグループ内の分化の約 3 倍であることから、グループ間の分化はかなり進んでいると考えられる。美ヶ原個体群が近接の松本個体群とは遺伝的に異なり、地理的に離れた稚内個体群に類似していることはたいへん興味深い。この類似を両者間の移動で説明することは難しい。この類似に対する説明としては、類似環境への適応が考えられる。その 1 つの考えは次のようである。美ヶ原高原は標高約 2,000 m の高原であり、高度 150 m の増加による温度低下が緯度 1 度の北上にあたるという経験法則からすれば、この高原は北緯 49 度の平地に相当する。その温度環境や生物季節は、松本 (北緯 40 度に相当) よりも稚内 (北緯 45 度) に類似していると考えられる。したがって、美ヶ原個体群が稚内個体群に遺伝的に類似しているというものである。もう 1 つの考えは、各グループの生息地に生育するヨモギの種、すなわち寄主植物が異なるためという考えである。実際、北海道では、ヨモギハムシはオオヨモギ *Artemisia montana* を食草としている。また、美ヶ原高原ではヨモギも食草になっているが、オオヨモギも生育しており、これもまた食草になっている可能性がある。JACOBSON & HSIAO (1983) は、コロラドハムシの地域個体群では、野生の寄主と栽培ポテトを食草とする系統の間に、亜種間レベルの遺伝的分化が生じていることを明らかにしている。ヨモギハムシのグループ間の違いが、コロラドハムシの例のように寄主植物の違いによることも十分考えられる。

また、さらにその類似は起源を異にする 2 つの系統、すなわち、北方系の美ヶ原・稚内のグループと南方系の残りのグループが存在することによるという可能性も否定できない。

これらのいずれの考えが正しいかは、松本と美ヶ原高原の間のいろいろな標高の個体群や、美ヶ原高原以外の高標高地域に生息する個体群の Lap の対立遺伝子組成を解析すれば明らかにできよう。

本種の地理的個体群間の遺伝的類似度が他の生物種と同程度であることは、前述の長谷部ら (1984) が報告した事実とは矛盾しているように思われる。しかし、他の遺伝的特徴において、かなりの分化が存在することも考えられるので、一層の調査が望まれる。

謝 辞

本研究を行うにあたり、信州大学高地生物学研究室のスタッフおよび学生の皆さんには虫の飼育管理や研究上の論議を通じてたいへんお世話になった。また、九州大学理学部の日下部真一博士に原稿を校閲していただいた。これらの方がたに感謝の意を表す。

摘 要

日本列島のヨモギハムシ *Chrysolina aurichalcea* (MANNERHEIM) の地域個体群における遺伝的変異の量および地域個体群間の遺伝的分化の量を、電気泳動法によって研究した。9 地域 (屋久島、

宮崎, 福岡, 高知, 松本, 美ヶ原, 美浦, 秋田, 稚内) の個体群を用い, 4つの遺伝子座の非酵素タンパク質 (Pt-1, Pt-2, Pt-3, Pt-4) と7つの遺伝子座の酵素 (Amy, Cat, G-6-pd, Lap, Me, Got, Mdh) のアロザイム変異を調査した。

これら地域個体群の多型的遺伝子座の割合は, 平均で0.439であり, 平均ヘテロ接合体率の平均値は0.139であった。地域個体群の平均ヘテロ接合体率の間には有意な差は認められなかった。

本種の全遺伝的変異の83.7%が地域個体群内の遺伝子組成に起因し, 16.3%が地域個体群間の遺伝子組成の違いに起因した。

Pt-3の対立遺伝子頻度は南北にわたる勾配を示した。

地域個体群間の遺伝的距離の平均値は0.035であった。遺伝的距離に基づくと, 本種の地理的個体群は, 美ヶ原, 稚内個体群のグループとその他の地域個体群のグループに分けることができた。

これら遺伝的分化の原因として, 両グループ間の環境条件の違いや寄生食物の違い, あるいは両グループは系統的に由来が異なっているという三つの可能性を考察した。

引用文献

- ANDERSON, W. W., C. W. BERISFORD, R. H. TURNHOW & C. J. BROWN, 1983. Genetic differences among populations of the black turpentine beetle, *Dendroctonus terebrans*, and an engraver beetle, *Ios calligraphus* (Coleoptera: Scolytidae). *Annls. ent. Soc. Am.*, 76: 896-902.
- AVICE, J. C., 1975. Systematic value of electrophoretic data. *Syst. Zool.*, 23: 465-481.
- AYALA, F. J., 1975. Genetic differentiation during the speciation process. *Evol. Bio.*, 8: 1-75.
- , M. L. TRACEY, L. G. BARR, J. F. McDONALD & S. PEREZSALAS, 1974. Genetic variation in natural populations of five *Drosophila* species and the hypothesis of the selective neutrality of protein polymorphisms. *Genetics*, 77: 343-384.
- DUNCAN, D. B., 1955. Multiple range and multiple F tests. *Biometrics*, 11: 1-42.
- FUJIYAMA, S., 1979. On the colour polymorphism in *Chrysolina aurichalcea* (MANNERHEIM) (Coleoptera: Chrysomelidae) collected from four mountain districts. *J. Fac. Sci. Shinshu Univ.*, 14: 99-106.
- 藤山静雄, 1986. ヨモギハムシの色彩二型. 木元新作 (編) 日本の昆虫地理学, pp. 116-126. 東海大学出版会, 東京.
- ・有本欽治・野田隆志, 1981. ヨモギハムシの発育と生存に及ぼす温度の影響, 特に採集地の異なる3系統の比較. *New Entomol. Ueda*, 30: 16-24.
- ・野田隆志・安井謙司, 1983. ヨモギハムシの卵休眠とその地理的変異について. 日本昆虫学会第43回大会講演要旨, p. 28.
- ・長谷部俊明, 1984. ヨモギハムシの卵休眠の地理的変異. 日本昆虫学会第44回大会講演要旨, p. 55.
- GRESSITT, J. L., & S. KIMOTO, 1963. The Chrysomelidae (Coleopt.) of China and Korea. Part 2. *Pacif. Ins. Mon.*, 1B: 301-1026.
- 長谷部俊明・藤山静雄・山野井昭雄, 1984. ヨモギハムシの成虫休眠の地理的変異. 日本昆虫学会第44回大会講演要旨, p. 55.
- HIGBY, P. K., & M. W. STOCK, 1982. Genetic relationships between two sibling species of bark beetle (Coleoptera: Scolytidae), jeffrey pine beetle and mountain pine beetle, in northern California. *Annls. ent. Soc. Am.*, 75: 668-674.
- JACOBSON, J. W. & T. H. HSIAO, 1983. Isozyme variation between geographic populations of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Annls. ent. Soc. Am.*, 76: 162-166.
- LIEBHERR, J. K., 1983. Genetic basis for polymorphism in the ground beetle, *Agonum decorum* (SAY) (Coleoptera: Carabidae). *Annls. ent. Soc. Am.*, 76: 349-358.
- MCDONALD, I. C., J. L. KRYSAN & O. A. JOHNSON, 1985. Genetic variation within and among geographic populations *Diabrotica barberi* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Annls. ent. Soc. Am.*, 78: 271-278.

- 宮崎 香, 1981. ゲルスラブ電気泳動法. 堀尾武一・山下仁平 (編), 蛋白質・酵素の基礎実験法. pp. 301-303. 南江堂, 東京.
- MOUNTFORD, M. D., 1962. An index of similarity and its application to classificatory problem. In MURPHY, P. W. (ed.), *Progress in Soil Zoology*, pp. 43-50. Butterworths, London.
- NEI, M., 1972. Genetic distance between populations. *Am. Nat.*, **106**: 283-292.
- 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, **89**: 583-590.
- NEVO, E., 1978. Genetic variation in natural populations: Pattern and theory. *Theor. Pop. Biol.*, **13**: 121-177.
- 大羽 滋, 1977. 集団の遺伝. 105 pp. 東京大学出版会, 東京.
- SOFIELD, R. K., N. E. BUKOKER, E. J. HANSENS & R. C. VRIJENHOEC, 1984. Genetic diversity within and between sibling species salt-marsh horseflies (Diptera: Tabanidae). *Annls. ent. Soc. Am.*, **77**: 663-668.
- STEINER, W. W. M., & D. J. JOSLYN, 1979. Electrophoretic techniques for the genetic study of mosquitoes. *Mosquito News*, **39**: 35-54.
- STOCK, M. W., & G. D. AMMAN, 1980. Genetic differentiation among mountain pine beetle populations from lodgepole pine and ponderosa pine in northeast Utah. *Annls. ent. Soc. Am.*, **73**: 472-478.
- , & P. K. HIGBY, 1984. Genetic variation among mountain pine beetle (*Dendroctonus ponderosae*) (Coleoptera: Scolytidae) populations from seven western states. *Ibid.*, **77**: 760-764.
- , G. B. PITMAN, & J. D. GUENTHER, 1979. Genetic differences between Douglas-fir beetle (*Dendroctonus pseudotsugae*) from Idaho and coastal Oregon. *Ibid.*, **72**: 394-397.
- SUOMALAINEN, E., & A. SAURA, 1973. Genetic polymorphism and evolution in parthenogenetic animals. I. Polyploid Curculionidae. *Genetics*, **74**: 489-508.
- SUZUKI, K., 1978. Discovery of a flying population in *Chrysolina aurichalcea* (MANNERHEIM) (Coleoptera: Chrysomelidae). *Kontyû, Tokyo*, **46**: 549-551.
- & K. SAKURAI, 1978. Geographical distribution of two color forms of *Chrysolina aurichalcea* (MANNERHEIM) (Coleoptera: Chrysomelidae) in northern Honshu, Japan. *Ibid.*, **51**: 56-64.
- 竹尾和典, 1970. ポリアクリルアミドゲルを支持体とするディスク泳動法による諸酵素の検出法について. 山口大蛋白研究年報, **4**: 1-40.