千葉大園学報（Tech. Bull. Fac. Hort. Chiba Univ.）
第48号 19-23（1994）

アロザイムの遺伝子頻度による日本産キンウワバ亜科の地域および年次集団間の遺伝的変異

野村昌史
（応用動物昆虫学研究室）

Geographic and Year-to-year Variations of Gene Frequencies of Allozymes in the Population of Japanese Plusiine Species (Lepidoptera: Noctuidae)

Masashi NOMURA
(*Laboratory of Applied Entomology and Zoology*)

ABSTRACT

Intraspecific (geographic and year-to-year) populations of 12 species of Japanese plusiine moths (Lepidoptera: Noctuidae) were analyzed by 4 loci from 3 enzymes (esterases, hexokinase and phosphoglucomutase) by means of electrophoretic methods. Based on the data of gene frequencies, the genetic distance among populations from different years tended to be larger than that among geographic populations. The result can be explained with a good ability of migration of plusiine species.

キンウワバ亜科（Plusiinae）は，全世界に約400種を産し日本では50余種が確認されているヤガ科の一群である．成虫での胸部の発達した冠毛や前翅の金属光沢，幼虫期の腹部第5・6節の腹脚の退化など各ステージにおいて亜科特有の形質が見られる．このため1940年代までは本亜科のほとんどの種は大属 *Plusia*（sensu lato）にまとめられていたが，成虫雌雄交尾器の形態に種的特化が著しいことが明かとなり，成虫の交尾器を指標にしての分類（例えばMcDUNNOUGH, 1944；DUFAY, 1970など）は*Plusia*（s. l.）を多くの属に分けた．また一方で成虫交尾器に幼虫の形態を加味した研究（一瀬, 1962；ICHINOSE, 1973；EICHLIN and CUNNINGHAM, 1978）は、*Plusia*（s. l.）を成虫交尾器のみによる分類より少なく分割する傾向がみられた．しかしながら最近の分類体系では成虫交尾器のみを形質として用い，属を細分化した結果（DUFAY, 1974；CHOU and LU, 1974；杉, 1982）属および種間の類縁関係が極めて曖昧になっている．

著者は本亜科の属の分け方に関しては遺伝的背景が推定できる形質を用いることにより，種および属の類縁関係をよりよく把握できるであろうと考えている．そしてこういった形質を用いた方法により既存の属をある程度統合できるのではないかという仮説から，これまでの形態分類を踏まえたうえで最近昆虫類においても多くの有用な結果が得られている生化学的形質である酵素のアロザイムを用いた分類を試みた（NOMURA and ICHINOSE, 1990）．今回はそのうちキンウワバ12種によるアロザイムの遺伝子頻度による地理的および年次集団間の変異について報告する．

材料および方法

本研究では，年次集団とは同一地域で異なる年次に採集された集団，また地方集団は同一年次に異なる地方で採集された集団と定義した．

Table 1に採集した種およびその採集地と電気泳動に供したサンプル数を示した．合計12種のキンウワバを用いて年次および地方集団の変異を求めた．採集は主にライトトラップによる成虫の夜間採集および寄主植物の探索により幼虫などの採集を行った．幼虫は川崎ら(1987)により開発されたキンウワバ類用の人工飼料もしくは人工飼料を摂食しない種についてはその寄主植物を与え，成虫は10%ショ糖溶液を与えた．飼育は22±1℃に温度を調節した恒温槽内で行い，幼虫は16L 8Dの長日条件，成虫は飛翔による個体の損傷を防ぐために

Table 1. Species name, location and date of collection, and no. of samples (n) used in the electrophoretic study

Species	Collection location (Year)	n	Species	Collection location (Year)	n
Syngrapha ain	Yunomaru, Nagano (1986, 1988)	21,18	*Diachrysia stenochrysis*	Yunomaru, Nagano (1987, 1988)	38,40
Autographa nigrisigna	Yunomaru, Nagano (1988)	51	*Thysanoplusia intermixta*	Fuchu, Tokyo (1986, 1987, 1988)	93,81,20
	Fuchu, Tokyo (1988)	33	*Acanthoplusia agnata*	Yunomaru, Nagano (1987)	22
Autographa gamma	Kitami, Hokkaido (1986, 1988)	93,56		Fuchu, Tokyo (1987)	67
Macdunnoughia confusa	Tsukui, Kanagawa (1985, 1986, 1987)	39,30,24	*Ctenoplusia albostriata*	Fuchu, Tokyo (1987, 1988)	60,48
Macdunnoughia purissima	Fuchu, Tokyo (1986, 1987)	54,35		Kunigami, Okinawa (1988)	27
Anadevidia peponis	Fuchu, Tokyo (1986,1987,1988)	56,32,53	*Chrysodeixis eriosoma*	Saga, Saga (1986)	53
Plusia festucae	Fuchu, Tokyo (1986, 1988)	89,74		Fuchu, Tokyo (1986)	48

24ＬＬの条件で照明を制御した．その他の条件などはNomura and Ichinose (1990) に従った．

電気泳動には成熟した成虫の翅、脚、鱗毛などを除去した胸部を試料として用いた．成虫を選んだのは代謝活性が安定していることや，餌などの酵素の混入がないことなどによる．またアロザイムには組織特異性がみられるため(Ferkovich et al., 1980など)生殖器官や脂肪部分などが多く含まれている腹部は除き，大きさも手頃なことから胸部を用いることにした．電気泳動の手法はDavis (1964) の緩衝液系を使用し，支持体として7.5%ポリアクリルアミドを用いて行った．その他の試薬および手順については，Nomura and Ichinose (1990) と同様に行った．

電気泳動終了後ゲルを活性染色し，そのザイモグラム(バンドの出現度合) から単独の遺伝子座に支配されているゲル上のバンドを推察し，遺伝的解析を行った．遺伝的解析についてはアロザイムの各遺伝子座における対立遺伝子の頻度を求め，その値からNei (1972) の方法に従い遺伝的距離を求め，種内の年次および地方の各集団間の値を比較した．

結果および考察

予備実験において多くの酵素のザイモグラムを解析したが，バンドの出現状況が良好でなかったり，遺伝的に単独の遺伝子座に支配されているとは推定困難なものは解析からは除外した．その結果，単独の遺伝子座に支配されていると推測することができたEsterase (EST), Hexokinase (HK), Phosphoglucomutase (PGM) の3酵素4遺伝子座について，遺伝的解析を行うことにした．キンウワバ12種全てにおける各酵素の複対立遺伝子は，ESTは相対移動度0.72, 0.75, 0.78, 0.81, 0.82, 0.84, 0.85, 0.86, 0.87, 0.89, 0.91の11遺伝子，HKは2つの遺伝子座から成り，HK-1は0.32, 0.35, 0.38, 0.41そしてHK-2は0.39, 0.42, 0.45, 0.48のそれぞれ4つ，PGMは0.21, 0.24, 0.27, 0.28, 0.29, 0.30, 0.31, 0.32, 0.33, 0.34, 0.35, 0.36, 0.38の13遺伝子がみられた．

遺伝子頻度の代表的な例としてTable 2にはガンマギンウワバ*Autographa gamma*, Table 3にオオヒサゴキンウワバ*Diachrysia stenochrysis*のそれぞれの年次集団について，Table 4にはミツモンキンウワバ*Acanthoplusia agnata*の地方変異についての結果をあげた．年次集団においてはガンマギンウワバのように2集団間で遺伝子頻度の値の差がほとんどない，つまり種内の変異が少ないと思われる種 (Table 2) がみられる一方，オオヒサゴキンウワバのように最も頻度の高い対立遺伝子は集団間で変わらないものの，遺伝子頻度や平均ヘテロ接合体率（h：集団がどのくらいの割合でヘテロ形質を持っているか調べる尺度）の値が集団間で異なっている，つまり種内の変異が大きいと考えられる種もみられた (Table 3)．また地方変異に関しては扱った集団数が少ないものの，遺伝子頻度やヘテロ接合体の

Table 2. Gene frequencies and heterozygosity (*) among annual populations of *Autographa gamma*

Locus	Allele	Kitami,1986	Kitami,1988
EST	n	93	41
	0.82	0.145	
	0.87	0.855	1.000
	h*	0.248	——
HK-1	n	38	42
	0.38	1.000	0.988
	0.41		0.012
	h*	0.456	0.024
HK-2	n	38	42
	0.45	1.000	1.000
	h*	——	——
PGM	n	83	56
	0.30	0.916	0.966
	0.33	0.072	0.034
	0.36	0.012	
	h*	0.274	0.066

Table 3. Gene frequencies and heterozygosity (*) among annual populations of *Diachrysia stenochrysis*

Locus	Allele	Nagano,1987	Nagano,1988
EST	n	34	34
	0.86		0.029
	0.89	0.987	0.971
	0.91	0.022	
	h*	0.043	0.056
HK-1	n	27	40
	0.35	0.648	0.887
	0.38	0.352	0.113
	h*	0.456	0.200
HK-2	n	27	40
	0.45	0.630	0.925
	0.48	0.370	0.075
	h*	0.466	0.139
PGM	n	38	36
	0.31	0.684	0.944
	0.34	0.316	0.056
	h*	0.274	0.106

値に差があまりみられず，比較的安定した形質を持っていると考えられた（Table 4）．この他の種についても程度の差はあるものの，ここにあげた種と同様な傾向を示した．

12種の種内変異のまとめとしてTable 5に年次集団間，Table 6に地方集団間の遺伝的距離（NEI, 1972）の値（D）を示した．年次集団では，キシタギンモンウワバ *Syngrapha ain* のように集団間で非常に低い遺伝的距離の値をとるもの（0.0009）からエゾギクキンウワ

Table 4. Gene frequencies and heterozygosity (*) among geographic populations of *Acanthoplusia agnata*

Locus	Allele	Nagano,1987	Tokyo,1987
EST	n	18	45
	0.78	0.861	0.822
	0.81	0.139	0.178
	h*	0.239	0.293
HK-1	n	12	32
	0.35	0.875	0.922
	0.38	0.125	0.078
	h*	0.219	0.144
HK-2	n	12	32
	0.42	0.875	1.000
	0.45	0.125	
	h*	0.219	——
PGM	n	22	67
	0.32	0.136	0.037
	0.35	0.841	0.963
	0.38	0.023	
	h*	0.274	0.071

Table 5. Nei's genetic distance (D) of annual populations of 9 plusiine species.

Species	No.populations	D
Syngrapha ain	2	< 0.001
Autographa gamma	2	0.005
Plusia festucae	2	0.005
Macdunnoughia confusa	3	0.018
Autographa nigrisigna	2	0.053
Macdunnoughia purissima	2	0.054
Diachrysia stenochrysis	2	0.061
Thysanoplusia intermixta	3	0.066
Ctenoplusia albostriata	2	0.113

Table 6. Nei's genetic distance (D) of geographical populations of 4 plusiine species.

Species	No.populations	D
Acanthoplusia agnata	2	0.008
Autographa nigrisigna	2	0.025
Chrysodeixis eriosoma	2	0.025
Ctenoplusia albostriata	3	0.052

バ *Ctenoplusia albostriata* のようにD＝0.113と，かなり高い値をとるものまで様々であり，D＝0.05以上の値を取る種がやや多い傾向がみられた．また地方集団については扱った種がやや少なかったが，D＝0.05以下の値をとる種が多くみられた．これらの結果は種によって値に差はみられるものの，これまでに研究が行われた昆虫類の地方集団間でみられたDの値（D＝0.01のオーダー）の範囲内（NEI, 1975）におさまっていた．

地方集団と年次集団の遺伝的距離の値を比較したところ，両集団内の遺伝的距離の値を比較することができたタマナギンウワバ *Autographa nigrisigna*（年次：D＝0.053, 地方:D＝0.025），エゾギクキンウワバ（年次:D＝0.113, 地方：D＝0.052）の2種では，年次集団間の値のほうが大きいという結果が得られた．特にエゾギクキンウワバでは東京における年次変異の値は東京・沖縄間の値より大きくなり，年次による遺伝的組成の変化が大きい傾向が顕著であった．

エゾギクキンウワバやミツモンキンウワバ *Acanthoplusia agnata* などは南方から長距離移動を行い（一瀬, 1962; 朝比奈・鶴巻, 1968），特定のステージにおける休眠性をもたないことがわかっている．東京付近では春先に採集することはほとんどないものの夏から秋にかけて個体数が増大し，冬にはそのほとんどすべてが死滅してしまうという生活史が推定されている（一瀬,1962）．年次集団間の値が大きくなる傾向を示したことは，毎年集団の入れ代わりが起こっており，たとえ少数個体が越冬できたとしてもびん首効果など遺伝的浮動 random genetic drift の影響で集団の変異は大きいと考えられ，このような結果となったと推察される．欧州ではガンマギンウワバ *Autographa gamma* が長距離移動を行う種として報告があり（WILLIAMS, 1930），やはり休眠性をもたないため北海道の集団も年次変異が大きいと考えられたが，年次変異集団間の遺伝的距離は極めて低い値（D＝0.005）を示した．本種は休眠性は獲得していないものの耐寒性が強く，幼虫態で越冬していることが観察されている（兼平・鳥倉, 1988；斎藤, 1988）．集団間の遺伝的距離が低いという結果は，越冬可能な個体が多く年次による集団の入れ代わりはほとんど起こっていないということも考えられる．さらに幼虫が休眠性を獲得しているキシタギンモンウワバでは年次集団間の変異は極めて小さくなっており（D＝0.0009），また高山性の蛾で休眠性を持っているアルプスギンウワバ *Syngrapha nyiwonis* は，移動性が強いと考えられていることから（神保, 1984），山地や北地に生息しているキンウワバ類の地方および年次変異はあまり大きくないのではないかと考えられる．

アロザイムの地方変異を扱った研究は昆虫類に関してはさほど多くないが，マツに寄生するゾウムシの一種 *Pissodes strobi* の北アメリカの各個体群の変異は地理上の障壁が個体群を分離させていることを示唆している（PHILLIPS and LANIER, 1985）．このゾウムシの場合は移動能力が少ないために，種内変異が大きくなっていると推察できる．また同じ鱗翅類を扱ったヨーロッパの各地域およびアメリカ，日本の各個体群を扱ったマイマイガ *Lymantria disper* の研究（HARRISON et al., 1983）では，地理上の距離が大きければ大きいほど遺伝的な分化も大きくなるという結果が得られている．今回の結果は必ずしも地理的距離と遺伝的距離が正比例するということはなかったが，これについてもキンウワバ類の移動能力の強さに起因していることが考えられる．今回は特に地方集団を扱った種数や集団数が少ないため更に解析を行う必要があるが，全体の傾向としてキンウワバ亜科では年次集団の変異の方が地方集団よりも大きいことが明らかとなった．

今後は今回得られた傾向がさらに多くの種でみられるものなのかどうかを検討するとともに，長距離移動すると考えられている種などについては，その飛来源などに関しても多面的な検討を加える必要がある．

摘　要

成虫交尾器により属および種間の類縁関係が曖昧になっているキンウワバ亜科（鱗翅目：ヤガ科）について，酵素のアロザイムを用いて種内の地方変異および年次変異を調べた．12種について解析を行ったが，3酵素4遺伝子座と扱う酵素が少なく，調査集団も多くなかったが，全体の傾向としてキンウワバ亜科では年次集団の変異の方が地方集団よりも大きいことが明らかとなった．これは長距離移動を行うなど本亜科の移動能力が大きいためと推定された．

引用文献

[1] 朝比奈正二郎・鶴巻保明（1968）：南方定点観測船に飛来した昆虫，第2報．昆蟲, 36, 190－202.

[2] Chou, I. and T. Lu (1974)：Studies on ChinesePlusiinae (Lepidoptera: Noctuidae). *Acta Entomologica Sinica.*, 17, 66-82. (in Chinese with English summary)

[3] Davis, B. J. (1964)：Disc electrophoresis method and application to human serum proteins. *Ann.New York Acad. Sci.*, 121,

404-427.

[4] Dufay, C. (1970)：Insectes Lepidopteres Noctuidae Plusiinae. *Faune De Madagascar*, 31, 1−198.

[5] Dufay, C. (1974)：Descriptions de nouveaus Plusiinae Indo-Australiens (Lepidoptera, Noctuidae). *Bull. Linn. Lyon*, 43, 102-111.

[6] Eichlin, T. D. and H. B. Cunningham (1978)：The Plusiinae (Lepidoptera : Noctuidae) of America North of Mexico, emphasizing genitalic and larval morphology. *Tech. Bull. Agric. Res. Ser. USDA*, No. 1567, 1−222

[7] Ferkovich, S. M., F. van Essen and T. R. Taylor (1980)：Hydrolysis of sex pheromone by antennal esterases of the cabbage looper, Trichoplusia ni. *Chemical Ecology*, 5, 33-46.

[8] Harrison, R. G., S. F. Wintermeyer and T. M. Odell (1983)：Patterns of genetic variation within and among Gypsy Moth, Lymantria dispar (Lepidoptera : Lymantriidae), populations. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 76, 652-656.

[9] 一瀬太良 (1962)：日本産キンウワバ亜科（ヤガ科）に関する研究. 東京農工大学農学部学術報告, 6, 1-127.

[10] Ichinose, T. (1973) A revision of some genera of the Japanese Plusiinae, with scriptions of a new genus anmd two new subgenera (Lepidoptera, Papilionedae). *Kontyu*, 41, 135-140.

[11] 神保一義 (1984)：高山蛾 − 高嶺を舞う蛾たち. 東京, 築地書館, 191p.

[12] 兼平　修・鳥倉英徳 (1988)：ガンマギンウワバの幼虫越冬について. 北日本病虫研報, 39, 218−220.

[13] 川崎建次郎・池内まき子・日高輝展 (1987)：飼料交換を要しないミツモンキンウワバの室内飼育法. 応動昆, 31, 78−80.

[14] Kitching, I. J. (1987)：Spectacles and Silver Y's: a synthesis of the systematics, cladistics and biology of the Plusiinae (Lepidoptera：Noctuidae). *Bull. Br. Mus. Nat. Hist. Entomol*, 54, 75−261.

[15] McDunnough, J. H. (1944)：A revision of the North American genera and species of the phalaenid subfamily Plusiinae (Lepidoptera). *Mem. South Calif. Acad. Sci.*, 2, 175−232.

[16] Nei, M. (1972)：Genetic distance between populations. *Am. Nat.*, 106, 283-292.

[17] Nei, M. (1975)：Molecular population genetics and evolution. Amsterdam, New York.

[18] Nomura, M. and T. Ichinose (1990)：Comparison of esterase zymograms among genera and species of Japanese Plusiinae (Lepidoptera : Noctuidae). *Appl. Ent. Zool.*, 25, 140−143.

[19] Phillips, T. W. and G. N. Lanier (1985)：Genetic divergence among populations of the white pine weevil, *Pissodes strobi* (Coleoptera: Curculionidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 78, 744-750.

[20] 斎藤　修 (1988)：北海道におけるガンマギンウワバ幼虫の越冬の観察例. 北日本病虫研報, 39, 217.

[21] 杉　繁朗 (1982)：キンウワバ亜科. 日本産蛾類大図鑑（井上寛ら編）：講談社.東京., 1, pp. 827−838.

[22] Williams, C. B. (1930)：The migration of butterflies, London, 437p.