

学 位 論 文 題 名

Multivariate Analyses of Geographic Variation in the Fightless Leaf Beetles of the *Chrysolina angusticollis* Species Complex (Coleoptera: Chrysomelidae) in Japan

(日本産オオヨモギハムシ種群の地理的変異の多変量解析)

学位論文内容の要旨

生物の種がどのようにして分化するかという問題は、生物学が解明していない主要な課題のひとつである。動物では異所的種分化(異なった地域に隔離された集団が新しい種へ分化すること)を種分化の主要な様式とする説が、多くの研究者によって受け入れられている。しかし、隔離された集団の内部で実際にどのような変化が生じているかはほとんど解っていない。さらに地理的隔離なしに種分化が生じると考える研究者も少なくない。近年、種分化の理論的側面については著しい研究の発展があったが、野外生物集団に関する実証的研究は、依然として不足している。生物の地理変異に関しても記載的な研究は多数存在するが、様々な理論を検証できるような定量的で信頼の置ける研究は極めて少ない。そこで本論文では北海道と本州北部に生息するオオヨモギハムシ種群 *Chrysolina angusticollis* complex を材料として、形態形質の地理変異の詳細な解析を行った。本種群は後翅の退化した植食性の甲虫であり、形態の異なる多くの地理的変異集団が含まれているが、その変異の様相についてはほとんど把握されていない。

本論文は2章から構成されており、第1章では形態形質の地理的変異パターンの解析を行い、第2章では形態によって区分された集団間の遺伝的な関係を解析した。

まず、112の集団を用い、後翅および雄交尾器の様々な部位を含む12計量形質のデータに基づいて集団間変異の様相を解析した。クラスター分析と正準判別分析の結果、集団は7つのグループ(以後計量形質グループと呼ぶ)に明瞭に区別された。計量形質グループの地理的変異パターンを検討した結果、4計量形質グループはそれぞれ特定の地域にまとまって分布していた。残りの3計量形質グループは2、3の地域に隔離分布していた。集団間の形態計量形質の差異と、集団間の地理的距離との相関は統計上有為に高かった。また、地理的変動パターンの統計的解析(experimental variogram)の結果も、似通った計量形質を持つ集団が特定の地域にまとまって分布していることを示した。

次に45集団を選び、前胸背と鞘翅の色彩を7段階に分類して、集団ごとの頻度を求め、クラスター分析と主座標分析を行ったところ、45集団は5つのグループ(以後色彩グループと呼ぶ)に区別された。色彩グループ間の差異の程度は計量形質グループ間の差異ほど明瞭ではなかった。前述の計量形質グループと異なり、個々の色彩グループは広い地域に散在し、地理的なまとまりを作ることにはなかった。集団間の色彩の差異と地理的距離も有為に相関していたが、相関の有意水準は計量形質の差異と地理的距離との間のそれよりも低かった。Experimental variogramによる解析も、各色彩グループが地理的なまとまりを作らないという上

記の傾向を支持した。

さらに112集団を幼虫体表と雌鞘翅表面構造に関する2つの二値形質データに基づいて3グループ（以後論文の内容に従いES-LSグループと呼ぶ）に区別した。ES-LSグループは、いずれもいくつかの地域に隔離分布していた。

これらの異なったデータセットに基づいて作られた3つのグループが、どのように対応するかをクロス表を用いて検討した。計量形質グループと色彩グループ間、頻度形質グループと二値形質グループ間には、明瞭な対応が見られなかった。一方、計量形質グループと二値形質グループ間には明瞭な対応が見られ、1計量形質グループを除く全ての計量形質グループがいずれか1つの二値形質グループに振り分けられた。

以上の結果から、最終的に計量形質と二値形質のデータの組み合わせで9つのグループ（以後形態グループと呼ぶ）を設定した。類似の色彩パターンが、それぞれの形態グループの中で繰り返し独立に生じたと考えられた。

形態形質によって得られた9つの形態グループの遺伝的類縁を知るために、各グループ内の地理的に隔離分布している集団および広く分布しているグループ内の遠隔集団を含む19の集団を選び、アロザイム電気泳動による遺伝的解析を行った。

計13遺伝子座の対立遺伝子頻度を集団ごとに求め、クラスター分析と主座標分析を行った結果、これらの集団は2つのクラスターに大別された。このうちひとつのクラスターは北海道東部に広く分布する形態グループと勇払地方に分布する形態グループからなり、もうひとつのクラスターは残りの7グループ全てによって構成されていた。全般的に見ると、集団間の遺伝的距離は、地理的距離よりも形態距離とよく相関していた。しかし、同じ形態グループに属する隔離された集団は、相互に遺伝的に類似するというよりはむしろ地理的に近接した別の形態グループの集団に遺伝的に類似している傾向が認められた。

13遺伝子座の対立遺伝子頻度に基づき、近隣結合法と最尤法を用いて系統解析を行った後に、厳密合意樹を作成した。この合意樹はオオヨモギハムシ種群が少なくとも6つの系統を含むことを示した。クラスター分析で認められた勇払地方の1形態グループと北海道東部に広く分布している1形態グループからなる系統は、系統解析でも単系統群を構成しており、6つの系統の中では、最も最近に著しい形態・遺伝的分化を伴って分岐したことが示唆された。

以上の結果を総合して、本論文ではオオヨモギハムシ種群に18の操作上の単位を設定した。筆者らによって、これらの操作単位のうち少なくとも3つは部分的に生殖的隔離されていることが明らかになっていることと、今回の結果から、オオヨモギハムシ種群は完全もしくは部分的に生殖的に隔離された多数の地理的品種（＝半種）から構成される上種（superspecies）である可能性が高いと結論した。本種群のように、顕著な地理変異の様相が詳細に解明された生物群は他にあまり類例がない。本研究によって基本的な情報が整備されたことにより、オオヨモギハムシ種群を材料として、側所性種分化、生殖的隔離機構の進化、交雑帯の性格と進化的役割、といった、現在活発に議論されている進化生物学上の様々な現象を研究することが可能になった。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 馬 渡 駿 介
副 査 教 授 増 田 道 夫
副 査 助 教 授 片 倉 晴 雄
副 査 教 授 木 村 正 人

学 位 論 文 題 名

Multivariate Analyses of Geographic Variation in the Fightless Leaf Beetles of the *Chrysolina angusticollis* Species Complex (Coleoptera: Chrysomelidae) in Japan

(日本産オオヨモギハムシ種群の地理的変異の多変量解析)

新しい種がどのようにして生じるかという問題は、生物学がいまだに解明していない主要な問題の一つである。現在広範な支持を受けている異所的種分化仮説では、新しい種は地理的に隔離された分集団から生じると考える。しかし、地理的に隔離された集団の内部でどのような事が起これば種分化にいたるのか、という点は解明されていない。さらに、分化しつつある集団が出会った場所に生じる交雑帯で種分化が最終的に完了するという仮説も激しい議論の的となっている。また、隣接する集団が地理的な隔離なしに別の種へ進化する側所的種分化も、少なくとも理論的には可能であることが示されている。このような種分化現象を理解するためには、生物の様々な形質に見られる地理変異のパターンの客観的かつ定量的なデータの積み重ねが必要であることが指摘されているが、従来蓄積されてきたデータの多くは、単に地理変異を主観的・定性的に記述したものや、特定の形質の変異のパターンの記載に留まるものがほとんどであり、上記の養成を満たしていない。このような現状の中で、著者は東アジア冷温帯域に固有のオオヨモギハムシ種群の地理変異を多変量解析の手法を用いて表現形質、遺伝形質の両側面から詳細に研究し、その全貌を明らかにすることに成功した。

オオヨモギハムシ種群はアムール、中国東北部に分布し、国内では北日本に生息している食植性の甲虫の一群である。後翅が退化していて飛ぶことができない。本種群には、色彩や後翅、交尾器の形状に著しい集団間の変異があることがすでに知られていたが、中間的な形態を持つ集団や全く異なった形質を持つ集団が見つかっており、地理変異の実体は不明であった。著者は、北海道から本州北部に及ぶ計132地点から自身で採集した標本

を用いて本研究を行っている。論文は2部よりなり、第1部で表現形の変異の解析、第2部で遺伝的変異の解析結果が扱われている。

先ず、第1部では、変異する表現形質を計量形質、二値形質、頻度形質に分類した後に、計量形質と頻度形質についてはそれぞれの形質の性質に即した手法によってクラスター分析と座標付けを行い、地理変異の様相を定量化、視覚化した。その結果として、オオヨモギハムシ種群を地理的なまとまりを持つ9つの形態グループに分類し、同時に、似た色彩がいくつかの地域で繰り返し独立に現れたことを明らかにしている。

ついで第2部では、形態グループのメンバーの分布を考慮して19の代表集団を選び、アロザイム電気泳動法を用い集団間の遺伝的類縁の解析及び系統関係を解析した。ここでもクラスター分析と座標付けを行い集団間の関係を定量化、視覚化している。オオヨモギハムシ種群は遺伝的に異なる二つのクラスターに大別された。このうち一つは北海道東部と勇払地方に分布する2形態グループ、もう一つは北海道西部と本州北部に生息する残りの形態グループである。引き続き行ったアロザイムデータをもとにした系統解析によって、北海道東部と勇払地方に生息する2形態グループからなる遺伝的クラスターは、北海道西部に生息する他の形態グループの一部から急速な遺伝的変化を伴って分化したこと明らかにした。

さらに、これらの結果に基づき、オオヨモギハムシ種群が厳密に側所的に分布する多数の半種 (semispecies) からなる上種 (superspecies) であること、および、隣接する構成メンバーの分布境界の少なくとも一部は、外部からの正常個体の加入と交雑によって生じた雑種の淘汰によって平衡している特殊なタイプの交雑帯 (tension zone) である可能性が高いことを示した。

本研究はオオヨモギハムシ種群という極めて複雑な地理変異を持つ生物を取り扱い、ほとんど解明されていなかった形態形質の地理的変異パターンを適切な多変量解析の手法を用いてほぼ完全に解明した。著者の採用した手法は最新の信頼の置けるものであり、本研究は地理的変異の研究としては国際的に見ても他に類例を見ない精緻な内容である。さらに、本研究によって著者はオオヨモギハムシ種群が生物の異所的・側所的種分化モデルを研究する大変有用な材料であることが明らかにしたが、これは将来のこの分野の研究の発展に寄与するところが大きい。このように、これらの基礎的研究は生物学、進化学への貢献が大きく、審査員一同は著者が北海道大学博士 (理学) の学位を授与される十分な資格があるものと認定した。