

Genetic variations of egg size and its reaction norms in the skipper butterfly, *Parnara guttata guttata* (Lepidoptera : Hesperiiidae)

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2019-03-22 キーワード (Ja): キーワード (En): egg size, seasonal adaptation, genetic variation, phenotypic plasticity 作成者: 世古, 智一 メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24514/00001643

イチモンジセセリ *Parnara guttata guttata* の卵サイズ およびその表現型可塑性の変異に関する研究

世古智一

Key words : egg size, seasonal adaptation, genetic variation, phenotypic plasticity

目 次

I 緒 言	15	ズの違いが1 齢幼虫の生存に及ぼす影響	19
II 材料及び方法	16	2 同じ環境条件下で卵サイズの違いが個体	
1 異なる日長・温度条件下における卵サイ		の生存や発育に及ぼす影響	21
ズの違いが1 齢幼虫の生存に及ぼす影響	16	3 卵サイズおよびその表現型可塑性におい	
2 同じ環境条件下で卵サイズの違いが個体		て維持される遺伝的変異	22
の生存や発育に及ぼす影響	18	IV 考 察	23
3 卵サイズおよびその表現型可塑性におい		V 摘 要	26
て維持される遺伝的変異	18	謝 辞	27
III 結 果	19	引 用 文 献	27
1 異なる日長・温度条件下における卵サイ		Summary	33

I 緒 言

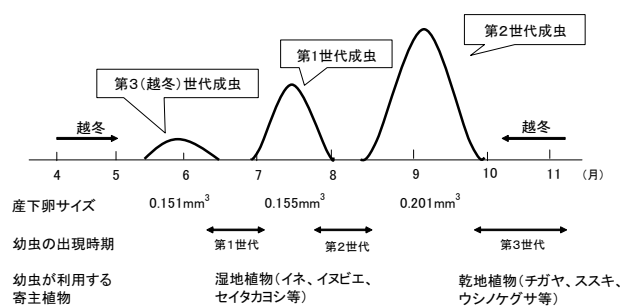
ある形質において、自然選択による集団中の遺伝的構成の変化（進化）が起きるには、表現型の違いが適応度（次世代に残せる子の数）の差として現れること、形質に変異が存在すること、そしてその変異がある程度遺伝的要因によって生じていることが必要である^{1, 33, 37, 43, 67, 77}。一般に適応度に影響する形質では、環境に不適応な形質を伴う個体は淘汰されるので、集団中の遺伝的変異は小さくなると予測される^{20, 49}。ところが実際には、適応度に関連する多くの形質においてかなりの遺伝的変異が観察されている^{9, 24, 48, 61, 70, 80, 92, 95}。自然選択の対象となる形質になぜ遺伝的変異が維持されるのかという問題は、形質のみでなくその表現型可塑性の進化にも重要なテーマである。

表現型可塑性とは、遺伝子型が同一であるにもか

かわらず環境の違いに応じて異なった表現型が作られることで^{73, 97}、昆虫では翅多型や季節型および光周期による休眠誘導など、季節的な環境変化への適応に関連すると考えられている^{33, 34, 62, 93}。表現型可塑性にもその反応の量や方向（反応規範）に変異があって、その中で適応度の高い反応規範をもつ個体が集団中に増加するという過程を通じて進化すると考えられる³⁵。一方、集団中における反応規範の遺伝的変異、すなわち遺伝子型と環境間の相互作用もまた、多くの生物で報告されている^{4, 7, 24, 27, 32, 65, 79, 85, 87, 95, 99}。このテーマを検証するには、観察される形質およびその表現型可塑性が適応度に影響すること、そして実験室内で多数のブルード（同一の両親由来の子）を複数の環境条件下に分けて飼育し、反応規範をブルードごとに求めるsplit-broodデザインという実験ができる研究材料が必要となる。しかし、これらの条件を満たす生物は多くないため、理論に対する実証研究の数が不足している。

（平成19年9月11日受付，平成19年12月11日受理）

地域基盤研究部



第1図 イチモンジセセリの季節消長と、各世代の産下卵サイズおよび寄主植物。

注) 産下卵サイズは Nakasuji and Kimura (1984) のデータから計算した。

セセリチョウの一種であるイチモンジセセリ *Parnara guttata guttata* は日本各地に生息しており、東日本および西日本では年間3世代発生する。終齢の5齢幼虫はイネの葉を暴食し、北日本や東日本では甚大な被害をもたらすことがある^{17, 63, 90, 101}。イネをはじめマコモやヨシなど湿地に生息する植物を寄主とするのは6月に発生する第1世代、および7月下旬から8月にかけて発生する第2世代の幼虫である。一方、秋から翌年の春にかけて幼虫の形態で過ごす第3（越冬）世代の幼虫はこれまでの世代で利用していた多くの寄主植物が枯れてしまうため、チガヤやススキ等の乾燥地に生える植物を利用する⁵⁰（第1図）。

本種では世代間で著しい卵サイズ変異が観察されており、第3世代および第1世代の成虫は小型の卵を産み、第2世代成虫は大型の卵を産む^{53, 56}。小さな卵から孵化した幼虫は、イネ等の柔らかい湿地性グラスは摂食できるが、チガヤ等の葉の硬い乾燥地性グラスを摂食することは難しい⁴¹。卵サイズが大きいと孵化幼虫の頭幅も大きくなり⁴⁷、硬い乾燥地性グラス葉でも摂食することが可能になる。そのため、イチモンジセセリの世代間で見られる卵サイズ変異は、寄主植物の質の季節的变化に対する適応の結果として考えられる^{53, 54}。

本種の幼虫を異なる日長または温度条件で幼虫を飼育すると卵サイズが大きく異なる^{29, 53, 55}。そのため野外で観察される世代間の卵サイズ変異は、日長や温度などの環境シグナルを合図に発動する表現型可塑性に起因すると予測される。また本種の卵サイ

ズは世代間で異なる一方で、同じ世代の同じ集団中における母親間でもかなり異なっている²⁹。これは集団中における卵サイズまたは卵サイズの表現型可塑性にかなりの遺伝的変異が維持されている可能性を示す。これらの事象は、選択の対象であるはずの形質になぜ遺伝的変異が維持されるのかというテーマの究明に、本種が優れた研究材料であることを示すものである。

ここではイチモンジセセリにおいて、（1）日長および温度変化に誘導される卵サイズ可塑性が、野外で観察される卵サイズの世代間変異を形成する主要因であるのか、（2）世代間または同じ世代内での卵サイズの違いは個体の生存や発育にどれほど影響するのか、（3）そして卵サイズまたはその表現型可塑性において集団中にどの程度の遺伝的変異が維持されているのかについて一連の研究結果を紹介し、卵サイズやその表現型可塑性の遺伝的変異が集団中に維持される諸要因について考察する。

Ⅱ 材料及び方法

1 異なる日長・温度条件下における卵サイズの違いが1齢幼虫の生存に及ぼす影響

1) ストックカルチャー

イチモンジセセリのストックカルチャーを、中筋・本多⁵⁹に基づき以下のように確立した。2003年7月に奈良（大和高田市；北緯34°31′，東経135°44′）でイチモンジセセリ成虫約50頭を採集し、プラスチック製の昆虫飼育ケージ（25×35×35cm）に入れて、プラスチックのポット（直径10cm，高さ8cm）に植えたイネの芽出し苗（芽の出た種子をトレーに播種後およそ2週間経過したもの）に産卵させた。孵化した幼虫は、日長L/D16:8，温度25℃条件下で、イネの芽出しを入れたトレー（底辺24×24cm，高さ30cm）に移し、トレー1枚当たり30～40頭の密度で飼育した。羽化した成虫は、餌として10%蜂蜜を擬花（針金にエッペンドルフチューブを取り付けたもの）に入れて与え、集団で交尾、産卵させた。ストックカルチャーは毎世代100頭前後で維持し、ストックカルチャーを確立して5世代目の個体を実験に使用した。

2) 羽化率および発育日数

各世代が経験する環境条件における幼虫の生存率および発育日数を調査するため、ストックカルチャーから孵化幼虫を無作為に選抜し、小さなプラスチックカップ（直径4.5cm，高さ3.5cm）で個体飼育を行った。環境条件は、L D16：8・25℃，L D14：10・25℃およびL D14：10・20℃の3つを用意し、これらの条件下でそれぞれ50，47，および49頭の幼虫を飼育した。これらの処理条件はそれぞれ第1世代，第2世代および第3世代の幼虫が経験する日長および温度条件に相当する。それぞれのカップの底に水で湿らせた濾紙を敷き，その上に餌としてイネの芽出し苗を切って入れた。餌の交換は1日おきに行い，その都度幼虫の生存，発育日数を記録した。

3) 体サイズおよび繁殖形質

次に繁殖形質および体サイズを上記の2)と同様の処理条件間で比較するため，ストックカルチャーから1齢幼虫を無作為に選抜し，プラスチック容器（25×17×8cm）あたり40頭の密度で飼育した。処理条件は，越冬時の休眠が卵サイズに及ぼす影響を考慮するため，上記の3つに加えて第3世代に相当するもう1つの処理条件（L D12：12・20℃）を用意した。蛹化後18～24時間の間に，電子天秤で体サイズの指標となる蛹重を測定し（4503MP6E，ザルトリウス，東京），全ての蛹をL D16：8・25℃の条件で保存した。成虫が羽化した後，雌成虫を4℃下に1時間置いて麻酔し，後翅にマジックペンで個体識別用のマークを記した。成虫の飼育は，いずれの処理条件のものもL D16：8・25℃下で，プラスチックケージ（25×35×35cm）内にて雌雄20頭ずつの密度で行った。雄と交尾した雌を，それぞれイネの芽出し苗を入れた成虫用の個体飼育容器（直径8cm，高さ18cmの円筒の上面にナイロンゴースを貼りつけ内面に擬花を取り付けたもの）に隔離して産卵させた。産卵開始から1～2日目に雌1頭あたり30個の卵を無作為に採取した。卵サイズは，卵の形を半球楕円体と仮定し，直径（ d ）と高さ（ h ）をビデオマイクロメーター（VM-60，オリンパス，東京）付きの顕微鏡で測定し，その体積（ V ）を式 $V = \pi d^2 h / 6$ から算出した。それぞれの雌の死亡後に，生涯産卵数を測定した。

4) 1 齢幼虫の生存率

上記3)のL D16：8・25℃，L D14：10・25℃およびL D14：10・20℃の処理条件の雌成虫からそれぞれ70個の卵を無作為に選抜し，水で湿らせた濾紙を敷いたペトリ皿（直径9cm，高さ2cm）に入れた。全ての処理条件において，卵の孵化率は90%以上であった。日長16：8，温度25℃下で，それぞれの母親由来の孵化幼虫を30頭ずつ，生育段階の違いで葉の硬さが異なる2つのタイプのイネの葉，2週間葉と6週間葉を与えて飼育した。2週間葉は発芽後2週間経過したイネであり，6週間葉は6月中旬に水田に移植してから6週間経過したものである。2週間葉と6週間葉の硬さを硬度測定装置（MODEL-1308，9501B，9502B，アイコーエンジニアリング，東京）を使って計量した。葉の硬さは，直径0.75mmの針が葉を貫通するのに必要な圧力（newtons，N）として算出した。針の先は葉の主脈を避けるように照準を合わせた。同じ葉で2カ所測定し，それぞれ30葉のサンプルを得た。野外において，2週間葉は第1世代の孵化幼虫が利用する生育段階のものであるのに対し，6週間葉は第2世代の孵化幼虫が利用する生育段階にあたる。

1つのプラスチックカップ（直径6cm，高さ3cm）あたり10頭の孵化幼虫を導入し，それぞれのタイプの葉の先端を与えて飼育した。水で湿らせた濾紙をプラスチックカップの底に敷いた。2日おきに餌を交換する際，1齢期における幼虫の生存・死亡を確認し記録した。

5) 統計解析

それぞれの雌から産まれた卵の数と1齢幼虫生存率の積を適応度として定義し，処理条件間で比較した。処理条件間における幼虫の羽化率は χ^2 検定，発育日数はSteel-Dwass検定により比較した。処理条件間の卵サイズの違いは，卵サイズを目的変数，母親をランダム効果，処理条件を固定効果とする分散分析によって検定し（RandomステートメントおよびTestオプション付きのSASプロシジャGLM），卵サイズの最小二乗平均をBonferroni不等式に基づく多重t検定によって比較した。1齢幼虫の生存率を2週間葉と6週間葉間で，アークサイン変換後にWilcoxonの符号順位検定によって比較した。2つの

タイプの寄主それぞれにおいて、処理条件内の各母親の卵サイズの最小二乗平均とその1齢幼虫の生存率の関係を検証するためにSpearmanの順位相関(r_s)を算出した。処理条件間の適応度の順位が葉の硬さの違いによって異なるかどうか(すなわち相互作用がある)をテストするために、2元配置分散分析を行った。

2 同じ環境条件下で卵サイズの違いが個体の生存や発育に及ぼす影響

1) スtockカルチャー

1998年8月から9月にかけて、岡山の野外でイチモンジセセリ成虫を約50頭採集し、実験1と同様の方法でstockカルチャーを確立した。stockカルチャーは毎世代100頭前後で維持し、stockカルチャーを確立して5世代目の個体を実験に使用した。stockカルチャー、および以下に示す実験に用いた個体は、第1世代幼虫が経験するLD16:8・25℃下で飼育した。

2) 親世代

同じ世代における卵サイズの違いが適応度成分に影響を及ぼすかどうかを調査するために、以下のような実験を行った。はじめに、複数の雌成虫の産下卵をサイズ別に2つのグループに分けた(親世代)。つぎに、各グループの孵化幼虫を個体飼育し、適応度に関連する形質である生存率、発育日数、体サイズ、産卵数、および産下卵サイズをそれぞれのグループ間で比較した(子世代)。

親世代の幼虫はstockカルチャーから無作為に選抜し、LD16:8・25℃下で昆虫飼育ケージあたり20頭の密度で飼育した。成虫を集団交尾させ、イネの芽出し苗に産卵させた。卵を産み始めた成虫を、成虫用の個体飼育容器に隔離した。

集団交尾の結果、合計で25頭の雌が交尾し、それぞれの雌において産卵開始後1日目および2日目に産んだ50個の卵のサイズを計測した。これらの卵を2つのグループ、すなわち卵サイズが0.19mm³以上のもの(Lグループ)と0.16mm³以下のもの(Sグループ)に分割した。残りの0.16mm³以上0.19mm³以下のサイズのもの、卵サイズが適応度成分に及ぼす影響を検出するために除外した。Sグループの平均卵サ

イズは0.149mm³で、Lグループのものは0.202mm³であった。これらの値は、第1世代および第3世代成虫が産む卵のサイズ(0.15mm³)と第2世代成虫が産む卵のサイズ(0.20mm³)にそれぞれ相当する⁵³⁾。測定した全ての卵サイズ中、Lグループは23.7%、Sグループは22.2%を占めていた。選抜した卵は孵化するまで水で湿らせた濾紙上で保存した。両グループの孵化率はどちらもおよそ90%程度であった。

3) 子世代

孵化幼虫は個々にプラスチックカップの中に入れ、発芽から約2週間経過したイネの葉を餌として与えて飼育した。湿度を保つため湿らせた濾紙をカップの底に敷いた。餌は1~2日おきに交換し、その都度、発育日数(幼虫期および蛹期)と羽化率を記録した。蛹化後1日後に自動天秤(エーアンドデー、FX-300N)で蛹重を測定した。羽化後、個体識別のためマジックペンで雌の後翅にマークを付け、グループごとに成虫飼育ケージ内に入れた。Lグループでは31頭の雌が、Sグループでは33頭の雌が交尾した。交尾した雌は成虫用の個体飼育容器に隔離し、産卵させた。各雌の産卵数と50個の卵のサイズを親世代同様に測定した。

4) 統計解析

グループ間において、生存率は χ^2 検定、蛹重および産卵数はStudentのt検定、発育日数はMann-WhitneyのU検定によって比較した。卵サイズの違いは、卵サイズを目的変数、母親をランダム効果、処理条件を固定効果とする分散分析によって検定した(RandomステートメントおよびTestオプション付きのSASプロシジャGLM)。

3 卵サイズおよびその表現型可塑性において維持される遺伝的変異

1) スtockカルチャー

2000年8月下旬から9月上旬にかけて岡山の野外で採集したイチモンジセセリ成虫約50頭を昆虫飼育ケージ内で産卵させ、その後実験1および2と同様の方法でstockカルチャーを維持した。幼虫は30~40頭の密度で飼育し、stockカルチャーは毎世代100頭前後で維持した。野外から採集後、3~5世代目

の個体を実験に使用した。

2) 親世代

ストックカルチャーより得た孵化幼虫を、LD 16: 8・25℃下において30頭の一定密度条件下で飼育した(親世代)。蛹化を確認してから24時間後に、蛹重を自動天秤(FX-300N, エーアンドデー社製)で測定した。羽化後、成虫を1時間程4℃下に置き、個体ごとにノギスを用いて体サイズの指標となる前翅長を測定しマジックペンで個体識別マークを後翅長に記した。親世代成虫は性別にケージ内で飼育し、餌はストックカルチャー同様に10%蜂蜜水溶液を与えた。夕方から夜にかけて、性別に飼育していた雌雄を同じケージに入れ、集団交尾を行わせブルードを確立した。交尾個体を確認し、交尾後雌個体を成虫用の個体飼育容器に隔離して産卵させ、卵のサイズと産卵数を測定した。卵サイズは1雌あたり産卵開始から1～2日目に産んだ卵を無作為に採取して50個の卵のサイズを測定した。

3) 子世代

上記2)の親世代から得られた孵化幼虫を、ブルードごとに以下の3つの処理条件に30頭ずつ分け、split-broodデザイン実験を行った(子世代)。処理条件はそれぞれ、LD 16: 8・25℃、LD 14: 10・25℃、LD 16: 8・20℃である。親世代と同様に前翅長を測定し、各雌成虫に個体識別マークを記した。子世代成虫は雌雄を隔離せず、ブルードごとに同一ケージ内で飼育、交尾させた。羽化後の交尾および産卵はいずれの処理条件の個体もLD 16: 8・25℃条件下で行わせた。交尾後、雌成虫を隔離して産卵させ、1雌あたり30個の卵のサイズと産卵数を測定した。卵サイズは親世代では1頭の雌の産んだ50卵、子世代では30卵の平均値をその雌の卵サイズとし、それ以上産まなかった雌は分析から除外した。

親世代として測定されたもののうち、全部で24対のブルード集団を確立した。その中で産卵数が少なかったものについては、孵化幼虫を3つの処理条件に分割せず、2処理条件(LD 16: 8・25℃とLD 14: 10・25℃、またはLD 16: 8・25℃とLD 16: 8・20℃の組み合わせ)、または1処理条件(LD 16: 8・25℃のみ)で飼育した。したがって、LD

16: 8・25℃は24対、LD 14: 10・25℃では10対、LD 16: 8・20℃では9対のブルードにおけるデータセットに基づき次の事項について分析した。

4) 統計解析

各形質間(卵サイズ、産卵数、および前翅長)の表現型相関(r_p)を処理条件ごとに推定した。各形質の狭義の遺伝率(h^2)を、LD 16: 8・25℃で飼育した親と子の回帰により推定した。卵サイズと産卵数については母親-娘のみの回帰を行った。前翅長については分散値が雌雄間で異なっていたため(ANOVA, $F = 851.15$, $df = 1$, $P < 0.0001$)、父親-息子、父親-娘、母親-息子、母親-娘の4通りの回帰分析を行い、父親-娘および母親-息子の回帰係数は雌雄の標準偏差の比によって補正した²⁰⁾。遺伝相関(r_g)は、LD 16: 8・25℃で飼育した親と子のデータ平均から推定した^{20, 40)}。また子のブルード平均を用いて、各処理条件の形質間の遺伝相関を推定した⁴⁰⁾。ブルード間で日長または温度に対する反応が異なるかどうかを検証するために遺伝子型×環境相互作用を調査した。日長および温度を固定効果、ブルードをランダム効果として混合モデル分散分析を行った¹⁰²⁾。表現型相関(r_p)および遺伝相関(r_g)はPearsonの積率相関係数として算出した。その有意性は相関係数をZ変換しc-検定を行うことによって分析した。

Ⅲ 結 果

1 異なる日長・温度条件下における卵サイズの違いが1齢幼虫の生存に及ぼす影響

1) 羽化率および発育日数

LD 16: 8・25℃、LD 14: 10・25℃、LD 14: 10・20℃の3つの処理条件間で幼虫の個体飼育を行い、羽化率と発育日数を比較した。3つの処理条件間で羽化率に差は見られなかった(第1表, $\chi^2 = 0.361$, $P > 0.05$)。幼虫期および蛹期の日数は、3つの処理条件間で全て有意な差が見られた(第1表, $P < 0.05$)。

2) 体サイズおよび繁殖形質

上記の3つの処理条件およびLD 12: 12・20℃下

第1表 処理区間の羽化率および発育日数の比較 (平均±SD)

処理条件	羽化率		発育日数							
			雄				雌			
	n		n	幼虫期	蛹期	合計	n	幼虫期	蛹期	合計
LD16:8・25℃	50	0.84 a	20	15.9±0.7 a	7.8±0.6 a	23.7±1.0 a	22	16.5±0.7 a	7.6±0.7 a	24.2±1.0 a
LD14:10・25℃	47	0.83 a	17	19.0±1.8 b	9.2±0.4 b	28.2±1.9 b	22	20.1±1.0 b	9.0±0.5 b	29.1±0.9 b
LD14:10・20℃	49	0.82 a	13	27.0±1.8 c	17.2±0.7 c	44.2±2.0 c	27	28.9±2.1 c	16.6±0.9 c	45.5±2.3 c

注) 異なる英文字の付した数値間に有意差があることを示す ($P<0.05$)

で幼虫を集団飼育し、繁殖形質および体サイズを比較した。LD12:12・20℃下の幼虫発育日数(雄: 86.63 ± 6.78 日; 雌: 86.39 ± 6.80 日, 平均±標準偏差)がLD14:10・20℃下のもの(雄: 28.54 ± 2.83 日; 雌: 30.53 ± 2.38 日)よりも大幅に長くなったことから, LD12:12・20℃の処理条件で幼虫の休眠を確認した。分散分析から卵サイズにおいて処理条件間に有意な違いがみられた(第2表, $P<0.001$)。蛹重には雌雄とも, LD14:10・25℃, LD14:10・20℃およびLD12:12・20℃間で差がなかった。これらの処理条件の蛹はLD16:8・25℃のものよりも有意に大きくなった(第3表, $P<0.0083$)。LD14:10・25℃下の卵サイズは, 他の処理条件のものよりも有意に大きくなった(第3表, $P<0.0083$)。LD14:10・20℃, LD12:12・20℃およびLD16:8・25℃の処理条件間では, 卵サイズにおいて

有意な違いはなかった(第3表, $P>0.0083$)。産卵数はLD12:12・20℃下で最も多く, 次いでLD14:10・20℃, LD16:8・25℃およびLD14:10・25℃の順になった(第3表)。

3) 1 齢幼虫の生存率

葉の硬さは2週間葉 ($n=30$) と6週間葉 ($n=30$) 間で有意に異なった(それぞれ $0.065\pm0.033N$ と $0.166\pm0.093N$, 平均±標準偏差, $df=1$, $F=63.34$, $P<0.0001$, 分散分析)。LD16:8・25℃とLD14:10・25℃の処理条件由来の孵化幼虫における1 齢幼虫生存率は寄主間で違わなかったが, LD14:10・20℃においては有意に異なった(第4表, $P<0.01$)。卵サイズと生存率の間のSpearmanの順位相関 (r_s) は, 全ての処理条件の2つのタイプの寄主上で正であったが, その差は有意ではなかった($P>0.05$)。適応度は2週間葉と6週間葉ともにLD14:10・20℃で最も大きく, 次いでLD16:8・25℃およびLD14:10・25℃の順であった(第2図)。処理条件間の適応度の順位が葉の硬さの違いによって異なるかどうかを2元配置分散分析によって解析したが, 各処理条件の適応度と葉の硬さ間に

第2表 分散分析によるイチモンジセサリの卵サイズにおける処理区および母親の影響の解析

要因	df	MS	F
処理条件	3	0.14836	15.75***
母親	61	0.00942	23.11***
残差	1885	0.00041	-

注) *** $P<0.001$

第3表 幼虫期の異なる日長・温度条件下における雌の産下卵のサイズと数, および体サイズの比較

処理条件	蛹重(mg) (平均±SD)		産卵数(平均±SD)	卵サイズ(mm ³)	
	雄	雌		処理条件 ²⁾	野外 ³⁾
				(最小二乗平均±SE)	(平均)
LD14:10-20°C (第3世代に相当) ¹⁾	n=59 298.2±37.9 a	n=44 330.0±42.8 a	n=22 151.7±39.9 a	n=660 0.183±0.0038 a	n=50 0.151
LD12:12-20°C (第3世代に相当) ¹⁾	n=24 319.1±38.6 a	n=28 333.1±32.3 a	n=13 201.9±41.2 b	n=390 0.186±0.0049 a	
LD16:8-25°C (第1世代に相当)	n=31 250.6±35.9 b	n=32 298.5±31.9 b	n=20 136.4±36.9 ac	n=600 0.194±0.0040 a	n=50 0.155
LD14:10-25°C (第2世代に相当)	n=37 296.8±38.9 a	n=30 337.6±43.9 a	n=10 104.1±22.7 c	n=300 0.228±0.0056 b	n=50 0.201

注1) LD12:12・20℃及びLD14:10・20℃の処理条件は, 第3世代の幼虫がそれぞれ越冬前および越冬後の野外で経験する条件に相当

2) 誤差項として処理条件内の母親におけるタイプⅢの平均平方を用いて標準誤差を算出 (LSMEANSステートメントおよびSTDERRオプション付きのSASプロシジャGLMを使用)

3) これらの卵サイズの平均値はNakasuji and Kimura (1984) のデータから算出

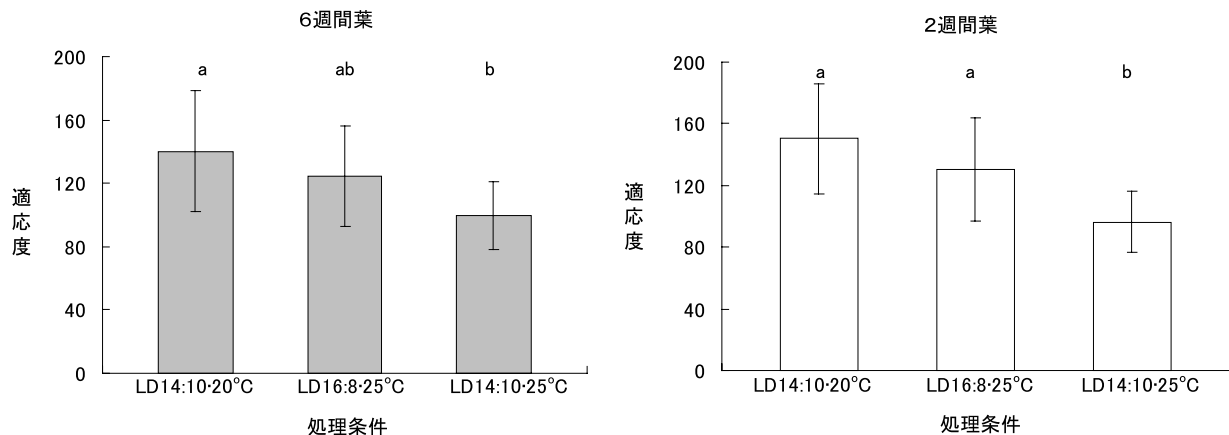
第4表 各処理条件の2週間葉および6週間葉のイネ間における1齢幼虫生存率の比較

親の処理条件	LD14:10・20°C	LD16:8・25°C	LD14:10・25°C
ブルード数	n=18	n=19	n=10
2週間葉	0.97 (0.79-1.00)	0.97 (0.80-1.00)	0.95 (0.73-1.00)
6週間葉	0.92 (0.63-1.00)	0.97 (0.70-1.00)	0.96 (0.93-1.00)

注) 生存率は中央値(範囲)で表示, NS $P>0.05$, ** $P<0.01$

第5表 LグループおよびSグループ由来の幼虫における1齢幼虫生存率と羽化率の比較

グループ	孵化幼虫数	1齢幼虫生存率	羽化率
L(>0.190mm ³)	167	0.96	0.80
S(<0.160mm ³)	183	0.95	0.69

注) NS $P>0.05$, * $P<0.05$ 

第2図 2週間葉および6週間葉上における処理条件間の適応度比較。

注1) 異なる英文字を付した平均値間には有意差があることを示す (Bonferroni不等式に基づく多重 t 検定)。

2) 適応度は各雌の産んだ卵数とその卵から孵化した幼虫の1齢幼虫生存率の積として定義した。

第6表 LグループおよびSグループより孵化した個体の発育日数および蛹重の比較 (平均±S D)

性	グループ	n	発育日数(日)			蛹重 (mg)
			幼虫期	蛹期	合計	
雄	L	58	17.5±1.5	7.5±0.8	25.3±1.8	229±21.9
	S	68	18.5±2.8	7.9±0.6	26.4±2.3	227±22.1
雌	L	81	19.0±1.7	7.4±0.5	26.6±1.8	258±22.2
	S	62	19.4±2.2	7.6±0.6	27.1±2.5	252±26.1

注) NS $P>0.05$, * $P<0.05$, ** $P<0.01$

相互作用は見られなかった ($df = 2$, $F = 0.29$, $P>0.05$, 分散分析)。

2 同じ環境条件下で卵サイズの違いが個体の生存や発育に及ぼす影響

1) 1齢幼虫期の生存率および羽化率

1齢幼虫期の生存率および羽化率をLグループとSグループ間で比較した(第5表)。1齢幼虫の生存率には2つのグループ間で差がなかった。一方、羽化率はLグループにおいて有意に高くなった(第5表, $P<0.05$, χ^2 検定)。

第7表 LグループおよびSグループより孵化した雌の繁殖形質の比較

グループ	n	産卵数	卵サイズ (mm ³)
L	31	193.1 ± 56.0	0.190 ± 0.02
S	33	171.8 ± 56.8	0.164 ± 0.02

注) NS $P > 0.05$, *** $P < 0.001$

第8表 各形質における狭義の遺伝率 (h^2) ($n = 24$)

形質	性	$h^2 \pm SE$
卵サイズ ¹⁾	—	0.69 ± 0.31 * ⁴⁾
産卵数 ¹⁾	—	0.70 ± 0.28 * ⁴⁾
前翅長 ²⁾	雄	0.34 ± 0.35
	雌	0.71 ± 0.16 *** ³⁾ * ⁴⁾

注1) 卵サイズおよび産卵数の遺伝率は、母親に対する娘の回帰により推定

2) 雌雄の前翅長の遺伝率は、父親および母親に対する子の回帰によってそれぞれ推定

3) 母親-息子の係数, *** $P < 0.001$

4) 母親-娘の係数, * $P < 0.05$

2) 発育日数および体サイズ

羽化するまでの発育日数と蛹重をグループ間で比較した(第6表)。幼虫期はLグループの方が短くなる傾向を示したが、雌雄ともに有意な差はなかった。一方、蛹期は雌雄ともにLグループの方が有意に短くなった(第6表, 雄: $P < 0.01$, 雌: $P < 0.05$)。幼虫期と蛹期を合計して比較すると、雄においてLグループとSグループ間に有意な差が見られた(第6表, $P < 0.05$)。蛹重は2つのグループ間で差は見られなかった。

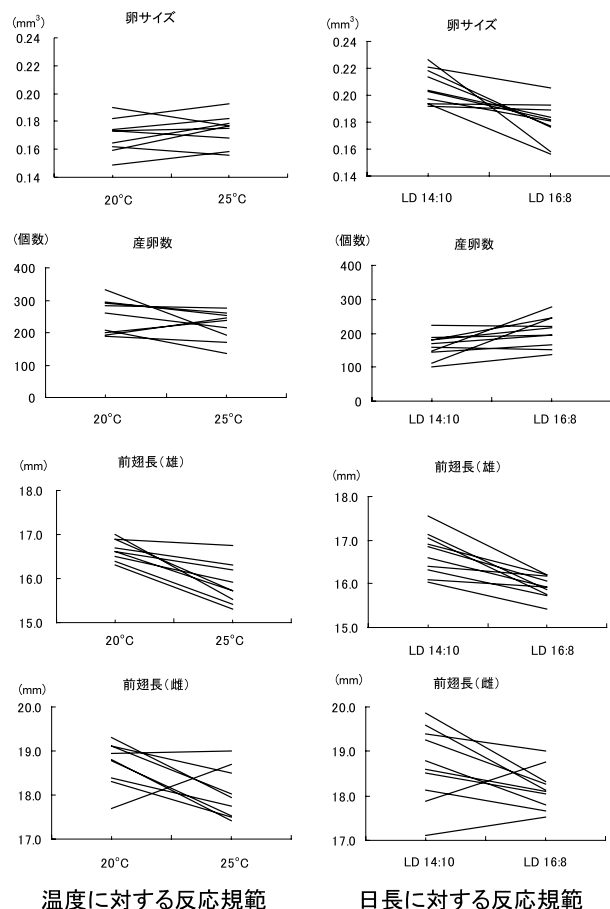
3) 繁殖形質

産卵数は2つのグループ間で異ならなかったが、子世代における卵のサイズはLグループの方が有意に大きくなった(第7表, $df = 1$, $F = 52.87$, $P < 0.001$, 分散分析)。

3 卵サイズおよびその表現型可塑性において維持される遺伝的変異

1) 狭義の遺伝率

卵サイズ、産卵数、前翅長における狭義の遺伝率をLD16:8・25℃下で親子回帰により推定した(第8表)。その結果、卵サイズと産卵数の狭義の遺伝率はゼロよりも有意に大きくなった($P < 0.05$)。前翅長については、母親に対する子の回帰の傾きはゼロよりも有意に大きくなったが($P < 0.05$)、父親



第3図 各形質における日長および温度に対する反応規範。

注) 異なる日長または温度に対する反応をグループ別(それぞれ $n = 10$, $n = 9$)に示す。

に対するそれは有意ではなかった。

第9表 各処理条件における形質間の表現型相関および遺伝相関

形質	処理条件	相関 ¹⁾		
		表現型相関 ²⁾	遺伝相関 ^{1 3)}	遺伝相関 ^{2 4)}
卵サイズ-産卵数	LD 16:8・25°C	-0.190**	-0.960***	-0.027 NS
	LD 14:10・25°C	-0.305*	-	-0.672*
	LD 16:8・20°C	-0.208 NS	-	-0.201 NS
雌前翅長-卵サイズ	LD 16:8・25°C	0.225***	0.190 NS	0.110 NS
	LD 14:10・25°C	-0.431**	-	-0.587 NS
	LD 16:8・20°C	0.120*	-	0.100 NS
雌前翅長-産卵数	LD 16:8・25°C	0.147*	-0.170 NS	0.126 NS
	LD 14:10・25°C	0.293*	-	0.638*
	LD 16:8・20°C	0.172 NS	-	-0.532 NS

注1) 有意性はFisherのZ変換により検定 NS $P > 0.05$, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

2) LD 16:8・25°C: $n = 215$, LD 14:10・25°C: $n = 49$, LD 16:8・20°C: $n = 63$

3) LD 16:8・25°C条件下で親子回帰により推定 ($n = 24$)

4) 子世代のブルード平均を用いてPearsonの積率相関により推定 (LD 16:8・25°C: $n = 24$, LD 14:10・25°C: $n = 10$, LD 16:8・20°C: $n = 9$)

2) 表現型相関および遺伝相関

卵サイズと産卵数間の表現型相関と遺伝相関は、LD 16:8・25°CとLD 14:10・25°Cで有意に負の値を示した(第9表)。雌の前翅長と卵サイズ間の表現型相関はLD 16:8・25°CとLD 16:8・20°Cでは正になる傾向を示す一方、LD 14:10・25°Cでは負の値を示した(第9表)。これらの形質間の遺伝相関はどの処理条件においても有意ではなかった。LD 16:8・25°CとLD 14:10・25°Cにおいて、前翅長と産卵数間で有意な正の表現型相関が見られた(第9表)。LD 14:10・25°C下では、これらの形質間において有意な正の遺伝相関が見られた(第9表)。

3) 遺伝子型×環境相互作用

混合モデル分散分析により、卵サイズと前翅長において有意なブルード×日長(または温度)の相互作用が検出された(第3図:第10表, $P < 0.001$)。いずれの環境要因においても、産卵数には有意な相互作用は見られなかった(第10表)。

IV 考 察

一般に大きい卵から生まれた個体は、小さい卵から産まれたものよりも飢餓、湿度、温度、天敵およ

び寄主条件等の物理的または生物的環境要因に対して、生存や発育に有利な傾向にある²³⁾。しかし親が子へ投資できる資源量は限られており、大きな卵を産むことは必然的に産卵できる卵数を減らすことにつながる^{13, 23, 46, 69, 84)}。そのため、子の生存や発育に不適な環境条件下では大卵を少なく産むように、反対に卵サイズの違いがあまり影響しない好適な環境条件下では小さな卵を多く産むように選択が働き、環境条件によって異なる卵のサイズと数の配分パターンが進化するものと考えられる^{64, 72, 78, 82, 84)}。

寄主植物の葉の硬さや二次代謝産物量および窒素含量等の質の変化は、子の生存や発育に大きく影響する^{6, 11, 21, 57, 75)}。寄主条件の悪い季節や生息環境において産下卵サイズが大きくなる現象はこれまでにいくつかの昆虫類で確認されている^{6, 22, 23, 91)}。このことから、寄主植物のフェノロジーや質の季節的变化は、適応的な表現型可塑性の進化を促進する選択要因の1つとして考えられる。

イチモンジセセリでは、幼虫の寄主植物の葉が柔らかい世代では小さな卵を産み、反対に寄主植物の葉が硬くなる世代では大きな卵を産む⁵³⁾。本研究では、(1)日長条件のみを考慮した実験では野外での世代間変異の傾向⁵⁵⁾と一致しなかったのに対し、温度条件を組み合わせると、野外で観察される卵よりも相対的にサイズは大きいものの傾向が一致する

第10表 混合モデル分散分析を用いた各形質における遺伝子型×環境相互作用の検出

形質	日長に対する反応				温度に対する反応			
	要因	df	MS	F	要因	df	MS	F
卵サイズ	ブルード(B)	9	0.023	41.764***	ブルード(B)	8	0.0356	81.7422***
	日長(D)	1	0.408	17.805**	温度(T)	1	0.0461	2.6921 NS
	BxD	9	0.023	42.367***	BxT	8	0.0171	39.2293***
	残差	3600	0.001		残差	3796	0.0004	
産卵数	ブルード(B)	9	6015.147	2.315*	ブルード(B)	8	18013.14	5.46***
	日長(D)	1	23386.781	4.660 NS	温度(T)	1	16135.81	3.19 NS
	BxD	9	5018.630	1.931 NS	BxT	8	5059.89	1.54 NS
	残差	67	2598.837		残差	97	3293.21	
前翅長 (雄)	ブルード(B)	9	2.421	9.470***	ブルード(B)	8	38.973	14.571***
	日長(D)	1	34.362	33.166***	温度(T)	1	2.837	30.415***
	BxD	9	1.036	4.053***	BxT	8	1.281	6.582***
	残差	231	0.256		残差	266	0.195	
前翅長 (雌)	ブルード(B)	9	5.227	19.433***	ブルード(B)	8	4.169	13.386***
	日長(D)	1	21.598	13.378***	温度(T)	1	36.289	14.440**
	BxD	9	1.562	5.814***	BxT	8	2.513	8.069***
	残差	211	0.283		残差	263	0.311	

注) 日長および温度を固定効果, ブルードをランダム効果として解析, NS $P>0.05$, * $P<0.05$,

** $P<0.01$, *** $P<0.001$

こと(第3表), (2) 大卵を産む処理条件下では産卵数が少なく, 反対に小卵を産む処理条件下では産卵数が多いというトレードオフが観察されること(第3表), (3) 最も卵サイズの小さかった処理条件下ではイネの葉の硬さが孵化幼虫の生存に影響すること(第4表)が示された。2週間葉と6週間葉における生存率の違いは小さかったため, 寄主間で処理条件間の適応度の順位は変更しなかった(第2図)。しかし, 第2世代成虫が産卵するチガヤにおいては, 卵サイズが孵化幼虫の生存に及ぼす影響はさらに大きくなると思われる。また Roff⁶⁹⁾ は Nakasui and Kimura⁵³⁾ のデータをもとにイネとチガヤ間で卵サイズが適応度に及ぼす影響を比較し, イネ上では小卵を, チガヤ上では大卵を産むのが適応的であると議論している。これらの結果は, 本種で観察される卵サイズの世代間変異が, 日長および温度を環境合図として発動する表現型可塑性に起因することを示唆する。本種は, 幼虫期の生存に好適な寄主条件と不適な寄主条件が1年を通じて入れ替わるという状況の下で, 適応度のより高い日長および温度に対する反応規範を持つ個体を選択され, 季節適応としての卵サイズの表現型可塑性が進化したものと考えられる。

イチモンジセセリにおいて, 寄主条件がそれほど変わらないと想定される同じ世代の集団中では, いずれの母親も同じようなサイズの卵を産むと考えら

れる。しかし実際には, かなりの個体間変異が観察されている²⁹⁾。この卵サイズの個体間変異が主に遺伝的要因によって生じている場合, 2つの仮説が想定される。1つは, 寄主条件が同じで同一世代内では卵サイズの違いは適応度に影響しない, すなわち自然選択の対象にならないために遺伝的変異が維持されるというケースである。もう1つは, 個体間の卵サイズの違いは適応度成分に影響する, すなわち卵サイズに作用する自然選択は遺伝的変異を小さくするが, 何らかの要因によってその減少が妨げられているというものである。これらの仮説を検証するには, 同じ世代内の個体間における卵サイズの違いが適応度成分に影響を及ぼすかどうかを調査する必要がある。そこで, 同世代の集団中では環境条件が一定であると仮定し, 卵サイズの違いが幼虫の生存や発育, および雌成虫の繁殖に影響を及ぼすかどうかについて調査した。

第1に, 幼若期を通じての生存率は大卵から生まれた個体の方が高くなった(第5表)。卵サイズの違いは1齢幼虫期の生存率には影響しなかった(第5表)が, これは本実験では葉の柔らかいイネの芽出し苗を餌として使用したためであると考えられる。若齢期の幼虫の生存に対する卵サイズの影響は, より厳しい環境条件下で現れる傾向がある²³⁾。

第2に, 羽化までの発育日数は雄において大卵由来の個体の方が有意に短くなった(第6表)。いく

つかの種において、大きな卵は発育日数の短縮をもたらす^{6, 19, 25, 86}。キイロショウジョウバエ *Drosophila melanogaster* では、大きな卵から孵化した個体は摂食率、すなわち一定時間あたりの摂食量が高い傾向にある³。イチモンジセセリにおいて、1 齢幼虫の頭幅は大きな卵から孵化した幼虫の方がより大きい⁴⁷、大きな卵から孵化した 1 齢幼虫の摂食率がより増加し、その高い摂食率が発育日数の短縮につながった可能性がある。これらの結果は、イチモンジセセリの同じ世代内での卵サイズの違いは、幼虫の生存や発育に影響することを示している。これは本種において、世代間だけでなく同世代の集団中においても、卵サイズは自然選択の対象であることを示唆する。

本種の大きな卵から生まれた個体は大きな卵を産む傾向を示した（第 7 表）。これは本種の個体間の卵サイズ変異が主に遺伝要因によって生じている可能性を示す。しかし、大きな卵由来の雌は小さな卵から孵化したものよりも多くの繁殖資源を得ることができ、その結果卵 1 個あたりの資源配分量が増加した可能性がある。このような母親が子に及ぼす非遺伝的な効果による幼虫期のエネルギー蓄積の違いは、羽化後の成虫の繁殖に影響を与える^{20, 24, 30, 66}。そこで狭義の遺伝率を推定したところ、卵サイズにおいて高い値を示した（第 8 表）。これは、イチモンジセセリの卵サイズにかなりの遺伝的変異が維持されていることを示唆している。

また日長および温度に対する卵サイズの反応規範において、遺伝子型×環境相互作用が検出された（第 10 表、第 3 図）。遺伝子型×環境相互作用は、遺伝子型間における環境変化に対する可塑的反応の変異を意味する^{20, 40, 43}。厳密に遺伝子型×環境相互作用の大きさを測るには環境間の遺伝相関を推定する必要があるが^{40, 96, 98}、この結果はイチモンジセセリの卵サイズ可塑性にある程度の遺伝的変異が維持されていることを示唆する。本種と同様に、寄主植物の質的变化に適応するために卵サイズ可塑性が進化したと考えられるマメゾウムシの一種 *Stator limbatus* においても、遺伝子型×環境相互作用が検出されている²⁴。適応度に深く関与する形質において遺伝的変異が維持される諸要因は、これまでにいくつか提唱されており^{66, 68, 77, 84, 100}、そのうち拮抗

的多面発現および環境の異質性が本種の卵サイズの遺伝的変異を維持するのに主要な役割を果たしている可能性がある。

拮抗的多面発現とは、ある遺伝子がある形質を通じて適応度に正の効果をもたらす一方、もう 1 つの形質を通じて負の効果をもたらすことを指す^{5, 12, 20, 68, 69, 71, 84}。実際に大きな遺伝的変異が維持される形質は、適応度に関連する別の形質と負の遺伝的関係を持つ傾向にある^{9, 48, 61, 70, 92}。卵サイズもまた適応度に関連する生活史形質であり、産卵数とは遺伝的にトレードオフの関係にあることがいくつかの生物で確認されている^{13, 16, 74, 83, 88}。

本研究において、第 1 世代と第 2 世代に相当する処理条件下で卵のサイズと数の間に負の遺伝相関が検出されている（第 9 表）。これらの形質間における遺伝的レベルのトレードオフは、多くの生物に見られる普遍的な性質であるものと考えられる。シロイヌナズナ *Arabidopsis thaliana* の開花調節の役割を持つ遺伝子は、開花制御と乾燥耐性の両方に多面発現効果を持っており⁴⁵、これは開花を決定する表現型可塑性が他の形質との遺伝相関によって制約を受けている可能性を示す⁸⁹。イチモンジセセリの卵サイズ可塑性に関わる遺伝子の発現も、産卵数等の別形質との遺伝相関の制約を受けている可能性がある。拮抗的多面発現は、表現型可塑性の進化を制限する遺伝的コストの 1 つとして議論されている¹⁵。

子のサイズと適応度成分との関係は、時間的または空間的に変動する環境条件によって異なることがあり、環境の異質性によって生じる選択の方向の変化は遺伝的変異の維持をもたらす^{26, 44, 67}。環境の異質性に関連する次の 2 つの要因が、イチモンジセセリの卵サイズにおける遺伝的変異の維持に貢献している可能性がある。

1 つめは、予測の困難な寄主条件である。寄主植物の葉の硬さは、世代間だけでなく、同じ世代内においてもかなりのばらつきが見られる^{52, 76}。その季節的变化は、日長や温度を環境合図として利用することによって予測可能である。一方で、同じ世代内でも寄主植物の違い、あるいは同一寄主でも生育段階の違いによって寄主の質は大きく異なる可能性がある。遺伝子型×環境相互作用の存在は、ある環境においては最適な遺伝子型でも、別の環境下では最適で

はないことを意味する、すなわち遺伝子型間の適応度の順位が環境によって異なることを示す^{20, 28, 40}。本種の卵サイズで観察された遺伝子型×環境相互作用は、同一世代内では寄主条件あるいはその他の本種の生存や発育に影響する環境要因が不確実に変動するために、最適な卵サイズまたはその可塑性の発現を支配する遺伝子型間で、適応度の順位が年によって変更することを示唆している。そのような選択の方向の変化は、遺伝的変異の減少を妨げる効果があるだろう。この仮説を検証するには、ある集団の同じ世代における寄主植物の質的変異の規模を確かめる必要がある。

2 つめは、卵サイズの集団間変異に関連している。ある集団において失われた遺伝的変異は、異なる選択が作用する別の集団由来の個体の移動による遺伝子交流に伴い回復する可能性がある^{8, 38, 81, 84}。イチモンジセセリにおいて、第2世代成虫は南西方向に移動し^{31, 58, 60}、卵サイズは地域間で大きく異なることが観察されている（世古・中筋、未発表）。移動が行われない第1世代では各地域において局所的な選択がかかり、それぞれの集団中の卵サイズの遺伝的変異は減少すると予測される。その一方で、第2世代の移動は集団間の遺伝子交流の機会をもたらすため遺伝的変異は回復しうる。1年を通じて、遺伝的変異の減少と回復が世代間で繰り返されることによって、卵サイズの遺伝的変異が維持されている可能性がある。

遺伝的変異を維持するその他の要因としては、突然変異、超優性選択、および負の頻度依存選択が挙げられる。突然変異は遺伝的変異を増加させる効果があるので、選択とのバランスによって維持される^{36, 84, 94}。超優性選択は、ヘテロ接合体がいずれのホモ接合体よりも高い適応度を示すために遺伝的変異が維持されるというものである³⁹。突然変異と超優性選択が遺伝的変異を維持する影響については疑問視されているが⁶⁹、その一方で突然変異は反応規範の交差を引き起こす重要な役割を持つとも考えられている²⁷。本種で見られた卵サイズの遺伝子型×環境相互作用も、突然変異を経て部分的に維持されている可能性がある。負の頻度依存選択は、集団中で少数の遺伝子型を持つ個体が有利になる状況があるためにどの対立遺伝子も集団を席捲できずに多型

が維持されるというもので、局所的配偶競争などの性比の問題でよく扱われる^{2, 10, 18}。しかし、卵サイズのように連続的に変異する形質において負の頻度依存選択が遺伝的変異の維持に及ぼす影響は十分に調査されていない⁶⁸。本種において、幼若期の発育日数は長日下の柔らかい葉上では小さい卵由来の個体よりも大きい卵由来の個体の方が短い傾向にある（第6表）。もしこの違いが交尾成功や捕食リスクに影響するならば、負の頻度依存選択が作用する可能性がある。本種の老齢幼虫期および蛹期において、数種の捕食寄生者による死亡率は非常に高いため^{42, 51}、発育日数の短縮が捕食寄生による死亡率の減少につながるのであれば、たとえ小卵を産むのが有利な世代でも、大卵を産む個体が集団中にある程度残されるであろう。

本研究において、イチモンジセセリの卵サイズの世代間変異は、日長および温度依存的に誘導される表現型可塑性に起因すること、そして卵サイズおよびそれらの反応規範にかなりの遺伝的変異が集団中に維持されていることが示唆された。本研究で観察された形質間の遺伝的トレードオフや遺伝子型×環境相互作用は、本種の卵サイズおよびその表現型可塑性の遺伝的変異が拮抗的多面発現や環境の異質性によって集団中に維持されている可能性を示しているが、突然変異や負の頻度依存選択などの関与についても今後検証する必要がある。遺伝的変異を維持するこれらの要因は、本種の卵サイズにおける適応的な表現型可塑性の進化を制限する一方で、分布拡大の際には重要な役割を果たしうる。集団中に維持されている大きな遺伝的変異は、新たな生息環境に適応し定着できる個体を潜在的に維持している可能性がある。

V 摘 要

本研究では、自然選択の対象である卵サイズおよびその表現型可塑性になぜ遺伝的変異が集団中に維持されるのかというテーマを検証するために、世代間で大きな卵サイズ変異が観察されるイチモンジセセリを対象に以下の実験を行った。

1. イチモンジセセリは東日本および西日本では年に3回発生する。その各世代で経験する日長およ

び温度の処理条件で幼虫を飼育し、卵サイズ等の生活史形質を比較した。その結果、最も大きな卵を産む世代に相当する処理条件では大きな卵を少なく産み、反対に最も小さな卵を産む世代に相当する処理条件では小さな卵を多く産んだ。各処理条件で得られた孵化幼虫をそれぞれ2つのグループに分け、発芽後2週間経過した葉が柔らかいイネ、および6月中旬に水田に移植してから6週間経過した葉が硬いイネを与えて生存率を比較した。その結果、最も小さい卵を産んだ処理条件において1齢幼虫の生存率は寄主条件間で異なり、硬い葉を与えたグループで有意に生存率が低下した。これらの結果は、本種で観察される卵サイズの世代間変異は、日長および温度を環境合図として発動する表現型可塑性に起因していることを示唆する。

2. イチモンジセセリの卵サイズは世代間だけでなく、同じ世代内の母親間においても変異する。大卵および小卵から孵化した幼虫を同じ寄主条件で飼育したところ、大卵由来の方が生存率が有意に高く、発育期間が短縮する傾向が見られた。これらの結果は、本種の卵のサイズは世代間だけでなく、同じ世代内でも適応度に影響を及ぼすことを示唆する。次に集団中の卵サイズおよびその表現型可塑性の遺伝的変異の大きさを把握するため、多数のブルード（同一の両親由来の子）を複数の環境条件下に分けて飼育し反応規範をブルードごとに求めるというsplit-broodデザイン実験を行った。狭義の遺伝率を推定したところ、卵サイズにおいて高い値を示した。また日長および温度に対する卵サイズの反応規範において、遺伝子型×環境相互作用が検出された。これらの結果は、本種の卵サイズおよびその表現型可塑性にある程度の遺伝的変異が維持されていることを示唆している。これらの遺伝的変異が維持される要因としては、拮抗的多面発現や環境の異質性が重要な役割を果たしていると考えられる。

謝 辞

本研究の遂行にあたり、直接御指導と御助言を頂

いた岡山大学大学院中筋房夫教授に対し厚く御礼申し上げます。また、岡山大学大学院宮竹貴久准教授、同大学院積木久明教授、京都大学大学院藤崎憲治教授、九州沖縄農業研究センター松村正哉チーム長、大阪府立大学大学院石原道博講師ならびに近畿中国四国農業研究センター三浦一芸主任研究員（広島大学准教授併任）には、本研究の遂行において数多くの御教示を頂いた。ここに厚く御礼申し上げます。またカリフォルニア大学の R. Stouthamer 博士、D. A. Roff 博士、ならびにアリゾナ大学の M. S. Hunter 博士には論文を校閲して頂き、貴重な御助言を頂いた。心より御礼申し上げます。本研究の開始にあたりイチモンジセセリの飼育・実験方法について多くの知識を頂いた東洋産業株式会社水元誠氏、ならびに日本農業株式会社藤岡伸祐氏に厚く御礼申し上げます。本研究において多大な便宜を与えられた野菜茶業研究所大泰司誠上席研究員、ならびに近畿中国四国農業研究センター菊地淳志上席研究員に厚く御礼申し上げます。

引用文献

- 1) Arnold, S. J. 1994. Multivariate inheritance and evolution: A review of concepts. In Quantitative genetic studies of behavioral evolution (Boake, C. R. B. ed.). The University of Chicago Press. Chicago. 17-48.
- 2) Ayala, J. and C. A. Campbell 1974. Frequency dependent selection. Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst. 5: 115-138.
- 3) Azevedo, R. B. R., V. French and L. Partridge 1997. Life-history consequences of egg size in *Drosophila melanogaster*. Am. Nat. 150: 250-282.
- 4) Blanckenhorn, W. U. 1998. Adaptive phenotypic plasticity in growth, development, and body size in the yellow dung fly. Evolution 52: 1394-1407.
- 5) Bochdanovits, Z. and G. de Jong 2004. Antagonistic pleiotropy for life-history traits at the gene expression level. Proc. R. Soc. Lond. B (Suppl) 271: S75-S78.

- 6) Braby, M. F. 1994. The significance of egg size variation in butterflies in relation to hostplant quality. *Oikos* 71: 119-129.
- 7) Brakefield, P. M. and F. Kesbeke 1997. Genotype-environment interactions for insect growth in constant and fluctuating temperature regimes. *Proc. R. Soc. Lond. B* 264: 717-723.
- 8) Bulmer, M. G. 1971. Stable equilibria under the two island model. *Heredity* 27: 321-330.
- 9) Campbell, D. R. 1997. Genetic and environmental variation in life-history traits of a monocarpic perennial: A decade-long field experiment. *Evolution* 51: 373-382.
- 10) Clarke, B. C. 1979. The evolution of genetic diversity. *Proc. R. Soc. Lond. B* 205: 453-474.
- 11) Coley, P. D. 1980. Effects of leaf age and plant life history patterns on herbivory. *Nature* 284: 545-546.
- 12) Curtsinger, J. W., P. M. Service and T. Prout 1994. Antagonistic pleiotropy, reversal of dominance, and genetic polymorphism. *Am. Nat.* 144: 210-228.
- 13) Czesak, M. E. and C. W. Fox 2003. Evolutionary ecology of egg size and number in a seed beetle: Genetic trade-off differs between environments. *Evolution* 57: 1121-1132.
- 14) Danks, H. V. 1994. Diversity and integration of life-cycle controls in insects. In *Insect life-cycle polymorphism* (H. V. Danks ed.). Kluwer academic publishers. Dordrecht. 5-40.
- 15) DeWitt, T. J., A. Sih and D. S. Wilson 1998. Costs and limits of phenotypic plasticity. *TREE* 13: 77-81.
- 16) Ebert, D. 1993. The trade-off between offspring size and number in *Daphnia magna*: the influence of genetic, environmental and maternal effects. *Arch. Hydrobiol.* 4: 453-473.
- 17) 江村 薫 1994. 埼玉県におけるイチモンジセセリ第1世代成虫の発生実態の把握. 関東東山病虫害研究会年報 41: 191-196.
- 18) Endler, J. A. 1988. Frequency-dependent predation, crypsis and aposematic coloration. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B* 319: 505-523.
- 19) Ernsting, G. and J. A. Isaaks 1997. Effects of temperature and season on egg size, hatchling size and adult size in *Notiophilus biguttatus*. *Ecol. Entomol.* 22: 32-40.
- 20) Falconer, D. S. and T. F. C. Mackay 1996. Introduction to quantitative genetics. 4th ed.. Longman. London. 160-334.
- 21) Fitzpatrick, S. M. and J. T. Troubridge 1993. Fecundity, number of diapause eggs, and egg size of successive generations of the blackheaded fireworm (Lepidoptera: Tortricidae) on cranberries. *Environ. Entomol.* 22: 818-823.
- 22) Fox, C. W. 1997. Egg-size manipulations in the seed beetle *Stator limbatus*: consequences for progeny growth. *Can. J. Zool.* 75: 1465-1473.
- 23) Fox, C. W. and M. E. Czesak 2000. Evolutionary ecology of progeny size in arthropods. *Annu. Rev. Entomol.* 45: 341-369.
- 24) Fox, C. W., M. E. Czesak, T. A. Mousseau and D. A. Roff 1999. The evolutionary genetics of an adaptive maternal effect: Egg size plasticity in a seed beetle. *Evolution* 53: 552-560.
- 25) Fox, C. W., M. S. Thakar and T. A. Mousseau 1997. Egg size plasticity in a seed beetle: An adaptive maternal effect. *Am. Nat.* 149: 149-163.
- 26) Frankham, R., J. D. Ballou and D. A. Briscoe 2002. Introduction to conservation genetics. Cambridge University Press. UK. 154-174.
- 27) Fry, J. D., S. L. Heinsohn and T. F. C. Mackay 1996. The contribution of new mutations to genotype-environment interaction for fitness in *Drosophila melanogaster*. *Evolution* 50: 2316-2327.
- 28) Gillespie, J. H. and M. Turelli 1989. Genotype-environment interactions and the maintenance of polygenic variation. *Genetics* 121: 129-138.
- 29) 晴山 睦・佃 律子・中筋房夫 1991. イチモンジセセリの卵サイズ決定要因. 中国昆虫 5:

- 7-14.
- 30) Heath, D. D., C. W. Fox and J. W. Heath 1999. Maternal effects on offspring size: variation through early development of chinook salmon. *Evolution* 53: 1605-1611.
 - 31) 日浦 勇 1973. 海を渡る蝶. 蒼樹書房. 東京. 1-18.
 - 32) Ishihara, M. 2000. Effect of variation in photoperiodic response on diapause induction and developmental time in willow leaf beetle, *Plagioderia versicolora*. *Entomol. Exp. Appl.* 96: 27-32.
 - 33) 石原道博 2002. 生活史の進化. 昆虫と自然 37: 16-20.
 - 34) 石原道博・世古智一 2007. 季節適応としての昆虫の表現型可塑性. 日本生態学会誌 57: 27-32.
 - 35) 工藤 洋 2007. 適応的な表現型可塑性による複数ハビタット利用とハビタット選択. 日本生態学会誌 57: 66-70.
 - 36) Lande, R. 1975. The maintenance of genetic variation by mutation in a polygenic character with linked loci. *Genet. Res.* 26: 221-235.
 - 37) Lande, R. 1979. Quantitative genetic analysis of multivariate evolution, applied to brain: body size allometry. *Evolution* 33: 402-416.
 - 38) Levene, H. 1953. Genetic equilibrium when more than one ecological niche is available. 87: 331-333.
 - 39) Lewontin, R. C., L. R. Ginsburg and S. D. Taljaparkar 1978. Heterosis as an explanation for large amounts of genetic polymorphism. *Genetics* 88: 149-170.
 - 40) Lynch, M. and B. Walsh 1998. Genetics and analysis of quantitative traits. Sinauer Associated, Inc., Sunderland, MA. 657-685.
 - 41) Masuzawa, T., H. Suwa and F. Nakasuji 1983. Differences of oviposition preference and survival rate of two skipper butterflies *Parnara guttata* and *Pelopidas mathias* (Lepidoptera: Hesperidae) on rice plant and cogon grass. *New Entomologist* 32: 47-56.
 - 42) Matsumura, M. 1992. Life tables of the migrant skipper, *Parnara guttata guttata* Bremer et Grey (Lepidoptera: Hesperidae) in the northern peripheral area of its distribution. *Appl. Entomol. Zool.* 27: 331-340.
 - 43) Mazer, S. J. and J. Damuth 2001. Evolutionary significance of variation. In *Evolutionary Ecology Concepts and Case Studies* (C. W. Fox, D. A. Roff, and D. J. Fairbairn eds.). Oxford. NY. 16-28.
 - 44) McGinley, M. A., D. H. Temme and M. A. Geber 1987. Parental investment in offspring in variable environments: theoretical and empirical considerations. *Am. Nat.* 130: 370-398.
 - 45) McKay, J. K., J. H. Richards and T. Mitchell-Olds 2003. Genetic drought adaptation in *Arabidopsis thaliana*: I pleiotropy contributes to genetic correlations among ecological traits. *Mol. Ecol.* 12: 1137-1151.
 - 46) Messina, F. J. and C. W. Fox 2001. Offspring size and number, In *Evolutionary ecology: concepts and case studies* (C. W. Fox, D. A. Roff and D. J. Fairbairn eds.). Oxford University Press. NY. 113-127.
 - 47) 三田村啓三 1956. イチモンジセセリ幼虫の頭部成長について. 応用昆虫 12: 70-75.
 - 48) Mitchell-Olds, T. and D. Bradley 1996. Genetics of *Brassica rapa*. 3. Costs of disease resistance to three fungal pathogens. *Evolution* 50: 1859-1865.
 - 49) Mousseau, T. A. and D. A. Roff 1987. Natural-selection and the heritability of fitness components. *Heredity* 59: 181-197.
 - 50) Nakasuji, F. 1982. Seasonal-changes in native host plants of a migrant skipper, *Parnara guttata* Bremer et Grey (Lepidoptera, Hesperidae). *Appl. Entomol. Zool.* 17: 146-148.
 - 51) Nakasuji, F. 1982. Population-dynamics of a migrant skipper butterfly *Parnara guttata* (Lepidoptera, Hesperidae). 2. Survival rates of immature stages in paddy fields. *Res. Popul. Ecol.* 24: 157-173.

- 52) Nakasuji, F. 1987. Egg size of skippers (Lepidoptera: Hesperidae) in relation to their host specificity and to leaf toughness of host plants. *Ecol. Res.* 2: 175-183.
- 53) Nakasuji, F. and M. Kimura 1984. Seasonal polymorphism of egg size in a migrant skipper, *Parnara guttata guttata* (Lepidoptera, Hesperidae). *Kontyû* 52: 253-259.
- 54) Nakasuji, F., M. Kimura and R. Nishida 1986. Seasonal changes of oviposition-grass preference in a migrant skipper *Parnara guttata guttata* (Lepidoptera: Hesperidae). *Appl. Entomol. Zool.* 21: 171-173.
- 55) Nakasuji, F. and A. Nakano 1990. Flight activity and oviposition characteristics of the seasonal form of a migrant skipper, *Parnara guttata-guttata* (Lepidoptera, Hesperidae). *Res. Popul. Ecol.* 32: 227-233.
- 56) 中筋房夫 1988. チョウの移動と進化的適応. *Spec. Bull. Lep. Soc. Jap.* 6: 211-249.
- 57) 中筋房夫 1988. 共進化はあるか セセリチョウとグラスの進化的かけひき. 中筋房夫編. 昆虫学セミナー1 進化と生活史戦略. 冬樹社. 東京. 197-251.
- 58) 中筋房夫 2004. 季節移動するチョウ. 飛ぶ昆虫, 飛ばない昆虫の謎 (藤崎憲治・田中誠二編). 東海大学出版会. 138-153.
- 59) 中筋房夫・本多八郎 1979. イチモンジセセリの簡易大量飼育法. *応動昆* 23: 118-120.
- 60) 中筋房夫・石井 実 1988. 蝶, 海へ還る. 冬樹書房. 東京. 26-59.
- 61) Nomura, T. and K. Yonezawa 1990. Genetic correlations among life history characters of adult females in the Azuki bean weevil, *Callosobruchus chinensis* (L.) (Coleoptera: Bruchidae). *Appl. Entomol. Zool.* 25: 423-430.
- 62) Nylin, S. 1994. Seasonal plasticity and life-cycle adaptations in butterflies. In *Insect life-cycle polymorphism* (H. V. Danks ed.). Kluwer academic publishers. Dordrecht. 41-67.
- 63) 大友令史・飯村茂之・築地邦晃・川村亮二 1995. 1994年岩手県におけるイチモンジセセリの発生と被害の実態. *北日本病虫研報* 46: 123-126.
- 64) Pianka, E. R. 1970. On r- and K-selection. *Am. Nat.* 104: 453-464.
- 65) Poulton, J. and A. A. Winn 2002. Costs of canalization and plasticity in response to neighbors in *Brassica rapa*. *Plant Species Biology* 17: 109-118.
- 66) Potti, J. 1999. Maternal effects and the pervasive impact of nestling history on egg size in a passerine bird. *Evolution* 53: 279-285.
- 67) Roff, D. A. 1992. The evolution of life histories: theory and analysis. Chapman and Hall. NY. 18-34.
- 68) Roff, D. A. 1997. Evolutionary quantitative genetics. Chapman and Hall. NY. 339-387.
- 69) Roff, D. A. 2002. Life history evolution. Sinauer. Sunderland. MA. 359-458.
- 70) Roff, D. A. and D. J. Fairbairn 1991. Wing dimorphisms and the evolution of migratory polymorphisms among the insecta. *Amer. Zool.* 31: 243-251.
- 71) Rose, M. R. 1982. Antagonistic pleiotropy, dominance, and genetic variation. *Heredity* 48: 63-78.
- 72) Sakai, S. and Y. Harada 2004. Size-number trade-off and optimal offspring size for offspring produced sequentially using a fixed amount of reserves. *J. Theor. Biol.* 226: 253-264.
- 73) Schlichting, C. D. and M. Pigliucci 1998. Phenotypic evolution: a reaction norm perspective. Sunderland. Sinauer Associated, Inc., Sunderland, MA. 51-84.
- 74) Schwarzkopf, L., M. W. Blows and M. J. Caley 1999. Life-history consequences of divergent selection on egg size in *Drosophila melanogaster*. *Am. Nat.* 154: 333-340.
- 75) Scriber, J. M. and J. F. Slanski 1981. The nutritional ecology of immature insects. *Annu. Rev. Entomol.* 26: 183-211.
- 76) Seko, T. and F. Nakasuji 2006. Adaptive significance of egg size plasticity in response

- to temperature in the migrant skipper, *Parnara guttata guttata* (Lepidoptera: Hesperidae). *Popul. Ecol.* 48: 159-166.
- 77) 嶋田正和 2007. 進化の基本法則. 細胞工学別冊 植物細胞工学シリーズ23 植物の進化－基本概念からモデル生物を活用した比較・進化ゲノム学まで. (監修：清水健太郎・長谷部光泰). 秀潤社. 27－34.
- 78) Sibly, R. and P. Calow 1985. Classification of habitats by selection pressures: a synthesis of life cycle and r/K theory. In *Behavioural Ecology* (R. M. Sibly and R. H. Smith eds.). Blackwell. Oxford. 75-90.
- 79) Simizu, T. and S. Masaki. 1993. Genetic variability of the wing-form response to photoperiod in a subtropical population of the ground cricket, *Dianemobius fascipes*. *Zoological science* 10: 935-944.
- 80) Sinervo, B. and P. Doughty 1996. Interactive effects of offspring size and timing of reproduction on offspring reproduction: experimental, maternal, and quantitative genetic aspects. *Evolution* 50: 1314-1327.
- 81) Slatkin, M. 1978. Spatial patterns in the distribution of polygenic characters. *J. Theor. Biol.* 70: 213-228.
- 82) Smith, C. C. and S. D. Fretwell 1974. The optimal balance between size and number of offspring. *Am. Nat.* 108: 499-506.
- 83) Snyder, R. J. 1991. Quantitative genetic analysis of life histories in two freshwater populations of the threespine stickleback. *Copeia*, 1991: 526-529.
- 84) Stearns, G. D. 1992. The evolution of life histories. Oxford University Press. NY. 39-71.
- 85) Steigenga, M. J., B. J. Zwaan, P. M. Brakefield and K. Fischer 2005. The evolutionary genetics of egg size plasticity in a butterfly. *J. Evol. Biol.* 18: 281-289.
- 86) Stewart, L. A., J. L. Hemptinne and A. F. G. Dixon 1991. Reproductive tactics of ladybird beetles - relationships between egg size, ovariole number and developmental time. *Funct. Ecol.* 5: 380-385.
- 87) Stratton, D. A. 1998. Reaction norm functions and QTL-environment interactions for flowering time in *Arabidopsis thaliana*. *Heredity* 81: 144-155.
- 88) Stuefer, J. F., J. B. Van Hulzen and H. J. During 2002. A genotypic trade-off between the number and size of clonal offspring in the stoloniferous herb *Potentilla reptans*. *J. Evol. Biol.* 15: 880-884.
- 89) 杉阪次郎・川越哲博・工藤 洋 2007. 表現型可塑性の分子遺伝学的基盤－シロイヌナズナの開花反応性－. *日本生態学会誌* 57: 48－54.
- 90) 高橋智恵子・城所 隆・星 信幸 2003. 水稻直播栽培におけるイチモンジセセリの被害解析. *北日本病虫研報* 54: 119－122.
- 91) Takakura, K. I. 2004. Variation in egg size within and among generations of the bean weevil, *Bruchidius dorsalis* (Coleoptera, Bruchidae): Effects of host plant quality and paternal nutritional investment. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 97: 346-352.
- 92) Tanaka, Y. 1989. Genetic variance and covariance patterns of larval development in the small white butterfly *Pieris rapae crucivora* Boisduval. *Res. Popul. Ecol.* 31: 311-324.
- 93) Tauber, M. J., C. A. Tauber and S. Masaki 1986. Seasonal adaptations of insects. Oxford. NY. 7-37.
- 94) Turelli, M. 1984. Heritable genetic variation via mutation-selection balance: Lerch' s zeta meets the abdominal bristle. *Theor. Popul. Biol.* 25: 138-193.
- 95) Ueno, H. 2003. Genetic variation in larval period and pupal mass in an aphidophagous ladybird beetle (*Harmonia axyridis*) reared in different environments. *Entomol. Exp. Appl.* 106: 211-218.
- 96) Via, S. 1984. The quantitative genetics of polyphagy in an insect herbivore. I. Genotype-

- environment interaction in larval performance on different host plant species. *Evolution* 38: 881-895.
- 97) Via, S., R. Gomulkiewicz, G. De Jong, S. M. Scheiner, C. D. Schlichting and P. H. V. Tienderen 1995. Adaptive phenotypic plasticity: consensus and controversy. *TREE* 10: 212-217.
- 98) Via, S. and R. Lande 1985. Genotype-environment interaction and the evolution of phenotypic plasticity. *Evolution* 39: 505-522.
- 99) Wayne, M. L. and T. F. C. Mackay 1998. Quantitative genetics of ovariole number in *Drosophila melanogaster*. II. Mutational variation and genotype-environment interaction. *Genetics* 148: 201-210.
- 100) West-Eberhard, M. J. 2003. Developmental plasticity and evolution. Oxford University Press. NY. 417-439.
- 101) 吉沢栄治 1996. イチモンジセセリ第2世代幼虫の要防除密度. 関東東山病害虫研究会年報 43: 173-174.
- 102) Zar, J. H. 1999. Biostatistical analysis 4th ed.. Prentice Hall. NJ. 231-272.

Genetic variations of egg size and its reaction norms in the skipper butterfly, *Parnara guttata guttata* (Lepidoptera: HesperIIDae)

Tomokazu SEKO

Summary

In this study, we examined the adaptive significance of egg size plasticity and the genetic variations of egg size and its reaction norms to day-length and temperature in the skipper butterfly *Parnara guttata guttata* (Lepidoptera: HesperIIDae), which shows a large phenotypic variation in egg size among generations. First, larvae were reared under the typical conditions of temperature and photoperiod experienced during the immature stages in the first, second, and third (overwintering) generations (LD 16:8 at 25°C, LD 14:10 at 25°C, LD 14:10 at 20°C). Females reared under LD14:10 at 20°C produced more and smaller eggs, on the other hand, those reared under LD14:10 at 25°C produced larger but fewer eggs. The trend was consistent with the difference of egg size among generations, though females laid relatively larger eggs in this study than those observed in the field. Fecundity was highest under LD 14:10 at 20°C followed by LD 16:8 at 25°C and LD 14:10 at 25°C. Survival rates of first instar larvae derived from females reared under the three photoperiod/temperature treatments were measured on young soft rice leaves, or tough, old rice leaves. Survival rates of hatchlings reared on soft and tough leaves did not differ when females were reared under LD16:8 and LD14:10 at 25°C. However, hatchling survival rate was significantly higher on soft than on tough leaves when females were reared under LD14:10 at 20°C. These results suggest that the plasticities of egg size in response to day-length and temperature are adaptive, and temperature and day-length are important factors as environmental cues to make the optimal reproductive allocation between size and number of eggs in each generation of *P. g. guttata*.

Second, life history traits of *P. g. guttata* hatched from large-sized and small-sized eggs were compared to determine the influence of egg size differences on fitness under a fixed condition. Eggs were grouped into two sizes, larger than 0.19mm³ (L group) and smaller than 0.16mm³ (S group). Larvae from these groups were reared individually under LD16:8 at 25°C. The survival rate in immature stages was significantly higher in the L group than in the S group. The developmental period during immature stages of the L group tended to be shorter than that of the S group. These findings suggest that egg size in *P. g. guttata* is an important element in the adaptation not only between generations but also within a generation.

Third, genetic and environmental sources of egg size were examined. Phenotypic and genetic correlations and heritabilities were estimated for these traits under different day-length and temperature conditions. Egg size had relatively high heritabilities. Negative phenotypic and genetic correlations between egg size and fecundity were estimated in treatments correspond to the natural conditions during larval development of the first and second generations. Next, genotype-environment interactions were estimated by comparing reaction norms to day-length or temperature of these traits among families. Mixed-model ANOVAs showed

significant genotype-environment interactions in egg size and forewing length of both sexes for day-length and temperature. These results suggest that large genetic variations for egg size and its reaction norms to day-length or temperature have been maintained in a population of *P. g. guttata*. We discuss the possibility of maintaining genetic variation for egg size and its reaction norms in relation to antagonistic pleiotropy, environmental heterogeneity and other factors.