

■原 著■ 2005 年度神奈川大学総合理学研究所協同研究助成論文

アカタテハ属の色彩パターン修飾と分子系統解析

大瀧丈二^{1,4,5} 油井秀臣² 渋谷達明³ 山本晴彦¹

Color-Pattern Modifications and Molecular Phylogenetic Analysis of *Vanessa* Butterflies

Joji M. Otaki^{1,4,5}, Hideomi Yui², Tatsuaki Shibuya³ and Haruhiko Yamamoto¹

¹ Department of Biological Sciences, Faculty of Science, Kanagawa University, Hiratsuka-City, Kanagawa 259-1293, Japan

² STAGE, Shiiku-no-kai, Soja-City, Okayama 719-1126, Japan

³ Olfactory and Gustatory Research Institute, Tsuchiura-City, Ibaraki 300-0038, Japan

⁴ Present Address: Department of Biology, Faculty of Science, University of the Ryukyus, Nishihara, Okinawa 903-0213, Japan

⁵ To whom correspondence should be addressed. E-mail: otaki@sci.u-ryukyu.ac.jp

Abstract: We are interested in the evolutionary relationships and speciation processes among butterflies of the genus *Vanessa* (Lepidoptera, Nymphalidae). We first showed that experimental treatment of pupae with cold shock or tungstate, a protein-tyrosine phosphatase inhibitor, produces a series of unique wing color-pattern modifications in adult butterflies. We found that several *Vanessa* species can be arranged in a progressive series of the systematic color-pattern differences similar to the tungstate-induced modifications. We then investigated the phylogeny of *Vanessa* and its related butterflies in reference to DNA sequences of the mitochondrial NADH dehydrogenase subunit 5 gene and cytochrome oxidase subunit I gene that are known to be highly variable even between closely-related species. Seven species that belong to the conventional *Vanessa* genus were separated into two groups: Five species, *V. indica*, *V. samani*, *V. dejeanii*, *V. buana*, and *V. dilecta*, formed an independent clade with strong bootstrap support (“INDICA Group”), excluding *V. atalanta* and *V. tameamea* as separate species that formed a separate clade (“ATALANTA Group”). Within the INDICA Group, *V. buana* and *V. dilecta* were shown to be sister taxa. They indeed may be considered to be a single species. *V. samani*, *V. dejeanii*, *V. dilecta*, and *V. buana* were shown to be a sister group of species in relation to *V. indica*. Thus, the INDICA Group contains five species with various color-patterns including *V. samani* and *V. dejeanii*, which occupy opposite ends of the progressive color-pattern series. Similarly, the ATALANTA Group consists of two species, *V. atalanta* and *V. tameamea*, whose color-patterns are very different from each other. Thus, our data argue for a speciation model in which *Vanessa* tends to evolve “bi-directionally” to species with large or small orange areas on the forewings beyond phylogenetic constraint and an opportunistic activity of the cold-shock hormone physiologically, but not genetically, “links” ecological selection and color-pattern development of *Vanessa* butterflies. This model also supports the notion that the hypothetical molecular pathway sensitive to cold shock or tungstate was involved in the speciation of *Vanessa* butterflies.

Keywords: Lepidoptera, Nymphalidae, *Vanessa*, color-pattern modification, molecular phylogeny, speciation, cold shock

序論

チョウ類の翅の色彩パターン（色模様）は非常に多様性に富んでおり、古今東西、多くの人々が関心を寄せてきた。おそらくその副産物として、今日までにいくつかの重要な生物学的知見が生み出されてきた。南米のドクチョウ類の観察からベーツが提唱した擬態の概念や、東南アジア諸島のトリバネアゲハ類などの観察を基礎の一つとしてウォレスとダーウィンが提唱した自然選択の概念はその代表例であるといえる。多くのチョウの翅の色彩パターンは、交配相手への視覚シグナルとして機能するばかりでなく、捕食者への警戒シグナルとしても機能するため、それが自然選択における重要な形質の一つであることは疑い得ない。このように、自然選択の結果として生み出されてきたチョウの翅の多様性は、生物の遺伝的な潜在能力を如実に示している好例とみることができる。

生物（特に動物）は種を単位として生殖活動を行い、遺伝物質を次の世代に継承していく。つまり、進化の最小単位は種分化であると考えることができる。種分化が起こるということは、程度の差こそあれ、表現型に変化が起こることである。当然のことながら、表現型の変化は遺伝子型の変化を反映する。種分化における遺伝子型の変化については、現在でもほとんど未解明のままであるが、現在の見解では、種分化において新規遺伝子が作り出される必要はなく、「ツールキット遺伝子群」の発現調節の変化が種分化において重要な役割を果たしていると考えられている¹⁾。

このツールキット遺伝子群は、発生過程において機能する、いわゆる「形態形成遺伝子群」に相当する。それらの多くは転写因子である。表現型を上げるための発生過程に関与する遺伝子発現パターンを変化させることが、多くの場合において種分化の必要条件であると推測されている。

そのような発生生物学的な視点から、チョウの翅の色彩パターン形成に関する多くの研究が行われてきた²⁾。特に、眼状紋の形成過程は精力的に研究されており、その中心（焦点）が色彩パターン形成のオーガナイジング・センターとして働いていることが明確となっている³⁻⁶⁾。しかも、チョウの蛹の表面にはオーガナイジング・センターの位置が模様として表出されている場合も多い⁷⁾ため、チョウの翅はパターン形成に関する格好の研究材料となる。ただし、オーガナイジング・センターから分泌されると仮定されているモルフォゲンの実体については不明のままである。

このように、オーガナイジング・センターからのモ

ルフォゲンが色彩パターン形成に重要な役割を果たしていると考えられているが、その一方で、鱗粉細胞にはモルフォゲンを受容するための受容体分子が発現していなければならない。鱗粉細胞に対するモルフォゲンの生理活性は、ホルモン様因子の作用によって修飾されると考えられている。エクジステロイドや仮想的な冷却ショックホルモンなどによる色彩パターン修飾は、ホルモン作用によるモルフォゲン活性の修飾によって起こると考えられている⁸⁻¹²⁾。

我々は、発生過程における翅全体に及ぶ色彩パターン決定メカニズムとその種分化との関係に興味を持っている。この論文では、仮想的な冷却ショックホルモンと同様の効果を持ち、蛋白質チロシン・フォスファターゼ阻害剤であるタングステン酸ナトリウムを色彩パターン形成中の蛹に注射すると、*Vanessa indica*（アカタテハ）および*Cynthia cardui*（ヒメアカタテハ）の色彩パターンを変化させることを最初に示した。また、*Vanessa* 属（アカタテハ属）に含まれる少なくとも6種においては、色彩パターンの定量的比較をもとにして、直線的な色彩パターン系列として種間の色彩パターン関係を捉えることができることを示した。そのような背景を考慮しつつ、*Vanessa* 属およびその近縁属のうち合計12種について、ミトコンドリアの *NADH* デヒドロゲナーゼ・サブユニット5 (*ND5*) 遺伝子とシトクローム・オキシダーゼ・サブユニットI (*CO I*) 遺伝子のDNA配列を対象として種間の系統関係を明らかにすることを試みた。その結果、*Vanessa* 属内では、*V.samani* と *V.dejeanii* が、色彩パターン系列では両端に位置しているにもかかわらず、系統的に近いことがわかった。同様に、*Vatalanta* と *Vtameamea* は、色彩パターンが大きく異なるにもかかわらず、互いに近縁であることがわかった。これらの結果を勘案し、*Vanessa* 属の進化史について総合的に考察した。

尚、今回の助成研究結果は、近々専門誌に発表される予定である。また、この報告書に紹介された内容の一部はすでに発表されているため¹²⁻¹⁵⁾、ここでは要点を述べるにとどめる。詳細については、そちらを参照されたい。

材料と方法

実験動物

沖縄県石垣島にて野外採集された *V. indica* の幼虫を25℃前後で飼育し、フォスファターゼ阻害剤であるタングステン酸ナトリウム (1.0M, 2 μ L) を蛹化直後の蛹の腹部に注射した。その後、羽化するまで同様の条件下で飼育した。

表 1. 使用された成虫標本に関するデータ

種 (species, taxon)	標本 ID (specimen ID)	採集地 (locality)	採集年月 (date caught in the field)	ND5 (GenBank Accession Number)	COI (GenBank Accession Number)
<i>V. indica</i>	JMO0001(KU)	Kanagawa, Japan	Jun 2004	DQ028749	DQ385858
<i>V. buana</i>	JMO0002(KU)	Sulawesi, Indonesia	Aug 2002	DQ028750	DQ385867
<i>V. dejeanii</i>	JMO0003(KU)	Mt. Lawu, Central Java, Indonesia	Oct 2000	DQ028751	DQ385862
<i>V. tameamea</i>	JMO0004(KU)	Kauai, Hawaii	May 2000	DQ028752	DQ385861
<i>V. samani</i>	JMO0005(KU)	Sumatra, Indonesia	unknown	DQ028753	DQ385863
<i>V. dilecta</i>	JMO0006(KU)	Mt. Mutis, Timor	unknown	DQ028754	DQ385864
<i>V. atalanta</i>	JMO0007(KU)	Slovakia	Aug 2000	DQ028755	DQ385860
<i>B. itea</i>	JMO0008(KU)	Melbourne, Australia	Feb 1996	DQ028756	DQ385859
<i>B. gonerilla</i>	JMO0009(KU)	Auckland, New Zealand	Feb 2003	DQ028757	DQ385865
<i>C. cardui</i>	JMO0010(KU)	Kanagawa, Japan	Dec 2004	DQ028758	DQ385856
<i>C. myrinnina</i>	JMO0011(KU)	Huallega, Peru	Mar 2001	DQ028759	DQ385857
<i>C. braziliensis</i>	JMO0012(KU)	Tingo mana, Paru	Jan 2003	DQ028760	DQ385866
<i>J. westermanni</i>	JMO0013(KU)	Bangui, Central Africa	Jul 1981	DQ028761	DQ385855

分類体系と標本

この論文では、議論を簡潔化するために、分類基準として Field (1971)¹⁶⁾ に従い、*Vanessa* 属、*Cynthia* 属、*Bassaris* 属は別属として扱った。この分類体系はやや古く、現在の系統分類学では、これらの属は *Vanessa* 属として統合されている¹⁷⁾。

Field (1971) によれば、*Vanessa* 属には、5 種が認知されている。その 5 種とは、*V. indica*、*V. atalanta*、*V. tameamea*、*V. dejeanii*、および *V. samani* である。*V. buana* および *V. vulcania* は Field (1971) では *V. indica* の亜種として扱われているが、その後、別種として扱われるようになった¹⁸⁾。さらに、近年、*V. dilecta* がチモールから発見され、新種として記載された¹⁹⁾。以上の 8 種のうち、入手困難な *V. vulcania* 以外の 7 種を今回の研究対象とした。さらに、近縁の *Bassaris* 属 2 種、*Cynthia* 属 3 種を含め、合計 12 種について解析した。*Vanessa* 属が含まれる Nymphalini 族の姉妹群である Junoniini 族の一種 *Junonia westermanni* を外群として分子系統樹を作成した。対象とした標本の基本データについては、表 1 にまとめた。

分子生物学的方法・分子系統解析法

DNeasy Tissue Kit (QIAGEN 社) を用いて、成虫の乾燥標本より Total DNA を抽出した。この DNA サンプルについて、*Pfu* DNA ポリメラーゼ (Promega 社) を用いて PCR 反応を行った。PCR 産物は pCR-BluntII-TOPO (Invitrogen 社) あるいは pCR4Blunt-TOPO (Invitrogen 社) にクローニング

し、M13R あるいは M13F プライマーによる DNA 塩基配列決定をタカラバイオ社に委託した。

多重配列アラインメントには、ClustalX1.83 を使用した^{20,21)}。系統樹には PAUP*4.0810 を使用した²²⁾。ブーツストラップ値は 1000 回のサンプリングをもとに算出した。

結果

V. indica と *C. cardui* の色彩パターン修飾

蛹化直後の蛹に実験的に冷却ショックを与えると色彩パターン異常個体が得られることが知られている¹⁰⁾。同様の効果を薬理学的に誘導する目的で、我々は蛋白質チロシンリン酸フォスファターゼ阻害剤であるタングステン酸に注目した。*V. indica* にタングステン酸を注射すると、色彩パターンに顕著な修飾

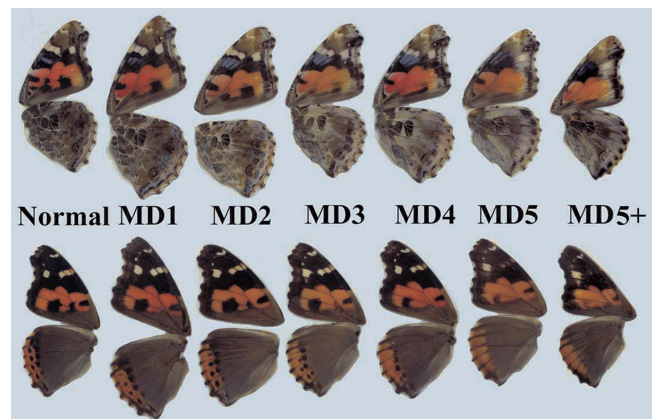


図 1. タングステン酸処理によって色彩パターンが修飾された *V. indica* 個体。上段：腹側（裏）、下段：背側（表）。

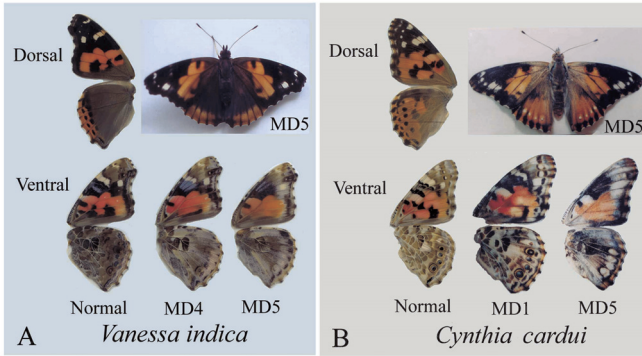


図 2. *V. indica* (A) および *C. cardui* (B) における色彩パターン修飾.

がみられた (図 1)。修飾の程度は個体によって様々であったが、修飾には一定の方向性があり、すべての個体を直線的な系列として並べることができる。修飾程度の最も高いものを MD5 (Modification Degree 5) とし、正常個体 (MD0) を含め、6 段階の階級 (修飾度) を、すべてのパターン・エレメントの変化を総合的に評価したうえで設定した。修飾程度の高いものほど前翅の橙色領域が拡大し、黒斑は減少していく傾向が顕著にみられた。同時に、すべてのパターン・エレメントは基部へ向かって全体的に流れていく傾向にあるが、特に、後翅のパラフォーカル・エレメント (眼状紋よりも外縁側に位置しているエレメント) が翅の基部側に移動することが特徴的であった。このような色彩パターン修飾の傾向は、*V. indica* だけでなく、近縁種である *C. cardui* でも得られた (図 2)。

また、野外において、類似の色彩パターン異常を示す個体が採集される例も少なくないことを付記しておく。これは、野外において、天然の冷却ショックを受けることで生じたものと推定される。

Vanessa 属の色彩パターン系列

前項で得られた色彩パターン系列は、前翅の橙色領域の拡大によって特徴付けられている。ここで、*Vanessa* 属 8 種に目を向けてみると、薬剤処理個体と同じように、それぞれの種によって橙色領域の面積値が異なるのではないかと予想される。前項ではすべてのパターン・エレメントの変化を総合的に評価するために修飾度という概念を用いたが、橙色領域だけに注目してより定量的に議論することは可能である。

そこで、それぞれの種について、前翅面積全体に占める、前翅基部付近の連続する橙色面積の割合を相対橙色領域値 (%) として算出した。すると、予想通り、それぞれの種には固有の相対橙色領域値が認められた (図 3)。*Vanessa* 属 6 種につ

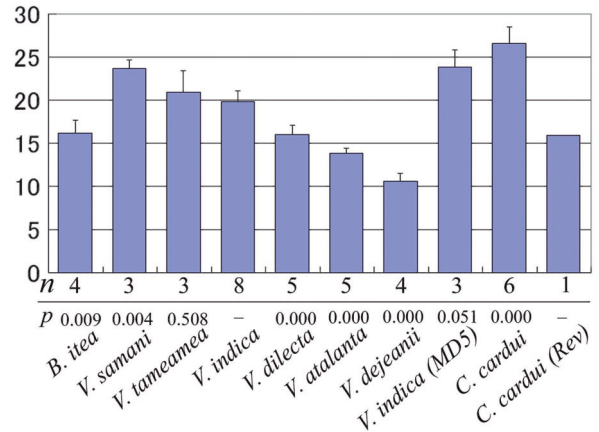


図 3. *Vanessa* 属 6 種およびその近縁種の相対橙色領域値。平均値±標準偏差、対象とされた個体数 (n)、*V. indica* と他種 (他個体) との相違の目安としての p 値 (t テスト) が示されている。

いて、*V. samani*、*V. tameamea*、*V. indica*、*V. dilecta*、*V. atalanta*、*V. dejeanii* の順で、相対橙色領域値の段階的な減少が認められた。この色彩パターン系列においては、*Vanessa* 属を大きく三つのタイプに分けることができる。橙色タイプ (*V. samani*、*V. tameamea*)、中間タイプ (*V. indica*、*V. dilecta*、*V. buana*)、黒色タイプ (*V. atalanta*、*V. dejeanii*) である (図 5 参照)。また、*V. indica* の MD5 個体においては、相対橙色領域値が *V. samani* に匹敵するほど増大していることが明確に認められた。

この色彩パターン系列において、もうひとつ注目すべき形質として、*V. indica* の前翅前縁部黒色域内に位置する「白色帯」がある。橙色タイプに属する種では、2 種ともこの「白色帯」が橙色化しており、黒色タイプに属する種では、2 種とも白色である。さらに、中間タイプに属する種では、橙色のもの (*V. dilecta*)、白色のもの (*V. buana*)、および基本的に白色で一部橙色のもの (*V. indica*) が見受けられる。このように、白色帯の色と相対橙色領域値には単純な相関関係が存在するように思われる。また、白色帯というパターン・エレメントは、タングステン酸による修飾個体では縮小・消失してしまうため、実際の種分化には冷却ショックホルモンのみならず、エクジステロイドなど別の要因も絡んでいることが想像される。

Vanessa 属、Cynthia 属、Bassaris 属の関係

この論文では、基本的には *Vanessa* 属内の種間関係に焦点が当てられているが、*Vanessa* 属とその近縁属 (*Cynthia* 属および *Bassaris* 属) との関係についても多少言及しておく必要がある。

多重配列アラインメントの結果、3 属 12 種から得られた ND5 および COI の DNA 配列には、長さの

違いは見受けられず、それぞれ 357 bp および 667 bp (合計 1024 bp) となった。近隣接合法 (図 4)、最節約法、最尤法を用いて系統樹を作成したところ、どの系統樹においても、*Bassaris* 属 2 種および *Cynthia* 属 3 種は高いブーツストラップ値で単一のクラスターを形成した。一方、どの系統樹においても、*Vanessa* 属では二つのクラスターが示された。一つは、*V. indica*、*V. samani*、*V. dejeanii*、*V. dilecta*、*V. buana* を含むクラスター (INDICA グループ) であり、もう一つは *V. atalanta* と *V. tameamea* を含むクラスター (ATALANTA グループ) であった。このように、対象としたサンプルが 4 群に分かれることは確実であるが、上記の 4 群の相互関係はそれぞれの系統樹で異なっており、今回の研究では確定できなかった。これらの結果は、*Bassaris* 属、*Cynthia* 属、*Vanessa* 属は明確に区別することができないという現在の系統分類学の結果¹⁷⁾と矛盾するものではない。

Vanessa 属内の種間関係

上記の結果は、*Vanessa* 属、*Cynthia* 属、*Bassaris* 属の関係を明確に示すには至らなかったが、*Vanessa* 属内の種間関係については重要な情報を提供している。*Vanessa* 属の 7 種のうち 5 種 (*V. indica*、*V. samani*、*V. dejeanii*、*V. buana*、*V. dilecta*) は高いブーツストラップ値によって単一のクラスターを形成した (INDICA グループ)。他の 2 種 (*V. atalanta*、*V. tameamea*) は別のグループを形成した (ATALANTA グループ)。

この系統関係において、*V. indica* と *V. buana* は旧来は同種として取り扱われてきたにもかかわらず、単純な姉妹関係にはなっていないということには多少意外性がある。また、*V. buana*、*V. dilecta*、*V. dejeanii*、*V. samani* の 4 種全体が *V. indica* と姉妹関係を形成している。そのうち、*V. buana* と *V. dilecta* は極めて近縁であり、同種としてまとめることも不可能ではないと思われる。

この INDICA グループには、相対橙色領域値が極めて大きい *V. samani*、極めて小さい *V. dejeanii*、中間的な *V. dilecta*、*V. buana*、*V. indica* が含まれている。つまり、相対橙色領域値を基準とした色彩パターン系列は単純に分子系統関係を反映しているわけではないことが判明した。同様に、ATALANTA グループにおいても、色彩パターンが大きく異なる *V. atalanta* と *V. tameamea* が互いに近縁であることがわかった。

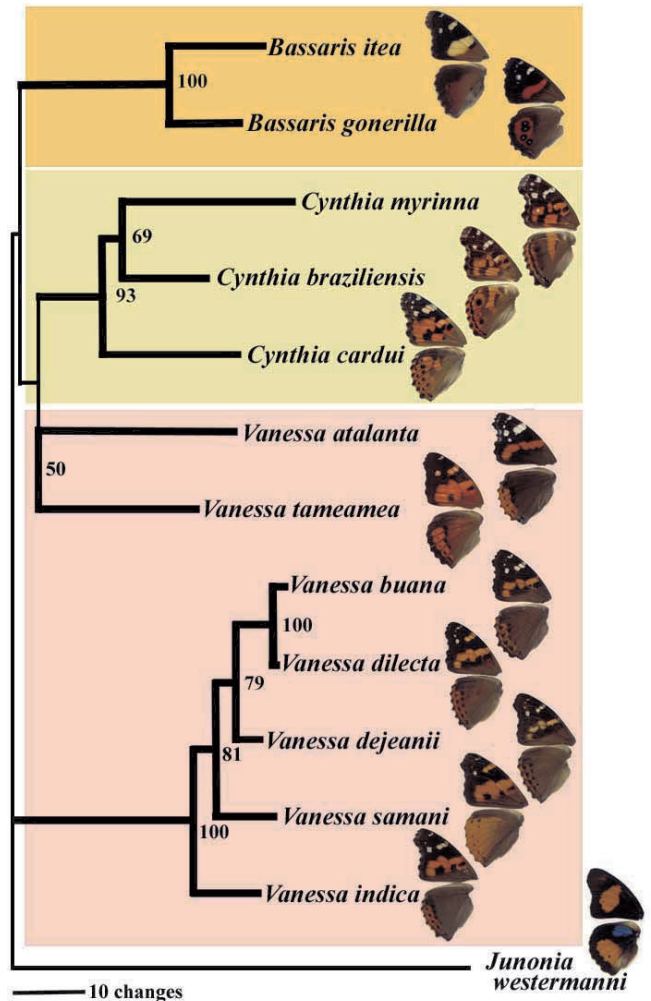


図 4. *Vanessa* 属およびその近縁属の近隣接合法による分子系統樹。数値は 1000 回試行におけるブーツストラップ値。ブーツストラップ値 50%以上の部分を太線で示した。

討論

分子系統関係と色彩パターンの進化

本研究において、我々は *Vanessa* 属における色彩パターン系列と分子系統の関係を明らかにすることを目的とした。両者の間には単純な関係は成り立たないことがわかった。チョウの翅の色彩パターンは近縁種あるいは同種内ですら劇的に変化することがあるため、系統分類の手段としては一般的には用いられない。そのようなことを考慮すれば、色彩パターンと分子系統との関係が単純ではないという結果は、特に驚くには値しない。

一方、分子系統解析から、*Vanessa* 属における相互関係を特定することができた。*Vanessa* 属は、5 種 (*V. indica*、*V. buana*、*V. dilecta*、*V. samani*、*V. dejeanii*) を含む「INDICA グループ」と *V. atalanta* と *V. tameamea* を含む「ATALANTA グループ」に分けられる。これらの分子系統関係を色彩パターン系列に当てはめてみると、種間の相互関

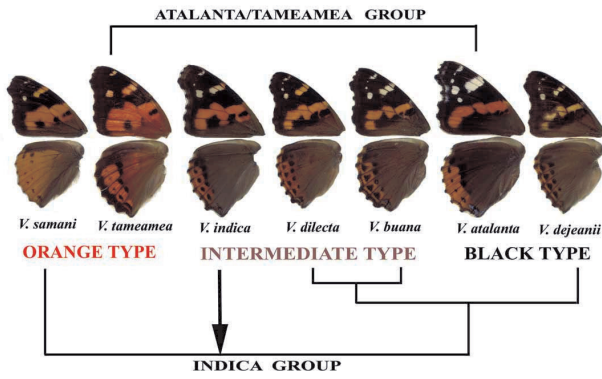


図5. *Vanessa* 属の色彩パターン系列と分子系統との関係. INDICA グループと ATALANTA グループに大きく分けられる.

係がよりよく理解できる (図5)。

後者の ATALANTA グループでは、一種は広い橙色領域を持つ橙色タイプ (*V. tameamea*)、他の一種は狭い橙色領域を持つ黒色タイプ (*V. atalanta*) である。つまり、近縁種同士にもかかわらず、相対橙色領域値は大きく異なっている。前者の INDICA グループでは、中間的な橙色領域を持つ *V. indica* (中間タイプ) が他の 4 種と姉妹関係を形成している。これらの 4 種には、橙色タイプ、黒色タイプ、中間タイプのすべてが存在する。つまり、極めて近縁であるにもかかわらず、INDICA グループ内でも、相対橙色領域値には大きな自由度があるということの意味している。

さらに、*V. indica* の前縁部黒色域内に位置する白色帯の橙色化についても、それぞれのグループに独立に認められることは注目し得る。この白色帯の橙色化現象は、前翅基部の連続的橙色領域が広い(つまり、相対橙色領域値が大きい)種である *V. samani* と *V. tameamea* において明瞭に認められる。このことを考慮すれば、中間タイプを示す 3 種の中でも、*V. dilecta* はより橙色タイプに近く、*V. buana* はより黒色タイプに近いと推測できる。*V. indica* はまさにその中間的表現型を示し、白色帯の一部が、微小ではあるが、明瞭な橙色を呈している。

二方向性進化

Vanessa 属の進化の歴史を再現するために、ここでは、*Vanessa* 属共通の仮想的な祖先種は、*V. indica* に形態的・遺伝的に近かったと仮定してみる。その理由は以下の通りである。第一に、*V. indica* は東洋区および旧北区に広く分布し、Field (1971)¹⁶⁾ によれば、亜種の数 (*V. indica buana* と *V. indica vulcania* も含めて 5 亜種) も *Vanessa* 属内で最大である。これらの事実は、*V. indica* が様々な環境に適応する能力を秘めていることを意味すると考えら

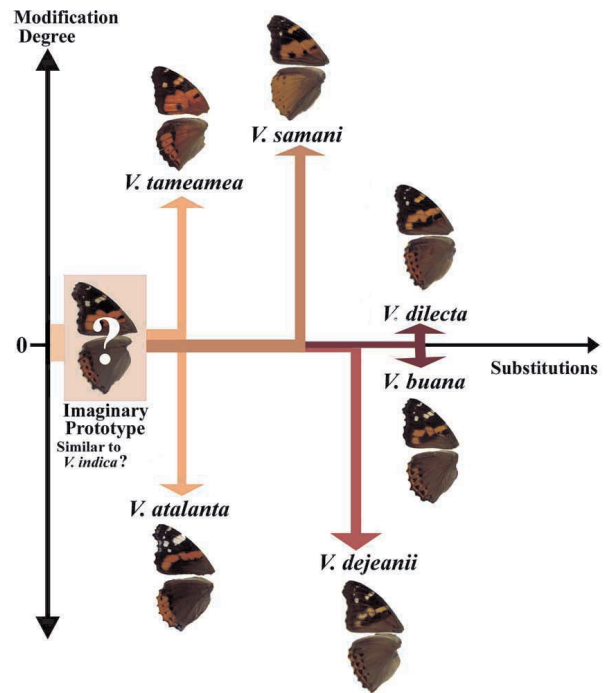


図6. *Vanessa* 属の二方向性進化. *V. indica* に類似していた仮想的なプロトタイプから、ATALANTA グループが、両極端な橙色領域を持つように進化した。同様に、INDICA グループにおいても、両極端な橙色領域を持つものが現われた。

れる。第二に、*V. indica* は色彩パターン系列において中位に位置している。相対橙色領域値を基準に考えると、*V. indica* は中間タイプに属する。そればかりではなく、*V. indica* の白色帯には、小さいが明瞭な橙色領域が認められる。つまり、色彩パターン系列の中間タイプの中でも、最も中間的存在である。この事実も同様に、橙色領域の拡張および縮小のどちらの方向にも進化しうることを意味している可能性がある。第三に、*V. indica* の色彩パターンは *C. cardui* のものに非常に類似している。後者は前者よりも広く北半球に分布しており、*Cynthia* 属の中でも最も特化していない種であると思われる。これらのことを総合して考えると、*Vanessa* 属の共通の祖先は *V. indica* に類似していたと考えてもよいであろう。

この共通の祖先が、橙色領域を拡張あるいは縮小させるように様々な種に分化していったと思われる (図6)。それぞれの種分化にはそれぞれ異なった環境要因が作用したと考えられる。そのような環境要因の一つが、蛹に冷却ショックを与える気温変動であろうと思われる。この推測は、気温変動と同様な表現型模写を *V. indica* の蛹のタンゲステン酸処理によって作出することができ、それらが様々な *Vanessa* 属の種と類似した相対橙色領域値を持つという事実に基づいている。*V. tameamea*、*V. buana*、

V. dejeanii, *V. dilecta* はすべて 1200m以上の熱帯の高地のみに分布していることは注目に値する。気温変動は、緯度が低く、高度が高いほど大きいことが知られている。ただし、冷却ショックが起こりやすい環境は、*Vanessa* 属の種分化の必要条件ではあっても、決して十分条件ではないであろう。

ここで重要なことは、橙色領域の拡大・縮小が少なくとも独立に 2 回起こっていることである。白色帯について考慮すれば、3 回目が起こりつつあると思われる。このような進化の方向性は、*Bassarid* 属、*Cynthia* 属をはじめ、その他の近縁のタテハチョウ科の属でも決してみられない。*Vanessa* 属のみに、このような進化の傾向があるという事実については、より詳細な説明が求められるであろう。ただし、ある程度類似した進化史は、おそらく *Maculinea* 属（ゴマシジミ属）のチョウでも見られることを付記しておく²³⁾。

生物地理学からの展望

Vanessa 属のうち、2 種 (*V. indica* と *V. atalanta*) は分布域が非常に広い。*V. indica* はアジアを中心に広く分布している。*V. atalanta* は欧米を中心に広く分布している。これら 2 種は広域に分布しているとはいえ、基本的に地理上で棲み分けしており、異所的種分化が行われたことを物語っているように思われる。

それとは対照的に、*V. tameamea* はハワイ諸島のみに分布している。ハワイ諸島内でも、特に山岳地帯に生息する。他の 4 種 (*V. samani*, *V. dejeanii*, *V. dilecta*, *V. buana*) はすべてインドネシアの島々に生息するが、それぞれ別々の島の限られた山岳地帯のみに分布している (図 7)。インドネシアに分布する 4 種に関しては、分子系統樹において単一のクラスタを形成している (図 4 参照)。



図 7. インドネシア諸島における *Vanessa* 属の分布。アジア大陸から仮想的な祖先が侵入し、隔離された結果、INDICA グループを形成するようになったと考えられる。

このように考えると、想像上の祖先は東洋区からインドネシアへ移動してきたのではないかと推測される。それらが高地において冷却ショックという環境要因にさらされる中で、異所的に種分化が進行した結果、INDICA グループが形成されたと考えられる。また、同様に、想像上の祖先は欧米およびハワイ諸島にも分布を広げ、ATALANTA グループを形成するようになったと考えられる。

「副作用」モデル

Vanessa 属の進化史について上述の結果を考慮しつつ、その分子的基盤について考えてみたい (図 8)。

仮想的な祖先種がインドネシア諸島やハワイ諸島に移動したあと、熱帯の高山地帯などに隔離されたとする。そのような場所では、短期間でも寒暖の差が激しく、蛹は冷却ショックを受けやすい。冷却ショックを受けた個体では、細胞を冷却ショックから保護する機能を持つ仮想的な冷却ショックホルモンが血リンパ中に分泌される¹²⁻¹⁵⁾。このホルモンは、受容体型チロシナーゼを活性化することで細胞の冷却ショック耐性を高める働きを持つ。このホルモンを迅速に分泌できるような遺伝子型を持つ個体は、冷却ショックを伴う環境条件においてより確実に生存することができる。

しかしながら、このホルモンは鱗粉細胞に作用すると、その「副作用」として色彩パターンを変えてしまうと推測される。細胞の保護に適切な量のホルモンを迅速に分泌できる個体が、冷却ショックによる死亡を避けることができるが、その「副作用」として色彩パターンが変化してしまう。冷却ショックに耐えて生き残った個体でも、色彩パターンが変化しているため、同種の他個体に対して「魅力的な」視覚シグナルを発することはできない。その結果、多くの子孫を残すことができない。このようなサイクルが続けば、基本的にはその個体群は消滅してしまうであろう。

しかしながら、冷却ショックによる修飾個体のうちでも、*Vanessa* 属のリリーサー・シグナルにより「魅力的」に修飾された個体が現われたとする。あるいは、冷却ショックによる修飾パターンを好む個体が突然変異によって偶然に出現したとする。すると、そのような個体間で急速に選択的交配が進む結果、個体群の中に冷却ショックホルモンをよりの確に分泌する遺伝子型が広まり、ついには固定されるようになる。その結果として、*Vanessa* 属に新種が確立されるのである。

このような冷却ショックホルモンの「副作用」に起因すると推測される二方向性の進化が、*Vanessa*

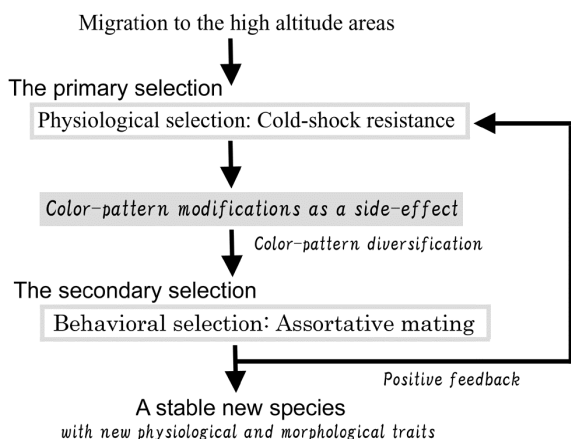


図 8. *Vanessa* 属進化の副作用モデル。

属の二つのグループ（INDICA グループと ATALANTA グループ）で同時に起こっていることは注目に値する。このような種分化は *Cynthia* 属、*Bassarid* 属、あるいは他の近縁のタテハチョウ科の属では決してみられない。なぜこれが *Vanessa* 属に限定された現象なのかは現在のところまったく不明である。今後、冷却ショックホルモンの分子の実体を明らかにし、その発現調節機構を解明すれば、ある程度はそのような謎に迫ることができるだろう。

ただし、前翅前縁部の白色帯は、タンゲステン酸処理個体では、縮小・消失してしまうため、必ずしも、冷却ショックホルモンによる色彩パターンだけが種分化に関与しているのではないこともまた確かである。*Vanessa* 属におけるエクジステロイドの影響も現在検討中である。エクジステロイドを投与された個体は全体的に黄色化し、色彩のコントラストが低くなるが、タンゲステン酸のようにみごとに橙色領域が拡大することはない(大瀧、未発表)。また、冷却ショック処理ではなく、長期的な低温処理においては、黒色領域が拡大することが判明した(大瀧、未発表)。これは *V. dejeanii* や *V. vulcania* を思わせるパターンである。今後は、これらの実験結果をもとに、生態、形態、生理、分子などの様々なレベルで *Vanessa* 属の種分化のメカニズムについて探っていきたい。

謝辞

本研究は、2005 年度神奈川大学総合理学研究所産学共同プロジェクト助成のもとに行われた。

文献

- 1) Carroll SB, Grenier JK, and Weatherbee SD (2001) *From DNA to Diversity*. Blackwell Science, Malden.
- 2) Nijhout HF (1991) *The Development and Evolution of Butterfly Wing Patterns*. Smithsonian Institution Press, Washington.

- 3) French V and Brakefield PM (1992) The development of eyespot patterns on butterfly wings: Morphogen source or sinks? *Development* **116**: 103-109.
- 4) Brakefield PM and French V (1995) Eyespot development on butterfly wings: the epidermal response to damage. *Dev. Biol.* **168**: 98-111.
- 5) French V and Brakefield PM (1995) Eyespot development on butterfly wings: the focal signal. *Dev. Biol.* **168**: 112-123.
- 6) Brakefield PM Gates J, Keys D, Kesbeke F, Wijngaarden PJ, Monteiro A, French V and Carroll SB (1996) Development, plasticity and evolution of butterfly eyespot patterns. *Nature* **384**: 236-242.
- 7) Otaki JM Ogasawara T and Yamamoto H (2005) Morphological comparison of pupal wing cuticle patterns in butterflies. *Zool. Sci.* **22**: 21-34.
- 8) Koch PB and Bückmann D (1987) Hormonal control of seasonal morphs by the timing of ecdysteroid release in *Araschnia levana* L. (Nymphalidae: Lepidoptera). *J. Insect Physiol.* **33**: 825-829.
- 9) Koch PB Brakefield PM and Kesbeke F (1996) Ecdysteroids control eyespot size and wing color pattern in the polyphenic butterfly *Bicyclus anynana* (Lepidoptera: Satyridae). *J. Insect Physiol.* **42**: 223-230.
- 10) Nijhout HF (1984) Colour pattern modification by coldshock in Lepidoptera. *J. Embryol. Exp. Morphol.* **86**, 191-203.
- 11) Rountree DB and Nijhout HF (1995) Hormonal control of a seasonal polyphenism in *Precis coenia* (Lepidoptera: Nymphalidae). *J. Insect Physiol.* **41**: 987-992.
- 12) Otaki JM (1998) Color-pattern modifications of butterfly wings induced by transfusion and oxyanions. *J. Insect Physiol.* **44**: 1181-1190.
- 13) Otaki JM and Yamamoto H (2004) Species-specific color-pattern modifications on butterfly wings. *Dev. Growth Differ.* **46**: 1-14.
- 14) Otaki JM and Yamamoto H (2004) Color-pattern modifications and speciation in butterflies of the genus *Vanessa* and its related genera *Cynthia* and *Bassarid*. *Zool. Sci.* **21**: 967-976.
- 15) Otaki JM, Ogasawara T and Yamamoto H (2005) Tungstate-induced modifications of butterfly wings are independent of stress response and ecdysteroid effect. *Zool. Sci.* **22**: 635-644.
- 16) Field WD (1971) *Butterflies of the genus Vanessa and of the resurrected genera Bassarid and Cynthia* (Lepidoptera: Nymphalidae). In: *Smithsonian Contributions to Zoology 84*. Smithsonian Institution Press, Washington.
- 17) Wahlberg N Brower AVZ and Nylin S (2005) Phylogenetic relationships and historical biogeography of tribes and genera in the subfamily Nymphalinae (Lepidoptera: Nymphalidae). *Biol. J. Linn. Soc.* **86**: 227-251.
- 18) Leestmans R (1978) Problèmes de spéciation dans le genre *Vanessa*. *Vanessa vulcania* Godart *stat. nov.* et *Vanessa buana* Frhst. *stat. nov.*: bonae species (Lepidoptera Nymphalidae). *Linn. Belgica* **7**(5): 130-156.
- 19) Hanafusa H (1992) Three new Nymphalid butterflies from Indonesia and Philippines. *Futao* **10**: 1-2.

- 20) Higgins DG and Sharp PM (1988) Clustal: A package for performing multiple sequence alignment on a microcomputer. *Gene* **73**: 237-244.
- 21) Thompson JD Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F and Higgins DG (1997) The ClustalX-Windows interface: Flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acid Res.* **25**: 4876-4882.
- 22) Swofford DL (2000) *PAUP*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony and Other Methods* (software). Sinauer Associates, Sunderland
- 23) Otaki JM and Yamamoto H (2003) Color-pattern modifications and speciation in lycaenid butterflies. *Trans. Lepidopterol. Soc. Jpn* **54**: 197-205.