

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年6月7日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21570096

研究課題名（和文）小笠原諸島のショウジョウバエの侵入種と固有種に関する生物的・遺伝的多様性の研究

研究課題名（英文）Biological and genetic diversity of colonizing and endemic species of *Drosophila* in the Ogasawara Islands

研究代表者

和多田 正義 (WATADA MASAYOSHI)

愛媛大学・大学院理工学研究科・准教授

研究者番号：00210881

研究成果の概要（和文）：小笠原諸島の父島と母島において2009年7月から2010年5月の間に3度（夏、冬、春）の採集調査を行い、季節変化を含めたショウジョウバエの分布調査を行った。その結果、固有種9種を含む22種116,857個体のショウジョウバエを採集した。7月の父島と母島では近年侵入した *Drosophila hypocausta* が最優占種であった。一方12月と4月の採集では父島で *D. simulans* が、母島では固有種の *D. pectinifera* が最優占種であった。今回の採集では侵入種である *D. hypocausta* や *D. suzukii* の増加が見られたが、固有種の *D. pectinifera* など多く採集されており、生物多様性は増加していることが示された。遺伝的多様性と分化の研究は、ミトコンドリア DNA の *COI* 及び *COII* 遺伝子について、固有種の *D. pectinifera*, *Dichaetophora ogasawarensis*, *Scaptomyza hexasticha*, 侵入種の *D. hypocausta*, *D. suzukii*, *D. kikkawai* を用いて行った。固有種の遺伝的多様性はいずれも大きく、侵入種では *D. hypocausta* のみ大きかった。ハプロタイプ解析からは、侵入種は父島から母島へ移住していることが示唆された。また固有種の遺伝的特性は父島と母島の集団間で異なり、それぞれの集団は個別に保護されるべきであると考えられた。

研究成果の概要（英文）：Faunal and seasonal surveys on drosophilid flies by banana-trapping and net sweeping were carried out in the Ogasawara Islands on July 2009, December 2009 and May 2010. A total 116,857 individuals of 22 species including 9 endemic species were collected at the seven and five collection sites of Chichijima and Hahajima, respectively. In the both islands, *Drosophila hypocausta*, recently colonizing species, was the most abundant on July of 2009. On the other hand, *D. simulans* in Chichijima and *D. pectinifera* in Hahajima were the most dominant species in the collection of December 2009 and May 2010. The present survey showed recent increase of *D. hypocausta* and *D. suzukii* in the Ogasawara Islands, but the endemic species such as *D. pectinifera* were collected more than those of the previous surveys, indicating increasing of biodiversity of drosophilid fauna. Genetic diversity and differentiation of mitochondrial DNA genes, *COI* and *COII*, were studied using three endemic species (*D. pectinifera*, *Dichaetophora ogasawarensis*, *Scaptomyza hexasticha*) and three colonizing species (*D. hypocausta*, *D. suzukii*, *D. kikkawai*). Genetic diversities of the three endemic species and *D. hypocausta* were larger than those of the other colonizing species. Haplotype analyses of mitochondrial DNA suggested that immigration of the colonizing species occurred from Chichijima to Hahajima. In addition, genetic properties of the endemic species are different between Chichijima and Hahajima, suggesting the importance of the protection of populations in each island.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	600,000	180,000	780,000
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・生物多様性・分類

キーワード：遺伝的多様性

1. 研究開始当初の背景

(1) 小笠原諸島は、東京から約 1,000 Km 離れた南にある海洋島群である。これらの島は形成以来長い間大陸から隔離していたため、東洋のガラパゴスと言われるほど貴重な固有の動植物が多いことで知られている。しかし、小笠原諸島の島々は最も大きい父島でさえわずか 24 Km² であり、ガラパゴス諸島やハワイ諸島の最も大きい島と比較すると遥かに小さく、小笠原固有の動植物は、開発や外来種の侵入の影響を非常に受けやすい環境にある。小笠原を象徴するワダンノキやオガサワラグワ等の植物、オガサワライトトンボなど固有の昆虫は、移入された動植物によって絶滅の危機にさらされているために、それらの固有種については保全生物学の立場での研究が多い。

(2) ショウジョウバエは、さまざまな種がいろいろな環境に適応しており、指標生物としても用いることができるほか、一般の人々の目にふれることもなく、人間による恣意的な移入などの影響を受けることもほとんどない。また、体が小さいので多くの個体数を扱うことが可能であり、脆弱な環境にある小笠原諸島での侵入種による生物多様性の変遷を、遺伝的多様性の観点もふまえて研究するのに最も適している生物の 1 つと言える。小笠原のショウジョウバエに関しては、Kikkawa and Peng (1938) に始まり、いくつかの分類・生態学的研究がある (Wheeler and Takada 1964, Okada 1971, 1973, Toda 1976)。Toda (1976) の 1973 年 4 月になされた父島と母島における、生息環境選好性、食性、繁殖選好性、日周性行動の調査などのように、5-10 年毎に小笠原諸島のショウジョウバエ相が研究されてきたが、従来の小笠原諸島におけるショウジョウバエの分布に関する研究は、採集時期が冬季から春季に集中しており、通年の採集を通した季節性の変化については触れられていない。さらに和多田他 (2011) で報告されたように、近年南方系の

Drosophila hypocausta が小笠原諸島に侵入し、優占種になっていることが明らかになり、小笠原諸島のショウジョウバエ相は急激に変化しつつあることが明らかになった。一方、小笠原諸島のショウジョウバエに関する遺伝的研究はほとんど行われておらず、Watada et al. (1986a, b) にあるような侵入種のアロザイム変異による遺伝的分化の研究と、固有種に関する遺伝的研究は、Miyake and Watada (2007) が、ミトコンドリア DNA を用いて *D. pectinifera* とアジアに分布する近縁種との類縁関係を調査しているのみである。

2. 研究の目的

(1) 本研究では小笠原諸島の父島と母島において 2 年間にわたり、人家付近、二次林、自然林においてショウジョウバエの分布の調査を行い、さまざまな季節における侵入種の影響を調査し、過去のデータと比較することによりショウジョウバエにおける生物多様性の変遷を明らかにする。近年、特に *immigrans* 種群に属する *D. hypocausta* の侵入により父島のショウジョウバエ相は大きく変わりつつあり、このような状況で小笠原諸島のショウジョウバエ相の分布を研究することは、生物多様性の変遷を研究するうえで非常に重要である。

(2) 本研究ではさらに、父島と母島で採集した侵入種 3 種、固有種 3 種の遺伝的多様性を明らかにするために、ミトコンドリアの 2 つの遺伝子領域のシーケンズを行い、以下の観点から小笠原諸島のショウジョウバエ相の遺伝的構造と侵入種の遺伝的特性を研究した。

- ① 侵入種と固有種の遺伝的多様性を比較し、両種の遺伝的特性を明らかにする。
- ② 侵入種と固有種について、父島と母島集団の遺伝的分化と多様性を調査し、特に固有種については、小笠原の固有種の保全についての基礎的データを確保する。
- ③ 侵入種については、他の地域から収集した

系統と比較し、侵入種がどのような地域から侵入してきたかを明らかにする。

3. 研究の方法

(1) ショウジョウバエ相の調査と研究材料の収集

小笠原諸島の父島と母島において2009年7月から2010年5月の間に3度(夏、冬、春)の採集調査を行った。ショウジョウバエ相の調査は、人家付近、二次林、自然林に戸田型トラップを設置し、バナナの餌に集まってくるすべてのショウジョウバエをトラップの末端にあるアルコール瓶に落として採集する方法(戸田型トラップ)と、バナナトラップでは採集できない固有種を採集するために、二次林や自然林でのスーピングによる採集を行った。採集したショウジョウバエは70%アルコールで固定し、研究室で分類した。全てのショウジョウバエは個体数を係数した後、95%アルコール標本として保存し、一部を遺伝的多様性と遺伝的分化の研究に用いた。

(2) 遺伝的多様性及び遺伝的分化に関する研究

父島と母島から採集した小笠原諸島の侵入種3種(*D. hypocausta*, *D. kikkawai*, *D. suzukii*,)及び固有種3種(*D. pectinifera*, *Di. ogasawarensis*, *S. hexasticha*)について、ミトコンドリアのCOI(チトクローム酸化酵素I)とCOIIの2つの遺伝子の配列を調査し、侵入種や固有種の遺伝的多様性、父島と母島の集団間の遺伝的分化の研究を行った。また、侵入種の起源について他の地域の系統との遺伝的な比較を行い、侵入種の起源を探る研究も行った。*D. kikkawai*及び*D. suzukii*は当研究室で多くの系統を維持しており、*D. hypocausta*については他の研究機関から入手した。シークエンスは1個体を用いて行うためにダイレクトシークエンス法で行い、得られた塩基配列をもとに、侵入種や固有種の遺伝的多様性の指標(ハプロタイプ多様度、Hd; 塩基多様度、 π)及び父島と母島の集団間の遺伝的分化の指標(固定指数、Fst)を求め、ハプロタイプ解析も行った。

4. 研究成果

(1) 小笠原諸島におけるショウジョウバエ相と季節変化

① 2009年7月の調査

父島で12種6,152個体、母島で15種9,601個体、総計で2亜科7属16種15,753個体のショウジョウバエを採集した。父島では、1998年に初めて採集された*D. hypocausta*は、全体の半数を占める優占種となっている。さらに、固有種である*D. pectinifera*が多数採集された。バナナトラップによる採集では、

*D. hypocausta*と*D. simulans*が多く、スーピングによる採集では、*Di. ogasawarensis*や*S. hexasticha*が比較的多く採集された。しかし、スーピングによる採集では、地点によって採集される種に大きな差がみられた。母島では固有種の*D. pectinifera*が最も多く、*D. hypocausta*がそれに次ぎ、父島同様に分布を広げていた。バナナトラップによる採集では、どの地点も*D. hypocausta*と*D. pectinifera*が優占種であり、スーピングによる採集では、*D. pectinifera*が最も多く採集されたが、固有種の*S. hexasticha*や*Di. ogasawarensis*がそれに続く種であった。

② 2009年12月の調査

父島で12種39,794個体、母島で20種8,461個体、総計で2亜科8属21種48,255個体のショウジョウバエを採集した。バナナトラップによる採集では、採集されたショウジョウバエの半数が*D. simulans*であり、次いで*D. hypocausta*が多く、三日月山では、*D. pectinifera*が、人家周辺では*D. kikkawai*が多く採集された。スーピングによる採集では、地点ごとに採集された種に差異が見られ、三日月山では*D. pectinifera*が、旭山では*Di. ogasawarensis*が、夜明山では*D. simulans*が大部分を占めた。母島では、バナナトラップによる採集で4属9種3,459個体、スーピングでの採集で7属19種5,002個体が採集された。バナナトラップによる採集では、半数以上が*D. simulans*であり、*D. pectinifera*がそれに次いだ。スーピングによる採集では、調査した全ての地点で*D. pectinifera*が最も多く採集され、自然林では*Di. ogasawarensis*がそれに続いた。

③ 2010年4月の採集

父島で14種33,340個体、母島で16種19,509個体、総計で2亜科9属18種52,849個体のショウジョウバエを採集した。バナナトラップによって採集されたショウジョウバエの大部分は*D. simulans*であった。人家付近では*D. kikkawai*と*D. suzukii*が比較的多く採集された。スーピングによる採集では、三日月山では*L. boninensis*が、旭山では*Di. ogasawarensis*が最も多く採集された。母島のバナナトラップによる採集では、全ての地点で*D. pectinifera*が半数以上を占め、*D. simulans*がそれに続いた。採集地点別の特徴としては、桑ノ木山において*D. suzukii*が多くみられたほか、沖村集落では*D. simulans*が最優占種となった。スーピングによる採集では、*D. pectinifera*が最も多いものの、固有種の*Di. ogasawarensis*と*S. hexasticha*がそれに続いた。

④ 小笠原諸島におけるショウジョウバエの生物多様性

今回の採集結果を過去の研究と比較すると主要な構成種には大きな違いは見られな

いが、*D. hypocausta* の夏における最優占種化及び父島での *D. suzukii* の増加と母島での *D. pectinifera* の増加が特徴的であった。今回の調査では過去に報告された固有種9種がすべて採集されたばかりではなく、1カ所当たりで採集された種類数も増加しており、生物多様性の度合いを示す多様度 (H') の値も過去のデータより大きくなった。近年小笠原諸島では、移入植物であるガシユマルやアカギによる環境の変化が報告されているので、侵入種の増加による生物多様性の変化については、今後も調査する必要がある。

(2) 侵入種と固有種の遺伝的多様性と分化

① 侵入種と固有種の遺伝的多様性

調査した侵入種と固有種の各3種に関して、父島集団、母島集団各30個体の *COI* と *COII* 遺伝子領域をシークエンスして、遺伝的多様性の指標を求めた。その結果、*D. kikkawai* と *D. suzukii* の遺伝的多様性は小さかったが、*D. hypocausta* の父島における遺伝的多様度は、固有種3種のものと比較しても同等のものであった。しかし、母島のものは *D. kikkawai* や *D. suzukii* と同じレベルであった。*D. suzukii* の遺伝的多様性は父島と母島で同じような値になり、一様に低い値になったが、*D. hypocausta* では、父島の集団で非常に高い値になり、母島集団の2-4倍ほどにもなった。*D. kikkawai* の遺伝的多様性と分化の程度は父島で極端に大きく、母島ではほとんど見られなかった。この極端な変異の相違を明らかにするために、近縁種の塩基配列を比較したところ、父島の *D. kikkawai* の集団には、近縁種である *D. bocki* の遺伝子が流入していることが明らかになった。固有種3種の遺伝的多様性と分化を父島と母島の集団で比較すると、母島で個体数の多い *D. pectinifera* と *Di. ogasawarensis* では遺伝的多様性が母島で大きくなり、父島では小さくなる傾向が見られた。一方、父島で採集個体数の少ない *S. hexasticha* は、父島集団の方の遺伝的多様度が高い結果となった。このことは現在父島で個体数の少ない *S. hexasticha* はかつて大きな集団を形成していた可能性を示すと同時に父島集団の特異性を示し、分布が限定されている父島集団の保護の重要性を示唆している。

② 父島と母島集団の遺伝的多様性と分化

固定指数の値を元に、父島と母島集団間の遺伝的分化の程度を比較すると、*Di. ogasawarensis* と *D. kikkawai* の値が非常に大きくなったが、*D. kikkawai* の場合は異種間との遺伝子流入によるものの反映である。さらに固有種である *D. pectinifera* と *S. hexasticha* の固定指数は比較的大きな値であるが、近年の侵入種である *D. hypocausta* の値も同様に大きな値になった。この *D.*

hypocausta に見られた大きな値は父島集団では遺伝的多様度が大きく、母島にない変異が父島に多く存在することに由来している。*D. suzukii* では、観察されたハプロタイプ数が少ないうえに、父島と母島で共通に存在するものが大部分だったので、父島と母島の集団間には遺伝的分化がほとんどないことが明らかになった。

③ 父島と母島間の移住

固有種3種の固定指数やハプロタイプ解析からは、これらの3種では父島と母島間の移住は非常に少ないことが推定された。ただし、どの種においても *COII* 遺伝子では共通のハプロタイプを持つ個体が両島に存在したので、わずかではあるが移住が起きていることも否定できない。侵入種3種のうち、*D. hypocausta* の父島のハプロタイプ数は母島の3倍もあり、また母島集団のハプロタイプは父島集団でも観察されることから、この種では父島から母島へ侵入したことが示唆された。また *D. kikkawai* のハプロタイプ解析からも *D. hypocausta* と同様の父島から母島への移住が考えられた。*D. kikkawai* では父島のハプロタイプからは *D. bocki* のものと考えられるハプロタイプが観察されたが、*D. bocki* は小笠原諸島には生息しないので、これらの種の異種間流入は小笠原諸島以外の地域がおこったと考えるのが自然である。*D. suzukii* のハプロタイプ解析では、多くのものが父島と母島で共通して観察されており、2つの島の間では移住が頻繁に起きていることが示唆された。

④ 侵入種の起源

侵入種3種については、小笠原諸島への侵入がどの地域の集団に由来するかを調査するために、収集できた他地域の系統とハプロタイプの比較を行った。これら3種のうち、*D. suzukii* と *D. kikkawai* では、他地域の系統数が少なかったことと、ハプロタイプの変異が少なかったことから、侵入種の起源を明らかにすることは困難であると考えられた。しかし、近年侵入した *D. hypocausta* の起源については、*COII* 遺伝子の解析からはグアム島の系統が比較的近縁であったので、グアム島の系統を多数調査すれば、*D. hypocausta* の小笠原諸島への侵入の起源が明らかになる可能性が示された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

① 和多田正義、布山喜章、田辺慎一、渡部英昭、吉岡伸也、戸田正憲、小笠原諸島におけるショウジョウバエ相の変遷と新たな侵入種、低温科学、査読有、69巻、2011、

〔学会発表〕(計7件)

- ① 薦田麻衣、吉岡伸也、和多田正義、小笠原諸島のショウジョウバエにおける侵入種の消長と遺伝的多様性、日本動物学会中国四国支部・愛媛県例会、2011年12月17日、愛媛大学理学部
- ② 和多田正義、吉岡伸也、薦田麻衣、海洋島におけるショウジョウバエの遺伝的多様性と進化-小笠原諸島を例に-、日本遺伝学会第83回大会ワークショップ(招待講演)、2011年9月20日、京都大学
- ③ 和多田正義、吉岡伸也、薦田麻衣、小笠原諸島における近年侵入したショウジョウバエの分布と遺伝的特性、日本動物学会中国四国支部第63回大会、2011年5月15日、香川大学
- ④ 吉岡伸也、加藤雄大、和多田正義、小笠原諸島におけるショウジョウバエ相の変遷と侵入種の影響、日本動物学会中国四国支部・愛媛県例会、2010年12月18日、愛媛大学理学部
- ⑤ 吉岡伸也、加藤雄大、和多田正義、小笠原諸島における侵入種とショウジョウバエ相の変遷、北海道大学低温科学研究所共同研究集会、2010年9月23日、北海道大学低温科学研究所
- ⑥ 吉岡伸也、加藤雄大、和多田正義、小笠原諸島におけるショウジョウバエ相の変遷、日本動物学会中国四国支部大会、2010年5月15日、山口大学理学部
- ⑦ 吉岡伸也、和多田正義、小笠原諸島のショウジョウバエの侵入種と固有種に関する研究、日本動物学会中国四国支部愛媛県例会、2009年12月5日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

和多田 正義 (WATADA MASAYOSHI)
愛媛大学・大学院理工学研究科・准教授
研究者番号：00210881