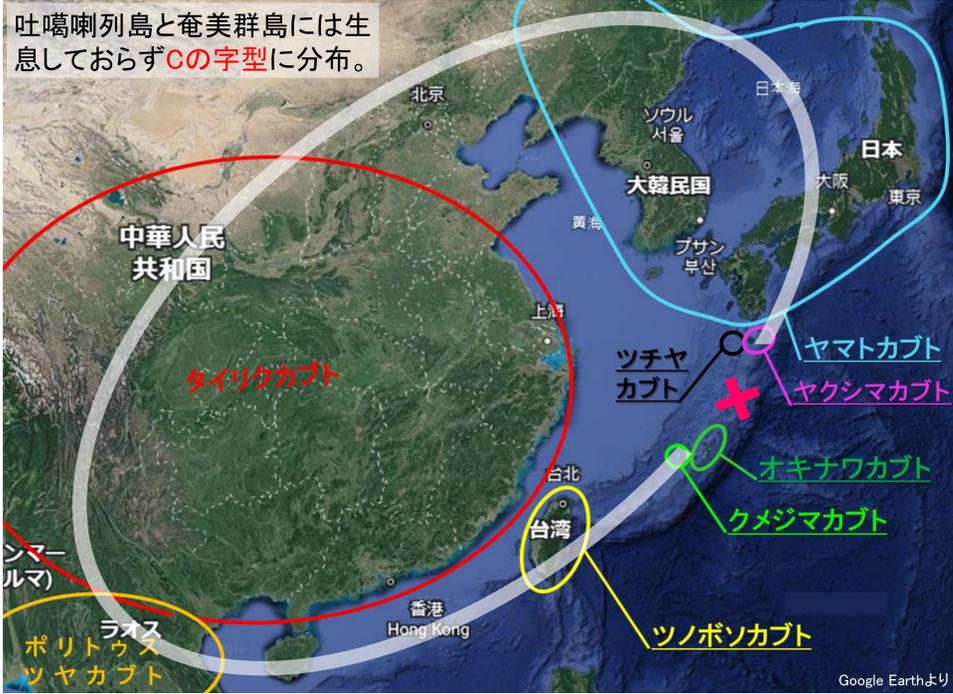


ツノボソカブトとオキナワカブトは同種の別亜種でよいのか？

鹿児島県立錦江湾高等学校 3年 SC カブトムシ班
 本田 康太 中玉利 青 中山 滉晴 水田 菜乃 中村 結花 岡田 紗季 馬場 伊桜里 大徳 和花

はじめに～カブトムシ *Trypoxylus dichotomus* 8亜種の分布



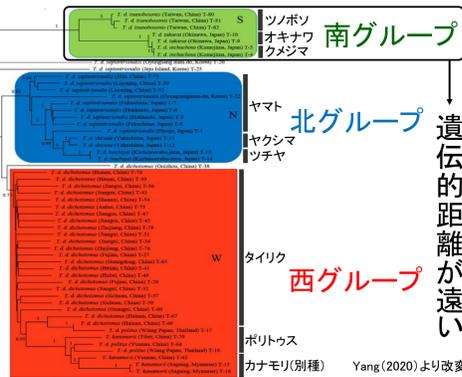
先行研究① 国分高校カブトムシ班 (2020)

- ヤマトとオキナワの亜種間雑種についての研究を行い以下のことを明らかにした。
- ハイブリッド(F₁)は両亜種の中間的な形質を示し、雌雄ともに野外で識別できる可能性が高い。
 - ヤマトはオキナワより有意に早く(約2週間)羽化し、F₁の羽化日はオス親に近くなる。
 - F₁は孵化率や幼虫生存率が低く、幼虫数が少ない。
 - F₂世代は得られず両亜種間で生殖隔離が起こっており、雑種化が進行する可能性は低い。
- ➡ ヤマトとオキナワは亜種ではなく、「別種」とすべきである可能性を示した。



先行研究② Yangら (2020)

Yangら(2020)は各亜種のDNAをもとにカブトムシ8つの亜種を南(オキナワ、クメジマ、ツノボソ) 北(ヤマト、ヤクシマ、ツチャ) 西(タイリク、ポリトウス) の3つのグループに分け、南グループが他のグループと比べて遺伝的距離が遠いことを示した。



昨年の研究

国分高校の先行研究とYang氏らの先行研究の結果から、カブトムシ8つの亜種は2種に分けられるのではないかと考えた。

仮説 「カブトムシを2種に分ける境界線は、南グループと西グループの間の台湾海峡上にある」 = 台湾海峡仮説

定義 台湾海峡仮説の境界線より上の北グループ・西グループをA種、下の南グループをB種と定義した。

目的 各亜種の羽化時期の比較と亜種間交雑実験をもとに仮説の検証を行う。

●羽化日の比較

A種-B種間の羽化日に有意差があり、A種内/B種内の羽化日には有意差はなかった。

●交雑実験

A種内/B種内の交雑では卵・幼虫ともに多く得られ、A種-B種間の交雑では、卵・幼虫ともに少なかった。

➡ 仮説を否定する要素はなかったため、台湾海峡仮説は支持された。



今年の研究

ツノボソカブトとオキナワカブトは同種の別亜種でよいのか

動機 生息地が狭く亜種数が少ないB種に着目し、ツノボソとオキナワに絞って両亜種の位置づけを確かめるため、研究を開始した。

目的 ツノボソ、オキナワ、両亜種の雑種個体の形態比較や羽化日の比較、亜種間交雑実験をもとに同種内の亜種という位置づけでよいのか検証する。

ツノボソカブトとオキナワカブトの特徴

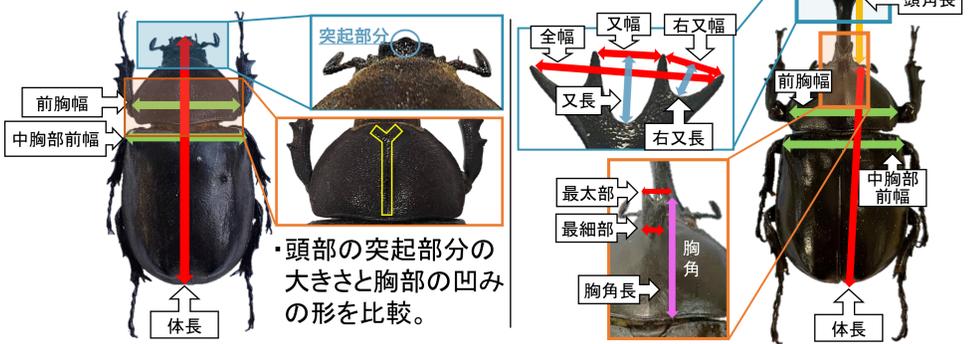
ツノボソカブト (*T. d. tunobosonis*) オキナワカブト (*T. d. takarai*)

- ツノボソカブト:
 - 体色は赤褐色。
 - オスの頭角は大きく発達する個体が多い。
 - 胸角は細く、長い。
- オキナワカブト:
 - 体色は黒色。
 - オスの頭角はあまり発達せず短い。
 - 胸角は太く、短い。

研究方法

1) 形態比較

- ♂12項目、♀3項目をデジタルノギスで測定する。体サイズの影響を排除するため、計測値を体長で割って、プロポーションで比較した。
- 主成分分析等を活用して各集団の形態を比較した。



2) 羽化日の比較

- 4月から毎日ケースを下から確認し、丸い蛹室が確認出来たらラベルを貼り付け日付を記入。
- 赤褐色の蛹のお尻を確認した日を蛹化日、蛹のお尻が見えなくなった日を羽化日として追加記入。



3) F1同士の交雑実験

- 昨年の交雑実験で孵化した幼虫(F1)は羽化後、交尾してしまいう前に蛹室から取り出して、雌雄別に集団飼育
- 未交尾のメスとオスを1匹ずつ同じ飼育ケース(特大)に入れ交雑実験を行った。



※交雑集団の呼称

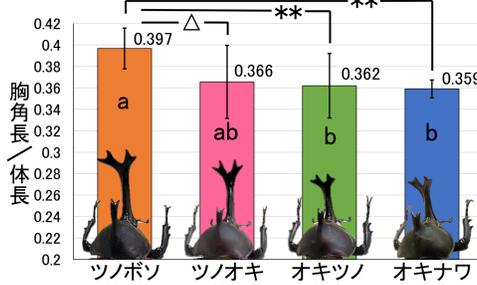
呼称は♂親→♀親の順で頭文字2文字を組合わせて呼ぶことにする。
 例: オキナワ♂ × ツノボソ♀ → オキツノ ツノボソ♂ × オキナワ♀ → ツノオキ

結果

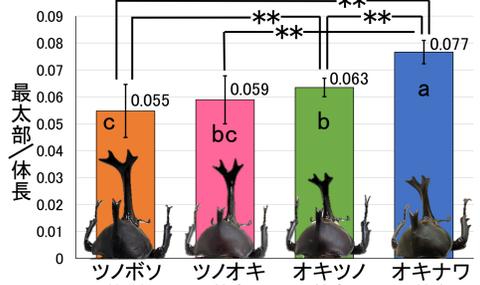
1) ♂の形態比較

凡例: Δ = p < 0.1 * = p < 0.05 ** = p < 0.01

① 胸角長/体長



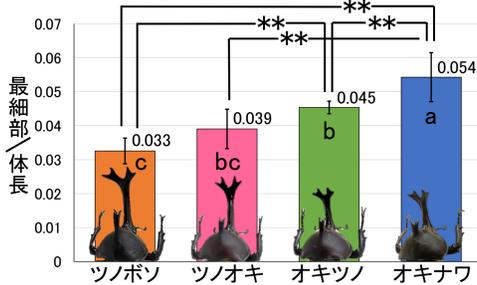
② 胸角最太部/体長



- ツノボソはオキナワ、オキツノより胸角長/体長の値が有意に大きかった。(一元配置分散分析, fisher多重比較検定 p < 0.05)
- 雑種個体は両亜種の間位置しオス親に近かった。

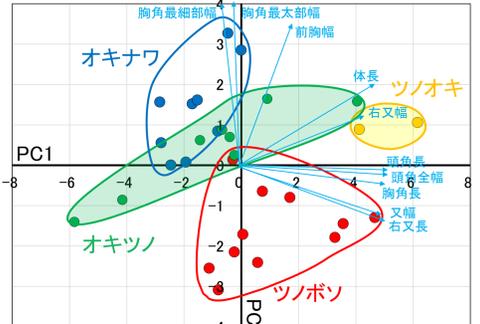
- オキナワは他の3群より最太部/体長の値が有意に大きかった。(一元配置分散分析, fisher多重比較検定 p < 0.05)
- 雑種個体は両亜種の間位置しオス親に近かった。

③ 胸角最細部/体長



- オキナワは他の3群より最細部/体長の値が有意に大きかった。(一元配置分散分析, fisher多重比較検定 p < 0.05)
- 雑種個体は両亜種の間位置しオス親に近かった。

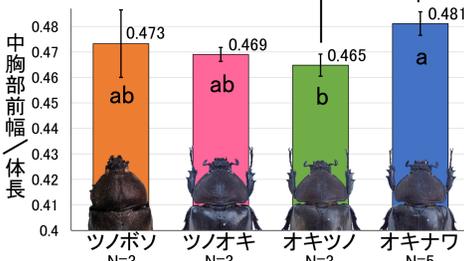
④ 主成分分析(♂12形質)



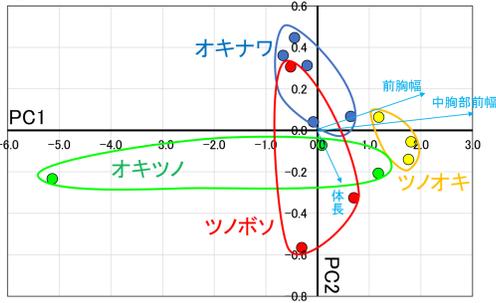
- 横軸(PC1)は頭角長、胸角長と、縦軸(PC2)は胸角最太部・最細部と相関が高かった。ツノボソとオキナワは大きく離れ、雑種個体は中間に位置した。

2) ♀の形態比較

①中胸部前幅/体長



②主成分分析(♀3形質)



・オキナワ-オキツノの間のみ有意差が見られ、他では有意差が見られなかった(一元配置分散分析, fisher多重比較検定 $p < 0.05$)。
 ・主成分分析でもはっきりとした差が見られなかった。

③頭部の突起の比較



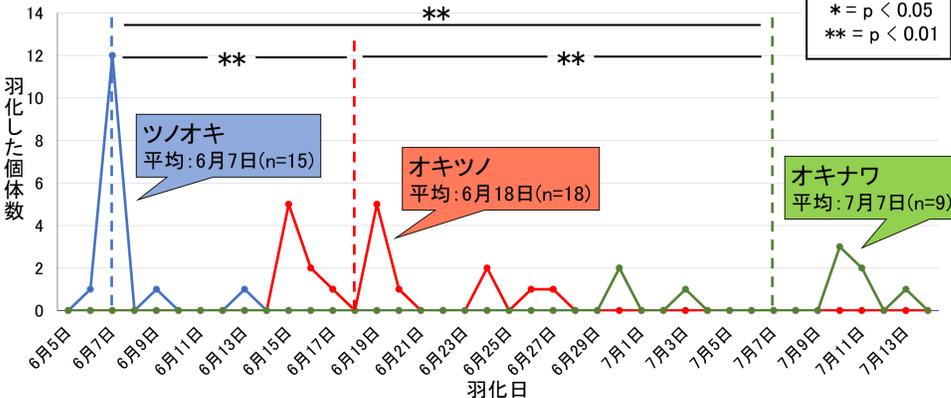
・ツノボソは突起がはっきりと見られ、オキナワは突起がなくほぼ平らであった。
 ・雑種個体ではツノオキ、オキツノともに突起が見られた。

④前胸部の凹みの比較



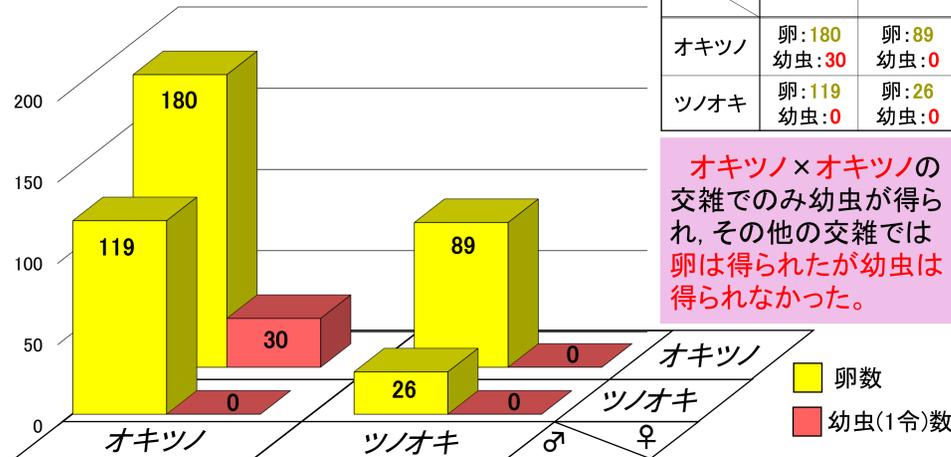
・ツノボソの凹みはYの字型で、オキナワの凹みはIの字型であった。
 ・雑種個体はツノオキ、オキツノともにYの字型であった。

3) 羽化日の比較



3群間すべてで有意差が確認され(一元配置分散分析, fisher多重比較検定 $p < 0.05$)、**ツノオキ→オキツノ→オキナワ**の順で早く羽化した。

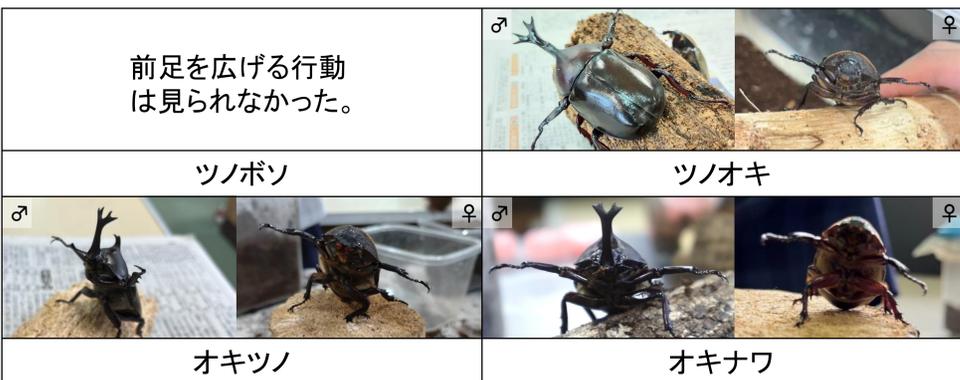
4) F1同士の交雑実験



オキツノ×オキツノの交雑でのみ幼虫が得られ、その他の交雑では卵は得られたが幼虫は得られなかった。

5) 威嚇行動

・オキナワは前足をT字に広げる威嚇行動をすることが知られている。
 ・雑種個体(ツノオキ、オキツノ)が威嚇行動をするのか調べた。



・ツノボソでは威嚇行動は見られなかった。
 ・雑種個体であるオキツノ、ツノオキともに前足を広げる威嚇行動を行った。

参考文献

- ・鹿児島県立国分高等学校サイエンス部カブトムシ班(2020) 日本学生科学賞中央審査提出論文「オキナワカブトを守れ! ~ヤマトカブトとオキナワカブトの亜種間雑種に関する研究~」
- ・Phylogeny and biogeography of the Japanese rhinoceros beetle, *Trypoxylus dichotomus* (Coleoptera: Scarabaeidae) based on SNP markers

考察

1) 形態比較

♂の場合

・多くの形質でツノボソとオキナワに大きな差異があり、雑種個体の形態が両亜種の間位置しオス親に近くなった。

♀の場合

・形態比較では4集団で違いは見られなかった。
 ・頭部の突起や胸部の凹みに違いが見られ、雑種個体はともにツノボソの形質を受け継いでおり、頭部の突起とY字型の凹みは優性形質だと考えられる。

➡ ♂の形態比較と♀の頭部の突起、前胸部の凹みの違いから両亜種において種分化が進んでいる可能性がある。



2) 羽化日の比較

・3群間で有意差が見られ、ツノオキ、オキツノ、オキナワの順で早く羽化した。
 ・オキツノはオス親であるオキナワの羽化日に近くなった。
 ・オキナワは本土との寒暖差で成長が阻害された可能性があり、沖縄で同様の調査が必要。

国分高校 カブトムシ班(2020)

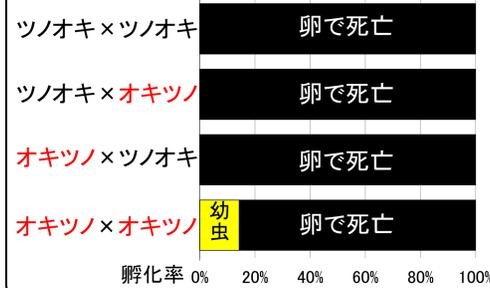
ヤマトはオキナワより有意に早く(約2週間)羽化し、F₁の羽化日はオス親に近くなる。

➡ ヤマトとオキナワを別種と示した国分高校の先行研究と類似している。

3) F1同士の交雑実験

予想: 4群すべてで幼虫(F2)が得られる。

結果: オキツノ(F1)×オキツノ(F1)の交雑でしか幼虫が得られなかった。



		妊性あり	妊性なし
♀	♂	オキツノ	ツノオキ
	妊性あり	オキツノ	卵: 180 幼虫: 30 (成虫: 19)
妊性なし	ツノオキ	卵: 119 幼虫: 0	卵: 26 幼虫: 0

・オキツノには妊性があり、ツノオキには妊性がない、と考えれば説明できる。
 ・F₁の妊性が不完全であることを示している。

4) 威嚇行動

・オキナワと雑種個体で威嚇行動が見られた。
 ・前足を広げる威嚇行動は優性形質と考えられる。

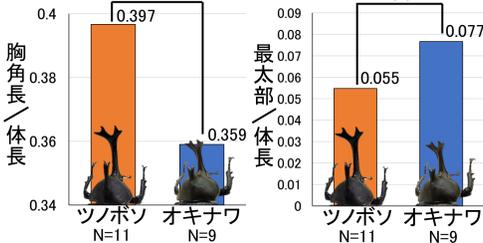
➡ 繁殖にも関係する威嚇行動の違いは極めて大きな差異であると考えられる。



総合考察 ~ツノボソとオキナワは別種なのか?~

・形態比較 両亜種間で極めて大きな形態的な差異。

・交雑実験 オキツノには妊性があり、ツノオキには妊性がない。➡ F₁の妊性が不完全



・威嚇行動 オキナワは前足を広げる威嚇行動をし、ツノボソには見られなかった。
 ➡ 威嚇の違いは極めて大きな差異であると考えられる。

・Yang氏ら(2020)より改変



ツノボソとオキナワ・クメジマの間に遺伝的距離がある。

・ツノボソとオキナワは別種であり、種の境界線がある。
 ・昨年の台湾海峡仮説に加えて、今年のツノボソとオキナワの間の境界線があるとする、カブトムシ8亜種は3種に分けることができる。

本研究のトピック

形態比較: 雑種個体の形態が両亜種の間位置し、オス親に近くなる。

両亜種の間位置することは不完全優性やメンデルの法則から説明ができる。しかし、オス親に近くなることは不完全優性、伴性遺伝、限性遺伝などから考えても説明がつかない。

交雑実験: 親の雌雄を入れ替えて作った雑種2集団のうち片方にだけ妊性がある。

論文を調べたが同様の現象が見つからない。



今後の課題・展望

- ・ツノボソの羽化日のデータを取り、羽化日の考察を深める。
- ・今回触れることができなかったクメジマカブトを加えて解析を行う。
- ・オキツノF₂の成虫(♂8匹, ♀11匹)の形態比較などの解析を行う。
- ・交雑ペア数を増やして、交雑実験の精度を上げる。

◎今後、これらのことを補って研究の精度を上げ、動物地理学的な知見を蓄積し、外来種問題などの生物の移入防止の活動につなげていきたい。

