

Drosophila melanogaster complex 3종 및 그들간 잡종의 성줄과 생식궁의 표현형적 유연관계

Phenogenetical Relationships of Sex Comb and Genital Arch in
Drosophila melanogaster Complex and Their Hybrids

최영현¹ · 유미애² · 이원호¹

Choi Yung Hyun¹, Mi Ae Yoo² and Won Ho Lee¹

ABSTRACT *Drosophila melanogaster*, *D. simulans*, and *D. sechellia* are closely related species which belong to the *D. melanogaster* complex; the first two cosmopolitan and the last one restricted to the Seychelles archipelago. The phenogenetical relationship between this complex and their hybrids were investigated by the comparison of sex-comb tooth number and genital arch of male. In interspecific hybrids of all crosses between three species four hybrid males were produced and completely sterile. Males of *D. simulans* (O_9) have significantly less sex-comb teeth (mean 8.35) than either *D. melanogaster* (OR, mean 10.73) and *D. sechellia* (Ja, mean 10.60). From the analysis by the number of sex-comb tooth in interspecific hybrids we could not represent the direction of heredity nature. Each species of *D. melanogaster* complex were characteristic in the shape of the genital arch, which readily allows these species to be distinguished. The common structure of the genital arch in the interspecific hybrids were mosaic-like structure between parental species.

KEY WORDS *Drosophila melanogaster* complex, interspecific hybrids, sex-comb, genital arch

초 록 *Drosophila melanogaster*와 *D. simulans*는 전세계적으로 분포하며, *D. sechellia*는 Africa의 Seychelles 제도에만 서식하는 지역종으로, 모두 *D. melanogaster* complex에 속하는 동포종이다. 이들 *D. melanogaster* complex 3종을 대상으로 종간 교배를 통한 잡종을 형성하여 성줄(sex-comb)과 생식궁(genital arch)의 표현형적 유연관계를 부모계통과 상호 비교하였다. 상기 3종들 사이의 교배를 통해 4가지 유형의 잡종 수컷을 얻었으며 이들은 모두 불임이었다. 성줄의 평균 치열수는 *D. melanogaster*(OR)가 10.73개, *D. sechellia*(Ja)는 10.69개였으며, *D. simulans*(O_9)에서는 8.35개였다. 종간 잡종의 치열수 분석으로는 뚜렷한 성줄의 유전양식을 제시할 수가 없었다. 외부 생식기를 구성하는 각 부속기관 중 분류상 중요 기준이 되는 생식궁은 종 특이적 모양을 띠고 있었으며, 종간 잡종 생식궁의 일반적인 형태는 부모종간의 중간형인 mosaic 구조였다.

김색어 *Drosophila melanogaster* complex, 종간잡종, 성줄, 생식궁

Drosophila melanogaster species group은 *D. melanogaster* subgroup을 포함하여 11개의 subgroup으로 구성되어 있으며, *D. melanogaster* subgroup에는 *D. melanogaster* complex와 *D. yakuba* complex로 나뉘는 8종이 속한다(Lemenuier & Ashburner, 1976; Lemenuier et al., 1986. Ashburner, 1989). *D. melanogaster* complex의 *D. melanogaster*, *D. si-*

mulans, *D. mauritiana* 및 *D. sechellia*의 4종 종전자의 2종은 전세계적으로 분포하는 종이며, 나머지 2종은 각각 St. Mauritius 섬과 Seychelles 제도에만 서식하는 지역 종이다(Tsacas & David, 1974; David et al., 1976; Tsacas & Bachli, 1981; Lemeunier et al., 1986).

Sturtevant(1920, 1929)에 의한 선행연구 이후,

¹부산대학교 자연과학대학 생물학과(Department of Biology, College of Natural Sciences, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea)

²부산대학교 자연과학대학 분자생물학과(Department of Molecular Biology, College of Natural Sciences, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea)

많은 학자들에 의해 *D. melanogaster complex*에 속하는 종간의 잡종형성에 관한 연구가 이루어져 왔는데 주로 생식적 격리기구의 해석(Speith, 1952; Barker, 1967; Eoff, 1975; Lee, 1978, 1980; Coyne, 1985) 및 지역적 계통간 차이의 유전적 분석(Watanabe et al., 1977; Lee, 1978, 1980; Takamura & Watanabe, 1980; Coyne, 1983; Coyne & Kreitman, 1986)이 그 목적이었으며, *D. melanogaster*와 *D. simulans* 종간의 상호교배가 대부분을 차지하여 왔었다. 그러나 *D. mauritiana*와 *D. sechellia*가 특정 지역에서만 서식한다는 점은 종분화의 연구에 또 다른 중요성을 가질 수 있다.

David et al. (1976)은 *D. simulans*와 *D. mauritiana* 사이의 종간 교배에 관하여 조사하였으며, Lee(1980)는 이 2종에 *D. melanogaster*를 포함한 3종간의 교배 실험을 통하여 *D. simulans*는 *D. melanogaster*에서 유래하였으며, *D. mauritiana*는 *D. simulans*에서 분지하였다고 보고한 바 있다. 그리고 Eisses et al. (1979), Gonzalez et al.(1982) 및 Lee와 Watanabe (1987) 등은 *D. melanogaster* subgroup에 속하는 여러 종들의 단백질 분석을 통한 근연관계를 밝혔으며, Coyne(1983, 1985), Coyne과 Kreitman(1986) 및 Lachaise et al.(1986) 등은 종간 및 잡종형성을 통한 형태적 비교와 그에 관여하는 유전자들 사이의 연관성을 조사하였다. 그외 mtDNA나 특정 효소의 염기서열과 같은 핵산 수준에서의 비교 등도 보고 되어지고 있다(Cseko et al., 1979; Soliganc & Monnerot, 1986; Lee et al., 1990).

한편 Watanabe와 Kawanishi(1979)는 *Drosophila*에서 근연종들 사이의 정역교배에 대한 교배 선호도와 교배 성공율에 따르는 분화 방향성을 제시하였고, Lee와 Watanabe(1987)는 *D. melanogaster* subgroup에 속하는 8종의 생식적 격리실험을 통하여 진화적 계통수를 작성한 바 있다. Coyne(1983, 1985) 및 Coyne과 Kreitman(1986)은 *D. melanogaster complex*에 속하는 종들의 성출을 구성하는 치열의 수와 정소의 색을 포함한 외부생식기의 형태를 비교 조사하였고, Lermeunier et al.(1986)은 *D. melanogaster* subgroup 8종의 형태적 차이를 정리하였으며, Choi et al.(1993)은 *D. melanogaster*와 *D. simulans* 종간 잡종의 결과를 *D. melanogaster* P-M system에서의 hybrid dysgenesis에 의한 생식선 퇴화 현상과

연관시켜 비교하였다.

본 연구에서는 *D. melanogaster* subgroup의 계통 진화적 유연관계에 따른 형태적 유사성 조사의 일환으로, Watanabe와 Kawanishi(1979)의 model을 적용하여 작성된 진화적 계통수(Lee & Watanabe, 1987)를 기준으로 하여 *D. melanogaster complex*에 속하는 3종(*D. melanogaster*, *D. simulans* 및 *D. sechellia*)을 대상으로 종간 잡종을 형성하여 이미 부분적으로 보고된 바 있는(Choi et al., 1994) 성출(sex-comb)과 생식궁(genital arch)의 주요 형태적 차이를 부모계통과 상호 비교하였다.

재료 및 방법

본 실험에 사용된 *D. melanogaster complex* 중 *D. melanogaster*는 Oregon-R(OR)계통이며 *D. simulans*는 일본의 Oita 자연집단 유래의 O₉ 계통을, *D. sechellia*는 Africa의 Seychelles 제도 유래의 Ja 계통을 사용하였다. 이들은 모두 일본 국립유전학 연구소 유전 실험 생물 보존 연구센터로 부터 분양 받아 본 실험실에서 수년간 유지되어 온 종들이다.

상기 3종간 잡종 형성을 위해서는 Lee와 Watanabe(1987)의 결과에 준한 종간 교배를 실시하여 4 가지 유형의 잡종을 얻었으며 이들은 모두 불임이었다(Table 1 참조). 이들의 수컷들을 대상으로 성출의 치열수(sex-comb tooth number)를 계수하여 상호 비교하였으며, 외부 생식기(male genital disc)를 구성하는 각 부속기관 중 분류상 주요기준이 되는 주 3가지 형질(genital arch, clasper 및 anal plate)을 중심으로 부모계통과 비교하여 그 유연관계를 조사하였다. 3가지 비교 대상 기관들은 영구 표본을 만들어 광학현미경하에서 관찰하였으며, 모든 사육 및 교배 실험은 corn-meal agar 배지를 사용한 25°C 항온 조건하에서 실시하였다.

결과 및 고찰

Drosophila 수컷의 앞다리 제1부절에 있는 특수화된 강모인 성출(性櫛, Sex-comb)은 *Drosophila*의 여러 subgroup에 있어서 형태와 위치 및 그 치열의 수는 매우 특이적이며, *Sophophora* subgenus에서 분류 기준의 중요한 key로서 적용되고 있다 Lemeu-

nier et al.(1986)에 의하여 *D. melanogaster* subgroup의 형태적 변이가 정리된 바 있으나 동일종이라 할지라도 다소 지역적 변이가 있는 것으로 보고되고 있다(Coyne, 1983, 1985; Kim et al., 1992; Choi et al., 1993, 1994). *Drosophila*에서 성출의 역할은 수컷에만 존재한다는 점에서 성적 행동과의 상관성이 있을 것으로 추정되지만(Spieth, 1952; Cook, 1977; Coyne, 1983, 1985) 정확한 기작은 아직 밝혀진 바 없다. 성출의 유전 양식을 조사하기 위한 시도는 주로 종간 교배를 통한 잡종의 성출 형태 및 치열수의 변이를 부모 계통과 비교하여 성출의 유전에 관여하는 유전자와의 종류 및 염색체상의 위치를 찾는 방법으로 진행되어져 오고 있다(Park, 1982; Coyne, 1983; 1985; Coyne & Kreitman, 1986; Choi et al., 1993).

성출의 치열수는 지역 및 계통간 약간의 차이는 있으나 *D. melanogaster*의 경우 대체로 8개에서 13개 사이의 분포를 보이며 평균 10.5개 내외인 것으로 알려져 왔는데(Coyne 1985; Kim et al., 1991; Choi et al., 1993, 1994), 본 연구에서 조사된 *D. melanogaster* OR의 경우는 약 10.73개로서 이를 선행 연구와 비슷하였다 반면 *D. simulans*의 경우, Coyne (1985)은 지역 계통에 따라 9.94개(Australia 집단)에서 10.48개(일본 집단) 정도였다고 하였으며, 한국의 김해지역에서 유래된 계통의 경우는 Kim et al.(1992)에 의해 평균 9.25개로 보고된 바 있고, 일본의 또 다른 집단에서 유래된 계통에서는 9.40개

정도였다(Choi et al., 1994). 본 실험에서 조사된 일본의 Oita 지역 유래 계통은 이를 선행 연구에서 보고된 계통들 보다 1-2개 적은 8.35개 정도로 나타났다 반면 *D. sechellia*의 경우는 *D. melanogaster*와 유사한 10.69개 정도 였다(Table 1). 한편 *D. melanogaster* complex에 속하는 나머지 한종인 *D. mauritiana*의 경우는 계통에 따라서 12.75개에서 14.64개 정도였던 것(Coyne, 1985; Choi et al., 1994)으로 보고되었으므로, *D. melanogaster* complex에 속하는 4종 중 *D. simulans*의 치열 수가 비교적 적음을 알 수 있었다 Choi et al.(1994)은 *D. yakuba* complex에 속하는 2종 중 *D. yakuba*와 *D. erecta*의 성출을 구성하는 치열 수는 각각 6.84개 및 7.58개 정도였다고 하였으며, 동일 complex에 속하는 *D. teissieri*의 경우는 7-9개 정도였던 점으로 미루어(Park, 1982), *D. melanogaster* complex가 *D. yakuba* complex 보다 치열의 수가 다소 많은 경향성을 보여 준다고 할 수 있겠다.

D. melanogaster complex의 종간 교배에 의한 잡종 F_1 수컷의 경우는 *D. simulans* 암컷과 *D. melanogaster* 수컷 사이의 잡종과 *D. simulans* 암컷과 *D. sechellia* 수컷 사이의 잡종에서 각각 9.97개 및 11.28개였으며, *D. sechellia* 암컷과 *D. melanogaster* 수컷 사이의 잡종과 *D. sechellia* 암컷과 *D. simulans* 수컷 사이의 잡종에서 각각 11.02개 및 10.05개 정도로서(Table 1과 Fig. 1), 다소 모계 영향성이 강한 것으로 나타났다. Park(1982)은 *D. mauritiana*와 *D. teissieri* 사이의 잡종에 대한 성출의 치열 수 비교에서 두 종간의 수정율을 고려할 때 유전적으로 다소 모계의 영향을 많이 받는 것 같다고 한 바 있으며, Choi et al.(1994)은 *D. simulans*와 *D. melanogaster*의 교배에서 얻은 잡종 F_1 의 평균 분포도 면에서도 모계와 유사한 경향성을 지닌다고 한 바 있다. 한편 Coyne(1985)에 의한 *D. simulans*와 *D. mauritiana* 사이의 종간 잡종 결과에 의하면, 성출의 치열 수에는 X 염색체 보다 오히려 상염색체의 영향을 더 많이 받았음을 알 수 있다. 그는 또한 두 종간의 역교배를 통한 분석에서 성출의 치열에 관여하는 유전자 종에서 제 2 염색체에 적어도 2개, 제 3 염색체에 적어도 3개의 유전자가 관여하여, 최소한 5개 이상의 유전자에 의해 결정 된다고 보고한 바 있다(Coyne, 1985; Coyne and Kreitman, 1986). 그러나 본 실

Table 1. Number of male sex-comb tooth in *Drosophila melanogaster*, and their interspecific hybrids

Species	No of males	Mean tooth No \pm S.D
<i>D. melanogaster</i> complex		
<i>melanogaster</i> (OR)	66	10.73 \pm 0.90
<i>simulans</i> (O ₉)	63	8.35 \pm 0.78
<i>sechellia</i> (Ja)	65	10.69 \pm 0.91
Hybrids		
<i>sim/mel*</i>	70	9.97 \pm 0.94
<i>sim/sech</i>	61	11.28 \pm 0.99
<i>sech/mel</i>	57	11.02 \pm 0.89
<i>sech/sim</i>	44	10.05 \pm 1.24

* hybrid male between *D. simulans* ♀ and *D. melanogaster* ♂

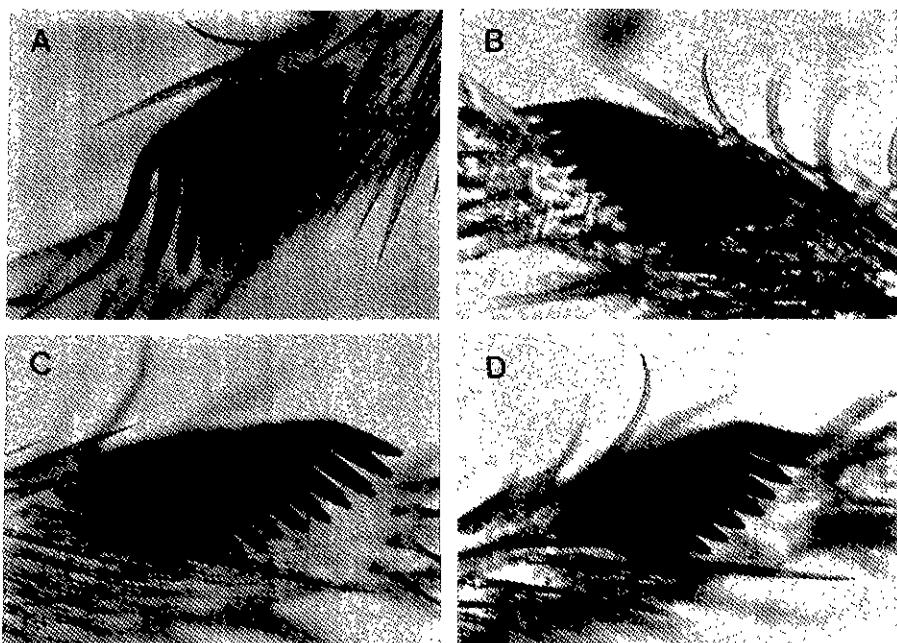


Fig. 1. Male sex-combs of hybrids between *D. simulans* ♀ and *D. melanogaster* ♂ (A), *D. simulans* ♀ and *D. sechellia* ♂ (B), *D. sechellia* ♀ and *D. melanogaster* ♂ (C), and *D. sechellia* ♀ and *D. simulans* ♂ (D) in the *D. melanogaster* complex.

험에서 조사된 3가지 *D. melanogaster* complex의 종간 잡종은 Lee와 Watanabe(1987)의 결과에서 처럼 모두 불일치인 관계로 성출 치열 수의 유전적 방향성을 더 이상 제시할 수가 없었다.

많은 곤충들에 있어서 처럼 *Drosophila*의 외부 생식기를 구성하는 부속 기관 역시 종 분류에 있어서 중요한 key 중의 하나이다(Coyne, 1983, Lemeunier et al., 1986; Ashburner, 1989) 본 실험에서 사용한 *D. melanogaster* complex 3종에서의 가장 큰 외부 생식기의 차이는 생식궁(genital arch)을 구성하는 posterial lobe의 형태였는데, *D. melanogaster*는 부등 4변형에 가까웠으며, *D. sechellia*는 긴 막대기형인 *D. mauritiana* 보다(Coyne, 1983, Ashburner, 1989)는 다소 두껍지만 상대적으로 다소 긴 모양이었고, *D. simulans*의 경우는 큰 반월형의 모습을 띠고 있었다.

그림 2는 조사된 *D. melanogaster* complex 3종 사이의 종간교배에 의한 잡종 F₁ 수컷의 외부생식기 모습이며, 주요 형질들을 부모계통들과 서로 비교하여 표 2에 정리하였다 Posterial lobe의 경우 *D. simulans* 암컷과 *D. melanogaster* 수컷, *D. simulans*

Table 2. Similarity of male genital disc between interspecific hybrids and three species of the *Drosophila melanogaster* complex

Character	sim/mel	sim/sech	sech/mel	sech/sim
Genital arch				
Posterial lobe	sim*	sim	inter**	sim
Lateral plate	mel	sim	mel	sim
Anal plate	mel	inter	mel	inter
Clasper	mel	inter	inter	inter

*resemblance to *D. simulans*

**intermediate

암컷과 *D. sechellia* 수컷 및 *D. sechellia* 암컷과 *D. simulans* 수컷 사이의 잡종 수컷의 경우 *D. simulans*와 유사하여 부분적으로 Coyne과 Kreitman(1986)의 결과와 비슷하였으며, *D. sechellia* 암컷과 *D. melanogaster* 수컷사이의 잡종에서는 두 종간의 중간 형태를 취하고 있었다. Lateral plate는 *D. simulans* 암컷과 *D. sechellia* 수컷 사이의 잡종을 제외하고는 모두 부계에 유사한 유형을 지니고 있었고, anal plate와 clasper도 부계의 영향을 받는 경우가 있었으나, 중간형태를 띤 경우도 있었다. 이상의 외부

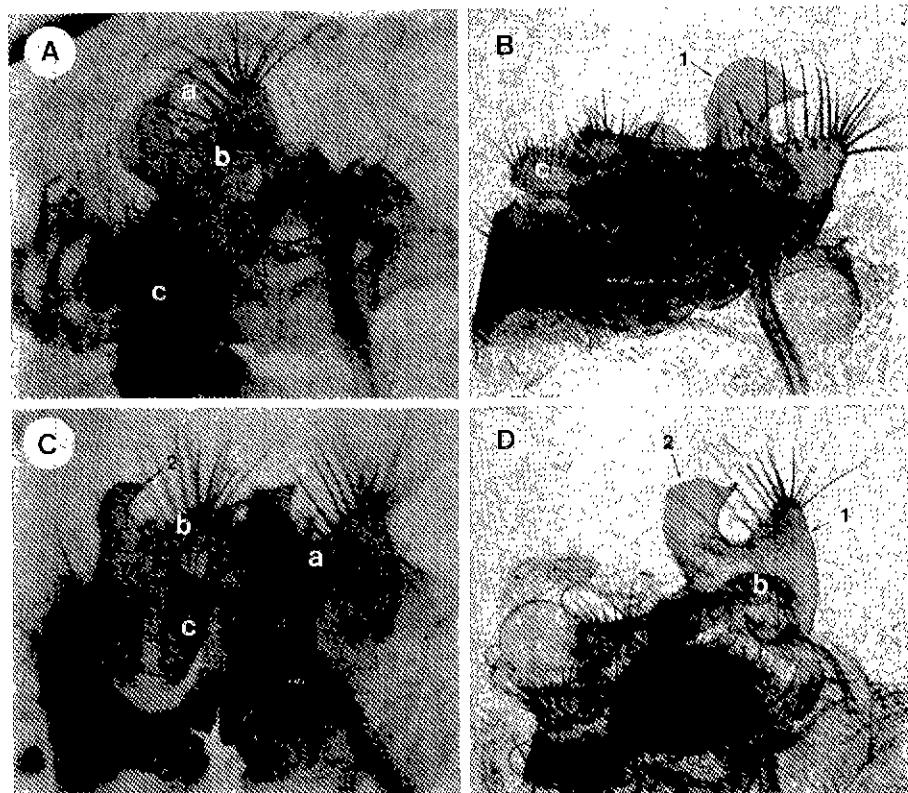


Fig. 2. Male genital discs of hybrids between *D. simulans* ♀ and *D. melanogaster* ♂ (A), *D. simulans* ♀ and *D. sechellia* ♂ (B), *D. sechellia* ♀ and *D. melanogaster* ♂ (C), and *D. sechellia* ♀ and *D. simulans* ♂ (D) in the *Drosophila melanogaster* complex. a; genital arch(1); posterial lobe 2, lateral plate), b; clasper, c, anal plate.

생식기에서 나타난 결과들은 부분적으로는 부계의 영향이 강한 경우도 있으나 중간적인 형태를 취하는 mosaic 구조가 더 많이 관찰되었다. 이는 실험에 사용한 종 및 계통들에서 약간의 상이성은 있으나 Tsacas *et al.*(1971), Coyne(1983) 및 Coyne과 Kreitman(1986) 등의 결과들과 유사하였으며, 특히 genital arch의 형태상 중간 차이는 전 염색체에 걸쳐 최소한 3 또는 4 좌위가 관여하므로(Coyne & Kreitman, 1986). 상기 결과들로서는 종간 잡종의 형태적 특징의 뚜렷한 방향성을 제시하기에는 다소 어려운 점이 있으며 다양한 표지 유전자를 가진 돌연변이 체들과의 교배를 통한 상호 비교 연구가 더 요구된다.

인용 문 헌

Ashburner, M. 1989 The *melanogaster* species subg-

roup, pp 1167-1190. In *Drosophila*. A laboratory handbook. CSH, New York.

Barker, J S. F. 1967. Factors affecting sexual isolation between *Drosophila melanogaster* and *Drosophila simulans*. Amer Natur. **101**: 277-287

Choi, Y H., M. A. Yoo & W H. Lee 1993. Morphological relationship between *Drosophila melanogaster*, *D. simulans* and their hybrids. Korean J. Appl. Entomol. **32**: 193-199.

Choi, Y. H., Y. W. Kwon, M. A. Yoo & W. H. Lee 1994 Comparative studies on sex comb variation in the *Drosophila* species. Korean J. Appl. Entomol. **33**: 216-224.

Cook, R M. 1977 Behavioral role of the sex combs in *Drosophila melanogaster* and *Drosophila simulans*. Behavior Genetics **7**: 349-357.

Coyne, J. A. & M. Kreitman. 1986 Evolutionary genetics of two sibling species, *Drosophila simulans* and *D. sechellia*. Evolution **40**: 673-691.

- Coyne, J. A. 1983. Genetic basis of differences in genital morphology among three sibling species of *Drosophila*. *Evolution* **37**: 1101-1118.
- Coyne, J. A. 1985. Genetic studies of three species of *Drosophila* with relationship to theories of speciation. *Genet. Res. Camb.* **46**: 169-192.
- Cseko, Y M T., N. A. Dower, P. Minoo, L. Lowenstein, G. R. Smith, J. Stone & R. Sederoff 1979. Evolution of polypyrimidines in *Drosophila*. *Genetics* **92**: 459-484.
- David, J., C. Bocquet, F. Lemeunier & L. Tsacas. 1976. Persistence of male sterility in strains issued from hybrids between two sibling species: *Drosophila simulans* and *D. mauritiana*. *J. Genetics* **62**: 93-100.
- Eisses, K. T., H. van Dijk & W. van Delden 1979. Genetic differentiation within the *melanogaster* species group of the Genus *Drosophila* (Sophophora). *Evolution* **33**: 1063-1068.
- Eoff, M. 1975. Artificial selection in *Drosophila melanogaster* females for increased and decreased sexual isolation from *D. simulans* males. *Amer. Natur.* **109**: 225-229.
- Gonzalez, A. M., V. H. Cabrera, J. M. Larruga and A. Gullon. 1982. Genetic distance in the sibling species *Drosophila melanogaster*, *Drosophila simulans* and *Drosophila mauritiana*. *Evolution* **36**: 517-522.
- Kim, N. W., T. J. Lee & K. J. Hong 1992. A systematic study on the eight species of the *Drosophila melanogaster* species group by taxometric analysis. *Korean J. Entomol.* **22**: 13-22.
- Lachaise, D., JR David, F. Lemeunier, L. Tsacas and M. Ashburner. 1986. The reproductive isolations of *Drosophila sechellia* with *D. mauritiana*, *D. simulans* and *D. melanogaster* from the Afrotropical region. *Evolution* **40**: 262-271.
- Lee W. H. 1978. Temperature sensitive viability of hybrid between *Drosophila melanogaster* and *D. simulans*. *Japan. J. Genetics* **53**: 339-344.
- Lee, W. H. & T. K. Watanabe 1987. Evolutionary genetics of the *Drosophila melanogaster* subgroup I. Phylogenetic relationships based on matings, hybrids and proteins. *Japan. J. Genetics* **62**: 225-239.
- Lee, W. H. 1980. A study on the hybridization in sibling species of *Drosophila*. *J. Pusan Nat'l Univ.* **29**: 69-78.
- Lee, W. H., M. A. Yoo and J. K. Choo. 1990. Molecular genetic studies on the speciation of the *Drosophila melanogaster* subgroup: Relationships based on proteins, hybrids and mitochondrial DNAs. *Korean J. Genetics* **12**: 317-330.
- Lemeunier, F., J. R. David, L. Tsacas & M. Ashburner 1986. The *melanogaster* species group, pp. 147-256. In M. Ashburner et al.(ed), *The Genetics and Biology of Drosophila*. Vol. 3e Academic Press London.
- Lemeunier, F. & M. Ashburner. 1976. Relationship within the *melanogaster* species subgroup of the genus *Drosophila* (Sophophora). II. Phylogenetic relationships between six species based upon polytene chromosome banding sequences. *Proc. R. Soc. London B.* **193**: 275-294.
- Park, M. Y. 1982. Genetic study on the hybridization between *Drosophila teissieri* and *D. mauritiana*. Master of Education Thesis, Pusan Natl. Univ. pp. 1-42.
- Soliganc, M. & M. Monnerot. 1986. Race formation, speciation and introgression within *Drosophila simulans*, *D. mauritiana* and *D. sechellia* inferred from mitochondrial DNA analysis. *Evolution* **40**: 531-539.
- Spieth, H. T. 1952. Mating behavior within the genus *Drosophila* (Diptera). *Bull. Amer. Mus. Natl. Hist.* **99**: 395-474.
- Sturtevant, A. H. 1920. Genetic studies on *Drosophila simulans* I. Introduction. Hybrids with *Drosophila melanogaster*. *Genetics* **5**: 488-500.
- Sturtevant, A. H. 1929. The genetics of *Drosophila simulans*. *Carnegie Inst. Wash. Publ.*, **399**: 1-62.
- Takamura, T. & T. K. Watanabe 1980. Further studies on the lethal hybrid rescue (*Lhr*) gene of *Drosophila simulans*. *Japan. J. Genetics* **55**: 405-408.
- Tsacas, L. & G. Bachli 1981. *Drosophila sechellia*, n. sp., huitième espèce du sous-group *melanogaster* des îles Seychelles [Diptera, Drosophilidae]. *Rev. Fr. Ent. (N.S.)* **3**: 146-150.
- Tsacas, L. & J. David. 1974. *Drosophila mauritiana*, n. sp., du Groupe *melanogaster* de l'Île Maurice. *Bull. Soc. Ent. Fr.* **79**: 42-46.
- Watada, M., Y. Inoue & T. K. Watanabe. 1986. Expansion of *Drosophila simulans* in Japan. *Zoological Science* **3**: 873-883.
- Watanabe, T. K. & M. Kawanishi 1979. Mating preference and the direction of evolution in *Drosophila*. *Science* **205**: 906-907.
- Watanabe, T. K., W. H. Lee, Y. Inoue & M. Kawanishi 1977. Genetic variation of the hybrid crossability between *Drosophila melanogaster* and *D. simulans* Japan. *J. Genetics* **52**: 1-8.