

## 論文内容要旨 (和文)

氏名 峯川義雅 論文題目 ニホンアカザトウムシおよびその近縁種を用いた系統進化学的研究

ザトウムシ類は蜘蛛形綱ザトウムシ目に属し、そのほとんどの種が生涯を通じて乾燥に弱いため、森林の外では生活できず、異なる林分の間で遺伝的交流が妨げられることにより、外部形態や染色体などに顕著な地理的分化を獲得していることが報告されている。さらに、ザトウムシは歩行以外の移動手段を持たないため、分布拡大が物理的な障壁（海、森、高山など）により制限されやすいため、地理的に隔離した小集団を形成しやすい。ニホンアカザトウムシ (*Pseudobiantes japonicus* Hirst, 1911) は、西日本を中心に広い分布域を持ち、これまでに体長や、目丘上と背甲第2区に存在するトゲに関して形態的に多型であることが報告されている。このように、広い分布と形態的な多型を示す背景には、ニホンアカザトウムシがすでに複数の系統に分化している可能性が考えられる。ニホンアカザトウムシが属するカマアカザトウムシ科は、主な分布地である東南アジアが起源地であると考えられており、ニホンアカザトウムシは本科の北限に分布する種であると考えられる。本研究では、ニホンアカザトウムシおよびその近縁種の系統進化過程を明らかにするために、ミトコンドリア DNA および核 DNA を用いて分子系統解析を行い、また用いたサンプルの詳細な外部形態解析を行った。

第一章では、ニホンアカザトウムシを含むカマアカザトウムシ科の生息環境を明らかにするために、文献情報及び野外調査の結果をもとに、生息に好適な環境と不適な環境の比較を行った。

第二章では、ニホンアカザトウムシの分布域全域に渡って得た個体を元に、ミトコンドリア DNA による分子系統解析を行った。その結果、本種は少なくとも4つのクレードを形成することが明らかとなり、この結果に地理的情報を配置した系統地理学的解析を行うことで、それぞれのクレードで起源地が異なることが示された。また、外部形態の解析結果を分子系統樹に配置した結果、ニホンアカザトウムシのクレードのほとんどは形態的に識別可能であることが明らかとなった。

第三章では、ニホンアカザトウムシに近縁で、琉球列島に分布するシマアカザトウムシを用いた分子系統解析を行った。その結果、奄美大島と沖縄本島の集団間に遺伝的な隔たりのあり、また奄美大島の集団の方が沖縄本島の集団よりも、集団内の遺伝的分化が大きいことが明らかとなった。奄美大島の集団は、沖縄本島の集団よりも集団内の遺伝的分化

氏 名

茶川 義雅 

が大きいことが明らかとなった。奄美大島の集団は、沖縄本島の集団よりも形態的な多型に富んでいることが報告されていることから、遺伝的な分化と形態的な分化が関連している可能性も示した。

第四章では、第一章で認められたニホンアカザトウムシの 4 つのクレードのうち、二次的接触が認められる 2 つのクレードに関して、ミトコンドリア DNA と核 DNA による接触地域を中心とした系統間交雑の解析を行った。その結果、両クレード間で交雑の証拠は得られなかったために、両系統間に生殖的隔離が生じていることを示した。

第五章では、これまでの研究を踏まえて、ニホンアカザトウムシとその近縁種全体のミトコンドリア DNA および核 DNA を用いた系統解析を行い、クレード間および種間の分化に、過去の交雑が関与しているかどうかについて検討した。その結果、これまでの解析でミトコンドリア DNA によって認められた各クレード間において、過去の交雑を示す根拠は得られなかった。これらのことから、ニホンアカザトウムシは異所的種分化によって多様化したと考えられる。また本研究で用いた近縁種であるシマアカザトウムシやオオアカザトウムシがニホンアカザトウムシの一部のクレードと単系統群を形成したために、シマアカザトウムシとオオアカザトウムシを含めた 6 つの単系統群を、それぞれ同属別種として認めることが可能であることが示された。

論文内容要旨 (英文)

氏名 茶川 義雅 

論文題目 Phylogenetic analysis of the laniatorid Harvestman  
*Pseudobiantes japonicus* and Its Allied Species

*Pseudobiantes japonicus* Hirst 1911 (Arachnida: Opiliones: Laniatores: Epedanidae) has widely distribution in western Honshu of Japan, grows 3.5-4.0 mm length and lives in the humid place of forests, and previous studies reported that this species includes some morphological variations such as the morphology of second scutal area and the number of spine underside of femur. This species may have the phylogenetic differentiation because its limited dispersal power of flightless and small body size provides the large distribution and high morphological speciation. In addition, Epedanidae are mainly distributed in Southeast Asia where are considered that it is the place of origin. This study therefore aims to clarify the phylogenetic background of *P. japonicus* and its allied species, I studied dividing following four chapters.

In chapter 1, we compared vegetations between suitable and unsuitable habitats for harvestmen based on literatures and field collection data to find the suitable vegetative conditions for distribution of harvestmen.

In chapter 2, to clarify the phylogenetic relationships of *P. japonicus* and its allied species of *Epedanellus tuberculatus* Roewer 1911 and *Kilungius insulanus* (Hirst 1911), I conducted morphological and nucleotide sequence analyses using the Cytochrome Oxidase subunit I (COI) gene of mitochondrial DNA (mtDNA) including outgroup taxa. The results indicated six clades including two monophyletic groups of its allied species, respectively. Three of four clades of *P. japonicus* could be recognized by the combination of morphological characters. Moreover, phylogenetic trees indicated that each of four clades of *P. japonicus* were occupied different distribution area although they had a part of sympatric area, suggesting that each clade of *P. japonicus* had been experienced different phylogeographic histories.

In chapter 2, to clarify the phylogenetic differentiation of *K. insulanus* between Island Amami-Oshima and Island Okinawa in the middle part of Ryukyu archipelago, I conducted the sequencing based on the COI gene. The phylogenetic result was that *K. insulanus* of Island Amami-Oshima and Island Okinawa were formed in each monophyletic group, suggesting that this species had been experienced the original history in each island because surrounding ocean plays the most effective barrier to the colonization of this species and there were little gene-flow between both islands.

In chapter 3, phylogeographic analyses of *P. japonicus* in chapter 1 have provided the contact zone between different phylogenetic groups (Clade A and Clade B) in central Shikoku. I performed PCR-RFLP of mtDNA and nuclear DNA (nrDNA) to clarify hybridization and

introgression between them in this area. The result could not detect the heterogeneity of nrDNA and the incongruence between mtDNA and nrDNA. These results indicated that *P. japonicus* had experienced hybridization and introgression between Clade A and Clade B in the contact zone, suggesting that they could be considered as cryptic species.

In chapter 4, to clarify hybridization and introgression between different phylogenetic groups of *P. japonicus* in chapter 1 or between different species, I conducted nucleotide sequence analyses using mtDNA and nrDNA. The result of comparing phylogenetic trees of mtDNA and nrDNA was the same branching pattern between them. I indicated that they had not been experienced the histories of hybridization and introgression between them, suggesting that the speciation of *P. japonicus* was involved in the long-term isolation of population among allopatric refugia.

In discussion, my morphological and phylogenetic analyses of *P. japonicus* and its allied species concluded that the loss of flight and small body size of *P. japonicus* had contributed to their steady diversification in Japan and six monophyletic groups including its allied species of *E. tuberculatus* and *K. insulanus* should be divided to different six species.

学位論文の審査及び学力確認の結果の要旨

令和2年 2月 10日

理工学研究科長 殿

論文博士論文審査委員会

主査 ..... 横 山 ..... 潤

副査 ..... 藤 山 直 之 .....

副査 ..... 崎 山 博 史 .....

副査 ..... 福 田 達 哉 .....

副査 .....



学位論文の審査及び学力確認の結果を下記のとおり報告します。

記

論 文 申 請 者	氏名 桑川 義雅		
論 文 題 目	ニホンアカザトウムシおよびその近縁種を用いた系統進化学的研究		
学位論文審査結果	合格	論文審査年月日	令和2年 1月 28日～ 令和2年 2月 7日
論文公聴会	令和2年 2月 7日	場 所	理学部1号館14番教室
学力確認結果	合格	学力確認年月日	令和2年 2月 7日

学位論文の審査結果の要旨 (1,000字程度)

本論文は、総合序論、第一～五章、総合考察で構成されている。総合序論では本研究の対象群であるザトウムシ類の生物的特性と、特に日本における本群の、及び特に注目して研究を行ったニホンアカザトウムシ及びその近縁種群の系統分類学的問題点が指摘されている。第一章では、日本国内の現地踏査及び文献調査、並びに東南アジアにおける現地調査を行った結果に基づく、ニホンアカザトウムシが属するカマアカザトウムシ科の生息環境に関するレビューを行った。第二章では、ミトコンドリア DNA によるニホンアカザトウムシの詳細な系統解析の結果を記載しており、種内に明確な系統群が存在し、一部の系統群は別属他種により近縁であるという顕著な結果を得ている。第三章では、ニホンアカザトウムシに近縁な琉球列島のシマアカザトウムシの系統解析の結果を記載しており、島嶼間に明確な遺伝的分化が見られることを初めて明らかにした。第四章では、第二章で明らかになったニホンアカザトウムシ系統間の接触域における系統間交雑の有無を核 DNA マーカーと合わせて検討し、系統間に生殖的隔離が成立している可能性を指摘した。このことは、ニホンアカザトウムシの各系統が種のレベルにまで分化していることを示す顕著な結果である。第五章では、第四章の解析をニホンアカザトウムシ及び近縁種群にまで拡大し、別属他種に近縁とされた系統も含めて、全ての系統で過去に交雑現象を経験しないまま分化したことを示した。総合考察ではこれらを踏まえて、新生代の氷期-間氷期サイクルに対応したニホンアカザトウムシ及びその近縁種群の分化の歴史、及び系統関係に基づく分類体系の再構築の必要性が提言されている。これら一連の研究は、対象としたカマアカザトウムシ科のみならず、節足動物全般、及び移動能力の低い土壌性の無脊椎動物の系統進化学的研究に関連する重要な知見を多数含む点で高く評価される。

本研究の成果は、申請者を筆頭著者とする欧文論文として、査読付き学術雑誌に4報が掲載されている。論文全体は適切に構成されており、記述も正確かつ論理的である。審査員4名で審査した結果、本学位論文は、研究テーマの新規性・独自性、専門知識に基づく背景・目的の正しい記述、論文構成および論理性、明確な結論の提示、のいずれの審査基準も十分に満たしていると判断されたため、学位論文の審査を合格と判定した。本論文は、研究倫理又は利益相反等に係る学内規則に基づく手続きは必要ありません。

学力確認の結果の要旨

学力確認は、申請者に博士論文の内容についてのプレゼンテーション(約40分)を行なってもらい、その内容および関連する事項について、口頭で質疑する形式(約30分)で実施した。無脊椎動物の分類に関する一般的事項、ザトウムシ類特有の進化学的問題点など、研究に直接関連する内容の質疑の他に、系統解析の手法、生物の系統進化、生物地理などに関する一般的な内容の質疑を行い、専門分野に対する理解度、英語の運用能力、今後の研究展開能力などについての評価を行なった。その結果、博士の学位を授与するのに十分な知識と能力を有していると判断されたので、学力確認を合格と判定した。