

【学位論文審査の要旨】

1 研究の目的

クモ類（クモ目）は、陸上生態系において小型無脊椎動物の捕食者として優占的な分類群である。ハエトリグモ科はクモ目の中で最も種多様性が高い分類群であり、世界から 625 属約 6000 種が知られる。ハエトリグモ科では、成体の形態や色彩に非常に顕著な性的二型が見られることが一般的である。そのため、一方の性のみしか知られていない種が少なくなく、シノニムが多数存在することが予想される。また、熱帯・亜熱帯地域において多数の未記載種が存在することも予想される。

論文著者（Phung Thi Hong Luong）は、生物多様性ホットスポットの 1 つとして知られるインドシナ亜区におけるハエトリグモ科の種多様性の解明をライフワークとしており、本研究では *Phintella* 属のベトナムに産する種の分類体系を再検討することを目的とした。本属は世界から 61 種が知られ、その大半は東洋区と旧北区に分布する。前述の通り、成体の形態や色彩に非常に顕著な性的二型が見られるため、61 種の既知種のうちの 13 種については雄が、14 種については雌が不明である。つまり、同種の雌雄の対応関係を明らかにすることが必要不可欠であることから、DNA barcoding、分子系統解析、交尾器形態の観察を組み合わせた Integrated Taxonomy を導入した。

2 研究の方法と結果

第 2 章では、ベトナムから得られた *Phintella* 属 129 標本と、*Phintella* 属と極めて形態的に類似する *Laufeia squamata* 3 標本を解析対象とし、13 属 15 種 18 標本を外群として、Integrated Taxonomy による種の識別を行った。まず、ミトコンドリアの CO1 遺伝子、16S-ND1 遺伝子、核の 28S 遺伝子の塩基配列を PCR とダイレクトシーケンス法で決定し、得られた 3 つの遺伝子の塩基配列データセットを元に、ABGD 解析および bPTP 解析を行うことで（DNA barcoding）、20 から 43 の MOTU（molecular operational taxonomic unit）を識別した。ついで、前述の 3 つのデータセットを元に最尤法及びベイズ法による分子系統解析に基づき、各 MOTU の単系統性を評価した。単系統性が支持されなかった場合は、単系統群となるまで近隣の MOTU と統合した。その結果、15 から 22 の MOTU に統合された。最後に、これらの MOTU について詳細な形態比較を行った結果、22 の MOTU が交尾器の形態学的形質によっても識別できた。したがって、これら 22 の MOTU を互いに独立した種であると結論付けた。一方で、*P. aequipeiformis* Zabka, 1985 と *P. lucai* Zabka, 1985、*P. debilis* (Thorell, 1891) と *P. bifurcilinea* (Bösenberg & Strand, 1906)、*P. suavis* (Koch, 1846) と *P. vittata* (Koch, 1846) が、それぞれ同種であることが判明した（第 4 章でシノニムの提案を行った）。また、雌雄の対応関係が、12 種について新たに判明し、Logunov & Jäger (2015) が示した *L. squamata* の雌雄の対応関係が誤りであったことが判明した。

第 3 章では、ベトナムに産する *Phintella* 属の種の系統関係を推定した。その結果、ベトナムに産する全種が明瞭な単系統群（VN クレード）を構成し、*Laufeia squamata* はその単

系統群の内部に位置づけられることが分かった（第4章で属の組み替えを行った）。また、VN クレードの内部に、以下の4つの明瞭な単系統群が認められた：*P. debilis* クレード、*P. lepidus* クレード、*P. versicolor* クレード、*P. squamata* クレード。*P. sancha* の系統的位置は安定しなかった（暫定的に独立したクレードとして扱った）。

第4章では、分子情報の取得に適した標本が得られなかった“種”の標本の形態を Integrated Taxonomy により確認された種と詳細に比較検討したところ、さらに1種が追加され、合計23種が識別された。そのうち13種は新種であった。雌雄の形態形質に基づく検索表の作成、種の記載・再記載、学名に関する変更を行った。

第5章では、第4章で識別された23種について、採集地点の位置情報を元に、ベトナムにおける分布様式の類型化を行った。3種は「ベトナム全域分布」であった。また、それらとは別の2種も、本研究ではベトナム南部からしか発見できなかったものの、中国南部から記録があるため、「ベトナム全域分布」であると思われた。10種は「ベトナム北部気候帯分布」であり、少なくともその一部は中国南部からも記録がある。一方、5種は「ベトナム南部気候帯分布」、3種は「Trung Son 山系分布（北部気候帯分布と南部気候帯の移行帯に分布）」であった。インドシナ西部における本属の分布情報はほとんど得られていないが、中国南部からベトナム北部とベトナム南部で種相が大きく変化することが示唆された。

3 審査の結果

生物多様性を理解する上で生物学的種の正確な認識は必要不可欠である。複数の生物学的種の存在を証明するための最も説得力のある手法は、野外での求愛・配偶行動の観察や飼育条件下での交配実験によって、交配前および交配後生殖隔離の有無を直接確認することである。しかし、動物では交配に際して特定の環境条件を要する場合が多いことから、それは容易ではない。そのため、「次善の策」として、様々な分類群の研究において、Integrated Taxonomy が用いられるようになってきた。しかしながら、熱帯・亜熱帯地域に生息するクモ類の種多様性の解明に Integrated Taxonomy を用いた事例は未だほとんどない。

Zabka (1985)は、本研究以前にベトナムに産するハエトリグモ類を包括的に取り扱った唯一のモノグラフであり、その中に *Phintella* 属10種が記録されている（そのうち1種は後に別の属に組み替えられた）。しかしながら、Zabka が観察した標本の大半はベトナム北部から採集されたものであり、彼はそれらの形態学的情報のみに基づいて種を識別した。

以上の点を踏まえ、本研究の主要な学術的貢献は以下のように要約できる。

- Integrated Taxonomy を導入することにより、ベトナムから13新種を含む23種を識別した（ベトナムに産する種の数2.5倍となった）。また、大半の種について雌雄の対応関係を明らかにし、3例のシノニムを解決した。東洋区のハエトリグモ類の現行の種分類体系は、Zabka の一連の研究に依拠していることから、本研究は多くの属で種分類体系の再検討が必要であることを示唆している。
- 本研究において、DNA barcoding、分子系統解析、交尾器形態（生殖隔離に関連する

形質)の観察を行い、それぞれの結果の整合性が非常に高かった。そのことは、*Phintella* 属のみならずハエトリグモ類全般において種認識や種分類体系の再検討に Integrated Taxonomy が有用であることを示唆している。

- 種内の COI 遺伝子塩基配列の変異の最大値が 2.22%、種間の COI 遺伝子塩基配列の変異の最小値が 4.40%となり、明瞭な「種内-種間のバーコード・ギャップ」が確認できた。これらの値は、カナダのクモ類全般、およびカナダのハエトリグモ科を対象とした先行研究(Blagoev *et al.*, 2016)で示された値と非常に良く一致した。したがって、Integrated Taxonomy を適用できないような小規模な標本群に対しても、「種内-種間のバーコード・ギャップ (2~5%)」を外挿することで、標本群の中に複数の種が存在するか否かを判断することが可能となった。

このように、本研究は、熱帯・亜熱帯地域において種の多様性が著しく高い陸上節足動物を対象とした系統分類学的研究の「教科書的事例」である。

なお、本研究の成果の一部は、学位申請者が第一著者の論文 1 報として、国際的に認知されている学術誌に既に掲載されている。

Phung THL, Yamasaki T, Eguchi K. 2016. Conspecificity of *Phintella aequipeiformis* Zabka, 1985 and *P. lucai* Zabka, 1985 (Araneae: Salticidae) confirmed by DNA barcoding. *Revue suisse de Zoologie*, 123(2), 283-290.

(下線：学位申請者)

以上のことから、本研究は本学の博士(理学)の学位に十分値するものと判断した。

4 最終試験の結果

本学の学位規定に従って、試験および試問を行った。公開の席上で論文発表を行い、生命科学専攻の教員による質疑応答をもって試験にあてた。また、論文審査委員が本論文および関連分野について試問を行った。その結果、専門科目および外国語についても十分な学力があることを認め、合格と判定した。