

京都大学	博 士（ 理 学 ）	氏 名	Zakea Sultana
論文題目	Comparative morphological and molecular phylogenetic studies on divergence and differentiation of two closely-related intertidal hermit crabs, <i>Pagurus lanuginosus</i> and <i>Pagurus maculosus</i> (Crustacea: Anomura: Paguridae)		
（論文内容の要旨） 十脚甲殻類の分類において、種の同定および記載には伝統的に形態形質が用いられてきた。しかしこの分類群は大変に種の多様性が高く、形態形質が酷似するが行動や生態が明らかに異なり生殖的に隔離されている種、すなわち隠蔽種が知られている。このような隠蔽種についての、正確な同定や生態調査は、生物の種分化や表現型可塑性の進化や発達の過程の解明における良い研究材料となる。 本研究は、日本およびその近海に分布する岩礁潮間帯にすむ外部形態の類似する 2 種のヤドカリ、<i>Pagurus lanuginosus</i>（ケアシホンヤドカリ）および <i>Pagurus maculosus</i>（ホシゾラホンヤドカリ）を対象に、各種の成長段階における形態比較、並びに系統分類学的研究を行うことで、この 2 種の系統関係について明らかにし、種分化や表現型可塑性について考察を行った。 研究対象とした種の成体について、2 種を区別する形態的特徴は、歩脚並びに頭部に散在する斑点の色が異なることが知られているが、その詳細な分布パターンについての報告はない。このため、まず 2 種の成体の、より詳細な形態的差異を明らかにするために、斑点の分布やその他の形質について生時の写真に基づく比較を行った。その結果、鉗脚上面、第 2 脚、第 3 脚の両側面の色彩に大きな違いがあった。さらに、この 2 種は生息場所に違いが見られるが、生息環境の選好性についてその違いが餌の選好性に反映するという点に着目し、摂餌器官である口器について、SEM による詳細な観察を行った。その結果、一部の毛の構造に若干の違いが認められるものの、全体としては顕著な違いは認められなかった。 十脚甲殻類の分類において、幼生の形態は成体と比較した場合、機能的、構造的差異があるため、重要な分類形質となりうることが示唆されているが、この点に着目した研究例は少ない。このため、対象 2 種のヤドカリの幼生について、それぞれ詳細な形態観察を行い、その特徴を記載した上で、それぞれの比較を行った。特に、<i>P. maculosus</i> の幼生形態については初の報告となる。その結果、この 2 種の幼生には形態、色彩においても違いがあることが明らかになった。 形態的特徴に基づく分類では <i>P. lanuginosus</i> と <i>P. maculosus</i> は非常に近縁であると考えられていたが、分子系統学的な視点に基づく系統関係、ヌクレオチド多様性は明らかにされていなかった。そこでミトコンドリア遺伝子の複数座位を用いて分子系統解析を行い、2 種の系統関係を明らかにした。また、この 2 種に加え国内で見られる <i>Pagurus</i> 属の数種を解析に加えることで、国内の本属の系統生物地理を明らかにした。その結果日本の <i>Pagurus</i> 属は 2 つのクレードに分けられ、<i>P. lanuginosus</i> と <i>P. maculosus</i> は姉妹群を成し、非常に近縁な関係にあることが示された。またこの 2 種は、約 4 百万～5 百万年前に分化したことが示唆された。 また、<i>P. lanuginosus</i> と <i>P. maculosus</i> を区別する際に最も有効な形質は、体に散在する斑点の色彩である。したがって、この 2 種において、どのような遺伝子が斑点の色彩をはじめとする多様な表現型に影響しているのかを確かめた。まず初めに、2 種の色彩に関与していると予想される遺伝子を特定するため、トランスクリプトーム解析による比較を行った。その結果、黒斑を持つ個体は白斑のものに比べて、メラニン形成関連遺伝子が優位に発現していた他、白斑個体では‘Bm-ebony’と呼ばれるメラニン阻害遺伝子が発現していた。			

(論文審査の結果の要旨)

生物の種分化機構を考える上で、形態的に区別が難しいが生殖的に隔離されている隠蔽種は、多くの遺伝情報を共有していると考えられ、その課題における良い材料である。本学位論文では、申請者は日本の岩礁潮間帯の普通種である *Pagurus lanuginosus* (ケアシホンヤドカリ) と、*Pagurus maculosus* (ホシゾラホンヤドカリ) に着目し、それらを材料として、その形態および分子レベルでの違いや系統関係を調べた。この2種は成体の外部形態で細かい違いが認められ、また交尾前ガードの観察から生殖前隔離があること、地理的な分布が重複しながらも違いが認められることから、別種とされた。しかし、それ以上の詳細な研究例はなく、申請者はさらに詳細な形態的研究に加えて、DNAレベルでの違いについても調べ、報告している。論文の全体は、マクロスケールの研究とミクロスケールの研究を巧妙に組み合わせたもので、種分化のありかたを、さまざまな角度から調べたものとなっており、高く評価できる。

ヤドカリ類を含む十脚甲殻類の成体は底生生活者であるが、幼生は浮遊生活を送り形態的にも成体と非常に異なり、機能的、構造的差異があるため、重要な分類形質となりうることが示唆されているが、この点に着目した研究例は少ない。しかし浮遊生活を送る幼生は、沖合いの環境で育ち水質の変化に弱く、また非常に小さく餌を与えるのも難しく、育成するのが困難である。しかし申請者は、卓越した技術でこの2種の幼生を育てることに成功し、その詳細な形態的観察を行い、ゾエア期、メガロパ期それぞれの比較を行い、成体よりもはるかに多くの形態的差異を見いだした。この点は高く評価され、今後の幼生による十脚甲殻類の同定の研究に大いに寄与するものであると考えられる。

ミクロスケールの研究では、申請者は分子系統学的な視点に基づく系統関係、およびヌクレオチド多様性の研究を行っている。申請者は、研究材料の2種に加え、国内で見られる *Pagurus* 属の数種を解析に加えることで、日本の *Pagurus* 属は2つのクレードに分けられ、*P. lanuginosus* と *P. maculosus* は姉妹群を成し、分子系統学的な観点からも非常に近縁な関係にあることを初めて示した。今後、日本産 *Pagurus* の2つのクレードの起源を始めとして、当該分類群の系統地理的研究に新たな方向を提示するものとして、評価される。

また、*P. lanuginosus* と *P. maculosus* を区別する際に最も有効な形質である斑点の色彩について、色彩に関与していると予想される遺伝子を特定するため、トランスクリプトーム解析による比較を行い、黒斑を持つ個体は、メラニン形成関連遺伝子がより優位に発現しており、白斑個体では‘Bm-ebony’と呼ばれるメラニン阻害遺伝子が発現しているのを見いだしており、高く評価される。

よって、本論文は博士(理学)の学位論文として価値あるものと認める。また、平成28年1月21日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。