

学位論文の審査結果の要旨

本研究は、アジア地域を中心に地理的にも広域分布するとともに、標高傾度においても広域的な分布をもつ水生昆虫のハビタット・ジェネラリスト種であるチラカゲロウに焦点を当て、まず、どのような系統進化史を有し、日本列島の形成史にどのように関係しているのかを究明したものである。本種が、(1) アジア地域という広域（平面的な広域）に分布していることと、(2) 一つの河川の中においても上流から下流までの流程広域（断面的な広域）に生息していること、これらの2方向的視点に基づき、ユニークなアプローチを展開した研究である。この過程で、明確に遺伝分化した種内系統群（隠蔽系統群）の存在を明らかにし、それぞれの系統群が互いに異なる環境へ適応するなどのニッチ分化が生じていることも究明しており、高く評価される研究論文である。

(1) 水平方向的視点からの系統地理・進化生態学的研究

東アジア地域広域（日本列島内広域、朝鮮半島、ロシア沿海州の152地点）におけるサンプリングから216個体のチラカゲロウを対象に、ミトコンドリア遺伝子のCOI領域と16S rRNA領域、核遺伝子のHistone H3領域とITS2領域を解析し、いずれの遺伝子領域においても、また複数の遺伝系統解析手法（ML法、Bayes法、NJ法）においても安定した遺伝構造（系統解析結果）を取得することに成功している。すなわち、極めて信頼性の高い系統解析結果を得ている。チラカゲロウが、大陸系統と日本列島系統に大きく遺伝分化していることを明確に示し、この遺伝分化は日本列島がユーラシア大陸から離裂する時代に起因することを分子時計に基づく考察により究明している。次に、日本列島内の系統に関しても、大きく分化した2系統群の存在を明らかにしている（系統DとU）。系統Dは河川の下流域（downstream）に、系統Uは上流域（upstream）に生息することに気づき、この作業仮説を検証するべく、膨大なフィールドワークを実施し、GIS技術を駆使するとともに、調査地点の環境要因における物理・化学的要素、生物学的要素などを取得し、調査地点間の環境要因に対する主成分分析の他、一般線形モデル（GLM）を用いた統計解析を実施し、両系統間ではニッチ分化が生じていることを明らかにしている。なお、この点に関しては、単一の水系内において両系統が共存している岡山県の旭川水系をフィールドとしたファイン・スケールでの解析において明瞭に傍証しており、高く評価できる。

また、系統D内の遺伝構造を詳細に検討することで、二つの遺伝的な亜系統群の存在を究明している。糸魚川-静岡構造線付近を境界に明瞭な地理的分化が示され、それぞれ系統DN（北日本D系統）と系統DS（南日本D系統）と区別し、これらの遺伝分化に関しても地史との関連性に関する詳細に議論するなど、系統進化と地学分野を融合した当該専攻・当該講座の研究に相応しい内容である。

これらの解析や考察を通し、従来、ただ単に環境適応力が高いが故にハビタット・ジェネラリスト種として位置づけられているものと考えられてきたが、その背景には、きめ細かな適応進化とニッチ分化が隠れていたことを究明している点において、オリジナ

リティが認められる。これは進化生物学におけるニッチ分化から種分化に至る移行的段階を詳細に示した研究であり、興味深く、示唆に富んだ内容を含む成果と言える。

以上の成果は、国際的な評価の高い米誌 *Freshwater Science* に受理されている。

(2) 垂直方向的視点からの進化生態・進化遺伝学的研究

日本最大規模の水系である千曲-信濃川水系に着目し、標高傾度に沿った約 30 の調査地点を設定し、各調査地点における定量的な調査サンプリングを通して、チラカゲロウの個体密度や現存量（バイオマス）を明らかにしている。先の（1）の研究同様に、様々な環境要因のデータと密度や現存量といった集団構造との関連性についても詳細に追究している。この過程において採用された解析手法なども適正である。また、各地点で採取された 330 個体にも及ぶ膨大な試料を対象に遺伝子解析を実施しており、流程に沿った遺伝構造を追究するとともに、個体密度や現存量との関係性についても考察している。この結果として、本水系内において、いずれの流域でも極めて高い遺伝的多様性をもつことを究明している。また、AMOVA, Migrate といった遺伝統計解析手法を駆使し、水系内での本種の移動分散の方向性や強度に関する考察を行い、本流-支流間での勾配などにより分散しやすい／し難い方向性があることを世代あたりの分散率といった数値で示すとともに、水系全体での遺伝子流動が生じていることを明らかにしている。

以上の成果も、国際的な評価の高い米誌 *Freshwater Science* に受理されている。

この他、チラカゲロウの関連種群も含めた高次系統解析も実施しており、本研究で対象としているチラカゲロウが系統進化学的にどのような位置付けにあるかについても明確にしている。この成果は、国際的な昆虫学誌 *Entomological Research* に投稿し、minor revision の判定の後に、改訂原稿を提出したところである。

4 章構成からなる博士論文であり、これら各章が独立した研究としての体裁にもなっており、このうちの 2 章分に関しては、国際誌に独立した 2 編の論文として受理されているほか、1 章分も受理直前の段階にある。残る 1 章分はこれから投稿予定であるが、既に国際誌に受理されるに足るデータセットを有しており、高く評価されるべき博士論文である。

公表主要論文名

- Rie Saito, Koji Tojo (2016) Complex geographic and habitat based niche partitioning of an East Asian habitat generalist mayfly *Isonychia japonica* (Ephemeroptera, Isonychiidae), with reference to differences in genetic structure. *Freshwater Science* (in press).
- Rie Saito, Koji Tojo (2016) Comparing spatial patterns of population density, biomass, and genetic diversity patterns of the habitat generalist mayfly *Isonychia japonica* Ulmer (Ephemeroptera, Isonychiidae), in the riverine landscape of the Chikuma-Shinano River Basin. *Freshwater Science* (in press).
- Rie Saito, Kazuki Sekine, Koji Tojo (2016) Re-habitation and changes in the genetic diversity of aquatic insects in a newly restored shoal type habitat created as the result of a

nature restoration project in the central basin of the Chikuma-gawa River. Zoosymposia (in press)

- Koji Tojo, Kazuki Sekine, Tomoya Suzuki, Rie Saito, Masaki Takenaka (2016) The species and genetic diversities of insects in Japan, with special reference to the aquatic insects. In: Species Diversity of Animal in Japan (Motokawa, M. and Kajihara, H. eds). Springer (in press)
- 齋藤梨絵, 東城幸治 (2012) チラカゲロウにおける分子系統地理学的研究 (カゲロウ目, チラカゲロウ科) . New Entomologist 61:37-50.