学位論文の審査結果の要旨

本研究は、日本固有「科」を構成するガガンボカゲロウ科昆虫に注目し、複数の分子マーカー(核遺伝子とミトコンドリア遺伝子におけるそれぞれ複数領域)を用いて推察した本グループの系統進化史が、日本列島の形成史に深く関わる興味深いものであることを明確に示した。

現在は日本列島だけに生息するガガンボカゲロウ類であるが、その起源はかなり古く、少なくとも2千万年前よりも古い時代にまで遡るものと推定した。すなわち、日本列島の原型を構成する陸塊がユーラシア大陸の東縁に位置していた時代の起源であり、日本列島の大陸からの離裂に伴って分散してきたこと、東北日本と南西日本が独立に(それぞれ反時計回りと時計回りに)大陸から離裂し、日本列島の原型をなす陸塊がほぼ現在の位置にまで移動して以降も、1500-500万年前の長年に渡り、フォッサマグナ地域を介して切り離されてきた地史が、ガガンボカゲロウ類2種の分化に深く関わっていることを明示した。

さらに、南西日本に広域分布するガガンボカゲロウ種内には遺伝的に大きく分化した5系統群が存在することを明らかにした。これらの5系統群の地理的分布に関しても、現在の地理・地形だけでなく、地史が深く関わっていることを詳細に議論している(学位論文第1,3章)。

加えて、これらの5系統群間の遺伝的分化の大きに着目し、種内変異としての扱いの妥当性を評価するべく、自身で開発したハンドペアリング法(学位論文第3章)を用い、系統群間での生殖的隔離の有無を実験的に検証し、系統群間での生殖的隔離が完全に成立している部分、ほぼ成立している部分、成立の途にある部分の存在を明示し、種分化に至る様々な段階の生殖的隔離検の存在を検出した。これは、進化生物学の理論上の「種分化連続体仮説」状態を明確に示した希少かつ典型的な研究事例と言える。

これらの研究プロセスにおいて、自ら確立したハンドペアリング法の精度保証については、系統群間での大きな遺伝的分化状態を利用し、分子マーカーを用いた交配実験をすることで、供試したオス個体の精子により確実に授精が行われていることを遺伝学的にも検証している。

これら一連の研究成果は、「種分化がどのようにして生じるのか?」、すなわち、生物多様性の創生機構にも深く関わる重要な知見と言える。

以上のことから、当該論文は学位論文として相応しいと評価する。

公表主要論文名

- ・ <u>Masaki Takenaka</u>, Koji Tojo. The ancient origin and large genetic differentiation across the geo-tectonic faults of a dipteromimid mayfly family endemic to the Japanese Islands. *Biological Journal of the Linnean Society*. in press (オンライン版で公開).
- ・ <u>Masaki Takenaka</u>, Kazuki Sekine, Koji Tojo. The First Establishment of "Hand-pairing" Breeding Method for the Most Ancestral Wing Acquired Insect Group. *Zoological Science*. in press (オンライン版で公開).
- Masaki Takenaka, Saki Shibata, Noriyoshi Shimura, Tomiko Ito, Koji Tojo. Update on Distribution Area Information of Three Species of *Anisocentropus* Caddisflies Inhabiting the Japanese Islands (Trichoptera: Calamoceratidae). New Entomologist 67:13-20. 2018

- Koji Tojo, Kazuki Sekine, <u>Masaki Takenaka</u>, Yuichi Isaka, Shohei Komaki, Tomoya Suzuki, Sean D. Schoville. Species diversity of insects in Japan: Their origins and diversification processes. *Entomological Science*. 20: 357-381. 2017.
- Koji Tojo, <u>Masaki Takenaka</u>, Shigeharu Togashi, Kazuki Sekine. A Polymitarcyid Mayfly, *Ephoron shigae* Recorded in the Chikuma-Shinano River System in Niigata Prefecture, and Its Genetic Structure. *New Entomologist* 66: 1-7. 2017
- Koji Tojo, Kazuki Sekine, Tomoya Suzuki, Rie Saito, <u>Masaki Takenaka</u>. The species and genetic diversities of insects in Japan, with special reference to the aquatic insects.
 In (Motokawa and Kajihara ed) Species Diversity of Animals in Japan. Springer, Tokyo. 229-247, 2017.
- Masaki Takenaka, Koji Tojo. A Study into the Distribution of the Family Dipteromimidae, Which is Endemic to the Japanese Islands. *Biology of Inland Waters, Supplement* 3: 93-97.
 2016
- Masaya Tamura, <u>Masaki Takenaka</u>, Koji Tojo. New Record of the Caddisfly Genus *Anisocentropus* (Trichoptera: Calamoceratidae) on Yaku-shima Island. New Entomologist 64: 55-59. 2015
- ・ <u>竹中將起</u>・小河原寛明・東城幸治. ガガンボカゲロウ類の分布域について:日本列島 広域を対象とした網羅的解析. New Entomologist 64: 13-18. 2015.
- 竹中將起・東城幸治. 源流域棲ガガンボカゲロウ類における特殊な交尾行動の観察 記録. New Entomologist 63: 47-52. 2014.
- Masaki Takenaka, Saki Shibata, Tomoya Suzuki, Koji Tojo. Distribution Record of Anisocentropus Caddisfly (Trichoptera: Calamoceratidae) in the Tsushima Islands. New Entomologist 62: 45-49. 2013.
- Masaki Takenaka, Koji Tojo. Extremely large genetic differentiation in the mayfly Dipteromimus tipuliformis: An ideal case in elucidation of the mechanisms of speciation (Ephemeroptera; Dipteromimidae). The 4th Symposium of Benthological Society of Asia.
 Nanjing Agricultural University, Nanjing, China, August, 2018.
- Hiroaki Kogawara, <u>Masaki Takenaka</u>, Koji Tojo. The genetic structure and the moleculer phylogeography of Ephemera mayflyes. *The 4th Symposium of Benthological Society of Asia*. Nanjing Agricultural University, Nanjing, China, August, 2018.
- Masaki Takenaka, Tojo Koji. The reproductive experiment of the Japanese endemic mayfly family Dipteromimidae showing large genetic differentiation: Elucidation of their speciation mechanisms. The XV International Conference on Ephemeroptera and XIX International Symposium on Plecoptera, Brazil, Aracruz, June, 2018.
- Masaki Takenaka, Koji Tojo. Phylogeography of the dipteromimid mayflies which is endemic to the Japanese Islands. The XV International Conference on Ephemeroptera and XIX International Symposium on Plecoptera, Brazil, Aracruz, June, 2018.
- Masaki Takenaka, Koji Tojo. Phylogeography of Pteronarcyidae (Insecta, Plecoptera, Pteronarcyidae). The 3rd Symposium of Benthological Society of Asia. Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia. August, 2016.

- Masaki Takenaka, Koji Tojo. Deep relationship between genetic structure and geological history of japan's endemic dipteromimid mayflies, which inhabit the upper headwaters (Ephemeroptera, Dipteromimidae). Society for Freshwater Science 2015 Annual Meeting. Wisconsin Center, Milwaukee, Wisconsin, USA. May, 2015.
- Masaki Takenaka, Saki Shibata, Tomiko Ito, Koji Tojo. Molecular Phylogeographic Analyses of Anisocentropus Caddisflies (Limnephilidae). 15th International Symposium on Trichoptera. Rutgers University, New Jersey, USA. June, 2015.
- Masaki Takenaka, Koji Tojo. The Phylogeography of Japan's endemic Dpteromimid mayflies, which inhabit the upper headwaters of rivers (Insecta, Ephemeroptera, Dipteromimidae). The 2nd Symposium of Benthological Society of Asia. The Pusan National University, Busan, Korea. June, 2014.
- Masaki Takenaka, Koji Tojo. Molecular phylogenetic analyses of diptemomimid mayflies and its relevance to geohistory: Geological isolation by plate tectonic lines, mountain formation, and Stream Piracies (Insecta, Ephemeroptera, Dipteromimidae). *The 2nd Symposium of Benthological Society of Asia*. The Pusan National University, Busan, Korea. June, 2014.
- Masaki Takenaka, Koji Tojo. Genetic Structures of Dipteromimid Mayflies Endemic to Japan. The 13th International Conference on Ephemeroptera and 17th International Symposium on Plecoptera. Wakayama Japan. June 2012.