

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 9 日現在

機関番号：17201

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24780053

研究課題名(和文) アゲハチョウ科3種の産卵刺激物質受容メカニズムの解明

研究課題名(英文) Gustatory sensing mechanism coding for oviposition stimulants in the Papilionidae

研究代表者

龍田 勝輔 (Ryuda, Masasuke)

佐賀大学・総合分析実験センター・助教

研究者番号：00565690

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,400,000円、(間接経費) 420,000円

研究成果の概要(和文)：アゲハチョウ科の雌成虫はふ節の味感覚子で産卵刺激物質(味物質)を受容、識別し厳密な寄主選択を行う。寄主植物葉に含まれる産卵刺激物質は同定されているが、複数の物質が混合して初めて産卵刺激活性を持ち、その受容メカニズムは謎である。申請者は、アゲハチョウ科3種の化学情報受容メカニズムを解明するため、電気生理学的手法による雌成虫ふ節感覚子の産卵刺激物質受容機構の解明を目指してきた。本研究結果によって、アゲハチョウ科3種は、産卵刺激物質の受容の特化した3種類の味細胞(神経細胞)を持ち、それらの味細胞の同時的発火(興奮)により産卵行動を制御するといった共通の制御機構を持つ可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Butterflies of family Papilionidae, generally called the swallowtail butterfly, feeds and lays eggs on the leaves of the Rutaceae family. Phytochemical compounds, called oviposition stimulants, stimulating oviposition are the most important factor for triggering the oviposition behavior. Females perceive oviposition stimulants as tastants through their chemosensilla on the foreleg tarsomere to determine if a plant is suitable for larval feeding. Interestingly, these stimulants show no oviposition activity when assayed as single compounds, and they need to be presented as a mixture for eliciting the oviposition behavior.

Here we attempted to elucidate why these compounds need to be presented as a mixture, using electrophysiological observations and oviposition behavioral assays. Our data suggests the firing of all three spikes in the discrete GRNs (taste cells) housed into the sensilla is essential for inducing oviposition behavior in 3 butterfly species of family Papilionidae.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学、応用昆虫学

キーワード：アゲハチョウ 産卵刺激物質 味覚 産卵行動調節メカニズム

1. 研究開始当初の背景

アゲハチョウ科昆虫は狭食性を示し、ミカン科、クスノキ科、ウマノスズクサ科などの植物を寄主としている。その厳密な寄主選択は雌成虫の産卵時に行われ、雌成虫は前肢附節に存在する感覚子で葉の化合物(味物質)を識別した後、産卵する。アゲハチョウ科の寄主選択性の解明は、化学生態学分野を中心としてミカン科植物の葉に含まれる産卵刺激物質の解明によって行われてきた。その中でもナミアゲハ(*Papilio xuthus*)、クロアゲハ(*Papilio protenor*)、シロオビアゲハ(*Papilio polytes*)の3種は複数の産卵刺激物質(それぞれ、10、6、5種類)が同定されている。興味深い事に、産卵刺激物質は単独では産卵活性を示さず、複数の産卵刺激物質が混合して初めて産卵活性を持つ。しかし、複数の産卵刺激物質が附節感覚子でどのように受容され、産卵行動を誘起するのか?そのメカニズムは未解明であった。

これまでの申請者の研究成果として、ナミアゲハ附節感覚子の産卵刺激物質に対する電気生理学的応答を調べ、附節感覚子内の3種類の味細胞が産卵刺激物質に特異的に応答し、それらの味細胞が同時に興奮することが産卵行動誘発に必要であることを解明した(雑誌論文)。また、ナミアゲハの附節感覚子内部には4種類の味細胞が存在し、その中から3種類の味細胞が産卵刺激物質に特異的に応答することが判明した(残り1つは苦味物質受容細胞)。鱗翅目および双翅目昆虫の研究成果より、昆虫の味覚(味細胞)は水、糖、塩、苦味物質を受容すると考えられているが、本研究成果により、アゲハチョウ科昆虫がその味覚を産卵刺激物質の受容に特化させることにより、産卵行動の制御に特化した機能へと変化させていることが予想された。

2. 研究の目的

ナミアゲハで得られた研究成果に加え、他の2種のアゲハ(クロアゲハ・シロオビアゲハ)の附節感覚子の産卵刺激物質への応答を調べ、アゲハチョウ科3種の寄主選択機構の共通性もしくは多様性を明らかにし、寄主選択機構による種分化の過程を考察することを試みた。

3. 研究の方法

アゲハチョウ科2種(クロアゲハ、シロオビアゲハ)の産卵刺激物質、ミカン葉のエタノール抽出液、水、糖、塩、そして苦味物質に対する応答を調べるため電気生理学実験を行った。アゲハから前肢附節を切り出し、実験装置に固定した後、産卵刺激物質に対する神経応答を確認した。電気生理実験機器の詳細については雑誌論文を参照いただきたい。

電気生理実験結果により、神経応答が確認できた産卵刺激物、またはまったく応答しな

い物質が確認できたため、産卵行動実験による感覚子機能解析および産卵刺激物質の再検討を行った。0~1日齢の雌成虫をハンドペアリング法により交配させた。その後3~6日齢の雌成虫を産卵行動実験に使用した。プラスチック製の人工葉に産卵刺激物質、産卵刺激物質の混合液、寄主植物葉のエタノール抽出液、水、糖、塩、もしくは苦味物質を塗布し雌成虫に呈示し産卵の有無を確認した。産卵実験の詳細についても雑誌論文を参照いただきたい。

4. 研究成果

2種のアゲハ(クロ・シロオビ)の産卵刺激物質受容機構を解明するため電気生理学的解析を行った結果、2種のアゲハともに、電気生理学的応答を示す産卵刺激物質、味物質として認識されていない産卵刺激物質が存在することがわかった。応答が確認できた産卵刺激物質のスパイク解析により、2種のアゲハ(クロ・シロオビ)ともに産卵刺激物質に応答する附節感覚子内の味細胞数は3つである可能性を示す結果を得た。以上の結果により、アゲハチョウ科3種(ナミ、クロ、シロオビ)は、産卵刺激物質の受容に特化した3種類の味細胞(神経細胞)を持ち、それらの味細胞の同時的発火(興奮)により産卵行動を制御するといった共通の制御機構を持つ事が示唆される。

また、上記3種類のアゲハに加え、ナガサキアゲハ(*Papilio memnon*)およびジャコウアゲハ(*Atrophaneura alcinous*)の産卵刺激物質もしくは寄主植物葉(ミカン葉、ウマノスズクサ葉)のエタノール抽出液による電気生理実験および産卵行動実験を行った。その結果、ナガサキアゲハはナミアゲハの産卵刺激物質混合液によって全体の5割程度の雌成虫が産卵すること、ミカン葉抽出液および産卵刺激物質混合液によって3種類の味細胞が応答する結果を得た。よって、ミカン科を寄主植物とする4種(ナミ、クロ、シロオビ、ナガサキ)は産卵刺激物質の受容に特化した3種類の味細胞(神経細胞)を持つことが予想され、共通の制御機構を持つ事が示唆された。一方、ジャコウアゲハは産卵刺激物質に反応する細胞が1~2種類の味細胞であることが明らかとなった。このことは同じアゲハチョウ科昆虫の中でも属間で異なる産卵制御機構を持つ可能性を示唆している。

ナミアゲハの附節感覚子内部の3つの味細胞が産卵刺激物質に特異的に応答することは概要で述べたが、その3細胞と異なる細胞の機能解析を行った結果、一般的な苦味物質(カフェインなど)に反応する1種類の味細胞が存在した。さらに、ほぼ100%の産卵行動を誘発するミカン葉抽出液に苦味物質を加えると産卵行動が抑制されることがわかった。これらの結果により、附節感覚子内の4つの味細胞のうち、3つの味細胞から

のシグナルは産卵促進へ、残り1つの味細胞からのシグナルは産卵抑制に作用し、産卵行動を調節していることが示唆された。研究計画に記載していない研究であるが、アゲハチョウ科昆虫の味覚による産卵行動調節機構を解明する上で重要な研究成果であると言える。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計4件)

Hikaru Kiyotake, Hitoshi Matsumoto, Satoshi Nakayama, Miyuki Sakai, Takahisa Miyatake, Masasuke Ryuda and Yoichi Hayakawa, Gain of long tonic immobility behavioral trait causes the red flour beetle to reduce anti-stress capacity, *Journal of Insect Physiology*, 査読有, 60, 92-97 (2014)

Shunsuke Furihata, Kohjiro Tanaka, Masasuke Ryuda, Masanori Ochiai, Matsumoto Hitoshi, Gyorgy Csikos, and Yoichi Hayakawa, Immuno-evasive protein (IEP)-containing surface layer covering polydnavirus particles is essential for viral infection, *Journal of Invertebrate Pathology*, 査読有, 115, 26-32 (2013)

Sumio Tojo, Masasuke Ryuda, Takeshi Fukuda, Tadashi Matsunaga, Dang-Ro Choi, and Akira Otuka, Overseas mass migration of the common cutworm, *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) from spring to early summer in East Asia, *Applied Entomology and Zoology*, 査読有, 48, 131-140 (2013)

Masasuke Ryuda, Delphine

Calas-List, Ayumi Yamada, Frederic Marion-Poll, Hiroshi Yoshikawa, Teiichi Tanimura, and Katsuhisa Ozaki, Gustatory sensing mechanism coding for multiple oviposition stimulants in the swallowtail butterfly, *Papilio xuthus*, *Journal of Neuroscience*, 査読有, 33, 914-924 (2013)

〔学会発表〕(計3件)

尾崎克久・龍田勝輔・武藤愛・小寺正明・吉澤靖貴・吉川寛 アゲハチョウの食性進化の仕組み：日本応用動物昆虫学会(2014年3月27日) 高知県、高知大学朝倉キャンパス

龍田勝輔・吉川寛・尾崎克久 RNAiによるアゲハチョウ食草認識遺伝子の機能阻害：日本分子生物学会(第36回)(2013年12月4日) 兵庫県、神戸国際展示場

龍田勝輔・尾崎克久 苦味物質によるナミアゲハ(*Papilio xuthus*)産卵阻害効果：日本応用動物昆虫学会(2013年3月28-29日) 神奈川県、日本大学生物資源科学部

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕 出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

龍田 勝輔 (RYUDA, Masasuke)

佐賀大学・総合分析実験センター・助教

研究者番号：00565690

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：