

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 8 日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26450469

研究課題名(和文) チョウ成虫の季節適応と関連した毛状鱗粉形成機構の解析

研究課題名(英文) Developmental mechanism of hair-like scales related seasonal adaptation in some butterfly

研究代表者

山中 明 (Yamanaka, Akira)

山口大学・創成科学研究科・教授

研究者番号：20274152

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：チョウ成虫の翅や脚に存在する毛状鱗粉が季節的な可塑性を示すかどうかを検討するため、毛状鱗粉に及ぼす幼虫および蛹期の日長と温度の影響を調べた。短日成虫の翅あるいは脚の毛状鱗粉の本数は、長日成虫のものより非常に多かった。一方、低温条件下に曝された成虫の毛状鱗粉の平均長は、高温条件下のものより長かった。翅や脚の毛状鱗粉形成に關与するホルモン(おそらく夏型ホルモン：SMPH)が蛹の脳内に存在するかを検討するため、3種のチョウの短日蛹に投与した。いずれの種においても翅や脚の毛状鱗粉数の減少が認められた。これら結果は、夏型ホルモンが毛状鱗粉形成に關与することを示唆するものである。

研究成果の概要(英文)：To confirm whether the hair-like scales on the wings or legs of adults exhibit a seasonal plasticity or not, the effect of temperature and photoperiod during the larval and pupal stages on the hair-like scales was investigated. The number of hair-like scales on each wing or leg of SD-adults was much greater than that of LD-adults, whereas the mean length of hair-like scales of adults subjected to lower temperature conditions was longer than that of adults treated with higher temperature conditions. In order to investigate whether the hormonal factor (maybe SMPH) affecting the regulatory mechanism of hair-like scales on the wings or legs exists in the brain, brain extracts were injected into the abdomen of SD-pupae in three species. The number of hair-like scales in wings or legs in each species decreased significantly in comparison to that of control animals. These results suggested that SMPH which regulates the development of hair-like scales and seasonal morphs existed in the brain.

研究分野：昆虫生理学

キーワード：毛状鱗粉 季節型 チョウ類 季節適応 夏型ホルモン

1. 研究開始当初の背景

(1) 陸上高等動物種の中で圧倒的な数を占める昆虫は、現在に至る進化の過程で卓越した環境適応能力を獲得し、繁栄し続けている。特に、チョウ目昆虫は様々な季節・環境に適応し、体色や体の形を著しく変える能力や越冬能を身に付けている。ある種のチョウ類の成虫の翅の色彩は、生育環境条件により変化する季節型多型を示す。成虫の翅の色彩変化は季節型と呼ばれ、春/夏型や夏/秋型を示す種があり、蛹期に脳から夏型ホルモン(SMPH)が分泌されることにより夏型が生じる。興味深いことに、SMPHは季節型を持たない種にも存在する。つまり、SMPHが翅の季節型(色彩変化)以外の形質の多型現象を調節している可能性があり、SMPHの分子基盤構築ならびに未知の季節型多型の究明が待たれている状況にある。

2. 研究の目的

(1) チョウ類の季節適応に関わる新たな季節型多型の形質を見出すとともに、成虫翅の季節型の有無に関わらずSMPHが脳内で産生されていることから、SMPHの翅の色彩変化以外の生理的機能を探索するとともに、その発現調節機構を解明することが必要である。予備的な実験において、キタテハ成虫翅の鱗粉形成に着目したところ、毛状鱗粉の数が幼虫期に経験した日長により変化することを見出した。本目的は、毛状鱗粉形成がある種のチョウ成虫の新規な季節型多型現象であることを、さらに翅の季節型をコントロールするSMPHと毛状鱗粉形成の関連性を解明することである。同時に、SMPHを単離精製し、一次構造決定を行うことにより、翅の季節型ならびに毛状鱗粉形成の発現調節機構の作用機作を分子レベルで解明することを目的としている。並行して、SMPH(本研究ではヒメアカタテハSMPH活性物質)の単離・精製ならびに構造決定を行う。

3. 研究の方法

(1) 各種チョウの幼虫を長日・短日日長条件下で飼育し、幼虫飼育条件の違いにより、各成虫の前・後翅に生じる毛状鱗粉の本数の違いを計測した。羽化した成虫の頭・胸・腹部および付属肢における毛状鱗粉の形態的な差異を、光学顕微鏡あるいは走査型電子顕微鏡を使用して調べた。さらに、毛状鱗粉形成の調節がSMPHによって調節制御されているかどうかを、蛹化当日に蛹の脳より抽出し、SMPH(あるいはSMPH活性物質)を投与し、羽化した成虫の毛状鱗粉を計測し、比較した。

(2) 夏型ホルモン活性物質(SMPH)の出発材料としてヒメアカタテハの蛹の脳-食道下神経節複合体を用い、生物検定には、ナミアゲハのオスの休眠蛹を3ヶ月以上4℃で冷蔵保存し、25℃に移した当日の休眠覚醒蛹を用いた。脳-食道下神経節複合体の2% NaCl脳粗抽出液を調製し、ナミアゲハ休眠覚醒蛹に投与し、羽化した成虫の後翅全体の面積に対する後翅の黒色部分の面積の割合を算出した。

4. 研究成果

(1) 数種のタテハチョウ科成虫の翅の毛状鱗粉を解析したところ、季節型を持つキタテハは日長条件の違いにより毛状鱗粉数に差が認められた。しかし、季節型を持たないヒメアカタテハやアカタテハではその差が認められなかった。さらに、キタテハの毛状鱗粉形成調節に夏型ホルモンが関与するかを検討したところ、短日蛹に夏型ホルモン活性物質を投与すると、毛状鱗粉数の減少が認められ、夏型ホルモンが毛状鱗粉形成に関与することが示唆された。

(2) シジミチョウ科のベニシジミ成虫の頭部、翅部(後翅腹側)および脚部に存在する毛状鱗粉の数および長さに関する新規な表現型多型が認められた。特に、長日成虫(23日飼育)

と短日成虫（16 飼育）の前・中・後脚の腿節部に生じる毛状鱗粉の本数と長さを計測したところ、毛状鱗粉の本数と長さは、LD23 成虫より SD16 成虫において増加した。毛状鱗粉形成に対する日長と温度の影響を調べた結果、毛状鱗粉の長さは、同じ飼育条件下の雌雄間に差はなく、長日成虫よりも短日成虫で長かった。さらに、温度が低いほど長さが長くなる傾向もみられた。また、毛状鱗粉には、白色と黒色が存在するが、雌の長日成虫において黒色毛状鱗粉の本数が著しく減少した。以上の結果より、ベニシジミ成虫の脚の毛状鱗粉形成は、幼虫期の温度よりも日長の影響を強く受けることがわかった。また、ベニシジミと同じシジミチョウ科に属する多化性のムラサキシジミの成虫の翅の色彩パターンは、年間を通じてほとんど変化しないため、本種には表現型可塑性がないとされてきたが、成虫の毛状鱗粉に表現型可塑性があるかどうかを検討したところ、LD15 及び LD20 成虫の脚の毛状鱗粉数は、LD25 及び LD30 成虫と比べると増加した。毛状鱗粉の形状を観察した結果、LD15 及び LD20 成虫では毛状鱗粉の多くは細い直線型であった。一方、LD25 及び LD30 成虫では先端の幅が広いヘラ型が観察された。以上の結果から、外部環境温度の変化に対して成虫は脚部の鱗粉の一部を毛状鱗粉に変化させ、幼虫期および蛹期に低温を経験するとその本数が増加し、高温を経験すると減少することが明らかとなった。つまり本種には表現型可塑性が存在することが示唆された。

（3）モンシロチョウ成虫の表現型可塑性について解析を行ったところ、脚部の毛状鱗粉の本数および長さが幼虫期および蛹期に経験した環境要因によって変化することを見出した。短日・低温条件下で生育した個体の毛状鱗粉は多く、長さは長いのに対し、長日・高温条件下で生育した個体の毛状鱗粉の

本数は少なく、長さは短くなった。毛状鱗粉の微細構造を走査型電子顕微鏡で観察したところ、部に生じる毛状鱗粉の微細構造の特徴として、縞状の縦隆起や中空の窓と呼ばれる孔構造が確認され、さらに、縦隆起には緻密な板状の小節が隆起に沿って並んでいた。毛状鱗粉の微細構造の差異は、7 月採集個体の毛状鱗粉には中空の窓が多数確認できたが、4 月採集個体の毛状鱗粉においてはわずかであった。つまり、成虫が出現する季節に応じて、毛状鱗粉構造は変化していることが示唆された。成虫の脚部の毛状鱗粉形成に内分泌因子が関与しているかを調べるため、モンシロチョウ非休眠蛹の脳から調製した粗抽出液をモンシロチョウ休眠覚醒蛹に投与する実験を行った。その結果、脳粗抽出液を投与した休眠覚醒蛹から羽化した成虫の毛状鱗粉は、水を投与した対照個体に比べ、本数および長さともに減少した。このことから、モンシロチョウ成虫の毛状鱗粉形成に内分泌因子が関与している可能性が示唆された。さらに、休眠覚醒蛹から羽化した成虫の翅の黒色鱗粉数も増加させた。つまり、毛状鱗粉形成を抑制し、黒色鱗粉形成を促進させる内分泌調節因子（SMPH）が存在する可能性が示唆された。一方、80%エタノール水溶液粗抽出画分の投与個体群において、対照個体群で形成された毛状鱗粉よりも、本数が増加し長さも長くなった。さらに、翅の黒色鱗粉数も減少させたことから、毛状鱗粉形成を促進し、黒色鱗粉形成を抑制させる内分泌調節因子も存在する可能性が示唆された。

（4）アゲハチョウ科のジャコウアゲハにおける春型成虫と夏型成虫との間で、季節適応的な形態の変化が生じているかどうかを調べた。春型成虫は短日 20 条件下で得られた休眠蛹を、4 で 90 日間の低温処理をした後に羽化させ、一方、夏型成虫は長日 20 条件下で得られた非休眠蛹から羽化させた。その

結果、腹部背側の体表の毛状鱗粉の長さに違いが認められ、毛状鱗粉の長さは夏型成虫より春型成虫で長くなる傾向が見られた。今回、環境要因の特定には至っていないが、本種成虫の腹部毛状鱗粉に表現型多型が存在することが示唆された。

(5) ナミアゲ八休眠蛹を用いたヒメアカタテハの夏型ホルモン活性物質の検定 ヒメアカタテハの夏型ホルモン活性物質が含まれる抽出液を投与したナミアゲ八休眠覚醒蛹で、後翅における黒色部分の面積の割合が増加し、ナミアゲハの夏型化が認められ、ヒメアカタテハの夏型ホルモン活性物質は、ナミアゲ八休眠覚醒蛹を用いて生物検定できることが判明した。次に、ヒメアカタテハ夏型ホルモン活性物質の部分精製を試みた結果、キタテハ夏型ホルモンやカイコガ夏型ホルモン活性物質と同じ溶出分画において、夏型ホルモン活性が検出された。

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 7件)

Yamanaka A, Yamamoto K, Nakamura T, Kitazawa C, Color Changes of the Protuberances of Pupae in *Byasa alcinous* (Lepidoptera, Papilionidae). *Chugoku Kontyu*, 査読有, 30, 1-5, 2017.

Islam ATMF, Islam MH, Rahaman MM, Saifullah ASM, Yamanaka A, Effects of temperature and photoperiod on the phenotypic variation of two pierid butterfly species. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 査読有, 3 (1), 208-212, 2015.

Yamanaka A, Morioka R, Kinugasa M, Hasegawa H, Fuchigami S, Kawasaki S, Kitazawa C, Effect of larval brain extracts derived from three swallowtail butterflies, *Papilio helenus* L., *P. machaon* L. and *P.*

memnon L., on seasonal morph development of *P. xuthus* L. (Lepidoptera: Papilionidae). *Entomological Science*, 査読有, 18 (2), 226-270, 2015.

Yamashita K, Kanzaki K, Hinauchi M, Fujishima T, Islam ATMF, Kitazawa C, Endo K, Yamanaka A, Changes of seasonal morph development induced by surgical operations in pupae of the large map butterfly *Araschnia burejana* Bermer (Lepidoptera: Nymphalidae). *Journal of Experimental Zoology: Part A Ecological Genetics and Physiology*, 査読有, 321 (5), 276-282, 2014. DOI: 10.1002/jez.1862

Yamanaka A, Ito M, Moriyama C, Kitazawa C, Watanabe M, Developmental profiles and hormonal responsiveness of the painted lady butterfly, *Vanessa cardui*, reared on artificial diets containing *Artemisia indica*. *Information*, 17, 査読有, 295-304, 2014.

Nakamura T, Murakami R, Yoshioka R, Kitazawa C, Yamanaka A, An aberrant form of the papilionid butterfly *Byasa alcinous* (Lepidoptera, Papilionidae) obtained from a laboratory culture. *Chugoku kontyu*, 査読有, 27, 21-22, 2014.

[学会発表](計 14件)

勇村悠介、前平剛史、落合正則、北沢千里、山中 明、モンシロチョウ成虫における毛状鱗粉形成の内分泌調節機構、第61回日本応用動物昆虫学会大会、2017.3.27-29、東京農工大学(東京都・小金井市)

翁長公香、平木佳奈、北沢千里、山中 明、ナミアゲ八休眠蛹を用いたヒメアカタテハの夏型ホルモン活性物質の検定、平成28年度日本応用動物昆虫学会中国支部・日本昆虫学会中国支部合同例会、2016.10.21、鳥取大学(鳥取県・鳥取市)、Yamanoto H, Isamura Y, Kitazawa C,

Yamanaka A, Effect of temperature and photoperiod on the morphological trait of the butterfly *Narathura japonica*, XXV International Congress of Entomology, 2016.9. 25-30, Orlando (USA).

Yamanaka A, Masumoto Y, Abe N, Ochiai M, Kitazawa C, Seasonal plasticity of the small copper butterfly *Lycaena phlaeas daimio* Seitz, XXV International Congress of Entomology, 2016.9.25-30, Orlando (USA).

Isamura Y, Abe N, Kitazawa C, Yamanaka A, Seasonal plasticity of the cabbage white butterfly, The 7th International Conference on Information, 2015. 11.25-28, Taipei (Taiwan).

村上実菜子、奥平良弥、安部成美、落合正則、北沢千里、山中 明、数種のチョウ成虫の翅の毛状鱗粉と季節型との関連性、第 59 回日本応用動物昆虫学会大会、2015.3.26-28、山形大学(山形県・山形市)

山中 明、益本祐希、北沢千里、落合正則、ベニシジミ成虫の脚に生じる毛状鱗粉の調節機構、日本動物学会第 85 回大会、2014.9.11-13、東北大学(宮城県・仙台市)

〔図書〕(計 3 件)

山中 明、チョウの渡り、ホルモンから見た生命現象と進化シリーズ VI 回遊・渡り - 巡 - 、裳華房、2016、pp169 (p25-40).

山中 明(監修担当)、冬越しするチョウのコートは暖かい?、理科好きの子どもが育つふしぎの 365 日、自然史学会連合 監修、子供の科学 特別編集、誠文堂新光社、2015、p.48.

〔その他〕

ホームページ等

<http://kyouin02.atm-y.jimu.yamaguchi->

u.ac.jp/search/IST?ISTActId=FINDJPDetail&ISTKidoKbn=&ISTErrorChkKbn=&ISTFormSetKbn=&ISTTokenChkKbn=&userId=100000640

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

山中 明 (YAMANAKA, Akira)

山口大学・大学院創成科学研究科・教授

研究者番号：20274152