## 論 文 要 旨 Abstract

論文題目

Title

Cold- and heat-induced color-pattern modifications and characterization of the cold-shock-induced humoral factor of the blue pansy butterfly *Junonia orithya* (Lepidoptera, Nymphalidae): physiological and evolutionary implications

Application of cold- and heat-shock or some chemicals to early pupae causes wing color-pattern changes in butterflies, which are attributed to the hemolymph level of cold-shock hormone (CSH) in pupae as well as to other mechanisms. Here, I physiologically characterized CSH and pharmacological action of tungstate, thapsigargin, and ecdysteroid using a nymphalid butterfly Junonia orithya. I showed that the precise patterns of modification were dependent on the time-point of the cold-shock treatment after pupation. Moreover, in response to the 38-42°C heat-shock treatments, modification was the "reverse" of the direction of the cold-shock-induced changes. Somewhat surprisingly, in response to the lethal 44°C heat shock, PFEs were modified as in the case of a cold-shock. I confirmed that the modification properties induced in a cold-shocked (-2°C for 3 d) and heat-shocked (44°C for 1d) pupa were able to be transferred to another pupa in a parabiosis experiment. Furthermore, cold-shock and heat-shock (42°C and 44°C for 1d) application after removal of the head and prothorax together still produced modified wings, excluding major involvement of the brain-retrocerebral neuroendocrine complex. Furthermore, tungstate injection induced modifications even in individuals whose head and prothorax were removed. Importantly, transplantation of tracheae isolated from cold-shocked pupae induced modifications in the recipient wings. In contrast, reduction of the blue background area was obtained not only by the 42°C and 44°C treatments but also by the injection of thapsigargin, a plant-derived stress inducer, in males. I also observed an increase in orange coloration by the 42°C treatment in females, and this change was similar to ecdysteroid-induced modifications. These results might have been exploited in the color-pattern evolution of some Junonia species. I identified some chemical peaks in hemolymph of the cold-shocked and heat-shocked individuals using HPLC (high-performance liquid chromatography). According to the modification patterns, I propose different pathways for color-pattern modifications: CSH pathway (up- and down regulation), general stress response pathway, and ecdysteroid-induced pathway. Thus, I have shown that modified wing color-patterns are determined primarily by rearing temperatures (cold- and heat-shock) of early pupae, suggesting that temperature variation in the field drives phenotypic changes in morphology, and propose a dynamic mechanism supporting the evolution in J. orithya.

Name Mahdi, Shah Hussain Ahmad

琉球大学大学院 理工学研究科長 殿

論文審查委員



## 学位(博士)論文審査及び最終試験の終了報告書

学位(博士)の申請に対し、学位論文の審査及び最終試験を終了したので、下記のとおり報告します。

記

申	:	生	⇒ <b>x</b> .	専攻名 海洋環境学 氏名Mahdi, Shah Hussain Ahmad
甲	i	清 ———	者	学籍番号 088560G
				大瀧 丈二
指	導	教 .	員 名	
成	績	評	価	学位論文 合格 不合格 最終試験 合格 不合格
	•		٠.	Cold- and heat-induced color-pattern modifications and characterization of the
論	文	題	F	cold-shock-induced humoral factor of the blue pansy butterfly Junonia orithya
			•	(Lepidoptera, Nymphalidae): physiological and evolutionary implications
				(アオタテハモドキ(鱗翅目、タテハチョウ科)における冷却ショック
		•		および熱ショックに起因する色模様修飾とその内因性因子の探索:生理
		•		学的・進化的考察)

## 審查要旨(2000字以内)

本研究は、チョウの色模様という実験系を用いて、冷却ショックおよび熱ショックによる反応を生理学的に研究したものである。従来からその存在が指摘されてきた「冷却ショックホルモン(CSH)」の性質を明らかにした最新の研究である。

申請者は、この目的に向けて、チョウの蛹をさまざまな条件のもとで飼育し、外科的 手法やHPLCによる化学分析を行った。その成果は、昆虫生理学では最も著名な学術 誌であるJournal of Insect PhysiologyおよびJournal of Thermal Biologyに発表された。本分野において十分に高い学術水準であることが伺える。

Journal of Insect Physiologyに掲載された論文では、アオタテハモドキに冷却ショックを与えたときに生理学的に何が起こるかを調べた。外科的実験、輸血実験、移植実験、化学的分析(HPLC)を駆使することで、冷却ショックによってチョウの蛹の中に冷却ショックホルモン(CSH)が分泌され、それが翅に作用することで色模様変化が起こることが示された。その分泌組織は脳や胸部ではなく、気管周辺の細胞群であることが移植実験によって示された。さらに、CSHは生体アミンである可能性が示唆された。この研究で、チョウの色模様形成に関する生理的メカニズムの一つが明らかにされたことになる。

Journal of Thermal Biologyに掲載された論文では、熱ショックによる反応を調べた。熱ショックは冷却ショックと比較して複雑な反応を示すため、その内因性物質を特定することは容易ではないが、冷却ショックと同様の方法論を用いることで、かなりの部分まで解明することができた。熱ショック応答にも脳や胸部は不要であり、気管周辺の細胞群から分泌されたCSHの血中濃度の上下が翅の色模様に反映されることが示唆された。

さらに、上記の結果を踏まえて、変化した色模様を既知の別種の色模様と比較することで、進化生物学・発生生物学の視点から考察が行われている。

このような一連の研究により、チョウの翅の色模様形成のメカニズムの一端を解明したことは、生物学において(特に昆虫生理学において)大きな意義がある。

論文発表は、2011年8月8日理学部棟114室において、14:00から1時間にわたり行われた (口頭発表40分、質疑応答20分)。論文発表会においては、適切な発表が行われ、また、 質問に適切に対応していた。その後、審査会が、2011年8月8日理学部棟530室において、 主査および副査2名の出席で15:10から行われた。内容および質疑応答について議論した結 果、適切であるという意見の一致に至った。

したがって、本研究成果は生物学的に重要な貢献をしていると判断するとともに、提出された学位論文は、博士の学位論文に相当するものと判断し、学位論文の審査を合格とする。また、論文発表会における発表ならびに質疑応答において、申請者は専門分野および関連分野の十分な知識ならびに琉球大学大学院理工学研究科博士課程修了者として十分な研究能力を有していることが確認できたため、最終試験を合格とする。