

氏 名 吉田 后那

学位(専攻分野) 博士(理学)

学位記番号 総研大甲第 1808 号

学位授与の日付 平成27年9月28日

学位授与の要件 先導科学研究科 生命共生体進化学専攻
学位規則第6条第1項該当

学位論文題目 Plant scents modify innate colour preference in foraging
swallowtail butterflies

論文審査委員 主 査 教授 佐々木 顕
教授 蟻川 謙太郎
講師 沓掛 展之
講師 木下 充代
准教授 大村 尚 広島大学大学院

論文内容の要旨
Summary of thesis contents

Plant scents modify innate colour preference in foraging swallowtail butterflies

Many pollinating animals exhibit a foraging strategy known as flower constancy, which is the tendency to exclusively visit flowers of a single species (or morph within a species). To identify these target flowers, pollinators can use several different cues. Flower colour is one particularly useful cue, because of its diversity. While many flower-visiting insects can learn to associate a colour with food rewards, many also exhibit innate colour preferences. Although learned foraging behaviour typically dominates, innate preference may have a strong indirect effect because it shapes the animal's initial learning experiences.

The Japanese yellow swallowtail butterfly, *Papilio xuthus*, is a predominantly visual forager that mostly pollinates reddish flowers. Despite extensive studies on the visual abilities and retinal organization of *Papilio* butterflies, the reason for this preference towards red is unclear. Therefore I have investigated the mechanisms underlying foraging behaviour in *Papilio*.

I established a behavioural protocol to characterize innate colour preference: I presented four coloured discs (blue, green, yellow and red) on a black background to a naive *Papilio* butterfly (i.e. one with no foraging experience) and recorded the colour of the disc on which it first landed with its proboscis extended. I found that the majority of individuals (both males and females) visited the blue disc, indicating that *Papilio* innately prefer blue.

This preference for blue is at odds with their tendency to visit reddish flowers in the wild. However, this apparent contradiction can be resolved if we consider another sensory modality: olfaction. Many foraging insects make extensive use of olfactory cues, but how this information interacts with visual perception is poorly understood. Therefore, I investigated the effects of olfaction on innate colour preference by introducing one of four floral scents (orange, lily, lavender and *Hibiscus*) to the experimental room, and repeating the preference test. The preference of females shifted from blue to red in tests when orange or lily flower scent was present. The scents of lavender and *Hibiscus* were less effective: the butterflies continued to prefer blue in these trials. These results suggest a “bootstrapping” scheme (in females at least) where the animal's first visit would be to a red flower, because of the influence of floral scents. Assuming that it obtained nectar successfully from this flower, learning would then reinforce the behaviour. How males come to visit red flowers remains unclear.

Females must not only feed but also lay eggs, so the odour of the larval host plant

(別紙様式 2)
(Separate Form 2)

may also be a salient cue. I investigated this issue by performing the colour preference test with hidden potted *Citrus unshiu* plants present. Unlike in the floral scent test, the preference of females shifted from blue to green, indicating that different odours can have qualitatively different behavioural effects. Furthermore, to confirm that these effects were indeed caused by olfaction via the antennae, I tested female *Papilio* whose antennae I had coated with mascara. As expected, animals with blocked antennae preferred blue despite the presence of flower / plant odour.

To investigate which particular volatile organic compounds affect innate colour preference, I synthesised mimics of orange flower and *C. unshiu* odours by mixing 10 and 11 authentic samples, respectively. In all preference tests with these synthetic mimics, *Papilio* butterflies continued to prefer blue. The failure of the mimics to reproduce the behavioural effects suggests that minor components of natural scents may play an essential role.

In contrast to females, males' preference for blue remained unchanged across all odour conditions. It could be that females are more sensitive to odour because their reproductive success depends primarily upon finding flowers for nutrition and leaves as oviposition sites, whereas males are mostly concerned with visually finding females with which to mate. Because no clear sexual dimorphism has been found in the visual system of *Papilio*, the sexually dimorphic colour preference behaviour we observe presumably must stem from differences between the sexes in either the olfactory system, or in the integration of the two sensory modalities.

The phenomenon of particular scents modifying innate colour preference has not been reported before in any animal, and thus offers a new insight into the mechanisms of foraging behaviour. In particular, it may provide a fresh perspective from which to understand to co-evolution of flowers and pollinators.

Summary of the results of the doctoral thesis screening

学位申請者（吉田后那）は、ナミアゲハ（*Papilio xuthus* 以後アゲハ）の生得的色嗜好性が特定の植物の匂いにより変化し、さらに匂いによって変化した色嗜好性に雌雄差があることを、行動学的に明らかにした。博士論文は、昆虫の訪花に関する先行研究をまとめた第一章、本論文の根幹になる色嗜好性の行動学的研究を記した第二章、得られた成果の重要性、今後の研究における発展を述べた第三章から成っている。

第一章は、昆虫の訪花性に関する行動学的知見とその背景にある視覚と嗅覚の感覚情報処理に関する研究の総説で、博士研究の着想に関わる重要事項が述べられている。ハチや鱗翅目昆虫は、花の色や形・匂いを学習・弁別して効率よく花を訪れ求蜜していること、アゲハでは、その網膜における光受容細胞の構成とその洗練された視覚能力について詳細な知見があることがまとめられている。

第二章は、序論、生得的色嗜好性テストの方法・結果、議論からなる。申請者は、生得的に青を好む他の訪花性昆虫に対し、アゲハではメスは赤や黄色、雄は青を生得的に好むことに注目し、羽化後最初の訪花行動に色と匂いがどのように関わるのかを行動学的に検証した。求蜜未経験のアゲハに青・緑・黄・赤円板を提示すると、色円板に降りて吻を伸ばして餌を探す。この最初に降りた円板の色を、生得的に好む色とする。匂い源がない部屋では雌雄ともに多くの個体が青を選び、性差はなかった。ところが、特定の花の精油があるとメスでは赤を選ぶ個体が、食草であるミカンの木があると緑を選ぶ個体が増える。以上は、視覚と嗅覚の情報が脳で統合されることを示している。メスに対し、オスではいずれの香りが部屋にあっても、多くの個体が青を訪問する。また、マスカラを触角に塗布したメスの多くは青を選ぶので、触角が植物の匂いを受容することがわかる。この結果とアゲハの視覚系に明確な性差がないこととを考え合わせ、申請者は嗅覚系または嗅覚と視覚の統合系に何らかの性差があると考え、第一次嗅覚中枢の構造に性差があることにも言及している。また、主要な匂い成分を混合した食草とオレンジの花の人工香が、どちらも色嗜好性に十分作用しなかったため、植物の匂いにある微量成分が行動の変化に重要だろうと推論している。

第三章では、研究結果の結論と本成果の学問的重要性と今後の発展性が感覚情報処理機構と行動生態学的視点からまとめてある。生得的色嗜好性が、特定の植物の匂いによって変わることで、匂いの種類によって影響に違いがあること、その影響に性差があること、以上3点は特に新規性の高い発見である。以上の成果は、背景にある神経機構を明らかにする研究を推進する意義を与え、さらに単独性昆虫の訪花性における生得的な嗜好性や複合感覚統合の生物学的意義や、花と昆虫感覚の共進化を追求する研究においても大変高いインパクトを持つ。

上に述べたとおり、申請者は博士研究において巧妙にデザインした行動実験により新しい現象を発見し、広い学問分野の背景の知識も加え十分に議論しまとめている。また、論文は全て英語で記されており、英語能力に大きな問題はないとした。よって、審査委員会は全員一致で、本論文が博士（理学）の授与に十分値するものと判定した。