

昆虫の発育の日周期性をとらえる方法

長澤 純夫*・後北 峰之*・大田 利彦*
小島 幸久*・田中 敏章*・吉田 茂*

Sumio NAGASAWA, Mineyuki USHIROKITA, Toshihiko OHTA
Yukihisa KOJIMA, Toshiaki TANAKA and Shigeru YOSHIDA
A Method for Detecting the Daily Rhythms in Development of Insects

昆虫のふ化、脱皮、蛹化あるいは羽化は、個体としては、生涯にただ一度おこるだけの発生の節目である。しかし集団を観察の単位として、これを見ると、一回だけのこの発育変態現象が、ときに概日的なリズムを示していることを発見する。当然これは、個体が経時的にくりかえし示す、種々の生命現象とは異なるもので、同じ概日現象であっても、前者は計数的なもので、後者は計量的なリズムと考えられるものである。ただ一集団の示す計数的な発育変態現象は、多くの場合、ある一時刻に集中してあらわれ、リズムの型を示さない。もしここで、これを経時的に増減する数値としてとらえる事ができれば、後は調和解析などの方法によって、振幅と位相角、及びそれらの分散が算定でき、客観的に発育変態の最大、最小時刻をきめる事も可能となってくる。さきに、⁵⁾佐々木は、ウリキンウワバの発育開始時期を分散させ、変態に達する有効積算温度を、数日に亘って、連続的に且つ均一に分布させる方法によって、蛹化と羽化の段階で、明瞭な概日的なリズムをとらえうることを示した。このリズムは計数的なデータとして記録され、後に調和解析法によって、³⁾2、3の統計量が算定された。今回、筆者らは、この方法の普遍性を証明するために、ハスモンヨトウを用いて、追試実験を行った。えられた結果の中から、先に佐々木が明瞭に示しえなかった脱皮のリズムを中心にのべる。

実験材料および方法

温度⁴⁾25°C、関係湿度50%、常時照明の条件下で、人工飼料によって長期累代飼育を続けて今日に至る、ハス

モンヨトウ *Spodoptera litura* Fabricius を実験材料に用いた。実験は、まず4時間以内に産下された卵塊を、5等分して、ペトリ皿にうつし、21.0、22.5、24.0、25.5および27.0°Cの恒温器内において、ふ化時期を分散させた。ふ化した幼虫は25°Cの恒温条件下で3齢期までを直径9cmのペトリ皿で、4齢以後は5匹を一組として、直径8.5cm、高さ4.5cmのポリエチレンカップで、人工飼料を与えて飼育した。1日に6回、0、4、8、12、16、20時に、第5齢から第6齢になるときの脱皮の有無を観察記録した。実験は12L:12Dの明暗条件下で行った。照明時の照度は約500ルクスであった。また暗黒時の観察は赤色暗室電燈の下で行った。なお、これらがさらに蛹化、羽化した時刻をも併せて記録したが、これらの結果については、ここでは詳細にのべない。

実験結果と考察

ハスモンヨトウの幼虫は、普通5回の脱皮をへて蛹化する。即ち、第5齢幼虫から第6齢になるときの、第5回目の脱皮が最終脱皮で、この時刻を今回4日に亘って4時間おきに、合計189個体について、記録することができた。第1表 y は、観測値の $\sqrt{\text{No.}+0.5}$ 変換を行った結果である。

ところで、第1表の結果は、基本周期の長さが変量とは関係なく、24時間ときまっている。そして観測時刻が、各サイクル内で $k=6$ 個の等間隔に分布し、さらに、各区内で観測回数が等しい。このような時系列データの解析には、フーリエ級数に展開して、各々の係数をもとめる調和解析法を適用するのが、便利であり簡単

* 生物汚染化学研究室

Table 1. Number of the 5th moults of the tobacco cutworm at 4-hour intervals for 4 days, transformed to $y = \sqrt{\text{No.} + 0.5}$

Replicates	Hour starting						Total T_r
	4	8	12	16	20	24	
1	1.58	3.67	3.67	0.71	0.71	0.71	11.05
2	5.52	2.35	2.12	0.71	2.12	1.22	14.04
3	4.74	6.28	4.30	3.67	1.87	0.71	21.57
4	4.06	2.12	0.71	1.22	0.71	1.58	10.40
Total T_t	15.90	14.42	10.80	6.31	5.41	4.22	57.06
Observed \bar{y}	3.98	3.61	2.70	1.58	1.35	1.06	14.27
Expected Y	3.278	3.820	2.902	1.477	0.953	1.853	

である。

周期曲線の最も簡単なモデルは、

$$Y = a_0 + A \cos(ct - \theta)$$

で示される正弦曲線である。ここで $a_0 = \bar{y}$ で f 周期の平均、 A : 半振幅、 $c = 2\pi/k$, $t = 0, 1, 2, \dots, k-1$, θ : 位相角 (Y の最大値に対する角)。 \cos, \sin は直交し、相加的な時間の変数であるから、回帰係数 a_1 と b_1 を用いると、

$$Y = a_0 + a_1 \cos(ct) + b_1 \sin(ct)$$

とかくことができる。ここで $A = \sqrt{a_1^2 + b_1^2}$, $\tan \theta = |b_1/a_1|$, $t_{max} = k\theta/2\pi$, (ここでは最多脱皮個体数に対応する時刻)。さらに $u_1 = \cos(ct)$, $v_1 = \sin(ct)$ とすると先の式は、

$$Y = a_0 + a_1 u_1 + b_1 v_1$$

Table 2. Analysis of variance of the number of the 5th moults of the tobacco cutworm in Table 1

Row	Term	DF	SS	MS	F
1	Between days	3	13,115	4,372	4.30
2	Due to a_1 and b_1	2	24,919	12,460	5.67*
3	Due to a_2 and b_2	2	3,354	1,677	1.59
4	Scatter about parabola	1	2,137	2,137	2.10
5	Day \times (a_1, b_1)	6	13,175	2,196	2.16
6	Day \times (a_2, b_2)	6	6,344	1,057	1.04
7	Day \times scatter	3	3,054	1,018	
8	Total	23	66,098		
9	Correction for mean	1	135,660		
10	Day \times amplitude ₁	3	2,853	0.951	0.93
11	Day \times phase ₁	3	10,322	3,441	3.38

と書きあらためることができる。ここで $\sum u_1 + \sum v_1 = \sum(u_1 v_1) = 0$ 。そして基本周期の中に、更に一組の展開項を加えた2次のフーリエ曲線のモデルは、

$$Y = a_0 + a_1 \cos(ct) + b_1 \sin(ct) + a_2 \cos(2ct) + b_2 \sin(2ct)$$

または、

$$Y = a_0 + a_1 u_1 + b_1 v_1 + a_2 u_2 + b_2 v_2$$

と書きあらわすことができる。 $u_2 = \cos(2ct)$, $v_2 = \sin(2ct)$, $\sum u_2 + \sum v_2 = \sum(u_2 v_2) = 0$ である。 $k=6$ のときの u_1, v_1, u_2, v_2 の値は、三角関数表から読みとる事ができるが、要約された数表は Bliss¹⁾ によってもあたえられている。

フーリエ級数による調和解析によって1周期の中に、2, 3, 4の周期を持つ様な高次の周期関数を附加して展開を続けて行けば、どの様な波形の脱皮の記録にも、計算で求めた曲線を一致させる事は可能である。しかし、そうしたことに依ってえられた曲線に、生物学的な意味づけをあたえることは多くの場合困難である。できるだけ簡単なモデルに近似させて、それからのはずれについて考察する方が多い場合が多い。モデルの型は、周期関数 u_1, v_1 を用いてフーリエ曲線にあてはめ、分散分析を行って、一定の危険率のもとにおける、各回帰項の有意性を検定することによって選択できる。

第2表は、第1表に示した数値に、2次のフーリエ曲線をあてはめ、その回帰項の有意性を検定するための、分散分析を行った結果である。row 1 の不偏分散を、row 7 の残差のそれと対決させると、有意水準0.05において有意でなく、4日間にわたって第5齢から第6齢になった個体は一樣に分布していた。row 4 の、あてはめた曲線からのはずれの割合を、row 7 の残差のそれと検定すると、その結果は有意でなかった。そこで、row 2 と 3 の第1, 2次回帰項の有意性は、row 5, 6 のそれぞれの分散比から検定した。その結果、1次回帰項には有意性がみられたが、2次回帰項は有意でなかった。それ故、第

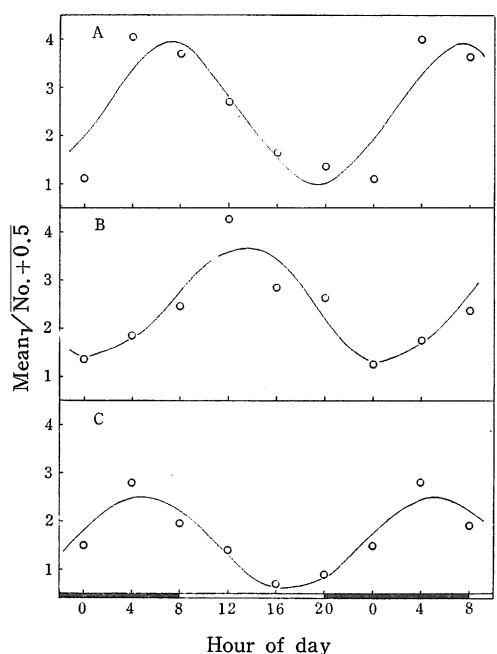


Fig. 1. Mean number of the 5th moults (A), pupations (B), and adult emergences (C) in the tobacco cutworm at 4-hour intervals fitted with sine curves. Values of three observations were repeated at the end so as to emphasize the cyclic character of the curves.

1 図の A に打点した第 5 回目の脱皮の概日現象は正弦曲線をもって近似できるといえる。求めるその方程式は、

$$Y=2.3775-0.05242u_1+1.3423v_1$$

となった。そして、この方程式の示す曲線が第 1 図 A の実線である。この図では、曲線の状態を強調するために、はじめの数時間を最終時につづけて、重複して示してある。これから、振幅は先に示した式によって、 $2A=2.88205$ がえられる。これは変換値であるから、これを 2 乗して、0.5 を引くと、5.674 がえられる。故に最多脱皮個体数と、最少脱皮個体数の比は 5.7 倍であると言える。位相角は、 $\theta=1.943$ ラジアンとなった。先に示した式から、脱皮の最多時刻をもとめると、7 時 25 分となった。すなわち、それは明期開始 35 分前といえる。最少脱皮時刻はこれより 12 時間後の、19 時 25 分、すなわち暗期開始 35 分前にあたっている。そしてこれらの時刻の標準誤差は ± 1 時間 8 分であった。

以上のべた様な事実から、こうした実験方法で、脱皮の概日的リズムをとらえることは可能であるといえる。ここでは、その詳細を示さないが、これが 6 齢期をへて、蛹化し、さらに羽化する変態のリズムは、それぞれ

第 1 図の B, C に示す様に、やはり正弦曲線によって近似できた。そして蛹化の場合、その方程式は、

$$Y=2.5771-1.1200u_1-0.3594v_1$$

で最多、最少時刻はそれぞれ 13 時 11 分、1 時 11 分で、標準誤差は、 ± 2 時間 9 分となった。羽化の場合は、その方程式は、

$$Y=1.5437-0.8993u_1-0.2650v_1$$

で最多、最少時刻はそれぞれ 5 時 5 分と 17 時 5 分となった。そしてその標準誤差は、 ± 40 分であった。

ところで羽化個体数に見られる周期変動は、ただ単に蛹化個体数に周期変動があった事の延長にすぎないのではないかという説もある。たとえば、蛹化から羽化までの期間が 2 日としまっている状態で、蛹化にリズムがあれば、それに平行した周期変動が、次の羽化に生ずるのは当然の事であって、恒常環境下で羽化に周期性があらわれたからと言って、それだけでは内因性のリズムの証明にはなりえないとしている。しかし、もしそうであるならば、周期曲線の山と谷は、ほぼ一致してくるはずであるが、筆者らの結果では、蛹化と羽化のリズムは、相互にかなりずれていた。また、先の Nagasawa and Sasaki²⁾ の結果も同様なずれを示していた。このことは、蛹化の時点で、羽化までの有効積算温度を数日にわたって連続的に、且つ均一に分布させる全く同じ措置をとることによって、確かめうるかもしれない。なお今回、我々がハスモンヨトウについて計数的に調べた見かけ上の蛹化、羽化の概日リズムにおいては、性による差は見られなかった。

摘 要

ハスモンヨトウの発育開始時期を分散させ、脱皮、蛹化、羽化に達する有効積算温度を、数日にわたって連続的に、且つ均一に分布させる方法によって、変態の概日的リズムはとらえられる事を示した。これらの概日的現象は、正弦曲線の数学的モデルによって近似しえられることを調和解析法によって証明し、変態の最多、最少時刻を推定した。

引 用 文 献

1. BLISS, C. I. : Statistics in Biology, II. McGraw-Hill Book Co., New York. vi+639pp. 1970.
2. 千葉喜彦：時計の性質と概日リズム。昆虫時計（石井象二郎他編）培風館 東京 pp. 9-22, 1979.
3. NAGASAWA, S. and SASAKI, M. : Appl. Ent. Zool. **13** : 18-22, 1978.

4. 岡田齊夫：中国農試報E12：1-66, 1977.

5. 佐々木正己：応動昆19：35-40, 1975.

Summary

In order to disperse the time of hatching, several batches of eggs of the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* Fabricius, deposited within 4 hours were kept in constant temperature cabinets of 21.0, 22.5, 24.0, 25.5 and 27.0°C. The hatched larvae were reared on an artificial diet at 25°C under a regime of 12L : 12D. The moulted individuals at the end of the fifth larval instar were counted at 4 hour intervals over a 24-hour period, that is, at 0, 4, 8, 12, 16 and 20 hours. The numbers of individuals of pupation and emergence were also counted at the same hours. By this method of experiment, the cycles of moulting, pupation and emergence were possible to synchronized with daily. The results of harmonic analysis showed that these daily rhythms are well described by the mathematical model of sine curve. The calculated sine curve equations are $Y=2.3775-0.5242u_1+1.3423v_1$ for moulting, $Y=2.5771-1.1200u_1-0.3594v_1$ for pupation, and $Y=1.5437-0.8993u_1-0.2650v_1$ for emergence. The estimated maximum times of moulting, pupation and emergence are 7.25, 13.11 and 5.05, respectively. Hence, the estimated minimum times would be 12 hours earlier at 19.25, 1.11 and 17.05.