カイコの羽化行動に関する研究 (I)

蛹期の光条件と集団羽化リズム¹⁾

黄色 俊一・渡辺 四郎*

東京農工大学農学部*

カイコの蛹期における光条件を制御し、羽化してきた時刻と個体数の関係を調査して次の結果を得た。

1) 蛹期を恒明または恒暗条件とした場合は、蛹の末期における恒明→恒暗切り換えによって、切り換え後 (9~10)+24n 時間目に羽化するリズムと、恒暗→恒明切り換えによって、切り換え後 1+18n 時間目に羽化するリズムとの 2 種類の集団羽化リズムがみられた。

2) 蛹期を通じて 24 時間を 1 周期とする種々の光周条件下においた場合は、それぞれ毎日の羽化時刻は異なるが、24 時間を周期とする単峰性またはそれぞれ 24 時間を周期とする双峰性の集団羽化リズムがみられた。

雌蛾の羽化時刻は雄蛾の羽化時刻よりやや遅くなる傾向を示したが、単峰性を示すか双峰性を示すかは、雌雄の羽化時刻の相違に基づくものではなかった。

1978 年 1 月 6 日受付

緒 言

カイコの羽化は、自然状態では夜明けに集中しておこるが、こうした羽化行動の日周性に光が影響することは、古くから知られている。しかし、カイコの羽化行動に関する研究報告はきわめて少なく、不明な点が多い。一方、野蚕やショウジョウバエなどでは、集団羽化リズムに関する研究が詳細に行われており、活動リズムなどとの関係においても検討されている。

本報では、恒常光条件下で保護した蛹が蛹末期における恒明→恒暗や、恒暗→恒明単一切り換えにより、また蛹期を通じて種々の日周性光条件下で保護した場合、どのような集団羽化リズムを示すかを究明し、二、三の知見を得たので報告する。

材料と方法

供試したカイコは、2 化性 4 眠蚕の大造である。胚子

¹⁾ Toshikazu OSHIKI and Shiro WATANABE*: Studies on the Emergence Behaviour in *Bombyx mori*. I. Relationships between Photo-conditions during the Pupal Stage and Mass Emergence Rhythms.

* Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology, Fuchu, Tokyo 183.

発育期は 25°C、恒明条件下で保護し、幼虫期は 25°C の飼育室で桑葉を与えて飼育したが、とくに光条件については考慮しなかった。

各実験区における蛹の数はほぼ 200 個体とし、初期の蛹の保護温度をかえることによって種々の発育度のものが混在する集団を作って、4~5 日にわたって羽化してくるようにした。種々の光周条件は、温度を 25±0.5°C、相対湿度を約 90% に保つようにした室内に、高さ 90 cm の位置に 4 W の白色蛍光灯を設置した光周箱をおき、タイマーで点滅するように設定した。他の環境要因の影響を考慮し、点灯時刻を原則的に 13 時として、調査は 3 時間ごとに行った。また暗期中の調査は、赤色セロファンで 2 重に覆った懐中電灯を用いて行った。

結 果

1. 蛹期を恒明または恒暗におき、蛹の末期に恒暗または恒明に切り換えたとときの集団羽化リズム

蛹期を恒明におき蛹の末期から恒暗に切り換えた場合 (LL→DD)、また蛹期を恒暗におき蛹の末期から恒明に切り換えた場合 (DD→LL)、それぞれの切り換えによって、両者全く異なる集団羽化リズムが生じた (Fig. 1)。LL→DD では DD 開始 9~10 時間目に第 1 ピークがあらわれ、第 2 ピークは第 1 ピークの 24 時間後に、第 3

Fig. 1 Mass emergence rhythms produced by LL→DD or DD→LL switching.

A: control (LL), B: LL→DD, C: control (DD), D: DD→LL, Ordinate: % of emerged moths, : photophase, : scotophase.

ピークは第2ピークの24時間後に出現した。すなわち、LL→DDでは(9~10)+24n時間リズムが確認された。

一方、DD→LLでは、LL開始約1時間目に第1ピークが出現し、第1~第4ピークのそれぞれの間隔は18時間であった。すなわち、DD→LLによって生ずるリズムは1+18n時間となった。

以上の実験からLL→DDとDD→LLでは、全く異なる集団羽化リズムが形成されることが判った。またこれら2種類の集団羽化リズムは、1日のうちのどの時刻に切り換えを行った場合にも同じ結果となった。

2. 蛹期を通じて各種の日周期性光条件下においたときの集団羽化リズム

蛹期を通じての光周条件を4L-20D, 8L-16D, 12L-12D, 16L-8Dまたは20L-4Dとした場合の羽化時刻と羽化率との関係は、Fig. 2のとおりである。16L-8D (Fig. 2-D)では、羽化開始1~4日間各日ともL開始1時間前後の間に集中して羽化した。すなわち単峰性のリズムとして、24時間周期の集団羽化リズムが認められた。このような単峰性の24時間周期の羽化リズムは12L-12D (Fig. 2-C)の場合にもみられたが、12L-12Dの場合には、ピークは各日とも12Dの末期に出現した。4L-20Dおよび8L-16D (Fig. 2-A, B)では、羽化率に対して、羽化開始1~4日の間、各日とも2つのピーク

Fig. 2 Mass emergence rhythms under several photoperiodic conditions.

A: 4L-20D, B: 8L-16D, C: 12L-12D, D: 16L-8D, E: 20L-4D, Ordinate: % of emerged moths, : photophase, : scotophase.

が存在し、それぞれ各ピークとも24時間の周期をもって出現した。1つは20Dの中期または16Dの後半に、他の1つはL開始後1時間前後の間にみられ、20Dと16Dとでは、scotophaseのピークの時刻は異なっていた。また20L-4D (Fig. 2-E)においても双峰性のピークが存在したが、これらのピークはいずれも20L (photophase)の中に存在し、1つはL開始後1時間前後の間に存在し、他の1つは第1ピークの18時間後に存在し、それぞれ24時間を周期として出現した。

以上の結果から4L-20D, 8L-16D, 16L-8Dおよび20L-4Dの各光周条件下でみられたL期 (photophase)の羽化ピークは、いずれもL開始1時間前後の時期に限られていることがわかる。

3. scotophaseに出現するピークの性質

しかしながらFig. 2に示したように、D期 (scotophase)に出現するピークの時刻に関しては、光周条件によって相違することから、scotophaseに出現するピークが消灯時刻の相違に基づくものであるか否かを知るために、同一時刻に消灯するような次の実験を試みた。8L-16D, 10L-14D, 12L-12Dおよび14L-10Dの条件下で、いずれも毎日5時に消灯して、消灯時刻を一定にした場合の羽化の時刻を10分間隔で調査した (Fig. 3)。

10分間隔で調査した詳細をみると、光周期の種類によって多少の相違が認められる。すなわち平均値で示した場合の羽化時刻は、8L-16Dでは暗開始後10時間10分、10L-14Dでは9時間31分、12L-12Dでは9時間17分、また14L-10Dでは暗開始後8時間57分であり、暗開始から羽化までの時間は約9~10時間となったが、短日に

Fig. 3 The first peaks after light off (5:00) under several photoperiodic conditions.

Ordinate: % of emerged moths, : photophase, : scotophase.

なるほどより長くなる傾向が認められた。

4. 点灯後に出現する第1ピーク

点灯後の第1ピークは、すでに述べたように、その主峰がほぼ1時間後であったが、詳細を調べるために、16L-8Dの場合について5分ごとに羽化個体数を調査した。その結果は、Fig. 4に示すとおりである。

点灯時刻の13時から5分間隔で調査した結果、25°C条件下では40~70分の間にほとんどの個体が羽化し、点灯50分後にピークが存在することが確認された。このことは、羽化行動開始の signal から蛹外皮を脱出す

Fig. 4 The first peak just after light on (13:00) under 16L-8D.

Ordinate: % of emerged moths.

るまでに、約1時間要することを示していた。また他の系統のカイコを用いた実験結果でも、25°Cでは45~60分の間にピークが出現し、系統による相違は認められなかった。

5. 集団羽化リズムと雌雄との関係

雌雄により集団羽化リズムに相違がみられるか否かを調査する目的で、次の実験を試みた。4L-20Dおよび20L-4Dの光周条件下で蛹を保護し、羽化してきた個体数と時刻との関係を調べた (Fig. 5)。その結果、4L-20D (Fig. 5-A)では Fig. 2の場合と同様に双峰性のリズムがあらわれたが、雌雄ともに双峰性リズムを形成し、そのパターンにおいても相違は全く認められなかった。しかし、20L-4D (Fig. 5-B)では双峰性のリズムにかりはしないものの、雄では第1ピークを形成する個体数の方が多く、雌では第2ピークを形成する個体数の方が多かった。すなわち、双峰は雌雄の羽化時刻の相違によって形成されるものではないが、やや雄の方が雌に比べて羽化までの時間が短い傾向が認められた。また、Fig. 3に示した実験の一部 (12L-12Dおよび14L-10D)において雌雄の発蛾時刻を調査した結果では、雌に比べて雄の方が約30分早く羽化した。

Fig. 5 Mass emergence rhythms in male and female under extremely short day or long day condition.

A: 4L-20D, B: 20L-4D, M: male, F: female, Ordinate: % of emerged moths, : photophase, : scotophase.

考 察

ショウジョウバエ (*D. psedobscura*) は、他の環境条件を恒常にした24時間周期の光周条件下では、任意の時刻に成長が完成した潜成虫 (pharate adult) が特定のゲート (gate) にのみ羽化すると言われており、これは羽化を支配する生体時計が光周期に同調しているため

であると報告されている¹⁾。さらに、羽化に先立っての恒明→恒暗および恒暗→恒明切り換えによって集団羽化リズムが生じるが、リズムの開始時期や周期が異なることも明らかにされている²⁾。一方、サクサン (*A. pernyi*) では、恒明→恒暗の切り換え時にのみ集団羽化リズムが生じるといわれている³⁾。

著者らの実験では、カイコの集団羽化リズムはショウジョウバエと同様、恒明→恒暗および恒暗→恒明切り換えの両方においてリズムが生じ、かつ両者のリズムの周期が異なることが確認された。恒明→恒暗切り換えによって生じた集団羽化リズムの主峰についてみると、第1ピークは D 開始 9~10 時間目であり、その後の第2、第3ピークがそれぞれ 24 時間間隔でおこったことから、恒明→恒暗で生じるリズムは $(9\sim10)+24n$ 時間であるといえる。次に恒暗→恒明切り換えの場合についてみると、第1ピークは L 開始約 1 時間目であり、その後のピークは 18 時間間隔で出現したことから、恒暗→恒明で生じるリズムは $1+18n$ 時間であるといえる。

同様な結果は木村^{4,5)}によってすでに観察されており、恒暗下における羽化の周期性は約 24 時間間隔であり、恒明下における羽化の周期性は約 18 時間間隔であったと報告されている。またカイコの孵化リズムを調査した田中^{6,7)}は、恒明→恒暗では暗開始後 $12+24n$ 時間リズムが生じ、恒暗→恒明では点灯直後のピークと、その後、約 $18n$ 時間のリズムが生じたと報告している。

24 時間周期の光周条件下では、単峰性の場合も双峰性の場合も、ともに $24n$ 時間リズムであった。光周条件下で生じるリズムと恒明→恒暗および恒暗→恒明によって生じるリズムとの関係を知る目的で、第1ピークの詳細を検討した結果、scotophase に生じる第1ピークは、それ以前の条件によって多少変化することが明らかになった。すなわち、それ以前の日長の長短によって、第1ピークの時相が 9~10 時間の間でずれを生じた。また点灯直後の photophase における第1ピークは、25°C で 50 分後にあったことから、体内における羽化行動開始から、羽化確認時刻(蛹外皮脱出時刻)までの間に約 1 時間のずれがあるものと考えられる。したがって体内時計による羽化リズムは、それぞれ 1 時間ずつを差し引いて、 $(8\sim9)+24n$ および $18n$ 時間であろうと推察される。そして、24 時間を 1 周期とする光周条件下で羽化させた場合のすべてのピークは、2 種類の基本的なリズムの一端と一致するが、各ピーク直前の消灯または点灯によって修正される可能性を暗示していた。

近年、平坂⁸⁾は、極短日 (3L-21D) のもとであらわれる双峰性リズムが、雌雄の羽化行動の相違に基づくものであると述べている。著者らの実験では、4L-20D の光周条件下で羽化させた場合、雌雄による相違は全く認められなかった。そして 20L-4D の条件下で羽化させた場合は、雄の方がやや早く羽化する傾向は認められたものの、双峰性が雌雄差によるものではないことを示していた。

文 献

- 1) PITTENDRIGH, C. S. 1966. The circadian oscillation in *Drosophila pseudoobscura* pupae: a model for the photoperiodic clock. *Z. Pflanzenphysiol.* **54**: 275-307.
- 2) ENGELMANN, W. 1966. Effect of light and dark pulses on the emergence rhythm of *Drosophila pseudoobscura*. *Experientia* **22**: 606-608.
- 3) TRUMAN, J. W. 1971. Hour-glass behavior of the circadian clock controlling eclosion of the silkworm, *Antheraea pernyi*. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **68**: 595-599.
- 4) 木村真作. 1952. 家蚕化蛾の周期性に関する実験生態学的研究 (I). *日蚕誌* **21**: 149-150.
- 5) 木村真作. 1953. 家蚕化蛾の周期性に関する実験生態学的研究 (II). *日蚕誌* **22**: 131-132.
- 6) 田中 深. 1966a. 家蚕卵のふ化周期に関する生態学的研究 (I). *日蚕誌* **35**: 88-94.
- 7) 田中 深. 1966b. 家蚕卵のふ化周期に関する生態学的研究 (IV). *日蚕誌* **35**: 321-326.
- 8) 平坂忠雄・長瀬次芳・小山長雄. 1976. カイコの雌雄発蛾におよぼす光周期の影響. *日蚕学術講演要旨* **46**: 75.

Summary

The purpose of the present study was to investigate the adult emergence rhythm in *Bombyx mori*. The results obtained were as follows:

- 1) There were two kinds of mass emergence rhythms in *Bombyx mori* which were produced by light conditions during the pupal stage in substance; $(9\sim10)+24n$ hours from the light off and $1+18n$ hours from the light on.
- 2) Mass emergence rhythms under the photoperiodic conditions were unimodal or bimodal circadian rhythms.
- 3) The emergence peaks of female were later than those of male, but the bimodal distribution did not stand in a causal relation to the sex.

(Received January 6, 1978)