キツネノボタンハモグリバエ幼虫の令期判定のための簡便法¹

杉 本 毅

京都府立大学昆虫学研究室

（1967年4月28日受領）

A Simple Method for Determination of Larval Instars of a Leaf Mining Fly, *Phytomyza ranunculi*. Tuyosi SUGIMOTO (Entomological Laboratory, Kyoto Prefectural University, Kyoto) *Jap. J. appl. Ent. Zool.* 11: 114—118 (1967)

The determination of larval instars of leaf mining flies has been made on the basis of the size of their pharyngeal sclerites or spiracular processes hitherto. However, these methods proved very disadvantageous on account of their requiring much inconvenient labor for measuring the size of these organs. Some other biological characteristics in *Phytomyza ranunculi* larvae were investigated in order to find a simpler method for larval instar determination of leaf mining flies. The body length, the width of mine and the size of frass which now can be measured much easier, were found to be distributed normally in each instar which had been determined on the basis of size of pharyngeal sclerites. From the result of these normal distributions, a median between each of average values of each of the characteristics of two adjacent instars was applied as a limit value of discrimination of those larval instars. The body length or the mine width was comparatively better criterion respectively with the probabilities of less than 20% of misclassification in each instar, while the frass size was out of criterion with the probabilities of higher than 35% in maximum. So there can be no difficulty in adopting each of the former two characteristics respectively as criterion for instar determination with conditions attached of misclassification probabilities above-mentioned. Further, a comprehensive determination of larval instars was attempted with the discriminant function, in which the mine width and frass size were used as two variables. The median between average values of discrimination of two adjacent instars was adopted as a limit value of discrimination of instars. The efficiency in this method was rather better than that in the above one with the mine width only. The probability less than 10% of misclassification was gained in this method when the body length was used as one of two variables instead of the frass size. The discriminant function seems to be more useful for determination of larval instars when adequate characteristics are adopted as its variables.

は じ め に

一般にハモグリバエ類幼虫の令期は、その口器を形成する骨格すなわち咽喉骨格の大きさまたは気門の大きさによって判定されてきた。確かに幼虫の成長の段階性を反映しやすいこと、およびその保存性にすぐれていることからこれらの器官は令期判定の基準として妥当な形質

といえるが、その測定のためにはそれらの器官のスライド標本の作製を必要とし、幼虫個体群を研究対象とするときに非常に時間と労力を要する。しかるに個体群の研究手段としての令期判定法に備えられなければならない条件として、まず測定が簡便であること、つぎに高い判定精度が保障されていること、少なくとも結果の再現性という点から精度は予め確定されていることが必要であ

1 京都府立大学農学部昆虫学研究室業績 (No. 116)

ろう。

ところで幼虫の作った潜孔の幅、そこにいる幼虫の体長および幼虫が排泄した糞の大きさなどは上記の2形質に比べて測定がかなり容易である。そこでこれらの形質の測定値をそのままあるいは何らかの操作をほどこし、令期判定基準として代用することができれば令期判定法の簡便化が可能となる。本報告では幼虫の体長、潜孔の幅および糞の大きさを令期判定基準として採用することの妥当性を検討した。

本文にはいるに先だち、種々の御教示と御批判を頂いた京都大学農学部昆虫学研究室内田俊郎教授に心からお礼を申し上げる。また種々の御教示と御配慮を頂いた京都府立大学農学部昆虫学研究室笹川満広助教授に感謝の意を表する。

材料と方法

材料として京都市内に繁茂するキツネノボタン *Ranunculus glaber* MAKINOに寄生するキツネノボタンハモグリバエ *Phytomyza ranunculi* SHRANK の幼虫を1966年5月下旬、1967年4月上旬に採集して用いた。すなわち採集された葉に寄生する幼虫の体長、潜孔内で幼虫が現存する位置における潜孔の幅を葉の表皮を透して直接に顕微鏡で測定し(×20)、糞の大きさとしては葉の表皮を部分的に破って潜孔内で幼虫の近傍に散在するものを測定した(×150)。また咽喉骨格の大きさはそのスライド標本を作製し咽喉骨格の背側の翼の部分の長さを1966年には150倍に、1967年には600倍に拡大して検鏡した。なお1966年の幼虫は寄生蜂その他の原因でほとんど幼虫が死亡していたのでその体長は測定しなかった。

ところで以下の検討を行なうに当たって調査個体の令期が予め確定されていなければならない。よって供試した全幼虫の令期がその咽喉骨格の大きさに基づいて推定された。すなわち咽喉骨格の大きさは三つの部分に画然と分割された頻度分布を示す(第1図)。一方ハモグリバエ類では一般にその幼虫期間は3令期からなるといわれているので(HERING, 1951), 28.0以下, 34.0~48.0お

第1図 供試幼虫の咽喉骨格の大きさの頻度分布。

よび48.0以上の各部分をそれぞれ各令期に対応するものと考えてよからう。ただし本報告に掲げる各形質の測定値はいずれもそれぞれ一定の倍率で拡大されたままの値で、単位はmmである。なお採集された幼虫150個体の咽喉骨格の大きさを測定し、その中から咽喉骨格の大きさによって推定された令期ごとに40個体を抽出して以下の検討を行なった。

結果と考察

1. 単一形質による判定

咽喉骨格の大きさに基づいてなされた令期の判定が確実なものという仮定に立って以下の検討を行なった。1967年に得た幼虫の体長(Xb)、潜孔の幅(Xm)および糞の大きさ(Xe)を咽喉骨格の大きさから推定した各令期ごとにまとめた頻度分布を第2図に示した。これ

第2図 幼虫の体長(Xb)、潜孔の幅(Xm)および糞の大きさ(Xe)の各令期(I, II, III)における頻度分布。

によると前2者の分布では隣接する二つの令期の間ではほぼ同程度の重複部分が認められるが、糞の大きさに関しては重複の程度がかなり大きい。ただしこれらの頻度分布は幼虫の体長については2.0ごとに、また潜孔の幅および糞の大きさについては1.0ごとに階級化することによって得られたものである。ところで以下の検討に先だててこれらの頻度分布が正規性をもつかどうか検討する必要がある。そのために各階級における頻度の累積百分率をプロビット変換して階級値とプロビットの間に直線関係が認められるかどうか検討した(第3図)。この結

第3図 幼虫の体長(Xb)、潜孔の幅(Xm)および糞の大きさ(Xe)の各令期(I, II, III)における頻度分布の正規性の検討。

果すべての場合にいずれの点もほぼ一つの直線に乗るようであるから、すべての分布においてほぼ正規性が存在するものといえる。ところで第2図で指摘したように各形質とも隣接する二つの令期の分布の間に重複部分が認められるから、いまある個体からある形質の測定値を得たとき、それがいずれの令期に属するかを判定しようとする際に、隣接する二つの令期の間に予め何らかの方法で境界値すなわち判別限界値が決定されていなければならない。そこで判別限界値としてここではそれぞれの形質の各令期での平均値を用いて、それらの値の令期間の

第1表 幼虫の体長(Xb)、潜孔の幅(Xm)および糞の大きさ(Xe)を令期判定に単独に用いたときの各令期におけるそれぞれの平均値、分布域および判定を誤る危険率

年	調査項目	令期	平均値	分布域	判定を誤る危険率
1966	潜孔の幅	I	3.25	$5.08 \geq X_m$	0.051
		II	6.90	$5.08 \leq X_m \leq 8.33$	0.212
		III	9.61	$X_m \geq 8.33$	0.145
	糞の大きさ	I	2.57	$3.12 \geq X_e$	0.082
		II	3.66	$3.12 \leq X_e \leq 4.23$	0.356
		III	4.80	$X_e \geq 4.23$	0.250
1967	体長	I	8.05	$11.15 \geq X_b$	0.017
		II	14.24	$11.15 \leq X_b \leq 18.46$	0.173
		III	22.67	$X_b \geq 18.46$	0.111
	潜孔の幅	I	3.35	$4.66 \geq X_m$	0.075
		II	5.96	$4.66 \leq X_m \leq 8.26$	0.143
		III	10.56	$X_m \geq 8.26$	0.188
	糞の大きさ	I	2.57	$3.22 \geq X_e$	0.115
		II	3.86	$3.22 \leq X_e \leq 4.51$	0.487
		III	5.15	$X_e \geq 4.51$	0.308

中間値をこれに当てて、各令期の分布域を求めた(第1表)。すなわちある個体から問題とする形質の測定値を得さえすれば、この分布域を対照することによって対応する令期を判定することができる。しかし判別限界値を各令期の平均値の中間値として人為的に決定したから、本来ある令期に属するにもかかわらずその令期でないと誤って判定する危険性が生ずるはずである。すなわちこの危険の程度が令期判定法としての精度に他ならない。そこで上で確認した各形質の頻度分布の正規性を前提として平均値と判別限界値の間の差を基準化することによってこの危険率を推定した(第1表)。この結果1966年と1967年とは少々様相を異にするが、いずれにおいても糞の大きさに基づいて判定を行なうと、判定を誤る危険率がきわめて高く特に2令期に35.6%以上となりこれだけを単独に令期判定基準として採用することはできない。一方幼虫の体長と潜孔の幅はいずれの令期においても20%以下で、必ずしも令期判定基準として採用できないものではないようである。ところで1966年と1967年における潜孔の幅と糞の大きさの両形質で判別域が若干異なっているが、これは両年の調査時間の違いによる寄主植物お

よび幼虫の生理的条件の違いによるというよりむしろ単なる測定誤差に基づくもので、有効数字は小数点以下第1位までであるから本質的な差違はないものと考えてよからう。

2. 判別関数による判定

判別関数法は FISHER によって導かれたもので、二つ以上の形質の測定値に基づいて多面的に A, B いずれの事象であるか二者択一的に判定しようという方法であり、確実に分っている二つの事象に共通するいくつかの形質に基づいてそれらの形質に対する判別係数を求め、ある個体をとり出したときその個体の各形質の測定値とそれに対応する判別係数の積の総和すなわち判別値を求め、両群における判別値の平均値の差が最大になるように判別係数を定める方法である (FISHER, 1936, 1944; MATHER, 1951)。この方法は動植物の分類 (FISHER, 1936; MATHER & DOBZANSKY, 1939), 病気の診断 (鳥居ら, 1947) および人骨の性の判定 (埴原, 1958, 1959, 1964) などに適用されてきた。

前項で各形質の頻度分布はいずれもほぼ正規性をもつことが分っているので咽喉骨格の大きさに基づく令期の判定が確実なものという仮定に立って測定値をそのまま以下の処理に委ねる。ところで判別関数法を適用するに当たってまず判別されるべき項目が三つあるから、これらの項目二つずつからなる三つの組合せすなわち 1 令—2 令, 2 令—3 令および 3 令—1 令についてそれぞれの判別関数が求められなければならない。よってこれらの組合せについて1966年には潜孔の幅と糞の大きさを、また1967年には精度の低い糞の大きさを除いた他の形質を変量とする判別関数 X (1 令—2 令), Y (2 令—3 令), Z (3 令—1 令) を求めた(第2表)。ところで各形質について得られた測定値を判別関数を構成する各変数に代入して求まる判別値 X, Y, Z の分布はそれぞれ各令期の間で一部重複するから、本法を実際に適用するに当たってはまず求められた判別値がいずれの令期に属するかを判定する限界値すなわち判別限界値が前項と同様に予め定められていなければならない。判別限界値として鳥居ら (1947) は病気の診断に当たってより慎重な判断を要する病気についての測定値の棄却限界をこれにあてることを推奨しているが、ここではいずれの令期も等しい重要性をもつから、前項と同様に判別しようとする二つの令期各々の平均判別値の中間値をこれに当てるのが妥当であろう。そこで、このようにして判別限界値を求め各令期に関与する2種類の判別値の分布域を求めた(第2表)。よってある個体から得られた各形質の測定値を

第2表 判別関数および各令期における判別値の分布域と判定を誤る危険率

年	令期	分 布 域		判定を誤る危険率
1966	I	$X \leq 11.068$	$Z \leq 26.411$	0.018
	II	$X \geq 11.068$	$Y \leq 15.179$	0.202
	III	$Y \geq 15.179$	$Z \geq 26.411$	0.100
1967	I	$X \leq 17.679$	$Z \leq 31.942$	0.071
	II	$X \geq 17.679$	$Y \leq 18.414$	0.098
	III	$Y \geq 18.414$	$Z \geq 31.942$	0.057
1966年		$X = 1.424 X_m + 1.233 X_e$ $Y = 1.207 X_m + 1.233 X_e$ $Z = 2.494 X_m + 2.634 X_e$		
1967年		$X = 0.994 X_b + 1.418 X_m$ $Y = 0.701 X_b + 0.663 X_m$ $Z = 1.979 X_b + 0.222 X_m$		

(X: 1—2 令, Y: 2—3 令, Z: 1—3 令の判別関数
; Xb: 体長, Xm: 潜孔の幅, Xe: 糞の大きさ)

各変数に代入して判別値を求め、それを表中の分布域と対照することによって令期を判定することができる。しかしこのようにして判別限界値を定めると、判定しようとする二つの令期における各判別値の分布が重複する部分を人為的に切断することになるから、この方法によって令期を判定すると前項と同様に判定を誤る危険を犯すことになる。そこでこの危険率を鳥居ら (1947) が病気の診断で行なった方法に従って求めた (第2表)。その結果1966年に比べて1967年にはかなり判定を誤る危険率が低く抑えられている。これは糞の大きさに比べてはるかに精度の高い幼虫の体長を判別関数の変数として潜孔の幅とともに用いたことによってもたらされた効果である。ところで精度のかかなり低い糞の大きさを潜孔の幅とともに判別関数に組み込んだ1966年には、これらの形質を単独に用いた場合2令期では危険率20%以上、特に糞の大きさが35%余という精度が極めて低いことを反映して、判別関数法を令期判定法として採用することは無意味となっている。したがって潜孔の幅を単独に用いる場合は1966年の結果に関する限り、判別関数法を適用した場合に比べやや精度が劣るが大差はないから令期判定法としてより能率的であろう。しかし判別関数法を用いれば逆に令期判定基準として精度の低い糞の大きさを加味してもなおこの程度の精度が保障されともいえる。事実1967年の結果によれば2令期における潜孔の幅の精度が前年に比べ若干高くなっていることにもよるであろうが、糞の大きさの代りに幼虫の体長を採用することによ

って各令期とも判定を誤る危険率が10%以下と低くなり、1令期では幼虫の体長を判定基準として単独に用いた場合に比べ精度は少々悪くなるが2, 3令期では判別関数の適用によって判定を誤る危険率は2分の1前後に抑えられる結果となる。そして判定を誤る危険率が10%以下ということは咽喉骨格の大きさに基づいてなされた判定が絶対に正しいものと仮定したとき判別関数の変量として採用される形質の如何によっては90%以上の精度でもって令期判定基準として咽喉骨格の大きさに代りうることを示している。

ところで判別関数法を令期判定法に適用するに当たってそれを構成する変量として選ばれる形質個々の精度もさることながら、これらの形質の数が多くなればそれだけ多角的な判定が可能となりより高い精度で判定が可能となろうが、反面本報告では令期判定の簡便化のための手段としてこの方法を導入したのであるから、咽喉骨格または気門の大きさの測定に要する労力以下に経費を節約できなければ無意味である。したがって採用すべき形質の数はせいぜい3個にとどめるべきであろう。

なお本法を他種に適用する場合には、採用すべき形質は種によって適切なものが選ばねばならないことは勿論である。

摘 要

一般にハモグリバエ類の幼虫の令期判定には咽喉骨格または気門の大きさが用いられてきた。本報告では令期判定の簡便化を目的としてキツネノボタンハモグリバエの幼虫を材料に、測定がかなり容易な幼虫の体長、潜孔の幅および糞の大きさを令期判定基準として採用することの妥当性を検討した。

1) 上の3形質を各々単独の判定基準として用いると、糞の大きさは精度がきわめて悪く判定基準に採用できないが、幼虫の体長または潜孔の幅によって判定を行なったときには両形質とも各令期に判定を誤る危険率が20%以下となり、必ずしも判定基準として採用できないものではないようである。

2) 上の3形質のうち二つを変量とする判別関数を求めて令期判定を試みた。その結果幼虫の体長と潜孔の幅を変量とする判別関数によって判定すると判定を誤る危険率はいずれの令期においても10%以下となり、これら2形質のうちいずれかを単独に用いたときよりもある程度低くなった。一方潜孔の幅と糞の大きさを変量としたときには2令期に20%余となり、前者を単独に用いたときに比べて危険率は殆んどかわらなかった。

3) 以上のことから20%以下の判定を誤る危険率が許されるときには幼虫の体長または潜孔の幅を、10%以下に抑える必要のあるときにはそれら2形質を変量とする判別関数を用いれば幼虫の令期判定はある程度簡便化されよう。

引用文献

- FISHER, R. A. (1936) The use of multiple measurements in taxonomic problems. *Ann. Eugen.* **7**: 179~188.
- FISHER, R. A. (1944) *Statistical methods for research workers* (11th Ed.), Oliver and Boyd. London.
- 埴原和郎 (1958) 判別関数による日本人長骨の性別判別法. *人類学雑誌* **66**: 39~48.
- 埴原和郎 (1959) 判別関数による日本人頭骨ならびに肩甲骨の性別判定法. *人類学雑誌* **67**: 21~26.
- 埴原和郎・木村邦彦・南館忠義 (1964) 判別関数による現代日本人骨格の性別判定法. *日法医雑誌* **18**: 107~114.
- HERING, E. M. (1951) *Biology of the leaf miners*. Uitgeverij Dr. W. Junk. Hague.
- MATHER, K. and TH. DOBZANSKY (1939) Morphological differences between the 'races' of *Drosophila pseudoobscura*. *Amer. Nat.* **73**: 5~25.
- MATHER, K. (1951) *Statistical analysis in biology* (4th Ed.), Methuen, London.
- 鳥居敏雄・高橋暁正・柏木力 (1947) 肝機能検査法の分析と総合——因子分析法, 判別関数, 棄却楕円を中心として. *最新医学* **7**: 138~152.
- 鳥居敏雄・高橋暁正・土肥一郎 (1963) 医学生物学のための推計学 (第5版), 東大出版会, 東京.