

平成 21 年 6 月 19 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19570068
 研究課題名（和文）
 昆虫視覚情報系の「特定スペクトル光による直接行動制御機構」の解析
 研究課題名（英文）
 Wavelength dependent behavior in firefly *Luciola cruciata*
 研究代表者
 針山 孝彦（HARIYAMA TAKAHIKO）
 浜松医科大学・医学部・教授
 研究者番号：30165039

研究成果の概要：

ある動物の同一網膜上に、異なるスペクトル帯域に対して最大感度を示す視細胞を持つ場合、これらの視細胞は色弁別に利用されていると考えられてきた。また、過去 30 年間の研究から、発光生物の種内の視覚コミュニケーションでは、発光スペクトルと光受容器のスペクトル感度が見事に対応することが明らかにされてきた。

甲虫では、緑のスペクトル光でコミュニケーションを行う種が多く知られ、その典型的な例としてホタル類を挙げることができる。我々は、網膜電位図法と細胞内記録法を併用し、夜行性のゲンジボタルの複眼が発光に対応する緑色部（570nm）に高いスペクトル感度を持つことを明らかにし、加えて、紫外部（380nm）のスペクトルにも応答を示すことを発見した。

夜行性の本種がなぜ紫外線を受容する必要があるのだろうか。日没後、本種は 3 時間ほど発光によってコミュニケーションを行う。室内の実験アリーナに雌雄のホタル 10-20 個体を放し、緑および紫外線のみを照射した環境下で、赤外光下で、行動を観察した。

緑の光が照射された場合、ホタルに行動変化は観察されなかったが、紫外線が照射された場合、1 分以内にホタルは歩行を停止した。緑色光と紫外光の両方のスペクトル光を同時に照射した場合も歩行を停止した。夜行性のゲンジボタルでは、光コミュニケーションに関係しない紫外光を行動制御に用いている可能性が示唆された。

これらの結果から、ホタルにおいて色弁別ではなく特定波長光依存性行動があることが示された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：生物学

科研究費の分科・細目：動物生理・行動

キーワード： ホタル、複眼、スペクトル分析、特定波長依存性行動、色弁別、紫外線受容、視細胞、昆虫

1. 研究開始当初の背景

生物は進化の過程で、光情報の受容・処理システムを複雑化させ、取得できる情報量を増すことにより生存してきた。昆虫に見られる複眼は、進化における光受容器の一つの頂点ともいうことができ、「形」「色」「動き」などの属性を情報として利用している。これらの属性の一つである「色」の検出を可能にするためには、別々のスペクトル帯域に応答する視細胞が、少なくとも二つ以上同一網膜内に存在することにより達成される。多くの昆虫の種で、複眼に複数のスペクトル応答をもつ視細胞が存在していることが知られ、行動学的にも色弁別能があることが示されており、昆虫が進化の過程で色弁別能を獲得したことは疑う余地はない。また、一方で我々ヒトにとっても、色という世界があまりにも日常的に明らかであるために、ある生物が同一網膜上に別々のスペクトル応答をする視細胞が複数存在していることを知ると、すぐに色弁別に利用されていると考えてきた。果たして、複数のスペクトル情報は色を弁別する以外の情報としての属性はないのだろうか？

他の属性として、色弁別という情報処理機構ではないスペクトル情報を用いた別の情報処理の利用として、「特定スペクトル光による直接行動制御」と呼ぶべき現象の存在が、いくつかの動物種で報告されてきたが、色弁別としての情報処理をした上で特定色に対して定型的な行動をとるのか、スペクトル光による直接支

配なのかは未だ不明な点が多い。

ゲンジボタルを用いた研究の初期段階において、夜間の光を用いたコミュニケーションでよく知られたゲンジボタル(*Luciola cruciata*)の複眼に、紫外部 (380 nm) と緑色部 (570nm) という異なったスペクトル応答を示す二つの視細胞が存在することを見つけた。これら二つの視細胞の存在は他の昆虫での議論と同様に、スペクトル帯域の異なる視細胞の組み合わせで色弁別に用いられていると説明しよう試みたが、これは次の二つの点から不十分な推論であることに、我々は気づいた。つまり、(1) 色弁別に用いられているとするとスペクトル帯域が離れすぎている。(スペクトル抽出のための入力器の配置として矛盾がある。) (2) 二つのスペクトル応答が重なっている帯域のみで色弁別が可能であるということから推定すると紫外部から青にかけてのみの色弁別能をもつことになり、夜間行動する際の光コミュニケーションに重要な緑の帯域の色弁別は難しい。つまり、紫外光から青にかけての色がほとんど存在しない夜間に活動するホタルが、この帯域の色弁別能が必要であるとは考えにくいのである。

果たして夜間に活動するホタルが持つ紫外部光受容細胞はどのような機能をもっているのか、紫外光による直接支配が観察されるかどうかという発想から研究が始まった。

2. 研究の目的

ゲンジボタルは、日中は草の葉陰な

どにじっとしており、夜間に緑色 (570nm) の点滅を用いて交尾行動を行う。ゲンジボタルの尾部の発光器による光の明滅は交尾行動を遂行するための重要なコミュニケーションシグナルであるといえる。

複眼も 570nm に最大応答を示す視細胞をもち、光コミュニケーション遂行にとって最適な条件が整っている。発光器のスペクトルには全く紫外部光は含まれていない。

第一の目的は、コミュニケーション時における紫外部光の役割を明確することにある。第二に紫外部光が緑の色との比較の中で利用されているのか、紫外部光が存在すれば行動が制御されるのかを明らかにする。つまり、光の直接効果の存在を明らかにすることに最大の目的がある。

3. 研究の方法

(1) 材料：ゲンジボタル(*Luciola cruciata*) を用いる。光情報処理に特殊化したともいえるホタルは、古くから世界中の研究者の興味を引きつけ、夜行性の節足動物のなかでも例外的に光受容器に基づく行動の研究が蓄積されている (Lall et al. 1980 他多数)。また我々は、ゲンジボタルを用いて①網膜の組織学的観察による個眼の形態 (Sakayori et al.1998)、②電気生理学的解析によるスペクトル応答、③感光色素の性差と複眼での局在性 (Hariyama et al. 1998)、④脳内光受容器の発見 (Hariyama,2000) などの知見を広げてきている。これまで蓄積したホタルの視覚器と脳の豊富なデータをもとにして、本研究を遂行する。

(2)アプローチ：

①紫外光受容視細胞の同定—電気生理学的実験

ホタルの網膜電位図 (ERG) と細胞内記録法を用いて、ホタルがもつ視細胞のスペクトル帯域について明らかにする。HPLCを用いた生化学的実験により、ゲンジボタルでは視物質発色団としてA1 (retinal) とA3 (3-hydroxyretinal) が存在することを明らかにし、これらの視物質発色団はそれぞれ異なる吸収極大を持つ視物質として存在 (Hariyama et al.1998) していることを示したが、視細胞が独立してそれぞれの視物質をもち機能していることを示す。ホタルの複眼は夜行性の昆虫に多いsuper position eyeに分類されるclear zone (円錐小体の枝部) が長く電極の長時間保持が難しい。そのため、紫外部光受容細胞での電極の保持が難しく、短時間スペクトル光での刺激と記録の改善を図った上で研究を遂行する。

②顕微分光器 (Micro-spectrophotometer) によるホタル発光スペクトルの解析と視細胞の含有視物質のスペクトル帯域の推定

現有の顕微鏡に設置できる測定機器だけを購入し自作して使用する。発光スペクトルは発光時間帯に自律的に発光しているものから記録する。また、各視細胞層のスペクトル吸収を測定し、微小電極法で得た知見との比較を試みる。

③ホタル複眼の形態の観察

通常の光学顕微鏡、透過型電子顕微鏡の技術を用いて、個眼の形態を再検討する。電子顕微鏡に関しては、浜松医大の共同施設を使用して実験をおこなう。

④ 紫外光によるホタルの行動制御実験および行動生態学的考察のための実験

ホタル類の行動に対する照明の影響に

については、小林 (1996) や新村 (1998)、大木ら (1997) が1lux以上の明るさでゲンジボタルの活動が阻害されることを示しているが、どの波長光がどのような行動要素に影響を与えているかなどについての詳細な解析はなされていない。我々は紫外部光の直接支配による移動行動の停止を明らかにしたが、上記研究との関連や生態学的意義については想像の域を出ていない。日中・夜間の自然光が変化する中で、自然環境下でホタルがどのような行動をしているか、また夜間の飛翔密度とスペクトル光量との相関を、自然の中で明らかにする。そのために、浜松医大からアクセスしやすく、一般観光客の比較的少ない愛知県津具村を調査地とする。

⑤実験室内での特定スペクトル光の効果の実験

行動生態学的調査・実験に基づいて、実験室内で紫外部光および緑色部光を中心に日周期リズムなどのcueとして特定スペクトル光の効果の有無を検討する。紫外部光の特徴的な移動行動停止は、日周期リズムにエントレインさせるcueである可能性が高く、これまでの日周期リズムをコントロールしていると言われていた青色光との関連が考えられる。日周期リズムと特定スペクトル光のcueとしての効果の検討を行う。

4. 研究成果

①紫外光受容視細胞の同定—電気生理学的実験

選択光順応実験を網膜電図 (ERG) と組み合わせた方法と、細胞内記録法の結果から、370nm の紫外部に応答極大のある細胞と 570nm の緑色部に極大のある細胞の少

なくとも 2 種あることが確認された。570nm に応答極大がある視細胞は、370nm 付近にセカンドピークがある。

②顕微分光器 (Micro-spectrophotometer) による計測

発光スペクトルは、570nm の緑色部に極大があり、その反値幅はおよそ 70nm であり、細胞内記録による 570nm 極大の視細胞応答のカーブによく一致していることがわかった。

顕微鏡を改造した透過型顕微分光の測定は、微弱光による測定が難しく広範囲なデータ収集を実施することができなかった。現在、顕微分光器は測定装置自身の改良を加えている。

③ホタル複眼の形態の観察

Superposition eye であるホタルは、13 個の視細胞を持ち、3 層構造をしている。光が入射する側、つまりレンズ側には 2 つの視細胞からなるごく短いラブドームが存在し、紫外部受容部位であると推定された。続いて、長いラブドームが観察され、緑色受容細胞であることがわかった。しかし、Basementmembrane 近くの視細胞に関しては、構造的解析は成功したものの、スペクトル応答との推定は完成できなかった。

④紫外光によるホタルの行動制御実験および行動生態学的考察のための実験

紫外部光と緑色部光のそれぞれで光量を変化させると、光量依存的に行動様式が変化し、また等光量子数にするようにコントロールされた波長を 20nm ごとに変えると、390nm 付近を頂点として行動の停止が観察され、逆に 570nm 付近を頂点として光からの逃避行動が観察された。これらの実験結果から、この夜行性のホタルは、視細胞によって受容される帯域の離れた

スペクトル情報は色を弁別しているのではなく、特定スペクトル光がゲンジボタルの行動を直接制御していることが明らかになった。

この実験に用いた刺激光量はすべての波長で等光量子数 (5.0×10^{13} 光量子数/cm²・sec)とし、視細胞応答で最大応答をする光量の半分（つまり視細胞応答でおよそ半分の応答をする光量）で行った。紫外部光を照射すると、ゲンジボタルの移動行動が1分以内に停止し、発光器の明滅だけが続いた。緑色部の光では移動行動の促進が観察され、あたかも緑色光から逃避するような行動であった。緑色部の光と紫外部の光を混色にすると、紫外部光だけの照射と同様に行動が停止し、緑色部光が等光量子数含まれているにも関わらずあたかも緑色部光が無いような紫外部光の影響を受けていた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 5件)

- ① Toyama M., Hironaka M., Yamahama Y., Horiguchi H., Tsukada O., Uto Norihiko, Ueno Y., Tokunaga F., Seno K. and Hariyama T.: Presence of Rhodopsin and Porphyropsin in the Eyes of 164 Fishes, Representing Marine, Diadromous, Coastal and Freshwater Species-A Qualitative and Comparative Study. *Photochem Photobiol* **84**, 996-1002 (2008)査読あり
- ② Yoshifumi Nagata, Satoshi Iwasaki, Takahiko Hariyama, Toyota Fujioka, Tomita Obara, Takayuki Wakatake and Masato Abe: Binaural Localization Based on Weighted Wiener Gain Improved by Incremental Source Attenuation *IEEE Trans. on Audio, Speech, and Language Processing*, Vol. 19, No. 1, 52--65, Jan. (2009)

査読あり

③ Hironaka M., Inadomi, K., Nomakuchi S., Fillipi L and Hariyama T.: Canopy compass in nocturnal homing of the subsocial shield bug, *Parastrachia japonensis* (Heteroptera: Parastrachiidae). *Naturwissenschaften*, **95**, 343-346 (2008) 査読あり

④ Yamahama Y., Seno, K. and Hariyama T.: Changes in lipid droplet localization during embryogenesis of the silkworm, *Bombyx mori*. *Zool Sci* (2008) 査読あり

⑤ 針山孝彦, 弘中満太郎, 堀口弘子, Stavenga D.G.: タマムシの構造色と行動—構造色の再現とその応用を目指して—, *O plus E*. **30**, 149—155 (2008) 査読あり

[学会発表] (計 7件)

① Takahiko Hariyama, Mantaro Hironaka and Hiroko Horiguchi: “Ultraviolet reception in the nocturnal firefly, *Luciola cruciata*” 4th Asia Oceania Conference on Photobiology 2008 Nov. 24-26, Banaras Hindu University, Varanasi, India

② Takahiko Hariyama: “Designed by Nature: Water Transport System of *Ligia exotica*” UK-Japan Workshop on Innovation Inspired by Nature: Paradigm Shift on Material Research (The 3rd IMCE Kyushu University-UK-IMRAM Tohoku University Joint Workshop) 2008年10月31日(金) 英国大使館, 東京

③ Takahiko Hariyama, Mantaro Hironaka, Hiroko Horiguchi and Doekele G. Stavenga: “The role of structural colour in damselfly: Age dependent wing coloration and courtship behaviour of the damselfly *Calopteryx japonica*” The second international conference on invertebrate vision. 2008 Aug. 1-8, Baekaskog Castle, Sweden

④針山孝彦・弘中満太郎・堀口弘子：ホタル脳内に存在する眼外光受容器の起源 第10回日本進化学会 2008年8月22日 東京大学駒場キャンパス

⑤針山孝彦・弘中満太郎・堀口弘子・D. G. Stavenga：アオハダトンボ成虫の構造色の役割—未成熟から成熟個体にかけての翅の色と行動 第78回日本動物学会 2008年9月5日 福岡大学七隈キャンパス

⑥弘中満太郎・稲富弘一・藤條純夫・針山孝彦：ベニツチカメムシの複眼の構造的制約はランドマークの優位性を決定する 第53回日本応用動物昆虫学会 2009年3月29日

⑦針山孝彦・弘中満太郎・堀口弘子：ゲンジボタルの紫外線受容と行動制御 第53回日本応用動物昆虫学会 2009年3月29日

〔図書〕(計8件)

①針山孝彦：「鳥の彩り—鳥の視覚と羽の色」**鳥学大全**：秋篠宮文仁、西野嘉章監修、東京大学総合研究博物館：2008

②堀口弘子、弘中満太郎、針山孝彦：「フナムシの吸水機構」**昆虫に学ぶ新世代ナノマテリア** NTS社、58-79、2008

③下澤楯夫、針山孝彦：「昆虫の設計に学ぶ」**昆虫ミメティックス**：下澤楯夫、針山孝彦監修、NTS社、4-8、2008

④針山孝彦：「昆虫の彩り」**昆虫ミメティックス**：下澤楯夫、針山孝彦監修、NTS社、30-40、2008

⑤針山孝彦、堀口弘子：「節足動物の吸水機構」**昆虫ミメティックス**：下澤楯夫、針山孝彦監修、NTS社、192-198、2008

⑥堀口弘子、針山孝彦：「昆虫の紫外線受容」**昆虫ミメティックス**：下澤楯夫、針山孝彦監修、NTS社、488-493、2008

⑦針山孝彦：「自然における超撥水表面」**撥水・撥油の技術と材料**：辻井薫監修、シー

エムシー出版、25-38、2008

⑧針山孝彦：「生き物たちの情報戦略」化学同人、2007

〔産業財産権〕

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www2.hama-med.ac.jp/wld/biology/hariyama/hariyama.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

針山孝彦 (HARITAMA TAKAHIKO)

研究者番号：30165039

(2) 研究分担者

堀口弘子 (HORIGUCHI HIROKO)

研究者番号：50324356

(3) 連携研究者