

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 6 日現在

機関番号：31307

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22570028

研究課題名（和文） 昆虫の羽化時刻の選択要因を探る

研究課題名（英文） Searching selective factors involved for adult eclosion timing of insects

研究代表者

田中 一裕（TANAKA KAZUHIRO）

宮城学院女子大学・学芸学部・教授

研究者番号：00316415

研究成果の概要（和文）：土中で蛹化するタマネギバエを材料に、砂温が羽化成虫の地上脱出成功率に及ぼす影響を調査した。蛹からでたばかりの成虫を地下 1 cm に埋めたところ、地上への脱出に成功した個体の割合が地温によって異なることが明らかになった。供試個体の 50% が地上脱出に失敗する地温は 42℃ 前後であった。農地では、地下 1 cm の地温はしばしば 42℃ を超える。これらの事実は、日中の高い砂温が羽化直後の成虫の地上脱出を妨げることで本種の羽化時刻の進化に関わっている可能性を強く示唆している。

研究成果の概要（英文）：Effects of soil temperature on eclosion success of the onion fly, a dipteran insect pupate underground, were examined. When newly eclosed flies were put into the soil (1cm in the depth), number of flies emerged from the soil was varied with soil temperature. The critical soil temperature causing 50% failure of adult emergence from the soil was about 42℃. In the agricultural habitats, soil temperature at 1cm depth frequently exceeds 42℃. Thus, it seems that high soil temperature in the middle of the day more or less involves in the evolution of adult eclosion time of this insect.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012 年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・生態・環境

キーワード：羽化リズム・究極要因・高温耐性

1. 研究開始当初の背景

体内時計を制御する遺伝子がショウジョウバエで特定されて以来（Konopka & Benzer, 1971 など）、生物時計に関する研究、

特にその遺伝学や分子生物学分野は近年めざましい発展をとげている。しかしながら、なぜ体内時計が約 24 時間の自律振動をするのかといった生物時計の根本的な問題は

未だ解決されていない。この問題を考える上で重要なことは、生物のもつリズム現象は自然選択の産物である、という視点である。このことは、生物時計の本質を見極めるためには、遺伝学や分子生物学のような遺伝子レベルでのアプローチのみならず、行動学や生態学のような個体・集団レベルでのアプローチが不可欠であることを示唆している。本研究の目的は、タマネギバエを材料に、その羽化時刻と適応度の関係に焦点をあて、自然条件下でのリズム現象の適応的意義を明らかにすることにある。

自然条件下でタマネギバエは夜明け前に羽化する (Tanaka & Watari, 2003)。羽化時刻の決定には光周期と温度周期の両方が関わっており、光周期条件下では暗期の後半に、全暗・温度周期条件下では低温相の後半に羽化が起きる。ただし、タマネギバエは土中で蛹化するので、自然条件下で明暗サイクルを時刻信号として利用することは出来ない。地温の日周期変動こそが彼らが利用できる唯一の時刻信号である (Watari, 2005)。これまでの研究から、タマネギバエは積極的に昼間の羽化を避けていることがわかっている。本種は地温の日較差を測って、羽化時刻の補正を行なう。温度較差が小さいと、羽化時刻がおおきく前進する (Tanaka & Watari, 2003)。土は熱伝導率が低いために、地表で受けた太陽の輻射熱はなかなか土中に伝わらない。結果として、土深が深くなるほど地温の上昇開始時刻 (地温のおける夜明け) は遅くなる。もしも蛹が単純に地温の上昇に反応して羽化するなら、土中深くにいる蛹は地上の早朝に間にあうように羽化することは不可能である。一方、地温の日較差は、土深が深くなるほど小さくなる。小さな温度較差のもとで羽化時刻の位相が前進するという反応は、土深に伴う夜明け信号の遅れを補正

し、蛹化深度とは無関係に早朝に羽化することを保障する仕組みであると考えられる。

このようにタマネギバエは温度較差反応を駆使することで、昼間の羽化を避け、早朝に羽化していた。なぜ彼らは昼間の羽化を避けるのだろうか。昼間に羽化することに、何らかのデメリットがあるに違いない。これを明らかにすることが、羽化時刻の適応的意義やその選択要因を理解する上で重要なことと思われる。まずは、自然条件下で新成虫がさらされる生物的、物理的ストレスの強さの日周期変化を定量化し、羽化時刻と新成虫の適応度の関係を明らかにすることで、この問題に迫りたい。

ハエ類をはじめ多くの昆虫が早朝に羽化することは古くから知られており、その意義についてもさまざまな仮説が提唱されている。それらのうちでもっとも有名で一般的な仮説はピットドリッグによる湿度仮説であろう。それは「早朝の高い湿度と低い温度が羽化したばかりの成虫の翅の伸展に都合が良い」 (Pittendrigh, 1954) というものである。暑くて乾燥した日中の空気は羽化したばかりの成虫の体から水分を急速に奪うため、翅の伸展に有害な効果を及ぼす、と考えるのである。この仮説は必ずしも実験的検証を伴っていないにもかかわらず、現在では生物リズム分野の研究者のあいだで広く支持されている。しかしながら、われわれがタマネギバエを材料に、この仮説の検証を行ったところ、乾燥は新成虫の翅の伸展をまったく阻害しないことが明らかになった (Tanaka & Watari, 2009)。すくなくとも湿度仮説はタマネギバエには適用できない。

羽化時刻を制限する物理的要因のもうひとつの候補は、日中の高温である。囲蛹からでた成虫は土中を上方に移動し、地上に出るとすぐに走りだして、近くにある草本の茎を

登り、適当な場所で静止して翅の伸展を行う。このように、新成虫が囲蛹から脱出後に曝される環境は土中、地表、草本上の少なくとも3つに分けられるが、そのうち地表の温度条件が新成虫にとってもっとも厳しいことが予備調査から明らかになっている。まだ初夏のデータしかないが、最高温度でみると、地表温度は、地温（地下5cm）や気温（地上5~10cm）に比べ、10℃以上も高いことがわかっている。また、地表温度は明瞭な日周期変化を示し、晴天時の日中には50℃近くまで達する（Tanaka & Watari, 2009）。これは、これまでに報告されている本種成虫の高温耐性限界をはるかに上回る（秋田農事試験場、1950）。一方で、体が小さい成虫の体はすぐに熱せられる。体温が23℃の新成虫を熱い地表（45℃）に接触させると、体温は1分以内に地表温度と同じになった（田中 & 渡、未発表）。一方で、地下1cmに埋めたハエが地上に出るまでに少なくとも1分を要することが予備実験でわかっている（田中 & 渡、未発表）。このように、日中の高い地表温度がハエの羽化行動を阻害している可能性はきわめて高い。地表付近の温度環境の日周期変化とハエの羽化成功率の関係を明らかにすることで、温度という物理的環境が本種の羽化時刻の選択におよぼす影響について実験的検証を行いたい。

羽化時刻に影響するのは、温度のような物理的環境だけとは限らない。捕食者の存在といった生物的要因も羽化時刻の選択に強く影響すると考えられている。しかし、捕食者の特定やその捕食圧の定量が難しいため、この方面の研究はあまり進んでいない。われわれは予備的な野外観察をとおして、アリ類による捕食が本種の羽化時刻の制限要因のひとつになっている可能性を考えている。まだ日中の観察しかおこなっていないが、羽化直

後の飛べない新成虫を野外条件下に放し、彼らが翅を伸ばし終えるまで追跡観察したところ、その多くが翅を伸展する前にアリ（少なくとも数種が含まれる。現在、同定中）に捕食されることを見出した。もしも、これらの捕食者による新成虫への捕食圧が日中に高く朝や夜間に低ければ、それが本種の羽化時刻の制限要因になっている可能性がある。羽化ではないが、樹上で孵化したセミの幼虫が、地上において土中にもぐる間に、その多くがアリに捕食されることが報告されており、それがセミの孵化時刻の制限要因にもなっている可能性が示唆されている（Moriyama & Numata, 2006；沼田 & 宿毛, 2007）。まずはタマネギバエの主要な捕食者と考えられるアリ類および徘徊性のクモ類の日周期活動リズムを野外条件下で明らかにしたい。

タマネギバエを実験動物としてもちいることのメリットは少なくとも2つある。ひとつは、囲蛹からでたばかりの新成虫を簡単に入手できる点である。ある温度周期条件下に蛹を置くと、温度の上昇開始後数分以内に一斉にハエが羽化する（Tanaka & Watari, 2009）。この性質を利用することで、いつでも必要な時間帯にハエの羽化を誘導できる。結果として、羽化直後の成虫を用いたさまざまな実験の遂行が可能となる。ふたつめは、さまざまな光周期・温度周期条件下のみならず、野外条件下での羽化時刻に関するデータがすでに蓄積されている点である。これまでの研究から、圃場における羽化のピーク時刻が季節によって異なることがわかっている。春は夜明け後に羽化する個体が多いが、夏はほとんどの個体が夜明け前に羽化する。このような羽化時刻の季節変化は、本種の羽化時刻が夏の昼間の暑さを避けるように設定されていることを強く示唆しており、「日中の

高い地表温度が羽化時刻を制限する」というわれわれの仮説と矛盾しない。

羽化リズムを含むこれまでの昆虫類の概日リズムの研究は、リズムを制御する概日時計のメカニズムの解析に主眼がおかれており、実際の生息環境を考慮し、その適応的意義を問う姿勢は不十分であった。実験動物としてタマネギバエには、人為的にいつでも羽化を誘導できるという特性がある。この特性を最大限に利用することで、自然条件下における生物リズムの生態学的研究の新たな進展が期待される。

2. 研究の目的

多くの昆虫は1日の決まった時間帯にのみ羽化する。1日のどの時間帯に羽化するかは、昆虫をとりまく物理的環境や生物的環境の日周期変動への適応として進化したと考えられている。しかし、その選択に関与した要因を特定することは難しい。これまでに、乾燥、高温、捕食などが羽化時刻の選択に関わった可能性が示唆されてきた。しかし、それらは推論の域をでておらず、実験的な検証もなされていない。タマネギバエは、このような問題を検討する上で好都合な材料である。本種は積極的に昼間の羽化を避け、早朝に羽化することが知られている。なぜ、昼間の羽化を避けるのか？ それにはどのようなデメリットがあるのか？ これらの問いに答えることで、羽化時刻の選択に関わる制限要因を特定することが可能となる。

3. 研究の方法

(1) 成虫の高温耐性

恒温機の内部温度を10分おきに1℃ずつ上昇させ、新成虫が正常に歩けなくなる温度(CTMax)の測定を行った。新成虫が土中あるいは地表で高温麻痺により動けなくなる

と、翅の伸展や生存、繁殖能力に悪影響がでることが想定される。新成虫はどのような温度にどのくらいの時間さらされると翅の伸展や生殖活動に異常をきたすのだろうか。これらの点を明らかにするために、囲蛹から出たばかりの新成虫をさまざまな期間さまざまな温度に曝し、翅の伸展成功率、産卵数や生存日数等がどのように変わるのかを検討した。

(2) 砂温と地上脱出成功率

日中の高い地表温度が実際にハエ新成虫の地上脱出を妨げているか否かを明らかにするために、さまざまな時間帯に新成虫を地下1cmに埋め、それらの地上脱出成功率、翅伸展成功率を調べた。同時に、地表および地下1cmの砂温、地表脱出直後の新成虫の体温を測定し、羽化成功率や翅伸展成功率との関係を解析した。

野外調査と並行して、実験室においてシミュレーション実験も行った。乾燥機をもちいて砂を熱し、その砂の地下1cmに埋めた新成虫の地上脱出成功率を調べた。実験に用いる砂温は、札幌での微気象データをもとに決定した。

(3) 農地における微気象の測定

羽化直後の成虫がさらされる温度環境をあきらかにするために、北海道農業研究センターの実験圃場を借用し、地表および地下の温度測定をおこなった。測定は、マニュアル測定とデータロガーによる自動記録の両方をおこなった。

(4) 潜在的捕食者の日周期活動

タマネギバエの潜在的捕食者としてアリ類とコモリグモ類をとりあげ、それらの日周期活動パターンを記録した。アリ類の活動リズムは目視により、コモリグモ類の活動リズムはアクトグラフにより記録した。

4. 研究成果

(1) 成虫の高温耐性

新成虫の歩行活動のCTMaxは約42°Cであった。その値に性差はみられなかった。雌雄ともに、CTMaxは日齢とともに低下したが、その低下の程度は雄でより顕著であった。羽化直後の新成虫がもっとも高いCTMaxをもつことは、地上脱出時に直面する地表の高い温度に対する適応と考えられる。

高温条件に曝される時間が長くなるほど、翅の伸展に失敗する個体の割合が増加した。たとえば、45°Cに7.5分および15分間さらされた新成虫のうち翅の伸展に成功した個体の割合はそれぞれ46%と9%であった。熱い土中に閉じ込められた新成虫は翅を伸展させることができず、適応度を下げることが示唆された。高温に曝された成虫はその繁殖能力に下げることが同時に明らかになったが、この点についてはさらなるデータ収集が必要である。

(2) 砂温と地上脱出成功率

予備実験より、土中に埋めたハエの体温が周囲の温度と一致するまでに要する時間は約1分であることがわかっている。また、地下1cmに置かれた羽化直後のハエが地上に脱出するまでに要する時間も約1分である。そこで、さまざまな温度まで熱した砂のなか（地下1cm）に羽化直後の成虫を埋め、地上脱出に成功した個体の割合をもとめた。砂温が40°Cの場合はすべての個体が地上脱出に成功した。しかし、砂温が40°Cを超えるとしだいに地上脱出に失敗する個体が増え、43°Cでは地上脱出に成功した個体は皆無であった。同様の実験を野外条件下（大学構内の砂場）でもおこなった。地下1cmの地温が42°Cを上回った場合に、地上脱出に成功した個体はいなかった。これらの事実は、日中の高い地温（地表下）が、タマネギバエ新成虫の地

上への脱出を妨げる可能性を示している。タマネギバエの羽化時刻を決める環境要因のひとつは、新成虫の地上脱出を妨げる日中の高い地温なのかもしれない。

(3) 農地における微気象の測定

札幌市郊外において、農地の地下1cmの地温の日周期変化を調べた。その結果、快晴時には、地下1cmの地温がしばしばハエの地上脱出を妨げる温度である42°Cを超えることが確認された。

(4) 潜在的捕食者の日周期活動

アリ類のうち、クロヤマアリについては日中に巣外活動が多いこと、夜間は巣からほとんど出ないか、巣の出口周辺で活動するだけであることが確認された。コモリグモ類については、ウヅキコモリグモとハリゲコモリグモ、アライトコモリグモの3種についてその歩行活動リズムに関するデータが得られた。前2者は昼行性、後者は夜行性であることが確認された。タマネギバエが発生する農耕地に多いのは前2者であり、これら捕食者の存在がタマネギバエの羽化時刻に影響している可能性が示唆された。

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 田中一裕、渡康彦

Naturwissenschaften 査読有 98巻 2011年 711-715

② 田中一裕、木村勇司、渡康彦

Biological Rhythm Research 査読有 44巻 163-167、2013年

③ 渡康彦、田中一裕

Entomological Science 査読有 2013年 印刷中

〔学会発表〕（計 4 件）

- ① タマネギバエは昼間の羽化を避ける
2011 年 11 月 日本時間生物学会
- ② 光条件（全暗・全明）が温度周期下での
タマネギバエの羽化リズムに及ぼす影響
2013 年 3 月 日本応用動物昆虫学会

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田中 一裕 (TANAKA KAZUHIRO)
宮城学院女子大学・学芸学部・教授
研究者番号：00316415

(2) 研究分担者

渡 康彦 (WATARI YASUHIKO)
芦屋大学・臨床教育学部・教授
研究者番号：80240539