

독일바퀴의 變態에 따른 蛋白質의 Electrophoretic Pattern과 無機物質에 관한 研究

齒科衛生科 吳 世 源
助 教 授
食品營養科 金 東 弼
助 教 授

I. 緒 論

昆蟲類는 變態過程에서 形態的인 變化는 물론 복잡한 生理的 變化도 수반한다.

昆蟲의 體液인 혈림프는 變態過程에서 중요한 生理的 役割을 하며 食性に 따라 그 化學的 造成이 현저히 다르고 같은 種이라도 變態段階에 따라 많은 變化를 나타낸다.

독일바퀴(*Blattella germanica* L.)에 관한 研究는 申¹⁾, 吳와 趙^{2~5)}, 柳⁶⁾ 등의 여러 학자들에 의하여 分類, 生態, 組織學的 研究가 이루어졌고 李^{7~10)}등, 沈^{11~12)}등에 의한 分布 및 藥劑防除에 관한 研究報告가 있다.

昆蟲類의 生理學的 研究는 여러 분야에서 이루어졌으며 특히 血蛋白質에 관해서는 Laufer¹³⁾, Stephen¹⁴⁾, Nowosielsk and Patton¹⁵⁾, Terando and Feir¹⁶⁾, Wang and Patton¹⁷⁾, Srivastava¹⁸⁾, Pentz and Klrng¹⁹⁾, Kim and Seo²⁰⁾ 등에 의해 研究되었고 無機物質의 分布, 含量 및 부분적인 代謝에 관해서는 Shaw and Stobbart²¹⁾, Harvey and Nedergaard²²⁾, Jungreis et. al.²³⁾ Marshall and Cheung²⁴⁾등에 의해 報告 되었다.

Patton²⁵⁾은 昆蟲類의 蛋白質은 組織의 主要 構成物로서 細胞組織의 成長 補修 및 維持에 필요하며, 복합질소의 結晶體로서 아미노산의 連으로 구성되어 있다고 했다.

Gilbert and Schiderman²⁶⁾은 혈림프 단백질의 농도는 幼虫의 成長과 더불어 增加하고 成虫에서는 減少한다고 하였고, Duke and Pantelouris²⁷⁾는 Starch gel을 이용하여 *Drosophila melanogaster* 幼虫에서 蛋白質 패턴을 조사 하였고 Lee et. al.²⁸⁾은 *Dryocosmus Kuriophilus* 연구에서 SDS-Polyacrylamid gel electrophoresis를 이용하여 34~37개의 Band를 분리하였다.

Zamburlini and Danieli²⁹⁾는 *Drosophila hydei* 終齡幼虫에서 成虫에 이르는 變態과정에서 20개의 Band로 이루어진 蛋白質 패턴을 분리하였고, Yoo and Lee³⁰⁾는 *Ephestia Kuhnii*의 全器官에서 變態단계에 따른 可溶性蛋白質 패턴을 조사하여 18개의 Band를 분리 확인 하였다.

Koh³¹⁾는 *Pieris rapae*에서 變態에 따라 總蛋白質을 定量하여 形態的 變化와 비교한 결

과 특이한 U字型的 生理曲線을 나타낸다고 하였다.

또한 無機物質에 관한 研究는 Gee³²⁾가 *Glossina morsitans*의 食性에 따른 Na과 K의 利尿效果에 대한 실험보고에서 특히 Na은 말피기관에서 이노작용에 의해 尿素로 재흡수 되고 배설체를 통해 물의 순환을 증가시켜준다고 報告 하였다.

Ramsay³³⁾, Phillips³⁴⁾ 등은 無機鹽類가 昆虫의 물질대사 결과 生成되는 배설물의 형성에 조절작용을 한다고 하였다.

완전변태를 하는 昆虫類에 대해서는 많은 生理的 연구가 보고 되었으나, 불완전변태를 하는 독일바퀴의 변태과정에 따른 蛋白質의 패턴과 무기물질에 관한 研究는 거의 없다. 따라서 本 研究는 독일바퀴의 변태과정을 중심으로 체내 단백질과 무기물질을 분석 측정하여 防除를 위한 生理學的 기초자료를 얻는데 그 목적이 있다.

II. 實驗 材料 및 方法

1. 實驗 材料

本 實驗에 사용된 材料는 국립보건원에서 사육중인 독일바퀴(*B. germanica*)를 분양받아 性 區別 없이 變態期에 따라 2齡仔虫, 4齡仔虫, 6齡仔虫, 成虫으로 區別하여 사용하였다.

2. 實驗 方法

1) 蛋白質의 Electrophoretic Pattern

蛋白質은 각 變態期에 따라 재료를 0.85% NaCl로 균질화 한 다음 19,000G로 10분간 원심분리하여 상층액을 시료로 사용하였다. Melanization을 방지하기 위해 Phenylthiourea를 첨가 하였으며, 모든 실험조작은 저온상태에서 행하였다.

전기영동은 O'Farrell³⁵⁾法에 의한 SDS-Polyacrylamide gel electrophoresis로 하였다. Lower gel의 농도는 10%, 길이 11cm, 직경은 0.5cm, 완충액은 0.1% SDS가 첨가된 Tris-glycine buffer(pH 8.3)을, Tracking dye로는 0.1% bromophenol blue 수용액을 사용하였다.

SDS가 첨가된 시료 30 μ l를 끓는 물에 3분간 열처리를 한 후 전기영동에 사용하였다.

전기영동은 gel당 3mA로 실시했고, gel의 염색은 Commassie brilliantblue(0.1%)로, 탈색은 glacial acetic acid를 사용하였다.

Gel Scanning은 Electrophoresis Scanner(Camang, Swiss)에서 K-50 filter를 사용하였다.

각 Band의 분자량 측정은 Standard Protein(Pharmacia Fine Chemicals-High Molecular weight kit)을 시료와 동일한 조건으로 전기영동한 결과 나타낸 Band와 Rf치에 대한 분자량의 표준곡선을 구한 다음 시료 Band의 Rf치와 비교하여 분자량을 측정하였다.

2) 無機物質의 含量

무기물질 함량은 습식분해법(Thompson)³⁶⁾으로 시료 용액을 제조하여 Ca, Mg, Zn, Fe, K 및 Na을 원자흡광분광광도계(Shimadzu AA646, Atomic absorption/flame Spectrophotometer)를 사용하여 Table 1과 같은 조건으로 측정하였다. 그리고 P정량은 Fiske-Subbarow³⁷⁾法으로 측정하였다.

Table 1. Conditions of atomic absorption spectrophotometer for mineral analysis.

Elements	Wave length (nm)	Lamp current (mA°)	Burner height (nm)	Slit (A°)	C ₂ H ₂ flow (1/min)	Air (1/mm)
Ca	422.7	8	10	3.8	2.6	10
Mg	285.2	5	5	3.8	2.6	10
Na	589.0	6	4	3.8	2.4	10
K	766.5	7	4	9.5	2.5	10
Zn	213.9	6	7	3.8	2.4	10
Fe	248.3	9	4	1.9	2.5	10

III. 結 果

독일바퀴의 變態期에 따른 蛋白質의 分布양상과 분자량을 SDS-Polyacrylamide gel electrophoresis를 이용하여 측정한 결과는 Fig. 1과 같다.

全 變態期를 통해 분리된 총 Band 수는 24개로, 2령자충, 4령자충, 6령자충에서는 각각 20개, 成虫은 21개의 Band가 나타났다. (Fig. 1. A, B, C, D.)

최고의 분자량을 나타낸 것은 분자량이 약 202,000으로 成虫期에 나타났으며, 최저의 분자량을 나타낸 것은 분자량이 약 17,000으로 모든 Stage에 걸쳐 나타났다.

成虫을 제외한 全 變態期에서 흡광도가 가장 높은 蛋白質은 분자량이 약 101,000에 이르는 것으로, 특히 6령자충(Fig. 3. C)의 것이 최고의 흡광도로 나타났다.

全 變態期 동안 나타난 蛋白質의 Band수 및 분포양상에는 큰 변화가 없었으며 특히 成虫期에서는 다른 變態期의 동일위치의 Band와 흡광도가 매우 많은 차이가 나타났다. 成虫期에서 특히 분자량이 약 85,000~65,000사이에 위치한 Band가 흡광도가 낮아지는 반면 분자량이 약 130,000 이상의 고분자 단백질의 흡광도가 높아졌으며, 특히 다른 시기에서는 흔적적이던 분자량 약 147,000 부위의 Band가 뚜렷하게 나타났다. (Fig. 1. D)

전반적으로 볼 때 仔虫期에는 각 蛋白質 Band 사이의 흡광도의 차이는 크지 않았으나 成虫의 경우는 특히하게 각 Band 사이의 흡광도 차이가 심하게 나타났다.

한편 無機物質 含量을 원자흡광분광광도계(Shimadzu AA646, Atomic absorption/flame Spectrophotometer)를 이용하여 측정한 結果는 Table 2, Fig. 2.3과 같다.

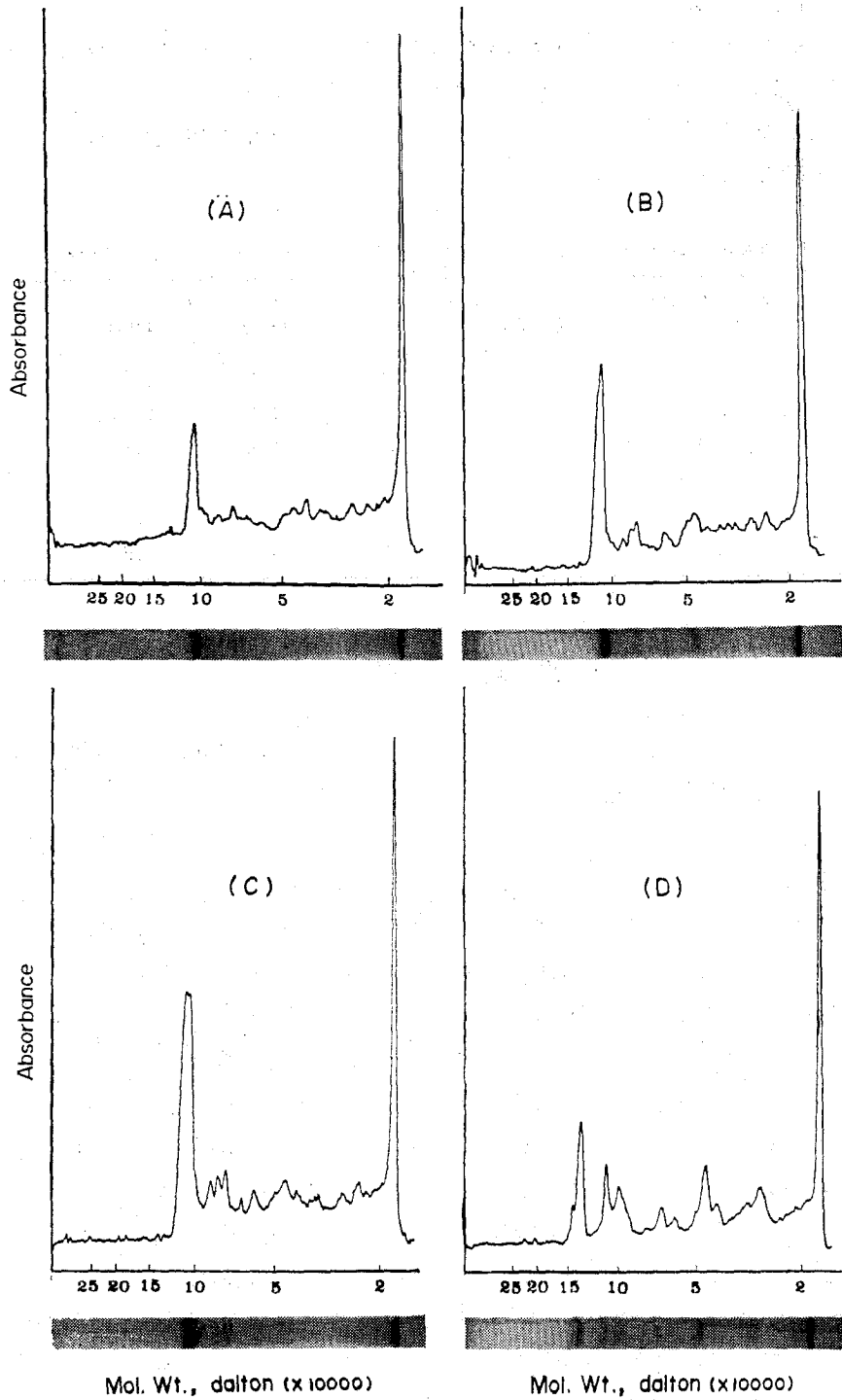


Fig. 1. Densitometric scans of electrophoretograms of protein bands of *B. germanica* L. during metamorphosis.
 A: Second nymph B: Fourth nymph C: Sixth nymph D: Adult

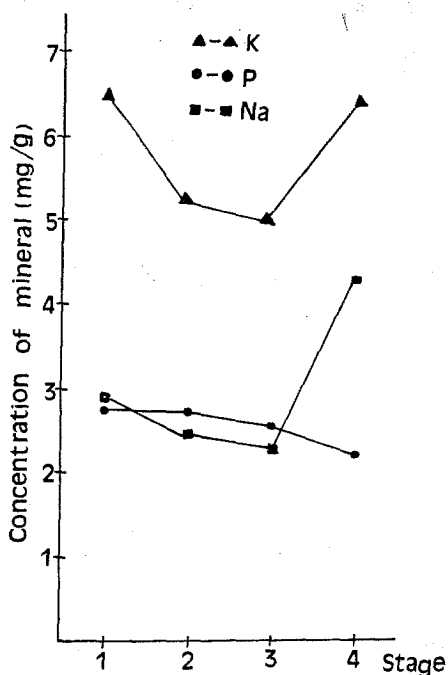


Fig. 2. Changes in K, P and Na content during metamorphosis of the german cockroach, *Blattella germanica* L.
Stage; 1: Second nymph 2: Fourth nymph 3: Sixth nymph 4: Adult

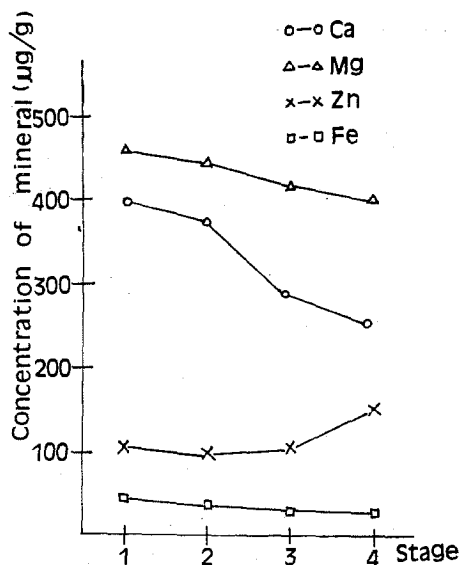


Fig. 3. Changes in Ca, Mg, Zn and Fe content during metamorphosis of the german cockroach, *Blattella germanica* L.
Stage; 1: Second nymph 2: fourth nymph 3: Sixth nymph 4: Adult

Table 2. Changes in mineral salts content during metamorphosis of the german cockroach, *Blattella germanica* L.

Stages	Calcium (µg/g)	Magnesium (µg/g)	Zinc (µg/g)	Iron (µg/g)	Phosphorus (mg/g)	Potassium (mg/g)	Sodium (mg/g)
Second nymph	394.5±35.1	495.2±41.2	105.5±9.7	42.12±3.51	2.763±0.24	6.481±0.58	2.781±0.23
Fourth nymph	372.6±33.2	443.3±40.0	96.9±9.5	35.70±3.21	2.752±0.26	5.321±0.49	2.465±0.24
Sixth nymph	297.4±30.1	416.8±39.1	101.0±9.8	25.17±2.62	2.548±0.23	5.146±0.53	2.301±0.21
Adult	269.3±28.3	396.2±37.1	144.4±12.3	22.58±2.38	2.257±2.00	6.649±0.54	3.105±0.28

측정된 Ca, Mg, Zn, Fe, P, K 및 Na 중에서 가장 함량이 높은 것은 K이고, 가장 낮은 것은 Fe로 나타났다. 그리고 全 變態期 동안 모든 무기물 농도가 높은 시기는 2령仔虫期며 가장 낮은 시기는 6령仔虫期였다.

Ca, Mg, Fe, P은 성장함에 따라 농도가 감소하여 성충기에 이르러 가장 낮은 농도를 나

타냈으며, Zn, K, Na은 성장함에 따라 감소하다. 成虫期에서 다시 증가하여 최고의 농도를 나타내어(Table 2, Fig. 2.3.) 변태단계에 따른 無機物質의 함량 變化는 대체적으로 U字型 生理曲線을 나타냈다.

IV. 考 察

昆蟲類의 혈림프의 化學的 組成은 變態過程, 營養狀態, 內部環境, 生理的狀態등에 따라 다르며, 이것은 또한 영양물질, 배설물, gas, hormone, 효소등의 운반 및 生體內 動的의 平衡과 恒常性을 유지하는데 중요한 役割을 한다.

독일바퀴의 變態에 따른 蛋白質의 SDS-Polyacrylamide gel electrophoretic의 패턴은 Fig. 1에서 보는 바와 같이 全 變態期동안 總 24개의 Band를 나타냈다.

Zambarlini와 Danieli²⁹⁾는 *Drosophila hydei*에서 20개의 Band를 Pentz와 Kling¹⁹⁾은 *Plodia interpunctella*에서 30개의 Band를 Yoo와 Lee³⁷⁾는 *Dendrolimus spectabilis*에서 發生段階 동안 22개의 Band를, Kim과 Seo⁴⁰⁾는 *Pieris rapae*의 변태기 동안 21개의 Band를 분리해 냈다. 本 研究에서 나타난 24개의 Band와는 數的 差異가 생기는데 이것은 昆蟲의 種的變異와 영양상태 등에 起因하는 것으로 생각된다.

그리고 Lee et. al.²⁸⁾은 *Dryocosmus Kuriphilus*에서 全 變態期 동안 분자량이 90,000~80,000과 50,000~40,000정도의 主 Band를 나타냈다고 하였으나 本 研究에서도 成虫을 제외한 전 변태기 동안 흡광도가 높은 분자량 약 101,000 정도의 단백질이 主 Band를 이루어 이것이 主 蛋白質인 것으로 사료된다. 또한 최고의 분자량은 약 202,000, 최하는 약 17,000으로 나타났다.

昆蟲의 蛋白質은 다른 生理物質과 더불어 변태기 동안 혹은 유사종 간에 특이한 분포 양상과 농도의 변화를 갖는 것으로 알려져 있다. 분자량이 약 85,000~65,000사이에 위치한 Band의 흡광도가 낮아짐과 동시에 분자량 약 130,000 이상인 Band의 흡광도가 높아지고 147,000 정도의 Band는 다른 시기에는 흔적 이던것이 특히 成虫期에 뚜렷이 나타난 점으로 보아 成虫發生에 관계되는 蛋白質로 전환 되는 것으로 사료된다. 이러한 고분자 단백질은 많은 저분자 단백질이 분해되어 성충발생시 이에 필요한 새로운 고분자 단백질로 합성되는 것으로 여겨진다.

血蛋白質 Band의 消長 관계에 對해 Chen과 Levenbook³⁹⁾는 *Phormia regina*에서 변태에 따른 蛋白質 Band의 新成과 패턴의 變化는 단백질합성에 관여하는 유전자의 作用과 밀접한 관계가 있다고 하였으며 血蛋白質은 成虫으로 羽化하면서 감소하는 현상을 보였다고 하였다.

또한 Nowosielski와 Patton¹⁵⁾은 *Acheta domesticus*에서 혈단백질 농도는 성충기에 서서히 감소한다고 하였다. Loughton과 West⁴⁰⁾는 Lepidoptera 발육기 동안에 단백질의 농도가 5령초기에 증가하여 蛹期에 고농도에 이르고 蛹 末期에 점차 감소하며, 또한 幼虫期에 보

이런 단백질은 成虫期에 사라진다고 報告하였다.

이러한 사실로 미루어 성충으로 成長함에 따라 단백질의 종류에 따라 소멸과 生成이 매우 다양함을 나타내 준다고 사료된다.

한편 昆虫의 무기물은 食性に 따라 다르게 分布하는 것으로 알려졌으며 Patton²⁵⁾은 필수 영양소로서 미량으로 존재하여 세포막투과에 필요한 ion 평형유지에 중요한 기능을 가지고 있다고 하였다.

昆虫의 무기물은 미량 성분으로 중요한 生理的 기능을 가진다.

Boyle과 Conway⁴¹⁾는 곤충의 근육에서 K, Cl, Na은 삼투압 평형을 유지한다고 하였다. Pichon과 Biostel⁴²⁾은 *P. americana*에서 Na^+ 163 ± 3.4 , K^+ 24 ± 1.8 , Ca^{++} 5.9 ± 2.9 mM/kg이었으며 Na^+/K^+ 比는 6.7이었다고 하였고 Gessner와 Gessner⁴³⁾는 *Apis mellifera*의 혈림프에서 K은 18 ± 4 , Na은 32 ± 3 , Ca은 10 ± 1 meq/l이며, 수정낭벽의 표피는 K^+ 을 능동적으로, Na^+ 을 수동적으로 內腔속으로 분비한다고 하였는데 本 研究에서도 Table 2와 Fig. 2에서 보는 바와 같이 Na과 K이 높은 농도로 나타나 유사한 결과라고 사료된다.

Washizuka⁴⁴⁾는 59種의 昆虫과 이들의 食物에서 無機磷의 함량은 종에 따라 食성에 따라 다소 차이를 나타내며 먹이보다는 곤충체내가 높은 P의 농도를 나타낸다고 하였다. 독일바퀴의 P의 함량은 成虫으로 成長함에 따라 감소함을 나타냈다. 이는 성장함에 따라 P가 代謝過程에서 인지질과 같은 대사물질과 結合하여 에너지 대사에 관여하기 때문인 것으로 생각된다.

Norris와 Cary⁴⁵⁾는 *P. americana*에서 Na^+ , K^+ -ATPase는 Ca^{++} 에 의해 저해되나 Mg^{++} ATPase는 크게 영향을 받지 않는다고 하였는데 K과 Na의 變態에 따른 함량의 변화가 Ca ion의 변화양상과 같은 것으로 보아 이들 相互間에 일정한 拮抗作用에 있는 것으로 생각된다.

Volmer⁴⁶⁾도 *Blaberus fuscus*에서 Ca^{++} 흡수는 pH, 온도, ATP, Mg^{++} 등에 의해 좌우되며 Na^+ 이 Ca^{++} 의 흡수를 저해한다고 하였는데 본 연구 결과와 같다.

또한 Patton²⁵⁾은 植食性 昆虫에서는 Mg의 농도가 높다고 하였는데 本 研究에서는 잡식성 곤충인 관제로 그 결과의 차이를 보였고 Zn도 미량이 효소의 활성화반응에 作用하는 것으로 알려졌으나 독일바퀴에서는 成虫期에 높은 농도를 나타내 成虫의 生殖활동의 준비를 위한 증가현상으로 생각된다.

V. 結 論

독일바퀴(*B. germanica* L.)의 變態에 따른 蛋白質의 Electrophoretic pattern과 無機物質의 變化를 SDS-Polyacrylamide gel electrophoresis와 원자흡광분광포도계(Shimadzu AA 646, Atomic absorption/flame Spectrophotometer)를 사용하여 측정한 결과는 다음과 같다.

1. 全 變態期 동안 SDS-Polyacrylamide gel electrophoresis로 분리한 蛋白質의 總 Band

수는 24개 었다.

2. 全變態期 동안 나타낸 단백질의 최고 분자량은 成虫期에서의 약 202,000이고 최저의 분자량은 약 17,000으로 全 Stage에 나타났다.

3. 成虫期에서 분자량이 낮은 Band는 소멸되고, 분자량이 높은 Band의 흡광도가 높아졌다.

4. 無機物質은 Ca, Mg, Zn, Fe, P, K 및 Na로 가장 含量이 높은것은 K이고 가장 낮은 것은 Fe였다.

5. Ca, Mg, Fe, P은 成長함에 따라 농도가 감소하고 반면 Zn, K, Na은 성장도중 감소하다 成虫期에 다시 증가하여 최고의 농도를 나타냈다.

參 考 文 獻

1. 申裕恒의 2人, 바퀴에 관한 연구, 과학기술처, 1973.
2. 吳世源, 趙德炫, 光州保健專門大學 論文集, 第七輯, 1982.
3. 吳世源, 趙德炫, 光州保健專門大學 論文集, 第八輯, 1983.
4. 吳世源, 趙德炫, 光州保健專門大學 論文集, 第九輯, 1984.
5. 吳世源, 趙德炫, 光州保健專門大學 論文集, 第九輯, 1984.
6. 柳在赫, 한국 곤충학회지, 第12卷 第1號, 1982.
7. 李漢一 외 3人, 국립보건 연구원보, 제10권, 1973.
8. 李漢一 외 3人, 국립보건 연구원보, 제11권, 1974.
9. 李漢一 외 3人, 국립보건 연구원보, 제12권, 1975.
10. 李漢一 외 3人, 국립보건 연구원보, 제13권, 1976.
11. 沈載澈 외 2人, 국립보건 연구원보, 제16권, 1979.
12. 沈載澈, 李漢一, 국립보건 연구원보, 제17권, 1980.
13. Laufer, H., Ann. N.Y. Acad. Sci., 89, 490~515, 1960.
14. Stephen, W.P., Proc. 10th Int. Congr. Ent., 1, 395~400, 1958.
15. Nowosielski, J.W. and R.L. Patton, J. Insect Physiol., 11, 263~270, 1965.
16. Terando, L. and D. Fein, comp. Biochem. Physiol., 18, 163~1966.
17. Wang, C.M. and R.L. Patton, J. Insect Physiol., 14, 1069~1075, 1968.
18. Srivastava, R.P., J. Insect Physiol., 15, 2345~2351, 1970.
19. Pentz, S. and H. Kling., J. Insect Physiol., 18, 2277~2283, 1972.
20. Kim, H.R. and E.W. Seo., Kor. J. Ent., 18, 33~41, 1981.
21. Shaw, J. and R.H. Stobbart, J. Insect Physiol., 1, 315~339, 1963.
22. Harvey, W.R. and S. Nedergarrd0 Proc. Nation, Acad. Sci., U.S.A., 757~765, 1964.
23. Jungreis, A.M., P. Jatlow and G.R. Wyatt, J. Insect Physiol., 19, 225~233, 1973.
24. Marshall, A.T. and W.W.K. Cheung, J. Insect Physiol., 19, 963~972, 1973.
25. Patton, R.L., Introductory Insect Physiology, W.B. Saunders Co. England, pp.13~25.
26. Gilbert, L.T. and H.A. Schneiderman, Amer. Zool., 1, 11~15, 1961.
27. Duke, E.J. and E.M. Pantelouris, Comp. Biochem. Physiol., 10, 351~355, 1963.
28. Lee, K.R., J.J. Lee and B.S. Shin, Kor. J. Ento, 15:2, 77~85, 1985.
29. Zamburlini, P. and G.A. Danieli, DIS. 45, 85~86, 1970.

30. Yoo, C.M. and K.R. Lee, *Kor. J. Zool.*, **16**, 185~192, 1973.
31. Koh, J.B., *Kor. J. Ento.*, **7(1)**; 33~37, 1977.
32. Gee, J.B., *J. Insect Physiol.*, **23**, 137~143, 1977.
33. Ramsay, J.A., *The comparative Physiology of renal function in Invertebrates, The cell and the organism.* Cambridge University, Press, London, 158~174, 1961.
34. Phillips, J.E., *J. Exp. Biol.*, **41**, 15~80, 1964.
35. O'Farrell, P.H., *J. Biol. Chem.*, **250**, 4007~4021, 1975.
36. Thompson, R.H. and W.J., *Blanchflower, Lab. Pras.*, **20**, 895~861, 1971.
37. Fiske, C.H. and Y. Subbarow, *J. Biol. Chem.*, **66**, 375, 1925. Cited by Hawk, P.B. and W.H. Summerson: *Practical Physiological Chemistry*, 13th. ed., 631, McGraw Hill Book Co., London, 1954.
38. Yoo, C.M. and K.R. Lee. *Kor. J. Zool.* **16**, 139~145, 1973b.
39. Chen, P.S. and L. Leven book, *J. Insect Physiol.*, **12**, 1595~1609, 1966.
40. Loughton, B.G. and A.S. West., *J. Insect Physiol.*, **11**, 919~932, 1965.
41. Boyle, P.J. and E.J. Conway, *J. Physiol.*, **100**, 1~63, 1941.
42. Pichon, Y. and Biostel, *J. Insect Physiol.*, **9**, 887~891, 1963.
43. Gessner, B. and K. Gessner, *J. Insect Physiol.*, **22**, 1469~1474, 1976.
44. Washizuka, Y., *Appl. Ent. Zool* **24**, 205~210, 1980.
45. Norris, D.M. and L.R. Cary, *Insect Biochem.*, **6**, 743~750, 1981.
46. Volmer, H., *Insect Biochem.*, **2**, 233~238, 1981.

Studies on the Protein Electrophoretic Patterns and Minerals during Metamorphosis of the German Cockroach, *Blattella germanica* L.

Se-Won Oh, Dong-Pil Kim*

Department of Dental Hygiene

*Department of Food and Nutrition**,

Kwang ju Health Junior College

>Abstract<

The protein electrophoretic patterns, molecular weight of protein and the concentrations of mineral salts during metamorphosis of the german cockroach, *Blattella germanica* L. were measured by using SDS-polyacrylamide gel electrophoresis and Atomic absorption spectrophotometric methods, respectively.

Healthy specimens were chosen as samples of each developmental stages; the second nymph, the fourth nymph, the sixth nymph and adult.

Protein patterns were shown to form 24 bands according to their mobilities on electrophoresis but qualitative differences manifested in their patterns among all stages.

At all developmental stages, the highest molecular weight was about 202,000 and the lowest one was about 17,000.

A low molecular weight band was diminished, whereas an optical density of the high molecular weight band was in high concentration at adult stage.

Mineral salts such as calcium, magnesium, zinc, iron, phosphorus, potassium and sodium were analyzed at all stages of metamorphosis.

Changes in zinc, potassium and sodium concentrations through the courses of the physiological cycle showed generally a U-shaped curve during metamorphosis.