

ニカメイガ越冬幼虫の炭水化物含量と 酸素吸収量について

積木久明・兼久勝夫

ニカメイガは年2回発生するが、中国背梁山脈地帯、青森県、北海道では年1回発生地帯として知られている(深谷 1946, 1947)。この発生回数の違いが単なる温度変化によるものか、あるいは休眠機構に何らかの違いが関与しているか不明である。ニカメイガの発育に及ぼす温度の影響についてはこれまで多くの研究者によって研究されてきた(春川 1931, 深谷 1946, 1949, 1950, 岸野 1969)。一方休眠生理はホルモン系を中心に進展しているが、物質代謝に関しては未解決の点が多い。

昆虫の休眠中にみられる生理的な変化の特徴の1つとして呼吸代謝が低下し(Schneiderman and Williams 1953)、炭水化物含量が増加することが知られている(山下, 長谷川 1964)。

そこで1化性として知られている蒜山原産と2化性である倉敷産のニカメイガ越冬幼虫を用いて、炭水化物含量と酸素吸収量の変化を季節を追って調べた。

本実験遂行に協力された当研究室の白神孝氏に感謝の意を表する。

材料及び方法

1. 供試虫

倉敷産ニカメイガ越冬幼虫: 当研究所圃場の積みワラ(品種: 雄町)内より必要に応じて採集して用いた。

蒜山原産ニカメイガ越冬幼虫: 10月上旬岡山県真庭郡中和村の水田より稲刈り株中に越冬中のものを刈り株ごと掘り取り、当研究所の無加温のプレハブ幼虫室内に放置し、必要に応じて刈り株から取り出し用いた。

2. 糖の抽出と定量

全虫体は秤量後そのまま5mlの80%エタノールで磨砕した。各組織は前報(1972)に従って採血した後、リンゲル液中で解剖し、脂肪体、消化管、残り組織(筋肉、表皮等)にわけた。秤量後消化管は3ml、脂肪体、残り組織は5mlの80%エタノールで磨砕し、前報に従ってそれぞれ抽出、稀釈した。定量はアントロン硫酸法にて比色定量した。

3. グリセロールの抽出

血リンパ50 μ lあたり0.5mlの80%エタノールを加え80 $^{\circ}$ Cで5分間加熱し、流水で冷却後3000 r.p.m.で10分間遠心分離した。その上清20~50 μ lを前報に従ってペーパ

ークロマトグラフィーで展開した。なお、同定のためにあらかじめ両端にグリセロールとソルビトールを塗布し、血リンパの抽出試料と同時に展開した。室温で風乾後、両端を切り取り硝酸銀試薬で発色させ、グリセロールとソルビトールの位置を確認し、各々にあたる部分をペーパーより切り取り、5 ml の 80 % エタノールで抽出し、グリセロール定量試料とした。

4. グリセロールの定量

グリセロールの定量は Fletcher (1968) の方法を改良しておこなった。上記 80 % エタノール抽出液 1 ml に下記のように作成したメタ過ヨウ素酸ナトリウム液 1 ml を加え、よく攪拌して室温に 10 分間放置後、アセチルアセトン液 2 ml を加え、37°C で 40 分間加温したあと流水で冷却し、415 nm の波長で吸光度を測定した。グリセロール量はあらかじめ作成しておいた標準直線より逆算して求めた。

5. 試 薬

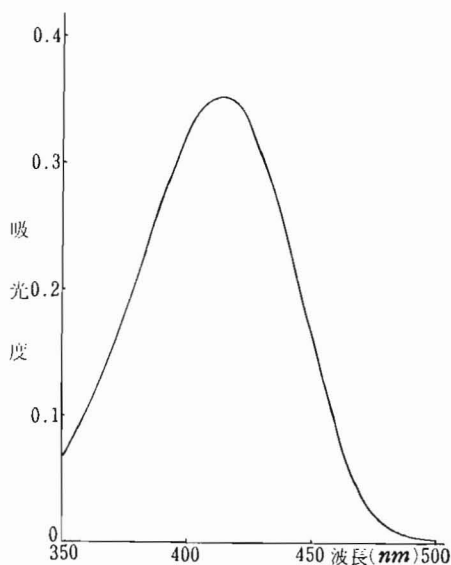
メタ過ヨウ素酸ナトリウム溶液: 0.025 M になるようにメタ過ヨウ素酸ナトリウムを 1N 酢酸に溶かし、この溶液 12 ml を 0.1 N 酢酸でさらに 100 ml に希釈した。

アセチルアセトン溶液: アセチルアセトン 0.75 ml を 2M 酢酸アンモニウム溶液で 100 ml に希釈した。

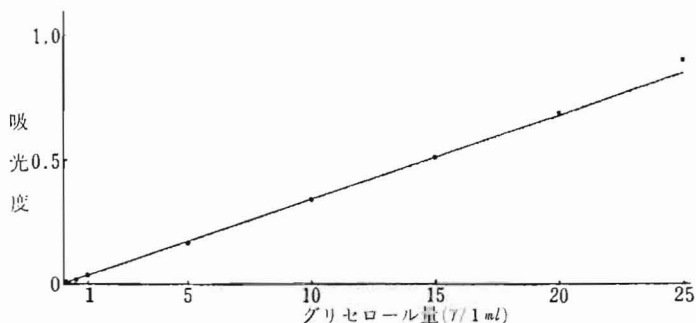
結 果

1. グリセロールの定量

アセチルアセトン発色法によるグリセロールの最大吸収波長は 415 nm の附近にあり、吸光度は 25 μ l/ml あたりまで直線関係にあった (第 1 図, 第 2 図)。



第 1 図 アセチルアセトン法発色によるグリセロールの吸光度曲線



第 2 図 グリセロール定量用標準曲線

2. 酸素吸収量

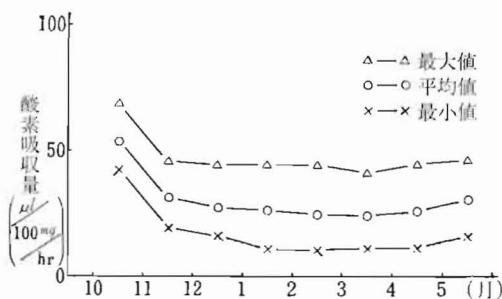
第3図、第4図は越冬幼虫を1晩25±1℃の恒温室に放置後、ワールブルグ検圧計にて7~10時間酸素吸収量を測定し、1時間当りの平均値ならびに各1時間当り測定中に記録された最大酸素吸収量と最小酸素吸収量を示したものである。倉敷産、蒜山原産とも休眠に入るにつれて酸素吸収量は低下するが、12月から5月まではほぼ一定の値を示した。7~10時間連続測定中に記録された最大酸素吸収量と、最小吸収量に大きな差がみられたことから、休眠幼虫は連続的に一定の酸素吸収をするのではないことがわかった。

3. 全虫体中の炭水化物量

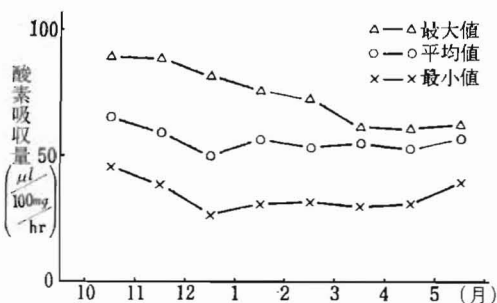
第5図は単位生体重当りの全糖量ならびにグリコーゲン量を示したものである。全糖量はグルコース量で換算した。蒜山原産、倉敷産とも同一の傾向を示し、全糖量は越冬中ほぼ一定を示したのに対し、グリコーゲンは12月上旬から急激に増加し、1月下旬に急激な低下がおこった。その後5月まで再び増加がみられた。

4. 各組織中の炭水化物量

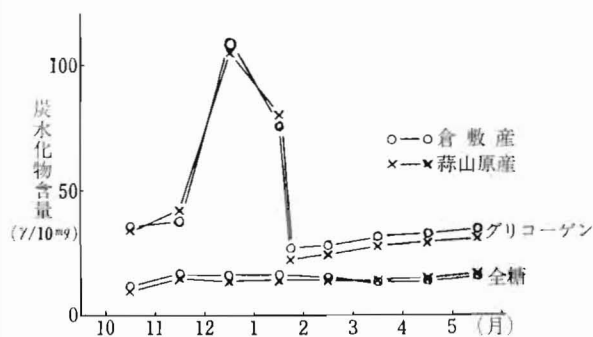
各組織中の単位生体重当りの全糖量とグリコーゲン量を第6~8図に示した。各組織においても全虫体におけると同様全糖量はほぼ一定の値を示すのに対し、グリコーゲン量は非常に大きな季節的な変動がみられた。特に、脂肪体中のグリコーゲン量の変動が大きく12月上、中旬に最大値を示し、1月中、下旬に激減した。その後5月まで再び増加がみられ、全虫体中のグリコーゲン量の変動とよく似ていた。一方消化管と残り組織においては休眠に入るにつれてグリコーゲン量に減少がみられ、休眠がさめるにつれて少し増加の傾向にあった(第7図、第8図)。全糖量のうちトレハロースの占める割合は各組織で異っていた。脂肪体では全糖量のほとんどすべてがトレハロース量であり、消化管



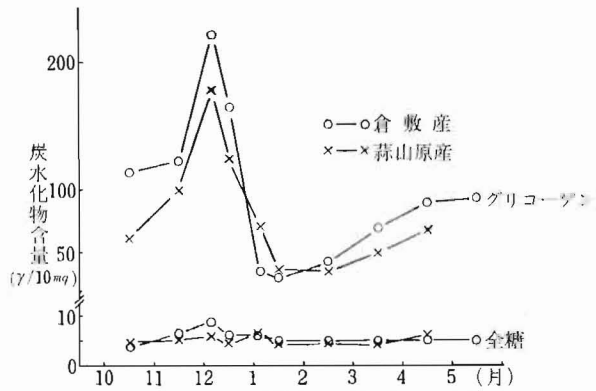
第3図 倉敷産ニカメイガ越冬幼虫の酸素吸収量の変化



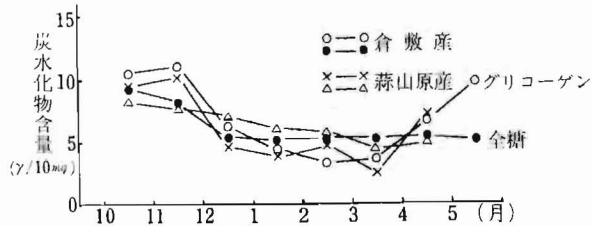
第4図 蒜山原産ニカメイガ越冬幼虫の酸素吸収量の変化



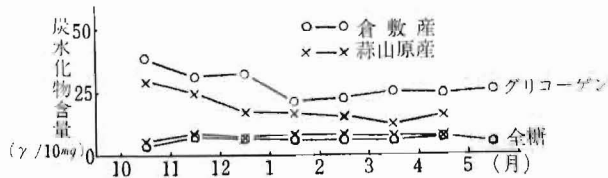
第5図 ニカメイガ越冬幼虫全虫体中の炭水化物含量の変化



第6図 ニカメイガ越冬幼虫の脂肪体中の炭水化物含量の変化



第7図 ニカメイガ越冬幼虫の消化管中の炭水化物含量の変化

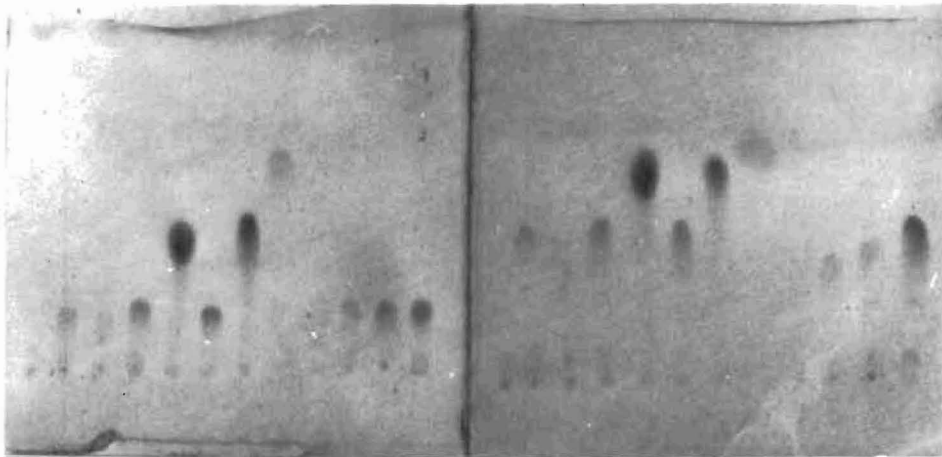


第8図 ニカメイガ越冬幼虫残り組織中の炭水化物含量の変化

と残り組織では50~80%がトレハロース量であった。倉敷産と蒜山原産で各組織中の炭水化物含量の季節的な変化に差はみられなかった。休眠幼虫と非休眠幼虫の各組織中の糖組成に差はみられず、トレハロースが大部分を占めていた(第9図1, 2)。

5. 血 糖 量

血リンパ中の糖はトレハロースが主でグルコースやグリコーゲンはほとんど検出できなかった(第10図—1)ので、第11図の血リンパ中の糖はトレハロース量で示した。血糖量は休眠に入るにつれて増加し、休眠がさめるにつれて減少した。蒜山原産の方が倉敷産に比べ休眠初期に血糖量は高いが2月になるとほぼ同じになった。



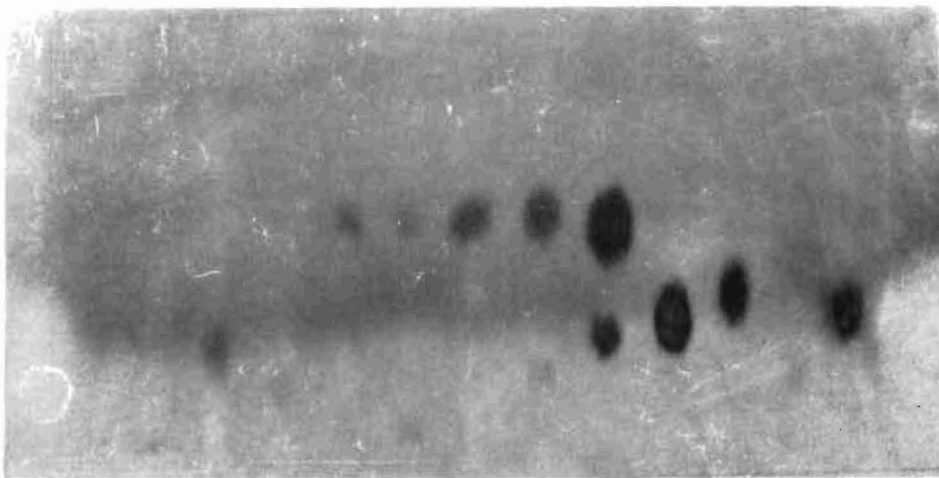
消化管 脂肪体 残り 血リンパ
 非休眠幼虫 (25°C, 16hr 照明)

消化管 脂肪体 残り 血リンパ
 休眠幼虫

$\text{CHCl}_3 : \text{MeOH} = 6 : 4$

$\text{BuOH} : \text{Acetone} : \text{水} = 4 : 5 : 1$

第9図-1 薄層クロマトグラフィー (0.2%アントロン硫酸試薬散布による発色)



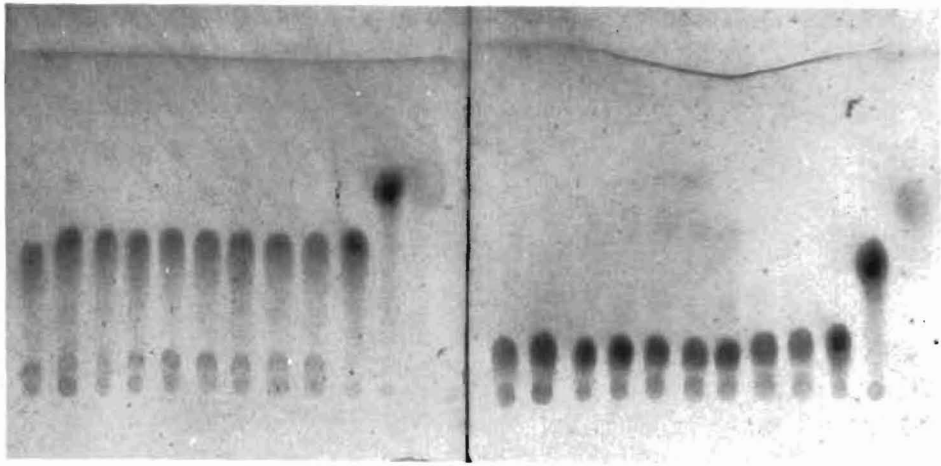
消化管 脂肪体 残り 血リンパ 消化管 脂肪体 残り 血リンパ
 非休眠幼虫 (25°C, 16hr 照明) 休眠幼虫

グリセロール ソルビトール
 グルコース フラクトース
 トレハロース マニトール

$\text{BuOH} : \text{Pyridine} : \text{水} = 6 : 4 : 3$

第9図-2 ペーパークロマトグラフィー (硝酸銀試薬散布による発色)

第9図 ニカメイガ休眠幼虫と非休眠幼虫の各組織中の糖組成

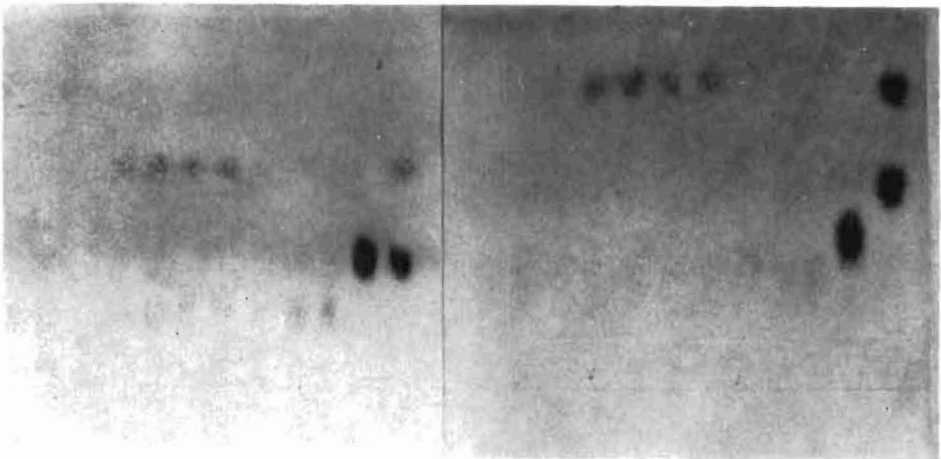


IX X XI XII I II III IV V
採 幼 月
ト
レ
ハ
ロ
ー
ス
グ
ル
コ
ー
ス
フ
ル
クト
ー
ス
ソ
ル
ビ
ト
ー
ル

BuOH : Acetone : 水 = 4 : 5 : 1

CHCl₃ : MeOH = 6 : 4

第10図-1 薄層クロマトグラフィー (0.2%アントロン硫酸試薬散布による発色)



IX X XI XII I II III IV V
採 幼 月
ト
レ
ハ
ロ
ー
ス
ク
ル
コ
ー
ス
フ
ル
クト
ー
ス
ソ
ル
ビ
ト
ー
ル

BuOH : Pyridine : 水 = 6 : 4 : 3

Phenol : 水 = 5 : 1

第10図-2 ペーパークロマトグラフィー (硝酸銀試薬散布による発色)

第10図 ニカメイガ越冬幼虫の血リンパ中の糖組成の季節的变化

6. グリセロール含量

グリセロールは休眠中非常に増加し、特に血リンパにおいてその増加が大きかった(第12図)。ソルビトールは検出できなかった(第10図-2)。倉敷産、蒜山原産とも12月から2月下旬ごろまで大量にみられ、その後急速に減少した。蒜山原産で1月下旬に少し減少がみられたが、採血量が少なかったことによる誤差と考えられる。第1表は血リンパ中で

第1表 各組織中のグリセロール含量(倉敷産)
($\gamma/10\text{mg}$ 生体重)

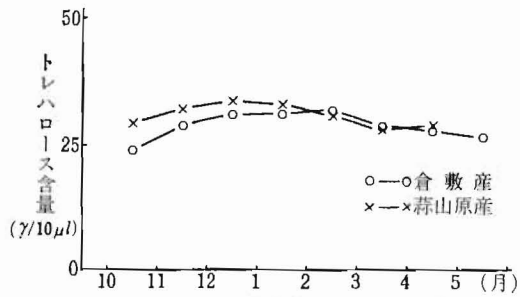
組織	採幼月	1月28日	3月12日
	脂肪体		34.6
消化管		177.2	52.4
残り組織		50.2	49.5

グリセロール含量が最大を示した1月下旬とグリセロールが急減した3月中旬の倉敷産幼虫の各組織中のグリセロール含量を示したものである。第1表と第12図よりグリセロール量は単位生体重当り血リンパ中に最も多く含まれていた。次いで

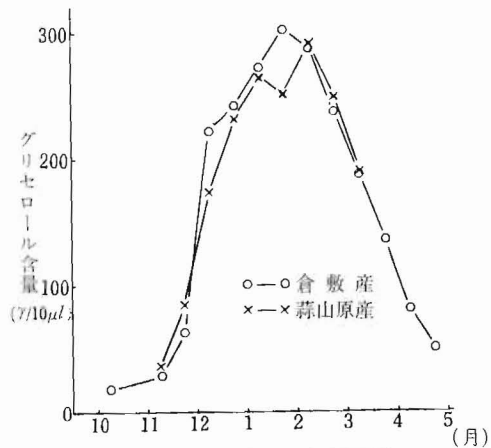
消化管に多くみられた。各組織中のグリセロール量を1月と3月で比較すると、3月では消化管と脂肪体中のグリセロール含量の減少が大きく、残り組織ではほぼ一定値を示した。

考 察

酸素吸収量は倉敷産、蒜山原産とも10月から11月にかけて減少し、12月から5月まではほぼ一定値を示した。深谷(1949)も倉敷産のニカメイガで季節的な酸素吸収量の変化をみて、12月から1月にかけて酸素吸収量が非常に低下し、その後5月までほぼ一定値を示したことを報告しており、本実験結果とほぼ一致している。福田(1937)、石倉(1939)は休眠中のニカメイガ幼虫で酸素吸収量は体重の大小によって非常な違いがあることをみて、小さいものほど単位生体重当りの酸素吸収量は多くなることを指摘している。本実験でも蒜山原産の方が倉敷産に比べ平均で約2倍近い活性を保っていた。これは倉敷産の方が蒜山原産に比べ約1.5倍から2倍近く体重が重いためと考えられる。Schneiderman and Williams (1953)はセクロピア蚕の休眠蛹で酸素消費はほとんど連続的であるのに対し、炭酸ガスは8時間ごとに間欠的に放出されることをみた。Hayes等(1972)は



第11図 ニカメイガ越冬幼虫の血リンパ中のトレハロース含量の変化



第12図 ニカメイガ越冬幼虫の血リンパ中のグリセロール含量の変化

codling moth で酸素吸収に周期があり、この周期は温度によって変ることを報告した。ニカメイガ休眠幼虫では 8~10 時間測定のために記録された各 1 時間当りの酸素吸収量に大きな差がみられ、この差はさらに長時間測定することにより大きくなるものと考えられ、酸素吸収に周期があるものと推定される。

全虫体、各組織における全糖量は倉敷産、蒜山原産とも越冬中ほぼ一定量を保持していた。血糖量は休眠に入るにつれて若干増加した。非休眠幼虫の全糖の大部分がトレハロースであり、グルコースはわずかしみられなかった（前報）が、休眠幼虫においても大部分がトレハロースで、グルコースはわずかしみられなかったことから休眠に入っても糖組成そのものは変らなかった。全虫体と脂肪体でグリコーゲン量が 12 月に非常に増加がみられたが、消化管、残り組織では減少の傾向にあったことから、全虫体でのグリコーゲン量の増加は脂肪体中のグリコーゲンの増加に由来するものと考えられる。深谷（1948）は倉敷産ニカメイガで冬期における加温が羽化期に及ぼす影響をみて、2 月以降における羽化期の促進的効果は休眠の覚醒と関係するのではないかと報告している。著者等も倉敷産、蒜山原産の越冬幼虫を 10 月から翌年 5 月まで、各月ごとに $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 、16 時間照明下で稲芽出し苗に入れて化蛹を観察したところ、11 月中旬までと 1 月下旬以降のものでは化蛹がみられたが、12 月から 1 月上旬までのものでは化蛹がみられなかった。このことから、倉敷産、蒜山原産とも 1 月中下旬に休眠が打破されるものと考えられる。この休眠打破と脂肪体中のグリコーゲンの増減とよく一致していることは興味がある。また、このグリコーゲンの増大に何が関与しているかも問題である。Zaluska（1959）は蚕でキチンが炭水化物の貯蔵の役割をはたしていることを報告している。深谷（1946）はニカメイガの越冬幼虫で休眠に入るにつれて脂肪の含量が増加することをみている。ニカメイガ幼虫は越冬中でも摂食活動がみられることから、このグリコーゲンの増加に餌の炭水化物が一部関与していることも考えられる。

多くの昆虫で冬期休眠に入るとグリセロールが非常にふえ、休眠が破れると急激な減少がみられることが知られている（Salt 1959, Wyatt and Meyer 1959, Sømme 1964, 1965）。ニカメイガ幼虫においても 25°C で飼育したものではグリセロールは全くみられなかった（前報）が、低温休眠に入ると非常に大量のグリセロールがみられるようになった。Chino（1957）は蚕の休眠卵でグリコーゲンがグリセロールとソルビトールに転換し、休眠が破られるとグリコーゲンに再合成されることをみた。ニカメイガではソルビトールは検出できなかった。Wyatt and Meyer（1959）も冬期のグリセロール源は炭水化物であると考察している。ニカメイガ幼虫においても血リンパ中のグリセロールの増加と脂肪体の一部、消化管、残り組織でのグリコーゲンの減少と一致していることから、グリセロール源としてグリコーゲンが関与しているものと考えられる。また、脂肪体において 2 月以後のグリコーゲンの増大と、血リンパ中のグリセロール含量の減少とが一致していることから、休眠が破れた後グリセロールからグリコーゲンに再合成されるものと考えられる。Murphy and Wyatt（1965）、Wyatt（1967）はセクロピア蚕でトレハロースとグリコーゲンの相互転換は脂肪体で行なわれることを報じている。堀江（1961）はソルビトールを餌と共に与えると腸より吸収されて脂肪体のグリコーゲン量が増加することを報じている。ニカメイガで各組織において、休眠が破れたあと脂肪体と消化管でグリセロール

の減少が速く、残り組織ではおくれた。このことは脂肪体と消化管の両組織でこの再合成がおこなわれるとも考えられる。

以上のことから、越冬中のニカメイガにおいては、休眠中でも生理的には著しい変化が起きていることがわかった。またこの変化は酸素吸収量と炭水化物含量の変化を見るかぎり、1化性と2化性に差がみられなかった。しかし、これらの変化は外的環境に非常に影響されやすいことから、1化性のものを2化性の環境に移すことにより差がみられなくなったとも考えられ、1化性と2化性の違いについては今後の問題である。

摘 要

1化性（蒜山原産）と2化性（倉敷産）のニカメイガ幼虫の越冬休眠生理の違いを知る目的で、炭水化物量と酸素吸収量について季節を追って調べた。

酸素吸収量は倉敷産、蒜山原産とも休眠に入るにつれて減少し、休眠が破れても酸素吸収量の増加はみられなかった。また休眠幼虫では連続的な酸素吸収はみられなかった。

全虫体中の全糖量は倉敷産も蒜山原産も越冬中はほぼ一定であったが、グリコーゲン量は12月に非常に増加し、1月の下旬に急激な減少がみられた。

脂肪体、消化管、残り組織において、越冬中全糖量はほぼ一定であったが、グリコーゲン量は大きな変動がみられ、特に脂肪体では全虫体と同様12月に非常に増加がおり、1月中下旬に急激な減少がおこった。そしてその後5月まで再び増加した。

血糖量は休眠に入るにつれてやや増加したが、休眠がさめるにつれてもとの量まで減少した。

グリセロール量は倉敷産、蒜山原産とも休眠に入るにつれて非常に増加したが、休眠が破れると急激に減少した。各組織別に含まれる単位生体重当りのグリセロール量は血リンパが最も高く、次いで消化管であった。

越冬時における酸素吸収量と炭水化物含量の変化に、1化性と2化性で違いはみられなかった。

引 用 文 献

- Chino, H. 1957. Conversion of glycogen to sorbitol and glycerol in the diapause egg of the *Bombyx* silkworm. *Nature* 180: 606—607.
- Chino, H. 1957. Carbohydrate metabolism in the diapause egg silkworm, *Bombyx mori*. Conversion of glycogen into sorbitol and glycerol during diapause. *J. Insect Physiol.* 2: 1—12.
- Fletcher, M. J. 1968. A colorimetric method for estimating serum triglycerides. *Clin. Chim. Acta* 22: 393—397.
- 深谷昌次. 1946. 二化螟虫の越冬生理に関する二、三の問題. *松虫* 1: 51—60.
- 深谷昌次. 1947. 二化螟虫の発生予察に関する基礎的研究. 第4報. 二化螟虫の地方的系統に就いて(1). *農学研究* 37: 121—123.
- 深谷昌次. 1948. 二化螟虫の発生予察に関する基礎的研究. 第6報. 変温が越冬期幼虫の発育に及ぼす影響. *農学研究* 38: 34—37.
- 深谷昌次. 1950. 二化螟虫の発生予察に関する基礎的研究. 第11報. 二化螟虫の生育機構と発生

- 予察の理論. 農学研究 39: 41—51.
- 深谷昌次・金子 武. 1949. 二化螟虫の発生予察に関する研究. 第9報. 二化螟虫の越冬生理(1) 農学研究 38: 104—108.
- 深谷昌次・金子 武. 1951. 二化螟虫の発生予察に関する研究. 第12報. 二化螟虫の越冬生理(2) 農学研究 39: 131—133.
- 福田仁郎. 1937. 二化螟虫の酸素吸入量. 応動雑 9: 37—46.
- 春川忠吉・高戸龍一・熊代三郎. 1931. 二化螟虫の生態学的研究. 第2報. 恒温の二化螟虫の發育生長に及ぼす影響(1) 農学研究 17: 165—183.
- Hayes, D. K., J. Horton, M. S. Schechter and F. Halberg 1972. Rhythm of oxygen uptake in diapause larvae of the codling moth at several temperatures. Ann. Ent. Soci. Am. 65: 93—96.
- 堀江保宏. 1961. 家蚕消化管の生理学的研究. III. 炭水化物の吸収及び利用について. 蚕試報 16: 287—309.
- 石倉秀次. 1939. 低温に於けるクロールピクリン燻蒸が二化螟虫幼虫の呼吸に及ぼす影響. 応動雑11: 189—195.
- 岸野賢一. 1969. ニカメイチュウの休眠誘起に及ぼす日長及び温度の影響(1). 応動昆 13: 52—60.
- Murphy, T. A. and G. R. Wyatt 1965. The enzymes of glycogen and trehalose synthesis in silk moth fat body. J. Biol. Chem. 240: 1500—1508.
- Salt, R. W. 1959. Role of glycerol in the cold-hardening of *Bracon cephi* (Gahan). Can. J. Zool. 37: 59—69.
- Schneiderman, H. A. and C. M. Williams 1953. The physiology of insect diapause. VII. The respiratory metabolism of the cecropia silkworm during diapause and development. Biol. Bull. 105: 320—334.
- Sømme, L. 1964. Effects of glycerol on cold-hardiness in insects. Can. J. Zool. 42: 87—101.
- Sømme, L. 1965. Further observations on glycerol and cold-hardiness in insects. Can. J. Zool. 43: 765—770.
- 積木久明・兼久勝夫・白神 孝. 1972. 短日と長日条件飼育におけるニカメイガ *chilo suppressalis* Walker 幼虫時の糖量. 農学研究 54: 61—70.
- Wyatt, G. R. 1967. The chemistry of sugars and polysaccharides in insects. Advances in Insect Physiol. 4: 287—360. Acd. Press London.
- Wyatt, G. R. and W. L. Meyer 1959. The chemistry of insect hemolymph. III. Glycerol. J. Gen. Physiol. 42: 1005—1011.
- 山下興亜・長谷川金作. 1964. 家蚕の休眠ホルモンの作用機構に関する研究(IV). 休眠ホルモンの卵巣のグリコーゲン量及び血糖量に及ぼす作用. 日蚕雑 33: 407—416.
- Zaluska, H. 1959. Glycogen and chitin metabolism during development of the silkworm (*Bombyx mori* L.). Acta Biol. Exp. 19: 339—351.