

ニジュウヤホシテントウムシの前休眠期における 脂肪体の発達と日長感受性

河野 義 明

武田薬品工業株式会社農薬研究所

Fat Body Development and Photoperiodic Sensitivity through the Prediapause Period in the *Henosepilachna* Beetle. Yoshiaki KONO (Pesticide Research Laboratories, Takeda Chemical Industries Ltd., Ichijoji, Sakyo-ku, Kyoto 606). *Jap. J. appl. Ent. Zool.* **24**: 98—104 (1980)

The body weight of the *Henosepilachna* adult increased markedly when reared on food plant foliage under short-day. It reached 140% on the 3rd day of adult life (100% at the emergence) and exceeded 150% on the 6th day. Fat body also developed after the 6th day, and filled the body cavity until the 16th day, when the beetles ceased feeding and entered diapause. Dry weight and lipid content of the adult increased markedly between the 3rd and the 6th day, and thereafter the increase became gradual. In this insect, the change of photoperiodic condition from a short-day to a long-day after the 5th day of adult life did not stimulate the ovarian development. When the adults were fed on sliced potato, the development of the fat body was delayed and the sensitivity to the photoperiodic change was maintained for a longer period of time. Under such conditions, therefore, the diapause was broken by the above-mentioned photoperiodic change even after the 5th day of adult life. It is concluded from these results that the photoperiodic sensitivity depends on the development of the fat body.

緒 言

一般に甲虫の成虫休眠は脳間部からの神経分泌性アラタ体刺激ホルモンの放出が抑えられ、アラタ体が不活性化するために引き起こされると考えられる (DE WILDE and DE BOER, 1969)。このホルモン系の不活性化に伴って生殖器官の退行や脂肪体の発達といった顕著な生理現象が観察されるが、これらは成虫が未だ摂食を続けている、いわゆる前休眠期 (prediapause period) から進行しており、単に休眠に伴う現象ではなく、さらに神経分泌系全般を不活性化して休眠状態に、はいるための原因であるとも考えられる。ニジュウヤホシテントウムシ *Henosepilachna vigintioctopunctata* では脳間部神経分泌細胞内の分泌物の量が前休眠期から休眠開始時にかけて段階的に変化し、分泌活性も同様に段階的に不活性化されると推測され、上述の可能性が支持される。

ニジュウヤホシテントウムシ成虫を短日日長下、ジャガイモ、ワルナスビなどの生葉で飼育すると、卵巣の退化、脂肪体の発達が起り、羽化 16 日後頃に摂食を停

止して休眠状態にはいる。この間、羽化後 5 日を境に、それ以前に長日日長に移したときには卵巣が発育して産卵に到るが、それ以後に長日に移しても、もはや日長の変化に反応することなく休眠にはいる。

ところが、成虫をジャガイモ輪切りで飼育すると、短日日長下で生殖器官の退行、脂肪体の発達傾向は認められるものの、いつまでも摂食を続け休眠にはいらぬ。しかも、いつ短日から長日に移しても、日長の変化に反応して卵巣が発育し、産卵する (KONO, 1979)。

ジャガイモ輪切りで飼育した成虫では脂肪体の発達が不十分なようで、脳間部分泌細胞内の分泌物は、生葉飼育成虫の前休眠期初期と同様な状態を保っており、日長感受性との間に関連があることが指摘されている (KONO, 1980)。

以上の点をさらに明確にするために、生葉を与えて飼育した成虫の前休眠期における脂肪体の発達、脂肪の蓄積、体重の変化などを調べ、日長感受性との関係を考察し、さらに、ジャガイモ輪切り飼育虫の日長感受性と体重の関係を解析した。

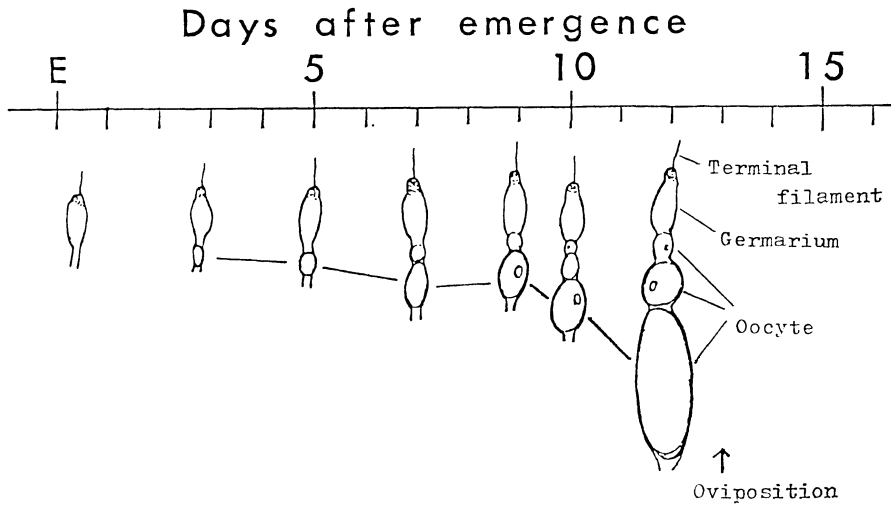


Fig. 1. Oocyte development of the *Henosepilachna* adult reared on sliced potato under long-day conditions (16L-8D, 25°C). The developmental stage is indicated by the number of days after emergence; for example, stage 1 (day 1)-no oocyte in vitellarium; stage 12 (day 12)-mature oocyte; stage 13 (day 13)-oviposition.

材料および方法

ニジュウヤホシテントウムシ幼虫は食草であるジャガイモ、ワルナスビの生葉で飼育した (25°C)。

成虫の餌には、食草としてはジャガイモまたは、ワルナスビの生葉を、ジャガイモ輪切りは、品種メイキーンの塊茎を使った。温度は 20°C±1°C または、25°C±1.5°C で、日長条件は、長日：16 時間照明 (8:00—24:00)—8 時間暗黒、短日：10 時間照明 (8:00—18:00)—14 時間暗黒の 2 種類で、照明には 4 W 白色蛍光灯を用い、飼育面での照度は約 100 lux であった。

体重はグループごと、または個体ごとに秤量し、羽化日の体重を 100% とし、これに対する百分率で表示した。乾燥虫体重は、120°C 2 時間以上、乾燥器中で乾燥した後、秤量した。

脂肪の抽出は、10 頭の乾燥虫体にエチルエーテル、エチルアルコール (1:3) 混合液 4 ml を加えて磨砕し、遠沈 (3,000 rpm) 後の上清を集めた。さらに 2 回 4 ml の混合液を加えて同様な操作を行ない、すべての上清を集め、減圧下で溶媒を除去し、残留分を秤量し脂肪量とした。

雌成虫の卵巣発育程度は、解剖顕微鏡下で卵巣を取り出し、Fig.1 に示す、25°C、長日日長で、ジャガイモ輪切り飼育の卵の発育経過に準じて判定し、その発育状態に到る羽化後日数で表示した。

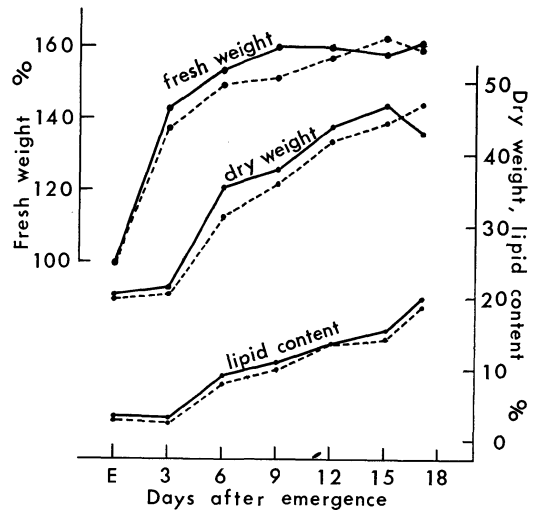


Fig. 2. Changes in fresh weight, dry weight, and lipid content of the adult reared on food plant foliage during prediapause period (10L-14D, 25°C).

結 果

1. 体重の変化

羽化後、鞘翅の着色が完了した成虫を 0 日の成虫とし、雌雄各 10 頭をまとめて体重を測定した。その後、生葉を与え、短日 (25°C) で飼育し、2 日おきに秤量した。0 日の体重を 100% とし、体重の変化を Fig.2 に

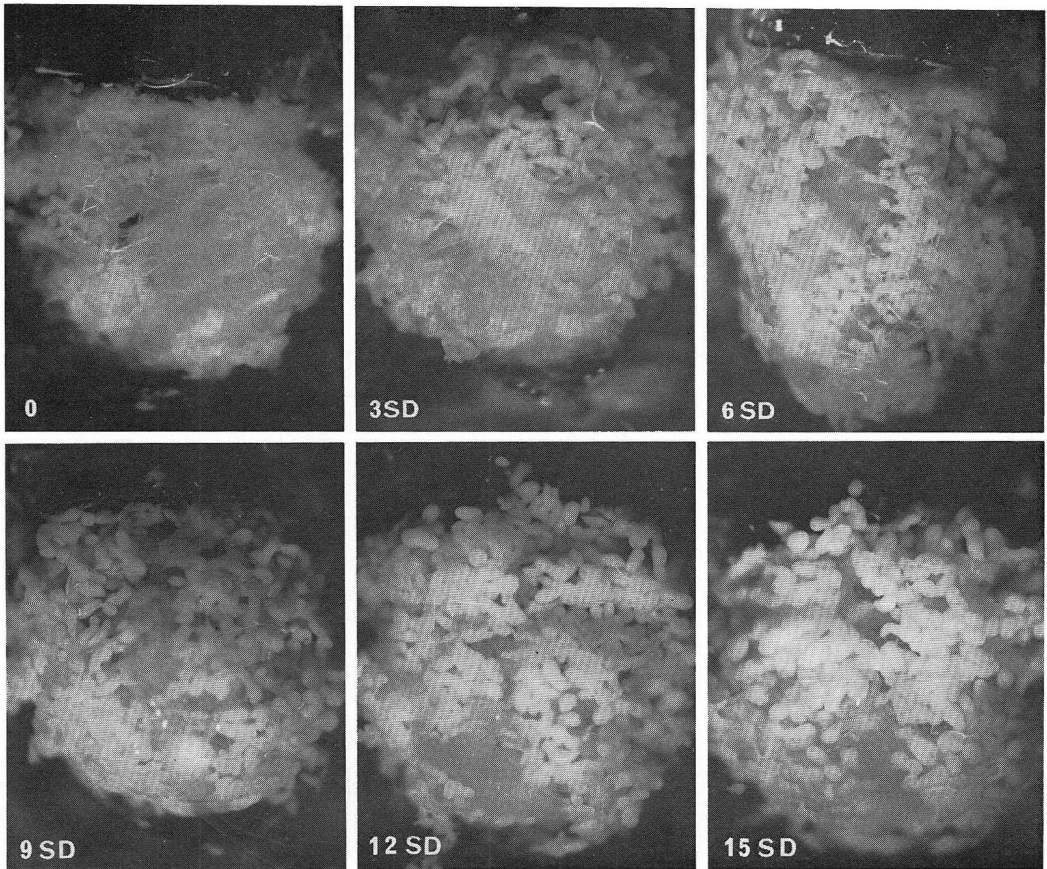


Fig. 3. Fat body development of the *Henosepilachna* adult reared on food plant foliage during prediapauses period. 0, 3SD-15SD; 0, 3 days-15 days after the emergence respectively.

示した。雌（0日の平均が 25.0 mg）は雄（23.0 mg）より大きい。変化の様相には差が見られなかった。摂食を開始すると体重は急激に増加して、3日には約 140% に達し、6日に 150%、12日に 160% になった。その後は体重は増加せず、16日頃、成虫は摂食をやめて、集合して静止した。

2. 脂肪体の発達

雌成虫を短日下、生葉で飼育しながら、2日おきに解剖し、腹部背面の脂肪体を観察した（Fig. 3）。羽化直後には脂肪体は乳白色であり、腹部側方に分布し、個々の脂肪体は小さい。3日には脂肪体が黄色に変わり、胸部に近い部分のものは大きくなる。6日～9日には表層部の脂肪体は一樣に大きくなり、背面全体を覆うようになる。12日には、内部の脂肪体も含め、さらに大きく発達して腹腔のかなりの部分を埋め尽すようになった。退化した卵巣はこの中に埋没している。15日を過ぎて成虫

が摂食なくなると消化管も縮小し、その部分も脂肪体が占める。この時期には腹部の表皮を剥がすと、脂肪体が体外へ突出するほど体腔に充満している。

3. 乾燥虫体重、脂肪含量の変化

乾燥虫体重、脂肪量を測定し、体重に対する百分率で表示した（Fig. 2）。乾燥重は羽化時には 20% で、3日まで変化しない。3日から6日の間に急激に増加して 30% を越え、その後も徐々に増して 15日には 40% 以上になった。

脂肪含量も3日まででは増加せず、体重の約 3% であったが、6日には 8%、15日には 15% にも達した。成虫が摂食をやめて休眠にはいるとさらに増加して 18日に 20% になった。雌雄差はなかった。

羽化時の平均体重が 25 mg の雌成虫では、脂肪量は羽化時にわずか 0.75 mg/虫であったものが、6日で 3 mg、15日で 6 mg、17日には 8 mg にまで増したこと

Table 1. Body weight and lipid content of the 12-day-old adult reared on sliced potato under short-day conditions (10 L-14 D, 25°C)

	Fresh weight (mg) at emergence	Fresh weight (mg)	Dry weight (mg)	Lipid content (mg)
		12-day-old		
Female	23.1	34.2 (148.1) ^a	13.6 (39.8) ^b	3.7 (10.8) ^b
Male	20.8	27.4 (131.7)	10.2 (37.2)	2.3 (8.4)

^a Per cent to fresh weight at emergence. ^b Per cent to fresh weight.

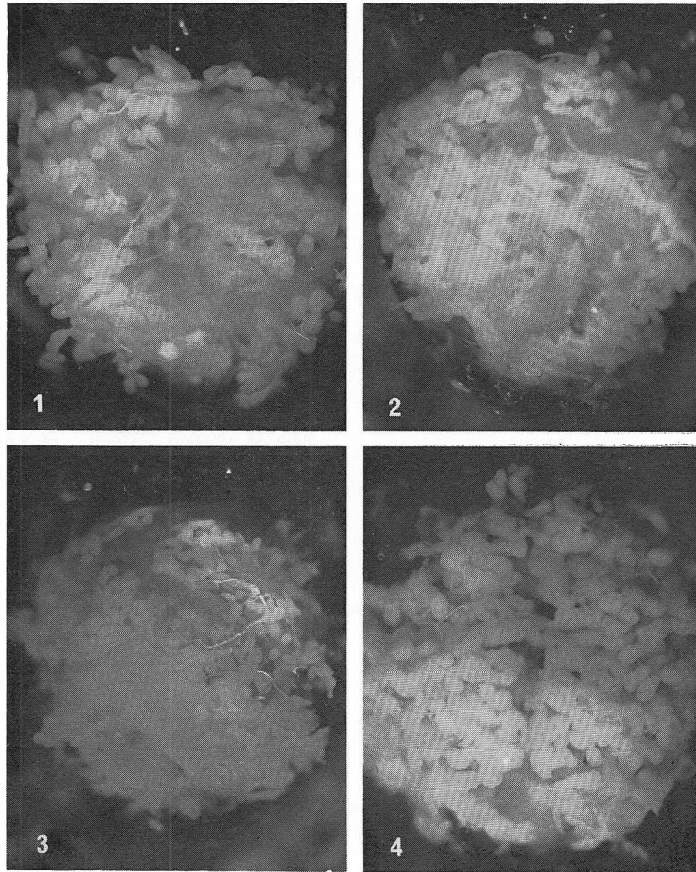


Fig. 4. Fat body of the 12-day-old females fed on sliced potato under short-day conditions (10L-14D, 25°C). 1, 2, 3; fat body of the female with a weight reaching 159%, 146%, and 135% respectively. 4; fat body of the 12-day-old female fed on foliage, for comparison.

になる。

4. ジャガイモ輪切りで飼育した成虫の脂肪体と脂肪含量

短日日長 (25°C) でジャガイモ輪切りを与えて羽化から 12 日間飼育した成虫の体重、乾燥虫体重、脂肪含量を測定した結果を Table 1 示した。生葉飼育 12 日の成虫 (Fig. 2) に比べ、雌雄とも体重増加が明らかに遅

れ、乾燥重、脂肪含量も少ない。特に雄で遅れが著しかった。

羽化後 12 日の雌成虫を解剖して脂肪体の状態を観察すると (Fig. 4)、ジャガイモ輪切り飼育では発達が遅れていることは明らかである。しかし、発達程度は個体によりかなりの差が認められ、体重増加の小さい個体は脂肪体の発達が遅れている傾向にあった。

5. ジャガイモ輪切り飼育成虫の体重増加と光周期感受性

羽化後 12 日間、短日日長でジャガイモ輪切り飼育した後、長日日長へ移して飼育を続けて卵巣の発育を観察し光周期感受性を調べた。ジャガイモ輪切り飼育では産卵までの期間は 20°C で約 21 日、25°C で約 13 日であることを考慮して、卵巣の観察を行なう日を決定した。

まず、羽化直後に雌雄各 10 頭を体重測定後 15 cm ガラスシャーレに入れ短日で飼育を開始し (20°C)、12 日後に体重を再び測定して長日へ移した。さらに 22 日経過後、すべての雌を解剖して卵巣の発育程度を判定した。卵巣の発育段階が 5 以下の個体は長日日長に反応しなかったものと見なした。この割合と日長変更時の体重百分率とを Table 2 にまとめた。表から明らかのように、ジャガイモ飼育成虫の中にも日長変更後の長日日長に反応しない個体が存在した。しかし、1 グループで反応しない割合が 80% に達した以外はすべて 44% 以下であった。反応しない成虫の割合は日長変更時の体重増加率の大きいグループで高い傾向がみられ、両者の間には高い相関 ($r=0.916$) が認められた。

次に、9 cm シャーレ内に雌 3 頭、雄 2 頭を入れて実験した。雌の鞘翅に標識して個体ごとの体重測定と卵巣の観察を行なった。前実験と同じく、羽化直後の体重を測定し、短日で 12 日間飼育後に再び体重を測定して長日へ移した。20°C では長日へ移してから 18 日後に、25°C では 13 日後に卵巣を観察した。

卵の発育段階を 3 以下、4~6、7 以上に分類し、これらの発育段階に分類される成虫の日長変更時での体重百分率の平均値を求めた (Table 3)。20°C、25°C、両温度とも、卵巣の発育段階の進んだものほど日長変更時までの体重増加が少ない傾向が明らかに認められた。20°C 飼育では卵巣発育段階が 3 以下の長日日長に反応しなかったと見られる雌と、7 以上の反応したと見られる雌との体重増加率の間には t 検定の結果 1% 水準で差が認められた。25°C 飼育の場合には有意差はなかったが、3 以下と 9 以上の発育段階の間で検定すると 1% 水準で差が認められた。

考 察

成虫休眠する昆虫には、羽化してから休眠にはいるまでの間に盛んに食物を摂る期間があり、これを前休眠期と呼ぶが、この間に脂肪体が非常に発達することはニジュウヤホシテントウムシに限らず一般に知られている。前休眠期における生体構成成分の変化については甲虫

Table 2. Relationship between the increase of body weight and the sensitivity to photoperiodic change from a short-day to a long-day in the adult beetle reared on sliced potato

No. of females observed	Average of % body weight of 12-day-old female	% female insensitive to a long-day ^a
8	125.0	12.5
8	129.5	25.0
9	132.2	22.2
10	132.8	30.0
8	141.7	37.5
9	143.6	44.4
10	148.8	30.0
9	149.6	44.4
10	154.4	80.0

The adults were confined under long-day photoperiod for 22 days at 20°C, following exposure to short-day 12 days after emergence.

^a Insensitive: Ovarian development did not go beyond stage 5 cited in Fig. 1. Correlation coefficient: 0.916.

Table 3. Relationship between the developmental stage of ovaries and the increase of body weight

Developmental stage of ovary	No. of female	% weight at the change of photoperiod (mean ± S.D.)
I. 18 days of long-day at 20°C following exposure to short-day for 12 days		
(1) 3 ≥	18	156.9 ± 11.1
(2) 4-6	18	149.2 ± 20.8
(3) 7 ≤	15	144.5 ± 14.5
II. 13 days of long-day at 25°C following exposure to short-day for 12 days		
(4) 3 ≥	15	161.0 ± 5.8
(5) 4-6	18	154.6 ± 17.3
(6) 7 ≤	22	151.1 ± 20.2
(7) 9 ≤	11	140.7 ± 18.5

t value (1)-(3) = 2.787 > $t_{0.01}$; $t_{0.1} < t$ value (4)-(6) = 1.83 < $t_{0.05}$; t value (4)-(7) = 3.98 > $t_{0.001}$.

類、例えば、ワタミゾウムシ *Anthonomus grandis* (BRAZEL and NEWSOM, 1959; LAMBREMONT *et al.*, 1964; THOMPSON and SCOTT, 1979)、コロラドハムシ *Leptinotarsa decemlineata* (DE LOOF and DE WILDE, 1970; DE LOOF and LAGASSE, 1970; DUDASH, 1978)、ナナホシテントウムシ *Coccinella septempunctata* (SAKURAI, 1969)、ナミテントウ *Harmonia axyridis* (桜井・中条, 1977)、で比較的詳しく研究されている。しかし、これらは休眠時の生理的特徴を把握する目的で行なわれたものがほとんどのため、羽化から休眠期または休眠覚醒期までの変化を莫然と追跡しており、前休眠期での詳細な変化を知ることができない。

米国南西部ではワタミゾウムシは 11 月下旬に休眠にはいると言われるが、この時の水分含量は生体重の 47.3%、脂肪含量は 31.9% (BRAZZEL and NEWSOM, 1959) といわれ、乾燥重は 35.1% という報告もある (THOMPSON and SCOTT, 1979)。LAMBREMONT *et al.* (1964) によれば、このゾウムシの羽化時の脂肪は体重の 2~6% であるが、休眠虫では 18~25% にも増加しており、しかも、この大半が triglyceride であると言う。ニジュウヤホシテントウムシでの脂肪量の変化も羽化時の 3% から休眠開始時の 20% へと増加しており、上記ゾウムシの変化と非常に良く一致している。ナミテントウにおける休眠初期の脂肪量も約 30% と、高い割合を示している (桜井・中条, 1977)。

Fig. 2 の乾燥重から脂肪量を差し引いた値は羽化時で体重の 17.5%、休眠開始時が 22.5% であって、増加分を重量に換算するとほぼ脂肪量に匹敵する。この部分には、蛋白質、グリコーゲンやその他の炭水化物が含まれると考えられる。グリコーゲンは休眠開始までに羽化時の数倍の量が蓄積されると報告されているが (桜井・中条, 1977; DUDASH, 1978)、他の炭水化物を含めても量的には少ないために (THOMPSON and SCOTT, 1979)、蛋白質が大半を占めると見てもさしつかえなく、また、蛋白量も前休眠期に増加していると考えられる。

休眠に伴って増加するこれらの成分は、ほとんどが脂肪体に蓄積されるが、コロラドハムシにおける電子顕微鏡観察によると各成分に特有な形態の顆粒として脂肪体細胞の細胞質に存在していると言う (DE LOOF and LAGASSE, 1970)。

ニジュウヤホシテントウムシをジャガイモ輪切りで飼育すると、脂肪体の発達が生葉飼育虫に比較し、かなり遅れ、脂肪の蓄積も少ないが、これはジャガイモが栄養源としては欠陥があるものと考えられる。

生葉飼育では羽化後 6 日には体重が 150% を越え、このときすでに日長に対する反応性を失っている。ジャガイモ輪切り飼育の場合に、体重増加の大きい個体に限って反応性を消失していたことは、日長に対する感受性が前休眠での体重の増加、すなわち、脂肪体の発達によって失われることを示唆している。

日長による休眠誘起の機構の第 1 段階は脳の神経分泌細胞が短日型か長日型かの活性リズムに馴化されることであり (KONO, 1975)、短日日長で成虫休眠する昆虫では、短日型リズムは分泌物の放出が抑えられた状態であり、アラタ体も刺激を受けないために幼若ホルモンを放出しない (DE WILDE and DE BOER, 1961; KONO,

1980)。このような内分泌環境下では生殖器官が退行し、脂肪体が発達する。脂肪体がある程度発達すると日長感受性が消失するのであろう。ニジュウヤホシテントウムシでは、成虫が摂食をやめて休眠にはいる頃に脳の神経分泌細胞が前休眠期の状態よりさらに活性の低下した様相を呈することから (KONO, 1980)、この変化にも脂肪体の発達が関与していると推察される。

以上のように、神経分泌細胞を中心とした昆虫の内分泌系が日長の直接の影響を受ける以外に、脂肪体の発達状態によっても調節されているとすれば、これまでかなりの例が知られている餌の質や量によって光周期による休眠誘起が変更を受けるという現象 (SAUNDERS, 1976) は理解し易いであろう。すなわち、同一ホルモン状態を保った昆虫においても、餌の質や量という材料供給面から脂肪体の発達が規定されるからである。

また、脂肪体が種々の成分を蓄え発達しなければ休眠には入れない機構が存在するならば、それだけ休眠中の安全が保障されるとも考えられよう。

摘 要

ニジュウヤホシテントウムシ成虫を短日条件 (10L・14D, 25°C) で生葉を与えて飼育すると、体重が羽化 3 日後には羽化時の 1.4 倍になり、6 日後には 1.5 倍を越す。脂肪体は 6 日頃より発達を始め、9 日頃から顕著になり、摂食をやめて休眠にはいる 16 日頃には腹腔に充満する。成虫の乾燥重、脂肪含量は 3 日から 6 日にかけて急激に増加し、その後も徐々に増す。生葉飼育成虫を羽化後 5 日以内に短日から長日に移せば長日に反応し卵巣が発達して産卵に到るが、それ以後の長日への変更は無効で成虫は休眠にはいる。ジャガイモ輪切り飼育成虫では日長の変更に対する反応性を長期間保持するので、これを使って体重増加および脂肪体の発達と日長感受性との関連を解析し、脂肪体の発達によって日長感受性が消失することを明らかにした。

引用文献

- BRAZZEL, J. R. and L. D. NEWSOM (1959) Diapause in *Anthonomus grandis* BOH. J. econ. Ent. 52: 603-611.
- DUDASH, A. V. (1978) Glycogen content in the fat body of the Colorado beetle (*Leptinotarsa decemlineata*). Zool. Jour. 62: 695-699.
- KONO, Y. (1975) Daily changes of neurosecretory type-II cell structure of *Pieris* larvae entrained by short and long days. J. Insect Physiol. 21: 249-264.

- KONO, Y. (1979) Abnormal photoperiodic and phototactic reactions of the beetle, *Epilachna vigintioctopunctata*, reared on sliced potatoes. *Appl. Ent. Zool.* **14** : 185—192.
- KONO, Y. (1980) Endocrine activities and photoperiodic sensitivity during pre-diapause period in the phytophagous lady beetle, *Epilachna vigintioctopunctata*. *Appl. Ent. Zool.* **15** : 73—80.
- LAMBREMONT, E. D., M. S. BLUM and R. M. SCHRADER (1964) Storage and fatty acid composition of triglycerides during adult diapause of the boll weevil. *Ann. ent. Soc. Am.* **57** : 526—532.
- LOOF, A. DE and A. LAGASSE (1970) Juvenile hormone and the ultrastructural properties of the fat body of the adult Colorado beetle, *Leptinotarsa decemlineata* SAY. *Z. Zellforsch. mikrosk. Anat.* **109** : 439—450.
- LOOF, A. DE and J. DE WILDE (1970) Hormonal control of synthesis of vitellogenic female protein in the Colorado beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. *J. Insect Physiol.* **16** : 1455—1466.
- SAKURAI, H. (1969) Respiration and glycogen contents in the adult life of the *Coccinella septempunctata* MULLER and *Epilachna vigintioctopunctata* FABRICIUS. *Appl. Ent. Zool.* **4** : 55—57.
- 桜井宏紀・中条 哲 (1977) 夏眠および越冬にともなうナミテントウの生理的变化. 岐阜大農学部研報 **40** : 37—42.
- SAUNDERS, D. S. (1976) *Insect Clocks*. Oxford : Pergamon Press, 280p.
- THOMPSON, A. C. and W. P. SCOTT (1979) Lipids, protein and carbohydrate in over-wintered boll weevil, *Anthonomus grandis* BOHEMAN, from wood trash. *Comp. Biochem. Physiol.* **62B** : 155—157.
- WILDE, J. DE and J. A. DE BOER (1969) Humoral and nervous pathways in photoperiodic induction of diapause in *Leptinotarsa decemlineata*. *J. Insect Physiol.* **15** : 661—675.
-