

ニカメイガの越冬休眠生理に関する研究

—特に休眠と糖代謝—

積木久明

名古屋大学図書  
和 869790

報告番号	乙第 2117 号
------	-----------

オ 1 章	ニカメイガの休眠	10
オ 1 節	休眠開始と休眠覚醒時期	11
オ 2 節	年1・2回発生型ニカメイガの休眠の比較	15
オ 3 節	年1・2回発生型ニカメイガの発育比較	23
オ 4 節	要 約	29
オ 2 章	ニカメイガ幼虫の耐凍性と凍結保護物質との関係	31
オ 1 節	耐凍性の変化と凍結点	32
オ 2 節	含水量の変化	38
オ 3 節	糖アルコール含量の変化	42
オ 4 節	炭水化物含量の変化	54
オ 5 節	遊離アミノ酸含量の変化	68
オ 6 節	要 約	72
オ 3 章	ニカメイガ幼虫における glycerol 生成	

に及ぼす要因	74
オ 1 節 嫌気の影響	75
オ 2 節 温度の影響	94
オ 3 節 結紮の影響	105
オ 4 節 幼若ホルモン活性物質 (JHA) の影響	
	111
オ 5 節 脱皮ホルモン (ecdysone) の影響	134
オ 6 節 要 約	144
オ 4 章 ニカメイが幼虫における glycogen 代謝	
	148
オ 1 節 $^{14}\text{C}$ -Glucose と UDP- $^{14}\text{C}$ -G の代謝速度の変化	149
オ 2 節 Glycogen 代謝酵素の活性消長	174
オ 3 節 Glycogen 代謝酵素活性に及ぼす JHA と $\beta$ -ecdysone の影響	199
オ 4 節 $^{14}\text{C}$ -(1)-Glucose と $^{14}\text{C}$ -(6)-glucose の代謝速度の変化	207
オ 5 節 要 約	212

## 第5章 ニカメイガ幼虫における glycerol 代謝

216

第1節  $^{14}\text{C}$ -Glycerol の代謝速度の比較 217

第2節  $^{14}\text{C}$ -Glycerol の代謝に及ぼす JHA と  $\beta$ -ecdysone の影響 232

第3節 Glycerol 代謝酵素の活性消長 240

第4節 Glycerol 代謝酵素活性に及ぼす JHA  
と  $\beta$ -ecdysone の影響 260

第5節 要 約 267

総合考察 273

要 約 292

引用文献 301

## 緒 言

ニカメイカが Chilo suppressalis Walker は稻作の最も主要な害虫の一種として古くからよく知られており、その発生は熱帯から温帯にかけて広く分布している。我が国では北海道南部にまで及び、約 $10^{\circ}\text{C}$  ~  $35^{\circ}\text{C}$  の範囲内では高温程生育が速く、東北地方北部以北や山間冷涼地では年1回、高知県では年3回発生する個体群が知られており、それ以外の大部分では年2回発生である（八木、1934；深谷、1950；河田、1952；加藤、1953；Ishikura, 1955）。越冬は通常終令幼虫でなされており、卵、蛹、成虫での越冬は認められていない。これは、越冬幼虫が冬期の低温によく耐えて生存できることを意味しているが、この害虫の冬期の低温に対する耐性の獲得機構についてはほとんど研究されていない。

著者はこれまでニカメイカの生理生態的研究、特に岡山県南部の年2回発生と県北部高

冷地の年1回発生個体群における発育の相異、ならびに発育時と休眠時の物質的、代謝的相異を追求している。休眠時の物質的、代謝的特徴は実験にとり上げた要因の中では、glycerol, glycogen, trehalose 等の炭水化物とこれに関与する一部の代謝酵素活性が最も大きな要因となつていた。この間、昆虫ホルモンの研究も進展し、休眠現象においても外界条件（低温と短日）が脳ホルモンを拠点とする各種ホルモン分泌に影響し、これらホルモンは標的器官に作用する、或いは代謝を支配してくる酵素の活性を支配する一連のスキームも確立されつつある。従って、ホルモンの作用も調べながら炭水化物代謝を中心に研究した。

これまでのニカメイカの休眠に関する研究史では、幼虫時の日長と温度が深く関係しており、長日は休眠回避に、短日は休眠誘起に働くことが知られている（井上・釜野、1957；岸野、1969）。また、休眠誘起の臨界日長は、温度によっても変化し、高温は休眠回避に

低温は休眠誘起の方向に働くものと考えられて（岸野，1969）。休眠に関する内分泌学的研究の面からは、アラタ体がこの幼虫の休眠誘起とその維持に積極的な働きをしており（Fukaya and Mitsuhashi, 1957, 1958, 1961），さらに JH が決定的要因として休眠誘起とその維持に働くことが明らかにされて（Yagi and Fukaya, 1974；八木，1975）。休眠幼虫の越冬時の耐寒性については朝比奈（1959）により  $-20^{\circ}\text{C}$  の低温に耐えることが報告されているものの、凍結保護物質なればいにその代謝の生化学的研究はほとんどなされていない。

一般に昆虫は冬期の温度の低下とともに冬眠する。生育時とは異なり代謝系を利用して、低温の害から保護するために、凍結保護物質を作り出すことが知られている。例えば、glycerol 蜜の卵（Chino, 1957 a,b, 1958；Aoki, 1962；Kageyama and Ohnishi, 1971, 1973；柳沼・山下, 1977；セクロピア蜜の蛹（Wyatt and Meyer, 1959；コマエバチの一種 Bracon cephi 幼虫, ホシマダラバエの一種 Eurosta

solidaginis 幼虫, ヤママユガの一種 Antheraea poly-  
phernus 蛹, Salt, 1957, 1959, 1961 ; イラガの前蛹,  
 竹原・朝比奈, 1960, 1961 ; 武田・福島, 1962 ; ハ  
 ネアカオオアリの成虫, 丹野, 1962 ; ホシシヤ  
 ハガの一種 Alsophila pometaria 卵, Sømme, 1964, 1965 ; コ  
 ミムシの一一種 Pterostichus brevicornis 成虫, Baust and  
 Miller, 1970, 1972 ; ハキリバチの一一種 Megachile rotun-  
data 幼虫, Krunic and Salt, 1971 ; ヒトツガの一種  
Isia isabella 幼虫, Mansingh and Smallman, 1972 ; レリキン  
 バエの成虫, Wood and Nordin, 1976, 1980 ; タテハケヨ  
 ヴの一種 Limenitis archippus 幼虫, Frankos and Platt, 1976 ;  
 キカツムシの一一種 Pytho depress 成虫, Zachariassen,  
 1979 ), sorbitol (蜜の卵, Chino, 1957 a,b, 1958 ; Aoki,  
 1962 ; Kageyama and Ohnishi, 1971, 1973 ; 柳沼・山下,  
 1977 ; ホシマタラバエの一一種 Eurosta solidaginis 幼  
 虫, Sømme, 1964, 1965 ; オオブエの一一種 Prosimulum mys-  
ticum 幼虫, Mansingh and Steele, 1973 ; ゴミムシダマシ  
 の一一種 Upis ceramboides 成虫, Miller and Smith, 1975 ),  
 glycogen (ゾウムシの一一種 Anthonomus grandis 成虫,  
 Nettles and Betz, 1965 ), manitol (ホシマタラバエの一

種 Eurosta solidaginis 幼虫, Sømme, 1964; オオブユの一種 Prosimulium mysticum 幼虫, Mansingh and Steele, 1973), threitol (ゴミムシダマシの一種 Upis cerambooides 成虫, Miller and Smith, 1975), trehalose (ボブラハバチの前蛹, 丹野, 1965), glucose (キオビヒメハバチの成虫, 丹野, 1964), fructose (キオビヒメハバチの成虫, 丹野, 1964), アミノ酸 (Harvey, 1962; スジマタラメイガの幼虫, Sømme, 1966; サクサンの幼虫, Mansingh, 1967; ハイイロカミキリの成虫, Zachariassen and Pasche, 1976) 等が越冬昆虫で非常に増加することが知られている。しかし、これまで報告された耐寒性あるいは耐凍性の高い昆虫には、glycerol を含むもののが非常に多く、低温に対する耐性については主に glycerol との関係で研究が進められてきたと言えよう。

ところで、glycerol の生成系についての研究は主に蚕の休眠卵で行なわれ (Chino, 1960, 1961; Kageyama and Ohnishi, 1971, 1973; Yaginuma and Yamashita, 1978), 休眠に入ると glycogen が急速に減少し、その減少量とほぼ同量の glycerol と sorbitol が生成さ

れてくることが報せられている。哺乳動物と異なって昆虫では、解糖系の Embden-Meyerhof 系路（オ 65 図参照）において、 $\alpha$ -glycerophosphate dehydrogenase 活性が高く、lactate dehydrogenase 活性が低い（ミツバチ等の成虫と幼虫、Zebe and McShan, 1957; Chefurka, 1965; Sacktor, 1965, 1970; 茅野, 1962, 1968）。ことにより、呼吸量の低下とともに nicotinamide adenine dinucleotide reduced form が triose phosphate - pyruvic acid - lactic acid の系により酸化されるのではなく、triose phosphate -  $\alpha$ -glycerophosphate - glycerol の系により酸化され、glycerol が蓄積されてくると仮定された（Chino, 1960, 1961; 茅野, 1962, 1968）。また、nicotinamide adenine dinucleotide phosphate reduced form はペントースリシン酸回路で生成され、glucose-6-phosphate あるいは fructose-6-phosphate - sorbitol-6-phosphate - sorbitol の系で酸化されることにより、sorbitol が生成されると仮定された（蚕の卵、Chino, 1960, 1961; 茅野, 1962）。一方、蚕の休眠卵から胚子をとり出すと、休眠する胚子が発育を始められ、また非休眠卵を嫌気状態に置く

と、休眠卵と同様、glycogen の減少がある (Okada, 1971 ; 岡田, 1975) ことから、glycerol と sorbitol の蓄積は卵殻の目つまり現象による嫌気説が提唱された (岡田, 1975). その後、卵殻の酸素透過性が測定され、休眠中も休眠が破れたり後も卵殻の酸素透過性に差がみられず (Sonobe et al., 1979), そのメカニズムについては不明である (茅野, 1980).

これまで述べてきたように glycerol や sorbitol などの糖アルコールの生成構造については、主に蚕の卵について研究され、他の昆虫や他の休眠期のものについては不明の部分が多い (Wyatt, 1967, 1975 ; 長谷川, 1979 ; 茅野, 1980). 筆者はニカメイガの幼虫を用いて耐凍性と glycerol の生成構造を研究し、冬期ニカメイガ幼虫が休眠に入ると、主に脂肪体の glycogen が減少し、glycerol の生成が促進され (Tsumuki and Kanehisa, 1978a, 1981b)，耐凍性が増大する (積木・兼久, 1974) ことを既に報告した。さらに、glycogen 代謝酵素活性 (Tsumuki and Kanehisa, 1979b, 1980a)

なうじに glycerol 合成酵素活性 (Tsumuki and Kanehisa, 1980c) の変化を観察し, glycogen 代謝酵素系においては, glycogen synthetase と phosphorylase が律速酵素であり, glycerol の生成は  $\alpha$ -glycerophosphate dehydrogenase 活性の変化とよく一致していることを明らかにした。さらに、蚕の卵や代の 2, 3 の昆虫で知られているように、ニカメイガ幼虫では単に嫌気状態に置かれても, glycerol は生成されず (Tsumuki, 1980), むしろ低温や内分泌器官, ホルモンが関係している (Tsumuki and Kanehisa, 1979c, 1981a; 積木・兼久, 1980a) ことを明らかにした。

本報告では、ニカメイガ幼虫における休眠現象、耐凍性と糖アルコールの関係、炭水化合物と glycerol の相互転換、glycerol の生成・分解に及ぼす内分泌器官とホルモンの影響についてまとめた。

本研究を行なうに当り終止変らぬご指導とご鞭撻をいたいたいた岡山大学名誉教授安江安宣博士、教授兼久勝夫博士に心から感謝する

。本論文をとりまとめに当つては名古屋大学農学部教授齋藤哲夫博士、助教授山下興四博士、助教授伊藤嘉昭博士、助手宮田正博士、助手椿宣高博士からご教示、ご鞭撻をいたしました。また、名古屋大学石倉教授弥富喜三博士には終始変わぬご鞭撻をいたしました。ここに厚く感謝の意を表する。また、研究の推進に当たりご助言をいたしました岡山大学農業生物研究所助教授河田和雄博士に、ニカメイガの採集や飼育にご協力下さった白神孝氏に、ニカメイガを心よく提供下さった岡山県農業試験場坪井昭正氏と田中福三郎氏各位に感謝の意を表する。

## オ 1 章 ニカメイガの休眠

ニカメイガは冬期終令幼虫で越冬休眠することが知られてる（深谷，1950）。ニカメイガの越冬休眠生理を研究する上で、現状の休眠状態を明らかにしておく必要がある。日本でのニカメイガは分布地域の違い、生理的違いによって、大きく分けて庄内系と西国系の2つの系統に分けられている（深谷，1948a）。日本海側から北陸地方一帯に分布する庄内系ニカメイガの発育速度は、西日本に広く棲息する西国系にくらべて著しく大きく、また休眠覚醒時期も早く、休眠期間も短かいとしている。さらに、この中间的特徴を示すものも知られている。また、ニカメイガは普通年2回発生するが、年1回しか発生しないで終る地帯がある。深谷（1947）は中国脊梁山脈地帯は年1回発生であり、岡山県では標高350mがその境界となしてることを推定しているが、不明な点が多い。本研究に多用した岡山

県南部の年2回発生のものと、県北部冷涼地の年1回発生の個体群について、休眠開始時期と休眠覚醒時期、夏世代の発育、これらに及ぼす温度と日長の影響について比較検討した。

### オ 1 節 休眠開始と休眠覚醒時期

ニカメイカは冬期幼虫で休眠越冬する：とが知られておりが、越冬中ににおける休眠開始時期と、休眠覚醒時期についてはあまり知らない。ない。

そこで、冬期越冬中の幼虫を非休眠下条件( $25^{\circ}\text{C}$ , 16L, 8D)で加温飼育し、蛹化率より休眠開始時期と覚醒時期を推定した。

### 材料および方法

供試虫：倉敷市にある当研究所圃場の箱積み

わら内より必要に応じて採集した越冬幼虫を  
稻芽出し苗（佐藤, 1964）に入れ, 25±2°C,  
長日条件(16L, 8D)で加温飼育し, 蛹化状況  
を調査した。岡山県南部において年2回発生す  
るニカメイガである。

### 結果および考察

越冬することが予想される幼虫を9月下旬  
から毎月採集し, 室内で加温飼育してその蛹  
化虫数を調査した。調査は幼虫が蛹化あるいは  
蛹化しないまま死亡していくなくなるまで継  
続した。25±2°C, 長日条件で加温飼育した  
場合, 冬期いずれの時期に野外より採集した  
越冬幼虫でも蛹化する個体がみられた(表1  
表)。蛹化率に多少のはらつきがあるものの  
, 12月上旬から1月下旬の間に加温飼育され  
た越冬幼虫の蛹化率が低かった。すなわち,  
倉敷地方のニカメイガ越冬幼虫は11月下旬か  
ら12月上旬にかけて休眠に入り, 1月下旬か

第1表 越冬幼虫を加温飼育(25℃, 16L, 8D)した時の蛹化割合

採集日	供試虫数	蛹化虫数	蛹化割合(%)
昭和48年9月21日 10月18日 10月31日 11月11日 12月7日 12月25日	30	21	70.0
	30	11	36.7
	50	20	40.0
	30	17	56.7
	30	5	16.7
	30	1	3.3
昭和49年1月19日 1月28日 2月15日 2月24日 3月13日	30	4	13.3
	30	2	6.6
	30	13	43.3
	27	17	63.0
	30	23	76.7
4月30日	30	17	56.7

第2表 岡山県における月別平均気温(岡山県気象月報より)

	倉 敷		蒜 山 原	
	最 高	最 低	最 高	最 低
1月	9.2	-1	4.4	-3.7
2月	9.5	0.8	4.9	-3.0
3月	12.0	2.0	7.7	-2.0
4月	18.8	8.7	16.2	4.0
5月	23.7	13.0	20.8	8.7
6月	26.4	18.5	23.2	13.6
7月	30.4	23.7	27.7	19.5
8月	31.5	24.1	28.5	19.3
9月	27.3	19.3	23.4	14.7
10月	21.8	12.4	17.9	7.7
11月	16.2	6.1	11.9	1.7
12月	10.6	1.2	6.1	-1.9

(昭和45年～49年の5年間の平均気温)

ら 2 月上旬にかけて休眠が破れるものと推定された。深谷(1948)も倉敷産ニカメイガ越冬幼虫を冬期毎月 15 日間 27°C に接触させた結果、11 月から 1 月の高温接触は無処理のものに比較して、羽化時期に促進的な影響は与えないが、2 月以降の高温接触の場合には 5 ~ 10 日羽化時期が早まるところから、この時期に休眠覚醒することを推定しており、本結果とはほぼ一致していた。しかし、2 月の気温は幼虫の発育零点(12°C; 八木, 1934)を越えることがない(オニ表)ことから、実際の環境温度の影響を受けるのは 3 月になつてからと推定されてゐる(深谷, 1948, 1950)。

### オニ節 年 1, 2 回発生型ニカメイガの休眠の比較

ニカメイガは通常年 2 回発生するが、東北地方や山間部では年 1 回しか或虫の発生かみ

られないと知られている（八木，1934；深石，1950；石倉，1950；加藤，1953；岸野，1970）。岡山県北部蒜山京地方では年1回発生である（深石，1947，1950）。しかし、岡山県におけるこの年1回発生型ニカメイガに関する知見は、予察炉による成虫の発生消長の調査結果以外ほとんど報告されていない（積木・白神，1978，1979）。ところで、このような年間の発生回数の変異は発育と休眠との相互関係によって決定されてい（岸野，1969）ことから、まず1、2回発生型の越冬幼虫の休眠を比較した。

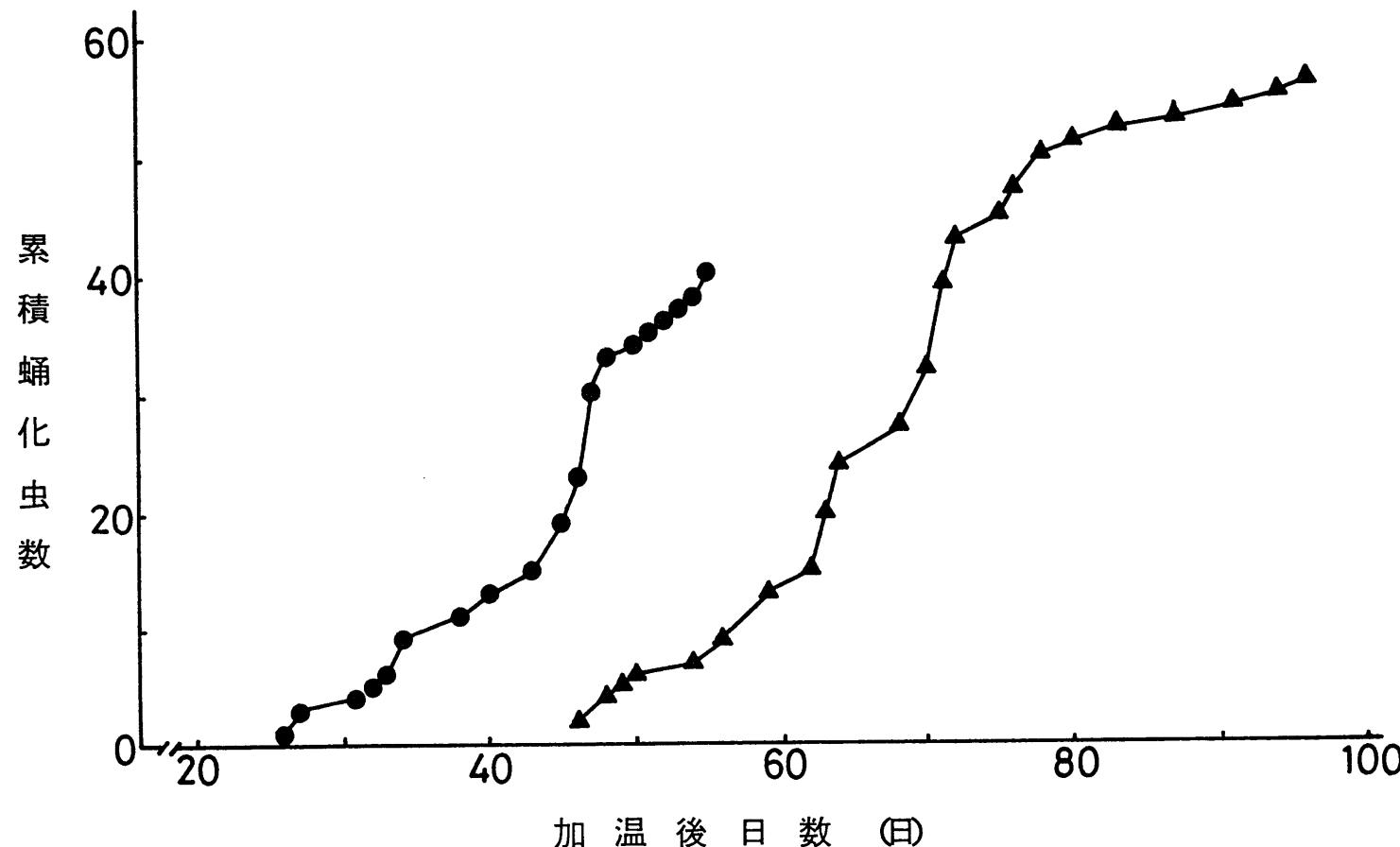
### 材料および方法

供試虫：年2回発生型ニカメイガは当研究所圃場、岡山県農業試験場（岡山県赤磐郡山陽町）ならびに倉敷近郊より越冬幼虫を捕れらごと採集し、当研究所圃場網室内に放置した。年1回発生型ニカメイガは冬期の最低気温

か代々岡山県北部蒜山原地方（主に岡山県真庭郡中和村；標高450～500m，一部は同郡川上村；標高約400m）で柏刈り株に越冬中の幼虫を9月下旬から10月上旬に刈り株ごと採集し，当研究所内の無加温のプレハブ室に保護した。冬期プレハブ室内の気温の上昇を防ぐため，四方の窓はすべて開放した。冬期時々散水し刈り株の乾燥を防いだ。必要に応じてやうあろいは刈り株からとり出しに越冬幼虫を前節と同様加温飼育した。

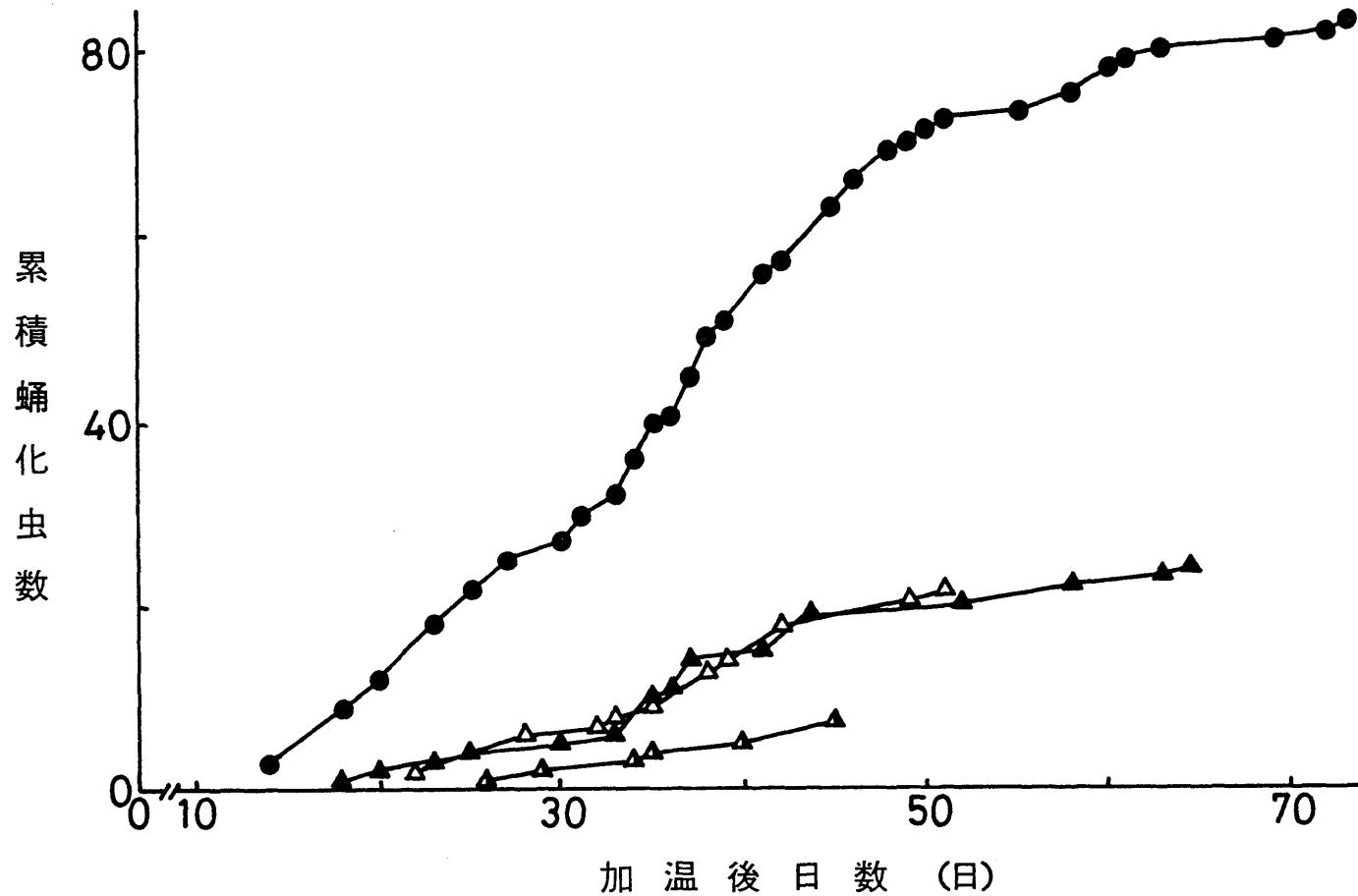
### 結果および考察

前休眠期における年2回発生と，年1回発生型のニカメイカの休眠を比較するため，倉敷産と蒜山原産越冬幼虫を9月下旬柏芽出レ苗に入れ， $25 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$ ，長日条件下で加温飼育した時の蛹化前期間を調査した（表1図）。倉敷産越冬幼虫の50%蛹化前期間は加温を始めてから45日であった。一方，蒜山原産は

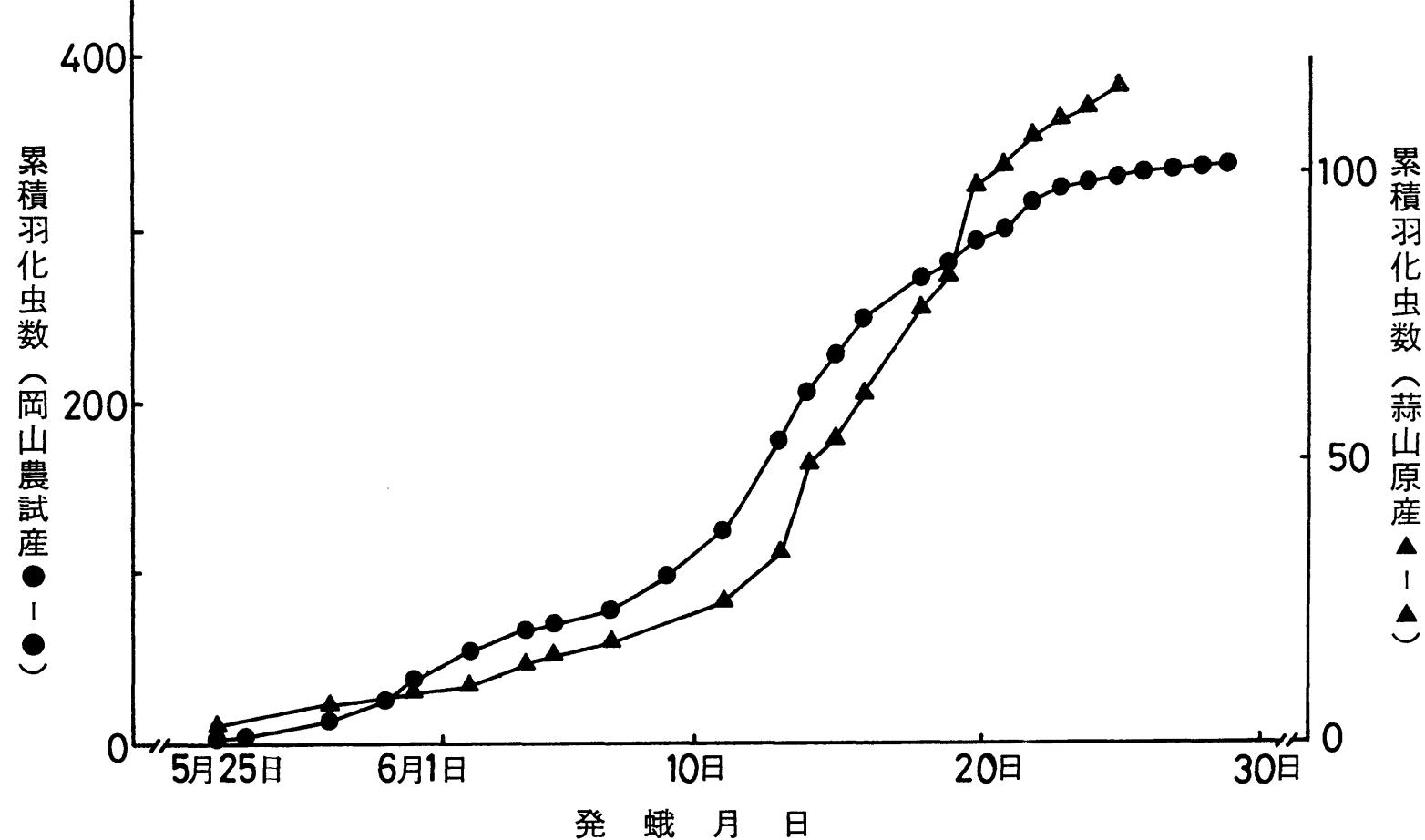


第1図 前休眠幼虫を加温飼育（25°C、16L、8D）した時の蛹化前期間  
9月26日加温開始  
（●）倉敷産  
（▲）蒜山原産

69日を要した。蒜山原産の方が蛹化前期間が約1.5倍長かった。また、蒜山原産越冬幼虫を11月上旬から同様に加温飼育すると蛹化個体はみられず、この時期にすでに休眠に入ったものと考えられた。すなはち、蒜山原産年1回発生型ニカメイガは、岡山県南部の年2回発生型ニカメイガより早い時期に休眠に入るものと考えられた。オニコロハ休眠が破れた後休眠幼虫を3月10～13日に小さく切ったやつとともに1頭ずつ試験管に収容し、綿栓をして上記と同様の条件下で加温飼育し、1回発生と2回発生型ニカメイガの蛹化前期間を比較したものである。蒜山原産の供試虫数が少ないのであるが、昭和51～53年の3年間の結果を比較してみると、50%蛹化日は35～37日で蛹化前期間は3年間ほぼ一定であった。この結果をもとに有効積算温度を求め、発蛾最盛日を逆算すると7月下旬となり、予察炉による成虫の発生消長と一致していた。一方県南部の岡山農試より採集した幼虫の50



第2図 後休眠幼虫を加温飼育（25℃、16L、8D）した時の蛹化前期間  
 (●) 岡山農試産 (▲) 蒜山原産 (昭和51年) (△) 蒜山原産 (昭和52年)  
 (▲) 蒜山原産 (昭和53年)



第3図 自然条件での羽化日  
(●) 岡山農試産 (▲) 蒜山原産

%蛹化日は36日であった。すなわち、後休眠間発育は1.2回発生型で差がみられなかつた。後休眠幼虫を小さく切つたものとともに併んに収容し、上記プレハブ室で自然条件下に放置し、羽化日を観察した。蒜山原産1回発生型と岡山農試産2回発生型ニカメイガで約%羽化日はほとんど差がみられなかつた(中字3図)。加温飼育結果と同様、自然条件下でも1回発生型と2回発生型で差はみられなかつた。野外における成虫発生よりもかなり早く発蛾がみられるのは、プレハブ室内の气温が野外の气温よりも高かつたためと考えられた。岸野(1970.9.6)は秋田県における年1回発生型ニカメイガは2回発生型にくらべ、後休眠間発育は遅いことを報告しており、秋田県と岡山県における1.2回発生型成立棲構に遅いがあるようみえた。昭和45年から49年、5年間の倉敷と蒜山原の最高最低の月別平均气温はオ2表に示す通りである。 $12^{\circ}\text{C}$ になる時期は倉敷において最高气温は3月中旬

最低気温は5月上～中旬であるか、蒜山の上長田では3月下旬から4月上旬、最低気温は5月下旬から6月上旬である。2回発生地帯にくらべ、1回発生地帯の春から夏にかけての低温により、休眠が破れたあとの発育遅延により、実際の野外での発蛾日は1回発生型では、2回発生型にくらべ1ヶ月以上遅くなり、後休眠期における気温の地域差が年1回発生の一原因となつてゐるものと考えられた。

### 第3節 年1・2回発生型ニカメイガの発育比較

前節で年1回発生型ニカメイガは2回発生型ニカメイガにくらべ、秋早く休眠に入り、後休眠間発育は2回発生型と変わらないが、春から夏にかけての低温により発蛾が遅れ、蒜山原地方では年1回しか発生しないことが明

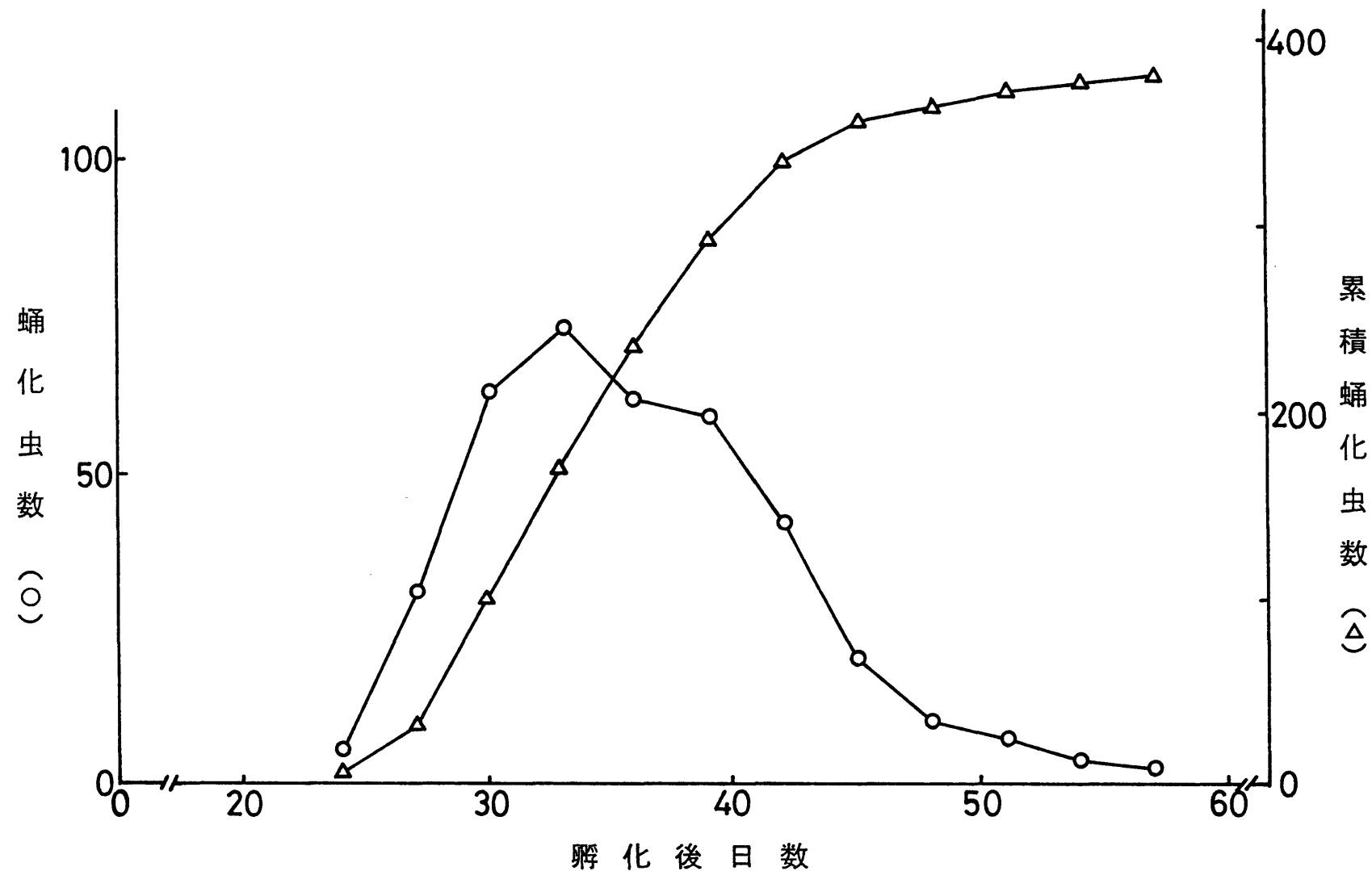
らかになつた。さらに、これらの点を確かめるために、夏世代における幼虫の発育速度、ならびに日長の影響について調査した。

### 材料および方法

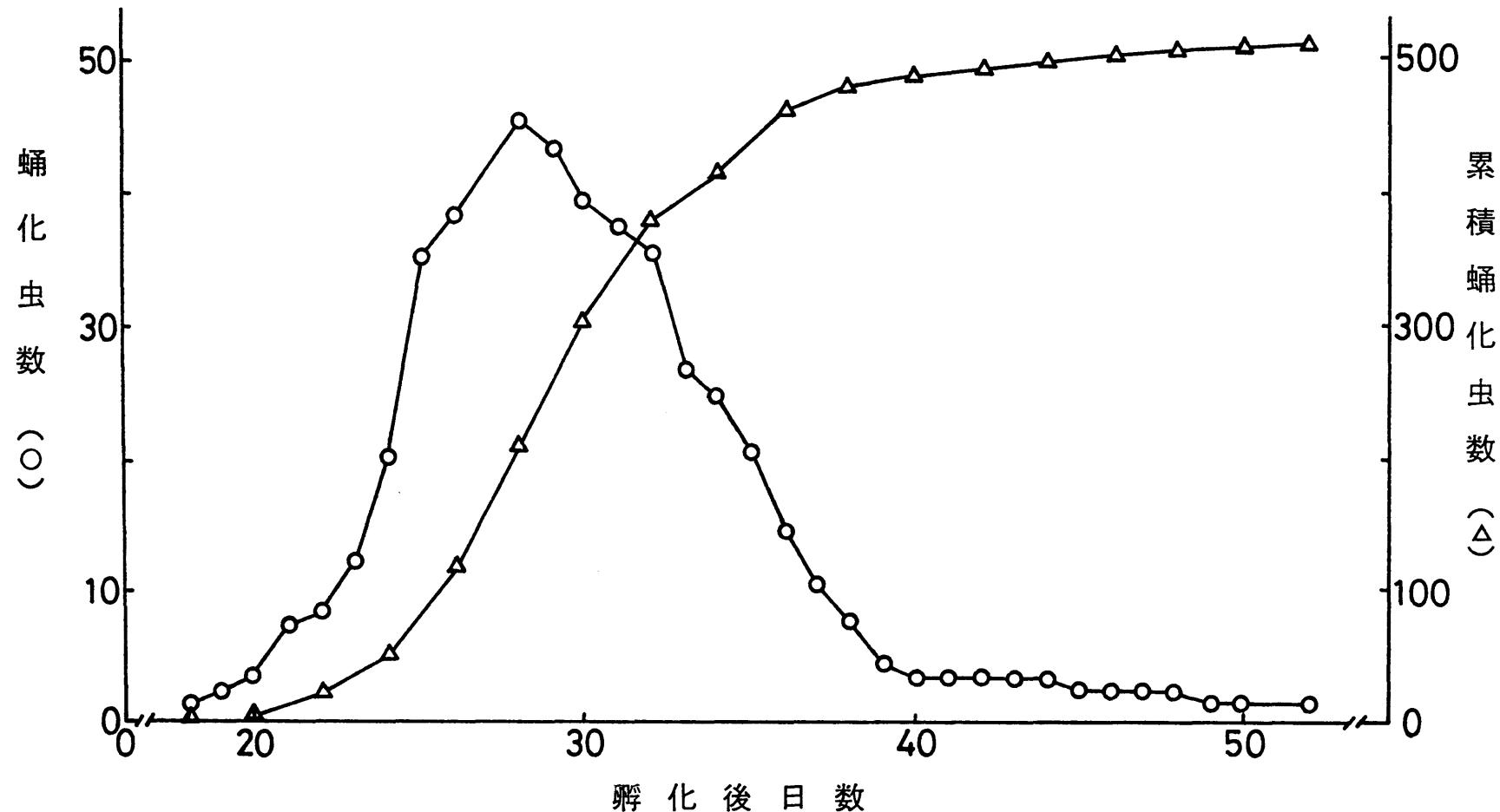
年1回発生型ニカメイカは蒜山原（岡山県真庭郡中和村）より秋越冬幼虫を採集し、前記フーレハブ室で越冬させ、翌春羽化成虫を集め採卵させた。2回発生型ニカメイカは倉敷近郊の岡山県浅口郡船穂町でオ1世代成虫を集め採卵させた。前世代の影響をなるべく少なくするために、オ1世代幼虫を稚芽出し苗で $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、長日条件で室内飼育し、得られ成虫より産下された卵を実験に供した。

### 結果および考察

オ2世代目にあたる幼虫を $27 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、長日条件で飼育した時の孵化から蛹化までに要す



第4図  $27 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 長日条件(16L、8D)下での年2回発生型(船穂産)ニカメイガ幼虫期間  
 (○) 蛹化虫数 (△) 累積蛹化虫数



第5図  $27 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 長日条件 (16 L、8 D) 下での年1回発生型(蒜山原産)ニカメイガ幼虫期間  
 (○) 蛹化虫数 (△) 累積蛹化虫数

る日数をオフ、5回に示した。50%蛹化に要する日数を比較してみると、2回発生型の幼虫期間は1回発生型にくらべ約1週間長かった。岸野(1970a)は秋田県における年1回発生型ニカメイガの蛹化前期には、2回発生型にくらべ長いことを報告しており、秋田県と岡山県のニカメイガで異なっていた。オホ表は27±1°Cにおける日長の影響について調査した結果である。年1回発生型の臨界日長は2回発生型にくらべ長日側にあり、た。前節により薪山原では7月下旬から8月上旬にかけて孵化した幼虫は、9月上・中旬にはすでに終令幼虫に達しており、気温がまだ発育に充分であるとみられるにもかかわらず、蛹化しないで休眠幼虫となることを明らかにした。岡山県地方での日長時間は、8月の下旬野外での可照時間は日の出から日の入りまで13時間、それに薄明、薄暮各30分を加算した場合は14時間となる。14時間照明下で飼育した時、年1回発生型ニカメイガはすべて休眠に入

第3表 幼虫休眠誘起に及ぼす日長の影響

日 長	非 休 眠 型 (%)		休 眠 型 (%)	
	明 暗	蒜山原産	倉 敷 産	蒜山原産
16 8		98	99	2
14 10		0	40	100
10 14		0	9	100
				91

飼育温度 27 ± 1 °C

ることから、蒜山原地方では気温よりも日長が優先し、オ1世代幼虫は蛹化することなく休眠に入り、年1回発生となるものと考えられた。

### 要 約

冬期ニカメイカ幼虫の野外における休眠開始時期と、休眠覚醒時期について明らかにするとともに、岡山県蒜山原地方の年1回発生型と南部の年2回発生型ニカメイカの休眠様相、すらばに発育の違いについて比較検討した。

①越冬幼虫を加温飼育した結果、岡山県倉敷地方の年2回発生型ニカメイカは、冬期11月下旬から12月上旬休眠に入り、1月下旬から2月上旬休眠が破れるものと推定された。

②年1回発生型ニカメイカは年2回発生型にくらべ休眠に入る時期が早く、11月上旬に

はすでに休眠に入っていた。一方、休眠覚醒は両発生型で差がみられなかつた。

③夏世代における幼虫の発育速度ならびに感光性を比較したところ、年1回発生型の方が蛹化前期間は短かつた。臨界日長は1回発生型の方が2回発生型にくらべより長日側にあつた。

④以上の結果から、年1回発生型ニカメイガは夏世代の幼虫の発育がよいものの、春から夏の低温により羽化がおくれ、しかも臨界日長がより長日側であることから、日長が優先して秋早く休眠に入ることにより、年1回発生となるものと考えられた。

## 第2章 ニカメイガ幼虫の耐凍性と凍結保護物質との関係

昆虫の耐凍性については当初、虫体内の含水量の減少により、氷結点が低下し、凍結の害から保護されると考えられていた（ハムシの一一種 Leptinotarsa decemlineata の成虫, Fink, 1952 ; バッタの一一種 Chortophaga viridifasciata の幼虫, Bodine, 1923）。また、昆虫の耐寒性の獲得にコロイド粒子、塩、イオン等と結合して“る水”結合水”説（ヤママユガの一一種 Telea polyphemus の蛹, Robinson, 1927, 1928）が提唱されたが、この説で昆虫の凍結温度の変化を説明することが不可能であることが明らかになった（タマバエの一一種 Eurosta solidaginis の幼虫, Salt, 1956 ; 朝比奈, 1959）。その後、昆虫は冬期になると glycerol や sorbitol 等の糖アルコールを積極的に体内に蓄積し（蚕の卵, Chino, 1957a, b, 1958 ; セクロピア蚕の蛹, Wyatt and Meyer, 1959），これらの凍結保護物質により細胞の凍結、脱水が阻止され、凍結

の害から保護されることが報告され、Salt (1961), Asahina (1969) により総説されてい。る。

本章ではニカメイガ越冬中の耐凍性の変化を調べ、水分含量、糖、アミノ酸、glycerol, glycogen の含量変化との関連を調査し、耐凍性がないうと思われる発育中の幼虫と比較した。

#### オ 1 節 耐凍性の変化と凍結点

ニカメイガの発生分布を考える上で、冬期の越冬幼虫の耐凍性が問題となる。我国ではニカメイガは北海道南部にまで発生がみられ（八木, 1934; 深谷, 1950; 河田, 1952; 加藤, 1950）。このことは、ニカメイガ越冬幼虫が冬期の低温によく耐えて生存できることを意味している。朝比奈 (1959), Asahina (1969) によリイラカをはじめとして多數の昆虫で耐凍性とglycerol をはじめとする凍結保護物質との関係について調査されている。ニカメイガ幼虫の耐凍性

についてはこれまで越冬休眠幼虫でのたゞ一例報告がある（朝比奈，1959）のみで、冬期の他の休眠期の幼虫については不明である。

そこで、ニカメイガ幼虫の越冬中の耐凍性の変化について調査するとともに、年1回発生型と2回発生型についても比較した。

### 材料および方法

供試虫：ニカメイガ越冬幼虫の2回発生型は、当研究所圃場より採集した。蒜山原産1回発生型ニカメイガは、越冬幼虫を9月下旬から10月上旬に株ごと採集し、オ1章と同様のアーレハブ室に放置し、必要に応じて供試し比較検討した。越冬幼虫と比較するために倉敷産ニカメイガを、オ1章オ1節と同様の方法により稻芽出し苗を用い、 $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  長日条件(16L, 8D)で飼育した非休眠終令幼虫も用いた。

耐凍性：直径5cmのシャーレに5頭ずつ入れ

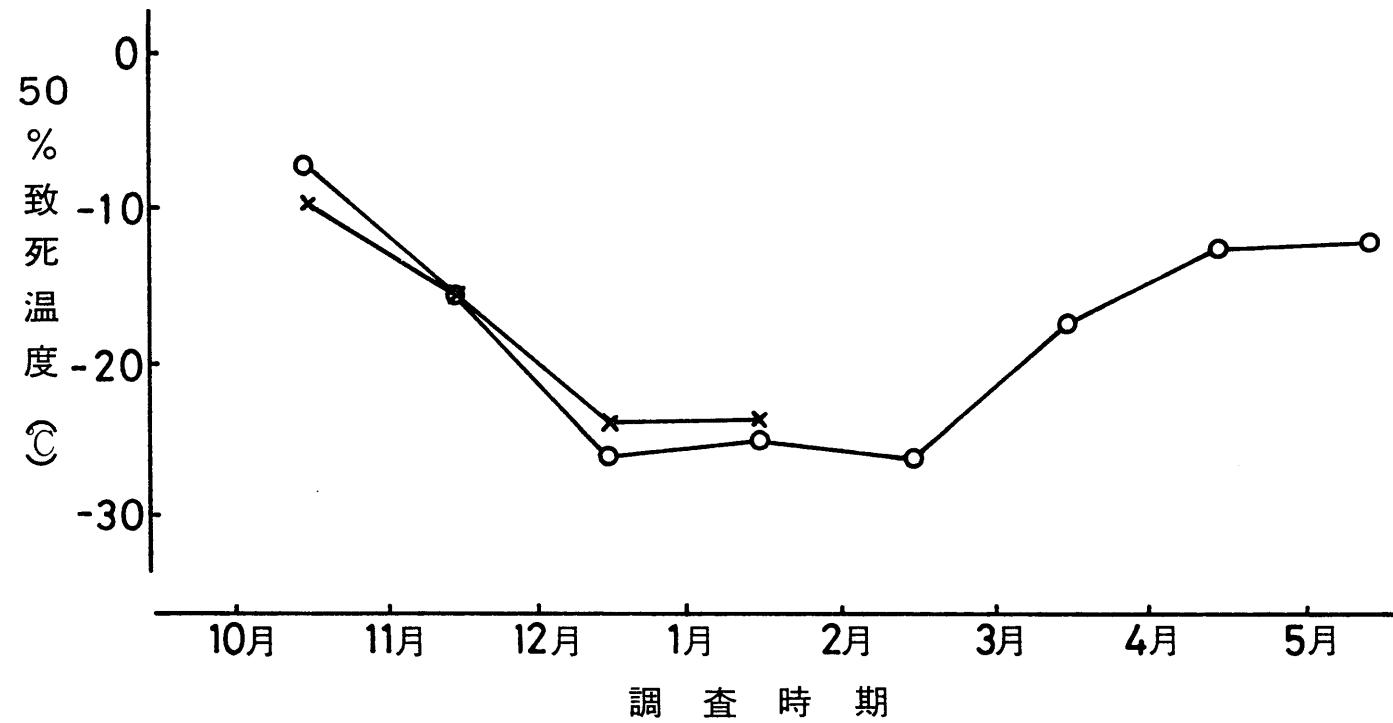
さらに直径15cmのテシケーターに入れ、低温器（タバイ製PR-I型恒温恒湿器：-40°Cまで可能）に保存し、24時間後テシケーターごととり出し実験室に放置し、翌日死亡数を計数した。 $0^{\circ}\text{C}$  ~  $-30^{\circ}\text{C}$  の範囲内で各 $5^{\circ}\text{C}$  キサミの温度区を設け、50%致死温度を求めた。

凍結点：ニカメイカ幼虫を収容したテシケーターの側壁の直径2cmの穴より、コンスタンタン-銅線の熱電対の先端を入れ、ゴム栓でその穴をふさいだ。テシケーター内の温度が $0$  ~  $5^{\circ}\text{C}$  になり、中のニカメイカ幼虫が低温により、ほとんど動かなくなってから背板に小さな穴をあけ、熱電対の先端を体の中にさしこみ凍結点を測定した。

### 結果および考察

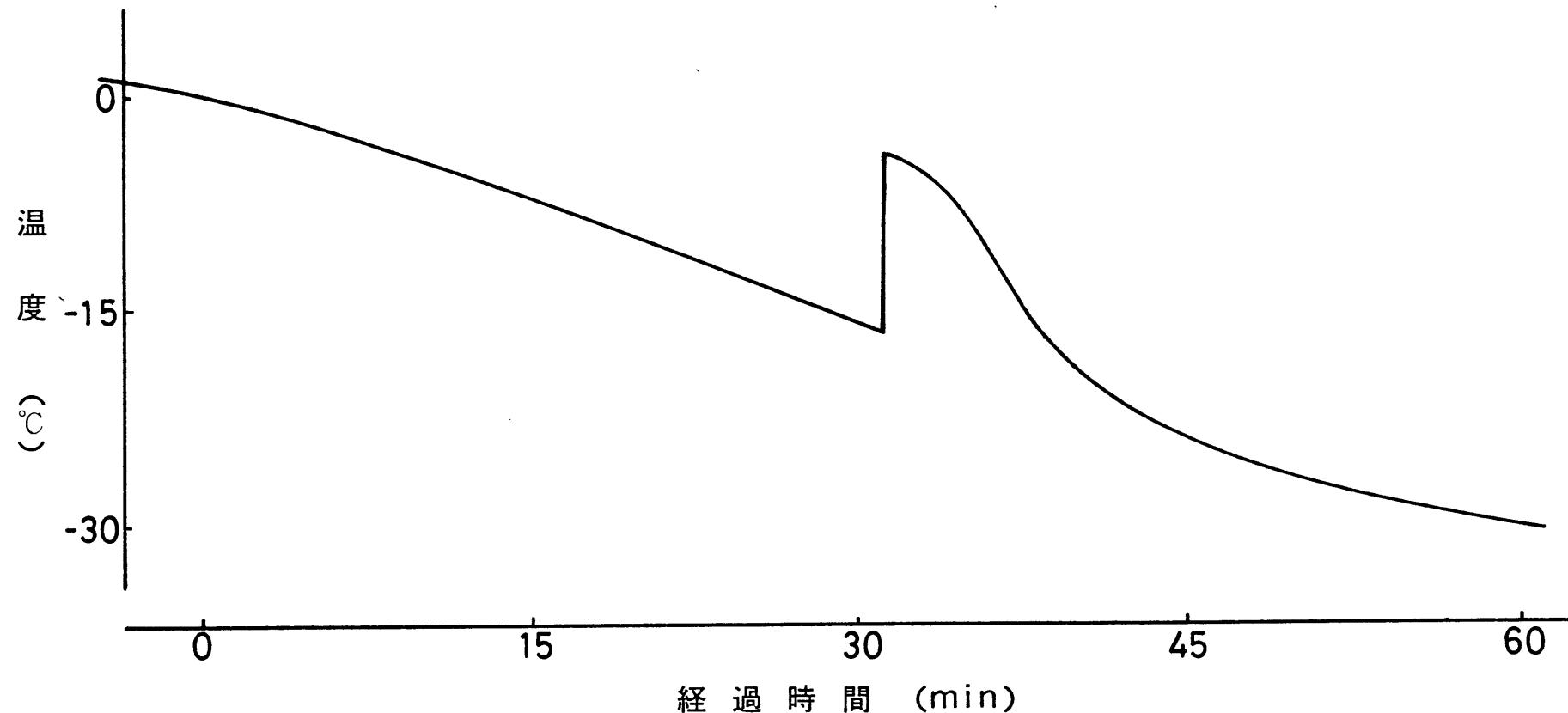
#### 耐凍性

ニカメイカ越冬中の耐凍性の変化を50%低温致死温度の変化で示した（第6図）。10月



第6図 越冬中の耐凍性の変化  
(○) 倉敷産 (×) 蒜山原産

から12月まで徐々に低温に対する耐性が高まり、12月から2月まで最も高い耐凍性を示した。すなわち、越冬休眠中  $-20^{\circ}\text{C}$  の低温では1頭も死んでしなかつたが、 $-30^{\circ}\text{C}$  では100%死んでした。朝比奈(1959)も岡山県と山形県産のニカメイガ越冬休眠幼虫で、いずれも  $-20^{\circ}\text{C}$  に一週間耐えることを報告しており、本実験結果と一致していた。発育中の終令幼虫でも  $-10^{\circ}\text{C}$  附近までは低温に対する耐性を有していた。蒜山県産の越冬幼虫を倉敷の当研究所に移して越冬させた場合の比較結果であるが、高冷地の蒜山県産と冬期比較的暖かい倉敷地方の倉敷産で耐凍性に差がみられなかった。朝比奈等(1953)はイラガの前蛹を用いて過冷却点以下で凍結した場合、長時間の凍結ならびに反復凍結の害にはよく耐えることを報告している。本実験では1日間の凍結に対する耐凍性を観察したにすぎないが、ニカメイガ越冬幼虫は冬期の低温によく耐えることができるものと推定された。



第7図 越冬休眠幼虫の凍結曲線  
横軸：0°Cを起点とした時の経過時間  
倉敷産幼虫を使用

## 凍結曲線

越冬休眠中の倉敷産ニカメイガの凍結曲線の一例をオフ図に示した。越冬休眠幼虫の過冷却点は $-15^{\circ}\text{C}$ 附近であった。直線的な温度の低下の途中で自発凍結が起つた。ニカメイガよりややかに重いアワノメイガでは過冷却点が $-25^{\circ}\text{C}$ 附近にあり(朝比奈・丹野, 1967), 本結果とくらべて低かった。両者の耐凍性がほぼ同じことから、熱電対を直接ニカメイガ幼虫の体内に挿入した結果、植氷が速く起り、充分過冷却点に達しないうちに凍結が起つたものと推定された。

## オフ節 含水量の変化

昆虫の低温に対する耐性は、かって虫体内の含水量がその昆虫の過冷却度を定める最大の要因といわれており、虫体内の含水量との過冷却能力の相関関係が、種々の昆虫で報

告されてゐる（マメコガネの幼虫，Payne, 1928；  
モンシロトクガの幼虫等，Sacharov, 1930；メイガ  
の一種 Pyrausta nubilalis の幼虫等，Ditman, 1943；朝  
比奈, 1959）。

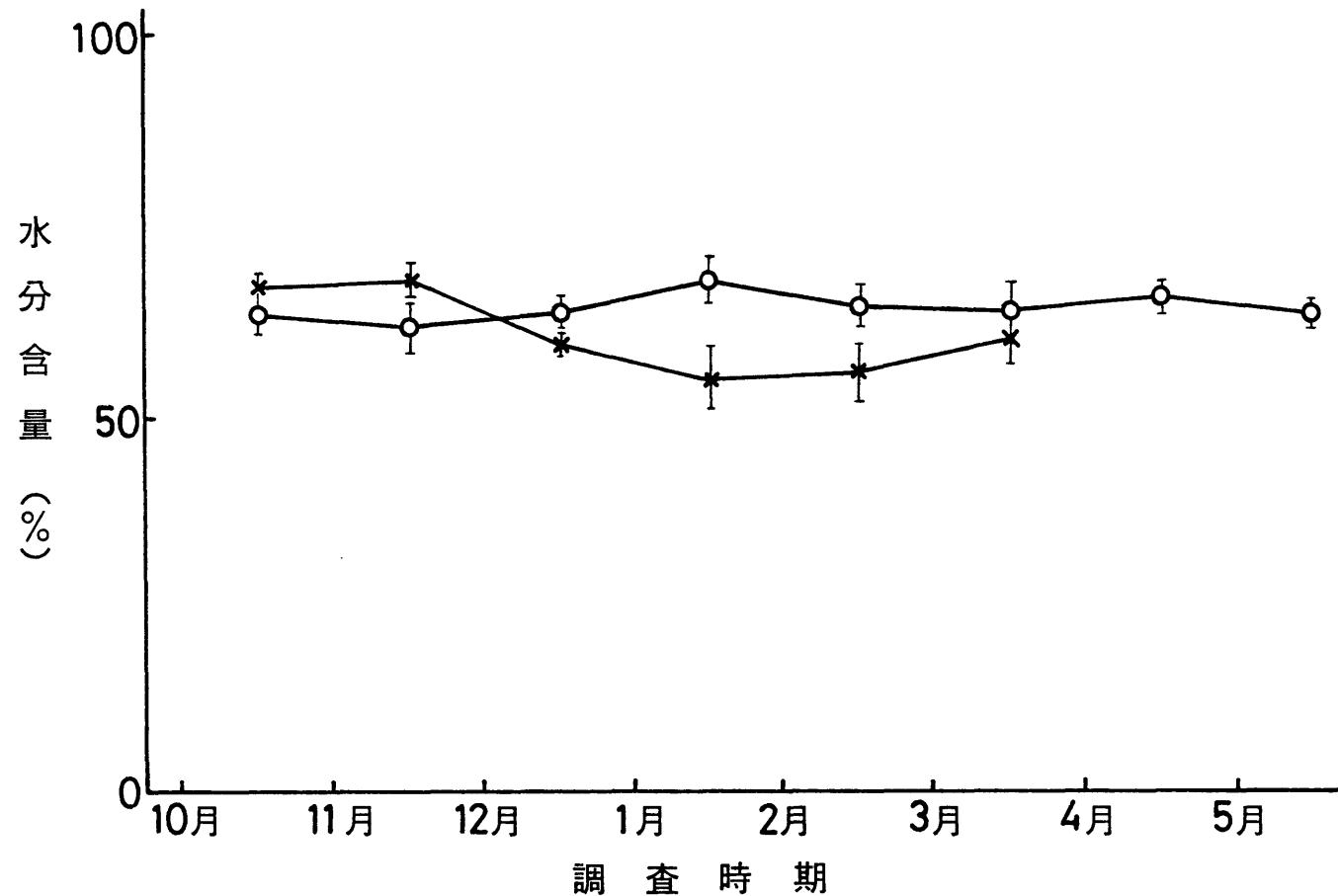
ニカメイガ越冬幼虫における越冬期間中の  
水分含量の変化について調査した。

### 材料および方法

供試虫：前節と同様、倉敷産ニカメイガ越冬  
幼虫は圃場に放置した内より採集し供試し  
た。秋刈り株とともに採集した轟山原産ニカ  
メイガ越冬幼虫はプレハブ室に保存し、必要  
に応じて刈り株より採集し供試した。

水分含量：10～15頭を秤量ひんに入れ、乾燥  
器で110℃、3時間水分を蒸発させ乾燥重が一  
定になつた後、生体重と乾燥重の差より水分  
含量を求めた。

### 結果および考察



第8図 越冬中の水分含量の変化  
(○) 倉敷産 (×) 蒜山原産  
3回反復の平均値 I, 標準誤差

倉敷産ニカメイガ幼虫において、越冬中の水分含量はほぼ 60% で一定であり、生育時の非休眠終令幼虫とほぼ同じである（图 8 参照）。一方、蒜山原産ニカメイガにおいて、冬期水分の低下がみられた。これは、9月下旬から 10 月上旬に刈り株を採集した後、前記フーレハブ室に放置したため、12 月から 1 月にかけて刈り株は非常に乾燥した。その後、刈り株の乾燥が激しいため 1 ケ月に 2 回灌水を行ない乾燥を防いだ。このため、1 月以後再び蒜山原産ニカメイガの水分含量は上昇したものと推定された。本結果は小泉（1951）が株内越冬ニカメイガで得た結果と一致していたが、ニカメイガの水分含量は周囲の外的環境の湿度によってかなり影響される（深石、1950）ものと推定された。ニカメイガは 5 ～ 6 月になると口以外に体内や体表より水の吸収が高くなる（小泉、1951, 1960; Koidsumi and Makino, 1953）ものの、冬期野外の自然条件下ではほぼ一定の水分含量を示すものと考えられた。salt (1956)

と Asahina (1969) は水分含量と過冷却温度との間には必ずしも相関関係はみられず、むしろ凍結保護物質が積極的に関与しているとした。ニカメイカ越冬幼虫においても、耐凍性と水分含量との間には相関関係はみられなかつた。

### 第3節 糖アルコール含量の変化

凍結防止剤として知られてゐる glycerol のような糖アルコールが、蚕の休眠卵 (Chino, 1957a, b, 1958) とセクロピア蚕の休眠蛹 (Wyatt and Meyer, 1959) で別々に発見されて以来、他の多くの越冬昆虫で同様に糖アルコールがみだされ、昆虫の耐凍性の構造を glycerol 又はこれと似た性質の凍結防止剤の存在により説明する試みがなされた (Salt, 1961; Asahina, 1969)。

ニカメイカ幼虫でも越冬中このような物質が存在するかどうか調査した。

## 材料および方法

供試虫：ニカメイカ越冬幼虫ならびに  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  長日条件 (16L, 8D) と短日条件 (10L, 14D) で飼育した幼虫を供試した。

Glycerol の抽出：ニカメイカ幼虫の背板を昆虫針で穴を開け、体液を氷冷したガラス管の中に集めた後、リンケル液 ( $\text{NaCl}$  11.2g,  $\text{KCl}$  0.24g,  $\text{CaCl}_2$  0.27g,  $\text{NaHCO}_3$  0.2g / 1l 蒸溜水) あるいは 0.7%  $\text{NaCl}$  中で解剖し、消化管、脂肪体、その他残り組織に分けた。沪紙で余分の水分を除いたあと、各組織を秤量し、80% ethanol を加え、ガラス製ホモジナイサーで磨碎した。80°C で 5 分間加熱し、冷却後一夜約 4°C に置いた。3,000 r.p.m. で 10 分間遠心し、その上清をペーパークロマトグラフィーと薄層クロマトグラフィーにより分離した。体液は 0.1 ml 当り 0.9 ml の 80% ethanol を加え、80°C で 3 分間加熱した。冷却後遠心し、その上清を同定・定量試料として

用いた。

Glycerol の分離・同定・定量：上記試料 0.05 ml をペーパークロマトグラフィー（東洋沪紙、No.51A, 20×20 cm）と薄層クロマトグラフィー（メルク製シリカゲル G に 2 倍量の蒸溜水を加えよく懸濁し、20×20 cm のガラス板にうすく延ばし風乾した。使用前に 100°C で 30 分間加熱し、活性化してから用いた）により、展開分離した。展開溶媒はペーパークロマトグラフィーには butanol : pyridine : 蒸溜水 = 6 : 4 : 3 (v/v) と phenol : 蒸溜水 = 5 : 1 (v/v) を、薄層クロマトグラフィーには butanol : acetone : 蒸溜水 = 4 : 5 : 1 と chloroform : methanol = 6 : 4 (v/v) を用いた。

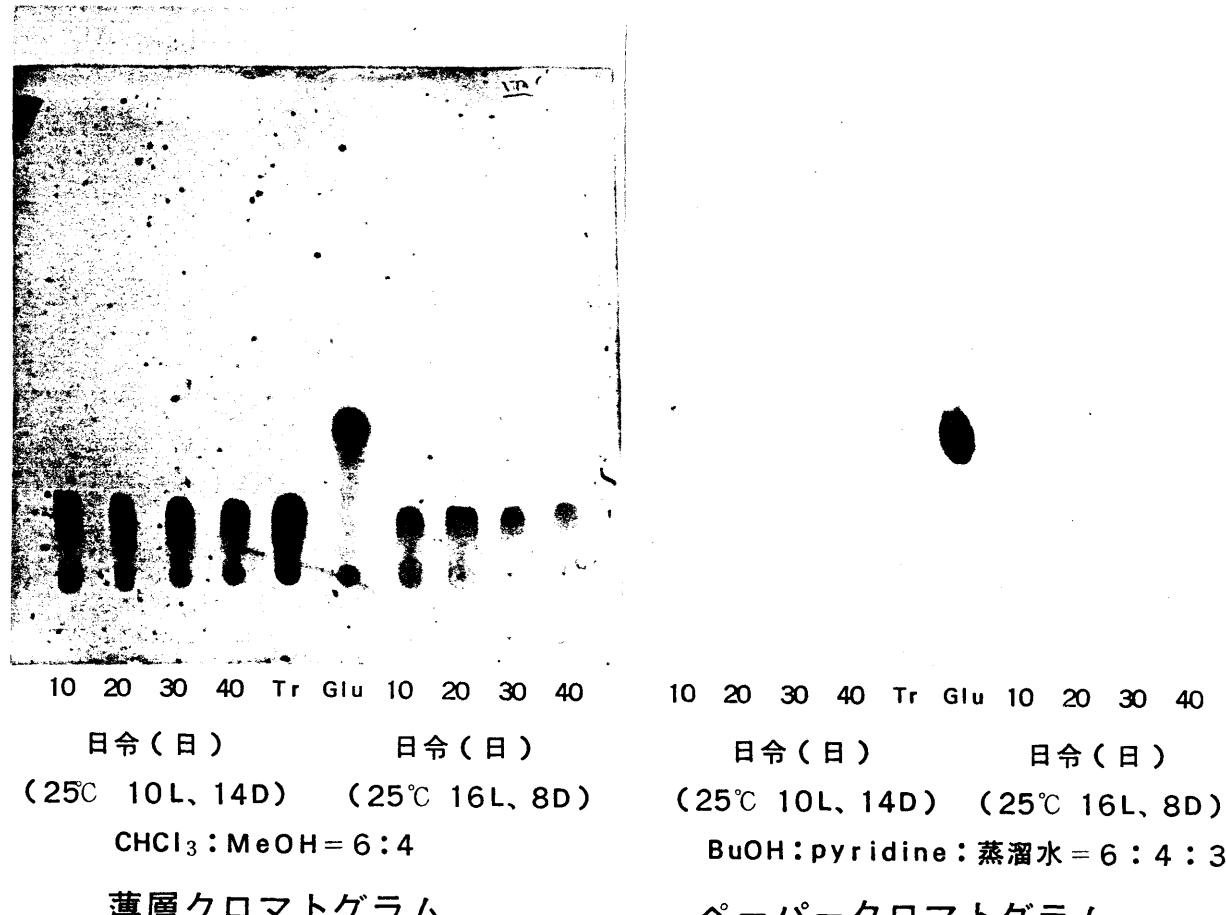
Glycerol の検出には  $\text{AgNO}_3 \cdot \text{acetone}$  試薬を散布した後、NaOH ethanol 液を散布して発色させた (Trevelyan, 1950)。沪紙の両端に既知の glycerol を塗布し、中央にニカメイが抽出試料を塗布した。上記展開溶媒で分離後、両端を切り取り  $\text{AgNO}_3$  試薬で発色させた。両端の既知の glycerol の  $R_f$  値

より、ニカメイが抽出試料の glycerol にあたる位置を切り取り、5 ml の 80% ethanol で薄紙より glycerol を抽出し、その抽出液中の glycerol を Fletcher (1968) の方法を改良して定量した (Tsumuki and Kanehisa, 1978)

定量方法は上記 80% ethanol 抽出液 1 ml に sodium metaperiodate 溶液 (0.025M sodium metaperiodate 1N acetic acid 濃度 12 ml を 0.1N acetic acid で 100 ml に稀釀した溶液) 1 ml を加え、よく混和した後 10 分間実験室に置いた。さらに、acetyl acetone 溶液 (0.75 ml acetyl acetone を 100 ml の 2 M ammonium acetate に溶解) 2 ml を加え、37°C で 40 分間反応させ、流水で冷却後 415 nm で比色定量を行なった。

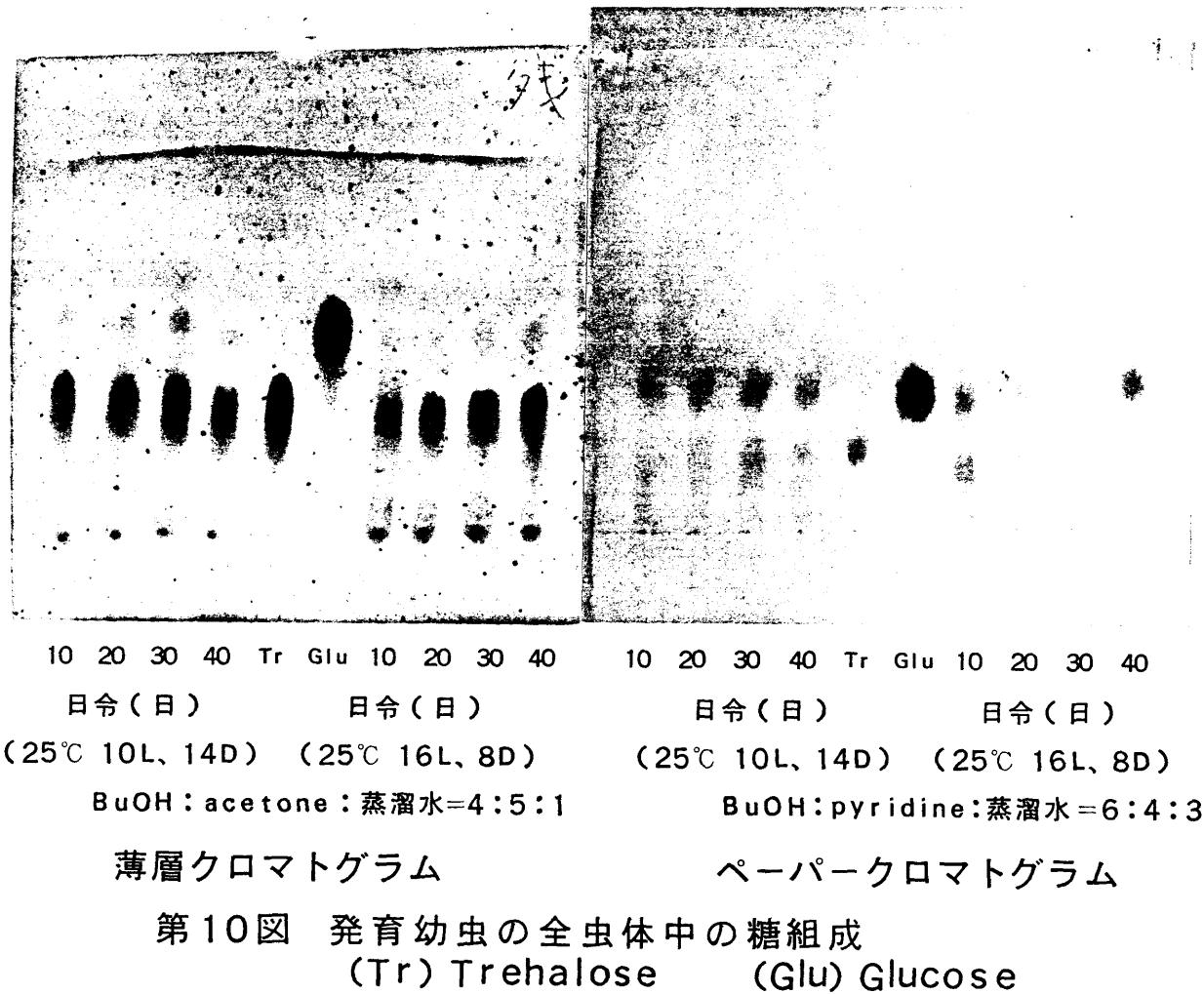
### 結果および考察

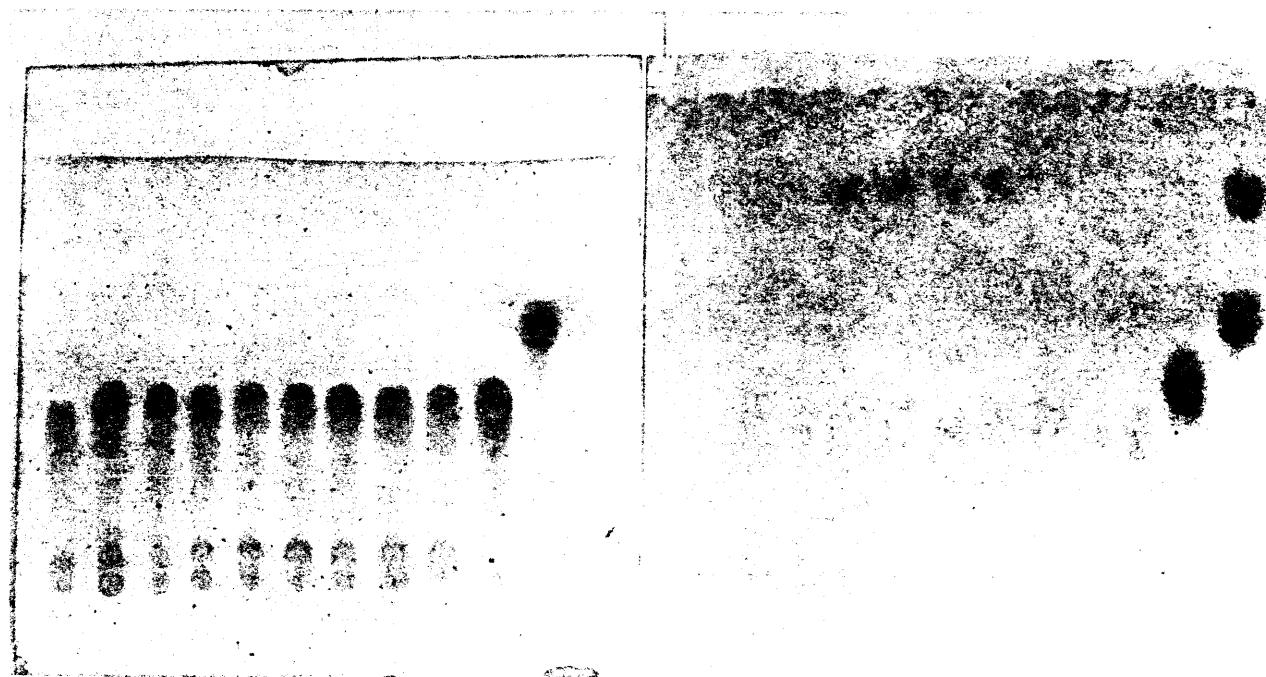
ニカメイが越冬幼虫ならびに発育中の幼虫の体内に糖アルコールが存在するかどうか最初に同定しておく必要がある。オウムロコロマトグラフィーとペーパークロマト



第9図 発育幼虫の体液中の糖組成

(Tr) Trehalose (Glu) Glucose





9月 10月 11月 12月 1月 2月 3月 4月 5月 Tr Glu Gly  
採集月 So

BuOH:acetone:蒸溜水 = 4:5:1

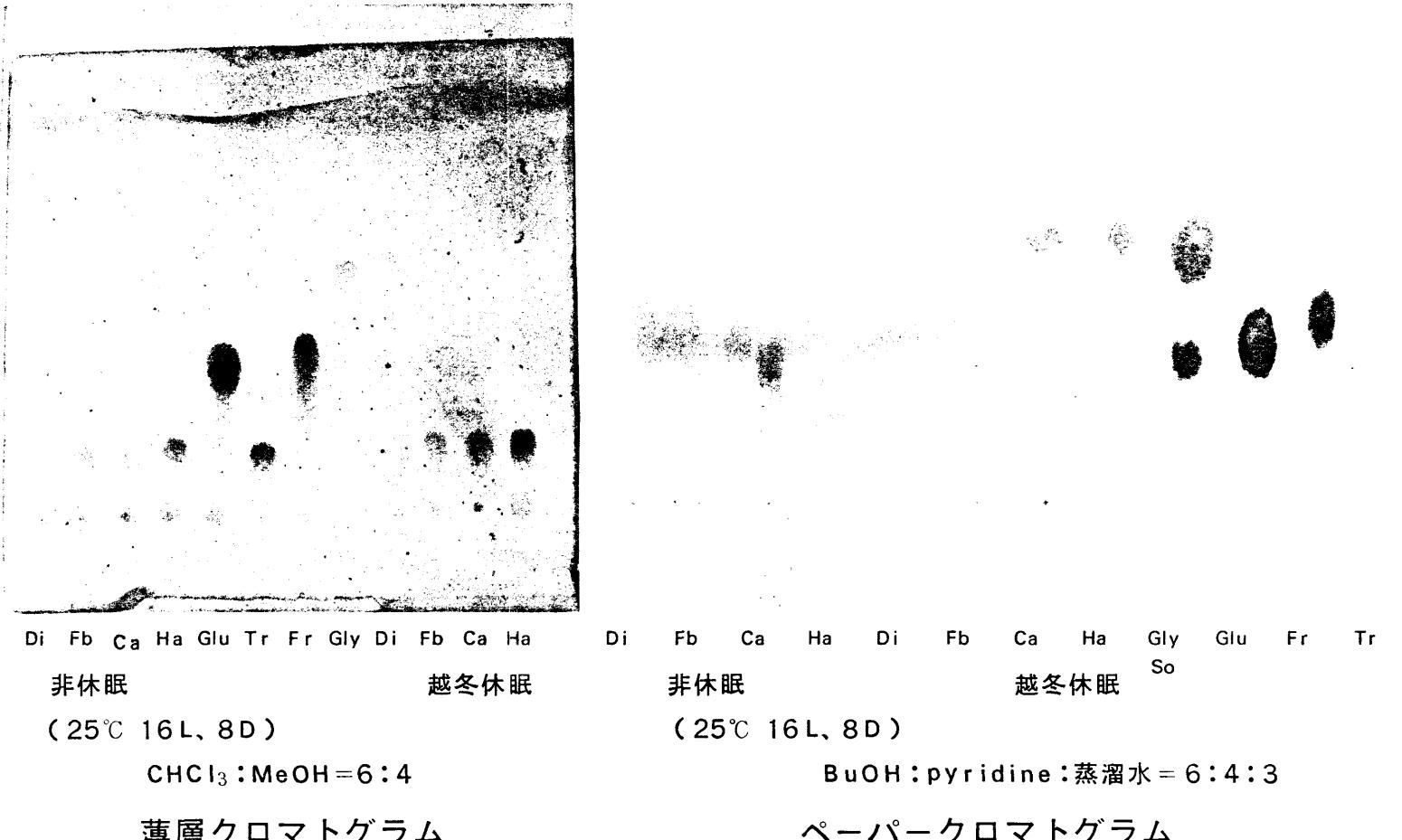
薄層クロマトグラム

9月 10月 11月 12月 1月 2月 3月 4月 5月 Tr Glu Gly  
採集月 So

phenol:蒸溜水 = 5:1

ペーパークロマトグラム

第11図 越冬中の体液中の糖組成  
(Tr) Trehalose (Glu) Glucose (Gly) Glycerol (So) Sorbitol

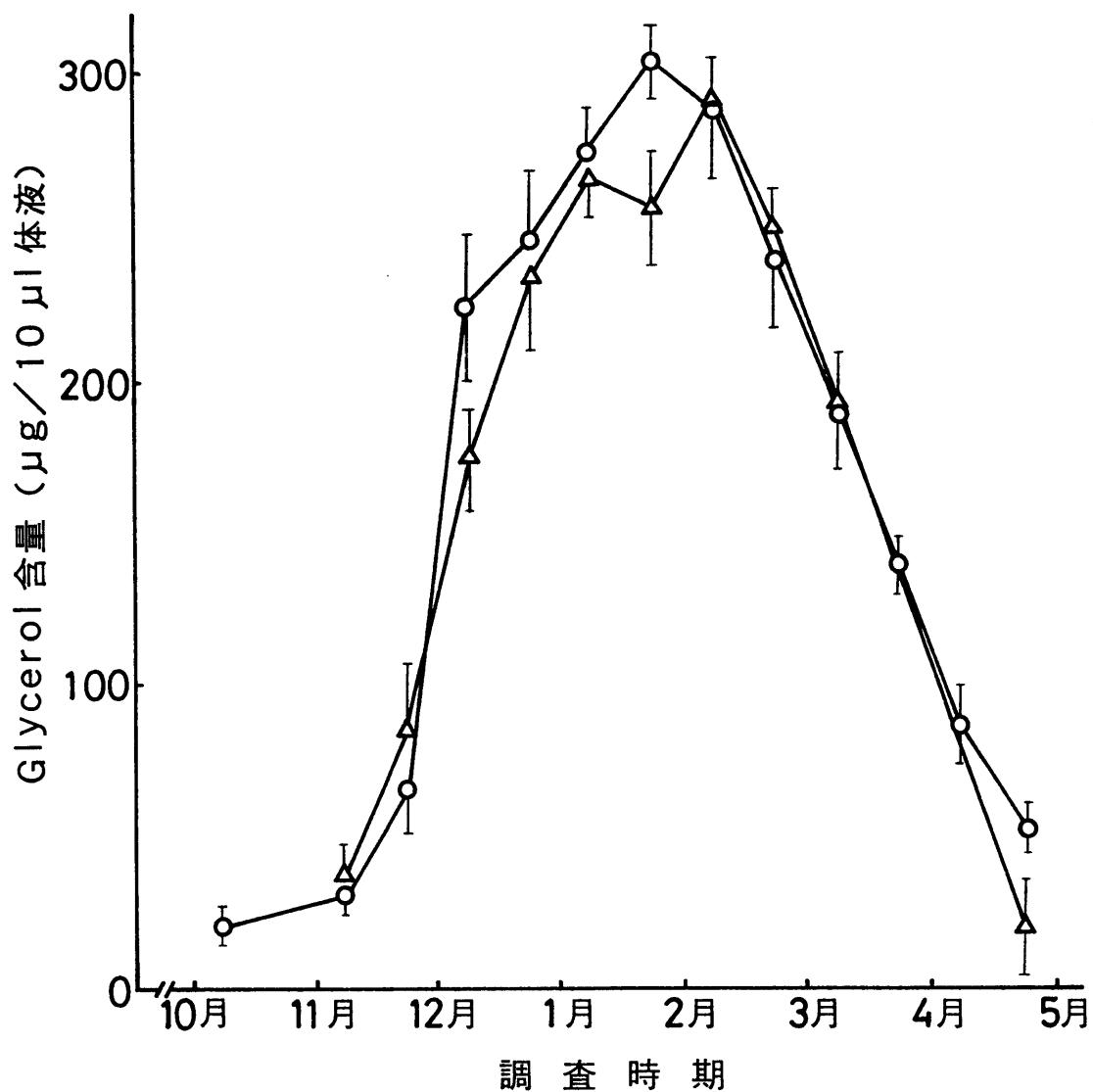


第12図 非休眠終令幼虫と越冬休眠幼虫の各組織中の糖組成  
 (Glu) Glucose (Tr) Trehalose (Gly) Glycerol (So) Sorbitol  
 (Fr) Fructose (Di) 消化管 (Fb) 脂肪体 (Ha) 体液 (Ca) 残り組織

グラフの一の結果を示した。越冬幼虫では glycerol が検出されたが、 $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  短日条件 (10L : 14D) で飼育された幼虫は休眠誘起される (岸野, 1969) にもかかわらず glycerol は検出されなかつた。なお、蚕の休眠卵で検出されている sorbitol (Chino, 1957a, b, 1958; 柳沼・山下, 1977) は、ニカメイカ越冬休眠幼虫では検出されなかつた。

同一試料を前記二種類の展開溶媒で展開し、glycerol を抽出し測定したところ、展開溶媒による差はみられなかつた。Glycerol の定量には展開後の操作が容易なことと、各種の糖と glycerol の分離が良いことから、ペーパークロマトグラフィーの展開溶媒として butanol : pyridine : 蒸溜水 = 6 : 4 : 3 (v/v) を用いた。

第13図は体液中の glycerol 含量の越冬中の変化を示したものである。前節で耐凍性の高かつた12月から2月までの体液中の glycerol 含量は非常に高かつた。蒜山原産と倉敷産で glycerol 含量に差がみられなかつた。組織別にみると



第13図 越冬中の体液中のglycerol含量の変化  
 (○) 倉敷産 (△) 蒜山原産  
 3回反復した平均値 I, 標準誤差

第4表 越冬幼虫の組織中のglycerol含量

	Glycerol 含量 ( $\mu\text{g}/10\text{mg}$ 組織)	
	休眠 a	後休眠 b
脂 肪 体	34.6	11.2
消 化 管	177.2	52.4
残 り 組 織	50.2	49.5

a Glycerol 含量は1月28日に測定

b Glycerol 含量は3月12日に測定

3回反復の平均値

休眠中体液と消化管で glycerol 含量が高く、脂肪体とその他残り組織では低かった（オ 4 表）。後休眠期になると残り組織を除いていすれも glycerol 含量は低下した。

以上の結果より、他の昆虫で知られているように（Salt, 1961 ; Asahina, 1969 ; キカツムシの一種 Pytho depressus 成虫, Zachariassen, 1979），ニカメイが越冬幼虫でも耐凍性と glycerol 含量との間に高々相関関係がみられた。しかしながら、12月から1月にかけて glycerol 含量は増加するにもかかわらず、耐凍性はほぼ一定であった（オ 6 図）。すなむち、glycerol が体液中に 2% 蒸留されると耐凍性は一定になるものと推定された。発育中の昆虫に glycerol を注射しても耐凍性は変化しない（アゲハチョウの蛹、丹野, 1963）し、過冷却点もわずかに低下がみられるのみである（スジマタラメイの幼虫, Sømme, 1966）。以上の点から耐凍性を glycerol 含量の変化だけで説明できなものと考えられた。

## 第4節 炭水化物含量の変化

前節でニカメイガ越冬幼虫の耐凍性の変化と、glycerol含量の変化との間には非常に高い相関関係がみられた。しかししながら、休眠中のガレも耐凍性の変化と、glycerol含量の変化は一致しなかった。丹野(1964, 1965)はツヤハナバチやポプラハバチで、冬期耐凍性が高くなるにとかかわらず、糖アルコールはほとんどみられず、glucose, fructose, trehalose含量が逆に非常に高くなり、これらの糖が耐凍性に関与していることを推定している。

一方、Chino (1957a, b, 1958) は蚕の休眠卵で、Wyatt and Meyer (1959) はセウロヒア蚕の休眠蛹で、それぞれ glycerol は glycogen から由来し、休眠中増加することを報告している。

ニカメイガ越冬幼虫における糖含量ならびに glycogen 含量の変化を調査し、耐凍性と糖の

相互関係、ならびに glycogen と glycerol の相互関係について調査した。

### 材料および方法

供試虫：ニカメイガ越冬幼虫ならびに  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、長日条件 (16L, 8D) と短日条件 (10L, 14D) で飼育した幼虫を供試した。

糖と glycogen の抽出：前節と同様の方法にて、全虫体あるいは各組織と 80% ethanol とともに磨碎し、遊離の糖を抽出した。80% Ethanol 抽出後の沈殿物に 5% trichloroacetic acid (TCA と略記) 5 ml あるいは 10 ml を加え  $100^{\circ}\text{C}$  で 10 分間加熱した。流水で冷却し、1 晩約  $4^{\circ}\text{C}$  に置いた後、3,000 r.p.m. で 10 分間遠心し、その上清を glycogen の測定試料として用いた。

全糖の定量と同定：80% Ethanol 抽出液ならびに 5% TCA 抽出液 0.5 ml をとり、4 ml の 2% anthrone  $\text{H}_2\text{SO}_4$  を加え  $80^{\circ}\text{C}$  で 30 分間加熱、発色させ、620 nm で比色定量した (山下・長石川, 1964)。濃度場

合にはそれぞれの溶媒で抽出液をあらかじめ稀釀してから測定した。

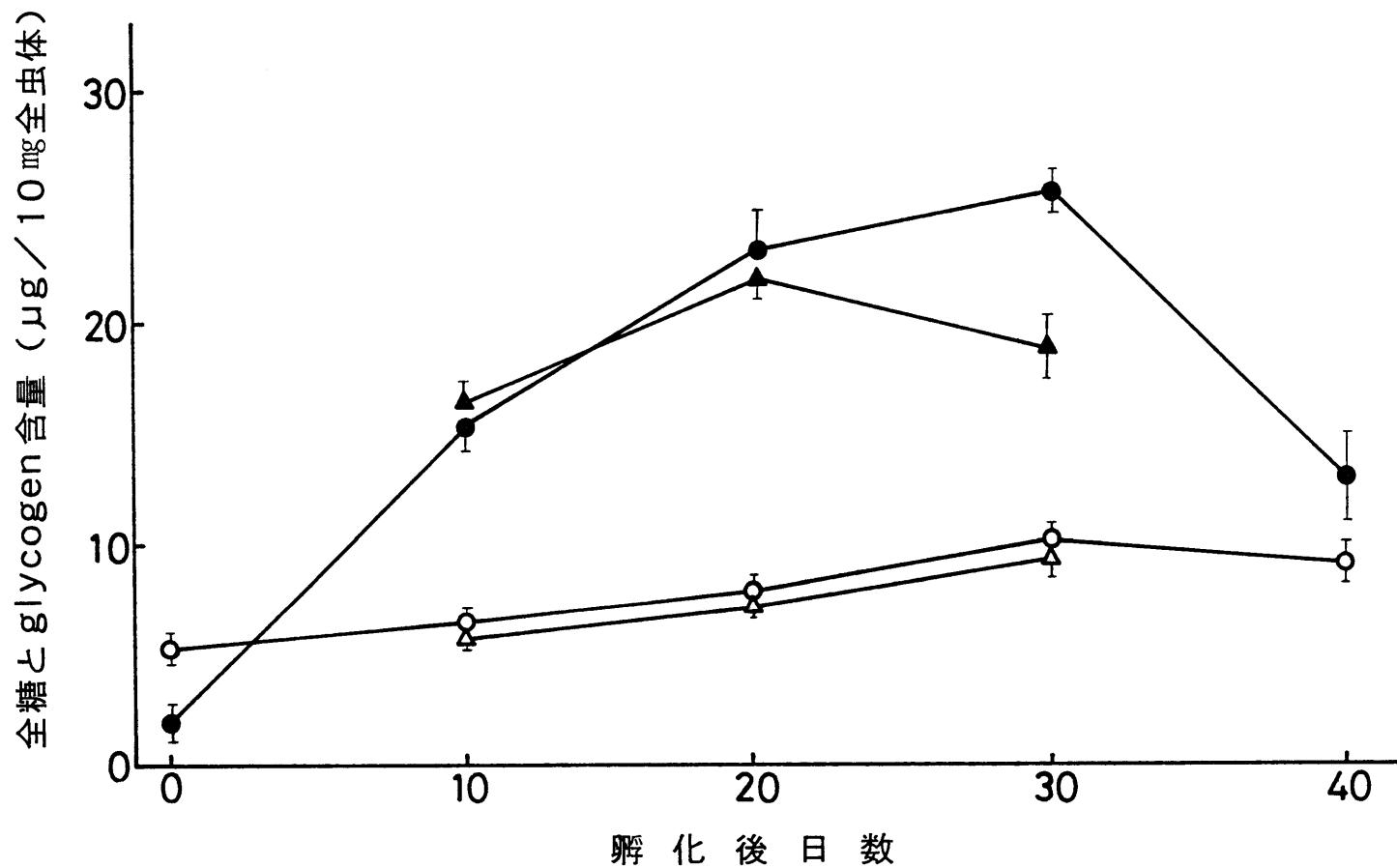
80% Ethanol で抽出される糖の組成は前節と同様、全糖量測定後減圧下で ethanol と水分を蒸発乾固させた。少量の 80% ethanol を加え再び全糖を抽出し、遠心後その上清をペーパークロマトグラフィーと薄層クロマトグラフィーにより分離した。展開後糖の定量に用いた anthrone  $H_2SO_4$  を薄層クロマトグラフィーに散布し、100°Cで10分間加熱発色させ既知の糖と対値を比較することにより糖の同定を行なった。

### 結果および考察

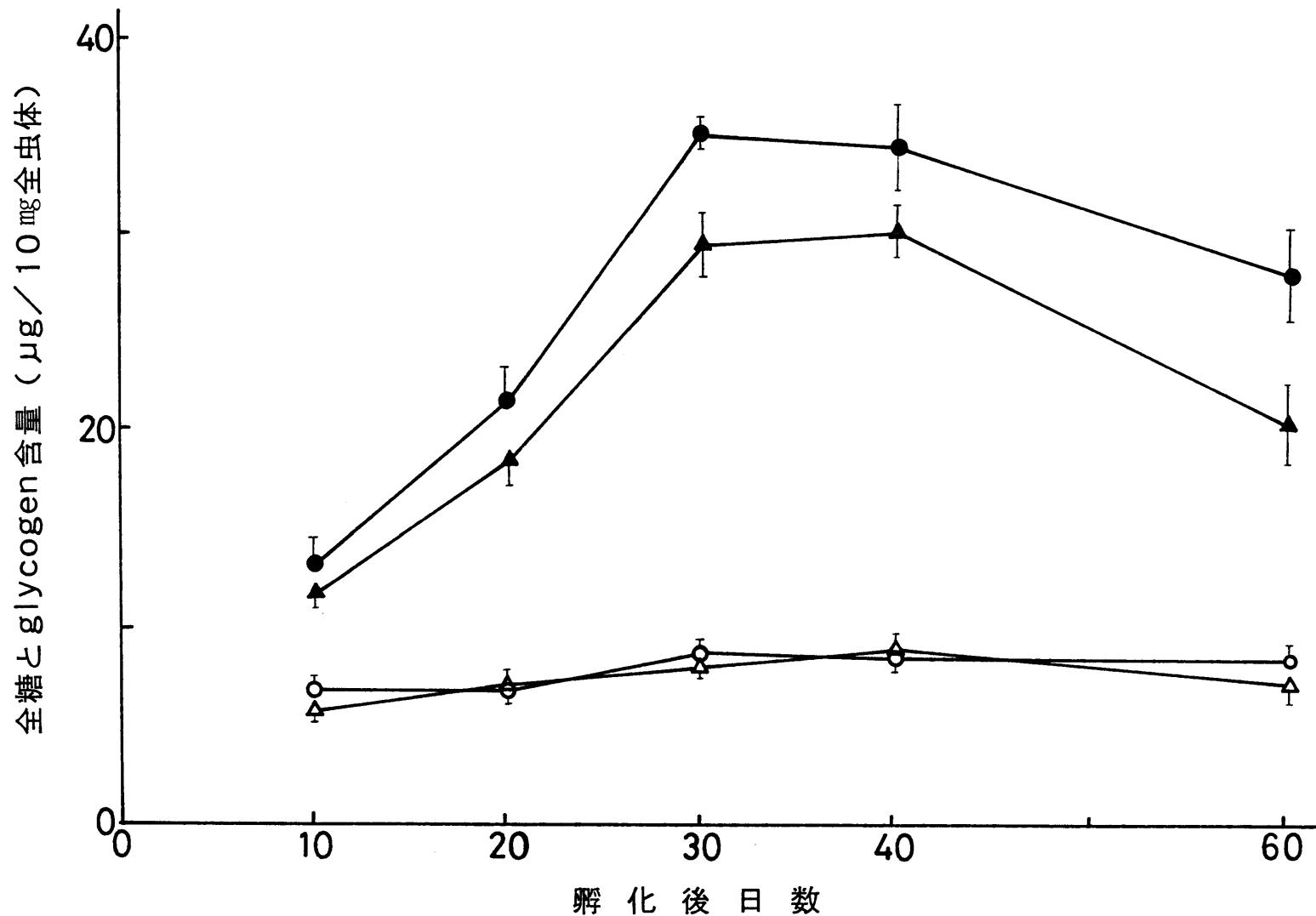
ニカメイガ幼虫では他の昆虫でよく知られている (Wyatt, 1967) ように、休眠、非休眠にかかわらず糖の組成は変らず、trehalose と glucose が大部分を占めていた (オ 10 図)。特に、体液では trehalose のみであった (オ 9 図)。組織中の trehalose 量を山下・長谷川 (1964) の方法を参

考にして、80% ethanol で抽出される trehalose 以外の糖を 0.1N  $H_2SO_4$  と 1 N NaOH で加水分解した後、anthrone  $H_2SO_4$  で測定した。Trehalose と glucose の割合は組織によって異なっていたが、全糖のうち 50% 以上を trehalose が占めていた。脂肪体より抽出された全糖は trehalose であり、glucose はほとんどみられなかった。

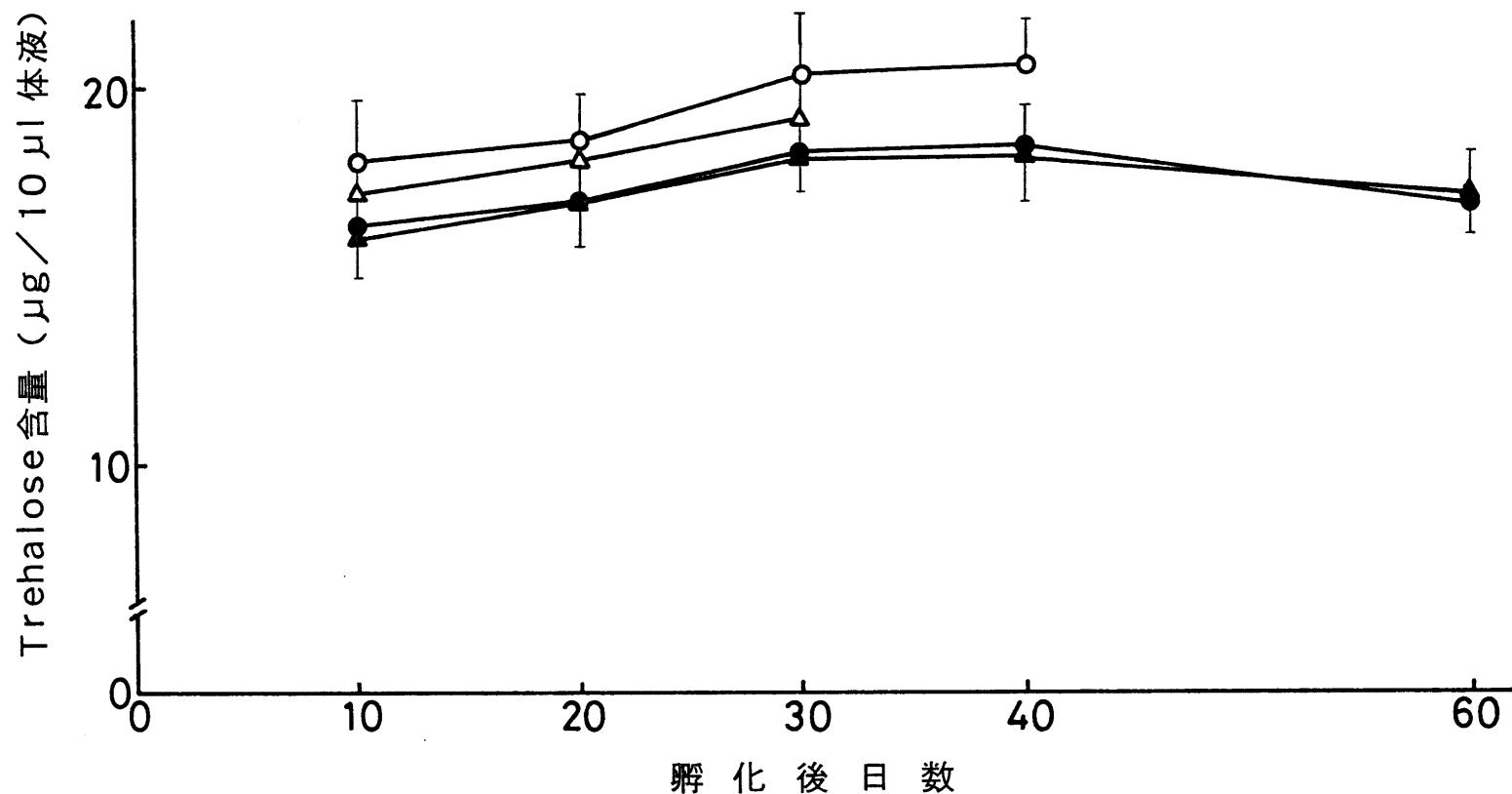
ニカメイガ幼虫の発育中ににおける全虫体の全糖量、ならびに glycogen 量の変化について調査した(第 14, 15 図)。25±2°C 飼育で休眠幼虫になるように条件付けられた短日条件の方が、非休眠幼虫になるように条件付けられた長日条件にくらべ、glycogen の蓄積は多く、ゾウムシの一種 Anthonomus grandis 成虫 (Nettles and Betz, 1965) で報告されている結果と一致した。蚕 (Zaluska, 1959) やゾウムシの一種 Anthonomus grandis (Nettles et al., 1971) ですでに報告されているように、ニカメイガにおいても非休眠幼虫が蛹化前になると、glycogen の減少がみられた。しかしながら、蛹化がみられない短日条件の休眠



第14図  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 長日条件(16 L、8 D)で飼育の幼虫の全糖とglycogen含量の変化  
 (○) 倉敷産全糖 (●) 倉敷産glycogen (△) 蒜山原産全糖  
 (▲) 蒜山原産glycogen  
 4回反復の平均値 I, 標準誤差



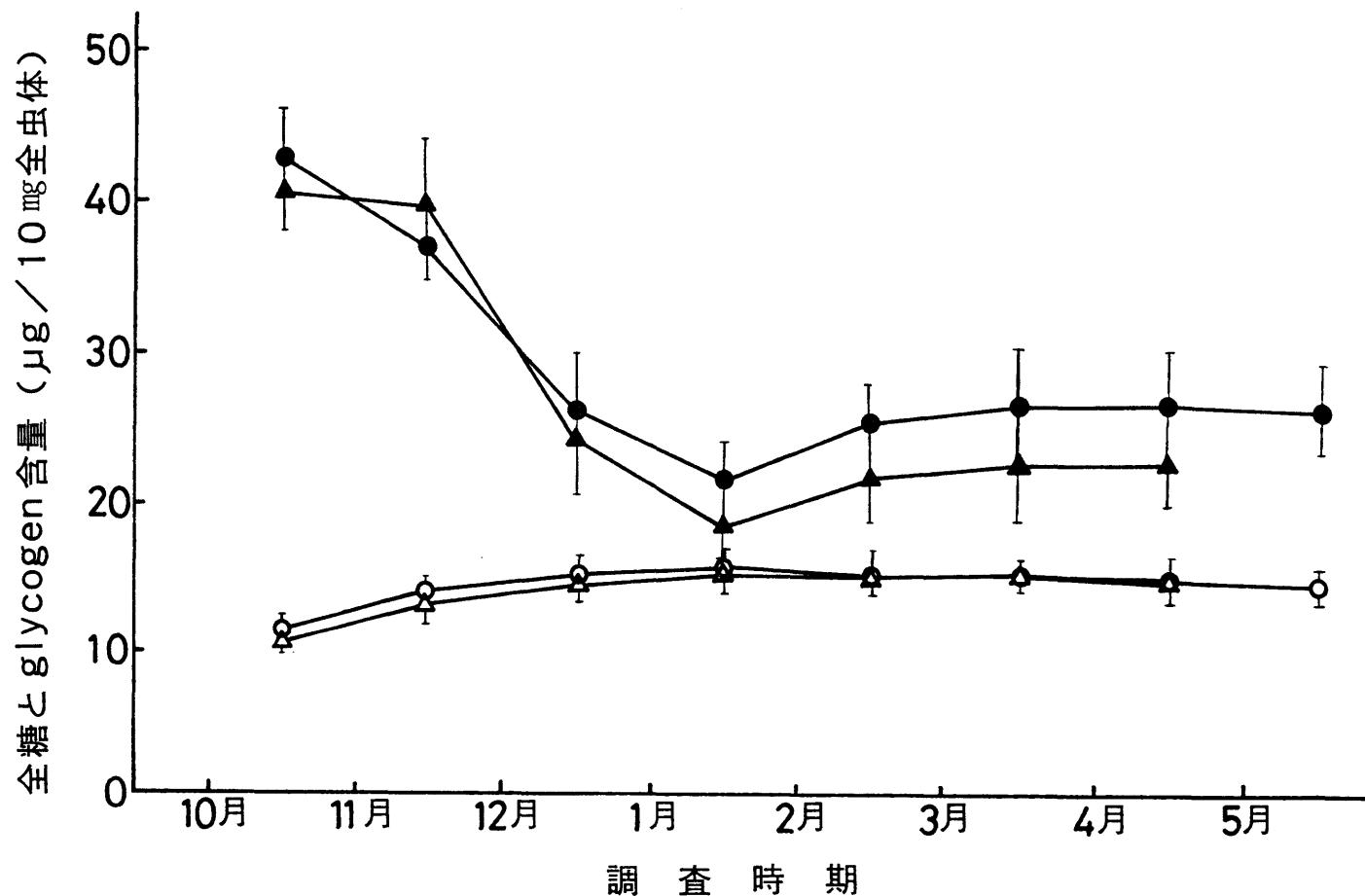
第15図  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  短日条件 (10 L, 14 D) で飼育幼虫の全糖と glycogen 含量の変化  
 ○ 仓库産全糖量 (○) 仓库産glycogen (●) 蒜山原産全糖量 (△)  
 蒜山原産glycogen (▲)  
 4回反復の平均値 I, 標準誤差



第16図  $25\pm2^{\circ}\text{C}$ 長日条件 (16 L, 8 D) と短日条件 (10 L, 14 D) で飼育幼虫の  
体液中の trehalose 含量の変化 (○) 倉敷産 (16 L, 8 D)  
(●) 倉敷産 (10 L, 14 D) (△) 蒜山原産 (16 L, 8 D)  
(▲) 蒜山原産 (10 L, 14 D)  
3回反復の平均値 I, 標準誤差

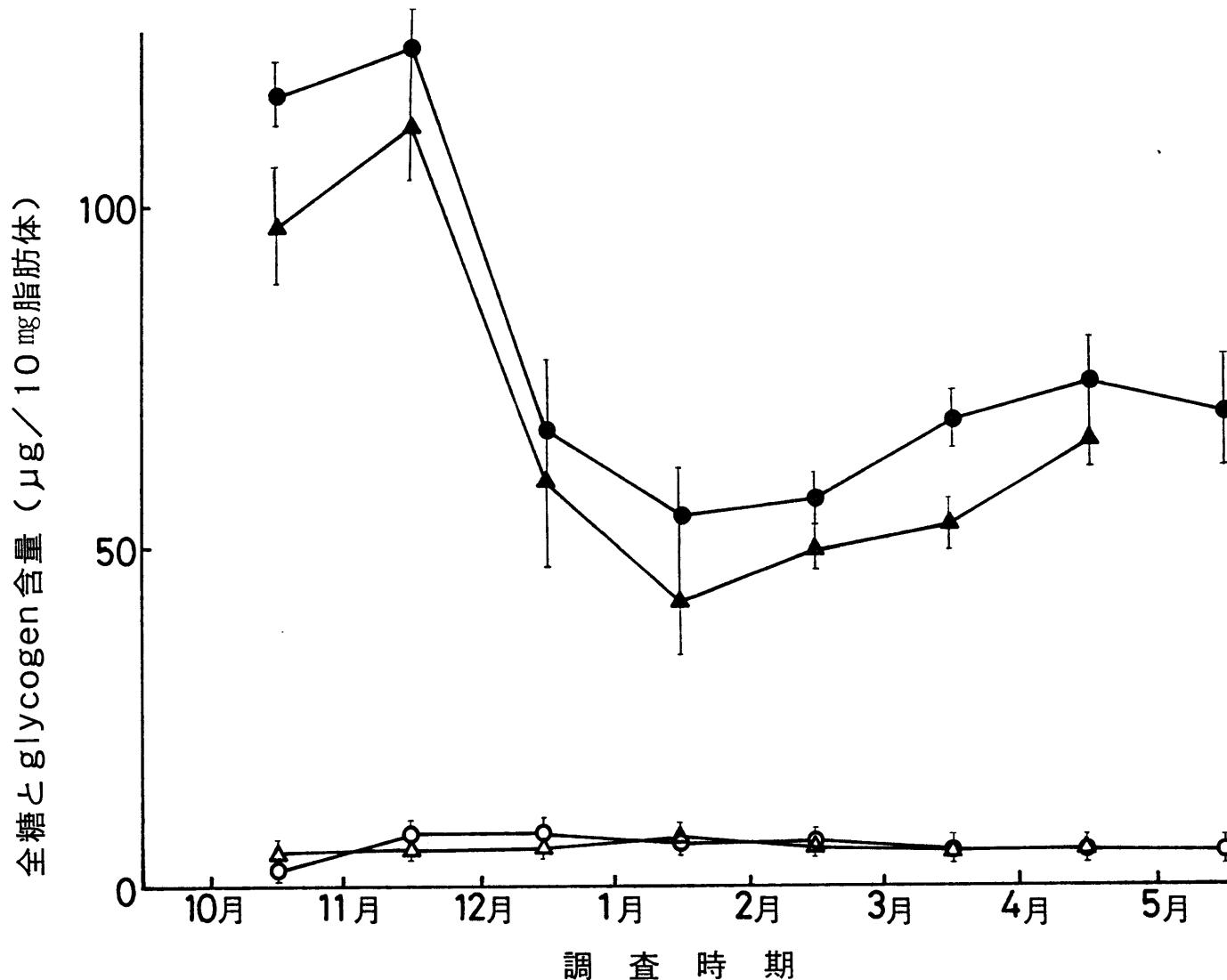
幼虫でも非休眠幼虫にくらべ遅れるものの、  
glycogen の減少がみられた。この休眠幼虫の  
glycogen の減少は、非休眠幼虫と異なり単なる  
餌の摂食量の減少によるものと考えられた。  
体液中の糖含量は発育あるに従って増加した  
(オ16図)。

野外より採集された越冬幼虫の全虫体なら  
びに各組織における全糖量と glycogen 量の変化  
を季節を追って調査した(オ17~20図)。越  
冬中全糖量はほぼ一定量を保つていたが、  
glycogen 量は非常に変化した。特に、脂肪体で  
の glycogen 量の変化が大きく、休眠に入るに従  
って減少し、休眠が破れるに従って回復がみ  
られた。しかし、元の量までは回復がみられ  
なかつた。その後蛹化前に再び減少した。こ  
れらの glycogen 量の変化は蚕の休眠卵で観察さ  
れた変化(Chino, 1958; 柳沼・山下, 1977)と一致  
していた。しかし、消化管における炭水化物  
の変化は、他の組織でみられる変化とは異な  
つていた。

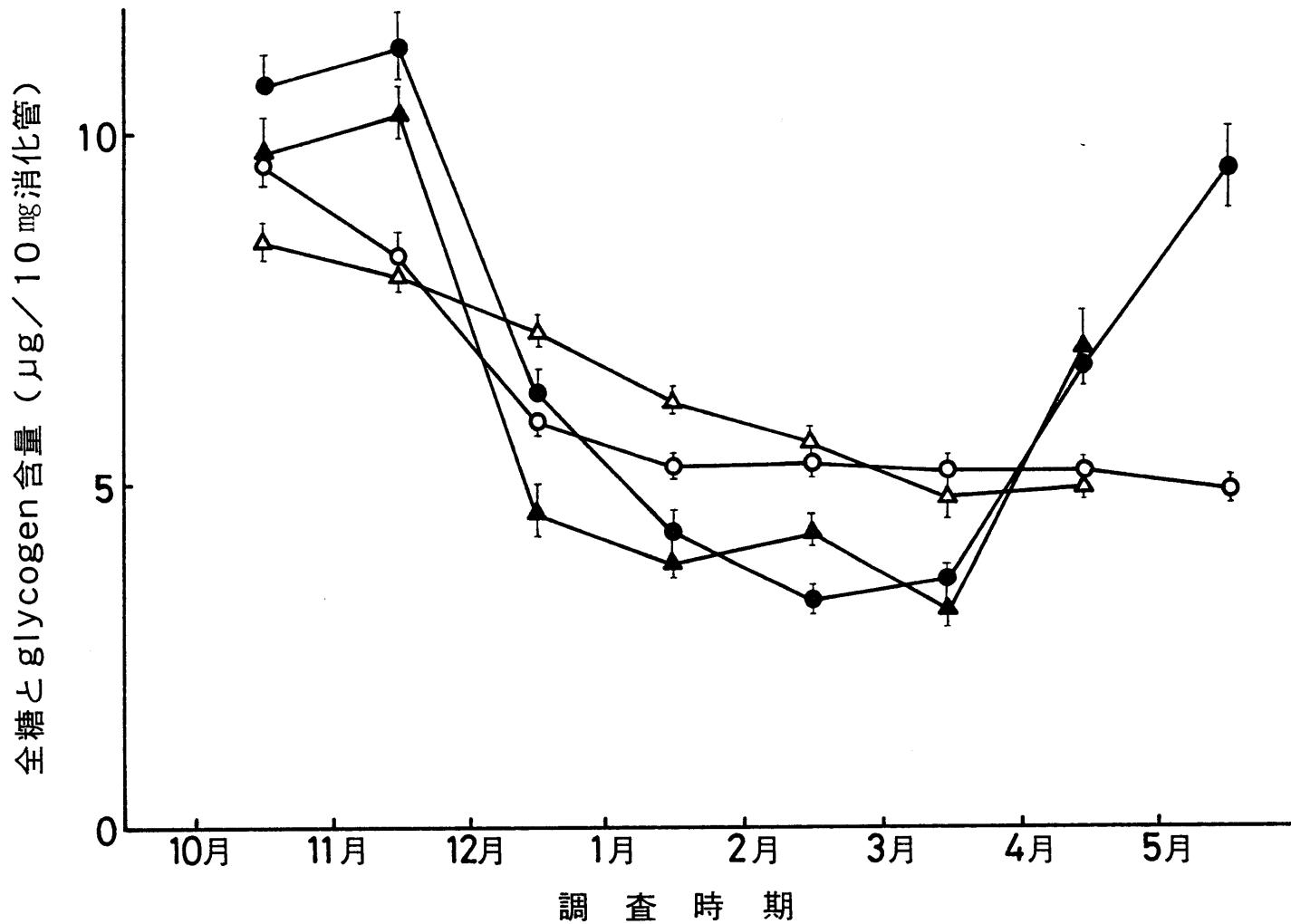


第17図 越冬中の全虫体中の全糖とglycogen含量の変化

(○) 倉敷産全糖      (●) 倉敷産 glycogen  
 (△) 蒜山原産全糖      (▲) 蒜山原産 glycogen  
 3回反復の平均値      I, 標準誤差



第18図 越冬中の脂肪体中の全糖とglycogen含量の変化  
 (○) 倉敷産全糖 (●) 倉敷産 glycogen  
 (△) 蒜山原産全糖 (▲) 蒜山原産 glycogen  
 4回反復の平均値 I, 標準誤差

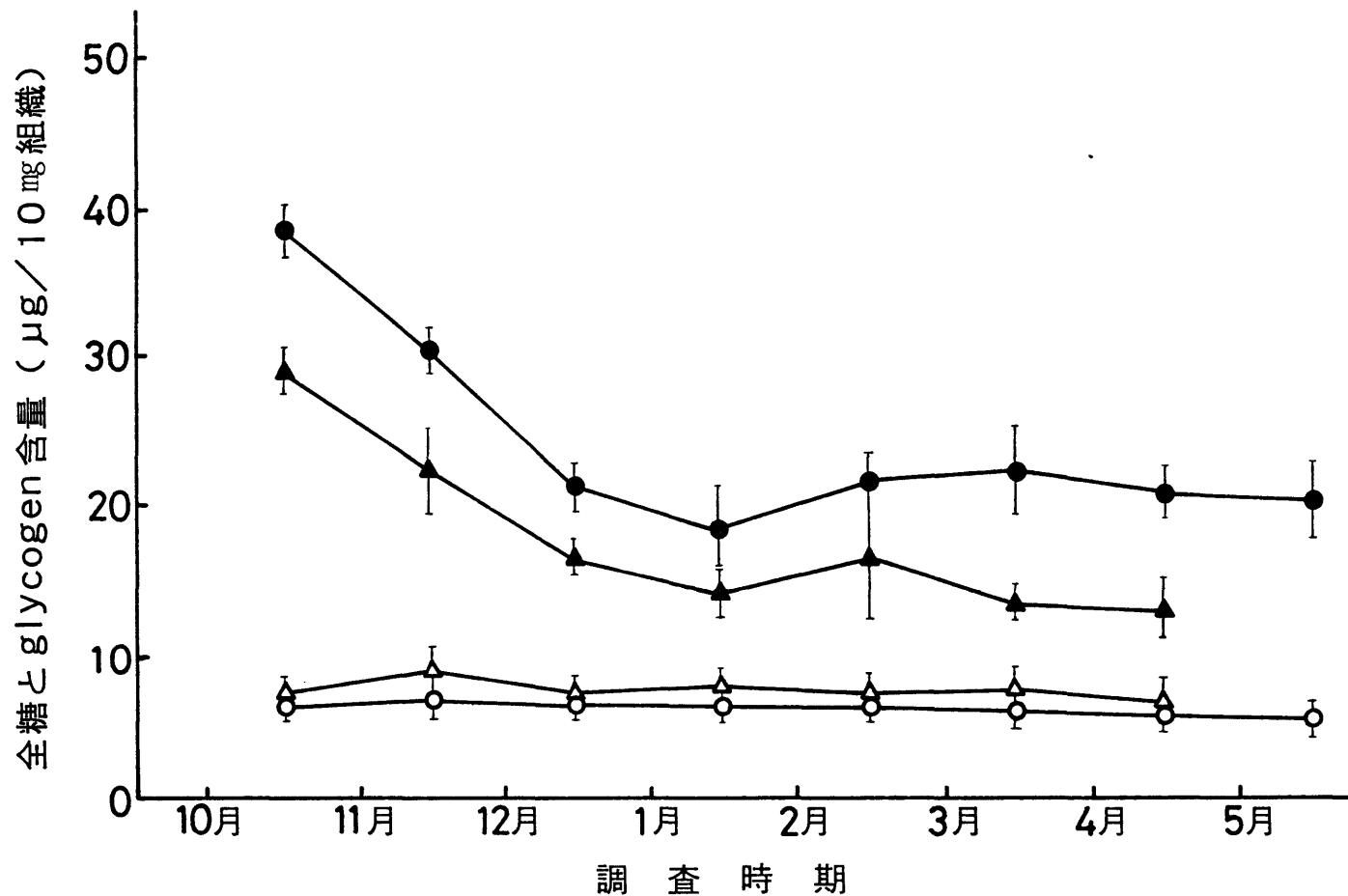


第19図 越冬中の消化管の全糖と glycogen 含量の変化

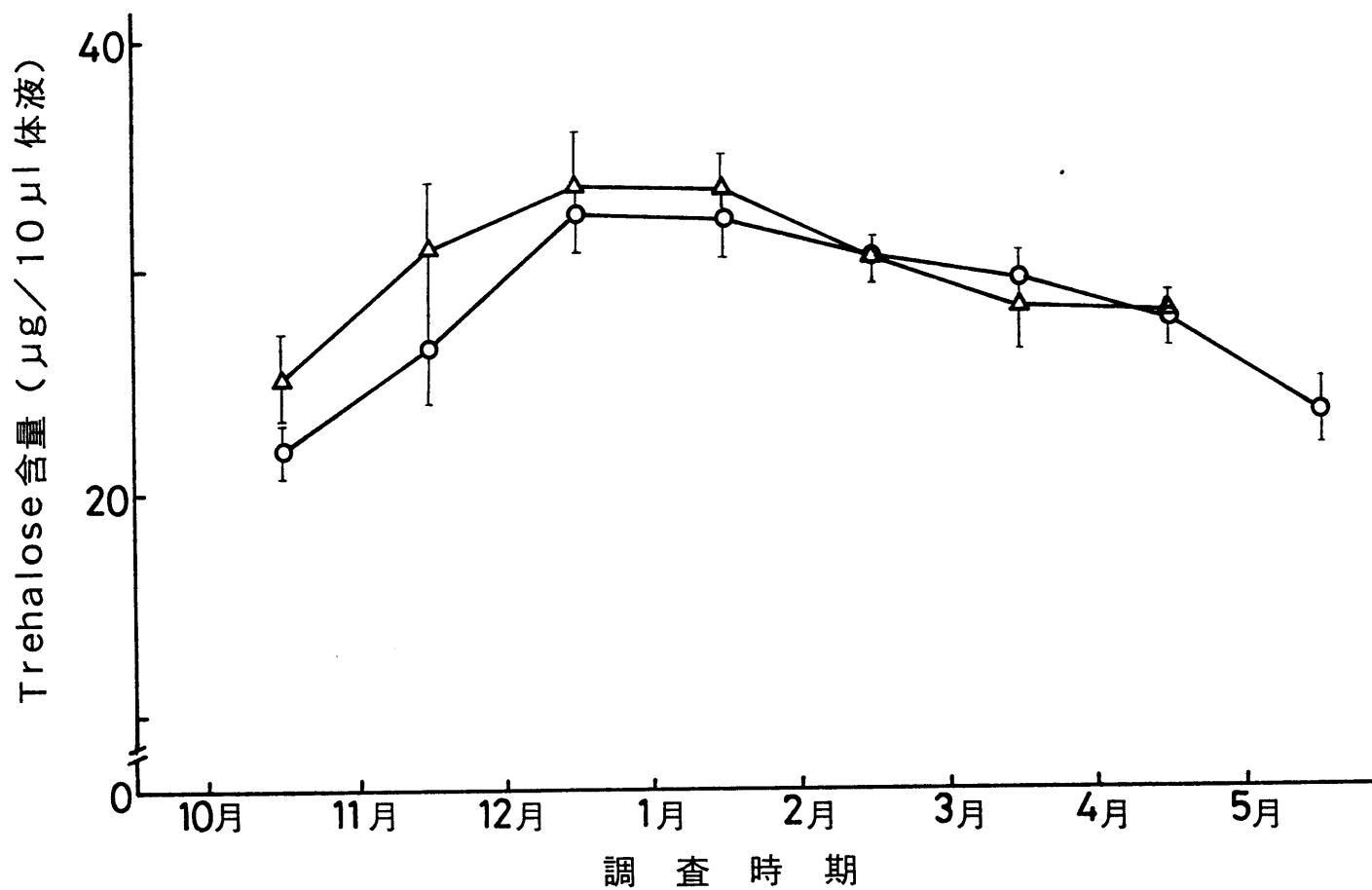
(○) 倉敷産全糖 (●) 倉敷産 glycogen

(△) 蒜山原産全糖 (▲) 蒜山原産 glycogen

4回反復の平均値 I, 標準誤差



第20図 越冬中の残り組織中の全糖とglycogen含量の変化  
 (○) 倉敷産全糖 (●) 倉敷産glycogen  
 (△) 蒜山原産全糖 (▲) 蒜山原産glycogen  
 4回反復の平均値 I, 標準誤差



第21図 越冬中の体液中の trehalose 含量の変化  
(○) 倉敷産 (△) 蒜山原産  
4回反復の平均値 I, 標準誤差

体液中の糖量は休眠中約1.5倍に増加したが、休眠が破れるに従って減少した(オ21回)。丹野(1964, 1965)はツヤハナバチやホプロラハバチで越冬中、fructose, glucose, trehalose 含量が増加し、これらの糖の含量増加が両昆虫の耐凍性や耐寒性を高めていることを推定している。ニカメイカ越冬幼虫でも、体液中に増加したtrehalose が耐凍性に関与している可能性が考えられた。

森山原産の年1回発生と倉敷産の年2回発生のニカメイカを比較した場合、非休眠幼虫のglycogen の減少が森山原産の方が早く起つ。これは、森山原産の方が発育が速く、蛹化が早い(オ4, 5回)ためと考えられた。越冬幼虫においては、両発生型でglycogen 含量にむずかに差がみられるもののほぼ同一の変化を示した。

## 第5節 遊離アミノ酸含量の変化

昆虫の体液中には多量の遊離アミノ酸が含まれてゐることが知られてゐる (Wyatt, 1961; Florkin and Jeuniaux, 1964; ロバエの一種 Phormia regina の幼虫, Chen and Levenbook, 1966; ニカメイガ幼虫, 積木・兼久, 1980b)。一方, スシマタラメイガの幼虫 (Sømme, 1966), ハイイロカミキリの成虫 (Zachariassen and Pasche, 1966) では, 遊離アミノ酸含量が越冬中増加することが報告されてゐる。

ニカメイガ越冬幼虫の耐凍性に及ぼす遊離アミノ酸の可能性について調査した。

### 材料および方法

第3節と同様の方法で調整した体液の 80% ethanol 抽出液を pH 2.2 のクエン酸緩衝液で 4 倍に稀釀し, 全自動液体クロマトグラフィー (日本電子製 JLC-6AUH) を用いて分析を行なつ

た。試料注入後 pH 3.25 クエン酸緩衝液 1 時間 20 分, pH 4.25 クエン酸緩衝液 1 時間 10 分, pH 7.02 クエン酸緩衝液 1 時間 15 分, それぞれ 0.84 ml / 分の割合で各緩衝液を順次流し, 流出されたアミノ酸を ninhydrine で発色することにより自動的に測定した。

### 結果および考察

オウ表に分析した体液中の遊離アミノ酸の一覧表を示した。前休眠期, 休眠期, 後休眠期とも大きな変化はみられなかった。また、ここで同定, 定量された全アミノ酸含量もほとんど差がみられなかった。この表に示したアミノ酸以外の未同定のアミノ酸も存在したが量的には少なかった。スシマタラメイガの幼虫 (Sømme, 1966), ハイイロカミキリの成虫 (Zachariassen and Pasche, 1976), フロツヤムシの一種 Popilius disjunctus の成虫 (Rains and Dimock, 1978) では越冬中遊離アミノ酸が増加することが知られてい

第5表 越冬幼虫の体液中の遊離アミノ酸含量の変化

	アミノ酸含量( $\mu$ moles/ml 体液 )		
	前 休 眠	休 眠	後 休 眠
Aspartic acid	—	—	—
Threonine	13.3	12.5	13.7
Serine	37.4	44.8	42.2
Glutamic acid	1.1	1.7	1.7
Proline	9.4	10.3	8.4
Glycine	1.4,	1.0	0.9
Alanine	1.9	2.1	4.5
Valine	5.2	4.3	4.5
Methionine	0.6	0.7	0.7
Isoleucine	2.2	1.8	2.1
Leucine	1.8	1.5	1.7
Tyrosine	2.4	0.9	1.6
Phenylalanine	2.0	1.6	1.4
Histidine	5.4	5.4	5.3
Lysine	8.3	7.6	8.9
NH <sub>3</sub>	4.3	4.1	3.7
Arginine	1.9	1.6	2.0
合 計	98.6	101.9	103.3

4回反復の平均値

る。逆に、ヤステの一種 Orthoporus ornatus (Pugach and Crawford, 1977) では冬期にアミノ酸が減少し、またコオロギの一種 Teleogryllus commodus の卵 (MacFarlane and Hogan, 1966), サクサンの幼虫 (Mansingh, 1967) では、ある種のアミノ酸が減少することが知られている。遊離アミノ酸含量は昆虫の違い、アミノ酸の種類の違いによって増減がみられるものの、ニカメイカ越冬幼虫では前休眠期、休眠期、後休眠期ともほぼ一定量であり、体液中の遊離アミノ酸含量の季節的変化と、耐凍性の変化は一致しますか? すなわち、ニカメイカの耐凍性の増加に遊離アミノ酸が直接関与しているとは考え難かった。

Mitsuhashi (1978) もニカメイカ休眠幼虫の体液中の遊離アミノ酸含量を調査しているが、本実験は冬期長期にわたって調査している。本実験の休眠幼虫で得られた結果と比較すると、個々のアミノ酸で 2, 3 例外はあるものの傾向はよく似ていた。しかし、絶対量にかなり差がみられた。この違いは分析機器の違い

と、ニカメイカ幼虫の産地の違いによるものかも知れなか、詳しいことは不明である。

## 要 約

ニカメイカ越冬幼虫の耐凍性の変化と、水分、glycerol、炭水化物、遊離アミノ酸含量の季節的変化を調査し、凍結保護物質としての可能性を明らかにするとともに、休眠時と非休眠時にあける炭水化物含量の違いについて調査した。さらに、年1回発生型ニカメイカと年2回発生型ニカメイカの比較を行なった。

①ニカメイカ幼虫の越冬時の耐凍性は、休眠に入るに従って高くなり、休眠覚醒するに従って低下した。休眠幼虫の過冷却点は-15°C附近にあった。

②冬期越冬幼虫の体内には多量のglycerolの蓄積がみられた。特に、体液中に多かった。

この glycerol の蓄積がニカメイカ幼虫の冬期の耐凍性に関与しているものと推定された。体液中の trehalose 量も冬期増加がみられ、一部耐凍性に関与しているものと考えられた。一方、水分含量や体液中の遊離アミノ酸は耐凍性に直接関与していないものと考えられた。

③蚕の休眠卵で検出されている sorbitol はニカメイカ越冬幼虫で検出できなかつた。

④野外で越冬中のニカメイカ休眠幼虫には多量の glycerol の蓄積がみられたが、 $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  飼育の非休眠幼虫ならびに短日条件飼育の休眠幼虫には glycerol は検出されなかつた。

⑤ Glycerol の蓄積は主に脂肪体の glycogen から由来するものと考えられた。

⑥年1回発生型のニカメイカと年2回発生型ニカメイカ幼虫で耐凍性、炭水化物含量、glycerol 含量にはほとんど差がみられなかつた。

### 第3章 ニカメイガ幼虫における glycerol 生成に及ぼす要因

昆虫の glycerol 生成に及ぼす要因として、休眠、非休眠にかかわらず、これまで嫌気状態と低温が明らかにされてきた。例えば Chino (1958) は蚕の卵で休眠に入るに従って酸素消費量は % 以下に減少し、それにともなって glycogen から glycerol への転移が起こることを観察した。さらに、glycerol の生成がみられない非休眠卵を嫌気状態に置くことにより glycerol の生成がみられた (Kageyama and Ohnishi, 1973)。一方、休眠卵を好気条件に置くと glycerol の生成がみられず、非休眠卵と同様、胚の発育がみられた (Sonobe et al., 1979)。このように glycerol の生成は嫌気性と密接な関係があることが知られている。

一方、Dubach et al. (1959) はナガクチキムシの一種 Melandrya striata の幼虫で、丹野 (1962) はムネアカオオアリの成虫で、Baust and Miller (1972) は

ゴミムシの一種 Pterostichus brevicornis の成虫で、Meyer (1974, 1978) はフロバエの一種 Callitroga macellaria の幼虫でそれぞれ休眠、非休眠にかかるずつ低温にさわすことにより、glycerol の生成が促進されることを報告しており、Asahina (1969) により総説されている。

このように、glycerol の生成には嫌気状態や低温が密接に関係していることが明らかにされていることから、ニカメイガでも glycerol の生成に及ぼす嫌気状態や低温の影響について調査した。さらに、glycerol に及ぼすホルモン等の影響についても検討した。

### オ 1 節 嫌気の影響

ニカメイガ幼虫においても、他の昆虫と同様嫌気状態に保存した時 glycerol が生成されてくるかどうか検討した。なお、その前に glycerol の生成と呼吸との関係を明らかにするために

、休眠時における酸素消費量の変化を求めておく必要がある。次に、glycerol の蓄積がみられる非休眠幼虫と、glycerol の蓄積がみられる越冬幼虫を嫌気状態下に保存し、glycerol の生成に及ぼす嫌気の影響、ならびにそれに付随して起ると予想される炭水化物、pyruvic acid、lactic acid 含量の変化を調査した。

### 材料および方法

供試虫：ニカメイガ越冬幼虫ならびに  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  で室内飼育した幼虫を供試した。酸素消費量の測定以外の実験にはすべて終令幼虫のみを用いた。

酸素消費量：酸素消費量の測定にはワールブルグ換圧計を用いた。 $25^{\circ}\text{C}$  で 1 時間ごとに連続して測定を行なった。なお、越冬幼虫は圃場より採集してすぐに測定すると、測定値が大きく振れることから、一晩  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  に置いてから測定した。

嫌気の方法：100 ml の三面フラスコにニカメイガ幼虫を入れ、給氣と排氣の二本のガラス管を通してゴム栓でフラスコの口を封じた。

フラスコ内のガス漏れを防ぐために、ゴム栓とガラス壁の間にワセリンを塗った。窒素：空気の混合比を 0 : 100, 20 : 80, 50 : 50, 80 : 20, 100 : 0 に調整したガスを、少なくとも 2 l 以上通氣することにより、フラスコ内の空気を各自調整したガスと置換した。窒素ガス 100% は窒素ガスボンベより、直接フラスコ内に数分通氣することにより空気と置換したものである。ガス交換が終った後、ガラス管の先につけたゴム管をピンケップでさむことにより外気と遮断した。フラスコ内のガスは少なくとも 1 日一回交換した。一定時間後にフラスコ内の幼虫を取り出し、以下の実験に供した。

Glycerol の検出と定量：オ 2 章オ 3 節の方法により、採血後 80% ethanol で glycerol を抽出し、ペーパークロマトグラフィーで分離した。ペ

一パーカロマトグラム上の glycerol の検出は硝酸銀試薬を用いて行なつた。定量は acetyl acetone 法によつた。

Pyruvic acid の定量： Pyruvic acid の定量は清水(1950)の方法に従つて行なつた。すなわち、ニカメイガ幼虫を 10 ml の 10% TCA と磨碎し、3,000 r.p.m. で 10 分遠心し、その上清を pyruvic acid の定量に用いた。上清 1 ml に DNP 試薬(0.5 g 2,4-dinitrophenyl hydrazine を 2 N HCl 100 ml に加熱溶解) 0.35 ml を加え、25°C で 5 分間反応させた。xylol 4 ml を加え、通気しながらよく攪拌した。遠心後 xylol 層に 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 3 ml を加え、再び通気攪拌し、遠心した。下層の水層部分 2.5 ml に 4 N NaOH 1 ml を加え発色させ 440 nm で比色定量した。

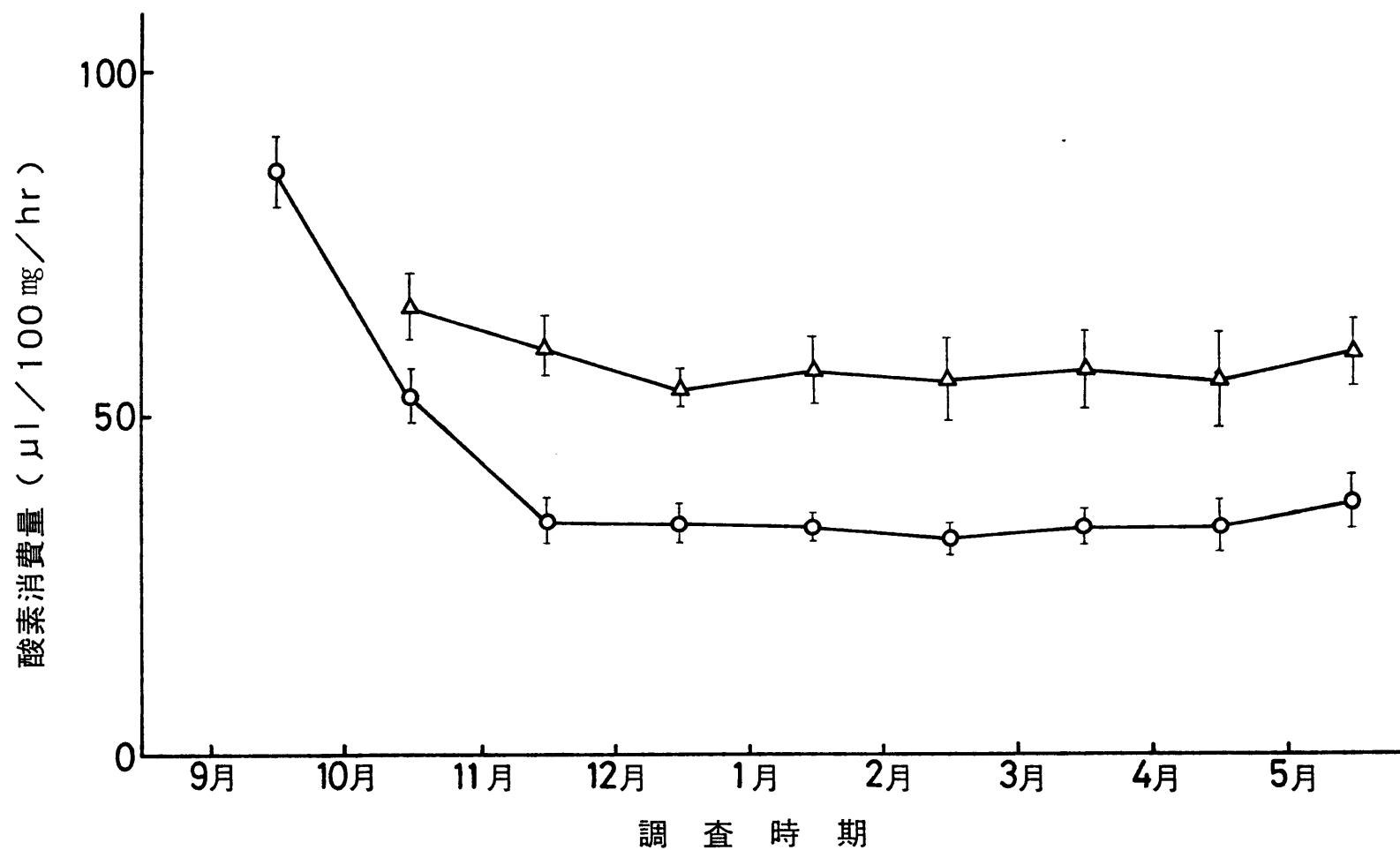
Lactic acid の定量： Lactic acid の定量は Barker and Summerson (1941) の方法に従つて行なつた。Pyruvic acid の定量に用ひた 10% TCA 抽出液の上清 1 ml に 20% CuSO<sub>4</sub> 0.5 ml を加え、さらに蒸溜水を加えて全量を 5 ml とした。この試料に Ca(OH)<sub>2</sub> の粉末を少量加えよく攪拌し、30 分放置した。その

同時に攪拌を行なつた。3,000 r.p.m. で 5 分間遠心後、上清 1 ml に 4%  $CuSO_4$  0.05 ml を加え、氷冷しながら  $H_2SO_4$  6 ml を徐々に加えよく混和した。 $100^{\circ}C$  で 5 分加熱し、冷却後 1.5% P-hydroxydiphenyl 0.5% NaOH 溶液 0.1 ml を加えよく混和した。 $30^{\circ}C$  で 25 分反応させた。 $100^{\circ}C$  に正確に 90 秒つけ、P-hydroxydiphenyl を透明化し、冷水中で冷却して 560 nm で比色定量した。

### 結果および考察

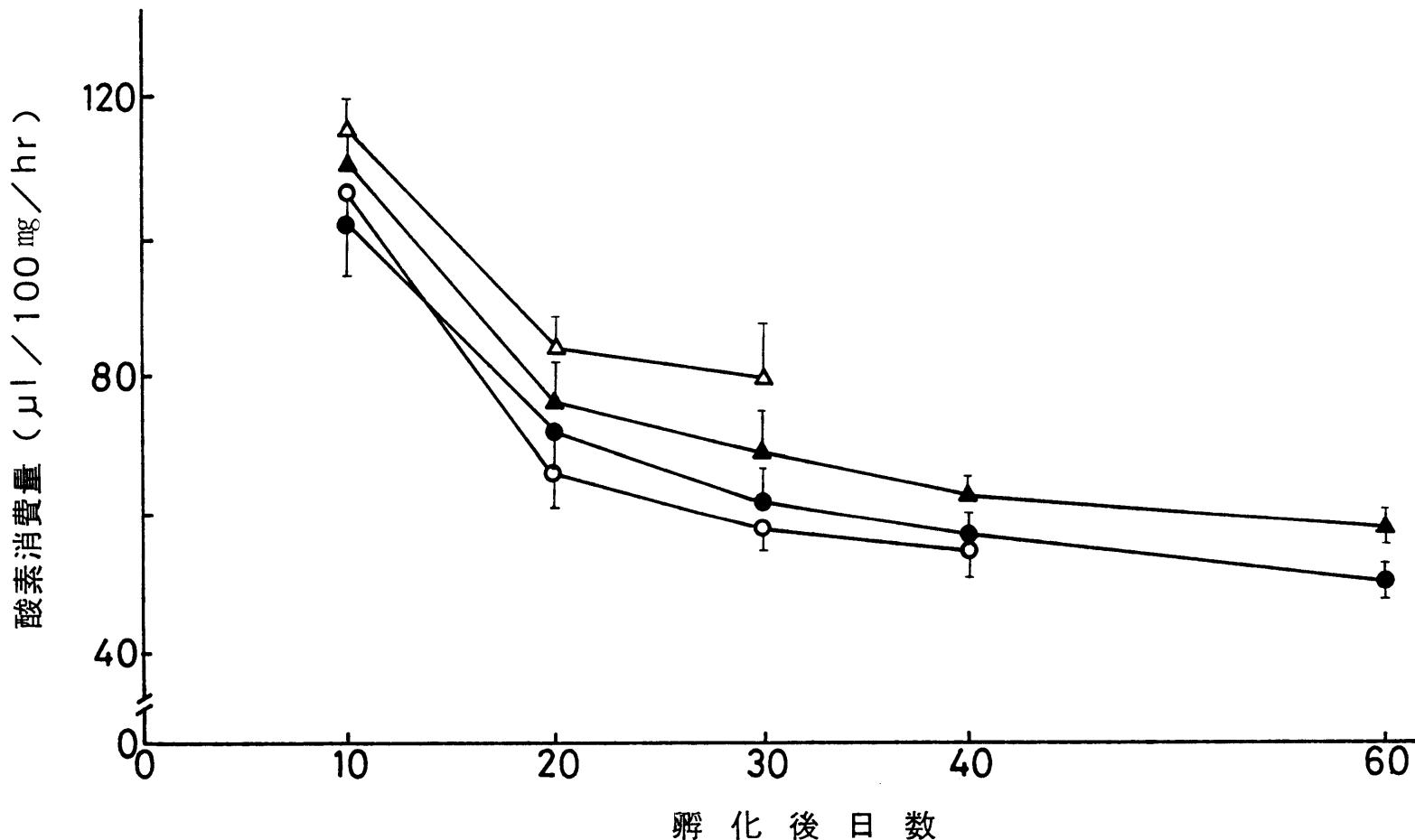
#### 酸素消費量

倉敷産と蒜山原産ニカメイが越冬幼虫の酸素消費量をオ22図に示した。倉敷産ニカメイがでは 9 月から 11 月まで酸素消費量は減少したが、その後はほぼ一定であった。深名(1949)も倉敷産ニカメイがで季節的な酸素消費量の変化を観察し、10 月から 1 月にかけて酸素消費量は低下し、その後 5 月までほぼ一定値を示したこと報告している。本実験結果とは



第22図 越冬中の酸素消費量の変化  
(○) 倉敷産 (△) 蒜山原産  
5回反復の平均値 I, 標準誤差

ほ一致しているもの、同一休眠期の12月から1月にかけて深石(1949)が観察していはと酸素消費量の低下はみられなかつた。一方、蒜山原産ニカメイガではすでに10月頃からほぼ一定であつた。福田(1937), 石倉(1939)常楽(1958)は休眠中のニカメイガ幼虫で酸素消費量は、体重の大小によつて非常に大きさ違ひがあることを観察し、小さなものほど単位生体重当りの酸素消費量は高くなることを指摘していゝ。本実験でも蒜山原産の方が倉敷産にくらべ单位生体重当りの酸素消費量は平均で約2倍高かつた。これは、倉敷産の方が蒜山原産にくらべ約1.5倍から2倍近く体重が重いためと考えられた。さらに、酸素消費量は雌雄によつて(ニカメイガ幼虫, 常楽, 1958; ソウムシの一種 Anthonomus grandis 成虫, Wiygul and Mitlin, 1977)も、餌によつて(ヤガの一種 spodoptera littoralis 幼虫と成虫, Aboul-Nasr et al., 1976)も異なることが観察されており、ニカメイガでも椎の品種や作付体系の違ひによる酸



第23図  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 長日条件(16L, 8D)と短日条件(10L, 14D)で飼育幼虫の  
酸素消費量の変化 (○) 倉敷産 (16L, 8D) (●) 倉敷産 (10L, 14D)  
(△) 蒜山原産 (16L, 8D) (▲) 蒜山原産 (10L, 14D)  
5回反復の平均値 I, 標準誤差

素消費量への影響については、さらに検討を必要とすると考えられた。

25±2°Cで室内飼育すると、生育するに従って体重が増加し、単位生体重当りの酸素消費量は低下した(第23回)。

倉敷産で9月から10月にかけて酸素消費量の低下がみられるが、これは発育の途中であり、体重が増加する時期にあたっている。このようなことから、秋から冬にかけての酸素消費量の低下は、休眠以外にニカメイカ幼虫の体重増加による低下も関係しているものと考えられた。一方、薪山原産はすでにこの時期には老熟幼虫に達している(第1章、第2節)ことから、10月から12月にかけての酸素消費量の低下は休眠によるものと考えた場合、ニカメイカにおいては休眠による酸素消費量の低下はめずかしくないと推定された。さらに、25±2°Cの長日条件と短日条件で飼育された幼虫で、酸素消費量にほとんど差がみられないなかっだし、越冬休眠幼虫の酸素消費量と

非休眠終令幼虫の酸素消費量を比較してもその差は小さかった。

以上の結果から、ニカメイガ幼虫では蚕の休眠卵でみられる (Chino, 1958) ほど、休眠に入ったても極端な酸素消費量の低下はみられなかつた。

### Glycerol 含量

窒素ガスの中に前休眠期の幼虫を入れ、体液中の glycerol 含量に及ぼす嫌気状態の影響について調査した(オ 6 表)。4°C では嫌気の影響がみられたが、15°C ではなくなり、25°C ではむしろ促進がみられた。嫌気の影響が認められなかつた 15°C で、窒素ガスと空気の混合比を 0 ~ 80% まで変化させた時、いずれの条件下でも glycerol の生成が促進された(オ 7 表)。しかしながら、glycerol の生成は窒素ガスと空気の混合比により大きく影響を受け、20% で最も大きく、窒素ガスの混合比が増加するに従つて glycerol の生成が抑制された。一方、非休眠終令幼虫を越冬休眠幼虫と同様に

第6表 前休眠幼虫の体液中の glycerol 含量に及ぼす嫌気の影響

	Glycerol 含量 ( $\mu\text{g}/10 \mu\text{l}$ 体液)		
	25 °C	15 °C	4 °C
空 気	73.8	89.6	109.9
窒 素 ガ ス	63.6	89.3	123.7

嫌気処理 3日後に測定

3回反復の平均値

第7表 前休眠幼虫の体液中の glycerol 含量に及ぼす嫌気の影響

	Glycerol 含量 ( $\mu\text{g}/10 \mu\text{l}$ 体液)			
	0 %	20 %	50 %	80 %
窒素ガス／空気	91.3	186.7	161.2	136.4

嫌気処理後 15 °C に保存, 3日後に測定

3回反復の平均値

窒素：空気の混合比を色々変えたガスに入れ、 $25^{\circ}\text{C}$ 、 $15^{\circ}\text{C}$ 、 $4^{\circ}\text{C}$ に移し、4時間、8時間、1日、2日、3日後に採血し、その80% ethanol 抽出液をペーパークロマトグラフィーで分離し、glycerol を硝酸銀試薬で検出した。いずれの条件下のニカメイが非休眠幼虫の体液においても glycerol は検出されなかった。Glycerol の検出に用いた硝酸銀試薬は本来還元糖の検出に用いられるもの (Trevelyan, 1950) で、glycerol に対するこの試薬の感度は還元糖ほどではないことから、低濃度の glycerol は検出されない恐れがある。さらに、この点を確かめるために  $^{14}\text{C}$ -glucose と  $^{14}\text{C}$ -glycerol を用いて、glycerol への  $^{14}\text{C}$  のとり込み、あるいは  $^{14}\text{C}$ -glycerol の分解に及ぼす嫌気の影響について調査した。この方法は第4章オ1節に詳しく述べる。前日から窒素ガスの中に入れておいたニカメイが非休眠終令幼虫に  $^{14}\text{C}$ -glucose あるいは  $^{14}\text{C}$ -glycerol を注射し、ガラス製容器(オ41図)に入れ、2日間窒素ガスを流し、glycerol への  $^{14}\text{C}$  の転移、

第8表 非休眠終令幼虫における<sup>14</sup>C-glucoseと<sup>14</sup>C-glycerolの代謝に及ぼす嫌気の影響

	<sup>14</sup> C回収量(%) <sup>a</sup>					
	<sup>14</sup> C-Glucose			<sup>14</sup> C-Glycerol		
	25°C	15°C	4°C	25°C	15°C	4°C
体液中の <sup>14</sup> C-glycerol	0.4	0.6	0.5	1.7	2.6	14.4
組織中の <sup>14</sup> C-glycerol	0.7	1.5	2.4	4.1	4.4	41.5
<sup>14</sup> CO <sub>2</sub>	29.3	14.2	2.0	23.0	10.4	2.1

a <sup>14</sup>C-化合物注射2日後測定

2回反復の平均値

ならびに分解を観察した(オ8表)。 $^{14}\text{C}$ -Glucose から glycerol への  $^{14}\text{C}$  の転移は嫌気条件下でいずれもほとんどみられなかつた。また、同様の条件下で  $4^{\circ}\text{C}$  の低温を除き  $^{14}\text{C-glycerol}$  の速い分解がみられた。

以上の結果から、ニカメイガでは他の昆虫でみられるように(サクサンの蛹, Whilhelm et al., 1961; イエバエの成虫, Heslop et al., 1963; Chefurka, 1965; スジマタラメイガの幼虫, キバガの一種 Nemapogon personellus 幼虫, Sømme, 1966, 1967; 蟻の卵, Kageyama and Ohnishi, 1973; ハイイロカミキリの成虫, Zachariassen and Pasche, 1976; トロバエの一一種 Callitroga macellaria 幼虫, Meyer, 1977, 1978), 常に嫌気条件に置いただけでは glycerol の生成はみられないものと考えられた。

### 全糖と glycogen 含量

窒素ガスの中にニカメイガ幼虫を入れ,  $25^{\circ}\text{C}$  3日後の全糖と glycogen 量を調査した(オ9表)。全糖量は嫌気条件と好気条件で差はみられなかつた。Glycogen 量は非休眠終令幼虫で

第9表 炭水化物含量に及ぼす嫌気の影響

	温 度	炭水化物含量( $\mu\text{g}/100\text{mg}$ 全虫体 )			
		全 窒素ガス	糖 空 気	Glycogen 窒素ガス	Glycogen 空 気
休 眠	25 °C	13.6	13.4	34.5	32.3
	15 °C	14.4	15.4	34.2	33.5
	4 °C	16.6	15.3	27.1	26.5
非 休 眠	25 °C	8.2	8.1	14.9	20.9
	15 °C	9.5	10.0	16.9	20.4
	4 °C	11.0	11.7	23.3	23.5

嫌気処理 3日後に測定

3回反復の平均値

第10表 Pyruvic acid 含量に及ぼす嫌気の影響

		Pyruvic acid 含量( $\mu\text{g}/100\text{mg}$ 全虫体 )		
		25 °C	15 °C	4 °C
非 休 眠	空 気	46.0	23.2	20.4
	窒素ガス	13.9	21.8	26.9
休 眠	空 気	9.8	11.5	11.0
	窒素ガス	7.0	12.1	13.1

嫌気処理 3日後に測定

3回反復の平均値

ゆがかであるが嫌気条件で低下した。一方、越冬幼虫では嫌気条件と好気条件下の幼虫で差がみられなかつた。しかし、4°Cのような低温で glycerol の生成が高くみられる（オカ表）場合には glycogen 量は低下した。Glycerol の生成がみられる非休眠終令幼虫では、低温で glycogen の減少はみられない。蚕の非休眠卵を嫌気状態に置くと、休眠卵と同様急激な glycogen の分解が起り（Okada, 1971），糖アルコールが生成されてくる（Kageyama and Ohnishi, 1973）ことが観察されている。さらに、昆虫の嫌気に対する影響については Chefurka (1965) と Sacktor (1970) により総説されている。すなわち、嫌気状態では adenosine triphosphate (ATP と略記) 量が減少し、adenosine monophosphate (AMP と略記)、adenosine diphosphate (ADP と略記) 量が増加（マダラメイガの一種 Ephestia cautella 虫、Friedlander and Navarro, 1979）するこにより phosphorylase が活性化され（サフサシとセツロビア蚕の虫、Stevenson and Wyatt, 1964；7 口バエの一種 Phormia regina 成虫、Childress and Sacktor

, 1970 ; Sacktor, 1970 ; Sacktor et al., 1974), phosphorylase a の量がなくなる (Sacktor, 1970 ; Wyatt, 1975)ことにより, glycogen の減少が嫌気状態で起きあふされるものと推定されている (蚕の卵, Yamashita et al., 1975)。しかし、ニカメイが非休眠終令幼虫ではサクサンの蛹 (Whilhelm et al., 1961) と同様、單に嫌気状態に置いても glycogen の減少はゆがかしかけられず、glycerol の生成もみられるなかつた。なお越冬幼虫においては、低温で glycerol の生成が促進された時には glycogen の減少がみられた。この glycogen の減少は phosphorylase が低温で活性化されることによる (Ziegler and Wyatt, 1975) ひきあつてれたものを推定され大。

#### Pyruvic acid と lactic acid 含量

窒素ガスの中にニカメイが幼虫を入れ、3日間25°Cに置いた時の pyruvic acid 含量と lactic acid 含量に対する嫌気の影響について調査した (表10, 表11)。非休眠終令幼虫を窒素ガスの中に入れることにより、lactic acid 量が増

第11表 Lactic acid 含量に及ぼす嫌気の影響

		Lactic acid 含量( $\mu\text{g}/100\text{mg}$ 全虫体)		
		25 °C	15 °C	4 °C
非 休 眠	空 気 窒 素 ガ ス	1.4 352.9	3.8 145.3	5.7 29.0
休 眠	空 気 窒 素 ガ ス	1.0 8.2	1.5 14.2	3.1 17.8

嫌気処理 3日後に測定

3回反復の平均値

加した。その増加割合は温度が高いほど大きかった。しかし、越冬休眠幼虫では同様の条件下で lactic acid はわずかしか増加がみられず、しかも低温ほど lactic acid 量は多くなった。一方、pyruvic acid 量は休眠、非休眠幼虫とも嫌気条件下では低下した。越冬休眠幼虫と非休眠幼虫で pyruvic acid 量を比較すると、lactic acid と同様非休眠幼虫の方が高かった。ニカメイガ非休眠幼虫では glyceraldehyde-3-phosphate (GA-3-P と略記) dehydrogenase (Dase と略記) と lactate Dase 活性が高く、越冬休眠幼虫では低い (Tsumuki and Kanehisa, 1980c) ことにより、嫌気条件下で非休眠幼虫は多量の lactic acid が蓄積されるものと推定された。Conradi-Larsen and Sømme (1973) はオサムシの一種 Pelophila borealis 成虫を用いて、嫌気条件下で lactic acid は時間とともに増加するが、pyruvic acid は減少したことを報告している。さらに、嫌気条件下で lactic acid が増加しても、glycerol の前駆体である α-glycerophosphate (α-GP と略記) の濃度は増加せず、しかも非常に低濃度である。

ことを報告していふ。

以上の結果より、ニカメイカ非休眠終令幼虫においては、嫌気状態での glycogen の分解物は glycerol や sorbitol (鳥の卵, Kageyama and Ohnishi, 1973) ではなく、哺乳動物 (Chefurka, 1965) やバッタの一種 Tachycines asynamorus 成虫の腿筋筋 (Kubista, 1958) で知られていうよう lactic acid と考えられた。

## オ 2 節 溫度の影響

ある種の昆虫では休眠、非休眠にかかわらず低温にさらされることにより、glycerol の生成がみられることが知られている (ナガフチキムシの一種 Melandrya striata 幼虫, Dubach et al., 1959; ムネアカオオアリの成虫, 丹野, 1962; ルリキンバエの成虫, Wood and Nordin, 1976, 1980)。

ニカメイカを 25°C 短日条件 (10L, 14D) で飼育すると、幼虫は蛹化することなく休眠幼虫

となら（井上・釜野，1957；岸野，1969）が、glycerol の生成はみられるが、大（第2章第3節）。一方、体液中には多量の glycerol の蓄積がみられる野外の越冬幼虫は、短日以外に低温によるても休眠が誘起されてるものと考えられる。

体液中の glycerol の生成に対する低温の影響について検討した。さらに、越冬休眠幼虫で増加がみられる血糖に対する低温の影響についてもあわせて検討した。

### 材料および方法

供試虫：ニカメイカ越冬幼虫ならびに室内飼育終令幼虫を供試した。

低温処理方法：恒温器（タベイ製 PR I, II型）を用いて各温度を設定した。越冬幼虫は沪紙に水を含ませたシャーレに収容した。25±2°C 室内飼育の幼虫は飼育に用いる稚芽出し苗とともに入れた。芽出し苗は必要に応じて

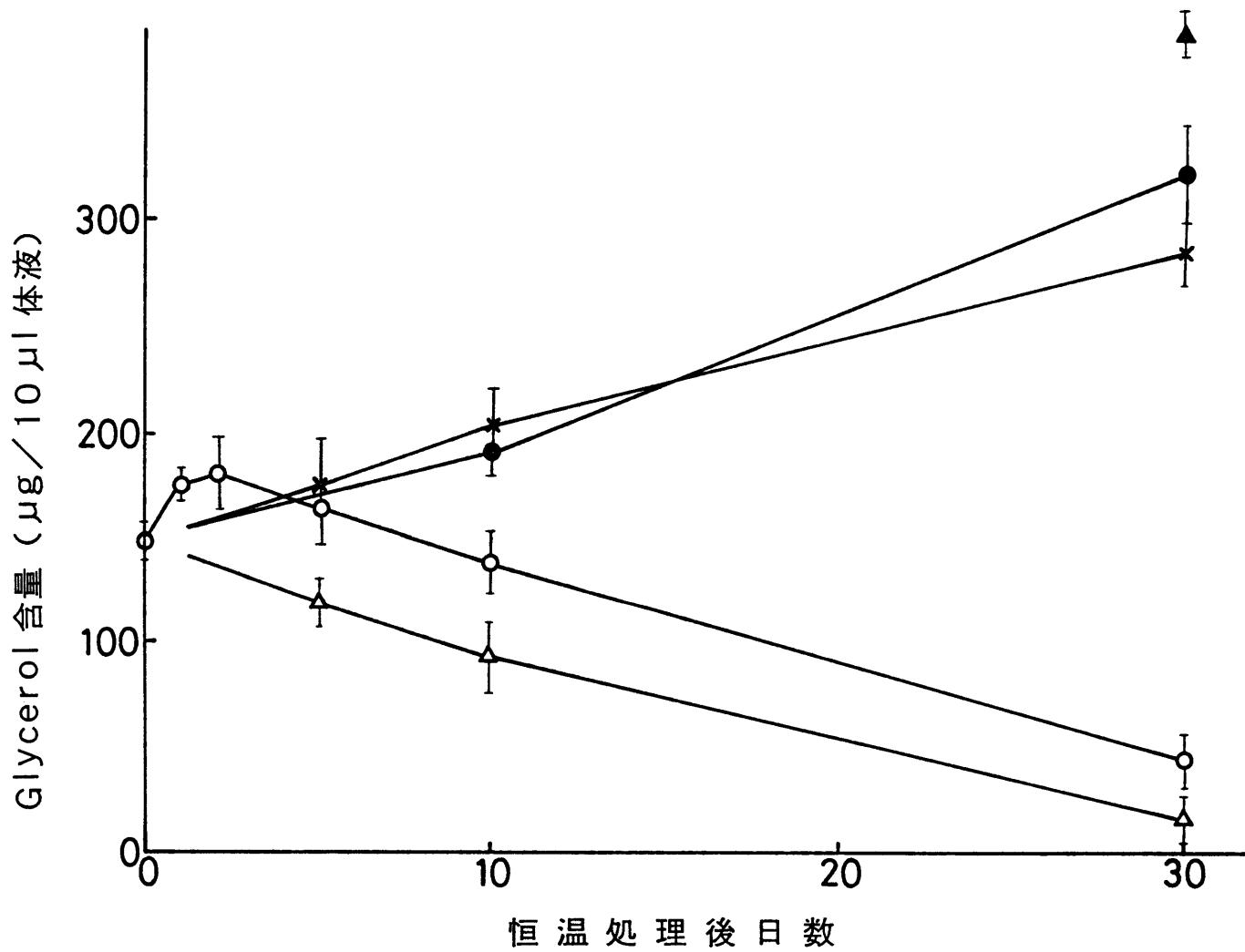
とりかえた。

Glycerol と trehalose の定量：体液中の glycerol 含量と trehalose 含量はオニモチガタの方法により測定した。

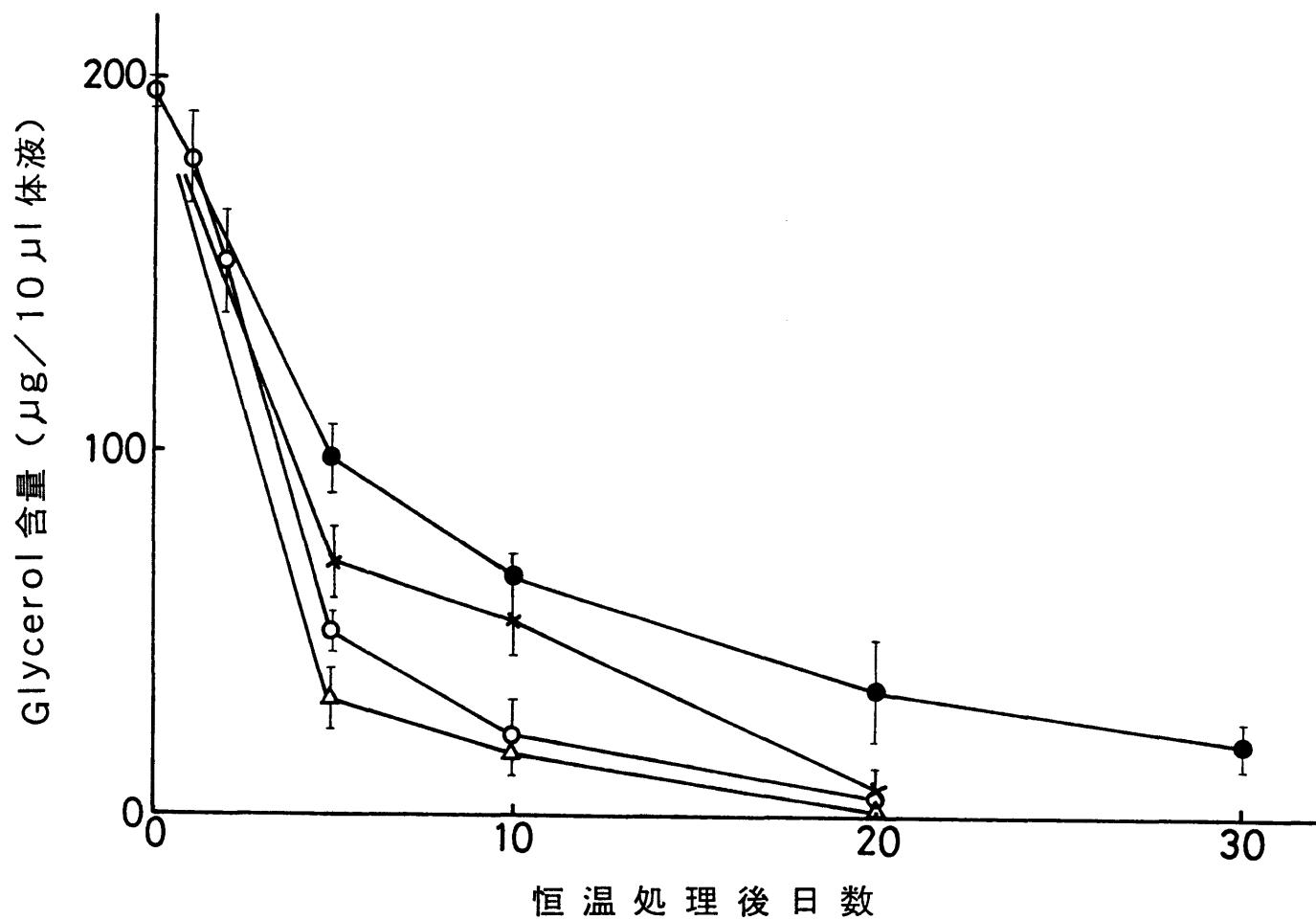
### 結果および考察

#### Glycerol 含量

野外で越冬中の休眠幼虫を各温度に移し、体液中の glycerol 含量に及ぼす温度の影響について調査した（オニモチガタ）。20°C以下の温度では glycerol の生成は促進された。一方、25°C以上に置くと一時的に glycerol は増加するが、時間が経過するにつれて減少した。休眠が破れると後休眠幼虫は 15°Cでも glycerol の分解は急速に進み（オニモチガタ）、休眠幼虫で観察されど一時的な glycerol の増加はみられなかつた。すなわち、野外越冬幼虫においては glycerol の生成は低温と非常に密接な関係があり（スシマタラメイガの幼虫、Sømme, 1966；アリの一種 Camponotus



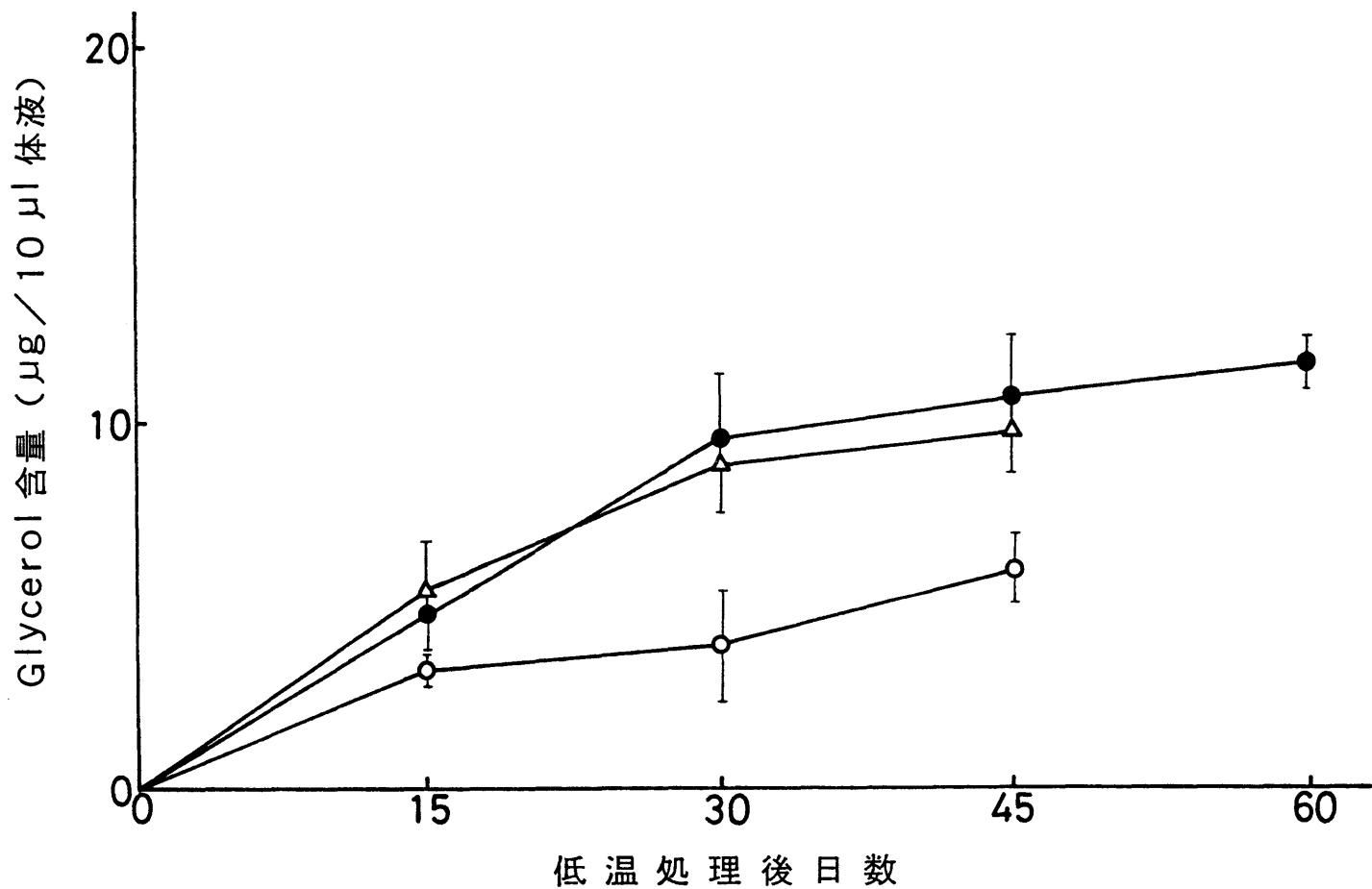
第24図 越冬休眠幼虫の体液中のglycerol含量に及ぼす温度の影響  
 (△) 30°C (○) 25°C (×) 20°C (●) 15°C (▲) 4°C  
 3回反復の平均値 I, 標準誤差



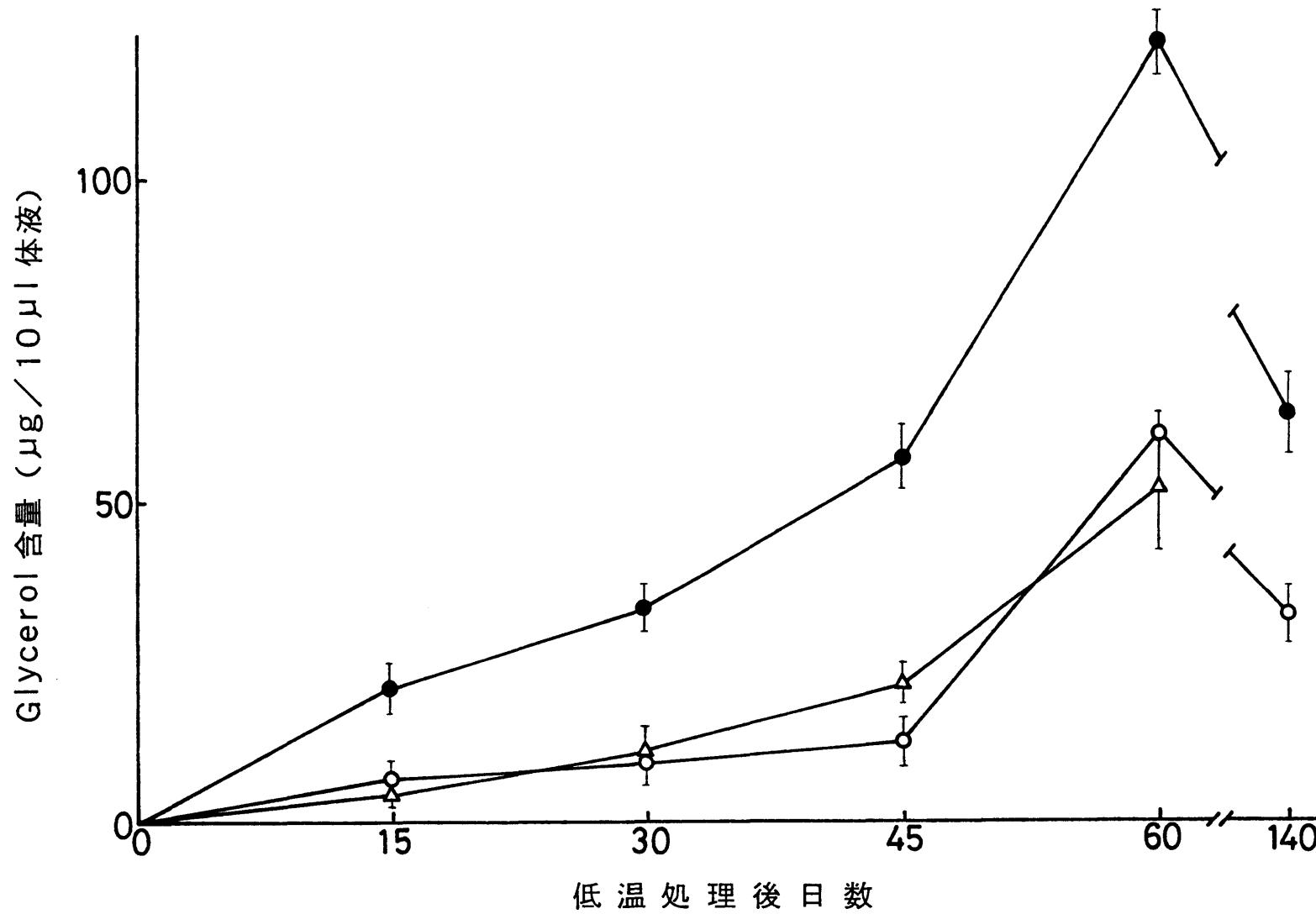
第25図 後休眠幼虫の体液中の glycerol 含量に及ぼす温度の影響  
( $\Delta$ ) 30°C ( $\circ$ ) 25°C ( $\times$ ) 20°C ( $\bullet$ ) 15°C  
3回反復の平均値 I, 標準誤差

pennsylvanicus 幼虫, Nordin et al., 1970; オサムシの一種 Pterostichus brevicornis 幼虫, Baust and Miller, 1970, 1971  
 , 1972; セクロヒア蚕の蛹, Ziegler and Wyatt, 1975), 温度が低下するほど glycerol の生成は促進される傾向にあった。そして、休眠現象とも密接な関係にあった。

長日条件と短日条件下で室内飼育された終令幼虫を低温に保存し、体液中に生成される glycerol 量を比較した(オ26, 27図)。短日条件下で飼育された休眠幼虫の方が glycerol の生成量は高かった。長日条件下で飼育された非休眠終令幼虫では時間が経過しても、glycerol の生成量は少なかった。試験した温度のうちで 10°C で最も glycerol の生成量が高く、15°C でも 4°C でも 10°C にくらべ glycerol 量は少なかった。短日照明条件下で飼育された幼虫を低温に移してから 140 日目に glycerol を測定したところ、60 日目より明らかに減少していた。この低温処理された幼虫を再び 25±2°C 長日条件下に移すと短時日のうちに蛹化が起った。すて



第26図 25±2°C長日条件(16L、8D)で飼育した終令幼虫の体液中の  
glycerol生成に及ぼす低温の影響  
(○) 15°C (●) 10°C (△) 5°C  
3回反復の平均値 I, 標準誤差



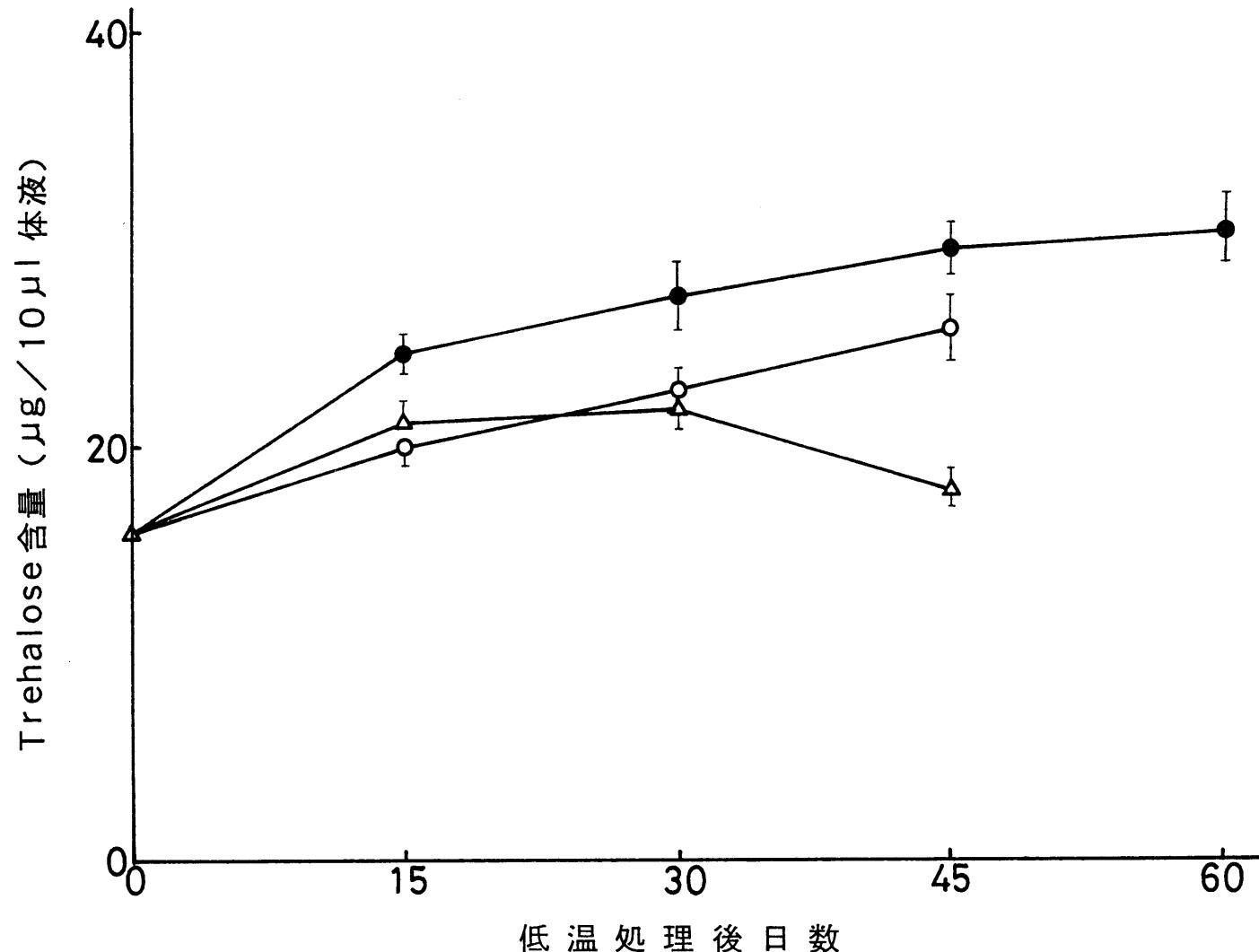
第27図  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  短日条件 (10L, 14D) で飼育した終令幼虫の体液中の  
glycerol 生成に及ぼす低温の影響  
(○) 15°C (●) 10°C (△) 5°C  
3回反復の平均値 I, 標準誤差

に 140 日目には休眠が破れ、後休眠期に入。た  
ことから glycerol は減少したものと推定された  
。そして、この結果は野外越冬の後休眠幼虫  
で得られた結果（オ 25 図）とよく一致してい  
た。Krunic and Salt (1971) はハキリバチの一種 Mega-  
chile rotundata 前蛹を 5°C の低温にあっても、休  
眠が破れると glycerol の減少がみられることを  
報告している。

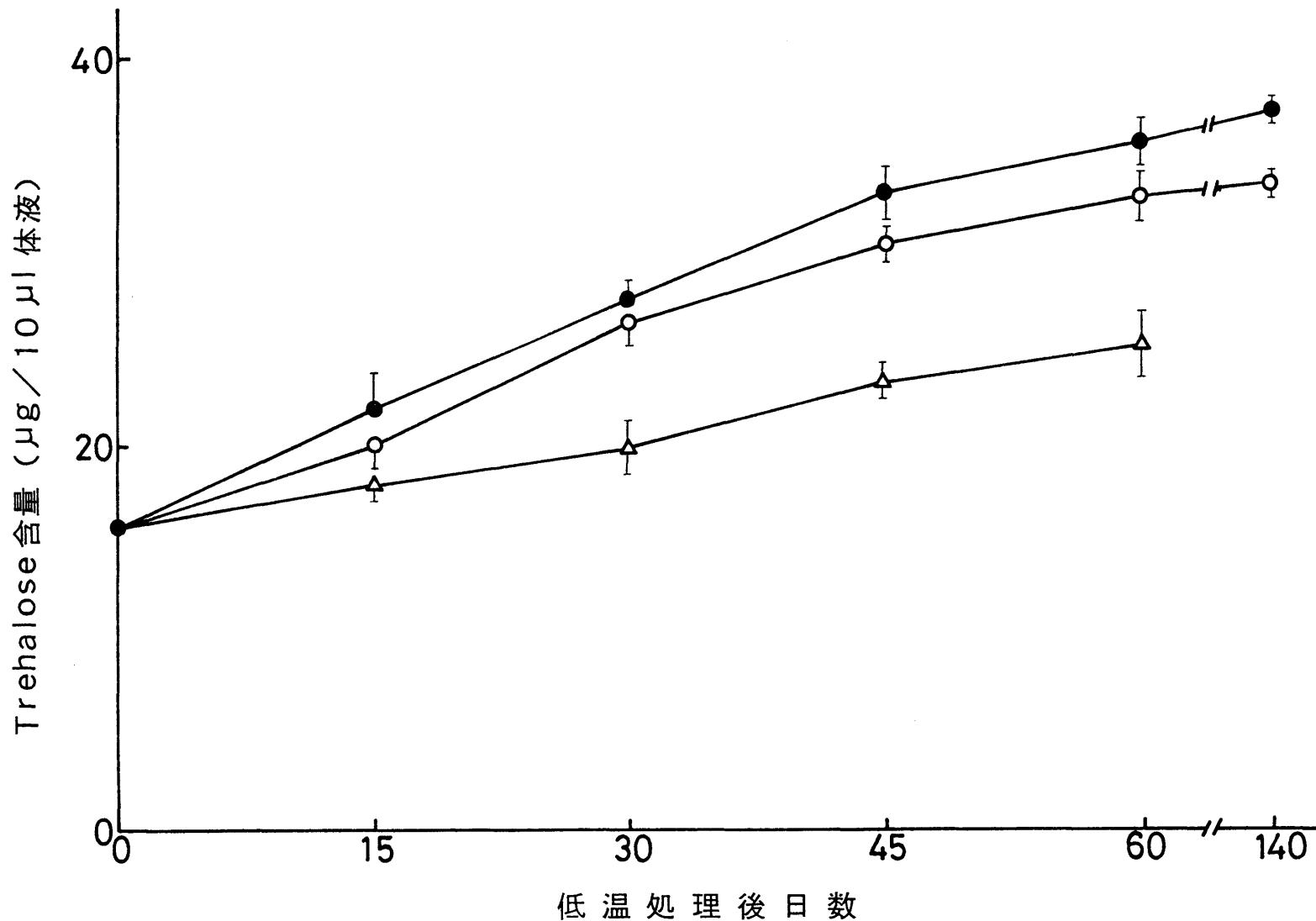
以上の結果から、ニカメイガにおける glycerol  
の生成は、低温以外に休眠とも密接な関係が  
あり、本章オ 3 節、オ 4 節でのホルモンが  
glycerol の生成に関与していることが暗示され  
た。

### 血糖量

越冬幼虫の体液中で glycerol と同様増加がみ  
られる trehalose (オ 21 図) に対する低温の影響  
について調査した。これも glycerol の測定に  
用ひに体液の一部を血糖量測定試料とした。  
オ 28, 29 図はその結果である。低温に移して  
から 15 日目あるものは 30 日目までは長日条件下



第28図 25±2°C長日条件(16L、8D)で飼育した終令幼虫の体液中の  
trehalose含量に及ぼす低温の影響  
(○) 15°C (●) 10°C (△) 5°C  
3回反復の平均値 I, 標準誤差



第29図 25±2°C短日条件(10L、14D)で飼育した終令幼虫の体液中の  
trehalose含量に及ぼす低温の影響  
(○) 15°C (●) 10°C (△) 4°C  
3回反復の平均値 I, 標準誤差

で飼育の幼虫は 45 日までに大部分が死亡した。45 日目の血糖の減少はこのような低温による障害のためと考えられた。15°C に置いた幼虫は 45 日頃までに一部は正常に蛹化し、一部は蛹化中に死亡かれ、幼虫かほんといなくなり以後の実験は中止した。短日条件下飼育の幼虫で休眠がすでに破れているにもかかわらず、140 日目の血糖量は glycerol のように減少することなく、高濃度を維持していた。

以上の結果より、ニカメイガの血糖量は glycerol とは異なり、休眠とは無関係に低温によって増加するものと考えられた。

### 第 3 節 結論の影響

ニカメイガ越冬幼虫の体液中の glycerol 含量は、休眠と密接な関係があり、休眠に入ると非常に増加し、休眠が破れ後休眠期になると

急速に減少することを、すでにオニコガニ3節で述べた。さらに、前節で低温による glycerol の生成量の増加は、短日条件 (10L, 14D) と長日条件 (16L, 8D) で飼育されたニカメイが終食幼虫で異なっており、休眠とともに非常に密接な関係があることが明らかになった。このような結果から glycerol の生成・分解には、温度以外に内分泌系も関係していることが推定された。

ニカメイがの休眠はアラタ体や前胸腺が関係していることがすでに明らかにされている (Fukaya and Mitsuhashi, 1957, 1958; Fukaya and Kobayashi, 1966; Yagi and Fukaya, 1974; ハ木, 1975)。

また、内分泌系の glycerol の生成量に及ぼす影響を明らかにするために、胸部や腹部を結紮し、その結果現われる glycerol 含量の変化について調査した。

## 材料および方法

供試虫：オベニカメイガ越冬幼虫を供試した。

結禁の方法：休眠幼虫と後休眠幼虫の頭一胸間、胸一腹間、さらに一部は腹部10-11節間を80番の木綿糸で結禁し、水を含ませた汎紙とともにシャーレに収容し保護した。結禁することにより分離された体の各部分より体液を別々に採血し、体液中の glycerol 量を測定した。

### 結果および考察

Glycerol の生成が盛んな前休眠期に、頭一胸間、胸一腹間を結禁し、翌春休眠が完全に破れるまで室温に置き、各部分における glycerol を測定した。無結禁の対照区では glycerol は非常に減少していったが、結禁された幼虫では高濃度の glycerol が検出された（オ 12 表）。特に、胸一腹間を結禁した遊離腹部には、頭一胸間を結禁した腹部よりも約 3 倍 glycerol 量は高

第12表 越冬幼虫の体液中の glycerol 含量に及ぼす結紮の影響

最初の量	Glycerol 含量 ( $\mu\text{g}/10\mu\ell$ 体液)				対照 (無結紮)	
	結紮					
	胸部 - 腹部 前部	頭部 - 胸部 後部				
前休眠 a	71.2	—	253.5	84.8	28.9	
後休眠 b	213.5	21.6	20.3	13.8	15.3	

a 11月12日結紮後実験室に保存し、4月15日 glycerol を測定

b 2月14日結紮後実験室に保存し、4月30日 glycerol を測定

2回反復の平均値

第13表 越冬幼虫の体液中の glycerol 含量に及ぼす結紮の影響

処理後 日数	Glycerol 含量 ( $\mu\text{g}/10\mu\ell$ 体液)				自然温度条件 <sup>a</sup>	
	結紮		頭部 - 胸部 後部	対照 (無結紮)		
	胸部 - 腹部 前部	頭部 - 胸部 後部				
前休眠	0				57.3	
	2	52.8 59.3	52.2	58.1		
	10	17.3 85.6	35.3	65.7	125.6	
後休眠	0				143.2	
	2	111.3 106.9	102.0	116.0		
	10	13.0 14.6	13.6	12.2	92.2	

処理後 25°C に保存し、10日目に測定

a 野外から幼虫を採集し測定

3回反復の平均値

第14表 越冬休眠幼虫の体液中の glycerol 含量に及ぼす結紮と温度の影響

温 度	対 照 (無結紮)	Glycerol 含量 ( $\mu\text{g}/10\mu\ell$ 体液)						
		結 紮			胸部 - 腹部 - 体節 10-11			
		胸 部	- 腹 部	前 部	后 部	前 部	中 部	后 部
25 °C	95.6		25.3	88.0		23.5	45.4	65.0
15 °C	155.7		201.2	205.7		171.7	163.7	189.4
4 °C	419.9		385.3	368.7		335.9	369.2	367.0

処理後 10 日目に測定

3回反復の平均値

かかった。一方、休眠が破れたあと同様に結禁した時には結禁の効果はみられず、いずれも对照区と同様 glycerol 量は非常に減少していった（オ 12 表）。オ 13 表は前休眠期と後休眠期に結禁した後、 $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  に 10 日間置いた時の各部分における glycerol 量を比較したものである。室温での結果とはほぼ同様の結果が得られた。すなわち、前休眠期の幼虫と異なって、後休眠期の幼虫を結禁した場合には、結禁の効果はみられず、いずれも glycerol 量は減少した。オ 14 表は結禁と温度の影響について調査したものである。休眠幼虫の胸一腹間を結禁し、さらに腹部 10-11 節間を結禁し、頭部の方から前、中、後部に分割したところ、3 温度区とも中部と後部ではほとんど差がみられないかった。しかし、glycerol の分解がみられる  $25^{\circ}\text{C}$  では頭胸部と腹部で非常に大きな差がみられた。体液が少しでも流れりようによると結禁した場合には、結禁の部位に関係なく、また休眠の前後に關係なく、結禁の前、後部に

における体液中の glycerol 含量に差がみられなかつた。さらに、結紮の位置の違いによる glycerol 含量への影響をみるために、越冬休眠幼虫の腹部の各体節を順次結紮し、前部と後部に分離して glycerol 量を測定した。その結果、前部と後部では glycerol 含量に差がみられたか、同一部分を比較した場合には、結紮の位置の違いによる glycerol 含量の違いはみられなかつた。すなわち、腹部には体液中の glycerol の生成を制御する構造が存在していなかったことが推定された。

以上の結果ならびに前節の結果より、glycerol の生成・分解には頭部と胸部における内分泌器官が密接に関係していることが推定された。

#### オ 4 節 幼若ホルモン活性物質 (JHA) の影響

前節により、ニカメイガ幼虫の glycerol の生

成・分解には内分泌器官の作用と、非常に密接な関係があることが暗示された。ニカメイガではアラタ体の活性が前胸腺にくらべ、はるかに高いことにより休眠が誘起され (Fukaya and Mitsuhashi, 1957, 1958, 1961 ; Fukaya and Kobayashi, 1966 ; Yagi and Fukaya, 1974 ; ハ木, 1975), 休眠幼虫では JH titre が非常に高いことが知られている (Yagi and Fukaya, 1974)。さらに、Yagi and Fukaya (1974) はニカメイガ非休眠幼虫に JH-I を処理することにより、休眠誘起できることを報告している。これらのことから、JH-I ならびに JHA を用いてニカメイガ幼虫における glycerol の生成に及ぼす影響について調査した。

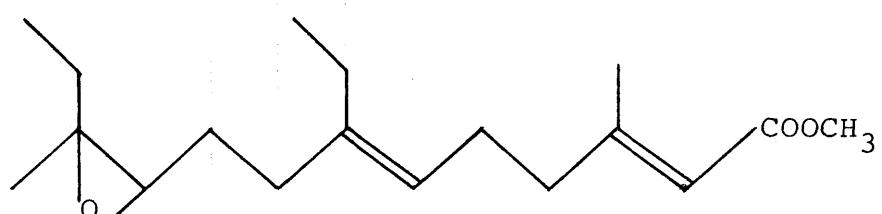
### 材料および方法

供試虫：ニカメイガ越冬幼虫と室内飼育幼虫を用いた。

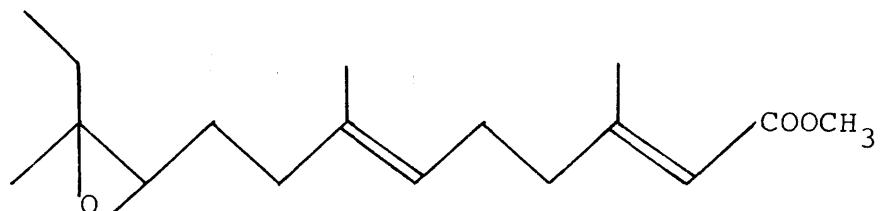
JHA 及び処理方法：用いた JH は JH-I と JHA である。JHA は farnesol, synthetic JH (s-JH と略記) (

JH-I : JH-II = 9 : 1 の 1% 混合物), ZR-515 である。構造式は下記に示す通りである。JH-I と

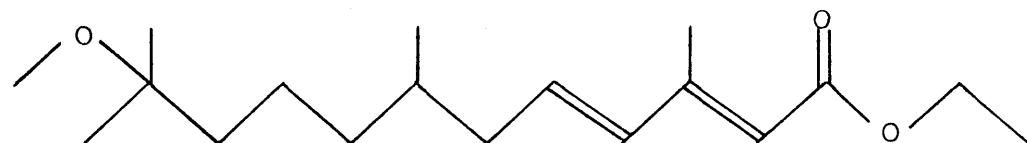
JH-I



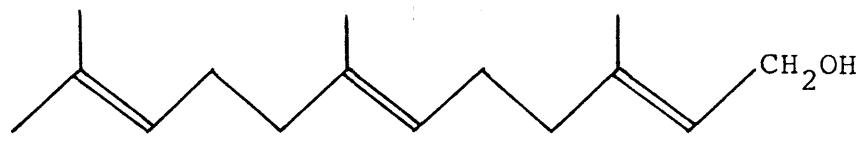
JH-II



ZR-515



Farnesol



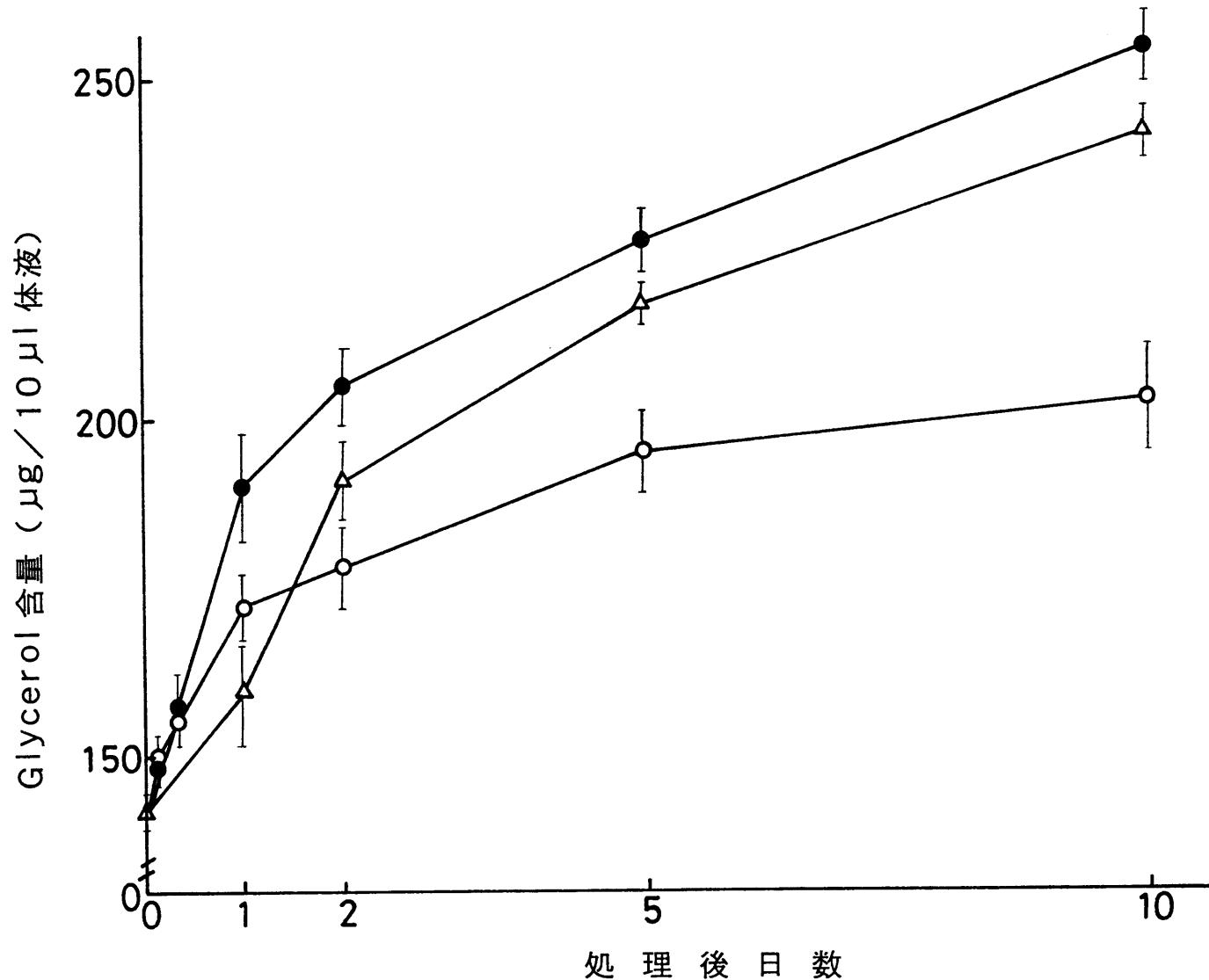
s-JH は Carbio 社(米国)より, ZR-515 は大塚製薬株式会社より, farnesol は東京化成株式会社よりそれぞれ購入した。塗布処理の場合はすべて acetone に, 注射の場合はピーナッツ油に所定の濃度になるよう稀釀して用いた。塗布処

理はマイクロシリシジ（容量 10  $\mu\text{l}$ ：テルモ株式会社製）で幼虫の腹部背板に 1  $\mu\text{l}$  オフ塗布した。注射はマイクロシリシジ（高橋精機株式会社製）により腹脚より 10  $\mu\text{l}$  オフ行なつた。注射部位は体液なじみに注射した JHA が流出しないように 80 番の木綿糸で結紮した。

### 結果および考察

#### Glycerol 含量

JH 効果のある各種物質を越冬幼虫に塗布処理し、glycerol 含量に及ぼす影響について調査した。ニカメイカの休眠を誘起する JH-I (Yagi and Fukaya, 1974) を、越冬休眠幼虫に 0.01  $\mu\text{g}$  あるいは 1  $\mu\text{g}$  塗布処理し、15°C に保護したところ、体液の glycerol 含量は JH-I 0.01  $\mu\text{g}$  処理で増加した（オ 30 図）。しかし、1  $\mu\text{g}$  処理では acetone のみ処理した対照にくらべ抑制された。同様の現象は s-JH や ZR-515 塗布処理 10 日後の越冬休眠幼虫で観察された（オ 15, 16 表）。すなわち



第30図 越冬休眠幼虫の体液中のglycerol含量に及ぼすJH-Iの影響  
(塗布処理後 $15^{\circ}\text{C}$ に保存)  
(△)対照 (●)  $0.01 \mu\text{g}$  (○)  $1 \mu\text{g}$   
3回反復の平均値 I, 標準誤差

第15表 越冬休眠幼虫の体液中の glycerol 含量に及ぼす s-JH の影響

Glycerol 含量 ( $\mu\text{g}/10\mu\text{l}$ 体液)						
対 照	s - JH					
	0.001 $\mu\text{g}$	0.01 $\mu\text{g}$	0.1 $\mu\text{g}$	1 $\mu\text{g}$	10 $\mu\text{g}$	50 $\mu\text{g}$
179.1	193.8	228.7	248.5	240.1	205.9	179.6

処理後実験室に保存し、10日目に測定

2回反復の平均値

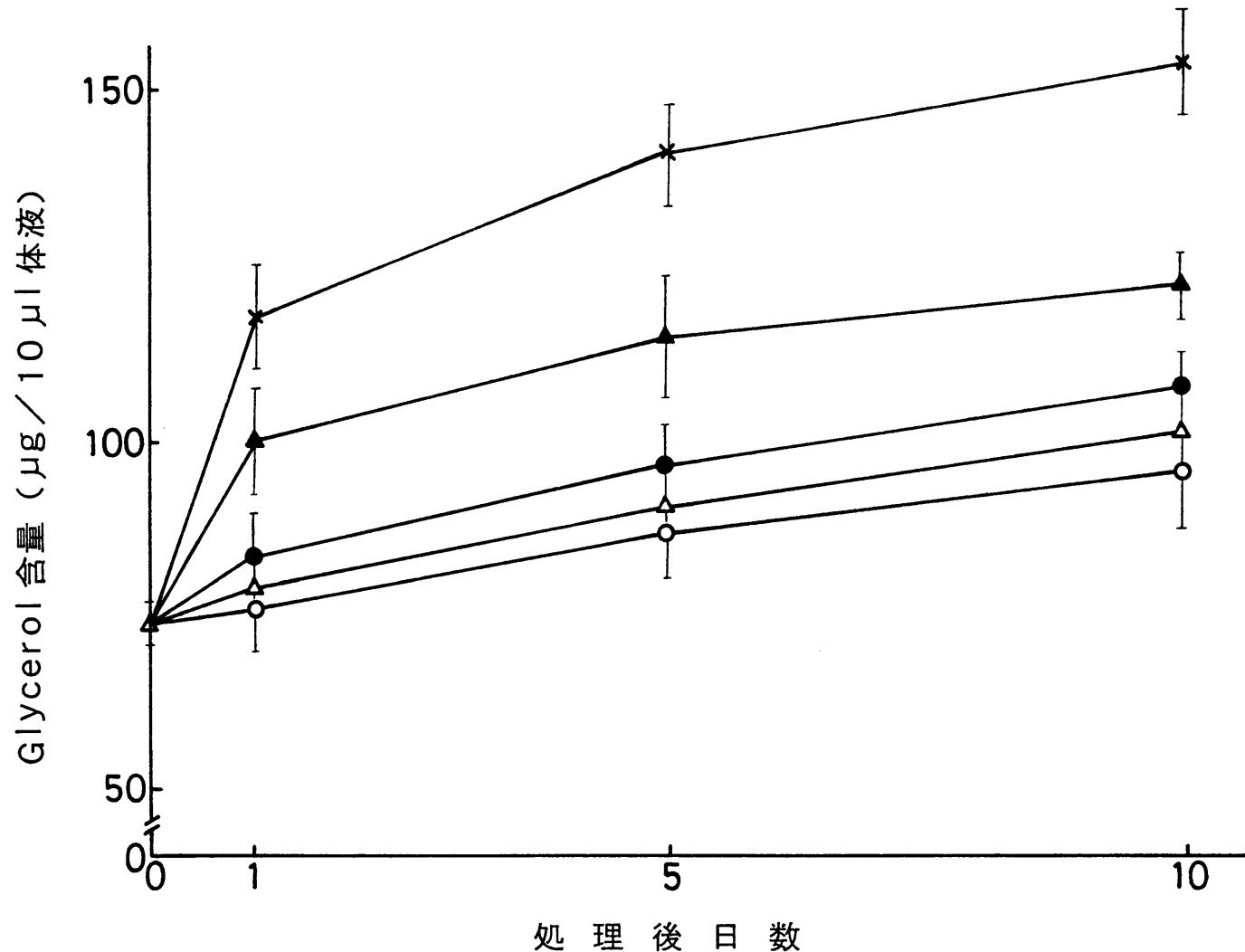
第16表 越冬休眠幼虫の体液中の glycerol 含量に及ぼす ZR-515 の影響

Glycerol 含量 ( $\mu\text{g}/10\mu\text{l}$ 体液)				
対 照	ZR 515			
	0.01 $\mu\text{g}$	0.1 $\mu\text{g}$	1 $\mu\text{g}$	0.01 $\mu\text{g}$ <sup>a</sup>
128.8	150.5	145.3	143.6	148.4

処理後 15 °C に保存し、10日目に測定

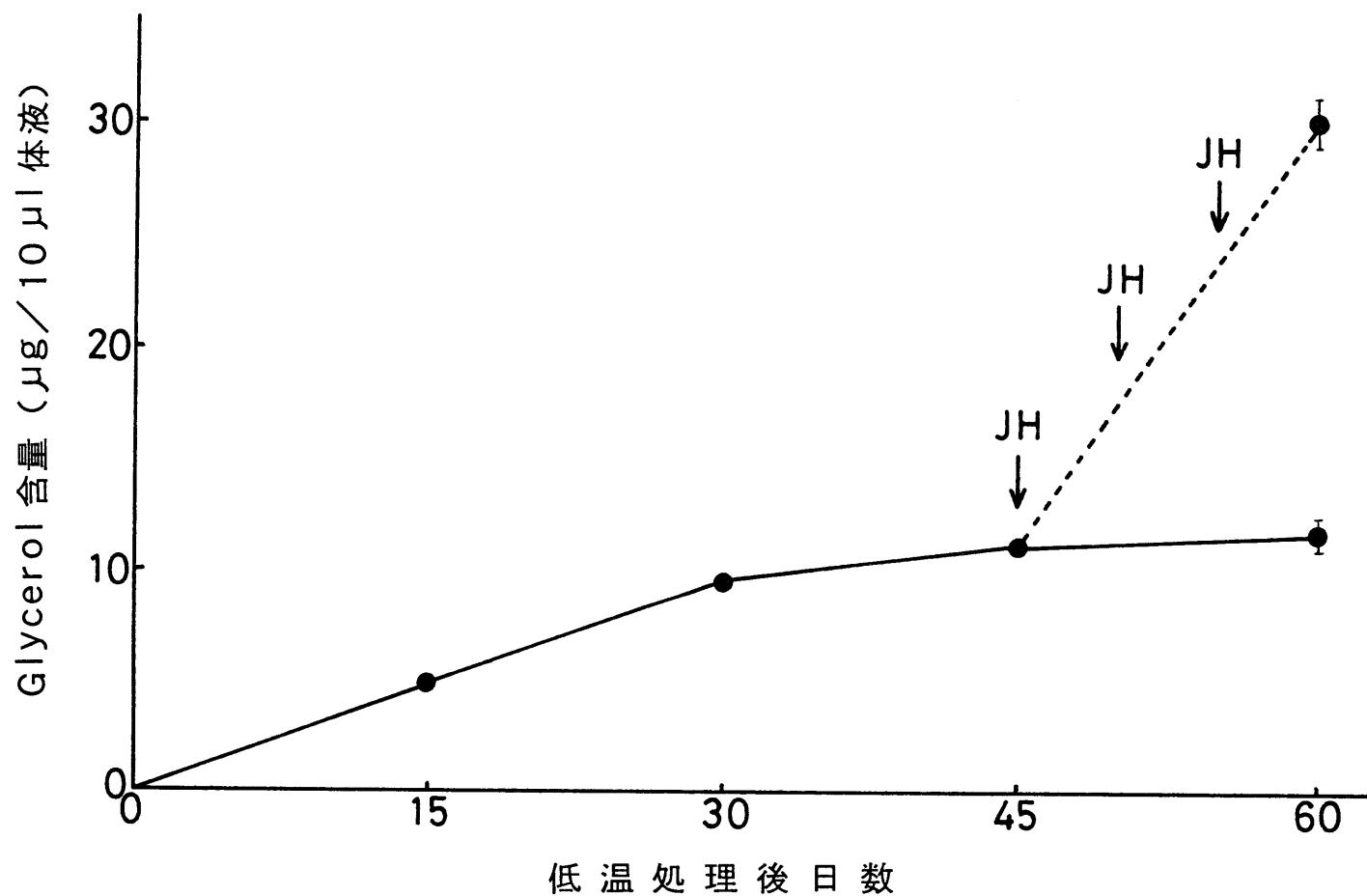
a 毎日 0.01 $\mu\text{g}$  10日間塗布

2回反復の平均値



第31図 前休眠幼虫の体液中のglycerol含量に及ぼすfarnesolの影響  
(塗布処理後実験室に保存)  
(△)対照 (○) 1  $\mu\text{g}$  (●) 10  $\mu\text{g}$  (▲) 100  $\mu\text{g}$  (×) 500  $\mu\text{g}$   
3回反復の平均値 I, 標準誤差

ち、これらのJHAが低濃度では対照にくらべ体液中のglycerolの生成促進がみられるにか、高濃度では抑制される。一方、前休眠期の越冬幼虫にfarnesolを塗布処理し実験室に置くとfarnesolの濃度が高くなるに従って、体液中のglycerol含量は高くなつた(図31)。対照にくらべ高濃度のfarnesol処理でglycerol生成阻害がみられないのは、farnesolのJH活性が弱い(Wigglethworth, 1963, 1970)ためと考えられた。このようにJHAの濃度に影響を受けるものとして脂質代謝が知られてゐる(ヤクロセア蚕の幼虫, Stephen and Gilbert, 1970; Abdel-Aal et. al., 1979)。ニカメイカが休眠幼虫ではニカメイカ自身のJH titreが高く(Yagi and Fukaya, 1974), さらに外部よりJH活性物質を投与されることにより、幼虫体内のJH titreが生理的量を越え、害作用を及ぼすものと推定された。一方、本章オフ節で低温がglycerol生成に及ぼす影響を調査したさい、 $10^{\circ}\text{C}$ に置かれた非休眠終令幼虫の一部に低温処理45日目にJH-Iを5日ごとに5μgずつ3回

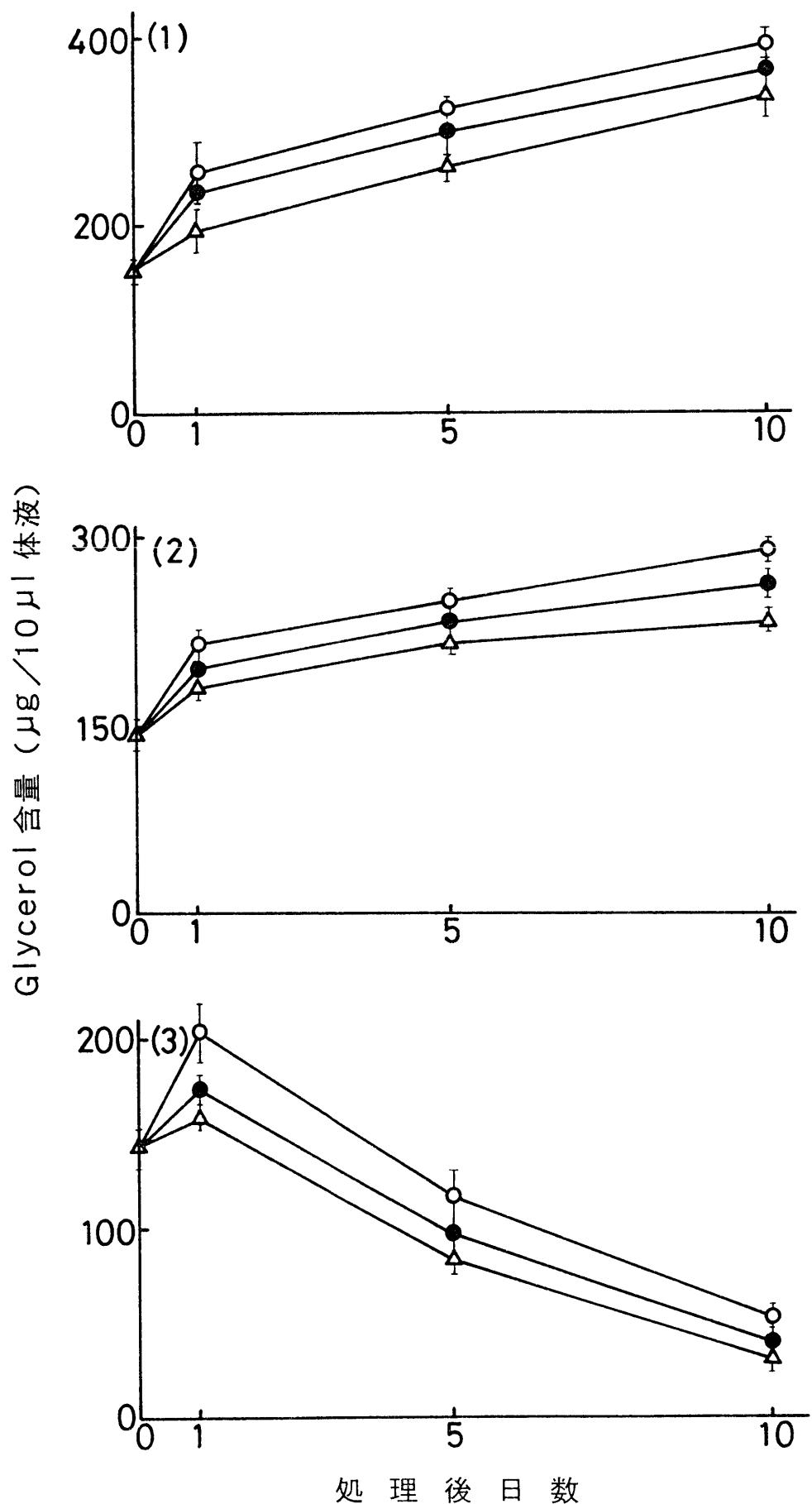


第32図 10°Cにおける非休眠終令幼虫の体液中のglycerol生成に及ぼす  
JH-Iの影響  
3回反復の平均値 I, 標準誤差

、計  $15\text{ }\mu\text{g}$  を塗布処理し、処理を始めて 15 日目に体液中の glycerol 含量に及ぼす JH-I の影響について調査した(図 32)。無処理の対照にくらべ JH-I 処理された幼虫の体液中で glycerol の生成が非常に促進された。非休眠終令幼虫を低温処理と同時に JH-I を与えた時には、glycerol 生成に及ぼす JH-I の効果は低かった。これは、スズメガの一種 Manduca sexta 終令幼虫で知られているように(Nijhout, 1975), JH が急速に分解されるためと考えられた。

以上の結果から、ニカメイガの glycerol 生成に及ぼす JH の影響は、ニカメイガ自身の内生的 JH 量と、JH の分解能力によって変るものと推定された。

JHA と温度の関係について調査した(図 33 図)。いずれの温度でも S-JH,  $1\text{ }\mu\text{g}$ ,  $0.01\text{ }\mu\text{g}$  を越冬休眠幼虫に塗布処理することにより、glycerol 含量は acetone 処理した対照にくらべ高くなる傾向にあった。しかし、 $25^{\circ}\text{C}$ では一時的に体液中の glycerol 含量は増加するが、時間が経



第33図 越冬休眠幼虫の体液中の glycerol 含量に及ぼすs-JHの影響  
 (1) 4°C (2) 15°C (3) 25°C  
 (△) 対照 (●) 0.01  $\mu\text{g}$  (○) 1  $\mu\text{g}$   
 3回反復の平均値 I, 標準誤差

過するに従って s-JH, 対照とも減少した。

ZR-515 を用いて 1 回処理と毎日処理した場合の glycerol 含量に及ぼす影響について調査した(オ 16 表)。毎日  $0.01\mu\text{g}$  10 日間塗布処理した場合と、 $0.1\mu\text{g}$  1 回処理した場合の glycerol 含量に差がみられなかつた。休眠幼虫においては小分けして ZR-515 を投与しても一度に投与しても、glycerol 生成に及ぼす効果は変わなかつた。しかし、この点についてはさらに JHA の濃度を変えて調査する必要がある。

s-JH を塗布した場合と注射した場合の glycerol 含量に及ぼす影響を調査したところ、両者の処理方法の違いによる glycerol 含量への違いはみられなかつた(オ 17 表)。しかし、10 日目にピーナツ油を注射したものと acetone を塗布したもので差がみられた。

越冬休眠幼虫の胸一腹間を結禁した遊離腹部に s-JH を塗布処理したところ、glycerol 含量は増加した(オ 18 表)。しかし、全虫体処理で得られた結果(オ 15 表)と同様、s-JH の濃

第17表 越冬休眠幼虫の体液中の glycerol 含量に及ぼす s-JH の処理方法の違いによる影響

処理後日数	Glycerol 含量 ( $\mu\text{g}/10\mu\ell$ 体液)				
	注 射		塗 布		
	対 照	s-JH $10\mu\text{g}$	対 照	s-JH $10\mu\text{g}$	
0	260.4				
3	220.3	273.1	220.1	280.6	
10	44.7	62.1	77.1	89.4	

処理後  $25^{\circ}\text{C}$  に保存し測定した。

2回反復の平均値

第18表 越冬休眠幼虫の遊離腹部の体液中の glycerol 含量に及ぼす s-JH の影響

		Glycerol 含量 ( $\mu\text{g}/10\mu\text{l}$ 体液)			
対 照	s-JH				
	0.01 $\mu\text{g}$	0.1 $\mu\text{g}$	1 $\mu\text{g}$	10 $\mu\text{g}$	
198.7	233.7	224.3	234.8	198.8	

処理後 15 °C に保存し、10 日目に測定

2 回反復の平均値

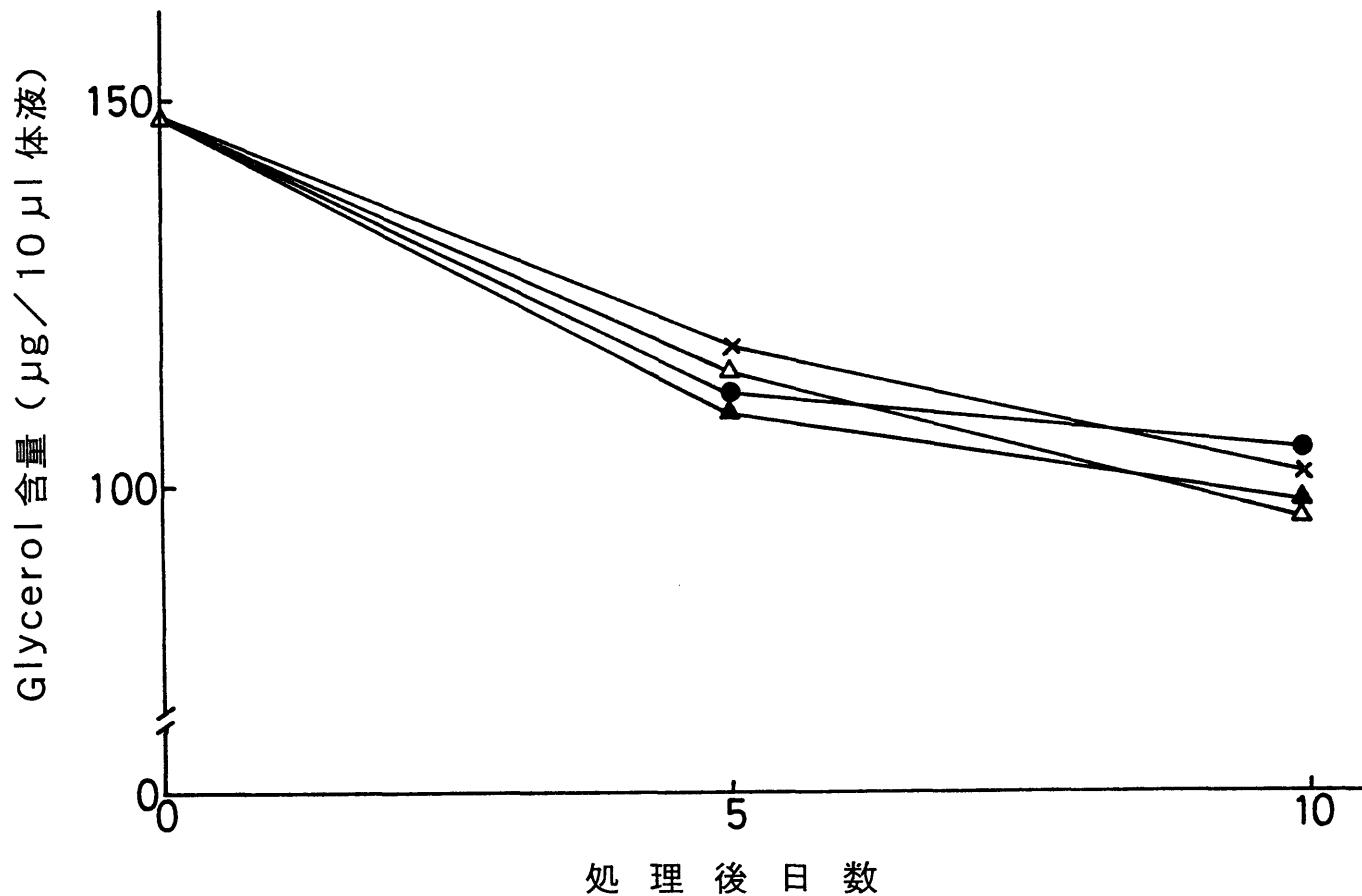
第 19 表 後休眠幼虫の体液中の glycerol 含量に及ぼす JHA の影響

温 度	処理後日数	Glycerol 含量 ( $\mu\text{g}/10\mu\text{g}$ 体液 )				
		対 照		s-JH		
				100 $\mu\text{g}$	300 $\mu\text{g}$	
25 °C	5	17.3		16.5	16.2	
		対 照	s-JH		ZR-515	
			20 $\mu\text{g}$	100 $\mu\text{g}$	20 $\mu\text{g}$	100 $\mu\text{g}$
10 °C	10	196.5	238.5	221.5	242.5	227.9
		対 照	Farnesol			
			500 $\mu\text{g}$		1000 $\mu\text{g}$	
4 °C	7	84.0	95.3		110.5	

2 回反復の平均値

度が高くなるに従って glycerol 含量増加に及ぼす効果が低下した。すなわち、外部から与えたこれらの JHA は直接腹部の glycerol 生成器官、多分脂肪体等に働き、glycerol の生成を促進させることが推定された。一方、後休眠幼虫に farnesol を同様塗布処理しても、体液中の glycerol 含量は acetone 処理した対照と変わらなかつた(第34図)。さらに、高濃度の s-JH や ZR-515 を塗布処理しても、25°Cではほとんど効果を示さなかつた(第19表)。しかし、JHA 処理された後休眠幼虫を 10°Cや 4°C のような低温に置くことにより、glycerol 含量に JHA の効果がみられた。

以上の結果から、JH は glycerol の生成を促進させる作用を有するものの、JH の濃度によってまったく逆作用をすることが明らかになつた。さらに、休眠が破れて後や発育中で、JH が急速に分解されると考えられる時期には、JH の glycerol 生成の促進効果はみられなかつた。しかし、低温に移すことにより JH の効果が



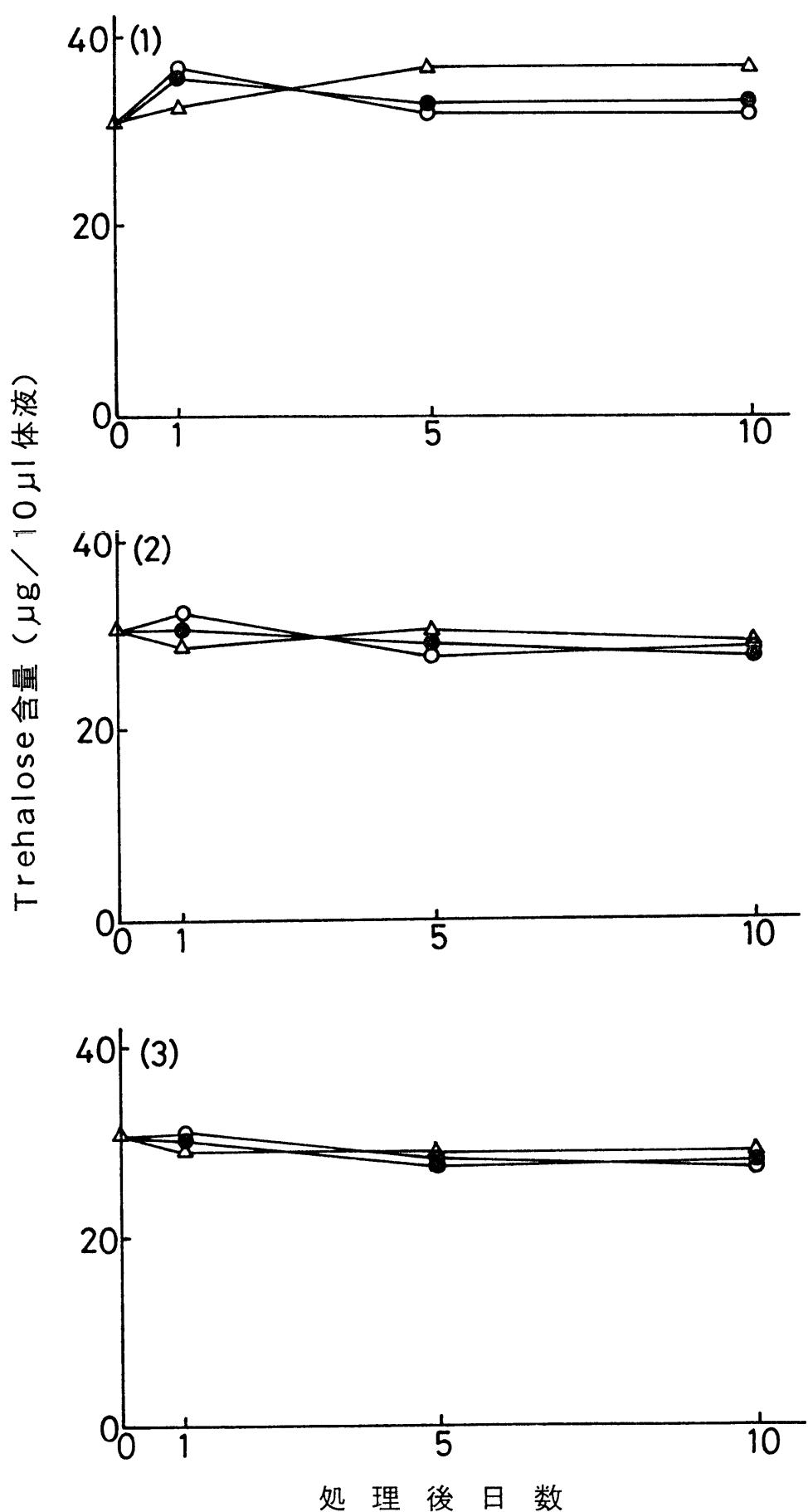
第34図 後休眠幼虫の体液中の glycerol 含量に及ぼす farnesol の影響  
(塗布処理後実験室に保存)  
( $\Delta$ ) 対照    ( $\bullet$ ) 10  $\mu\text{g}$     ( $\blacktriangle$ ) 100  $\mu\text{g}$     ( $\times$ ) 500  $\mu\text{g}$   
3回反復の平均値

みられるようになった。幼虫の生理状態によつても温度によつても JH の glycerol 生成に及ぼす効果は非常に変化するものと推定された。

### 炭水化物含量

血糖量の測定にはすべて glycerol 含量の測定に用ひた体液の一部を用ひて行なつた。s-JH の血糖に及ぼす影響について調査した(オ 35 図)。s-JH を投与しても血糖量は対照とほとんど変わらずほぼ一定であった。しかし、4°C では s-JH 処理後、時間が経過するに従つてわずかに減少がみられた。Glycerol と異なつて、さうに多くの s-JH を処理しても(オ 20 表)、また JH-I を処理しても(オ 36 図)、血糖量はほとんど変わらないか、わずかに高くなつた。すなわち、血糖量はほとんど JH の影響を受けないものと推定された。そして、この結果は本章オ 2 節の結果とも一致していふようになつた。

オ 37 図は glycogen 量に及ぼす s-JH の影響について調査したものである。s-JH 処理後 4°C に



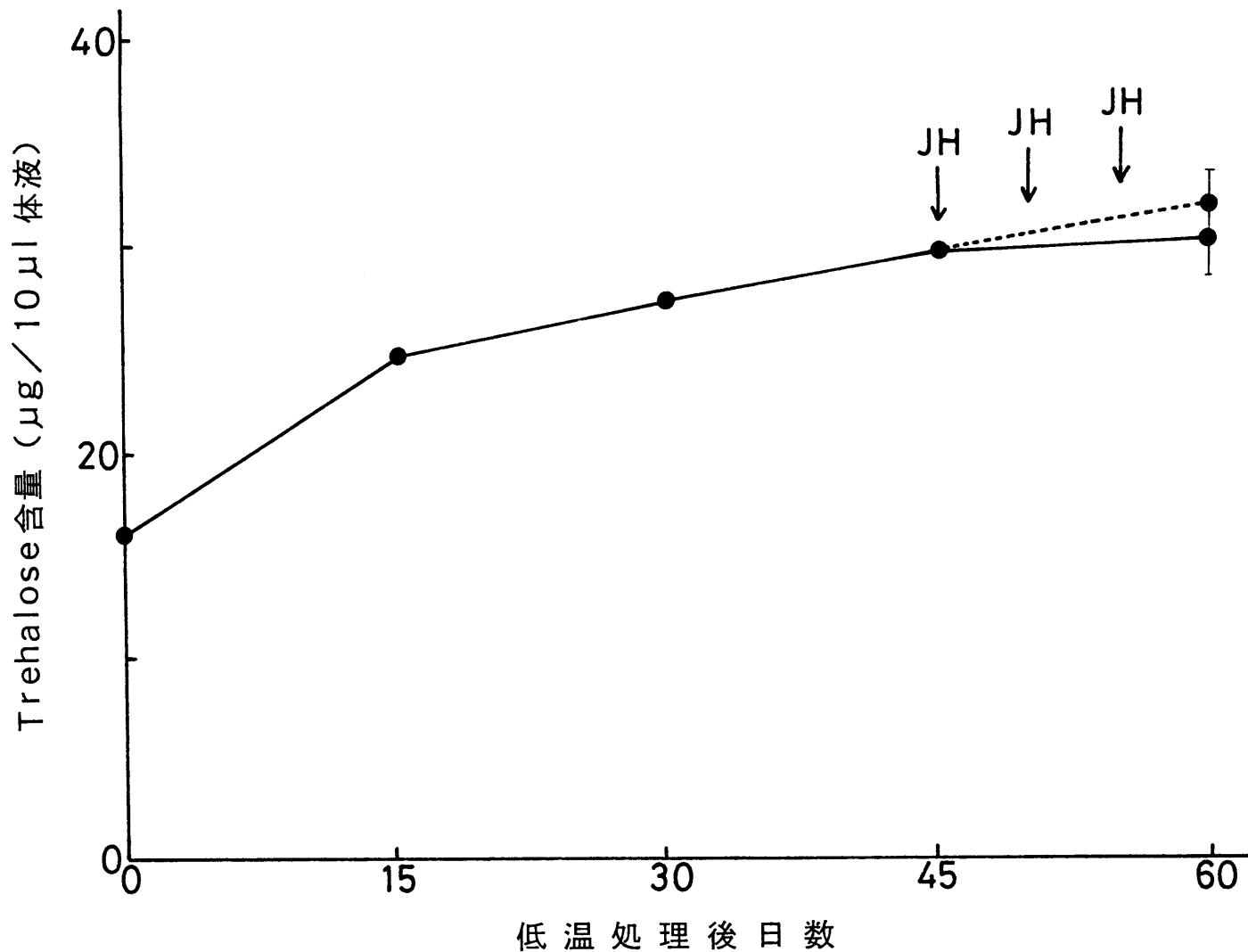
第35図 休眠幼虫の体液中の trehalose 含量に及ぼす s-JH の影響  
 (1) 4°C (2) 15°C (3) 25°C (△) 対照 (●) 0.01 μg (○) 1 μg  
 3回反復の平均値

第 20 表 越冬休眠幼虫の体液中の trehalose 含量に及ぼす s-JH の影響

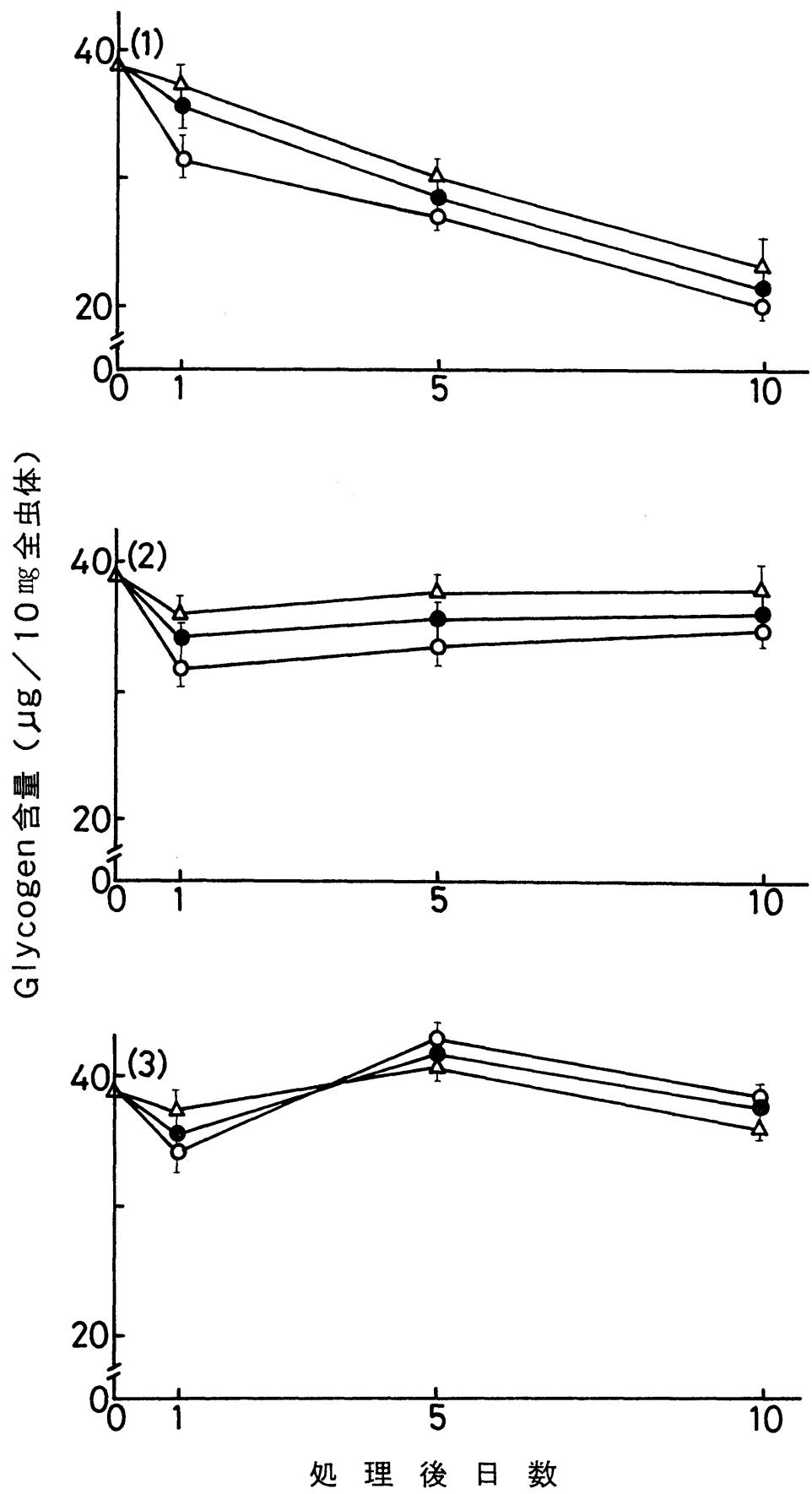
Trehalose 含量 ( $\mu\text{g}/10\mu\text{l}$ 体液 )						
対 照	s-JH					
	0.001 $\mu\text{g}$	0.01 $\mu\text{g}$	0.1 $\mu\text{g}$	1 $\mu\text{g}$	10 $\mu\text{g}$	50 $\mu\text{g}$
32.3	32.3	32.4	31.6	32.0	30.4	32.1

処理後実験室に保存し、10日目に測定

2回反復の平均値



第36図 10℃における非休眠終令幼虫の体液中の trehalose 含量に及ぼす  
JH-I の影響  
3回反復の平均値 I, 標準誤差



第37図 越冬休眠幼虫のglycogen含量に及ぼすs-JHの影響  
 (1) 4°C (2) 15°C (3) 25°C  
 (△) 対照 (●) 0.01  $\mu\text{g}$  (○) 1  $\mu\text{g}$   
 3回反復の平均値 I, 標準誤差

保存した時には glycerol の生成は非常に促進され(第33図)。それとともに glycogen の減少がみられた。特に、<sup>s</sup>-JH 1 μg 处理すると glycogen は非常に減少した。25°Cでは処理1日目、glycerol が一時急激に増加する時期を除いて glycogen は増加した。すなわち、glycogen の減増と glycerol の増減はよく一致しており Chino (1958) によると最初に提唱された結果と一致しているようにみえた。しかし、15°Cでは glycerol が増加するにもかかわらず、5日目には glycogen はむしろ増加がみられた。このことは、glycerol はすべて glycogen から由来していなかことを暗示している。事実、Yaginuma and Yamashita (1978, 1980) は <sup>14</sup>C を用いて、glycogen の減少と sorbitol の増加はよく一致しているが、glycerol の増加とは一致していなかことを報告している。さらに、彼等は glycerol の一部は脂質より由来していることを推定した。また Baust and Miller (1971, 1972) もオサムシの一種 Pterostichus brevicornis 成虫で glycerol の一部は脂質から作られる事を推定

してなる。

以上の結果により、JHA 处理することにより glycerol の生成が促進され、glycogen の分解がそれにともなって促進された。しかし、血糖量はほとんど変化がみられないことがわかった。

#### 第 5 節 脱皮ホルモン (ecdysone) の影響

前節より glycerol の生成に JH が促進的に働くことが明らかになった。しかし、休眠が破れた後休眠幼虫や非休眠終令幼虫に JHA 处理しても glycerol の生成は促進されなかつた。ニカメイカでは休眠が破れると JH titre が減少し、ecdysone titre が増加することが知られてゐる ( Fukaya and Mitsuhashi, 1957 ; Yagi and Fukaya, 1974 ; ハ木, 1975 )。

Ecdysone の glycerol の生成・分解に及ぼす影響について調査した。

供試虫：オベニカメイガ越冬幼虫を供試した。

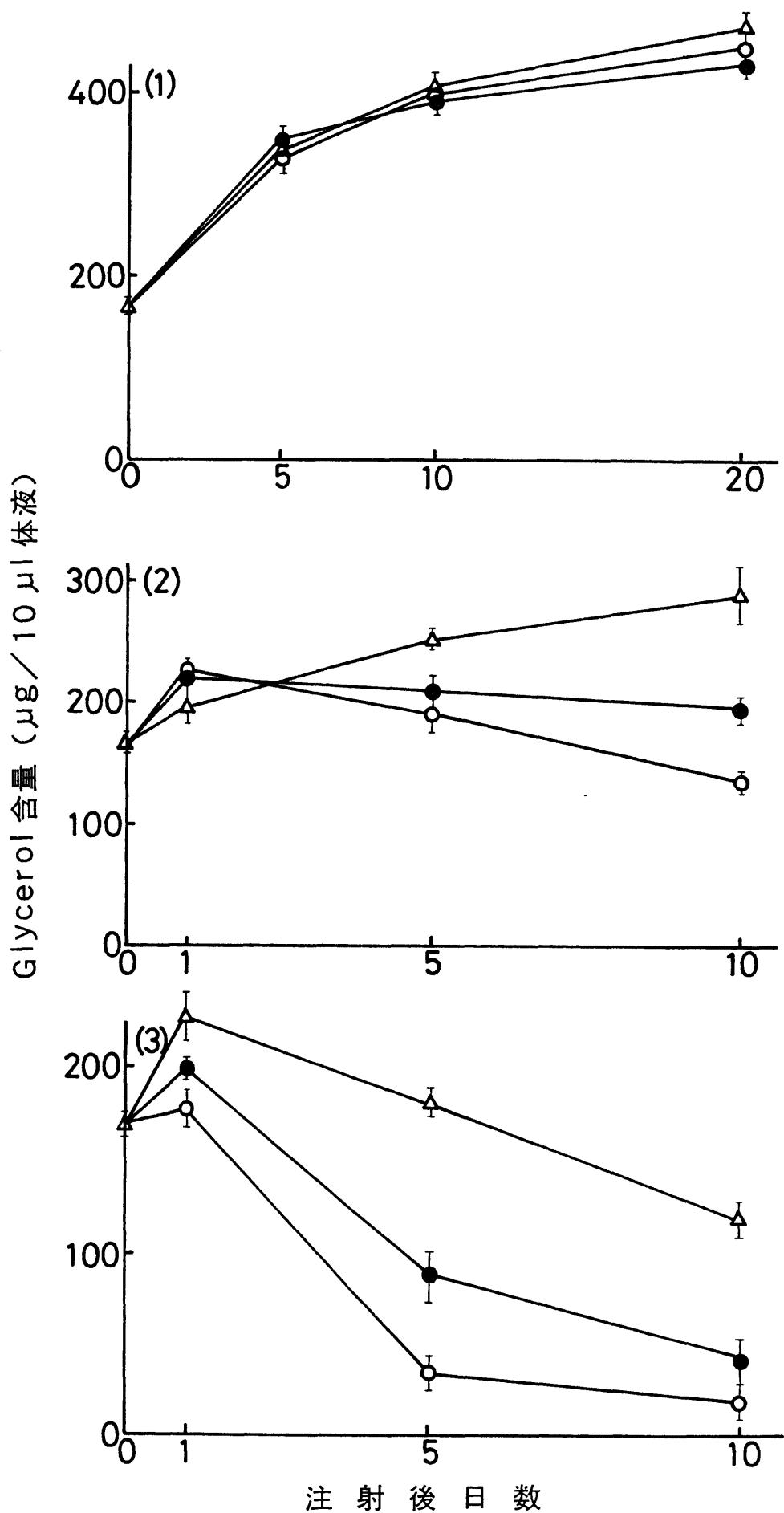
結禁の方法：休眠幼虫と後休眠幼虫の頭一胸間、胸一腹間、さらに一部は腹部10-11節間を80番の木綿糸で結禁し、水を含ませた汎紙とともにシャーレに収容し保護した。結禁することにより分離された体の各部分より体液を別々に採血し、体液中の glycerol 量を測定した。

### 結果および考察

Glycerol の生成が盛んな前休眠期に、頭一胸間、胸一腹間を結禁し、翌春休眠が完全に破れるまで室温に置き、各部分における glycerol を測定した。無結禁の対照区では glycerol は非常に減少していったが、結禁された幼虫では高濃度の glycerol が検出された（オ 12 表）。特に、胸一腹間を結禁した遊離腹部には、頭一胸間を結禁した腹部よりも約 3 倍 glycerol 量は高

Glycerol 含量に及ぼす  $\beta$ -ecdysone の影響について調査した(オ38図)。 $\beta$ -Ecdysone を越冬休眠幼虫に注射すると、体液中の glycerol 含量は対照にくらべ急速に減少した。 $\beta$ -Ecdysone の濃度が高くなる程 glycerol の減少割合は高くなつた。同様の現象はスズメガの一種 Manduca sexta 幼虫でも観察されており(Yamashita and Wyatt, Wyatt, 1975), その結果とよく一致していた。しかし、4°C のような低温では対照と  $\beta$ -ecdysone 処理で差がみられなかつた。頭一胸間, 胸一腹間を結禁した後、 $\beta$ -ecdysone を注射しても蒸溜水注射の対照にくらべ、glycerol の減少がみられた(オ21表)。すなわち、遊離腹部に  $\beta$ -ecdysone を注射しても glycerol の分解がみられたといふことは、 $\beta$ -ecdysone が前胸腺などに働き、glycerol の合成及び分解器官、多分脂肪体に働き glycerol の分解を促進するものではないことが明らかとなつた。

以上の結果より、休眠が破れ前胸腺が活発となり、ecdysone titre が上昇すると、多分主に



第38図 越冬休眠幼虫の体液中の glycerol 含量に及ぼす  $\beta$ -ecdysone の影響  
 (1) 4°C (2) 15°C (3) 25°C  
 (Δ) 対照 (●) 0.01  $\mu\text{g}$  (○) 1  $\mu\text{g}$   
 3回反復の平均値 I, 標準誤差

第 21 表 結紮された越冬休眠幼虫の体液中の glycerol 含量に及ぼす  $\beta$  - ecdisone の影響

	Glycerol 含量 ( $\mu g/10\mu l$ 体液 )	
	結	紮
	頭 部 - 胸 部	胸 部 - 腹 部
$\beta$ - Ecdysone	28.9	24.2
対 照	195.2	108.4

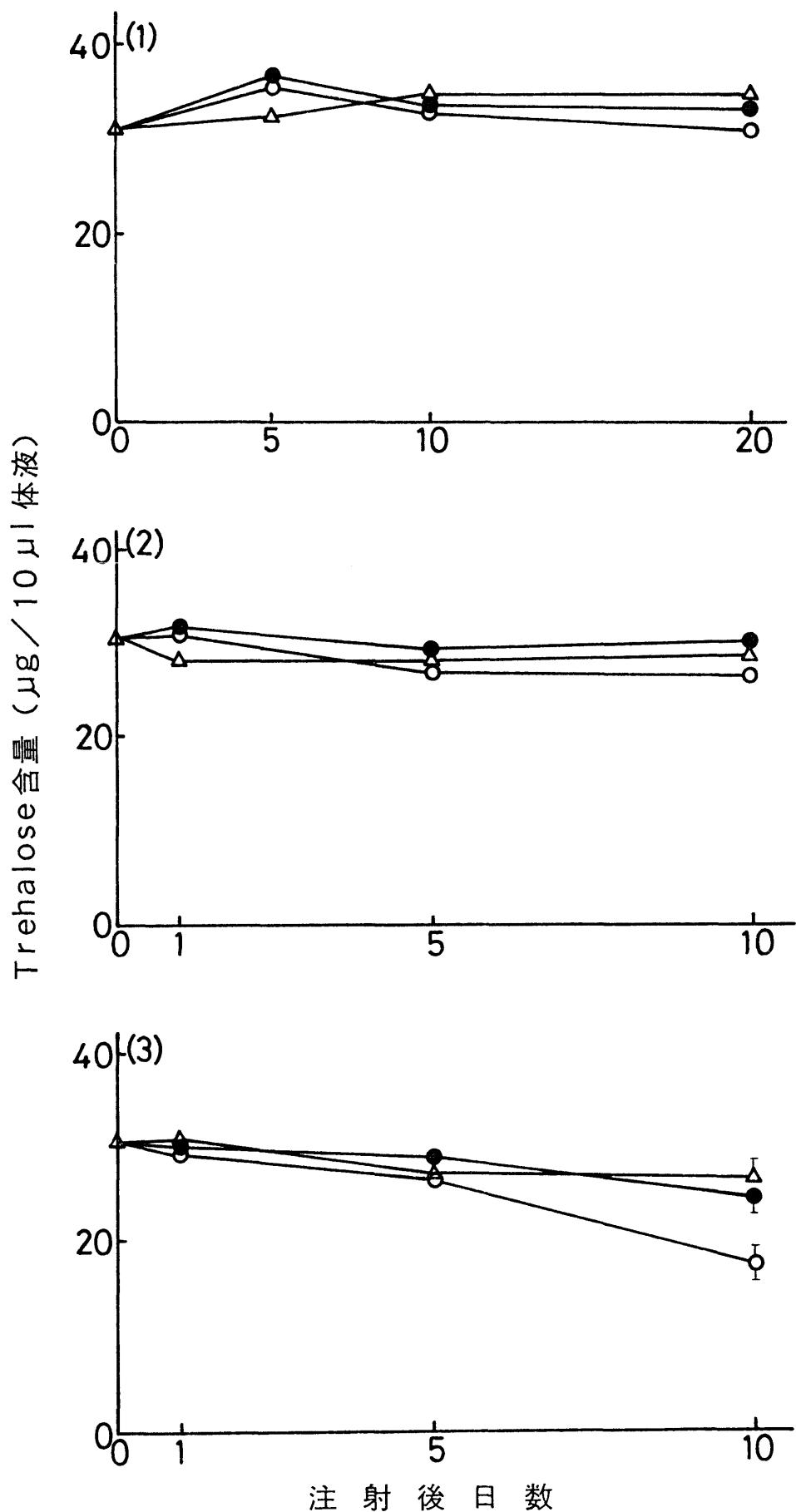
注射後 25 ℃ に保存し、10 日目に測定

2 回反復の平均値

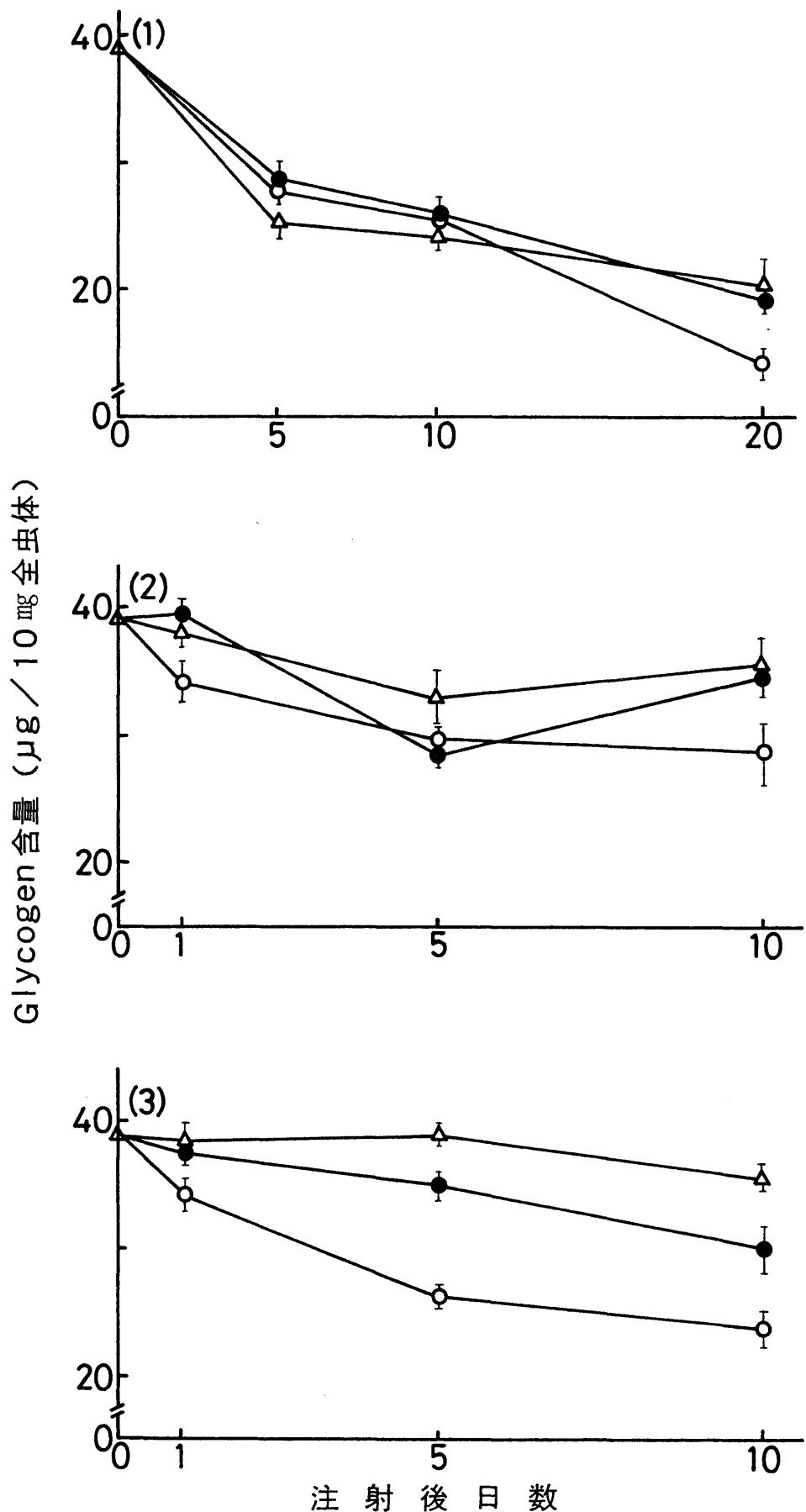
脂肪体に働き glycerol の減少があり、これが原因と推定された。実際の野外ではこの ecdysone の作用が低温でさえられていなかったため、15°C や 25°C に後休眠幼虫を置いた時のような急速な glycerol の減少はみられない。2月から5月にかけて温度の上昇とともに ecdysone が働き、glycerol が減少するものと推定された。

### 炭水化物含量

体液中の糖含量に及ぼす  $\beta$ -ecdysone の影響について調査した結果をオ39図に示した。各温度とも  $\beta$ -ecdysone 処理と対照でほとんど差がみられなかった。25°C で、 $\beta$ -ecdysone 1  $\mu\text{g}$  処理後10日目の幼虫の血糖量は、対照ならびに 0.01  $\mu\text{g}$  处理したものにくらべて少なかった。オ40図は glycogen 含量に及ぼす  $\beta$ -ecdysone の影響について調査した結果である。これでは  $\beta$ -ecdysone 処理も対照もほぼ同様の glycogen の減少がみられ、glycerol の増加を一致していた。25°C では  $\beta$ -ecdysone 処理で急速に glycogen の減少がみられた。血糖は脂肪体の glycogen より補充され、glycogen がある



第39図 越冬休眠幼虫の体液中の trehalose 含量に及ぼす  $\beta$ -ecdysone の影響  
(1)  $4^{\circ}\text{C}$  (2)  $15^{\circ}\text{C}$  (3)  $25^{\circ}\text{C}$   
( $\Delta$ ) 対照 ( $\bullet$ )  $0.01\ \mu\text{g}$  ( $\circ$ )  $1\ \mu\text{g}$   
3回反復の平均値 I, 標準誤差



第40図 越冬休眠幼虫の体液中の glycogen 含量に及ぼす  $\beta$ -ecdysone の影響  
 (1) 4°C (2) 15°C (3) 25°C  
 (△) 対照 (●) 0.01  $\mu\text{g}$  (○) 1  $\mu\text{g}$   
 3回反復の平均値 I. 標準誤差

一定量以下になると、血糖も減少する (Wyatt, 1967)ことから、 $\beta$ -ecdysone 1  $\mu\text{g}$  処理 10 日後の血糖の低下は、glycogen が非常に減少したことによるものと推定された。伊藤・堀江 (1957), Kobayashi and Kimura (1967) は蚕で glycogen は ecdysone 処理により減少することを報告しており、本結果とほぼ一致していた。 $\beta$ -Ecdysone 処理により、glycerol, glycogen とも減少がみられるが、この原因については次章で検討する。

本章で得られた結果をさらに確めるために、glycerol の生成がみられる越冬休眠幼虫の脳、アラタ体を、glycerol の生成がみられない 25 ± 2°C 短日休眠終令幼虫の遊離腹部に移植し、glycerol の生成に及ぼすこれらの器官の影響について予備調査した。越冬休眠幼虫の脳一対を移植した場合には、対照と同様 glycerol の生成はほとんどみられなかつたが、脳-アラタ体連合体を一対移植した場合には glycerol の生成がみられた (オ 22 表)。一方、非休眠終令幼虫からとり出した脳を、越冬休眠幼虫の

第22表 越冬休眠幼虫よりとりだした脳あるいは脳一アラタ体を25°C±  
2°C短日条件(10L, 14D)で飼育された終令幼虫の遊離腹部  
に移植した時の体液中に生成される glycerol 含量

Glycerol 含量 ( $\mu\text{g}/10\mu\text{l}$ 体液 )		
脳一アラタ体移植	脳 移 植	対 照
46.5	10.9	8.9

移植後 15°C に保存し、10日目に測定

2回反復の平均値

第23表 非休眠終令幼虫よりとりだした脳を越冬休眠幼虫の遊離腹部に  
移植した時の glycerol 含量に及ぼす影響

Glycerol 含量 ( $\mu\text{g}/10\mu\text{l}$ 体液 )		
脳 移 植	対 照	
52.1		57.3

移植後 25°C に保存し、7日目に測定

2回反復の平均値

遊離腹部に移植しても、対照と同様の glycerol 含量であった（オニコ表）。これらの結果からも、glycerol の生成には脳やアラタ体などの内分泌器官が関係していることが推定された。

## 要 約

ニカメイガ幼虫における glycerol の生成・分解に及ぼす要因について調査した。

① Glycerol の生成に及ぼす嫌気条件の影響について調査した。非休眠終令幼虫を種々の嫌気状態に置いても glycerol の生成はみられなかつた。Glycerol の蓄積がみられる越冬幼虫では空気：窒素ガス＝8：2の条件下 glycerol の生成が最も促進され、窒素ガスの比が高くなるに従つて抑制された。これらの結果は、glycerol の生成が非常に盛にみられる前休眠期から休眠期にかけての越冬幼虫の酸素消費量が、わずかしか低下しなかつた事実からも支持され

るだろう。

② Glycerol の生成に及ぼす低温の影響について調査した。野外で越冬休眠中の幼虫では、 $20^{\circ}\text{C}$  以下で glycerol の蓄積が認められ、 $25^{\circ}\text{C}$  以上では分解した。休眠が破れた後休眠幼虫では  $15^{\circ}\text{C}$  でも glycerol の分解が起こった。

③  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  短日条件と長日条件下で室内飼育された終令幼虫を低温に置き、体内に生成される glycerol 量を比較した。長日条件下で飼育された非休眠終令幼虫では glycerol の蓄積は少なく、短日条件下で飼育された終令休眠幼虫では glycerol の蓄積は非常に多かった。 $10^{\circ}\text{C}$  附近的温度で glycerol の生成が最も顕著であった。しかし、休眠が破れると低温でも glycerol は減少した。

④ 越冬幼虫を休眠期あるいは後休眠期に頭一胸間、胸一腹間を結禁し、glycerol 含量に及ぼす影響について比較した。休眠期以前に結禁すると、休眠が破れた後でも遊離腹部には多量の glycerol が存在していた。特に、胸一腹

間を結禁された腹部で高かった。一方、休眠が破れた後、あるいはゆるく結禁した場合には、結禁の効果はみられず無結禁の対照と同様 glycerol の消失が起つた。

⑤ Glycerol の生成に及ぼす JH の影響について調査した。越冬休眠幼虫に JH-I 及び JHA 处理すると、glycerol の生成促進がみられるが、休眠が破れた後の JHA 处理はほとんど効果がみられなかつた。しかし、低温では休眠が破れた後でも JHA の効果がみられた。JHA が高濃度になると glycerol の生成抑制がみられた。

⑥ 越冬幼虫の glycerol 含量に及ぼす  $\beta$ -ecdysone の影響について調査した。 $\beta$ -Ecdysone を投与すると glycerol の消失がみられた。しかし、4°C のような低温ではこのような  $\beta$ -ecdysone の効果はみられなかつた。このようなことから、休眠が破れた後、ecdysone titre が高くなつても外気温が非常に低い時には glycerol の分解が妨げられ、春温度が上昇するに従つて glycerol の減少が起るものと推定された。

⑦以上の結果より、ニカメイガ幼虫においては、glycerol の生成、分解は温度と内分泌器官によって影響を受けていることが明らかとなつた。

オ 4 章 ニカメイガ幼虫における glycogen 代  
謝

昆虫で休眠中蓄積されてくる炭水化物は、  
糖アルコールと trehalose とされている (Wyatt,  
1967)

ニカメイガ越冬幼虫においては、すでにオ  
2 章オ 3、4 節において、glycerol, trehalose,  
glycogen の関係について述べた。ところで、こ  
のようなく glycogen - glycerol の相互転換を明らか  
にするために、また glycogen - glucose - trehalose  
の系を明らかにしておく必要がある。

これらの系を明らかにするために  $^{14}\text{C}$ -glucose  
と uridine-5'-diphospho- $^{14}\text{C}$ -glucose ( UDP- $^{14}\text{C}$ -G と略記) の代  
謝、glycogen 代謝酵素活性の変化、ならびに解  
糖系とペントースリン酸回路の活性を調査し  
た。さらに、これらの系に及ぼす JHA や  $\beta$ -  
ecdysone の影響についても調査した。

## オ 1 節 $^{14}\text{C-Glucose}$ と $\text{UDP} \cdot ^{14}\text{C-G}$ の代謝速度の変化

ニカメイガ越冬幼虫において glycogen 含量の変化と、体液中の glycerol ならびに trehalose の含量の変化と密接な関係があり、休眠期と後休眠期でまたたく間に相互転換することをすでに推定した。しかし、実際の glycogen と glycerol, trehalose の物質間の相互転換についての実験的な証明が欠落している。

Trehalose は UDPG と G-6-P より合成され、trehalose 量が増加するとフィードバックを受けて、trehalose 合成が阻害され、UDPG は glycogen 合成に利用されることが推定されている（バッタの一種 Schistocerca gregaria 成虫、Candy and Kilby, 1961; セロヒニアの蛹、Murphy and Wyatt, 1965）。

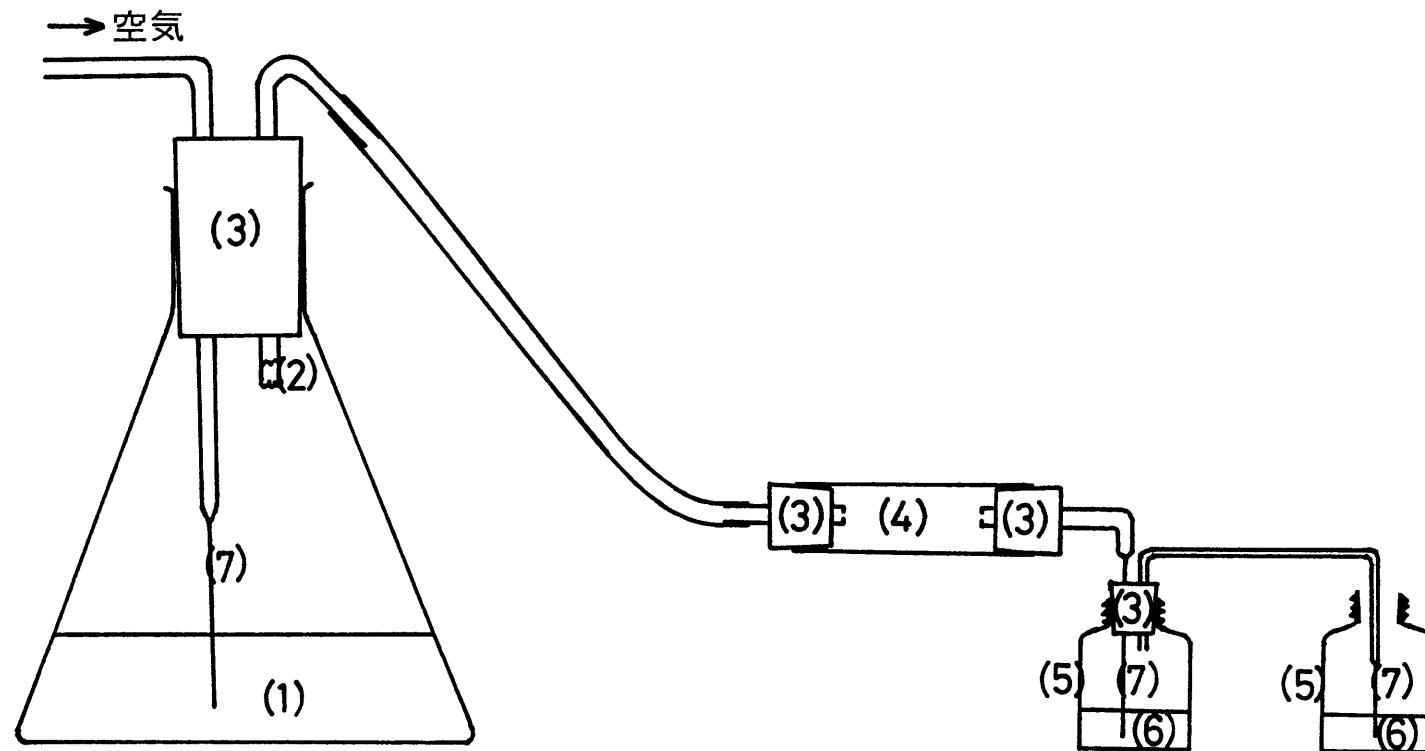
ニカメイガ越冬幼虫と非休眠終令幼虫での glycogen - glycerol, trehalose の相互転換について  $^{14}\text{C-glucose}$  と  $\text{UDP} \cdot ^{14}\text{C-G}$  を用いて調査した。

供試虫：オベニカメイガ越冬幼虫を供試した。

結禁の方法：休眠幼虫と後休眠幼虫の頭一胸間、胸一腹間、さらに一部は腹部10-11節間を80番の木綿糸で結禁し、水を含ませた汎紙とともにシャーレに収容し保護した。結禁することにより分離された体の各部分より体液を別々に採血し、体液中の glycerol 量を測定した。

### 結果および考察

Glycerol の生成が盛んな前休眠期に、頭一胸間、胸一腹間を結禁し、翌春休眠が完全に破れるまで室温に置き、各部分における glycerol を測定した。無結禁の対照区では glycerol は非常に減少していったが、結禁された幼虫では高濃度の glycerol が検出された（オ 12 表）。特に、胸一腹間を結禁した遊離腹部には、頭一胸間を結禁した腹部よりも約 3 倍 glycerol 量は高



第41図  $^{14}\text{CO}_2$  捕集装置

- (1) 10% NaOH    (2) 綿    (3) ゴム栓    (4) ガラス容器  
(5) 液体シンチレーションカウンター    (6) ethanol amine溶液    (7) ガラス細管  
用バイアル

可能であった。

炭水化物と脂質の抽出：体液、消化管、脂肪体、その他残り組織に分けた後、オ2章オ2節の方法によつて 80% ethanol と TCA で全糖、glycogen を抽出した。脂質は TCA で抽出した後の残渣を送風乾燥器に入れ、約 50°C で乾燥させ、5 ml の ethyl ether で 3 回抽出した。Ethyl ether 抽出液の半分を液体シンケレーシヨンカウンター測定用バイアルに移し、室温で ethyl ether を除去した。Ethyl ether 抽出後の残渣は小さくくだりてから、0.5 ml の 1 M hyamine-methanol 溶液中で、約 50°C で加熱溶解した。

<sup>14</sup>C 測定方法： Ethanol ならびに TCA 抽出液各 2 ml を液体シンケレーシヨンカウンター測定用バイアルにとり、10 ml の dioxane scintilator ( 112 g naphthalene, 0.275 g POPOP, 6 g DPO / 1 l dioxane ) を加えよく混和した。なお、TCA 抽出液はあらかじめ同量の ethyl ether で 3 回洗浄して TCA をとり除いた。<sup>14</sup>CO<sub>2</sub> を含んだ CO<sub>2</sub> 抽集剤、ethyl ether 抽出物、hyamine に溶解した残渣には 10 ml の toluene

scintilator ( 4g DPO, 0.1g POPOP / 1l toluene ) を加えよく混和した。  $\text{CO}_2$  捕集剤と toluene scintilator が 2 層に分離する場合には、少量の methanol を加えることにより均一に混和した。バックグラウントの補正は  $^{14}\text{C}$  を含まない試料を同様の方法で測定することにより行なった。

ペーパークロマトグラフィー：放射能の測定に用ひて残りに 80% ethanol 抽出液を減圧下で ethanol ながらに水を除去し、残渣に少量の 80% ethanol を加え、全糖、glycerol を再抽出した。3,000 r.p.m. で 5 分間遠心後、その上清をペーパークロマトグラフィーで展開・分離した（第 2 章第 3 節の方法の項参照）。R<sub>f</sub> 値の比較により同定後、各々の部分を切り取り、液体シンケレーシヨンカウンター測定用バイアルに入れ、10 ml の toluene scintilator を加え、沪紙上の放射能を測定した。

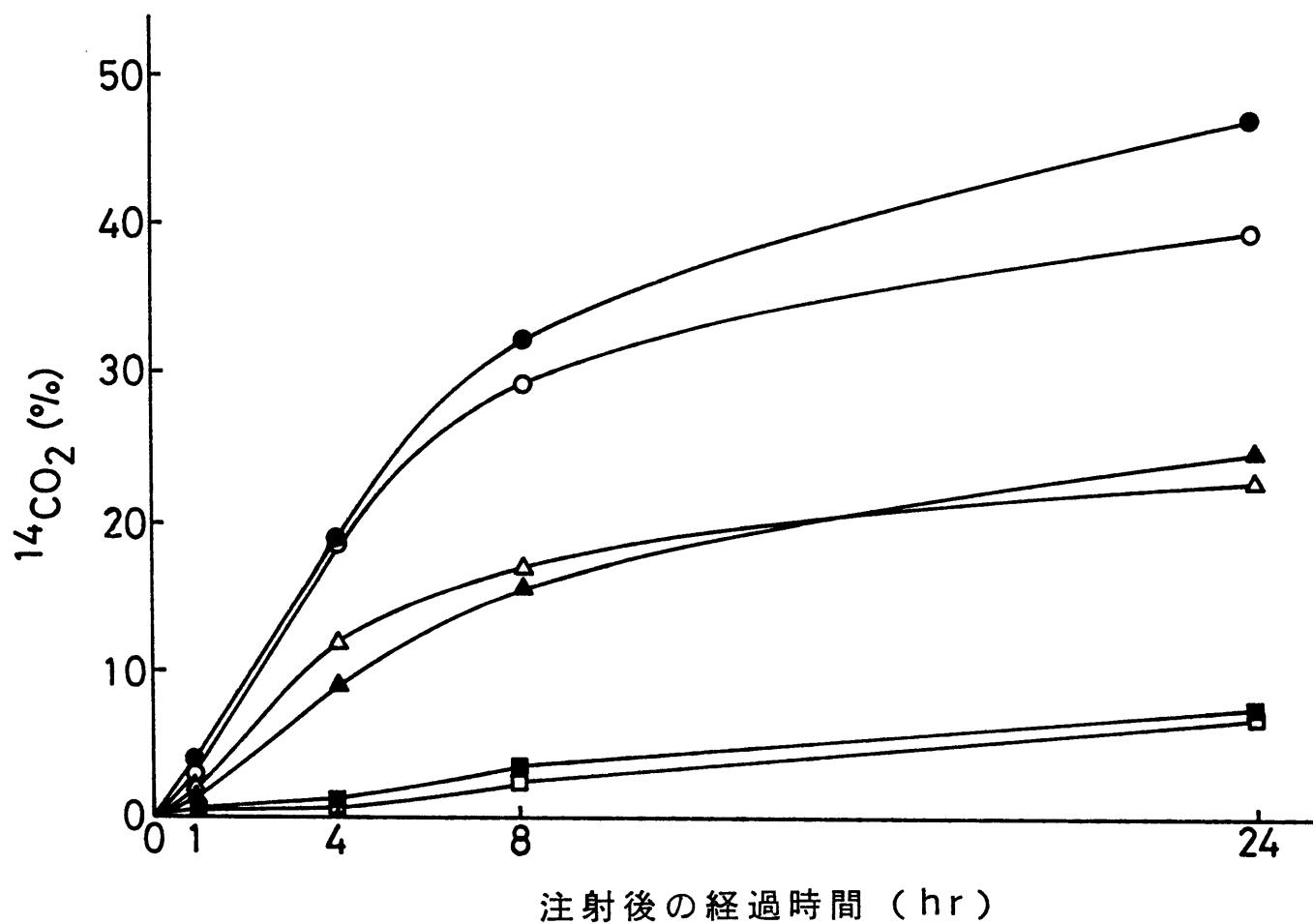
薄層クロマトグラフィー：Ethyl ether 抽出液の残り半分を室温で風乾した。少量の ethyl ether で再び脂質を抽出し、シリカゲルケ薄層クロ

マトグラフィーにより分離した。展開溶媒は petroleum-ether : ethyl ether : acetic acid = 80 : 20 : 1 である。展開後風乾した。脂質の検出はヨウ素ガスで行なった。同定はRF値の比較によつた(大内, 1971)。各々のスポットごとにマイクロスパーテルで薄層面をかき取り、液体シンチレーションカウンター測定用バイアルに入れ toluene scintilator を加え放射能を測定した。

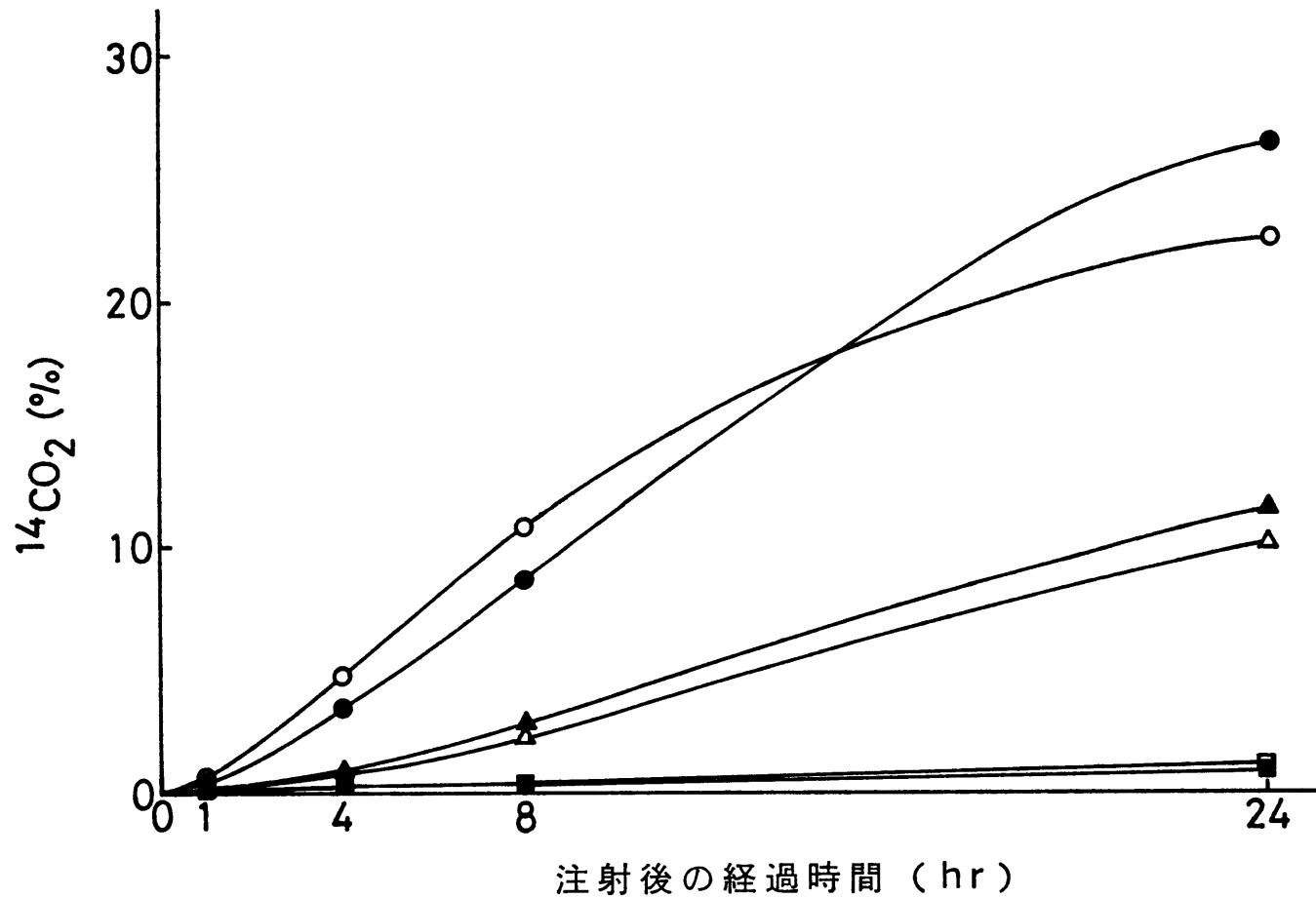
### 結果および考察

ニカメイガ越冬幼虫において、 $^{14}\text{C}$ -glucose と UDP- $^{14}\text{C}$ -G の  $^{14}\text{CO}_2$  への代謝は温度ならびに  $^{14}\text{C}$  化合物の違いによって大きく変化した。UDP- $^{14}\text{C}$ -G は  $^{14}\text{C}$ -glucose にくらべ  $^{14}\text{CO}_2$  への代謝は約半分であった(第42, 43図)。休眠幼虫と後休眠幼虫で比較した場合、 $\text{CO}_2$  への代謝は後休眠幼虫の方があまり傾向にあつた。

$^{14}\text{C}$ -Glucose と UDP- $^{14}\text{C}$ -G を注射して24時間後の各組織への  $^{14}\text{C}$  のとり込み割合(第24表), なら



第42図  $^{14}\text{C}-\text{Glucose}$ を注射された越冬幼虫による  $^{14}\text{CO}_2$  の生成割合  
 (○) 休眠幼虫 25°C (●) 後休眠幼虫 25°C  
 (△) 休眠幼虫 15°C (▲) 後休眠幼虫 15°C  
 (□) 休眠幼虫 4°C (■) 後休眠幼虫 4°C  
 2回反復の平均値



第43図 UDP- $^{14}\text{C}$ -Gを注射された越冬幼虫による $^{14}\text{CO}_2$ の生成割合  
 (○) 休眠幼虫 25°C (●) 後休眠幼虫 25°C  
 (△) 休眠幼虫 15°C (▲) 後休眠幼虫 15°C  
 (□) 休眠幼虫 4°C (■) 後休眠幼虫 4°C

2回反復の平均値

第24表  $^{14}\text{C}$ -Glucose と UDP- $^{14}\text{C}$ -Gを注射1日後越冬幼虫の各組織に存在した  $^{14}\text{C}$ の割合

		休眠			後休眠		
		4°C	15°C	25°C	4°C	15°C	25°C
$^{14}\text{C}$ -Glucose	体液	30.8%	22.6	10.6	24.0	18.1	7.7
	消化管	2.9	2.7	2.0	2.7	2.9	2.1
	脂肪体	12.2	11.8	22.0	9.3	18.8	16.3
	残り組織	47.9	39.7	26.0	57.3	35.2	26.9
UDP- $^{14}\text{C}$ -G	体液	72.6	50.1	25.6	80.5	52.0	34.5
	消化管	1.0	2.3	2.1	1.9	1.6	1.6
	脂肪体	6.3	10.2	24.5	4.3	11.7	11.6
	残り組織	18.7	27.4	25.4	13.0	22.9	25.8

注射された全放射能に対する比率

2回反復の平均値

第25表  $^{14}\text{C}$ -Glucose 注射 1日後越冬幼虫の組織別の各抽出分画中の  $^{14}\text{C}$  の割合

		休眠				後休眠			
		EtOH	TCA	Ether	残渣	EtOH	TCA	Ether	残渣
4 °C	消化管	2.0%	0.7	0.1>	0.2	1.9	0.7	0.1>	0.1
	脂肪体	8.0	3.2	0.2	0.9	7.5	1.1	0.4	0.3
	残り組織	33.3	12.3	0.4	2.0	38.8	13.4	0.3	4.9
15 °C	消化管	2.0	0.6	0.1>	0.1	1.5	1.0	0.1>	0.4
	脂肪体	5.0	2.8	3.0	1.0	6.4	3.0	7.7	1.6
	残り組織	20.7	16.1	0.9	2.0	20.2	9.4	2.2	3.5
25 °C	消化管	0.9	0.9	0.1>	0.2	0.7	1.0	0.1>	0.3
	脂肪体	4.8	13.9	2.1	1.5	5.7	8.7	3.3	0.3
	残り組織	9.4	13.8	0.8	2.1	9.7	11.8	1.2	4.0

注射された全放射能に対する比率

2回反復の平均値

第26表 UDP-<sup>14</sup>C-G注射1日後越冬幼虫の組織別の各抽出分画中の<sup>14</sup>Cの割合

		休眠				後休眠			
		EtOH	TCA	Ether	残渣	EtOH	TCA	Ether	残渣
4℃	消化管	0.7%	0.3	0.1>	0.1>	1.4	0.4	0.1>	0.1>
	脂肪体	4.9	1.2	0.1	0.1	3.6	0.6	0.1	0.1>
	残り組織	14.4	3.7	0.1>	0.5	8.3	4.0	0.1>	0.9
15℃	消化管	1.3	0.9	0.1>	0.1	1.0	0.4	0.1>	0.2
	脂肪体	5.2	4.1	0.7	0.4	5.8	3.4	2.0	0.6
	残り組織	17.4	8.4	0.3	1.3	13.4	7.0	0.6	2.0
25℃	消化管	0.8	1.1	0.1>	0.2	0.8	0.5	0.1>	0.2
	脂肪体	6.1	16.7	0.7	1.1	5.1	5.2	1.0	0.4
	残り組織	12.2	11.1	0.3	1.8	14.9	7.9	0.6	3.1

注射された全放射能に対する比率

2回反復の平均値

べに組織別の各分画中の $^{14}\text{C}$ の活性割合(オ25, 26表)を調査した。 $\text{CO}_2$ への代謝と同様、温度によつても $^{14}\text{C}$ 化合物の違いによつても組織への $^{14}\text{C}$ のとり込み割合、ならびに各分画中の $^{14}\text{C}$ の活性割合は異なつてゐた。休眠幼虫では後休眠幼虫にくらべTCA分画で高く、ethyl ether分画では低かった。すなわち、休眠幼虫ではglycogenへの $^{14}\text{C}$ のとり込みが多かつた。温度が高くなるほどこの傾向は顕著にみられた。この実験に用ひた後休眠幼虫は2月下旬野外より採集したもので、glycogen synthetaseが活性化される前である(オ4章オ2節)ことから、glycogenへの放射能のとり込みが低かつたものと推定された。Trehalose, glucose, glycerolへの $^{14}\text{C}$ -glucose, UDP- $^{14}\text{C}$ -Gの $^{14}\text{C}$ のとり込みを調査したところ、各組織とも休眠幼虫の方が後休眠幼虫にくらべ、glycerolへの $^{14}\text{C}$ のとり込みが高く、逆にtrehaloseへのとり込みは低かつた(オ27~29表)。すなわち、glycerolの蓄積がみられる休眠幼虫では、 $^{14}\text{C}$ -glucoseとUDP- $^{14}\text{C}$ -Gで程度に差か

第27表  $^{14}\text{C}$ -Glucose 注射 1日後越冬幼虫の消化管, 脂肪体の trehalose glycerolとしてとりこまれた $^{14}\text{C}$  の割合

		消 化 管			脂 肪 体		
		4 °C	15 °C	25 °C	4 °C	15 °C	25 °C
休 眠	Trehalose	11.0%	11.3	9.9	7.6	6.3	7.2
	Glucose	5.8	9.8	10.4	5.8	5.5	3.9
	Glycerol	12.4	14.5	13.7	8.0	7.6	7.2
後 休 眠	Trehalose	15.1	9.5	11.0	14.5	13.4	11.0
	Glucose	3.5	2.8	3.9	3.7	6.0	5.6
	Glycerol	10.1	7.1	7.0	7.1	6.0	6.1

ペーパークロマトグラム上の全放射能に対する比率

2回反復の平均値

第28表 UDP- $^{14}\text{C}$ -G 注射 1日後越冬幼虫の消化管, 脂肪体の trehalose glycerolとしてとりこまれた $^{14}\text{C}$  の割合

		消 化 管			脂 肪 体		
		4 °C	15 °C	25 °C	4 °C	15 °C	25 °C
休 眠	Trehalose	11.3%	7.5	11.5	7.4	6.0	4.0
	Glucose	7.9	8.3	6.5	2.6	3.4	1.9
	Glycerol	9.9	11.5	8.6	7.1	4.8	2.8
後 休 眠	Trehalose	23.6	17.6	15.4	34.7	45.7	35.5
	Glucose	12.7	2.9	1.5	6.2	8.5	4.1
	Glycerol	6.9	7.1	5.3	5.3	2.0	4.3

ペーパークロマトグラム上の全放射能に対する比率

2回反復の平均値

第29表  $^{14}\text{C}$ -Glucose, UDP- $^{14}\text{C}$ -G注射1日後越冬幼虫の体液中の  
trehalose, glycerolとしてとりこまれた $^{14}\text{C}$ の割合

		$^{14}\text{C}$ -Glucose			UDP- $^{14}\text{C}$ -G		
		4 °C	15 °C	25 °C	4 °C	15 °C	25 °C
休眠	Trehalose	14.3 <sup>a</sup> (4.4) <sup>b</sup> %	7.3(1.7)	13.8(1.5)	12.3(8.9)	5.9(3.0)	7.8(2.0)
	Glucose	3.4(1.1)	3.3(0.7)	3.3(0.4)	2.5(1.8)	3.3(1.7)	3.0(0.8)
	Glycerol	36.6(11.3)	32.8(7.4)	20.4(4.2)	3.2(2.3)	4.1(2.1)	8.6(2.2)
後休眠	Trehalose	10.9(2.6)	20.9(3.8)	30.1(2.3)	6.4(5.2)	18.2(9.5)	21.8(7.5)
	Glucose	29.0(7.0)	3.9(0.7)	4.5(0.3)	1.3(1.0)	6.1(3.2)	4.0(1.4)
	Glycerol	11.1(2.7)	9.6(1.7)	6.6(0.5)	1.3(1.0)	2.9(1.5)	2.1(0.7)

a ペーパークロマトグラム上の全放射能に対する比率

b 注射された全放射能に対する比率

2回反復の平均値

あるものの、glycerol への  $^{14}\text{C}$  のとり込みは高く  
なり、休眠が破れ、glycerol、trehalose 含量が減  
少するに従って(オ13、14回)、glycerol への  
 $^{14}\text{C}$  のとり込みは減少し、trehalose への  $^{14}\text{C}$  のとり  
込みが多くなった。Candy and Kilby (1961) はバッタ  
の一種 Schistocerca gregaria の脂肪体で UDPG が存在す  
る時には  $^{14}\text{C}$ -glucose から trehalose への放射能のと  
り込みがよく起ることを報告している。また  
、Murphy and Wyatt (1965) はセクロピア蚕の脂肪体で  
trehalose-6-phosphate (T-6-P と略記) synthetase は UDPG に  
対して glycogen synthetase よりも高い親和力を有し  
てあり、trehalose 浓度が高くなると T-6-P synthetase  
活性が阻害され、その結果 UDPG は glycogen の合  
成に用いられることが推定している。本実験  
のニカメイガ幼虫においても、越冬休眠中  
trehalose 含量が高い(オ21回)ことにより、T-6  
-P synthetase が阻害され、その結果休眠時における  
 $^{14}\text{C}$ -glucose、 $\text{UDP}^{14}\text{C-G}$  の trehalose への  $^{14}\text{C}$  のとり込  
みは少なく、glycogen へのとり込みが多くなっ  
たものと推定された。一方、休眠が破れ、消

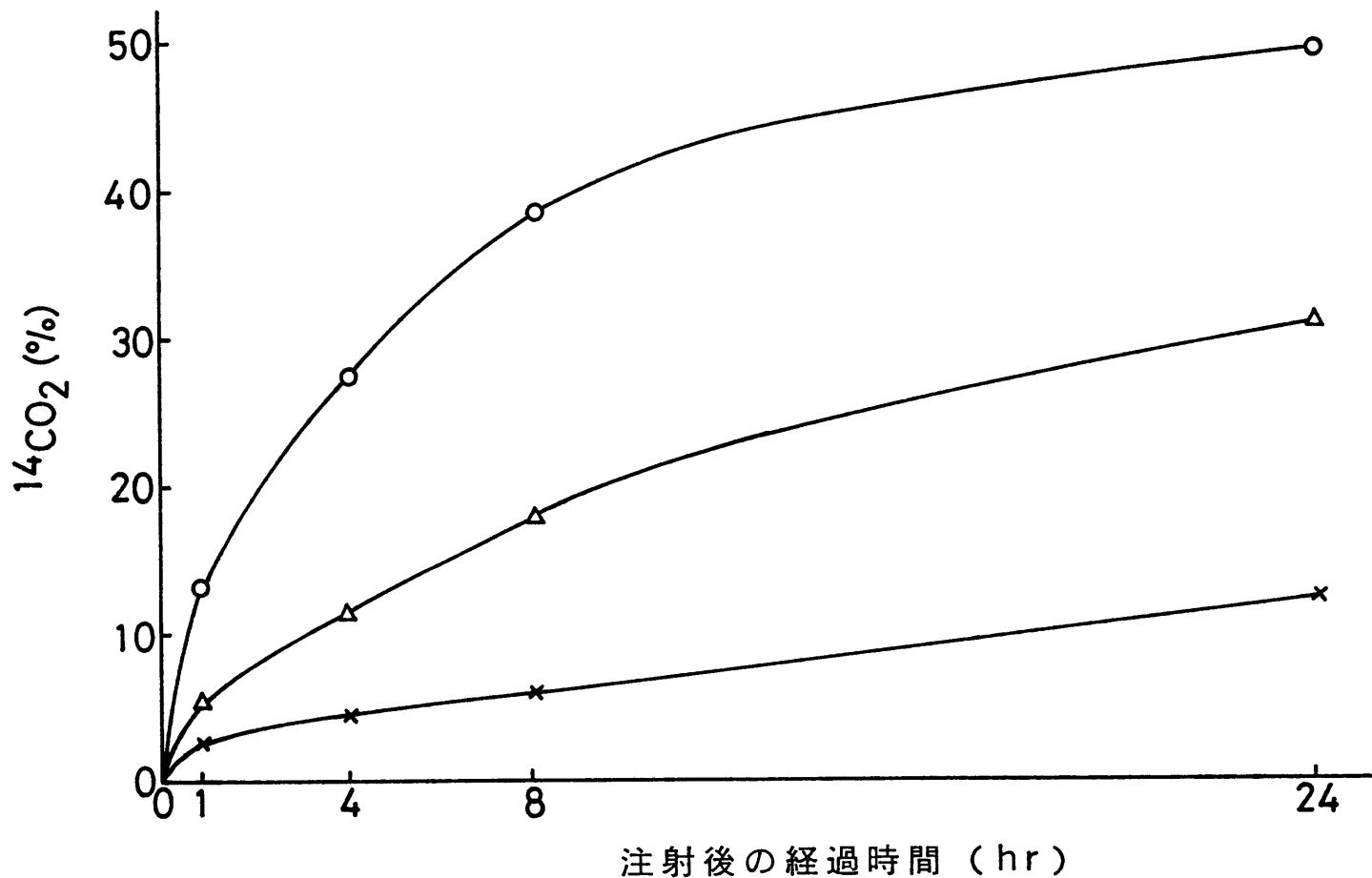
化管の trehalase 活性が高くなり（オ 50 回），血  
糖の trehalose 含量が減少する（オ 21 回）ことに  
より，T-6-P synthetase の阻害も減少し，休眠時に  
から後休眠時に  $^{14}\text{C}$ -glucose, UDP- $^{14}\text{C}$ -G の trehalose  
への  $^{14}\text{C}$  のとり込みが高くなつたものと推定さ  
れた。セクロピア蚕では休眠に入ると，体液  
中の trehalose 量が非常に減少し，脂肪体の中の  
trehalose 量が非常に増加することから，セクロ  
ピア蚕の休眠蛹においては脂肪体の trehalose の  
透過性が trehalose, glycogen の合成に關係してい  
ることを推定している (Jungreis and Wyatt, 1972)。二  
カメイガでは体液中の trehalose 濃度は脂肪体の  
trehalose 含量よりはるかに高かつた（オ 18 回と  
オ 21 回）ことから，休眠幼虫と後休眠幼虫に  
における  $^{14}\text{C}$ -glucose と UDP- $^{14}\text{C}$ -G の代謝は，体液中の  
trehalose 量の影響を受けるものと推定された。

脂質への  $^{14}\text{C}$ -glucose のとり込みについては採  
血後の組織で調査した。越冬休眠幼虫におい  
ては  $^{14}\text{C}$ -glucose から triglyceride に，休眠が破れた  
後休眠幼虫では複合脂質へのとり込みが多く

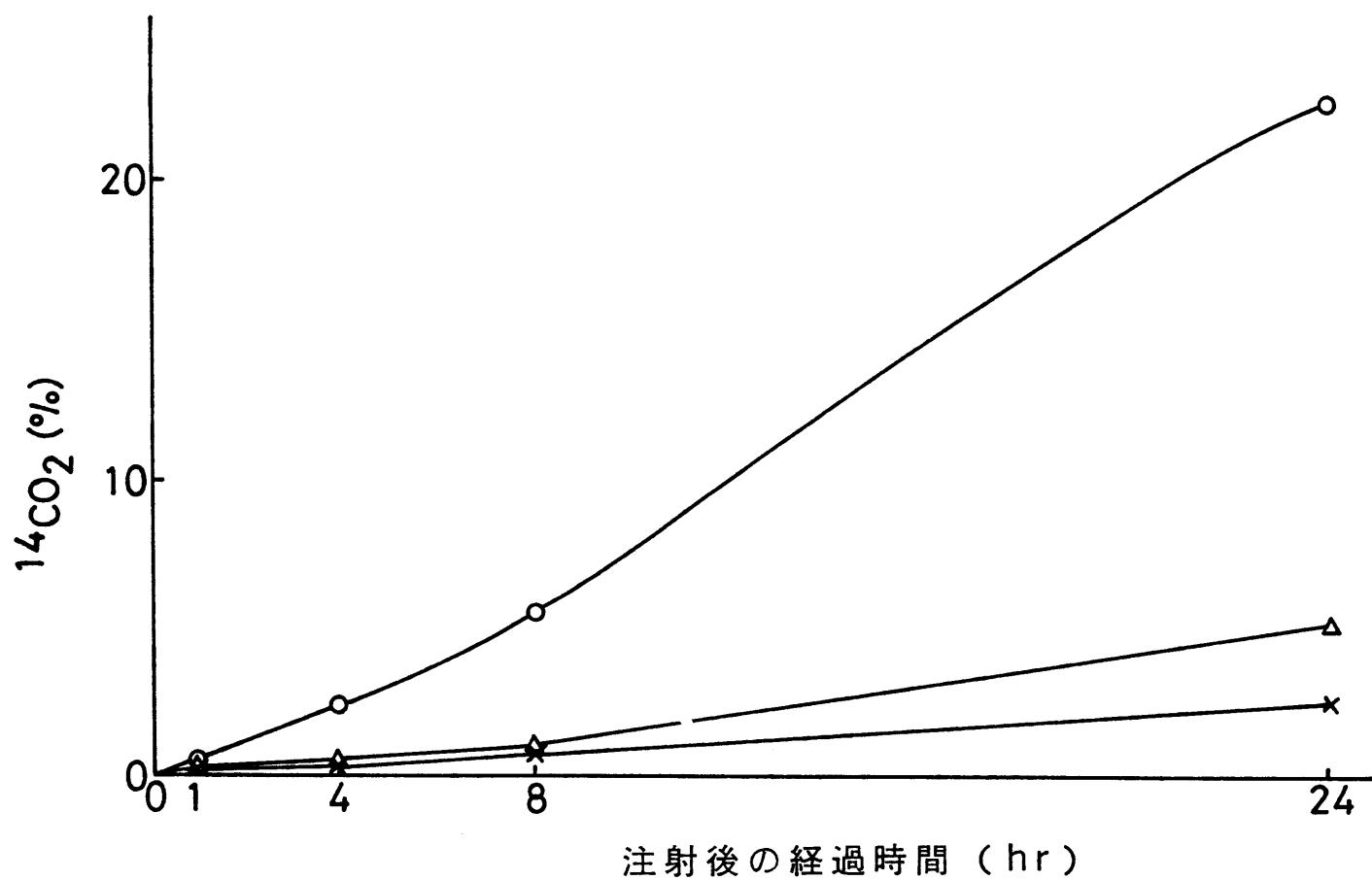
なった。非休眠終令幼虫でも  $^{14}\text{C}$  の複合脂質へのヒリ込みが多くみられ、大内(1971)によリニカメイが非休眠幼虫で得られた結果とよく一致していた。

バッタの一種 Locusta migratoria の中腸で  $\text{UDP-}^{14}\text{C-G}$  から sucrose が生成されることが報告されてい る(Droste and Zebe, 1974)が、本実験に用いたペーパークロマトグラフィーの展開溶媒では sucrose は trehalose と glucose の間に Rf 値を持ってゐるが、明確に区別できなかつたことから、ニカメイが sucrose が消化管で生成されているかどうかはわからなかつた。

非休眠終令幼虫により  $25^{\circ}\text{C}$  で、注射された  $^{14}\text{C-glucose}$  の約半分が 24 時間後に  $^{14}\text{CO}_2$  として呼出された(第44図)。 $\text{UDP-}^{14}\text{C-G}$  はその間約  $\frac{1}{4}$  が  $^{14}\text{CO}_2$  に呼出された(第45図)。非休眠終令幼虫と越冬幼虫で  $^{14}\text{C-glucose}$  と  $\text{UDP-}^{14}\text{C-G}$  から  $^{14}\text{CO}_2$  への代謝割合はわずかしか変らなかつた。これはニカメイが越冬幼虫と非休眠終令幼虫で酸素消費量にほとんど差がみられなかつたこと



第44図  $^{14}\text{C-Glucose}$  を注射された非休眠終令幼虫による  $^{14}\text{CO}_2$  の生成割合  
(○) 25°C (△) 15°C (×) 4°C  
2回反復の平均値



第45図 UDP- $^{14}\text{C}$ -Gを注射された非休眠終令幼虫による  $^{14}\text{CO}_2$  の生成割合  
(○) 25°C (△) 15°C (×) 4°C  
2回反復の平均値

と一致していった。

非休眠終令幼虫では休眠幼虫にくらべ  $^{14}\text{C}$ -glucose, UDP- $^{14}\text{C}$ -G とも各組織へのとり込みは少なかつた(オ30表)。特に、脂肪体でのとり込みが少なかつた。また、TCA 分画への  $^{14}\text{C}$  のとり込みも少なかつた(オ31, 32表)。これは、越冬中脂肪体の発達がきわめて良いことに原因があるものと考えられた。

非休眠終令幼虫における trehalose, glucose, glycerol への  $^{14}\text{C}$ -glucose, UDP- $^{14}\text{C}$ -G の移行をペーパークロマトグラフィーを用いて調査したところ、越冬幼虫と異なって  $^{14}\text{C}$  の glycerol への移行はほとんどみられなかつた(オ33表)。一方、体液中の trehalose 量が低い非休眠終令幼虫では、越冬幼虫にくらべ trehalose への放射能のとり込みは高かつた。80% Ethanol 抽出物をペーパークロマトグラフィーで展開分離したところ、原点と trehalose のスポットとの間の比較的 Rf 値の低い位置に多量の放射能がみられた。特に UDP- $^{14}\text{C}$ -G 注射で多かつた。UDPG は体液中で非常

第30表  $^{14}\text{C}$ -Glucose, UDP- $^{14}\text{C}$ -G 注射 1日後非休眠終令幼虫の各組織に存在した $^{14}\text{C}$ の割合

	$^{14}\text{C}$ -Glucose			UDP- $^{14}\text{C}$ -G		
	4 °C	15 °C	25 °C	4 °C	15 °C	25 °C
体 液	43.4 %	35.1	16.0	89.4	80.4	58.9
消 化 管	3.4	3.6	2.1	0.5	1.0	2.6
脂 肪 体	4.3	5.9	5.4	1.1	1.9	4.3
残 り 組 織	36.6	24.4	27.6	7.8	11.8	11.7
CO <sub>2</sub>	2.4	31.1	49.0	1.2	4.9	22.5

注射された全放射能に対する比率

2回反復の平均値

第31表  $^{14}\text{C}$ -Glucose 注射 1日後非休眠終令幼虫の組織の各分画に存在した  $^{14}\text{C}$  の割合

		EtOH	TCA	Ether	残渣
4 °C	消化管	2.2 %	0.7	0.1>	0.5
	脂肪体	3.4	0.1>	0.1>	0.1>
	残り組織	18.1	9.4	0.1	8.5
15 °C	消化管	1.5	1.2	0.1>	1.0
	脂肪体	2.6	1.6	0.6	1.1
	残り組織	9.4	6.9	0.5	7.5
25 °C	消化管	1.0	0.4	0.1>	0.7
	脂肪体	1.7	0.7	2.4	0.6
	残り組織	7.5	7.3	2.8	10.0

注射された全放射能に対する比率

2回反復の平均値

第32表 UDP-<sup>14</sup>C-G注射1日後非休眠終令幼虫の組織の各分画に存在した<sup>14</sup>Cの割合

		EtOH	TCA	Ether	残渣
4 °C	消化管	0.3 %	0.2	0.1>	0.1>
	脂肪体	0.8	0.2	0.1>	0.1>
	残り組織	4.7	1.4	0.1	1.7
15 °C	消化管	0.5	0.3	0.1>	0.2
	脂肪体	1.1	0.3	0.4	0.1
	残り組織	6.1	2.3	0.3	3.1
25 °C	消化管	1.2	0.7	0.1>	0.6
	脂肪体	1.7	1.2	0.7	0.8
	残り組織	6.3	2.4	0.4	2.6

注射された全放射能に対する比率

2回反復の平均値

第33表  $^{14}\text{C}$ -Glucose, UDP- $^{14}\text{C}$ -G 注射 1日後非休眠終令虫の各組織中の  
trehalose, glycerol に存在した  $^{14}\text{C}$  の割合

		体 液			消 化 管			脂 肪 体			残 り 組 織		
		4 °C	15 °C	25 °C	4 °C	15 °C	25 °C	4 °C	15 °C	25 °C	4 °C	15 °C	25 °C
$^{14}\text{C}$ -Glucose	Trehalose	36.7 %	42.4	35.6	6.0	14.7	7.7	34.0	21.8	20.5	3.9	3.0	2.8
	Glucose	4.3	0.9	8.5	2.9	2.6	4.7	2.0	1.8	1.9	3.7	2.5	3.8
	Glycerol	0.6	0.3	0.3	0.5	0.6	0.6	0.2	0.6	0.4	0.7	1.0	0.8
UDP- $^{14}\text{C}$ -G	Trehalose	14.6	17.4	10.8	5.1	6.3	6.3	33.0	37.2	30.4	5.4	3.1	7.1
	Glucose	2.4	1.7	1.6	3.7	6.9	2.3	7.5	6.6	8.0	4.5	3.0	2.6
	Glycerol	0.2	0.3	0.3	0.8	0.8	1.0	0.9	1.0	1.0	0.8	0.1	0.5

ペーパークロマトグラム上の全放射能に対する比率

2回反復の平均値

に速く UDPG 誘導体に代謝されることが知られており（ヤママユガの蛹，Carey and Wyatt, 1960）。

Meyers and Smith (1954) と Smith and Turbert (1961) はバッタの一一種 Schistocerca gregaria で phenol と UDPG より glucoside が形成されることを報告している。オ33表の体液の 80% ethanol 抽出物に  $\beta$ -glucosidase を作用させると RF 値の低い未知物質の放射能が減少し、glucose の放射能が増加することから、この未知物質の一部は  $\beta$ -glucoside であると考えられた。なお、RF 値より UDPG もこの未知物質の一部と考えられた。

越冬休眠幼虫と同様、非休眠終令幼虫においても ethyl ether 抽出物中に  $^{14}\text{C}$  がみられた。

Clements (1959) はバッタの一一種 Schistocerca gregaria で、Bade and Wyatt (1962) はセトロビア蚕で、Horie et al., (1968) は蚕で、大内 (1971) はニカメイカで、それら  $^{14}\text{C}$ -glucose から脂質への  $^{14}\text{C}$  の移行は少ないと報告している。ニカメイカ越冬休眠幼虫においても  $^{14}\text{C}$ -glucose から脂質への  $^{14}\text{C}$  の移行は少なかった。

## 第2節 Glycogen 代謝酵素活性の消長

昆虫の炭水化物含量は組織中における酵素により影響を受けることが知られている（

Chefurka, 1965 ; Sacktor, 1965, 1970 ; Wyatt, 1967）そして、これらの酵素活性について卵（蚕，重松，1960；Yamashita et al., 1975），脂肪体（蚕，重松，1956b；Yanagawa, 1978；Yanagawa and Horie, 1978；セウロヒア蚕，Murphy and Wyatt, 1965；Jungreis, 1976），消化管（蚕，Horie, 1959；Yanagawa, 1971；Sumida and Yamashita, 1977），卵巣（蚕，山下, 1969；Yamashita et al., 1972）で明らかにされているが、ニカメイガではこれまで消化酵素の活性が主に測定されていなかった（深名・金子, 1951；湯島・石井, 1952）。

これまで明らかにした越冬中ににおける glycogen の変動を、glycogen の代謝酵素活性の面から追求した。Glycogen 代謝に関する酵素である hexokinase, phosphoglucomutase (PG-mutase と略記), UDPG pyrophosphorylase, phosphorylase, glycogen synthetase, trehalase の

性質ながらびに活性消長を調査した。

### 材料および方法

供試虫：ニカメイガ越冬幼虫と室内飼育幼虫を供試した。

試薬：Glucose-1-phosphate (G-1-Pと略記), nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPと略記), 還元型 nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPHと略記), glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-P Daseと略記), PG-mutase, UDPGはSigma社から購入した。

酵素標品の調整法：採血後、ニカメイガ幼虫を0.7% NaCl中で解剖し、消化管、脂肪体、その他残り組織に分け、余分の水分を汎紙で除き、その生重を秤量した。蒸溜水とともに氷冷中で冷しながらガラス製木モジナイサーで磨碎した。体液、脂肪体、消化管、その他残り組織を蒸溜水で10% (V/V), 2.5%, 1.25%, 5% (W/V) に調整し、3,500 r.p.m. で15分2°Cで遠心した。全虫体も同様に磨碎し、5% (W/V) に蒸

濁水で調整し、遠心分離して上清を酵素液とした。

**酵素活性測定法：** Hexokinase, PG-mutase, UDPG pyrophosphorylase, phosphorylase は山下(1969)の方法に従って測定した。10分間25℃の室温で pre-incubation した後、酵素液あるいは基質を加え、25℃で5分間隔で NADP から生成される NADPH を 340 nm の最大吸収波長で測定し、タニパク質当たりの酵素活性を求めた。

反応組成は下記のことである。

Hexokinase : 0.4 μmole ATP, 2 μmoles glucose, 0.2 μmole NADP, 1 μmole MgCl<sub>2</sub>, G-6-P Dase 1 unit, 0.1 ml 酵素液(脂肪体酵素液は 0.2 ml), それに 50 mM Tris-HCl 緩衝液で全量を 2.5 ml にした。酵素液を添加することにより反応を開始した。

PG-mutase 活性 : 2 μmoles G-1-P, 0.2 μmole NADP, 1 μmole MgCl<sub>2</sub>, 1 unit G-6-P Dase, 0.1 ml 酵素液, 50 mM Tris-HCl 緩衝液で 2.5 ml にし、酵素液を加えることにより反応を開始した。

UDPG pyrophosphorylase : 0.2 μmole UDPG, 0.2 μmole NADP, 1 μmole MgCl<sub>2</sub>

mole cysteine, 5  $\mu$ moles pyrophosphate, 10  $\mu$ moles  $MgCl_2$ , 1 unit

G-6-P Dase, 1 unit PG-mutase, 1 ml 酶素液, 50 mM Tris-HCl

緩衝液で 2.5 ml にし、酵素液と pyrophosphate を加えることにより反応を開始した。

Glycogen synthetase 活性： Murphy and Wyatt (1965) と山下 (1969) によつてヤクロピア蚕と蚕で報告されてゐるようになつて、  $UDP-^{14}C-G$  の  $^{14}C$ -glucose が glycogen にとり込まれる割合によつて測定した。反応液は 2.5 mg glycogen, 0.5  $\mu$ mole G-6-P, 0.25  $\mu$ mole  $UDP-^{14}C-G$  ( $0.2 \mu Ci/mole$ ), 5  $\mu$ moles  $MgCl_2$ , 0.4 ml 酶素液を含む 50 mM Tris-HCl 1.25 ml である。反応は酵素液の添加によつて開始した。30°C で 15 分間反応させた後 8.75 ml の ethanol を加え、沸騰水中で 2 分間加熱して反応を停止させた。補正は反応液に ethanol を加えた後、酵素液を加え沸騰水中で 2 分間加熱した。一晩以上約 4°C に置き、3,000 r.p.m. で 10 分間遠心し、上清と沈殿物に分けた。沈殿物は 5 ml の 80% ethanol で 3 回洗浄した。洗浄後沈殿物に 3 ml の TCA を加え、沸騰水中で 10 分間加熱し、glycogen を抽出した。冷却後遠心し、その上

清を 3 ml の ethyl ether で 3 回洗浄し TCA を除いた。80% Ethanol 層と水層を各々 2 ml ずつバイアルに入りにとり、10 ml の dioxane scintilator を加え、よく混和し、液体シンケレーシヨンカウンターで測定した。80% Ethanol 中の放射能と、水層の放射能の比より glycogen にとり込まれた UDP-<sup>14</sup>C-G の glucose 量を求めた。

Phosphorylase 活性：無核糖の存在下で glycogen から生成される G-1-P を、UDPG-pyrophosphorylase の場合と同様の方法で測定した。つまり、5 mg glycogen、80 μmoles phosphate、10 μmoles MgCl<sub>2</sub>、0.2 μmole NADP、1 unit G-6-P、1 unit PG-mutase、0.2 ml 酶素液を含む 50 mM Tris-HCl 緩衝液 2.5 ml である。反応は 25°C で酶素液を添加することにより開始した。

Trehalase 活性：Yamashita and Hasegawa (1967)、山下 (1969) の方法を参考にして trehalose から生成される glucose を測定することにより行なった。0.2 ml 50 mM trehalose と 1.4 ml 50 mM phosphate 緩衝液 (消化管の酵素液の場合 1.6 ml) の組成の反応試薬に、0.4 ml 酵素液 (消化管の酵素液は 0.2 ml) を加

え反応を開始した。30°Cで60分反応させた後、沸騰水中で5分間加熱し反応を停止させた。ZnSO<sub>4</sub>とBa(OH)<sub>2</sub>で脱タンパクした後、反応液中のglucoseをSomogyi-Nelson法(Somogyi, 1952)で測定した。補正は酵素液を添加する前に、あらかじめ沸騰水中で加熱した反応試薬に酵素液を加え、同様にglucoseを測定することにより行なった。

酵素標品中の蛋白質はLowry et al. (1951)の方法によって比色定量し、血清アルブミンを標準として計算した。

### 結果および考察

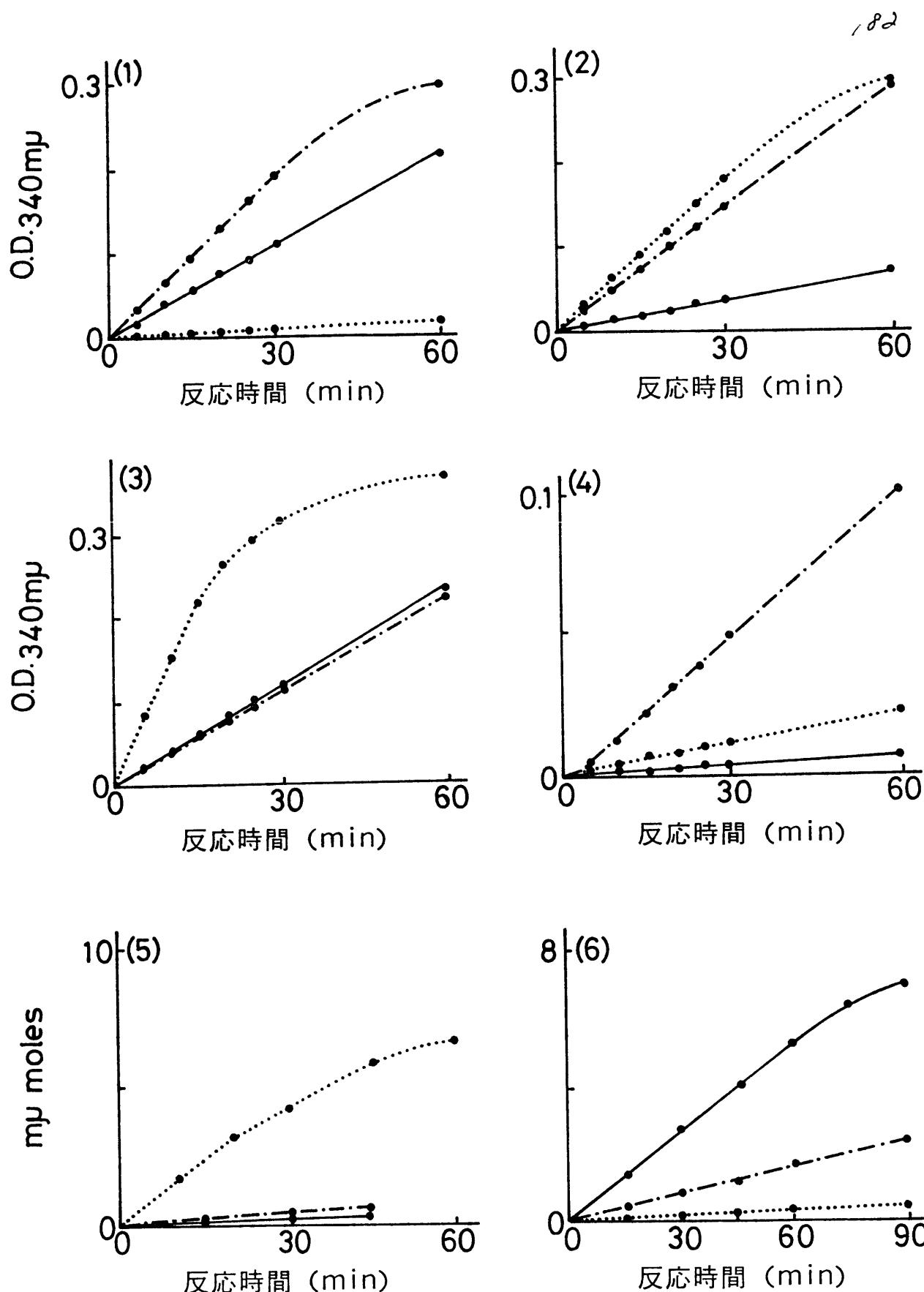
ニカメイカにも他の昆虫でよく知られてゐるよう hexokinase (Wyatt, 1967; 蟹の蛹, 山下, 1969; Yamashita et al., 1972; 蟹の幼虫と蛹, Miake et al., 1976; 蟹の幼虫, Yanagawa, 1978; イエバエの成虫, McDonald et al., 1978), PG-mutase (蟹の幼虫, Ito and Horie, 1959; 蟹の蛹, 山下, 1969; Yamashita et al., 1972)

；イエバエの成虫，McDonald et al., 1978），UDPG pyrophosphorylase（スジマタラメイカの蛹，Friedman, 1960；フモンゴキブリの成虫，Vardanis, 1963；セクロピア蚕の蛹，Murphy and Wyatt, 1965；蚕の蛹，山下, 1969；Yamashita et al., 1972），phosphorylase（Wyatt, 1967；セクロピア蚕の幼虫，蛹，成虫，Wiens and Gilbert, 1967；蚕の蛹，山下, 1969；Yamashita et al., 1972, 1975；サシバエの一種 Stomoxys calcitrans 成虫，Wright et al., 1973；セクロピア蚕の蛹，Ziegler and Wyatt, 1975；蚕の幼虫，Yanagawa and Horie, 1978），glycogen synthetase（バッタの一種 Schistocerca cancellata 幼虫，Trivelloni, 1960；バッタの一種 Schistocerca gregaria 成虫，Hess and Pears, 1961；ワモンゴキブリの成虫，Vardanis, 1963；セクロピア蚕の蛹，Murphy and Wyatt, 1965；蚕の蛹，山下, 1969），trehalase（Wyatt, 1967；蚕の蛹，山下, 1969；Yamashita et al., 1972；スズメガの一一種 Manduca sexta 幼虫，蛹，成虫，Dahlman, 1970, 1971；蚕の幼虫，Yanagawa, 1971；Shimada, 1975；Sumida and Yamashita, 1977；クロバエの一一種 Calliphora erythrocephala 成虫，Duve, 1972；クロバエの一一種 Phormia regina 成虫，Reed and Sacktor, 1971；バッタ

タの一一種 Schistocerca gregaria の成虫, Candy, 1974; ミツバチの成虫, Talbot and Huber, 1975; スズメバチの一種 Vespa orientalis 幼虫, Fischl et al., 1976; フモンゴキブリの成虫, Handel, 1978; ヤガの一一種 Spodoptera littoralis 幼虫, Ishaaya and Yablonski, 1978; 売の幼虫, 虫角, Shimada and Yamashita, 1979; キヤイロコメノゴミムシダマシの幼虫, Rosinski et al., 1979) が存在していた。

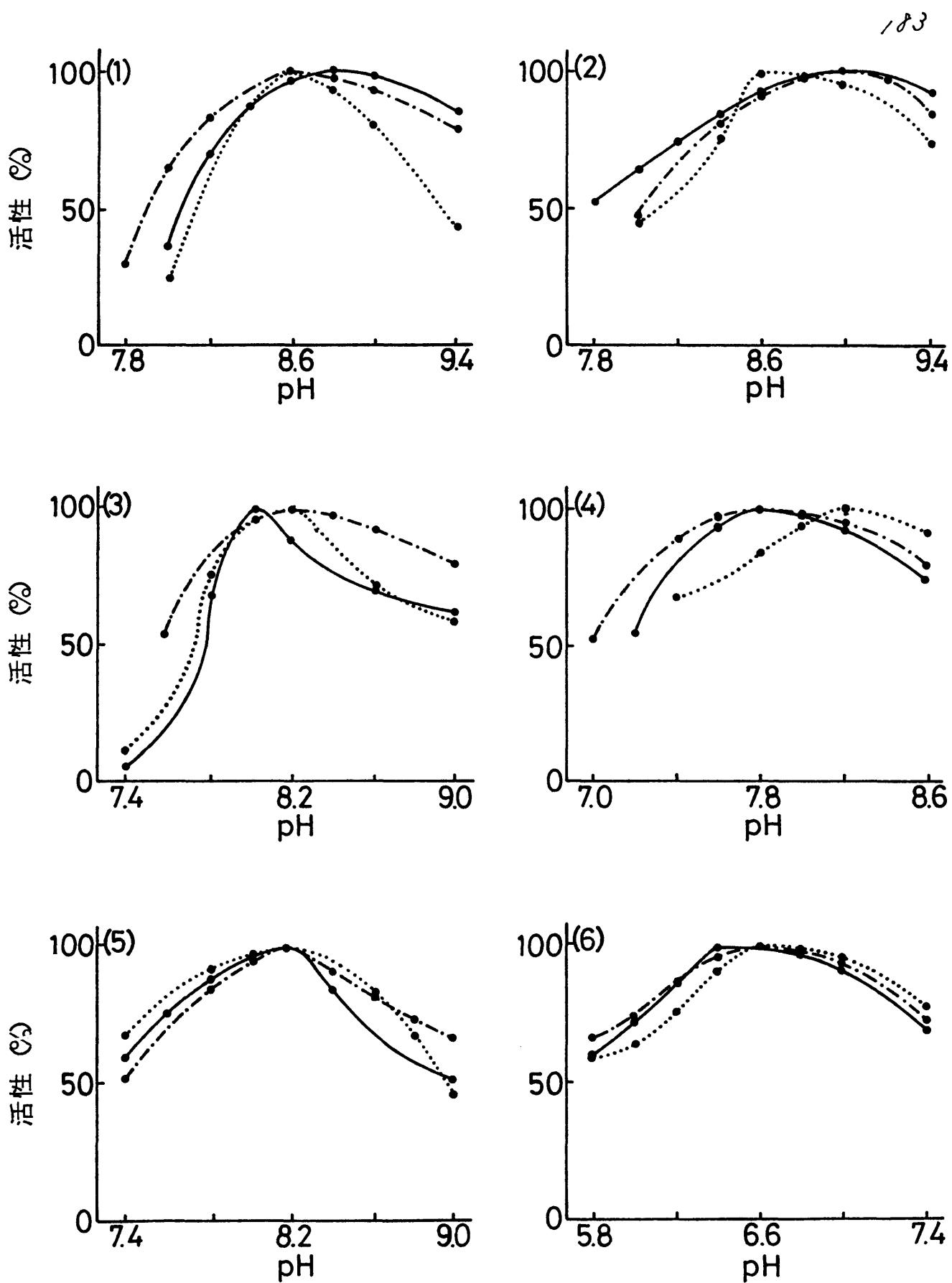
酵素活性を測定する場合, 先ず各酵素の性質を調査しなければならぬ。各酵素の活性と反応時間との関係について調査した結果(第46図), hexokinase, PG-mutase 活性は反応開始後30分までは直線的に増加し, UDPG pyrophosphorylase, glycogen synthetase 活性は反応開始後15分まで, trehalase, phosphorylase 活性は60分まで, 少なくとも直線関係で増加した。しかし, 組織によつて反応開始後の直線関係の増加の時間は異なつていた。

次にこれらの酵素活性に及ぼすpHの影響について検討した(第47図)。すべての酵素は



第46図 組織のglycogen代謝酵素活性と反応時間との関係

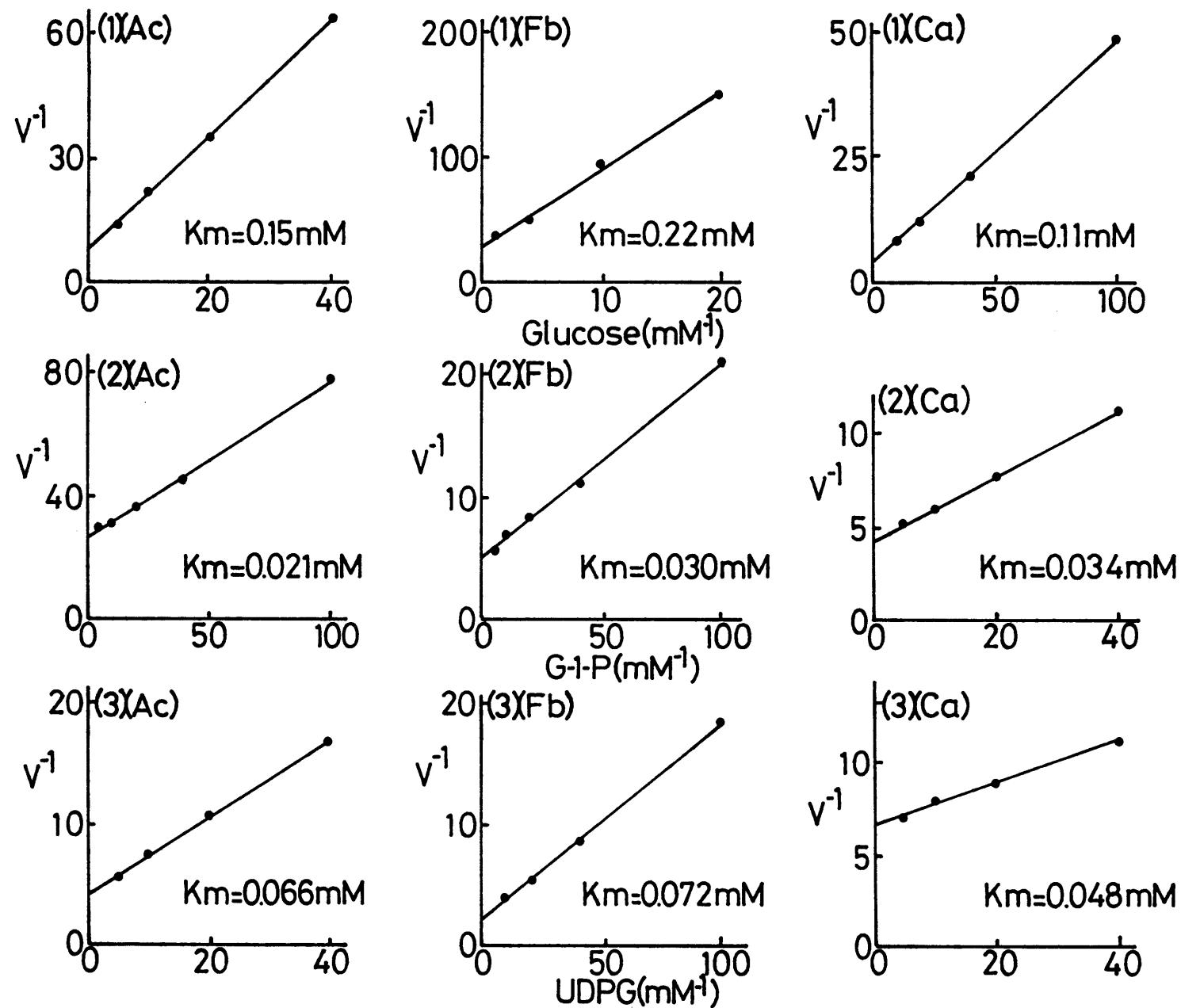
(1) Hexokinase (2) PG-mutase (3) UDPG-pyrophosphorylase  
 (4) phosphorylase (5) Glycogen synthetase (6) Trehalase  
 (—) 消化管 (····) 脂肪体 (---) 残り組織



第47図 組織のglycogen代謝酵素活性とpHとの関係  
(1) Hexokinase (2) PG-mutase (3) UDPG-pyrophosphorylase  
(4) Phosphorylase (5) Glycogen synthetase (6) Trehalase  
(—) 消化管 (···) 脂肪体 (---) 残り組織

は pH に対してベル型カーブを示し、組織ならびに酵素の違いによって最適 pH は異なっていた。

さらに、各酵素のそれぞれの基質に対する親和性を検討するために、越冬休眠幼虫を用いて酵素の反応速度と基質濃度との関係について調査した。いずれの酵素とも反応速度はそれぞれの基質の濃度の増加に伴ない直角双曲線的に増加した。反応速度と基質濃度との関係について、Lineweaver-Burk 法により  $K_m$  値を求めた（オ 48 図）。脂肪体の trehalase の trehalose に対する  $K_m$  値はここで調査した酵素のうちで極端に高く、その活性は他の昆虫で報告されてい（蚕の幼虫、Saito, 1960；エリ蚕の幼虫と蛹、Chang et al., 1964；スズメガの一種 Manduca sexta 幼虫、Dahlman, 1970）と同様越冬中非常に低かった。脂肪体の trehalase 以外の酵素の  $K_m$  値は他の昆虫で報告されてい値（サフ蚕とセクロピア蚕の蛹、Stevenson and Wyatt, 1964；セクロピア蚕の蛹、Murphy and Wyatt, 1965；蚕の蛹、山下, 1969）とよく似

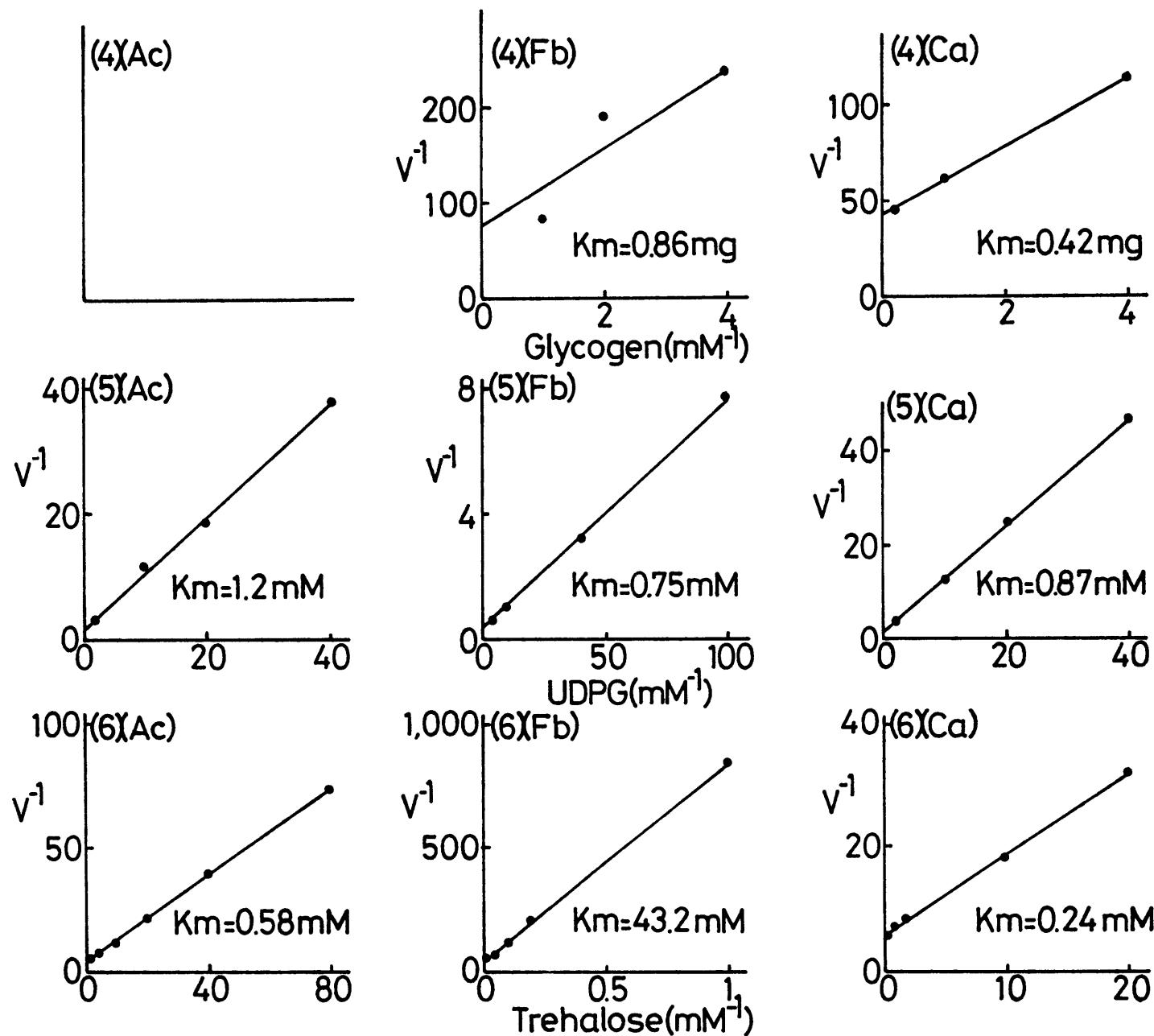


第48図－1 越冬休眠幼虫のglycogen代謝酵素活性に及ぼす基質濃度の影響

(1) Hexokinase (2) PG-mutase (3) UDPG-pyrophosphorylase

(Ac) 消化管 (Fb) 脂肪体 (Ca) 残り組織

2回反復の平均値



第48図-2 越冬休眠幼虫のglycogen代謝酵素活性に及ぼす基質濃度の影響

(4) Phosphorylase (5) Glycogen synthetase (6) Trehalase

(Ac) 消化管

(Fb) 脂肪体

(Ca) 残り組織

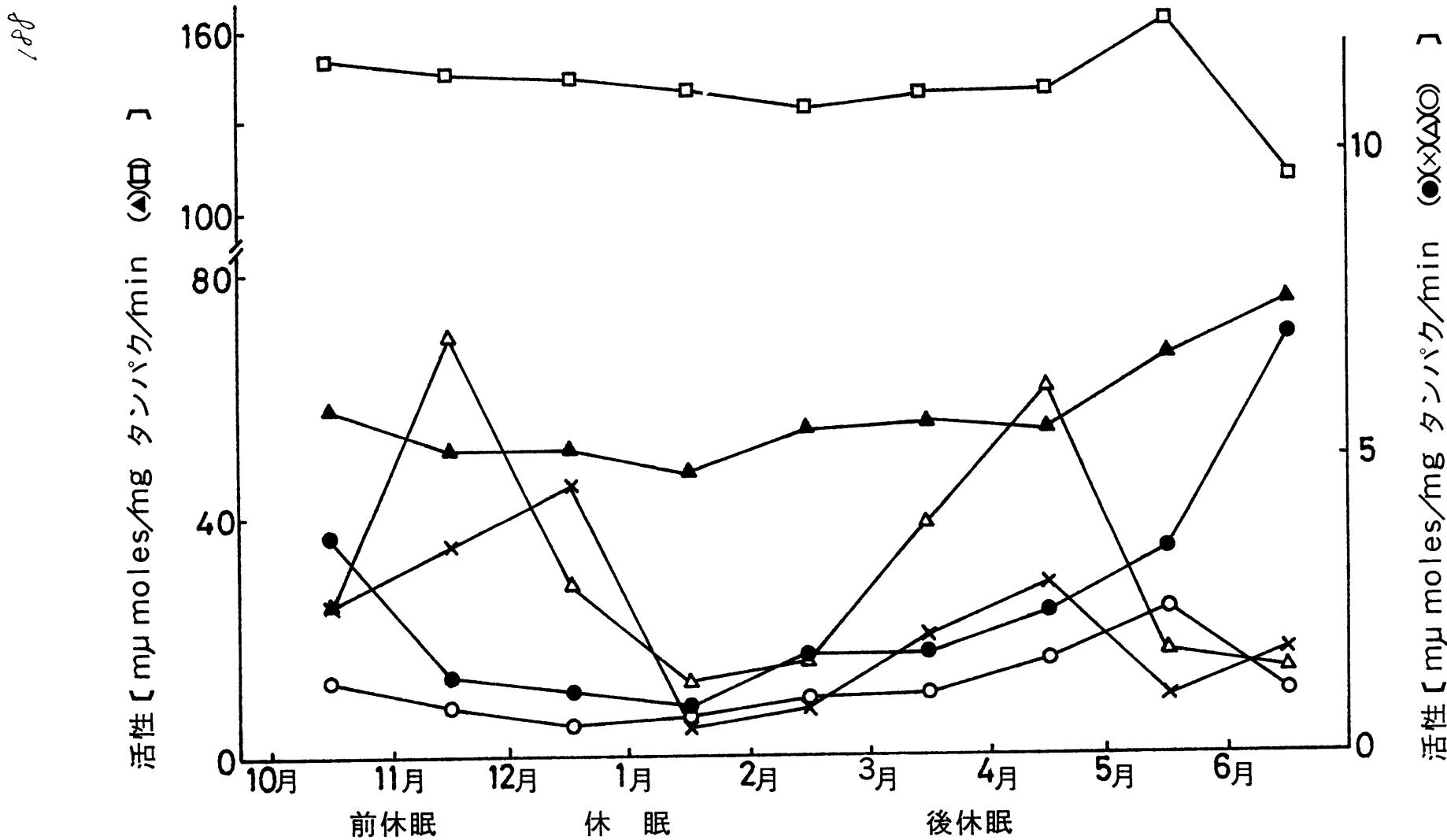
2回反復の平均値

ていた。

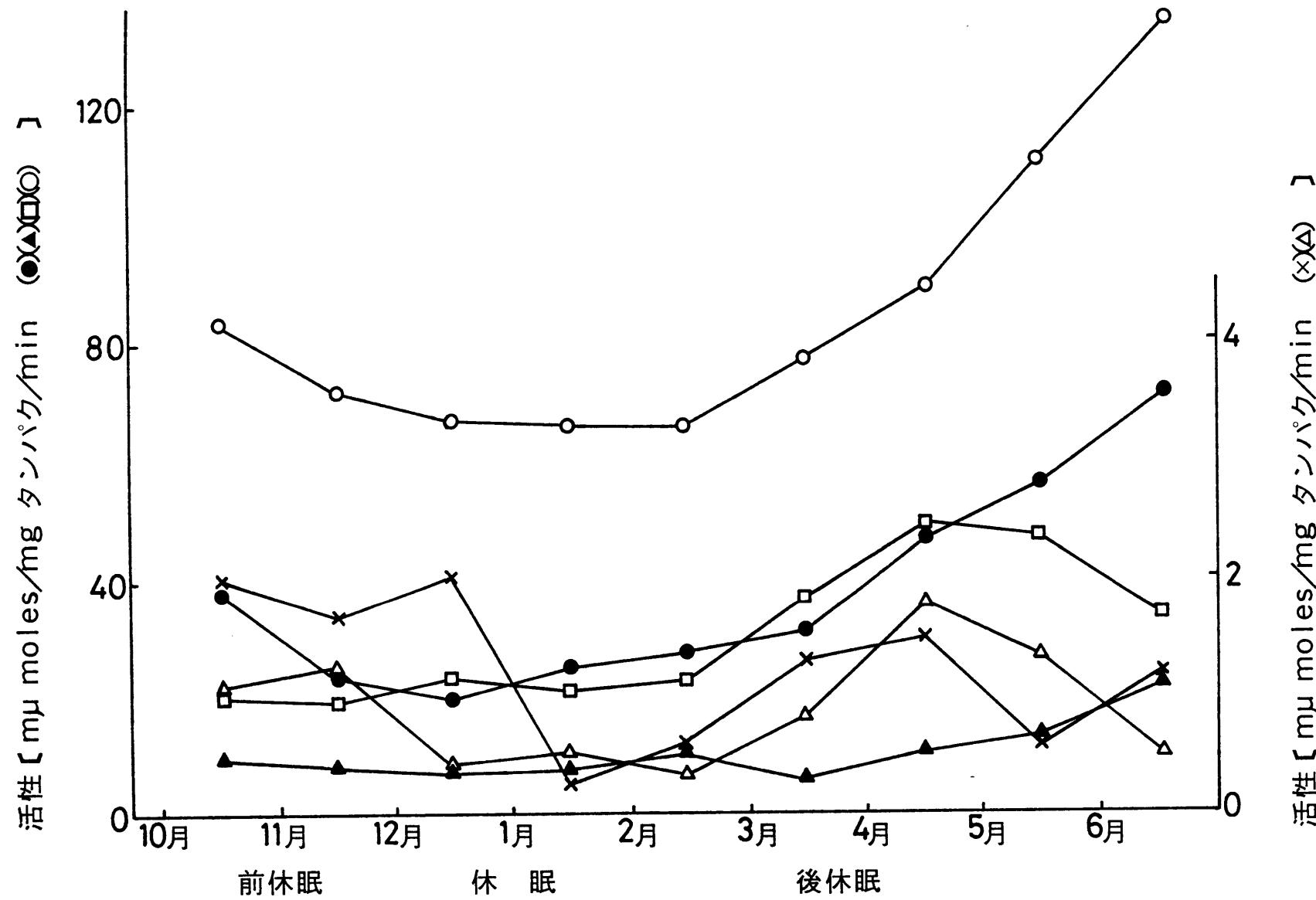
これら 6 種の酵素が越冬中どのような活性消長を示すかを、各組織ならびに全虫体で比較検討した。

一般に、昆虫においては脂肪体は glycogen, trehalose 合成を含め炭水化物の中間代謝の中心的組織であることが知られている (Wyatt, 1967, 1975)。越冬中脂肪体の UDPG pyrophosphorylase と PG-mutase 活性は他の 4 酵素にくらべて高く、ほぼ一定である (オ 49 図)。一方、glycogen synthetase と phosphorylase 活性は休眠中低かったが、これら両酵素活性の越冬中の変化は glycogen 量の変化 (オ 18 図) とよく一致していた。

脂肪体と同様、消化管もまた他の昆虫で報告されている (Wyatt, 1967) ように、ニカメイカ幼虫においても炭水化物代謝に重要な役割を果しているようみえた。脂肪体と異なって trehalase 活性が特に高く、休眠中やや活性の低下がみられるものの、休眠が破れると急激に活性の増加がみられた (オ 50 図)。Hexokinase,



第49図 越冬中の脂肪体におけるglycogen代謝酵素活性の変動  
 (●) Hexokinase (▲) PG-mutase (□) UDPG-pyrophosphorylase  
 (△) Glycogen synthetase (×) Phosphorylase (○) Trehalase  
 2回反復の平均値



第50図 越冬中消化管におけるglycogen代謝酵素活性の変動

(●) Hexokinase (▲) PG-mutase (□) UDPG-pyrophosphorylase  
 (△) Glycogen synthetase (×) Phosphorylase (○) Trehalase

2回反復の平均値

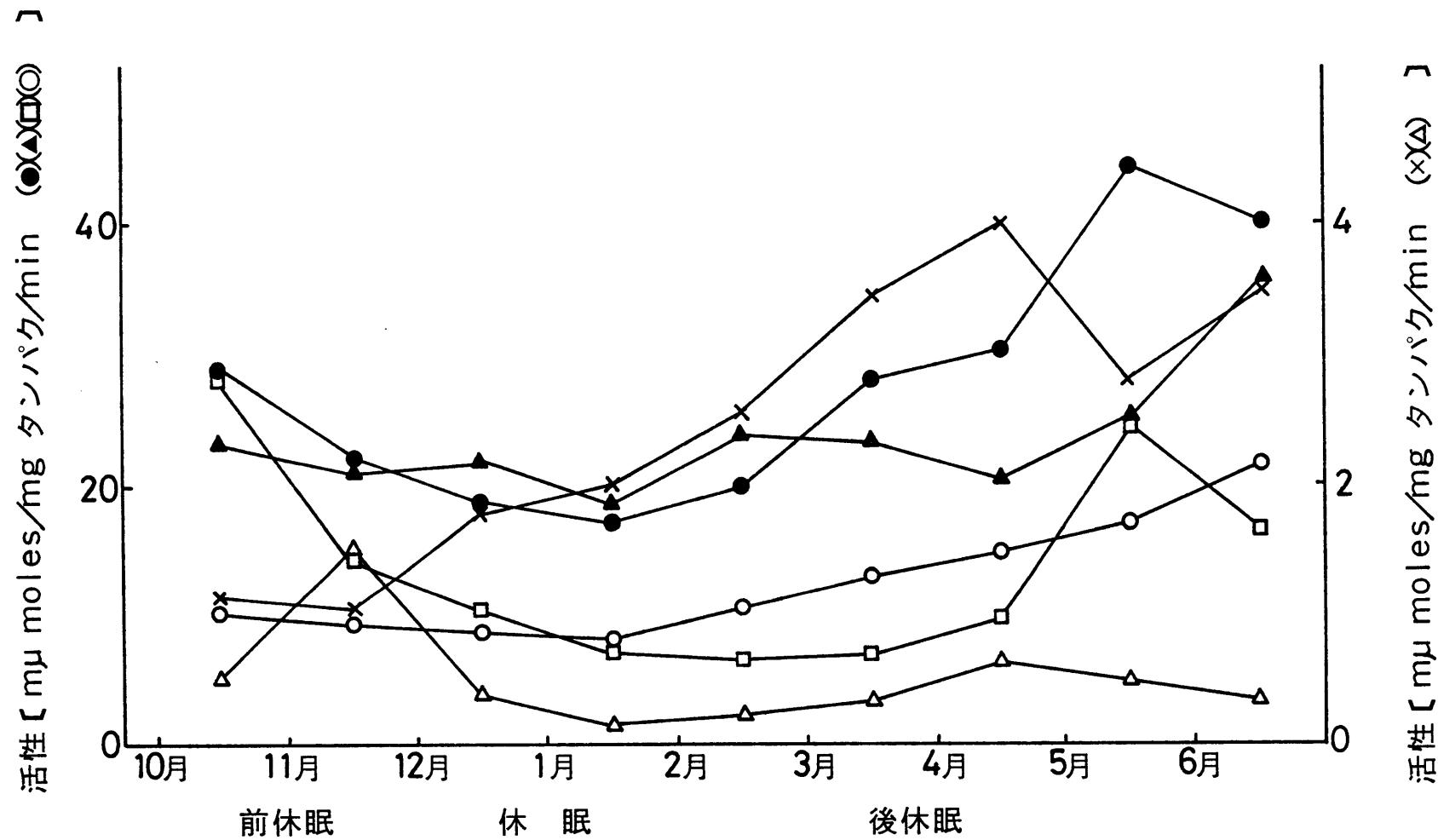
PG-mutase, UDPG pyrophosphorylase 活性は glycogen synthetase と phosphorylase 活性にくらべ高い活性を示し、休眠が破れ後休眠期になると活性は高くなつた。

Glycogen synthetase と phosphorylase 活性は脂肪体でみられたと同様、前休眠期と後休眠期に高くなつた。

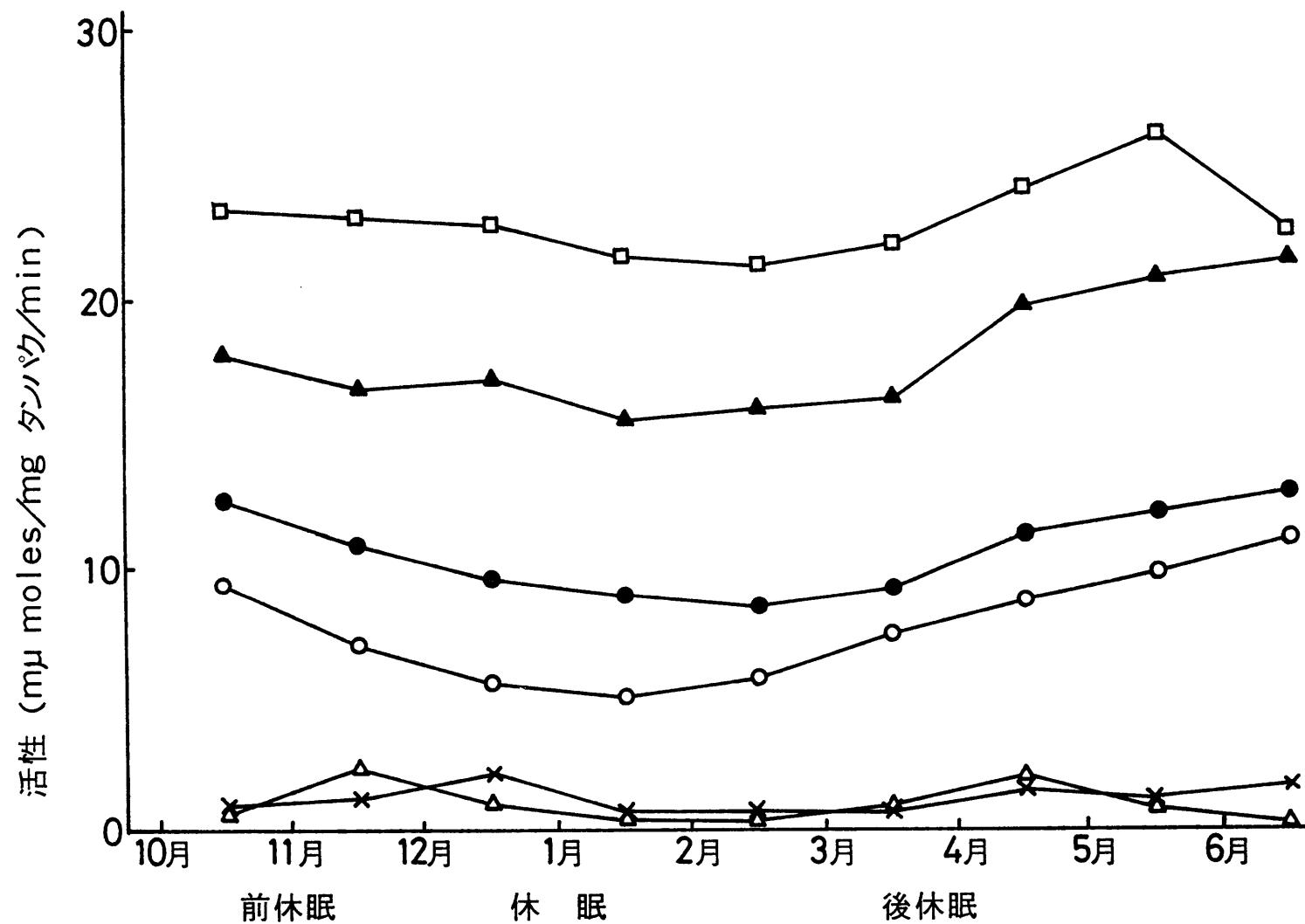
その他残り組織におけるこれら 6 種の酵素のうち glycogen synthetase と phosphorylase の活性が低かつた（オ 51 図）。Phosphorylase 活性は休眠中期からしだいに増加がみられた。一方、glycogen synthetase 活性は前休眠期の一時的増加を除き、越冬中低かつた。

体液ではいかれの酵素とも全く検出されなか、検出されても非常にわかつてあり、越冬中の glycogen の代謝にはほとんど関係してないものと推定された。

全虫体中の酵素活性は個々の組織でみられた変化の総括であり、6 種の酵素の活性はいずれも休眠中低下し、休眠が破れると増加した（オ 52 図）。Glycogen synthetase と phosphorylase 活性



第51図 越冬中残り組織におけるglycogen代謝酵素活性の変動  
 (●) Hexokinase (▲) PG-mutase (□) UDPG-pyrophosphorylase  
 (△) Glycogen synthetase (×) Phosphorylase (○) Trehalase  
 2回反復の平均値



第52図 越冬中全虫体におけるglycogen代謝酵素活性の変動  
 (●) Hexokinase (▲) PG-mutase (□) UDPG-pyrophosphorylase  
 (△) Glycogen synthetase (×) Phosphorylase (○) Trehalase  
 2回反復の平均値

は他の4種の酵素活性にくらべ低かったが、全虫体中の glycogen 量の増減（図17）とよく一致していた。

昆虫の glycogen 代謝に関する phosphorylase は glycogen の利用を制御している律速酵素であり (Sacktor, 1970; 蟻の卵, Yamashita et al., 1975), hexokinase と glycogen synthetase が glycogen 合成に最も重要な酵素である（セトロビニアの蛹, Murphy and Wyatt, 1965; Jungreis, 1976）ことが知られている。ニカラメイカ越冬幼虫においては、glycogen synthetase と phosphorylase 活性は他の4酵素にくらべ活性が低く、また glycogen の増減の変化とよく一致していた。すなわち、この両酵素が glycogen 合成・分解における律速酵素と考えられた。

消化管においては他の昆虫で知られている（蚕の幼虫, Horie, 1959; Saito, 1960; Duchateau-Bosson et al., 1963; Yamashita et al., 1974; ミンジニ蚕の幼虫, Chang et al., 1964; スズメバチの一一種 Vespa orientalis 幼虫, Fischl et al., 1976; キヤイロコメノゴミムシ・タマシの幼虫, Rosinski et al., 1979; ミツバチの成

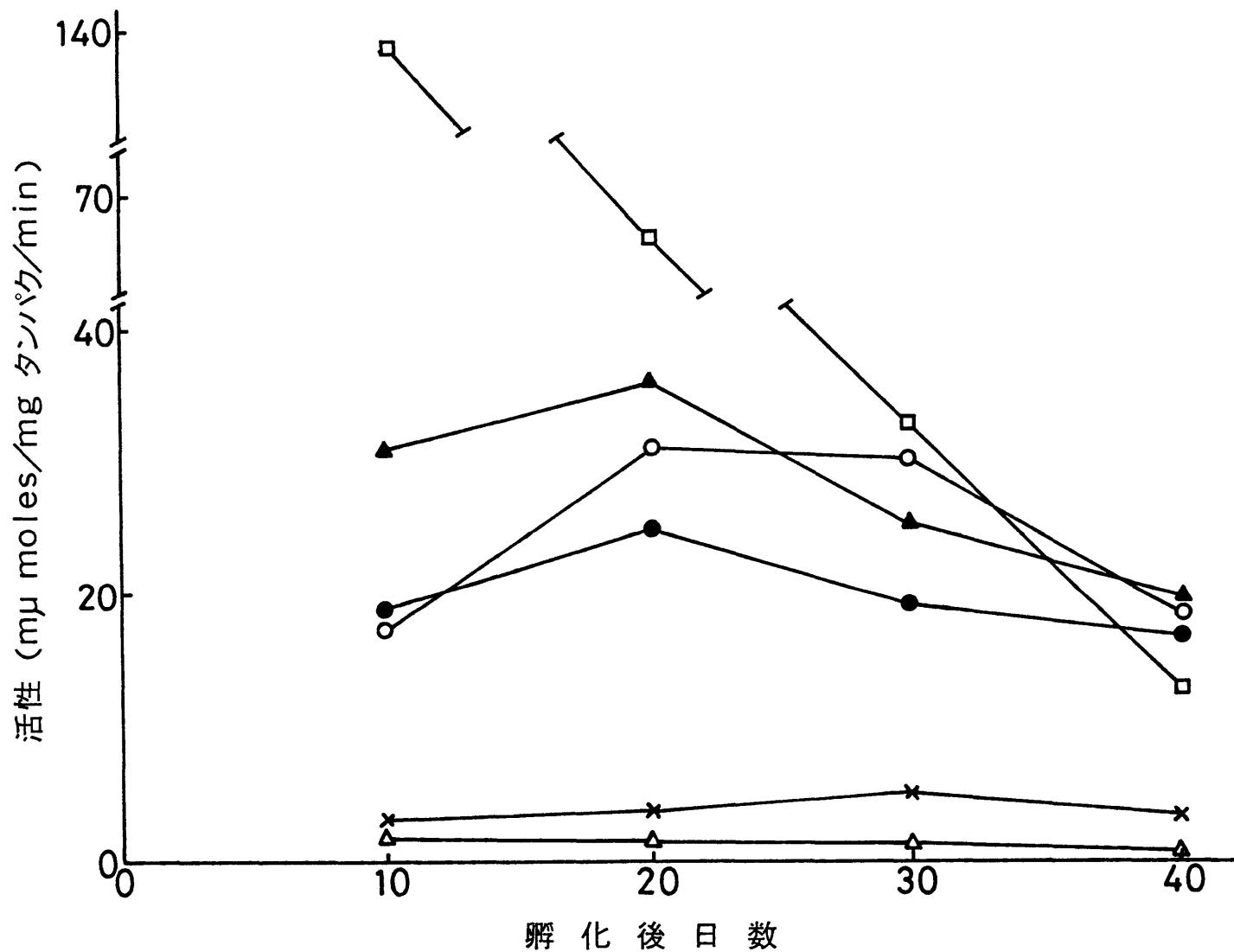
虫, Talbot and Huber, 1975) ようにニカメイガ幼虫においても trehalase 活性は非常に高く、休眠が破れると trehalase 活性が増加し、それにともなって hexokinase 活性も増加した。すなむち、消化管の trehalase 活性と、hexokinase 活性の変化はよく一致しており、また体液中の trehalose 含量の変化(オ21図)ともよく一致していたことから、体液中の trehalose は消化管の trehalase により利用されるものと推定された。

越冬休眠に入り glycerol の蓄積が始まると、脂肪体の glycogen の減少があこつた(オ18図)。この間 glycogen を分解する phosphorylase の活性が高くなり、glycerol の前駆物質を供給するようになされた(セトロピア蚕の蛹, Ziegler and Wyatt, 1975)。一方、休眠が破れ、glycerol が減少し、glycogen が增加する後休眠期に glycogen synthetase 活性が高くなつた。Glycogen の変化が單に glycogen synthetase 活性と、phosphorylase 活性の変化のみに制御されるものではないかも知れない(Wyatt, 1967, 1975)が、いずれにしても glycogen 含量

の変化と両酵素の活性の変化はよく一致していた。

越冬幼虫と比較するために、発育中にかけた glycogen 代謝酵素活性の変化について調査した（オ 53 図）。発育するに従って酵素活性は増加した。しかし、蛹化前になると活性は低下するようにみえた。UDPG pyrophosphorylase 活性のみは発育するに従って急速な低下がみられたが、この原因については不明である。

ニカメイガ幼虫は発育するにともなって、glycogen 含量は増加する（オ 14 図）にもかかわらず、glycogen synthetase 活性は phosphorylase 活性よりも低かった。これは *in vivo* ではこれらの両酵素の活性を制御する別の構造が存在することを示しているのかもしれない（セクロピア蚕とサク蚕の蛹、Stevensone and Wyatt, 1964；セクロピア蚕の幼虫、蛹、成虫、Wiens and Wyatt, 1964；サシバエの一一種 stomoxys calcitrans 成虫、Wright et al., 1976；クロバエの一一種 Phormia regina 成虫、Sacktor et al., 1974；Wyatt, 1975；セクロピア蚕の蛹、Ashida and Wyatt



第53図 発育中全虫体におけるglycogen代謝酵素活性の変動  
 (●) Hexokinase (▲) PG-mutase (□) UDPG-pyrophosphorylase  
 (△) Glycogen synthetase (×) Phosphorylase (○) Trehalase  
 2回反復の平均値

, 1975). さうに、glycogen の大部分は脂肪体に蓄積される (Wyatt, 1967) ことから、発育中の比較的早い時期の脂肪体における両酵素の活性を比較してみないと、全虫体の活性の比較だけからは説明できないものと考へられた (Wyatt, 1967)。

非休眠終令幼虫と越冬休眠幼虫における各組織の酵素活性についてオ34表に示した。組織によつて活性の差がみられたが、脂肪体の UDPG pyrophosphorylase を除いて、いかれも非休眠終令幼虫の方か酵素活性は高かつた。特に、消化管の trehalase 活性ならびに hexokinase 活性が高かつた。この両者の活性が高いことにより、体液中の trehalose 含量は越冬幼虫にくらべ低い原因の一つであると考えられた。

以上の結果、ニカメイカ幼虫の glycerol 含量は、glycogen 代謝酵素、特に glycogen synthetase と phosphorylase により制御されており、glycogen 含量の変化と両酵素活性の変化はよく一致していた。

第34表 越冬休眠幼虫と非休眠終令幼虫の各組織における glycogen 代謝酵素活性

		酵素活性 ( $m\mu$ moles/mg タンパク/min)					
		Hexokinase	PG-mutase	UDPG pyro-phosphorylase	Phosphorylase	Glyogen synthetase	Trehalase
非休眠	消化管	79.6	11.3	28.0	2.5	0.2	152.8
	脂肪体	8.4	72.3	66.4	8.2	8.8	4.5
	残り組織	35.2	28.5	25.2	4.7	0.5	18.1
休眠	消化管	29.9	8.6	26.9	1.3	0.3	67.1
	脂肪体	1.7	51.9	130.0	4.7	2.0	0.6
	残り組織	25.3	24.5	20.4	2.9	0.3	7.2

2回反復の平均値

### 第3節 Glycogen 代謝酵素活性に及ぼす JHA と $\beta$ -ecdysone の影響

越冬幼虫における glycerol の生成・分解は、温度以外に内分泌器官の影響を強く受けることを、すでに明らかにした(第3章)。さらに、JHA が glyceral の生成促進に、 $\beta$ -ecdysone は分解促進に作用することが明らかになった(第3章第4、5節)。ところが、これらホルモンの glyceral の生成・分解に対する作用機構についてはほとんど不明である(Wyatt, 1975; 長谷川, 1979; 山下, 1979)。

Glyceral の主要な前駆物質と考えられる glycogen は、前節ですでに明らかにしたように、glycogen 代謝酵素の活性の変動により制御され、それにともなって glyceral の生成量も影響を受けていると推定された。

前節で明らかにした glycogen 代謝酵素活性に及ぼす JHA と  $\beta$ -ecdysone の影響について調査した。

## 材料および方法

供試虫：オベテニカメイガ越冬休眠幼虫を供試した。

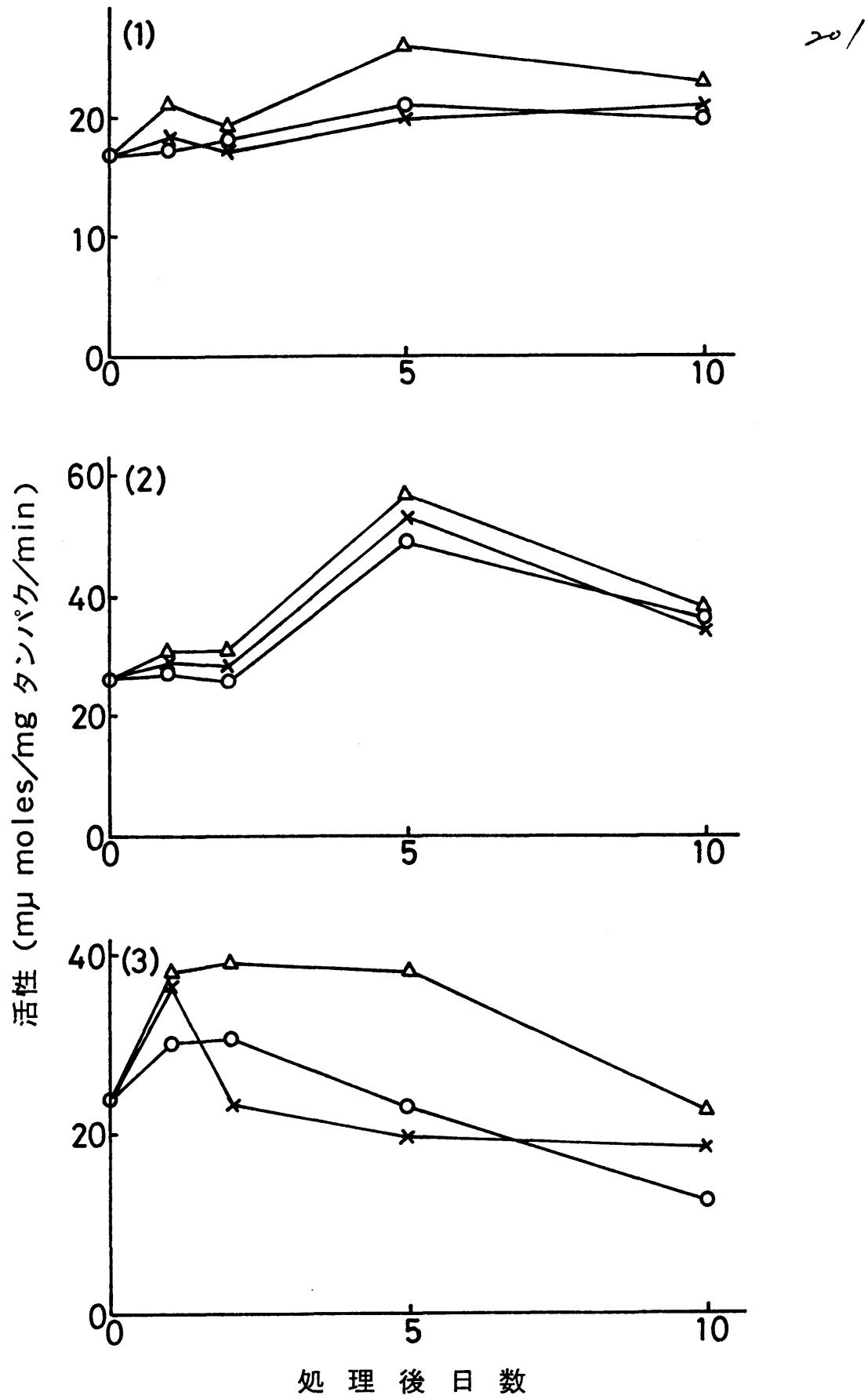
ホルモン処理ならびに酵素活性測定法：越冬休眠幼虫への  $\beta$ -ecdysone と JHA の投与は第3章第4～5節と同様の方法で行なった。処理1, 2, 5, 10日後に全虫体を磨碎し、前節の方法に従って酵素活性を測定した。

## 結果および考察

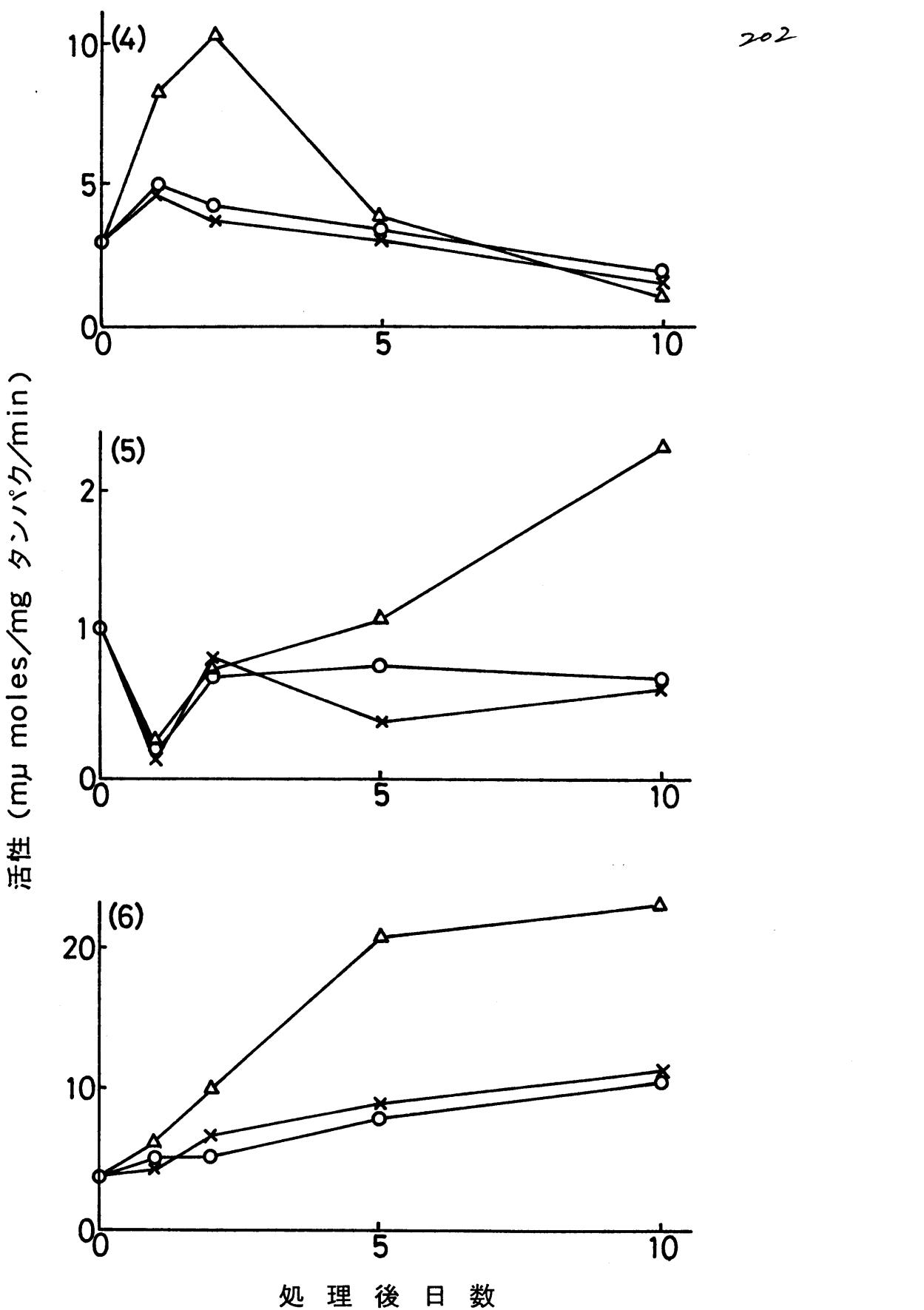
Hexokinase, PG-mutase, UDPG pyrophosphorylase, phosphorylase, glycogen synthetase, trehalase の6種の酵素は、その活性に差があるものの、PG-mutase 以外の酵素は  $\beta$ -ecdysone により活性化されるようにみえた（第54図）。一方、 $s\text{-JH}$  を投与された場合は対照とはほぼ同一である。

Glycogen 代謝で律速酵素とみられる glycogen

synthetase と phosphorylase 活性に注目した場合、25



第54図-1 越冬休眠幼虫におけるglycogen代謝酵素活性に及ぼすs-JHと  
β-ecdysoneの影響  
ホルモン処理後25℃に保存  
(1) Hexokinase (2) PG-mutase (3) UDPG-pyrophosphorylase  
(●)対照 (×) s-JH 10μg (△) β-Ecdysone 0.1μg  
2回反復の平均値



第54図-2 越冬休眠幼虫における glycogen代謝酵素活性に及ぼす s-JH と  
 $\beta$ -ecdysoneの影響  
 ホルモン処理後 25°C に保存  
 (4) Phosphorylase (5) Glycogen synthetase (6) Trehalase  
 (●)対照 (×) s-JH 10 $\mu\text{g}$  (△)  $\beta$ -Ecdysone 0.1 $\mu\text{g}$   
 2回反復の平均値

$^{\circ}\text{C}$ に移してから24時間後, glycerol の蓄積がみられる時(オ24回) phosphorylase は活性化され, glycogen synthetase 活性が低下したことから, glycogen の減少が引き起こされたものと推定された。Glycogen の減少と glycerol の一時的増加と, これら両酵素の活性の変化とよく一致していた。しかし,  $\beta$ -ecdysone を投与すると phosphorylase 活性が急速に活性化され, glycogen もそれにともなって減少した(オ40回)が, glycerol の生成には結びつかなかった。

他の昆虫でも glycogen 代謝とホルモンの関係について同様の報告がなされている。例えば, 熊で glycogen は ecdysone 投与により減少するところから, 解糖系の酵素は ecdysone により活性化されることが推定されている(Ito and Horie, 1957; Kobayashi and Kimura, 1967)。一方, サシバエの蛹に JHA を投与すると, glycogen の分解が抑制され(Wright and Rushing, 1973), 成虫発育の初期に JHA を投与すると, phosphorylase 活性は変わらず, glycogen 量も対照と変わらなかつた(Wright et al., 1973)。7

ロバエの一種 Phormia regina 成虫からアラタ体を摘出すると, glycogen 量が増加した (Orr, 1964)。しかし、これらの報告はいずれも昆虫の発育中の一時期にホルモン処理あることにより、発育の促進あるいは遲延が引き起された結果によって、glycogen の代謝が影響を受け、glycogen の変動が引き起された。本実験のいわゆる発育が停止した休眠中の glycogen の特異的代謝におけるホルモンの作用とは、直接比較することができないものと考えられた。

ニカメイカ越冬幼虫において trehalase 活性と hexokinase 活性は  $\beta$ -ecdysone によって活性化されることにより、trehalose の分解が促進されたものと考えられた。一方、trehalose の合成系は ecdysone によって活性化される (蚕の蛹, Kobayashi and Kimura, 1967) ことにより、減少した glycogen (オ 40 図) は glycerol の合成ではなく、trehalose の合成に用いられるものと推定された。しかし、体液の trehalose 量は対照とほとんど差がみられない (オ 39 図) ことから、trehalase の活性化によつて

ほぼ一定に保たれているものと推定された。

Trehalose より生成された glucose は、 hexokinase の作用を受け、一部はエネルギー源として用いられるものと考えられた。また、他の昆虫でよく知られており (Wyatt, 1967; 長谷川, 1979) ように、 $\beta$ -ecdysone をニカメイガ越冬幼虫に投与し、25°C に置くと、短期間の間に新しい表皮が生成されることが観察されたことから、glycogen の一部は chitin の合成に使用された（蚕の幼虫, Zaluska, 1959; バッタの一種 Schistocerca gregaria 幼虫, Candy and Kilby, 1962; Wyatt, 1967; ヒツジキンバエの成虫, Crompton and Polakis, 1969; ナロバエの一種 Phormia regina 蛹, Tate and Wimer, 1974）ものと推定された。このように、ホルモンが炭水化物の代謝に影響する例としては、蚕の休眠ホルモンがよく知られており (長谷川, 1979; 山下, 1977, 1979)。ニカメイガ幼虫に  $\beta$ -ecdysone を投与した場合と同様、蚕の蛹に休眠ホルモンを投与すると、脂肪体の glycogen が減少することが報告されている (Hasegawa and Yamashita, 1965)。しかし

蚕の休眠ホルモンは glycogen 合成系や分解系に影響するよりは、むしろ trehalase を特異的に活性化し、体液中の trehalose を卵巣に取り込ることにより、脂肪体の glycogen が減少するということであると考えられている (Yamashita et al., 1972)。一方、本実験で得られた  $\beta$ -ecdysone の作用は phosphorylase と trehalase 活性を活性化することにより、glycogen の分解を促進することであり、蚕の休眠ホルモンの作用とは異なっていることが明らかになつた。

以上の結果より、JHA は越冬休眠幼虫において、hexokinase, PG-mutase, UDPG pyrophosphorylase, glycogen synthetase, phosphorylase, trehalase 活性にはほとんど影響を及ぼさなかつた。しかし、 $\beta$ -ecdysone は PG-mutase 以外の 5 種の酵素を活性化した。特に、phosphorylase と trehalase を活性化した。これらの酵素の活性化により、glycogen の減少が起るものと推定された。なお、glycerol の生成量は JHA の濃度によって影響を受けることから、これら 6 種の酵素活性も JHA に対して全く影響さ

れなりとは結論されない。

## 第4節 $^{14}\text{C}$ -(1)-Glucose と $^{14}\text{C}$ -(6)-glucose の代謝速度の変化

Glycogen から glycerol への転移を考える場合、glycogen から triose phosphate への代謝系路には、基本的には解糖系とペントースリン酸回路が知られている（蚕の幼虫、Ito and Horie, 1959；Horie, 1967；蚕の蛹、Kobayashi and Kimura, 1967；堀江, 1965；Chefurka, 1965a, b）。蚕の休眠卵で sorbitol や glycerol を生成する系で、ペントースリン酸回路が非常に重要な働きをしていることが報告されている（Kageyama and Ohnishi, 1971；茅野, 1980）。その後、蚕の休眠卵で phosphofructokinase (PF-kinase と略記) 活性が検出され（Suzuki and Miya, 1975, 1977），さらに glycogen にとり込ませた  $^{14}\text{C}$ -(1)-glucose が代謝された（Kageyama, 1976）ことから、休眠中解糖系も働かいでいることが蚕の卵で明らかに

された。

ニカメイガにおいても glycogen から glycerol への代謝過程を明らかにするために、 $^{14}\text{C}$ -(1)-glucose と  $^{14}\text{C}$ -(6)-glucose を用いて、休眠幼虫と非休眠終令幼虫で  $\text{CO}_2$  への  $^{14}\text{C}$  の代謝割合を比較検討した。

### 材料および方法

供試虫：ニカメイガ越冬休眠幼虫と非休眠終令幼虫を供試した。

試薬と方法： $^{14}\text{C}$ -(1)-glucose (58.0 mCi / mM) と  $^{14}\text{C}$ -(6)-glucose (59.6 mCi / mM) は Radiochemical Centre から購入した。

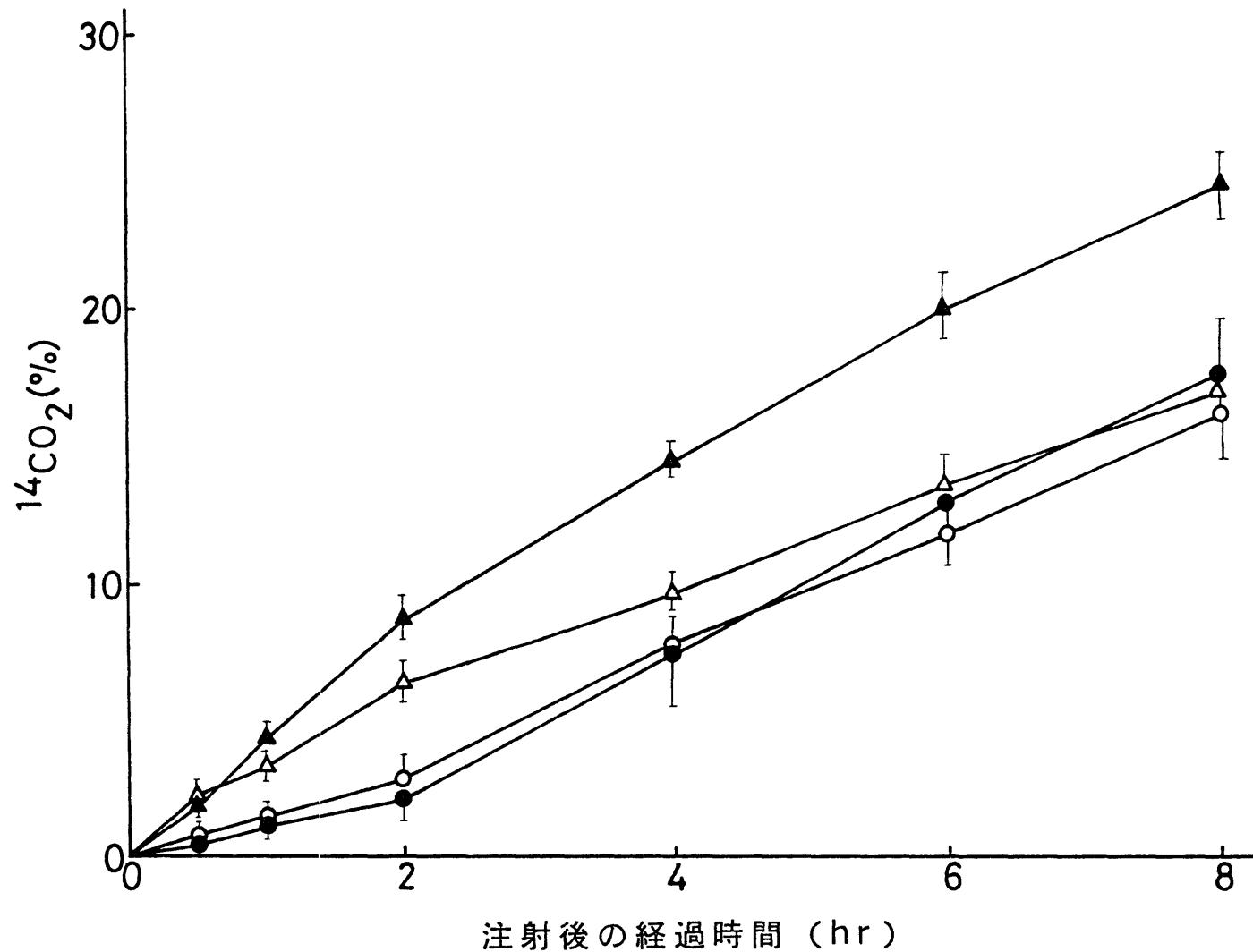
本章第1節と同様の方法に従って、放射性物質を腹脚より 10 $\mu\text{l}$ ずつ注射し、一定時間ごとに呼出される  $^{14}\text{CO}_2$  の放射能を液体シンチレーションカウンターで測定した。幼虫体内に残存している  $^{14}\text{C}$  は全自动試料燃焼装置 (Aloka ASC-112) を用いて、沪紙片とともに幼虫を燃焼

し、 $^{14}\text{CO}_2$  を ethanol amine に吸収させ、toluene scintilator を加えて測定した。幼虫体内から回収された放射能より  $^{14}\text{CO}_2$  中の放射能の割合を求めた。

### 結果および考察

$^{14}\text{C}-(1)\text{-Glucose}$  と  $^{14}\text{C}-(6)\text{-glucose}$  の  $^{14}\text{CO}_2$  への代謝割合を比較することにより、解糖系とペントースリシン酸回路を経由して分解される glucose の分解割合を明らかにすることができる。

第 55 図は  $^{14}\text{C}-(1)\text{-glucose}$  と  $^{14}\text{C}-(6)\text{-glucose}$  を注射された非休眠終令幼虫と越冬休眠幼虫によつ呼出された  $^{14}\text{CO}_2$  の放射能を比較したものである。越冬休眠幼虫では  $^{14}\text{C}-(1)\text{-glucose}$  より呼出される  $^{14}\text{CO}_2$  は  $^{14}\text{C}-(6)\text{-glucose}$  にくらべて多かった。すなわち、越冬休眠幼虫では解糖系以外にペントースリシン酸回路を経由しても glucose が代謝されることが明らかとなつた。一方、非休眠終令幼虫では  $^{14}\text{C}-(1)\text{-glucose}$  と  $^{14}\text{C}-(6)\text{-glucose}$  で  $^{14}\text{CO}_2$



第55図  $^{14}\text{C}$ -(1)-Glucoseと $^{14}\text{C}$ -(6)-glucoseを注射された越冬休眠幼虫と非休眠終令幼虫によって生成された $^{14}\text{CO}_2$ の割合  
 (▲)  $^{14}\text{C}$ -(1)-Glucoseを注射された休眠幼虫 (●)  $^{14}\text{C}$ -(6)-Glucoseを注射された休眠幼虫  
 (△)  $^{14}\text{C}$ -(1)-Glucoseを注射された非休眠終令幼虫 (○)  $^{14}\text{C}$ -(6)-Glucoseを注射された非休眠終令幼虫  
 3回反復の平均値 I, 標準誤差

へ代謝される速さはほとんど変わなかった。すなまち、非休眠終令幼虫においては glucose はほとんどすべてが解糖系を経由して代謝されることが明らかとなつた。しかし、注射後短時間内では両 glucose より呼出される  $^{14}\text{CO}_2$  に差がみられたことから、非休眠終令幼虫においても glucose 代謝にペントースリン酸回路も関与しているものと考えられた。

Horie et al. (1968) は  $^{14}\text{C}-(1)\text{-glucose}$  と  $^{14}\text{C}-(6)\text{-glucose}$  を用いて、発育中の蚕で  $^{14}\text{CO}_2$  への代謝割合の違いにより、ペントースリン酸回路を経由しても glucose は代謝されることを報告している。しかし、ニカメイガ非休眠終令幼虫においては、大部分の glucose は解糖系を経由して代謝されるようになれた。一方、Chino (1960) は蚕の休眠卵で glycogen から糖アルコールへの転移は、解糖系とペントースリン酸回路によつて行なわれるとした。しかし、Kageyama and Ohnishi (1971, 1973) は蚕の休眠卵で G-6-P Dase 活性が高く、PF-kinase 活性が検出されないことから、glycogen の

代謝はペントースリン酸回路を経由してのみ行なわれる結論した。一方, Suzuki and Miya, 1975, 1977) は PF-kinase が蚕の休眠卵, 非休眠卵とも存在することを確認した。さらに, Kageyama (1976) もまた  $^{14}\text{C}$ -(1)-glucose と  $^{14}\text{C}$ -(6)-glucose を用い, 蚕の休眠卵で glycogen の代謝に解糖系も関与していることを報告している。ニカメイが幼虫でも休眠に入ると, G-6-P Dase 活性が高くなり(第5章オ3節参照), ペントースリン酸回路が活性化され, glycogen の代謝により関与していることが推定された。なお,  $^{14}\text{C}$ -(6)-glucose から  $^{14}\text{CO}_2$  への代謝が越冬休眠幼虫と非休眠終令幼虫で差がみられなかったことから, 解糖系は休眠, 非休眠にかかわらず, ほぼ一定の活性を保っていることが明らかとなつた。

## 要 約

ニカメイが幼虫における glycogen の変動を明

らかにあるために、越冬休眠幼虫と非休眠終令幼虫における  $^{14}\text{C}$ -glucose と UDP- $^{14}\text{C}$ -G の代謝の違い、glycogen 代謝酵素活性の変動、ならびにホルモンの影響について調査した。さらに、 $^{14}\text{C}$ -(1)-glucose と  $^{14}\text{C}$ -(6)-glucose を用いて、glucose の代謝経路を推定した。

① 越冬休眠幼虫と非休眠終令幼虫で、 $^{14}\text{C}$ -glucose と UDP- $^{14}\text{C}$ -G の  $^{14}\text{CO}_2$ への代謝はほとんど変わなかった。このことは、ニカメイカ幼虫が休眠に入っても酸素消費量が変わらないことの一つの傍証となった。

② 越冬休眠幼虫では  $^{14}\text{C}$ -glucose から glycerolへの  $^{14}\text{C}$  の転移が認められたが、非休眠終令幼虫ではほとんどみられなかつた。 $^{14}\text{C}$ -Glucose から glycerolへの  $^{14}\text{C}$  の転移は低温ほど多くなつた。

③ 休眠が破れ後休眠期に入ると、体液中の glycerol, trehalose が減少し、それに従つて  $^{14}\text{C}$ -glucose から trehaloseへの  $^{14}\text{C}$  の転移が多くなつた。

④ ニカメイカ幼虫においては、生育中も越

冬中も hexokinase, PG-mutase, UDPG pyrophosphorylase, glycogen synthetase, phosphorylase, trehalose 活性がみられ、それぞれの酵素は組織によって異なった活性を示した。

⑤越冬期間中 glycogen 含量の変化と、glycogen synthetase 活性と phosphorylase 活性との変化はよく一致しており、しかも両酵素活性は他の4種の酵素活性にくらべて低かった。この結果から、glycogen 代謝の律速酵素は phosphorylase と glycogen synthetase であると考えられた。

⑥体液中の trehalose の分解は、主に消化管の trehalase が関係しているものと推定された。

⑦  $\beta$ -Ecdysone は glycogen 代謝酵素を活性化する作用があった。特に、phosphorylase と trehalase を活性化した。

⑧ JHA は glycerol の蓄積を高める作用があるにもかかわらず、glycogen 代謝酵素活性は対照と変わらなかった。

⑨非休眠終令幼虫では glycogen は主に解糖系経由により代謝されるが、越冬休眠幼虫では

ペントースリン酸回路を経由する代謝も重要であった。

## 第5章 ニカメイガ幼虫における glycerol 代謝

謝

ニカメイガ越冬幼虫では glycogen の減少と, glycerol の蓄積が一致していることをすでに明らかにした。さらに, glycogen 量の変化と glycogen synthetase 活性と phosphorylase 活性の変化とよく一致しており、しかもこれら両酵素が glycogen 代謝の律速酵素であった。Phosphorylase によって分解された glycogen は、解糖系とペントースリン酸回路によって代謝されることが明らかになった。そしてさらに、休眠中  $^{14}\text{C}$ -glucose から glycerol へ  $^{14}\text{C}$  の転移がみられるが、非休眠終令幼虫では glycerol への転移が認められなかつた。しかしながら、なぜ休眠に入ると発育時とは異なって glycerol の生成が行なわれるかについては不明な点がまだ多く残されている（茅野, 1962, 1986, 1980; 山下, 1979）。

ニカメイガにおける休眠と glycerol の代謝を明らかにする目的で  $^{14}\text{C}$ -glycerol の代謝, glycerol

合或酵素の冬期の変動について調査した。さらに、glycerol の増減の原因について、glycogen 代謝系で明らかにし得なかつた glycerol 代謝に及ぼすホルモンの作用機作についても調査した。

### 第 1 節 $^{14}\text{C}$ -Glycerol の代謝速度の比較

ニカメイガ越冬幼虫において、主に体液の glycerol の増減と脂肪体の glycogen の減増とは、密接な相関性があることを明らかにした。さらに、越冬休眠中は  $^{14}\text{C}$ -glucose から glycerol への  $^{14}\text{C}$  の転移が多く、後休眠期では  $^{14}\text{C}$  の転移が減少した。このような結果から、越冬休眠中は glycerol の生成系が活性化されて、phosphorylase によって分解された glycogen は、glycerol へ代謝されることが推定された。しかし、glycerol そのものが休眠中と休眠が破れた後で、どのように変化するかについてはまだ明らかにしてい

ない。さらに、最近蚕の休眠卵で、glycerol の変動と glycogen の変動とは一致していることが報告されている (Yaginuma and Yamashita, 1978, 1980; 山下, 1979)。

以上の点を明らかにするため、<sup>14</sup>C-glycerol を用いて休眠中と後休眠中の glycerol 代謝の変化、また非休眠幼虫での glycerol の代謝も比較した。

### 材料および方法

供試虫：ニカメイガ非休眠終令幼虫と越冬幼虫を用いた。

試薬と方法：<sup>14</sup>C-(U)-Glycerol (46 mCi/mM) は Radiochemical Centre より購入したものである。

ニカメイガ非休眠終令幼虫と越冬幼虫を ethyl ether で麻酔した後、オ4章オ1節の方法に従って <sup>14</sup>C-glycerol を腹脚より注射し、一定時間後磨碎抽出して放射能を測定した。

## 結果および考察

$^{14}\text{C}$ -Glycerol を注射する場合、ethyl ether 麻酔を行なうか、 $^{14}\text{C}$ -glycerol の代謝を注射後短時間内で調査する場合、しばしばこの麻酔の影響が強くあらわれることがある。この影響を少なくするために  $^{14}\text{C}$ -glycerol を注射した越冬休眠幼虫を  $4^\circ\text{C}$  に置き、8 時間後  $25^\circ\text{C}$  に移し、一定時間ごとの glycerol の代謝速度を調査した（第 35 表）。 $4^\circ\text{C}$  では注射後 8 時間目も 48 時間目も、 $^{14}\text{C}$ -glycerol の代謝にはほとんど差がみられなかつた。この結果から、注射後  $4^\circ\text{C}$  に置いた 8 時間はほとんど無視できるものと考えられた。 $25^\circ\text{C}$  では時間の経過に従つて、休眠幼虫の体内での  $^{14}\text{C}$ -glycerol の占める割合は少なくなり、glycogen への  $^{14}\text{C}$  の転移が多くなつた。 $^{14}\text{C}$ -Glycerol から glycogen への  $^{14}\text{C}$  の転移は、 $25^\circ\text{C}$  に移してから 4 時間以後は明らかに認められ、その後時間が経過するに従つて glycogen へ  $^{14}\text{C}$  の転移が多くなつた。48 時間後消失した  $^{14}\text{C}$ -glycerol

第35表 越冬休眠幼虫における<sup>14</sup>C-glycerolの代謝割合

	4 °C		25 °C				
	8 hr	48 hr	1 hr	4 hr	8 hr	24 hr	48 hr
CO <sub>2</sub>	0.1 %	0.6	0.1	0.5	0.8	3.0	5.4
Glycerol	87.2	87.7	87.4	84.7	81.3	72.0	59.5
Trehalose	0.8	0.8	1.7	1.3	1.2	1.2	1.2
Glucose	1.6	1.4	1.7	1.8	2.0	2.2	2.4
Glycogen	3.9	3.2	4.2	4.9	6.6	11.7	18.4
Lipid	0.1	0.2	0.2	0.3	0.3	0.2	1.3
Chitin	0.4	0.4	0.3	0.3	0.3	0.3	0.7
タンパク質	2.1	1.1	1.2	1.4	1.5	1.8	3.0
未知物質	4.2	4.9	3.9	4.4	5.7	6.5	7.9

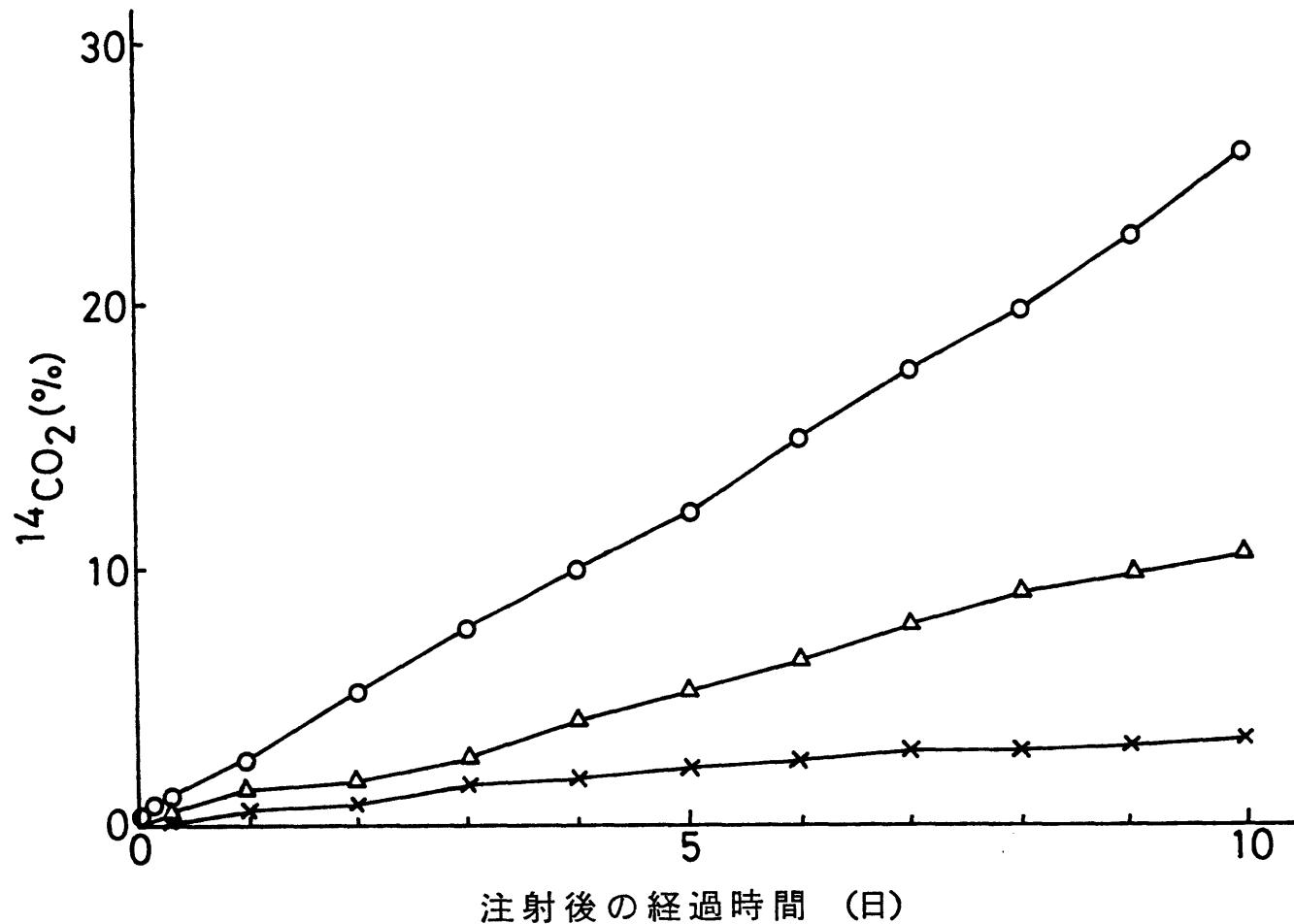
注射された全放射能に対する比率

2回反復した平均値

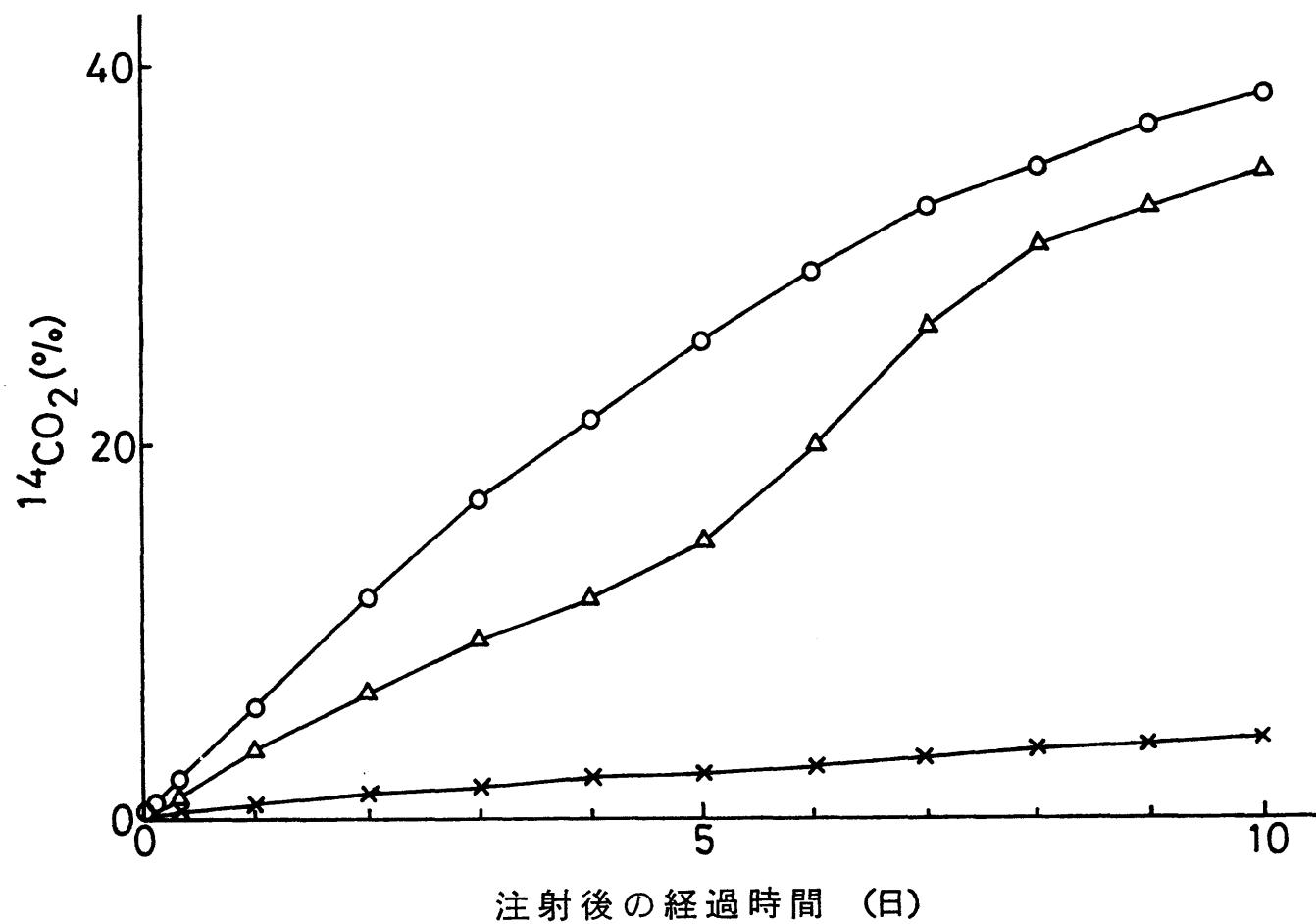
の半分が glycogen にとり込まれた。Yaginuma and Yamashita (1978, 1980) は蚕の休眠卵で、glycogen の減増と sorbitol の増減はよく一致しているが、glycerol の増減とは一致していないことを報告している。一方、ニカメイが越冬休眠幼虫においては、<sup>14</sup>C-glycerol の減少と glycogen 中の <sup>14</sup>C の増加はよく一致していた。

<sup>14</sup>C-Glycerol から脂質への <sup>14</sup>C の転移が認められ、時間が経過するに従って増加した。Trehalose 中の <sup>14</sup>C は 4 時間後からほぼ一定であった。

休眠幼虫と後休眠幼虫における <sup>14</sup>C-glycerol の代謝の違いを比較した。越冬休眠幼虫と後休眠幼虫で <sup>14</sup>C-glycerol から <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> への代謝を調査したところ(オ 56, 57 図)、いずれも試験した温度のうちで高温ほど <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> への呼出が多くなった。休眠幼虫と比較して後休眠幼虫の方が <sup>14</sup>C-glycerol から <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> への呼出が多かった。越冬休眠幼虫を 20°C 以下の温度に置いた場合、glycerol は増加する(オ 24 図)にもかかわらず、15°C で 10 日後には <sup>14</sup>C-glycerol の 10% が <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> とな



第56図  $^{14}\text{C-Glycerol}$  を注射された越冬休眠幼虫による  $^{14}\text{CO}_2$  の生成割合  
(○) 25°C (△) 15°C (×) 4°C  
2回反復した平均値



第57図  $^{14}\text{C-Glycerol}$  を注射された後休眠幼虫による  $^{14}\text{CO}_2$  の生成割合  
(○) 25°C (△) 15°C (×) 4°C  
2回反復した平均値

して呼出された。注射後10日目に解剖して各組織中の<sup>14</sup>Cを測定したところ（オ36, 37表），休眠幼虫にくらべ後休眠幼虫では<sup>14</sup>CO<sub>2</sub>へ代謝される量が多いだけ、組織中に残存する<sup>14</sup>Cは少ない傾向にあった。

脂肪体、消化管、その他残り組織における、各抽出分画中の<sup>14</sup>Cの分布を比較すると、TCA抽出分画中に多くの<sup>14</sup>C活性が認められた（オ38, 39表）。特に、脂肪体で顕著に認められた。後休眠幼虫の脂肪体のTCA分画の<sup>14</sup>Cは休眠幼虫にくらべて多かった。しかし、4°Cのような低温ではほとんどTCA分画に<sup>14</sup>C活性がみられなかった。

80% Ethanolで抽出されるglucose, trehaloseへの<sup>14</sup>Cのとり込みを比較した（オ40～43表）。いずれの組織とも後休眠幼虫の方が<sup>14</sup>C-glycerolとして残存している割合は少なく、trehaloseへの<sup>14</sup>Cの移行が多くなった。特に、25°Cと15°Cで顕著に認められた。これらの結果はglycerolの体液における絶対量の変化（オ24, 25図）を

第36表 越冬休眠幼虫に<sup>14</sup>C-glycerol注射10日後の各組織に存在した<sup>14</sup>Cの割合

	25℃	15℃	4℃
CO <sub>2</sub>	25.7%	10.5	3.2
消化管	2.5	2.3	1.8
脂肪体	14.1	6.5	5.5
体液	28.6	40.2	51.7
残り組織	29.0	40.6	37.8

注射された全放射能に対する比率

2回反復の平均値

第37表 後休眠幼虫に<sup>14</sup>C-glycerol注射10日後各組織に存在した<sup>14</sup>Cの割合

	25℃	15℃	4℃
CO <sub>2</sub>	37.8%	27.5	4.3
消化管	1.8	1.4	1.9
脂肪体	13.6	9.8	3.5
体液	24.7	37.4	59.0
残り組織	22.1	24.3	31.3

注射された全放射能に対する比率

2回反復の平均値

第38表 越冬休眠幼虫に<sup>14</sup>C-glycerol 注射 10日後の組織の各分画に存在した<sup>14</sup>Cの割合

		80% EtOH	5% TCA	Ethyl ether	残渣
25 °C	消化管	1.7%	0.7	0.1>	0.5
	脂肪体	5.8	6.7	0.4	1.1
	残り組織	20.0	6.0	0.5	3.0
15 °C	消化管	2.1	0.2	0.1>	0.2
	脂肪体	5.5	1.3	0.4	0.4
	残り組織	35.9	2.9	0.6	1.8
4 °C	消化管	1.7	0.1	0.1>	0.1>
	脂肪体	5.3	0.2	0.1	0.1
	残り組織	36.4	1.0	0.1	0.4

注射された全放射能に対する比率

2回反復の平均値

第39表 後休眠幼虫に<sup>14</sup>C-glycerol 注射 10日後の組織の各分画に存在した<sup>14</sup>Cの割合

		80% EtOH	5% TCA	Ethyl ether	残渣
25 °C	消化管	0.8%	0.4	0.1>	0.6
	脂肪体	3.6	8.7	0.4	0.9
	残り組織	10.6	5.3	0.9	5.4
15 °C	消化管	1.1	0.1	0.1>	0.2
	脂肪体	4.3	3.8	0.9	0.8
	残り組織	18.3	1.9	1.2	2.8
4 °C	消化管	1.8	0.1	0.1>	0.1
	脂肪体	3.1	0.3	0.1	0.1
	残り組織	29.2	0.8	0.3	1.1

注射された全放射能に対する比率

2回反復の平均値

第40表 越冬休眠幼虫に<sup>14</sup>C-glycerol 注射 10日後の体液中の trehalose, glucose としてとりこまれた<sup>14</sup>C の割合

	25 °C	15 °C	4 °C
Trehalose	13.7 <sup>a</sup> (4.1) <sup>b</sup> %	3.5(1.4)	1.3(0.7)
Glucose	2.7(0.7)	2.2(0.9)	1.9(1.0)
Glycerol	62.2(17.8)	84.6(34.0)	90.7(46.9)

a ペーパークロマトグラム上の全放射能に対する比率

b 注射された全放射能に対する比率

2回反復の平均値

第41表 越冬休眠幼虫に<sup>14</sup>C-glycerol 注射 10日後の消化管, 脂肪体, 残り組織中の trehalose, glucose としてとりこまれた<sup>14</sup>C の割合

	消 化 管			脂 肪 体			残 り 組 織		
	25 °C	15 °C	4 °C	25 °C	15 °C	4 °C	25 °C	15 °C	4 °C
Trehalose	4.9 <sup>a</sup> %	3.5	0.1	12.1	3.5	0.7	2.0	1.3	1.1
Glucose	4.8	4.7	0.1	2.5	3.5	1.2	2.7	2.5	1.0
Glycerol	51.3 (0.9) <sup>b</sup>	68.0 (1.4)	89.5 (1.5)	41.8 (2.0)	61.3 (3.4)	73.5 (3.4)	59.8 (11.8)	75.6 (27.1)	89.4 (32.6)

a ペーパークロマトグラム上の全放射能に対する比率

b 注射された全放射能に対する比率

2回反復の平均値

第42表 後休眠幼虫に  $^{14}\text{C}$ -glycerol 注射 10 日後体液中の trehalose, glucoseとしてとりこまれた  $^{14}\text{C}$  の割合

	25 °C	15 °C	4 °C
Trehalose	40.2 <sup>a</sup> ( 9.9) <sup>b</sup> %	10.6 ( 4.0)	4.2 ( 2.8)
Glucose	3.1 ( 0.8)	4.5 ( 1.7)	2.7 ( 1.6)
Glycerol	12.9 ( 3.2)	57.5 (21.5)	80.5 (47.5)

a ペーパークロマトグラム上の全放射能に対する比率

b 注射された全放射能に対する比率

2回反復の平均値

第43表 後休眠幼虫に  $^{14}\text{C}$ -glycerol 注射 10 日後消化管, 脂肪体, 残り組織中の trehalose, glucoseとしてとりこまれた  $^{14}\text{C}$  の割合

	消 化 管			脂 肪 体			残 り 組 織		
	25 °C	15 °C	4 °C	25 °C	15 °C	4 °C	25 °C	15 °C	4 °C
Trehalose	7.0 <sup>a</sup> %	3.8	1.9	7.7	9.2	5.5	6.5	3.0	1.6
Glucose	7.9	3.0	1.5	2.6	4.2	3.0	3.9	2.6	2.4
Glycerol	23.4 ( 0.2) <sup>b</sup>	56.6 ( 0.6)	83.1 ( 1.5)	15.3 ( 0.6)	39.1 ( 1.7)	70.3 ( 2.2)	25.9 ( 2.7)	65.1 ( 11.9)	76.1 ( 22.2)

a ペーパークロマトグラム上の全放射能に対する比率

b 注射された全放射能に対する比率

2回反復の平均値

よく反映していられし、またオ 4 章オ 1 節の結果ともよく一致していった。

越冬休眠幼虫を 25°C に置くと、24 時間後あるいは 48 時間後、glycerol が一時的に増加する（オ 24 図）にもかかわらず、その間  $^{14}\text{C}$ -glycerol のかなりの量が glycogen に転移した。Glycerol の生成が盛んな冬期、比較的暖かい日には glycerol から glycogen への再合成もなされているものと推定された。しかし、4°C のような低温では、注射後 8 時間目も 48 時間目もほとんど  $^{14}\text{C}$ -glycerol から glycogen への  $^{14}\text{C}$  の転移がみられなかつたし、また注射後 10 日目の各組織での TCA 分画中にも  $^{14}\text{C}$  活性は少なかつた。これらの結果から、4°C のような低温では glycogen から glycerol への一方的な合成系が強く働いている（セトロビニアの蛹、Ziegler and Wyatt, 1975; Wyatt, 1975）と推定された。一方、20°C 以下に越冬休眠幼虫を保存した場合、glycerol の生成促進が起るにもかかわらず、15°C で 10 日目には  $^{14}\text{C}$ -glycerol の約 10% が  $^{14}\text{CO}_2$  として代謝された。こ

のような結果からも、ニカメイガ越冬休眠幼虫の体内の glycerol は、休眠中でもかなり流動的なものであると推定された。なお、これらの  $^{14}\text{C-glycerol}$  の代謝結果は12月野外より採集した越冬幼虫を用いて得られたものであるが、同じ休眠期であっても、12月と1月ではかなり代謝が異なり、1月採集の休眠幼虫の方が12月採集にくらべ、はるかに  $^{14}\text{CO}_2$  への代謝割合が多くなられた。同一休眠期といえども、ニカメイガ幼虫体内での生理的状態は、かなり変化してりるものと推定された。

越冬幼虫と比較するために、非休眠終令幼虫における  $^{14}\text{C-glycerol}$  の代謝を比較した。

オ44表は非休眠終令幼虫と越冬休眠幼虫と比較した結果である。 $^{14}\text{C-Glycerol}$  は非休眠終令幼虫でよりよく代謝され、 $^{14}\text{CO}_2$  として非常に多く呼出された。一方、TCA 分画への  $^{14}\text{C}$  の移行は非常に少なかった。体液ながらに各組織中の  $^{14}\text{C-glycerol}$  の残存量は少なく、4°C のような低温でもよく代謝された(オ45表)。これら

第44表 非休眠終令幼虫と越冬休眠幼虫に  $^{14}\text{C}$ -glycerol 注射 10 日  
後の各分画に存在した  $^{14}\text{C}$  の割合

	非 休 眠			休 眠 25 °C
	25 °C	15 °C	4 °C	
CO <sub>2</sub>	63.4 %	36.1	18.9	21.0
体 液	6.1	10.0	30.5	25.7
EtOH 分画	18.3	38.9	42.9	26.7
TCA 分画	2.8	4.0	5.2	19.8
Ethyl ether 分画	0.9	2.6	0.3	1.6
Chitin	1.9	1.3	0.4	1.3
タンパク質	6.6	7.0	1.8	4.0

注射された全放射能に対する比率

2回反復の平均値

第45表 非休眠終令幼虫と越冬休眠幼虫に  $^{14}\text{C}$ -glycerol 注射 10 日後の体液  
と体液以外の組織中の trehalose, glucoseとしてとりこまれた  $^{14}\text{C}$  の  
割合

	非 休 眠			休 眠 25 °C
	25 °C	15 °C	4 °C	
体 液	Trehalose	34.6 <sup>a</sup> ( 2.1) <sup>b</sup> %	32.2 ( 3.2)	44.5 (13.6)
	Glucose	3.4 ( 0.2)	4.0 ( 0.4)	3.0 ( 0.9)
	Glycerol	3.7 ( 0.2)	6.2 ( 0.6)	3.8 ( 1.2)
組 織	Trehalose	4.3 ( 0.8)	5.8 ( 2.2)	21.4 ( 9.2)
	Glucose	3.3 ( 0.6)	3.0 ( 1.1)	4.9 ( 2.1)
	Glycerol	4.3 ( 0.8)	14.1 ( 5.5)	14.9 ( 6.4)

a ペーパークロマトグラム上の全放射能に対する比率

b 注射された全放射能に対する比率

2回反復の平均値

の結果は、非休眠終令幼虫を $5^{\circ}\text{C}$ に保育して  
も、わずかにしか glycerol の蓄積がみられなかっ  
た(第26図)ことと一致していた。すなわち  
、非休眠終令幼虫で glycerol の生成がみられない  
一つの原因是、glycerol の分解活性が高くなる  
によるものと考えられた。

## オニ節 $^{14}\text{C-Glycerol}$ 代謝に及ぼす JHA と $\beta\text{-ecdysone}$ の影響

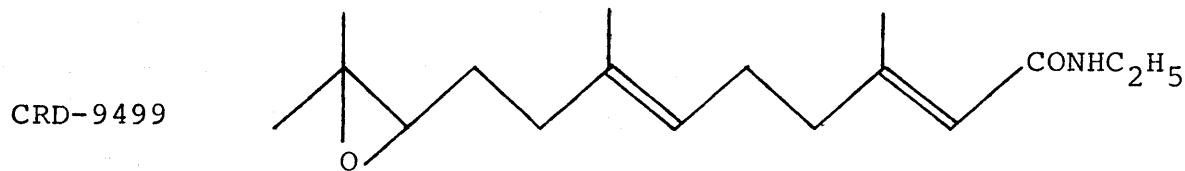
Glycerol 含量に及ぼす JHA と  $\beta\text{-ecdysone}$  の影響  
については、すでにオニ章オニ4.5節に述べ  
た。すなわち、JHA は glycerol の生成を促進し  
、 $\beta\text{-ecdysone}$  は分解を促進することが明らかに  
なった。

Glycerol の生成分解過程に及ぼすこれらホル  
モンの影響を明らかにするために、 $^{14}\text{C-glycerol}$   
と  $^{14}\text{C-glucose}$  を用いて、ホルモン投与による  
glycerol 代謝への影響について調査した。

## 材料および方法

方法： JHA として farnesol と CRD-9499 を用いた。

CRD-9499 の構造式を下記に示す。CRD-9499 は日産



化字株式会社より譲り受けた。JHA はすべて acetone に稀釈し、越冬幼虫の腹部背板に 1 頭当り 1  $\mu\text{l}$  ずつ塗布した。 $\beta$ -Ecdysone は蒸溜水に溶解し、腹脚より同様に 10  $\mu\text{l}$  ずつ注射した。ホルモン処理後、1 日間各温度に置き、翌日  $^{14}\text{C-glycerol}$  を注射した。第 4 章第 1 節の方法により  $^{14}\text{CO}_2$  を捕集した。一定時間後磨碎抽出し、放射能を測定した。

## 結果および考察

越冬休眠幼虫と後休眠幼虫に JHA と  $\beta$ -ecdysone を処理し、 $^{14}\text{C-glycerol}$  代謝に及ぼす影響を調査

した。 $^{14}\text{C}$ -Glycerol 注射後10日目の体液ならびに  
体液以外の組織の各分画中の $^{14}\text{C}$ ならびにその  
間呼出された $^{14}\text{CO}_2$ の活性を比較した(オ46,  
47表)。休眠幼虫、後休眠幼虫とも  $\beta$ -ecdysone  
処理により、 $^{14}\text{C}$ -glycerol から  $^{14}\text{CO}_2$ へ代謝される  
量が多くなった。特に、休眠幼虫に  $\beta$ -ecdysone  
0.1  $\mu\text{g}$  処理すると、対照にくらべ約2倍  $^{14}\text{CO}_2$ へ  
代謝された。しかし、後休眠幼虫に 0.01  $\mu\text{g}$  処  
理すると、対照と差がみられなかつた。一方  
、JHA 処理では  $^{14}\text{C}$ -glycerol から  $^{14}\text{CO}_2$ への代謝は対  
照と変わなかつた。

TCA 分画への $^{14}\text{C}$ の存在割合は CRD-9499 100  $\mu\text{g}$  処  
理で多くなり、 $\beta$ -ecdysone 処理で少なくなる傾  
向にあつた。

オ48表とオ49表は越冬休眠幼虫と後休眠幼  
虫の体液中の $^{14}\text{C}$ -glycerol 量と trehalose, glucose へ  
の $^{14}\text{C}$ のとり込み割合を調査した結果である。

$\beta$ -Ecdysone 処理により、休眠幼虫、後休眠幼虫  
とも  $^{14}\text{C}$ -glycerol は非常に減少し、trehalose 中の $^{14}\text{C}$   
活性が高くなつた。しかし、後休眠幼虫に

第46表 越冬休眠幼虫における<sup>14</sup>C-glycerol代謝に及ぼすJHAと  
 $\beta$ -ecdysoneの影響

	Farnesole 100 $\mu$ g	CRD 9499 100 $\mu$ g	$\beta$ -Ecdysone 0.1 $\mu$ g	対照
CO <sub>2</sub>	20.0 %	19.0	44.3	21.0
体液	17.8	15.7	5.1	25.7
80% EtOH分画	37.8	29.6	18.0	26.7
5% TCA分画	18.1	28.5	13.2	19.8
Ethyl ether分画	0.9	1.0	9.3	1.6
残渣	5.3	6.3	10.1	5.3

<sup>14</sup>C-Glycerol注射後25°Cに保存、10日目に測定

注射された全放射能に対する比率

2回反復の平均値

第47表 後休眠幼虫における<sup>14</sup>C-glycerol代謝に及ぼすJHAと  
 $\beta$ -ecdysoneの影響

	Farnesol 100 $\mu$ g	CDR 9499 100 $\mu$ g	$\beta$ -Ecdysone		対照
			0.1 $\mu$ g	0.01 $\mu$ g	
CO <sub>2</sub>	39.9%	35.7	49.3	39.0	39.6
体液	19.4	18.1	9.6	19.6	16.2
80% EtOH分画	17.9	17.9	18.6	17.9	16.4
5% TCA分画	13.8	19.3	8.2	16.5	15.6
Ethyl ether分画	2.6	2.0	4.3	1.5	2.6
残渣	6.4	7.0	7.3	5.5	9.6

<sup>14</sup>C-Glycerol注射後25°Cに保存、10日目に測定

注射された全放射能に対する比率

2回反復の平均値

第48表  $^{14}\text{C}$ -Glycerol を注射された越冬休眠幼虫の体液中の糖にとりこまれた  $^{14}\text{C}$  の割合に及ぼす JHA と  $\beta$ -ecdysone の影響

	Farnesol 100 $\mu\text{g}$	CRD 9499 100 $\mu\text{g}$	$\beta$ -Ecdysone 0.1 $\mu\text{g}$	対 照
Trehalose	16.8 %	26.2	48.5	17.5
Glucose	5.5	4.4	11.0	3.7
Glycerol	52.2	40.4	8.2	48.6

$^{14}\text{C}$ -Glycerol 注射後 25 °C に保存、10 日目に測定

ペーパークロマトグラム上の全放射能に対する比率

2回反復した平均値

第49表  $^{14}\text{C}$ -Glycerol を注射された後休眠幼虫の体液中の糖にとりこまれた  $^{14}\text{C}$  の割合に及ぼす JHA と  $\beta$ -ecdysone の影響

	Farnesol 100 $\mu\text{g}$	CRD 9499 100 $\mu\text{g}$	$\beta$ -Ecdysone		対 照
			0.1 $\mu\text{g}$	0.01 $\mu\text{g}$	
Trehalose	34.2 %	32.1	37.9	48.8	39.3
Glucose	3.7	3.1	5.9	3.5	3.3
Glycerol	20.0	26.6	9.7	9.8	16.7

$^{14}\text{C}$ -Glycerol 注射後 25 °C に保存、10 日目に測定

ペーパークロマトグラム上の全放射能に対する比率

2回反復した平均値

$\beta$ -ecdysone  $0.1 \mu\text{g}$  を処理すると、trehalose 中の  $^{14}\text{C}$  が  $0.01 \mu\text{g}$  処理にくらべ低かった。これは、 $\beta$ -ecdysone  $0.01 \mu\text{g}$  を処理すると体液中の trehalose の絶対量が減少する（オ 39 図）ことと一致していた。

これらの結果は、越冬幼虫に  $\beta$ -ecdysone を処理すると、glycogen が減少する（オ 40 図）にもかかわらず、glycerol は増加しなって減少した結果（オ 38 図）とよく一致しており、この原因についての 1 つの解答を与えていた。すなわち、 $\beta$ -ecdysone をニカメイガ越冬幼虫に投与すると、phosphorylase 活性が増加し（オ 54 図）、glycogen の減少がひき起こされたものと考えられた。さらに、オ 50 表は  $^{14}\text{C}$ -glucose から glycerol への  $^{14}\text{C}$  の転移に対するホルモンの影響について調査したものである。 $\beta$ -Ecdysone 処理により glycerol への  $^{14}\text{C}$  の転移が減少した。この glycerol の合成活性が低下することと、 $\beta$ -ecdysone により glycerol kinase が活性化される（ヤクロビア蚕の蛹、Yamashita and Wyatt, Wyatt, 1975）ことにより、 $\beta$ -ecdysone 処理で glycerol が減少するものと考えら

第 50 表  $^{14}\text{C}$ -Glucose を注射された越冬幼虫の体液中の glycerol にとり  
こまれた  $^{14}\text{C}$  の割合に及ぼす JHA と  $\beta$ -ecdysone の影響

	処理後の日数	Farnesol $100\mu\text{g}$	CRD 9499 $100\mu\text{g}$	$\beta$ -Ecdysone $1\mu\text{g}$	対 照
休 眠	1	22.7 %	23.0	24.0	20.2
	2	27.5	24.8	15.8	22.5
	6	23.3	18.8	0.9	21.3
後 休 眠	1	8.8	8.0	8.0	8.4
	2	9.6	10.6	4.9	6.9
	6	5.7	6.1	—	3.2

$^{14}\text{C}$ -Glucose 注射後 25 °C に保存、24 時間目に体液を集め測定した。

ペーパークロマトグラム上の全放射能に対する比率

2 回反復した平均値

れた。分解された glycogen と glycerol は chitin の合成以外に、主にエネルギー源として用いられ、 $\text{CO}_2$  に代謝されたと理解された。

一方、JHA の越冬休眠幼虫での  $^{14}\text{C-glycerol}$  代謝への影響をみた場合、farnesol 100  $\mu\text{g}$  処理では対照にくらべて残存している  $^{14}\text{C-glycerol}$  量は多かった。しかし、farnesol にくらべ JH 活性の高い CRD-9499 100  $\mu\text{g}$  処理では、対照にくらべ  $^{14}\text{C-glycerol}$  量は少なく、TCA 分画に  $^{14}\text{C}$  活性が高かつた。これらの結果は JHA が高濃度処理された時、glycerol 含量が減少した結果（表 15、16 表）とよく一致しており、glycerol の減少が glycogen と trehalose への転移に反映されたものと考えられた。Farnesol 100  $\mu\text{g}$  処理すると対照よりも  $^{14}\text{C-glucose}$  から glycerol への  $^{14}\text{C}$  の転移がわずか高かつた（表 50 表）。越冬休眠幼虫に farnesol 100  $\mu\text{g}$  処理で、glycerol の蓄積が高まつた一原因は glycerol 合成が活性化されたためと考えられた。しかし、後休眠幼虫に farnesol、CRD-9499 をそれぞれ 100  $\mu\text{g}$  処理した場合、 $^{14}\text{C-glucose}$  から glycerol

への<sup>14</sup>Cのとり込みが対照よりも高いにもかかわらず、体液中の glycerol の絶対量が減少した(第34図)。これは、glycerol の分解活性が非常に高くなつたためと推定された。

### 第3節 Glycerol 代謝酵素の活性消長

ニカメイガ越冬幼虫において、glycogen から glycerol への転換、glycerol から glycogen への転換は、phosphorylase 活性と glycogen synthetase 活性の変動とよく一致していた。Glycogen からの代謝中間体である triose phosphates が、 $\alpha$ -glycerophosphate ( $\alpha$ -GP と略記) を経て glycerol への転換、あるいは glycer-aldehyde-3-phosphate (GA-3-P と略記) を経て pyruvic acid や lactic acid への転換は、 $\alpha$ -GP Dase, phosphatase, GA-3-P Dase, lactate Dase 活性の相互変化によって決まるとしてされている(蚕の卵, Chino, 1960, 1961; Kageyama and Ohnishi, 1971)。

これらの酵素活性について、ニカメイガ越

冬幼虫と非休眠幼虫で比較検討した。さらに、休眠時における glycogen 代謝にペントースリシン酸回路の重要性を、前章オ 4 節で明らかにしたが、G-6-P Dase 活性の変化を調査することにより、さらにこの事実を確認した。

### 材料および方法

試薬： G-6-P, NADP, nicotinamide adenine dinucleotide ( NAD と略記 ), 還元型 NAD ( NADH と略記 ), F-1,6-P, aldolase は Sigma 社から購入した。

酵素液調整法：ニカメイガ幼虫の各組織ならびに全虫体を 20 倍の蒸溜水を用ひ、氷冷中で磨碎した。磨碎液を 10,000 g, 2°C で 15 分間遠心し、その上清を酵素液として用ひた。Phosphatase 活性を測定する以外はさらに 4 倍に蒸溜水で稀釀した。

酵素活性測定法： G-6-P Dase, α-GP Dase, GA-3-P Dase, lactate Dase 活性は、Chino (1960), Kageyama and Ohnishi (1971) の方法を参考にして測定した。各反応液を調

整後、10分間25°Cの室温に置いて pre-incubation した後、酵素液を添加し、340nmで生成あるものは分解される NADH 量を測定し、酵素活性を求めた。ただし、G-6-P Dase は NADP から生成される NADPH 量を測定した。

反応組成は下記のごとくである。

G-6-P Dase ; 0.1ml 0.1M G-6-P, 0.1ml 0.1M MgCl<sub>2</sub>, 0.1ml 2x10<sup>-3</sup> M NADP, 0.1ml 酵素液（ただし脂肪体酵素液は 0.05ml）、2.6ml 0.1M Tris-HCl 緩衝液（pH 9.2）である。

酵素液を添加することにより反応を開始した。  
 $\alpha$ -GP Dase ; 0.1ml, 0.2M F-1,6-P, 0.3ml 2x10<sup>-3</sup> M NADH, 0.1ml aldolase (1 unit), 0.05ml 酵素液（ただし脂肪体酵素液は 0.025ml），2.55ml 0.1M Tris-HCl 緩衝液（pH 8.8）である。25°Cで aldolase の存在下で F-1,6-P を triose phosphates に変化させた後、酵素液を添加して反応を開始した。

GA-3-P Dase ; 0.1ml 0.2M F-1,6-P, 0.1ml 0.8M cysteine, 0.1ml 0.1M sodium arsenate dibasic, 0.1ml 1x10<sup>-3</sup> M NAD, 0.1ml aldolase (1 unit), 0.1ml 酵素液, 2.4ml 0.1M sodium pyro-phosphate-HCl 緩衝液（pH 10.0）である。 $\alpha$ -GP Dase と同様

様の方法で酵素活性を測定した。

Lactate Dase ; 0.1 ml 0.2 M sodium pyruvate, 0.2 ml  $2 \times 10^{-3}$  M NADH, 0.1 ml 酵素液, 2.5 ml 0.1 M phosphate 緩衝液である。酵素液を添加して反応を開始した。

Phosphatase 活性は Chino (1961) の方法を参考にして測定した。すなわち,  $\alpha$ -GP より phosphatase により遊離されてきた無機磷を定量することにより, 酵素活性を求めた。

反応組成は下記のごとくである。

0.1 ml 20 mM  $\alpha$ -GP, 0.1 ml 10 mM  $MgCl_2$ , 2.3 ml 0.1 M Tris-HCl 緩衝液 (pH 5.4) と 2.3 ml 0.1 M glycine 緩衝液 (pH 9.4), 0.5 ml 酵素液である。酵素液を添加後 60 分 37°C で反応させた後, 1 ml の 30% TCA を加え反応を停止させた。その上清中の無機磷を Ernster et al. (1956) の方法に従って測定した。すなわち, 上清 2 ml に silicotungstic acid 液 (5.3 g  $NaSiO_3 \cdot 8 H_2O$  と 79.4 g  $Na_2WO_4 \cdot 2H_2O$  を 500 ml の蒸溜水に溶解し, 15 ml の  $H_2SO_4$  を加え, 5 時間還流冷却器をつけ沸騰させた。冷却後, 蒸溜水を加え 1 l とする) 1 ml を加え, 0.5 ml の 10 N  $H_2SO_4$ , 次いで 5 ml iso-

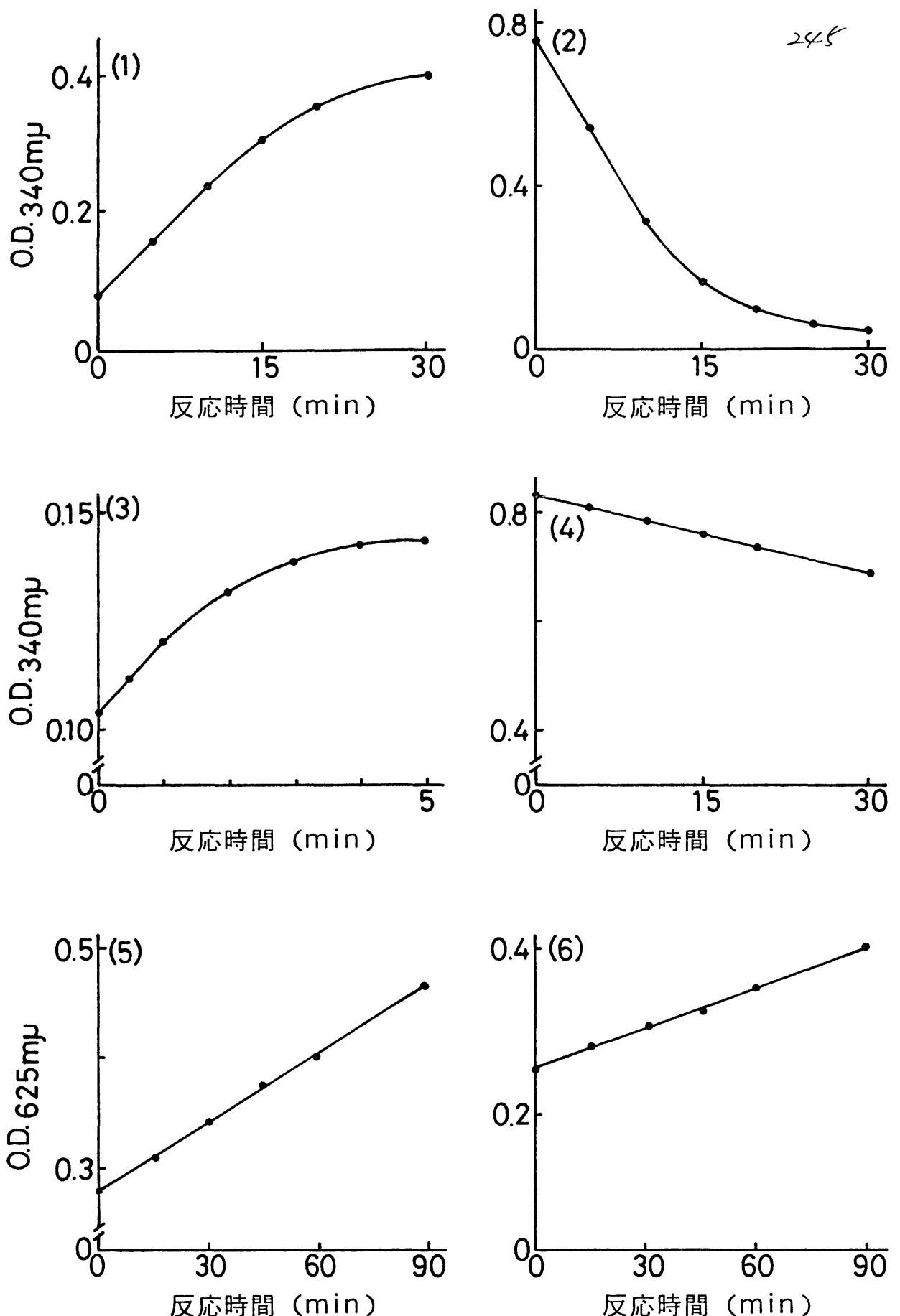
butanol : benzen 混液 (iso-BuOH : benzen = 1 : 1 v/v) と 0.5 ml  
 10% ammonium moribudate 溶液を加えよく攪拌した。  
 3,000 r.p.m. で 5 分間遠心後、上清 2 ml に 3 ml の  
 ethanol H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 混液 (3.2 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> / 96.8 ml 無水 ethanol) を加  
 えた。5 ml の SnCl<sub>2</sub> (2.5 g の SnCl<sub>2</sub> を 25 ml の HCl に溶  
 解し、使用時 1 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で 200 倍に稀釀) を添加し  
 発色させた。最大吸収波長 625 nm で比色定量  
 した。補正は反応液に 1 ml の 5% TCA を加えた後  
 酵素液を加え、得られた試料を同様の方法で  
 測定することによって行なった。

酵素液のタンパク質量は Lowry et al. (1951) の方  
 法に従って測定した。

### 結果および考察

各酵素の活性と反応時間との関係について  
 調査した結果、いずれの活性とも 15 分までは  
 直線的に増加したが、GA-3-P Dase のみ 1 分間で  
 あつた (第 58 図)。

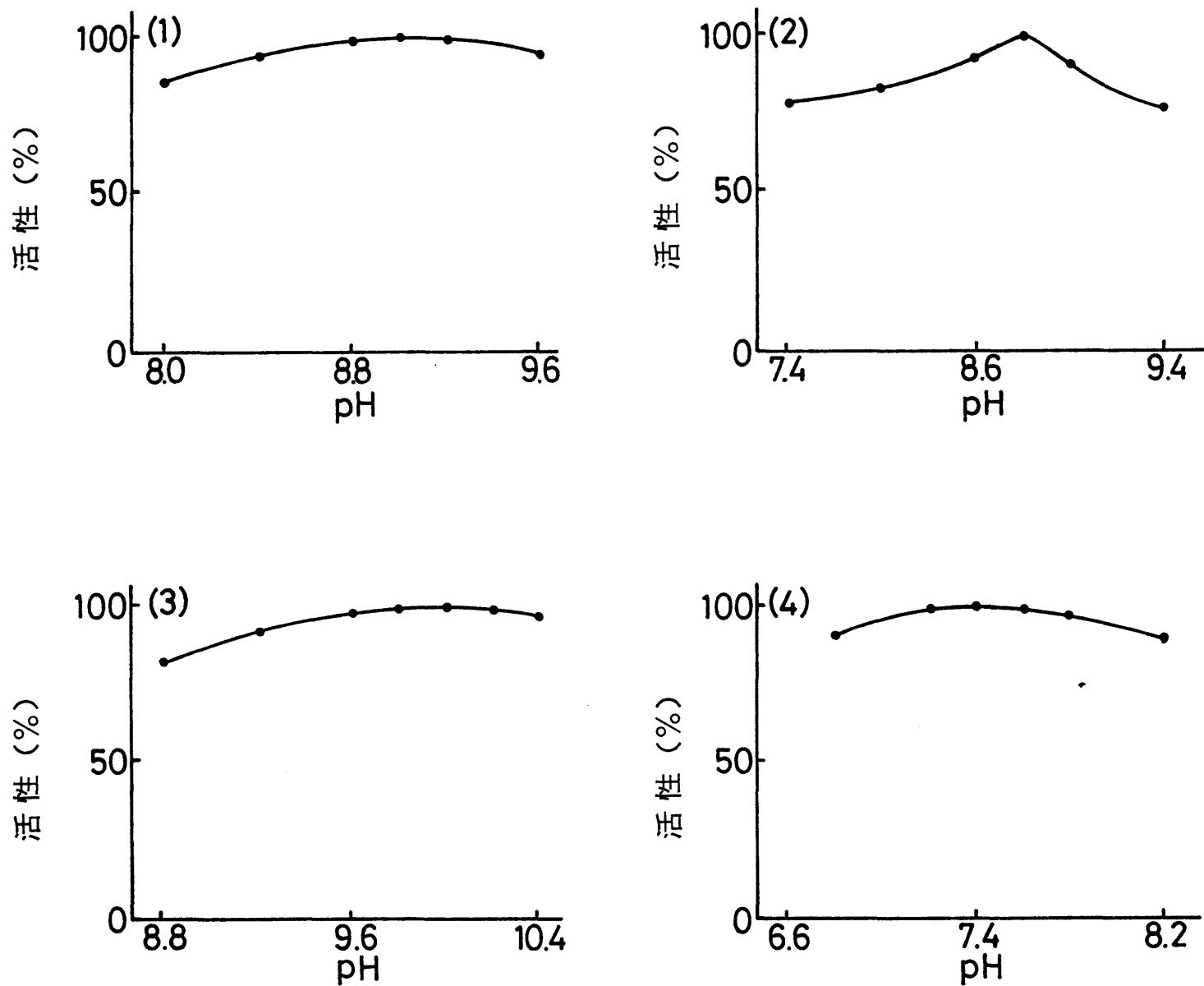
次に、これらの酵素活性に及ぼす pH の影響



第58図 Glycerol代謝酵素活性と反応時間との関係  
 (1)G-6-PDase (2) $\alpha$ -GPDase (3)GA-3-PDase  
 (4)Lactate Dase (5)アルカリ性phosphatase (6)酸性phosphatase

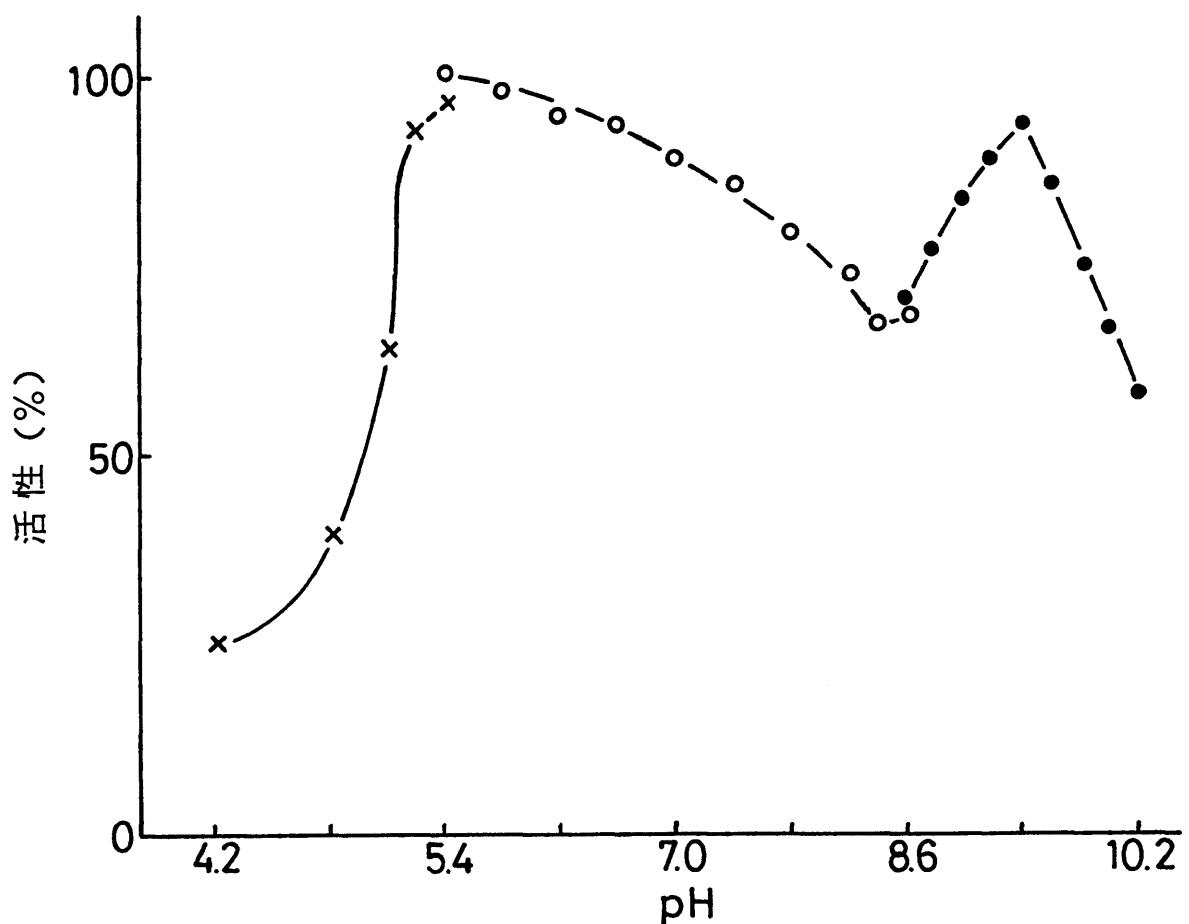
について検討した(第59, 60図)。すべての酵素活性はpHに対して、glycogen代謝酵素と同様(第47図)ベル型カーブを示し、酵素の違いによって最適pHは異なっていた。これらの酵素の最適pHは蚕(Chino, 1960, 1961; Horie, 1967; Kageyama and Ohnishi, 1971)にくらべ高いう傾向にあった。

Phosphatase活性をacetate, Tris-HCl, glycineの3種類の緩衝液を用いて調査したところ、酸性側とアルカリ性側の両方に活性ピークがみられた(第60図)。蚕幼虫の消化管のphosphataseの最適pHは酸性側4.8, アルカリ性側9.2~9.7であり(堀江, 1955, 1958), 本結果とはほぼ一致していた。ニカメイカ幼虫のphosphatase活性はすでにFukaya et al. (1952)とTomizawa and Koike (1955)によって報告されており、基質としてB-GPを用いた場合最適pHは7.0と9.0附近にある( Tomizawa and Koike, 1955)。Phosphataseに対する最適pHは、基質にB-GPを用いらか, α-GPを用いらかで異なり(蚕の卵, Chino, 1961), 本実験には基質にα-GPを用いたことにより、最適pHに差がみられたもの



第59図 Glycerol代謝酵素活性とpHの関係

(1) G-6-P Dase (2)  $\alpha$ -GP Dase (3) GA-3-P Dase (4) Lactate Dase



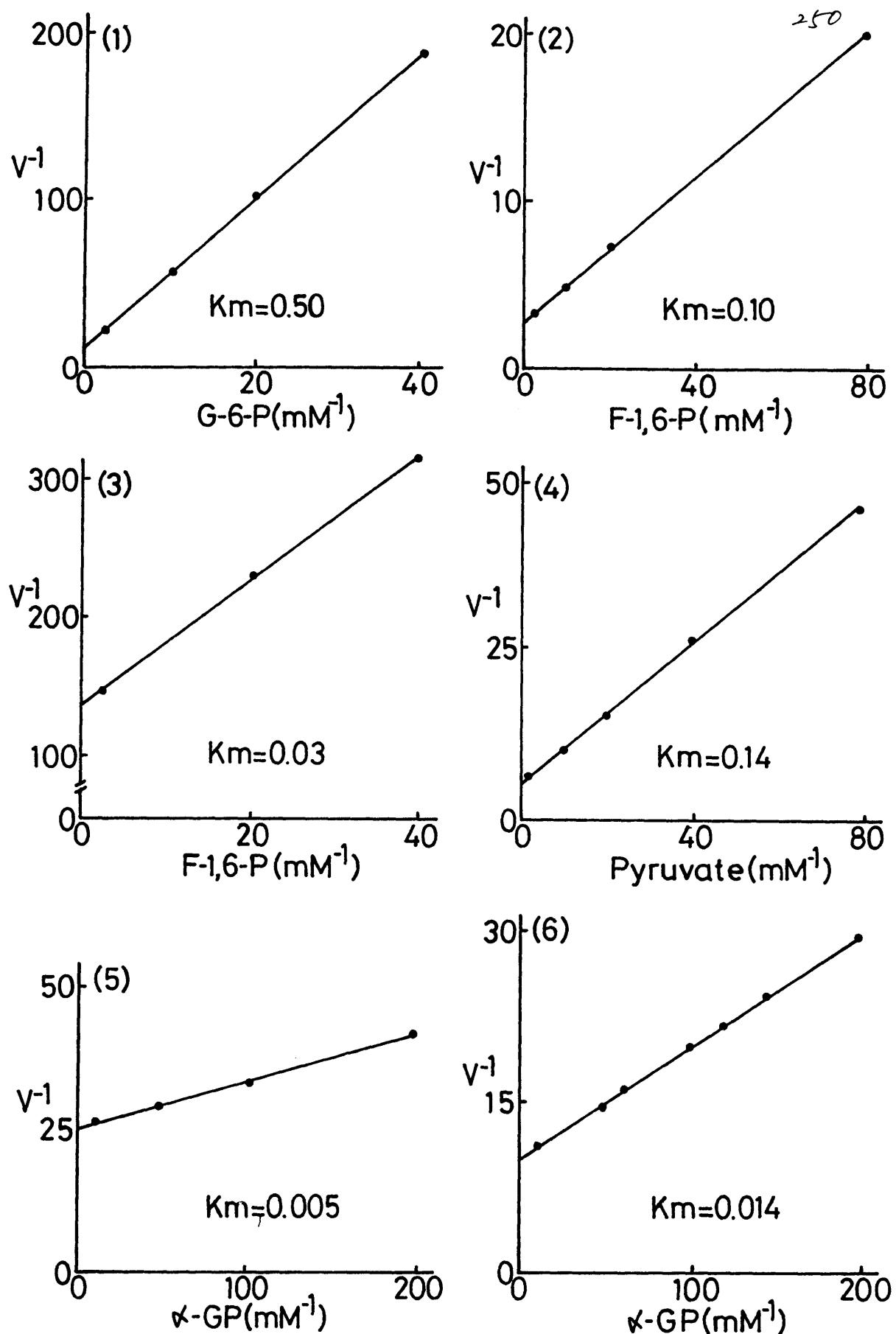
第60図 Phosphatase活性とpHの関係

(×) Acetate 緩衝液      (○) Tris-HCl 緩衝液  
(●) Glycine 緩衝液

と推察された。

各酵素のそれぞれの基質に対する親和力を検討するため、越冬休眠幼虫を用いて酵素の反応速度と基質濃度との関係について調査した。Glycogen 代謝酵素活性と同様（オ 48 図），基質の濃度の増加とともに反応速度は直角双曲線的に增加了。Lineweaver-Burk 法により  $K_m$  値を求めた（オ 61 図）。G-6-P に対する G-6-P Dase は 0.05 mM，pyruvate に対する lactate Dase は 0.14 mM であり、蚕にくらべ（Horie, 1967）わずかに高かった。F-1,6-P に対する  $\alpha$ -GP Dase と GA-3-P Dase はそれぞれ 0.096 mM と 0.028 mM であった。 $\alpha$ -GP に対する phosphatase は酸性で 0.014 mM，アルカリ性で 0.005 mM であった。

これらの酵素が越冬中どのような活性消長を示すかを、全虫体で比較した（オ 62, 63 図）。さらに、非休眠終令幼虫全虫体（オ 51 表）ならびに各組織（オ 52 表）における酵素活性の比較を行なった。組織の違いにより酵素活性は大きく異なっていた。消化管では GA-3-P

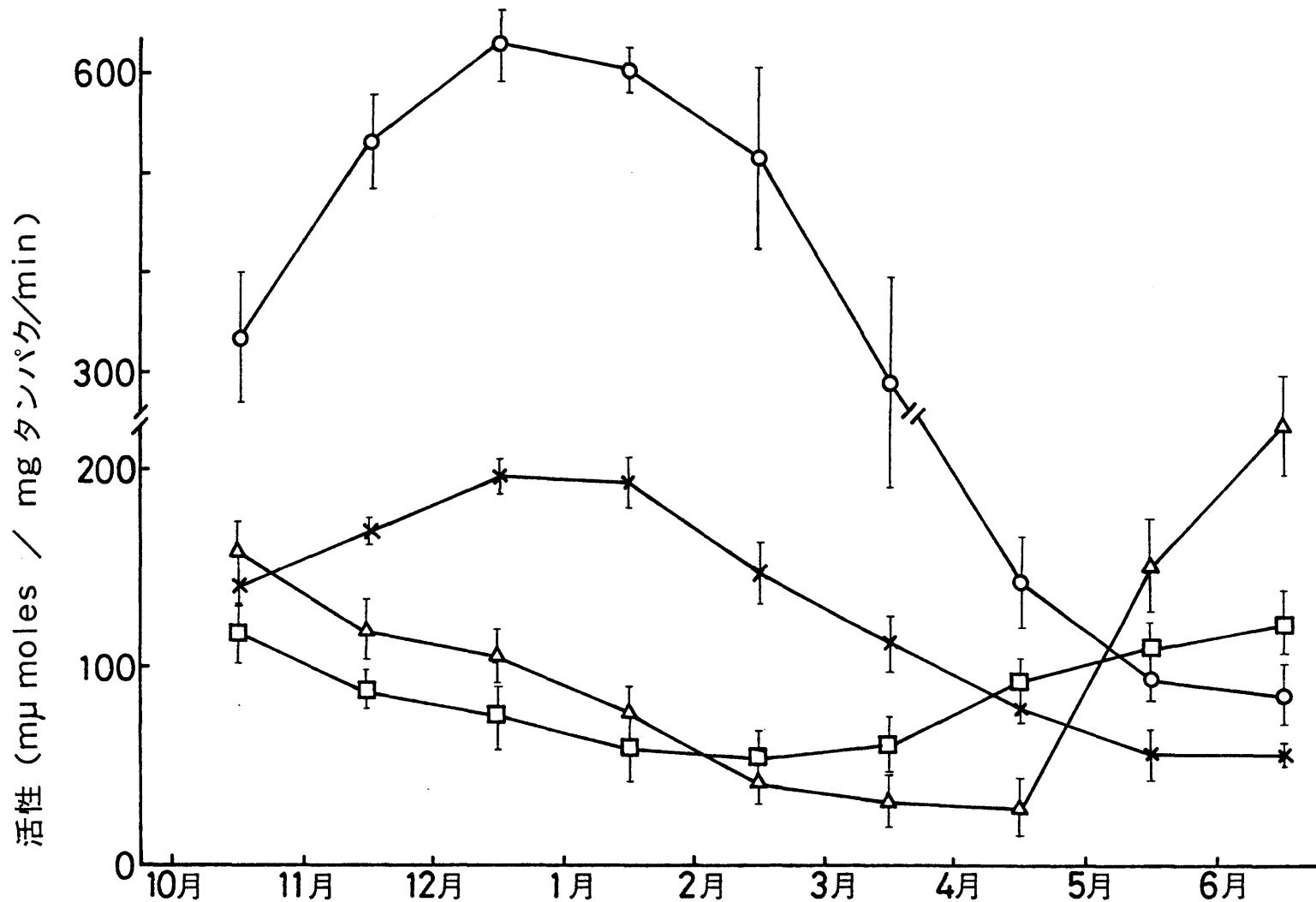


第61図 Glycerol代謝酵素活性と基質濃度との関係

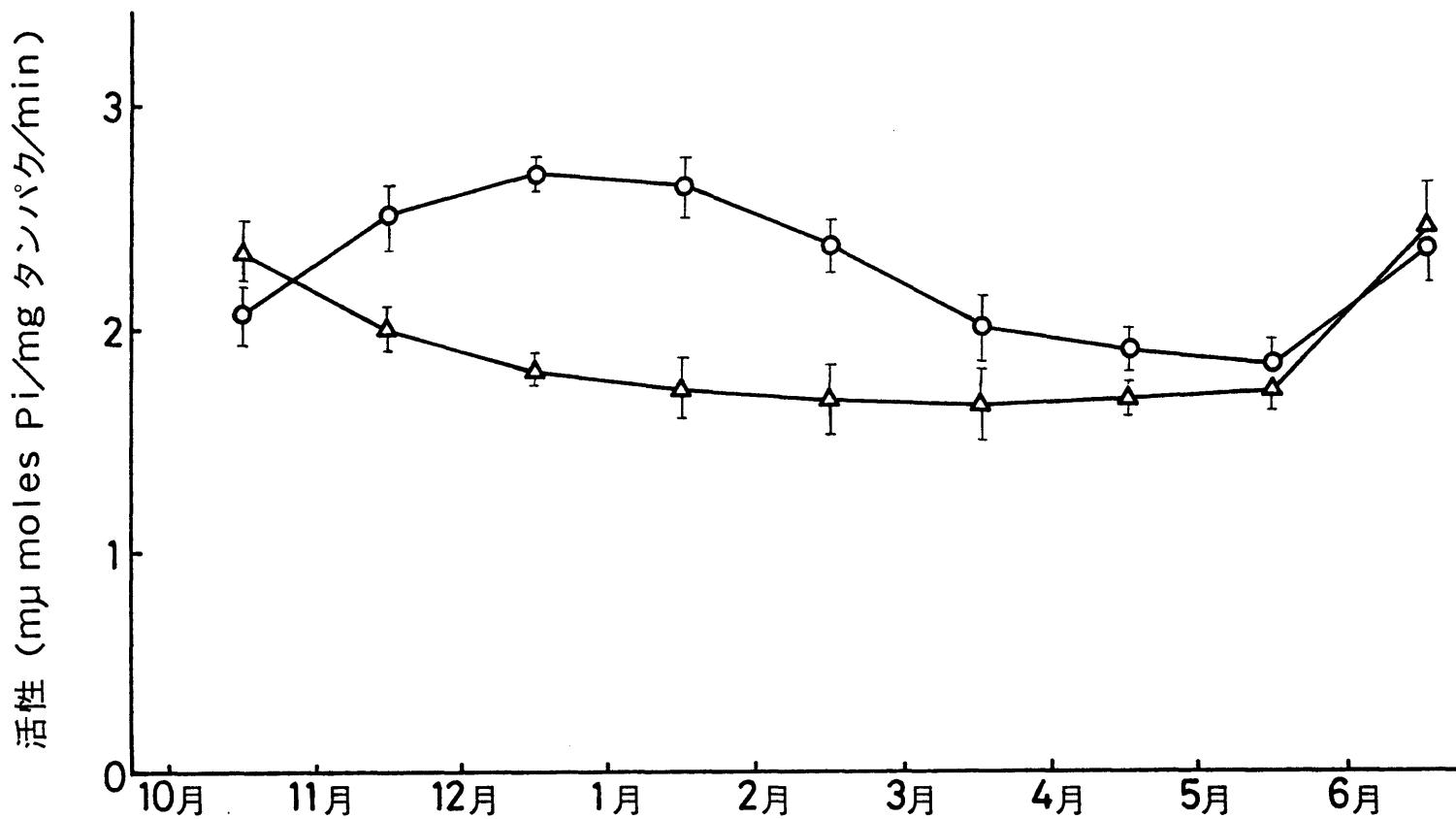
(1)G-6-P Dase (2) $\alpha$ -GP Dase (3)GA-3-P Dase  
(4)Lactate Dase (5)アルカリ性phosphatase

(6)酸性phosphatase

2回反復した平均値



第62図 越冬中の glycerol 代謝酵素活性の変動  
 (x) G-6-P Dase (○)  $\alpha$ -GP Dase (Δ) GA-3-P Dase (□) Lactate Dase  
 3回反復した平均値 I, 標準誤差



第63図 越冬中の phosphatase 活性の変動  
(△)アルカリ性 phosphatase (○)酸性 phosphatase  
3回反復の平均値 I, 標準誤差

第51表 非休眠終令幼虫の全虫体における glycerol 代謝酵素活性

活性 ( $m\mu$ moles/ $mg$ タンパク/min )				
G - 6 - P Dase	$\alpha$ -GP Dase	GA - 3 - P Dase	Lactate Dase	Phosphatase 酸性 アルカリ性
61.90	75.09	123.51	168.42	2.42 5.21

3回反復した平均値

第52表 越冬休眠幼虫と非休眠終令幼虫の各組織中の glycerol 代謝酵素活性

	酵 素	活性 ( $m\mu$ moles/mg タンパク/min)		
		消 化 管	脂 肪 体	残 り 組 織
休 眠	G - 6 -P Dase	51.84	820.57	70.11
	$\alpha$ -GP Dase	64.99	2620.18	156.00
	GA - 3 -P Dase	246.84	48.42	94.31
	Lactate Dase	21.09	11.98	59.96
	Phosphatase			
	酸 性	18.01	5.50	1.89
	アルカリ性	4.52	7.14	4.68
非 休 眠	G - 6 -P Dase	41.51	254.88	44.50
	$\alpha$ -GP Dase	50.57	411.09	93.80
	GA - 3 -P Dase	456.56	525.05	123.81
	Lactate Dase	71.21	22.07	201.67
	Phosphatase			
	酸 性	62.17	2.43	1.59
	アルカリ性	7.16	4.70	3.79

3回反復の平均値

Dase 活性が高く、脂肪体では  $\alpha$ -GP Dase と G-6-P Dase 活性が高かった。越冬休眠幼虫の脂肪体の  $\alpha$ -GP Dase 活性は非常に高く、lactate Dase 活性は低かった。これらの結果はコキブリの一種 Leucophaea maderae 成虫等 (Zebe and McShan, 1957), 蜜の幼虫 (Horie, 1967) で得られてゐる結果とよく一致していた。酸性 phosphatase 活性は脂肪体で、アルカリ性 phosphatase は消化管で高かった。ヨトウガの終令幼虫においても、アルカリ性 phosphatase 活性は、脂肪体にくらべ消化管ではるかに高かった (Kucera and Weiser, 1974)。蜜の幼虫の消化管においても、酸性 phosphatase 活性は非常に低く、アルカリ性 phosphatase 活性は高かった (堀江, 1955, 1958; Eguchi and Iwamoto, 1975)。

越冬休眠中のニカメイガ幼虫の glycogen 代謝系路は、解糖系以外にペントースリン酸回路による代謝されることを  $^{14}\text{C}$ -(1)-glucose,  $^{14}\text{C}$ -(6)-glucose を用いて明らかにしたが、本結果においても G-6-P Dase 活性の越冬中の変化からも確認された。すなわち、休眠に入るに従って G-

6-P Dase 活性が高くなり、ペントースリン酸回路が活性化されることが推定された。さらに、脂肪体で G-6-P Dase 活性が高いことから、glycogen の解糖系の中間物質である G-6-P は休眠中ペントースリン酸回路経由で、より多く代謝されると考えられた。

解糖系あるいはペントースリン酸回路を経由して生成された triose phosphates は、 $\alpha$ -GP Dase と GA-3-P Dase によってさらに代謝される（茅野、1980）。Chino (1960) は  $\alpha$ -GP Dase は蚕の休眠卵にも非休眠卵にもみられ、glycerol の生成中心はずしもこの酵素活性が高いうえ要かないことを報告している。Kageyama and Ohnishi (1971) も蚕の休眠卵で、glycerol 生成中  $\alpha$ -GP Dase 活性はほぼ一定であることを報告している。ニカメイカ越冬休眠幼虫においては、glycerol の生成時、特に脂肪体での  $\alpha$ -GP Dase 活性が非常に高く、glycerol の生成とよく一致していた。ところで、triose phosphates から  $\alpha$ -GP Dase による  $\alpha$ -GP への転移に NADH が補酵素として必要であり、ニカメイカ幼虫の場合

この反応に NADPH は補酵素としての役割を果さなかった。NADH は GA-3-P Dase によって GA-3-P から 1,3-diphosphoglycerate への転移の際に生成され、哺乳動物では lactate Dase により pyruvic acid から lactic acid への転移に用いられる (Chefurka, 1965a, b)。しかし、昆虫の飛翔筋では lactate Dase 活性が低く、 $\alpha$ -GP Dase 活性が高い (ゴキブリの一種 Leucophaea maderae 成虫等, Zebe and McShan, 1957 ; Sacktor, 1965, 1970) ことにより、lactic acid のかわりに  $\alpha$ -GP が優先的に生成されることを推定した (蚕の卵, 茅野, 1962 ; Chefurka, 1965a, b)。Lactate Dase と  $\alpha$ -GP Dase 活性の比はニカメイガ越冬休眠幼虫で 1 : 8, 非休眠終令幼虫では 2 : 1 であった。脂肪体で比較すると、この比は越冬休眠幼虫で 1 : 200 であった。ニカメイガ非休眠終令幼虫における嫌気的代謝の最終産物は、glycerol ではなく lactic acid であった (オズ章オ 1 節)。これらの結果は、Chino (1960) が蚕の休眠卵で推定した糖アルコールの蓄積のメカニズムをニカメイガ越冬休眠幼虫でもよく説明

でキタ。すなはち、ニカメイガ越冬休眠幼虫を低温に置くと、glycerol の生成が促進され、同時に pyruvic acid 含量も増加した(オ10表)。

しかし、glycerol 生成において  $\alpha$ -GP Dase 活性が高くなるほど NADH を必要とするし、この補酵素を供給するためには GA-3-P Dase 活性も高くなる必要がある。ところが、越冬休眠幼虫において、GA-3-P Dase 活性は低下し、 $\alpha$ -GP Dase 活性は GA-3-P Dase よりもはるかに活性が高く、 $\alpha$ -GP Dase が必要とする NADH をすべて GA-3-P Dase より供給することはできまいようにみえた。竹原(1963)は GA-3-P Dase や enolase の阻害剤である monoiodoacetic acid や NaF をイラガ前蛹に与えても、glycerol の生成に影響しなかったことから、 $\alpha$ -GP Dase が必要とする NADH は GA-3-P Dase から供給されるのではないことを報告している。ニカメイガ幼虫においても、休眠に入るに従って、活性化された  $\alpha$ -GP Dase が必要とする NADH は他の酵素からも供給されることが推定された。しかしながら、これらの点についてはさらに究明ある

必要があると考えられた。

Glycerol が生成されるためには,  $\alpha$ -GP Dase によ  
つて生成された  $\alpha$ -GP が, さらに phosphatase の作  
用を受ける必要がある。Phosphatase には酸性と  
アルカリ性が存在しているが, ニカメイでは  
越冬休眠中, 酸性 phosphatase 活性が増加し,  
アルカリ性 phosphatase 活性が低下した。この結  
果, glycerol の生成には酸性 phosphatase より重  
要な働きをしているものと推定された。蚕の  
休眠卵で  $\alpha$ -GP を基質とした時, アルカリ性  
phosphatase 活性が検出されなかつたことから,  
glycerol の生成には酸性 phosphatase が関与してい  
ると推察されている (Chino, 1961; Kageyama et al., 1973)  
。Tomizawa and Koike (1955)により, 蛹化前のニカメイ  
が幼虫ではアルカリ性 phosphatase 活性が高く,  
酸性 phosphatase 活性が低いことが報告されてい  
る。本結果においても glycerol の生成がみられ  
ない非休眠終令幼虫では, アルカリ性 phosphatase  
活性が高く酸性 phosphatase 活性は低かった。  
Glycerol の蓄積がみられる越冬休眠幼虫では逆

に酸性 phosphatase 活性が高かった。以上の結果から、glycerol の生成にはアルカリ性よりも酸性 phosphatase がより関与しているものと推定された。しかし、いずれにしても glycerol の蓄積がみられるが、非休眠終令幼虫でも、同様の phosphatase 活性が検出されたことから、glycerol の生成原因に、phosphatase の活性の変化のみからは説明できないものと考えられた。

#### 第4節 Glycerol 代謝酵素活性に対する JHA と $\beta$ -ecdysone の影響

Glycerol 含量に対する JHA と、 $\beta$ -ecdysone の影響については、すでに第3章第4、5節に述べた。さうに本章第2節で  $^{14}\text{C-glycerol}$  と  $^{14}\text{C-glucose}$  を用いて、JHA はわずかであるが glycerol の合成を促進し、 $\beta$ -ecdysone は glycerol の合成を抑制するとともに、glycerol の分解を促進する効果があることを明らかにした。しかしその構造に

については不明である。

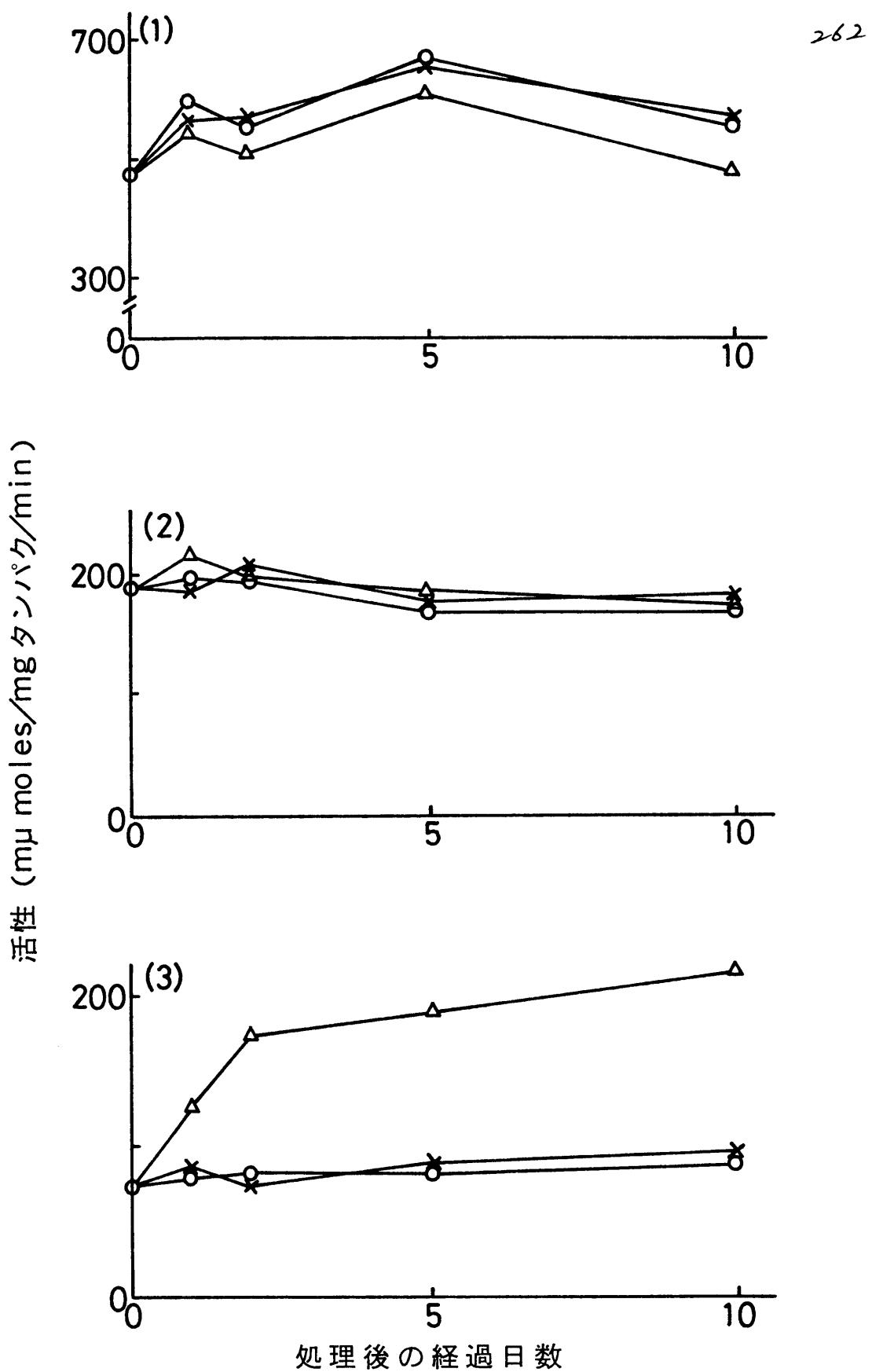
これらホルモンの glycerol の生成・分解の作用機構を明らかにするために、前節で明らかにした glycerol 代謝酵素活性に及ぼす影響を調査した。

### 材料および方法

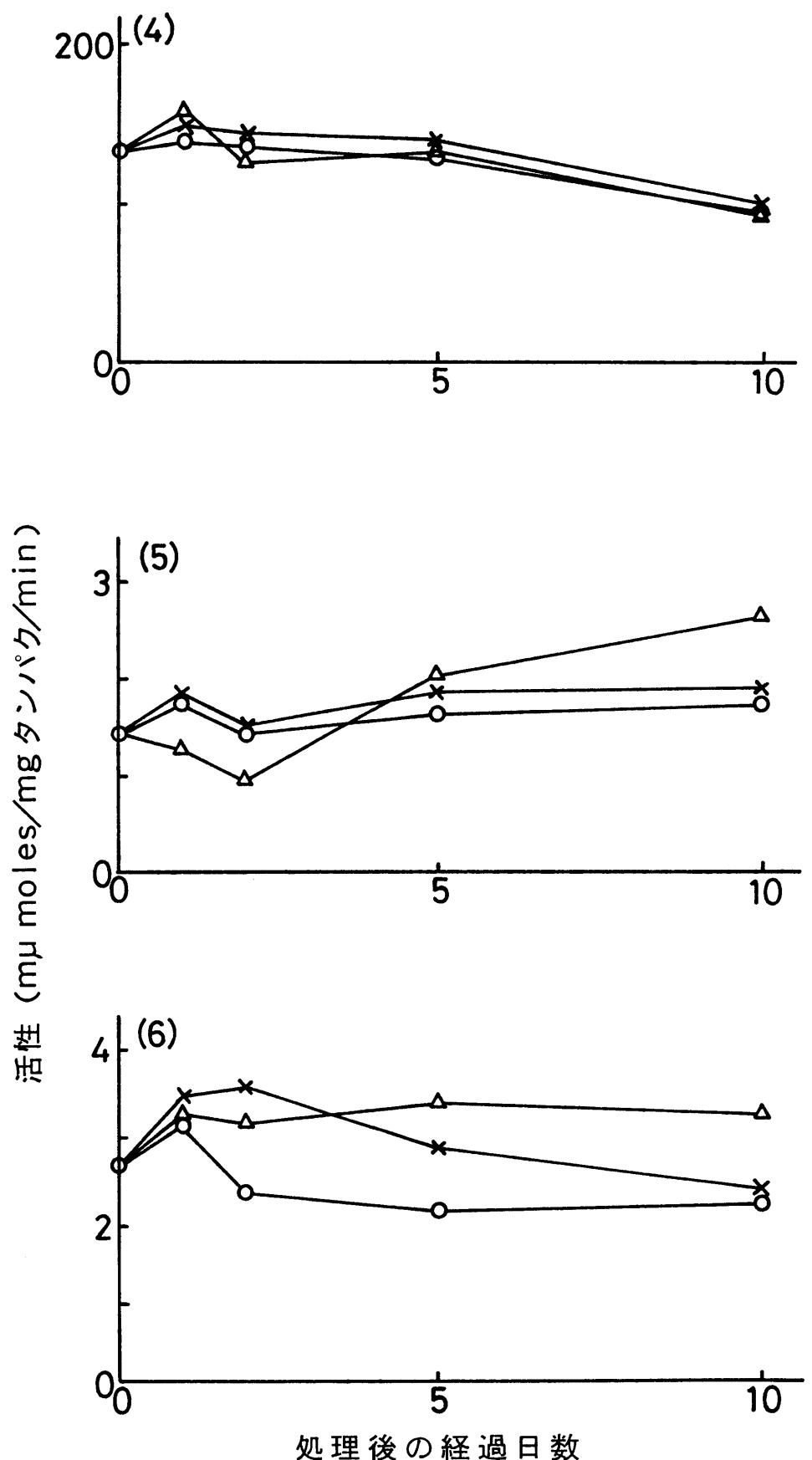
越冬幼虫にオ3章オ4、5節の方法に従つて s-JH は塗布処理し、 $\beta$ -ecdysone は注射した。処理後 25℃ に置き、一定時間後本章オ3節と同様の方法で全虫体の酵素活性を測定した。

### 結果および考察

s-JH 30  $\mu\text{g}$  と  $\beta$ -ecdysone 0.1  $\mu\text{g}$  をそれぞれ越冬休眠幼虫に処理し、1日、2日、5日、10日目に a-GP Dase, G-6-P Dase, GA-3-P Dase, lactate Dase, phosphatase 活性に及ぼす影響を調査した（オ64図）。G-6-P Dase と lactate Dase はこれらホルモンを処理して



第64図-1 越冬休眠幼虫のglycerol代謝酵素活性に及ぼすs-JHと  
 $\beta$ -ecdysoneの影響  
(1)  $\alpha$ -GP Dase (2)G-6-P Dase (3)GA-3-P Dase  
(○)対照 (×)s-JH 30 μg (△) $\beta$ -Ecdysone 0.1 μg  
2回反復の平均値



第64図-2 越冬休眠幼虫の glycerol 代謝酵素活性に及ぼす s-JH と  
 $\beta$ -ecdysone の影響

(4)Lactate Dase (5)アルカリ性 phosphatase  
(6)酸性 phosphatase

(○)対照 (×) s-JH 30μg (△)  $\beta$ -Ecdysone 0.1μg

2回反復の平均値

も、対照とほとんど活性は変わなかつた。s-JH 30  $\mu\text{g}$  処理では酸性 phosphatase を除いて対照とほとんど活性の差はみられなかつた。このことは、s-JH 30  $\mu\text{g}$  処理で glycerol 含量は対照とほとんど変わなかつた（オ15表）ことと一致していだ。すなわち、越冬休眠幼虫に s-JH 30  $\mu\text{g}$  処理した場合、これらの glycerol 代謝酵素活性にはほとんど影響を及ぼさなかつたことから、glycerol 含量も対照と変わなかつたものと推定された。しかし、JH-I 1  $\mu\text{g}$  を越冬休眠幼虫に処理すると、 $\alpha$ -GP Dase 活性の阻害がみられた。一方、後休眠幼虫に s-JH 100  $\mu\text{g}$  を処理すると  $\alpha$ -GP Dase の活性化がみられ、 $\alpha$ -GP Dase 活性の変動と glycerol 含量の変動はよく一致しているようにならへた。Glycerol の生成に関与しているとみられる酸性 phosphatase は、s-JH 30  $\mu\text{g}$  処理により活性化された。サシバエの一種 Stomoxyx calcitrans の蛹に JHA 処理すると、処理後24時間目アルカリ性 phosphatase 活性の低下がみられ、酸性 phosphatase 活性もわずかに低下した (Spates and Wright, 1975)。キクイム

シの一種 Dendroctonus pseudotsugae の成虫に JHA 处理すると、飛翔筋の酸性 phosphatase 活性が高くなつた (Sahota, 1975)。このようだに、JHA の phosphatase に対する作用としてまったく相反する結果が報告されてゐる。ニカメイカにおいても phosphatase 活性は JH-I の濃度によって相反する影響を受けた。すなわち、濃度の高い JH-I を処理すると phosphatase 活性が抑制され、低濃度の JH-I を処理すると活性化された。

$\beta$ -Ecdysone 0.1  $\mu$ g 処理により、 $\alpha$ -GP Dase 活性は低下する傾向がみられ、GA-3-P Dase 活性は処理後 2 日目には対照の約 2 倍に活性化された。しかし、 $\alpha$ -GP Dase 活性は抑制されても、GA-3-P Dase に比較してはるかに高い活性を保つていた。F-1,6-P に対する  $K_m$  値が低い GA-3-P Dase の活性が、 $\beta$ -ecdysone によつて約 2 倍に活性化されたことの方が、glycerol の合成にとってはるかに大きな意味を持つてくるものと推定された。この結果は、 $\beta$ -ecdysone 処理によつて、 $^{14}C$ -glucose から  $^{14}CO_2$  への代謝が高くなつたことからも推定

された。Phosphatase 活性に対する  $\beta$ -ecdysone の影響は酸性とアルカリ性で異なっていた（オ 64 図）。アルカリ性 phosphatase 活性は、最初  $\beta$ -ecdysone によって阻害されたが、その後活性化された。酸性 phosphatase 活性は  $\beta$ -ecdysone によって活性化された。しかし、 $\beta$ -ecdysone 处理により glycerol の減少がみられ（オ 38 図），glycerol の合成活性も低下した（オ 50 表）ことから、glycerol の生成には phosphatase よりも  $\alpha$ -GP Dase がより大きく関係しているものと考えられた。

Glycerol 量は glycerol 合成系と分解系の活性の差によってなる。 $\beta$ -Ecdysone は glycerol を分解する glycerol kinase を活性化させる作用が知られてる（セクロピア蚕の蛹，Wyatt, 1975）。ニカメイカにおいても  $\beta$ -ecdysone を投与することによって、 $^{14}\text{C-glycerol}$  の分解が速くなつた（オ 48 表）ことから、glycerol の分解活性は  $\beta$ -ecdysone によって活性化されると推察された。一方、高濃度の JHA を処理すると  $^{14}\text{C-glycerol}$  の分解が速くなり、低濃度では遅くなつた（オ 46, 48 表）

ことから、glycerol の分解活性は JHA の濃度によって変るものと考えられた。

以上の結果から、 $\beta$ -ecdysone は  $\alpha$ -GP Dase 活性を抑制するというよりも、GA-3-P Dase を活性化することにより、glycerol の合成系を抑制するようになされた。さらに、 $\beta$ -ecdysone は glycerol 分解系を活性化することにより、glycerol の分解を促進するようになされた。このような  $\beta$ -ecdysone の作用により、glycerol の減少がひき起されたものと推定された。一方、JH は  $\alpha$ -GP Dase に働き、その濃度によって glycerol の合成系と分解系への影響が異なった。

### 要 約

Glycerol の代謝系を明らかにする目的で、休眠、後休眠、非休眠各幼虫における  $^{14}\text{C}$ -glycerol の代謝を調査するとともに、glycerol 代謝に関する酵素、G-6-P Dase,  $\alpha$ -GP Dase, GA-3-P Dase, lactate

Dase の越冬中ににおける活性消長を調査し、  
glycerol の生成構造について明らかにした。さ  
らに、JHA と  $\beta$ -ecdysone の影響についてもあわせ  
て調査、検討した。

①  $^{14}\text{C}$ -Glycerol の代謝活性は温度と、ニカメイ  
が幼虫の生理状態（休眠、後休眠、非休眠）  
により大きく変化した。つまり、 $^{14}\text{C}$ -glycerol は  
非休眠終令幼虫で最も速く分解され、次いで  
後休眠幼虫であった。非休眠終令幼虫では  $^{14}\text{C}$   
-glycerol の大部分がエネルギー源として用いら  
れ、 $^{14}\text{CO}_2$  として呼出された。越冬休眠幼虫と  
後休眠幼虫では、非休眠幼虫にくらべ、 $^{14}\text{C}$ -  
glycerol から glycogen と trehalose への  $^{14}\text{C}$  の転移が多  
くなつた。

② 越冬休眠中でも温度が高いと、glycogen と  
glycerol の間で容易に相互転換があこるが、低  
温では glycerol の一方的合成があこり、分解は  
ほとんどあからくなつた。非休眠終令幼虫  
では低温でも  $^{14}\text{C}$ -glycerol の分解がみられた。

③  $^{14}\text{C}$ -Glycerol は脂質へも代謝されたことから

glycerol の前駆物質として、glycogen 以外に脂質も考えられた。しかし、脂質からの glycerol への転移は glycogen にくらべ非常に少ないと推定された。

④越冬休眠幼虫に  $\beta$ -ecdysone を処理すると、 $^{14}\text{C}$ -glycerol の分解が促進され、 $^{14}\text{CO}_2$  への代謝が多くなった。さらに、trehalose への  $^{14}\text{C}$  の転移も対照にくらべ多く、glycogen への転移は少なかつた。

⑤越冬休眠幼虫に  $\beta$ -ecdysone を処理すると、 $^{14}\text{C}$ -glucose から glycerol への  $^{14}\text{C}$  の転移が対照にくらべ抑制された。Glycerol の合成系は  $\beta$ -ecdysone によって抑制されることが考えられた。

⑥ JH は濃度によらず  $^{14}\text{C}$ -glycerol の代謝が異なつた。越冬休眠幼虫に低濃度の JH-I, あるいは farnesol のような JH 活性の弱い化合物を処理すると、 $^{14}\text{C}$ -glycerol の分解が抑制され、farnesol より JH 活性の高い CRD-9499 を処理すると、 $^{14}\text{C}$ -glycerol の分解が促進され、glycogen への  $^{14}\text{C}$  の転移が起つた。

⑦ Glycerol 代謝酵素の越冬中の活性消長を調査した。 $\alpha$ -GP Dase と G-6-P Dase 活性は越冬中増加し、lactate Dase と GA-3-P Dase 活性は減少した。休眠が破れると  $\alpha$ -GP Dase と G-6-P Dase 活性は減少し、lactate Dase と GA-3-P Dase 活性は増加した。すなはち、glycerol 含量の増減と  $\alpha$ -GP Dase の活性消長とよく一致していた。酸性 phosphatase 活性は越冬休眠中増加し、アルカリ性 phosphatase 活性は減少したことから、酸性 phosphatase が  $\alpha$ -GP から glycerol への転移により重要な働きをしていくよう推定された。

⑧ G-6-P Dase 活性の越冬中の消長は、第4章で示すに明らかにした越冬中のヤントースリン酸回路の活性消長をあらわしているようになる。

⑨ 脂肪体の  $\alpha$ -GP Dase 活性が越冬休眠中特に高く、glycerol の生成とよく一致していた。

⑩ 越冬休眠中 glycerol の生成に際して  $\alpha$ -GP Dase が必要とする NADH は GA-3-P Dase よりもむしろ他の酵素より供給されるようになっていた。しかし

これらの点についてはさらに検討を必要とすると考えられた。

(1) 越冬休眠中ににおける glycerol 代謝酵素活性に及ぼす  $\beta$ -ecdysone と JHA の影響について調査した。GA-3-P Dase, phosphatase,  $\alpha$ -GP Dase 活性が大きな影響を受けた。

(2)  $\beta$ -Ecdysone 处理によって glycerol 合成が減少した。これは、F-1,6-P に対する  $K_m$  値が低い GA-3-P Dase 活性が、 $\beta$ -ecdysone により非常に活性化されたことにより、glycogen の分解物は triose phosphate -  $\alpha$ -GP - glycerol の系よりも、triose phosphate - GA-3-P - pyruvic acid - TCA 回路により代謝されると推定された。

(3) JHA の濃度により glycerol 含量は変化した。JHA の濃度が低いと  $\alpha$ -GP Dase を活性化することにより、glycerol の合成が促進され、分解が抑制された。逆に、濃度が高くなると  $\alpha$ -GP Dase 活性が抑制されることにより、glycerol の生成が抑制され、分解が促進された。なお、JHA の glycerol 含量に及ぼす効果は、虫自身の持つ JH 量

により変るものと考えられた。

⑯  $\beta$ -Ecdysone は glycerol 合成を抑制するのみでなく、分解系の活性化によつても、glycerol 含量は減少するものと考えられた。

## 総合考察

ニカメイガの越冬休眠生理を研究する上で、先ずニカメイガの休眠現象についての個生態学的な特徴を知る必要がある。ニカメイガは冬期終令幼虫で越冬することが知られてゐる。しかし、冬期越冬中ににおける休眠開始時期と、休眠覚醒時期についてははつきりとしていなかつた。冬期毎月岡山県倉敷市にある当研究所の圃場より越冬中の幼虫を捕めらるゝ採集し、非休眠化条件（ $25^{\circ}\text{C}$ , 16L, 8D）に移し、蛹化率より休眠開始と休眠覚醒時期を推定した。冬期越冬幼虫をこの非休眠化条件に移すと、いずれの時期の越冬幼虫にも蛹化する個体がみられた。しかし、11月下旬から1月下旬の間に野外より採集した越冬幼虫は、他の時期に採集した越冬幼虫とくらべ蛹化率が低かつた。このことから、倉敷地方ではニカメイガは11月中～下旬から2月上～中旬の間休眠状態にあると推定された。ところ

で、現在のところ前休眠期、休眠期、後休眠期の明瞭な区別つかないことから、一応11月中旬以前の越冬幼虫を前休眠期、2月中旬以後の越冬幼虫を後休眠期の幼虫とした。深谷(1948)も倉敷産ニカメイガで2月上旬ごろ休眠か破れることを推定しており、本結果とも一致していた。

岡山県において、ニカメイガ成虫は倉敷地方のような県南部で年2回発生するが、県北部の中国脊梁山脈、蒜山京地帯では年1回発生することが知られていた(深谷, 1950; 石倉, 1955)が、その原因については不明である。そこで年2回発生型と1回発生型ニカメイガを比較することにより、年1回発生となる原因を調査した。岡山県における年1回発生型ニカメイガは秋、休眠に入る時期か2回発生型にくらべ早く、11月にはすでに休眠に入っていた。一方、休眠が破れた後の後休眠間发育は両発生型で差がみられなかった。しかし、年1回発生地帯での春から夏にかけて

の低温(オ2表)により、年2回発生地帯にくらべ発蛾が1ヶ月以上遅れ、7月下旬から8月上旬であった。年1回発生型の夏世代の幼虫の発育は良いものの、2回発生にくらべ臨界日長が長かった。オ53表は岡山における日の出と日没の時刻を示した。8月29日で天文日の出から日没までの可照時間は13時間2分である。高須(1977)によると、晴天の日の9月4日～9月5日の天文日の出の明るさは270 lux、日没の明るさは250 luxである。一般に昆虫の幼虫が感じる照度の限界はほぼ1 luxとみなされている(タニレフスキイ、1961)。先の高須(1977)によると、常用薄明の始りは1.0-1.7 luxであり、終りは0.8-1.6 luxであるといふ。9月4日～9月5日の常用薄明の始めは天文日の出より21分早く、終りは日没より26分遅く、日長時間は13時間40分である。この常用薄明時間を8月29日の天文日の出と日没にあてはめて計算してみると、日長時間は13時間49分であった。日の出と日没は主に緯度に影響

第 53 表 岡山県における日の出と日没の時間

	天 文 時		可 照 時 間
	日 の 出	日 没	
8月29日	5時34分	18時36分	13時間 2分
9月 8日	5時41分	18時23分	12時間 42分
9月18日	5時48分	18時 8分	12時間 20分
9月28日	5時56分	17時54分	11時間 58分
10月28日	6時20分	17時16分	10時間 54分

(理科年表による)

され、蒜山原は岡山・倉敷にくらべ北方に位置し、日長時間は蒜山原の方が長くなるが、その差は5分程度である。一方、蒜山原は周囲が山に囲まれ、日の出、日没の時間は修正する必要があり、仰角 $1^{\circ}$ で約5分日の出は遅く、日没は早くなる（高須、1977）ことから、実際の蒜山原の日長時間は理論値よりも短くなるはずである。蒜山原地方の8月の最高平均気温は $28.5^{\circ}\text{C}$ であり（オニ表）、蒜山原産年1回発生型ニカメイカは、 $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$  14時間照明で才へて休眠幼虫になることから、この地方でのニカメイカ幼虫は、温度よりも日長に先ず影響を受け、秋早く休眠に入ることによリ年1回発生となるものと推定された。岸野（1970a,b）も秋田県で、同一緯度上の年1回発生と2回発生のニカメイカを比較し、年1回発生のニカメイカは後休眠間発育が遅く、休眠誘起の臨界日長が年2回発生型にくらべ30分長いことを明らかにしており、岡山県で得られたニカメイカの発生型成立機構と

よく似ていた。しかし、岡山県での年1回発生型ニカメイガ幼虫の後休眠間発育は、秋田県のニカメイガ幼虫（岸野，1970a,b）と異なって年2回発生型と変わなかつた。

ニカメイガ幼虫の越冬場所は、平担地ではわら内越冬であり、山間部では株内越冬歩合が多い（中川，1904；野津，1943；深名，1950）。薪山原地方では大部分が刈り株内越冬であり、岡山県南部の平担地ではわら内越冬である。ニカメイガの幼虫が冬期さらされる環境温度は、越冬場所によって異なるか、株内、わら内の温度とも外気温に相関していいのか、最低温度は外気温ほど低くならない（深名，1950）。本実験においては24時間凍結させた結果であるが、ニカメイガ休眠幼虫では-20℃までは耐えることができた。この結果から、ニカメイガ越冬休眠幼虫は冬期のかなりの低温にも耐えて生存できるものと推察された。

水分含量及び体液中の遊離アミノ酸含量は、越冬中ほぼ一定であり、耐凍性や耐寒性の

増加と、直接的な相関はみられなかつた。

Glycerol 含量の変化と耐凍性との間には、他の昆虫でよく知られている (Salt, 1961; Asahina, 1969) ようによく一致しており、休眠期に耐凍性が高くなるのは、glycerol が体液中や組織に存在するためと考えられた (Asahina, 1969)。このように耐凍性と glycerol 含量はよく一致したが、イラカと同様 (竹原・朝比奈, 1961), ニカメイが越冬幼虫においても、体液中に glycerol が 2% 以上蓄積されても、耐凍性に変化がみられなくなつた。すなわち、glycerol が体液中に 2% 程度になると、ニカメイが休眠幼虫の耐凍性はほぼ一定になるものと考えられた。Glycerol を蒸溜水で稀釀し、その凍結を観察したところ、2% 液で -5°C で凍結がみられた。-10°C では glycerol 20% 液でも凍結がみられた。この際 glycerol が氷の上に濃縮されるのが観察された。Glycerol は Asahina (1969), Baust (1973) が指摘しているように、凍結が始まると濃縮された glycerol が細胞の周りに集まり、組織細胞の凍結脱水

を阻止するものと考えられる。Glycerol 以外に休眠中増加がみられる体液 trehalose も一部低温に対する耐性に関与している（丹野, 1965）可能性がある。

昆虫の glycerol 生成に及ぼす要因として、これまで嫌気 (Sømme, 1966, 1967; Kageyama and Ohnishi, 1973; Meyer, 1977, 1978; Sonobe et al., 1979; Tsumuki, 1980) と低温 (Asahina, 1969; 積木・兼久, 1980a) について明らかにされている。ニカメイカが非休眠幼虫では、蚕の非休眠卵 (Kageyama and Ohnishi, 1973) と異なり、単に嫌気条件に移しても、glycerol の生成は認められなかつた。ニカメイカが幼虫では、glycerol の生成時の酸素消費量の低下はわずかであつたことから、%以下に呼吸量が低下する蚕の休眠卵 (Chino, 1958) とは、glycerol の生成時の条件が異なつてゐることが推定された。低温については休眠、非休眠にかかわらず、低温に接触させることにより glycerol の生成がみられることが知られてゐる (Asahina, 1969)。ニカメイカにおいても 25°C 飼育の短日休眠と長日

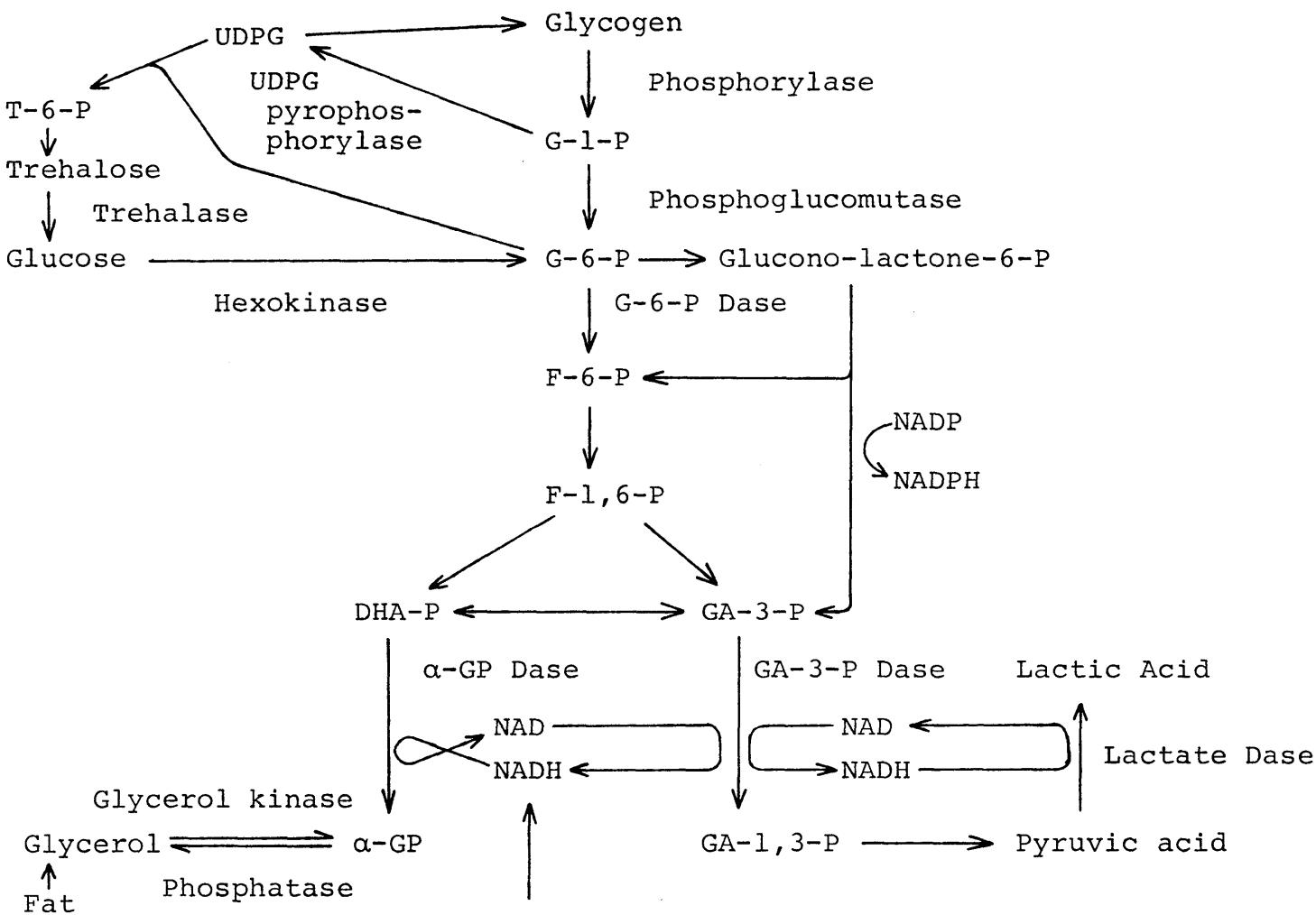
非休眠終令幼虫で、休眠・非休眠にかかれり  
す。低温、特に $-10^{\circ}\text{C}$ で glycerol の生成が促進さ  
れた。しかし、明らかに短日休眠幼虫の方が  
低温での glycerol の蓄積は多かった。短日条件  
で誘起された休眠が低温接触することにより  
破れると、そのまま低温に保存しても glycerol は減少した。

また、結紮実験、ホルモン実験、内分泌器  
官の移植実験からも、glycerol の生成・分解に  
は低温以外に、ホルモンが関与していること  
が本実験ではじめて明らかにされた。ニカメ  
イガでは休眠中アラタ体活性が高く (Fukaya and  
Mitsuhashi, 1957, 1958 ; Yagi and Fukaya, 1974), 体内の JH  
titre が高レベルで維持され (Yagi and Fukaya, 1974)  
, さらに本実験より低温に接触することによ  
り, glycerol の生成が促進されることが推定さ  
れた。 $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 短日条件下ニカメイガを飼育  
すると休眠に入り (岸野, 1968), JH titre が高  
い (Yagi and Fukaya, 1974) にもかかわらず, glycerol  
の生成がみられなかった。この結果から、ニ

カメイガにおいては、glycerol の生成に低温が必要であることが推定された。一方、アラタ体活性が低下し、前胸腺活性が活性化し (Fukaya and Mitsuhashi, 1957; Yagi and Fukaya, 1974; 八木, 1975)，さらに温度が上昇することにより休眠が破れ、glycerol の減少が起るものと推定された。 $\beta$ -Ecdysone の glycerol の分解に対する作用は、低温で止めなくなることから、glycerol の分解には温度の上昇が必要と考えられた。

以上の結果から、ニカメイガにおける glycerol の生成分解には、嫌気よりも温度と JH や ecdysoneなどのホルモンが強く関与していることが明らかになった。

Glycerol の主要な前駆物質は、ニカメイガ越冬幼虫においても、他の昆虫と同様 (茅野, 1962, 1980; Wyatt, 1967, 1975)，glycogen と考えられ、glycerol の生成機構解明のためにには、glycogen から glycerol への転換系を明らかにする必要がある。オ65図はニカメイガ越冬休眠幼虫における glycerol の生成系路予想図である。



第65図 Glycerol生成経路予想図

ニカメイカ越冬幼虫における glycogen の分解の律速酵素は phosphorylase であり、この酵素活性の変化によって、glycogen の分解は制御されていふと考えられた。Phosphorylase によって分解された glycogen は、解糖系とペントースリン酸回路を経由して triose phosphates に代謝され、triophosphates はさらに  $\alpha$ -GP Dase と GA-3-P Dase により代謝されると考えられた。蚕の休眠卵でも非休眠卵でも、糖アルコール生成酵素が存在し、糖アルコール生成時にこれらの酵素が特別高くなることがないことが観察されていた (Chino, 1960, 1961 ; Kageyama and Ohnishi, 1971) が、その後 phosphorylase (Yamashita et al., 1975), NAD - sorbitol dehydrogenase (Yaginuma and Yamashita, 1979) が糖アルコール生成の律速酵素であることが示された。一方、ニカメイカ幼虫においては、glycerol の生成時、 $\alpha$ -GP Dase 活性が高くなり (特に、脂肪体の  $\alpha$ -GP Dase 活性が高)、GA-3-P Dase や  $\alpha$ -lactate Dase 活性にくらべてはるかに高いことから、triophosphate は活性化された  $\alpha$ -GP Dase の作用を受け、 $\alpha$ -

GP に転移され、さらに phosphatase の作用を受け、glycerol が生成されることが推定された。一方、非休眠幼虫では phosphorylase 活性は高いけれど、 $\alpha$ -GP Dase 活性が低かった。また、F-1,6-P に対する  $K_m$  値は  $\alpha$ -GP Dase にくらべ GA-3-P Dase は低かったことから、非休眠幼虫では triose phosphate から  $\alpha$ -GP への代謝よりも、triode phosphate - GA-3-P - pyruvic acid の系による代謝されるものと考えられた。事実、ニカメイガ非休眠終令幼虫を嫌気状態に置くと、越冬休眠幼虫と異なって、lactic acid が多量に生成された。ニカメイガ幼虫において大部分が筋肉や表皮からなるその他残り組織における  $\alpha$ -GP Dase 活性はそれほど高くなく、飛翔筋のような特別なエネルギー生産を必要とする  $\alpha$ -GP サイクルでの  $\alpha$ -GP の酸化 (Sacktor, 1965, 1970) は低いようと考えられた。すなわち、ニカメイガ幼虫においては休眠に入ると、 $\alpha$ -GP Dase 活性が非常に活性化されることにより、glycogen の代謝物が glycerol へ優先的に転移されると考えられた。

茅野(1980)は一連の研究から、GA-3-P の脱水素反応で生じた NADH が pyruvic acid から lactic acid への還元に使用されるかわりに、DHA-P を還元し、 $\alpha$ -GP を生成するのに用いられることを提唱した。ニカメイガ越冬休眠幼虫において、低温に保存すると glycerol の蓄積が高くなり、同時に pyruvic acid 含量も多くなった。越冬休眠中 lactate Dase 活性が非常に低く、低温での lactic acid 含量は低かったことから、DHA-P から  $\alpha$ -GP の生成に要する NADH は GA-3-P Dase から供給されることが推定された。しかし、越冬休眠中  $\alpha$ -GP Dase 活性が GA-3-P Dase 活性にくらべ非常に高く、越冬休眠中でも酸素消費量の低下はわざかであったことから、第5章第3節に述べたように、 $\alpha$ -GP Dase が必要とある NADH は GA-3-P Dase 以外の酵素からも供給されることが考えられた。

Glycerol の生成・分解には、JH や ecdysone によって影響されることを明らかにしたが、さらにこれらのホルモンによる glycerol の生成・分

解に及ぼす作用機構について考察した。

ニカメイガ越冬幼虫に JH-I や JHA を投与するとことにより、glycerol 含量が増加した。しかし、高濃度の JH-I や JHA を投与すると、逆に glycerol 含量は対照とくらべて低下した。越冬休眠幼虫に farnesol を処理すると、<sup>14</sup>C-glucose から glycerol への <sup>14</sup>C の転移が多くなり、<sup>14</sup>C-glycerol の分解は遅くなる傾向がみられた。一方、farnesol より JH 活性の強い CRD-9499 を処理すると <sup>14</sup>C-glucose から glycerol への <sup>14</sup>C の転移が少く、<sup>14</sup>C-glycerol の分解が高くなる傾向にあった。すなわち、低濃度のあるいは JH 活性の弱い JHA をニカメイガ越冬休眠幼虫に処理すると、glycerol の生成系が活性化され、分解系が抑制されたが、高濃度を処理した場合はその逆であった。JH-I あるいは JHA による glycerol の生成の変化は  $\alpha$ -GP Dase 活性の変化とよく一致していったようにみえた。すなわち、ニカメイガ幼虫において、glycerol の生成に関与している酵素のうちで最も重要な酵素の一つとして推定した  $\alpha$ -GP Dase が JH-I あるいは

は JHA で活性化され、glycerol の生成促進がひき起され、JH-I あるいは JHA がさらに濃・濃度で処理されると、この酵素活性が阻害されたことから、glycerol の生成も低下するものと考えられた。しかし、ニカメイが越冬休眠幼虫にはニカメイが自身の JH が高濃度に存在しており (Yagi and Fukaya, 1974)、それに外部から投与された量が付加されて glycerol 代謝に影響してくる事を考えておく必要がある。

越冬休眠幼虫に  $\beta$ -ecdysone を投与すると、phosphorylase の活性化がひき起された。その結果、glycogen の分解がひき起されるものと考えられた。さらに、 $\beta$ -ecdysone 投与により glycerol の分解促進もみられた。 $\beta$ -Ecdysone によって、 $\alpha$ -GP Dase の活性抑制というよりも、GA-3-P Dase の活性化により glycerol の生成を低下させると考えられた。事実、ニカメイが越冬休眠幼虫に  $\beta$ -ecdysone を投与すると  $^{14}C$ -glucose からの glycerol への  $^{14}C$  の転移が減少し、 $^{14}CO_2$  への呼出が多かったことからも、glycerol 含量の減少は glycerol の生成活性の低

下が 1 の原因と考えられた。スズメガの一種 Manduca sexta に  $\beta$ -ecdysone を投与すると, glycerol kinase が活性化され, glycerol 含量が低下することが報告されている (Yamashita and Wyatt, Wyatt, 1975)。ニカメイカ幼虫においても  $\beta$ -ecdysone を注射すると, その濃度に比例して glycerol が減少した。その原因は,  $\beta$ -ecdysone 投与により glycerol の生成が抑制されるだけでなく, 分解も促進されるこ<sup>と</sup>によつているものと推定された。 $\beta$ -Ecdysone 0.1  $\mu$ g をニカメイカ越冬休眠幼虫に注射すると, 短時間のうちに新しい表皮が形成された。また, glycogen と, glycerol の代謝に及ぼす  $\beta$ -ecdysone の影響を調査した結果から, glycogen と glycerol の一部は chitin の合成に用いられるると推定された。またさらに,  $\beta$ -ecdysone を注射すると  $^{14}\text{CO}_2$  への代謝が多くなつたことから glycogen と glycerol の一部はエネルギー源として用いられたものと推定された。これらの結果から, JH と ecdysone は glycerol の生成系と分解系に作用するこ<sup>と</sup>により, glycerol の蓄積に影響を及ぼし

ていいことが考えられた。

以上本実験で得られた知見を簡単に下記にまとめた。

ニカメイカ幼虫の越冬時の野外での休眠開始時期と休眠覚醒時期を推定し、さらに岡山県における年1回発生現象の原因を明らかにした。

越冬休眠幼虫は低温に対する耐性が非常に高かった。一方、越冬休眠幼虫の体液中には多量の glycerol の蓄積がみられ、glycerol 含量の変化と耐凍性の変化はよく一致していた。

Glycerol の生成・分解は休眠現象とよく一致しており、そして温度とホルモン (JH と ecdysone) によって影響されることを明らかにした。すなわち、glycerol の生成は低温と JH により促進され、その分解は高温と ecdysone により促進された。

Glycogen から glycerol への転換系で、glycogen の分解系の律速酵素は phosphorylase であり、この酵素によつて分解された glycogen はさらに  $\alpha$ -GP Dase

の高活性化と、GA-3-P Dase と lactate Dase の低活性により、優先的に  $\alpha$ -GP へ転換され、glycerol の生成が起ることを推定し、蚕の休眠卵における glycerol 生成時の酵素活性の変動とは異なりることを明らかにした。

さらに、glycerol の生成・分解に及ぼすホルモンの作用機構を解明するため、glycogen - glycerol 代謝酵素活性の面から調査した。JH は主に  $\alpha$ -GP Dase 活性に影響を及ぼし、ecdysone は  $\alpha$ -GP Dase 活性を抑制するというよりも GA-3-P Dase を活性化することにより、glycerol の生成・分解に作用することが推定された。

## 要 約

ニカメイカは稻作の最も主要な害虫の一つとしてよく知られ、これまで多數の研究報告がある。しかし、この害虫の越冬時の生理的な変化についての報告は少ない。

本研究はニカメイカの越冬時の生理的な変化を明らかにするため、先にこの害虫の越冬時の休眠様相を調査し、冬期の耐凍性の獲得と glycerol の関係、さらに休眠に及ぼす外界条件の変化、これによってホルモン分泌系が影響を受け、その結果生ずる glycerol の生成につながる各種炭水化物代謝について研究したものである。

### 1. ニカメイカの休眠

ニカメイカ越冬幼虫を冬期毎月  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 16L, 8D の非休眠化条件で加温飼育し、蛹化率の変化から野外での休眠開始と休眠覚醒時期を求めた。岡山県倉敷地方では冬期野外で 11 月下旬から休眠に入り、2 月上旬に休眠か

覚醒するものと考えられた。

・中国背梁山脈蒜山原地方ではニカメイカは年1回発生であり、この越冬幼虫は11月初めにはすでに休眠に入り、加温飼育しても1頭も蛹化がみられず、倉敷地方の年2回発生にくらべ秋早く休眠に入るものを推定された。

・春休眠が破れた後休眠期幼虫を加温飼育した結果と、自然条件での発蛾調査結果から、年1・2回発生型で蛹化前期間に差がみられないなかった。しかし、年1回発生地帯では年2回発生地帯にくらべ春から夏の気温が低く、実際の成虫の発蛾は7月下旬から8月上旬であった。倉敷地方での年2回発生型は6月中旬と8月中旬に発蛾の最盛期がある。

・夏世代の幼虫の発育速度は年1回発生型の方が速かった。

・臨界日長は年2回発生にくらべ1回発生型幼虫の方がより長日側にあつた。年1回発生型幼虫を14時間照明下で飼育すると休眠幼

虫となつた。

・以上の結果から年1回発生型ニカメイカは、オ1世代成虫の発蛾日が春から夏にかけての低温で遅れ、幼虫の発育が良いものの臨界日長がより長日であるため、8月の下旬の夜の時間によってすでに休眠が誘起され、休眠幼虫となり年1回しか発生しないものと考えられた。

## 2. 耐凍性と凍結保護物質との関係

・ニカメイカ幼虫の越冬時の耐凍性は、休眠に入るに従って高くなり、休眠が破れるに従って低下した。越冬休眠幼虫では $-20^{\circ}\text{C}$ の低温に耐えることができたが、 $-30^{\circ}\text{C}$ ではすべて死んでいた。越冬休眠幼虫の過冷却点は $-15^{\circ}\text{C}$ 附近にあった。

・冬期休眠幼虫の体内には多量の glycerol の蓄積がみられた。特に、体液中に多かった。体液の glycerol の蓄積が冬期の耐凍性の増大に関与しているものと推定された。しかし、体液中の glycerol が 2% 以上になると耐凍性は一

定になつた。Sorbitol は検出されなかつた。

・水分含量、体液中の遊離アミノ酸含量は冬期ほぼ一定であり、耐凍性の増加とは直接関係かな」と考えられた。

・体液中の trehalose も glycerol にくらべれば少しかであるが冬期増加したことから、血糖も耐凍性の増加に関与していゝ可能性を考えられた。

・Glycerol が蓄積するにつれて、脂肪体の glycogen が減少し、glycerol の主要な前駆物質は glycogen と考えられた。

### 3. Glycerol の生成に及ぼす要因

・非休眠終令幼虫を種々の嫌気状態に置いても、glycerol の生成はみられなかつた。越冬休眠幼虫では空気と窒素の比が 4 : 1 の組成のガスの中に保存した時最も glycerol の蓄積がみられ、窒素の比が高くなるにつれて glycerol の蓄積は抑制された。ニカメイカの場合、glycerol の生成がみられる前休眠期から後休眠期にかけて、酸素消費量はわずかしか低下か

かけられか、他の昆虫と異なつていた。

・ 25±2°C 短日条件(10L, 14D)と長日条件(16L, 8D)で飼育された終令幼虫を低温に保存し、glycerol の蓄積量を比較した。短日条件飼育の終令幼虫の方かけるかに多くの glycerol の蓄積がみられた。しかし、短日で誘起された休眠が低温で破れると、低温に保存しているにもかかわらず glycerol の減少が起つた。

・ 越冬休眠幼虫と後休眠幼虫の頭一胸部間、胸一腹部間を結禁し、glycerol 含量に及ぼす結禁時期の影響を調査した。前休眠期あるいは休眠期に越冬幼虫を結禁すると、休眠が破れても遊離腹部には多量の glycerol が存在していた。一方、休眠が破れた後の後休眠期にあるいはゆるく結禁した場合は、無結禁の対照と同様 glycerol の消失がみられた。

・ JH-I や各種の JHA を塗布処理すると glycerol 含量は増加した。しかし、濃度の高い JH-I あるいは JHA を処理すると対照にくらべ glycerol の含量が抑制された。

・越冬休眠幼虫に $\beta$ -ecdysoneを注射した後、25°Cあるいは15°Cに保有すると、glycerolの消失がおこった。しかし、4°Cのような低温では対照と変り、 $\beta$ -ecdysoneの効果がみられなかった。

・Glycerolの生成に及ぼす内分泌器官の影響について予備的調査を行なった。休眠幼虫の脳-アラタ体の連合体一対を遊離腹部に移植すると、glycerolの蓄積がみられた。

#### 4. Glycogen代謝

・ $^{14}\text{C}$ -GlucoseとUDP- $^{14}\text{C}$ -Gを用いて越冬休眠幼虫と後休眠幼虫におけるglycogen代謝を比較した。  
・休眠幼虫では $^{14}\text{C}$ 化合物は glycerol と glycogen が多くとり込まれ、後休眠幼虫では trehalose に多くとり込まれ、glycerolには少なかつた。非休眠終食幼虫では glycerolへの $^{14}\text{C}$ のとり込みはみられなかつた。

・二力×1力幼虫には他の昆虫と同様、hexokinase, phosphoglucomutase, uridine-5'-diphosphoglucose pyrophosphorylase, phosphorylase, glycogen synthetase, trehalase が各組織に局在し、glycogen や trehalose 量は、組織

中のこれらの酵素により制御されているものと考えられた。6種の酵素のうち、phosphorylase と glycogen synthetase 活性が最も低く、しかも越冬中の glycogen 量の消長とよく一致していた。この結果から、両酵素が glycogen 代謝の律速酵素であることが推定された。

• JH と  $\beta$ -ecdysone の glycogen 代謝酵素活性に及ぼす影響を調査した。JH-I あるいは JHA を越冬休眠幼虫に処理しても対照とほとんど変化なかった。一方、 $\beta$ -ecdysone は phosphorylase を活性化し、この酵素の活性化により、 $\beta$ -ecdysone 処理越冬休眠幼虫で glycogen 含量が減少したものと推定された。

• 越冬休眠幼虫により、 $^{14}\text{C}-(1)\text{-glucose}$  から  $^{14}\text{CO}_2$  へ呼出される割合は  $^{14}\text{C}-(6)\text{-glucose}$  にくらべ多かった。のことから、休眠中ペントースリシン酸回路が活性化されていくことが明らかになった。Glucose-6-phosphate dehydrogenase 活性が越冬休眠中高くなることからも、ペントースリシン酸回路が休眠中の glycogen 代謝に重要な働きを

していることが推定された。なお、解糖系の活性は休眠幼虫と非休眠終令幼虫で変わらなかつた。

### 5. Glycerol 代謝

• Glycerol の合成が盛んな越冬休眠中でも、温度が高いと  $^{14}\text{C}$ -glycerol から glycogen への  $^{14}\text{C}$  の転移がかなり多く認められた。このことから、温度が高いと glycerol と glycogen の相互転換が、越冬休眠幼虫でも比較的容易に行なわれていることが推定された。しかし、低温では glycogen から glycerol への一方的な転移が起るものと推定された。

• 越冬休眠幼虫において  $^{14}\text{C}$ -glycerol は  $\beta$ -ecdysone 处理により分解が促進され、 $^{14}\text{CO}_2$  に代謝される量が多くなつた。一方、JHA 处理では  $^{14}\text{C}$ -glycerol の分解がわずかに対照にくらべ抑制されたが、高濃度の JHA 处理では逆に分解が促進され、glycogen に再合成された。

• 越冬中の glycerol 代謝酵素、 $\alpha$ -glycerophosphate dehydrogenase, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, lactate

dehydrogenase, phosphatase の活性消長を調査した。Glycogen 代謝酵素と同様、これらの酵素は各組織に局在し、glycerol の代謝に関与しているものと推定された。越冬中前休眠期から休眠期にかけて  $\alpha$ -glycerophosphate dehydrogenase と酸性 phosphatase 活性が活性化し、glycerol の生成と一致していた。一方、glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, lactate dehydrogenase, アルカリ性 phosphatase 活性は低下した。

- JHA は  $\alpha$ -glycerophosphate dehydrogenase を活性化し、glycerol の生成を促進した。しかし、濃度の高い JHA によりこの酵素活性は抑制され、その結果 glycerol 含量は低下した。
- $\beta$ -Ecdysone は  $\alpha$ -glycerophosphate dehydrogenase 活性を抑制するというよりは、むしろ glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase を活性化することにより、glycerol の生成を抑制すると考えられた。

## 引用文献

Aboul-Nasr, A. E., E. G. Isaac and S. El-Gogary (1976) Oxygen consumption by larvae and pupae of Spodoptera littoralis (Boisd) reared on different host plants. Z. ang. Ent. 81: 78-85.

Aoki, K. (1962) Protective action of the polyols against freezing injury in the silkworm egg. Sci. Rep. Tohoku. Univ. Ser. IV 28: 29-36.

朝比奈英三 (1959) V. 越冬昆虫の耐寒性. 実験形態学新説  
(竹脇・針塚・深谷編) 養賢堂 P.P. 92—113.

Asahina, E. (1969) Frost resistances in insects. Adv. Insect Physiol. 6: 1-49.

朝比奈英三・丹野皓三 (1967) アワメイガ幼虫の凍り方.  
低温科学生物学編 25: 105-110.

朝比奈英三・青木廉・條崎寿太郎 (1953) 越冬イラガ幼虫の耐凍性  
構造. 昆虫 20: 11-17.

Ashida, M. and G. R. Wyatt (1979) Properties and activation of phosphorylase kinase from silkmoth fat body. Insect Biochem. 9: 403-409.

Bade, M. L. and G. R. Wyatt (1962) Metabolic conversions during pupation of the cecropia silkworm. I. Deposition and utilization of nutrient reserves. Biochem. J. 83: 470-478.

Barker, S. B. and W. H. Summerson (1941) The colorimetric determination of lactic acid in biological materials. J. Biol. Chem. 138: 535-554.

Baust, J. G. (1973) Mechanisms of cryoprotection in freezing tolerant animal systems. Cryobiology 10: 197-205.

- Baust, J. G. and L. K. Miller (1971) Variations in glycerol content and its influence on cold hardiness in the Alaskan carabid beetle, Pterostichus brevicornis. J. Insect Physiol. 16: 979-990.
- Baust, J. G. and L. K. Miller (1972) Influence of low temperature acclimation on cold hardiness in the beetle, Pterostichus brevicornis. J. Insect Physiol. 18: 1935-1947.
- Baust, J. G. and J. S. Edwards (1979) Mechanisms of freezing tolerance in an Antarctic midge, Belgica antarctica. Physiol. Ent. 4: 1-5.
- Candy, D. J. (1974) The control of muscle trehalase activity during locust flight. Biochem. Soc. Trans. 2: 1107-1109.
- Candy, D. J. and B. A. Kilby (1961) The biosynthesis of trehalose in the locust fat body. Biochem. J. 78: 531-536.
- Candy, D. J. and B. A. Kilby (1962) Studies on chitin synthesis in the desert locust. J. Exp. Biol. 39: 129-140.
- Carey, F. G. and G. R. Wyatt (1960) Uridine diphosphate derivatives in the tissues and hemolymph of insects. Biochim. Biophys. Acta 41: 178-179.
- Chang, C. K., F. Liu and H. Feng (1964) Metabolism of eri-silkworm during metamorphosis. II. The properties of trehalase and its effect on metabolism. Acta ent. sin. 13; 494-502.
- Chefurka, W. (1954) Oxidative metabolism of carbohydrates in insects. I. Glycolysis in the housefly. Enzymology 17: 73-89.
- Chefurka, W. (1965a) Intermediary metabolism of carbohydrates in insects. In "The Physiology of Insecta" (ed. M. Rockstein) Vol. 2: 581-668.

- Chefurka, W. (1965b) Some comparative aspects of the metabolism of carbohydrates in insects. Ann. Rev. Ent. 10: 345-382.
- Chen, P. S. and L. Levenbook (1966) Studies on the haemolymph proteins of the blowfly Phormia regina - II. Synthesis and breakdown as revealed by isotopic labelling. J. Insect Physiol. 12: 1611-1627.
- Childress, C. C. and B. Sacktor (1970) Regulation of glycogen metabolism in insect flight muscle. Purification and properties of phosphorylases in vitro and in vivo. J. Biol. Chem. 245: 2927-2936.
- Chino, H. (1957a) Conversion of glycogen to sorbitol and glycerol in the diapause egg of the Bombyx silkworm. Nature 180: 606-607.
- Chino, H. (1957b) Carbohydrate metabolism in diapause egg of the silkworm, Bombyx mori - I. Diapause and the change of glycogen content. Embryology 3: 295-316.
- Chino, H. (1958) Carbohydrate metabolism in the diapause egg of the silkworm, Bombyx mori - II. Conversion of glycogen into sorbitol and glycerol during diapause. J. Insect Physiol. 2: 1-12.
- Chino, H. (1960) Enzymatic pathways in the formation of sorbitol and glycerol in the diapausing egg of the silkworm, Bombyx mori - I. On the polyol dehydrogenases. J. Insect Physiol. 5: 1-15.
- Chino, H. (1961) Enzymatic pathways in the formation of sorbitol and glycerol in the diapausing egg of the silkworm, Bombyx mori - II. On the phosphatases. J. Insect Physiol. 6: 231-240.

茅野春雄 (1962) 昆虫の糖代謝 - とくに代謝調整とその構成 -  
生化学 34: 235-242.

茅野春雄 (1968) 昆虫のエネルギー代謝. 動物学報 77: 1-11.

茅野春雄 (1975) 昆虫の休眠と代謝調節 植物 29: 111-115.

茅野春雄 (1980) 昆虫の生化学 東大出版会 146 p.

Clements, A. N. (1959) Studies of the metabolism of locust fat body. J. Exp. Biol. 36: 665-675.

Conradi-Larsen, E-M. and L. Sømme (1973) The overwintering of Pelophila borealis Payk. II. Aerobic and anaerobic metabolism. Norsk ent. Tidsskr. 20: 325-332.

Crompton, M. and S. E. Polakis (1969) The labelling of tissue components during the pharate adult life of Lucilia cuprina, after injection of U-<sup>14</sup>C-glucose. J. Insect Physiol. 15: 1323-1329.

Crout, D. H. G., M. H. Benn, H. Imaseki and T. A. Geissman (1966) Pyrrolizidine alkaloids. The biosynthesis of seneciphylllic acid. Phytochem. 5: 1-21.

Dahlman, D. L. (1970) Trehalase activity in tobacco hornworm tissue. Ann. Ent. Soc. Am. 63: 1563-1565.

Dahlman, D. L. (1971) Purification and properties of trehalase from tobacco hornworm larvae. J. Insect Physiol. 17: 1677-1687.

ダーフスキー・ア・エス (1961) [日高敬隆・正木道三訳 1966] 昆虫の光周期. 東大出版会 293 p.

Ditman, L. P., G. B. Voght and D. R. Smith (1943) Undercooling and freezing of insects. J. Econ. Ent. 36: 304-311.

Droste, H. J. und E. Zebe (1974) Resorption und Stoffwechsel von Glucose im Darmtrakt der Wanderheuschrecke Locusta migratoria. J. Insect Physiol. 20: 2385-2396.

- Dubach, P., F. Smith, D. Pratt and C. M. Stewart (1959) Possible role of glycerol in the winter-hardiness of insects.  
Nature 184: 288-289.
- Duchateau-Bosson, G. Jeuniaux, Ch. and M. Florkin (1963) Contributions a la biochimie du ver à soie XXVII. Trehalose, trehalase et mue. Archs. int. Physiol. Biochim. 71: 566-576.
- Duve, H. (1975) Intracellular location of trehalase in thoracic muscle of the blowfly, Calliphora erythrocephala. Insect Biochem. 5: 299-311.
- Eguchi, M. and A. Iwamoto (1975) Changes in protease, esterase, and phosphatases in the alimentary canal of the silkworm during metamorphosis. Insect Biochem. 5: 495-507.
- Fink, D. E. (1925) Physiological studies on hibernation in the potato beetle, Leptinotarsa decemlineata Say. Biol. Bull. 49: 381-406.
- Fischl, J., J. Ishay and N. Talmor (1976) Trehalase: extraction from the midgut of larvae of the oriental hornet and its use in micro determination of trehalose. Insect Biochem. 6: 53-58.
- Fletcher, M. J. (1968) A colorimetric method for estimating serum triglycerides. Clin. Chim. Acta 22: 393-397.
- Florkin, M. and Ch. Jeuniaux (1964) Hemolymph; Composition. In "The Physiology of Insecta" (ed. M. Rockstein) Vol. III. 109-152. Academic Press.
- Frankos, V. H. and A. P. Platt (1976) Glycerol accumulation and water content in larvae of Limenitis archippus : Their importance to winter survival. J. Insect Physiol. 22: 623-628.

- Friedman, S. (1960) Occurrence of trehalose-6-phosphatase in Phormia regina Meig. Archs. Biochem. Biophys. 88: 339-343.
- Friedlander, A. and S. Navarro (1979) The effect of controlled atmospheres on carbohydrate metabolism in the tissue of Ephestia cautella ( Walker ) pupae. Insect Biochem. 9: 79-83.
- 深谷昌次 (1947) ニ化螟虫の発生予察に関する基礎的研究 (第1報)  
中国地方におけるオホバ化期飛翔地帯に就いて. 松虫 2: 9-14.
- 深谷昌次 (1948a) ニ化螟虫の発生予察に関する基礎的研究 第4報.  
ニ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 (1948b) ニ化螟虫の発生予察に関する基礎的研究 第6報.  
変温か越冬期幼虫の發育に及ぼす影響. 農学研究 38: 34-37.
- 深谷昌次 (1950) ニ化螟虫 北方出版社 141P.
- Fukaya, M. (1955) The role of the brain in the metamorphosis of the rice stem borer, Chilo suppressalis. Jap. J. Appl. Zool. 20: 179-183.
- 深谷昌次・金子武 (1949) ニ化螟虫の発生予察に関する基礎的研究 第9報.  
ニ化螟虫の越冬生理 (1) 農学研究 38: 104-108.
- 深谷昌次・金子武 (1951) ニ化螟虫の発生予察に関する基礎的研究 第12報.  
ニ化螟虫の越冬生理 (2) 農学研究 39: 131-133.
- Fukaya, M. and J. Mitsuhashi (1957) The hormonal control of larval diapause in the rice stem borer, Chilo suppressalis.  
I. Some factors in the head maintaining larval diapause.  
Jap. J. appl. Ent. Zool. 1: 145-154.
- Fukaya, M. and J. Mitsuhashi (1958) The hormonal control of larval diapause in the rice stem borer, Chilo suppressalis.  
II. The activity of the corpora allata during the diapausing period. Jap. J. appl. Ent. Zool. 2: 223-226.

Fukaya, M. and J. Mitsuhashi (1961) Larval diapause in the rice stem borer with special reference to its hormonal mechanism. Bull. Nat. Inst. Sci. Ser. C 13: 1-32.

Fukaya, M. and M. Kobayashi (1966) Some inhibitory actions of corpora allata in diapausing larvae of the rice stem borer, Chilo suppressalis Walker (Lepidoptera: Pyralidae). Appl. Ent. Zool. 1: 125-129

深谷昌次・茅野春雄・井上平 (1952) 二化虫の休眠について (4). 心甲昆虫 8: 83-88.

福田仁郎 (1937) 二化虫の酸素吸収量. 行動組 9: 37-46.

Grace, T. D. C. and H. W. Brzostowski (1966) Analysis of the amino acids and sugars in an insect cell culture medium during cell growth. J. Insect Physiol. 12: 625-633.

Handel, E. V. (1978) Trehalose turnover and the coexistence of trehalose and active trehalase in cockroach haemolymph. J. Insect Physiol. 24: 151-153.

Harvey, W. R. (1962) Metabolic aspects of insect diapause. Ann. Rev. Ent. 7: 57-80.

長谷川金作 (1979) 昆虫変態の生理化学. 南江堂出版社 244P

Hasegawa, K. and O. Yamashita (1965) Studies on the mode of action of the diapause hormone of the silkworm, Bombyx mori L. VI. The target organ of the diapause hormone. J. Exp. Biol. 43: 271-277.

Heslop, J. P., G. M. Price and J. W. Ray (1963) Anaerobic metabolism in the housefly, Musca domestica L. Biochem. J. 87: 35-38.

Hess, R. and A. G. E. Pearse (1961) Localization of dehydrogenases and glycogen metabolizing enzymes in muscle tissue of the

desert locust (Schistocerca gregaria). Enzymol. biol. Clin. 1: 15-33.

堀江保宏 (1955) 家蚕幼虫消化管の alkaline phosphatase について。応動雑誌 20: 68-74.

堀江保宏 (1958) 家蚕の消化管の生理学的研究. I. 家蚕中腸組織のアルカリ性フオスファターゼについて。蚕糸報 16: 275-29d.

Horie, Y. (1959) Physiological studies on the alimentary canal of the silkworm Bombyx mori. II. Carbohydrases in the digestive fluid and in the midgut tissue. Bull. seric. Exper. Stn. Japan 15: 134-137.

堀江保宏 (1965) 昆虫の炭水化物代謝経路とその調節について。生物科学 17: 55-63.

Horie, Y. (1967) Dehydrogenase in carbohydrate metabolism in larvae of the silkworm, Bombyx mori L. J. Insect Physiol. 13: 1163-1175.

Horie, Y., S. Nakasone and T. Ito (1968) The conversion of <sup>14</sup>C-carbohydrates into CO<sub>2</sub> and lipid by the silkworm, Bombyx mori. J. Insect Physiol. 14: 971-981.

Huber, R. E. and Y. A. Lefebvre (1971) The purification and some properties of soluble trehalase and sucrase from Drosophila melanogaster. Can. J. Biochem. 49: 1155-1164.

井上平・釜野静也 (1957) 曲張時間および温度がニカメイケコの休眠誘起に対する影響。応動昆 1: 100-105.

Ishaaya, I. and S. Yablonski (1978) Studies of the trehalase activity in eggs of the egyptian cotton worm, Spodoptera littoralis. Insect Biochem. 8: 81-85.

石倉秀次 (1939) 低温に於けるクローバークリン燐蒸ガス化虫の呼吸に対する影響。応動昆 11: 189-195.

Ishikura, H. (1955) On the types of the seasonal prevalence of rice stem borer moth in Japan. Bull. Nat. Inst. Agr. Sci. C5: 67-80.

Ito, T. and Y. Horie (1957) Glycogen in the ligated silkworm pupa (Bombyx mori). Nature 179: 1136-1137.

Ito, T. and Y. Horie (1959) Carbohydrate metabolism of the mid-gut of the silkworm, Bombyx mori. Archs. Biochem. Biophys. 80: 174-186.

常樂武男(1958) ニカメイケウ越冬幼虫の呼吸量について。  
北陸病害研報 6: 36.

Jungreis, A. M. (1976) Regulation of Hyalophora cecropia fat body hexokinase by hexose phosphates common to the pathways of glycolysis, glycogen and trehalose synthesis. Comp. Biochem. Physiol. 53B: 405-413.

Jungreis, A. M. and G. R. Wyatt (1972) Sugar release and penetration in insect fat body: Relations to regulation of haemolymph trehalose in developing stages of Hyalophora cecropia. Biol. Bull. 143: 367-391.

Jungreis, A. M., O. Jatlow and G. R. Wyatt (1974) Regulation of trehalose synthesis in the silkmot Hyalophora cecropia: The role of magnesium in the fat body. J. Exp. Zool. 187: 41-46.

Kageyama, T. (1976) Pathways of carbohydrate metabolism in the eggs of the silkworm, Bombyx mori. Insect Biochem. 6: 507-511.

Kageyama, T. and E. Ohnishi (1971) Carbohydrate metabolism in the eggs of the silkworm, Bombyx mori. I. Absence of phosphofructokinase in the diapause egg. Dev. Growth Differ. 13: 97-106.

- Kageyama, T. and E. Ohnishi (1973) Carbohydrate metabolism in the eggs of the silkworm, Bombyx mori. II. Anaerobiosis and polyol formation. Dev. Growth Differ. 15: 47-55.
- Kageyama, T., S. Y. Takahashi, and E. Ohnishi (1973) Acid phosphatase in the eggs of the silkworm, Bombyx mori: Purification and properties. Insect Biochem. 3: 373-388.
- 加藤 陸奥雄 (1953) 作物害虫学概論 養賢堂 306 p
- 河田 党 (1952) 予察防除農作害虫新説 (湯浅・河田編).  
朝倉書店 pp. 32-55.
- Kerly, M. and D. H. Leaback (1957) The characteristics of hexokinase from Locusta migratoria muscle. Biochem. J. 67: 245-250.
- 岸野 順一 (1969) カメイケコウの休眠誘起に対する日長及び温度の影響 (1) 成動昆 13: 52-60.
- 岸野 順一 (1970a) カメイケコウにおける休眠と発育の地域性. 成動昆 14: 1-11.
- 岸野 順一 (1970b) カメイケコウの1-2回発生の境界地帯における発生態 (1) 米代川および檜木内川流域における発生态. 成動昆 14: 182-190.
- Kobayashi, M. and S. Kimura (1967) Action of ecdysone on the conversion of <sup>14</sup>C-glucose in dauer pupa of the silkworm, Bombyx mori. J. Insect Physiol. 13: 545-552.
- 小泉 清明 (1951) 化蝶虫の越冬覚醒における含水量及び体表リピットの関係. 成動雑 16: 119-124.
- 小泉 清明 (1960) 昆虫の水分生理. 信州昆虫学会発行 53 p.
- Koidsumi, K. and K. Makino (1953) On the mechanism of water absorption in hibernating larvae of the rice-stem borer, Chilo simplex Butler in spring. Jap. J. Appl. Zool. 17: 103-110.
- Krunic, M.D. and R. W. Salt (1971) Seasonal changes in glycerol content and supercooling points of Megachile rotundata (F.) and M. relativa Cress. Can. J. Zool. 49: 663-666.
- Kubista, V. (1958) Anaerobe Glykolyse in den Insektenmuskeln.

- Biochem. Z. 330 S: 315-325.
- Kucera, M. and J. Weiser (1974) Alkaline phosphatase in the last larval instar of Barathra brassicae (Lepidoptera) infected by Nosema plodiae. Acta ent. bohemoslov. 71: 289-293.
- Lowry, O.H., N. J. Rosebrough, A. L. Farr and R. J. Randall (1951) Protein measurement with Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193: 265-275.
- MacFarlane, J. R. and T. W. Hogan (1966) Free amino acid changes associated with diapause in the egg of the field cricket, Teleogryllus. J. Insect Physiol. 12: 1265-1278.
- Mansingh, A. (1967) Changes in the free amino acids of the haemolymph of Antheraea pernyi during induction and termination of diapause. J. Insect Physiol. 13: 1645-1655.
- Mansingh, A. (1974) Studies on insect dormancy. II. Relationship of cold-hardiness to diapause and quiescence in the eastern tent caterpillar, Malacosoma americanum (Fab.), (Lasiocampidae: Lepidoptera). Can. J. Zool. 52: 629-637.
- Mansingh, A. and B. N. Smallman (1972) Variations in polyhydric alcohol in relation to diapause and cold-hardiness in the larvae of Isia isabella. J. Insect Physiol. 18: 1565-1571.
- Mansingh, A. and R. W. Steele (1973) Studies on insect dormancy. I. Physiology of hibernation in the larvae of the blackfly Prosimulium mysticum Peterson. Can. J. Zool. 51: 611-618.
- McDonald, I. C., D. R. Nelson, O. A. Johnson, P. A. Filipi and D. L. Cardwell (1978) House fly genetics: Inheritance patterns of phosphoglucomutase, hexokinase, and glutamate-oxaloacetate transaminase isozymes. Ann. Ent. Soc. Am. 71: 99-102.
- Meyer, S. G. E. (1974) Variation von Glycerin, Sorbit und anferen

- Metabolitgehalten infolge von Temperaturstress bei Larven von Callitroga macellaria. J. Insect Physiol. 20: 395-403.
- Meyer, S. G. E. (1977) Concentrations of some glycolytic and other intermediates in larvae of Callitroga macellaria (F.) (Diptera, Calliphoridae) during anaerobiosis. Comp. Biochem. Physiol. 58B: 49-55.
- Meyer, S. G. E. (1978) Effects of heat, cold, anaerobiosis and inhibitors on metabolite concentrations in larvae of Callitroga macellaria. Insect Biochem. 6: 471-477.
- Miake, F., T. Torikata, S. Hanada, E. Soeda, K. Koga and K. Hayashi (1976) Developmental changes in activities of several enzymes involved in glycolysis and TCA cycle during the pupal period of Bombyx mori. J. Fac. Agr. Kyushu Univ. 20: 143-149.
- Miller, L. K. and J. S. Smith (1975) Production of threitol and sorbitol by an adult insect: Association with freezing tolerance Nature 258: 519-520.
- Miller, S. and E. Berger (1979) The purification of  $\alpha$ -glycero-phosphate dehydrogenase from Drosophila melanogaster larvae and a partial structural comparison with the form purified from adults. Insect Biochem. 9; 355-364.
- Mitsuhashi, J. (1978) Free amino acids in the haemolymph of some Lepidopterous insects. Appl. Ent. Zool. 13: 318-320.
- 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.
- 中川 久和 (1904) 川株中に残存する二化虫の虫害調査成績 農林省農試報 23: 13d - 133.

Nettles, W. C. and N. L. Betz (1965) Glycogen in the boll weevil with respect to diapause, age, and diet. Ann. Ent. Soc. Am. 58: 721-726.

Nettles, W. C., Jr. B. Parro, C. Sharbaugh and C. L. Mangum (1971) Trehalose and other carbohydrates in Anthonomus grandis, Heliothis zea, and Heliothis virescens during growth and development. J. Insect Physiol. 17: 657-675.

Nijhout, H. F. (1975) Dynamics of juvenile hormone action in larvae of the tobacco hornworm, Manduca sexta. Biol. Bull. 149: 568-579.

Nordin, J. H., R. Duffield, N. Freedman, W. Gelb and J. F. Brandts (1970) Enzyme activity in cryobiological systems. Studies on glycolytic enzymes and low temperature-induced glycerol accumulation in Hymenoptera. Cryobiology 6: 373-384.

Okada, M. (1971) Role of the chorion as a barrier to oxygen in the diapause of the silkworm, Bombyx mori L. Experientia 27: 658-660.

岡田益吉 (1975) 昆虫の休眠とコリオン. 植物 29: 105-110.

大内 晴 (1971) 昆虫の脂質に関する研究(特にニカメイガ幼虫の脂質について)  
名古屋大学農学部修論

Oouchi, H. and S. Ito (1970) Lipid of the rice stem borer, Chilo suppressalis Walker (Lepidoptera:Pyralidae) II. Polar lipid and neutral lipid of the larvae from different colonies. Botyu-Kagaku 35: 144-152.

Oouchi, H., T. Saito and K. Iyatomi (1970) Lipid of the rice stem borer, Chilo suppressalis Walker (Lepidoptera:Pyralidae).

1. Lipid classes and fatty acid composition in larvae reared on rice seedlings. *Botyu-Kagaku* 35: 7-11.
- Orr, C. W. M. (1964) The influence of nutritional and hormonal factors on the chemistry of the fat body, blood, and ovaries of the blowfly, Phormia regina. *J. Insect Physiol.* 10: 103-119.
- Payne, N. M. (1928) Cold hardiness in the Japanese beetle, Popillia japonica Newman. *Biol. Bull.* 55: 163-179.
- Price, G. M. (1963) The effects of anoxia on metabolism in the adult housefly, Musca domestica. *Biochem. J.* 86: 372-378.
- Pugach, S. and C. S. Crawford (1977) Seasonal changes in hemolymph amino acids, proteins, and inorganic ions of a desert millipede Orthoporus ornatus (Girard) (Diplopoda: Spirostreptidae). *Can. J. Zool.* 56: 1460-1465.
- Rains, T. D. and R. V. Dimock, Jr. (1978) Seasonal variation in cold hardiness of the beetle Popilius disjunctus. *J. Insect Physiol.* 24: 551-554.
- Reed, W. D. and B. Sacktor (1971) Localization of trehalase in flight muscle of the blowfly Phormia regina. *Arch. Biochem. Biophys.* 145: 392-401.
- Robinson, Wm. (1927) Water binding capacity of colloids a definite factor in winter hardiness of insects. *J. Econ. Ent.* 20: 80-88.
- Robinson, Wm. (1928) Response and adaptation of insects to external stimuli. *Ann. Ent. Soc. Am.* 21: 407-417.
- Rosinski, G., A. Wrzeszcz and L. Obuchowicz (1979) Differences in trehalase activity in the intestine of fed and starved larvae of Tenebrio molitor L. *Insect Biochem.* 9: 485-488.

- Ruiz-Amil, M. (1962) The hexokinase of the honey bee. J. Insect Physiol. 8: 259-265.
- Sacharov, N. L. (1930) Studies in cold resistance of insects. Ecology 11: 505-517.
- Sacktor, B. (1965) Energetics and respiratory metabolism of muscular contraction. In "The Physiology of Insecta" (ed. M. Rockstein) Vol. II: 483-580.
- Sacktor, B. (1970) Regulation of intermediary metabolism, with special reference to the control mechanisms in insect flight muscle. Adv. Insect Physiol. 7: 267-347.
- Sacktor, B., W. Niou-Ching, O. Lescure and W. D. Reed (1974) Regulation of muscle phosphorylase b kinase activity by inorganic phosphate and calcium ions. Biochem. J. 137: 535-542.
- Sahota, T. S. (1975) Effect of juvenile hormone on acid phosphatases in the degenerating flight muscles of the Douglas-fir beetle, Dendroctonus pseudotsugae. J. Insect Physiol. 21: 471-478.
- Saito, S. (1960) Trehalase of the silkworm, Bombyx mori. Purification and properties of the enzyme. J. Biochem. 48: 101-109.
- Salt, R. W. (1956) Influence of moisture content and temperature on cold-hardiness of hibernating insects. Can. J. Zool. 34: 283-294.
- Salt, R. W. (1957) Natural occurrence of glycerol in insects and its relation to their ability to survive freezing. Can. Ent. 89: 491-494.

Salt, R. W. (1959) Role of glycerol in the cold-hardiness of Bracon cephi (Gehan). Can. J. Zool. 37: 59-69.

Salt, R. W. (1961) Principles of insect cold-hardiness. Ann. Rev. Ent. 6: 55-74.

佐藤 実夫 (1964) 仔芽ばえを用いたニカメイケウ簡易大量累代飼育方法。  
応動昆 8: 6-10.

重松 直 (1956a) 家蚕卵のフオスフオリーゼ作用力について。日蚕雑 25: 49-53.

重松 直 (1956b) 家蚕の脂肪組織内酵素による解糖系並びに酸化作用について。日蚕雑 25: 115-121.

Shigematsu, H. (1958) Hexokinase in the fat body of the silkworm, Bombyx mori L. Annot Zool. Jap. 31: 6-12.

Shimada, S. (1975) Trehalase activity in the silk glands of the silkworm, Bombyx mori (Lepidoptera: Bombycidae). Can. Ent. 107: 1311-1314.

Shimada, S. and O. Yamashita (1979) Trehalose absorption related with trehalase in developing ovaries of the silkworm, Bombyx mori. J. Comp. Physiol. 131: 333-339.

清水泰二 (1950) 魚性アドウ酸比色定量の新改良法。生化学 22: 108-114.

Smith, J. N. and H. B. Turbert (1961) Enzymic glucoside synthesis in locusts. Nature 189: 600.

Sømmen, L. (1964) Effects of glycerol on cold-hardiness in insects. Can. J. Zool. 42: 87-101.

Sømmen, L. (1965) Further observations on glycerol and cold-hardiness in insects. Can. J. Zool. 43: 765-770.

Sømmen, L. (1966) The effect of temperature, anoxia, or injection of various substances on haemolymph composition and supercooling in larvae of Anagasta kuehniella (Zell.). J. Insect Physiol. 12: 1069-1083.

- Sømme, L. (1967) The effect of temperature and anoxia on haemolymph composition and supercooling in three overwintering insects. *J. Insect Physiol.* 13: 805-814.
- Sonobe, H., A. Matsumoto, Y. Fukuzaki and S. Fujiwara (1979) Carbohydrate metabolism and restricted oxygen supply in the eggs of the silkworm, Bombyx mori. *J. Insect Physiol.* 25: 381-388.
- Spates, G. E. and J. E. Wright (1975) Effect of a juvenile hormone analogue on phosphatase activity in pupae of the stable fly, Stomoxys calcitrans. *J. Insect Physiol.* 21: 1789-1792.
- Stephen, W. F. Jr. and L. I. Gilbert (1970) Alterations in fatty acid composition during the metamorphosis of Hyalophora cecropia: Correlations with juvenile hormone titre. *J. Insect Physiol.* 16: 851-864
- Stevenson, E. and G. R. Wyatt (1964) Glycogen phosphorylase and its activation in silkmoth fat body. *Archiv. Biochem. Biophys.* 108: 420-429.
- Sumida, M. and O. Yamashita (1977) Trehalase transformation in silkworm midgut during metamorphosis. *J. Comp. Physiol.* 115: 241-253.
- 角田素行・山下慶世(1978) 家蚕の中腸トrehalase: 幼虫期の変動 ならびにホルモン処理の影響. *日蚕雑* 47: 201-208.
- Suzuki, K. and K. Miya (1975) Studies on the carbohydrate metabolism in diapause eggs of the silkworm, Bombyx mori, with special reference to phosphofructokinase activity. *J. Sericult. Sci. Japan* 44: 88-97
- Suzuki, K. and K. Miya (1977) Studies on the carbohydrate

metabolism of diapause eggs of Bombyx mori, with special reference to the detection of phosphofructokinase activity.

J. Sericult. Sci. Japan 46: 213-219.

高須謙一(1977)薄明について - その生物日長に対する意義 - 農業研究56: 75-83.

武田喜・福島正三(1962)イラガおよびイラガイツツバセイホウの越冬期間中にかけてアリコーケンおよびアリセリンの消長(予報)岐阜大農研報16: 92-98.

竹原一郎(1962)イラガ前蛹と蛹の fosfotriesterase 及びアルトライゼ活性について. 低温科学 生物編 20: 35-43.

竹原一郎(1963)イラガ越冬前蛹のアリセリンⅡ. グリセリン生成に対する薬物の影響. 低温科学 生物編 21: 55-60.

竹原一郎・朝比奈英三(1960)昆虫の耐凍性とアリセリン. 低温科学 生物編 18: 57-64.

竹原一郎・朝比奈英三(1961)イラガ越冬前蛹のグリセリンⅠ. グリセリン生成・休眠・耐凍性に対する環境温度の影響. 低温科学 生物編 19: 29-36.

Talbot, B. G. and R. E. Huber (1975) Partial purification, stabilization and characterization of adult honey bee midgut trehalase and a new trehalase specific disc gel stain method. Insect Biochem. 5: 337-347.

丹野皓三(1962)ムネアカオオアリの耐凍性. I. 耐凍性とグリセリンの関係. 低温科学 生物編 20: 25-34.

丹野皓三(1963)アケハチ越冬蛹の耐凍性. 低温科学 生物編 21: 41-53.

丹野皓三(1964)越冬期のツヤハナバチに含まれる多量の糖類. 低温科学 生物編 22: 51-57.

丹野皓三(1965)ドブラハバチの耐凍性Ⅲ. 耐凍性と糖含量. 低温科学 生物編 23: 54-64.

Tate, L. G. and L. T. Wimer (1974) Incorporation of <sup>14</sup>C from glucose into CO<sub>2</sub>, chitin, lipid, protein and soluble carbohydrate during metamorphosis of the blowfly, Phormia regina. Insect Biochem. 4: 85-98.

Tomizawa, C. and H. Koike (1955) Biochemical studies on the action of insecticides. I. Some enzymes of larvae of the rice stem borer, Chilo simplex Butler and the influence of insecticides on them. Bull. Nat. Inst. Agr. Sci., Ser. C, 5: 17-28.

Trevelyan, W. E., D. P. Procter and J. S. Harrison (1950) Detection of sugars on paper chromatograms. Nature 166: 444-445.

Trivelloni, J. C. (1960) Biosynthesis of glucosides and glycogen in the locust. Archs. Biochem. Biophys. 89: 149-150.

Tsumuki, H. (1980) Effect of anaerobiosis on glycerol formation in larvae of the rice stem borer, Chilo suppressalis Walker. Appl. Ent. Zool. 15: 52-59.

猪木久明・兼久勝夫 (1974) ニカメイガ越冬幼虫の耐寒性. 応動昆中国支報 16: 37-39.

猪木久明・兼久勝夫 (1975) ニカメイガ非休眠幼虫における  $^{14}\text{C}$ -glucoseと  $^{14}\text{C}$ -UDPG の代謝. 農學研究 55: 79-86.

Tsumuki, H. and K. Kanehisa (1978a) Carbohydrate content and oxygen uptake in larvae of the rice stem borer, Chilo suppressalis Walker. Ber. Ohara Inst. landw. Biol. Okayama Univ. 17: 95-110.

猪木久明・白神孝 (1978) 岡山県における1・2回発生型ニカメイガについて -越冬幼虫の休眠深度-. 応動昆中国支報 20: 45-48.

猪木久明・白神孝 (1979) 岡山県における1・2回発生型ニカメイガについて -幼虫発育に及ぼす日長と温度の影響-. 応動昆中国支報 21: 9-12.

Tsumuki, H. and K. Kanehisa (1979a) Enzymes associated with glycogen metabolism in larvae of the rice stem borer,

Chilo suppressalis Walker: Some properties and changes in activities during hibernation. Appl. Ent. Zool. 14: 270-277.

Tsumuki, H. and K. Kanehisa (1979b) Glycerol concentrations in haemolymph of hibernating larvae of the rice stem borer,

Chilo suppressalis Walker: Effects of ligation and cold tolerance. Appl. Ent. Zool. 14: 497-499.

Tsumuki, H. and K. Kanehisa (1980a) Enzyme activities associated with glycogen metabolism in diapausing and developing larvae of the rice stem borer, Chilo suppressalis Walker.

Ber. Ohara Inst. landw. Biol. Okayama Univ. 18: 31-41.

Tsumuki, H. and K. Kanehisa (1980b) Metabolism of  $^{14}\text{C}$ -glucose and UDP- $^{14}\text{C}$ -G in hibernating larvae of the rice stem borer,

Chilo suppressalis Walker. Ber. Ohara Inst. landw. Biol. Okayama Univ. 18: 43-53.

Tsumuki, H. and K. Kanehisa (1980c) Changes in enzyme activities related to glycerol synthesis in hibernating larvae of the rice stem borer, Chilo suppressalis Walker. Appl. Ent. Zool. 15: 285-292.

積木久明・兼久勝夫(1980a) ニカメイガ幼虫における体液中のジリヤロ-IV ピトレハロース含量に対する低温の影響. 寒動昆 24: 189-193.

積木久明・兼久勝夫(1980b) ニカメイガ越冬幼虫の体液中の遊離アミノ酸含量の変化. 寒動昆中国支報 22: 70-72.

Tsumuki, H. and K. Kanehisa (1981a) Effect of JH and ecdysone on glycerol and carbohydrate contents in diapausing larvae of the rice stem borer, Chilo suppressalis Walker. Appl. Ent. Zool. 16: 7-15.

Tsumuki, H. and K. Kanehisa (1981b) The fate of  $^{14}\text{C}$ -glycerol in the rice stem borer, Chilo suppressalis Walker. Appl.

Ent. Zool. 16: 200-208.

橋木久明・兼久勝夫・白神孝(1981) ニカメイガにおけるアリコケン  
代謝系路について. 昆虫研究 59: 101-106.

Vardanis, A. (1963) Glycogen synthesis in the insect fat body.

Biochim. biophys. Acta 73: 565-573.

Whilhelm, R. C., H. A. Schneiderman and L. J. Daniel (1961)

The effect of anaerobiosis on the giant silkworms Hyalophora cecropia and Samia cynthia with special reference to the accumulation of glycerol and lactic acid. J. Insect Physiol. 7: 273-288.

Wiens, A. W. and L. I. Gilbert (1967) The phosphorylase system of the silkmoth, Hyalophora cecropia. Comp. Biochem. Physiol. 21: 145-159.

Wigglesworth, V. B. (1963) The juvenile hormone effect of farnesol and some related compounds: Quantitative experiments. J. Insect Physiol. 9: 105-119.

Wigglesworth, V. B. (1970) Insect Hormones. Oliver & Boyd p 159.

Wiygul, G. and N. Mitlin (1977) Oxygen uptake in male and female boll weevils, Anthonomus grandis Boheman (Coleoptera: Curculionidae) of the ebony strain fed cotton squares (Buds). Comp. Biochem. Physiol. 56A: 395-397.

Wood, Jr. F. E. and J. H. Nordin (1976) Studies on the low temperature induced biogenesis of glycerol by adult Protophormia terranova. J. Insect Physiol. 22: 1665-1673.

Wood, Jr. F. E. and J. H. Nordin (1980) Activation of the hexose monophosphate shunt during cold-induced glycerol accumulation by Protophormia terranova. Insect Biochem. 10: 87-93.

- Wright, J. E. and D. D. Rushing (1973) Glycogen in pupal and adult stable flies as affected by a juvenile hormone analogue. Ann. Ent. Soc. Am. 66: 274-276.
- Wright, J. E., H. R. Crookshank and D. D. Rushing (1973) Glycogen phosphorylase activity in pharate adults of stable fly and the effects of a juvenile hormone analogue. J. Insect Physiol. 19: 1575-1578.
- Wyatt, G. R. (1961) The biochemistry of insect hemolymph. Ann. Rev. Ent. 6: 75-102.
- Wyatt, G. R. (1967) The biochemistry of sugars and polysaccharides in insects. Adv. Insect Physiol. 4: 287-360.
- Wyatt, G. R. (1975) Regulation of protein and carbohydrate metabolism in insect fat body. Verh. Dtsch. Zool. Ges. 67: 209-226.
- Wyatt, G. R. and W. L Meyer (1959) The chemistry of insect hemolymph III. Glycerol. J. gen. Physiol. 42: 1005-1011.
- 八木誠政(1934)ニ化螟虫の等発生帯について. 報試集2:381-394.
- 八木繁実(1975)数種鱗翅目昆虫の休眠に関する内分泌学的研究. 東京教育大農紀要21: 1-49.
- Yagi, S. and M. Fukaya (1974) Juvenile hormone as a key factor regulating larval diapause of the rice stem borer, Chilo suppressalis (Lepidoptera: Pyralidae). Appl. Ent. Zool. 9: 247-255.
- 柳沼利信・山下英里(1977)家蚕卵の休眠開始・維持・覚醒について  
「うぐいす」・ソルビトール・グリセロール量の変動. 日蚕雑誌46: 5-10.
- Yaginuma, T. and O. Yamashita (1978) Polyol metabolism related to diapause in Bombyx eggs: Different behaviour of sorbitol

from glycerol during diapause and post-diapause. J. Insect Physiol. 24: 347-354.

Yaginuma, T. and Yamashita (1979) NAD-dependent sorbitol dehydrogenase activity in relation to the termination of diapause in eggs of Bombyx mori. Insect Biochem. 9: 547-553.

Yaginuma, T. and Yamashita (1980) The origin of free glycerol accumulated in diapause eggs of Bombyx mori. Physiol Ent. 5: 93-97.

山下慶亞 (1969) 家蚕蛹の卵巣における Glycogen 代謝系に関する研究. 日蚕雑 38: 329-339.

山下慶亞 (1977) 昆虫の休眠卵とトルモン. 植物 31: 334-339.

山下慶亞 (1979) 昆虫休眠の代謝特徴. 蛋白質・核酸・酵素 24: 1316-1323.

山下慶亞・長谷川金作 (1964) 家蚕の休眠トルモンの作用機構に関する研究 (IV). 休眠トルモンの卵巣のクリコーケン量及び血糖量に対する作用. 日蚕雑 33: 407-416.

Yamashita, O. and K. Hasegawa (1976) Diapause hormone action in silkworm ovaries incubated in vitro:  $^{14}\text{C}$ -trehalose incorporation into glycogen. J. Insect Physiol. 22: 409-414.

Yamashita, O., K. Hasegawa and M. Seki (1972) Effect of the diapause hormone on trehalase activity in pupal ovaries of the silkworm, Bombyx mori. Gen. comp. Endocr. 18: 515-523.

Yamashita, O., M. Sumida and K. Hasegawa (1974) Developmental changes in midgut trehalase activity and its localization in the silkworm, Bombyx mori. J. Insect Physiol. 20: 1079-1085.

Yamashita, O., K. Suzuki and K. Hasegawa (1975) Glycogen phosphorylase activity in relation to diapause initiation in Bombyx eggs. Insect Biochem. 5: 707-718.

- Yanagawa, H. (1971) Purification and properties of trehalases from larval muscle and midgut of the silkworm, Bombyx mori. Insect Biochem. 1: 102-112.
- Yanagawa, H. (1978) Tissue distribution, purification, and properties of multiple forms of hexokinase in the silkworm, Bombyx mori. Insect Biochem. 8: 293-305.
- Yanagawa, H. and Y. Horie (1978) Activating enzyme of phosphorylase B in the fat body of the silkworm, Bombyx mori. Insect Biochem. 8: 155-158.
- 湯山昌健・石井象二郎 (1952) ニカメイガ幼虫の消化液水素イオン濃度と消化酵素. 実用昆虫 8: 51-55.
- Zachariassen, K. E. (1979) The mechanism of the cryoprotective effect of glycerol in beetles tolerant of freezing. J. Insect Physiol. 25: 29-32.
- Zachariassen, K. E. and A. Pasche (1976) Effect of anaerobiosis on the adult cerambycid beetle, Phagium inquisitor L. J. Insect Physiol. 22: 1356-1468.
- Zaluska, H. (1959) Glycogen and chitin metabolism during development of the silkworm (Bombyx mori L.). Acta Biol. Exp. 19: 339-351.
- Zebe, E. C. and W. H. McShan (1957) Lactic and  $\alpha$ -glycerophosphate dehydrogenases in insects. J. Gen. Physiol. 40: 779-790.
- Ziegler, R. and G. R. Wyatt (1975) Phosphorylase and glycerol production activated by cold in diapausing silkworm pupa. Nature 254: 622-623.

## 報文目録

1. 積木久明・兼久勝夫 (1975) ニカメイカ非休眠幼虫における<sup>14</sup>C- glucoseと<sup>14</sup>C- UDPGの代謝. 農学研究 55(2) : 79-86.
2. Tsumuki, H. and K. Kanehisa (1978) Carbohydrate content and oxygen uptake in larvae of rice stem borer, Chilo suppressalis Walker. Ber. Ohara Inst. landw. Biol. Okayama Univ. 17 (3) : 95-110.
3. Tsumuki, H. and K. Kanehisa (1979) Enzymes associated with glycogen metabolism in larvae of the rice stem borer, Chilo suppressalis Walker : Some properties and changes in activities during hibernation. Appl. Ent. Zool. 14 (3) : 270-277.
4. Tsumuki, H. and K. Kanehisa (1979) Glycerol concentrations in haemolymph of hibernating larvae of the rice stem borer, Chilo suppressalis Walker : Effects of ligation and cold tolerance. Appl. Ent. Zool. 14 (4) : 497-499.
5. Tsumuki, H. (1980) Effect of anaerobiosis on glycerol formation in larvae of the rice stem borer, Chilo suppressalis Walker. Appl. Ent. Zool. 15 (1) : 52-59.
6. Tsumuki, H. and K. Kanehisa (1980) Enzyme activities associated with glycogen metabolism in diapausing and developing larvae of the rice stem borer, Chilo suppressalis Walker. Ber. Ohara Inst. landw. Biol. Okayama Univ. 18 (1) : 31-41.
7. Tsumuki, H. and K. Kanehisa (1980) Metabolism of <sup>14</sup>C-glucose and UDP-<sup>14</sup>C-G in hibernating larvae of the rice stem borer, Chilo suppressalis Walker. Ber. Ohara Inst. landw. Biol. Okayama Univ. 18 (1) : 43-53.

8. Tsumuki, H. and K. Kanehisa (1980) Changes in enzyme activities related to glycerol synthesis in hibernating larvae of the rice stem borer, *Chilo suppressalis* Walker. Appl. Ent. Zool. 15 (3) : 285-292.
9. 積木久明・兼久勝夫 (1980) ニカメイガ幼虫における体液中のグリセロールとトレハロース含量に及ぼす低温の影響。応動昆 24 (3) : 189-193.
10. Tsumuki, H. and K. Kanehisa (1981) Effect of JH and ecdysone on glycerol and carbohydrate contents in diapausing larvae of the rice stem borer, *Chilo suppressalis* Walker (Lepidoptera : Pyralidae). Appl. Ent. Zool. 16 (1) : 7-15.
11. Tsumuki, H. and K. Kanehisa (1981) The fate of  $^{14}\text{C}$ -glycerol in the rice stem borer, *Chilo suppressalis* Walker (Lepidoptera : Pyralidae). Appl. Ent. Zool. 16 (3) : 200-208.
12. 積木久明・兼久勝夫・白神孝 (1981) ニカメイガにおけるグリコーゲン代謝系路について。農学研究 59 (2) : 101-106.