



Title	イラガ越冬前蛹のグリセリン II : グリセリン生成に及ぼす薬物の影響
Author(s)	竹原, 一郎; TAKEHARA, Ichiro
Citation	低温科学. 生物篇, 21, 55-60
Issue Date	1963-12-10
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/17673
Type	departmental bulletin paper
File Information	21_p55-60.pdf



イラガ越冬前蛹のグリセリン II*

グリセリン生成に及ぼす薬物の影響

竹原 一郎

(低温科学研究所 生物学部門)

(昭和 38 年 7 月受理)

I. はし が き

今までに、戸外におかれたイラガ *Monema flavescens* の越冬前蛹の体内にグリセリンが生成されること、その生成には 10°C 前後の温度が必要なこと、又グリセリンの増減はグリコーゲンの増減と関連があることなどが知られている^{1),2)}。しかし、その生成の機構に関しては全く明らかにされていない。現在知られている、グリセリンが生成される場合の条件の中、特に興味のあるものは、10°C ではグリセリンの生成が、戸外と同様、見られるのに、20°C では全くその生成が起らないという点である。今回の実験は、この点に注目して、イラガ前蛹に阻害剤その他の薬物を与えて、10°C 及び 20°C においた時、その前蛹の示す反応によって、グリセリン生成の機構に関する何らかの手掛りが得られるのではないかと考えて行なったものである。

II. 実験の材料と方法

イラガは幼虫の間に札幌市内で採集し、研究所内の中庭で飼育、マユを作らせた。9 月から 10 月初めにかけて集めたマユは、10 月 8 日から 20°C の恒温箱に保存し、適宜取出して使用した。20°C に保存したのは、比較的早い時期にこの温度に移しておく、イラガ前蛹の休眠が破れないことが知られている³⁾ からであり**、しかもグリセリンの生成が起らないからである。

薬物は、マイクロメーターとツベリクリン用注射筒とを組合せたものを用いて、肛門より前蛹の体内に注射した。注射した量は、薬物により適当に決めたが、生体重当り約 0.02~0.05 cc*** の範囲であった。このように薬物を注射したイラガ前蛹をシャーレに入れ、10°C 及び 20°C の恒温箱におき、適当な時期に取出して、生成されたグリセリン量を定量した。

グリセリン量は、前報⁴⁾と同じ方法で、毎回 1 個体毎、3 個体について定量し、生体重 1 g 当りの mg 数で表わした。

* 北海道大学低温科学研究所業績 第 646 号

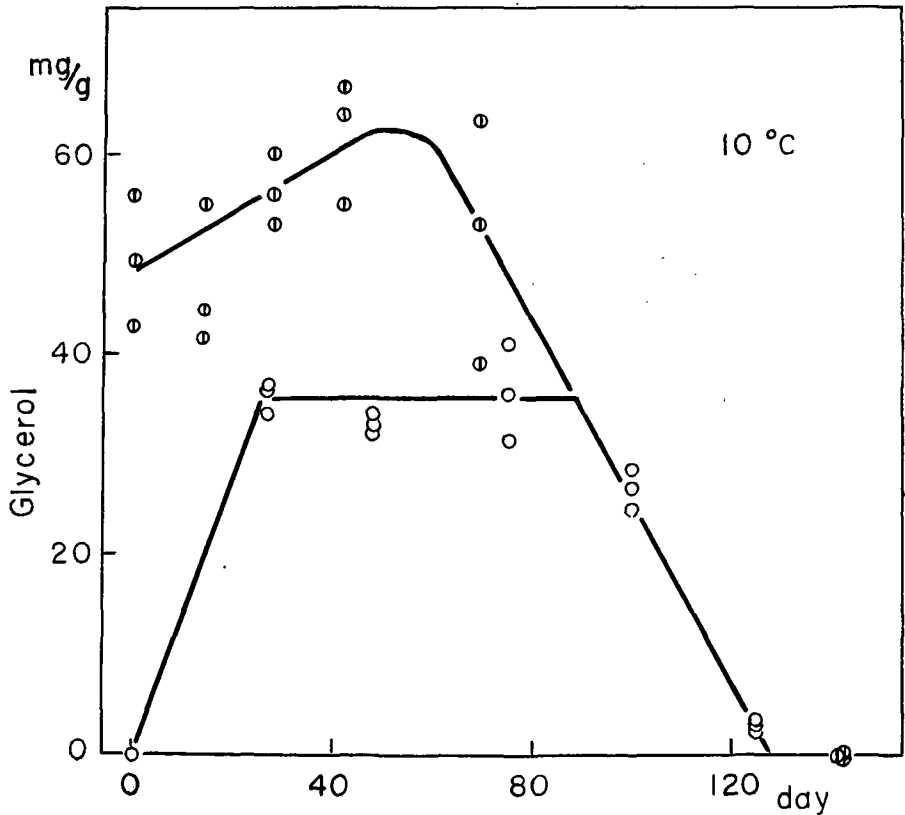
** 今年のイラガ前蛹は、20°C に保存したにも拘らず、可成りの数が休眠を終り、変態が進行した。最初それを見つけたのは 3 月 1 日で、7 月 7 日までに、その数は約 1200 ケ中少なくとも 225 ケに達した。しかし、今までにこのような例はなく、その原因は分らない。

*** 用いたツベリクリン用注射筒は、特に検定をしなかったため、この量は正確なものではない。

注射した薬物は次のようなもので、生理食塩水 (NaCl 1.12 g, KCl 0.024 g, CaCl₂ 0.027 g, NaHCO₃ 0.02 g, H₂O 100 cc) に溶解又は希釈して用いた。33%-グリセリン, 1/3 M-乳酸, 1/5 M-NaF, 1/50 M-モノヨード酢酸, 1/50 M-KCN, 0.013 M-ヘキソーズ 2 燐酸, 1/50 M-フェリシアン化カリ, 1/100 M-メチレンブルー, 4×10^{-3} M-2,4-ジニトロフェノール。

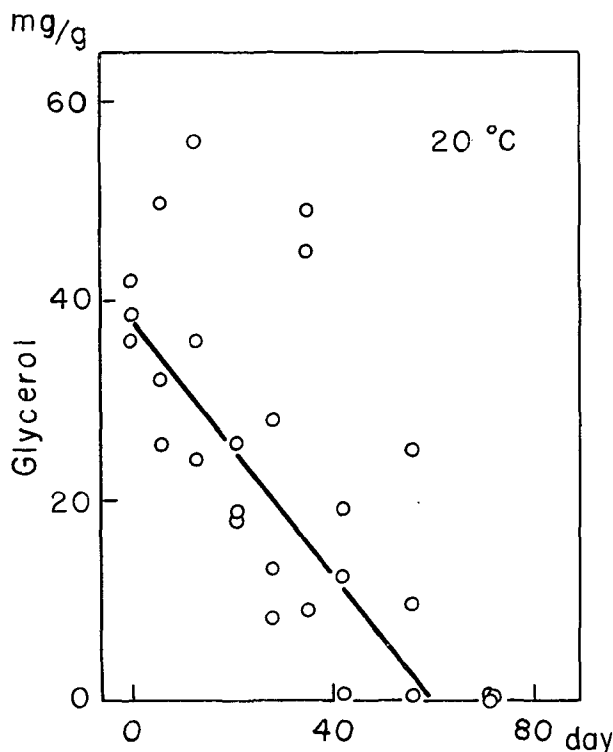
III. 実験の結果と考察

先ず、グリセリンを注射した前蛹を 10°C においた場合、10°C でのグリセリン生成に如何なる影響を及ぼすかを調べた。その結果を第 1 図に示す。測定値の振れは、各個体間で可成り大きい、その傾向は、この図から明らかである。対照 (無処理, 10°C) のイラガ前蛹で生成される最高値よりやや多いグリセリンを注射して 10°C においた前蛹では、グリセリン生成の速さは、対照の 1/4~1/5 位で、可成りの阻害を受けているように見える。生成されるグリセリン量も対照の約 1/2 位で、これも明らかに阻害されている。又、対照のように、グリセリンの最高値での或る期間の持続に、はっきりとは認められずにグリセリンは消失してしまう。この消失の速さは、測定値が少なくて明らかではないが、対照と殆んど変りない。又、グリ



第 1 図 10°C における注射したグリセリンの影響

○: 対 照 ⊙: グリセリン注射



第2図 20°Cにおける注射したグリセリンの変化

セリンが全く消失してしまう時期に関しては、この程度のグリセリンの量は影響しないように思われる。

一方、グリセリンを注射して、20°Cにおいた前蛹では、第2図に示すように、グリセリンの減少が起り、全く消失してしまうのに約60~70日要している。この消失の速さは、20°Cで約20日、又、10°Cで約40日を要する休眠の終わってしまった前蛹と比べると可成り遅い。しかし、この結果から見ると、初めから20°Cにおかれて、休眠の終わっていない前蛹でも、グリセリンを消失してしまう反応系は存在していることが明らかである。一方、10°Cにおかれた前蛹でも、この反応系が、この程度の活性を持ったままで存在するかどうかは、今のところ分っていない。

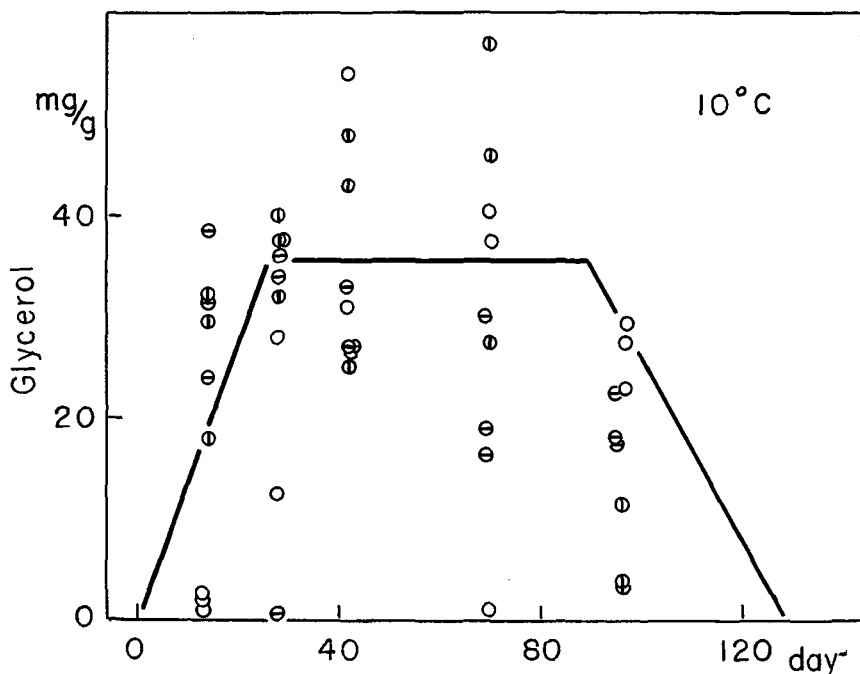
では初めから20°Cにおかれたイラガ前蛹には、グリセリン生成の系は全く存在しないのであろうか。上の結果は、グリセリンが蓄積されるか否かは、生成と消失の反応の平衡が何れの方に傾むくかによって決まることを思わせる。もしそうであるなら、20°Cでも適当な条件さえ与えられれば、グリセリンの蓄積は起っても良い筈である。乳酸を注射して、20°Cにおいたイラガ前蛹の結果(第1表)は、それを暗示しているように思われる。ここで定量されたグリセリンの量は、10°Cにおかれた前蛹に比べ問題にならない程僅かなものであるが、20°Cの対照と比較すれば明らかにグリセリンが生成されたと言ってよい。少なくとも或る条件の下では、第

第 1 表 グリセリン生成に及ぼす乳酸の影響

	乳 酸 注 射 後 の 日 数 (20°C)				
	0	14	28	52	66
グリセリン 含 量 (mg/g)	0	1.0 0.3 0.2	1.0 1.0 0.6	1.0 0.1 0.1	0.3 0.2 0.2

2 図に示したグリセリンを消失する反応系に見合うだけの生成系は存在していると言える結果である。このような 20°C でのグリセリンの生成からみて、多量の乳酸による焦性ブドウ酸から乳酸への反応の阻害、或いは乳酸から焦性ブドウ酸への逆反応によって DPNH が生じ、それがグリセリンの生成に利用された可能性が考えられる。又、これは乳酸デヒドロゲナーゼの存在を暗示する結果であるが、後に示す阻害剤を注射した実験から、対照のイラガ前蛹の体内で、この乳酸デヒドロゲナーゼが何らかの役割りを果しているかは疑問である。*Hyalophora cecropia* や *Samia cynthia* では可成り活性の高い乳酸デヒドロゲナーゼの存在が確められており、これら昆虫の体内では重要な役割りを持っていると考えられている⁵⁾。

第 3 図は、10°C におけるグリセリン生成に及ぼす、KCN, NaF, モノヨード酢酸の影響を示したものである。この結果も、各個体間の測定値の振れが大きく、定量的なことは言えな



第 3 図 10°C におけるグリセリン生成に及ぼす KCN, NaF, モノヨード酢酸の影響

⊙: KCN ○: NaF ⊖: モノヨード酢酸
実線は無処理の対照

いが、大体の傾向としては、対照と殆んど変わらないと言えそうである。ただ、NaFを注射した前蛹では、初めだけグリセリンの生成が阻害され、KCN、モノヨード酢酸を注射した前蛹では、対照より少し早くグリセリンが消失してしまう傾向がある。しかし、今の段階で、これらの点を説明することは不可能である。呼吸が著しく減退していると思われるこの時期のイラガ前蛹に、KCNが影響しないのは充分考えられることである。これと関連して、20°CでのKCNの影響も調べたが、20°Cでは対照と同様、グリセリンの生成は全く認められなかった。このKCNの結果から、20°Cでグリセリンが生成されない理由として、呼吸に関与する酵素系、特にKCN-sensitiveな酵素が、これと関係があると考えられる可能性は除外されるものと思われる。三炭糖リン酸デヒドロゲナーゼの阻害剤であるモノヨード酢酸やエノラーゼの阻害剤であるNaFが、グリセリンの生成に影響しないのは、三炭糖リン酸から乳酸への系が、グリセリン生成に関連のなさそうなことを示している。もし、この系がグリセリンの生成に重要な役割りを占めているとすれば、NaFを注射した前蛹では、三炭糖リン酸デヒドロゲナーゼ反応で生じるDPNHが、前蛹でのグリセリン生成に用いられ、それに対して認め得る程の影響を示しても良い筈である。又、消失するグリコーゲンの量と殆んど当量のグリセリンが生成されるから、この系のグリセリン生成への関与の程度は量的に認め得る程のものでないとも考えられる。これらの結果は、イラガ前蛹におけるグリセリンの生成に必要と考えられる還元型の補酵素は、解糖系から由来するものでないことを示しているように思われる。

その他、2,4-ジニトロフェノール、赤血塩、メチレンブルーなども、予備的実験として調べたが、10°Cでのグリセリンの生成に、殆んど影響しない結果が得られている。又、グリセリン生成の中間体と考えられる、ヘキソース2リン酸を注射した場合も、10°C、20°C共に、何等の影響も認められなかった。これはヘキソース2リン酸の透過性の結果かも知れない。

摘 要

この実験は、イラガ越冬前蛹におけるグリセリン生成の機構を明らかにする何らかの手掛りを得る為に行なったものである。前蛹に幾つかの薬物を注射して、10°C及び20°Cにおいた時、そのグリセリン生成に及ぼす影響を調べた。注射した薬物は、グリセリン、乳酸、KCN、NaF、モノヨード酢酸、2,4-ジニトロフェノール、赤血塩、メチレンブルー、ヘキソース2リン酸である。

生体重当たり約50 mgのグリセリンを注射して10°Cにおいた場合、その前蛹のグリセリン生成の速さは、対照の約1/4~1/5まで、阻害された。又、生成されるグリセリン量も、対照の約1/2であった。約40 mg/gのグリセリンを注射して、20°Cにおいた休眠中の前蛹では、60~70日の間に、そのグリセリンは完全に消失してしまった。この結果は、イラガ前蛹におけるグリセリン消失の為に、休眠の終ることが、必ずしも必要ではないことを示しているように思われる。勿論、休眠の終ってしまった前蛹に比べると、の場合のグリセリンの消失の速さはかなり遅い。

乳酸を注射して、20°Cにおいた前蛹で、僅かながらグリセリンの生成が認められた。通常

20°Cではグリセリンは生成されないが、適当な条件を与えれば、この温度でも、グリセリンの生成が可能なことを、この結果は示している。注射した他の薬物は、10°Cにおけるグリセリン生成に、何らの影響も示さなかった。

終りに、御指導下さった朝比奈教授に感謝する。

文 献

- 1) 竹原一郎・朝比奈英三 1960 イラガ越冬前蛹のグリセリン (予報). 低温科学, 生物篇, **18**, 51-56.
- 2) 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, 耐凍性に及ぼす環境温度の影響. 低温科学, 生物篇, **19**, 29-36.
- 3) Asahina, E. 1959 Diapause and frost-resistance in a slug caterpillar. Kontyû, **27**, 47-55.
- 4) 竹原一郎・朝比奈英三 1959 越冬昆虫の体内にあるグリセリンについて. 低温科学, 生物篇, **17**, 159-163.
- 5) Wilhelm, R. C., Schneiderman, H. A. and Daniel, L. J. 1961 The effect of anaerobiosis on the giant silkworms *Hyalophora cecropia* and *Sami cynthia* with special reference to the accumulation of glycerol and lactic acid. J. Ins. Physiol., **7**, 273-288.

Summary

The purpose of this study is to get some clue toward clarification of the mechanism of glycerol formation in the insect *Monem flavescens*. Overwintering prepupae of this caterpillar were injected with portions of Ringer's solution containing one of the following reagents respectively: glycerol, lactic acid, KCN, NaF, monoiodoacetic acid, 2,4-dinitrophenol, $K_3Fe(CN)_6$, methylene blue, hexose-diphosphate.

At a constant temperature of 10°C, an injection of glycerol (ca. 50 mg/g fresh body weight) considerably inhibited glycerol formation in the prepupa. The rate of the glycerol formation was 1/4-1/5 of that in the normal prepupa and the maximum content of formed glycerol was about 1/2 of the normal maximum. At 20°C, glycerol (ca. 40 mg/g) injected into a diapausing prepupa completely disappeared within 60-70 days after injection. Therefore, the termination of diapause seems to be not necessary for the disappearance of glycerol in the insect. The decrease of glycerol in a diapausing prepupa was, however, slower than in a post-diapausing one.

As a result of the injection of lactic acid, a little glycerol formation was observed at 20°C. The finding suggests that glycerol formation is possible under appropriate conditions even at 20°C in this insect in which glycerol increase has been hitherto observed at temperatures only around 10°C. The other reagents used has no effect on glycerol formation at 10°C.