HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	ポプラハバチ前蛹の凍結による休眠の終止
Author(s)	丹野, 皓三
Citation	低温科學. 生物篇, 25, 97-103
Issue Date	1967-12-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/17723
Type	departmental bulletin paper
File Information	25_p97-103.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

Kouzou TANNO 1967 Immediate Termination of Prepupal Diapause in Poplar Sawflys by Body Freezing. *Low Temperature Science, Ser.* ***B, 25.*** (With English Summary p. 103)

ポプラハバチ前蛹の凍結による休眠の終止*

丹 野 皓 三
(低温科学研究所 生物学部門)

(昭和42年9月受理)

I. 緒 言

休眠期の昆虫に外部から物理的或いは化学的刺激を加える事により，その休眠を終止させ得る事実が知られている。この様な物理的刺激として，電気，摩擦，刺傷，焼灼，高温衝撃等が或る種の昆虫において有効である[1]。

ポプラハバチの前蛹がかなり低温度での凍結にも耐えて生存出来る事実は先に報告されているが[2,3]，今回は休眠期のこの虫の前蛹をある温度以下で凍結させるとごく短時間の凍結でその休眠が終止する事実を見いだしたので報告する。

II. 材料と方法

材 料： 1966年の8月中旬から9月の初旬にかけてポプラハバチ *Trichiocampus populi* Okamoto の終齢幼虫を札幌で採集した。先報と同じ方法[4]でこの虫に枯れたオオハンゴンソウの茎を10 cmほどの長さに切ったものを与えると，中空になっているその髄の中に虫はすぐもぐりこみ，3日後に繭を完成して前蛹に変態した。これを外気温と同じにさせた日光の当らない飼育室に保存した。気温が0°C近くになった12月5日に一部の前蛹を2°Cに移して保存した。今までの耐凍性等の実験は，ほとんど雌の個体を使って行なっていたので，今回も雌の個体だけを使って実験した。

休眠の判定： 前蛹を20°Cの恒温に移し，その温度で前蛹が正常に変態をするかどうかを観察した。蛹化する事が出来た前蛹を休眠が終止したものとし，変態をはじめなかったものを休眠中のものと判定した。

凍結の方法： 通常10個体の前蛹をペトリ皿にとり，低温室内の恒温箱に入れて凍結させた。凍結温度として −5°Cから −30°Cまで5°Cおきにそれぞれ用い，30分，1, 7, 14, 21日間それぞれ凍結させた。この虫の過冷却点は −8.6±0.4°Cなので[5]，−10°C以低の気温では植氷しなくても約10分間ほどで虫体は凍りだす。−5°Cでの凍結は，初めに −10°Cの空気中で虫体の凍結をおこさせてから数分のうちに −5°Cに移して行なわれた。

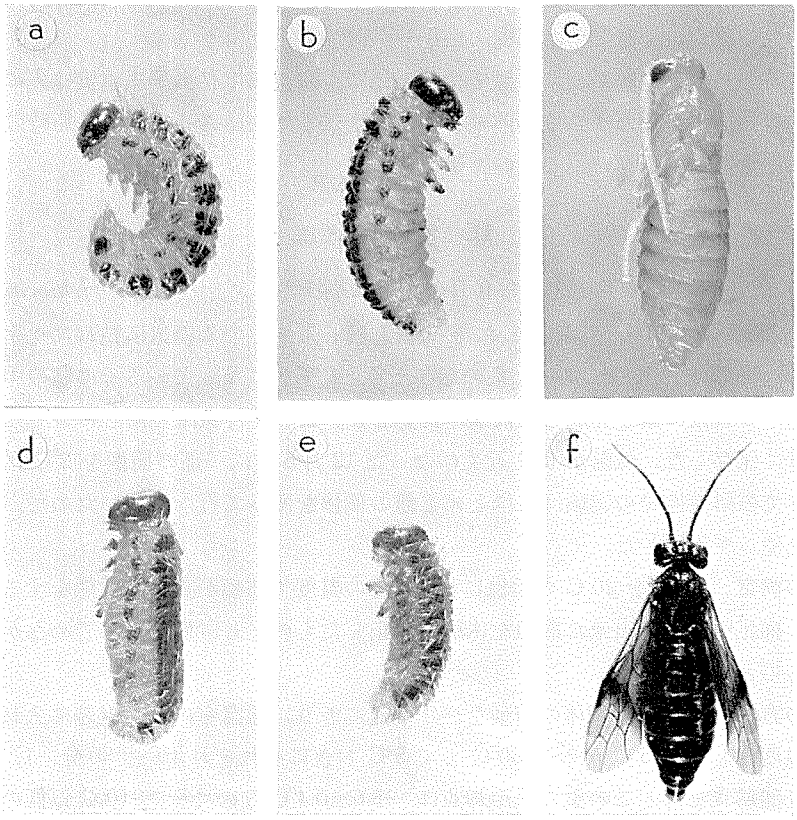
* 北海道大学低温科学研究業績 第857号

III. 結　　果

1. 20°C での前蛹の変化

休眠中の前蛹と休眠を終止したものとを 20°C の恒温において，その後の変態の様子を観察した（第1図）。越冬期の前蛹を繭から取り出しても繭の中にいたときと同じように虫体を半円形に曲げている（第1図-a）。この時期に休眠が終止しているかどうかを外形から判断する事は出来ない。この前蛹を外気温から 20°C の恒温に移すと，休眠がすでに終止している場合には変態を始め，恒温に移してから約20日たつと外見が棒状に近づく（第1図-b）。このように変形してから約10日たつと蛹に変態し（第1図-c），蛹の時期を約10日間過ごして成虫になる（第1図-f）。

一方，休眠中の前蛹を 20°C の恒温に移した場合には正常な変態は見られない。約半数の



第1図　ポプラハバチ前蛹の変態

a：越冬期の前蛹
b：生常に発生が進んでいる前蛹（20°C に移してから20日目）
c：正常な蛹（32日目）
d：20°C に移された休眠中の前蛹（20日目）
e：20°C に移された休眠中の前蛹（90日目）
f：正常な成虫（45日目）

前蛹はまったく変態することなく恒温に移してから20日ほどで死亡した。残りのものは恒温に移してから約20日たつと棒状を呈して来た（第1図-d)。しかし，この棒状の前蛹はその尾部の数体節が越冬期のかたちのままであり，外見が正常なものとは異なっている。この様な形態のまま30日間ほど生存しているが，蛹化するものはなくすべて死亡した。少数のものはこの様な異常のまま90日近く生存していたが虫体が非常に収縮して，やがて蛹化することなく死亡した（第1図-e)。

2. 凍結による休眠の終止

休眠中の前蛹を −30°C で20時間凍結させ融解後に 20°C の恒温に移すと，前蛹は成虫まで変態した。この事実は虫体の凍結によりその休眠が終止する事を意味している。それで，凍結と休眠の関係を調べてみた。第1表を見ると，−10°C 以上の温度での凍結では21日間凍結しておいても休眠は終止しない。−30°C での凍結は前蛹の休眠を終止させるのに非常に有効である。この場合の凍結日数は休眠を終止させるのに関係がない。次に −10°C と −30°C との間の凍結温度をいくつか選んで休眠の終止との関係を調べた。結果を第2表にまとめた。−10°C より高い温度での凍結では前蛹の休眠を終止させることは出来なかった。−15°C での凍結により少数のものが休眠を終止した。−20°C 以低の温度での凍結は前蛹の休眠を終止さ

第1表　冷却時間と休眠の終止　1966. 12. 5

温度 (°C)	凍結日数 (°C)				
	1	4	7	14	21
0 未凍結	—	—	—	—	0
−5 過冷却	0	0	0	0	0
−5 凍結	0	0	0	0	0
−10 凍結	0	0	0	0	0
−30 凍結	5	7	8	6	6

数字は使用した10個体のうち休眠を終止した個体数を示す。

第2表　凍結温度と休眠の終止　1967. 2. 24

凍結時間 (hrs)	凍結温度 (°C)						
	未凍結	−5	−10	−15	−20	−25	−30
0.5	0	0	0	2	6	7	8
24	0	0	0	3	7	7	7

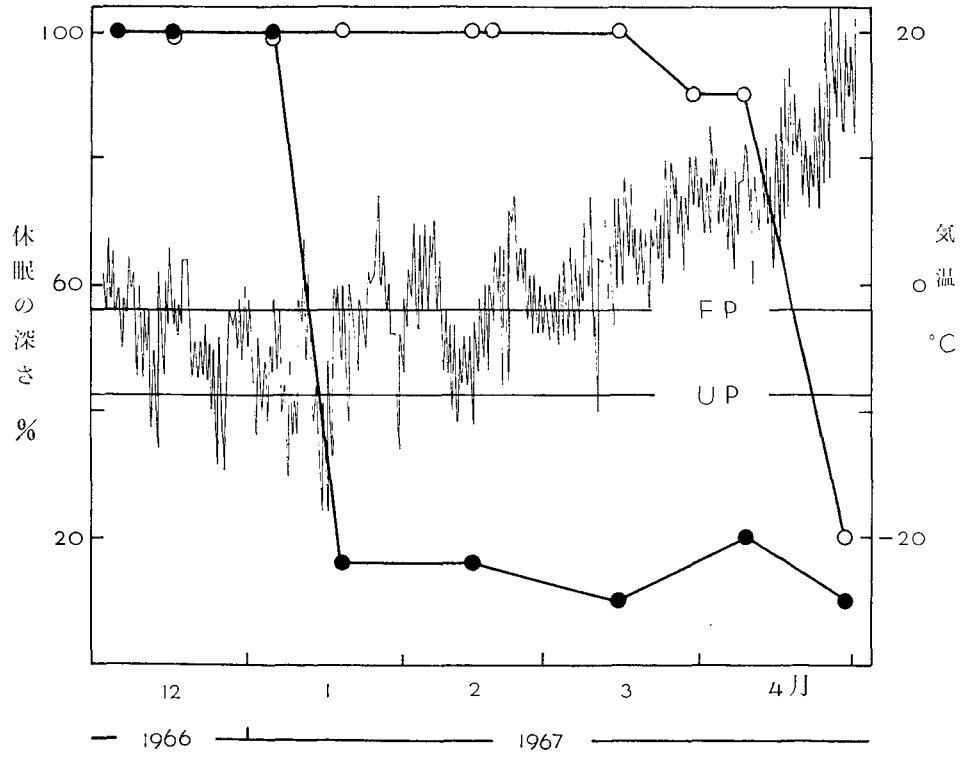
使用した前蛹は 2°C に保存しておいた休眠中のものである。数字は使用した10個体のうち休眠を終止した個体数を示す。

せるのに非常に有効であった。凍結時間として30分と24時間を選んだが，この両者の間には休眠を終止させる効果の点で差はなかった。この様に −15°C 以低の温度で虫体を凍結させると30分間ほどの短かい時間の凍結でも前蛹の休眠が終止する事実が明らかになった。

3. 自然環境に近い状態での休眠

ポプラハバチの前蛹は8月中旬から9月の初旬にかけてその食草であるポプラの近くにある立ち枯れたニワトコの髄や立木の表皮のくぼみ，又地面に倒れたオオハンゴンソウ等の髄の中に入って繭を作り越冬する。そのために越冬期には雪面より上に出て外気温にさらされるものと雪面下の0°C近くの温度で越冬するものとがある。そこで外気温と同じにさせた飼育室に保存した前蛹と12月の初めから2°Cに保存したものとを比較しながらその休眠を調べた。

結果を第2図に示した。外気温が前蛹の過冷却点（−8.6±0.4°C）以下になるとその温度にさらされた前蛹は凍結し，前蛹の氷点に気温が上昇すると虫体内の氷は融解する。前蛹の体重は75 mg 程度であり，室温から空気中で −30°C の温度まで冷却させるのに約20分ほどしかかからない事実から考えて，外気にさらされた前蛹の体温は凍結後と融解後の数十分間をのぞいて外気温とほゞ同じであったと思われる。



第2図 ポプラハバチ前蛹の休眠と気温

●： 外気温におかれた前蛹の休眠
○： 2°Cにおかれた前蛹の休眠
FP： 前蛹の氷点（氷が虫体内に共存できる最高温度）
UP： 前蛹の過冷却点

外気温にさらされた前蛹は1月の5日まで三回の凍結融解を繰返している。最初は12月13日から14日にかけて34時間凍結しており，この間の最低気温は −13°C であった。二回目と三回目は12月24日から28日にかけてと1月3日から6日にかけてであり，凍結時間とその間の最低気温はそれぞれ86時間 −14.5°C と81時間 −12°C であった。1月の5日には休眠を終止した前蛹はひとつもなかった。ところが1月19日にはほとんどの前蛹が休眠を終止していた。この間に前蛹は凍結融解を二回繰返している。1月8日から11日にかけてと1月13日から18日にけてそれぞれ凍結しており，凍結時間とその間の最低気温はそれぞれ85時間 −15°C と126時間 −18°C であった。1月の5日にはまったく休眠を終止した前蛹がなかったのに1月19日にはほとんどの前蛹が休眠を終止していた事実は第1表と2表の実験結果に良く一致しており，1月15日と16日に気温が −18°C まで降下したためであると考えられる。

一方 2°C に保存した前蛹は3月の中旬まで休眠を終止したものはなかった。4月の初めになると少数の前蛹が休眠を終止し，やがて4月の下旬にはほとんどのものが休眠を終止した。

IV. 考　　察

ポプラハバチの前蛹が −30°C 以低の温度での凍結にも十分に耐えて生存出来る事実はすでに報告している[2,3]。今回も外気温と同じ温度においた材料はもちろん，2°C に保存しておいたものも実験期間である12月の初めから翌年の4月下旬までの間，いずれの時期にも −30°C よりも高い温度で24時間の凍結に耐えた。この実験では凍結による害はあらわれていないから，20°C に移した前蛹が正常に変態しない場合はその原因は前蛹の休眠が終止していなかったためであると思われる。

虫体の凍結によってなぜポプラハバチ前蛹の休眠が終止するのか。ポプラハバチの休眠についてはまだまったく調べられていないので，他の昆虫の休眠について知られている事実から考えてみた。

Williams はセクロピア蚕 *Hyalophora cecropia* の蛹の休眠が脳ホルモンの欠乏により起こされる事を報告した[6]。深谷等はニカメイガ *Chilo suppressalis* の幼虫を用いて休眠中及び休眠を終止した場合のアラタ体を観察した。それによると休眠期のアラタ体は細胞の中に多くの液胞を持っており組織学的に活性であるが，休眠を終止するとアラタ体は小さくなり不活性になる。この事実と脳の移植等の実験から深谷は次の仮説を提示している[7,8]。休眠中の虫のアラタ体から分泌されるホルモンが脳や前胸線の神経分泌の活性を阻害している。

この仮説がノシメマダラメイガ *Plodia interpunctella* の幼虫の休眠でも成立する事が見られている[9,10]。ヒサゴスズメ *Mimas tiliae* の場合は，その蛹の休眠は脳によっても支配されているがやはりアラタ体によって支配されている[11]。これらの事から Gilbert はアラタ体が程度の差こそあれ明らかに休眠を支配している事を認めている[12]。

さて，ここでポプラハバチ前蛹の休眠においても活性化したアラタ体が休眠を支配していると仮定すると，次に記した考えが成り立つ。休眠中のポプラハバチの前蛹を凍結させると，活性化しているアラタ体が凍結に対して敏感に反応し，その結果アラタ体は不活性化するため

に脳は活性化し，そして休眠が終止する。アラタ体に対する凍結の影響を観察していないが，活性化したアラタ体が凍結によって特に敏感に反応し影響を受け易いであろうと考えられる。その根拠はポプラハバチの前蛹において活動状態の個体又は脂肪組織は不活動状態のものにくらべて凍結に対してより敏感に反応し，条件によっては害を受けて死亡する[13]。活動状態の昆虫が不活動状態のものにくらべて凍結により，より影響を受け易い現象は他の多くの昆虫，例えばイラガ *Monema flavescens* やムネアカオオアリ *Camponotus obscuripes obscuripes* 等で知られている[14,15]。

V. 摘　　要

1. 休眠中のポプラハバチの前蛹を −15°C 以低の温度で凍結すると 30 分間で休眠が終止した。−15°C の凍結で使用頭数の 25 パーセントの前蛹が休眠を終止し，−20, −25 及び −30°C の温度での凍結では平均 67 パーセントのものが休眠を終止した。−10°C 以高の温度では 21 日間前蛹を凍結させても休眠の終止するものはなかった。凍結により休眠を終止する虫のパーセントは凍結温度だけに関係し，凍結時間を 30 分から 21 日間まで延長しても休眠が終止するパーセントは変化しなかった。

2. 外気温にさらされた前蛹は 1967 年の 1 月 5 日から 1 月 19 日の間に休眠を終止した。これは 1 月の 15 日と 16 日に気温が −18°C まで降下したために前蛹が凍結してこの温度まで冷却された結果であると考えられる。

3. 気温が 0°C 近くになる 12 月初旬に外気温から 2°C に移して保存した前蛹は，3 月の中旬まで休眠を終止したものはなかった。4 月の下旬にはほとんどのものが休眠を終止した。

終りに，この報告にあたり御校閲下さった朝比奈教授に感謝する。

文　　献

1) Lees, A. D. 1955 The Physiology of Diapause in Arthropods. Cambridge Univ. Press, London and New York. 151 pp.
2) Asahina, E. and Tanno, K. 1964 A large amount of trehalose in a frost-resistant insect. *Nature*, ***204***, 1222.
3) Tanno, K. 1967 Freezing injury in fat-body cells of the poplar sawfly. *In* Cellular injury and resistance in freezing organisms (E. Asahina *ed.*) Press, Sapporo Japan, *Proc. International Conf. Low Temp. Sci.*, Vol. ***2***, 245–257.
4) 丹野皓三 1965 ポプラハバチの耐凍性 III. 耐凍性と糖含量. 低温科学, 生物篇, ***23***, 55–64.
5) 丹野皓三・朝比奈英三 1964 ポプラハバチの耐凍性 I. 低温科学, 生物篇, ***22***, 59–70.
6) Williams, C. M. 1946 Physiology of insect diapause: The role of the brain in the production and termination of pupal dormancy in the giant silkworm, *Platysamia cecropia*. *Biol. Bull.*, ***90***, 234–243.
7) Fukaya, M. and Mitsuhashi, J. 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. Entomol. Zool.*, ***1***, 145–154.
8) Fukaya, M. and Mitsuhashi, J. 1961 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. Entomol. Zool.*, **2**, 223-226.

9) Waku, Y. 1960 Studies on the hibernation and diapause in insects IV. Histological observations of the endocrine organs in the diapause and non-diapause larvae of the indian meal-moth, *Plodia interpunctella* Hübner. *Sci. Rep. Tohoku Univ. Ser.* IV (Biol.), **26**, 327-340.

10) Waku, Y. 1960 Studies on the hibernation and diapause in insects V. Respiratory metabolism and enzyme activity in the diapause and non-diapause larvae of the indian meal-moth, *Plodia interpunctella* Hübner. *Sci. Rep. Tohoku Univ. Ser.* IV (Biol.), **26**, 341-352.

11) Highnam, K. C. 1958 Activity of the brain/corpora cardiaca system during pupal diapause 'Break' in *Mimas tiliae* (Lepidoptera). *Quart. J. Microscop. Sci.*, **99**, 73-88.

12) Gilbert, L. I. 1964 Physiology of growth and development : Endocrine aspects. *In* The physiology of Insecta (M. Rockstein *ed.*) Academic Press, New York, Vol. **1**, 149-225.

13) 丹野皓三 1965 ポプラハバチの耐凍性 II. 脂肪細胞における細胞外凍結と細胞内凍結. 低温科学, 生物篇, **23**, 47-53.

14) 朝比奈英三・竹原一郎 1964 イガラ越冬前蛹の耐凍性. 補遺 I. 低温科学, 生物篇, **22**, 71-90.

15) 丹野皓二 1962 ムネアカオオアリの耐凍性とグリセリンの関係. 低温科学, 生物篇, **20**, 25-34.

Summary

Immediate termination of diapause occurred in prepupae of poplar sawflys, *Trichiocampus populi* Okamoto, following body freezing bolow −15°C for 30 minutes. No prepupa, however, terminated its diapause after body freezing at −10°C, even when the duration of body freezing was prolonged for 21 days. There was no relationship between the freezing time and the percentage of terminating diapause at any freezing temperature. 25 percent of prepupae terminated their diapause after body freezing at −15°C, and after body freezing at temperatures below −20°C, 67 percent of prepupae in average terminated their diapause.

2. The cooling to temperatures below −8.6°C in the prepupa invariably caused freezing. Overwintering prepupae kept at outdoor temperatures terminated their diapause some time between 5th and 19th of January. It seems that the falling of outdoor temperature to −18°C on 15th and 16th of January resulted in their termination of prepupal diapause.

3. Prepupae kept at 2°C from the end of autumn maintained their diapause till the middle of March in the following year. Almost all of them terminated their diapause at the end of April.