HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	越冬昆虫の耐寒性　II ： ヒメバチ成虫 Chasmias sp. の耐凍性とグリセリン
Author(s)	大山, 佳邦; OHYAMA, Yoshikuni; 朝比奈, 英三 他
Citation	低温科學. 生物篇, 28, 79-85
Issue Date	1971-01-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/17773
Type	departmental bulletin paper
File Information	28_p79-85.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

Yoshikuni Ohyama and Éizo Asahina 1970 Frost Resistance and Glycerol in Overwintering Adult Wasp *Chasmias* sp. *Low Temperature Science, Ser.* ***B, 28.*** (With English Summary p. 85)

越冬昆虫の耐寒性 II*

ヒメバチ成虫 *Chasmias* sp. の耐凍性とグリセリン

大山佳邦
(北海道大学大学院理学研究科)

朝比奈英三
(低温科学研究所)

(昭和45年9月受理)

I. 緒言

越冬昆虫で，その体が凍結しても何ら害を受けないものがあることは以前から知られており，このような耐凍性の機構について多くの研究がなされている[1]。これらの研究のほとんどは材料として幼虫や蛹（前蛹を含む）の時期の昆虫を用いており，成虫についてはつい最近まで耐凍性をもつものがあることさえ知られていなかった。朝比奈と丹野がヒメバチの一種 *Pterocormus molitorius* で −10°C, 24時間の凍結に耐えることを報告し[2]，アラスカ産のゴミムシで Miller は −35°～−40°C の凍結に耐えるものを報告している[3]。またわれわれは2, 3の甲虫がやはり −10°C の凍結に耐えることを報告した[4]。これらの昆虫のうち特にエゾマイマイカブリは自然の越冬状態で凍結したままの個体が発見され，融解後正常に活動することが観察されている[4]。

越冬時期の昆虫で，しばしばかなりのグリセリン含量を示すものがあることが知られている。このため昆虫の耐凍性の原因は，その昆虫に含まれるグリモリンが凍害に対する保護作用をもっているからではないかと考えられたこともあった[5]。しかしその後グリセリンをもつものが必ずしも耐凍性があるというわけではないことがわかった[1]。他方グリセリンは耐凍性と関連しなくとも，それが体内に多量に蓄積されることによってその昆虫の過冷却点の低下がみられ，その結果耐寒性が増すということが知られている[6,7]。そこでわれわれは越冬中のヒメバチ成虫を材料として，この昆虫のグリセリン含量と，耐凍性及び過冷却解力との関係をしらべてみた。

なお，実験材料のヒメバチを同定して下さった鹿児島大学農学部の櫛下町鉦敏博士に深謝する。

II. 材料及び方法

材　料：用いられた材料はヒメバチの一種，*Chasmias* sp. である。これは1969年より1970

北海道大学低温科学研究所業績　第1120号

年にかけて北大植物園の自然林内にあるかなり腐朽の進んだ倒木中で越冬しているものを採集した。

Chasmias 属は日本から3種が記録されているが，実験に用いたものはそのいずれにも属さず，日本からは未記録の種であった。*Chasmias* 属は北米ではヤガ科の寄生蜂として知られているが，日本の種の寄主は未だ知られておらず[8]，従って生活史なども詳しくは知られていないと思われる。今回の観察からすると，10月の中・下旬には成虫の♀はかなり腐朽の進んだ倒木内の越冬場所に入っていると思われる。越冬場所は以前に他の昆虫などがあけた穴で，特別な構造のものではない。

耐 凍 性：乾いたペトリ皿にヒメバチを取り，それぞれの温度に保った恒温箱内に置き，自発凍結させ，24時間後に取り出し室温の空気中で融解した。融解後は15～17°Cの室温におきハチには湿した濾紙のみを与え，生存日数その他を観察した。

過冷却点：ヒメバチを綿にくるみ，ビニール・テープで止め，その中に熱電対先端が体表に接するようにさし込む。これを3重にしたプラスチックのビン中に吊し，約 −28°Cの空気中で冷却した。このときの冷却速度は0°Cを通過するときに1～1.5°C/分であった。この温度変化を電子管式記録計で自記させ，そのとき得られた凍結曲線より過冷却点を求めた。

グリセリンの定量：1度に3～5匹のヒメバチを80%エタノール中ですりつぶしてグリセリンを抽出し，これを竹原の方法[9]で定量した。また同時にこのハチに含まれるグリコーゲンも竹原と同じ方法で定量した。

III. 結　　果

耐 凍 性：越冬中のハチを採集後間もなく，−10°Cより −30°Cまでの温度範囲で耐凍性をしらべた結果を第1表に示す。

−10°C，24時間の凍結は対照に較べて幾分早く死亡する個体がみられるが，多くのものにとって凍結は無害である。融解後の行動をみても未処理の個体と同様に正常に翅を閉じることができ，室温に置けば活発に歩き，飛ぶこともできる。

−15°C，24時間の凍結では翅を後上方にあげて閉じることができない個体がみられたが，中には正常に翅を閉じ全く害を受けなかったようにみえるものもいた。翅が後上方に上るのは飛翔筋が凍結・融解後強直状態になったためと思われるが，この変化は不可逆的なものがほとんどであった。

−20°C，24時間の凍結後，ハチは例外なく正常な行動を恢復できず，脚を引きずって歩行するようになる。しかし融解後直ちに死ぬわけではない。正常に翅を閉じることのできる個体もあり，閉じることのできない個体でも歩くことはでき何日間か生存した。12月中に凍結したものと翌年の4月に凍結したものを比べてみると，4月に凍結したものの方は全て翅を閉じることができず，融解後の生存日数も幾分短いようにみられたが，本質的な差は認められなかった。

−30°C，24時間の凍結では融解後全く生存のきざしは認められなかった。

越冬中のハチをいったん室温に置くと活発に運動し始める。このように活動しはじめて

第1表　*Chasmias* sp. 越冬成虫の耐凍性，凍結時間は24時間

凍結温度	融解後の生存日数（個体数）*	備考
−10°C	0〜10 11〜20 (2) 21〜30 (4) 31〜 (6)	翅を閉じ，正常な行動を恢復する
−15°C	0〜10 11〜20 (1) 21〜30 (1) 31〜 (1)	飛翔筋の強直のため翅を後上方にあげているものがある
−20°C	0〜10 (4) 11〜20 (4) 21〜30 (2) 31〜	半数以上は翅を後上方にあげていた
−30°C	0〜10 (5) 11〜20 21〜30 31〜	融解後生存のきざしは全くみられなかった
対照	0〜10 11〜20 21〜30 (1) 31〜 (2)	

* 融解後は湿した濾紙のみを与え，他に食物は与えなかった

1週間経過した個体は −10°C，24時間の凍結でも，融解後生存のきざしは全く認められなかった。このとき体内にはグリセリンの痕跡もとどめなかった。

また −10°C で長時間凍結を行なったが，40日間の凍結の後融解した場合少なくとも数日間は正常であった。

グリセリン含量の変動： 越冬昆虫でしばしば見られるように，この昆虫にもかなりの量のグリセリンが見出された。その季節的変動は第2表に示す。12月の中旬以降急速に増加し，1月の上旬には最高水準に達するらしい。

今まで日本産の種々の昆虫でグリセリン含量の調査がなされているが，生体量の約10%という高い値が測定されたのは今回が最初である。ただしカナダ産のヤドリバチ *Bracon cephi* では生体重の約25%[10]，アラスカ産のゴミムシ，*Pterostichus brevicornis* ではやはり23%[7]という高い値が報告されている。

4月の始め，ヒメバチの越冬場所である倒木はまだ雪の下にあり，その倒木に含まれている水分は凍結したままであるときに，その中から採集したヒメバチのグリセリン含量は真冬の最高値の半分以下に低下していた。0°〜−1°C の雪の下でこの様に虫体のグリセリン含量が低下するのは意外であった。また12月のグリセリンが増加しつつあるときに −10°C に約40日

第2表 越冬中のヒメバチのもつグリセリン，グリコーゲン含量（生体重1g当り）と過冷却点の季節的変化

月 日	グリセリン (mg/g)	グリコーゲン (mg/g)	過冷却点 (°C)
1969			
[XI 8]	+	17.5	—
XI 11	—	—	−6.4, −5.0
XI 21	11.4	16.1	—
XI 23	—	—	−5.5, −3.5
[XII 11]	15.6	13.4	—
XII 20	48.4 63.0	5.1 5.1	—
1970			
II 3*	100	1.0	—
II 10	—	—	−6.1, −7.6, −5.7
[II 11]	96.1	2.8	—
[IV 6]	36.9	4.1	—
IV 7	—	—	−6.7, −5.1, −4.9
IV 19**	37.5	3.5	—
IV 26***	trace	4.6	−1.9, −2.7 −3.0, −4.0

[ ] 採集後直ちに固定したもの，即ち自然状態での含量を表わしている
無印は採集のとき得られた木屑と共に外気温または雪中に置かれたもの
\+ 定性のみ行なったが，生体重1g当り10mg位のグリセリンはあったと思われる
* 12月20日から40日間 −10°C
** 4月6日から2週間 2°C
*** 4月19日から1週間室温

間凍結したまま置かれたもののグリセリン量は約2倍に増加した。

グリセリンはグリコーゲンから変換されることが知られているので[11,9]，同一の試量からグリコーゲン含量の定量も行なった（第2表）。グリセリンの増加と共にグリコーゲン量は低下する傾向にあるが，しかしグリセリンの増加する量に見合うだけのグリコーゲン量は見出されなかったので，別の物質例えば脂質などから変換していると考えられる。

過冷却点： 過冷却点の測定はグリセリン含量が生体重1gに対してそれぞれ11.4，96.1，36.9mgのときに行なったが，それぞれのグリセリン含量のときで過冷却点に大きな違いはみられなかった（第2表）。このヒメバチのように多量のグリセリンを有する越冬昆虫で過冷却点がこの様に高い温度にあることはまれで，何か特別な理由がこのヒメバチの体内にはあるように思われる。また室温に1週間おいてグリセリンが全く見出されなくなったものでは少々過冷却点が上昇しているようである。

IV. 考 察

このヒメバチは札幌での観察によると，10月下旬には越冬場所である朽木内に入り，その朽木は12月の中旬（1969年の観察）には積雪におおわれていた。このヒメバチの過冷却点は

−5°〜−6°C で，越冬昆虫としては高い温度にあるとはいえ，札幌での採集の度毎に測定した朽木内の温度から判断して越冬中に虫体の凍結が起こる可能性はまずないであろう。積雪の少ない，もっと寒冷な地方では朽木内の温度がこの過冷却点以下に低下することはあり得る[4]。苫小牧の北大演習林で1969年の秋に朽木中よりこのヒメバチを得たことがある。この地方は札幌よりはるかに積雪が少なく，冬期の気温も低いので，あるいはこの地方ではヒメバチの過冷却点以下の温度にさらされることがあるかも知れない。

12月の中旬にヒメバチのいる朽木は積雪におおわれてしまい，それ以降，翌年の4月になっても積雪内にあった。この間朽木の温度は0°Cより少し低く，あまり大きな温度変化は受けていないはずである。他方この期間に虫体のグリセリン含量は生体重1gあたり15.6 mg (12月)，96.1 mg (2月)，36.9 mg (4月) と大きく変動している。丹野によればアリを0°Cに置くことによってグリセリンを体内に蓄積させることができる[12]が，グリセリンをもっているアリを約1月半0°Cに置くとグリセリンは全く見出されなかったという事実もある (佐藤，未発表)。またイラガの越冬前蛹で秋のうち未だグリセリンの蓄積されていないものを10°Cに置くと，約40日でほぼ最高水準に達する。さらに同じ温度に保っておくと約50日後に減少し始め，約30日を経てグリセリンは消失する[9]。ヒメバチのグリセリン含量の変動も恒温状態に保った上述の結果と同じような経過をたどる断面をみているのであろう。

このヒメバチではグリセリンの増加に見合うだけのグリコーゲン量が見出されなかったがSaltは *Bracon cephi* を用いた実験で，やはり増加するグリセリンに見合うだけのグリコーゲンが当初の時期の虫体に見出されなかったことを述べている。そしてエーテルで抽出した粗脂肪の量の変動から，グリセリンの一部は脂肪から由来する可能性を暗示している[13]。

このヒメバチの過冷却点は越冬昆虫としては高い方の部類に属する。成虫で越冬する昆虫は過冷却点が高くなる傾向がある。グリセリンや他の多価アルコールなどが蓄積されると体液の氷点が低下し，また過冷却点が下るという事実がある[6,7,13]。しかしこのヒメバチではグリセリン含量と過冷却能力との平行関係は春期グリセリンが消失する時を除いては認め難い。氷核は水分子のみの凝集によってできるのではなく，そこに含まれる物質やそれを入れる容器の表面を含めて異物の表面で形成されるのが普通であるといわれている[14]。虫体内での氷核形成はおそらくこの様式であり，凍結開始を支配する要因は温度の他に氷核形成物 (nucleator)[14] の質と量とが大きく効いているので，グリセリン含量と過冷却能力との平行関係は一般に適用できるわけではない。われわれは越冬中のムネアカオオアリの凍結過程を調べた実験で，消化管内の凍結は約 −8.5°C で起き，体組織はさらに冷却されてはじめて凍結することを示した[15]。このことは約 −8.5°C で活性化する氷核形成物が消化管内に存在し，体組織の方はさらに低い温度でなければ凍結しないことを示している。消化管内のものを排出してから蛹化する蛹は容易に過冷却し，多くの越冬昆虫では −20°C 以下の過冷却点をもつ[1]。このヒメバチは最高時に生体重の約10% のグリセリンを蓄積するので，その体液の過冷却点はおそらく −10°C よりはるかに低いと思われるが，このときも −6〜−7°C で虫体が凍結し始める。この様に多量のグリセリンをもちながら過冷却能力の低い越冬昆虫はめずらしく，このハチの体内，おそらく消化管内には −6°C 付近で強く活性化する氷核形成物を含んでいると思われる。

V. 摘　　要

越冬中のヒメバチ，*Chasmias* sp. の成虫を用いて耐凍性，グリセリン含量，過冷却点の測定を行なった。このヒメバチは −10°C，24時間の凍結には融解後何ら害を受けず，−15°C，24時間の凍結にも耐えるものがあった。−20°C，24時間の凍結には融解後直ちに死ぬものは少ないが，何らかの害を受けており，外見上の著しい変化は飛翔筋の硬直によって翅を後上方にあげることであった。また脚を引きずって歩行するようになる。−30°C，24時間の凍結では融解後全く生存のきざしはみられなかった。グリセリン含量は12月後半から急速に増し，1月中旬には最高水準に達すると思われる。そのときの値は生体重の約10%に達する。外国産の昆虫でグリセリン含量が20%以上に達するものが報告されているが，日本産の昆虫では知られている限りこの値が最高である。このヒメバチは上述の様に高いグリセリン含量をもちながら，過冷却点はグリセリン含量の最高値を示すときでさえ，−6〜−7°C と越冬昆虫としては高い温度を示した。この様な高い温度でヒメバチが凍結するのは体内に有効な氷核形成物を含んでいるためと考えられる。

文　　献

1) Asahina, É. 1969 Frost resistance in insects. *In* Advances in Insect Physiology (J. W. L. Beament, J. E. Treherne and V. B. Wigglesworth, *eds.*), Acad. Press, London, **6**, 1–49.
2) 朝比奈英三・丹野皓三 1968 耐凍性をもつヒメバチ成虫 *Pterocormus molitoris* L. 低温科学，生物篇，**26**, 85–89.
3) Miller, L. K. 1968 Mechanisms of freezing tolerance in an overwintering adult insects. *Proc. 24th Int. Congr. Physiol. Sci.*, **7**, 297.
4) 朝比奈英三・大山佳邦 1969 越冬昆虫の耐寒性 I. 低温科学，生物篇，**27**, 143–152.
5) Salt, R. W. 1961 Principles of insect cold-hardiness. *Ann. Rev. Ent.*, **6**, 55–74.
6) Sømme, L. 1965 Further observations on glycerol and cold-hardiness in insects. *Can. J. Zool.*, **43**, 765–770.
7) Baust, J. G. and Miller, L. K. 1970 Variations in glycerol content and its influence on cold hardiness in the Alaskan carabid beetle, *Pterostichus brevicornis*. *J. Insect Physiol.*, **16**, 696–990.
8) 櫛下町博士よりの私信.
9) Takehara, I. 1966 Natural occurrence of glycerol in the slug caterpillar, *Monema flavescens*. *Contr. Inst. Low Temp. Sci.*, **B 14**, 1–34.
10) Salt, R. W. 1958 Role of glycerol producing abnormally low supercooling and freezing points in an insect, *Bracon cephi* (Gahan). *Nature*, **181**, 1281.
11) Chino, H. 1957 Conversion of glycogen to sorbitol and glycerol in the diapause egg of the *Bombyx* silkworm. *Nature*, **180**, 606–607.
12) 丹野皓三 1962 ムネアカオオアリの耐凍性 I. 低温科学，生物篇，**20**, 25–34.
13) Salt, R. W. 1959 Role of glycerol in the cold-hardening of *Bracon cephi* (Gahan). *Can. J. Zool.*, **37**, 59–69.
14) Salt, R. W. 1958 Application of nucleation theory to the freezing of supercooled insects. *J. Insect Physiol.*, **2**, 178–188.
15) 大山佳邦・朝比奈英三 1969 ムネアカオオアリの耐凍性 II. 低温科学，生物篇，**27**, 153–160.
16) 篠崎寿太郎 1954 イラガ前蛹の凍結. 低温科学，生物篇，**12**, 71–86.

Summary

Using the overwintering adult wasp, *Chasmias* sp. as material, the frost-resistance, glycerol content and supercooling point of the insect were measured.

The wasps survived freezing at −10°C for 24 hrs without any post-thawing damage. Some of them were able to survive freezing at −15°C for 24 hrs. By freezing even at −20°C for 24 hrs, all of the wasps survived immediately after thawing but they suffered some injury. Their wings were elevated upwards because of the rigor of the flight muscles. They walked with dragging legs. However, no sign of survival was observed in the wasps after freezing at −30°C for 24 hrs.

The glycerol content in the wasp was determined at various seasons during the overwintering period. The glycerol content of the wasp increased rapidly during the latter half of December and reached a maximum level by mid-January. The maximum level of glycerol content was found to be about 10 per cent of the fresh body weight. Such a high content of glycerol was first reported in Japanese insects observed, although a glycerol content of more than 20 per cent was previously reported in Canadian and Alaskan insects.

The supercooling points of this wasp were rather higher than expected. These were −6° to −7°C in mid-January when their glycerol content was at a maximum level. One of the possible explanations for such a high supercooling point may be the existence of very effective ice nucleators in this insect.