

## ナナホシテントウの休眠に関する研究(2)

誌名	岐阜大学農学部研究報告 = Research bulletin of the Faculty College of Agriculture Gifu University
ISSN	00724513
巻/号	45
掲載ページ	p. 17-23
発行年月	1981年12月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



## ナナホシテントウの休眠に関する研究

### II. 成虫休眠におけるアラタ体の役割\*

桜井宏紀・後藤研也・森 靖・武田 享

## Studies on the diapause of *Coccinella septempunctata bruckii* Mulsant

### II. Role of corpus allatum related with diapause

Hironori SAKURAI, Kenya GOTÔ, Yasushi MORI and Susumu TAKEDA

#### Summary

In order to clarify whether the aestivation and hibernation are true diapause or not, hormonal control of diapause was studied in *Coccinella septempunctata bruckii* Mulsant, with special reference to the role of corpus allatum (CA). Seasonal changes in CA size of female adults showed enlargement of CA accompanied with locomotion and also correlation between CA size and ovarian growth. Histological study of CA in the aestivating females demonstrated shrinking of gland and lack of endocrine activity. Treatment of juvenile hormone analogue to the aestivating females caused remarkable increase of respiration rate and protease activity and ovarian maturation was induced. Whereas in the hibernating females, CA was enlarged and exhibited high endocrine activity: Ovarian growth of them was a little advanced compared with the aestivating one. Transference of hibernating adults to 25°C rearing condition caused remarkable increase of protease activity and induction of ovarian maturation and oviposition. Results pointed out that the aestivation of this beetle is the obligatory diapause while the hibernation is the facultative one.

#### 要 約

ナナホシテントウについてアラタ体の機能を中心として成虫休眠のホルモン支配を検討した。雌成虫のアラタ体のサイズの季節的变化をしらべたところ、成虫の活動にともないアラタ体は肥大し、アラタ体のサイズと卵巣発育との間には相関関係が示された。夏眠成虫のアラタ体は萎縮した状態で、内分泌活性は全く示されなかった。夏眠個体に幼若ホルモン類似体を処理したところ、呼吸量及びプロテアーゼ活性は著しく増加し、卵巣発育が誘起され成熟卵が形成された。このことからナナホシテントウの夏眠は、アラタ体の内分泌機能の抑制による真の休眠であることが示された。一方、越冬成虫ではアラタ体は大きく内分泌活性も高く、また卵巣は夏眠個体に比べてやや進んだ発育段階にあった。野外で採集した越冬個体を25°C、自然日長下で飼育したところ、呼吸量及びプロテアーゼ活性は増加し多数の個体で産卵が観察された。このことからナナホシテントウの越冬は、内分泌的に規制されていない可欠性休眠であることが示された。

#### 緒 言

成虫休眠は一般にアラタ体の機能と密接な関係にあり、アラタ体の内分泌活性が低下し代謝及び生殖が抑制されることにより成虫は休眠に入ると考えられる<sup>1)2)</sup>。成虫休眠のホルモン支配は主として越冬休眠

\* 岐阜大学農学部昆虫学教室業績 Na98

(hibernation diapause)について検討されており、夏眠(aestivation)についてはコロラドハムシ *Leptinotarsa dicemlineata* Say の人為的休眠<sup>3)4)</sup>に関する以外詳細な研究は見当らない。筆者らはナナホシテントウ *Coccinella septempunctata bruckii* Mulsant における成虫休眠の生理的特徴を知るため、夏眠および越冬にともなう生理的变化をしらべた結果、夏眠は真の休眠であるのに対し、越冬は単なる活動抑制であることが暗示された<sup>5)6)</sup>。そこでこの点を明らかにするため、本報ではアラタ体の機能を中心としてナナホシテントウの成虫休眠のホルモン支配を検討した。

### 材料および方法

岐阜県各務原市の岐阜大学農学部周辺の雑草上で採集したナナホシテントウ雌成虫を実験に使用した。呼吸量及びプロテアーゼ活性の測定、並びに卵巣発育の観察の方法は前報<sup>6)</sup>におけると同様である。

**アラタ体のサイズの測定**：成虫の頭部を実体顕微鏡下で解剖し、アラタ体を脳と結合したままとり出し、左右のアラタ体の長径及び短径を接眼鏡筒に装着したマイクロメーターで測定し、両者の積を求めてアラタ体のサイズとした。なお測定は20頭の成虫について行ない、その平均値を求めた。

**組織観察**：アラタ体（脳と結合した状態のもの）と卵巣を10%ホルマリン液で固定後、常法に従いパラフィン包埋を行なった。そして7  $\mu\text{m}$  の連続切片を作製し、Delafield のヘマトキシリン及びエオシンで二重染色し形態を観察した。

**幼若ホルモン類似体の処理**：methoprene (ZR-515, ALTOSID<sup>®</sup>) をピーナッツ油で5  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  の濃度に稀釈し、その1  $\mu\text{l}$  をマイクロシリンジを用い成虫の腹部背板に塗布した<sup>7)</sup>。対照個体にはピーナッツ油のみを同様に塗布した。塗布後、直径3 cm、長さ10cmの管ピンに1個体ずつ入れ、水と雄蜂児の凍結乾燥粉末<sup>8)</sup>を与えて、網室内の通風の良い日陰の場所で飼育した。

### 実験結果

#### 1. アラタ体のサイズの季節的变化

野外採集個体のアラタ体のサイズの季節的变化を第1図に示す。10月上旬頃出現する第2世代のアラタ

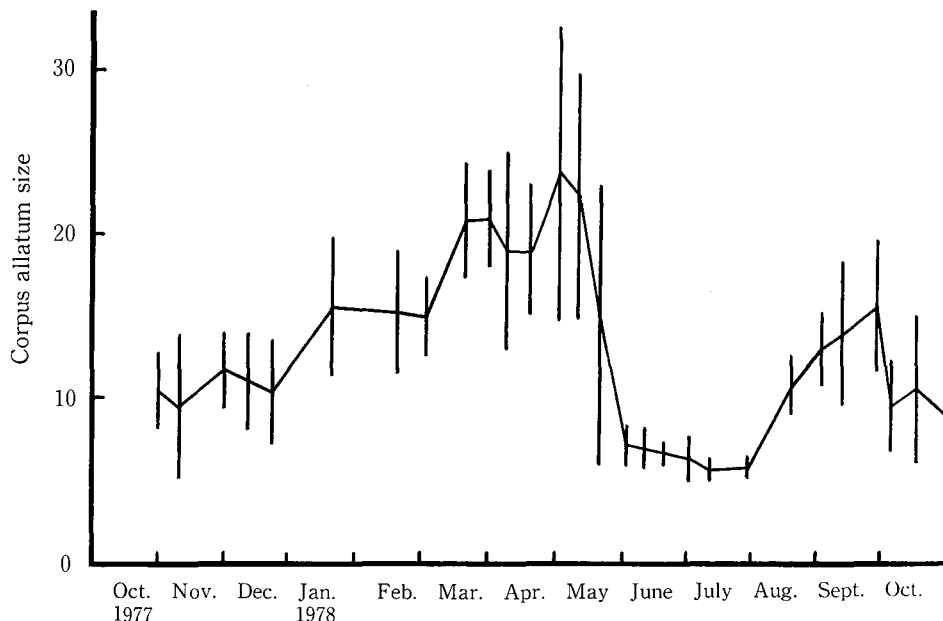


Fig. 1. Seasonal changes in corpus allatum size of female adults. Vertical line in each value shows the standard deviation. One unit in size is  $0.64 \times 10^{-3} \text{mm}^2$ .

体は、越冬初期の12月下旬まで小型で、越冬期の1, 2月には僅かずつ肥大し、越冬後の3月中旬からは急激に大きくなり、産卵活動のピークである5月上旬に最大となった。なお5月上, 中旬における測定値の標準偏差は著しく大きく、このことは越冬成虫の老令化にもなるアラタ体の退化、及び新成虫の混入による影響によるものと思われる。一方、5月下旬頃出現する第1世代では、8月上旬までアラタ体は小型で、8月中旬以降夏眠から覚醒するにつれ急速に肥大し、9月下旬に最大となった。このように雌成虫のアラタ体は、夏眠及び越冬が終了し活動が再開するにつれ急激に肥大した。

## 2. 卵巣発育とアラタ体のサイズとの関係

夏眠個体と越冬個体について、卵巣発育とアラタ体のサイズとの関係を検討した(第2図)。卵形成は夏眠個体ではステージ2, 越冬個体ではステージ3までであったが、卵形成のステージとアラタ体のサイズとの間には相関関係があると考えられる。各ステージにおけるアラタ体のサイズは、越冬個体の方が夏眠個体比べて可成り大きいことから、越冬個体のアラタ体の内分泌活性が高いことが暗示される。

## 3. アラタ体及び卵巣の組織観察

雌成虫のアラタ体と卵巣の組織像を第3図に示す。4月中旬の活動個体では、アラタ体の各細胞は大きく、核は肥大し細胞質の染色性が高いことから、アラタ体の内分泌活性が高まっていることが推測される(図A)。また卵巣では、第1卵胞の顕著な発達がみられ、第2卵胞の肥大と少数の卵胞の退化も観察された(図D)。

1月中旬の越冬個体では、アラタ体の各細胞は大きく、核も肥大するが、細胞質の染色性はやや低かった(図B)。卵巣についてはgermariumの肥大と第1卵胞の発育が観察された(図E)。

7月中旬の夏眠個体では、アラタ体の各細胞は著しく小さく、核も小さく、細胞質は殆んど染色されないことから、アラタ体の内分泌活性が抑制されていることが推測される(図C)。卵巣についてはgermariumは細く萎縮した状態で、第1卵胞の発達が殆んど示されなかった(図F)。

以上の観察結果から、夏眠個体ではアラタ体の内分泌活性が著しく低下しているのに対し、越冬個体ではアラタ体の活性が可成り高いことが推測される。

## 4. 夏眠成虫に対する幼若ホルモン類似体(JHA)の作用

7月初旬に夏眠成虫にJHAを処理し、呼吸量、プロテアーゼ活性及び卵巣発育に対する効果を検討した(第1表)。JHA処理の結果夏眠個体の呼吸量は急激に増加し、1週間後には対照区の約2倍となり、2週間後には対照区の呼吸量が減少しているのに対し、JHA区は高い値を示した。中腸のプロテアーゼ活性もJHA処理により著しく増加し、1週間後には対照区の2倍以上の活性を示し、2週間後では対照区の活性が著しく低下しているのに対し、JHA区の活性は更に増加し活動個体におけると同様な値を示した。JHA処理により卵巣発育が引き起され、1週間後には卵胞のサイズは対照区の約4倍に増加し、卵母細胞には卵黄の蓄積が観察された。2週間後にはJHA区の卵胞のサイズは対照区の約8倍となり、一部の個体で成熟卵の形成が観察された。

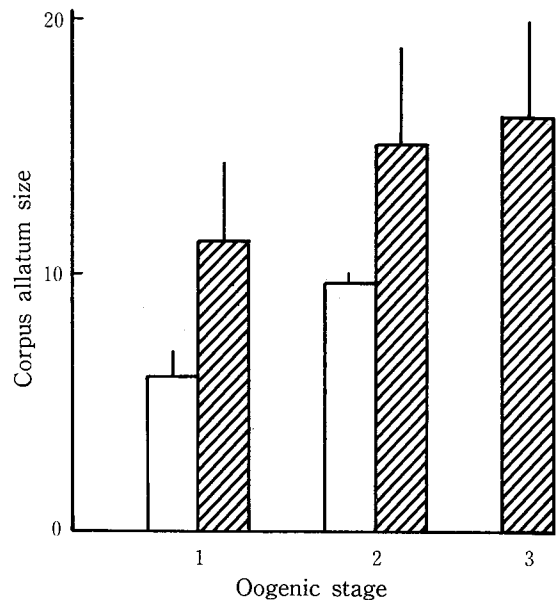


Fig. 2. Relationship between corpus allatum size and oogenesis of quiescent adults. , Aestivating; , Hibernating. One unit in size is  $0.64 \times 10^{-3} \text{mm}^2$ . Vertical line in each bar shows the upper limit of standard deviation.

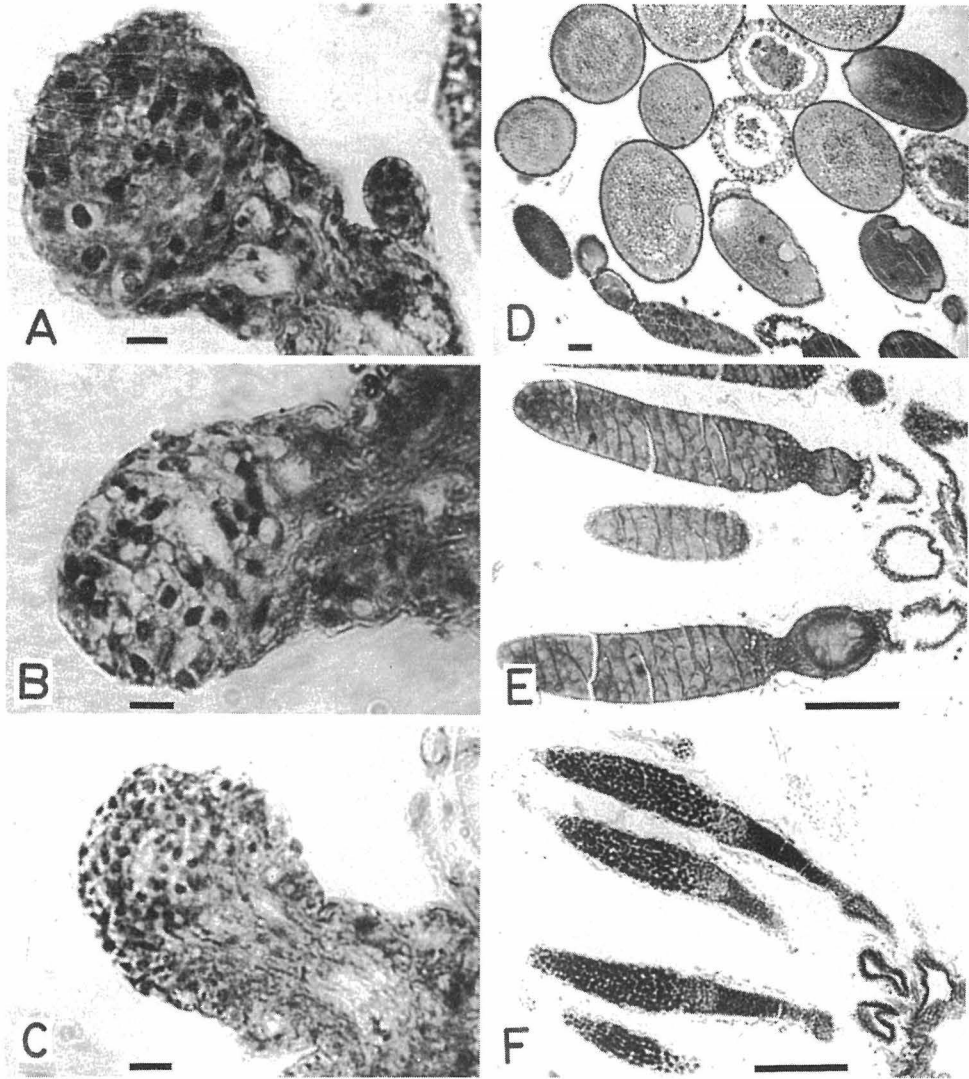


Fig. 3. Histological features of corpus allatum and ovary (Hematoxylin and eosin staining).

A-C, Corpus allatum; Scale given in picture is 10  $\mu$ m.

D-F, Ovary; Scale given in picture is 100  $\mu$ m.

A, D: Active female of mid April.

B, E: Hibernating female of mid January.

C, F: Aestivating female of mid July.

JHA 処理の結果夏眠個体は活動を再開し、呼吸量及びプロテアーゼ活性は著しく増加し、卵巣が発達したことから、ナナホシテントウの夏眠は幼若ホルモンの活性と密接な関係にあることが考えられる。

Table 1. Effect of juvenile hormone analogue (JHA) on the aestivating female adults of *Coccinella septempunctata*.

Days <sup>a)</sup>	Respiration rate <sup>b)</sup> (±S.D.)	Protease <sup>c)</sup> activity	Ovarian development	
			Follicle size <sup>d)</sup> (±S.D.)	Oogenic <sup>e)</sup> stage
Control				
7	0.70±0.17	14.9	2.6± 0.7	1—2
14	0.48±0.16	4.4	2.3± 0.5	1—2
JHA-treatment				
7	1.46±0.42	36.3	10.3± 2.5	2—3
14	1.24±0.25	146.3	19.2± 4.0	3—5

Aestivating adults were collected in the field July 6, 1979 and 5.0 µg of Methoprene was topically applied to the dorsal abdomen next day.

Control was treated with peanut oil. After treatment adults were placed outdoor, given dried drone powder as food and water.

- a) Days after JHA treatment.
- b) µg O<sub>2</sub>/mg fresh body weight/hr.
- c) µg Tyrosine/insect.
- d) One unit = 0.40 µm.
- e) Stage 1, non developing; Stage 2, follicle differentiating; Stage 3, early vitellogenic; Stage 4, mid-vitellogenic; Stage 5, late vitellogenic and mature egg.

### 5. 越冬成虫に対する温度の影響

1月初旬に野外より越冬成虫を採集し、25℃自然日長下でアブラムシを与えて飼育し、呼吸量、プロテアーゼ活性及び卵巣発育における変化をしらべた(第2表)。25℃区では成虫の行動が活発となり、2週間後には呼吸量は対照区に比べて約70%増加した。プロテアーゼ活性も25℃区では著しく増加し、2週間後

Table 2. Effect of transferring to the suitable temperature from outdoor on the hibernating female adult of *Coccinella septempunctata*.

Days <sup>a)</sup>	Respiration rate <sup>b)</sup> (±S.D.)	Protease <sup>c)</sup> activity	Ovarian development	
			Follicle size <sup>d)</sup> (±S.D.)	Oogenic <sup>e)</sup> stage
Control				
14	1.47±0.39	7.8	4.4± 1.2	1—2
21	1.56±0.35	3.4	4.3± 2.0	1—2
25°C-rearing				
14	2.50±0.50	50.6	23.4±10.8	2—4
21	1.76±0.35	77.0	35.2± 8.9	3—5

Hibernating females were collected in the field January 9, 1979 and placed at 25°C natural photoperiodic condition, giving the aphids. Control was collected in the field at each experimental day.

- a) Days after transferring to 25 °C.
- b),c),d),e), : Explanation is same as in Table 1.

には対照区の約8倍の活性値を示し、3週間後には活性は更に増加し活動個体と同様な値を示した。25℃区では卵巣の顕著な発達が見られ、卵胞のサイズは2週間後には対照区の約4倍、3週間後には約8倍に増加し、多数の個体が成熟卵の形成と産卵が観察された。これらの結果から、ナナホシテントウの越冬現象は低温による単なる活動抑制であると考えられる。

## 考 察

成虫休眠は一般にアラタ体の機能と緊密な関係にある<sup>12)</sup>。成虫休眠の内分泌支配についてはコロラドハムシで詳細な研究が行なわれている。即ち夏季に発生する新成虫を短日下で飼育すると地面に潜り休眠し<sup>9)</sup>、呼吸機能及び血中の幼若ホルモン(JH)の濃度は低下し、飛翔筋が退化するが<sup>3)4)10)</sup>、JHを休眠個体に処理すると休眠から覚醒する<sup>11)</sup>。このことからコロラドハムシの休眠はアラタ体の内分泌活性と密接な関係にあることが明らかである。ナナホシテントウの夏眠成虫では卵巣発育は全くみられず、アラタ体は萎縮し内分泌活性は示されなかったが、幼若ホルモン類似体(JHA)を夏眠個体に処理すると、呼吸量及びプロテアーゼ活性が顕著に増加し成熟卵が形成された。このことから、ナナホシテントウの夏眠現象はアラタ体の内分泌機能の抑制に起因する真の休眠(不可欠休眠 obligatory diapause)であることが理解される。アラタ体の機能に関して Thomsen は、羽化直後にクロバエ *Calliphora erythrocephala* Meig. のアラタ体または脳の中央神経分泌細胞を摘出除去すると、呼吸量及び消化管のプロテアーゼ活性が低下し、卵形成が抑制されることを明らかにした<sup>12)13)</sup>。ナナホシテントウの夏眠個体においてJHAの処理により呼吸量及びプロテアーゼ活性が顕著に増加したことは、クロバエにおけると同様ナナホシテントウのアラタ体が代謝及び呼吸機能に関連した役割を果していることを示唆している。

ナナホシテントウの越冬成虫では、夏眠個体に比べて卵巣発育はやや進んだ段階にあり、またアラタ体も大型で内分泌活性は高かった。そして、越冬個体を25℃で飼育すると、呼吸量及びプロテアーゼ活性が増加し産卵が観察されたことから、本種の越冬は内分泌的に規制されない可欠性休眠(facultative diapause)と考えられる。野外では12月頃卵巣が発達した個体が少数観察されることから<sup>6)</sup>、ナナホシテントウの第2世代成虫はアラタ体の内分泌機能が活発な状態で越冬に入るが、冬季の低温によって代謝機能が抑制されることにより静止状態で野外で越冬するものと思われる。一方チェコスロバキア地方のナナホシテントウは1化性で野外で集団越冬し、また短日条件下での飼育により成虫は生殖休眠する<sup>14)15)</sup>。そしてJHA処理及び長日条件により休眠から覚醒し産卵することから<sup>16)17)18)</sup>、中央ヨーロッパのナナホシテントウの越冬は、アラタ体の機能が密接に関係する不可欠性休眠であると考えられる。

ナナホシテントウの休眠性には種々な地理的変異がみられ、1化性である中央ヨーロッパの系統は9月頃より越冬休眠するのに対し、1化性のトルコ系統は初夏より夏眠越冬(aestivo-hibernation)する<sup>14)15)19)</sup>。また2化性のパレスチナ系統は夏眠するのに対し、同じく2化性のウクライナ系統は夏眠しない。わが国ではナナホシテントウは通常2化性であるが、九州では3化性であるという<sup>20)</sup>。東海地方では第1世代が夏眠することは、パレスチナ系統の生活史と似ている。そして第1世代の夏眠が不可欠性休眠であるのに対し、第2世代の越冬が可欠性休眠である事実は、ナナホシテントウにおける休眠の地理的変異の生理的な表れを示すものとして興味深い。

## 謝 辞

methoprene を御供与下さった大塚製薬株式会社、ならびに雄蜂児粉末を御贈与下さった玉川大学農学部の松香光夫博士に厚く御礼申し上げます。

## 文 献

- 1) Wigglesworth, V. B. : The hormonal regulation of growth and reproduction in insects. *Adv. Insect Physiol.* **2** : 248-336, 1964.
- 2) De Wilde, J. & De Loof, A. : Reproduction-endocrine control. *The Physiology of Insecta* (2nd ed. Ed. by Rockstein M. ) **1** : 97-157. Academic Press, New York, 1973.

- 3) Stegwee, D. : Respiratory chain metabolism in the Colorado potato beetle-II. Respiration and oxidative phosphorylation in 'sarcosomes' from diapausing beetles. *J. Insect Physiol.* **10** : 97-102, 1964.
- 4) De Kort, C. A. D. : Hormones and the structural and biochemical properties of the flight muscles in the Colorado beetle. *Meded. Landbouwhogeschool Wageningen* **69-2** : 1-63, 1969.
- 5) Sakurai, H. : Respiration and glycogen contents in the adult life of the *Coccinella septempunctata* Mulsant and *Epilachna vigintioctopunctata* Fabricius (Coleoptera : Coccinellidae). *Appl. Ent. Zool.* **4** : 55-57, 1969.
- 6) 桜井宏紀・森靖・武田享：ナナホシテントウの休眠に関する研究。I。夏眠および越冬にともなう生理的变化。岐阜大農研報 (45) : 9-15, 1981.
- 7) Sakurai, H. : Endocrine control of oogenesis in the housefly, *Musca domestica vicina*. *J. Insect Physiol.* **23** : 1295-1302, 1977.
- 8) 岡田一次・干場英弘・丸岡健良：ミツバチ雄蜂児を餌としたテントウムシの人工飼育。玉川大農研報 **11** : 91-97, 1971.
- 9) De Wilde, J, Duintjer, C. S. & Mook, L. : Physiology of diapause in the adult Colorado beetle- I. The photoperiod as a controlling factor. *J. Insect Physiol.* **3** : 75-85, 1959.
- 10) De Wilde, J. , Staal, G. B. , De Kort, C. A. D. , De Loof, A. & Baard, G. : Juvenile hormone titer in the haemolymph as a function of photoperiodic treatment in the adult colorado beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say). *Proc. Kon. Ned. Akad. Wetensch.* **71** : 321-326, 1968.
- 11) De Wilde, J. , De Kort, C. A. D. & De Loof, A. : The significance of juvenile hormone titers. *Mitt. Schweiz. ent. Gesellsch.* **44** : 79-86, 1971.
- 12) Thomsen, E. : Influence of the corpus allatum on the oxygen consumption of adult *Calliphora erythrocephala* Meig. *J. Exp. Biol.* **26** : 137-149, 1949.
- 13) Thomsen, E. & Møller, I. : Influence of neurosecretory cells and of corpus allatum on intestinal protease activity in the adult *Calliphora erythrocephala* Meig. *J. Exp. Biol.* **40** : 301-321, 1963.
- 14) Hodek, I. : Biology and ecology of predaceous Coccinellidae. *Ann. Rev. Entomol.* **7** : 289-326, 1962.
- 15) Hodek, I. : Biology of Coccinellidae. Academia, Prague & Dr. W. Junk, The Hague, 260pp, 1973.
- 16) Hodek, I. , Ruzicka, Z. & Sehnal, F. : Termination of diapause by juvenoids in two species of ladybirds (Coccinellidae). *Experientia* **29** : 1146-1147, 1973.
- 17) Hodek, I. , Iperti, G. & Rolley, F. : Activation of hibernating *Coccinella septempunctata* (Coleoptera) and *Perilitus coccinellae* (Hymenoptera) and the photoperiodic response after diapause. *Ent. exp. & appl.* **21** : 275-286, 1977.
- 18) Hodek, I. & Ruzicka, Z. : photoperiodic response in relation to diapause in *Coccinell septempunctata* (Coleoptera). *Acta ent. Bohemoslov.* **76** : 209-218, 1979.
- 19) Hagen, K. S. : Biology and ecology of predaceous Coccinellidae. *Ann. Rev. Entomol.* **7** : 289-326, 1962.
- 20) 前田泰生：捕食性テントウムシ2種，ナミテントウとナナホシテントウの若干の生態について。東北昆虫研究 **1** : 84-94, 1965.