

## カイコガの羽化行動に関する研究(5):

誌名	日本応用動物昆虫学会誌
ISSN	00214914
巻/号	312
掲載ページ	p. 116-120
発行年月	1987年5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



## カイコガの羽化行動に関する研究

### V. カイコガ潜成虫の羽化ホルモンに対する反応性

普後 一・折笠千登世<sup>1)</sup>

東京農工大学農学部

Studies on the Eclosion Behaviour of the Silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). V. Sensitivity to Eclosion Hormone in the Pharate-Adults of the Silkworm. Hajime FUGO and Chitose ORIKASA<sup>2)</sup> (Laboratory of Biochemistry of Silkworm and Mulberry, of Faculty Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology, Fuchu, Tokyo 183, Japan). *Jpn. J. Appl. Ent. Zool.* **31**: 116–120 (1987)

Development of sensitivity to the eclosion hormone in the pharate-adults of the silkworm, *Bombyx mori*, was investigated. Changes in the sensitivity to the exogenous eclosion hormone were observed during the last day of the pharate-adult development: early adult eclosion induced by the injection of the exogenous eclosion hormone was observed in the pharate-adults which had developed about 14 to 12 hr before the expected eclosion time. However, the administration of the eclosion hormone to the pharate-adults 22 to 17 hr before the eclosion time failed to induce early adult eclosion. The relationship between the time of injection of 20-hydroxyecdysone (Ecd) and the sensitivity to the eclosion hormone was also examined. When Ecd was injected into the pharate-adults 23 to 18 hr before the expected eclosion time, adult ecdysis was delayed by 1 to 2 days in a dose-dependent manner. However, the ability of the Ecd treatment to delay adult ecdysis was no longer observed at about 16 to 14 hr before the eclosion time. The sensitivity to the exogenous eclosion hormone in the pharate-adults subjected to the treatment of Ecd was apparently decreased, when Ecd was injected to the pharate-adults 20 hr before the presumed eclosion time. It is suggested that ecdysteroids regulate the rate of development of the pharate-adults of the silkworm, *Bombyx mori*.

### 緒 言

完全変態昆虫では蛹から成虫への変態がみられ、蛹の行動様式から成虫の行動様式への劇的な変化がみられる (REYNOLDS, 1980)。この一連の過程は、脳を起源とする羽化ホルモン (eclosion hormone) と呼ばれる神経ペプチドホルモンによって引き起こされることはよく知られている (REYNOLDS and TRUMAN, 1980, 1983; TRUMAN, 1985)。カイコガの羽化行動発現においても、脳起源の羽化ホルモンが関与している (MOROHOSHI and FUGO, 1977; 普後, 1982, 1984, 1986; NAGASAWA et al., 1983, 1985)。

普後・岩田 (1983) は、種々の発育段階の潜成虫 (pharate-adult) に羽化ホルモンを注射したとき、ホルモンに反応して早期羽化誘導がみられる場合とみられない場合があることを見だし、潜成虫は実際の羽化がおこ

る約 14 時間前ごろまでに羽化体制の準備が完了するのであろうと考察した。一方、タバコスズメガ (*Manduca sexta*) の羽化ホルモンに対する潜成虫の反応性は、体内エクジステロイド (ecdysteroids) 力価の低下が信号となっており、神経系の羽化ホルモンに対する応答反応機構の発育にエクジステロイドが密接に関与していることが明らかにされてきた (SCHWARTZ and TRUMAN, 1983; TRUMAN, 1984, 1985; TRUMAN et al., 1983; WEEKS and TRUMAN, 1986)。

そこで、カイコガ潜成虫の羽化ホルモン応答反応機構の発育にエクジステロイドが関与しているか否かを知るために以下の実験を行った。

本文に先立ち、本研究を進めるに当たり終始さまざまな助言をいただいた東京農工大学名誉教授中島 誠先生、ならびに羽化ホルモンの抽出・部分精製を行うに当

1) 現在 東京大学農学部

2) Present address: Faculty of Agriculture, The University of Tokyo, Bunkyo-ku, Tokyo 113, Japan.  
1986年7月10日受領 (Received July 10, 1986)

たり、技術的なご助言を賜った、東京大学農学部農芸化学科鈴木昭憲教授、長澤寛道博士に深く感謝の意を表する。

## 材料と方法

### 1. 供試昆虫

カイコガ (*Bombyx mori*) は日 106 号×大造を用いた。孵化後幼虫は 25 ± 2°C のキャリア蚕室内で全齢桑葉育した。化蛹後蛹は 16 時間明 - 8 時間暗 (16L-8D), 25 ± 1°C のインキュベーター内へ移し成虫化を行わせた。羽化日の判定は、経過日数、触角や翅脈の色素沈着の程度で行った (普後, 1982, 1984)。

### 2. 羽化ホルモンの調製

羽化ホルモンは潜成虫頭部 (約 12,000 個) より, NAGASAWA et al. (1983) の方法に従って得た。最終部分精製標品の力価は 1.9 μg/*Bombyx* eclosion hormone unit であった。

### 3. 20 ヒドロオキシエクダイソンの調製

20 ヒドロオキシエクダイソン (Ecd) はロート製薬より購入した。Ecd は 5% エタノール溶液に溶解 (1 mg/ml) 後、所定の濃度にするため同溶液で希釈した。

### 4. 羽化ホルモン生物検定法

羽化ホルモン活性は、普後・岩田 (1983) の生物検定法で調べた。検定には最低 8 頭の雄潜成虫を用い、2~3 連で行った。

## 結 果

### 1. 潜成虫の羽化ホルモンに対する反応性

部分精製羽化ホルモン標品 2 単位分 (3.8 μg/20 μl) を予想羽化時刻の 22~8 時間前の潜成虫に投与し、その羽化ホルモンによって誘導された羽化個体数から潜成虫の

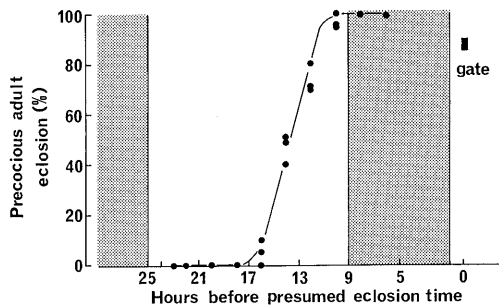


Fig. 1. Sensitivity to exogenous eclosion hormone injected on the last day of pharate-adult development in the silkworm, *Bombyx mori*. Two units of partially purified eclosion hormone were injected.

羽化ホルモンに対する反応性を調べた。各区 10 頭の潜成虫を用い三連で行った実験結果を Fig. 1 に示した。

図にみられるごとく、予想羽化時刻の 22~16 時間前の潜成虫への羽化ホルモン投与では、早期羽化誘導 (羽化ホルモン注射後 2 時間以内での羽化) はみられなかった。これらの個体は無処理個体の羽化する時間帯に、それぞれ羽化した。羽化ホルモンによる早期羽化誘導率は、予想羽化時刻に近づくにつれて高くなり、10~8 時間前の潜成虫では 100% であった。これらの結果は普後・岩田 (1983) の結果とほぼ一致しており、実際の羽化がおこる 14~12 時間前までに発育した潜成虫は、外的な羽化ホルモンに対する応答反応機構の発育が完了していることが示唆された。

### 2. 20 ヒドロオキシエクダイソン投与による羽化の遅延と羽化ホルモン反応性

予想羽化時刻の 22 時間前と 8 時間前のそれぞれの潜成虫に、20 ヒドロオキシエクダイソン (Ecd) を 0.01 ~ 10 μg/20 μl 注射し、それぞれの個体の羽化状況を調べた。その結果、22 時間前に Ecd を注射されたものでは、Ecd の濃度が高くなるにつれて羽化遅延がみられ、5 μg や 10 μg の投与区では対照区よりも 2 日遅れて羽化する個体がみられた。これら 1~2 日遅れた個体の羽化時刻は、それぞれの日の点灯後 1.5 時間以内であり、その他の時刻に羽化する個体は認められなかった (Fig. 2A)。一方、予想羽化時刻の 8 時間前に Ecd を注射された潜成虫の羽化は、対照区と同一時刻にみられ、羽化の遅延や早期誘導は認められなかった (Fig. 2B)。

次に、予想羽化時刻の 22~12 時間前の種々の発育段階の潜成虫に Ecd を 5 μg ずつ注射し、その後の羽化状況を調べた。Ecd の投与によって羽化が遅延したのは、予想羽化時刻の 17 時間前までの区で、16~12 時間前での投与では遅延はみられなかった (Fig. 3)。

これらの実験結果から、Ecd 投与によって羽化が遅れる傾向は、予想羽化時刻の 22~17 時間までで、それ以降の投与は羽化遅延効果をもたらさないことが判明した。

前述の実験 1 において、羽化ホルモンに対する応答機構の発育完了は、実際の羽化がおこる 14~12 時間前であることが示唆された。一方、Ecd 投与によって羽化が遅延するのは、予想羽化時刻の 22~17 時間前までの投与であった (Fig. 3)。そこで、20 時間前に Ecd を 5 μg 投与された個体の羽化ホルモンに対する反応性について次に検討した。

Ecd を予想羽化時刻の 20 時間前に注射した後、2, 4,

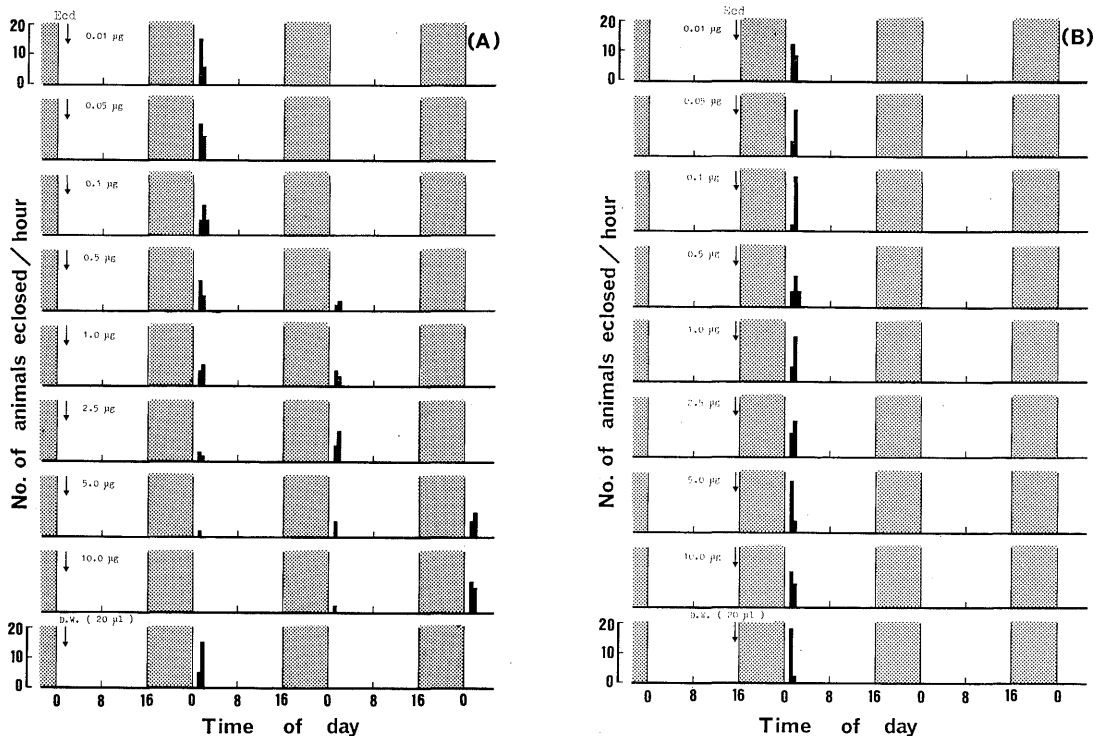


Fig. 2. Effect of injection of 20-hydroxyecdysone (Ecd) on the time of adult eclosion. Pharate-adults were treated about 22 hr (A) and 8 hr (B) before the presumed eclosion time. Shaded areas represent darkness.

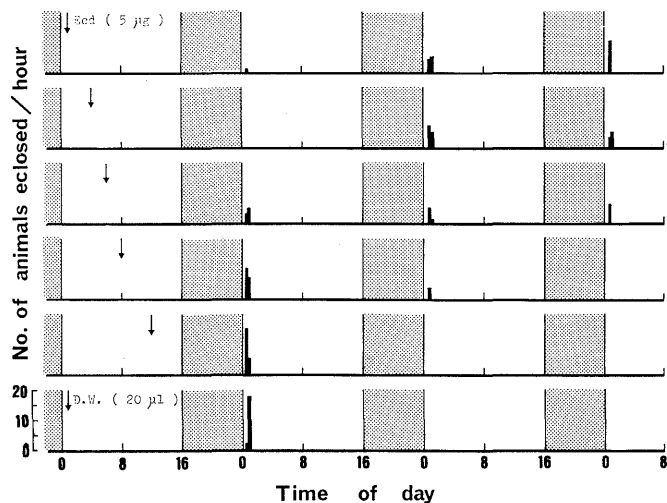


Fig. 3. Effect of injection of 20-hydroxyecdysone (Ecd) on the time of adult eclosion. Arrows indicate the time of injection. Shaded areas represent darkness.

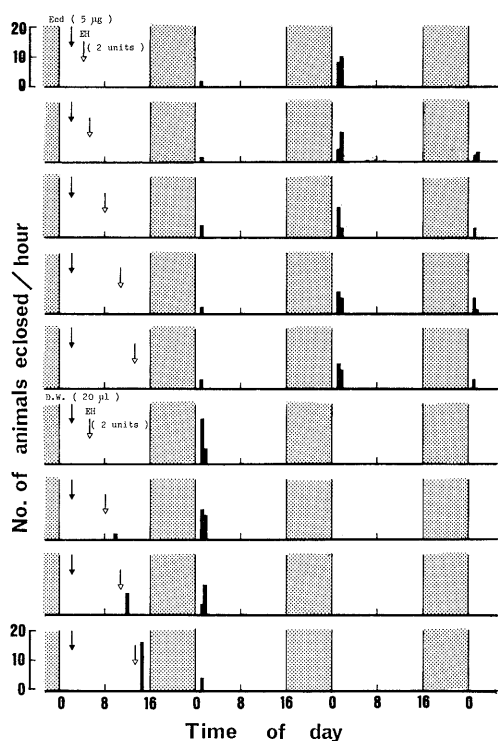


Fig. 4. Sensitivity of pharate-adults to the eclosion hormone after pretreatment with 20-hydroxyecdysone (Ecd). Animals received Ecd or distilled water (D.W.) about 20 hr before the presumed eclosion time. Arrows (↓) indicate the time of injection of the eclosion hormone. Shaded areas represent darkness.

6, 8, 10 時間目に羽化ホルモンをそれぞれ 2 単位分注射した。しかし、羽化ホルモンに反応して羽化する個体は 1 頭も認められず、対照区より 1~2 日遅れて羽化する個体が多くみられた (Fig. 4)。一方、対照区 (蒸留水注射) の場合、2 時間あるいは 4 時間目に羽化ホルモンを注射しても羽化する個体はみられなかった。しかし、6 時間目以降では羽化個体がみられ 10 時間目 (すなわち予想羽化時刻の 10 時間前) では、80% の個体が外的な羽化ホルモンに反応して羽化した。

以上のことから、早い時期での Ecd 投与は潜成虫の羽化ホルモンに対する反応性を低減させる効果があることが暗示される。

### 考 察

普後・岩田 (1983) は、カイコガ潜成虫の发育進度によって羽化ホルモンに対する感受性が異なることを報告

した。今回の実験でも、羽化ホルモンに対する感受性が羽化 1 日前の潜成虫の非常に短い時間帯で異なることが確認された (Fig. 1)。今回の実験では羽化ホルモン投与量は 2 単位分としたが、投与量を 5 単位分に増やしても潜成虫の羽化ホルモンに対する反応性は Fig. 1 に示した結果と相違はみられていない (普後, 未発表結果)。すなわち、羽化ホルモンに対する潜成虫の反応性が異なることの理由は、ホルモン投与量ではなく、潜成虫の羽化ホルモンに対する応答反応機構の发育が羽化 1 日前の種類の发育段階で異なっているためと考えられる。したがって、予想羽化時刻の 14~12 時間頃まで達した潜成虫が外的な羽化ホルモンに反応して羽化できることは、この時期には応答反応機構の发育が完了しているといえるであろう。この潜成虫の羽化ホルモンに対する応答反応機構の发育は、何によって制御されているのかが次の論議となる。

SLÁMA (1980) は *Tenebrio* の脱皮に関する研究で、体内のエクジステロイドが臨界値以下に低下することが脱皮可能であるという信号となり、脱皮現象と体内エクジステロイドとは密接な関係があることを示した。一方、TRUMAN と彼の協同研究者らは、SLÁMA (1980) の説をさらに発展させ、タバコスズメガの成虫化にともなう潜成虫体内の生理的諸事象は、体内エクジステロイド含量の低下に従って進行していくことを明らかにした (SCHWARTZ and TRUMAN, 1983; TRUMAN, 1984, 1985; TRUMAN et al., 1983; WEEKS and TRUMAN, 1986)。TRUMAN et al. (1983) は、タバコスズメガの羽化ホルモンに対する感受性の发育はエクジステロイドで制御されていると提唱した。この仮説が正しいとするならば、カイコガ潜成虫の体内エクジステロイド含量を人為的に高くしてやれば、羽化ホルモンに対する感受性が変化することが期待される。結果に示したごとく、予想羽化時刻の 23~17 時間前までに高濃度の Ecd を投与することによって羽化の遅延がおこり (Fig. 2, 3)、また 20 時間前の Ecd 処理は、外的な羽化ホルモンに対して不感受性をもたらした (Fig. 4)。一方、羽化時刻に近い時期での Ecd 投与は、羽化に対してなんらの影響も与えていない。したがって、今回の実験結果は、潜成虫の早い時期での Ecd の投与は发育進度を遅らせ、羽化ホルモンに対する感受性も同時に低下させることを示唆するものであり、SLÁMA (1980) の仮説や TRUMAN らの一連の実験結果から導き出された考え方 TRUMAN (1985) を支持するものであろう。

さて、Ecd の投与が潜成虫の发育進度に影響を与える

ことは上述の実験結果で明らかとなったが、生体の一体どこに影響を与えているかについては不明な点が多い。しかし、Ecd 投与によって外的な羽化ホルモンに対して不感受になることは、一つには標的器官での羽化ホルモンに対する認識応答機構の発育に影響を及ぼしていることが推察される。羽化ホルモンに反応し始めるのが、実際の羽化の14~12時間前ごろからであり (Fig. 1), 一方、Ecd 投与で羽化が遅れたり、ホルモンに対して不感受になるのは、22~17時間前までであった (Fig. 2, 3, 4)。したがって、およそ8~5時間という時間内で少なくとも、羽化ホルモンに対する認識応答機構の発育は完了するものと思われる。この短い時間内で潜成虫体内では一体何がおこっているのか、何が作られ、何がこわされていくのか、興味深い問題であり、かつ Ecd がそれらの過程とどう関連しているのか、現在研究を進めている。

### 摘 要

カイコガ潜成虫の羽化ホルモンに対する反応性と、20ヒドロキシエクダイソン (Ecd) 投与の羽化におよぼす影響について検討し、以下の結果を得た。

種々の発育段階の潜成虫に羽化ホルモンを投与し、早期羽化誘導率から羽化ホルモンに対する反応性を調べた結果、予想羽化時刻の約14~12時間前ごろから羽化時刻に近づくにつれて、反応性は高くなることが判明した。予想羽化時刻の22時間前の潜成虫に、0.01~10  $\mu\text{g}$  の Ecd を注射しその後の羽化状況を調べた結果、0.01~0.1  $\mu\text{g}$  の範囲では羽化日は対照区と変わらなかったが、0.5~10  $\mu\text{g}$  の範囲では羽化の遅れがみられ、とくに5  $\mu\text{g}$  以上の注射区では対照区より2日遅れて羽化する個体が多くみられた。一方、予想羽化時刻8時間前に同様の Ecd 処理した個体では羽化の遅延はみられなかった。予想羽化時刻の20時間前に Ecd を5  $\mu\text{g}$  投与された個体は、羽化ホルモンに対する反応性が低下していた。

### 引用文献

- 普後 一 (1982) カイコガの羽化行動とそのホルモン制御. 日蚕雑 51: 523—527.
- 普後 一 (1984) 羽化ホルモンによるカイコガ成虫行動の誘導. 日蚕雑 53: 489—495.
- 普後 一 (1986) 昆虫羽化ホルモンの作用機作. 植物防疫 40: 230—233.
- 普後 一・岩田裕子 (1983) 家蚕脳ホルモン粗抽出物中の羽化ホルモン活性と検定法. 日蚕雑 52: 71—78.
- MOROHOSHI, S. and H. FUGO (1977) Some aspects on a hormone controlling adult eclosion. Proc. Jpn. Acad. 53: 75—78.
- NAGASAWA, H., H. FUGO, S. TAKAHASHI, T. KAMITO, A. ISOGAI and A. SUZUKI (1983) Purification and properties of eclosion hormone of the silkworm, *Bombyx mori*. Agric. Biol. Chem. 47: 1901—1906.
- NAGASAWA, H., T. KAMITO, S. TAKAHASHI, A. ISOGAI, H. FUGO and A. SUZUKI (1985) Eclosion hormone of the silkworm, *Bombyx mori*. Purification and determination of the N-terminal amino acid sequence. Insect Biochem. 15: 573—578.
- REYNOLDS, S.E. (1980) Integration of behaviour and physiology in ecdysis. Adv. Insect Physiol. 15: 475—595.
- REYNOLDS, S.E. and J.W. TRUMAN (1980) Eclosion hormones. In: Neurohormonal Techniques in Insects. (T. A. MILLER, ed.), New York: Springer-Verlag, pp. 196—215.
- REYNOLDS, S.E. and J.W. TRUMAN (1983) Eclosion hormone. In: Endocrinology of Insects. (R.G.H. DOWNER and H. LAUFER, eds.), New York: Alan R. Liss, pp. 217—233.
- SCHWARTZ, L.M. and J.W. TRUMAN (1983) Hormonal control of rates of metamorphic development in the tobacco hornworm, *Manduca sexta*. Dev. Biol. 99: 103—114.
- SLÁMA, K. (1980) Homeostatic function of ecdysteroids in ecdysis and oviposition. Acta Entomol. Bohemoslovaca. 77: 145—168.
- TRUMAN, J.W. (1984) Ecdysteroids regulate the release and action of eclosion hormone in the moth *Manduca sexta*. In: Biosynthesis, Metabolism and Mode of Action of Invertebrate Hormones. (J. HOFFMANN and M. PORCHET, eds.), Berlin and Heidelberg: Springer-Verlag, pp. 136—144.
- TRUMAN, J.W. (1985) Hormonal control of ecdysis. In: Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry, and Pharmacology. (G.A. KERRUT and L.I. GILBERT eds.), New York: Pergamon Press, 8: 413—440.
- TRUMAN, J.W., D.B. ROUNTREE, S.E. REISS and L.M. SCHWARTZ (1983) Ecdysteroids regulate the release of eclosion hormone in moths. J. Insect Physiol. 29: 895—900.
- WEEKS, J.C. and J.W. TRUMAN (1986) Steroid control of neuron and muscle development during the metamorphosis of an insect. J. Neurobiol. 17: 249—267.