

温度反応から見たクリシギゾウムシ長期休眠の制御機構

果樹研究所リンゴ研究拠点 **樋 垣 守 男**

はじめに

多様性に富む昆虫の世界では、1世代を終えるのに数年を要する種も珍しくない。このような長い生活史は、セミのように幼虫発育に長期間を要する場合がよく知られているが、特定の発育段階で休眠が1年以上続く長期休眠により引き起こされる場合も多い。長期休眠は高山や乾燥地帯のような不安定な環境に生息する昆虫や供給の不安定な食物に依存する昆虫において多く報告されている (DANKS, 1987)。その生態的意義は数理生態学の格好の研究対象となっており、休眠からの覚醒を年単位でばらつかせて、冷夏や干ばつ、餌植物の凶作等の予測不可能な環境の悪化による絶滅の危機を免れていると考えられている (SEGER and BROCKMANN, 1987)。長期休眠の長さは2～5年程度の種が多いが、数十年休眠し続ける種もある (POWELL, 2001)。何年間も眠り続け、目覚めを年単位でばらつかせるためには、特別な仕組みが存在すると考えられるが、長期休眠の制御機構に関しては詳しい研究が少なく、不明な点が多い。ここでは、幼虫で長期休眠するクリシギゾウムシ *Curculio sikkimensis* に関する筆者の研究 (HIGAKI, 2005; 2006; HIGAKI et al., 2010) をもとに、温度反応から見た長期休眠の制御機構を述べる。

I クリシギゾウムシの生活史

クリシギゾウムシは、幼虫がクリ果実を食害するクリの重要害虫である。成虫の体長は6～8 mmで、うす茶色をしている (口絵①)。シギゾウムシの名のとおり、成虫は鳥のシギのくちばしのような長い口吻をもつ。特にメス成虫の口吻は体長と同じくらいに長く、この口吻をドリルのように使ってクリやドングリ等の果実に穴を開け産卵する。茨城県つくば市では9～10月にかけて、クリ、コナラ、シラカシ、クヌギ等複数の樹種の果実に産卵する。ふ化幼虫は果実を内部から食べて老熟幼虫まで発育した後、果実から脱出して地中に潜り (口絵②)、内因性の休眠に入って越冬する。多くの個体は翌年6～7月に蛹化、7～8月に羽化し、成虫は約1か月地中に

とどまった後、8～9月に地上に出現する。

本種の幼虫には長期休眠するものが混在しており、3～4年にわたってばらついて休眠覚醒する。長期休眠する個体の割合は年によって変化し、翌年に羽化する1年個体が多い場合もあれば、2年後以降に羽化する長期休眠個体が多い場合もある。シギゾウムシ類が寄主として利用するドングリ類は果実生産の豊凶の差が著しく、さらには豊作年と凶作年を不規則に繰り返すため、思わぬ大凶作の年には羽化した個体が子孫を残せない危険にさらされる。羽化を数年にわたってばらつかせることで、たとえ大凶作の年が訪れても食物不足による絶滅を免れることができると考えられている (MENU and DEBOUZIE, 1993; MAETO and OZAKI, 2003)。

II 長期休眠の温度反応

長期休眠は同じ環境条件下でも覚醒時期が個体ごとにばらつくので、遺伝的要因が関与していると考えられている (DANKS, 2007)。一方、冬休眠などと同様に、温度や湿度等の環境要因の影響を受けて休眠覚醒することが知られている (NEILSON, 1962; READSHOW and BEDFORD, 1971; DEAN and HARTLEY, 1977; INGRISCH, 1986; HIGAKI and ANDO, 1999; 2000)。クリシギゾウムシの幼虫は地中10～25 cmまで潜ることが知られているが (岡部・高枝, 1993)、このような環境では光が届かないため明瞭な年周期を示す温度が環境要因として最も重要であると考えられる。そこで、長期休眠の制御機構を温度反応の面から調査した。

1 実験方法

つくば市の果樹研究所内に自生する野生グリから秋に落下した果実を採集し、果実から脱出した幼虫を実験に用いた。本来地中で過ごす幼虫の発育経過を毎日個別に観察するために、組織培養用の24穴マイクロプレートを使用した (口絵③)。プレートのそれぞれの穴 (直径1.6 cm, 深さ1.7 cm) に湿ったヤシガラ土を入れて、1匹ずつ幼虫を収容し、フタをかぶせた。それらのプレートは湿度100%に保った容器内に保存した。この方法によって、蛹を経て成虫になるまで、長期間にわたって発育を観察できる。休眠は幼虫期で起こるため、蛹化を休眠覚醒の指標とした。

Thermal Response of Prolonged Larval Diapause in the Chestnut Weevil, *Curculio sikkimensis*. By Morio HIGAKI

(キーワード: クリシギゾウムシ, 長期休眠, 幼虫休眠, 休眠深度, 温度)

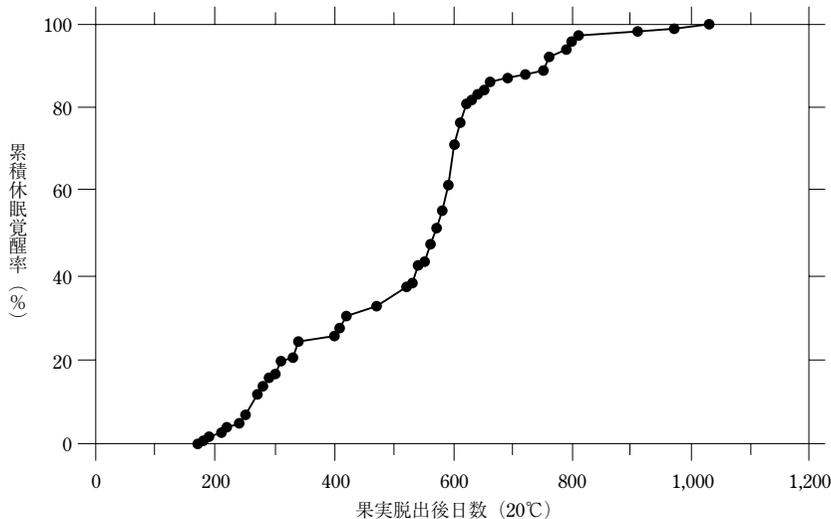


図-1 20℃一定温度でのクリシギゾウムシ長期休眠の覚醒 (HIGAKI, 2005 を改変)
果実から脱出した幼虫を20℃に保存した。N = 101.

2 一定温度での休眠覚醒

本種の休眠覚醒に要する年数が個体間で異なる原因は明らかではないが、休眠深度の違いがかかわっている可能性が高い。そこで、長期休眠の休眠深度を探るため、幼虫を20℃に保存し、休眠覚醒に要する日数を調査した。本種の休眠深度は非常に深く、150日を過ぎるとようやく休眠覚醒する個体が現れるが、500日経過しても休眠覚醒率は50%に達せず、すべての個体が休眠覚醒するまでに1000日以上を要した(図-1)。同様の現象は、筆者が以前研究していたキリギリス科のイブキヒメギス *Eobiana japonica* においても見られた (HIGAKI and ANDO, 2000)。この昆虫の長期休眠卵を25℃に保存したところ、すべての卵が休眠覚醒するまでに約900日を要した。このような比較的高い温度に保存した場合、自発的に休眠覚醒が起こる現象は他の昆虫の冬休眠でも知られている (DANKS, 1987; HODEK and HODKOVA, 1988)。しかし、長期休眠の場合は、冬休眠と比べて休眠深度が著しく深く、個体ごとのばらつきが著しく大きいことが特徴である。

3 低温処理に対する反応

一般に、休眠して越冬する昆虫は冬の低温を経験することで休眠覚醒し、越冬後高温に遭遇すると発育を再開する。長期休眠する昆虫でも低温が休眠覚醒効果をもつことが、ミバエ科の *Rhagoletis pomonella* (NEILSON, 1962)、ナナフシ科の *Didymuria violescens* (READSHOW and BEDFORD, 1971)、キリギリス科の *Ephippiger ephippiger* (DEAN and HARTLEY, 1977) やイブキヒメギス (HIGAKI and

ANDO, 2000) 等で知られている。クリシギゾウムシの長期休眠覚醒に対する低温の効果を探るため、5℃で4か月間低温処理した後、20℃に加温する実験を行った。その結果、低温処理後短期間のうちに多くの個体が休眠覚醒し、加温後8か月の休眠覚醒率は約30～70%であった。低温処理しないで20℃に置いた場合は8か月経っても5%程度しか休眠覚醒しないことから、低温がクリシギゾウムシの休眠覚醒に効果的であることがわかる。

4 低温と高温の繰り返しに対する反応

温帯において、長期休眠は気候の季節変化が繰り返される中で徐々に覚醒される。冬の低温-夏の高温-冬の低温-夏の高温のような温度の季節変化が長期休眠覚醒のための手がかりとなっている可能性がある。*R. pomonella* (NEILSON, 1962) や *E. ephippiger* (DEAN and HARTLEY, 1977)、イブキヒメギス (HIGAKI and ANDO, 2000) では、実際に長期休眠が低温と高温の繰り返しによって覚醒されることが知られている。そこで、クリシギゾウムシの休眠覚醒に対する低温と高温の繰り返しの効果を調査した。休眠幼虫を5℃120日:20℃240日の温度サイクルにさらしたところ、20℃に加温後100日以内に急速に休眠覚醒率が高まったが、その後は240日目まで新たに休眠覚醒する個体は見られなかった(図-2)。休眠覚醒しなかった長期休眠幼虫を再び低温処理してから加温すると、休眠覚醒の2回目のピークが観察された。この温度サイクルを2～3回繰り返すことで、すべての個体が休眠覚醒した。この結果から、本種の長期休眠には「低温(冬)と高温(夏)のサイクルに反応して休眠覚醒し、

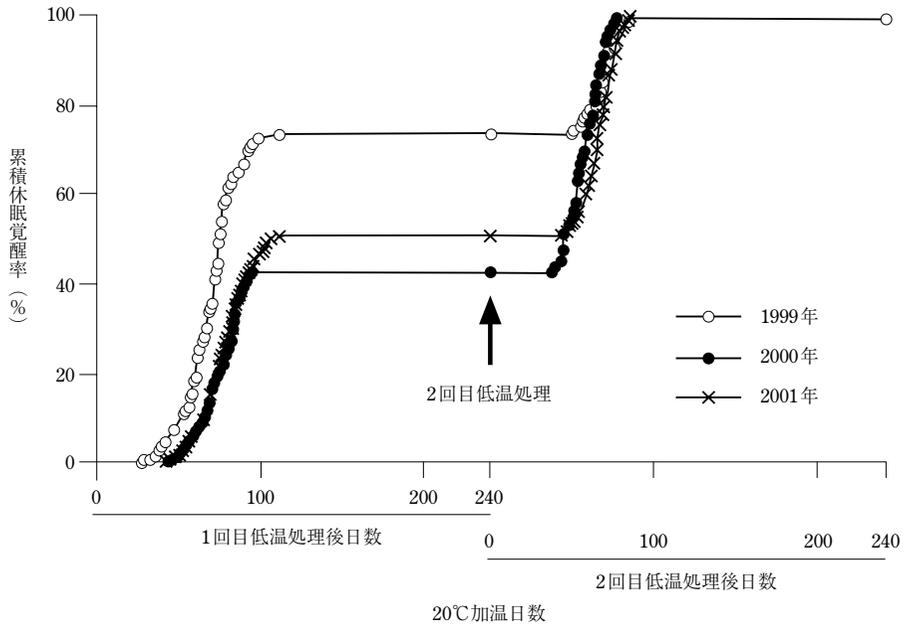


図-2 低温と高温を繰り返した場合のクリシギゾウムシ長期休眠の覚醒 (HIGAKI, 2005 を改変)
 5℃で120日低温処理した後20℃で加温し、240日目でも休眠し続けていた幼虫を再び5℃で120日低温処理し、20℃で加温した。N = 109 ~ 259.

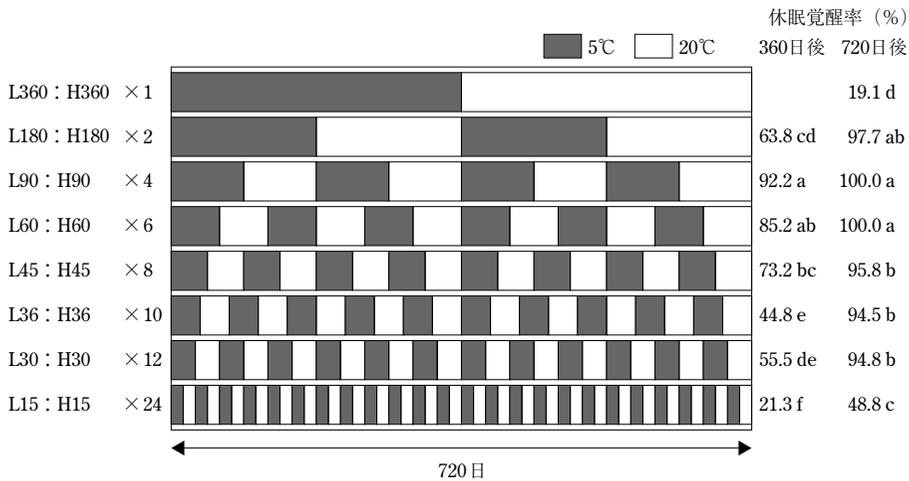


図-3 様々な長さの低温-高温サイクルにさらした場合のクリシギゾウムシ長期休眠覚醒率 (HIGAKI, 2006 を改変)
 Lは5℃の低温処理, Hは20℃の高温処理を示す。例えば, L15 : H15 × 24は, 5℃15日 : 20℃15日のサイクルを24回繰り返したことを示す。同じアルファベットがついた休眠覚醒率間には有意差がない。N = 168 ~ 213.

覚醒のために必要なサイクル数(年数)が個体間で異なる」という可能性が考えられるが、一方、「休眠深度が著しく深く、1回の低温(冬)では長さが不十分で休眠覚醒しない個体が混在するために、覚醒が数年にわたっ

て起こる」という可能性も考えられる。

III 長期休眠を覚醒する温度条件は何か？

長期休眠の覚醒に必要な温度条件は、低温-高温サイ

クルの繰り返しか？ 低温の長さか？ この二つの可能性を検討するため、幼虫を5℃ 15日：20℃ 15日 (L15：H15と略記) から5℃ 360日：20℃ 360日 (L360：H360) まで低温と高温の長さが等しくサイクル長の異なる八つの温度サイクルにさらした (図-3)。すべての温度サイクルは合計日数が720日に達するまで繰り返し、低温と高温のそれぞれの合計日数は同じであるが、温度サイクルの長さとして繰り返し回数異なる8処理区を作成した。

いずれの処理区も温度サイクルを繰り返すにつれて休眠覚醒率は上昇したが、360日後の結果では休眠覚醒効果の差は明瞭で、L90：H90やL60：H60のような短い温度サイクルの繰り返しが最も効果的であった。L36：H36やそれより短い温度サイクルは、繰り返し回数が多いにもかかわらず効果が著しく劣っていた。720日後には、L30：H30からL180：H180までの六つの温度サイクルではほとんどの個体が休眠覚醒したが、L15：H15のように極端に短い温度サイクルやL360：H360のように極端に長い温度サイクルは効果が著しく弱かった。このように、クリシギゾウムシの長期休眠覚醒には、低温処理を連続して長く行うよりも比較的短い低温と高温を繰り返すことが効果的である。本種の長期休眠は、冬の低温と夏の高温の繰り返しに反応して覚醒し、覚醒に要する繰り返し回数 (年数) が個体間で異なると考えられる。

IV 低温-高温サイクルにおける高温期の役割

クリシギゾウムシでは低温と高温の繰り返しが長期休眠覚醒に効果的であることから、低温に加えて高温も重要な役割を担っているに違いない。*E. ephippiger* (DEAN and HARTLEY, 1977) で、低温-高温サイクルの高温中に、それに続く低温で休眠覚醒するための準備が行われている可能性が指摘されているが、高温の役割を明らかにする研究は行われていなかった。そこで、クリシギゾウムシの長期休眠覚醒に対する低温-高温サイクル中の高温の効果を検討した。5℃ 120日：20℃ 240日の低温期 (5℃) の中央に10～120日の様々な長さの高温 (20℃) を挿入して、休眠覚醒を調べた。挿入した高温の日数を延長するにつれて、休眠覚醒率が徐々に下降した (図-4)。20日または30日の高温を挿入した処理区は、連続20日低温処理した処理区よりも休眠覚醒率が有意に低く、60日しか低温処理しなかった処理区と有意な差はなかった。休眠覚醒時期を見ると、挿入する高温が30日以下の処理区はどれもほぼ同じであった (図-5)。もし、後半60日分の低温が休眠覚醒効果をもつならば、挿入した高温の長さの分だけ遅れて休眠覚醒する個体がいるはずであるが、そのような個体は見られなかった。低温期に短い高温を挿入することによって、後半の低温の休眠覚醒効果がなくなったと考えられる。

高温挿入日数を60日まで延長すると休眠覚醒率は逆に有意に上昇し、90日、120日まで延長するとさらに上昇した (図-4)。高温を60日挿入した場合、明らかに

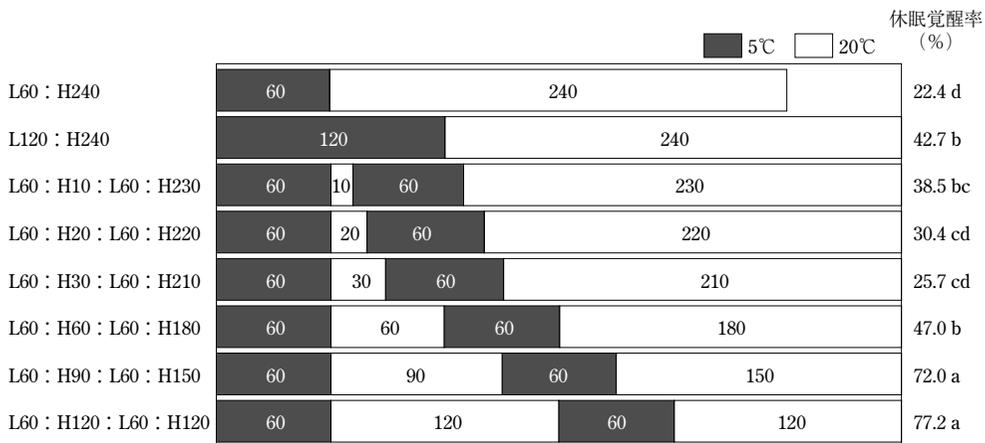


図-4 低温-高温サイクルの低温期に様々な長さの高温を挿入した場合のクリシギゾウムシ長期休眠覚醒率 (HIGAKI, 2006を改変)

Lは5℃の低温処理、Hは20℃の高温処理を示す。例えば、L60：H10：L60：H230は、5℃60日：20℃10日：5℃60日：20℃230日の温度処理を行ったことを示す。同じアルファベットがついた休眠覚醒率間には有意差がない。N = 218～234。

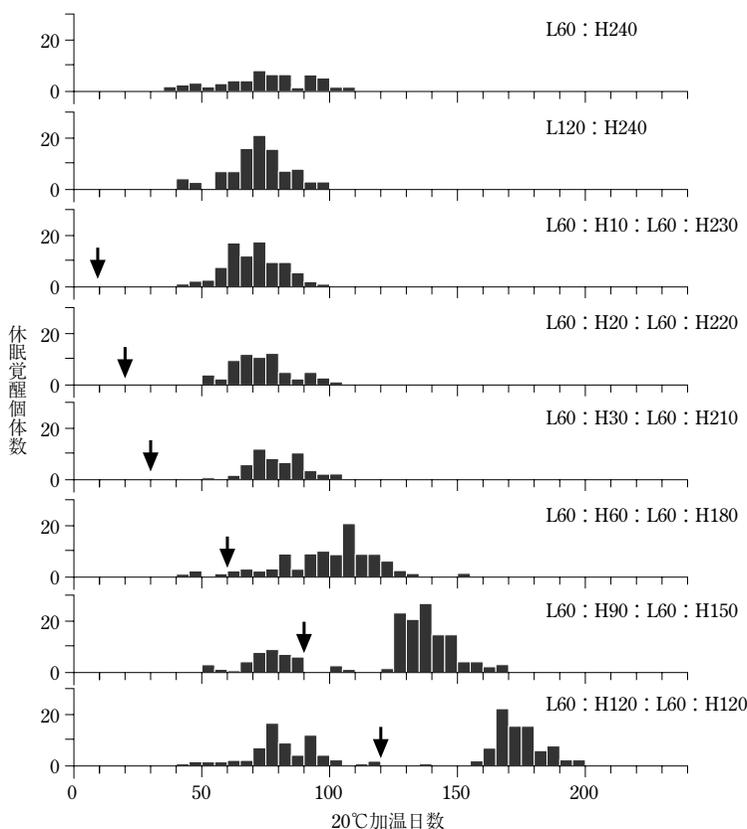


図-5 低温-高温サイクルの低温期に様々な長さの高温を挿入した場合のクリシギゾウムシ長期休眠覚醒時期 (HIGAKI, 2006 を改変)
 横軸は低温処理 (1 回目) 後の高温 (20℃) 日数で, 低温 (5℃) 日数は含まれていない, 矢印は 2 回目の低温処理時期を示す. 各処理区の略号は図-4 を参照. N = 51 ~ 169.

遅れて休眠覚醒する個体が現れ, 覚醒時期の分布が後ろに広がった (図-5)。90 日や 120 日挿入した場合には明瞭な二つのピークをもつ分布になった。ここで注目すべきは, 挿入された高温日数が延びて, 後半の低温の位置が後方にずれるに従って, 二つ目のピークの位置が後方にずれている点である。このことは, 一つ目のピークは前半の低温によって休眠覚醒された個体から成り, 二つ目のピークは後半の低温によって休眠覚醒した個体から成ることを明確に示している。低温の後, 一定期間の高温を経験することによって, 次の低温で休眠覚醒する準備を完了したと考えられる。クリシギゾウムシの長期休眠は冬の低温に反応して覚醒するが, それだけでなく春から秋にかけて高温にさらされている間も覚醒に向けたなんらかの生理過程が進行しているのである。

表-1 低温処理前に温度変化を経験させた場合のクリシギゾウムシ長期休眠覚醒率 (%) (HIGAKI et al., 2010 を改変)

低温処理前の温度処理	低温処理日数 (5℃)		
	20 日	40 日	60 日
20℃ 120 日	—	0 a, A	49.3 c, B
20℃ 120 日 → 25℃ 30 日	0 a, A	0 a, A	13.8 b, B
20℃ 120 日 → 25℃ 60 日	0 a, A	0 a, A	0.7 a, A
20℃ 120 日 → 20℃ 30 日	0 a, A	0.7 a, A	71.3 d, B
20℃ 120 日 → 20℃ 60 日	0 a, A	9.0 b, B	73.3 d, C
20℃ 120 日 → 15℃ 30 日	0 a, A	40.3 c, B	98.0 e, C
20℃ 120 日 → 15℃ 60 日	58.2 b, A	98.6 d, B	100.0 e, B

低温処理後に 20℃ を 120 日経験させた長期休眠幼虫を 25, 20, 15℃ に移し, その後 5℃ で低温処理し, 20℃ 加温 120 日後の休眠覚醒率を調査した。

それぞれの列において同じ小文字アルファベットがついている休眠覚醒率間とそれぞれの行において同じ大文字アルファベットがついている休眠覚醒率間には有意差がない。N = 112 ~ 158。

表-2 低温処理前に20℃と25℃を交互に経験させた場合のクリシギゾウムシ長期休眠覚醒率(%) (HIGAKI et al., 2010 を改変)

低温処理前の温度処理	低温処理日数 (5℃)		
	20日	40日	60日
20℃ 120日	—	—	0 a, A 1.6 a, A 63.7 b, B
20℃ 120日 → 25℃ 60日	—	—	0 a, A 0 a, A 10.1 a, B
20℃ 120日 → 25℃ 60日 → 20℃ 30日	—	—	0 a, A 4.3 a, B 55.5 b, C
20℃ 120日 → 25℃ 60日 → 20℃ 60日	—	—	0.8 a, A 39.3 b, B 93.8 c, C

低温処理後に20℃と25℃を交互に経験させた長期休眠幼虫を5℃で低温処理し、20℃加温120日後の休眠覚醒率を調査した。

それぞれの列において同じ小文字アルファベットがついている休眠覚醒率間とそれぞれの行において同じ大文字アルファベットがついている休眠覚醒率間には有意差がない。N = 94 ~ 132。

V 休眠深度の可逆的变化

ここまでの実験では、高温として20℃を使用したが、長期休眠幼虫が春から秋にかけて経験する温度は様々である。長期休眠の休眠深度に対する高温の影響をさらに詳しく知るため、20℃以外の温度も用いて休眠深度の変化を調査した。まず、1回の低温処理で休眠覚醒しなかった長期休眠幼虫を20℃、25℃に120~240日の様々な期間さらした後、5℃で20~60日の低温処理を行い、20℃加温120日後の休眠覚醒率を調べた。20℃を長く経験した個体ほど、より短い低温で休眠覚醒するようになった。一方、25℃を長く経験しても、次の低温で休眠覚醒する個体はほとんどいかなかった。本種の休眠深度は20℃では浅くなるが、25℃では浅くならないと考えられる。

次に、低温処理後に20℃を120日経験させて休眠深度がいくぶん浅くなった長期休眠幼虫を25℃、20℃、15℃にさらした後に再び低温処理を行い、加温後の休眠覚醒率を調査した。その結果、15℃や20℃を経験した幼虫は、より短い低温で多くの個体が休眠覚醒するようになったのに対し、25℃を経験した幼虫は、低温で休眠覚醒する個体の割合が著しく減少した(表-1)。本種の休眠深度は温度によって変化し、15℃や20℃で浅くなり、25℃で深くなると考えられる。20℃の後に25℃を経験して休眠深度が深くなった個体に再び20℃を経験させ、低温処理を行うと多くの個体が休眠覚醒した(表-2)。このことは、本種の長期休眠は比較的マイルドな高温では浅くなるが、高温では深くなり、その変化は可逆的に起こることを示している。温度条件によって休眠深度が可逆的に変化することは、長期休眠をもたないトノサマバツタ *Locusta migratoria* など数種の昆虫で知られているが(Ando, 1993)、長期休眠する昆虫では初めて確認された。

つくばの雑木林の地温(深さ20cm)は、盛夏期の約1~2か月間、25℃近い高温になる。長期休眠個体の休眠深度が夏に深くなることは十分に考えられる。このような休眠深度の変化が発育再開のタイミングを調節する役割を担っている可能性がある。本種は蛹化から産卵開始まで約2か月を要する。クリやドングリ類果実への産卵適期は9~10月前半で、8月以降に蛹化した個体が産卵できる可能性はほとんどない。高温によって休眠深度を深くすることにより、8月以降に休眠が不時的に覚醒することを防ぎ、無事に2回目の越冬ができるであろう。実際に2002年に果実から脱出した本種幼虫を雑木林の土中に保存したところ、翌年蛹化した個体の95%以上が7月末までに蛹化した(檜垣, 未発表)。高温で休眠深度が深くなった幼虫も、秋に温度が徐々に下降するにつれて休眠深度が浅くなり、その後訪れる冬に確実に休眠発育が完了すると考えられる。

おわりに

クリシギゾウムシの長期休眠の温度反応は、基本的には他の多くの昆虫の冬休眠と類似した性質をもつが、休眠覚醒が年単位でばらつくことと関連したユニークな性質も併せもっている。本種は毎年繰り返される温度の季節変化を休眠制御のために巧みに利用することにより、休眠覚醒を数年にわたってばらつかせている。本種で見られたような温度反応の性質が昆虫の長期休眠に広く見られるものなのかどうか興味深い。また、本種の場合とは異なる様々な長期休眠制御機構が存在する可能性もある。これまでに数百種の昆虫で長期休眠が報告されているが、関心は専らその生態的意義に向けられており、長期休眠の制御機構や遺伝的背景については研究対象にされることがほとんどなく、情報があまりにも不足している。昆虫の生活史研究において、生態的意義(究極要

因)や制御機構(至近要因), 遺伝的背景は相互に関連している。長期休眠という現象の理解が進むためには, 少しでも多くの種において, それらがバランスよく研究されることが必要であろう。

引用文献

- 1) ANDO, Y. (1993) : *Physiol. Entomol.* **18** : 1 ~ 6.
- 2) DANKS, H. V. (1987) : *Insect Dormancy : An Ecological Perspective*, Biological Survey of Canada, Ottawa, 439 pp.
- 3) ——— (2007) : *Can. Entomol.* **139** : 1 ~ 44.
- 4) DEAN, R. L. and J. C. HARTLEY (1977) : *J. Exp. Biol.* **66** : 173 ~ 183.
- 5) HIGAKI, M. and Y. ANDO (1999) : *Entomol. Sci.* **2** : 1 ~ 11.
- 6) ——— (2000) : *ibid.* **3** : 219 ~ 226.
- 7) ——— (2005) : *J. Insect Physiol.* **51** : 1352 ~ 1358.
- 8) ——— (2006) : *ibid.* **52** : 514 ~ 519.
- 9) ——— et al. (2010) : *ibid.* **56** : 616 ~ 621.
- 10) HODEK, I. and M. HODKOVA (1988) : *Entomol. Exp. Appl.* **49** : 153 ~ 165.
- 11) INGRISCH, S. (1986) : *Oecologia* **70** : 624 ~ 630.

- 12) MAETO, K. and K. OZAKI (2003) : *ibid.* **137** : 392 ~ 398.
- 13) MENU, F. and D. DEBOUZIE (1993) : *ibid.* **93** : 367 ~ 373.
- 14) NEILSON, W. T. A. (1962) : *Can. Entomol.* **94** : 924 ~ 928.
- 15) 岡部伸孝・高枝正成 (1993) : *植物防疫* **47** : 301 ~ 304.
- 16) POWELL, J. A. (2001) : *Ann. Entomol. Soc. Am.* **94** : 677 ~ 680.
- 17) READSHOW, J. L. and G. O. BEDFORD (1971) : *Aust. J. Zool.* **19** : 141 ~ 158.
- 18) SEGER, J. and H. J. BROCKMANN (1987) : *Oxford Surveys in Evol. Biol.* **4** : 182 ~ 211.

参考文献

昆虫の季節適応と休眠に関して詳しく知りたい読者には, 以下の書物が参考になる。

- 1) 沼田英治 (2000) : *生きものは昼夜をよむ*, 岩波書店, 東京, 212 pp.
- 2) 田中誠二ら編 (2004) : *休眠の昆虫学*, 東海大学出版会, 東京, 329 pp.
- 3) ———ら編 (2008) : *耐性の昆虫学*, 東海大学出版会, 東京, 427 pp.

好評発売中

天敵生物等に対する化学農薬の影響評価法

植物防疫特別増刊号 No.9

社団法人 日本植物防疫協会 編 B5判 158 ページ 口絵カラー
価格 5,040 円(本体 4,800 円+税) 送料 80 円(メール便)



天敵昆虫, 天敵微生物, 訪花昆虫, 蚕などに対する化学農薬の影響を評価するための実験手法を, 国内の第一人者が詳しく解説しました。IPM 実践のため, 生物農薬や土着天敵そして訪花昆虫と, 化学農薬を上手に組み合わせるための裏付けとなるデータ取得に必携です。

■掲載生物種

タマゴバチ類, オンシツツヤコバチ, マメハモグリバエの寄生蜂, アブラバチ類, 土着のアブラバチ, クサカゲロウ類, テントウムシ, ヒメハナカメムシ類, クモ・メクラガメ等, イトトンボオオメカメムシ, ハネカクシ, チリカブリダニ, ケナガカブリダニ類, ククメリスカブリダニ, コハリダニ, 昆虫病原性線虫(スタイナーネマ), 線虫寄生性細菌(パスツールア), 糸状菌製剤ミツバチ, マルハナバチ, カイコ

お問い合わせとご注文は

社団法人 日本植物防疫協会 出版情報グループ 〒114-0015 東京都北区中里 2-28-10

郵便振替口座 00110-7-177867 TEL 03-5980-2183 FAX 03-5980-6753

ホームページ <http://www.jpfa.or.jp/> メール: order@jpfa.or.jp