

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 7 日現在

機関番号：15201

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22780046

研究課題名（和文） オオタバコガ休眠蛹の細胞膜脂質の低温への適応と、羽化への発達によるその喪失

研究課題名（英文） Adaptation to the low temperature of the membrane lipid of diapausing pupae of *Helicoverpa armigera*, and the loss caused by development to emergence.

研究代表者

泉 洋平（IZUMI YOHEI）

島根大学・生物資源科学部・助教

研究者番号：10457210

研究成果の概要（和文）：オオタバコガでは、低温で誘導された休眠蛹、短日で誘導された休眠蛹の両者において、低温順化により細胞膜を構成するリン脂質の構成比率が変化し、脂肪酸の不飽和度も増加する。これにより低温下での流動性を保っていると考えられた。しかし、休眠が打破されたと考えられる日数後には、組成が低温順化前に近い状態に変化することが示された。これは、羽化への発育に伴う組織の再構築によるものであると考えられた。

研究成果の概要（英文）：In the present study, we clarify that both diapausing pupae induced by a short photoperiod at 20°C (SD), and by a long photoperiod (LD 16:8h) at 15 °C (LT) of the cotton bollworm *Helicoverpa armigera* (Hübner) changed composition of phospholipid and that ratio of unsaturated fatty acid by cold acclimation. These results suggested that diapausing pupae of *H. armigera* maintained membrane fluidity under low temperature. However, after terminated diapause, composition of phospholipids was returned to the initial level.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
2012年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：昆虫生理生化学

科研費の分科・細目：農学・応用昆虫学

キーワード：昆虫・脂質・休眠・低温耐性

1. 研究開始当初の背景

温暖化の影響により熱帯起源の害虫の分布拡大が問題となりつつある。これらの害虫が今後北に分布を拡大するためには、冬の寒さに対して適応しなければならない。昆虫の低温・凍結耐性獲得機構については多くの報告があるものの、熱帯起源の昆虫に関しては不明な点が多い。これまでに行われてきた温帯や寒帯に生息する昆虫の低温・凍結耐性に

についての研究の多くは、休眠との関わり、糖および糖アルコールの蓄積、氷核物質の生成等に関するものであった。低温・凍結耐性獲得機構の核心に迫る重要な研究である低温および凍結による障害発生メカニズム、またはそれらの障害の回避機構に関する研究はほとんど行われてこなかった。申請者らは凍結しても耐えられる耐凍型昆虫であるニカメイガ越冬幼虫を用いて、これまで凍結

障害を受けやすい組織の同定 (Izumi et al., 2005)、水チャンネルを介した水とグリセロールの置換による凍結障害の回避機構 (Izumi et al., 2006)、それに関わる休眠と低温順化の影響 (Izumi et al., 2007) を研究し、昆虫における凍結障害の発生および回避機構を初めて明らかにした。しかし、熱帯起源の昆虫の多くは凍結回避型であり、凍結回避型の昆虫の低温による障害の発生および回避機構、特に熱帯起源の昆虫が温帯域で越冬するためにまず克服しなければならない長期間の緩やかな低温に対する耐性機構についての研究はほとんど行われていなかった。

2. 研究の目的

熱帯起源の侵入害虫による農作物等への被害が、南西諸島のみならず本島でも最近大きな問題となっている。この分布拡大の大きな要因は地球温暖化であろう。しかし、本島に侵入したこれらの害虫が今後北に分布を拡大するための最も大きな制限要因は冬季の低温と考えられる。そのため、今後熱帯起源の侵入害虫の分布拡大を予測するためには、その害虫の低温耐性の詳細を知ることが重要である。本研究では、熱帯起源であり凍結耐性を持たないオオタバコガを用いて、休眠および低温順化による細胞膜リン脂質の低温への適応、および羽化への発達に伴う細胞膜リン脂質の再構築の低温障害に及ぼす影響について明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 短日により休眠を誘導した蛹 (SD) と低温により休眠を誘導した蛹 (LT) を用いて、低温処理 1 週間毎の生存率、その後 30℃ に置いたときの羽化までの日数、および低温順化によるリン脂質 (フォスファチジルコリン、フォスファチジルエタノールアミン等)、さらにそれらの脂肪酸組成の変化を調べた。

(2) 休眠打破後のリン脂質の組成およびその脂肪酸組成を調査し、低温障害の発生と細胞膜の再構築開始との関係を調べた。

4. 研究成果

(1) 低温で誘導された休眠蛹 (LT) は短日で誘導された休眠蛹 (SD) よりも低温耐性が低く、0℃ 処理での半数生存日数も有意に短かった (図 1)。両者とも生存率が著しく低下する処理日数のときに羽化日数が短くなることから、両者の 0℃ 処理における生存率の違いは、休眠深度の違いによる物であることが示唆された (図 2)。細胞膜を構成するリン脂質が低温順化および低温処理によりどのように変化するかを調査した。その結果、LT、

SD とともに低温順化によりフォスファチジルエタノールアミン (PE) の比率が上昇し、反対にフォスファチジルコリン (PC) の比率が減少した。LT、SD とともに不飽和度は低温順化により高くなったが、SD のほうが LT よりも不飽和度が高かった。

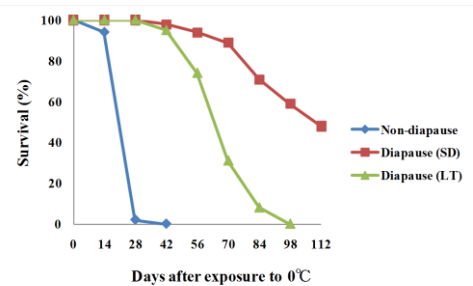


図1. 非休眠、休眠(短日誘導)、休眠(低温誘導)蛹の耐寒性の比較

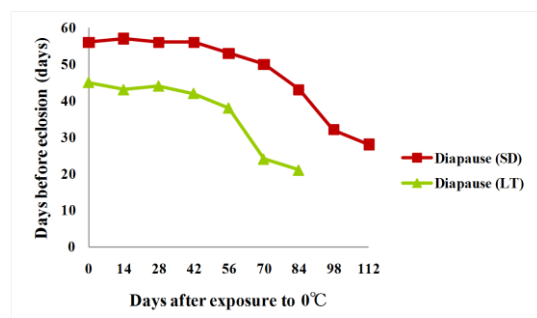


図2. 短日誘導および低温誘導休眠蛹の0℃処理後の羽化日数の比較

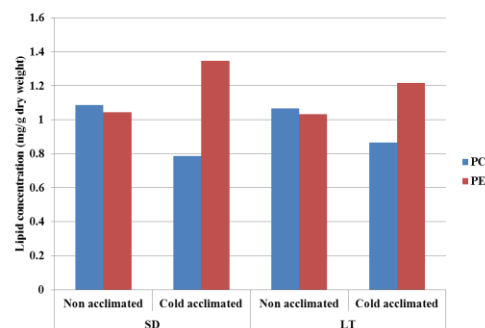


図3. 低温順化によるリン脂質組成の変化

表1. リン脂質脂肪酸組成の変化

	Non acclimated		Cold acclimated	
	Diapause (SD)	Diapause (LT)	Diapause (SD)	Diapause (LT)
12:0	1.4	1.3	0.7	1.2
14:0	4.9	4.7	2.5	3.6
14:1	1.5	1.5	1.4	1.5
16:0	15.3	14.9	7.9	11.7
16:1	10.1	11.2	16.5	14.1
18:0	23.1	22.6	18.6	20.2
18:1	33.7	32.5	38.2	35.7
18:2	4.7	5.5	7.6	6.1
18:3	1.9	1.6	3.2	2.2
20:0	1.3	1.5	0.8	1.3
20:1	1.8	1.7	2.3	1.9
SFA	46.1	45.1	30.4	37.9
UFA	53.8	54.2	69.2	61.7

(2) 休眠が打破されたと考えられる日数後に、リン脂質の組成および不飽和脂肪酸の割

合は低温順化前の比率に近い状態に変化することが示された(図4)。この時に急激な生存率の低下および、羽化個体への障害が見られることから(図5)、羽化への発育に伴う組織の再構築により、細胞膜が低温への適応を失ったと考えられた。

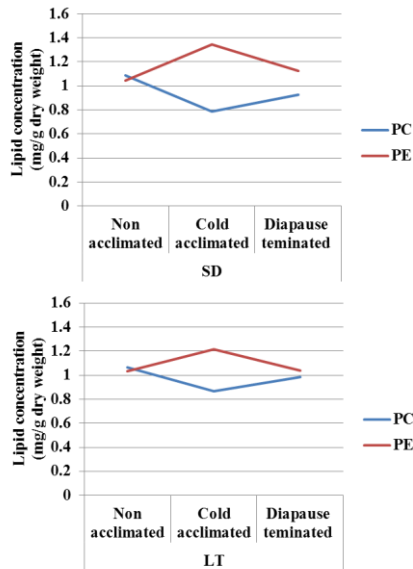


図4. 休眠打破によるリン脂質組成の変化

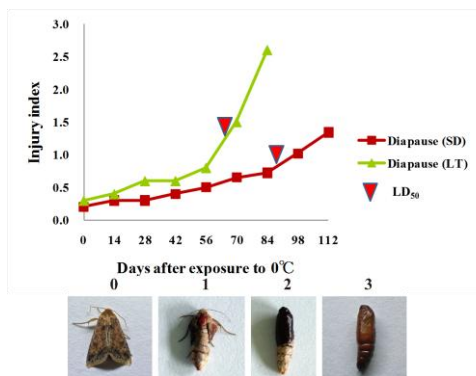


図5. 短日誘導および低温誘導休眠蛹の羽化における障害の比較

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

- ① Tiffanie Chan., Yurika Shimizu., Pavel Pospíšil., Nobuyoshi Nijo., Anna Fujiwara, Yoshito Taninaka, Tomomi Ishikawa, Haruka Hori, Daisuke Nanba, Aya Imai, Noriko Morita, Miho Yoshioka-Nishimura, Yohei Izumi, Yoko Yamamoto, Hideki Kobayashi, Naoki Mizusawa, Hajime Wada, Yasusi Yamamoto. Quality Control of Photosystem II: Lipid Peroxidation Accelerates Photoinhibition under

Excessive Illumination. PLoS ONE, 査読有, 7(12), 2012, e52100

- ② 泉洋平, 休眠昆虫のグリセロールの意義 -アクアポリンが低温耐性に果たす役割-, 蚕糸・昆虫バイオテック, 査読有, 81, 2012, 15-21
- ③ Shin-ya Ohba, Yohei Izumi, Hisaaki Tsumuki, Effect of loach consumption on the reproduction of giant water bug *Kirkaldyia deyrolli*: dietary selection, reproductive performance, and nutritional evaluation. Journal of Insect Conservation, 査読有, 16, 2012, 829-838
- ④ 泉洋平・片桐千仞・園田昌司・積木久明, ニカメイガ幼虫リン脂質の季節適応, 低温生物工学会誌, 査読有, 56, 2010, 135-138

[学会発表] (計 7 件)

- ① 泉洋平, 細胞膜脂質の変化がオオタバコガ休眠蛹の低温障害に及ぼす影響, 日本昆虫学会, 2012年9月16日, 玉川大学(町田)
- ② 泉洋平, 異なる休眠誘導が低温耐性に及ぼす影響, 日本昆虫学会・日本応用動物昆虫学会中国支部合同例会, 2011年10月22日, 神戸大学(神戸)
- ③ 泉洋平, 休眠誘導の違いがオオタバコガ休眠蛹の低温耐性に及ぼす影響, 日本昆虫学会, 2011年9月18日, 信州大学(長野)
- ④ Yohei Izumi, Comparison of cold hardiness between short photoperiod and low temperature induced diapausing pupae of *Helicoverpa armigera*. 4th International Symposium of Environmental Physiology of Ectotherms and Plants, 2011年7月19日, レンヌ(フランス)
- ⑤ 泉洋平・吉田英也・園田昌司, 異なる休眠誘導条件によるオオタバコガ休眠蛹の低温耐性, 日本昆虫学会・日本応用動物昆虫学会中国支部合同例会, 2010年10月23日, 鳥取大学(鳥取)
- ⑥ 泉洋平・吉田英也・園田昌司, 休眠誘導の異なるオオタバコガ蛹の低温耐性の比較 2, 日本昆虫学会, 2010年9月19日, 山形大学(山形)
- ⑦ Yohei Izumi, Effect of diapause induced at different cues on cold hardiness of pupae of *Helicoverpa armigera*. International conference on Invertebrate Reproduction and Development in the age of Genetic Modifications, 2010年8月17日, プラハ(チェコ共和国)

〔図書〕（計 2 件）

- ① 泉洋平，他，北隆館，地球温暖化と南方性害虫，2011，236
- ② 泉洋平，他，岡山大学出版，昆虫の低温耐性－その仕組みと調べ方－，2010，352

6. 研究組織

(1) 研究代表者

泉 洋平 (IZUMI YOHEI)

島根大学・生物資源科学部・助教

研究者番号：10457210