

ニジュウヤホシテントウ成虫の蛋白質の電気泳動による 分離と泳動パターンの前休眠期における変化

河野 義明¹⁾

武田薬品工業株式会社農薬研究所

Changes in Electrophoretic Patterns of Haemolymph and Fat Body Protein during the Prediapause Period in *Henosepilachna* Beetle. Yoshiaki KONO²⁾ (Takeda Chemical Industries, Ltd., Agricultural Chemicals Division, Research Laboratory, Ichijoji-Takenouchi-cho, Sakyo-ku, Kyoto 606, Japan). *Jpn. J. Appl. Ent. Zool.* **32**: 97-103 (1988)

Proteins of the haemolymph and fat body of *Henosepilachna* adults were analysed by polyacrylamide gel electrophoresis and the changes in the protein components were compared during the prediapause period in relation to the diapause induction. Some of the female-specific proteins like vitellogenin were identified but these proteins were not the major ones in the ovary of this species. There were no diapause-specific proteins, while the quantity of most of the protein components in the haemolymph and fat body increased with the lapse of the prediapause period. A protein in the haemolymph disappeared at the time corresponding to the loss of photoperiodic sensitivity when the fat body was fully developed for the diapause. Chromoproteins, which were colourless immediately after adult emergence, became yellowish with a slight decrease in their relative electrophoretic mobilities, after the onset of adult feeding.

ニジュウヤホシテントウ *Henosepilachna vigintioctopunctata* F. 成虫は短日日長下で飼育すると休眠にはいる(三宅・田村, 1943; 安江・河田, 1964; 河野, 1986)。成虫を寄主植物の生葉で飼育した場合, 休眠は羽化後5日間の短日日長によって決定され, その後, 長日日長へ移しても, その効果はなく, 短日日長で飼育を続けたときと同じく羽化後16日を過ぎるころから成虫は摂食しなくなり休眠に入る(KONO, 1982)。このような成虫の光周期感受性の消失は脂肪体の発達(肥大)に関連があり, ジャガイモ輪切りを餌として与えた場合(河野, 1980)や, 給餌量を制限した場合(KONO, 1982)に脂肪体の発達が遅れると, これに伴って光周期感受性消失時期も遅くなる。この昆虫の光周期感受性とは, アラタ体刺激ホルモンなどを放出する脳の神経分泌細胞の分泌活性が長日日長の影響で高められることである(KONO, 1982)。脂肪体の発達と神経分泌細胞活性化機能の停止との関連を明らかにすることは昆虫における光周性の機構の本質を知ることにつながると考えられる。

ニジュウヤホシテントウ前休眠期での脂肪体発達に伴う脂肪の蓄積, 体内水分含量の低下はすでに明らかにさ

れており, 蛋白質の蓄積も示唆されている(河野, 1980)。コロラドハムシ *Leptinotarsa decemlineata* (DORTLAND, 1978; PEFEROEN et al., 1982), メイガの一種 *Diatraea grandiosella* (TURUNEN and CHIPPENDALE, 1979, 1980) では休眠個体に特有の蛋白質が体液, 脂肪体に蓄積することが知られ, ホルモンによる休眠調節機構におけるこの特異蛋白質の役割も論じられている(TURUNEN and CHIPPENDALE, 1980)。本種にも, 休眠に特異な蛋白質が存在するのか, また, 光周期感受性消失と関連して増減するような蛋白質が存在するのかといった点を検討するために, ポリアクリルアミドゲル電気泳動により体液および脂肪体の蛋白質成分を分離し, 前休眠期や給餌制限によって体重増加を抑えた個体でのそれらの変化を調べた。

本文にはいるに先だち, 電気泳動の方法の教授, 論文の校閲を賜った, 佐賀大学農学部藤條純夫助教授に感謝の意を表す。

材料および方法

昆虫: 京都市左京区一乗寺においてナス科植物上から1979年7月に採集したニジュウヤホシテントウ成虫を

1) 現在 武田薬品工業株式会社農薬事業部開発部

2) Present address: Takeda Chemical Industries, Ltd., Agricultural Chemicals Division, Development Department, Nihonbashi, Chuo-ku, Tokyo 103, Japan.

1987年6月16日受領 (Received June 16, 1987)

もとにジャガイモ生葉を与えて累代飼育している群のなかから、適宜、羽化直後の成虫を選び短日条件 (10L-14D, 25°C), または、長日条件 (16L-8D, 25°C) で飼育した個体を実験に用いた。餌はとくに記述しない限り、ジャガイモ生葉で、十分量与えた。

電気泳動: 各試料は 7.5% ポリアクリルアミドゲルディスク (pH 9.4) により、トリス-グリシン緩衝液 (pH 8.3) を使って電気泳動した。泳動したゲルディスクは 12.5% トリクロロ酢酸水溶液で固定後、0.05% com-massic brilliant blue R-250 を含む 7% 酢酸水溶液で蛋白質を染色した。7% 酢酸水溶液で十分洗った後、デンストメーター (Gelman Sciences 製 DCD-16 型) によりゲルディスクを波長 575 nm の吸光度で測定、記録した。蛋白質成分の構成比は吸光度の相対値を比較して論じた。

電気泳動の試料: 全虫体 (5 頭/0.5 ml), 脂肪体 (腹部脂肪体 5 頭分/0.2 ml) および卵巣 (3 頭分/0.2 ml) を括弧内の割合に生理食塩水 (0.14 M NaCl を含む 0.01 M 磷酸緩衝液, pH 7.2) を加え磨砕し、5,000 rpm, 10 分間遠心した上清をそれぞれディスク当り、20, 20, 40 μ l 入れて泳動した。体液は成虫の胸背板に太目の昆虫針で穴を開け、毛細管で 5 頭分を採集し、その 1 μ l をディスクに加えた。

個別の泳動には、脂肪体 (1 頭分/0.1 ml) 磨砕液の遠心上清 40 μ l, あるいは、体液 0.5 μ l を各ディスクに加えた。

虫体蛋白質の定量: 各日齢の雌成虫 10 頭を冷やした 1.5 ml の生理食塩水 (前述) で磨砕し、5,000 rpm で 10 分間遠心した。上清 0.25 ml に、10% (w/v) トリクロロ酢酸を当量加え、30 分間水中で冷却した後、5,000 rpm で 10 分間遠心して蛋白質の沈殿を得た。5% トリクロロ酢酸 (1 回), エタノール-エチルエーテル (3:1, v/v) 混合液 (2 回), エチルエーテル (2 回) を加えて攪拌、遠心する洗浄操作を繰り返した後、1N NaOH (100°C 加熱) で 2 回抽出し蛋白質分画を得た。これを総蛋白質標準血清 (和光純薬) を対照として、ビュレット反応により定量した。

結 果

1. 体液と卵巣の蛋白質

羽化後長日長下で 15 日経過した成虫 (15 LD) の体液蛋白質を電気泳動すると Fig. 1 のようなパターンが得られた。雌成虫 (15 LDf) には原点に残るものを含めると 14 本のバンドが認められ、これらに泳動の先端 (F) 側から i~xii および xiii と名称を付けた。雄 (15 LDm)

Table 1. Relative mobility (R_m) in 7.5% polyacrylamide gel electrophoresis of haemolymph, ovary and fat body proteins in adult females of *Hemosepilachna*

Component in haemolymph	R_m	Component in ovary	R_m	Component in fat body	R_m
i	0.736	a	0.744	1	0.724
		b	0.716	2	0.670
ii	0.643	c	0.653	3	0.622
	0.621	d	0.619	4	0.527
iii	0.538	e	0.529	5	0.479
iv	0.484			6	0.437
v	0.418	f	0.424	7	0.385
				8	0.356
vi	0.330	g	0.331	9	0.312
vii	0.274			10	0.251
		h	0.262	11	0.217
		j	0.227	12	0.170
viii	0.205			13	0.143
ix	0.165	k	0.169		
x	0.137				
s	0.124				
xi	0.114	l	0.119	14	0.109
				15	0.088
xii	0.055				
		m	0.041		
xiii	0.033				

Characteristics of haemolymph, fat body and ovary proteins correspond to those described in the Figures.

にも、このうちのほとんどの成分が認められたが、xi は見られず、i, ii はわずかしか存在しなかった。各蛋白質成分の相対的泳動距離 (R_m) を Table 1 に示した。ii のバンドは 2 本が重なっているように見えるので、Fig. 1, 15 LDf に見られるピークの両肩について R_m 値を示した。

短日日長下、羽化後 6 日の雌成虫 (6 Sdf) の体液も 15 LDf とほぼ同じ電気泳動パターンを示したが (Fig. 1), ii および xi のバンドは不明瞭で、逆に、長日成虫には見られない成分 S (R_m : 0.124) が確認された。

15 LDf の卵巣からは、Fig. 1, Ov に示すように 12 本の主要成分が検出された。これらを a~m と名付け、 R_m 値を Table 1 に掲げた。 R_m 値のみの比較からすると、6 種の成分が体液のものと同じである。すな

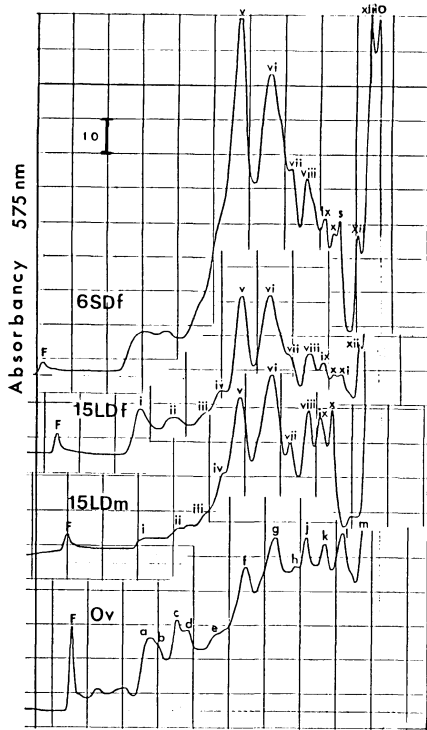


Fig. 1. Protein patterns of haemolymph and ovary in adult *Henosepilachna*. Haemolymph and supernatant of the homogenate of ovary were subjected to electrophoresis on 7.5% polyacrylamide gel (pH 9.4) with the running fluid consisting of Tris-glycine buffer (pH 8.3). Gel discs were stained with Coomassie brilliant blue R-250 and scanned with a densitometer. Haemolymph: 6SDf, 6 day-old short day female; 15LDf, 15 day-old long day female; 15LDm, 15 day-old long day male; Ovary: Ov, 15 day-old long day female. The adults were fed on potato leaves under a: short day (12L-12D) or long day (16L-8D) regime at 25°C. O, F: origin and front of electrophoresis.

わち、c-d は ii に、f, g, k, l は v, vi, ix, xi に対応し、卵巣には特有の成分 b, h, j, m が認められた。このことは体液と卵巣磨砕液とを混合して電気泳動に掛けた結果からも裏付けられた。

長日条件下 3 日後 (3LDf) および 6 日後 (6LDf) の雌成虫の体液蛋白質の泳動パターンは Fig. 2 に示した。6LDf には 15 LDf と同じ成分が確認された。3LDf には ii, iv, xi および xiii のバンドが見られなかった。

体液蛋白質の泳動では染色をする前に黄色の 2 本のバンドが見られる (Fig. 2, Ch)。これらのバンドは v と xiii との蛋白質成分に一致する位置にあることから、これら

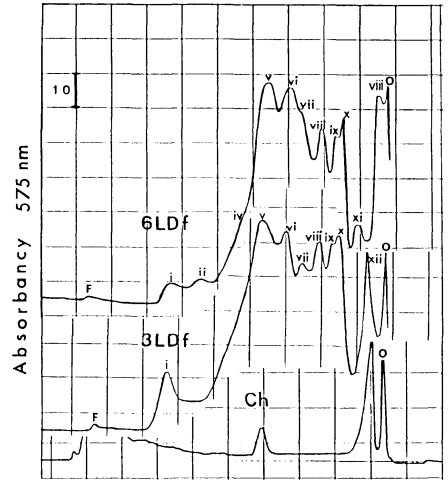


Fig. 2. Protein patterns of haemolymph from 6 day-old (6LDf) and 3 day-old (3LDf) long day female, detected by Coomassie brilliant blue staining. Ch: scanning pattern of 6LDf haemolymph at 475 nm before staining.

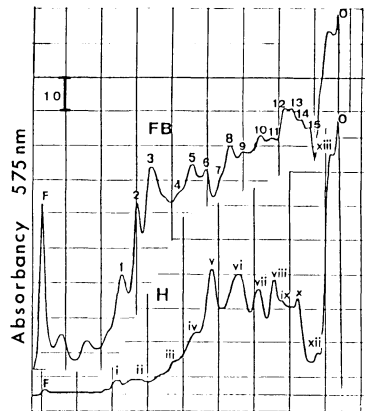


Fig. 3. Comparison of fat body (FB) and haemolymph (H) protein patterns in 9 day-old short day female.

は色素を含んだものと判断される。

2. 脂肪体蛋白質

短日条件下、羽化 9 日後の雌成虫 (9SDf) の脂肪体の可溶性蛋白質の泳動パターンを Fig. 3, に示した。先端と原点付近の成分を除いても 15 本のバンド (1~15) が認められる。それらの R_m 値を Table 1 に示した。9SDf の体液蛋白質の泳動パターン (Fig. 3, H) との比較からも、脂肪体と体液に共通の成分は少なく、 R_m 値からみて 3 と ii の原点側、5 と iv, および、12 と ix の 3 種が両組織に共通のようである。

短日条件下、羽化6日後(6SD)の雌雄で脂肪体蛋白質を比較したが、質的にはほとんど違いがなく、雄にも成分14を除く14本のバンドが確認された。また、長日条件下、羽化6日後の雌(6LDf)の脂肪体にも量的には少ないが、6, 10を除く13本のバンドが認められた(データ省略)。

3. 前休眠期の雌成虫における蛋白質成分の変化

i. 全虫体の蛋白質

短日条件下での全虫体の水溶性蛋白質量は、羽化後から徐々に増加した。羽化当日は1頭当たり0.6 mgであったが、6日後には1 mg, 12日後には1.5 mgに達し、その後はほぼ一定値であった。雌成虫の全虫体の蛋白質泳動パターンは、多数の蛋白質バンドが存在するために

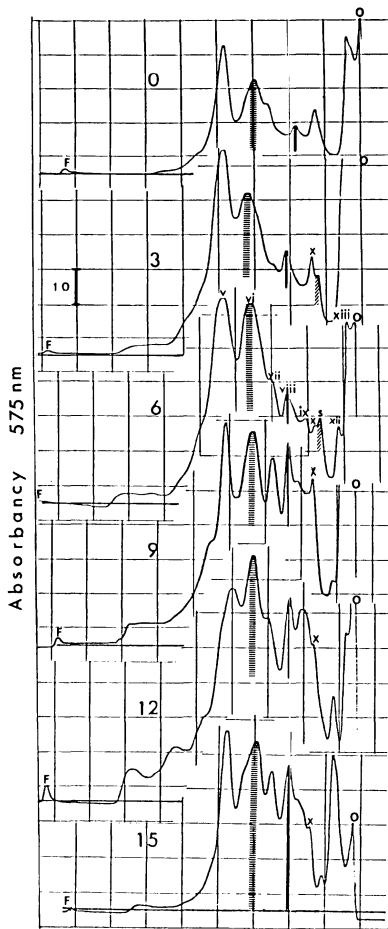


Fig. 4. Changes in protein patterns of haemolymph during the prediapause period in short day females. Adult age in days is represented in the figures.

分離が不完全であったが、羽化後の日齢が進むにつれて、ほとんどの成分が増加するようである。脂肪体の蛋白質成分3, 6, 8, 12, 13に該当すると思われるバンドはとくに6日以降顕著に検出されるようになった。

ii. 体液蛋白質

体液蛋白質の泳動パターンの前休眠期における変化をFig. 4に示した。羽化当日にもv, vi, vii, viii, x, xiiの6本のバンドは明瞭に確認できる。

成分vは3日までに急激に増加したが、その後一定量になり、15日にわずかに減少した。viは3日以後も増加を続け12日に最大値に達した。vii, viiiは最も顕著に増加し、9日に最大濃度となった。休眠個体に特有な成分sは3日に現れ、6日まで増加したが、その後は極端に減少した。xiiは羽化当日と15日には大量に存在したが、3日から12日の盛んな摂食を行っている期間には減少しており、そのかわりにR_m値のやや小さい成分

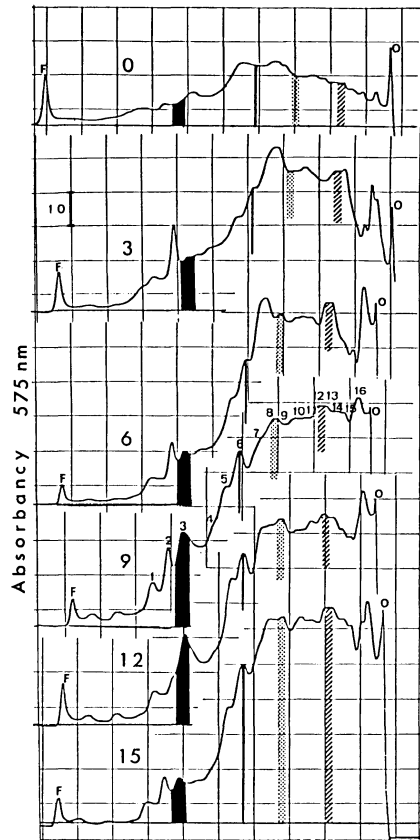


Fig. 5. Changes in protein patterns of fat body during the prediapause period in short day females. Adult age in days is represented in the figures.

xiii の濃度が著しく上昇した。また、羽化当日の v の R_m 値が他の時期の値より、わずかに大きいことも判明した。このように、同一と考えられる蛋白質の R_m 値が羽化当日と摂食を始めてからとで異なることは、この蛋白質が他の物質と結合して分子サイズを変えることを示唆する。

iii. 脂肪体蛋白質

短日条件下の雌成虫における脂肪体蛋白質の泳動パターンの変化を Fig. 5 に示した。羽化当日にはどの成分も量が少なく、目立ったピークを示さないが、3日には2, 6, 7, 12, 13の成分が増加し、かなりはっきりしたバンドを形成した。ほとんどの蛋白質は9日まで増加し続け、その後15日までほぼ同様に保たれた。1, 2, 3の成分は9日の最大量に達した後、明らかに減少した。また、蛋白質7, 8は6日に最大に達した。

4. 蛋白質パターンへの給餌条件の影響

短日条件下に、羽化直後から食餌植物であるジャガイモ生葉の代わりにジャガイモ輪切りを与えて飼育したとき、および、生葉給餌量を制限して成虫の体重増加を抑えたときの体液および脂肪体の蛋白質泳動パターンを羽化9日後の雌成虫(9SDf)で比較した。ジャガイモ輪切りを与えても成虫の体重は正常に増加したが、体液蛋白

質のパターン (Fig. 6, SP) は生葉飼育虫と比べて明らかに異なっていた。蛋白質 vii, x の量が極端に少なく、s および xiii はまったく認められなかった。v と vi, および, viii と ix の間に生葉飼育虫には見られないバンドが現れた。また、v の R_m 値がわずかに大きくなり、羽化当日の体液の該当するバンドの値と一致した。この場合の v には色が付かなかった。給餌制限により9日の体重が羽化時の125, 137, 150% (正常に近い) の3個体 (Fig. 6, A-C) の体液蛋白質を比較すると、体重増加に伴って蛋白質 vii および x が増加し、逆に、s は体重増加の抑えられた個体に現れた。

ジャガイモ輪切り飼育虫の脂肪体蛋白質パターン

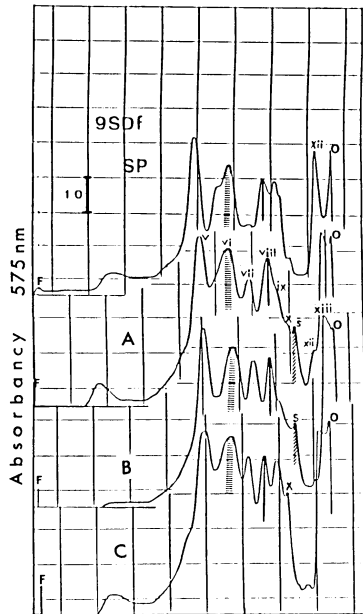


Fig. 6. Haemolymph protein patterns in 9 day-old short day females fed with potato slices (SP) and underfed (A, B, C). Relative body weight (percentage to the weight at emergence) of A, B and C was 125%, 135% and 150% respectively.

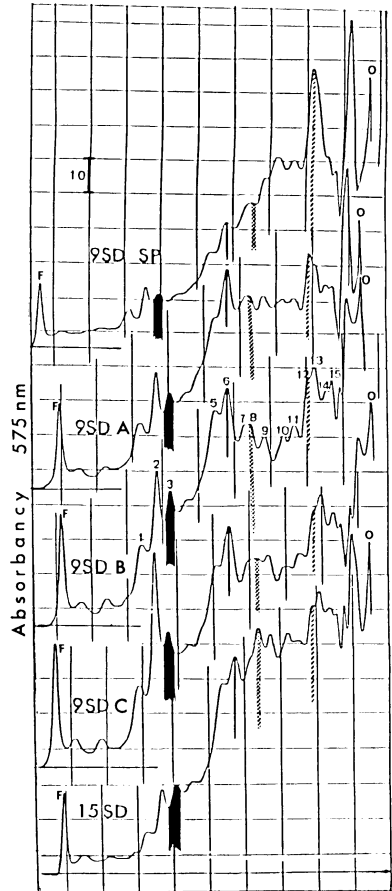


Fig. 7. Fat body protein patterns in 9 day-old short day females fed with potato slices (9 SD SP) and underfed (9 SD A, B, C), and normally fed 15 day-old short day female (15SD). Relative body weight (percentage to the weight at emergence) of 9SD A, B and C was 125%, 137% and 154% respectively.

(Fig. 7, SP) を見ると、生葉飼育虫に比べ 1~6 の成分が少なく、13 が非常に多い。

給餌制限によって得た 8 頭の 9SDf 成虫 (羽化時に比べて体重が 125, 137, 137, 143, 144, 150, 154, 163% に増加) と正常飼育の 3 頭の 15SDf 成虫の脂肪体蛋白質を同時に泳動して比較した。代表例を Fig. 7, 9SDA-C および 15SD に示した。とくに変化の顕著であった 3, 6, 8, 9 の成分について相対的な量を 9SDf の体重比 150% 未満, 9SDf の体重比 150% 以上, および 15SDf の 3 組に分けて比較した (Table 2)。平均値の間で *t*-test による有意差検定 (5%) を行ったところ、成分 8, 9 では体重の重い組で有意に多く、これと 15SDf とには差がなかった。3, 6 は体重の異なる 9SDf の成虫間では有意差を示さなかったが、15SDf では 9SDf の両組に比べて明らかに少なかった。

考 察

ニジュウヤホシテントウ成虫の体液から雌特有の蛋白質成分 ii の Front 側と xi が電気泳動によって分離された。これらと同じ *R_m* 値を示す成分が卵巣 (c, 1) にも認められることから (Table 1)、この成分が、この昆虫の Vitellogenin である可能性が高い。しかし、これらの成分が卵巣内で占める割合は低く (Fig. 1)、他の昆虫; コロラドハムシ (DORTLAND, 1978) やナナホシテントウ (桜井ら, 1985)、で見られるような主要成分とはなっていない。

ニジュウヤホシテントウの卵巣には 10 本以上の蛋白質成分が認められ、そのうち 6 成分は *R_m* 値の比較から体液にも存在すること (Table 1)、および、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動により単位蛋白質に分割した

分析では、この昆虫においても雌成虫の体液、卵巣の主要蛋白質として vitellogenin と呼ぶべきものが確認されていること (奥田ら, 1986) から、この昆虫では vitellogenin が多様な状態で存在しており、それらが今回の native な条件での電気泳動によっては主要成分としての vitellogenin が同定できなかった理由と考えられる。

体液には 2 本の黄色の色素たんぱく (v, xiii) が見られたが (Fig. 2)、色素を含まないジャガイモ輪切りで飼育した場合には見られず (Fig. 6)、わずか *R_m* 値の大きい蛋白質として出現することが明らかになった。しかも、餌を食べていない羽化当日の体液にはジャガイモ輪切り飼育虫と同じ *R_m* 値を示す蛋白質が存在した (Fig. 4)。これは、餌に由来する色素、おそらくカロチノイドが、これら蛋白質と結合して *R_m* が変化した結果だと考えられる。Vitellogenin にはカロチノイドが含まれていることが報告されているが (CHINO et al., 1976)、さらに、グリセリド等の運搬機能をもつ蛋白質、Lipophorin にもカロチノイドが含まれている (CHINO et al., 1969)。カロチノイドは被運搬物とも考えられることから、今回観察した蛋白質はこれらに類したものと考えられる。ジャガイモ飼育虫には他にも特有な蛋白質バンドが認められることから、色素以外の物質と結合して *R_m* 値が変化する蛋白質も存在すると考えられる。

緒言でも触れたように、ニジュウヤホシテントウ成虫の休眠誘起にはふたつの関門がある。第一が光周期感受性の消失で、第二が摂食終了である。両者は成虫の体重増加や脂肪体の発達と密接に関連しており (KONO, 1982)、蛋白質の蓄積との関連も考えられる。摂食終了は明らかに脂肪体蛋白質の増加が止まった後に起こり、この時期が体重、脂肪の増加の終了に一致することから、蛋白質、

Table 2. Comparison of relative concentration of fat body protein bands between normal and underfed 9SDf beetles, based on the absorbancy at 575 nm on polyacryl amid gels

	Mean relative concentration + S.D.			
	Band No. 3	6	8	9
Normal 9SDf	43.0 ± 10.8 ^a	64.7 ± 4.9 ^a	63.0 ± 3.5 ^a	60.7 ± 2.1 ^a
underfed 9SDf	36.4 ± 7.6 ^a	64.6 ± 4.4 ^a	55.4 ± 4.2 ^b	56.0 ± 2.1 ^b
15SDf	24.7 ± 0.8 ^b	54.0 ± 6.6 ^b	65.0 ± 4.0 ^a	61.0 ± 7.2 ^a

Normal 9SDf: 9 day-old female adults which had been fed an adequate amount of host plant foliage and whose weight had increased by more than 1.5 fold that at emergence; underfed 9SDf: 9 day-old females which had received little food and consequently in which the weight had increased by less than 1.44 fold that at emergence; 15 SDf: normally fed 15 day-old female.

^a, ^b: different characters in each band indicate a significant difference at 5% level (*t*-test).

脂肪の貯蔵完了が摂食終了の原因と考えられる。

光周期感受性は羽化後、短日長条件下に6日間置かれ、成虫の体重が羽化時の150%に達すると消失するが、給餌を制限して体重増加を抑えると消失時期も遅れる(KONO, 1982)。短日条件下、給餌制限により得た体重比150%以下の9日齢の成虫と正常に近い体重比150%以上の成虫とで蛋白質成分を比較した結果、体液蛋白質vii, xは明らかに重い成虫に多量に存在した(Fig. 6)。しかも、光周期感受性の消失しないジャガイモ輪切り飼育虫には少量しか認められないことから、これら蛋白質の増加は光周期感受性消失と並行しているといえる。同様に脂肪体蛋白質3, 8, 9も体重比150%以上の成虫に多量に現れたが、3は羽化後9日をピークにその後減少する特異な変化を示した(Fig. 5)。さらに、体液中の蛋白質sは正常飼育の場合、光周期感受性消失時の羽化6日後までは増加し、その後急激に減少したが(Fig. 4)、給餌制限を行った9日齢の体重比150%以下の成虫には存在し、150%以上の成虫では消失した点で(Fig. 6)、最も注目すべき蛋白質である。

以上のように、ニジュウヤホシテントウは休眠に入るまでに蛋白質を多量に貯えるが、それはコロラドハムシで知られるような休眠虫に特異なもの(DORTLAND, 1978; PEFEROEN et al., 1982)ではなく、通常存在している多様な蛋白質であるようである。しかし、量的には少ないが、光周期感受性消失と関連して変化する成分sのような蛋白質も存在し、これらの研究により新しい展開も期待される。

摘 要

ニジュウヤホシテントウ成虫の体液、脂肪体の蛋白質をポリアクリルアミド・ゲル電気泳動によって分離し、それぞれの蛋白質成分の前休眠期および脂肪体発達に伴う変化を観察した。この昆虫では、雌特異的な vitellogenin 様蛋白質は認められたが、それらは卵巣蛋白質の主要成分ではなかった。休眠に特異的な蛋白質は認められなかったが、ほとんどの体液、および、脂肪体蛋白質成分は前休眠期の進行につれて増加した。体液蛋白質の中に脂肪体が発達すると消失するものも認められ、一成分は光周期感受性消失後に消失した。体液中には色素蛋白質と呼ぶべきものが存在した。これらは羽化時には色素と結合しておらず、摂食が始まると色素と結合して電気泳動上の相対距離が小さいほうへ変化することが明らかになった。

かになった。

引用文献

- CHINO, H., S. MURAKAMI and K. HARASHIMA (1969) Diglyceride carrying lipoproteins in insect hemolymph. Isolation, purification and properties. *Biochem. Biophys. Acta* **176**: 1—26.
- CHINO, H., M. YAMAGATA and K. TAKAHASHI (1976) Isolation and characterization of insect vitellogenin. Its identity with hemolymph lipoproteins. II. *Biochem. Biophys. Acta* **441**: 349—353.
- DORTLAND, J.F. (1978) Synthesis of vitellogenins and diapause proteins by the fat body of *Leptinotarsa*, as a function of photoperiod. *Physiological Entomol.* **3**: 281—288.
- 河野義明 (1980) ニジュウヤホシテントウムシの前休眠期における脂肪体の発育と日長感受性. *応動昆* **24**: 98—104.
- KONO, Y. (1982) Change of photoperiodic sensitivity with fat body development during prediapause period in the twenty-eight-spotted lady beetle, *Henosepilachna vigintioctopunctata* FABRICIUS. *Appl. Ent. Zool.* **17**: 92—101.
- 河野義明 (1986) 光周期によるニジュウヤホシテントウ卵巣発育の調節. *応動昆* **30**: 87—92.
- 三宅利雄・田村国男 (1943) 二十八星瓢虫化性変化の要因. *応動* **14**: 186—191.
- 奥田 隆・鎮西康雄・小関尚美・河野義明 (1986) ニジュウヤホシテントウの休眠とJHAによるヴィテロジェニンの誘導. *応動昆* 30回大会(札幌) p. 90 [講要].
- PEFEROEN, M., D. STYNEN and A. DE LOOF (1982) A re-examination of the protein of the haemolymph of *Leptinotarsa decemlineata*, with special reference to vitellogenins and diapause proteins. *Insect Biochem.* **12**: 345—351.
- 桜井宏紀・平野哲司・武田 享 (1985) ナナホシテントウの休眠に伴う血液タンパクの変化とそのホルモン支配. *岐阜大農研報* **50**: 41—45.
- TURUNEN S. and G. M. CHIPPENDALE (1979) Possible function of juvenile hormon-dependent protein in larval insect diapause. *Nature* **280**: 836—838.
- TURUNEN, S. and G.M. CHIPPENDALE (1980) Fat body protein associated with the larval diapause of the south-western corn borer, *Diatraea glandiosella*: synthesis and characteristics. *Comp. Biochem. Physiol.* **65B**: 595—603.
- 安江安宣・河田和雄 (1964) ニジュウヤホシテントウムシの休眠と日長効果 (4). 長短日の組み合わせと休眠との関係. *応動昆中国支部会報* **6**: 8—9.