

家蚕消化液の核多角体病ウイルス不活化作用力に関する 2,3の知見

誌名	日本蠶絲學雜誌
ISSN	00372455
著者	荒武, 義信 上野, 博
巻/号	42巻4号
掲載ページ	p. 279-284
発行年月	1973年8月

家蚕消化液の核多角体病ウイルス不活化 作用力に関する 2, 3 の知見

荒 武 義 信・上 野 博

熊本県・蚕糸試験場九州支場
(1972年11月11日受理)

家蚕消化液の核多角体病ウイルス不活化作用については数多くの報告があり (AIZAWA, 1963; 北島, 1932; 鈴木, 1937 a), その作用力は5齢起蚕を低温処理すると低下するといわれている (鮎沢・古田, 1966)。また, 消化液中に存在するウイルス不活化物質の検索も種々な面から追究されている (AIZAWA, 1962; 鮎沢・石塚, 1967; 林屋ら1968; 向井ら, 1968; 鈴木, 1937 c)。

このように家蚕消化液がカイコのウイルスを不活化することは明らかであるが, この作用力が蚕品種によって差異があるか否かについては明らかでない。この点の解明は蚕育種の面からのみでなく, カイコのウイルス病防除の上からも重要であると考えられる。

著者らはこのような観点から家蚕消化液のカイコの核多角体病ウイルス不活化作用力について, 蚕の発育段階および飼育蚕期における差異ならびに蚕品種の差異, さらに原種と交雑種との関係について検討した。以下得られた結果の概要を報告する。

本文に入るに先立ち, 本実験の遂行に種々のご指導と本稿のご校閲を頂いた九州大学農学部教授鮎沢啓夫博士に深謝する。

材料および方法

供試蚕品種は日124号×支124号などの普通蚕品種と蚕糸試験場育種部において保存されている系統保存品種, およびこれら品種の交雑種である。消化液の採取は主として各品種, 交雑種毎に5齢2日目蚕を24~48時間絶食させ, そのご1頭づつ電気衝撃法によって100~200頭分まとめて行なった。得られた消化液は直ちに4,000 rpm, 10分間遠心し, その上清をさらに10,000 rpm, 30分間冷却遠心して上清をとり, 供試時まで -20°C で凍結保存した。

供試核多角体病ウイルスは, 典型的な病徴を示した核多角体病蚕から病血を採取し, 3,000 rpm, 10分間の遠心操作を3回繰返して得られた上清 (NVと略す) で, いずれも多角体の存在しないことを鏡検によって確かめたものである。

核多角体病ウイルスの不活化作用力 (作用力と略す) の検定は蚕蛹への注射によった。すなわち, NVを0.05 M 磷酸緩衝液 (pH, 7.2) で10倍階段稀釈し, この0.4 mlと消化液0.4 mlを等量混合して $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ の恒温水中で時々攪拌しながら60分間インキュベートした。なお, 一時に多数品種の消化液作用力の実験は困難であるため適宜試料数に分けて実施し各実験ごとに設けた対照区は消化液の代わりに磷酸緩衝液を用いて稀釈したNVと等量混合し上記と同様に処理した。インキュベート後1区10頭の蚕蛹 (主として日124号×支124号) にガラス毛細管を用い1頭当たり約0.005 mlあて注射した。注射後の蛹は滅菌シャーレに入れ定温器 ($25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$) 内で羽化時まで保護し発病状況を観察した。なお, 同一実験に用いた蚕蛹はそれぞれ雌または雄に統一した。試験区の示す $-\log \text{LD}_{50}$ と対照区の $-\log \text{LD}_{50}$ の差を求めて, これを不活化対数とし, 作用力を現わす指標とした。すなわち, 不活化対数値の大きいほど作用力の強いことを示す。

結果および考察

I. 蚕の発育段階による不活化作用力の差異

蚕期を異にして日124号×支124号を飼育し, 4齢1日目から5齢6日目まで毎日消化液を採取して, それらの作用力を調べた。第1表に示すように不活化対数値は各蚕期とも4齢期よりも5齢期が大きく, したがって5齢蚕の消化液の作用力が強いことがうかがわれた。同一齢期の消化液の作用力は齢の

第1表 蚕の發育段階別消化液のウイルス不活化作用力

齡別	日別	1967年		1968年	
		春	晩秋	春	晩秋
4	1	—	0.60	1.40	1.00
	2	—	1.80	1.40	1.20
	3	—	2.60	2.20	1.80
	4	—	—	—	2.00
5	1	2.20	0.80	2.00	1.40
	2	2.40	2.40	2.80	2.20
	3	2.80	2.40	3.00	2.40
	4	2.80	2.60	3.20	2.20
	5	2.80	3.00	3.20	2.40
	6	2.80	—	3.40	2.80

(注) 消化液採取蚕品種：日124号×支124号，感染実験供試蛹：日124号×支124号(♀)，数字は不活化対数を示す。

初期よりも齡の末期が強くなり、蚕期別では春蚕期が晩秋蚕期より強かった。蚕消化液の發育段階別作用力については鈴木(1937b)の研究があるが、それによると作用力は2齡蚕のものがもっとも弱く、以後カイコの發育に伴なって漸次強くなるという。本実験においては4齡蚕と5齡蚕のみについて調査したが、前者の作用力が後者の作用力より弱く、また同一齡では齡初期、とくに起蚕が齡末期よりも弱く、鈴木(1937b)の結果と同様の傾向を示した。これらのことは核多角体病ウイルスに対するカイコの感染抵抗性とも関連するようにみうけられ、幼齡期と各齡の起蚕がもっとも感染し易いことと関係のあることが推察される。

II. 消化液の採取年度及び蚕期による不活化作用

力の差異

大造，セリシン繭，優性赤蟻蚕およびちらばる蚕の消化液を採取し，採取年度または採取蚕期を異にした場合の作用力を調べた(第2表)。実験は2ケ年に亘って行なったが，1967年晩秋期には同年の各蚕期採取の消化液を，1968年晩秋期には1967年と1968年採種の各蚕期別消化液を同時に供試した。各品種の消化液が示す作用力は両年とも春蚕期採取の場合がもっとも強かったが，初，晩秋蚕期の間においては大差なかった。また，1967年と1968年採取消化液の作用力の間には大きな差異はなかった。なお，1967年採取試料は1967年と1968年の両測定値間に差がなく，消化液を-20°Cで1年～1年半保存しても，作用力は低下しないことが示された。

III. 原種における不活化作用力の差異

遺伝的突然変異蚕を含む18品種から消化液をそれぞれ採取し，不活化対数値を求めて各品種間の作用力を比較した(第1図)。供試した18品種のうち，セリシン繭，大造などの不活化対数値は大きく，したがって作用力の強いことが示された。しかし，ちらばる蚕，優性赤蟻などの不活化対数値は小さく，作用力の弱いことがわかった。

IV. 原種と交雑種との不活化作用力の関係

原種と交雑種間における消化液の作用力についての関係を知るために，強い作用力を示したセリシン繭および大造と，作用力の弱かったちらばる蚕および優性赤蟻を用いてそれぞれ交雑種を作り，原種とこれら交雑種の交雑F₁および交雑F₂の作用力を調査した(第3表)。実験は1966年から1968年にかけて行なったが，作用力の強い系統同士，すなわち，セリシン繭と大造との交雑F₁の作用力は両親およびその平均値よりも大きい不活化対数値を示し，雑

第2表 年度および蚕期別採取消化液のウイルス不活化作用力

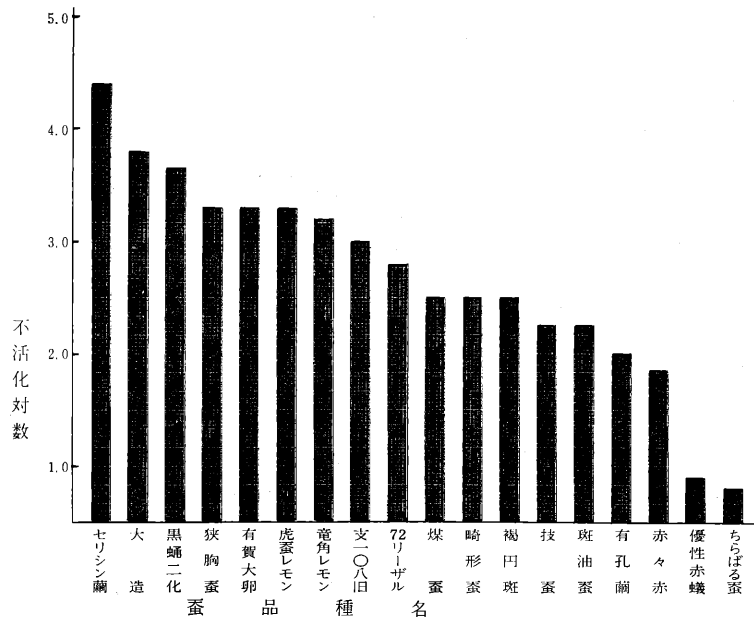
試験時期 採取時期 品種名	1967年10月			1968年10月					
	1967年			1967年			1968年		
	春	初秋	晩秋	春	初秋	晩秋	春	初秋	晩秋
大造	3.0	2.8	2.6	3.2	2.6	2.6	3.4	2.6	2.8
セリシン繭	3.0	2.6	2.6	3.0	2.6	2.8	3.4	3.0	2.8
優性赤蟻	1.8	1.2	1.0	1.6	1.2	1.4	2.0	1.6	1.8
ちらばる蚕	1.0	1.0	0.6	1.6	1.0	1.2	1.6	1.7	1.0

(注) 第1表と同じ

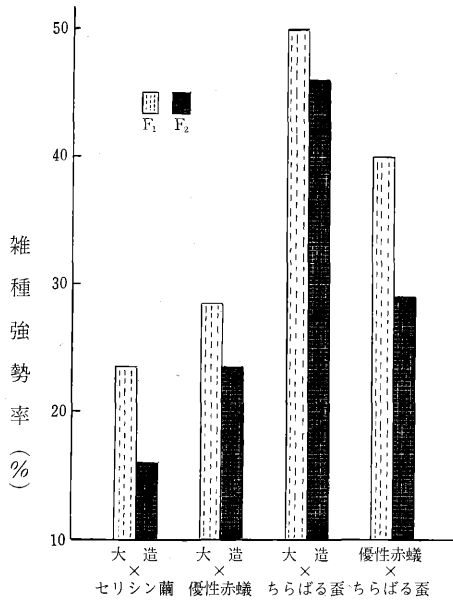
第3表 原種と交雑 F₁, F₂ 消化液のウイルス不活化作用力

交配型式	P			F ₁	F ₂	備考	
	♀	♂	平均				
大造×セリシン繭	3.1	3.7	3.4	3.8		1966年	晩秋蚕期
	2.6	2.8	2.7	3.4	3.2	1967年	〃
大造×優性赤蟻	2.6	1.6	2.1	2.7	2.6	〃	〃
	2.6	1.4	2.0	2.8	2.6	1968年	春 蚕期
優性赤蟻×大造	1.4	2.6	2.0	2.4	1.7	〃	〃
大造×ちらばる蚕	2.6	1.0	1.8	2.7	2.4	1967年	晩秋蚕期
	2.6	1.2	1.9	2.6	1.8	1968年	春 蚕期
ちらばる蚕×大造	1.2	2.6	1.9	2.6	2.0	〃	〃
優性赤蟻×ちらばる蚕	1.6	1.0	1.3	1.8	1.7	1967年	晩秋蚕期
	1.4	1.2	1.3	2.1	1.5	1968年	春 蚕期
ちらばる蚕×優性赤蟻	1.0	1.6	1.3	1.8	1.6	1967年	晩秋蚕期
セリシン繭×優性赤蟻	3.4	1.1	2.5	2.8		〃	初秋蚕期
	2.8	1.6	2.2	2.5	2.3	〃	晩秋蚕期
セリシン繭×ちらばる蚕	3.4	0.6	2.0	2.4		〃	初秋蚕期
	2.8	1.0	1.9	2.8	2.6	〃	晩秋蚕期

(注) 数字は不活化対数
 P：親系統
 F₁：交雑 F₁
 F₂：交雑 F₂



第1図 各種蚕品種消化液のウイルス不活化作用力

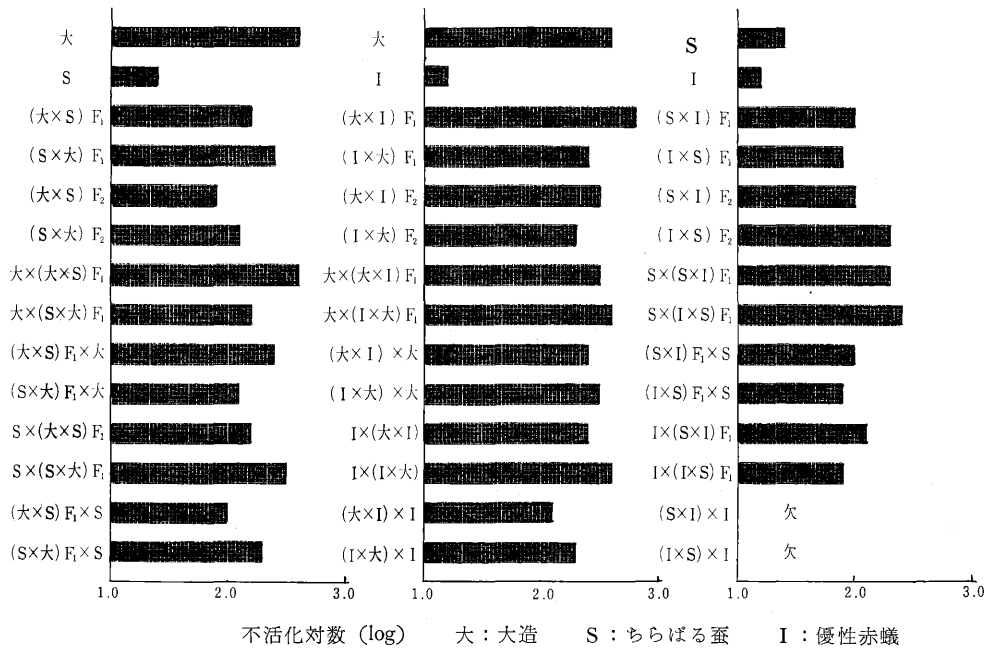


第2図 消化液のウイルス不活化作用力の雑種強勢率

$$\text{雑種強勢率} = \frac{\text{両親の平均不活化対数} - F_1(F_2)^*}{\text{両親の平均不活化対数} - \text{の不活化対数}} \times 100$$

種強勢がみとめられた。しかし、これらの交雑 F₂ の作用力は交雑 F₁ よりもやや低下する傾向がみられた。作用力の強い品種と弱い品種との交雑、すなわち、大造またはセリシン繭とちらばる蚕または優性赤蟻との交雑 F₁ の作用力は作用力の強い親よりも小さい不活化対数値を示す場合もあるが、両親の平均値よりは常に大きかった。これらの交雑 F₂ の作用力は交雑 F₁ のそれよりも低下する傾向がみられた。作用力の弱い品種同士の交雑、すなわち、ちらばる蚕と優性赤蟻蚕との交雑 F₁ の作用力は両親のいずれよりも大きく、したがって顕著な雑種強勢がみとめられた。これらの交雑 F₂ の作用力は交雑 F₁ のそれよりやや低下したが、それでも原種の平均値よりは大きい不活化数値が示された。

以上のように、交雑 F₁ の消化液が示す作用力には明らかに雑種強勢がみとめられ、また、交雑 F₂ においてもこの雑種強勢が維持される組合せもみられた。この雑種強勢率を4交雑種の交雑 F₁ および交雑 F₂ について常法により算出して図示した(第2図)。雑種強勢率は作用力の強い品種同士の交雑よりも、弱い系統同士の交雑の方が高く、とくに作用力の強い品種と弱い品種との交雑種においてもっとも高かった。たとえば、大造とちらばる蚕との



第3図 原種と交雑F₁, F₂ および戻し交雑種消化液のウイルス不活化作用力

交雑種は高い雑種強勢率を示した。また、各交雑種の交雑 F_1 と交雑 F_2 の雑種強勢率は常に交雑 F_1 が交雑 F_2 よりも高かった。

つぎに、作用力の強い大造と弱いちらばる蚕または優性赤蟻蚕とをそれぞれ交雑し、それらの交雑 F_1, F_2 または戻し交雑種の消化液の作用力を調べた(第3図)。原種の大造とちらばる蚕の作用力については、すでに明らかにしたように大差がみられたが、これら両系統の交雑 F_1 の作用力は両親の中間よりもやや高く、大造のそれに近似した値が示された。交雑 F_2 の作用力は交雑 F_1 よりも低い、両親のほぼ中間値を示した。これらの交雑 F_1 に大造を戻し交雑した場合は交雑 F_1 と同程度か、またはそれ以上の作用力が示され、かつ、大造を母体にしても交雑 F_1 を母体にしても大差はみられなかった。またこの交雑 F_1 にちらばる蚕を戻し交雑すると、大造を戻し交雑したものに比べて作用力はやや低下する傾向がみられたが、それでも作用力はかなり高かった。大造と優性赤蟻との交雑種についても、上記大造とちらばる蚕との交雑種にみられた傾向とはほぼ一致した関係が示された。一方、作用力の弱い品種であるちらばる蚕と優性赤蟻蚕との交雑 F_1 の作用力は両親よりも高く、交雑 F_2 も同様であった。これらの交雑 F_1 にちらばる蚕または優性赤蟻蚕を戻し交雑すると、その作用力は交雑 F_1 と同程度であった。なお、採取した消化液のpHを品種ごと、交雑種別に調査したが、それぞれ9.00~10.60の間に分布し、このpHとウイルス不活化作用力との間に一定の関係はみとめられなかった。

以上のように、カイコの消化液のウイルス不活化作用力はカイコの発育段階、蚕品種などによって異なり、交雑種には雑種強勢がみられた。このような消化液のウイルス不活化作用力の、蚕の感染防御機構としての意義、役割についてはなお不明の点が多いが、本現象の解明は今後蚕病防除の立場上、また蚕品種育成の観点からも極めて重要なことと考えられる。

摘 要

家蚕消化液の核多角体病ウイルス不活化作用力について2, 3の調査を行ないつぎの結果を得た。

1. 家蚕消化液の不活化作用力は蚕の発育段階によって差異がみられ、4齢期よりも5齢期が、同一齢期においては齢の末期が齢の初期よりも強かった。
2. 飼育時期を異にした蚕の作用力はいくぶん異なり、春蚕期飼育蚕の作用力がもっとも強かった。
3. 消化液を -20°C で1年半凍結保存しても不活化作用力の低下はほとんどみとめられなかった。
4. 原種の消化液の作用力は品種的に大きな差異がみられた。
5. 交雑 F_1 の消化液の作用力は一般に雑種強勢がみとめられ、とくに作用力の弱い品種と強い品種との交雑 F_1 で顕著であった。しかし、交雑 F_2 および戻し交雑では交雑 F_1 よりも作用力が低下した。

文 献

- AIZAWA, K. (1962): J. Insect Pathol., **4**, 72-76.
- AIZAWA, K. (1963): J. Insect Pathol., An Advanced Treatise (E.A. Steinhaus, ed) **1**, 381-412.
- 鮎沢啓夫・石塚秀樹(1967): 日蚕九州講要(昭和45年度), **3**.
- 鮎沢千尋・古田要二(1966): 日蚕雑, **35**, 64-70.
- 林屋慶三・西田順・松原藤好(1968): 応動昆, **12**, 189-193.
- 北島鉞雄(1932): 鹿児島高農報, **10**, 163-170.
- 向井純一郎・武谷立子・阿久根了(1968): 日蚕九州講要(昭和43年度), 22-23.
- 鈴木健弘(1937 a): 日蚕雑, **8**, 137-138.
- 鈴木健弘(1937 b): 日蚕雑, **8**, 139.
- 鈴木健弘(1937 c): 日蚕雑, **8**, 140.

Summary**Inactivation of a nuclear-polyhedrosis virus by the gut-juice of the silkworm, *Bombyx mori* L.**

By

Yoshinobu ARATAKE and Hiroshi UENO

It has been known that a nuclear-polyhedrosis virus is inactivated *in vitro* by the gut-juice of silkworm larva. The present study dealt with some characteristics of antiviral activity of the gut-juice collected from various silkworm strains.

The antiviral activity of the gut-juice obtained from the 5th-instar larva was higher than that of the 4th-instar larva. As for the same instar larvae, larva at a late stage showed much higher antiviral activity of the gut-juice than larva at an early stage. Although the activity of the gut-juice was varied with silkworm strains and seasons of larval rearing, the gut-juice obtained from larvae of spring rearing showed the highest activity. The activities of the gut-juice obtained from F₁ hybrids were much higher, in general, than those from their parental inbred strains, back-crossed hybrids, and F₂ hybrids.

No change of the activity was detected in the gut-juice which had been stocked at -20°C for 1.5 years.

(*Kyushu Branch Station, The Sericultural Experiment Station, Ueki, Kumamoto*)