

人工飼料飼育蚕における幼若ホルモン活性化合物の投与時期の検討

誌名	日本蠶絲學雜誌
ISSN	00372455
巻/号	461
掲載ページ	p. 69-76
発行年月	1977年2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



人工飼料飼育蚕における幼若ホルモン 活性化化合物の投与時期の検討*

青森棕二・小沢洋一・新村正純

埼玉県狭山市下奥富・中央蚕研株式会社 (〒350-13)
(1976年7月22日受理)

幼若ホルモン活性化化合物(以下JHと略す)をカイコの5齢幼虫に投与すると、幼虫期間の延長とこれに伴う絹蛋白質の合成活性の延長の結果、できた繭の全繭重および繭層重が著しく増加することがAKAIら(1971)により報告されて以来カイコへのJHの利用研究が多くなされている(MURAKOSHIら, 1972; NIHMURAら, 1972)。

また赤井らはJHの投与時期によりカイコに与える影響が異なり、5齢起蚕から24時間経過時の投与が最も望ましく、5齢48時間以降の投与は発育経過および繭質に悪影響があることを報告している(AKAIら, 1971; 赤井ら, 1973)。一方、著者らは人工飼料飼育に於けるJHの実用化を目的として投与時期と投与量を知るため合成JHを経口的に投与して、繭層増大および結繭率向上に最も効果の見られる投与方法を検討した。今回その結果について報告する。

材料と方法

供試蚕品種は育成中のN9×C9であった。飼育温度は稚蚕期28°C、壮蚕期26°C、相対湿度は約60%の空調室で、人工飼料(Table 1)を用い飼育した。

幼若ホルモン投与: 実験にはFig. 1に示した2種類の合成JHの幾何異性体の混合物(MORIら, 1971; OZAWAら, 1973)を用いた。

これらJH活性化化合物は、天然型のC₁₈-セクロピアJHより活性が強く、JH(I)は約60倍、JH(II)は約100倍の活性があることが知られている(OZAWAら, 1973; NIHMURAら, 1974)。

合成JHの投与は添食投与で行った。合成JH

* 本研究の一部は日本蚕糸学会関東支部第23回学術講演会(1972)において発表した。

0.5 µg に対し精製大豆油 1 µl の割合で溶解し、人工飼料原料の脱脂大豆粉20mgに均一に混合した。この混合物の所定量を他の人工飼料原料とともに水と練合し、20分間蒸煮した人工飼料を発育経過の異なるカイコに給餌した。給餌量は給餌から翌日の給餌までの間に全部食下できる量を与えた。合成JHを含む脱脂大豆粉混合物の所定量は、合成JHの平均食下量が結果の項に示した量になるように計算して

Table 1 Composition of the artificial feed

Substance	Diet for 5th-instar larvae	Diet for 3rd- and 4th-instar larvae
Mulberry leaf powder	0 %	5.0 %
Defatted soybean meal	45.0	60.0
Agar	0	7.5
Corn meal	46.5	15.0
Sugar	0	5.0
Wesson's salt mixture	1.0	1.0
Soybean oil	2.9	2.0
Soybean sterol	0.3	0.3
Citric acid	1.0	1.0
Ascorbic acid	2.0	2.0
Propionic acid	1.5	1.5
Chloramphenicol	0.01	0.01
Vitamin B mixture*	Added	Added
Water	2.3 ml per g of dry feed	3.0 ml per g of dry feed

* Amounts of vitamins added per 10 g dry feed: 15 mg choline chloride, 20 mg inositol, 1 mg nicotinic acid, 1.5 mg calcium pantothenate, 0.3 mg pyridoxine hydrochloride, 0.2 mg riboflavin, 0.2 mg thiamine hydrochloride, 0.02 mg biotin, 0.02 mg folic acid.

決めた。JH投与後は基本飼料にて熟蚕に至るまで飼育し營繭させた。

結 果

1. 合成JHの5齡期における投与時期の影響について

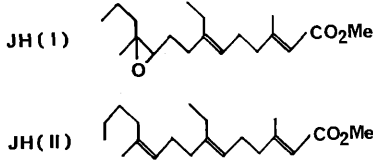


Fig. 1. The chemical structure of the synthetic JH tested.

JH(I) : Methyl 10,11-oxido-3,11-dimethyl-7-ethyltetradeca-2,6-dienoate.

JH(II) : Methyl 3,11-dimethyl-7-ethyl pentadeca-2,6,10-trienoate.

発育経過の異なるカイコの5齡幼虫に合成JHを投与して繭層重増大に対する最も有効な投与時期を検討した。5齡起蚕で発育経過を齊一にし、合成JHを含む人工飼料を1日分与えて、繭質への影響を調査した。

その結果、Table 2 に示すように5齡期に於ける合成JHの投与時期の影響は熟蚕発現分布に現われ、5齡4日目投与が最も熟蚕化を遅延させ、次が3日目投与で2日目、1日目投与がこれに続き、5日目投与は熟蚕化遅延効果は小さかった。繭質に及ぼす影響も熟蚕化遅延効果と全く同様な結果が得られ、投与時期と繭層重増加との関係は5令4日目投与と3日目投与が効果が高く、2日目、1日目、5日目投与の順で効果はだんだん小さくなる傾向にあった。5令1日目投与の場合、投与量を $2.0\mu\text{g}/\text{頭}$ と増した場合でも3日目あるいは4日目投与の $0.5\mu\text{g}/\text{頭}$ よりも効果は小さい傾向にあった。2日目投与の $2.0\mu\text{g}/\text{頭}$ は熟蚕化遅延効果は大きか

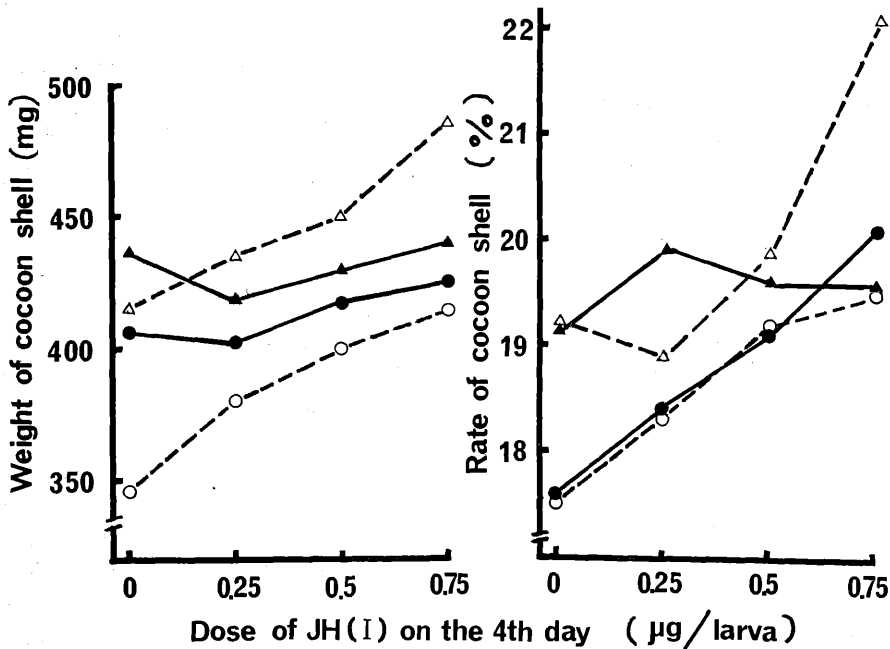


Fig. 2. Effects of dose of JH(I) on the cocoon-shell weight* and cocoon-shell percentage** of *Bombyx mori* during the 3rd and the 4th day of the 5th instar.

Race : N9 × C9. The sign shows dose of JH(I) on the 3rd days : ○ ; 0, ● ; 0.25, △ ; 0.5, ▲ ; 0.75 $\mu\text{g}/\text{larva}$. * : Average of cocoons of males and females. ** : Calculated by dividing cocoon-shell weight by cocoon weight.

Table 2 Effect of 5th-instar-dosage of JH on maturation and cocoon quality of *Bombyx* larvae^{a)}

JH compounds	Administered timing (day of the 5th instar)	Doses ^{b)} ($\mu\text{g}/\text{larva}$)	% of self-mounting larvae						Quality of reable cocoon ^{d)}			Cocoon shell yield ^{e)} (mg)
			6th day		7th day		8th day		Cocoon weight (g)	Cocoon shell weight (mg)	Rate of cocoon shell (%)	
			AM	PM	AM	PM	AM	PM				
First experiment												
JH(I)	Control	0	16	42	42	—	—	—	2.15	374	17.4	365
	1	0.5	—	12	88	—	—	—	2.20	391	17.8	371
	2	0.5	—	—	26	68	6	—	2.37	416	17.5	411
	3	0.5	—	—	—	12	50	38	—	2.31	428	391
	4	0.5	—	—	—	—	94	4	—	2.34	438	410
	5	0.5	—	46	54	—	—	—	2.19	379	17.3	354
JH(II)	1	1.0	—	—	64	36	—	—	2.34	398	17.0	401
	2	1.0	—	—	32	54	14	—	2.34	412	17.6	395
	3	1.0	—	—	—	12	22	64	—	2.27	441	418
	4	1.0	—	—	—	—	26	74	—	2.29	451	416
	5	1.0	10	30	60	—	—	—	2.18	385	17.7	370
	1	2.0	—	—	20	78	—	—	2.30	414	18.0	386
2	2.0	—	—	—	62	36	—	2.36	420	17.0	388	
Second experiment												
JH(II)	Control	0	—	7.5	52.5	32.5	7.5	—	1.98	371	18.7	348
	2	0.5	—	—	—	—	45	55	2.10	454	21.6	442
	3	0.5	—	—	—	—	12.5	75	2.04	465	22.8	424
	4	0.5	—	—	—	—	—	30	2.04	471	23.1	447
	5	0.5	—	—	32.5	35	32.5	—	1.93	383	19.9	386
	1	2.0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

a) Race : N9×C9 (reared on an artificial diet).

b) The artificial diets containing (various doses of) JH were supplied for the test larvae.

c) Fifty animals were used in the first experiment, and 40 animals were used in the second experiment.

d) Average of cocoons of males and females.

e) All cocoon shells obtained/no. of larvae used.

Table 3 Effect of dose and time of JH (II) administered in the 5th instar of *Embyx mori*²⁾ on quality of cocoons obtained

JH administ- rated time (days of the 5th instar)	Total of oral doses (μ g/larva)	Duration ^{b)} of feeding period (days)	% of cocoon obtained ^{c)}		% of non- cocooning larvae			Quality of reelable cocoon ^{d)}		Cocoon ^{e)} shell yield (mg)
			Reelable cocoon	Lightly defective cocoon	Spoiled cocoon	Cocoon weight (g)	Cocoon shell weight (mg)	Rate of cocoon shell (%)		
First experiment										
Control	0	6.3	92.5	2.5	5.0	0	1.98	371	18.7	348
4th day	0.5	7.3	90.0	7.5	2.0	0	2.04	471	23.1	447
2nd-3rd days	0.5	7.6	87.5	7.5	5.0	0	2.17	486	22.4	441
3rd-4th days	0.5	7.6	80.0	10.0	7.5	2.5	2.12	492	23.2	426
2nd-4th days	0.5	7.5	90.0	10.0	0	0	2.19	502	22.9	488
Second experiment										
Control	0	6.4	95.5	3.5	1.0	0	2.00	418	21.0	410
1st-3rd days	0.57	7.4	92.0	5.5	1.5	1.0	2.27	508	22.4	479
2nd-4th days	0.48	7.5	91.0	7.0	1.5	0.5	2.35	537	22.9	503
2nd-5th days	0.66	8.3	92.5	6.0	1.0	0.5	2.38	546	23.1	528
2nd-8th days	1.13	8.6	76.5	11.0	1.5	11.0	2.34	547	23.4	462

a) Race : C9×N9 (reared on an artificial diet).

b) This shows the duration from the first feeding just after 4th ecdysis to the time self-mounting larvae account for 80% of all larvae.

c) Forty and 200 animals were used in the first and the second experiment, respectively.

d), e) See footnote of Table 2.

ったが繭層重はそれほど増加しなかった。また 2.0 $\mu\text{g}/\text{頭}$ を 3 日目あるいは 4 日目に投与した場合は予備実験の結果から結繭するものが少なかったので試験区から省いた。合成 JH(II)についても合成 JH(I)の場合と同様 4 日目と 3 日目投与が最も影響が大きかった。

投与時期と健蛹率との関係は投与量が多い場合、合成 JH(I)について投与量 1.0 $\mu\text{g}/\text{頭}$ は健蛹率が低下する傾向にあり、4 日目と 5 日目投与が影響が大きかった。適当な投与量 (0.5 $\mu\text{g}/\text{頭}$) の場合には無投与区と比べ差は見られなかった。

2. 合成 JH の 5 齢期における連続投与による効果

最も投与効果のみられた 5 齢 3 日目と 4 日目の投与時期について、合成 JH(I)の最適投与量を検討した。Fig. 2 から 5 齢 3 日目あるいは 4 日目に 1 回投与するよりも、3 日目と 4 日目に連続投与した場合の方が繭層重増大効果が大きいことが判明した。またこの場合 4 日目の投与量が増加するに従い繭層歩合が高くなる傾向がみられた。繭層重増大効果が最も大きかった投与量は 3 日目 0.5 $\mu\text{g}/\text{頭}$ 、4 日目 0.75 $\mu\text{g}/\text{頭}$ の連続投与であった。上繭結繭率は無投与区を含め全体に低かったため健蛹率への影

響は不明確であるが無投与区との差は無いものと思われる。

さらに連続投与効果を明確にするため、合成 JH(II)を用いて投与量を一定にした場合と投与期間を長くした場合の影響を調べた。Table 3 から合計投与量を一定にした場合、3 日目あるいは 4 日目に一度に投与するよりも 2~3 日目、3~4 日目さらには 2~4 日目と連続投与した場合の方が繭層重はより増加した。即ち、5 齢 4 日目に 1 頭当たり 0.5 μg 投与したとき繭層重で対照より 27%増加したのに対し、同じ量を 5 齢 2~4 日目に分けて連続投与した場合は 35%の増加がみられた。健蛹率はともに 90%であり差はみられなかった。また連続投与の場合、第 3 表から 1~3 日目連続投与より 2~4 日目連続投与の方が投与量を少なくしても繭層重増加が大きいが言える。さらに 2~5 日目の 4 日間連続投与は繭層重を増加させ、結繭率が低下するという悪影響もみられなかった。しかし、2~8 日目の 7 日間連続投与は不吐糸蚕が多く出現したため結繭率が低下し悪影響がみられた。

3. 合成 JH の 4 齢期における影響

4 齢起蚕で發育経過を揃え、合成 JH(I)を混入させた人工飼料を与えて、發育経過および繭質に及

Table 4 Effect of 4th-instar-dosage of JH (I) on development and cocoon quality of *Bombyx* larvae^{a)}

Doses ($\mu\text{g}/\text{g}$ of body wt.) 4th instar		% of various instars ^{c)} after 5 days			Body weight of 4th molting larva (mg)	Quality of reelable cocoon ^{b)}		
1st day	2nd day	4th instar	4th molting	5th instar		Cocoon weight (g)	Cocoon shell weight (mg)	Rate of cocoon shell (%)
0	0	4	74	22	685	1.96	305	15.6
0.4	0	—	96	4	690	2.10	326	15.5
0.8	0	10	80	10	692	2.06	338	16.4
1.6	0	14	84	2	733	2.16	352	16.3
0	0.4	6	84	10	668	1.97	319	16.2
0	0.8	20	70	10	710	2.00	336	16.8
0	1.6	10	84	6	758	2.07	370	17.9
0.4	0.4	12	84	4	678	1.90	330	17.4
0.8	0.8	10	86	4	712	2.04	330	16.2
1.6	1.6	14	84	2	700	1.98	335	16.9

a) Race : C9×N9 (reared on an artificial diet).

b) Average of cocoons of males and females.

c) Percentage of larvae reaching various instars after 5 days, starting with 100 newly molted 4th instar larvae.

ぼす影響を調査した。

投与量は予備実験の結果を参考に蚕体重と食下量から計算して決めた。

Table 4 に結果を示したが、4 齢期に於ける合成 JH の投与も发育経過および繭質に影響を及ぼし、1 日目と 2 日目投与は同様な結果が得られた。3 日目と 4 日目投与は予備実験の段階で効果が認められなかったので試験から省いた。1 日目と 2 日目投与に於いては 4 齢 5 日目の経過分布をみると投与量が増えるに従い経過が遅れ不齊になる傾向が見られた。しかし、4 眠体重は増加する傾向を示し、得られた繭は JH の投与量が増えるに従い繭重、繭層重の増加がみられた。対照区に比較し 2 日目投与の 1.6 $\mu\text{g}/1\text{g}$ 体重区においては繭層重で 20% ほど増加したが対照区が低いため絶対量で 370mg と低いものであった。4 令 1 ~ 2 日目の連続投与は投与量を増加しても効果が大きくなるようなことはなかった。

4. 合成 JH の 3 齢期における影響

4 齢期投与と同様の方法で 3 齢期にも合成 JH (I) を投与し发育経過および繭質を調査し、結果を Table 5 に示した。3 齢期投与は 4 齢期投与にみられたほどの影響はなく、1 日目と 2 日目投与に於いて繭層重の増加がわずかみられた。3 日目投与の効果は無いものと思われる。

考 察

カイコの 5 齢幼虫に JH を投与すると幼虫期の延長、それに伴う絹質物の増加および永続幼虫の出現することが報告されている (AKAI · KOBAYASHI, 1971; AKAI ら, 1971)。

著者らは JH による絹生産増加を実用化する目的で実験を実施し、人工飼料育蚕に JH を投与すると効果は顕著であり、桑飼育にも応用できることを報告した (NIHMURA ら, 1972)。また、合成 JH の種類、特に構造式の違いにより効果がそれぞれ異なり、絹生産に適する JH 活性化化合物のあることを明らかにした (NIHMURA ら, 1974)。

今回人工飼料育蚕に JH を応用するのに絹生産に効果が高くしかも悪影響の少ない投与方法を検討した結果、投与時期に於いて最も望ましい投与方法を明らかにすることができた。人工飼料育蚕に JH を投与する場合、投与方法は JH を飼料中に混入させ添食させる方法が簡単でしかも正確に投与できると考えられる。投与時期がある限られた範囲にあり、その範囲以外に投与した場合、効率が低下するという外に副作用として結繭率などに悪影響を及ぼすことになれば問題は大きく、残餌量あるいは給餌回数等に影響を与えることになる。この点を考慮し実験を実施したところ、絹生産に最も効果の大きい投与

Table 5 Effect of 3rd-instar-dosage of JH (I) on development and cocoon quality of *Bombyx* larvae^{a)}

Doses ($\mu\text{g}/\text{g}$ of body wt.)			% of various instars ^{b)} after 9 days			Body weight of 4th molting larva (mg)	Quality of reelable cocoon ^{b)}		
1st day	2nd day	3rd day	4th instar	4th molting	5th instar		Cocoon weight (g)	Cocoon shell weight (mg)	Rate of cocoon shell (%)
0	0	0	2	29	69	697	1.70	306	18.0
0.5	0	0	2	29	69	696	1.83	328	18.0
1.0	0	0	4	23	73	750	1.77	324	18.4
2.0	0	0	3	39	58	690	1.76	319	18.1
0	0.5	0	3	38	59	703	1.81	329	18.3
0	1.0	0	0	57	43	706	1.88	336	17.9
0	2.0	0	1	42	57	649	1.80	328	18.2
0	0	0.5	1	44	55	690	1.78	310	17.4
0	0	1.0	1	47	52	640	1.72	314	18.3
0	0	2.0	8	22	69	683	1.68	308	18.3

a), b) See footnote of Table 4.

c) Percentage of larvae reaching various instars after 9 days, starting with 100 newly molted 3rd instar larvae.

時期は5齢4日目と3日目であった。(これは5齢飼育日数の33~50%の経過時期に相当する)。5齢1日目と2日目投与は効果が小さく、投与量を増した場合に効果がみられたが、4日目投与の4倍量を投与しても4日目と同じ効果は得られなかった。

結繭率への影響は絹生産に効果の大きかった5齢3日目と4日目投与では、投与量が多すぎると不脱皮蚕、不吐糸蚕等が増える傾向にあったが、適当な投与量では対照区と差はなく、対照区の結繭率の低いときはむしろ結繭率が増加する傾向が見られた。

赤井ら(1973)の報告では不脱皮蚕および不吐糸蚕などの発生の危険を考慮して、5齢起蚕から48時間以内(これは5齢飼育の30%経過以内)の投与が最適としているが、人工飼料育の場合、JHを飼料に均一混入させることが可能であり投与量を正確にコントロール出来ること、また食下に伴っての緩慢なJHの吸収のためか不脱皮蚕、不吐糸蚕の発生の副作用が少なく5齢3日目~4日目投与を中心とした投与方法が効果が高く有利と思われる。また5齢起蚕から48時間以内の投与は投与量を多くしなければ効果がみられず経済面からみた場合望ましくないとと思われる。

さらにJH投与回数を増やし投与期間を長くすることにより、繭層重増大効果がより大きくなることが判明した。5齢2日目から4日目迄の連続投与は絹生産に与える効果が大きく、結繭率を低下させるような悪影響も少い。しかし、上簇時期間際の5齢6日目以降に連続投与した場合は明らかに結繭率の低下が見られた。

以上の結果から人工飼料にJHを応用する場合、5齢期を2段階に分け、前期はJHを含む飼料を、後期はJHを含まない飼料を給餌する簡単な投与方法がとれる。

JH投与に於ける繭層歩合への影響はJH活性化化合物の種類にもよるが、適当な投与量の範囲では熟蚕化遅延効果の大きいものほど繭層歩合が高くなると考えられる。5齢4日目投与量が増加するに従い繭層歩合は高くなった。

JHの4齢期投与に於ける繭質に対する影響は、4齢初期の投与のみ効果がみられた。4齢3日目以降の投与のものが効果がみられないことから、投与されたJHがカイコの体内に残り5齢期の蚕児に影響を及ぼすというのではなく、4齢期の経過の延長

とそれに伴っての体重等の増加が繭質に影響を及ぼしたものと考えられる。3齢期におけるJH投与も同様に考えることができる。

摘 要

人工飼料育蚕に合成JHを実用化するため、発育段階の異なるカイコの幼虫にJHを投与し、絹生産の面から最も効果のみられる投与方法を調べた。

1. 5齢幼虫期にJHを投与した結果、熟蚕化遅延効果の高かった投与日は5齢4日目>3日目>2日目>1日目>5日目の順であり、熟蚕化遅延効果の高いものほど得られた繭の繭層重の増大効果が大きいという関係にあった。

2. 5齢幼虫期にJH投与期間を長くして連続投与した結果、1回に多量投与するより絹生産の増大効果が大きく、結繭率も安定していた。しかし、上簇期まで連続投与した場合は幼虫期が延長し、不吐糸蚕あるいは不脱皮蚕が多発した。

3. 4齢幼虫期にJHを投与し生育に対する影響を調べた結果、4齢1日目と2日目投与にやや経過が延長し、繭層重増大効果がみられた。3日目以降の投与では何ら影響はみられなかった。

4. 3齢幼虫期にJHを投与し影響を調べた結果、3齢1日目と2日目投与に繭層重がやや増加したが、3齢3日目の投与では影響はみられなかった。

文 献

- AKAI, H. and M. KOBAYASHI (1971): Appl. Ent. Zool., **6**, 63-66.
- AKAI, H., K. KIGUCHI and K. MORI (1971): Appl. Ent. Zool., **6**, 218-220.
- 赤井 弘・木口憲爾・森 謙治(1973): 蚕試報, **25**, 287-303.
- MURAKOSHI, S., C. F. CHANG and S. TAMURA (1972): Agr. Biol. Chem., **36**, 695-696.
- 室賀明義・中島正雄・青森隆二・小沢洋一・新村正純(1975): 日蚕雑, **44**, 267-273.
- NIHMURA, M., S. AOMORI, K. MORI and M. MATSUI (1972): Agr. Biol. Chem., **36**, 889-892.
- NIMURA, M., S. AOMORI, Y. OZAWA, K. MORI and M. MATSUI (1974): Appl. Ent. Zool., **9**,

34-40.

Agr. Biol. Chem., **37**, 2373-2378.

OHTAKI, T., K. KIGUCHI, H. AKAI and K. MORI
(1972) : Appl. Ent. Zool., **7**, 161-167.

MORI, K., T. MITSUI, J. FUKAMI and T. OHTAKI
(1972) : Agr. Biol. Chem., **35**, 1116-1127.

OZAWA, Y., K. MORI and M. MATSUI (1973) :

Summary

Timely administration of synthetic compounds with the juvenile hormone activity to silkworm larvae reared on an artificial diet

By

Soji AOMORI, Yoichi OZAWA and Masazumi NIHMURA

Synthetic compounds with juvenile hormone activity (JH) were administered orally to larvae of *Bombyx mori* L. in various developmental stages in order to develop a practical method for increasing silk production in the silkworm rearing on an artificial diet.

When JH were administered to 5th-instar larvae on different day after the 4th ecdysis, the length of the larval period was prolonged with the increasing order of 5th, 1st, 2nd, 3rd, 4th day of the 5th instar. The longer the larval period, the heavier the cocoon shell weight. Repeated administration of JH (I) (0.5 μ g per larva) to 5th-instar larvae from the 2nd to 4th day was more effective in increasing the cocoon shell weight than single administration on the 4th day: the increasing rate was 35% in the former and 27% in the latter, while the cocooning rate was 70% in both cases. Repeated administration to 5th-instar larvae from the 2nd to the 8th day of the 5th instar, however, resulted in many non-cocooning larvae.

When JH were administered to 4th-instar larvae on the 1st and/or 2nd day after the 3rd ecdysis, the length of the larval period was slightly prolonged and the cocoon shell weight was increased. However, administration on the 3rd or 4th day had no such effect.

When JH were administered to 3rd-instar larvae on the 1st and 2nd day after the 2nd ecdysis, the cocoon shell weight was increased slightly. However, administration on the 3rd or 4th day had no such effect.

(Chuo-Sanken Laboratories, Inc., Shimo-okutomi, Sayama-shi, Saitama 〒350-13)