

抗幼若ホルモン剤(KK-42)による天蚕卵の休眠打破

| | |
|-------|------------|
| 誌名 | 日本蠶絲學雜誌 |
| ISSN | 00372455 |
| 著者 | 談, 恩智 |
| 巻/号 | 55巻4号 |
| 掲載ページ | p. 305-308 |
| 発行年月 | 1986年8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



抗幼若ホルモン剤 (KK-42) による天蚕卵の休眠打破*

談 恩智¹⁾・鈴木幸一¹⁾・桑野栄一²⁾

阿部信治³⁾・栗原守久¹⁾

- 1) 盛岡市上田3丁目18-8 岩手大学農学部 (〒 020)
- 2) 福岡市東区箱崎 6-10-1 九州大学農学部 (〒 812)
- 3) 岩手県水沢市竜ヶ馬場61 岩手県蚕業試験場 (〒 023)

(1986年1月27日 受領)

ENZHI TAN¹⁾, KOICHI SUZUKI¹⁾, EIICHI KUWANO²⁾, SHINZI ABE³⁾ and MORIHISA KURIHARA¹⁾: Effect of anti-JH (KK-42) treatment on the breaking of the diapause of the eggs of the silkmoth, *Antheraea yamamai*

Anti-JH (KK-42) was topically applied to the diapausing eggs of the silkmoth, *Antheraea yamamai*. The effects of KK-42 on the breaking of the diapause were investigated in diapausing eggs incubated at 25 °C for about one month after oviposition under the following three conditions: diapausing eggs were continuously incubated at 25 °C for two months; the eggs were preserved outdoors from October 5 to November 14; the eggs were chilled at 5 °C for one month. When a higher dose of KK-42 was applied, the period required for breaking the diapause became shorter, but the hatchability was reduced. The administration of a low dose of KK-42 resulted in a longer period for the breaking of the diapause and it induced a higher hatchability. The most effective conditions for breaking the diapause were observed in the eggs preserved outdoors with a KK-42 dose of 20 µg/µl/eggs.

¹⁾Faculty of Agriculture, Iwate University, Morioka 020; ²⁾Faculty of Agriculture, Kyushu University, Fukuoka 812; ³⁾Iwate-Ken Sericultural Experiment Station, Mizusawa, Iwate 023

天蚕の休眠卵に対する抗幼若ホルモン剤 (KK-42) の効果を検討した。産下後 25°C に約 1 ヶ月保存し、1) 1 ヶ月 25°C に保存した卵、2) 約 1 ヶ月野外 (10月5日から11月14日) に置いた卵、3) 5°C に 1 ヶ月接触した卵、の 3 区分に分けて KK-42 の効果を調査した。その結果、塗布濃度が高くなれば休眠打破までの期間は短いが孵化率が減少し、塗布濃度の低い程休眠打破までの期間が長くなる傾向を示した。また、KK-42 単独よりも低温処理が加わることによって、休眠打破率及び孵化率が高まった。本試験における最適有効時期と濃度は、産下卵を 25 °C 1 ヶ月保存し、引き続き野外に約 1 ヶ月保存した卵に KK-42 を 20 µg 塗布した場合で、処理後 8~13 日以内に 100 % の孵化率を得た。

近年、天蚕繭糸に対する関心が高まり、その対応として天蚕の系統選抜から繭糸の特性に至る特別研究が推進され、その概要がまとめられている (小平, 1984)。一方、著者らは天蚕の生活環の制御に関する研究の一貫として、ここでは天蚕休眠卵の随時孵化の問題を取り上げた。

天蚕は蛹期に夏眠し、卵期で休眠越冬する一化性昆虫である。今日までこの休眠卵の随時孵化は困難とされてきた。天蚕の卵休眠は家蚕の卵休眠とは異なり、前幼虫期で休眠に入り、その休眠打破には60日以上冷蔵が必要であるといわれている (梅谷, 1946; 山崎ら, 1954; 中嶋, 1977; 岩下, 1982)。

著者らは前幼虫期で休眠に入る天蚕の休眠現象に注目し、休眠卵に対する抗幼若ホルモン剤の影響に

* 天蚕の生活環の制御に関する研究 (第1報)

ついて検討した。使用した抗幼若ホルモン剤(KK-42)は、家蚕の早熟変態を誘起し(Kuwano *et al.*, 1985)、天蚕の人工飼料育幼虫の早熟変態をも誘起することを確認している(談ら, 1985)。本報では、KK-42が天蚕卵の休眠打破に有効であることを明らかにし、幼虫休眠との関連性及び実用上の立場から考察を加えた。

材料と方法

天蚕の越冬卵を5月中旬に高度さらし粉(0.5%, 25°C)で膠着物質を洗い落とし、25°Cで約5日保存後孵化させた。コナラを飼育葉とし28°Cで3齢までシャーレで飼育し、4齢以後は室温でプラスチック製箱(47×35×8 cm)内で水挿し育を行った。営繭後約1週間で蛹化するのを、ほぼ化蛹時点から12時間明、12時間暗の条件下で繭のまま保存した。プラスチック製カゴまたはカンレーシャ袋内で交尾させ、産下卵は直ちに25°C 39~40日間保存した後、三つの条件下でさらに1カ月卵を保存したものを実験に供した。すなわち、産下後25°Cで60~70日間保存した卵(25°C保存卵)、25°Cで30~40日間保存した後野外で10月5日から11月14日まで約1カ月経過した卵(野外卵)、25°Cで30~40日間保存した後5°Cに約1カ月接触した卵(低温接触卵)である。

抗幼若ホルモン剤としては、合成した1-Benzyl-5-[(E)-2, 6-dimethyl-1, 5-heptadienyl]imidazole(KK-42)を用いた(Kuwano *et al.*, 1985)。アセトンに溶解したKK-42を各濃度段階に調製し、ろ紙に糊で固定した卵に1卵当たり1 μ l塗布することによって、KK-42の効果を調査した。なお、卵面塗布後、卵は25°C、90%湿度、長日照明(16時間明、8時間暗)下で催青した。

結 果

KK-42を卵面に塗布した卵の卵殻を食い破った状態の写真をFig. 1に示した。これは、前幼虫態休眠の胚子の休眠が打破され、発育が進行し孵化行動をとったものと考えられる。たとえ孵化が不可能であった場合にも卵面を食い破った跡は休眠打破の指標とみなされる。なお、孵化が不能である卵を実体顕微鏡下で観察すると、胚子の動く行動が認められた。これらの結果に基づいて、KK-42処理後に卵殻に穴が開いていない卵を休眠卵、卵殻に穴が開い

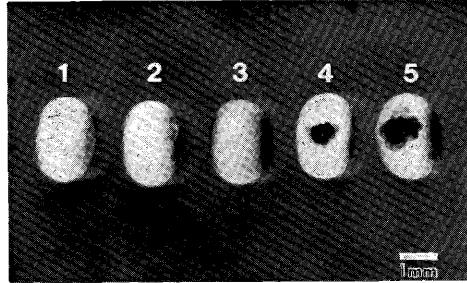


Fig. 1. Bitten chorion associated with the application of KK-42 to diapausing eggs.

Ten or twenty μ g/ μ l of KK-42 was applied to diapausing eggs incubated at 25°C for two months after oviposition. The bitten chorion indicated the breaking of the diapause. 1-3, eggs to which acetone was applied; 4 and 5, eggs to which KK-42 was applied.

ているが孵化しない卵を休眠打破卵、孵化した卵、に3区分し検討した。

25°C保存卵、野外卵、低温接触卵のそれぞれ10個にKK-42を1 μ l(0, 2, 5, 10, 20, 50, 100 μ g/ μ l)塗布した後、25°Cに保存して観察した。その結果を第1表に示す。休眠打破率は、恒温25°C保存卵の0および2 μ g塗布区の0%に対して5, 10, 20, 50, 100 μ g塗布区では、それぞれ20, 70, 60, 67, 90%の休眠打破率が、20, 70, 50, 56, 0%の孵化率が得られた。野外卵では、0, 2, 5, 10, 20, 50 μ g塗布の場合、対照区の0%に対して10, 80, 90, 100, 60%の休眠打破率が、10, 80, 90, 100, 50%の孵化率が得られた。低温接触卵では、0, 2, 5, 10, 20, 50, 100 μ g塗布した場合、対照区の50%に対して80, 100, 100, 100, 100, 100%の休眠打破率が、80, 100, 100, 60, 90, 11%の孵化率が得られた。

塗布量を高濃度(100 μ g)、中濃度(50, 20 μ g)、低濃度(10, 5, 2 μ g)に分けて平均催青所要時間と孵化率を調査した。高濃度の塗布の場合、平均催青所要時間(恒温の8.2 \pm 1.0日、冷蔵の6.7 \pm 0.5日)が短い孵化率は極めて低く0~11%であった。中濃度では、平均催青所要時間が約11日間で高濃度塗布の場合より約3.6日間長い、孵化率はほぼ休眠打破率と一致し高くなった。この11日間の催青時間は、普通の越冬卵の翌春3月の催青時間とほぼ一致している。低濃度塗布の場合、平均催青所要時

Table 1. Effect of anti-JH (KK-42) on the breaking of the diapause of the eggs of the silkmoth, *Antheraea yamamai*

| Sample | Dose ($\mu\text{g}/\text{egg}$) | No. of eggs | Nos. of eggs with broken diapause and larvae hatched | | | | | | | Average days required for breaking the diapause | Ratio of diapause breaking and hatchability(%) | |
|---------------------------------------|--------------------------------------|----------------|------------------------------------------------------|------|-------|-------|-------|--------------------|-------|-------------------------------------------------|------------------------------------------------|----------|
| | | | 5-7 ¹⁾ | 8-10 | 11-13 | 14-16 | 17-19 | 20-22 | 23-25 | | | 26-28 |
| Eggs incubated at 25 °C ¹⁾ | 0 | 10 | | | | | | | | | | |
| | 2 | 10 | | | | | | | | | | |
| | 5 | 10 | | | | | | 2(2) ⁵⁾ | 3(3) | 24.4 \pm 3.2 | 20(20) ⁶⁾ | |
| | 10 | 10 | | | | | 3(3) | 1(1) | 2(2) | 1(1) | 21.1 \pm 3.5 | 70(70) |
| | 20 | 10 | | 3(0) | 3(3) | | (2) | | | | 10.5 \pm 1.0 | 60(50) |
| | 50 | 9 | | 5(0) | 1(5) | | | | | | 9.8 \pm 0.7 | 67(56) |
| | 100 | 10 | 2(0) | 7(0) | | | | | | | 8.2 \pm 1.0 | 90(0) |
| Eggs preserved outdoors ²⁾ | 0 | 10 | | | | | | | | | | |
| | 2 | 10 | | | | 1(1) | | | | | | 10(10) |
| | 5 | 10 | | | | | 4(4) | 2(2) | 1(1) | 1(1) | 20.0 \pm 3.2 | 80(80) |
| | 10 | 10 | | | 2(2) | 3(3) | 3(3) | 1(1) | | | 15.4 \pm 1.7 | 90(90) |
| | 20 | 10 | | 6(6) | 4(4) | | | | | | 10.2 \pm 1.3 | 100(100) |
| | 50 | 10 | | 1(0) | 5(5) | | | | | | 11.3 \pm 0.9 | 60(50) |
| | 100 | 10 | | | | | | | | | | |
| Eggs chilled at 5 °C ³⁾ | 0 | 10 | | | | | | 1(1) | 3(3) | 1(1) | 23.6 \pm 1.7 | 50(50) |
| | 2 | 10 | | | | | 1(1) | 3(3) | 3(3) | 1(1) | 22.3 \pm 3.0 | 80(80) |
| | 5 | 10 | | | | 2(2) | 2(2) | 2(2) | 3(3) | 1(1) | 21.2 \pm 4.0 | 100(100) |
| | 10 | 10 | | | | 3(3) | 5(5) | 1(1) | 1(1) | | 17.1 \pm 1.8 | 100(100) |
| | 20 | 10 | | 2(0) | 6(4) | 2(2) | | | | | 12.2 \pm 1.3 | 100(60) |
| | 50 | 10 | | 2(2) | 5(4) | 3(3) | | | | | 11.7 \pm 2.3 | 100(90) |
| | 100 | 9 | 0(0) | (1) | | | | | | | 6.7 \pm 0.5 | 100(11) |

1) : Diapausing eggs incubated at 25 °C for about two months after oviposition.

2) : Eggs preserved outdoors from October 5 to November 14 following incubation at 25 °C for one month after oviposition.

3) : Eggs chilled at 5 °C for one month following incubation at 25 °C for one month after oviposition.

4) : Days incubated at 25 °C after the application of KK-42.

5) : Numerals in the parentheses indicate the number of hatched larvae.

6) : Numerals in the parentheses indicate the percentage of hatchability.

間は約20日間で孵化率と休眠打破率は一致した。また、その催青時間は5 °C、60日間冷蔵処理した時の催青所要時間23日間(中嶋, 1977)とほぼ同じで、低温5 °C 60日間の処理と同等効果であると考えられる。

考 察

前幼虫態で休眠する昆虫は天蚕以外に、オビカレハ *Malacosoma testaea* やドクガ科の *Parthetria dispar* などの数種が認められる。幼虫休眠は、前幼

虫態期から最終齢の前蛹期までのどのステージにも介在することが指摘されている(Chippendale, 1977)。もし、天蚕卵の休眠もその特異的発育ステージの停止から幼虫休眠の範ちゅうに入ると仮定すれば、抗幼若ホルモン剤を用いた休眠打破の可能性は十分に考えられる。

鱗翅目昆虫に対する抗幼若ホルモン剤の効果は、タバコスズメガ *Manduca sexta* (Edwards *et al.*, 1983) や家蚕 (Kiguchi *et al.*, 1984; Akai *et al.*, 1984; 木内ら, 1985) などで報告されている。と

くにその中でも ETB を投与した場合、抗幼若ホルモン効果と幼若ホルモン効果は濃度の違いによって発現する。

イミダゾール系誘導体, 1-geranyl-5-phenylimidazole と 1-citronellyl analog は早熟蛹誘発効果が認められ (Kuвано *et al.*, 1983), さらに早熟変態誘起活性の高い KK-42 が合成された (Kuвано *et al.*, 1985)。この KK-42 は人工飼料で飼育した天蚕の早熟変態にも一部有効であった (談ら, 1985)。

本研究では, この KK-42 を休眠中の天蚕卵に塗布することによって, 休眠打破の効果を確かめることができた。特に, 塗布濃度が高い程休眠打破が早くなるが孵化率が減少することや, 逆に塗布濃度が低い程休眠打破から孵化までの時間が長く孵化率が高くなる傾向を示した (第1表)。また休眠覚醒には不十分でも低温処理が加わることによって, 休眠打破率及び孵化率が高まった。このことは, KK-42 のような抗幼若ホルモン剤を利用し, 塗布時期, 塗布濃度, 低温処理との組み合わせを考慮することによって天蚕卵の随時孵化法の開発につながることを示唆している。

一方, 天蚕卵の休眠は胚子の結さつ実験から, 第1腹節以下の体節に発育を進行させる要因の存在が推論されている (坂手, 1984)。しかし, 本実験結果の抗幼若ホルモン剤による天蚕卵の休眠打破は, 天蚕の前幼虫態休眠が幼若ホルモンによって支配されている可能性を示唆した。抗幼若ホルモン剤によ

る前幼虫態休眠機構の解明と随時孵化法の開発について現在検討中である。

文 献

- AKAI, H., KIMURA, K., KIUCHI, M. and SHIBUKAWA, A. (1984) : J. Seric. Sci. Jpn., **53**, 545-546.
- CHIPPENDALE, G. M. (1977) : Ann. Rev. Entomol., **22**, 121-138.
- EDWARDS, J. P., BERGOT, B. J. and STAAL, G. B. (1983) : J. Insect Physiol., **29**, 83-89.
- 岩下嘉光 (1982) : 昭和56年度科研費研究報告書 (田中一行編), pp. 17-24.
- KIGUCHI, K., MORI, T., and AKAI, H. (1984) : J. Insect Physiol., **30**, 499-506.
- 木内 信・木村敬助・赤井 弘 (1985) : 日蚕雑, **54**, 77-81.
- 小平宗男 (1984) : 蚕試彙報, **123**, 1-8.
- KUWANO, E., TAKEYA, R. and ETO, M. (1983) : Agric. Biol. Chem., **47**, 921-932.
- KUWANO, E., TAKEYA, R. and ETO, M. (1985) : Agric. Biol. Chem., **49**, 483-486.
- 中嶋福雄 (1977) : 長野県総農試蚕試報, **69**, 1-108.
- 坂手 栄 (1984) : 蚕試彙報, **123**, 31-46.
- 談 恩智・鈴木幸一・栗原守久・阿部信治・桑野栄一 (1985) : 日蚕第55回講要, 80.
- 梅谷与七郎 (1946) : 蚕試報, **12**, 393-481.
- 山崎 寿・西村国男・山田たけを (1954) : 日蚕雑, **23**, 49-51.