

家蚕倍数体の利用に関する研究(2)

実用品種の倍数体誘起について

誌名	北海道大学農学部農場研究報告 = Research bulletin of the University Farm Hokkaido University
ISSN	03856445
著者名	中田, 徹 菊池, 邦夫
発行元	北海道大学農学部附属農場
巻/号	26号
巻号補足	
掲載ページ	p. 45-51
発行年月	1989年3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



家蚕倍数体の利用に関する研究

2. 実用品種の倍数体誘起について

中田 徹・菊池 邦夫

(北海道大学農学部)

(1988年10月27日受理)

緒 言

カイコの倍数体誘起についてはいくつかの研究があり、各種の手法が考案されているが、いずれも産下直後の卵に対して、種々の物理的または化学的刺激を与え、卵の異常発生を起こさせて、その中で倍数体個体を選抜する方法が用いられている。しかし、一般にこれらの方法により、単為発生、精核発生およびモザイク等の異常蚕は多発しても、倍数体の誘起効率は必ずしも高くない。それらの方法の中で、玉沢および滝沢¹⁰⁾は、過冷却処理によって特性品種の倍数体多発現象を観察しているのので、この方法によって実用品種の倍数体誘起を試みた。

実際に、倍数体の誘起を確認するためには、適当なマーカー遺伝子をもつ系統と交雑して、後代検定を行う方法が望ましい。特に、卵色突然変異系統を用いることが可能であれば、後代の卵色分離を調査することによって、容易に個体レベルで倍数体誘起を確認できる。カイコの育種はヘテローシスを利用する方向で進められており、それぞれの育成機関で独自に育成された、数多くの日本種と中国種の交雑組合せが検討されている。従って、倍数体の誘起に成功した場合、一代雑種での計量形質の発現が問題になるから、倍数体のヘテローシスの程度を調査するためには、繭重等の計量形質の優れたテスターが交雑親として必要とされる。しかしながら、卵色突然変異をもつ実用原種は存在しないから、倍数体のヘテローシスの分析は不可能であった。しかし、前報⁹⁾で報告したように、かつて実用品種として用いられたこと

のある、各種の計量形質の優れた保存品種中に、マーカーとなる赤卵系統 (Cr) や白卵系統 (Cw) が見いだされたので、これを実用原種との交雑親として用い、実験的検討を進めることとした。

そこで、実用品種の倍数体誘起とその利用についての問題点をあげると、卵に対する誘起処理の適期を見いだすこと、誘起効率の品種間差異、倍数体の成長生理、計量形質の発現、繊維特性の調査、継代と生殖生理等が考えられる。まず第一に倍数体誘起効率に関して、処理卵齢や品種間差異を中心として検討した結果について報告する。

材料および方法

供試材料として、前報⁹⁾に報告した実用系の赤卵系統 Cr および白卵系統 Cw を用い、これらと多くの実用原種との正逆交雑を行った。実用原種としては、農水省蚕糸試験場育種部で保存している多くの日本種および中国種を用いた。

本実験では、適当な卵齢に温度処理を加えるために、同時に多量の卵を必要とする。従って、母蛾に対して短時間に多数の産卵を行わせる必要があり、産卵促進のため雌蛾を交雑するのに先立ち、5℃、2~3日の冷蔵処理を行った。目的とする交雑組合せを作り交雑を行ったのち、産卵を開始した母蛾に対して、目的とする時間毎に産卵台紙を交換し、種々の卵齢供試卵を得た。これらの産卵直後の卵に対して、10℃24 hrsの過冷却処理を加えた。なお、交雑から産卵に至る、実験中の目標温度は26℃とした。また、過冷却処理前後の卵の保護温度は、同様に26℃を目標とした。このよ

うな処理によって得られた F_1 卵を、適当な発育時期に実体顕微鏡で観察し、倍数体個体の特徴とされるしょう液膜細胞大型卵を選抜した。

これらの処理卵について、しょう液膜細胞大型卵を選抜したのち、ふ化調査を行い、ふ化数および死卵数（早期死卵、催青死卵）についてのデータを得て、交雑組合せと倍数体の誘起率や死亡率の検討を行った。一方、選抜した卵は、必要に応じて即時浸酸による人工ふ化、または越年後の催青ふ化を行い、飼育実験に供した。結繭、化蛾後後代検定のため、Cr および Cw 系統をテスターとして戻し交雑を行い、産卵後卵色分離を調査して、これらの倍数体を個体レベルで確認した。

以上の実用原種の倍数体誘起に関係する飼育実験や後代検定は、北海道大学農学部附属農場養蚕室で、1977 年から着手し、1988 年現在なお続行中であるが、本稿では主として 1977 年から 1986 年までのデータについて解析した。

結果および考察

処理卵齢と倍数体の誘起効率との関係を知るために、日 122 号および支 122, 137 号を用いて、卵齢 80~200 分まで、20 分毎に調査した結果を、Table 1 として示した。その結果、過冷却処理によるしょう液膜細胞大型卵の誘起率は、処理卵齢の時間的経過にともない上昇するが、のち下降する。このカーブは供試品種によって異なるが、そのピークは卵齢 120 分以降にあることがわかった。品種による差はかなり大きく、支 137 号ではほかの原種に比べて誘起率が高くなっている。これはおそらく、品種育成の過程で生じた特性と思われるが、ここでは供試品種や卵数も少なく、また原種の sibcross のデータでもあり、さらに多くの品種を用いた実験的検討が必要である。また、死卵の発生は処理卵齢の早い実験区で多く、とくに卵齢 120 分以前で多発する傾向がみられる。

そこで、しょう液膜細胞大型卵の多くみられた

Table 1. Frequencies of big type serosa and died egg induced by supercooling treatment using some commercial silkworm races (1977–1978)

strain	egg stage (min)	total	normal	died		%	big type	%
				late	early			
N122 sib	160–180	1,993	1,296	662	24	34.4	11	0.6
	140–160	1,977	1,549	411	0	20.8	17	0.9
	120–140	989	676	289	1	29.3	21	2.1
	100–120	1,164	271	888	1	76.4	4	0.3
	80–100	1,235	143	1,062	28	88.3	2	0.2
	total	7,356	3,935	3,312	54	45.8	55	0.8
C122 sib	160–180	2,456	1,477	937	0	38.2	42	1.7
	140–160	2,861	2,055	786	1	27.5	19	0.7
	120–140	2,435	1,447	955	1	39.3	32	1.3
	100–120	2,188	251	1,931	1	88.3	5	0.2
	80–100	1,472	73	1,392	5	93.6	2	0.1
	total	11,412	5,303	6,001	8	52.7	100	0.9
C137 sib	180–200	1,153	670	403	24	37.0	56	4.9
	160–180	1,007	514	322	119	43.8	52	5.2
	140–160	817	289	356	131	59.6	41	5.0
	120–140	681	235	300	130	63.1	16	2.4
	100–120	509	191	183	123	60.1	12	2.4
	80–100	752	73	417	246	88.2	16	2.1
	total	4,919	1,972	1,981	773	56.0	193	3.9

卵齢 120 分から 180 分について、A 区 (120-150) および B 区 (150-180) を設定し、両者の比較を行った結果を Table 2 として示した。

ここでは原種 (P) のほか、 F_1 や F_2 を調査しているが、合計 31 区の大半は F_1 であり、後代検定のため、上述のテスター-Cr および Cw を用いた交雑の検討を行ったものである。

A, B 両処理区のしょう液膜細胞大型卵の誘起率を比較すると、有意差検定の結果、5% レベル

で差がみられたのは、実験区 31 のうち、 $A > B$ となった実験区 8 に対して、 $B > A$ はわずか 2 区に過ぎなかった。しかし、残りの 21 区では有意差がみられず、むしろデータの数値からみると、見かけ上 B 区の方が高くなっている。従って、誘起のピークは卵齢 150 分前後に存在するのは確実である。また、処理卵の死亡率についてみると、A, B 両区ともに相当に高いが、一般に A 区の数値が B 区を上まわり、31 実験区中 25 区で高い数値を

Table 2. Efficiency of polyploid induction and mortality rate of egg treated in some commercial races (1978-1980)

Experiment		moth	A: 120–150 min						B: 150–180 min			
			laid	total	s*	%	died	%	total	s*	%	died
N142♀×Cw♂	F ₁	25	4,028	87	2.2	1,589	39.4	5,528	166	3.0	1,451	26.4
Cc♀×Cr♂	F ₁	56	4,830	102	2.1	2,744	56.8	7,313	175	2.4	2,101	28.7
Cc♀×Cw♂	F ₁	21	1,411	9	0.6	881	62.4	2,723	38	1.4	1,180	43.3
Cr♀×Cc♂	F ₁	28	3,227	67	2.1	1,464	45.3	3,622	39	1.1	1,095	30.2
Cw♀×Cc♂	F ₁	55	6,141	73	1.2	1,209	19.6	7,350	253	3.4	3,680	50.0
Cr♀×N2-3♂	F ₂	59	14,222	140	1.0	1,986	13.9	14,233	179	1.3	1,737	12.2
Cr♀×N142♂	F ₂	25	6,519	151	2.3	1,319	20.2	6,848	201	2.9	1,534	22.4
Cc♀×N2-3♂	F ₂	28	4,918	195	1.9	854	17.5	5,492	150	2.7	480	8.7
C137 sib	P	28	6,840	58	1.5	737	19.1	6,628	146	2.2	2,099	31.6
C132♀×Cw♂	F ₁	82	9,689	63	0.7	5,196	53.6	10,356	38	0.4	5,346	51.6
C137♀×Cw♂	F ₁	85	10,155	106	1.0	4,329	42.6	11,916	114	1.0	3,808	31.9
C140♀×Cw♂	F ₁	98	10,690	205	1.8	3,167	27.0	15,896	105	0.7	3,825	24.0
C144♀×Cr♂	F ₁	101	18,753	737	3.9	10,313	54.9	23,717	701	3.0	3,290	13.8
N132♀×Cw♂	F ₁	83	9,677	12	0.1	6,984	72.1	13,089	23	0.2	5,608	42.8
N137♀×Cw♂	F ₁	71	11,102	87	0.8	6,608	59.5	14,618	220	1.5	5,745	39.3
N140♀×Cw♂	F ₁	56	5,311	30	0.6	3,061	57.6	5,928	34	0.6	3,652	61.6
N144♀×Cr♂	F ₁	71	4,510	283	6.3	3,159	70.0	4,825	58	1.2	1,827	37.8
N2-3♀×Cw♂	F ₁	93	13,512	82	0.6	3,234	23.9	15,555	107	0.7	3,915	25.1
Cw♀×C132♂	F ₁	47	5,307	11	0.2	2,806	52.9	5,355	8	0.2	1,035	19.3
Cw♀×C137♂	F ₁	36	3,985	33	0.8	2,241	56.2	4,618	10	0.2	723	15.6
Cw♀×C140♂	F ₁	50	5,333	48	0.9	2,861	53.6	5,429	14	0.3	1,217	22.4
Cw♀×C144♂	F ₁	46	5,417	19	0.4	2,547	47.0	5,654	14	0.3	1,800	31.8
Cw♀×N132♂	F ₁	53	6,326	43	0.7	2,728	43.1	6,859	78	1.1	2,488	36.2
Cw♀×N137♂	F ₁	38	3,027	35	1.2	1,351	44.6	3,215	22	0.7	755	23.4
Cw♀×N140♂	F ₁	30	4,075	22	0.5	1,297	31.8	2,725	25	1.0	1,140	44.2
Cw♀×N144♂	F ₁	37	3,553	12	0.3	1,613	45.3	3,728	14	0.4	1,230	32.9
Cw♀×N2-3♂	F ₁	61	8,272	96	1.2	3,128	37.8	8,566	88	1.0	2,926	34.1
C138♀×Cr♂	F ₁	95	8,375	239	2.9	4,577	54.6	10,363	83	0.8	3,748	36.1
C139♀×Cr♂	F ₁	89	6,752	21	0.3	3,256	48.2	10,500	28	0.3	3,339	31.8
C141♀×Cr♂	F ₁	81	8,348	36	0.4	6,027	72.1	15,123	78	0.5	6,546	43.2
C143♀×Cr♂	F ₁	81	6,737	14	0.2	4,090	60.7	10,011	39	0.4	3,826	38.2

*s: big type serosal cell

Table 3. The relation between efficiency of polyploid induction and the cross combination using some parent silkworm races for hybridization (1980–1986)

induced eggs per moth	Cross combination				total
	①C♀×T♂	②T♀×C♂	③J♀×T♂	④T♀×J♂	
— 0.9	8	3	6		17
1.0 — 1.9	10	11	13	4	38
2.0 — 2.9	5	6	7	7	25
3.0 — 3.9	5	2	2	4	13
4.0 — 4.9	1	2	3	6	12
5.0 — 5.9		1		2	3
6.0 — 6.9				5	5
7.0 —	2	1		1	4
total	31	26	31	29	117

C: Chinese races J: Japanese races T: Tester

示している。このように、産下直後卵では卵齢が若いほど過冷却に対する抵抗性が弱いことが明らかとなった。しかし、これらのしょう液膜細胞大型卵の誘起や、死亡個体の多発に関する数値は、諸要因の組合せによって相当の変動がみられるが、供試系統や交雑組合せの違い、または実験中の保護温度の変化などが、卵の初期発生に影響を与えて、このような微妙な差を生じたものと思われる。

玉沢⁹⁾は特性品種 re9 ♀ と Twt ♂ を交雑して得られた産下直後の卵に過冷却処理を行い、多くの倍数体蚕を得ているが、逆交の場合には、そのような多発現象はみられない。しかし、いずれの場合でも、処理卵齢は 150 分で最高の誘起率となっており、以上の結果から卵の初期発生に関して、基本的には実用原種でも同条件にあるといてよい。しかしながら、本実験に用いた品種では、トータルとしての誘起率は、交雑組合せによってかなりの変動がみられるが、概して低率であって、特性品種 re9 を母体とした時のような高率の誘起はみられなかった。

倍数体の誘起効率に関して系統間の差があることは、何らかの遺伝的要因が関係していると予想される。当然実用原種でも系統間の差があると考えられるが、以上の実験データでみる限りでは、供試した品種間では誘起効率に大きな差はみられず、多発系統の特定はできなかった。これは、品種育成の際に用いた素材と関係があり、育成素材

が同じ系統であれば、誘起効率に關係する遺伝的要因もまた同様である可能性が高い。そこで育成素材が異なるとされる系統を広く収集して、さらに多発系統の検索を進めることとした。

その結果、数年間にわたって行った合計 117 の実験区について取りまとめた成績を、Table 3 として示した。ここでは処理卵からしょう液膜細胞大型卵を選抜しただけで、その後の手数のかかるふ化調査は省略し、誘起の割合を母蛾当りの卵数として表示した。各実験区の供試母蛾数は 50～100 頭程度とした結果、各区の調査卵数は、それぞれ 15,000～40,000 粒程度となっている。なお、処理卵齢は最高の誘起率を示した 120～150 分および 150～180 分を併用した。

実験結果を、①中国種♀×テスター♂、②テスター♀×中国種♂、③日本種♀×テスター♂および④テスター♀×日本種♂の 4 交雑組合せのグループに分けて検討すると、多少の差がみられ、④のグループで誘起効率がやや高くなっている。しかしながら、第 2 表の結果と同様に、供試した原種の倍数体誘起は、特殊な例を除いて一般に低率である。

この中で注目されるのは、中国種系原種「ほまれ」である。これは日本種系原種「やまと」と共に片倉工業で育成された、繭糸量の極めて多い品種であり、両者の交雑種は生産性の高い現行品種として指定を受けているものである。この原種を母体として倍数体誘起実験を行った場合、ほかの

実用系原種に比べて、かなり多くのしょう液膜細胞大型卵を得ることができた。そこで、中田および菊池^{4,5)}は後代検定のため卵色分離を調査した結果、大部分の個体が4倍体であることを確認したので、さらに後代3倍体の計量形質の調査を行っている。

倍数体蚕の絹生産効率に関する検討は、川口³⁾による報告をはじめ、いくつかの資料があるが、Tajima⁷⁾はこれらを総括して、カイコの倍数化による絹糸腺細胞数の増加は伴わず、経済生産への寄与は期待できないとしている。しかし、中田および菊池⁵⁾は誘起4倍体の後代3倍体利用の可能性を示唆している。この問題については稿を改めて詳説したい。

蚕卵に対する種々の処理による異常個体の誘起については、橋本¹⁾、川口²⁾、Tajima and Onuma⁸⁾、玉沢⁹⁾などが多くの研究者によって検討され、処理時期すなわち卵齢が大きく関係することが知られている。精核発生や卵核発生については、比較的早期の処理により多発し、また倍数体の成因についても処理の時期により異なるといわれている。早期の処理(120分以前)の場合に生ずる倍数体は、卵核の正常な成熟分裂が阻害されて、2倍性または3倍性の融合核が形成され、これに精核が合体すると考えられている。従って、この場合は4倍体と3倍体が出現することになる。その性染色体構成は卵の融合核によって異なるから、後代の形質分離や性比もまた個体によって異なることが予想される。これに対して、比較的後期の処理(120~180分)によって出現した倍数体のほとんどは4倍体である。この時期は卵核と精核の融合期または最初の分裂期に当り、過冷却処理によって正常な細胞分裂が抑制され、受精核の倍加が起こった結果、4倍体が形成されたものと思われる。本実験で得られた4倍体の後代検定を行って、卵色分離やさらに次代の3倍体の性比を検討した結果は、この推論を支持するものであった。これらの実験で共通にみられる死亡卵の多発は、発生異常を起こさせるような処理は、初期発生卵にとって相当に強い刺激であることを意味している。従って、死亡卵をできるだけ少なくして、目

的の発生異常蚕を多く得るのは本質的に困難ではあるが、そのための技術開発が望まれる。

このように本実験で確認された倍数体多発系統の発見は、従来困難とされた実用品種の倍数体誘起を容易にする端緒を与えるものである。従って、倍数性原種の育成の可能性をはじめとする、今後の実用品種の倍数体研究に新たな展望を開くものであり、計量形質や繊維特性の分析等にさらに進展が期待される。今後の問題点として、死亡卵の発生を抑制し、誘起効率をさらに高める技術の開発が重要な課題として残されている。

摘 要

カイコの実用原種の倍数体誘起に関する検討を行った。保存品種に由来する生産性の優れた卵色系統をマーカーとして用い、多数の実用原種と交雑して得られた産下直後の卵に、過冷却処理を行って倍数体を誘起した。その誘起効率は一般に卵齢150分前後の処理でピークに達することがわかったが、同時に死亡卵も多発した。一般に、今回の供試品種の倍数体出現頻度はあまり高くはないが、その中で中国種系原種「ほまれ」を母体として処理した場合、相当の効率で4倍体を得ることができた。これらの4倍体の後代検定をおこなった結果、そのほとんどは受精核の倍加によるものと判定された。この倍数体多発系統の発見は、今後の実用品種の倍数化実験に資するところ大と思われる。

謝 辞

本実験を遂行するに当り、供試蚕品種を分譲された農水省蚕糸試験場育種部蚕品種保存研究室長青木秀夫氏に厚くお礼申し上げる。また、飼育実験や調査に協力いただいた、本学付属農場養蚕部の斉藤寛技官および専攻学生古原洋君に心から感謝する。なお、本研究の一部は文部省科学研究費(一般研究 C 60560059)の助成によって行った。

引用文献

1. 橋本春雄：蚕における2個の精核の合一による新個体の形成 蚕試報 8：455-464, 1934
2. 川口栄作：単性生殖蚕の遺伝学的ならびに細胞学的解析 日蚕雑 5：1-20, 1934
3. 川口栄作：倍数体蚕の経済的特質 日蚕雑 8：121, 1937
4. 中田 徹・菊池邦夫：家蚕倍数体の育成に関する研究, 11. 倍数体多発系統の検索とその後代検定, 東北蚕糸研究報告 10：8, 1985
5. 中田 徹・菊池邦夫：家蚕倍数体の育成に関する研究, 12. F_1 型3倍体の誘起とその繭形質について, 東北蚕糸研究報告 11：15, 1986
6. 中田 徹・菊池邦夫：家蚕倍数体の利用に関する研究, 1. 保存品種「天」由来の卵色突然変異系統の遺伝分析, 北大農場研究報告 26：37-44, 1988
7. TAJIMA, Y.: The Silkworm: an important laboratory tool. Kodansha Tokyo, 1978
8. TAJIMA, Y. and ONUMA, A.: Experimental induction of androgenesis, gynogenesis and polyploidy in *Bombyx mori* by treatment with CO_2 gas. *J. Seric. Sci. Japan* 36：286-292, 1976
9. 玉沢 享：蚕卵におよぼす過冷却の影響 3. androgenesis, gynogenesis およびモザイクの形成機構について, 北大農邦文紀 10：284-292, 1977
10. 玉沢 享・滝沢義郎：蚕卵の過冷却処理による倍数体の出現, 北大農邦文紀 10：272-283, 1977

Studies on the Utilization of Polyploid in the Silkworm, *Bombyx mori*

2. The Induction of Polyploid in Some Commercial Races

Tohru NAKADA

(Laboratory of Sericology, Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo, 060 Japan)

Kunio KIKUCHI

(Experiment Farms, Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo, 060 Japan)

(Received October 27, 1988)

Summary

A problem in the induction of polyploid was examined using a lot of commercial races interbred with genetic marker strains related to egg color. For the purpose of finding out the developmental stage of egg effective in inducing the polyploid silkworm the supercooling treatment was applied to the different stages. The eggs, just after they were laid were treated at -10°C for 24 hours, and the induction of polyploid was distinguishable from the enlargement of their serosal cells.

It became evident that it is most effective to treat the eggs at the developmental stage of approximately 150 minutes after deposition. The mortality rate from this treatment increased remarkably and at the same time there frequently appeared such abnormal silkworms as androgenesis, gynogenesis and mosaic. The efficiency of induction differed from each race tested and it was not so high as we expected, but the Chinese race "Homare" proved to be useful for the induction. As a result of the progeny test, most of those which were confirmed to be tetraploid silkworms originated from the duplication of normal fertilized nucleus.

The result of this experiment with respect to tetraploid induction of commercial races may be of great use for breeding of polyploid silkworm in the near future.