

家蚕の蛹と成虫の血液ならびに卵の尿素含量に及ぼす飼料 条件の影響

誌名	日本応用動物昆虫学会誌
ISSN	00214914
著者	井口, 民夫 山田, 政枝 中村, 晃三
巻/号	27巻2号
掲載ページ	p. 99-105
発行年月	1983年5月

家蚕の蛹と成虫の血液ならびに卵の尿素含量に 及ぼす飼料条件の影響

井口民夫・山田政枝・中村晃三

農林水産省蚕糸試験場

Effects of Dietary Conditions on Urea Contents in the Pupa and Adult Hemolymph and in the Eggs of the Silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). Tamio INOKUCHI, Masae YAMADA and Kōzō NAKAMURA (Sericultural Experiment Station, Ohwashi, Yatabe, Ibaraki 305, Japan). *Jap. J. appl. Ent. Zool.* 27: 99-105 (1983)

Changes of urea contents in the hemolymph from pupation to adult emergence were compared between silkworms fed on mulberry leaves and those fed on artificial diet. Urea-N contents in the hemolymph of pupae from larvae reared on artificial diet ranged from 600 to 1,200 μg per ml. On the other hand, urea-N was hardly detected in the hemolymph of pupae from larvae reared on mulberry leaf. Urea did not accumulate in the pupal hemolymph, even when the larvae reared on artificial diet were subsequently fed on mulberry leaves only for 2 days before spinning. Urea content in the hemolymph of pupae reared on artificial diet varied with the silkworm varieties and dietary conditions, but it always exceeded the level of that in the hemolymph of pupae reared on mulberry leaves. In the eggs laid by adults reared on artificial diet, urea-N contents ranged from approximately 300 to 750 μg per g. Furthermore, urea contents in the hemolymph of adults which laid a large number of nonfertilized eggs, were higher than those of adults which laid normal eggs.

緒 言

先に家蚕の壮蚕を人工飼料で飼育すると、繭層に尿素が検出されること、また5齢幼虫の後半における血液尿素量の変動は桑葉育と著しく異なることを報告した(山田ら, 1983 a, b)。すなわち、桑葉育では熟蚕になる前日には血液尿素がほとんど消失するのに対して人工飼料育では熟蚕期以降急激に増加すること、またこの時期に血液から尿素を消失する機能は上簇前2日間の桑葉給与でも認められることを示した。今回は、5齢末期における両飼料間の血液尿素量の差異が蛹期を通していかなる変動を示すかを検討したところ、両飼料育間でみられる差異は蛹期から成虫に至るまで維持され、さらに人工飼料育では産下卵にも尿素が多量検出されることをみいだした。また、人工飼料育の蛹期における血液尿素量は蚕品種、飼料条件によって異なることも示された。以下、結果の概要を報告する。

本文に先だち、本稿のご校閲をいただいた蚕糸試験場生理部長伊藤智夫博士に対して、心からお礼申し上げます。

材料および方法

1. 材料

限性蚕品種、紅白×同栄の蚕種5蛾分を2等分し、孵化した蟻蚕を、一方は桑葉(桑品種:一ノ瀬)、他方は堀江ら(1969)の組成を改良した人工飼料でそれぞれ飼育した。蛹は25°Cに保護し、約24時間おきに雌雄別に5~10頭から採血した。採血後ただちに微量のアスコルビン酸ナトリウムを加えたのち、遠心分離によって血球を除去し、尿素の定量に供するまで-50°Cに保存した。また、粟国蚕ほか10品種についても桑葉と人工飼料でそれぞれ飼育し、化蛹2日後に採血し、尿素の定量に供した。さらに、先の2報(山田ら, 1983 a, b)と同様に飼料条件と蛹の血液尿素量の関係についても検討した。すなわち、飼育の途中で飼料を変える実験、脱脂大豆粉末および桑葉粉末の添加量を変えた飼料で飼育した場合、供試飼料から1成分を除去した飼料で飼育した場合、市販の飼料(3齢用)で5齢期を飼育した場合についても、それぞれ化蛹2日後に採血し、尿素の定量を行った。また、粟国蚕ほか3種の原因種および支146号×日

145号、紅白×同榮の交雑種については産下卵につき、桑葉育と人工飼料育の間で尿素量の比較を行った。この場合、産下10日後の受精卵を各区0.5gずつとり、5mlの水を加えて超高速ホモジナイザーで磨碎し、5分間加熱したのち遠心分離によって不溶物を除去し、上清を尿素の定量に供した。

また、産下卵と母体の血液尿素量の関係を知るために、産卵の状態からみて正常産卵蛾、不受精卵産下蛾および少数産卵蛾の3区に分け、母蛾からそれぞれ混合採血し、その尿素量を比較した。

2. 尿素-Nの定量

前報と同様に鈴野・亀岡(1969)に準じて、ジアセチ

Table 1. Urea contents in the hemolymph of 2 day-old pupae of several silkworm varieties^{a)}

Variety	Urea-N in hemolymph of female (μg/ml)		Urea-N in hemolymph of male (μg/ml)	
	Artificial diet	Mulberry leaves	Artificial diet	Mulberry leaves
Awakuni-san	418±3	7±0	531±15	18±2
Datenishiki	546±2	1±0.5	596±5	11±1
Sévennes-shiro	581±10	13±4	728±8	16±1
Renshin	487±6	28±7	623±5	53±6
Chūsu-otsu	533±11	15±1	702±18	32±3
Marche-ōken	424±7	13±3	483±6	28±1
Dōei	666±7	3±0.1	826±7	6±1
Kōhaku	783±6	19±2	815±5	42±2
Sericin-san	282±2	20±2	327±7	33±2
C. 146×J. 145	626±22	8±0.1	609±3	26±1
Kōhaku×Dōei	604±6	1±0.1	726±1	19±1

^{a)} Values are means of 3 determinations with standard errors.

ルモノオキシム法によった(尿素量=尿素-N量×2.14)。

結 果

化蛹直後から成虫にかけての血液尿素量の変動はFig. 1に示した。人工飼料育では、5齢末期に急激に増加した血液尿素-N量は蛹期を通じて高く、600~1,200 μg/mlで推移した。その間雄のほうが雌より高い場合が多かったが、成虫では逆に雌のほうが高い傾向を示した。一方、桑葉育では蛹期を通じてほとんど痕跡程度の値であり、人工飼料育との間に明らかな差異が認められた。

人工飼料育の化蛹2日後の血液尿素-N量は、Table 1に示すように蚕品種によって違いがみられたが、どの品種も桑葉育より10倍以上の高い値であった。11品種の血液尿素-N量の平均値は人工飼料育では雌541 μg/ml、雄では633 μg/mlであり、いずれも桑葉育の雌の12 μg/mlおよび雄の26 μg/mlより高い値であった。また、各蚕品種の蛹血液尿素量は桑葉育で高い値の場合に人工飼料育でも高い値であるということはなく、両者の間にはまったく関連はなかった。

全齢人工飼料育における蛹の血液尿素量と飼料の関係を知るために、5種類の市販の飼料で5齢期を飼育し、その化蛹2日後の血液尿素-N量を別に調製した飼料の場合および桑葉育と比較した。結果はTable 2に示すように飼料によって若干の違いがみられたが、人工飼料ではおよそ700~1,200 μg/mlの範囲の値であり、桑葉育よりはるかに高い値であることが示された。なお、前報(山田ら, 1983b)では各飼料で飼育した場合、繭重および繭層重と熟蚕の血液尿素量の間には高い正の相関が示

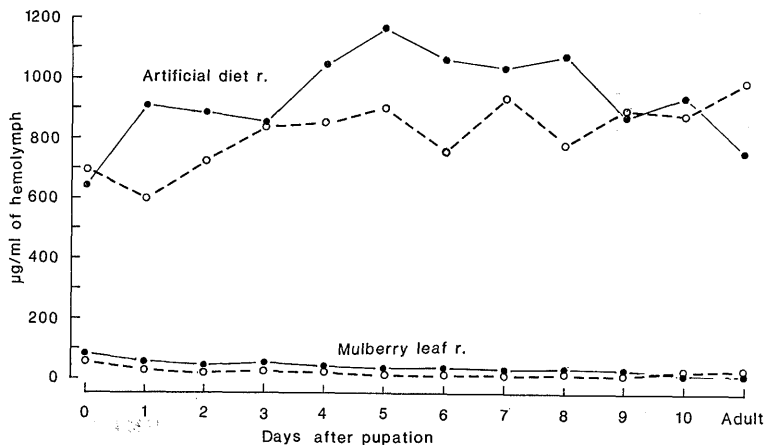


Fig. 1. Changes of urea-N contents in the hemolymph from pupation to emergence in silkworms reared on artificial diet and mulberry leaves. Broken line: female, solid line: male. Silkworm variety: Kōhaku×Dōei.

Table 2. Urea contents in the hemolymph of 2 day-old pupae reared on several commercial diets during the last larval instar^{a)}

Diet ^{b)}	Urea-N in hemolymph of female ^{c)} ($\mu\text{g/ml}$)	Urea-N in hemolymph of male ^{c)} ($\mu\text{g/ml}$)
Control (Mulberry leaves)	24 \pm 2	37 \pm 38
A	933 \pm 12	1,062 \pm 29
B	669 \pm 43	795 \pm 9
C	737 \pm 26	942 \pm 36
D	762 \pm 15	914 \pm 14
E	795 \pm 14	995 \pm 7
F	772 \pm 43	1,260 \pm 39

- a) Silkworm variety : C. 146 \times J. 145. The larvae were reared on the artificial diet (Diet A) until the 4th larval ecdysis, and thereafter on the experimental diets.
- b) Artificial diet A modified according to HORIE et al. (1973) ; B, C, D, E and F were supplied by 5 manufacturers, respectively.
- c) Values are means of 3 determinations with standard errors.

されることを報告したが、今回の実験では蛹血液と繭重および繭層重の間には一定の関係は認められなかった(繭重, 繭層重は前報を参照)。

以上のように、市販の人工飼料による実験において血液尿素量は飼料によって異なることが示されたので、飼料中の成分量を変えた場合について検討した。まず桑葉粉末の添加量を変えて5齢期を飼育した場合には Table 3 に示すように、20~30%の添加区は他の区に比較して高い値を示したが、その差は少なかった。しかし、桑葉粉末添加量が高い50%の場合には蛹血液尿素-N量は他の5区よりやや低い値であった。飼料中の脱脂大豆粉末量を10~60%の間で段階的に変えた場合には Table 4 に示すように、添加量が最も少ない10%区で、雌蛹がやや低い値を示したが、添加量と血液尿素量の関係は明瞭ではなかった。なお、この実験における繭重、繭層重と血液尿素-N量の間的相关係数は雌では0.77および0.75、雄ではいずれも0.26であり、前報(山田ら, 1983 b)

Table 3. Effects of the amounts of mulberry leaf powder in the artificial diet on urea contents in the hemolymph of 2-day old pupae^{a),b)}

Mulberry leaf powder (%)	Female			Male		
	Mean cocoon weight (g)	Mean cocoon shell weight (mg)	Urea-N in hemolymph ^{c)} ($\mu\text{g/ml}$)	Mean cocoon weight (g)	Mean cocoon shell weight (mg)	Urea-N in hemolymph ^{c)} ($\mu\text{g/ml}$)
0	1.94	278	930 \pm 50	1.44	235	1,048 \pm 27
10	2.18	370	863 \pm 21	1.66	300	1,136 \pm 44
20	2.43	420	1,058 \pm 32	1.82	375	1,234 \pm 64
30	2.57	465	1,139 \pm 64	1.86	390	1,161 \pm 76
40	2.62	480	977 \pm 40	1.93	410	1,113 \pm 145
50	2.26	450	750 \pm 35	1.78	370	760 \pm 53

- a) Silkworm variety : Kōhaku \times Dōei. The larvae were reared on the artificial diet until the 4th larval ecdysis, and thereafter on the experimental diets.
- b) Mulberry leaf powder content in the basal diet was 22.3%.
- c) Values are means of 3 determinations with standard errors.

Table 4. Effects of the amounts of soybean meal in the artificial diet on urea contents in the hemolymph of 2-day old pupae^{a),b)}

Soybean meal (%)	Female			Male		
	Mean cocoon weight (g)	Mean cocoon shell weight (mg)	Urea-N in hemolymph ^{c)} ($\mu\text{g/ml}$)	Mean cocoon weight (g)	Mean cocoon shell weight (mg)	Urea-N in hemolymph ^{c)} ($\mu\text{g/ml}$)
10	1.40	125	603 \pm 26	1.23	140	1,150 \pm 18
20	1.67	215	1,089 \pm 33	1.34	205	1,414 \pm 121
30	2.00	310	1,016 \pm 20	1.49	315	1,292 \pm 35
40	2.15	375	921 \pm 46	1.65	315	1,133 \pm 77
50	2.24	390	1,110 \pm 96	1.66	340	1,225 \pm 27
60	2.34	415	1,352 \pm 21	1.92	390	1,410 \pm 69

- a) Silkworm variety : Kōhaku \times Dōei. The larvae were reared on the artificial diet until the 4th ecdysis, and thereafter on the experimental diets.
- b) Soybean meal content in the basal diet was 40.0%.
- c) Values are means of 3 determinations with standard errors.

Table 5. Effects of different protein sources in artificial diet on urea contents in the hemolymph of 2-day old pupae^{a)}

Protein source	Sex	Mean cocoon weight (g)	Mean cocoon shell weight (mg)	Urea-N in hemolymph ^{c)} ($\mu\text{g/ml}$)
Casein (Milk)	Female	1.11	140	515 \pm 4
	Male	1.05	135	719 \pm 19
Casein (Hammarstein)	Female	1.02	143	407 \pm 31
	Male	0.93	133	673 \pm 39
Egg albumin	Female	1.25	184	409 \pm 22
	Male	0.97	152	548 \pm 13
Amino acid mixture ^{b)}	Female	1.03	133	809 \pm 42
	Male	0.90	150	725 \pm 23

a) Silkworm variety : Kōhaku \times Dōei. The larvae were reared on the artificial diet until the 4th larval ecdysis, and thereafter on the experimental diets.

b) Prepared according to INOKUCHI (1970).

c) Values are means of 3 determinations with standard errors.

Table 6. Effects of omitting one component from the artificial diet on urea contents in the hemolymph of 2-day old pupae^{a)}

Component omitted	Female			Male		
	Mean cocoon weight (g)	Mean cocoon shell weight (mg)	Urea-N in hemolymph ^{c)} ($\mu\text{g/ml}$)	Mean cocoon weight (g)	Mean cocoon shell weight (mg)	Urea-N in hemolymph ^{c)} ($\mu\text{g/ml}$)
None (complete diet)	2.61	488	628 \pm 19	1.95	394	699 \pm 8
Mulberry leaf powder	1.45	240	591 \pm 3	1.26	290	688 \pm 8
Soybean meal ^{b)}	1.93	286	531 \pm 16*	1.47	231	622 \pm 2*
Soybean oil	2.52	471	708 \pm 13*	2.02	416	808 \pm 25*
Cellulose powder	2.67	494	718 \pm 51	1.98	383	667 \pm 24
β -Sitosterol	2.29	442	643 \pm 19	1.69	360	759 \pm 21
Ascorbic acid	2.67	486	696 \pm 9*	2.08	416	819 \pm 26*
Sorbic acid	2.51	490	767 \pm 25*	1.87	393	809 \pm 15**
Salt mixture	2.52	474	758 \pm 15**	1.98	406	827 \pm 12**
Sucrose	2.91	563	711 \pm 30	2.31	506	707 \pm 18
Potato starch	2.49	467	804 \pm 13**	1.72	382	799 \pm 3**
Morin	2.57	465	587 \pm 23	1.96	394	822 \pm 21**
Citric acid	2.45	450	745 \pm 4**	1.82	371	839 \pm 27**
Vitamin B mixture	2.79	450	778 \pm 20**	1.92	356	854 \pm 16**
Antiseptic	1.71	287	642 \pm 11	1.47	270	766 \pm 32

a) Silkworm variety : Kōhaku \times Dōei. The larvae were reared on the artificial diet until the 4th larval ecdysis, and thereafter on the experimental diets.

b) Egg albumin was added at a concentration of 10%.

c) Values are means of 3 determinations with standard errors. * and ** indicate a significant difference from the values obtained in the pupae reared on the complete diet at the 5 and 1% level in *t*-test, respectively.

に示した熟蚕の血液尿素量と繭重、繭層重の間の相関より著しく低かった。

つぎに、飼料中の蛋白質の種類を変えた飼料で5齢期を飼育した場合は、Table 5 に示すように、アミノ酸混合物添加飼料区において蛹血液尿素-N量はやや高めであり、次いでミルクカゼインが高く、ハマスチンカゼインおよび卵アルブミンは低い値であった。なお、この表でも繭重、繭層重と蛹血液尿素量の間には一定の関係は認められなかった。

つぎに、飼料成分のうち1成分だけを除去した飼料

で、それぞれ5齢期を飼育した場合の蛹血液尿素-N量をTable 6 に示した。除去した成分によって多少尿素量は異なり、ビタミンB群、クエン酸、澱粉、無機塩混合物、ソルビン酸、アスコルビン酸、および大豆油の除去区は対照の完全飼料区より血液尿素-N量が高く、一方、桑葉粉末および大豆粉末を除去した飼料では低い傾向が示された。また、モリン欠如区では雄についてのみ対照飼料区より高い値であった。この表でも繭重、繭層重と血液尿素-N量の間の相関は高くなかった。

以上示したように、5齢期を人工飼料で飼育すると蛹

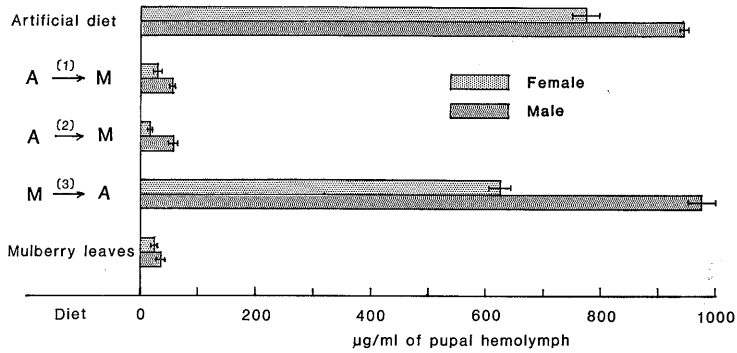


Fig. 2. Effects of change of diet on urea-N contents in the hemolymph of 2-day old pupae. Silkworm variety : Kōhaku × Dōei. (1) Diet was changed from artificial diet (A) to mulberry leaves (M) in the beginning of the 4th instar. (2) Diet was changed from artificial diet to mulberry leaves on the sixth day after the 4th larval ecdysis. (3) Diet was changed from mulberry leaves to artificial diet in the beginning of the 4th instar. Values are means of 3 determinations with standard errors.

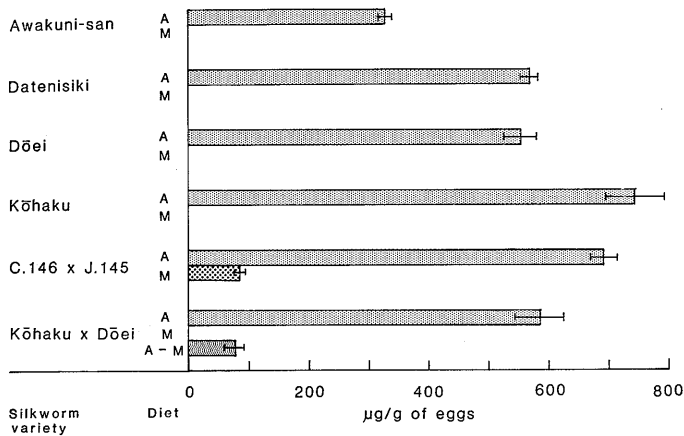


Fig. 3. Differences of urea-N content in the eggs laid by several varieties of silkworms reared on mulberry leaves and artificial diet. A : Rearing on artificial diet. M : Rearing on mulberry leaves. A-M : Diet was changed from artificial diet to mulberry leaves on the sixth day after the 4th larval ecdysis. Values are means of 3 determinations with standard errors.

の血液尿素量が高くなることを知ったが、つぎに飼育の途中で飼料を切り替えた場合、蛹血液尿素量がいかに変わるかを調査した。結果は Fig.2 に示すように、上簇前に食下した飼料によってその値が異なることがわかった。すなわち、4 齢起蚕で人工飼料育から桑葉育に変えた場合には蛹血液尿素 -N 量は全齢桑葉育と変わらないほど低い値を示し、また 5 齢 5 日に人工飼料から桑葉に切り替えてもまったく同様な結果が得られた。一方、桑葉育の幼虫について 4 齢起蚕から人工飼料に切り替えた

場合には、全齢人工飼料育と同程度の高い尿素量を示した。

以上述べたように、5 齢期を人工飼料で飼育すると蛹の血液尿素が高まったのであるが、つぎにこのような成虫が産下する卵の尿素量を桑葉育と比較した。結果は Fig.3 に示すように、支 146 号 × 日 145 号の桑葉育で得られた卵には尿素 -N がわずかに検出されたが、他の 5 品種では桑葉育の場合、卵にはまったく検出されなかった。一方、全齢を人工飼料で飼育した場合には 1g 当た

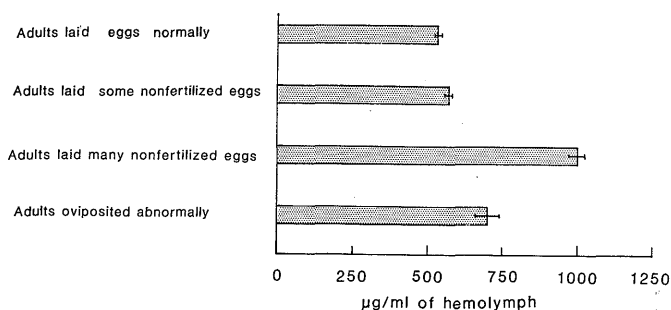


Fig. 4. Effects of urea-N contents in the hemolymph of adults on oviposition. Silkworm variety : C.146. Values are means of 3 determinations with standard errors.

り 300~750 μg の範囲で供試 6 品種とも尿素 -N が検出された。なお、5 齢 5 日に人工飼料育から桑葉育に切り替えた場合には卵にわずかの尿素が検出されたが、全齢人工飼料育ほど高い値ではなかった。

つぎに、人工飼料育をした原蚕種支 146 号について成虫の血液尿素量と産卵性の関係を検討した。Fig.4 に示すように不受受精卵のみを産下する成虫は血液尿素量が多い傾向を示した。

考 察

著者らは、全齢人工飼料育の繭層に多量の尿素が検出されることをみだして(山田ら, 1983 a) 以来、人工飼料育では幼虫血液(山田ら, 1983 b)、さらに本報告で蛹、成虫の血液および卵に尿素が蓄積することを明らかにした。先に KOBAYASHI et al.(1980) は熟蚕尿について、人工飼料育では尿素が多量検出されることを報告しているが、このことは著者らの実験結果とよく一致している現象と思われる。これらの事実は一見、人工飼料中に尿素が存在するかにみられるが、飼料の分析結果では尿素の検出はみられず、いずれも蚕体内で生成されたものであると思われる。生体内での尿素の生成は尿酸からアラントイン酸を経て尿素を生ずる経路とアルギンをオルニチンと尿素に分解する経路のいずれかと考えられる。家蚕においては、前者についてはいまだ知られていないが、後者については林(1960)の *in vitro* の実験および INOKUCHI et al.(1969) の栄養実験と ^{14}C -アルギンによるトレーサー実験によって証明されている。桑葉育では生成された尿素が熟蚕期以降消失するのに対して、人工飼料育では蓄積されることは、アルギナーゼ活性の違いによるのか、またはウレアーゼによる尿素的分解に関して両飼料育間に違いがあるのかの、いずれかと思われる。最近 ^{14}C -尿素を用いて蚕体内における尿素の分

解を検討したところ、ウレアーゼ活性に両飼料育間で大きな違いがみられた(未発表)。

人工飼料育では生成された尿素を分解することができず、その多くを繭層、尿および糞(糞についても分析の結果、桑葉育より 2 倍以上の尿素が検出される。未発表)中に排泄しているが、それでも完全に排泄できずに、蛹体内に留存し、ひいては卵中にまで移行されていくことは尿酸排泄性の昆虫である家蚕にとっては決して望ましいことではないように思われる。

前報で示したように、人工飼料育では熟蚕の血液尿素量と繭層および繭層重とは高い正の相関がみられた(山田ら, 1983 b)。しかし、今回示した蛹血液尿素量については繭層、繭層重との間に一定の関係はほとんど認められなかった。それは熟蚕期の排糞、排尿、吐糸営繭による尿素的排泄のあとに起こる絹糸腺の崩壊によって蛹の血液尿素量の変動するためと思われる。

摘 要

家蚕の化蛹直後から成虫にかけて、血液尿素量の変動を人工飼料育と桑葉育の間で比較したところ、前者では蛹期を通じて尿素 -N 量は 600~1,200 $\mu\text{g/ml}$ の高い値であり、桑葉育ではほとんど痕跡程度の値であった。蛹血液への尿素の蓄積は上簇前 2 日間の桑葉給与でも起こらないことが判明した。人工飼料における蛹の血液尿素量は蚕品種や飼料条件によって異なるが、桑葉育程度に低い事例はまったくなかった。また人工飼料育で得られた卵には尿素が検出されることを知った。さらに、人工飼料育で不受受精卵を多数産下する成虫の血液尿素量は一段と高いことを認めた。

引 用 文 献

鈴野成子・亀岡満子(1969) Urea, Serum (Plasma, Urine)

- (柴田 進・佐々木匡秀共著). 日常臨床生化学超微量定量法 (増訂2版). 東京: 金芳堂, pp. 239—245.
- 林 幸之 (1960) 幼虫の組織磨砕液による尿素の生成について. 日蚕雑 30: 13—16.
- 堀江保宏・井口民夫・渡辺喜二郎・中曾根正一・柳川弘明 (1973) 家蚕人工飼料の組成と飼料効率. 蚕試彙報 96: 41—55.
- 井口民夫 (1970) 家蚕のアミノ酸栄養に関する研究Ⅲ. 幼虫血液の蛋白質濃度および遊離アミノ酸組成に及ぼす飼料中のアミノ酸の影響. 蚕試報 24: 389—408.
- INOKUCHI, T., Y. HORIE and T. ITO (1969) Urea cycle in the silkworm *Bombyx mori*. Biophys. Biochem. Res. Comm. 35: 783—787.
- KOBAYASHI, M., F. MUKAIYAMA and K. HAMANO (1980) Studies on the nitrogenous compounds in urine of mature silkworm larvae, *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). Appl. Ent. Zool. 15: 60—65.
- 山田政枝・中村晃三・井口民夫 (1983 a) 家蚕の繭層中の遊離アミノ酸および尿素含量に及ぼす飼料条件の影響. 応動昆 27: 46—51.
- 山田政枝・中村晃三・井口民夫 (1983 b) 家蚕の5齢幼虫血液および絹糸腺の尿素含量に及ぼす飼料の影響. 応動昆 27: 92—98.

会 報

トビイロウンカが媒介するイネウイルス病の 和名について

東南アジアではトビイロウンカが媒介するイネウイルス病は2種が知られている。それらがわが国でははじめて、1978年と'79年に九州(沖縄も含む)で発生が確認された。それに伴い、九州地域の病害虫関係部局では、普及指導上和名の要望が強く、

これについて関係機関で協議した結果、1981年5月次のとおり和名を決定した。

褐穂黄化病 (英名 grassy stunt)

せん葉萎縮病 (英名 raffed stunt)

なお、後者の“せん”は“旋”であるが、かな書きとする。

(九州農試 平尾重太郎)