



Title	天蚕の遺伝解析に用いる飼育システムの構築
Author(s)	山田, 恭裕; YAMADA, Yasuhiro; 齋藤, 寛 他
Citation	北海道大学農学部農場研究報告, 32, 75-79
Issue Date	2001-03-29
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/13456">https://hdl.handle.net/2115/13456</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	32_p75-79.pdf



## 天蚕の遺伝解析に用いる飼育システムの構築

山田 恭裕<sup>1)</sup>・斎藤 寛<sup>1)</sup>・浅野 眞一郎<sup>1)・2)</sup>・伴戸 久徳<sup>1)・2)</sup>・佐原 健<sup>1)・2)</sup>

(<sup>1)</sup>北海道大学農学部附属農場植物資源科学部門)

(<sup>2)</sup>北海道大学大学院農学研究科応用分子生物学講座)

(2001年1月10日受理)

### 緒 言

天蚕 (ヤママユ蛾: *Antheraea yamamai*) は我が国在来の野蚕で、カイコと同様に繭を形成してその中で化蛹する鱗翅目の繭糸昆虫である。天蚕の生糸からは精練度合いに応じて薄黄緑色から金色までの様々な美しい色バリエーションを持つ絹糸ができる。我々は1980年代の後半より当场養蚕部 (現園芸グループ) において北海道における天蚕の大量飼育技術の体系化と繭生産の効率化に関する研究を行ってきた<sup>1)・2)</sup>。これらの研究における大量飼育の過程で成虫体色と繭色に関する数種類の変異を発見した。成虫体色に関する変異は翅に顕著に認められ、丸山<sup>3)・4)</sup>によって遺伝的要素の強い変異として報告されたものと酷似している。繭色の変異としては、本来の繭色よりも黄色の弱いエメラルドグリーン (EG) 色<sup>5)</sup>を挙げることができる。EG繭が大量飼育のランダムな交配グループにおいて徐々に増加したことから、EG繭個体内での交配からこの繭色が出現すること<sup>6)</sup>から、この変異についても遺伝的であると推測される。

これら変異 (突然変異) の遺伝解析には確実なシングルペアリングとその子孫の独立した飼育、遺伝子の固定、雑種形成ならびに検定交雑など多くのステップを要する。しかしながら、これまで遺伝解析を目的とした飼育システムの構築がなされていない。そこで我々は、本研究においてシングルペアによる採卵、卵保護と孵化の制御、交配区ごとの分離飼育 (いわゆる一蛾育) および分離飼育個体内・分離飼育個体間での交配について検討し、天蚕における遺伝解析のための一環した飼育システムを構築した。

### 材料および方法

#### 供試天蚕

飼育に供した天蚕卵は北海道大学農学部附属農場および同大学大学院農学研究科応用分子昆虫学分野で系統維持している個体を用いた。

#### 一蛾育用ハウス

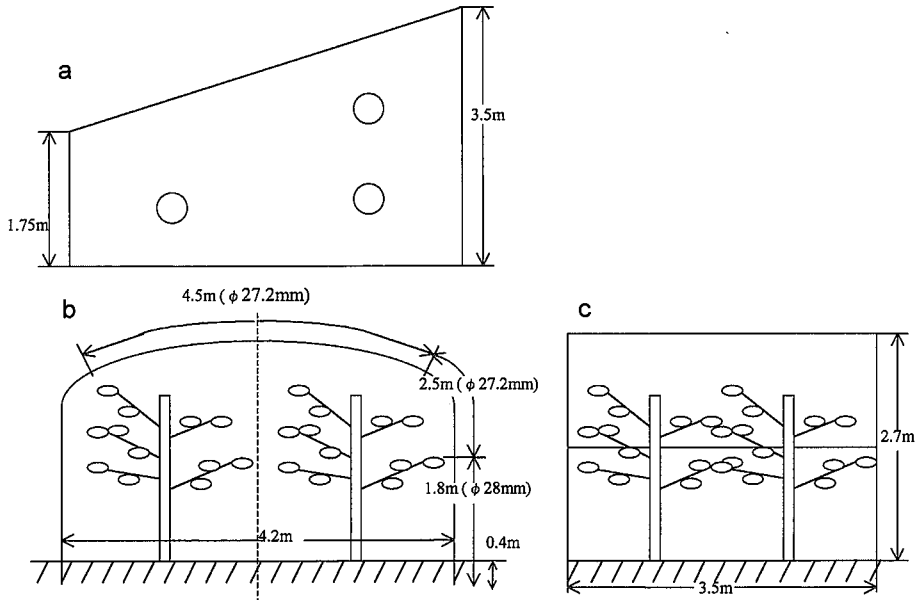
飼育ハウスの骨組みには鉄パイプを使用し、側面用に  $\phi 28 \text{ mm} \times 1.8 \text{ m}$  を4本、天井アーチ用に  $\phi 27.2 \text{ mm} \times 4.5 \text{ m}$  を2本、それらの繋ぎに  $\phi 27.2 \text{ mm} \times 2.5 \text{ m}$  を4本用いて製作した。防虫・防鳥用として網目が4mmの防風ネットを上記骨組みにかけた。ハウス内にはコナラ (*Quercus serrata*) 3本を植え、面積  $13.5 \text{ m}^2$  の台形の土地を占めるようハウスを設置した (第1図)。

#### コナラの仕立て

コナラの上方向への成長をできるだけ抑制するように、取繭後、毎年春に伐採を行い (いわゆる彼岸切り)、高刈りに仕立てた。さらに晩秋になってから側芽等の剪定を行った。

#### シングルペア交配

天蚕は夏期を蛹で過ごし (夏眠)、夏眠の終結 (羽化) は短日・低温条件により促進されて同調性も増すが、自然日長においては大きなばらつきを示す<sup>7)</sup>。シングルペアリングを効率的に行うためには雌雄の生理状態ができるだけ斉一であることが望まれる。本実験では、雌雄の斉一化をはかる目的で屋内で全暗に近い条件を作り出す簡便な装置を暗幕によって作製した。羽化当日の午前8～10



第1図 一蛾育ハウスの概略図. a: 上面図, b: 正面図, c: 側面図.

時に目的とする雌雄個体を集めて1ペア毎に45 cm×30 cmの寒冷紗袋へ入れ木陰につるして野外で交尾産卵させた(第2図)。寒冷紗の内側は、卵の採集を簡便化するために予め糊をつけ、また、針金で作製した輪を2本あわせて入れることで内部空間を保持させた。



第2図 寒冷紗袋によるシングルペアリング。

#### 受精卵の確認と卵保護

野外での交尾・産卵を1週間行わせた後(8月下旬～9月中旬), 両親を取り除き卵塊の付着した

寒冷紗袋を常温で約1ヶ月半放置した(9月上旬～10月下旬)。この間に受精卵は前幼虫態休眠となる。その後、寒冷紗内側についた卵塊を流水にて洗い落とし(10月下旬), 約4ヶ月間、室内の自然温度に放置してから200倍のさらし粉液を用いて卵消毒を行うと同時に膠着物を除いた(2月中～下旬)。このとき、受精卵は浮遊するのに対し不受精卵は沈降するため、受精卵の選抜を同時に行った。受精卵は表面を乾燥させてから、室内の自然温度条件で越冬させた。この期間、室内の最低気温は $-7^{\circ}\text{C}$ 程度で日中の室温が $5^{\circ}\text{C}$ 近くになる3月末に冷蔵庫( $5^{\circ}\text{C}$ )に移した。

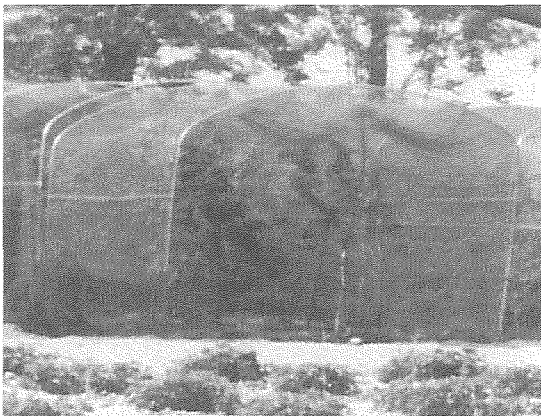
#### 孵化と飼育

約2ヶ月間冷蔵庫にて保護した卵を出庫して、 $25\sim 26^{\circ}\text{C}$ にて催青させた(5月下旬～6月上旬)。この条件下における孵化までの日数は7日前後であった。初発から3日以内の孵化個体を数えて孵化率を計算した。孵化個体はプラスチックケースに入れ密封条件でミズナラ葉を与えて、すべての個体が2齢起蚕となるまで屋内( $26^{\circ}\text{C}$ )にて飼育した。その後は上記、一蛾育用ハウスのコナラ樹に交配区毎に放飼育した。

## 結果と考察

## 一蛾育用ハウスによる天蚕の飼育

稚蚕期を室内育した天蚕は、2～3齢で屋外の一蛾育ハウスに放飼した(第3図)。防風ネットはコナラの開葉が認められた後、ハウスを覆った。この飼育ハウスの特徴は安価な材料で製作された点と、飼育期間以外に防風ネットを取り外し、鉄パイプの骨組みだけを残すことのできる簡便性にある。また、必要以外の時期に飼料樹を自然状態へと開放できる。放飼数は、孵化率とコナラ葉の茂り具合に応じて決定した。



第3図 一蛾育ハウスの全景.

1996年と1997年における放飼数と取繭結果を第1表に示した。1996年はハウス内のコナラを大規模に伐採した翌年であったため、コナラに十分な葉が付かず放飼数も、樹木のサイズから通常考えられる放飼数の半数程度を放飼した。この結果、飼育 No. 2 を除き、遺伝解析に適当な数の繭を得ることができた。翌年の1997年は樹勢も回復したため、170～300個体を放飼したが、飼育 No. 4 を除いて取繭率は50%を下回り、全滅に近い区が3区認められた。

防風ネットにより、アリ、寄生蜂、寄生バエ、蜘蛛、鳥およびネズミなどの加害害虫等から天蚕を保護することができたが、カシワマイマイ (*Lymantria mathura aurora*) によるコナラの多少の食害は防除不可能であった。また、アオクチ

第1表 1996～97年における天蚕の野外一蛾育の結果

飼育 No.	放飼数	取繭数	取繭率(%)
1996年			
1	140	94	67.14
2	130	30	23.08
3	100	66	66
1997年			
4	257	146	56.18
5	310	60	19.35
6	300	18	3.33
7	250	1	0.4
8	170	4	2.35
9	200	46	23
10	300	121	40.33
11	200	25	12.5

プトカメムシ (*Dinorhynchus dybowskyi*) による天蚕の食害が観察された。この害虫はカシワマイマイが同所に居た場合、天蚕よりも好んでこれを食害する。しかしながら、1997年に認められた壊滅的な天蚕の死亡原因は、アオクチプトカメムシによる食害で、防除に1年間を要した。どちらの害虫もコナラ全体へ分散する前の卵もしくは若齢幼虫期間に発見・排除する以外の効率的な防除法は見つかっていない。

1999年と2000年における放飼数と取繭結果を第2表に示した。1999年には1997年に認められたアオクチプトカメムシによる食害が減少し、取繭率は明らかに上昇したが、50%を割る区が3区あり、アオクチプトカメムシが完全には排除されず、食害の影響が幾分か残っていたものと考えられた。2000年における取繭率はさらに向上したが、飼育 No. 27には再びアオクチプトカメムシが発生し、明らかな食害が認められた。飼育 No. 23と26における取繭率の低下はアブラムシの発生によるコナラのすす病が一因であった。

カシワマイマイは大発生しない限り天蚕の一蛾育においては問題とならないため、カメムシ類による直接の食害を排除すれば、この飼育システムによって天蚕の遺伝解析実験が進められると考える。

第2表 1999~2000年における天蚕の野外一蛾育の結果

飼育No.	受精卵数	孵化率(%)	放飼数	取繭数	取繭率(%)
1999年					
12	250	86	166	89	53.61
13	265	88.6	176	84	47.73
14	158	74.1	60	35	58.33
15	217	76.0	110	48	43.64
16	265	89.1	176	122	69.32
17	159	63.5	82	52	63.41
18	169	94.7	92	42	45.65
2000年					
19	185	73.5	136	98	72.06
20	194	51.5	100	80	80
21	139	45.3	63	53	84.13
22	199	56.3	112	89	79.46
23	211	40.8	86	36	41.86
24	195	48.7	95	70	73.68
25	232	60.8	141	99	70.21
26	219	56.6	124	53	42.74
27	254	60.6	154	34	22.08
28	242	43.8	106	90	84.91

## シングルペア交配における天蚕卵の孵化率

天蚕は羽化当日には交尾しないことから、毎朝羽化個体を集めて分離し、必要に応じて交尾させることができた。日齢の進んだ成虫は雌雄とも交尾率・受精率が低下する傾向があり<sup>8)</sup>、本研究の短日処理では、雌の羽化が雄よりも遅れる傾向が認められたが、雄を15~18℃に保護することで極端な受精率の低下を防ぐことができた。しかしながら一蛾育区の羽化は10日~2週間程度にわたり労働集約化のためには、羽化時期を同調させる検討が必要であろう。

1999年と2000年に受精卵数と孵化率の調査を行った結果を第2表に示した。交配区によって産卵数には多少のばらつきが認められたが、139~265個の受精卵が得られた。1999年の孵化率は63.5~94.7%と交配区によってややばらつきがあったものの全般的に良好な孵化を示した。2000年の孵化率は50%前後と、前年よりもやや劣る結果であったが、遺伝解析に必要な放飼個体数を得ることができた。雑種間交配における受精卵と孵化率は変異個体内ならびに野生型個体内でのそれら

よりの値よりも高い傾向があり、この結果は雑種強性による可能性が考えられた。

## 今後の展望

本研究においてシングルペアリングによる採卵法、卵保護と孵化の制御および分離飼育個体内・分離飼育個体間での交配などのシステム体系が確立した。一蛾育における害虫駆除の問題はさらに検討を必要としたが、飼育システムに問題はないことから、今後、天蚕繭色遺伝子に関する遺伝解析を行うことが可能となった。

## 摘 要

天蚕の遺伝解析を行うための飼育システムを構築した。一蛾育個体内および一蛾育区間のシングルペア交配に欠かせない羽化の同調性を簡便な短日処理装置で実現し、卵保護と孵化の制御は冷蔵庫によって行った。一蛾育用の飼育ハウスは安価な鉄パイプと収納可能な防風ネットによって簡便に製作できた。一部の一蛾育ハウスではカメムシ類の食害を防除して飼育成績を向上させる必要があった。

## 引用文献

1. 菊池邦夫・斎藤寛・飯塚敏彦：飼料樹を異にする天蚕繭の飼育成績。北大農場研究報告。27：1-6。1991。
2. 菊池邦夫・斎藤寛・飯塚敏彦：北海道産天蚕の繭質特性。北大農場研究報告。28：9-18。1993。
3. 丸山誠：天蚕の蛾体色による選抜について。蚕糸研究。122：69-73。1982。
4. 丸山誠：天蚕の系統選抜。蚕糸試験場彙報。123：9-30。1984。
5. 斎藤寛・菊池邦夫・佐原健・飯塚敏彦・三田村敏正・山岸渉・瓜田章二：エメラルドグリーン色(EG)天蚕繭の繭質。北大農場研究報告。29：1-6。1995。
6. Nakada, T., Sahara, K., Kikuchi, K. and Saitoh, H.: A new color strain, emerald green (EG), in the Japanese oak silkworm, *Antheraea yamamai*. Int. J. Wild Silkworm Silk. 1: 167-169. 1994.
7. 加藤義臣：夏眠。In 天蚕。赤井弘・栗林茂治編。サイエンスハウス。東京。pp 52-57。1990。
8. 加藤義臣：交尾と採卵。In 天蚕。赤井弘・栗林茂治編。サイエンスハウス。東京。pp 160-170。1990。

## Rearing system for genetic analysis of the wild silkworm, *Antheraea yamamai*

Yasuhiro YAMADA<sup>1)</sup>, Hiroshi SAITO<sup>1)</sup>, Shin-ichiro ASANO<sup>1)·2)</sup>,  
Hisanori BANDO<sup>1)·2)</sup> and Ken SAHARA<sup>1)·2)</sup>

<sup>1)</sup> Division of Science of Plant Resources, Experimental farm, Faculty of Agriculture,  
Hokkaido University, Sapporo 060-0811, Japan)

<sup>2)</sup> Research Group of Applied Molecular Biology, Graduate School of Agriculture,  
Hokkaido University, Sapporo 060-8589, Japan)

(Received January 10, 2001)

### Summary

We constructed a concise rearing system for genetic analysis of *Antheraea yamamai*. A procedure to synchronize the adult eclosion was developed using a simple system to make a dark condition. The refrigerator was found to be useful to store the fertilized eggs and to control their hatch. Rearing house for larvae from single parents built by cheap steal pipes and plastic nets was enough for practical use. One of the remained subject in our system to realize better results of rearing was establishment of an efficient technology for protection of the wild silkworm larvae from a predator beetle.