

研 究 報 文

カイコの食草選択性因子に関する研究 I ^{注1)}

—葉の糖質について—

上 北 圭 子* 有 賀 洋 子**

石 田 和 子** 二 村 京 子**

Studies on the determinants in the leaves fed
exclusively by the silkwom, *Bombyx Mori* L.

—On carbohydrate composition of the plants—

Keiko Uekita, Yōko Ariga
Kazuko Ishida, Kyōko Nimura

I. 緒 言

一般に草食性昆虫は、摂食する食草の種に対し、かなりの選択性を示すのが普通である。

衆知の通り、カイコはクワをほとんど唯一の食草として飼育されてきており、このカイコの寄主選択性の解明は昆虫学的、栄養学的に興味ある問題であるばかりでなく、産業としての養蚕業に新たな展開のいとぐちを与える意義深い研究と考えられる。筆者らは、カイコの食性に関する因子のうち葉の成分について食草となる植物の特異性を追求する第一歩として、多種類の植物の糖質について研究を行った。

カイコの摂食性については従来数多くの研究が行なわれており、吉田¹⁾、福田^{2,3)}らは、凍霜や害虫による生クワ

葉不足に際しての緊急用飼料の作成から、伊藤^{4,5)}らは、栄養学的立場から、また、浜村⁶⁾らは、カイコの摂食機構の解明を目的として、それぞれワク葉に代る人工飼料の作成についての研究を行っている。

それらの成果を要約すると、カイコは、まず、頭部にある感覚器官により食物の存在を感知する。すなわち、実際上の摂食段階に入る前にカイコが食物に誘引される段階があり、ついで、食物の嚙咬、嚥下の過程がつづく。そして、これらの行動をひきおこす特異の化学物質がワク葉に存在することが予測され、幼虫の誘引物質としては β - γ -hexenol と α - β -hexenal がまず明らかにされ、citral, linalol, linalyl acetate, terpenyl acetate などテルペン類も活性を示すことが判明した。また、嚙咬物質には β -sitsterol, inositol, isoquercitrin が、嚥下物質は cellulose や第二リン酸カリなどが有効であることがわかった。その他に、摂食を刺激する物質、摂食促進物質として、フラボノイド色素である movin, chlorogenic acid, ascorbic acid が単離され、その有効なことが証明されている。

これらのクワ葉から単離されてカイコの摂食行動と関係があるとされた物質は、いずれも主要栄養素とは考えにくく、かつ植物葉に普遍的に分布している物質である。葉のタンパク質、糖質、脂質などは当然昆虫

* 本学生物化学研究室

** 本学45年度卒業生

注 1) 一部の結果を山田弘生・田中正三らとの協同研究として昭和45年度日本蚕糸学会関西支部大会にて発表済

°山田弘生・有賀洋子・石田和子・二村京子・加藤勝・田中正三

家蚕の食草選択のしくみ

(Ⅲ)31種の植物についての検討

(京大、京女大生化)

の主要栄養素として利用され、これに関する研究も多くなされてきているが、植物の種によるこれらの成分の特異性や、これとカイコの摂食性や栄養との関係に関する詳細な研究はほとんどなされていない。筆者らは、三十数種の植物について、カイコの摂食の有無を検討すると共に、葉に含有されている水溶性糖質の糖類、含量をしらべ、その間の関連性を追跡した。

II. 実 験

II-I. 摂食テスト

1) 試 料

カイコの摂食テストに用いた植物は、京都大学理学部植物園に栽培されているものであり、京都大学理学部植物学教室のナルハン氏の指導の下に採取した。

採取時期は、昭和45年7月下旬から8月上旬で、採取はすべて午後4時ごろに行った。植物種は次の31種である。

クワ科 { クワ, イチジク, オオイタビ, カナムグラ, カデノキ, クワクサ, コウゾ, ハリグワ, ヤマグワ
キク科 { アキノノゲシ, アレチノギク, コンギク, セイタカアワダチソウ, ダンドボロギク, ブタクサ, セイヨウタンポポ, ヨメナ, ヨモギ

第1表 摂食テスト

科	品 種	a		b		c	
		① 排フン数	② 排フン数	① 排フン数	② 排フン数	① 排フン数	② 排フン数
	クワ (control)	100	100	100	100	100	100
ク ワ 科	イ チ デ ク	16	18	0	0	20	14
	オ オ イ タ ビ	0	2	8	0	179	163
	カ ナ ム グ ラ	0	0	0	0	56	52
	カ デ ノ キ	4	4	7	15	80	74
	ク ワ ク サ	2	2	0	0	48	35
	コ ウ ゾ	15	19	13	15	80	94
	ハ リ グ ワ	31	28	7	6	62	65
	ヤ マ グ ワ	148	121	48	39	80	78
キ ク 科	ア キ ノ ノ ゲ シ	37	48	18	32	100	76
	ア レ チ ノ ギ ク	3	0	0	0	5	0
	コ ン ギ ク	31	7	0	0	75	62
	セ イ タ カ ア ワ ダ チ ソ ウ	2	2	0	0	0	0
	ダ ン ド ボ ロ ギ ク	7	2	44	13	113	104
	セ イ ヨ ウ タ ン ポ ポ	28	65	0	0	23	16
	ブ タ ク サ	0	2	0	0	1	1
	ヨ メ ナ	2	0	0	0	1	0
そ の 他	ヨ モ ギ	3	3	0	0	0	0
	ア カ ソ	2	2	0	0	50	63
	ア キ ニ レ	8	3	0	0	59	70
	ア ジ サ イ	3	3	0	0	0	0
	イ タ ド リ	0	0	0	0	57	41
	エ ノ キ	0	0	0	0	89	126
	カ キ	0	0	0	0	46	37
	ク ス ノ キ	0	2	0	0	0	0
	ク ズ	0	3	0	0	67	48
	ク ス ギ	4	0	0	0	2	2
	シ ン ジ ュ	0	4	0	0	0	0
	ト チ ノ キ	0	0	0	0	0	0
	ビ ワ	0	0	0	0	18	18
	ヤ ブ ガ ラ シ	4	2	0	0	0	3

ニレ科 {アキニレ, エノキ

その他 {アカソ, アジサイ, イタドリ, カキ, ク
11科より {スノキ, クズ, クヌギ, シンジュ, トチ
1種づつ {ノキ, ビワ, ヤブガラシ

2) 方法

①生葉の摂食テスト

径6cmのシャーレに円型口紙をひき上に生葉を入れ、フ化直後のカイコ10頭を掃立てる。

②乾燥粉末にした葉の摂食テスト

pH 6.4 のリン酸緩衝液10ml, ストレプトマイシン0.1%, 寒天0.3gを混合し、加熱溶解後試験しようとする植物の葉の乾燥粉末0.5gとセルローズ粉末0.5gを加えてよく混合し、径3cmのシャーレに流して固めたものにフ化直後のカイコ10頭を掃立てる。

③乾燥葉の粉末とクワ葉の粉末の混合飼料の摂食テスト

②と同じ配合を用い、セルローズ粉末の代りにクワ葉粉末0.5gを混合したものを径3cmのシャーレに流して固めた後、フ化直後のカイコ10頭を掃立てる。

①②③の飼料で飼育したカイコが28°C24時間中に排泄する糞の数を数えて、摂食状況の判定を行った。なお、いずれの場合もワク葉のみを用

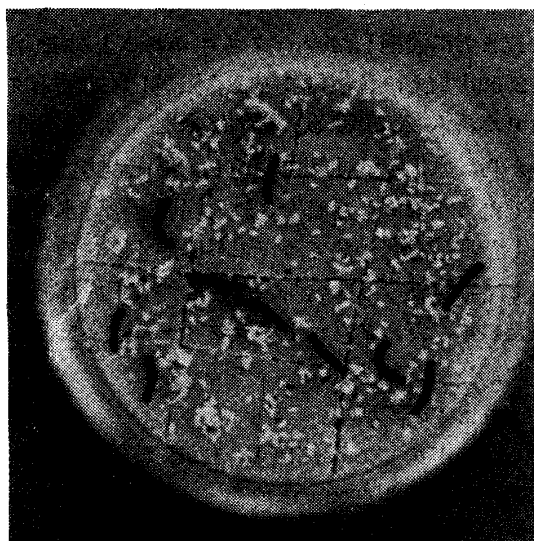


写真1 人工飼料の摂食テスト法

いたものを対照試験とし、この結果と比較した。

3) 結果

摂食テストの結果は第1表に示す通りであり、クワ葉の対照を100として数値の比較をした。

以上の結果から試験に供した植物をみるとつぎの三群に別けることができる。

第2表

	A 群	B 群	C 群
	カイコが食べる植物	そのもののみではカイコは食べないがクワ葉と混じた実験から摂食阻害物質を含まないと思われる植物	阻害物質を含むと思われる植物
クワ科	クワ, ヤマグラ, ハリグラ	カナムグラ, コウゾ, クワクサ, カヂノキ, オオイタビ, イチヂク	
キク科	セイヨウタンポポ, アキノノゲシ	ダンドボロギク, コンギク	アレチノギク, セイタカアワダチソウ, ブタクサ, ヨメナ, ヨモギ
その他		エノキ, アキニレ, アカソ, クズ, イタドリ, カキ, ビワ	アジサイ, クスノキ, ヤブガラシ, クヌギ, シンジュ, トチノキ

II-II. 植物の葉の糖質のガスクロマトグラフィーによる分析

1) 試料に用いた植物種

分析に用いた植物は、前掲の第2表、A群のクワ, ヤマグラ, アキノノゲシ, セイヨウタンポポ, B群のカナムグラ, クワクサ, コンギク, アキニ

レ, イタドリ, C群のセイタカアワダチソウ, ブタクサ, アジサイの12種である。

この分析に用いた植物の葉は、摂食テスト用のものと同時期に採取し、直ちに生葉50gに対し、メタノール1ℓの割合で、メタノール浸漬した。

2) メタノール浸出液

生葉のメタノール抽出液をエバポレーターで40ml位までに濃縮した後、クロロホルムと水を各々200ml 加え、分液漏斗でよく振盪し、水層とクロロホルム層に分ける。糖類は水層に溶解しているから、水層を活性炭で脱色し、下記の方法で調製したカラム I に通じ、これと樹脂を蒸留水で洗滌した洗液を合わせてカラム II に通す。このようにして中性糖のみを含む水溶液をつくり減圧濃縮したのち、ガスクロマトグラフィーによって分析した。

カラム I の調製法

200ml の Amberlite IR 120B を蒸留水とともに径 4cm 長さ 40cm の硝子製カラムにつめ、1ℓ の 2N-NaOH を通し、ついで蒸留水で洗液が中性になるまで洗滌したのち、1ℓ の 2N-HCl をゆっくり通し、さらに、蒸留水で中性になるまで洗う。

カラム II の調製法

100ml の Amberlite CG 4B をカラム I と同様の硝子カラムにつめ、28%アンモニア水 80ml を通したのち、蒸留水で洗液が中性になるまで洗う。

3) 中性糖の TMS 化

このようにしてえられた中性糖は、Sweeley⁷⁾らの方法により TMS 誘導体にしてガスクロマトグラフィー (G.L.C.) にかけた。すなわち、糖として約20mg の中性糖を共栓試験管に採り、1ml 無水ピリジンを加えて完全に溶解させ、ヘキサメチルジシラザン (HMDS) 0.2ml とトリメチルクロロシラン (TMCS) 0.1ml を加え、約30秒激しく振盪したのち、75~85℃で2~3分間加熱し放冷静置し、上澄液を G.L.C. の試料とした。^{8,9)}

4) 糖のガスクロマトグラフィー

筆者らが糖の分析に用いた G.L.C 装置および、実施の諸条件は下記の通りである。

G.L.C 装置； 島津 GC-4APT 型

カラム ； 3mm×2m のステンレス鋼製

移動相 ； He ガス

充填剤 ； 5% SE 30 on shimalite W

分析温度 ； 125~230℃ 4℃/min

流速 ； 40ml/min

ガス圧 ； 1.1kg/cm²

5) クロマトグラムとその整理

得られたクロマトグラムの例を示すと Fig 1~3 のようである。数種の中性糖の純品について同一条件でのクロマトグラムをつくり、これと葉から

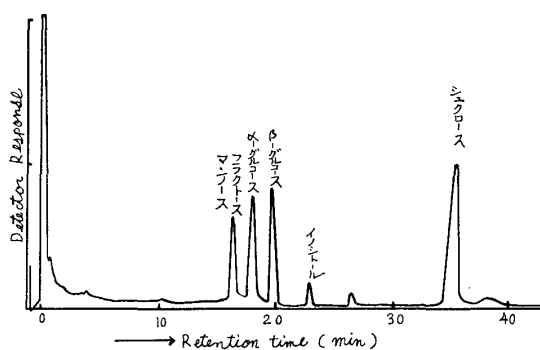


Fig. 1 クワ

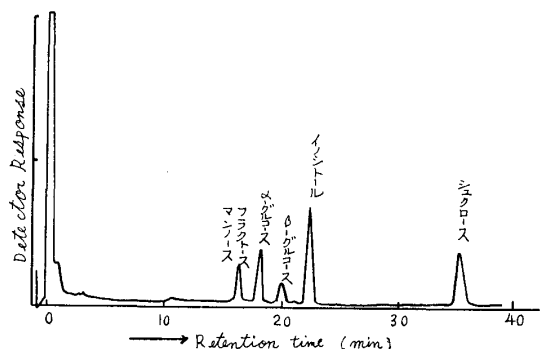


Fig. 2 アジサイ

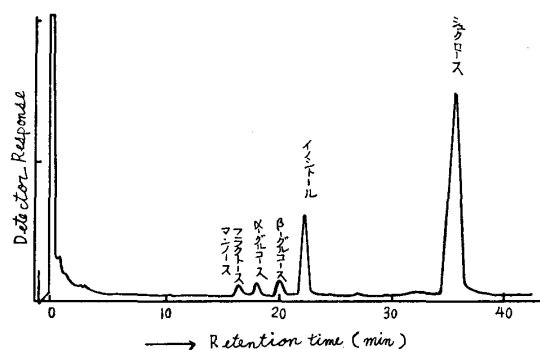


Fig. 3 アキニレ

えられたものとの保持時間の比較と各ピークの面積比からの葉の中性糖の組成を求め、その結果を第3表に示す。

III. 結 果

以上の実験より、分析に供した植物の葉には中性糖として、ショ糖、グルコース、フルクトースおよび糖アルコールのイノシトールが広く分布しているが、カイコが摂食するクワ、ヤマグワにおいてはショ糖が総中性糖の48~74%の大量を占め、このほか、グルコース、フルクトースが10%以上、イノシトールが2.5~7.5%含まれている。しかし、同じA群に属するキク科のセイヨウタンポポ、アキノノゲシはショ糖の含量は極めて少く、グルコースが39~43%も含まれており、

第3表 植物の葉の中性糖の組成 (%)

	糖 葉の種類									
		キシ ロース	フラクトス or マンノース	ガラク トース	グル コース	ショ糖	キシリ トール	マンニ トール ソルビ トール	イノシ トール	備 明 の ス ポ ット
A 群	ク ワ	—	16.4	—	26.8	48.5	—	—	2.7	1 (個)
	ヤ マ グ ワ	—	4.2	—	14.0	74.0	—	—	7.5	1
	セイヨウタンポポ	+	13.0	—	39.0	10.8	—	33.5	2.7	
	アキノノゲシ	—	18.2	—	43.0	+	—	25.6	6.6	1
B 群	ア キ ニ レ	—	1.8	—	2.8	83.0	—	—	13.0	2~3
	カナムグラ	0.5	3.5	—	8.1	56.1	+	—	22.6	10
	イ タ ド リ	—	11.0	—	37.5	2.0	—	42.2	7.0	
	コ ン ギ ク	+	1.0	+	1.4	60.3	—	9.1	18.4	4
	ク ワ ク サ	—	5.9	2.5	15.0	43.0	—	—	4.6	2~3
C 群	セイタカアワダチソウ	+	4.2	0.5	10.4	18.9	+	16.1	18.9	7
	ア ジ サ イ	—	12.6	—	18.8	32.8	—	—	35.6	
	ブ タ ク サ	—	3.5	—	12.1	24.0	—	—	9.0	

また、マンニトール or ソルビトールが25~34%も含まれている。阻害物質は含んでいないと思われるアキニレ、カナムグラ、コンギク、クワクサと被摂食植物との間に中性糖の組成、含量も著るしい差異は認められない。ただ、イタドリはショ糖含量が非常に少く、グルコースを37%も含んでいるが、糖アルコールを42.2%も含んでいるのが特徴である。イノシトールは、阻害物質を含んでいると思われるサジサイにも含有されている。

IV. 結 論

カイコの寄生選択性は、同一種の植物でも、その生長時期、葉位、生育場所などにより、かなり差がみられる。例えば、カナムグラは8月のものは食したのに反し、10月のものは食べず、ハリグワ、ヤマグワ、セイヨウタンポポにおいて、8月のものと10月のものでは摂食量に著るしい差が認められた。

著者らの実験では、これらの複雑さをさけるために、葉の採取時、採取場所を一定にし、その乾燥葉の粉末を寒天ゲルに練り込むという方法を用いたが、前述のように少なくとも著者らが試料に選んだ植物においては、カイコが摂食するか否かにかかわらず、生葉の中性糖の組成には著るしい差は認められず、糖アルコールのイノシトールはどの葉にも含有されていることが判明した。

また、ショ糖含量の低いものに限って糖アルコールのマンニトール、ソルビトールの含量がきわめて多くなることが認められた。かつて、伊藤は糖類のカイコ

第4表

糖の栄養価		嗜好性	化 合 物 名
高 い	強		ショ糖, D-フルクトース, ラフィノース
	中		マルトース
	弱		D-グルコース, D-マンノース ラクトース, セロビオース トレハロース, メリビオース ソルビトール, メレジロース
中程度	中		D-ガラクトース, イノシトール
	弱		D-キシロース, マンニトール
低 い	中		L-アラビノース, L-ラムノース L-ソルボース α -メチルグルコシド
	弱		D-リボース, ダルシトール α -メチルマンノシド

の栄養について、その嗜好性と比較して第4表にまとめた結果を報告している。

また、石川、平尾らがカイコの味覚機構と食性に関連して小腸の選択機構を決定する重要な要素は化学物質であり栄養素であるショ糖などの糖質は摂食刺激物質として重要であり、これらと忌避物質の相対的含量が選択性を大きく支配していると報じている。

筆者らの結果も石川らの説の一部を支配するもので、葉の中性糖の種類と含量とのみをもってカイコの食草選択性を解明することは不可能であり、これらの物質がカイコにとって好個の栄養素であっても、体内にとり込む以前の段階において他の因子によって被摂食性が決定されることが明らかになった。この決定を左右

するものが石川のいう忌避物質であるか、あるいは誘引物質であるかは、それらの物質の化学性の解明とともに今後の研究にまたなければならない。

本実験に際し、終始御指導を賜った田中正三教授、山田弘生博士、並びに、試料植物の摂取にあたり御協力下さった京都大学理学部植物学教室のナルハシ博士に深く感謝致します。

参 考 文 献

- 1) 吉田, 松岡, 木村; 蚕試報告 **15** 543~86 (1960)
- 2) 福田, 須藤, 樋口; 日蚕雑 **29** 1~3 (1960)
- 3) T.Fukuda, Y.Higuchi M.Sudo, *XI Intern Kongr.*

Entomologie, Vien (1960)

- 4) 伊藤智夫, 田中元三; 日蚕雑 **29** 191-196 (1960)
- 5) T. Ito *Proc, Jap. Acad.* **36** 287~90 (1960)
- 6) Y. Hamamura, *Naure*, **183** 1746-7 (1959)
- 7) C. C. Sweeley, R. Bentley, M. Makita, W. W. Wells; *J. Am, Chem Soc*, **85** 2497-2507 (1963)
- 8) Y.E. Lee, C.E. Ballou; *J. Chromotog.*, **18** 147~149 (1965)
- 9) P.K. Davison, R. Young; *J. Chromatog.*, **41** 12-21 (1969)
- 10) 石川誠男, 平尾常尾; 蚕試報, **20** (3); 291-319 (1966)