

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4273225号
(P4273225)

(45) 発行日 平成21年6月3日(2009.6.3)

(24) 登録日 平成21年3月13日(2009.3.13)

(51) Int.Cl. F 1
AO 1 K 67/04 (2006.01) AO 1 K 67/04 3 O 1
 AO 1 K 67/04

請求項の数 2 (全 8 頁)

(21) 出願番号	特願2003-57940 (P2003-57940)	(73) 特許権者	501167644
(22) 出願日	平成15年3月5日(2003.3.5)		独立行政法人農業生物資源研究所
(65) 公開番号	特開2004-267007 (P2004-267007A)		茨城県つくば市観音台2丁目1-2
(43) 公開日	平成16年9月30日(2004.9.30)	(74) 代理人	100101236
審査請求日	平成15年3月5日(2003.3.5)		弁理士 栗原 浩之
		(74) 代理人	100128532
			弁理士 村中 克年
		(72) 発明者	飯塚 哲也
			長野県松本市県1-10-1 独立行政法人農業生物資源研究所内
		(72) 発明者	間瀬 啓介
			長野県松本市県1-10-1 独立行政法人農業生物資源研究所内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 カイコ受精卵の保存法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

産卵したカイコ受精卵を 2.5 で 3.0 ~ 6.0 日間保護し、この受精卵を 2.0 ~ 5.0 の間で温度を複数回段階的に下げて各温度でそれぞれ 2 日間又は 5 日間の間段階的に保護し、その後さらに 0 で 1.0 日間保護し、次いで 0 ~ -2.5 で 3.08 ~ 4.10 日間冷蔵した後、5 で 9.0 日間保護して胚子を活性化させ、この胚子が活性化された受精卵に対して産卵後 4.88 日目から 5.48 日目までの期間が経過した後に、始め 1.0 次いで 1.5 の一連の中間手入れを 1 回だけ施し、その後 0 ~ -2.5 で 1.20 ~ 1.80 日間再冷蔵し、最後に出庫、催青を行うことを特徴とするカイコ受精卵の保存法。

【請求項2】

請求項1記載のカイコ受精卵の保存法において、該再冷蔵後に、出庫のために温度を 1.0 に上げて3日間維持し、1.5 の中間温度に2日間維持し、次いで 2.5 で 1.1 日間催青を行うことを特徴とするカイコ受精卵の保存方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、カイコ受精卵の保存法に関し、特に孵化サイクルがほぼ2カ年となり、孵化率が高いカイコ受精卵保存法に関する。

【0002】

【従来の技術】

カイコには実用品種の他に、多くの保存系統と育種素材系統がある。我が国では大学や（独）農業生物資源研究所などを合わせると、遺伝資源として1000種を越える保存系統があるほか、500種余りの実用品種と育種素材が維持されている。それらの品種を系統保存するためには毎年一回飼育する必要がある。そのため、系統を維持・保存するためには、多大の労力、経費を要しており、その省力化が求められてきた。

【0003】

休眠性卵（越年蚕種）は産卵後休眠に入り、翌年になって孵化してくるものである。この産卵直後から翌年孵化するまでの期間の蚕卵の取扱いを蚕種の保護と呼んでおり、この期間の保護の良否は、卵の孵化に重要な影響を与えるのみならず、交雑種では作柄や繭糸質にも影響するので、極めて重要な作業である。

10

【0004】

従来の確立された蚕種保存技術としては、休眠を覚醒した活性卵の長期冷蔵法として、採種から15ヶ月間は保護できる複式冷蔵法（例えば、非特許文献1参照。）がある。複式冷蔵法とは、図1にそのプロセスを示すように、採卵後50～60日間25℃、30日間20℃、約150日間自然温度で受精卵を保護した後、90日間-2.5℃に置き、次いで保護中の卵をいったん高温に曝して胚子の発育段階を少し進める中間手入れを一回施し、その後2.5℃で出庫まで保護する方法であり、現在広く実用化されている。

【0005】

卵の胚子の冷蔵に対する抵抗性は、発育段階によって異なり、最長期（丙B）の胚子が最も抵抗力が強いので、休眠から覚醒した卵を冷蔵し続けるためには、胚子の発育段階をこの丙Bの時期まで進め、再度冷蔵する方法を取るのが良いとされている。このように、冷蔵中の受精卵を所定の温度に一定期間接触させて、胚子の発育を丙B、好ましくは丙Bの少し前まで促進し、卵の冷蔵に対する抵抗性を増すため操作を中間手入れという。

20

【0006】

また、いまだ研究段階ではあるが、第1代目の孵化から第2代目の孵化までが2カ年サイクルとなる受精卵の長期貯蔵で高い孵化率（交雑種1品種（宝鐘×春月）を得ることができた方法（例えば、非特許文献2参照。）が提案されている。即ち、図2に示すように、産卵直後の高温（25℃）保護を90日間行い、20℃、15℃、10℃、5℃の各温度にそれぞれ5日間、段階的に移して保護し、次いで2.5℃で40日間保護し、その後-2.5℃で冷蔵する方法である。この方法では、次いで2.5℃に20日間、5℃に30日間置いた後、15℃で中間手入れを6回行う。この中間手入れの開始日は、保護開始日から430、470、510、550、590、610日目であり、これらの中間手入れの各段階とも、受精卵が破壊されないようにするために初めに各中間手入れ温度よりも低い温度で予備手入れを行っている。この手入れ後の冷蔵温度は、1回目及び2回目の手入れ後は-2.5℃、3回目及び4回目の手入れ後は0℃、5回目及び6回目の手入れ後は2.5℃である。なお、上記方法において、中間手入れを1回のみ施した場合での孵化率は、最高でも保護開始後550日目に1回施した場合の73.1%である。

30

【0007】

【非特許文献1】

蚕種の保護取扱い指針、協同組合全国蚕種研究会発行、昭和52年11月10日、pp. 14-16

40

【非特許文献2】

清水・青木、蚕糸研究、1988年9月(142号)、pp. 45-51

【0008】

【発明が解決しようとする課題】

上記従来技術の複式冷蔵法では、第1代目の飼育から次世代の飼育開始（催青着手）まで1年半程度が可能であるが、桑葉による飼育は5月中旬から10月中旬までの時期に限られているので、実際には、晩秋に採種した卵を翌々年の春まで貯蔵・保存するのは無理であるという問題がある。

また、上記非特許文献2記載の受精卵の保存を2カ年間近く保存する方法では、細かく

50

温度を変えたり、中間手入れを6回施すなど、貯蔵工程が極めて煩雑で手間がかかって熟練者でないと実施が困難であるばかりでなく、必ずしも一定の高い孵化率が得られていないという問題がある。

【0009】

そのため、現在、カイコ系統保存では1年に1回は飼育して継代しているのが実情である。しかしながら、受精卵を2カ年間保存しても高い孵化率を得ることができる簡便な保存法があれば、2年に1回の飼育で系統保存が可能になり、労力も経費も半分に減少することになり、系統保存の省力化に直結する。

本発明の課題は、カイコ受精卵を冷蔵により長期間保護しても高い孵化率を有する、少なくとも2カ年孵化サイクルを有する簡便なカイコ受精卵保存法を提供することにある。

【0010】

【課題を解決するための手段】

本発明のカイコ受精卵の保存法は、産卵したカイコ受精卵を25で30～60日間保護し、この受精卵を20～5の間で温度を複数回段階的に下げて各温度でそれぞれ2日間又は5日間の間段階的に保護し、その後さらに0で10日間保護し、次いで0～-2.5で308～410日間冷蔵した後、5で90日間保護して胚子を活性化させ、この胚子が活性化された受精卵に対して産卵後488日目から548日目までの期間が経過した後に、始め10次いで15の一連の中間手入れを1回だけ施し、その後0～-2.5で120～180日間再冷蔵し、最後に出庫、催青を行うことを特徴とする。

【0011】

上記再冷蔵後に、出庫のために温度を10に上げて3日間維持し、15の中間温度に2日間維持し、次いで25で11日間催青を行うことを特徴とする。

【0012】

上記したように産卵後所定の時期に中間手入れを1回施しただけでカイコ受精卵を長期にわたって冷蔵保存することができ、ほぼ2カ年サイクルで系統保存が可能となる。中間手入れをこの期間外に施すと、高い孵化率を維持したままでの2カ年サイクルの系統保存が困難となる。また、上記保護温度及び保護期間の範囲を外れると、高い孵化率を維持したままでの2カ年サイクルの系統保存が困難となる。

【0013】

【発明の実施の形態】

以下、本発明の実施の形態を説明する。

本発明の実施の形態によれば、カイコ受精卵をほぼ2カ年保存する方法は、産卵後に採卵した受精卵を25で30～60日間保護し、この受精卵を20、15、10、5の温度に4回段階的に移して各温度でそれぞれ2日間又は5日間、合計20日間以下の間段階的に保護し、次いで0～-2.5で308～410日間保護・冷蔵した後、5.0で90日間保護して胚子を活性化させ、この胚子が活性化された受精卵に対し、産卵後488日目から548日目までの期間が経過した後に、始め10で次いで15で一連の中間手入れを1回施して冷蔵に対する受精卵の抵抗性を増し、その後、0～-2.5で120～180日間再冷蔵する。

【0014】

この場合、中間手入れにおいて、受精卵が破壊されないようにするためには、初めに低い温度、例えば10で2日間予備手入れを行い、次いで15で4日間中間手入れを行うことが好ましい。再冷蔵後、例えば、出庫のために温度を10に上げて3日間維持し、15の中間温度に2日間維持し、次いで25で11日間催青を行うことが好ましい。

【0015】

本発明の保存法では、上記したように、産卵直後の高温(25)保護期間を短くし、冷蔵への移行も短時間でを行い、休眠打破することなく低温貯蔵している。また、低温貯蔵は0～-2.5で行うことができ、中間手入れも1回とすることができるので、従来報告されている方法に比べて作業を著しく単純・簡易化することができる。

10

20

30

40

50

本発明によれば、受精卵の産卵後から出庫前までの上記の日数に、第1世代の孵化から産卵までの保護期間40日間及び出庫から第2世代の孵化(催青期間)までの期間16日間を加えれば、第1世代の孵化から第2世代の孵化までの期間がほぼ2カ年となり、2年サイクルでの系統保存が可能となる。

【0016】

【実施例】

以下、本発明の実施例を図面を参照して説明する。

【実施例1】

表1に示す各種品種の蚕について、産卵後に、図3に示すようなプロセスを経て保護・貯蔵し、第1世代の孵化から第2世代の孵化まで系統保存を行った。即ち、第1世代の孵化から産卵までの幼虫・蛹の期間が40日間であり、平成11年7月5日に産卵した卵を採種し、産卵後から9月2日まで25℃で60日間保護し、9月3日から9月22日まで、20℃、15℃、10℃、5℃の各温度にそれぞれ5日間段階的に移して保護し、次いで10月2日まで0℃で10日間保護した後、平成12年10月4日まで-2.5℃で368日間冷蔵した。次いで、胚子の活性化を図るために平成13年1月2日まで5℃で90日間保護した後、1月8日まで10℃で2日間及び15℃で4日間の中間手入れを1回施し、胚子の発育を丙Bの少し前まで進めて受精卵の冷蔵に対する耐性を高めた。中間手入れ後、5月8日まで0℃で120日間再冷蔵した。その後、出庫のため10℃で3日間維持し、15℃の中間温度で2日間維持し、25℃で11日間催青を行った。出庫から中間温度を経て第2世代の孵化までの卵の催青の期間は16日間であった。

【0017】

実施例1の場合、第1世代の孵化から第2世代の孵化までの期間は730日であった。

上記プロセスにより貯蔵した後の蚕卵の孵化率は、各種品種において、以下の表1に示すような結果が得られた。

(表1)

蚕品種	日01×中01	中01×日01	日137×支146	支146×日137
孵化率	89.7%	87.6%	90.9%	88.5%

【0018】

表1から明らかのように、各種品種で90%前後の高い孵化率が得られ、2カ年サイクルでの系統保存が可能となった。

また、孵化した幼虫を通常の方法で飼育して、長期貯蔵による生育や計量形質(繭重、繭層重)への影響を調べた。その結果、生育や計量形質への影響は認められず、長期貯蔵による障害等は現れなかった。

【0019】

上記飼育の際の温度は、1~3齢期は27℃、4~5齢期は25℃を目標とし、給桑回数は1日2回とした。対照区に飼育前年の春採り蚕種を用い、飼育日数、繭重、繭層重を比較した結果、有意な差は認められなかった。

【0020】

【実施例2】

実施例1と同様にして、第1世代の孵化から第2世代の孵化まで系統保存を行った。

平成11年7月4日に産卵した卵を採種し、産卵後から9月1日まで25℃で60日間保護し、9月2日から9月21日まで、20℃、15℃、10℃、5℃の各温度にそれぞれ5日間段階的に移して保護し、次いで10月1日まで0℃で10日間保護した後、平成12年8月4日まで-2.5℃で308日間冷蔵した。次いで、胚子の活性化を図るために11月2日まで5℃で90日間保護した後、11月8日まで10℃で2日間及び15℃で4日間の中間手入れを1回施し、胚子の発育を丙Bまで進めて受精卵の冷蔵に対する耐性を高めた。中間手入れ後、平成13年5月7日まで0℃で180日間再冷蔵した。その

後、出庫のため10℃で3日間維持し、15℃の中間温度で2日間維持し、25℃で11日間催青を行った。出庫から中間温度を経て第2世代の孵化までの卵の催青に至る期間は16日間であった。

【0021】

実施例2の場合も、第1世代の孵化から産卵までの幼虫・蛹の期間が40日間あるので、第1世代の孵化から第2世代の孵化までの期間は730日であった。

上記プロセスにより貯蔵した後の蚕卵の孵化率は、以下の表2に示すような結果が得られた。

また、孵化した幼虫を実施例1の場合と同様に通常の方法で飼育した結果、生育や計量形質への影響は認められず、長期貯蔵による障害等は現れなかった。

10

【0022】

(参考例1)

実施例1と同様にして、第1世代の孵化から第2世代の孵化まで系統保存を行った。

平成11年7月4日に産卵した卵を採種し、産卵後から9月1日まで25℃で60日間保護し、9月2日から9月21日まで、20℃、15℃、10℃、5℃の各温度にそれぞれ5日間段階的に移して保護し、次いで10月3日まで0℃で378日間保護した。次いで、胚子の活性化をはかるために平成13年1月1日まで5℃で90日間保護した後、1月7日まで10℃で2日間及び15℃で4日間の中間手入れを1回施し、胚子の発育を丙Bの少し前まで進めて受精卵の冷蔵に対する耐性を高めた。中間手入れ後、5月7日まで0℃で120日間再冷蔵した。その後、出庫のため10℃で3日間維持し、15℃の中間温度で2日間維持し、25℃で11日間催青を行った。出庫から中間温度を経て第2世代の孵化までの卵の催青期間は16日間であった。

20

【0023】

参考例1の場合も、第1世代の孵化から産卵までの幼虫・蛹の期間40日間を加えて、第1世代の孵化から第2世代の孵化までの期間は730日であった。

上記プロセスにより貯蔵した後の蚕卵の孵化率は、以下の表2に示すような結果が得られた。

また、孵化した幼虫を実施例1の場合と同様に通常の方法で飼育した結果、生育や計量形質への影響は認められず、長期貯蔵による障害等は現れなかった。

【0024】

30

【実施例3】

実施例1と同様にして、第1世代の孵化から第2世代の孵化まで系統保存を行った。

平成11年7月4日に産卵した卵を採種し、産卵後から8月2日まで25℃で30日間保護し、8月3日から8月10日まで、20℃、15℃、10℃、5℃の各温度にそれぞれ2日間段階的に移して保護し、次いで8月20日まで0℃で10日間保護した後、平成12年10月3日まで-2.5℃で410日間冷蔵した。次いで、胚子の活性化を図るために平成13年1月1日まで5℃で90日間保護した後、1月7日まで10℃で2日間及び15℃で4日間の中間手入れを1回施し、胚子の発育を丙Bまで進めて受精卵の冷蔵に対する耐性を高めた。中間手入れ後、5月7日まで0℃で120日間再冷蔵した。その後、出庫のため10℃で3日間維持し、15℃の中間温度で2日間維持し、25℃で11日間催青を行った。出庫から第2世代の孵化までの卵の催青期間は16日間であった。

40

【0025】

実施例3の場合も、第1世代の孵化から産卵までの幼虫・蛹の期間40日間を加えて、第1世代の孵化から第2世代の孵化までの期間は730日であった。

上記プロセスにより貯蔵した後の蚕卵の孵化率は、以下の表2に示すような結果が得られた。

また、孵化した幼虫を実施例1の場合と同様に通常の方法で飼育した結果、生育や計量形質への影響は認められず、長期貯蔵による障害等は現れなかった。

【0026】

(表2)

50

実施例 (蚕品種)	実施例 2 (日01×日01)	参考例 1 (中137×日146)	実施例 3 (日137×支146)
孵化率	76.7%	81.5%	85.9%

【0027】

上記実施例 1 ~ 3 で行ったカイコ受精卵の保存法が、複式冷蔵法等の従来の方法と最も大きく異なるところは、産卵直後からの高温(25)保護期間を30 ~ 60日と短くし、高温保護から冷蔵に至る期間を著しく短くし(合計20日間以下)、胚子のエネルギー消費が少ないうちに冷蔵したことであり、また、貯蔵中の温度変化及び中間手入れ回数を格段に少なくしたことである。

10

【0028】

かくして、実施例 1 ~ 3 から明らかなように、中間手入れ日数、冷蔵温度、冷蔵期間、再冷蔵期間等を所定の範囲内で変動させても、産卵直後からの高温保護期間及び高温保護から冷蔵に至る期間を短くし、また、中間手入れを産卵から488日目から548日目が経過した後に施すことにより、実用的な孵化率をもって2カ年の保存期間が達成でき、系統保存上問題がないことが分かった。

また、上記実施例では、休眠打破することなく低温貯蔵し、また、低温貯蔵を0 ~ -2.5 に固定して行い、中間手入れも1回としたので、従来報告されている方法に比べて作業を著しく単純・簡易化することができた。その結果、貯蔵工程は単純化・簡易化され、作業が容易になった。

20

【0029】

【発明の効果】

本発明によれば、産卵から一定の期間経過後に中間手入れを1回だけ施すことにより、また、産卵直後からの高温保護期間を短くしかつ高温保護から冷蔵に至る期間を短くすることにより、カイコ受精卵を長期にわたって冷蔵保存することができ、ほぼ2カ年サイクルで系統保存が可能となった。そのため、現在我が国が保有するカイコの遺伝資源及び実用品種とその素材系統を維持・保存に要する労力、経費を半減できる。

【図面の簡単な説明】

30

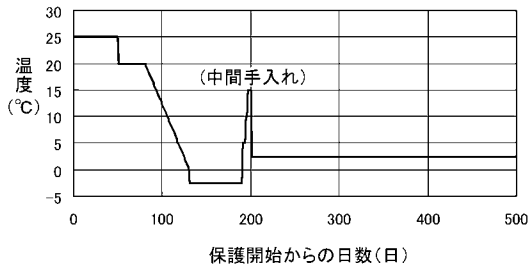
【0030】

【図1】従来の複式冷蔵法のプロセスを説明するためのグラフ。

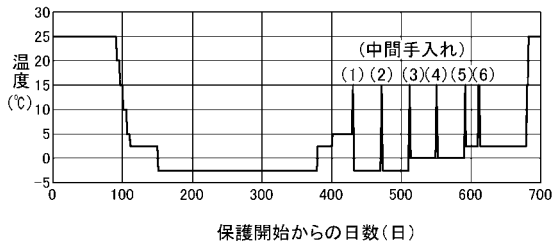
【図2】別の従来の長期冷蔵法のプロセスを説明するためのグラフ。

【図3】本発明の実施例1の保存法のプロセスを説明するためのグラフ。

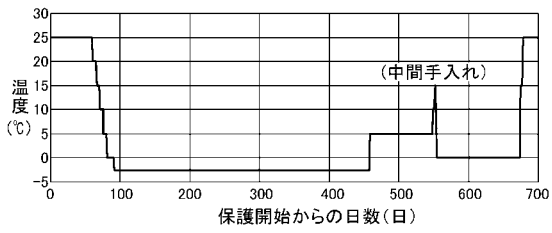
【 図 1 】



【 図 2 】



【 図 3 】



フロントページの続き

(72)発明者 山本 俊雄

長野県松本市県1 - 1 0 - 1 独立行政法人農業生物資源研究所内

審査官 水落 登希子

(56)参考文献 蚕糸研究, 1988年 9月, 第142号, p.45-51

蚕種総論, 全国蚕種協会, 1969年 5月31日, p.148, 149, 204,218

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C12N 1/00-7/08

A01K 67/033

A01K 67/04

JSTPlus(JDreamII)

JMEDPlus(JDreamII)