- teriol., 29, 595 (1935).
- (4) A. G. Neish, G. A. Ledingham : *Can. J. Research*, 27B, 694 (1949).
- (5) L. L. Kempe, H. O. Halvorson, E. L. Piret : *Ind. Eng. Chem.*, 42, 1852 (1950).
- (6) J. A. Wheat : *Can. J. Technol.*, 31, 73 (1953).
- (7) P. Hosler, M. T. Johnson : *Ind. Eng. Chem.*, 45, 871 (1953).
- (8) R. G. Dworschack, A. A. Lagoda, R. W. Jackson : *Appl. Microbiol.*, 2, 190 (1954).
- (9) G. D. Lakata : *ibid.*, 2, 2 (1954).
- (10) D. S. Callow, S. J. Pirt : *J. Gen. Microbiol.*, 14, 661 (1956).
- (11) H. A. Nelson, W. D. Maxon, T. H. Elferdink : *Ind. Eng. Chem.*, 48, 2183 (1956).
- (12) F. H. Deindoerfer, B. L. Wilker : *ibid.*, 49, 1223 (1957).
- (13) F. W. Denison Jr., I. C. Nest, M. H. Peterson, J. C. Sylvester : *ibid.*, 50, 1261 (1958).
- (14) M. T. McKee : *Appl. Microbiol.*, 3, 355 (1955).

[農化 第 35 卷, 第 5 号, p. 487~489, 1961]

家蚕体内のビタミン B₁₂ について (第 4 報)*

品種別による家蚕のビタミン B₁₂ 含量と膿病蚕におけるビタミン B₁₂ の消長

高橋 重作, 佐橋 佳一 (宇都宮大学農学部, 東京農業大学)

昭和 35 年 6 月 28 日 受理

著者は第 1~3 報^(1~3)において, 家蚕の卵から蛾に至る各変態毎にビタミン B₁₂ (以下単に B₁₂) 含量, ならびに桑葉の B₁₂ 含量を測定し, B₁₂ 皆無の桑葉を摂取するにもかかわらずかなりの B₁₂ が家蚕の生体内に存することを認めた. その増生の原因を追求すべく, 蚕体内各部の B₁₂ 分布, 消化管内における B₁₂ 生産菌の検索を行なうて, マルピーギ管に B₁₂ 濃度は高いが B₁₂ の絶対量は消化管に多いこと, 消化管内に B₁₂ 生産性放線菌が存在することなどを確かめ, 次いで ⁶⁰Co による追跡子実験を行なうて蚕体内 B₁₂ が消化管内放線菌によって生成されることを確認した. 今回はさらに家蚕の品種毎に B₁₂ 含量を測定して B₁₂ の品種間分布を明らかにしたほか, Virus 病蚕(膿病蚕)について B₁₂ 含量を測定し, 続いて Virus 病蚕の microflora の消長を検討し, B₁₂ 栄養の見地から Virus 病の病理解明に資せんとした.

実 験 の 部

1. 実験材料 試料蚕は宇都宮大学養蚕学教室の春蚕および夏蚕(昭和 34~35 年度産)をそれぞれ用いた.

2. 実験方法

i) 供試液の調製: 蚕体を適宜細断し, 更に homogenize 後, 8 倍量の蒸留水を注ぎ, pH 6.5 に調整し, 30 分間熱水抽出を行ない, 濾過後, 透明液を供試液とした.

ii) B₁₂ の定量法: Euglena⁽⁴⁾ 法による.

結 果 と 考 察

1) 品種別にみた蚕体の B₁₂ 含量 家蚕の 15 品種に対し, 昨年および本年の両年にわたり B₁₂ 含量を測定した結果は, 第 1 表のようである.

すなわち, 見掛けの B₁₂ 含量は, 15 品種について 6.7~11.9mγ%, 平均 9.6mγ% であったが, この中に B₁₂ 以外の生物効果のある耐熱, 耐アルカリ因子が 4.2~6.8mγ%, 平均 5.2mγ% 含まれていたため, B₁₂ 真値は 2.2~6.9mγ%, 平均 4.3mγ% 程度であった. 各品種間には類似の含量を示すものも存在するが, 全般的にみて, B₁₂ 含量に差異が認められた. 他面, B₁₂ 含量は化性, 眠性などとはほとんど無関係のようである. 耐熱, 耐

* Biochemical Studies on Vitamin B₁₂ in Silk-worm. Part IV. Vitamin B₁₂ Contents of Some Races of Silk-worm and its Contents of the Worms infected by Virus Disease (Polyhedral Disease)
By Jusaku TAKAHASHI (Faculty of Agriculture, Utsunomiya University, Utsunomiya, Japan ; Laboratory of Biochemistry and Nutrition ; Department of Agricultural Chemistry, Tokyo Agricultural University, Tokyo, Japan)

第1表 家蚕の品種別におけるビタミン B₁₂ 含量の分布

品 種 名	測定時 の蚕令	化性	試料 頭数	平 均 B ₁₂ 含 量 (mγ%)							平均 体重 (g)	B ₁₂ mγ/ 1000個体
				見 かけ の 値			耐アルカリ因子					
				測 定 値	平均値 (x)	測 定 値	平均値 (y)	真 値 (x-y)				
欧 No.7	4 令 5 日	1	40	9.5, 9.9	9.7	5.0, 5.4	5.2	4.5	2.25	101		
レモン (Asa)	5 令	1~2	30	8.8, 9.6	9.2	4.8, 5.2	5.0	4.2	4.55	191		
Mus No.1	5 令 4 日	1	40	7.0, 7.8	7.4	4.0, 4.4	4.2	3.2	2.16	69		
欧 No.16	熟蚕	1	40	10.4, 11.0	10.7	4.7, 5.3	5.0	5.7	4.87	278		
金 色	熟蚕	1	40	10.2, 11.3	10.8	5.7, 6.3	6.0	4.8	2.38	114		
Un	5 令 5 日	2	40	9.4, 10.2	9.8	5.1, 5.5	5.3	4.5	2.96	133		
b ₂	5 令 2 日	2	40	11.5, 12.3	11.9	4.7, 5.3	5.0	6.9	1.67	115		
日 No.112	5 令 4 日	2	40	8.2, 8.8	8.5	4.3, 4.7	4.5	4.0	2.55	102		
紹興レモン(白)	5 令 7 日	2	30	8.2, 9.4	8.8	4.8, 5.2	5.0	3.8	3.86	147		
紹興レモン(黄)	5 令 7 日	2	30	6.4, 7.0	6.7	4.2, 4.8	4.5	2.2	2.60	57		
大 造	5 令 7 日	2~多	40	11.0, 12.0	11.5	6.5, 6.9	6.7	4.8	2.14	103		
5眠蚕(白)	6 令 6 日	2	30	7.5, 8.1	7.8	4.2, 4.6	4.4	3.4	4.82	164		
支 No.16	5 令	2	40	11.0, 12.0	11.5	6.0, 6.6	6.3	5.2	2.52	131		
支 No.115	5 令 7 日	2	40	8.5, 8.9	8.7	4.5, 4.9	4.7	4.0	3.07	123		
レモン	5 令	2	40	10.2, 11.2	10.7	6.6, 7.0	6.8	3.9	3.04	119		
平 均	—	—	37.3	—	9.6	—	5.2	4.3	3.03	130

第1図 品種別における測定値の変動

見かけの値: ○(上) 耐アルカリ因子: ○(下) 真値: ▲

アルカリ因子については佐橋, 武藤, その他の研究があり, クロロフィル a, b より生じるコバルトポルフィリン誘導体としてこれを認め, B₁₂ の生合成に関係することを明らかにしている(5~10). 家蚕の場合, 上述のように, B₁₂ 含量が低い反面において, 生物効果のあるこの耐熱, 耐アルカリ因子がかなり存在することを考え合わせると, 他の高等動物に対し, ベンジミダゾール誘導体⁽¹¹⁾が生物効果

を示しているように, この耐アルカリ因子が家蚕における B₁₂ の作用機構に関し, 補足的効果をもつのではないかと考えられるが, この点については, 追って充分に検討を加えたい考えである。

2) 膿病蚕の B₁₂ 含量と消化管内 microflora の消長 膿病蚕と B₁₂ との関係の有無を追求する目的の下に膿病を発病せしめるため, 支 122×欧 7 の起蚕を飼食前に冷蔵庫に収め, 5°, 24 時間の処理⁽¹¹⁾を施し, 以後常法により飼育し, 膿病発病過程において数回に互り B₁₂ 含量を調べた。以上の結果を示すと第 2 表の如くである。

上表にみられる如く, 低温処理後の蚕児は 24 時間絶食の影響も含めて無処理の健蚕に比較して体重は軽い, 処理後 3~5 日後における B₁₂ 濃度はかえって幾分高い傾向を示したが, 8 日後すなわち重症蚕のそれは健蚕に対し約 50% の低値となった。膿病初期における B₁₂ 含量の増加の原因については今後明らかにしたい。次に重症蚕における B₁₂ 含量低下については, 消化管内の microflora の消長を予想し, 前報⁽²⁾に記載した方法によって, bacteria, fungi および Actinomycetes の検出を行なった結果は第 3 表に示すように放線菌の減少が著明に認められた。

すなわち, 膿病蚕の消化管内における fungi の数はほとんど変化がみられなかったが bacteria は幾分減少し, Actinomycetes はほとんど検出されなかった。以上の結果から, 重症の膿病蚕の B₁₂ 含量の低下の原因は病勢の亢進による食桑量の減少, 消化管内 B₁₂ 生産菌 Actinomycetes の生育環境悪化による菌数の減少などの理由により, 結局 B₁₂ 生成機能の低下をきたしたものと判断される。

第 2 表 膿病蚕*における B₁₂ の消長

実験	蚕 令	健 蚕					病 蚕					備 考
		試 料	B ₁₂ 含量 (mr%)				試 料	B ₁₂ 含量 (mr%)				
			頭数	1頭当り体重 (g)	見かけの B ₁₂	耐アルカリ因子		真 値	頭数	1頭当り体重 (g)	見かけの B ₁₂	
1	5 令 3 日	17	1.578	8.6	4.6	4.0	16	1.238	9.1	4.5	4.6	—
	5 令 5 日	11	3.100	8.4	4.4	4.0	12	2.192	9.6	4.7	4.9	—
	5 令 7 日	10	3.670	9.4	5.0	4.4	8	3.387	8.6	5.4	3.2	+
	5 令 8 日	—	—	—	—	—	14**	2.450	7.2	5.0	2.2	+
2	5 令 3 日	20	1.611	8.9	4.7	4.2	20	1.263	9.3	4.8	4.5	—
	5 令 5 日	15	3.204	8.8	4.7	4.1	15	2.242	10.0	4.7	5.3	—
	5 令 7 日	10	3.738	9.6	5.0	4.6	15	3.489	8.8	5.3	3.5	+
	5 令 4 日	10	3.820	9.2	4.7	4.5	15**	2.511	7.4	4.9	2.5	+

*: 支 No. 122 × 欧 No. 7

**: 重症蚕

第 3 表 膿病蚕の消化管内 Microflora の消長

実験	健 康 蚕				膿 病 蚕				総 括
	試料	bacteria	fungi	Actinomy-cetes	試料	bacteria	fungi	Actinomy-cetes	
5	1	冊	冊	+	6	冊	冊	—	(1) 15 種の家蚕を対象に B ₁₂ 含量を Euglena 法によって測定した結果, B ₁₂ 含量は品種間に差異が認められ, B ₁₂ 真値として 2.2~6.9 mr%, 平均 4.3mr% が測定された. 同時に耐熱, 耐アルカリ因子として 4.2~6.8mr%, 平均 5.2mr% が測定された.
	2	冊	冊	—	7	+	冊	—	
	3	冊	冊	+	8	冊	+	—	
	4	冊	冊	+	9	冊	冊	+	
	5	冊	冊	+	10	冊	冊	—	
2	1	冊	冊	+	6	冊	冊	—	
	2	冊	冊	+	7	冊	冊	—	
	3	冊	冊	+	8	冊	冊	—	
	4	冊	冊	+	9	冊	冊	—	
	5	冊	冊	+	10	冊	冊	—	

註 冊: 多数検出, 冊: 相当数検出, 冊: 少数検出, +: 検出された, -: 陰性.

(2) 膿病蚕の B₁₂ 含量は多角体の形成後顕著に低下する. また, 重症蚕の消化管から *Actinomyces* はほとんど検出されなかった.

本研究に当り, 試料を割愛された宇都宮大学, 岩下講師に感謝いたします.

- (1) 高橋重作: 本誌, 27, 6, 356 (1953).
- (2) " : 本誌, 29, 9, 711 (1955).
- (3) " : 本誌, 30, 9, 563 (1956).
- (4) 上田喜一, 横 文郎, 佐藤 裕: ビタミン, 4, 191 (1951).
- (5) 佐橋佳一: 本誌, 30, A6 (1956).
- (6) T. Muto, Y. Sahashi: *Bull. Agri. Chem. Soc. Japan*, 19, 129 (1955).
- (7) Y. Sahashi, T. Muto, S. Asai: *ibid.*, 19 (1955).
- (8) J. Ford, E. S. Holdsworth: *Biochem. J.*, 56, XXXV (1954).
- (9) 佐橋佳一, 武藤聰雄, 妹尾信雄: 日農化会関東例会 (1955 年 11 月).
- (10) T. Muto, Y. Sahashi: ビタミン, 15, 138 (1958).
- (11) 石森直人: 日蚕雑, 20, 1, 51 (1951).
- (12) G. M. Briggs, M. R. Spivey, Fox: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 89, 318 (1955).