

家蚕及び数種絹糸虫雌蛾の誘引物質に関する研究(1)

ペーパークロマトグラフィによる分離について*

竹 田 寛**

(信州大学繊維学部養蚕学蚕体解剖生理学研究室)

緒 言

家蚕及び数種絹糸虫の雌蛾誘引腺の分泌物は、雄蛾を強く誘引する。

家蚕誘引腺の研究は、宮原(1901)、箭内(1901)、Freiling(1909)、Deegener(1912)、池田(1913)、伊藤(1914~1915)、等の研究があり、これらの結果によると、家蚕の誘引腺の分泌活動は、普通産卵後、約30分で認められ、数時間で最大となり、その後、時間の経過と共に漸減し、産卵後に於ては最早その作用を認めないものが多くなる。また、誘引の本源である発香物質は、雌蛾誘引腺の膨大に伴つて連続的に揮発される油質であると報告されている。

その後、林、伊藤(1933)は家蚕誘引腺の組織学的観察結果から誘引腺から発散される誘引物質は脂肪性の物質であろうと報告している。また、Butenandt(1941)は家蚕雌蛾の誘引物質は恐らく $C_{16}H_{30}O_2$ の組成を有するものであろうと報告している。

また、最近、牧野(1954)が家蚕雌蛾から誘引物質を分離したと云われている。

著者は1946年以降、家蚕 *Bombyx mori* LINNAEUS、桑蚕 *Bombyx mandarina* MOORE、天蚕 *Antheraea yamai* GUÉRIN、柞蚕 *Antheraea pernyi* GUER.-MEN. 樟蚕 *Dictyoploca japonica* BUTLER、薄手火 *Rhodinia fugax* BUTLER、樗蚕 *Samia cynthia pryeri* BUTLER、ヒマ蚕 *Philosamia cynthia-ricini* BUTLER、大水青 *Actias artemis* BREMER 等の雌蛾について誘引腺の機能、誘引物質の生成機構、誘引物質の共通性と類縁関係、誘引物質の分光化学的研究並びにヒマ蚕雌蛾の誘引物質分泌の週期性等に関する研究を行つて来た。

家蚕雌蛾に於て交尾、産卵しても誘引物質は誘引腺の中から急に消失するものではなく、雌蛾が斃死しても尚、誘引腺中に誘引物質は存在している(竹田1952)。

また、従来は家蚕の誘引腺は黄色を呈し、交尾産卵すると誘引腺は白色を呈する。これは誘引腺中に誘引する物質がなくなつた為であると報告されていた。著者の実験によると家蚕誘引腺の色は黄色のものが多いが白色のものもあり、また、黄色から白色、白色から黄色と変るものもある。而して、誘引腺の色と誘引物質の存否とは関係がないこ

* 本文の大意は、第23回及び第24回日本蚕糸学会に於て発表(1953, 1954)

** 信州大学助教授

とを認めた(竹田, 田中1952)。

次に, 家蚕及びヒマ蚕蛾について誘引物質の生成時期について実験した結果は, 誘引物質は蛹の末期に於て蛹体内で蛾体が形成されるようになって誘引腺が形成された時に, 誘引腺を抽出すると, その抽出物は強くないが雄蛾を誘引する(竹田未発表)。

ヒマ蚕雌蛾は誘引物質の分泌に当り週期性を示す。即ち, 自然状態に於ては, 夜間に於て雄蛾を誘引し昼間には雄蛾を誘引しない。

また, 昼夜の如何に拘らず, 暗状態に於ける誘引腺中の抽出物質は雄蛾を誘引するが, 明状態に於けるそれは雄蛾を誘引しない。この誘引腺中の誘引物質が雄蛾を誘引したり, 誘引しなくなつたりすることは光(明及び暗)の刺戟によつて変化すること等(竹田1950~1953)について明らかにした。尙, この場合雄蛾は誘引物質を誘引する状態なら明でも暗でも反応に差は認められなかつた。

更に, 誘引物質の共通性と前にあげた家蚕及び数種絹糸虫の類縁関係に関する研究の一部についても既に発表した(竹田1950~1954)。

次に, 誘引物質中には特有なる螢光物質(Allurinochromeと名づけておいた)と黄色の色素の存在すること並びに誘引物質が雄蛾を誘引する場合に於ては波長440m μ を中心として明らかな吸収極大を示すが, 誘引物質が雄蛾を誘引しない場合に於ては, 波長440m μ に吸収極大が認められないこと及び誘引物質は有機溶媒(Ether, Petroleum ether, Etanol, Butanol, Xylol, Chloroform, Benzen, Aceton等)に, よく溶解すること等に関して簡単に報告しておいた(竹田1953)。

今回は, 1952年に揮発性物質である誘引物質を誘引腺中より抽出して Paper chromatographyによつて分離する研究を行いその分離に成功した。これ等の結果だけに就いて報告し, その他に関しては引き続き発表する予定である。

本研究を行うに当り御懇篤なる御指導を賜つた東京大学教授有賀久雄博士並びに本学教授蒲生俊興博士に対し, また有益なる助言を賜つた本学教授八木誠政博士並びに伊藤武男博士, 及び農林省蚕糸試験場梅谷与七郎博士に対して衷心より感謝の意を表する。尙, 本研究は東京大学農学部養蚕学教室に留学中に行つた研究の一部であり, 実験に当り多大なる助力を賜つた同教室吉武成美教官並びに本学副手田中一行氏に対して併せて御礼申上げる。

材 料 と 方 法

1) 家蚕, 樗蚕, ヒマ蚕は1951~1952年, 春蚕期及び夏秋蚕期に当研究室で飼育したものを使用し, 天蚕及び柞蚕は長野県蚕業試験場松本支場長山崎寿氏より譲受けたものを用いた。

また, 樗蚕, 桑蚕, 大水青等は1952年, 夏期に自然に於て発育したものを採集して供試し, 薄手火は1952年, 梅谷与七郎博士のもとで飼育されて羽化した蛾を譲受けて使用した。

2) 誘引物質は, 前記の有機溶媒によく溶解されることを明らかにしておいた(竹田1949~1951)ので, 誘引腺を切断して, それをソックスレーでエーテル抽出して得た誘引物

質と単にエーテルで抽出して得た誘引物質とを使用して Paper chromatograph 法によつて分離する実験を行つた。

3) 展開剤としては、Butanol acetic (4:1:1), Phenol (Phenol 85:0.1% ammonia15), Lutidine, 80% acetone, 及び無機溶媒 (4% $C_3H_4(OH)(COONa)_3$, 5% NH_4Cl , 5% Na_2HPO_4 , 5% $CH_3-COONa$, 5% $NaCl$, 10% CH_3COOH , 2% C_6H_5COONa) 等を使用して一次元法によつて展開したが、誘引物質は分離しなかつた。

従つて、Butanol に Ammonia を加えてアンモニア、アルカリ性とした Butanol ammonia (3:1) を考へて展開剤として使用し好結果を得た。

4) 誘引物質は Paper chromatograph に於ける Paper 上で殆んど無色であるために、その分離部の決定法としては、誘引物質中に特有な螢光物質が存在することを発見したので、紫外線の下で螢光を見ること並びに誘引物質抽出液に塩基性色素を加へて展開し、色素の分離部によつて決定する方法及び雄蛾が反応して誘引される位置等によつて決定する方法によつた。

5) 誘引物質の分離部及びその分離部を Etanol, Acetone, Ether 等で再抽出した抽出液に対する雄蛾の反応を調べ、全く反応しない場合には一、反応して誘引される場合を十、とし、反応が強い場合には卅を用いて、雄蛾の反応の程度を表わした。

6) 誘引物質は、直射日光照射、温度処理、光分解、酸化等によつて雄蛾を誘引する機能を消失することを発見したので、誘引力を消失せしめた誘引物質について Paper chromatograph を行つて分離の有無と雄蛾の反応を調べた。

7) ヒマ蚕雌蛾を明及び暗状態に、それぞれ4時間おいた後に、誘引腺から誘引物質を抽出して、Paper chromatograph を行い、その分離と雄蛾の反応とを調べた。

8) 誘引物質の吸収曲線は Beckman の Spectro-photometer によつて測定した。

結 果 と 考 察

家蚕と8種類の絹糸虫について雌蛾の誘引物質を Paper chromatograph 法によつて分離する研究を行い、その分離に成功した。その結果は次の如くであつた。

1) 展開剤と誘引物質の分離

一般に知られている有機及び無機の展開剤を用いて、誘引物質を分離する実験を行つたが、何れも分離しなかつた。

誘引物質の Ether 抽出液は酸性を呈する(竹田未発表)ことを知つたので塩類のような形で分離出来ないかと考へて、Butanol に Ammonia を加へて Ammonia アルカリ性とした Butanol Ammonia (3:1) を作つて展開したら、誘引物質は極めて良く分離し、その分離部に雄蛾は強く誘引された。また、分離部を Acetone, Etanol, 等で再抽出した抽出液に対しても雄蛾は強く誘引された。その結果は Table 1 に示したとおりであつた。

Table 1. Solvents and the Rf value of alluring substance

alluring substance	solvents											
	butanol ammonia	butanol acetic	phenol	lutidine	80% acetone	4% sodium citrate	5% ammonium chloride	5% sodium phosphate	5% sodium acetate	5% sodium chloride	10% acetic acid	2% sodium benzoate
<i>Bombyx mori</i>	0.84	—	—	—	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Bombyx mandarina</i>	0.84	—	—	—	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Antheraea yamamai</i>	0.93	—	—	—	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Antheraea pernyi</i>	0.93	—	—	—	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Dictyoploca japonica</i>	0.93	—	—	—	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Rhodinia fugax</i>	0.93	—	—	—	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Samia cynthia pryeri</i>	0.88	—	—	—	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Philosamia cynthia ricini</i>	0.88	—	—	—	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Actias artemis</i>	0.90	—	—	—	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

備考 一は上昇し切つて分離部の認められないもの

0.0は原点で上昇しなかつたことを示した。以下各表とも同様である。

Table 1. によれば、わかるとおりで何れの誘引物質も Butanol acetic, Phenol, Lutidine 等では分離せず上昇し切り, 80% Acetone, 無機溶媒では原点に止つて上昇しなかつた。誘引物質が原点に止つている場合に於ては、その原点に対して雄蛾は強く誘引された。

Butanol ammonia は極めて良く誘引物質を分離し、その分離部は雄蛾を強く誘引した。Butanol ammonia によつて分離した Rf 値と誘引物質の共通性とは良く一致することがわかつた。

次に Butanol ammonia の展開剤で Butanol に対する Ammonia の割合と誘引物質の Rf 値との関係について、家蚕誘引物質で実験した結果は Table 2. に示した如くであつた。

Table 2. The proportion of butanol to ammonia, and the Rf value of the domestic silkworm

butanol : ammonia	Rf value	male moth's reaction
3 : 1	0.84	卅
3 : 2	0.65	卅
1 : 3	0.55	卅

Table 2. によれば明らかな如く Butanol に対する Ammonia の割合が多くなる程、即ち、Butanol の塩基度が強くなる程、その Rf 値は低くなることがわかつた。このことは誘引物質の Rf 値は Butanol

ammonia の塩基度によつて左右されることを示すものである。

また、家蚕誘引物質をアルミナを用いて chromatograph を行つた。この場合、吸着柱(管径0.75cm, 管長17cm)の上部から 1.7~2.2cm の処に吸着された。而して、こ

の部分 Aceton で再抽出して paper chromatograph によつて分離した。

そのRf値は0.84で、この部分は強く雄蛾を誘引した。

2) 誘引物質に色素を加えた場合の Rf 値と分離部に対する雄蛾の反応

紫外線の下で蛍光を見ることによつて誘引物質の分離部を決定する方法によらず、その分離部を paper 上に於て直接に識別する方法として、誘引物質抽出液に塩基性及び酸性の色素を微量加えて、paper chromatograph を行つた場合に色素の分離部と誘引物質の分離部と一致するか或は、色素と誘引物質とが別々に分離するか等に関する実験を行つた。その結果は Table 3. に示したとおりであつた。

Table 3. The Rf value and the male moth's reaction in case colours are added to alluring substance

alluring substance	colours in case basic colours are added to		colours in case acid colours are added to		colours in case neutral colours are added to			
	bismark brown		gentian violet		anilin red		neutral red	
	Rf value	male moth's reaction	Rf value	male moth's reaction	Rf value	male moth's reaction	Rf value	male moth's reaction
<i>Bombyx mori</i>	0.74	卐	0.65	卐	{ 0.18 0.29 0.90	{ — — —	0.30	+
<i>Bombyx mandarina</i>	0.74	卐	0.66	卐	{ 0.20 0.29 0.90	{ — — —	0.29	+
<i>Antheraea yamamai</i>	0.90	卐	0.86	卐	{ 0.35 0.85	{ — —	0.68	+
<i>Antheraea pernyi</i>	0.90	卐	0.86	卐	{ 0.32 0.84	{ — —	0.68	+
<i>Dictyoploca japonica</i>	0.89	卐	0.87	卐	—	—	—	—
<i>Rhodinia fugax</i>	0.90	卐	—	—	—	—	—	—
<i>Samia cynthia pryeri</i>	0.84	卐	0.70	卐	{ 0.10 0.28 0.52 0.70	{ — — — —	0.72	+
<i>Philosamia cyathia ricini</i>	0.84	卐	0.71	卐	—	—	0.72	+
<i>Actias artemis</i>	0.87	卐	—	—	—	—	—	—

備考 bismark brown, gentian violet の Rf 値は 0.95, neutral red の Rf 値は 0.78, anilin red の Rf 値は 0.30 及び 0.94 であつた。

Table 3. によれば誘引物質に bismark brown, gentian violet, methyl violet 等の塩基性色素を加えた場合に於ては、色素の分離部と誘引物質の分離部とが完全に一致し、その分離部は強く雄蛾を誘引した。

然し、誘引物質に酸性色素 (anilin red, congo red, fuchsins S) を加えた場合に於ては、色素の分離部は雄蛾を誘引しないし、また、paper 上の何れの部分にも雄蛾を誘引する分離部は認められなかつた。尙、誘引物質に酸性色素を加えた場合に於ては、色

素が2—3の分離部に分かれる傾向が認められた。

誘引物質に色素を加えた場合のRf値は、誘引物質に色素を加えない場合よりも一般に低くなること及び誘引物質に加える色素の種類によつて、そのRf値は異なるものであることがわかる。誘引物質に塩基性色素を加えた場合に色素の分離部と誘引物質の分離部とが一致して雄蛾を誘引するのは、誘引物質エーテル抽出液が酸性を呈することと関係があると考えられる。

次に、誘引物質に塩基性色素を加えた場合に於ては、誘引物質中の蛍光物質は色素の分離部に存在するが、酸性色素を加えた場合に於ては、一般に誘引物質中の蛍光が色素の分離部と一致しない。而して、この場合に、色素の分離部も蛍光を示す部分も共に雄蛾を誘引しない。これらのことと他の研究結果(竹田未発表)とを併せ考えると誘引物質中の蛍光物質は、その誘引力の発現と密接な関係があると云えるようである。

次に家蚕雌蛾の誘引物質に塩基性及び酸性色素を加えた場合のRf値と雄蛾の反応について実験した結果はTable 4.の如くであつた。

Table 4. The Rf value and the male moth's reaction to the spot in case basic and acid colours are added to the alluring substance of the domestic silkworm moth

Rf value and male moth's reaction		colours		alluring substance plus colours	
		Rf value	male moth's reaction	Rf value	male moth's reaction
basic	bismark brown	0.95	—	0.74	卅
	nilblue	0.88	—	0.80	卅
	gentian violet	0.95	—	0.65	卅
	methyl violet	0.98	—	0.90	卅
	fucksin	0.80	—	0.40	卅
	sudan III	0.98	—	0.62	卅
acid	anilin red	0.95	—	0.18	—
		0.30	—	0.29	—
	eosin	0.28	—	0.90	—
				0.37	—
				0.42	—
congo red	0.02	—	0.04	—	
fucksin S	0.98	—	0.80	—	
			0.06	—	
				0.75	—
neutral	neutral red	0.78	—	0.68	+

Table 4.によれば明らか
な如く、家蚕誘引物質に塩基
性色素を加えた場合に於ては
色素の分離部が誘引物質の分
離部と良く一致し、この部分
は雄蛾を強く誘引する。

然し、誘引物質に酸性色素
を加えた場合に於ては、色素
が2—3の分離部に分れ、何
れかの分離部も雄蛾を誘引し
ない。

また、誘引物質に塩基性色
素を加えた場合に於ては、誘
引物質中の蛍光物質は色素の
分離部と一致しているが、酸
性色素の場合に於ては、色素
の分離部から誘引物質中の螢
光物質は分離する。而して、
この分離した螢光色を呈する

部分も雄蛾を誘引しなかつた。誘引物質に neutral red を加えた場合に於ては、neutral redが微アルカリ性を呈する為、その分離部が強くはないが雄蛾を誘引するのであると考えられる。

3) 誘引物質の誘引力を消失せしめた場合のRf値

誘引物質の誘引力を消失せしめる方法の一部に関しては報告しておいた(竹田1953)一定量の誘引物質に対して、温度処理(70°Cで120分, 80°Cで90分, 90°Cで60分, 100°C

Cで30分), 直射日光を照射(2~3時間); 光分解(3~4時間); 酸素による酸化(5時間), 加水分解等を行うことによつて, 誘引物質は雌蛾を誘引しなくなる。

これ等の処理を行つた誘引物質を paper chromatograph 法で, その分離を実験した。その結果は Table 5. に示したとおりで, 誘引物質が誘引力を消失した場合に於ては, 誘引物質の分離は認められなかつた。従つて, paper 上の何れの部分も雌蛾を誘引しなかつた。

Table 5. The Rf value in case the alluring substance has lost its allurement

treatment Rf value and male moth's reaction	direct exposure of sunshine (3 hours)		decomposition by light (3 to 4 hours)		temperature tre- atment (90 minutes at 80°C)		oxidization by oxygen (5 hours)	
	Rf value	male moth's reaction	Rf value	male moth's reaction	Rf value	male moth's reaction	Rf value	male moth's reaction
alluring substance								
<i>Bombyx mori</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Bombyx mandarina</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Antheraea yamamai</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Antheraea pernyi</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Dietyoplosa japonica</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Rhodinia fugax</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Samia cynthia pryeri</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Philosamia cynthia ricini</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Actias artemis</i>	—	—	—	—	—	—	—	—

4) ヒマ蚕蛾の明及び暗状態の誘引物質の分離

ヒマ蚕雌蛾の誘引物質は, 雌蛾を暗状態に3時間以上おいた場合に雌蛾を誘引し, 雌蛾を明状態(200Lux)に3時間以上おいた場合には雌蛾を誘引しないことに関しては既に報告した(竹田1950~1953)。

ヒマ蚕雌蛾を明状態(200Lux)及び暗状態に4時間おいた後に, それぞれの誘引腺から誘引物質を抽出して paper chromatograph を行い, その分離と雌蛾の反応を調べた結果は Table 6. の如くであつた。

Table 6. The Rf value and male moth's reaction of alluring substance in light and dark state of the Eri-silkworm female moth

alluring substance	Rf value	male moth's reaction
light state	—	—
dark state	0.88	卅

Table 6. によればわかるとおりで, 雌蛾を暗状態においた後の誘引物質は明らかな分離を示し, その分離部は強く雌蛾を誘引した。

然し, 雌蛾を明状態においた場合の誘引腺の抽出物には, 分離部が認められず, paper 上に雌蛾を誘引する部分は認められなかつた。

このことは, 前に報告(竹田1953)した, 暗状態に4時間おいた雌蛾から抽出して得た抽出物質は波長440m μ を中心として明らかな吸収極大が認められるのに対して, 明状態(200Lux)に4時間おいた雌蛾から抽出した, それには, 波長440m μ に吸収極大が認められず雌蛾も誘引しなかつたこと等と併せ考えると少くとも, 雌蛾を明状態においた場合の誘引物質

は雄蛾を誘引しない状態にあり、暗状態の場合に於てはそれが雄蛾を誘引する状態にあるものと考えられる。

5) paper chromatograph 法により分離した誘引物質の吸収曲線

paper chromatograph 法によつて分離した誘引物質を再抽出して、その吸収曲線を測定した結果と誘引物質の誘引力を消失した場合の吸収曲線とを家蚕の場合だけについて示すと Fig 1. 及び Fig 2. の如くである。家蚕以外の絹糸虫誘引物質の吸収曲線に関する研究結果は別に報告する予定である。

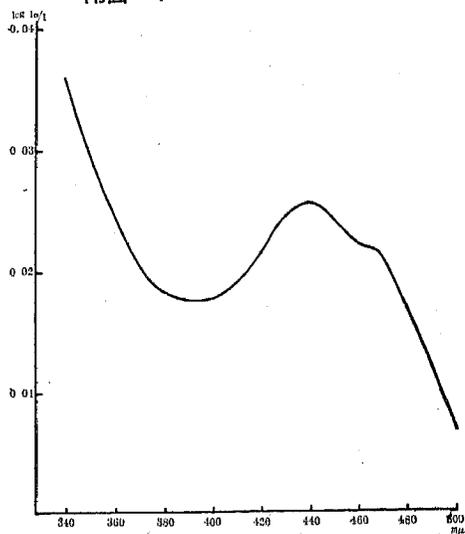
Fig 1. によれば明らかな如く、波長440m μ を中心として明らかな吸収極大が認められた。

而して、誘引物質が誘引力を消失した場合は Fig 2. の如く波長440m μ の吸収極大は認められなかつた。

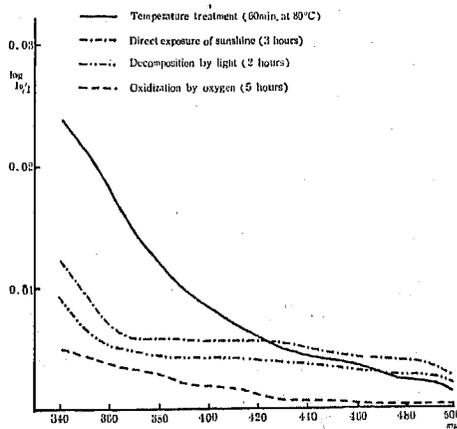
Fig 1. The absorption spectra of the alluring substance of the domestic silkworm.

Fig 2. The absorption spectra in case the alluring substance has lost its allurement of the domestic silkworm.

附図 1



附図 2



摘 要

1) 家蚕、桑蚕、天蚕、柞蚕、樟蚕、薄手火、柶蚕、ヒマ蚕、大水青等の雌蛾誘引腺をエーテル抽出して得た誘引物質を paper chromatograph 法によつて分離する研究を行い、次の結果を得た。

2) 誘引物質は、Butanol acetic (4 : 1 : 1), phenol (phenol 85 : 0.1% ammonia 15), Lutidine等の展開剤では、上昇し切つて分離せず、80% acetone, 4% C₆H₄(OH)(COONa)₃, 5% NH₄Cl, 5% Na₂HPO₄, 5% CH₃-COONa, 5% NaCl, 10% CH₃COOH, 2% C₆H₅COONa等の展開剤では原点に止つて上昇しなかつた。

然し、アンモニア、アルカリ性とした Butanol ammonia (3 : 1) を展開剤として考え、これを用うることによつて、誘引物質は極めて良く分離することを発見した。

3) 誘引物質の分離部を決定する方法としては、誘引物質中に特有なる螢光物質 (allurinochromeと名づけておいた) の存在することを発見したので、紫外線の下で螢光を見ることによつて決定した。その結果、紫外線の下で螢光を呈する部分が、誘引物質の分離部であり、この部分だけが強く雄蛾を誘引した。

4) 螢光を見ないで、誘引物質の分離部を決定する方法として、誘引物質に塩基性または酸性の色素を加えて、色素の分離部によつて誘引物質の分離部を決定する研究を行った。その結果、誘引物質に酸性色素 (anilin red, eosin, congo red, fuchsins S等) を加えた場合に於ては、色素の分離部は雄蛾を誘引しないし、色素が2~3のSpotに分離する傾向が認められた。また、誘引物質中の螢光物質 (allurinochrome) も、色素の分離部と分離して一致しない。而して、この螢光を呈する部分も雄蛾を誘引しない。要するに、誘引物質に酸性色素を加えた場合に於ては、paper上の何処にも雄蛾を誘引する分離部は認められなかつた。

次に、誘引物質に塩基性色素 (bismark brown, nilblue, gentian violet, methyl violet, fuchsins, sudan III 等) を加えた場合に於ては、色素の分離部と誘引物質の分離部とが一致し、色素の分離部が強く雄蛾を誘引する。この場合に於ては、誘引物質中の螢光物質 (allurinochrome) は色素の分離部と一致している。

5) Butanol ammonia の展開剤で、Butanol に加える ammonia の割合が多くなる程、即ち、Butanol の塩基度が強くなる程、誘引物質のRf値は低くなる。家蚕に於て、そのRf値は、Butanolとammoniaの割合が3:1の場合には、0.84、3:2の場合には0.65、1:3の場合には0.55であつた。

6) 誘引物質のRf値は、家蚕、桑蚕では0.84、天蚕、柞蚕、樟蚕、薄手火では0.93、楊蚕、ヒマ蚕では0.88、大水青では0.90であつた。また、誘引物質に塩基性色素を加えた場合のRf値は、誘引物質に色素を加えない場合及び、色素だけのRf値より、何れも低くなる。誘引物質のRf値は、誘引物質中のallurinochromeの色と共に、誘引物質の共通性から見た類縁関係と密接な関係があると考えられる。

7) 誘引物質を温度処理 (80°Cで90分、90°Cで60分等)、光分解 (3~4時間)、直射日光を照射 (2~3時間)、酸素による酸化 (5時間) 等を行うと、誘引物質は雄蛾を誘引しなくなる。

誘引物質が雄蛾を誘引しなくなつた場合に於ては paper上の何れの部分にも、その分離部は認められない。従つて、雄蛾を誘引する部分は存在しない。

8) ヒマ蚕蛾に於て、雌蛾を明状態 (200Lux) に3時間以上おいて抽出した誘引物質は、雄蛾を誘引しない。然し、雌蛾を暗状態に3時間以上おいて抽出した誘引物質は、強く雄蛾を誘引する。

雌蛾を明及び暗に4時間おいて抽出した誘引物質を、展開した場合に、暗状態の誘引物質は明らかな分離を示し、その分離部が強く雄蛾を誘引する。然し、明状態の誘引物質の場合には、その分離部が認められず、雄蛾も誘引しない。

9) 誘引物質の分離部を再抽出して Beckman の Spectrophotometerによつて、その吸収曲線を測定した。その結果、誘引物質は、波長440m μ を中心として明らかな吸収極

大が認められた。然し、誘引物質が雌蛾を誘引しなくなつた場合の、それには、波長440 m μ の吸収極大は認められなかつた。

10) 誘引物質が Butanol ammonia で良く分離すること並びに誘引物質に塩基性色素を加えた場合に、色素の分離と誘引物質の分離部とが良く一致して、強い誘引力を示すことは、誘引物質抽出液が酸性を呈すること(竹田未発表)と密接な関係があるものと考えられる。

文 献

- 1) 宮原忠正 : 養業新報100 (1901)
- 2) 箭内武貞 : 福島蚕業学校特別報告 (1901)
- 3) Freiling, H.H. : Zeitschr. f. Wiss. Zool. Bd.92(1909)
- 4) Deegener, P. : Handb. der. Ento. (1912)
- 5) 池田栄太郎 : 蚕体解剖生理論 (1913)
- 6) 伊藤広雄 : 養業新報259 (1914) (1954)
- 7) Ito, H. : Bull. Imp. Tokyo Seri. Coll. 1 (1915)
- 8) 林禎二郎, 伊藤梅松 : 日本蚕糸学雑誌(4) 4 (1933)
- 9) Butenandt. A. : Angew. Chem. (54) 89 (1941)
- 10) 竹田 寛 : 昆虫 (18) 6 (1951)
- 11) — : 講演要旨 日本蚕糸学雑誌 (20) 1 (1950)
- 12) — : 信州大学繊維学部研究報告 1 (1951)
- 13) — : 同 上 2 (1952)
- 14) — : 応用動物学雑誌 (18) 3 (1953)
- 15) — : 信州大学繊維学部研究報告 3 (1953)
- 16) — : 講演要旨 日本蚕糸学雑誌 (21) 2・3 (1952)
- 17) 竹田寛, 田中一行 : 日本蚕糸学会中部支部講演集 (4) (1952)
- 18) —, — : 講演要旨, 日本蚕糸学雑誌 (21) 2. 3 (1952)
- 19) 竹田 寛 : 同 上, 同 上 (22) 3 (1953)
- 20) — : 新昆虫 (7) 1 (1954)
- 21) — : 日本蚕糸学会中部支部講演集 7 (1954)
- 22) — : 応用動物学会, 日本応用昆虫学会合同大会講演要旨 (1954)
- 23) — : 講演要旨 日本蚕糸学雑誌 (23) 3 (1954)
- 24) — : 昆虫学会で発表 (盛岡市, 岩手大学農学部) (1952)
- 25) — : 日本蚕糸学会中部支部第2回研究発表会で発表 講演要旨 農林省蚕糸局技術資料 29 (1952)

Summary

STUDIES ON THE ALLURING SUBSTANCE OF THE
FEMALE MOTHS OF THE DOMESTIC SILKWORM AND
SEVERAL OTHER KINDS OF SILKWORM (I)
SEPARATION BY MEANS OF THE PAPER CHROMATOGRAPHY

Hiroshi TAKEDA*

(Laboratory of Silkworm Anatomy and Physiology, Faculty of Textile and Sericulture)

1) A study was made of separating by the paper chromatography the alluring substance obtained by ether extraction from the alluring glands of the female moths of *Bombyx mori* LINNAEUS, *Bombyx mandarina* MOORE, *Antheraea yamamai* GUÉRIN, *Antheraea pernyi* GUER.-MEN., *Dictyoploca raponica* BUTLER, *Rhodinia fugax* BUTLER, *Samia cynthia pryeri* BUTLER, *Philosamia cynthia ricini* BUTLER and *Actias artemis* BREMER.

The following are the results :

2) Such solvents as Butanol acetic (4 : 1 : 1), Phenol (Phenol 85 : 0.1% Ammonia 15), Lutidin etc. did not separate alluring substance, and such solvents as 80% Aceton, 4% Sodium citrate, 5% Ammonium chloride, 5% Sodium phosphate, 5% Sodium acetate, 5% Sodium chloride, 10% Acetic acid, 2% Sodium benzoate etc. retained alluring substance at the original spots of the paper.

Alkalified Butanol ammonia (3 : 1) used as a solvent, however, was found to separate alluring substance very easily.

3) As it was found out that some peculiar fluorescent matter which the author named "Allurinochrome" was present in the alluring substance, the spots of the alluring substance was identified by examining its fluorescence under ultra-violet rays.

Consequently the fluorescing part proved to be the spot of alluring substance, which only allures the male moth.

4) In order to identify the spot instead of examining its fluorescence, acid or basic colours were added to the alluring substance.

And the spot of the colours was taken as the spot of the alluring substance.

In case acid colours such as Anilin red, Eosin, Congo red, Fucksin S etc. were added to the alluring substance, the spot of the colours did not allure the male

* Assistant Professor of Shinshu University.

moth and the colours tended to separate at two or three spots.

Fluorescent matter in the alluring substance was separated from the spot of colours, and this part of fluorescent colour did not allure the male moth as well.

In short, any spot alluring the male moth was not perceived anywhere on the paper, in case acid colours were added to the alluring substance.

In case basic colours such as Bismark brown, Nilblue, Gentian violet, Methyl violet, Fucksin, Sudan III, etc. were added to the alluring substance, the spot of the colours coincided with the spot of the alluring substance, and the spot of the colours allured the male moth strongly.

In this case, fluorescent matter in the alluring substance coincided with the spot of the colours.

5) Regarding the solvent of Butanol ammonia, the more ammonia was added to Butanol, that is to say, the higher the basicity of Butanol, the lower the Rf value was.

The Rf value in the alluring substance of the domestic silkworm was as follows :

Butanol to ammonia	Rf value
3 : 1	0.84
3 : 2	0.65
1 : 3	0.55

6) The Rf values of the alluring substance were 0.84 for *Bombyx mori* LINNAEUS, *Bombyx mandarina* MOORE and 0.93 *Antheraea yamamai* GUERIN, *Antheraea pernyi* GUER.-MEN., *Dictyoploca japonica* BUTLER, *Rhodinia fugax* BUTLER, and 0.88 for *Samia cynthia pryeri* BUTLER, *Philosamia cynthia ricini* BUTLER and 0.90 for *Actias artemis* BREMER.

The Rf value in case basic colours were added to the alluring substance was lower than that in case colours were not added to the alluring substance and also that of colours only.

It was thought that both the Rf value of the alluring substance and the colour of fluorescent matter in the alluring substance have close relation with mutual allurement among the same species and its near kin.

7) If the alluring substance is subjected to Temperature treatment (90 minutes at 80° C. or 60minutes at 90°C) or to decomposition by light (3 to 4 hours) or to direct exposure of sunshine (2 to 3 hours) or to oxidization by oxygen(5 hours), the alluring substance does not allure the male moth any longer. If the alluring substance does not allure the male moth, there is no spot perceived on any part of the paper.

Therefore there is no part that allures the male moth.

8) Concerning the Eri-silkworm moth, the alluring substance extracted from the female moths that has been kept in the light state of 200 Lux for more than 3 hours does not allure the male moth. However, the alluring substance extracted from the female moth that has been kept in the dark state for more than 3 hours allures the male moth strongly.

Paper chromatography was done about the alluring substance extracted from the female moths that have been kept in the light state and also in the dark state for 4 hours respectively.

The result was that the alluring substance in the dark state allures the male moth strongly showing plain separation, while that in the light state does not allure the male moth, its spot not being perceived.

9) The spot of the alluring substance was re-extracted and its absorption spectra were measured by means of the Beckman spectrophotometer.

In consequence, the alluring substance gave absorption maximum at a wave length of $440\text{m}\mu$, but the alluring substance that did not allure the male moth did not give absorption maximum at a wave length of $440\text{m}\mu$.

10) That the alluring substance is well separated by Butanol ammonia and that, in case basic colours are added to the alluring substance, the spot of colours coincides well with the spot of the alluring substance and has strong allurement, is connected closely with acidity of the alluring substance (not yet published).