

長期冷藏保存流程對二化性家蠶蠶卵孵化及生育之影響

廖久薰 *、張雅昀、吳姿嫻

農業部苗栗區農業改良場

摘要

本研究改良家蠶 (*Bombyx mori* L.) 人工越夏與低溫保護流程，探討對 14 個二化性家蠶之蠶卵孵化及生育的影響。蠶卵產出後在 25°C 人工越夏 5 個月較 4 個月顯著提高蠶卵孵化率，對蠶業生產有助益。人工越夏 5 個月後移至 5°C 保護 1 個月，0°C 延長蠶卵冷藏時間，再漸進式移至 5°C 等待出庫孵化，經 5 年飼育及評估，蠶卵催青 11 日即可正常孵化，平均孵化率達 91.3%，優於慣行 1 年 2 育的對照品系。健蛹率表現除 YC14 品系 77.3% 表現較差，其餘 13 個品系皆高 85%，LL03、LL04 及 VC02 高於 95%。LL03 品系在幼蟲重量及營繭率表現略遜於對照組。成蟲繁殖力等同或優於對照組，對蠶種保存有正面效果。本研究改良之人工越夏與低溫的蠶卵保護流程用於 14 個品系，可以由慣行保存 4~5 個月延長至 10 個月，未來可逐步達到蠶卵春收翌年春養、1 年繼代一次的目的，減少家蠶每年繼代保育的勞力付出，同時維持家蠶健康與產業永續。

關鍵詞：家蠶、二化性、長期冷藏保存、孵化率、生育

*通訊作者電子郵件位址：jsliaw@mdares.gov.tw

前言

家蠶 (*Bombyx mori* L.) 以卵的形式進入滯育 (diapause)，非滯育卵在 25°C 產卵後約 10-11 日即可孵化，滯育卵在產卵後 2~3 日開始進入滯育階段，須經過一

定時間的低溫刺激，胚胎才會活化解除滯育及繼續發育（余等，1990；Yamashita and Yaginuma, 2012）。根據家蠶滯育特性分為一化蠶、二化蠶及多化蠶，前兩者會產下滯育卵，後者產下的卵為非滯育卵。因此在自然情況下，一化蠶在一年當中只發生一次的生命週期；二化蠶係指一年中可以完成兩次的生命週期，多化蠶為一年當中會發生超過兩次的生命週期。滯育卵產下後，置於 25°C 越夏（oversummering）保護，漸進式移入 10~15°C 中間溫度保護後，移至 5°C 及 0°C 進行低溫保存。蠶卵低溫保存期的長短取決於家蠶品系及越夏保護時間，越夏越長，低溫保存時間亦較長（余等，1990；Singh *et al.*, 2015）。Singh *et al.* (2015) 蠶卵越夏保護 10 日，低溫保護時間為 110 ~ 220 日；當越夏保護 80 日，蠶卵在低溫保存的時間可長達 220 ~ 325 日。余等 (1990) 越夏 5 日的蠶卵在 5°C 低溫冷藏 50 日後陸續活化，若在 25°C 保護 30 及 60 日的蠶卵，則要延後至少 25 日的低溫冷藏流程，蠶卵方可孵化整齊。與其它物種不同，家蠶因為經過長期人為馴化，其遺傳資源的維持需靠人為飼養維持延續，一旦失去基因，該特性就消失了，因此對家蠶種原保存具相當程度的緊迫與憂患（郭等，2009）。家蠶種原繼代保存被認為是一項需要長久且持續進行的基礎工作，因為蠶卵的保存時間無法超過 1 年 (Agustarini *et al.*, 2020; Banno *et al.*, 2013；陶等，2022)，多化性卵每 10 日可繼代一次，二化性卵則至多半年須繼代一次，不能像植物的種子那樣長期保存。每年的蠶卵繼代更新工作需要多方面投入與維持，包括桑樹管理、蠶室維持清潔及每日給桑等，耗費龐大勞力與經費，且操作細碎繁鎖及技術性強（郭等，2009；陶等，2022），因此種原保存亟待優化工作流程，建立蠶卵延長時間保存流程更是當務之急。印度曾調整二化性蠶卵在不同溫度的保存流程，供每年 3 月養蠶季使用 (Datta *et al.*, 1996)。蠶卵產下後在 24~25°C 下保護 10~60 日，每隔 1~2 週漸進式調低溫度與濕度，蠶卵可長期冷藏達 110~335 日，以因應全年供應蠶卵孵化與產業利用 (Singh *et al.*, 2014; Singh *et al.*, 2015)。有報導指出秋製蠶卵保存至隔年秋季，其二化性家蠶卵在孵化率、生育及蠶繭性狀表現與秋製春養的結果相同，適合印度北部及東北養蠶地區蠶卵供應鏈 (Rai *et al.*, 2020)。更甚者，部分研究已建立新型蠶卵保存方式，改變冷藏溫度自 25°C 至 -2.5°C 的保存流程，成功地延長蠶卵保存期程長達 2 年 (持田等，2006；Iizuka *et al.*, 2008)。此外 Banno *et al.* (2013) 也成功建立家蠶卵巢冷凍保存法，雖

然孵化率還不及 6 成，但亦可成為未來應用於蠶種原長期永續保存的技術。

本場承接日治時期「桑苗養成所」當時自日本、中國及熱帶等地區收集的家蠶種原，加上雜交選育適合臺灣地區的新品種，目前持續保育的種原計 136 個品種（系），是國內家蠶種原保育的公部門。苗栗農改場保存的種原當中有 131 個是二化性蠶種，現行的繼代方式是春製秋養和秋製隔年春天飼養，一年繼代兩次。家蠶種原每次透過姊妹系交配 (*sibling mating*) 繼代繁殖，長期造成族群趨於純系，造成近交衰退過程中產生對病原菌抗性減低與死亡率高等隱憂 (Saravana and Ponnuvel, 2007; Jingade *et al.*, 2011)；此外一年兩次的蠶卵繼代保種方法，需付出龐大的人力成本與經費。本研究擬改良現行蠶卵越夏與低溫處理流程，探討對家蠶孵化及生育影響，期望建立一年 1 育的保存流程，以減少每年蠶種保育維運成本，並減緩種原弱化的速度，維持國內家蠶種原生育健康及繁殖力。

材料與方法

一、供試材料：

本場家蠶種原庫保育之中國系統的家蠶品系，包括：CC01、HC01、HC02、HC04、LL01、LL02、LL03、LL04、OC01、OC04、VC02、VC04、YC04 及 YC14 等 14 個二化性種原，其中 LL01、LL02、LL03 及 LL04 是限性品系；HC01、HC02 及 HC04 是強健品系；YC04 及 YC14 為高絲量品系。

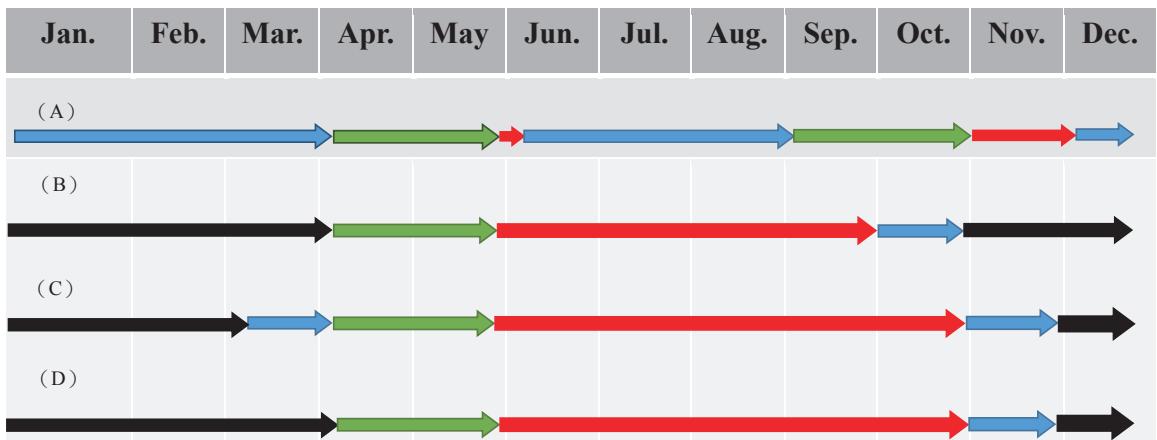
二、試驗方法：

(一) 蠶卵保護流程

此 14 個品系於 2018 年 5 月 20 日至 6 月 1 日陸續產卵，將蠶卵分 3 個保存條件（圖一），處理 1：25°C 保護 4 個月、移至 5°C 冷藏室保護 1 個月、再移至 0°C 保護 5 個月，2019 年 4 月移出進行蠶卵催青及孵化。處理 2：25°C 保護 5 個月、移至 5°C 冷藏室保護 1 個月、再移至 0°C 保護 3 個月，再移至 5°C 保護 1 個月後，2019 年 4 月移出進行蠶卵催青及孵化。處理 3：25°C 保護 5 個月、移至 5°C 冷藏室保護 1 個月、移至 0°C 保護 4 個月，2019 年 4 月移出進行蠶卵催青及孵化。對照組（慣行秋製春養的保存流程）：2018 年 10 月下旬至 11 月上旬產卵後，於 25°C 保護 30 日之後，移至 5°C

冷藏室保護約 120 日，2019 年 4 月移出冷藏室催青及孵化。

依據蠶卵催青及孵化結果，選擇 1 個孵化率最佳的處理條件，進行為期 5 年的蠶卵長期保存及飼養試驗，即 2019 年春蠶期產下的蠶卵起進行蠶卵長期保護及飼養直至 2024 年 6 月。



圖一、蠶卵保護流程圖，藍色箭，保護於 5°C；綠色箭，飼養；紅色箭，保護於 25°C；黑色箭，保護於 0°C。A，現行保護流程；B，25°C 保護 4 個月，5°C 保護 1 個月，0°C 保護 5 個月；C，25°C 保護 5 個月，5°C 保護 1 個月，0°C 保護 3 個月，5°C 保護 1 個月；D，25°C 保護 5 個月，5°C 保護 1 個月，0°C 保護 4 個月

Fig. 1. The flowchart of silkworm egg preservation: blue array, kept at 5°C; green array, rearing; red array, kept at 25°C; and black array, kept at 0°C. A, current preservation process; B, preservation at 25°C for 4 months, preservation at 5°C for 1 month, preservation at 0°C for 6 months; C, preservation at 25°C for 5 months, preservation at 5°C for 1 month, preservation at 0°C for 3 months, preservation at 5°C for 1 month; D, preservation at 25°C for 5 months, preservation at 5°C for 1 month, preservation at 0°C for 4 months

(二) 性狀調查

催青日數：蠶卵至冷藏室移出，置於 25°C、R. H. 85~90% 養蠶室，每日照光 12~16 小時，直至實用孵化的天數；實用孵化天數 = 出庫日起算至最高孵化量的當日所經過的天數。孵化率 = 孵化數 / 每蛾圈卵數 × 100%，每品系 5 蛾圈。五齡重量：五齡眠起第一餐前、食桑滿 4 日重量及 5 日的蠶重量。健蛹率：健康蠶蛹數 / 100 隻

蠶 $\times 100\%$ 。蠶繭性狀：繭長、繭幅、全繭重、單粒繭殼重，計算繭層率 = 單粒繭殼重 / 全繭重 $\times 100\%$ 。繁殖力：每蛾產卵數。每處理 3 重複，每重複 100 隻蠶。

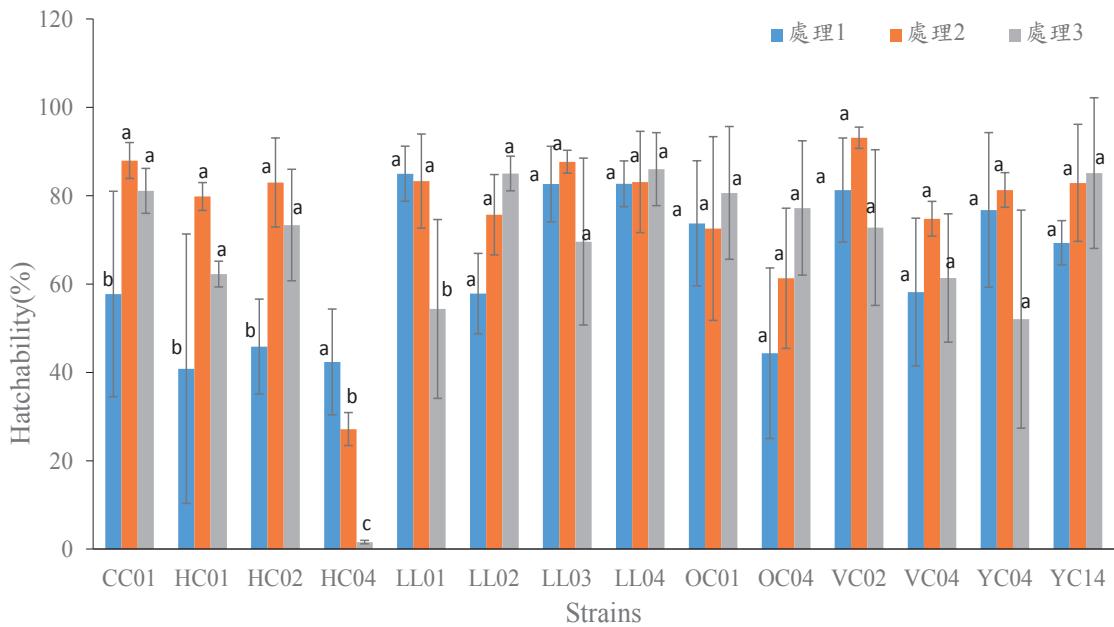
(三) 統計分析

利用 SAS-EG 7.1 及 EXCEL2016 軟體進行數據統計及繪圖。

結果與討論

(一) 三種蠶卵保存流程對 14 個家蠶品系孵化率之比較試驗

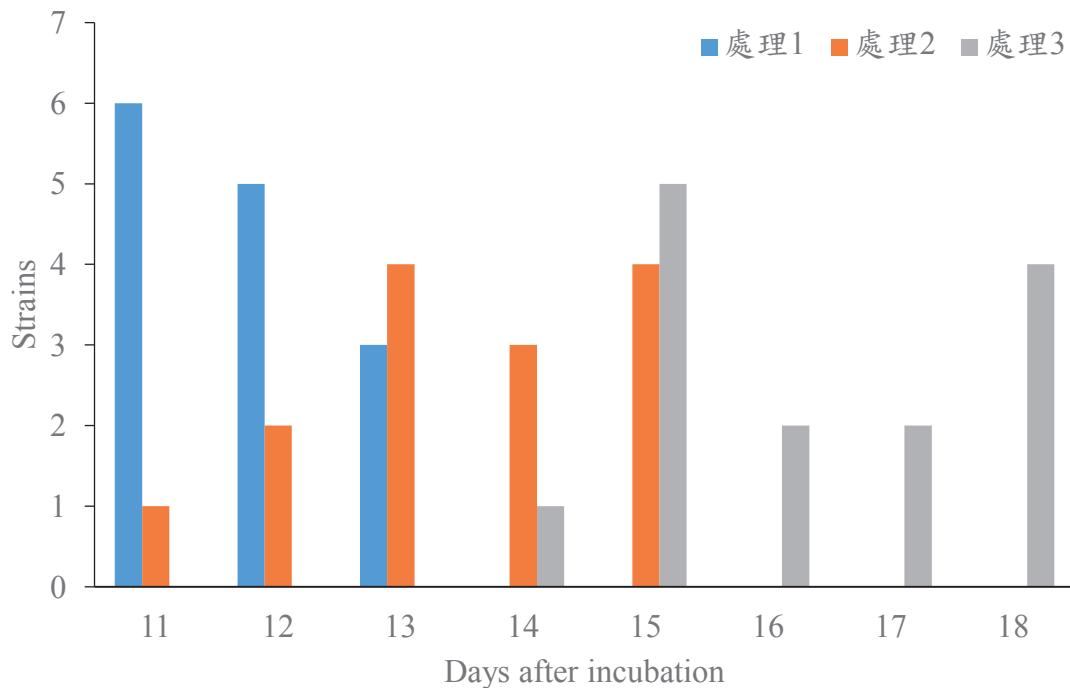
滯育是昆蟲為適應環境，演化出發育停滯期，以待環境適宜時再繼續發育繁殖的行為，受遺傳控制。本研究供試材料為本場保育的 14 個二化性家蠶品系，皆為具有蠶卵滯育特性品系。2018 年春季產下的蠶卵經過三種蠶卵保存流程後，於翌年 4 月移出冷藏庫進行催青及孵化。孵化率調查結果：處理 1、處理 2 及處理 3 平均孵化率分別為 64.2%、76.7% 及 67.3%（圖二）。CC01、HC01、HC02、HC04 及 LL01 等 5 個品系在 3 個保存流程後的孵化率呈現顯著差異，CC01、HC01 及 HC02 在處理 2 與處理 3 孵化率顯著優於處理 1，處理 2 及處理 3 的結果沒有差異，但以處理 2 孵化率高於處理 3。HC04 以處理 1 保護流程之孵化率 42.1%，顯著高於處理 2 的 27.2% 及處理 3 的 1.6%。其餘的 9 個品系在 3 種蠶卵保存流程處理間沒有差異（圖二）。14 個供試品系中有 7 個品系以處理 2，即蠶卵產下後於 25°C 保護 5 個月，5°C 保護 1 個月，移至 0°C 延長低溫保護 3 個月後，漸進式移至 5°C 冷藏 1 個月的保護流程表現較佳的孵化率。25°C 越夏期越長，可以延長低溫解除蠶卵滯育時間（余等，1990）。本研究認為處理 1 的 25°C 保護 4 個月，較處理 2 與 3 短少 1 個月，因縮短低溫解除滯育時間，提早出庫及孵化。此外 14 個品系孵化率的平均值標準差距大，推測因為所有品系皆屬於二化性，以往慣行的蠶卵保存流程，越夏及低溫解除滯育時間不會超過 150 日，經本研究之 3 個改良的人工越夏及低溫保護達 10 個月，可能造成卵胚胎發育受阻或死亡。本研究 14 個供試品系在處理 2 流程的孵化率達 76.7%，未來將持續馴化 5 代以選汰適合處理 2 流程的子代，促進胚胎存活及孵化率。



圖二、各家蠶品系以 3 種蠶卵保護流程之孵化率比較，平均值標準差 ($n=5$)，各平均值上示以相同字母者為 5% 水準下經 LSD 測驗未達顯著差異

Fig.2. Comparison of hatching rates of 14 silkworm strains treated with three egg preservations. Error bar is the standard error of mean ($n = 5$). Means with the same letter are not significantly different at 5% level by LSD test

催青日數的比較結果如圖三：14 個品系以處理 1 有 6 個品系出庫後第 11 日有最大孵化量，5 個品系在第 12 日，3 個品系在出庫後 13 天有最大孵化量。處理 2 在出庫後第 11 日有 1 個品系大量孵化，第 13 及第 15 日皆有 4 個品系，3 個品系在出庫後 14 日達到最大孵化數量。14 個品系以處理 3 的保護流程，其催青日數從出庫後 14 日至 18 日，催青日數不一，對飼養及保種工作較不利。故綜合催青整齊度及孵化調查結果，以處理 2 的孵化率表現最佳，催表日數集中在出庫後 13~15 日，較慣行法晚 2~3 日，但可以藉由提早出庫方式來改善。因此本研究選擇處理 2 的改良蠶卵保存流程，繼而持續飼養 5 年，觀察及確認改良式保存流程對 14 個供試品系之的生育及品系特性的影響。

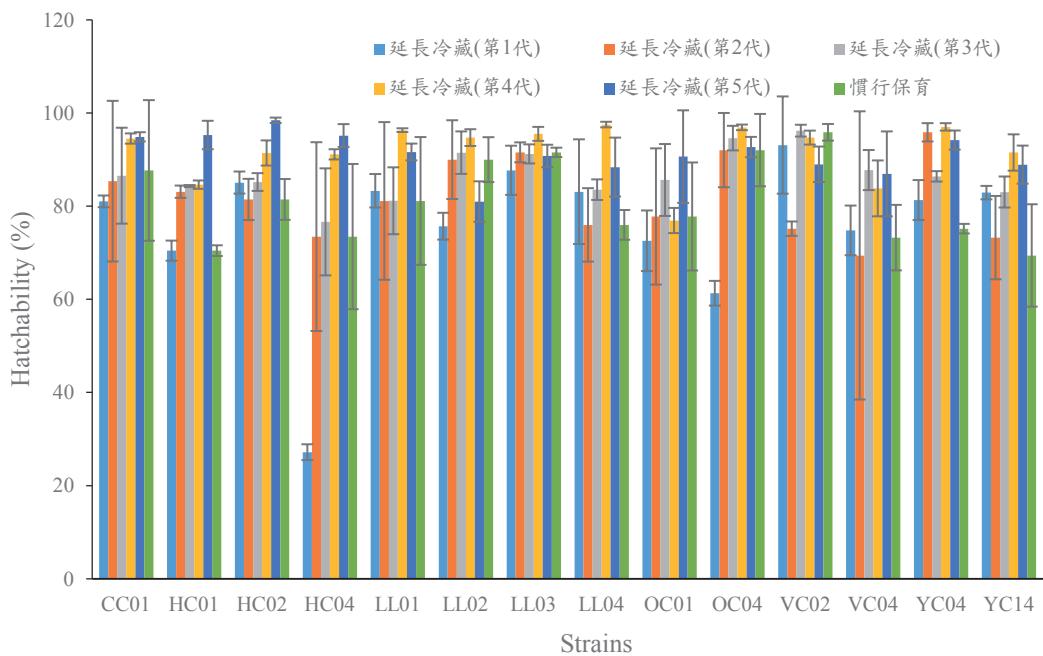


圖三、各品系在 3 種蠶卵保存流程的催青日數之比較

Fig. 3. Comparison of the incubation days before hatching for 14 silkworm strains treated with three egg preservation methods

(二) 改良式蠶卵保護流程對 14 個品系家蠶生育及蠶繭品質之影響

於 2019 年春季產下的第一代產卵經 25°C 保護 5 個月後，移入 5°C 及 0°C 進行低溫保護，2020 年出庫催青與孵化。14 個供試品系孵化率 27.2~93.1%（圖四），差異甚大。HC02（孵化率 85.1%）、HC01（70.4%）、LL01（83.3%）、VC04（74.8%）、YC04（81.3%）及 YC14（82.9%）表現高於慣行對照組，其餘皆低於對照組，14 各品系平均孵化率 75.7%。隨著馴化飼養結果：第 2 代平均孵化率 81.8%、第 3 代 86.7%、第 4 代 91.1% 及第 5 代 91.3%，繁殖代數增加，孵化率逐年提升，高於對照組 81.8%。催青日數由第 1 代的 11~15 日到第 5 代已縮短為 11.5~12 日，孵化整齊度與對照組表現一致，表示 14 個品系已逐年經選汰保留適合本研究改良的蠶卵保存流程之族群，蠶卵催青後不會造成死卵及不孵化現象。



圖四、各品系蠶卵延長冷藏保存之孵化率表現，誤差線平均值標準差 (n=5)

Fig. 4. Hatching rate performance in 14 strains of silkworm with long-term cold reservation, Error bar is the standard error of mean (n = 5)

本研究以幼蟲重量及健蛹率評估家蠶生育健康的指標，調查的項目包括五齡重量（起蠶、食桑滿 4 日及 5 日），熟蠶上簇後的健康蠶蛹數目，表示幼蟲存活及健康的指標。結果顯示 LL02 之五齡起蠶重量 0.82g 及 LL03 品系 0.81g，低於對照組 LL02 的 0.97g 及 LL03 的 0.97g；不過 LL02 品系於食桑滿 5 日的重量 4.57g 與對照組 4.61g 無差異，LL03 品系 4.16g 仍略低於對照組 4.30g（表一）。HC01 品系在五齡階段的重量皆顯著高於對照組，包括起蠶（實驗組 0.82g 優於對照組 0.65g）、食桑滿 4 日（實驗組 3.18g 及對照組 3.11g）及食桑滿 5 日（實驗組 3.47g 優於對照組 2.80g）。其餘 12 個品系的幼蟲重量表現皆與對照組無差異。健蛹率表現：14 個品系經改良的蠶卵保存流程，飼養 5 代的健蛹率 77.3~95.6%，除 YC14 品系 77.3% 外，其餘 13 個品系皆高 85%，LL03、LL04 及 VC02 品系高於 95%（表二）。探究 YC14 品系以往的健蛹率表現依次：第一代 83.3%、第二代 83.3%、第三代 79.3% 及第四代 76.7%，並沒有類似其它品系會隨著飼養代數增加，提升其健蛹率，因此推測 YC14 品系可能不適合本研究之改良式蠶卵保護流程。爰此，YC14 品系蠶卵回復慣行一年 2 育保護流程，以維持種原健康。

表一、各品系蠶卵延長冷藏保存之幼蟲生育表現
Table 1. The larval growth performance of 14 silkworm strains after incubation of eggs with long-term cold preservation

品系	Weight of 5 th instar(g)		4 days after feeding(g)		5 days after feeding(g)		Pupation rate(%) ^y	
	CK group ^x	Test group	CK group	Test group	CK group	Test group	CK group	Test group
CC01	0.74±0.03 a ^z	0.65±0.03 a	2.70±0.11 a	2.80±0.05 a	2.93±0.20 a	3.15±0.11 a	91.5±1.8 a	92.1±1.9 a
HC01	0.65±0.03 b	0.82±0.01 a	3.11±0.19 a	3.18±0.09 a	2.80±0.06 b	3.47±0.06 a	94.5±2.5 a	90.9±1.2 b
HC02	0.70±0.01 a	0.71±0.06 a	2.95±0.10 a	3.01±0.03 a	3.02±0.09 a	3.07±0.03 a	96.0±1.6 a	88.8±0.4 b
HC04	0.75±0.03 a	0.79±0.01 a	2.90±0.08 a	2.98±0.01 a	3.29±0.06 a	3.33±0.86 a	93.5±1.7 a	83.3±2.1 b
LL01	0.83±0.04 a	0.86±0.03 a	3.20±0.22 a	3.13±0.01 a	4.23±0.08 a	4.36±0.02 a	96.5±1.5 a	89.2±1.4 b
LL02	0.97±0.04 a	0.82±0.01 b	3.70±0.21 a	3.51±0.13 b	4.61±0.19 a	4.57±0.15 a	93.3±2.1 a	85.0±1.1 b
LL03	0.97±0.03 a	0.81±0.10 b	3.51±0.24 a	3.14±0.04 b	4.30±0.10 a	4.16±0.02 b	97.3±2.0 a	95.6±1.6 a
LL04	0.82±0.04 a	0.83±0.03 a	3.41±0.15 a	3.56±0.10 a	3.74±0.09 a	3.82±0.03 a	96.0±2.1 a	95.0±2.1 a
OC01	0.62±0.03 b	0.75±0.15 a	2.90±0.08 a	3.10±0.05 a	2.56±0.08 a	2.86±0.14 a	94.5±3.2 a	94.6±1.4 a
OC04	0.65±0.03 a	0.57±0.06 a	2.71±0.10 b	2.97±0.10 a	3.43±0.18 a	3.43±0.16 a	90.0±1.9 a	91.0±1.9 a
VC02	0.62±0.03 a	0.69±0.02 a	2.26±0.05 b	2.97±0.10 a	3.27±0.11 a	3.41±0.05 a	93.8±1.8 a	95.3±1.1 a
VC04	0.64±0.02 a	0.66±0.02 a	3.04±0.17 a	2.98±0.10 a	3.03±0.03 a	3.18±0.14 a	92.3±1.1 a	93.5±1.1 a
YC04	0.88±0.04 a	0.87±0.06 a	2.98±0.22 b	3.19±0.06 a	3.90±0.08 a	3.87±0.06 a	89.3±2.9 a	87.8±2.1 a
YC14	0.94±0.03 a	0.91±0.04 a	3.35±0.20 a	3.51±0.07 a	4.03±0.14 a	4.00±0.08 a	91.0±3.2 a	77.3±4.1 b

^z Mean ± standard error (n = 4). Means within a row of each characteristic followed by the same letter(s) are not significantly different at 5% level by t test.

^y Percentage data were transformed prior to analysis.

^x Check group (CK group) as reared twice for one year, Test group as lone-term cold preservation.

表二、各品系蠶卵延長冷藏保存之蠶繭性狀

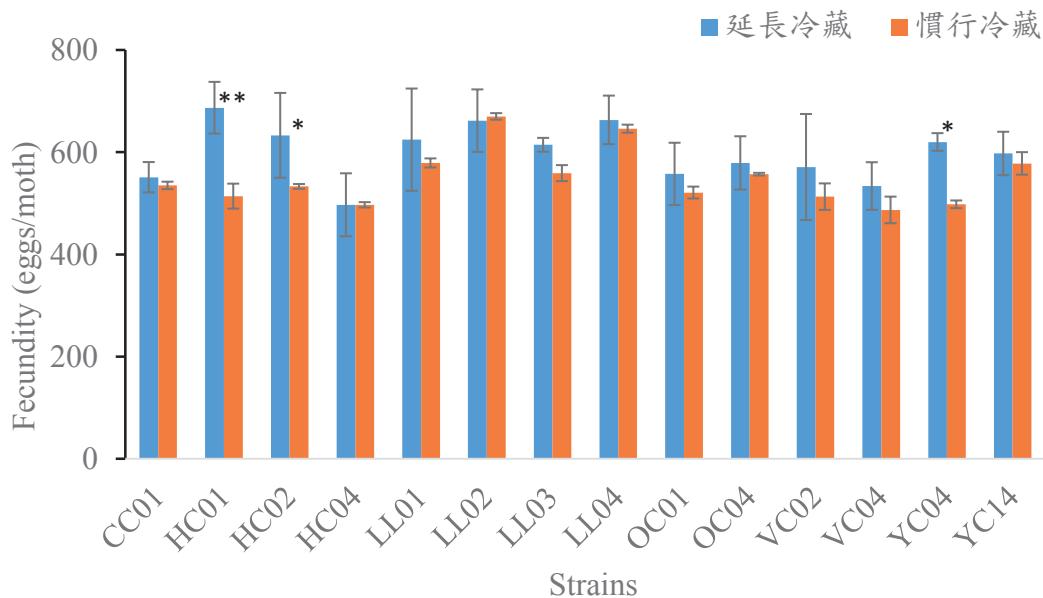
Table. The cocoons traits of 14 strains of silkworm eggs with long-term cold preservation

Strains	Cocoon length(mm)		Cocoon width(mm)		Cocoon shell rate (%) ^y		Cocoon weight(g)	
	CK group ^x	Test group	CK group	Test group	CK group	Test group	CK group	Test group
CC01	30.6±0.6 b ^z	33.3±0.2 a	18.6±0.3 a	19.0±0.2 a	14.9±0.1 b	18.3±0.7 a	1.37±0.02 b	1.89±0.05 a
HC01	30.1±0.3 b	34.6±0.5 a	17.6±0.2 b	19.7±0.5 a	14.1±0.2 b	15.9±0.2 a	1.32±0.03 b	1.86±0.08 a
HC02	32.0±0.2 a	32.0±0.5 a	18.7±0.3 b	19.4±0.3 a	15.8±0.5 a	15.8±0.4 a	1.32±0.09 b	1.43±0.05 a
HC04	32.4±0.6 b	34.8±0.5 a	18.4±0.3 a	18.9±0.6 a	17.7±0.2 a	18.6±1.2 a	1.46±0.04 a	1.67±0.18 a
LL01	30.2±0.2 a	31.9±0.5 a	21.0±0.5 a	20.2±0.4 a	21.8±0.1 a	20.8±0.4 b	1.63±0.05 a	1.70±0.21 a
LL02	33.2±0.1 a	32.6±0.1 a	22.0±0.3 a	21.1±0.4 a	22.0±0.3 b	23.7±0.2 a	1.90±0.06 a	1.87±0.21 a
LL03	34.1±0.4 a	33.3±0.5 a	20.9±0.3 a	19.9±0.4 a	21.8±0.6 a	20.5±0.3 b	1.77±0.04 a	1.68±0.12 a
LL04	33.0±0.6 a	33.3±0.2 a	19.8±0.3 a	20.1±0.4 a	19.4±0.4 a	20.8±0.5 a	1.69±0.03 a	1.70±0.17 a
OC01	31.8±0.8 a	30.5±0.7 a	17.6±0.1 a	18.4±0.1 a	13.9±1.0 a	14.2±0.5 a	1.18±0.03 b	1.43±0.05 a
OC04	30.4±0.7 a	30.9±0.4 a	18.4±0.4 a	18.5±0.2 a	16.3±0.5 a	16.7±0.3 a	1.41±0.06 a	1.43±0.07 a
VC02	28.5±0.2 b	30.4±0.1 a	18.2±0.1 a	18.7±0.0 a	15.7±0.7 a	17.1±0.6 a	1.28±0.07 a	1.48±0.03 a
VC04	32.0±0.4 a	33.1±0.5 a	18.0±0.4 a	17.7±0.2 a	13.7±0.3 b	14.8±0.3 a	1.29±0.03 a	1.40±0.11 a
YC04	29.1±0.9 b	33.4±0.3 a	19.1±0.2 b	21.4±0.4 a	21.6±0.4 a	22.2±0.5 a	1.77±0.05 a	1.89±0.06 a
YC14	28.8±1.0 b	33.6±0.2 a	19.1±0.3 b	20.4±0.2 a	20.8±0.6 a	21.2±0.4 a	1.75±0.08 b	2.03±0.11 a

^x Mean ± standard error (n = 4). Means within a row of each characteristic followed by the same letter(s) are not significantly different at 5% level by t test.

^y Percentage data were transformed prior to analysis.

進一步比較蠶繭生產及品質，由繭長、繭幅、全繭重及繭層率表現作為評估項目，結果如表二：CC01 實驗組之 33.3mm 優於對照組 30.6mm、HC01 實驗組之 34.6mm 優於對照組 30.1mm、HC04 實驗組 34.8mm 優於對照組 32.4mm、VC02 實驗組 30.4mm 優於對照組 28.5mm、YC04 實驗組 33.4mm 優於對照組 29.1mm 及 YC14 品系實驗組表現 33.6mm 優於對照組 28.8mm 的繭長表現。HC01 實驗組之繭幅 19.7mm 優於對照組 17.6mm、HC02 實驗組 19.4mm 優於對照組 18.7mm、YC04 實驗組 21.4mm 優於對照組 19.1mm 及 YC14 品系實驗組繭長 20.4mm 較對照組 19.1mm 表現較佳。繭層率係指單粒繭殼重量占全繭重的比例，當全繭重和繭殼重量成正比，表示產出的繭殼愈重則繭層比率愈高，可產出更多紗線，對繭絲經濟生產有助益 (Agustarini *et al.*, 2020; Andadari *et al.*, 2021)。本研究的繭層率結果以 CC01 實驗組之 18.3% 優於對照組 14.9%、HC01 實驗組 15.9% 優於對照組 14.1%、LL02 實驗組 23.7% 優於對照組 22.0% 及 VC04 實驗組 14.8% 優於對照組之 13.7%；高絲量品系 YC04 及 YC14 在繭層率的表現略高於對照組，但兩者間沒有差異（表二），表示本研究的改良蠶卵保護流程進行若持續進行，有潛力提升高絲品系的繭絲產量，對產業利用有助益。



圖五、兩種冷藏保存對 14 個品系繁殖力比較，誤差線是平均值標準差 ($n=4$)，*,** 為 5% 及 1% 顯著性差異 (t-test)

Fig. 5. Comparison of the fecundity for 14 strains. Error bar is the standard error of mean ($n = 5$). Significance at 5% and 1% levels is analyzed by t test, respectively

家蠶產卵量的比較，14 個供試品系經由改良的蠶卵保存流程，每蛾產卵量 497~687 個卵，以 HC01 品系每蛾產 687 顆卵，優於對照組 514 顆卵、HC02 品系之 633 卵優於對照組 533 卵及 YC04 每蛾產卵 620 顆優於對照組 498 顆，其它品系表現與對照組沒有差異（圖五），表示 14 個供試品系透過本研究之改良蠶卵保存流程，其繁殖力達到對照組的生育水準。

蠶卵 25°C 保護時間長短因品種（系）而異，日本地區的蠶種產下後置於 25°C 時間不宜超過 100 日，余等（1990）臺灣地區以日本系統的 J09 及中國系統的 C18 品系進行蠶卵越夏保護與孵化試驗結果，建議以 30 日為宜。飼養時應配合生產需求，調整適合家蠶品種（系）的保護與低溫處理流程，以維持家蠶孵化及生育健康。郭等（2009）認為若帶有多化性血統的種原，蠶卵對於打破滯育的溫度需求較不嚴格，可在 25°C 保護後期減緩降溫冷藏速度。國際上已有蠶種保存中心分別建立二化性蠶卵長期保存流程，包括改變蠶卵孵化、25°C、15°C、10°C、5°C、0°C 或 -2.5°C 低溫保護流程（持田等，2006；Datta *et al.*, 1996; Iizuka *et al.*, 2008; Singh *et al.*, 2014; Singh *et al.*, 2015; Rai *et al.*, 2020）及卵巢冷凍保存技術（Banno *et al.*, 2013），可有效延長二化性蠶卵保存流程，並維持其生育健康。Singh *et al.* (2015) 報告這些研究有助於新育品種的蠶卵保種、生產及繼代。但篩選適合的種原與建立簡化操作流程，才能更有效減少蠶卵保存工作的時間及勞力（Iizuka *et al.*, 2008）。國內二化性家蠶種原保存流程採用現行的一年 2 育流程，即春製秋養及秋製翌年春養。每年繼代更新蠶卵的工作耗費人力及經費，若能改變人工越夏處理以延長蠶卵保護時間，不僅可以減少勞力與經費支出，對種原的健康及長久保存是有利的（Saravanar and Ponnuvel, 2007）。有關蠶卵保存及孵化的研究，以蠶卵滯育的生理學研究（Sato *et al.*, 2014）、基因調控（Sasibhushan *et al.*, 2013）、打破滯育（胡和黃，1995）及新品種蠶孵保護流程之建立為主流研究，有關蠶卵延長保存的研究文獻尚屬不足。為了減輕蠶卵更新工作及維持國內家蠶種原健康的目的，本研究以 14 個二化性品系幼蟲生育及蠶繭性狀表現，評估改良之蠶卵保護流程的可行性。郭等（2009）未經與多化雜交之二化性較穩定的品系，經過 1 年的改良繼代流程對其蠶卵健康率及孵化率有較佳的表現。本研究已試行 5 年，選汰的結果，多個品系已適應改良之保存流程，不僅孵化率逐年上升，幼蟲生育狀態與蠶繭品質亦達到慣行一年 2 育之對照組的表現，成蟲的繁殖力等同或優於對照組，對農民經濟生產及種原維護都有助益。

結論

本研究認為蠶卵產下後置於 25°C 保護時間是影響蠶卵延長保存的關鍵因子，改良保護流程由 1 個月延長至 5 個月，低溫解除滯育時間可由原來的 3 ~ 4 個月延長至 5 個月，換言之繼代繁殖家蠶約 60 天，蠶卵產下後保存長達 10 個月，即可達成一年 1 育的家蠶生命週期。14 個供試品系當中，YC14 因健蛹率表現不如對照組，LL03 五齡重量及繭層率表現不佳，已回歸慣行一年 2 育的保護流程。本研究可進而擴及其它品系，逐步選汰適合一年 1 育的家蠶種原保育流程，減少種原管理成本，同時維持家蠶特性、種原健康管理及產業永續發展。

誌謝

本研究承蒙農業部科技計畫 (112 農科 -4.6.1.- 苗 -01) 經費支持，並感謝苗栗農改場蠶蜂科石良彩、李怡瑗、趙丹、邱家玉、賴文鵬及羅春慶協助家蠶飼養管理及取樣調查，謹誌謝忱。

參考文獻

- 王豔、謝勇、王文品、傅圖強、陳友學、羅建秋。2018。秋製蠶種人工越夏時間與孵化率的關係研究。蠶學通訊 38：32~41。
- 余錫金、謝豐國、侯豐男、屈先澤。1990。人工越夏時間對家蠶休眠卵胚胎發育及其孵化率之影響。中華昆蟲 10：241~247。
- 持田裕司、竹村洋子、松本正江、金勝廉介、木口憲爾。2006。蠶受精卵の低溫長期保存とそれによる後代への影響について。蠶系・昆蟲バイオテック 75：37 ~ 43。
- 郭定國、邱國祥、黃嬪、張桂玲、林忠芬、王先燕、鍾蘇苑。2009。廣東家蠶基因資源一年一代繼代技術的探討。廣東蠶業 44：8~10。
- 胡木林、黃自然。1999。家蠶孵化卵隨時孵化技術研究。湛江師範學院學報 20：65~68。

陶積陽、黃勝、安春梅、張雨麗、劉豔偉、陸侯伽、閉立輝。2022。一年繼代一次的蠶種單式庫外保護和單式冷藏試驗。蠶學通訊 42：21~26。

Agustarini, R., L. Andadari, Minarningsih and R. Dewi. 2020. Conservation and breeding of natural silkworm (*Bombyx mori* L.) in Indonesia. IOP Conf. Series: Earth Environ. Sci. 533 012004. (doi:10.1088/1755-1315/533/1/012004)

Andadari, L., Minarningsih and Suwandi. 2021. The effect of feeding various species of mulberry (*Morus spp.*) on the growth of silkworm and quality of cocoon hybrid BS 09. Earth Environ. Sci. 914 : 012017. (doi:10.1088/1755-1315/914/1/012017)

Banno, Y., K. Nagasaki, M. Tsukada, Y. Minohara, J. Banno, K. Nishikawa, K. Yamamoto, K. Tamura, and T. Fujii. 2013. Development a method for long-term preservation of *Bombyx mori* silkworm strains using frozen ovaries. Cryobiology 66:283~287.

Datta, R. K., H. K. Basavaraja, and Y. Mano. 1996. Manual on bivoltine rearing race maintenance and multiplication. Central Sericulture, Mysore, India. 66pp.

Iizuka, T., K. Mase, E. Okada, and T. Yamamoto. 2008. Development a long-term storage method for diapause eggs in some hybrid races of *Bombyx mori*. J Insect Biotech. Seri. 77: 67~70.

Jingade, A. H., K. Vijayan, P. Somasundaram, G. K. Srinivasababu, and C. K. Kamble. 2011. A review of the implications of heterozygosity and inbreeding on germplasm biodiversity and its conservation in the silkworm, *Bombyx mori*. J. Insect Sci. 11. (DOI: 10.1673/031.011.0108)

Kumaresan, P., K. Thangavelu, and R. K. Sinha. 2004. Studies on long-term preservation of eggs of Indian tropical multivoltine silkworm (*Bombyx mori*) genetic resources. Int. J Indust. Entomol. 9: 79~87.

Rai, K. K., M. Aslam, P. M. Tripathi, P. Tewary, and S. R. Chowdhary. 2020. Adoption of autumn to autumn seed preservation schedule for bivoltine silkworm breeds/ hybrids under sub-tropical conditions- a study. EPRA Int. J. Multidiscipl. Res. 6. (DOI: 10.36713/epra2013)

Saravana, R. Kumar and K. M. Ponnuvel. 2007. Egg diapause induction in multivoltine silkworm *Bombyx mori* for long-term germplasm preservation. Int. J. Indust. Entomol. 15: 1~7.

Sato, A., T. Sokabe, M. Kashio, Y. Yasukochi, M. Tominaga, and K. Shiomi. 2014. Embryonic thermosensitive TRPA1 determines transgenerational diapause phenotype of the silkworm, *Bombyx mori*. (www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1322134111)

- Singh, R., G. V. Reddy, K. L. Rajanna, K. M. Vijayakumari, B. S. Angadi, and V. Sivaprasad. 2014. Development of different egg preservation schedules for “BARPAT”, an univoltine race of the mulberry silkworm, *Bombyx mori* L. Mun. Ent. Zool. 9: 521~524.
- Singh, R., G. V. Reddy, K. M. V. Kumari, B. S. Angadi, and V. Sivaprasad. 2015. Evaluation of egg preservation schedules for bivoltine breeds of the mulberry silkworm, *Bombyx mori* L. Mun. Ent. Zool. 10: 241~245.
- Yamashita and Yaginuma. 2012. Silkworm eggs at low temperatures: Implications for sericulture. Insects at Low Temperature. Springer. 514pp.

Effects of long-term preservation on the hatching and growth performance of bivoltine silkworm (*Bombyx mori* L.)

Chiu-Hsun Liao*, Ya-Yun Chang, Tzu-Hsien Wu

Miaoli District Agricultural Research and Extension Station, Ministry of Agriculture

ABSTRACT

This study improves the long-term preservation processes for silkworms (*Bombyx mori* L.), investigating their effects on egg hatching and fertility in 14 bivoltine silkworm strains. Eggs incubated at 25°C for 5 months significantly increased hatching rates compared to 4 months, benefiting silkworm production. After 5 months of preservation at 25°C, the eggs were moved to 5°C for 1 month, then stored at 0°C to extend the cold conservation, followed by a gradual transition back to 5°C for hatching. After 5 years of breeding and evaluation, eggs could hatch after 11 days of incubation, resulting in an average hatching rate of 91.3%, which is better than the controls with 2 breeding cycles per year. The healthy pupation rate was lower for strain YC14 at 77.3% than the other 13 strains exceeded 85%, with LL03, LL04, and VC02 above 95%. Strain LL03 showed slightly lower performance in larval weight and cocoon shell rate compared to the control group. The fecundity was similar to or better than that of the control group, positively impacting silkworm conservation. The improved preservation processes can extend the preservation period of silkworm eggs from the conventional 4-5 months to 10 months for all 14 strains. In the future, this could facilitate spring collection and spring rearing in the following year, achieving a once-a-year rearing cycle, thereby reducing the labor required for annual silkworm rearing while maintaining the health of the silkworms and therefore, being beneficial to the sustainability of the industry.

Keywords: silkworm (*Bombyx mori* L.), bivoltine, long-term preservation, hatch rate, growth performance

* Corresponding author email: jsliaw@mdares.gov.tw