

超短波電界による家蠶の人工處女生殖に就て

富 塚 喜 吉 *

土 屋 久 一 **

Kiyoshi TOMIZUKA & Kyūichi TSUCHIYA: Experiments on the Development of the Silkworm (*Bombyx mori*), Especially on the Artificial Parthenogenesis by Means of the Very High Frequency.***

自然界に於ては精子の参加を俟たないで雌性要素のみで單獨に發育を開始した实例は少くない。殊に家蠶の單爲生殖に関する研究は古來、多くの人達に依つて行われて來た。更に家蠶の処女卵に於て精子に代る或る人爲的刺戟を与える事により單獨に胚子を發達させる事は既に佐藤博士 (1925, 1934) 並に川口博士 (1934) 等により実験的にも確立されて居り其の遺傳学的並に細胞学的研究は精細を極めて居る。さて超短波領域の電磁波が一般生活体に対し顯著な影響を及ぼす事実は單なる熱的二次作用だけで無く、何等かの刺戟的特殊作用であろう事は諸家の等しく認むる所である。筆者等は1949年の春蚕期以來、未交尾蚕蛾の産卵した処女卵に対し種々条件を異にした超短波を照射して人爲的單爲生殖の実験を續けて來たが一先づ、今までに得た実験結果の概略を記して報告する。此の研究を行うにあたり、御指導を賜わり、且つ校閲の勞を執られた本学阿部裏教授並に超短波実験装置に就いて御指導を頂いた東北大学工学部小池教授に対し深謝の意を表する次第である。

(1) 実験材料及び方法

実験に用ひた装置は東北大学電氣通信研究所山形分室に設置されてあるもので発信器回路図、其の他の装置の詳細は割愛する。供試材料は実験1に於ては1949年10月4日早朝、発蛾した日支交雜種の一系統の中から外觀的に正常な未交尾雌蛾7頭を選蛾して産卵せめし

Table 1. The method of treatment in Exp. 2.

No. of batch	Field intensity E(v/cm)	Time applied to eggs.T(sec)	Pulse width τ_p (ms)	Repeating time τ_r (m.s.)	Wave form applied
1	300	60	—	—	Continuous wave
2	600	600	0.32	2.0	Impulse wave
3	600	300	0.32	2.0	"
4	300	45	—	—	Continuous wave
5	300	60	—	—	"
6	600	600	8.00	32.0	Impulse wave
7	600	300	8.00	32.0	"

*山形大学農学部応用動物学研究室 **東北大学工学部

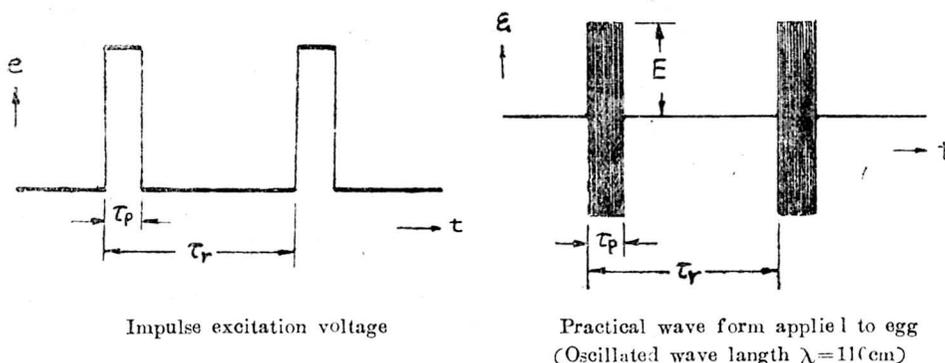
***Contributions from the Laboratory of Applied Zoology, Faculty of Agriculture Yamagata University. No.4. (October, 1950)

10月6日午前10時に至り其等未受精卵に対し wavelength $\lambda = 110\text{cm}$, field intensity $E = 300\text{v/cm}$ の continuous wave を照射した。実験2は実験1と、同一系統のもので1947年10月19日~21日発蛾のものを用い、且つ、相対的に温度上昇の大きい continuous wave 並に衝撃が大で温度上昇の少い impulse wave の二つの場合を組合せ Wavelength $\lambda = 110\text{cm}$ (constant), field intensity $E = 300\text{v/cm}$ or 600v/cm とした。

尚、実験2に於ける処理方法を Table 1, に示す。

Table 1. に於ける τ_p, τ_r は Fig. 1. に示す様に Impulse wave の幅、並に繰返し時間を示す。

Fig. 1. Wave form of Impulse (τ_p & τ_r in the figure are Width and repeating time of Impulse.)



(2) 実験結果

[実験1] 実験1に於ける結果を Table 2 に示す。

Table 2. The results obtained in Exp. 1.

No. of batch	Eggs laid (A)	Colored eggs (B)	B/A (%)	Eggs remaining in ovary (C)	Colored eggs (D)	D/C (%)	Eggs produced in ovary (A+C)	B+D / A+C (%)	Time applied to eggs (Sec.)
1	3	0	0.00	527	1	0.18	530	0.18	120
2	12	1	8.33	545	0	0.00	557	0.17	60
3	18	3	16.66	503	2	0.39	521	0.95	120
4	165	4	2.42	382	2	0.52	547	1.09	90
5	35	4	11.42	480	0	0.00	515	0.77	90
6	3	0	0.00	525	0	0.00	528	0.00	120
7	50	5	10.00	511	3	0.58	561	1.32	60

Wavelength $\lambda = 11\text{cm}$, Field intensity $E = 300\text{v/cm}$ (constant)

上表の着色卵(B)と言うのは処理後、暫くしてから卵面を観察した際、普通の受精卵の呈すると殆ど同じ色調の色素の沈積を確認したもので、及び着色は、したが其の漿液膜の色素の分布状態が正常卵の其れに比べ非常に複雑で変化に富んでいるもの等を含んでいる。(C)は照射時、まだ産下されずに蛾体卵巣内に残留していたもので、照射の際卵巣より卵を別出してから処理したものである。

此の中にも着色卵を生じた。其の個数は Table 2の (D) 項に示してある。蛾区番号 2 に於ける卵巢内残卵卵の中には処理後、暫くしてから、漸次、赤褐色となり卵面凹陷して死卵となつたものが14個あつた。未交尾蚕蛾の産卵数は殊に初期に於て極めて少ないものであるが、(大村:1939) 実験1に於ても10月5日深更に至り漸く産卵を開始し、其の上、未だ産卵途中にあるものに対し人為的に産卵を中止せしめた爲、第2表に示す様に産卵数は極めて少く従つて卵巢内に残卵した卵数は多くなつてゐる。

〔実験2〕

実験1に於ける着色卵中には必ずしも超短波だけの影響によるものとは考えられないので、処理前に自然に着色した卵を除去した未着色卵のみに対し11月14日に至り超短波を照射した。これは、比較的純粹な超短波のみの影響を確かめんが爲に外ならない。其の結果を第3表に示す。

Table 2. The results obtained in Exp. 2.

No. of batch	Eggs laid (A)	Eggs colored before treatment (B)	B/A (%)	A-B	Eggs colored after treatment (C)	C/A-B (%)
1	375	3	0.80	372	11	2.95
2	588	0	0.00	588	2	0.34
3	602	1	0.16	601	11	1.83
4	394	0	0.00	394	2	0.50
5	382	0	0.00	382	3	0.78
6	401	1	0.24	400	11	2.75
7	422	0	0.00	422	2	0.47

第3表の7には、処理後、暫くしてから赤褐色となり卵面、著しく凹陷して死卵となつたものが20個あつた。尚、実験2に於ては発蛾後4~5日間、産卵台紙上に放置しておいたので第3表に示す通り正常な交尾蛾に近い産卵を見たものもあつた。

(3) 胚子の切片標本による観察

実験1及び2に於て漿液膜細胞に色素の沈積を見た卵、即ち雌雄蛾の交尾の結果、産卵された受精卵と略々同程度の色調を呈するものの中、幾つかを採つて切片標本を作つた。

Fig. 2 は其等の中の或る一つの卵の縦断面の顕微鏡写真である。Fig. 3は卵の横断面でFig. 4はFig. 3の胚子の部分を更に拡大したものである。

是等は何れも1950年1月20日 Carnoy で固定し、固定後、卵内容物を損傷せ

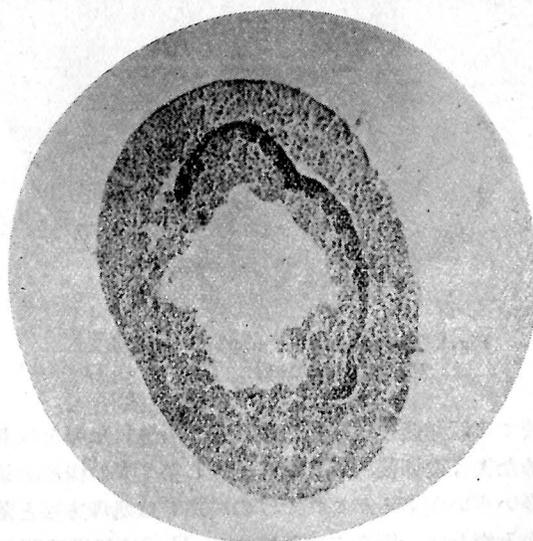


Fig. 2 The microphotograph of the vertical section of the parthenogenetically developed egg. (×ca.60)



Fig. 3. The microphotograph of the transverse section of the parthenogenetically developed eggs (\times ca. 70)

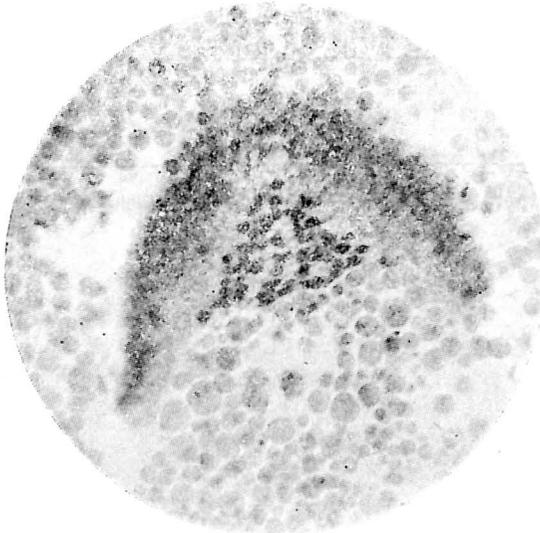


Fig. 4. The magnified microphotograph of Fig. 3 (\times ca. 270)

ざる様に注意しつつ70%アルコールの中で解剖顕微鏡を用ひて卵殻だけを除き、次いで常法によりsectioningした。染色は Delafield's Haematoxylin と Eosin の複染によつた。Fig. 5 は実験 2 に於けるもので未着色卵の間に点々と黒く見えるのは漿液膜細胞に色素の沈積したもので外観的には正常な受精卵と殆ど区別のつかぬ程のものもあつた。尙、此の実験に供用した蚕卵は産下後、固定まで特別の保護を加えずに自然温度のまま、室内に放置しておいたものである。

(4) 考 察

正常な雌雄蚕蛾の交尾の結果、産下された越冬卵は普通は産卵後、一定時間経過後、次第に漿液膜細胞内に色素を沈積し夫々個々の色調を呈するに至るものである。蚕卵の漿液膜は言うまでもなく分裂核の分裂の結果、受精後、形成されるものであるが、実験 1 に於て示した如く末交尾の雌蛾の産下した未受精卵に対して超短波を照射すると、若干個の着色卵を生じたのであるが、これは明かに卵核の分裂が受精なしに起つた所の結果でなければならぬ。然し未交尾の雌蛾の産下した未受精卵の中には自然に放置して置いても卵核の分裂を開始する例はあるので実験 1 に於ける着色卵の中には、1 そう言つた要因による卵も含まれていると言ふ事は考えられる。そこで実験 2 に

於ては産卵後一定期間内に自然に着色した卵を取り除いて其の後着色卵を生じない事を確かめた後、産卵後、24日目に処理し第 2 表の様な結果を得た。蛾区番号により着色卵歩合に多い少いがあるがこれだけの成績では処理方法と着色卵の発現率の間に一定の傾向は、つかみ得ない。即ちどの程度の λ , E 或は処理時間が最適の条件を具えているかは推論し難い。唯、超短波領域の電磁波が精子に代る或る何等かの刺戟を卵核に与え其の分裂を開始せしめたと言ふ事は明確な事実である。尙、実験 2 に於ては、産卵後、24日を経過した後に

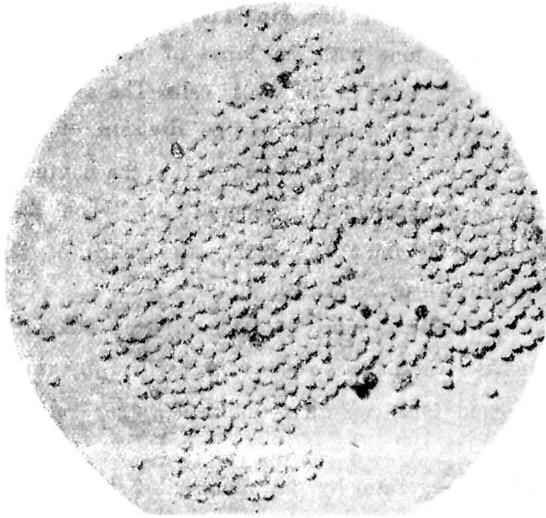


Fig. 5. The coloured eggs without fertilization look like black dots among the uncoloured eggs (\times ca.1.5)

た若干個の着色卵を得た。蛾区によつては産下卵数に対し16.6% (Table 2) の着色卵歩合を示したものもあつた。

2) 処女蛾の産卵した未受精卵中、産下後、間もなくして色素の沈積したものが若干個づつあつたので、共等を除去した後、産卵24日目に Impulse wave と Continuous wave の二つの場合を適当に組合せて処理した結果、各蛾区に於ける着色卵歩合は0.34~2.95%であつた。尙、此の場合 Wavelength $\lambda = 110\text{cm}$, $E = 300\text{v/cm}$ (continuous wave), $E = 600\text{v/cm}$ (Impulse wave) とした。

3) 以上の着色卵中、正常な受精卵の呈する色調と、殆ど同程度のものの胚子は切片標本に依る観察の結果 Fig. 2, Fig. 3, Fig. 4, に示す様な發育の階梯に到達している事を確め得た。

引用文献

- 川口 栄 作 (1934) : 單性生殖蚕の遺傳学的並に細胞学的解析日本蚕糸学雜誌 5 (1) : pp. 1-20.
 大村 清 之 助 (1939) : 家蚕産卵の機構 1. 産卵を誘発する刺戟日本蚕糸学雜誌 10 (2) : pp. 49-57.
 佐藤 春 太 郎 (1925) : 人為的刺戟を与えたる蚕不受受精卵の初期發生に就て農学会報 No. 273 : pp. 155-164.
 ————— (1925) : On the Artificial Parthenogenesis in the Silkworm. On the face view of the serous membrane of the egg. Journ. Sc. Agric. Soc. (Tokyo), No. 274 : pp. 232-238.
 ————— (1934) : 家蚕人為單性生殖に於ける細胞学並に遺傳学的研究 1-2. 応用動物学雜誌 6 : pp. 179-187, 225-253.

処理しているにも拘らず、実験1と同様、若干個の着色卵を得ている。さて未受精卵は機会さえ与えられれば卵核の分裂を開始し得る状態を、果して産卵後どの位の期間、保有しているものであろうか。これに就いて2~3の実験を試みたが未だ結論を得ていないので後日更に分析的に諸種の要因を追跡したい考えである。

摘 要

以上の実験の結果、次の事実を確める事が出来た。

1) 末交尾の家蚕雌蛾の産卵後、間もない処女卵に対し超短波 (wave length = 110cm, Field intensity $E = 300\text{v/cm}$ の continuous wave) を処理時間を色々に変えて照射した結果、漿液膜細胞内に色素の沈積を見た

Summary

The colour tone of the normal hibernating eggs of the copulated silkworm moths generally varies to the respective proper colour tone with the lapse of certain hours after laying eggs, as the result of deposited pigments in the serosa cells. The serosa of the silkworm eggs are formed after fertilization—a result of the division of the cleavage nuclei. But we showed in the Exp.1&2 (Table 2 & Table 3) that the nonfertilized eggs (noncopulated female moths laid) changed to the coloured eggs when they are treated by the very high frequency. This must be clearly the result of the division of the egg nucleus which occurred without fertilization.

Continuing the experiment for the nonfertilized eggs of Domesticated silkworm (*Bombyx mori*), Eri-silkworm (*Philosamia ricini*) and Kusuko (*Dictyoploca japonica*) since spring season 1949, under various conditions, we thus obtained rather reliable results.

We can see the difference in the coloured egg ratio by the number of batch, but, only by the above results it is difficult to find regular tendencies between the method of treating and the possibility of producing coloured eggs. In other words, we can't reason what value of wavelength λ and field intensity E and the time to treat are the most suitable. But we can affirm that the very high frequency afford to the egg nucleus a certain stimulus instead of the spermatozoon and it began division.

In Exp.2 (Table3), we have attained the same results as Exp.1 (Table 2), though the eggs were treated 24 days after laying. And then, we have met the case how long the nonfertilized eggs will keep their possibility to divide the egg nucleus after laying if occasion offered. In regard to this, we have tried a few experiments in order to obtain the conclusion, but we have not yet a satisfactory result. Next time we are intending to trace various factors analytically. In this experiment, the results obtained are as follows.

1) Selecting seven normal female moths out of the noncopulated moths which have made eclosion on the early morning of Oct. 4th, 1949, we treated them by the very high frequency at 10 o'clock, Oct. 6th, 1949. The results thus obtained are shown in Table 2.

In the Table 2, observing the surface of the eggs after several times of treatment, coloured eggs (see Table 2-B) means those which are found depositing pigments of the same colour tone as that of the normal fertilized eggs, and distribution of pigments in the serosa cells are more variable than those of the normal fertilized eggs.

Eggs remaining in ovary (see Table 2-C) means the eggs which were kept in the ovary of the female moth, and treated after extracting from the ovarian tube.

D in Table 2 shows the number of coloured eggs in the case of eggs remaining in ovary. It is a well known fact the number of eggs laid by the noncopulated moths are very few in the initial stage, and it is provable that in Exp. 1 we found barely

the laid eggs at midnight of Oct. 5th, Moreover, as we have stopped artificially the moths from laying, the number of eggs laid are very few as showing in the Table 2, the number of eggs remaining in the ovary are numerous.

2) Some of the nonfertilized eggs of the female silkworm-moths noncopulated cause the division of the egg nucleus spontaneously, so it is dangerous to judge the coloured (Table 2-B) in Exp. 1 caused by the very high frequency alone. Eliminating the eggs coloured spontaneously before treatment, we treated the colourless eggs by the very high frequency on Nov. 14th, 1949, because of our confirming comparatively purer effects by the very high frequency. The results thus obtained are shown in table 3.

In this experiment, we have left female moths in moth funnel for 4-5 days, and some of them laid eggs as nearly the same number as the normal copulated female moths laid.

3) We have made several section of which pigments deposited in the serosa cells in the Exp.1 and 2. Fig.2 and 3 show the microphotograph of the vertical and transverse section of an egg.

Embryo in Fig.4 is magnified one of Fig.3. Those were fixed with the Carnoy's fluid on Jan. 10th, 1950. The sections were cut at a thickness of 7μ and the method of staining was by means of double staining using Delafield's haematoxylin and eosin. Fig.5 is one of the samples used in Exp.2.

The coloured eggs without fertilization look like black dots among the uncoloured eggs. Because those eggs have the deposited pigments in the serosa cells, and those are almost difficult to distinguish externally as compared with normal fertilized eggs.