



Title	蚕卵におよぼす過冷却の影響： 発生初期卵の低温抵抗性について
Author(s)	玉澤, 亨
Citation	北海道大学農学部農場研究報告, 20, 138-144
Issue Date	1977-02-25
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/13349
Type	bulletin (article)
File Information	20_p138-144.pdf



[Instructions for use](#)

蚕卵におよぼす過冷却の影響

I 発生初期卵の低温抵抗性について

玉 澤 享

緒 言

蚕卵の低温に関する研究は、養蚕に直接関係があり、これまでに、基礎的ならびに実用的立場から、卵の発生、生理、生態等多方面にわたって膨大な研究がなされ、その結果えられた数々の知見は、養蚕学や養蚕技術に広く応用されていることは周知の事実である。しかしながら、これらの研究の大部分は、胚子形成後の卵を対象としたもので、産下直後の卵核と精核の合体以前の発生初期卵を対象とした研究は極めて少く、しかも、発生初期卵の低温抵抗性に関しては、各々の実験条件の設定の差異にもよるが、各研究者の見解は著しく相違する。特に、発生初期卵内の卵核と精核の低温抵抗性に関して、梅谷(1955)は産下直後(卵令0~10分)の卵を5°Cと2.5°Cに冷蔵し、卵内の精核の受精能力には2.5°Cと5°Cとの間に判然とした臨界点があり、2.5°Cに5日以上冷蔵により精核は受精能力を失うが、5°Cでは受精作用が正常に行われると報告した。これに対して、橋本(1957)は産下後2~18分の卵を2.5°Cに10日間冷蔵したのち、高温処理してえられた個体は、ほとんど父親の劣性形質を現わし、かつ雄であったことから、低温により卵核はこわれるが、精核は生きのびると報じ、この点に関しては梅谷の見解と著しく相違する。また、蚕卵の過冷却点に関しては、Aoki(1962)の報告があるが、卵の初期発生に及ぼす過冷却の影響については、全く知られていない。そこで、著者は上述の梅谷と橋本の見解の相違点を追求すると共に、発生初期卵の耐える低温の限界および卵の初期発生に及ぼす過冷却の影響等を探究する目的で本研究を始めた。そ

の結果、発生初期卵の低温抵抗性について、新発見が得られたので報告する。

本文に入るに先だち、研究を進めるにあたり種々御指導いただき、また本稿の校閲をいただいた恩師滝沢義郎教授に対し心からお礼申し上げる。また有益なご助言をいただいた北海道大学低温科学研究所朝比奈英三教授ならびに酒井昭教授に厚くお礼申し上げる。なお、本研究の卵冷蔵は低温科学研究所の冷蔵室を使用させていただいた。

材料および方法

1) 実験材料は北海道大学農学部蚕学教室に系統維持されてきた品種で、正常色卵として大造、Hyを用い、第2白卵としてTWIを用いた。各系統の因子構造を第1表に表示した。

2) 供試卵の採種、処理および受精卵の検定
本研究では、供試卵の発育過程を揃えると共に、短時間に多数の卵を産下せしめるために、雌蛾を羽化直後1~4日間5°Cに保護し室温で5~6時間交尾させ、暗所で一定時間(10分、15分、30分)産卵せしめ、これを基準にして種々の発育段階の区を設け、目的温度(5°C~-20°C)に一定期間冷蔵したのち、それぞれ24°Cに保護して受精率を調べた。各実験区の受精卵数の歩合によって低温に対する抵抗性を比較検討した。また、品

第1表 供試した系統およびその因子型

系統名	卵色	因子型
大造	正常色	$+w_1/+w_2 +P/+P +ch/+ch$
Hy	"	$+w_2/+w_2 PM/PM ch/ch$
TW ₁	白 色	$w_2/w_2 P/P ch/ch$

種固有の着色を示さず、淡褐色をおび受精卵か不受卵卵か識別の困難な卵は、高見（1952）の方法を用い、卵黄粒団の形成の有無により判定した。

実験結果

1. 卵の初期発生段階と低温抵抗性

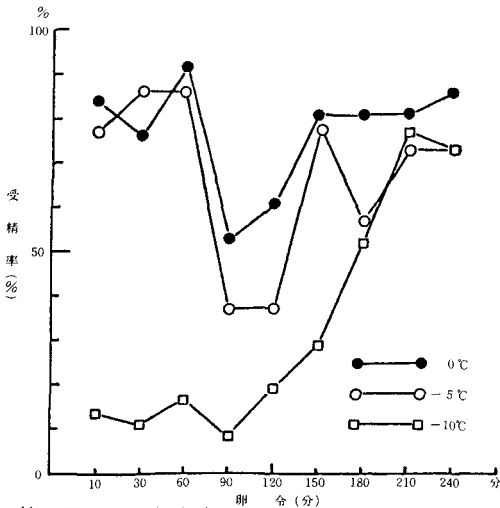
まず、産下直後の初期発生段階の卵の低温抵抗性を知るために、次の実験を行った。

材料は大造とHyおよびそのF₁卵を用い、産下後0～10分、10～30分、30～60分、以後30分毎に240分までの发育段階の卵を、0°、-5°、-10°Cの各温度に24時間冷蔵したのち、各々の受精率を調べ、その結果を第1図に示した。

第1図から明らかな如く、受精率は処理温度が低い程低下するが、卵の发育過程に伴う受精率は、各区とも同一の傾向を示し、産下後0～60分の間が高く、60～90分の間が最も低く、90分以後高くなる。この結果から、発生初期卵の低温に対する抵抗性は、産下直後（0～60分）強く、60～90分の間が最も弱く、90分以後抵抗性が增大することがわかった。

2. 発生初期卵の各種低温における受精率

前実験の結果から、発生初期卵が-10°Cの低温に耐えることが判明したので、さらに各種低温（5°、0°、-5°、-10°、-15°、-20°C）に何日間生存しうるかを明らかにするために、大造、HyおよびそのF₁卵を用い、産下後20～50分の卵を上述



第1図 発生初期卵の0°C、-5°C、-10°Cにおける受精率

の各温度に、1日から60日間冷蔵したのち、受精率を調べたのが第2、第3表である。

第2、第3表から、-20°Cでは2日以上の冷蔵で完全に受精能力を失う。-15°Cでは10日間位、-10°Cでは30日間前後で受精能力を失うが、-5°Cと0°Cでは60日間の冷蔵でも受精能力を有する卵が僅かに認められた。5°Cでは、60日間の冷蔵で受精能力を失わず、40日前後で漿液膜細胞が淡褐色に着色し始め、冷蔵期間中に着色卵（受精卵）と不着色卵（死卵）とが区別しうる。このことは、5°Cの温度下では、受精作用が正常に行われることを示唆している。

以上の結果から、産下直後の発生初期卵の耐える低温の限界は、-20°C前後と推定される。また-15°Cでは10日間、-10°Cでは30日間、-5°Cと0°Cでは60日間の冷蔵に耐えることが明らかになった。しかし、各区とも冷蔵経過に伴う受精率は極めて不規則で、一定の傾向が認められない。この現象は、供試卵の耐寒性に対する個体差に起因するものと考えられたので、さらに次の実験を試みた。

3. 蚕卵に対するハードニング効果の検討

生物の耐寒性能力を人工的な処理によって高めることを、ハードニング (hardening) とよんでいる。昆虫のハードニングの方法として、温度処理が効果があると考えられている。本研究では、前

第2表 -15°C、-20°Cにおける受精率

品種 温度 日数	大 造		Hy	
	-20°C	-15°C	-20°C	-15°C
1日	0.4%	7.9%	0%	1.5%
2	0.2	15.6	0	4.5
3	0	7.9	0	3.3
4	0	41.0	0	18.3
5	0	7.3		18.2
6		11.2		22.7
7		2.2		14.2
8		6.7		0
9		9.4		0
10		1.9		0
11		0.8		
12		0		

述した如く発育段階の齊一な卵を短時間に多数えるために、羽化直後の雌蛾を5℃に1～4日間冷蔵したのち、一度に多数の卵を産下せしめて供試した。このような雌蛾の冷蔵が、卵の耐寒性を向上させるハードニング効果を想定した。これは同一の発育段階の卵を供試しても、母蛾の冷蔵期間の相違によって、個々の卵の耐寒性に差異が生ずるものと考え、この点を検討するために、次の実験を行なった。

材料は大造および一部雄蛾にTWIを用いた。実験区は下記の3区を設け、各区とも産下後60分以内の卵を、5℃、0℃、-5℃および-10℃の各温度に1日から60日間冷蔵したのち受精率を調べ、各区の低温に対する耐寒性を比較検討したのが、第5表である。

A区. 羽化当日の雌蛾の産卵(対照区)

B区. 羽化後雌蛾を5℃に6日間冷蔵後の産卵

C区. 化蛹2日目の雌蛹を、10℃に10日間冷蔵後、24℃に保護した雌蛾の産卵

また、大造雌蛾を5℃に8日間冷蔵後、TWI雄蛾を交配し、産下後60分以内の卵を、上記と同様に5℃～-10℃の各温度に、1日から30日間冷蔵後各区の受精率を調べたのが、第5表である。

第4、第5表から明らかな如く、各温度区とも冷蔵経過に伴う受精率は、前実験の結果(第3表)と同様に不規則で、3実験区間(A, B, C)の受精率を比較検討した結果から、雌蛾および蛹期間の低温処理による卵の耐寒性の向上を示す確実な現象は認められなかった。この結果から、雌蛾の冷蔵は、卵の耐寒性を高めるハードニングの効果はないものと考えられる。

次に、大造雌にTWI雄を交配した実験区(第5表)において、各区に多数の白卵が出現したことは注目し値する。本来なら正常色卵雌と第2白卵雄との交配によるF₁卵から、劣性の第2白卵(w₂)は出現しない。この例外型白卵は、父親の劣性形質を呈することから、2精子の合一によるandrogenesis現象に基づくものと推察された。翌

第3表 5℃、0℃、-5℃、-10℃における受精率

日数	品種				大造 × Hy			
	5℃	0℃	-5℃	-10℃	5℃	0℃	-5℃	-10℃
1	94.6%	92.0%	92.7%	50.9%	96.8%	89.6%	85.5%	41.3%
3	82.2	73.9	65.9	49.3	77.9	57.2	55.3	32.2
5	63.2	86.8	39.8	41.9	69.1	66.8	34.8	28.0
7	65.9	91.4	29.7	42.0	47.7	78.4	29.5	22.8
9	31.8	90.2	61.4	41.0	52.6	89.4	37.4	41.2
11	72.6	79.1	19.9	48.2	59.6	78.4	26.1	35.6
13	67.6	68.7	21.0	25.3	60.8	78.5	17.8	37.1
15	54.4	41.1	18.7	8.2	55.7	54.5	11.8	29.5
17	47.8	36.7	18.8	13.0	55.8	46.8	15.3	13.8
19	45.7	32.4	15.6	4.0	51.3	37.9	14.2	1.5
22	37.3	15.0	9.5	3.4	68.0	12.2	16.2	3.5
25	44.2	8.9	12.8	0.8	52.1	12.0	11.1	12.1
29	49.9	3.4	7.3	1.0	50.7	2.9	37.6	0.2
32	42.6	10.5	8.7	0	24.2	12.1	10.7	3.2
35	46.8	1.5	4.2	0	24.4	1.5	16.1	1.4
40	37.1	2.3	6.0	0	33.2	13.1	3.3	0
45	56.3	3.8	0.2	0	15.0	8.4	0.3	0
50	45.1	2.9	0.4		36.9	12.9	9.4	0
55	49.5	3.3	0		43.5	4.9	0.7	
60	42.3	0.9	0.1		16.4	4.6	0	

第4表 ハードニング処理卵の受精率

温度 区 日数	5℃			0℃			-5℃			-10℃		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
1	98.8%	96.3%	94.2%	74.5%	81.8%	37.6%	93.2%	67.3%	71.1%	28.3%	1.2%	2.1%
3	93.8	85.6	82.6	11.5	52.6	22.4	44.2	25.9	23.8	8.4	0.9	0.3
6	46.1	79.3	58.1	22.3	43.3	23.0	15.2	12.0	28.3	9.7	15.8	18.5
9	35.3	85.8	34.5	10.2	56.0	28.4	9.5	8.7	37.0	10.7	12.4	14.4
12	37.4	77.9	11.7	61.8	66.0	24.2	1.1	8.0	35.8	1.6	21.0	11.6
15	62.1	86.8	8.8	57.3	35.6	40.8	12.8	19.5	15.6	9.2	9.4	20.4
18	70.9	85.7	7.2	26.7	5.9	22.5	15.7	15.3	25.6	4.2	4.4	29.0
21	17.1	78.1	1.6	5.2	7.4	19.6	5.6	10.1	27.8	2.5	0.6	5.8
24	20.7	64.7	6.9	1.6	12.6	10.5	7.0	8.3	15.4	1.2	5.5	0.5
27	25.8	71.4	1.2	1.8	1.3	6.0	10.6	20.7	15.8	0	0	0
30	12.5	37.0	3.7	0.1	0.9	1.5	3.5	7.1	10.7	0	0	0
33	36.0	45.2	0.6	0.2	0.1	4.8	5.6	1.6	5.6	0	0.2	0
36	67.5	—	7.3	0.6	3.4	0.1	8.7	28.9	1.7	0	0	0
39	55.8	4.0	25.7	3.5	3.1	0	8.1	18.9	0.9	0	0	0
45	62.5	—	9.0	0	0	0	3.1	14.1	0			
50	39.9	—	6.5	0	0.5	0	0.5	1.2	0.2			
55	16.0		4.8	0	0	0	0	0	2.0			
60	—		—	0	0	0	0	0	4.1			

A：羽化当日の蛾の卵（対照）

B：羽化後雌蛾を5℃に6日間冷蔵

C：化蛹2日目から10℃に10日間冷蔵

第5表 ハードニング処理卵の受精率

供試卵 大造×TW₁ (^{+w₂/+w₂, +ch/+ch} × ^{w₂/w₂, ch/ch})

温度 受精卵 日数	5℃		0℃		-5℃		-10℃	
	+	w ₂	+	w ₂	+	w ₂	+	w ₂
1	90.0%	4.1%	61.5%	0%	90.2%	0.2%	1.1%	0%
3	78.6	1.6	36.9	2.3	26.1	0.4	4.8	0
6	70.0	3.6	52.2	24.1	17.9	1.7	3.5	0
9	80.0	3.0	36.3	37.8	3.7	0	7.1	0.4
12	63.0	7.5	19.8	19.8	7.6	16.0	17.6	1.2
15	80.0	5.9	28.5	13.8	24.1	2.0	1.5	4.2
18	49.4	2.1	10.5	39.4	10.4	1.1	2.4	0
21	77.9	9.8	0	25.3	11.7	3.9	0	0
24	—	—	3.6	4.3	12.1	3.9	0.5	0
27	—	—	2.0	11.4	24.0	1.8	0	0
30	—	—	0	5.8	2.8	2.2	0	0

大造雌蛾5℃に8日間冷蔵

春これら白卵を催青したが、大部分は全然発育せず致死した。たゞ0℃処理区に出現した若干の白卵は、胚子が発達して催青卵になり、孵化個体はえられなかったが、その蟻蚕体色は明らかに赤蟻

(ch)で、父親と同じ劣性形質を呈した。この事実から、この例外型白卵は2精子の合一による androgenesis 個体であることがほぼ確認され、低温処理によって androgenesis が誘起されること

が推測された。

考 察

1. 卵の初期発生段階と低温抵抗性

蚕の産下直後の発生初期卵の低温抵抗性については、室賀(1947)は産下直後(5分以内)が最も強く、1時間後、2時間後と順次抵抗力が減少すると報じている。また山口(1939)は、産下直後から70時間目までの卵に種々の刺激を与えて、生存卵および死卵を調べ、産下後2時間目が種々の障害に対し弱い時期であり、これを蚕卵標準抵抗曲線の第1降下点と呼んでいる。本研究において、発生初期卵の低温に対する抵抗性を調べた結果(第1図)、産下後0~60分間は強く、60~90分間が最も弱く、90分以後急激に抵抗性が增大する傾向が認められた。この結果から、発生初期卵の低温抵抗は、卵の発育段階と密接な関連性のあることが推察される。

蚕卵の発育段階については、佐藤(1926)と大槻、村上(1968)が細胞組織学的に詳細に観察しており、大槻らによれば、産下直後の卵核は第1成熟分裂の中期で、その終了は40分頃であり、まもなく第2成熟分裂が始まり100分頃で終了し、受精は140分頃であると報じている。このことと第1図から、抵抗性の強い時期(0~60分)は、第1成熟分裂の後期および第2成熟分裂の前期であり、最も弱い時期(60~90分)は第2成熟分裂の中期で、最も分裂の活発な時期に相当し、90分以後抵抗性が增大するのは、第2成熟分裂が完了し、卵核は卵前核に分化し一種の静止期の状態にあるためと考えられる。このように、発生初期卵の低温抵抗性は、卵核の成熟分裂過程と密接な関連性があり、分裂相にある卵核は抵抗性が極めて弱く、前期や静止期の細胞相にある卵核は抵抗性が強いものと考えられる。

2. 発生初期卵の長期間冷蔵に対する抵抗性

発生初期卵の長期冷蔵に対する抵抗性については、高橋(1912)と梅谷(1955)の報告があるが、いずれも0℃以上の温度に関する研究で、0℃以下の温度に関する研究は、これまでにない。本実験の第3、第4、第5表の結果から、発生初期卵

の受精能力は、-20℃では2日間で完全に失い、-15℃では10日間、-10℃では30日間、-5℃と0℃では60日間位で失うが、5℃では60日間の冷蔵でも受精能力を失はず、40日前後で漿液膜細胞が淡褐色に着色し始め、冷蔵中に受精卵と不受精卵が区別できる。この現象は、5℃の温度下では受精作用が正常に行われることを示唆しており、梅谷(1955)の見解と一致した。またこの結果から、発生初期卵内の卵核と精核の耐える低温の限界は、-20℃前後と推定しえたが、0°~-15℃の温度下で、上述した期間卵核と精核が共に各々の低温に対して、抵抗性を有するという判断は下しえない。何故ならば、その後の実験で(第5表)、2精子の合一によると考えられる白卵が見出された。この現象から、発生初期卵内の卵核と精核の低温に対する抵抗性が異なることが推察された。この点に関しては、次の項で論議する。

3. 蚕卵に対するハードニングの効果

昆虫のハードニングの方法として、従来、温度処理が効果があると考えられている。しかしSalt(1953, 1956)は昆虫の過冷却能力がその変態によって甚だ変化することを知り、種々の非耐凍型に属する数種の昆虫の卵や幼虫を用いて、温度処理によるハードニングの効果を再検討したところ、温度処理はバツタの卵や小麦のクキバチ幼虫の過冷却点を変化させる作用はなく、ビートのメイガ幼虫では、処理温度と過冷却点との関係が不明瞭で、冷処理によって耐寒性がはっきり高められたのは寄生蜂 *Bracon cephi* の幼虫のみであった。この結果から、温度処理が直接昆虫の耐寒性に影響するのではなく、処理期間中に進行するかもしれない発生または変態によって、虫体の過冷却能力が変化するのであると推定した。

本研究において、雌蛾および蛹の冷処理による卵の耐寒性の影響を検討したが、第4表と第5表の結果から、確実にハードニングの効果があると考えられる現象は認められなかったので、雌蛾の冷蔵が卵の耐寒性を向上する効果はないものとする。しかし、第4表の-5℃処理区のA、B、Cの3区の冷蔵経過に伴う受精率を比較すると、A区(無処理)とB区(雌蛾を冷処理)では冷蔵55

日目で受精卵は出現しないが、C区(蛹を冷処理)では60日間の冷蔵によっても4.1%の受精率を示した。この事実から、蛹期間の冷処理によって卵の耐寒性が高められたとも考えられる。

次に正常卵雌と第2白卵雄の交配型(+/+× W_2/W_2)の実験区で(第5表)、各区にandrogenesis現象に由来すると考えられる W_2 卵が出現したことは、発生初期卵内の卵核と精核の低温に対する抵抗性を考察する上で、極めて興味深い点である。 W_2 卵の出現は処理温度および処理期間によって相違し、特に0°C区では、冷蔵6日目以後 W_2 卵の出現が高まり、30日間の冷蔵では正常色卵(正常受精卵)の出現率は0%を示したのに対し、 W_2 卵は5.8%の出現率を示した。-5°C区では W_2 卵の出現率は0°C区より低いが、30日間冷蔵では正常色卵2.8%、 W_2 卵2.2%の値を示した。この事実から、0°Cの温度では冷蔵30日間におよぶと卵核は受精能力を失うが、精核は生きのびていることを示唆し、また-5°Cの温度では、30日間の冷蔵でも卵核と精核は共に生存していることを示唆している。これは、発生初期卵の卵核の低温抵抗性は、0°Cと-5°Cの温度で明らかに相違することを意味する。また、以上の結果から、産下直後の卵内の精核が、2.5°C5日以上冷蔵で受精能力を失うという梅谷の見解には同意し難く、橋本の低温より卵核は崩壊するが、精核は生存するという見解が妥当と思われる。この点に関しては、今後の研究にまちたい。

摘 要

産下直後の卵核と精核の合体以前の発生初期卵の低温に対する抵抗性を明らかにするために実験を行ない、低温処理によってandrogenesisの誘発されることを見出した。その結果は次の如くである。

1. 発生初期卵の低温に対する抵抗性は、卵核の成熟分裂過程と密接な関係があり、第1分裂後期および第2分裂前期(0~60分)の卵は強く、第2分裂中期(60~90分)の卵が最も弱い。第2分裂後期(90分)以後急激に抵抗性が増大する。
2. 産下後60分以内の卵を種々の低温(5°~-

20°C)に長期冷蔵した場合の卵の受精能力は、-20°Cでは2日間、-15°Cでは10日間、-10°Cでは30日間、-5°Cと0°Cでは60日間位で消失する。5°Cでは60日間の冷蔵でも受精能力を失わず、40日前後で漿液膜細胞が淡褐色に着色し始め、冷蔵中に着色卵(受精卵)と不着色卵(死卵)とが区別できる。この事実から、5°Cの温度下では受精作用が正常に行われることは明らかである。

3. 発生初期卵(産下後60分以内)に致死的な影響をおよぼす低温の限度は、-20°C前後と考える。

4. 雌蛾の冷蔵によって卵の耐寒性は高められない。

5. 発生初期卵の低温処理によって、androgenesisが誘発される。

引用文献

- Aoki, K.(1962): Sci, Rept. Tohoku Univ. (Biol), 28, 29-36.
- 朝比奈英三(1958): 実験形態学新説(深谷昌次他2名共編), pp 92-113, 養賢堂, 東京.
- 橋本 春雄(1957): 蚕糸研究, 20, 11-113.
- 室賀兵左衛門(1947): 日蚕雑, 16, 20-25.
- 大槻良樹, 村上昭雄(1968): 動雑, 77, 383-389.
- Salt, R. W.(1953): Can. Ent., 85, 561-269.
- Salt, R. W.(1956): Can. J. Zool., 34, 283-294.
- 佐藤春太郎(1926): 農学会報, 284, 277-330.
- 高橋伊勢次郎(1912): 東京蚕講報告, 47, 63-89.
- 高見 丈夫(1952): 日蚕雑, 22, 181-184.
- 梅谷与七郎(1955): 遺 雑, 30, 133-138.
- 山口定次郎(1939): 日蚕雑, 10, 208-209.

On the Influences upon Supercooling Treatments
to the Silkworm Eggs, *Bombyx mori* L.

I. The Resistibility of Eggs of the Early Developmental Stages to the Low Temperature

Susumu Tamazawa

(Agricultural Experiment Farm, Faculty of
Agriculture, Hokkaido University, Sapporo Japan)

Summary

The resistibility of silkworm eggs from immediately after deposition to 150 minutes old in the low temperature conditions was investigated. In the process of this experiments, androgenesis was induced by the low temperature treatments to eggs of the early developmental stages. The results obtained were summarized as follows :

1. The resistibility of eggs in the early developmental stages (0~150 min) to low temperature ($5^{\circ}\sim-10^{\circ}\text{C}$) had a close relation with the process of maturation division of the egg nucleus. The eggs showed the high resistibility at the late stage of the first division and the early stage of the second division (0~60 min) and became the weakest at the middle stage of the second division (60~90 min). After the late stage of the second maturation division on the resistibility rapidly increased.

2. When the eggs of the early stage (0~60 min) were stored for a long period at various low temperatures, the fertilizing ability of the eggs was lost by the storage for two days at -20°C , for ten days at -15°C , for thirty days at -10°C , and for about sixty at -5°C or 0°C . Fertilization was performed normally at 5°C .

3. The critical low temperature which induced a fatal effect to the eggs of the early stages (0~60 min) seemed around -20°C .

4. The cold hardiness of eggs was not strengthened by the treatment of female moths with low temperature.

5. It was recognized that androgenesis was induced by the low temperature treatments to eggs of the early developmental stages.