



Title	蚕卵におよぼす過冷却の影響： 低温処理（ 2.5° ~ 15° ）によるandrogenesis およびモザイクの誘発
Author(s)	玉澤, 享
Citation	北海道大学農学部農場研究報告, 20, 145-152
Issue Date	1977-02-25
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/13350
Type	bulletin (article)
File Information	20_p145-152.pdf



[Instructions for use](#)

蚕卵におよぼす過冷却の影響

II 低温処理(2.5°～-15°C)による androgenesis およびモザイクの誘発

玉 澤 享

著者は前報(1977 玉沢)において蚕の発生初期卵の低温抵抗性について報告した。その実験過程で、低温処理によって androgenesis が誘起されることを見出した。しかし、その実験での標識因子は第2白卵(w_2)を用いたため、androgenesis 卵と不着色卵(死卵)との区別がや、困難であり、その結果、androgenesis の出現頻度を正確に測定しえなかったと思われる。そこで、今回この点を容易にするために赤卵因子を標識として、種々の低温(5°～-15°C)と androgenesis の出現との関係を検討した結果、その出現頻度は、処理温度、処理期間および処理開始時における卵令によって著しく相違することが明らかになったので、その大要を報告する。

本文に入るに先だち、本研究を進めるにあたり種々ご指導いただき、かつ本稿のご校閲をいただいた北海道大学農学部滝沢義郎教授に対し心からお礼申し上げます。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ます。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

実験材料は正常卵として大造、赤卵として ye 因子ホモの ye_9 を用いた。正常卵雌に赤卵雄を交雑し、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°～-15°C)に一定期間冷蔵後、それぞれ24°Cに保護し、処理卵の漿液膜細胞の着色状態を観察した。モザイク卵は、漿液膜細胞中に正常色素と赤色素を有する細胞が、明らかに混在

する卵のみをモザイク卵とした。

実験結果

1. 各種低温(5°～-15°C)における androgenesis およびモザイクの出現率

材料は正常卵雌に赤卵雄を交雑し、産下直後(10～40分)の卵を、5°, 2.5°, 0°, -5°, -10°および-15°Cの各温度に1日から13日間冷蔵後、それぞれ24°Cに保護し各処理卵の漿液膜細胞の着色状態を観察した。本来なら+/+♀× ye/ye ♂のF₁卵から赤卵(ye)は出現しない筈であるが、第1表に示す如く多数の赤卵が出現した。無処理区では全く赤卵は認められない。

第1表から明らかな如く各区における正常卵、赤卵の出現頻度は、処理温度と処理期間によって著しい差異が認められた。すなわち、5°C区では冷蔵経過に関係なくほとんど正常卵で赤卵の出現は低い。2.5°Cでは冷蔵4日目まで赤卵より正常卵の出現が高いが、5日目以後正常卵の出現が低下し、逆に赤卵の出現が急激に高まる。0°C区では2.5°C区と同じ傾向を示し、冷蔵3日目まで赤卵より正常卵の出現が高いが、4日目以後赤卵の出現が急激に高くなる。-5°Cでは冷蔵経過に伴って正常卵の出現は低下し、赤卵の出現が高まるが、2.5°Cと0°C区のように冷蔵4～5日目を境に正常卵と赤卵の出現頻度が、逆転するような傾向は見られない。-10°C区では4日目まで赤卵より正常卵の出現が高いが、5日目以後赤卵の出現が高くなる。-15°C区では1日目から正常卵より赤卵の出現が高く、9日目以後全部死卵になった。また各区に正常色と赤色のモザイク卵が出現したが、その出現頻度は不規則で、一定の傾向は認め

第1表 蚕卵の低温処理による赤卵の出現率

供試品種 大造×re9 (⁺/₊♀×^{re}/_{re}♂)

温度	卵色	日数												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
5℃	供試卵数	546	858	784	640	658	585	357	389	744	518	529	467	444
	正常卵%	76.2	77.0	83.2	68.8	48.0	64.4	56.9	65.8	48.5	60.8	46.3	50.1	52.0
	赤卵%	0.6	1.4	0.9	2.2	0.9	1.7	1.7	2.3	1.8	2.1	2.1	2.1	1.6
	モザイク%	0.4	0.4	1.5	1.4	0.2	0.7	1.1	1.0	0.8	0.6	0	0.2	0.2
2.5℃	供試卵数	901	890	939	1,124	736	981	483	701	694	731	812	464	519
	正常卵%	78.9	42.1	17.9	20.7	7.7	4.7	2.7	2.0	1.8	0.4	1.0	0.2	0.1
	赤卵%	0	0.7	2.5	7.8	18.1	11.3	51.1	52.3	51.2	62.9	61.7	50.6	60.1
	モザイク%	0	0	0.1	0.2	0	0.2	0	0	0.1	0	0	0	0
0℃	供試卵数	612	651	1,014	728	788	1,027	701	723	682	715	502	776	744
	正常卵%	66.8	30.6	27.6	12.6	9.9	7.3	7.7	1.9	7.2	4.9	2.8	1.8	1.5
	赤卵%	1.5	9.4	7.6	35.4	42.0	12.5	15.9	73.6	71.0	64.3	61.0	52.3	64.0
	モザイク%	0	0	0.5	4.3	0.8	3.1	3.6	1.4	2.1	1.5	1.2	1.0	0.4
-5℃	供試卵数	608	815	863	678	686	941	516	468	738	1,140	505	776	1,147
	正常卵%	90.3	67.4	42.5	57.1	46.4	39.2	30.8	31.2	24.3	19.7	16.6	11.0	13.6
	赤卵%	1.5	13.3	7.9	2.7	7.7	11.6	18.8	10.0	14.2	10.2	23.8	9.9	20.3
	モザイク%	1.6	0.6	1.2	0.5	0.3	0.5	0.8	1.5	1.2	0.9	0.2	0.3	0.3
-10℃	供試卵数	550	767	1,001	1,520	722	1,086	1,332	1,267	888	589	555	349	780
	正常卵%	22.4	32.6	34.4	30.9	14.5	5.3	5.4	4.2	1.2	3.1	2.2	0	1.3
	赤卵%	4.4	4.0	7.3	24.7	24.7	12.6	20.5	16.7	6.4	10.5	38.4	2.0	12.7
	モザイク%	0	0	0.4	0.6	0.7	0.2	0.6	0.1	0.5	0.5	0.2	0	0
-15℃	供試卵数	1,462	1,504	1,336	1,057	1,056	1,547	1,623	1,865	1,975				
	正常卵%	0.8	0.5	1.4	2.0	1.5	0.4	0	0	0				
	赤卵%	27.6	35.4	27.6	17.0	11.1	3.8	1.6	0.4	0				
	モザイク%	0	0	0.2	0.6	0.1	0	0	0	0				

られない。

本実験でえられた例外型赤卵は、田島(1939)の高温処理の場合と同様に2精子の合一によるandrogenesis現象に基づくものと推定した。またモザイク卵は、同一卵内に卵核と精核の合体した正常受精核と精核相互の合体した特殊な受精核との混在に起因するものと推定した。

ところで、本実験でえられた著しい事実は、蚕卵の低温処理のみによってandrogenesisおよびモザイクの誘起が確認されたこと、さらにその出現頻度が、処理温度および処理期間によって著し

い差異が認められたことである。特に、2.5℃区と0℃区において、冷蔵4～5日目を境に赤卵の出現が急激に高まるが、0℃より低温の-5℃区においてはこのような傾向が見られず、冷蔵13日目の正常卵の出現率は、2.5℃区では0.1%、0℃区では1.5%の値を示したのに対し、-5℃区では13.6%を示し、2.5℃区と0℃区より極めて高い値を示した。この事実から、2.5℃と0℃の温度下では、卵内の卵核が何らかの要因により、冷蔵4～5日目を境に受精能力を失うが、-5℃の温度下では、卵核は受精能力を有していることを示唆して

おり、極めて興味深い点である。

2. 卵发育段階と androgenesis およびモザイク出現率との関係

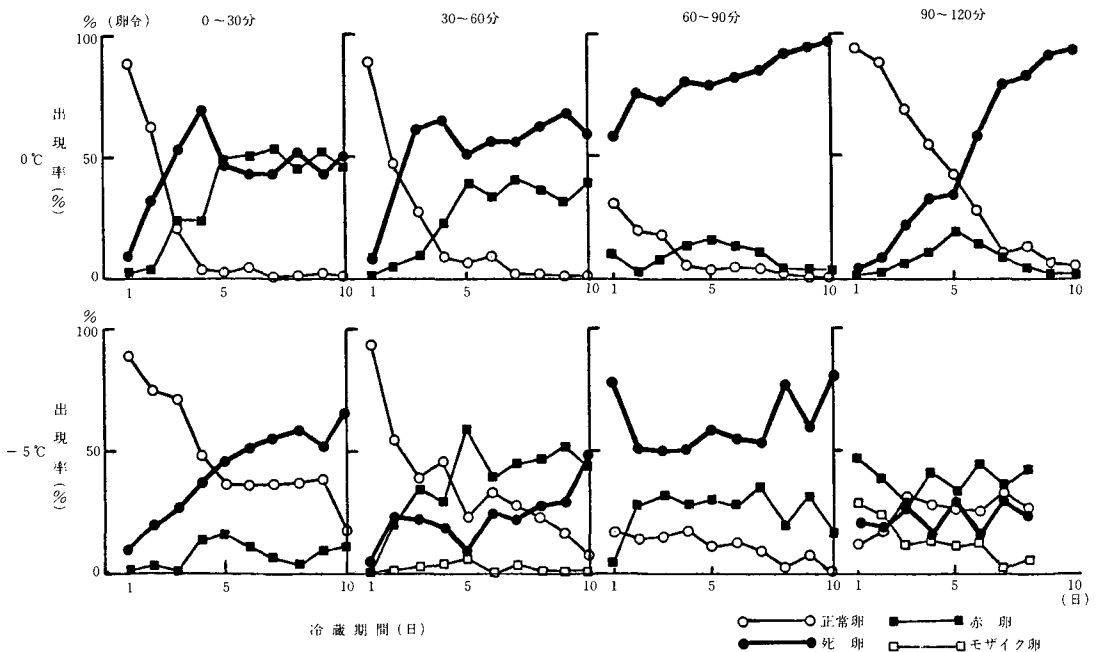
前実験で、赤卵の出現頻度は、 -5°C および 0°C との間に著しい差異が認められたので、この原因を知るために、まず冷蔵開始時における卵令と赤卵出現率との関係を調べた。

材料は前実験と同じ交配型のF₁卵を用い、産下直後から240分までは30分毎に、240分から480分までは60分毎に12段階の区を設け、これを 0°C と -5°C に1日から10日間冷蔵したのち、常法通り処理卵の着色状態を観察し、卵令と赤卵およびモザイク卵の出現率との関係を調べ、その結果を第1-1~3図に示した。

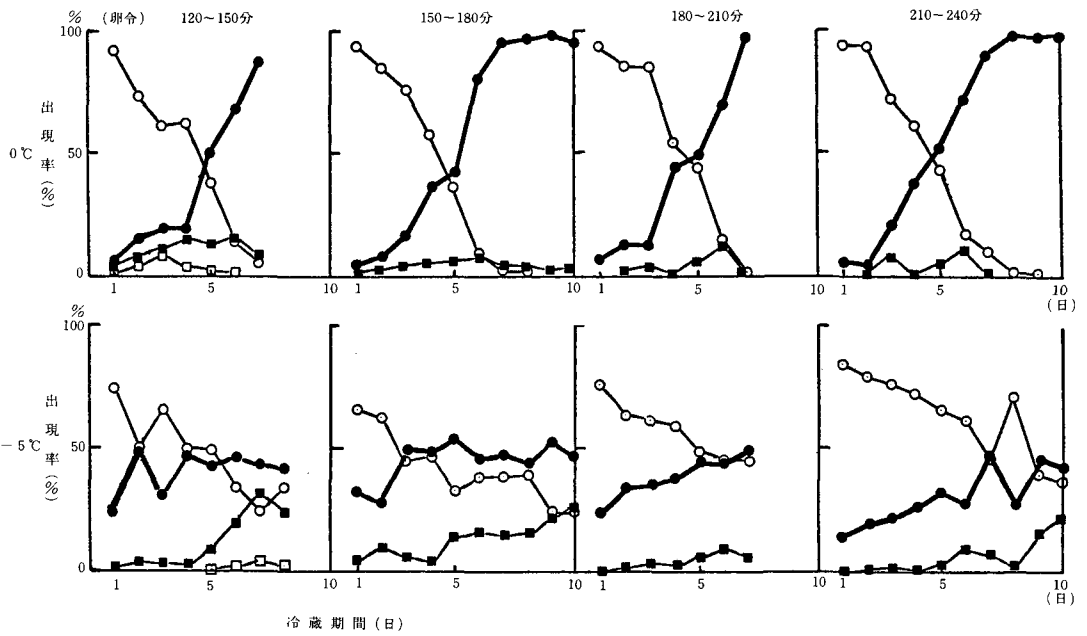
第1-1~3図から明らかな如く、 0°C 区と -5°C 区における正常卵、赤卵、モザイク卵および死卵の出現頻度は、卵令および冷蔵経過によって著しく相違する。

まづ 0°C 区では、卵令0~30分および30~60分の間は、前実験(第1表 0°C 区)と同様に、冷蔵4日目を境に正常卵の出現が急激に低下し、赤

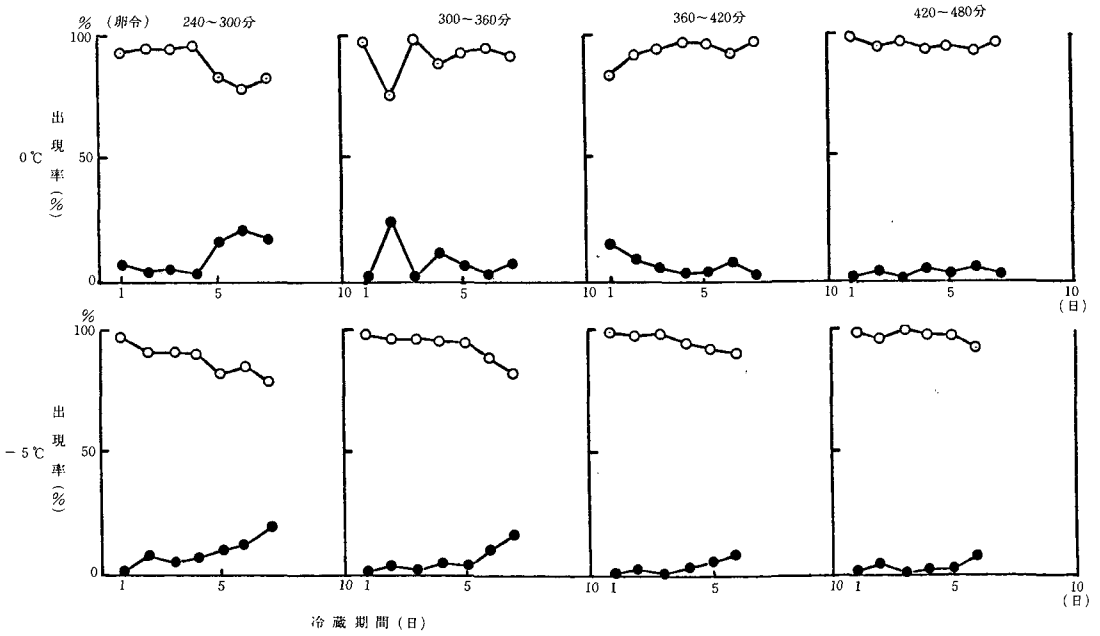
卵の出現が高まる。60~90分の間は、冷蔵1日目から死卵の出現が高く、正常卵と赤卵の出現は低い。90~240分の間は冷蔵経過に伴って赤卵の出現がやゝ高まるが、0~60分間のような傾向は見られない。しかしながら、冷蔵4~5日目を境に正常卵の出現は低下し、死卵の出現が高くなる。240分以後は赤卵が出現せず正常卵のみとなり、また冷蔵経過に伴う死卵の出現は、90~240分間におけるような傾向は見られない。これに対して -5°C 区では、卵令0~30分の間は前実験結果(第1表 -5°C 区)と同様に、冷蔵経過に伴って正常卵の出現が低下し、赤卵の出現が高まるが、 0°C 区におけるような傾向は見られない。30~60分の間は 0°C 区と同じ傾向を示し、冷蔵5日目を境に正常卵より赤卵の出現が高くなる。60~90分の間は冷蔵1日目から死卵の出現が高く、また正常卵より赤卵の出現がやゝ高いが、いずれも冷蔵経過によって変化せず平均した出現率を示した。90~120分の間は、赤卵とモザイク卵の出現が冷蔵1日目から高く、赤卵の出現率は1日目50%で、平均45%の高率を示した。またモザイク卵も



第1-1図 卵令0~120分の卵における赤卵、モザイク卵、正常卵および死卵の出現率



第1-2図 卵令120~240分の卵における赤卵, モザイク卵, 正常卵および死卵の出現率



第1-3図 卵令240~480分の卵における赤卵, モザイク卵, 正常卵および死卵の出現率

1日目24%で、冷蔵経過に伴いや、低下したが、平均15%の高率を示した。正常卵と死卵の出現は冷蔵経過によってあまり変化せず、平均した出現率を示した。120~240分間は、冷蔵経過が長くなるに従って正常卵の出現が低下し、赤卵の出現が高くなる傾向を示し、また死卵も冷蔵経過によってや、高くなるが、0℃区におけるような極端な傾向は認められない。240~300分の間においても僅かに赤卵は出現した。300分以後は正常卵のみで、冷蔵経過による変化は認められない。

以上の結果から、0℃と-5℃処理による赤卵とモザイク卵の出現頻度は、処理開始時における卵令と処理期間によって著しく相違することが判明した。

考 察

蚕の androgenesis およびモザイクの誘発に関しては、高温(橋本1934, 田島1939, 1947, Astaurov 1957), 遠心力(川口1938), 炭酸ガス(Tazima 1967) および Nitrogen mustard (仲尾1956) 等が用いられ幾多の成果があげられているが、低温処理による研究は極めて少い。室賀(1947)は産下直後の卵を0℃に処理してえた異常蚕について報じているが、androgenesis とモザイクに関しては詳細な記載はない。他の動物においても低温処理による androgenesis およびモザイクの誘発に関する研究は少く、最近 Heemert (1973)は、タマネギバエ *Hylemya antiqua* の卵の低温処理(4℃)による androgenesis について報じ、また Humphrey と Fauhouser (1956)は、サンショウウオの一種の *Maxican axolotl* の卵の低温処理(0~3℃)による androgenesis について報じている。これらの供試温度はいづれも0℃以上で、0℃以下の温度を用いた研究は、これまでに全く見当らない。

本実験で(第1表)、発生初期卵の低温処理(2.5℃~-15℃)により androgenesis およびモザイクが誘発できることを見出した。その出現頻度は、第1-1~2図の結果から、処理温度、処理期間および処理開始時における卵令によって著しく相違することが明らかになった。この実験結果から

各々の出現頻度と卵令を考慮に入れて、androgenesis の形成は、2.5℃~0℃処理の場合は卵令0~60分の卵を4~5日間冷蔵が効果的であり、過冷却処理(-5℃, -10℃)の場合は、卵令90~120分の卵の1日間処理が最も効果的と考えられる。またモザイクの形成は、卵令90~120分の卵を1日間の過冷却処理が最も効果的と思われる。また過冷却処理における低温の限度は、第1表の結果から-10℃と考えられる。本実験でえた例外型の赤卵は、さきに推定したように2精子の合一による androgenesis 現象に基き、またモザイク卵(正常色と赤色)は、同一の卵内に正常の受精核と androgenesis 核との混在に起因するものと推定したが、これらの卵から孵化個体がえられなかったため、その生成機構を確証できなかった。この点に関しては、今後の研究で明らかにする。

本実験の結果(第1表, 第1-1~3図)から発生初期卵内の卵核、精核および受精核の低温抵抗性は、処理温度、処理期間および卵令によって著しく相違することが推察される。発生初期卵内の卵核と精核の低温抵抗性について梅谷(1955)と橋本(1957)の研究があり、梅谷(1955)は2.5℃5日間以上の冷蔵により精核は受精能力を失うと報じている。これに対して、橋本(1957)は2.5℃10日間の冷蔵で、卵核はこわれるが精核は生きのびると報じ、梅谷の見解と著しく相違する。この相違点に関して第1表の結果から次の如く推考した。すなわち、2.5℃区における正常卵と赤卵の出現率を比較すると、冷蔵1日目では正常卵のみで赤卵は出現しない。しかし、5日目頃から赤卵の出現が高くなり、10日目では正常卵0.1%に対し赤卵60.1%の高率を示した。この事実は、卵核は冷蔵経過に伴い受精能力を失うが、精核は生存していることを明らかに示唆している。従って産下直後の卵内の精核が、2.5℃に5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、橋本の低温に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考える。

本実験で極めて重要な点は、卵令0~30分の卵における赤卵の出現が、0℃を境にプラス温度下とマイナス温度下で極めて顕著な差異が認められ

たことである。第1表と第1-1図に示す如く、2.5°C~0°Cの温度では、冷蔵4~5日目を境に正常卵の出現が低下し、赤卵の出現が急激に高まる。これに対して-5°Cでは、赤卵より正常卵の出現が高い。この現象から、卵核の低温抵抗性は-5°Cの温度下より、0°C~2.5°Cの温度下の方が弱いことが推測される。また第1-1~2図から明らかなる如く、卵令90~240分間における死卵の出現率は、0°Cでは冷蔵4~5日目を境に死卵の出現が急激に高くなり、8日目ではほとんど死卵になる。しかし、0°Cより低温の-5°Cでは、このような傾向が見られず、10日目の正常卵の出現率は0°C区より極めて高い。この現象から、卵前核あるいは受精核の低温抵抗性も、-5°Cの温度下より0°Cの温度下の方が著しく弱いことが推測される。以上、2つの現象から、卵核、卵前核および受精核の低温抵抗性は、単なる低温自体の影響のみでなく、0°C~2.5°Cの温度下では、-5°Cの温度下と異なる生理的変化が、冷蔵経過に伴って卵細胞質、卵核、あるいは受精核に惹起されることが推察される。もし、卵細胞質が低温の影響によって障害を受け発生を阻害するとすれば、0°C~2.5°Cの温度より、-5°Cの温度の方が障害が大きくなり、また androgenesis も惹起しえない筈であるから、この原因は卵核あるいは受精核が何らかの要因によって損傷を受け致死するものと考えられる。それで、このような損傷を惹起する要因の一つとして、0°C~2.5°Cの温度下では、卵核および受精核の発生（成熟分裂あるいは卵分割）が極めて遅い速度で進行しており、その複雑な発生過程で、これらの核は低温の刺激を受け活力が低下して致死する。しかし、-5°Cの温度下では、これらの核の発生は一時的に停止するかあるいは抑制されるために生存しうるものと推考した。

ところで、蚕の発生初期卵内の卵核、および受精核の発育しうる最低温度に関しては、詳細な報告は全くないが、低温下における蚕卵胚子の発育に関して水野(1927)は、最長期前の若い胚子は0°Cおよび2.5°Cの温度下では、最長期まで発育しうると報じ、また、高見・戸谷(1966)は休眠をおぼえたばかりの卵は、0°Cでは活性化するが、

胚の発育は僅かに進むだけで、核分裂は全然起こらず、2.5°Cでは、活性化および胚の発育は進むが核分裂は起らず、5°Cでは活性化、胚発育および核分裂が共に進行すると報告している。これらのことと本実験の結果から推察して、発生初期卵内の卵核および受精核は、0°C~2.5°Cの温度下では極めて遅い速度であるが、その発育を停止せず継続しており、-5°Cの温度下では、これらの核の発生が一時的に停止するか抑制されるものと思われる。

蚕卵の初期発生卵におよぼす過冷却の影響に関する報告は、これまでに全くない。また他の動物においても、この種の研究は極めてまれで、酒井(1950)はエゾサンショウウヲ *Hynobius retardatus* の発生初期卵を過冷却処理し(-6°C2時間)、その発生状況から過冷却自体は卵にとって致命的でないが、2次的に発生段階によって異なった影響をおよぼし、また未受精卵を過冷却後媒精した場合、対照と同様な受精率を示し、正常に孵化したという興味深い報告がある。著者ら(滝沢・玉沢1960)も、未受精卵の卵核の抵抗性について、興味ある事実を得た。それは蚕蛾の耐寒性に関する実験で、0°Cに10日間冷蔵した雌蛾の受精率は54%を示し、また-10°Cに1日間冷蔵した雌蛾の受精率は77%の高率を示した。これに対して、第1表に示す如く、発生初期卵の0°C処理区10日目の正常卵の受精率は4.9%であり、また-10°C処理区の一日目の正常卵の受精率は22.4%で、明らかに未受精卵(母体内)を低温処理した場合の方が受精率が極めて高い。これは、従来考えられている未受精卵の卵核は第1成熟分裂の中期で、生理的には不活性の状態にあるが、発生初期卵の卵核は精子の浸入によって活性化され、そのために低温に対する抵抗性が弱くなったことに起因するものと考えられる。このように卵核の低温抵抗性は、活性化の状態では弱く、不活性の状態では強いことが推定される。村上(1972)は、蚕の成熟分裂期の卵母細胞の放射線感受性は分裂相にある細胞は高く、前期や静止期の細胞は低いことを明らかにしている。

また発生初期卵内の精核の低温抵抗性も卵核と同様に時期的に差異があると考えられる。それは第

1-1 図から明らかな如く、卵令 60~90 分間の卵は、冷蔵 1 日目から死卵の出現が高く、正常卵と赤卵の出現が極めて低い。この時期の卵核は第 2 分裂の中期で、低温抵抗性が最も弱い時で致死する確率が高い。それで、もし精核が健全であるならば、卵令 30~60 分および 90~120 分の卵と同様に赤卵の出現が高くなる筈である。この事実から、この時期の精核も卵核と同様に低温抵抗性が最も弱いものと思われる。佐藤 (1942) は高温処理卵の卵核、極体および精核の高温に対する反応を細胞学的に観察し、卵核は精核より高温抵抗性が極めて弱く、また精核の抵抗性も時期的に差異のあることを指摘している。

以上の諸現象に対する考察を総括して、発生初期卵の卵核、精核および受精核の低温抵抗性は、各々の核の発生段階によって相違し、卵核は精核より抵抗性が著しく弱いことが推定された。特に、0°C を境にプラスの温度下とマイナス (過冷却) の温度下では、冷蔵経過に伴って、卵核、精核および受精核の低温抵抗性に顕著な相違が認められたが、これは、前者の温度下ではこれらの核の発生が極めて遅い速度で継続されるが、後者の温度下では、その発生が一時的に停止するか抑制されたことに起因するものと推定された。この点に関しては、細胞学的追究によって明らかにしたい。

摘 要

発生初期卵の低温処理 (2.5°~ -15°C) によって androgenesis およびモザイクの誘発されることを見出した。さらに、androgenesis の出現状況から、発生初期卵内の卵核、精核および受精核の低温に対する抵抗性を検討した。その結果は次の如くである。

1. 発生初期卵の低温処理 (2.5°~ -15°C) によって、androgenesis およびモザイクが誘発しうる。その出現頻度は処理温度、処理期間および処理開始時における卵令によって著しく相違する。

2. androgenesis の形成は、卵令 0~60 分の卵を 0°C~2.5°C に 4~5 日間冷蔵するか、あるいは 90~120 分の卵を 1 日間過冷却処理を行なうのが

効果的である。モザイクの形成は、卵令 90~120 分の卵を 1 日間過冷却処理を行なうのが最も効果的である。

3. 発生初期卵の卵核と精核の低温に対する抵抗性は、各々の発生段階によって相違し、卵核は精核より抵抗性が極めて弱い。

4. 発生初期卵の卵核、卵前核および精核の低温抵抗性は、0°C を境に 0°~2.5°C の温度下と過冷却 (-5°~-10°C) の温度下では、冷蔵経過に伴って著しい相違がある。これは、前者の温度下では、これらの核の発生 (成熟分裂あるいは卵分割) が極めて除々に継続されるが、後者の温度下では、過冷却によってこれらの核の発生が一時的に停止するかあるいは抑制されることに起因するものと推定した。

5. 未受精卵 (母体内) は、発生初期卵 (0~60 分) より低温抵抗性が強い、これは卵核の活性化と関連性があるものと考えられる。

引用文献

- Astaurov, B. L. (1957) : Proc. Zool. Soc. Calcutta. Mookerjee Mem. 1, 29-55.
 橋本 春雄 (1934) : 蚕試報, 8, 455-464.
 Heemert, C. Van (1973) : Nature, 240, 527-535.
 Humphrey, R. R. and Fankhauser, G. (1957) : J. exp. Zool. 134, 427-447.
 川口 栄作 (1938) : 遺雑 14, 262-263.
 水野辰五郎 (1920) : 蚕試報・4, 205-262.
 村上 昭雄 (1972) : 動雑 81, 41-48.
 室賀兵左衛門 (1947) : 日蚕雑, 16, 20-25.
 仲尾 善雄 (1956) : 動雑, 65, 170-171.
 酒井 昭 (1950) : 低温科学, 51, 109-114.
 高見丈夫, 戸谷和夫, 杉山八郎, 北沢敏男, 神田俊男 (1966) : 蚕試報 20, 57-69.
 滝沢義郎・玉沢 享 (1960) : 日蚕東北講要 11, 39-41.
 田島弥太郎 (1939) : 遺雑, 15, 111-117.
 田島弥太郎 (1947) : 蚕のモザイク・北隆館, 東京.
 Tazima, Y and Onuma, A (1967) : J. Sericult. Sci. Japan 36, 286-292.

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

II. Androgenesis and Mosaic Induced by the Low Temperature Treatments

Susumu Tamazawa

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

Summary

Androgenesis and mosaic were induced by the low temperature treatments (2.5°C ~ -15°C) to silkworm eggs of the early developmental stages. And the resistibility of egg nucleus, sperm nucleus and fertilized nucleus of silkworm eggs in the early developmental stages was investigated by using androgenesis induced as a marker. The results obtained were summarized as follows :

1. Androgenetic eggs and mosaic eggs were obtained by the application of low temperature (2.5° ~ -15°C) on the eggs of the early stages (0~240 min). The percentage of such eggs was quite different according to the conditions ; temperature, period of the treatment, or the stage when the treatment was applied.

2. The most effective method to induce androgenesis was the storage of eggs within 60 minutes after deposition at 0° to 2.5°C for 4 to 5 days, or the other effective method was to treat the eggs by supercooling for 1 day from 90 to 150 minutes after deposition. Mosaic eggs were induced most effectively by supercooling the eggs at the stage from 90 to 150 minutes after deposition for 1 day.

3. The resistibility of the egg nucleus and the sperm nucleus against low temperature was different for egg ages, and the egg nucleus was much weaker than the sperm nucleus.

4. Egg nuclei, egg pronuclei and fertilized nuclei showed a different sensitivity, when they were cooled at the temperatures over and below 0°C. At 0°C to 2.5°C, the activity of these nuclei decreased after the storage for 4 to 5 days and most of them perished on the tenth day. On the other hand, these nuclei survived after supercooling at -3°C to -10°C for 10 days. It was suggested, therefore, that the development of these nuclei (maturation division or cleavage) proceeded, though quite slowly, under the condition over 0°C, while the development was temporarily stopped or suppressed by supercooling.

5. Unfertilized eggs showed a higher resistibility against low temperature than fertilized eggs. This suggested the relation between the decrease of the resistibility to low temperature and the activation of the egg nucleus.