



Title	家蚕の化蛹直後の除脳による異常精子細胞囊の誘起
Author(s)	勝野, 貞哉; KATSUNO, Sadaya
Citation	北海道大学農学部邦文紀要, 10(2), 176-181
Issue Date	1977-01-25
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/11890">https://hdl.handle.net/2115/11890</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	10(2)_p176-181.pdf



# 家蚕の化蛹直後の除脳による 異常精子細胞囊の誘起

勝野貞哉

(北海道大学農学部蚕学教室)

(昭和51年5月10日受理)

Induction of the abnormal spermatidal cysts by extirpation  
of the brain immediately after pupation  
in the silkworm, *Bombyx mori* L.

Sadaya KATSUNO

(Laboratory of Sericulture, Faculty of Agriculture,  
Hokkaido University, Sapporo, Japan)

(Received May 10, 1976)

家蚕の化蛹直後の除脳により、異常精子束が生じることは、小林・波島(1967)により報告されており、また勝野(1969)も同処理により精巢は肥大し、かつ異常精子束がみられることを報告しているが、無核精子束と有核精子束とを区別した上での、詳細な検討はされていない。著者は、化蛹直後の除脳により、異常無核および異常有核精子細胞囊が誘起されることを明らかにしたので、その結果を報告する。

本文にはいるに先き立ち、種々ご指導をいただき、さらに本稿のご校閲を賜わった北海道大学農学部滝沢義郎教授に厚くお礼申し上げます。

## 材料および方法

供試した蚕品種は支124×日124である。化蛹直後に除脳を行なって生じた貯精囊未発達のいわゆる永続蛹の精巢を、処理後52日目までの間に適宜取り出し、また同処理後、17~60日の間に羽化した成虫の精巢を羽化直後に取り出し組織学的観察を行なった。なお対照として、無処理蚕の化蛹直後から成虫に至るまで、および化蛹直後に頭部創傷を施し、除脳を行なわないものについて、処理後成虫に至るまでの精巢を用いた。精巢はブアン液で固定し、デラフィールドヘマトキシリンとエオシンとの複染色を施した。なお、正常蚕でも異常精子細胞囊ないし異常精子束が認められるが、これは除脳の如何にかかわらず形成されるもので、今回は、除脳の結果生じた異常精子細胞囊についてのみ報告する。

## 結 果

最初に、化蛹直後の除脳により生じた異常精子細胞囊を、次のとおり区別した。

### 1. 異常無核精子細胞囊

対照無処理蚕の化蛹7日目における、精室下部の成熟無核精子束は、有核精子束の長さの約1/2で淡褐色を呈し、散在核はすでに精室内に放出されていて観察されない(Fig. 1)。異常無核精子細胞囊は、ほぼ円形で、染色性および囊内の精子の状態から、A1, A2, A3およびB1, B2タイプに区別した。

A1タイプ 精子細胞囊は淡褐色を呈し、囊内には淡黒色の小顆粒ないし断片状の精子が存在する(Figs. 3, 9, 10)。

A2タイプ A1タイプの精子細胞囊が茶褐色を呈したものの(Figs. 3, 10)。

A3タイプ A1タイプの精子細胞囊が濃茶褐色を呈したものの(Fig. 6)。

B1タイプ 精子細胞囊は淡褐色を呈し、囊内には黒紫色の萎縮状精子が存在する(Fig. 8)。

B2タイプ B1タイプの精子細胞囊が茶褐色を呈したものの(Figs. 8, 9, 11)。

### 2. 異常有核精子細胞囊

対照無処理蚕の化蛹7日目における、精室内の成熟有核精子束は、淡赤色で細長く、頭部に核が規則正しく配列している(Fig. 2)。異常有核精子細胞囊は、精子細胞

囊の形態、染色性および囊内の精子の状態から、CおよびDタイプに区別した。

Cタイプ 精子細胞囊は、やや細長く不規則形で淡赤色を呈し、囊内に淡黒色の小顆粒ないし断片状の精子が存在する (Figs. 4, 12)。

Dタイプ 精子細胞囊は、細長くて正常な成熟有核精子束の状態に近いが、全体が萎縮して茶褐色を呈し、囊内に茶褐色の萎縮状精子が存在する (Figs. 5, 6, 10)。

以上のタイプを基準とした観察結果は、次のとおりである。

### 1) 永続蛹の精室内異常精子細胞囊

#### (1) 異常無核精子細胞囊

散在核放出後の正常形態の成熟無核精子束は、除脳後10～15日目に精室下部に堆積しはじめ、この頃から、異常精子細胞囊がみられる。すなわち、15日目には、下部にA1タイプが僅かみられ、20日目には、A1タイプは中・下部の大部分を占める。散在核放出後の正常形態の成熟無核精子束は、対照の無処理および頭部創傷蚕の成虫と同様に、精室の基底膜上および側方内膜周辺基部に僅かみられるにすぎず、この状態は、20日目以降の永続蛹においても変りない。25日目には、中部に位置するA1タイプの一部はA2タイプとなる。30日目にはA2タイプは多少増加し (Fig. 3)、中部に崩壊状を呈する異常無核精子細胞囊がみられる。35日目には、A1およびA2タイプは、中・下部のみならず上部にもみられ、上・中部に崩壊状を呈する異常無核精子細胞囊が存在する。40～52日目には、上・中部に崩壊状を呈する異常無核精子細胞囊が増加し (Figs. 5, 6)、また、A3タイプが精室内全体にわたってかなりみられる (Fig. 6)。B1およびB2タイプは、除脳後、いずれの蛹時期においてもみられない。

なお、精室内の散在核放出後の正常形態の成熟無核精子束は、除脳後の経過にかかわらず、小輪精管内への脱出はみられない (Fig. 7)。

#### (2) 異常有核精子細胞囊

正常形態の成熟有核精子束は、対照の無処理および頭部創傷蚕の蛹と異なり、精室基底膜上に集中することなく、精室下部から上部にかけて堆積している異常無核精子細胞囊を取り囲んで存在し、これに混在して異常有核精子細胞囊がみられる。すなわち、除脳後40～45日目に、Cタイプの異常有核精子細胞囊が稀にみられ (Fig. 4)、47～52日目には、Cタイプが多少増加するほか、Dタイプがみられるが (Figs. 5, 6)、崩壊状を呈するものはみられず、また、異常無核精子細胞囊に比べて、その数は著

しく少ない。

なお、精室内の正常形態の成熟有核精子束も、散在核放出後の正常形態の成熟無核精子束と同様に、小輪精管内への脱出はみられない (Fig. 7)。

### 2) 除脳後羽化した成虫の精室内異常精子細胞囊

#### (1) 異常無核精子細胞囊

A1タイプは、除脳後20日目に羽化した成虫では精室下部に、25日目に羽化した成虫では、中・下部に僅かみられる。30日目に羽化した成虫では、中・下部のみならず、上部にも僅かみられ、また、上部に崩壊状を呈する異常無核精子細胞囊がみられる。35～40日目に羽化した成虫では、上部のみならず中部にも崩壊状を呈する異常無核精子細胞囊がみられる。50～60日目に羽化した成虫では、A1タイプのはかにA2タイプが、精室内全体にわたって僅かみられ (Fig. 10)、上・中部に崩壊状を呈する異常無核精子細胞囊がみられる。なおA3タイプはみられない。

B1およびB2タイプは、精室下部にみられるが、崩壊状を呈するものはない。すなわち、B1タイプは、除脳後20～30日目に羽化した成虫で僅かみられ、35日目に羽化した成虫では、B1タイプが多少増加するほか、B2タイプが僅かみられる (Fig. 8)。40～60日目に羽化した成虫では、量的には35日目に羽化した成虫の場合と変りないが、B1タイプの殆どのものはB2タイプとなる (Figs. 9, 11)。

なお、除脳後羽化した成虫の、精室内の散在核放出後の成熟無核精子束は、羽化の時期にかかわらず、対照の無処理および頭部創傷蚕の成虫と同様に、精室の基底膜上および側方内膜周辺基部に僅かみられるにすぎず、多数のものが、精室の基底膜通過の過程で解離し、個々の無核精子となって小輪精管内へ脱出している (Fig. 13)。

#### (2) 異常有核精子細胞囊

異常有核精子細胞囊は、永続蛹の場合と同様に、精室下部から上部にかけて堆積している異常無核精子細胞囊を取り囲む正常形態の成熟有核精子束に混じて僅かみられるにすぎない。すなわち、除脳後20～35日目に羽化した成虫ではCタイプが、40日目に羽化した成虫ではCタイプのほかにDタイプが、45～60日目に羽化した成虫では、CおよびDタイプが僅か増加するが (Figs. 10, 12)、崩壊状を呈するものはみられず、また異常無核精子細胞囊に比べて、その数は著しく少ない。

なお、除脳後羽化した成虫の、精室内の正常形態の成熟有核精子束は、羽化の時期にかかわらず、対照の無処理および頭部創傷蚕の成虫の場合と同様に、多数のもの

が、小輸精管内へ脱出している (Fig. 13)。

### 考 察

本実験における貯精囊未発達のはらばは、小林 (1957) のいわゆる永続蛹に該当するものであるが、解剖時に永続蛹とみなされても、この中には、生存を続けさせた場合には、後に至り羽化するものも含まれているものと考えられ、永続蛹日数と精室内の精子細胞囊との関係を調べるためには、均一な発育状態の永続蛹を用いる必要があり、その基準を貯精囊未発達のはらばにおいた。以下、永続蛹と除脳後羽化した成虫の、精室内の異常精子細胞囊について、さらに異常精子細胞囊の誘起の原因について考察する。

1. 永続蛹および除脳後羽化した成虫いずれの場合でも、異常無核精子細胞囊は異常有核精子細胞囊に比べて著しく多い。この理由は、町田 (1935) および須貝 (1965) の報告のとおり、除脳時期である化蛹直後は、有核精子束は大半が完成した状態まで発育がすすんでいるにもかかわらず、無核精子束は、精子形成が開始される時期に当たっているためと考えられる。

2. 永続蛹の異常無核精子細胞囊は、囊内に淡黒色の小顆粒ないし断片状の精子が存在し、除脳後羽化した成虫では、このほかに、囊内に黒紫色の萎縮状精子が存在する異常無核精子細胞囊がみられる。この事実は、永続蛹は、除脳後羽化した成虫に比べ、精子形成に対する除脳の影響が著しいことを示している。

3. 脳が精子形成に関与していることは、*Philosamia cynthia ricini* (宇尾 1958, 1961) および *Papilio Xuthus* (NISHITSUTSUJI-UWO 1961) で報告されており、家蚕では、小林・波島 (1967) および勝野 (1969) により報告されている。著者は、永続蛹および除脳後羽化した成虫いずれの場合でも、除脳後の経過時間が長いものほど、異常精子細胞囊が増加することを明らかにした。小林 (1957) は、化蛹直後に除脳を行なうと、脳ホルモンの不足をもたらし、前胸腺の活性化に長時間を必要とし、このためエクジソンの分泌量の減少ないし分泌の遅延をもたらし、蛹の状態のままか、または羽化に至るまでの蛹期間が長くなるものと推定している。したがって、脳除去→脳ホルモンの不足→前胸腺活性化の遅延→エクジソンの分泌量の減少ないし分泌の遅延 (蛹の状態のままか、あるいは羽化時期の遅延)→異常精子細胞囊の誘起の系列が思考される。

SCHMIDT and WILLIAMS (1953) は *Platysamia cecropia* および *Samia walkeri (cynthia)* の休眠蛹

の精細胞の培養を行ない、体液中のホルモンは、精細胞の分化を促進させる作用があることを報告している。その後、WILLIAMS and KAMBYSELLIS (1969) および KAMBYSELLIS and WILLIAMS (1971 a, b) は *Samia cynthia* の休眠蛹の精巢培養によって、培地にまぜた血液に含まれている高分子因子が、直接精巢中の精細胞に働いて精子形成をすすめ、 $\alpha$ -エクジソン、あるいは $\beta$ -エクジソンは、精巢被膜に作用して、高分子因子を通り易くするために働くことを報告している。一方、YAGI, KONDO and FUKAYA (1969) は rice stem borer の休眠幼虫から取り出した精巢に $\beta$ -エクジソンを直接作用させて、精子形成の促進を認めており、また TAKEDA (1972) は、*Monema flavescens* の休眠蛹から取り出した精巢を培養することにより、同様な見解を示しており、KURODA (1974) は *Drosophila melanogaster* の精巢断片を培養することにより、精子形成の初期の過程にはエクジソンが必要であり、後期の過程では必要としないことを報告している。以上の報告から、家蚕においても、高分子因子あるいはエクジソンが、精子形成に関与していることが考えられ、したがって、脳除去→高分子因子あるいはエクジソンの変性→異常精子細胞囊の誘起の系列が思考される。

しかし、現在までの段階では、以上の異常精子細胞囊誘起に至るまでの系列は推定にすぎず、今後、正常な精子束形成の問題を含めて検討を要する。

### 摘 要

家蚕の化蛹直後の除脳により生じた永続蛹、および同処理により羽化時期の遅延した成虫の精巢の組織学的観察を行なった結果、精室内に次の異常無核および異常有核精子細胞囊が認められた。

1. 永続蛹の精室内には、異常無核精子細胞囊としては、囊内に淡黒色の小顆粒ないし断片状の精子が存在する A タイプがみられ、精子細胞囊の染色性の低い順に、A1, A2 および A3 タイプに区別した。これらの異常無核精子細胞囊は、除脳後の経過に伴って増加し、精室下部から上部に向かって堆積し、上・中部に崩壊状を呈するものがみられる。

また、異常有核精子細胞囊としては、囊内に淡黒色の小顆粒ないし断片状の精子が存在する C タイプと、ほぼ完成した有核精子束の状態を呈するが、全体が萎縮状を呈し、囊内に茶褐色の萎縮状精子が存在する D タイプとがみられる。これらの異常有核精子細胞囊も、異常無核精子細胞囊と同様に、除脳後の経過に伴って増加するが、

精室下部から上部にかけて堆積している異常無核精子細胞囊を取り囲む、正常形態の有核精子束に混じて僅かみられるにすぎず、異常無核精子細胞囊に比べて、その数は著しく少ない。なお、崩壊状を呈するものはみられない。

また、精室内の正常形態の成熟無核および成熟有核精子束は、除脳後の経過の長短にかかわらず、小輸精管内への脱出はみられない。

2. 除脳後羽化した成虫の精室内には、異常無核精子細胞囊としては、A1およびA2タイプがみられるが、A3タイプはみられない。このほかに、囊内に黒紫色の萎縮状精子が存在するBタイプが精室下部に僅かみられるが、崩壊状を呈するものはなく、精子細胞囊の染色性の低い順に、B1およびB2タイプに区別した。また、異常有核精子細胞囊としては、CおよびDタイプがみられた。

以上の異常精子細胞囊は、遅く羽化した成虫ほど多く、またBタイプは別として、除脳後早く羽化した成虫から、遅く羽化した成虫に至るまでの、連続してみた成虫精室内の異常精子細胞囊の状態、すなわち、異常精子細胞囊の位置、崩壊場所および異常無核精子細胞囊と異常有核精子細胞囊との量的比率は、除脳後の永続蛹の経過に伴う、異常精子細胞囊の観察結果と、同様な傾向を有する。

なお、精室内の正常形態の成熟無核および成熟有核精子束は、羽化の時期にかかわらず、多数のものが、小輸精管内へ脱出している。

## 引用文献

- KAMBYSELLIS, M. P. and C. M. WILLIAMS (1971 a): *In vitro* development of insect tissues. 1. A macromolecular factor prerequisite for silkworm spermatogenesis. *Biol. Bull.* **141**: 527-540.
- (1971 b): *In vitro* development of insect tissues. II. The role of ecdysone in the spermatogenesis of silkworms. *Biol. Bull.* **141**: 541-552.
- 勝野貞哉 (1969): 家蚕化蛹初期の除脳が生殖巣の発育におよぼす影響. *北大農邦紀*, **6**: 383-389.
- 小林勝利 (1957): 家蚕の神経分泌に関する研究. *蚕試報*, **15**: 181-273.
- 小林勝利・波島千恵子 (1967): カイコ永続蛹の睪丸の組織学変化. *日蚕雑*, **36**: 248.
- KURODA, Y. (1974): Spermatogenesis in pharate adult testes of *Drosophila* in tissue cultures without ecdysones. *J. Insect Physiol.* **20**: 637-640.
- 町田次郎 (1935): 家蚕 *Bombyx mori* L. の精虫発達史, 特に細胞質内物質並に精虫形成に就て. *動雑*, **47**: 521-534.
- NISHITSUTSUJI-UWO J. (1961): Further studies on the developmental features of the male germ cells in the prospective diapausing and non-diapausing swallowtails, *Papilio xuthus*. *Annot. Zool. Japon.* **34**: 30-37.
- SCHMIDT, E. L. and C. M. WILLIAMS (1953): Physiology of insect diapause. V. Assay of the growth and differentiation hormone of Lepidoptera by the method of tissue culture. *Biol. Bull.* **105**: 174-187.
- 須貝悦治 (1965): カイコにおける精子二型の形成と精巣被膜のグリコーゲン. *動雑*, **74**: 276-282.
- TAKEDA, N. (1972): Effect of ecdysterone of spermatogenesis in the diapausing slug moth pharate pupa, *Monema flavescens*. *J. Insect Physiol.* **18**: 571-580.
- 宇尾淳子 (1958): エリサンの脳除去と生殖巣の発達. *日蚕雑*, **27**: 199-205.
- (1961): エリサンの除脳蛹および前半除去蛹に種々の内分泌腺を移植した場合の生殖巣の発達について. *日蚕雑*, **30**: 295-304.
- WILLIAMS, C. M. and M. P. KAMBYSELLIS (1969): *In vitro* action of ecdysone. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **63**: 231.
- YAGI, S., E. KONDO and M. FUKAYA (1969): Hormonal effect on cultivated insect tissues. I. Effect of ecdysterone on cultivated testes of diapausing rice stem borer larvae (Lepidoptera: Pyralidae). *Jap. J. appl. Entomol. Zool.* **4**: 70-78.

## Summary

Histological observations of the testes in the 'Dauer-pupa' and the brainless adult which were obtained by extirpation of the brain immediately after pupation were conducted.

1. In the testicular follicle of the 'Dauer-pupa' there existed abnormal apyrene spermatidial cysts of A type which were stained in brown and took a roundish form. Those cysts of A type contained small granules and fragmentary spermatozoa, stained in light black, or one of them in some cases. A type was divided into A1, A2 and A3 type according to the degree of stainability of the cysts with Delafield's haematoxylin and eosin. The smaller number showed the less stainability. Those abnormal apyrene spermatidial cysts in-

creased with the lapse of time after extirpation of the brain and moved toward the upper part from the lower part of the follicle, and thereafter a gradual disintegration of the cysts in the upper or middle part was seen, while a few normal apyrene sperm bundles were observed at the proximal part of the lateral wall and above the basement membrane in the follicle.

In the 'Dauer-pupa' there were abnormal eupyrene spermatidal cysts of C and D type which took an elongate form. The cysts of C type contained small granules and fragmentary spermatozoa stained in light black, or one of them in some cases and in the D type the shrunk spermatozoa stained in deep brown were seen. Those abnormal eupyrene spermatidal cysts increased with the lapse of time after extirpation of the brain just like the abnormal apyrene spermatidal cysts and were mixed in the normal eupyrene sperm bundles surrounding the abnormal apyrene spermatidal cysts which congregated in the upper part, but the abnormal eupyrene spermatidal cysts showed no sign of disintegration. The number of abnormal eupyrene spermatidal cysts was much smaller than that of abnormal apyrene spermatidal cysts.

The passage of the normal apyrene and eupyrene sperm bundles through the basement membrane of the follicle could not be observed even 52 days after extirpation of the brain.

2. In the testicular follicle of the brainless adult the abnormal apyrene spermatidal cysts of A1 and A2 type were observed but A3 type were not found. The abnormal apyrene spermatidal cysts of B type which were stained in brown and took a roundish form were observed in the lower part of the follicle and they showed no sign of disintegration. Those cysts of B type contained the shrunk spermatozoa which were stained in blackish purple. B type was divided into B1 and B2 type according to the degree of stainability of the cysts. Furthermore, the abnormal eupyrene spermatidal cysts of C and D type were observed.

The abnormality of the spermatidal cysts, apyrene or eupyrene, increased with the time after pupation in the 'Dauer-pupa' and with the prolongation of the pupal period before emergence in the brainless adult. The abnormal apyrene and eupyrene spermatidal cysts of the brainless adult were similar to those of the 'Dauer-pupa' in the situation, in the place of disintegration and in the quantitative ratio between abnormal apyrene and eupyrene spermatidal cysts, though B type was not seen in the latter.

In the brainless adult a large number of normal apyrene and eupyrene sperm bundles were observed in the vas efferens and a few of them remained in the follicle.

### Explanation of Figures

- Figs. 1-2.** The untreated pupa of control.
1. The 7th day pupa: Fully matured apyrene sperm bundles, which ejected small granule-like nuclei, in the lower part of the follicle.  $\times 370$ .
  2. The 7th day pupa: Fully matured eupyrene sperm bundles in the follicle.  $\times 370$ .
- Figs. 3-7.** The 'Dauer-pupa' obtained by extirpation of the brain immediately after pupation.
3. The 'Dauer-pupa' on the 30th day after extirpation: Abnormal apyrene spermatidal cysts in the lower part of the follicle (A 1 and A 2 type).  $\times 520$ .
  4. The 'Dauer-pupa' on the 45th day after extirpation: An abnormal eupyrene spermatidal cyst in the follicle (C type).  $\times 690$ .
  5. The 'Dauer-pupa' on the 50th day after extirpation: Abnormal eupyrene spermatidal cysts (D type) and a disintegrating abnormal apyrene spermatidal cyst (arrow) in the middle part of the follicle.  $\times 520$ .
  6. The 'Dauer-pupa' on the 50th day after extirpation: Abnormal eupyrene spermatidal cysts (D type), an abnormal apyrene spermatidal cyst (A 3 type) and a disintegrating abnormal apyrene spermatidal cyst (arrow) in the upper part of the follicle.  $\times 520$ .
  7. The 'Dauer-pupa' on the 50th day after extirpation: In the vas efferens spermatozoa were not found, but only secretory substance was present. The basement membrane was completed.  $\times 520$ .  
ve, vas efferens; s, secretory substance; bm, basement membrane.
- Figs. 8-13.** The brainless adult obtained by extirpation of the brain immediately after pupation.
8. The brainless adult which emerged on the 35th day after extirpation: Abnormal apyrene spermatidal cysts in the lower part of the follicle (B 1 and B 2 type).  $\times 470$ .
  9. The brainless adult which emerged on the 45th day after extirpation: Abnormal apyrene spermatidal cysts (A 1 and B 2 type) in the lower part of the follicle.  $\times 470$ .
  10. The brainless adult which emerged on the 50th day after extirpation: Abnormal apyrene spermatidal cysts (A 1 and A 2 type) and abnormal eupyrene spermatidal cysts (D type) in the upper part of the follicle.  $\times 520$ .
  11. The brainless adult which emerged on the 50th day after extirpation: Abnormal apyrene spermatidal cysts (B 2 type) in the lower part of the follicle.  $\times 520$ .
  12. The brainless adult which emerged on the 55th day after extirpation: An abnormal eupyrene spermatidal cyst in the follicle (C type).  $\times 760$ .
  13. The brainless adult which emerged on the 60th day after extirpation: Normal eupyrene sperm bundles and normal apyrene spermatozoa in the vas efferens.  $\times 270$ .  
eb, eupyrene sperm bundles; as, apyrene spermatozoa.





