



Title	蚕卵の過冷却処理による倍数体の出現 : 漿液膜細胞の大型化と倍数性との関係について
Author(s)	玉沢, 享; TAMAZAWA, Susumu; 滝沢, 義郎 他
Citation	北海道大学農学部邦文紀要, 10(4), 272-283
Issue Date	1977-09-30
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/11898">https://hdl.handle.net/2115/11898</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	10(4)_p272-283.pdf



# 蚕卵の過冷却処理による倍数体の出現

— 漿液膜細胞の大型化と倍数性との関係について —

玉 沢 享

(北海道大学農学部附属農場)

滝 沢 義 郎

(北海道大学農学部蚕学教室)

(昭和52年2月7日受領)

## On the Polyploid Induced by Supercooling Treatment of the Eggs of the Silkworm, *Bombyx mori* L.

The Relation between the Enlargement of the Serosa  
Cells and the Polyploidy

Susum TAMAZAWA and Yoshiro TAKIZAWA

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

(Received February 7, 1977)

蚕の倍数体誘発に関しては、高温(橋本1933)、低温(室賀1947)、低温と高温の併用(橋本1957)、遠心力(川口1935)、コルヒチン(広部1939)および温湯処理(ASTAUROV 1965)等が用いられ、幾多の成果があげられている。著者らは、産下直後の卵を過冷却処理して、多数の4倍体雌および雄を誘発させることが出来た。しかも、処理卵の漿液膜細胞の大きさで、倍数体を極めて簡単に識別しうることを発見したので、その大要を報告する。

### 材 料 と 方 法

供試材料は、北大農学部蚕学教室に系統保存されている re 9 と Tw 1 を用いた。その遺伝因子構造は次の通りである。

re 9: 黒蟻・黒縞・赤卵の各因子についてホモ  
(+ch/+ch・P<sup>s</sup>/P<sup>s</sup>・re/re・+w<sub>2</sub>/+w<sub>2</sub>)

Tw 1: 赤蟻・姫・第2白卵の各因子についてホモ  
(ch/ch・p/p・+re/+re・w<sub>2</sub>/w<sub>2</sub>)

#### 1) 過冷却処理法

re 9 と Tw 1 を相交叉雑し、室温(25°C)で30分間産卵せしめ、これを卵の発育段階の基準として、産下直後から種々の発育段階の卵を-10°Cに24時間処理したの

ち、25°Cに20時間保護して普通の即時浸酸処理を行ない、処理卵が着色したのち解剖顕微鏡下で、漿液膜細胞が大型で斉一な卵(第1, 2図)のみを撰び出し、これらの卵から孵化した個体について倍数性を検討した。

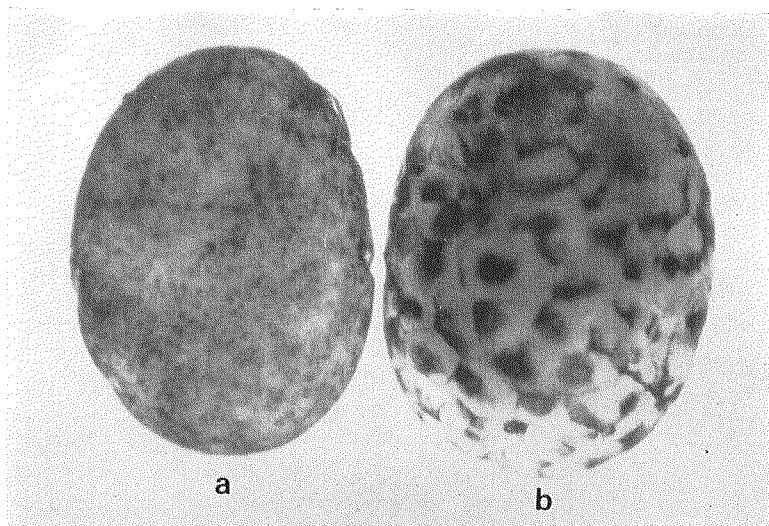
#### 2) 高温処理、遠心力処理およびコルヒチン処理法

- 高温処理: 種々の発育段階の卵を、40°Cに1時間処理した。
- 遠心力処理: 回転速度3500 R.P.M.をもって、種々の発育段階の卵を10分間処理した。
- コルヒチン処理: 広部(1939)の方法を用い、0.4%のコルヒチン水溶液を種々の段階の卵に塗布した。

以上の各処理卵から、過冷却処理の場合と同様に漿液膜細胞の大型卵を撰び出し、これらの卵から孵化した個体の倍数性を検討した。

#### 3) 漿液膜細胞の大きさ測定

各種の処理卵をカルノア液で固定し、顕微鏡下で0.225 mm<sup>2</sup>内の漿液膜の細胞数を数えた。細胞の大きさは卵の前極側と後極側とで、多少の相違が見られるので、正確を期すために卵表面の前極側と後極側の2箇所を測定し、その平均値によって細胞の大きさを比較検討した。



第1図 漿液膜細胞の大きさ (×10)

a. 正常卵 b. 漿液膜細胞大型卵

実験結果

A. 過冷却処理による漿液膜細胞の大型化と倍数性との関係

1. 漿液膜細胞大型卵における孵化および幼虫の状況  
 re 9 雌に Tw 1 雄を交雑し、産下後 90 分から 30 分毎に 210 分までの卵を 4 段階に区分し、前述の過冷却処理によってえた漿液膜細胞大型卵の孵化率および成虫率を第 1 表に示した。

第 1 表から明かな如く、孵化率は極めて低く催青死卵が多い。また孵化は不斉一で対照区と比較して 1~3 日遅れ、さらに幼虫の発育状況も対照区に比べて 2~3 日間外遅れるばかりでなく、稚蚕期中に発育不良蚕あるいは不眠蚕等が多数生じ、成虫まで発育しえた個体は極めて少ない。なお、これら幼虫の大きさおよび斑紋等の外形は、対照区の個体と比べて雌雄共に肉眼的には何ら差異は認められない。

2. 漿液膜細胞大型卵から発現した大形卵蛾区および異常受精蛾区

漿液膜細胞大型卵から発育した雌雄に、それぞれ父親と同じ劣性の Tw 1 を戻し交雑したところ、雌では極めて大形の卵を産下した蛾区と、また雄では受精率の異常な蛾区および不受精蛾区とが認められた。その結果を第 2 表に示した。

第 2 表から、雌では正常卵を産下した個体は少く、大部分が大形卵を産下した。その卵色分離は第 4 表に示す如く、正常卵蛾区は期待通り正常色卵と白卵が 1:1 の分離比を示したのに対し、大形卵区は正常色卵が白卵より極めて多く 5:1 に近い異常な分離比を示した。また雄においても正常受精蛾区は少く、受精率の極めて低い異常受精蛾区あるいは不受精卵蛾区が多く生じた。その卵色分離は、正常受精蛾区は期待通り正常色卵と白卵が 1:1 の分離比を示したが、異常受精蛾区は第 3 表に示す如く白卵より正常色卵が著しく多く、その平均受精率は 7.9%

第 1 表 漿液細胞膜大型卵の孵化率および成虫率

区記号	処理時期 (分)	漿液膜細胞大型卵				孵化率 (%)	成虫率 (%)
		調査卵数	催青卵数	孵化数	成虫数		
673 IS 1	90~120	285	185	100	33	35.1	11.6
673 IS 2	120~150	284	200	84	31	29.6	10.9
673 IS 3	150~180	212	182	62	24	29.2	11.3
673 IS 4	180~210	207	164	43	17	20.8	8.2

第2表 漿液膜細胞大型卵より発現した大形卵蛾区および異常受精蛾区

区記号	調査蛾数	♀		♂		
		正常卵区	大形卵区	正常受精区	異常受精区	不受精区
673 IS 1	♀ 22	0	22	0	7	4
	♂ 11					
673 IS 2	♀ 20	0	20	0	8	3
	♂ 11					
673 IS 3	♀ 14	3	11	5	3	2
	♂ 10					
673 IS 4	♀ 9	5	4	7	0	1
	♂ 8					

第3表 異常受精雄の受精率

区記号	調査蛾数	受精卵			不受精卵	合計	受精率 (%)
		+	w <sub>2</sub>	計			
673 S 1	7	93	48	141	2115	2256	6.25
673 S 2	8	114	79	193	2557	2950	7.02
673 S 3	3	120	28	148	946	1094	13.53
計	18	327	155	482	5618	6100	7.90

第4表 大形卵蛾区における卵色および斑紋の分離  
 $(+ch/+chP^s/P^sre/re+w_2/w_2 \times ch/chp/p+re/+rew_2/w_2) \times ch/chp/p+re/+rew_2/w_2$

区番号	卵色		+chP <sup>s</sup>		chP <sup>s</sup>		p		合計
	+	w <sub>2</sub>	♀	♂	♀	♂	♀	♂	
681 P 1	249	47	66	14	14	3	9	2	108
681 P 2	259	48	116	18	22	5	20	3	184
681 P 3	247	46	78	15	18	3	15	2	131
681 P 4	267	56	127	22	29	4	33	4	219
681 P 5	242	53	149	28	31	4	39	6	257
対照区	275	280	47	50	43	41	98	89	368

で、極めて低い。蚕では4倍体雌は大形卵を産下し、川口(1937)とASTAUROV(1967)によれば、4倍体雄の受精率は極めて低く0~50%の変異を示すという。これらの特徴から考えて、本実験の大形卵を産下した雌と異常受精および不受精の雄はともに4倍体であることが推察された。

3. 大形卵蛾区における常染色体因子の分離と性比

大形卵蛾区の一部を孵化せしめて、各因子の分離比お

よび性比を調べた結果を第4表に示した。

第4表から明らかな如く、各蛾区における蛾色、斑紋および性比は卵色因子の場合と同様に異常な分離を示し、優性個体は劣性個体より常に多く、また性比では雌が雄より著しく多い。それで第4表の結果を卵色、斑紋、蛾色および性比の各因子につき、実験数と理論値を比較して第5表に掲げた。

第5表から明らかな如く、各蛾区とも卵色(+ : w<sub>2</sub>)、斑

第5表 大形卵蛾区における常染色体因子および性染色体因子の分離

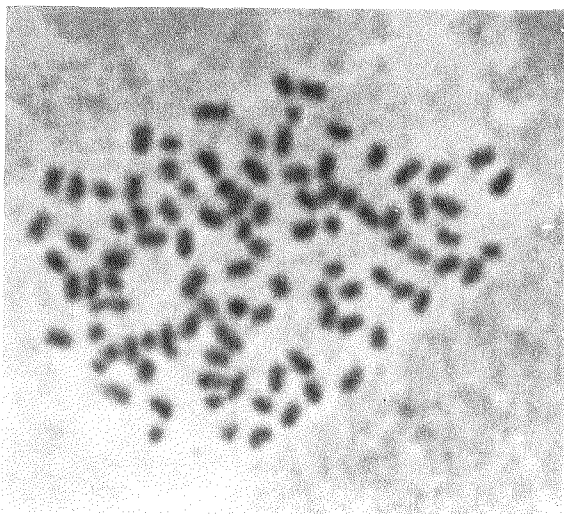
区 記 号	卵 色		Ps	p	+chPs	chPs	♀	♂
	+	w <sub>2</sub>						
681 P 1	実験数	249 47	97	11	80	17	89	19
	理論値	246.5 49.3	90.0	18.0	81.0	16.2	90.0	18.0
681 P 2	実験数	259 48	161	23	134	27	158	26
	理論値	256.0 51.2	153.5	30.7	134.0	26.8	153.5	30.7
681 P 3	実験数	247 46	114	17	93	21	111	20
	理論値	244.0 48.8	109.0	21.8	95.0	19.0	109.0	21.8
681 P 4	実験数	267 56	182	37	149	33	189	30
	理論値	269.0 53.8	182.5	36.5	151.3	30.3	182.5	36.5
681 P 5	実験数	242 53	212	45	177	35	219	38
	理論値	246.0 49.2	214.0	42.8	176.5	35.3	214.0	42.8
対 照 区	実験数	275 280	181	187	97	84	188	180
	理論値	277.5 277.5	184.0	184.0	90.5	90.5	184.0	184.0

紋 (Ps: p), 蠟色 (+ch: ch) および性比の実験数が, 何れも 5:1 の理論比に分離するとすれば, 理論値と一致する。この結果から大形卵を産下した雌は, 各因子に対してヘテロの4倍体で, その常染色体の因子構成は re/re/w<sub>2</sub>/w<sub>2</sub>, Ps/Ps/p/p, +ch/+ch/ch/ch であり, 性染色体の因子構成は W/W/Z/Z であることが推定された。

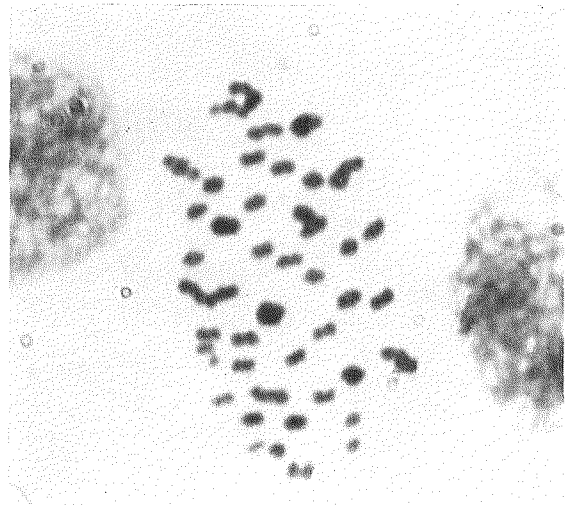
4. 異常受精を示した雄の染色体

異常な受精率を示した雄は4倍体であろうと推察したが, さらにこれら異常受精蛾区(第3表)の受精卵482粒

を孵化せしめ, 雌114個と雄119個を得て, これらに正常の雌雄をそれぞれ交配したが, 雌は大小の不整形卵を産み生殖不能で3倍体の特徴を示し, また雄も全個体生殖不能であった。これらの事実から異常受精の雄は4倍体であることを推定しえた。漿液膜細胞大型卵より孵化した雄の精原細胞と精母細胞を細胞学的に観察し, 第2, 3図に示す如く, 前者では112, 後者では56に近い染色体数を確認した。この観察結果は, これら雄が4倍体であることを細胞学的に確証した。



第2図 4倍蚕の精原細胞 (×1500)



第3図 4倍蚕の精母細胞 (×1500)

## B. 高温、遠心力およびコルヒチン処理等における

### 漿液膜細胞の大型化と倍数性との関係

前実験の結果から、蚕卵の過冷却処理による漿液膜細胞の大型化と倍数性との間に密接な関連性のあることが判明した。従来の倍数体誘起法の高温、遠心力およびコルヒチン処理の場合においても、同様の関連性を有するかどうかを追究した。さらに漿液膜細胞大型卵を指標として、各処理区における卵発育段階と倍数体出現率との関連も併せて検討した。

#### 1. 各処理法と漿液膜細胞大型卵の出現率との関係

re 9 と Tw 1 を相反交雑し、産下直後から 30 分毎に 210 分までの発育段階の卵を、前述の高温、遠心力、コルヒチンおよび過冷却処理を行ない、漿液膜細胞大型卵の出現率を調べ第 6、第 7 表の結果を得た。

第 6、第 7 表から、高温、遠心力およびコルヒチン処理においても過冷却処理の場合と同様に漿液膜細胞は大型化し、且つ後述する如く倍数性と関連性がある。卵齢

と漿液膜細胞大型卵の出現率との関係は、各処理法によって異り、過冷却処理の場合は産下直後低く、卵齢 120～210 分の間が高い傾向を示した。高温と遠心力処理の場合は、他の区と比較して産下直後高く、卵齢 60～90 分の間は低下し、90 分以後再び高くなる傾向を示し、コルヒチン処理の場合は、産下直後低く卵齢 90～120 分の間が高くなる傾向を示した。

#### 2. 各処理区における倍数体の検出

各処理区の漿液膜細胞大型卵より発育した雌雄に、それぞれ Tw 1 を戻し交雑し前実験と同様に雌は産卵の大きさおよび卵色の分離比を指標とし、また雄は受精率と卵色の分離比を指標として、各個体の倍数性を検討した。その結果を第 8 表、第 9 表に示した。

第 8、第 9 表から明かな如く、各処理区とも卵齢 90～210 分の卵から発現した倍数体は前実験と同様にヘテロ黒縞で、4 倍体雌の卵色分離は正常色卵と第 2 白卵の比が 5:1 の分離を示した。卵齢 0～90 分の卵から発現し

第 6 表 各処理区における卵齢と漿液膜細胞大型卵の出現率との関係

(交配型 Tw 1×re 9)

卵 齢 (分)	過 冷 却		高 温		遠 心 力		コ ル ヒ チ ン	
	処理卵数	細胞大型卵 (%)	処理卵数	細胞大型卵 (%)	処理卵数	細胞大型卵 (%)	処理卵数	細胞大型卵 (%)
0～30	2680	0	5111	2.55	6904	4.94	12148	0.80
30～60	3528	0.17	1673	1.16	4313	1.55	2409	1.44
60～90	4042	0.04	3894	0.32	5997	1.05	5770	1.51
90～120	3640	0.99	2737	3.57	5278	0.48	4427	3.38
120～150	4264	2.84	1396	4.72	3877	1.60	2241	1.93
150～180	3964	4.06	3930	6.71	4939	3.46	4632	0.87
180～210	4308	8.26	3450	7.99	4433	3.49	3215	0.89

第 7 表 各処理区における卵齢と漿液膜細胞大型卵の出現率との関係

(交配型 re 9×Tw 1)

卵 齢 (分)	過 冷 却		高 温		遠 心 力		コ ル ヒ チ ン	
	処理卵数	細胞大型卵 (%)	処理卵数	細胞大型卵 (%)	処理卵数	細胞大型卵 (%)	処理卵数	細胞大型卵 (%)
0～30	2524	0.20	6579	1.17	4698	5.66	7939	0.09
30～60	2715	1.14	2101	0.28	3002	0.23	2326	1.36
60～90	2548	0.24	4167	0.55	6225	0.08	4838	4.28
90～120	3291	8.50	3567	4.96	5027	0.14	4042	6.20
120～150	3391	17.75	2173	9.79	5308	1.36	2153	2.21
150～180	3647	16.23	4620	14.08	8365	12.35	4601	1.75
180～210	3326	13.26	3641	4.28	5493	7.83	5013	1.60

第8表 各処理区の漿液膜細胞大型卵より発現した倍数体

交配型 Tw 1×re 9 (p/p×P<sup>s</sup>/P<sup>s</sup>)

区記号	処理法	卵 齢 (分)	漿液膜細胞大型卵			調査個体の斑紋				ヘテロ P <sup>s</sup> の倍数性								
			供 試 卵 数	孵 化 卵 数	調 査 個 体 数	ヘテロ P <sup>s</sup>		淡 P <sup>s</sup>		2 N		3 N		4 N		淡 P <sup>s</sup> の 倍 数 性		
						♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
673 WS <sub>1</sub>	過 冷 却	0~90	8	0														
673 WS <sub>2</sub>		90~210	2446	642	386	171	215	0	0	79	128	3	0	88	87			
711 HWS <sub>1</sub>	高 温	0~90	149	31	22	9	6	7	0	4	5	3	0	2	1	0	0	0
711 HWS <sub>2</sub>		90~210	704	340	222	109	113	0	0	55	61	1	0	53	52			
721 FWS <sub>1</sub>	遠 心 力	0~90	497	178	135	49	43	37	6	32	42	9	0	8	1	0	0	25
721 FWS <sub>2</sub>		90~210	388	206	174	98	76	0	0	64	37	3	0	31	39			
711 CWS <sub>1</sub>	コ ル ヒ チ ン	0~90	217	47	0													
711 CWS <sub>2</sub>		90~210	259	125	0													

第9表 各処理区の漿液膜細胞大型卵より発現した倍数体

交配型 re 9×Tw 1 (P<sup>s</sup>/P<sup>s</sup>×p/p)

区記号	処理法	卵 齢 (分)	漿液膜細胞大型卵			調査個体の斑紋				ヘテロ P <sup>s</sup> の倍数性								
			供 試 卵 数	孵 化 卵 数	調 査 個 体 数	ヘテロ P <sup>s</sup>		濃 P <sup>s</sup>		2 N		3 N		4 N		濃 P <sup>s</sup> の 倍 数 性		
						♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
693 IS <sub>1</sub>	過 冷 却	0~90	36	0	0													
693 IS <sub>2</sub>		90~210	3807	1193	595	269	326	0	0	45	56	11	0	213	270			
711 HIS <sub>1</sub>	高 温	0~90	127	32	12	4	3	5	0	2	0	1	3	1	0	0	0	5
711 HIS <sub>2</sub>		90~210	1197	411	184	110	74	0	0	20	18	4	0	81	56			
721 FIS <sub>1</sub>	遠 心 力	0~90	285	66	47	28	18	1	0	24	16	3	0	1	2	0	0	1
721 FIS <sub>2</sub>		90~210	1535	415	158	93	65	0	0	37	21	1	0	55	44			
711 CIS <sub>1</sub>	コ ル ヒ チ ン	0~90	246	23	0													
711 CIS <sub>2</sub>		90~210	461	113	15	8	7	0	0	6	5	0	0	2	2			

玉沢・滝沢： 産卵の過冷却処理による倍数体の出現

た倍数体の中、Tw1×re9の実験区(第8表)では例外型の淡黒縞の個体が、それぞれ高温区と遠心力区に出現し、且つこれら例外型個体は全部倍数体であった。すなわち、高温区に出現した淡黒縞7個体(第8表)と濃黒縞5個体(第9表)は全部雌で、大小の不整形卵を産み生殖能力を有しないことから3倍体と推定した。また遠心力区の濃黒縞1個体(第9表)も雌で、大小の不整形卵を産み生殖能力を有しないことから3倍体と推定した。しかし遠心力区の淡黒縞(第8表)から雌37個体と雄6個体がえられ、その中雌25個体は大小の不整形卵を産み生殖不能であり、雄6個体も生殖力を有しないことから、これらの雌雄は全部3倍体と推定した。残りの雌12個体は大形卵を産下したので4倍体であることは明白で、その卵色分離は前述のヘテロ黒縞4倍体雌の場合と異り、正常色卵と第2白卵が1:1の分離比を示した。これら淡黒縞大形卵蛾区を孵化せしめ、その常染色体因子と性染色体因子の分離を調べ第10表に示す結果を得た。

第10表から明かな如く、各蛾区とも卵色(+ : w<sub>2</sub>)、蛾色(+ch : ch)および斑紋(P<sup>s</sup> : p)の分離は1:1の比を示した。この結果から淡黒縞4倍体雌の常染色体の因子構成はw<sub>2</sub>/w<sub>2</sub>/w<sub>2</sub>/re, ch/ch/ch/+ch, p/p/p/P<sup>s</sup>であることが推定された。また性比は雌が著しく多く、雄が極めて少ない事実から、性染色体の因子構成はW/W/Z/Zであると推定される。

以上の結果から、高温、遠心力およびコルヒチン処理の場合も、漿液膜細胞の大型化と倍数性との間に密接な関連性のあることが判明した。また卵の発育段階と倍数体出現率との関係は、第6、第7表の結果から処理開始時の卵齢によって相違し、倍数体の形成は卵齢120~210分間の卵が最も効果的と推考された。さらに第10表の淡黒縞4倍体雌と第5表のヘテロ黒縞4倍体雌における常染色体因子の分離比を比較検討し、両者の生成機構は明かに相違することが推察された。

3. 漿液膜細胞の大きさおよび倍数性との関係

各処理卵の漿液膜細胞の大型化の状態には、その形状および配列が不斉一で着色状態の異常な卵と、その形状および配列が斉一で着色状態の正常な卵とが見られる。これまでの実験経過から、前者の卵は胚発育が進まず死卵となり後者の卵から発育した個体に倍数体が発見することがわかった。後者の卵と同型の卵を選び出し、その漿液膜細胞の大きさを測定した。これらの卵の細胞の大きさには種々の範囲の卵が見られたので、正常卵の細胞と比較して極めて大型卵とやや大型の卵とに区分し、前述の通り0.225 mm<sup>2</sup>内の細胞数を数えその大きさを比較した。その結果を第11表に示した。

第11表から、大型の漿液膜細胞は正常の細胞より4~6倍大きく、またやや大型の細胞でも2~3倍大きい、このように細胞の大型化の程度に種々の段階が認められたので、如何なる大きさの卵が倍数体と関連があるかを

第10表 淡黒縞大形卵蛾区における常染色体因子と性染色体因子の分離  
(ch/chp/p+re/+rew<sub>2</sub>/w<sub>2</sub>×+ch/+chP<sup>s</sup>/P<sup>s</sup>re/re+w<sub>2</sub>/+w<sub>2</sub>)×ch/chp/p+re/+rew<sub>2</sub>/w<sub>2</sub>

区記号	卵色		蛾蚕体色		幼虫斑紋						斑紋の分離		性比	
	+	w <sub>2</sub>	+ch	ch	+chP <sup>s</sup> ♀ ♂	chP <sup>s</sup> ♀ ♂	p ♀ ♂	P <sup>s</sup> ♀ ♂	p ♀ ♂	P <sup>s</sup>	p	♀	♂	
731 WP2	185	180	132	122	53	6	59	6	111	9	124	120	223	21
731 WP3	160	146	99	121	36	4	72	6	90	10	118	100	198	20
731 WP5	204	206	149	171	59	4	73	7	119	7	143	126	251	18
731 WP6	144	162	87	116	38	1	36	3	98	9	78	107	173	13
731 WP7	136	127	116	113	45	13	55	4	82	18	117	110	182	35
731 WP8	131	131	121	95	38	2	37	6	77	8	83	85	152	16
731 WP9	168	175	149	162	65	6	77	8	143	9	154	152	283	23
731 WP10	154	159	146	132	66	6	64	7	91	14	143	105	221	27
731 WP11	95	83	78	70	36	3	30	4	64	9	73	73	130	16
731 WP12	157	149	133	156	60	9	61	10	106	14	140	120	227	33
合計	1533	1518	1209	1238							1173	1088	2039	222
平均	153.4	151.8	120.9	123.8							117.3	108.8	203.9	22.2

第11表 各処理卵の漿液膜細胞の大きさ

区記号	処理法	交配型	漿液膜細胞の型	調査卵数	0.225 mm <sup>2</sup> 内の細胞数	1 個の細胞の大きさ (mm <sup>2</sup> )
LT 1	過冷却	rw	大	40	15.51 ± 0.68	0.01451
LT 2		rw	ヤヤ大	34	24.54 ± 0.77	0.00917
LT 3		wr	大	15	18.30 ± 1.24	0.01229
LT 4		wr	ヤヤ大	16	31.90 ± 1.66	0.00705
HT 1	高温	rw	大	44	12.66 ± 0.66	0.01777
HT 2		rw	ヤヤ大	34	26.95 ± 1.02	0.00834
HT 3		wr	大	16	11.53 ± 0.62	0.01951
HT 4		wr	ヤヤ大	31	23.01 ± 1.05	0.00977
CF 1	遠心力	rw	大	37	17.24 ± 1.00	0.01305
CF 2		rw	ヤヤ大	15	31.30 ± 1.55	0.00718
CF 3		wr	大	41	18.85 ± 0.89	0.01936
CF 4		wr	ヤヤ大	35	27.60 ± 1.30	0.00815
CO 1	コルヒチン	rw	大	7	17.78 ± 1.66	0.01265
CO 2		rw	ヤヤ大	12	34.62 ± 1.77	0.00649
CO 3		wr	大	23	17.15 ± 0.99	0.01312
CO 4		wr	ヤヤ大	8	31.00 ± 1.25	0.00725
対照	無処理	rw		14	68.76 ± 1.80	0.00327
		wr		36	71.83 ± 1.14	0.00313

備考 rw=re 9×Tw 1 を示す。 wr=Tw 1×re 9 を示す。

明かにするために次の実験を行なった。

材料は re 9 と Tw 1 を用い、産下後 90~180 分の卵を -10°C に過冷却処理した。卵の漿液膜細胞の大きさを、0.225 mm<sup>2</sup> 内の細胞数によって 4 段階に区分し、各区の卵から発育した個体に Tw 1 を戻し交雑し、前実験と同じ方法を用い各個体の倍数性を判定した。その結果を第 12 表に示した。

第 12 表から明かな如く、0.225 mm<sup>2</sup> 内の細胞数が 1~10 の段階の卵から得た個体は全部 4 倍体であり、11~20 では大部分が 4 倍体で、21~30 では 2 倍体と 4 倍体とが混在し、31~40 ではすべての個体が 2 倍体であった。この結果から漿液細胞の大型化と倍数性との間に密接な関連性のあることが確認され、また 0.225 mm<sup>2</sup> 内の細胞数が 20 以内の卵からは確実に倍数体が得られるものと考えられる。

次に前述の大形卵および異常受精卵は、これまでの実験で明かにした如く、前者は 4N×2N、後者は 2N×4N の交雑による 3 倍性卵であることは明かで、これら

3 倍性卵の漿液膜細胞の大きさを測定し、その結果を第 13、第 14 表に示した。

第 13、第 14 表から、大形卵および異常受精卵の漿液膜細胞の大きさは正常卵の細胞より僅かに大きい、誘起当代の倍数性卵のように極端に大型化しないことが判明した。特に 2N×4N の交雑による 3 倍性卵の漿液膜細胞が正常卵の細胞より大きいことは、卵の染色体の倍数化によって漿液膜細胞が大型化することを明かに示唆している。

## 論 議

### 1. 漿液膜細胞の大きさと倍数性

蚕卵の漿液膜細胞の大きさに関しては、川口、滝沢 (1942 b) らによって詳細に研究され、漿液膜細胞の大きさは品種固有のもので、細胞には大形型 (小數型) と小形型 (多數型) とがあり、その遺伝は母性遺伝に属し、細胞小形型 (多數型) のものは大形型 (小數型) のものに対して優性であることが明かにされた。一方漿液膜細胞の

卵の過冷却、高温、遠心力およびコルヒチン処理によって、漿液膜細胞が斉一に大型化した卵から、多数の倍数体が得られた。また第12表の結果から、漿液膜細胞の大きさと倍数性との間に密接な関連性のあることが確認された。これらの事実から外部刺激によって卵の染色体が倍数化されると、漿液膜細胞が著しく大型化することが判明した。

また、第13、第14表に示す如く、大形卵 ( $4N \times 2N$ ) および異常受精卵 ( $2N \times 4N$ ) の3倍性卵の漿液膜細胞の大きさは、正常卵 ( $2N$ ) の細胞より大きくなるが、誘起当代の倍数性卵の如く著しく大型化しない。さらにその後  $4N \times 4N$  の交配による4倍性卵においても、その漿液膜細胞の大きさは前述の大形卵 ( $4N \times 2N$ ) の細胞とほとんど同じ大きさである。これらの結果から、交配による倍数性卵 ( $4N \times 4N$ ,  $4N \times 2N$ ,  $2N \times 4N$ ) の漿液膜細胞の大きさは、正常卵の細胞より大きくなるが、誘起当代の倍数性卵と比較すると極めて小さいことが判明した。この現象は如何なる機構に起因するか発生学的に極めて興味深い点であるが、現段階では不明である。ただ、前述した如く(佐藤 1925, 足立 1926, 滝沢ら 1969), 未着色の発生初期卵は、異常環境あるいは、強い刺激によって漿液膜細胞の大きさは容易に変化することは明かである。これらの現象から推察して、誘起当代の倍数性卵の漿液膜細胞の著しい大型化は、染色体の倍数化と環境要因と相乗的な作用に起因するかも知れない。この点に関しては、今後究明しなければならぬ興味深い課題である。

## 2. 倍数体の成因

従来、蚕の4倍体雌ができるのは、卵の成熟分裂期に3倍性融合核が形成され、これに1個の精核が合体するためと考えられている。本実験においても第10表の結果から、淡黒縞4倍体雌の常染色体因子の構成は  $w_2/w_2/w_2/re$ ,  $ch/ch/ch/+ch$ ,  $p/p/p/P^s$  であることが確認された。この事実から、この4倍体雌は卵核の3倍性融合核と1個の精核の合体により形成されたことは明かである。また第8、第9表の例外型の淡黒縞と濃黒縞の3倍体は、卵核の2倍性融合核と1個の精核との合体によると推定した。

第1、第8、第9表に示す如く、卵齢90~210分間の卵から誘発された4倍体雌の斑紋は、対照区の  $F_1$  個体と全く同じヘテロ黒縞である。このヘテロ黒縞4倍体雌の常染色体の因子構成は、第5表の結果から  $re/re/w_2/w_2$ ,  $P^s/P^s/p/p$ ,  $+ch/+ch/ch/ch$  であり、性染色体の因子構成は  $W/W/Z/Z$  であることは明かである。この様な

因子の組合せは、卵核による2倍性融合核と2個の精核との合体により形成されるが、正常卵の成熟分裂に際し4個の卵核(卵核と3個の極核)が全く無選択に接合して2倍性融合核を形成するとすれば、その性染色体因子構成は  $WW$ ,  $WZ$ ,  $ZZ$  の組合せが  $1:4:1$  の比に生じ、これに2個の精核が合体したとすれば、 $WWZZ:WZZZ:ZZZZ$  の性染色体の因子構成を有する4倍体が  $1:4:1$  の割合で形成される筈である。しかし本実験のヘテロ黒縞4倍体雌の性染色体因子の構成は全部  $WWZZ$  で  $WZZZ$  の個体は出現しない。また4倍体雄の出現は多く、ほぼ4倍体雌と同数である。さらにもし卵核による2倍性融合核が形成されたとすれば、これに2個の精核が合体する機会より、1個の精核の合体する機会が極めて多くならねばならない。その結果として4倍体より3倍体の出現が多くなる筈である。しかし本実験では、ほとんどが4倍体で3倍体の出現は極めて少い。実際に卵核の倍数性融合核によって倍数体が形成される場合、川口(1935)あるいは橋本(1933)の報告に記載されている如く、4倍体より3倍体の出現が極めて多い。また本実験においても、第8、第9表の高温および遠心力処理区の卵齢0~90分の卵から倍数性融合核に由来する倍数体が出現したが、この場合も4倍体より3倍体の出現が明かに多い。このように、卵核の倍数性融合核によって倍数体が形成される場合は、4倍体より3倍体の出現率が著しく高くなる。従って本実験でえたヘテロ黒縞4倍体は、2倍性融合核と2個の精子の合体によって形成されたとは考えられない。このヘテロ黒縞4倍体の出現は、第6、第7表から明かな如く、卵齢120~210分の間が最も高い。この時期は卵核と精核の融合期あるいは初期分割期に相当する。それで、この4倍体の生成機構は植物におけるコルヒチン処理の場合と同様に、次の如く推考した。すなわち、正常の受精核が、初期分割期(主に第1分割期)に染色体は正常に分裂して2娘染色体を形成するが、外部刺激によって紡錘体あるいは紡錘糸の不活性化が惹起され、2個の娘核に分割することが出来ず、4倍性の復旧核が形成されるためと考えた。このように正常の受精核の倍加によって4倍体が形成されたと仮定すれば、このヘテロ黒縞4倍体雌の常染色体と性染色体の因子構成あるいは4倍体雌と4倍体雄が  $1:1$  の割合で生ずることも、さらに3倍体の出現が極めて少い事実も、実験結果に矛盾することなく容易に説明できる。

以上の結果から、産下直後の発生初期卵を過冷却、高温、遠心力あるいはコルヒチン処理によって誘発される4倍体の形成機構には、2つの異なる型のあることが判

第12表 漿液膜細胞の大きさと倍数体との関係

区記号	交配型	0.225 mm <sup>2</sup> 内の細胞数		供試卵数	孵化率 (%)	調査個体数	倍数体数	
							2N	4N
681 S1		1	10	118	21.2	♀ 13	1	12
						♂ 10	0	10
681 S2		11	20	391	23.5	♀ 38	18	20
						♂ 20	8	12
681 S3	IW*	21	30	216	20.3	♀ 17	17	0
						♂ 11	11	0
681 S4		31	40	174	34.4	♀ 20	20	0
						♂ 18	18	0
対照区		49.33		10				
681 WS1		1	10	77	18.1	♀ 6	0	6
						♂ 3	0	3
681 WS2		11	20	239	19.8	♀ 21	5	16
						♂ 15	3	12
681 WS3	WI**	21	30	365	21.3	♀ 23	18	5
						♂ 16	16	0
681 WS4		31	40	473	29.8	♀ 57	57	0
						♂ 40	40	0
対照区		52.71		10				

\*: IW は re 9×Tw 1 を示す。

\*\* : WI は Tw 1×re 9 を示す。

第13表 大形卵 (4N×2N) の漿液膜細胞の大きさ

区記号	調査卵数	0.225 mm <sup>2</sup> 内の細胞数	1個の細胞の大きさ (mm <sup>2</sup> )
673 PS 1	30	49.70±1.22	0.00452
673 PS 2	33	49.05±1.00	0.00458
673 PS 3	20	50.10±1.09	0.00449
673 PS 4	10	40.00±0.95	0.00573
673 PS 5	14	37.78±1.16	0.00593
対照区	30	70.93±1.53	0.00317

第14表 異常受精卵 (2N×4N) の漿液膜細胞の大きさ

区記号	調査卵数	0.225 mm <sup>2</sup> 内の細胞数	1個の細胞の大きさ (mm <sup>2</sup> )
673 Ab 1	6	51.50±5.08	0.00436
673 Ab 2	37	45.89±1.20	0.00490
対照区	30	63.20±1.13	0.00356

大きさの異常に関しては、佐藤 (1925) は未受精卵の人為的単為生殖卵の漿液膜細胞内の色素変化は異常を呈するものが多く、その変化が異常なる程、細胞の大きさは大型化し、細胞が不整形に大型化するのには胚盤が部分的に形成されないか、あるいは全く形成されないためであると推定した。また人工孵化の刺激を過度に与えた卵にも漿液膜細胞の大型化を観察した。足立 (1926) は越年卵の未着色の時期に低温接触すると漿液膜細胞が大小不同になるという。滝沢 (1969) らは、胚盤形成前の発生初期卵を低温処理 (5°C) して、漿液膜細胞が著しく大型化することを見出したが、これらの卵は孵化しないと報じた。また本実験においても、種々の処理卵に漿液膜細胞が不整形に大型化した卵が多発したが、孵化個体はえられなかった。

以上、蚕卵の漿液膜細胞の大きさは品種固有のものであるが (川口, 滝沢 1942 a) 卵の発生初期に異常環境あるいは強い刺激によって、細胞の大きさは容易に変化する。しかしその発生学的成因については現在全く判っていない。また従来、漿液膜細胞の大きさの異常は、胚子の不発達のためと考えられている。本実験において、蚕

明した。一つは従来の卵核による3倍性融合核と1個の精核との合体により、他の一つは正常の受精核の倍加によって形成されるものと推定した。また前者は、卵齢0~90分の卵を処理した場合に形成され、4倍体雄は出現しない。後者は、卵齢90~210分の卵を処理した場合に形成され、多数の4倍体雄も出現する。また両者の出現率は、第6、第7、第8、第9表の結果から、前者より後者の方が極めて高率である。なお、著者らは本実験の結果から、産下直後の発生初期卵を用いて外部刺戟によって倍数体誘発実験を行う際、倍数性個体を見出すのに、処理卵の漿液膜細胞の大型化を指標とすべきことを提唱したい。

### 摘 要

蚕卵の過冷却処理によって多数の4倍体雌雄を誘起した。かつ、処理卵の漿液膜細胞の大型化と倍数体との間に密接な関連があることを発見した。さらに、従来の倍数体誘起法(高温、遠心力、コルヒチン)における漿液膜細胞の大型化と倍数体との関連も検討した。

1. 発生初期卵(0~210分)の過冷却処理によって、4倍体雌雄が誘起される。倍数体の形成は、卵齢120~180分の卵を $-10^{\circ}\text{C}$ に24時間過冷却が最も効果的である。

2. 蚕卵を過冷却、高温、遠心力およびコルヒチン処理して、卵の染色体が倍数化された場合、漿液膜細胞は大型化する。その細胞の大きさ、形状および配列は斉一である。

3. 処理卵の漿液膜細胞の大型化の程度と倍数体との関連は、 $0.225\text{mm}^2$ 内の細胞数が20以内の卵から倍数体が得られる。

4. 交配による倍数性卵( $4N \times 4N$ ,  $2N \times 4N$ ,  $4N \times 2N$ )の漿液膜細胞の大きさは、正常卵の細胞より大きい。処理当代の倍数性卵の細胞のように大型化しない。

5. 4倍体の生成機構には、2つの異なる型を確認した。一つは従来の卵核による3倍性融合核に1個の精核の合体により形成される。他の一つは正常受精核が初期分割期(主に第1分割期)に倍加され4倍性核が形成されたものと推定した。前者は卵齢0~90分の卵を処理した場合に形成され、雄は出現しない。後者は卵齢90~210分の卵を処理した場合に形成され、雌雄が1:1に出現する。また両者の出現頻度は、後者は前者より4~5倍も高率である。

6. 高温、遠心力、コルヒチンおよび過冷却による倍数体の出現頻度は、過冷却処理が最も高率である。

7. 蚕卵の外部刺戟によって倍体数誘発実験を行う際、倍数性個体を見出すのに、処理卵の漿液膜細胞の大型化を指標とすれば、最も簡単に判別出来る。

### 引用文献

- 足立美佐男(1926): 郡馬蚕試報, 1, 1-24.  
 ASTAUROV, B. L. (1967): Adv. Morphog. 6, 199-257.  
 橋本春雄(1933): 蚕試報, 8, 359-381.  
 橋本春雄(1957): 蚕糸研究, 20, 11-13.  
 広部達道(1939): 遺種, 15, 69-74.  
 川口栄作(1935): 科学, 5, 336-337.  
 川口栄作(1937): 日蚕雑, 8, 121-126.  
 川口栄作・滝沢義郎(1942a): 日蚕雑, 13, 133-134.  
 川口栄作・滝沢義郎(1942b): 日蚕雑, 13, 135-138.  
 室賀兵左衛門(1947): 日蚕雑, 16, 20-25.  
 SATO, H. (1925): J. Sci. Agric. Soc. Japan. 274, 232-238.  
 滝沢義郎・玉沢 享・嶋山信雍(1968): 日蚕東北講要, 23, 34.  
 田中義麿・川口栄作(1932): 遺種, 7, 186-187.

### Summary

A number of tetraploid males and females were induced by treating the eggs with supercooling. It was found that there was a close relation between the tetraploidy and the enlargement of the serosa cells of the treated eggs. Furthermore, the relation between the tetraploidy and the serosa cells was also studied by using the customary methods for inducing tetraploid (high temperature, centrifugation, or colchicine).

1. Tetraploid males and females were induced by the treatment of the early eggs (0~210 min) with supercooling. The most effective method for induction of tetraploid eggs was to treat the eggs with supercooling at  $-10^{\circ}\text{C}$  for 24 hours from 120 to 180 minutes after deposition.

2. When the tetraploid eggs were obtained by the treatment with supercooling, high temperature, centrifugation or colchicine, the serosa cells of the eggs became large. The size and form of the large serosa cells were uniform and they were arranged regularly.

3. The relation between the size of serosa cells of the treated eggs and the occurrence of the tetraploid was studied and it was found that the tetraploid adults were obtained from the eggs

whose serosa cells were counted less than 20 in 0.225 mm<sup>2</sup>.

4. The size of the serosa cells in the polyploid eggs obtained by mating the tetraploid adult with the tetraploid or the diploid was larger than that of normal eggs, but smaller than that of the primary tetraploid eggs.

5. Two different types of the tetraploid-inducing mechanism were confirmed. One is that the tetraploid was formed by the fusion of three egg nuclei and a sperm nucleus. It was considered that the other mechanism is that the chromosomes of the normally fertilized nucleus were doubled at the cleavage stage and the tetraploid was obtained. The tetraploid eggs in the former case were induced by the treatment of the eggs from 0 to 90

minutes after deposition and no male adult was obtained. In the latter case, the tetraploid eggs were obtained by treating the eggs from 90 to 210 minutes after deposition, and male and female adults appeared in the rate of 1:1. The percent of the occurrence of tetraploid was 4 to 5 times higher in the latter case.

6. The percent of the tetraploid eggs was the highest in the supercooling treatment as compared with the high temperature, centrifugation or colchicine treatment.

7. In order to find tetraploid eggs in the experiment for tetraploid induction by the stimulation of eggs, it was quite easy to find them if the large serosa cells were used as a mark.