

家蚕幼虫の胴部結紮と生理現象

I. 結紮蚕の脈搏並に体液の性状について

山口定次郎*

Sadajiro YAMAGUCHI: On the Physiological Phenomena in Ligated Silkworm Larva, *Bombyx mori* L.. I. Special Reference to the Influence of Ligature upon the Physico-chemical Properties of Body Fluid.

(1954年9月5日受理)

近來昆虫の変態や化性ホルモンの研究に、結紮法が巧みに用いられてきたが、之等結紮手術が虫体の生理に如何なる影響を与えているかについては頂部結紮蚕体液の酸素消費を調べた入戸野の研究以外殆ど見られない。

著者は家蚕幼虫の消化吸収作用の研究手段として、又一方体液循環作用に及ぼす影響を知らんとし、胴部結紮法を試みているが、此報告では、特に結紮障害の回復力、脈搏並に体液の性状の変化等につき実験観察を行い、特に消化吸収生理と関連して考察を加えた。

本研究を行うにあたり終始懇篤な御指導並に校閲の勞を賜つた本学部蒲生教授に対し深甚の謝意をささげる。又常に実験に努力された清水猛及市川智子の両氏に対し感謝を申上げる。

実験材料及方法

実験材料及方法については便宜上実験毎に記載したので茲では結紮法について述べる。先ず太い絹糸又は木綿糸を用意し、二等区分の場合は第一腹脚と第二腹脚の間を縛る。四区分結紮の場合は、消化管の形態的区分を基準とし3ヶ所で結縛する。すなわち、第3・4環節の間、第6・7環節の間、第10環節の中間を結紮して生ずる4区分を夫々、A区(中胃前部と食道を含む) B区(中胃中部) C区(中胃後部特に絞結部の多い部分)及D区(後腸部)とした。尚結紮により体液の循環は杜絶するが消化管内容物は移動し排糞が出来る程度に緩く結んだものを「弱結紮」、体液流動も消化管内容物も全く移動しえない程度に緊に結んだものを強結紮とした。

実験及結果

1 結紮障害は解紮すれば回復するか?

* 信州大学繊維学部蚕種学研究室

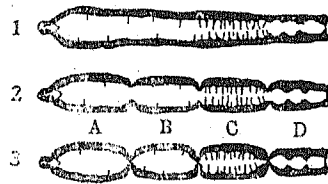


Fig 1. Figure showing the portion of ligaturing, body fluid (black) and digestive tract. (white) 1, nonligated larva. 2, loose ligaturing. 3, hard ligaturing.

A, B, C and D indicate four divisions.

蚕の胴部を1, 3, 6, 9, 12, 18及24時間の如く4区分結紮を行い以後解紮し、食糞瀉瀉状態を調べ生理作用は回復するか否かについて吟味した。(Table 1.)

Table 1. 結紮の時間と營糞蚕数

結紮時間	弱結紮	強結紮
1時間	10	10頭
3	9	10
6	8	7
9	8	6
12	6	6
18	2	0
24	1	0

材料 日115×支108 5齢5日目
27°~30° 供試数各区10頭

上表によれば3時間内外の結紮は強弱共に蚕の生命に悪影響少なく、大多数が營糞しうることを知つた。即ち多少の障害はあつてもそれは一時的の異常と見做すことが出来る。

2 胴部結紮と脈搏

胴部を結紮二区分した場合、環節毎について、その前後両部の脈搏を測定した。1例を示せば次の通りである。(Table 2.) 之によれば吉紫点より前部の脈搏数は結紮点が前方にあればあるだけ頻度少く、結紮点が後部

Table 2. 結紮部位とその前後のPulse

結紮部位	脈搏数(1分間)	
	前部	後部
第1節	0.8	37.4
2	2.0	38.8
3	3.8	38.7
4	8.3	37.0
5	12.8	39.8
6	16.9	39.1
7	20.4	34.2
8	25.2	30.6
9	28.3	32.6
10	34.1	32.2
11	42.5	不明
対照蚕	43.1	

材料 第2日卵 (油蚕)
5齢5日目♀5頭平均
18°~19°C

に到るに従つて正常蚕に近づく。之に対し結紮点の後部の脈搏数は全体として32~40程度の範囲の開きがあるのみである。尤も後部の結紮の場合に稍少く第11節の結紮は脈搏が判明しない。即体液循環については、結紮点の後側は常に正常蚕のそれに近く、横山が既に指摘したように「蚕のPulseの自動能の起点は体の後方部にある」という事実がここでも証明されたわけである。一方結紮点の前側は体液の流動が緩慢不規則で、体液の停滞が予想される。尙4

区分結紮蚕では脈搏が判明しないので記載出来ない。

3 結紮蚕体液のRefractive index

結紮蚕体液の屈折率を、Abbeの屈折計を用い、20°Cに於て測定した。誤差を少なくするため難雑別なるべく同大の蚕を10個体供試し平均した。結紮時間は何れも3時間とした。(Table 3.)

下表の結果から食桑蚕では屈折率においてA>B>C>Dの関系がありA及B部に高くD部は低い。弱結紮は強結紮の場合に比し各区間の差が少なくその値も正常蚕に近いが前部に高く後方低い関系は大体一致している。次に絶食蚕では絶食の程度にもよるが、食桑蚕の場合と同様なることもあり一致しない場合もある。全体として絶食中は屈折率が低位にある。又D部は何れの場合も最低位を示し、多水分であることが明瞭である。

之等の結紮による体液屈折率の区分的な差異は、消化管の消化及吸収作用と関連して、水以外の体液成分の大半を占める蛋白質や、炭水化物、遊離アミノ酸、塩類等の増減及水分吸収の多少等によ來するものと考えられる。

4 結紮蚕体液のViscosity

結紮蚕の体液は採液の際にA及B部共に相當に精潤性を増すことを感じたので、Ostwald Viscosimeterをもつて比粘度を測定した。

Table 3. 食桑中及絶食中の結紮蚕体液のRefractive index

実験番号	結紮部位 頂	A	B	C	D	対 照 蚕	
						前 部	後 部
I	弱 結 紮	1.3475	1.3470	1.3462	1.3439	1.3462	
	強 結 紮	1.3463	1.3460	1.3459	1.3450	1.3462	
II	食 桑 蚕	1.3504	1.3490	1.3484	1.3462	1.3477	
	絶 食 蚕	1.3478	1.3469	1.3481	1.3460	1.3463	
	同上の差	0.0026	0.0021	0.0003	0.0002	0.0014	
III	食 桑 蚕	1.3481	1.3469	1.3465	1.3433	1.3451	1.3452
IV	食 桑 蚕	1.3473	1.3462	1.3455	1.3443	1.3454	1.3463

材料 実験I 一日115×支103 5齢5日目食桑蚕(♀) 実験II 大造 5齢4日目♂ 絶食は6時間
実験III 一秋花×銀嶺 4齢4日目(♂) 実験IV 大造 5齢3日目♂

Table 4. 結紮蚕体液の Specific viscosity

結紮部位	実 験	
	I	II
A	1.643	1.760
B	—	1.760
C	—	1.601
D	1.380	1.364
対照蚕	1.487	1.620

材料—日115×支108
 実験I—原液で測定
 実験II—5倍液測定 原液に換算

5 結紮蚕体液の pH value

結紮蚕体液の水素イオン濃度を原体液及水稀釈液につき硝子電極式測定装置及東洋濾紙「水素イオン濃度試験紙」をもつて測定し、pH値をもつて示した (Table 5.)

Table 5. 結紮蚕体液の pH value

結紮部位 実験区	A	B	C	D	対照蚕
	I 強結紮	6.77		7.00	
II 弱結紮 強結紮	6.4	6.5	6.7	7.0	6.4
	6.3	6.4	6.8	7.2	
III 弱結紮 強結紮	6.4	6.5	7.0	7.2	6.5
	6.4	6.9	7.2	7.3	

材料 I 日115×支108 5齢6日目
 pH6.6の水で5倍に稀釈
 II 腹自縮卵 5齢5日目
 III 支113 5齢6日目

実験によれば結紮の強弱により多少の差を示すが、常にA部はpH値が正常蚕体液に近いが稍低い。Bより後部は、後に到るに従い、pHが著しく高くなることを見出された。又絶食1日間又は起蚕のように摂食しない場合にもpH値は略同傾向に変化する。体液が水をもつて5倍又は10倍に逆稀釈しても尙原液と同じpHを示すほどの強い緩衝能力をもっている筈であるのに、結紮がこの様に局部的に変化をもたらす原因については、蒲生、山口及永井等の呼吸障害の実験と相関連して考察すべきであるが、之については別に研究を試みているのでここでは結果の記載に止めたい。

6 結紮蚕体液の Melanosis

蚕の幼虫体液は *in vitro* で大気に触れしめると melanosis を起し、褐色に変化するが、結紮蚕につき

之によれば屈折率におけると略同様に $A \approx B > C > D$ 又は前部 > 後部の関係が見られ体液内の成分の濃度が前部に高く後部特にDでは正常蚕体液よりも可也低いことを知つた。(Table 4.)

之を見ると後部は殆ど変色がないが前部に到る程 melanosis を起しやすいことを発見した。之が観察法としては、体液を1滴宛濾紙上におとし30°Cで1—5分間放置すれば黄褐乃至灰褐色に変色しつつ、乾燥するので、此の melanosis の程度を、肉眼で観察し又 Ostwald 氏光度計を用い色量をもつて表わした。1例を示すと次のようである。(Table 6.)

Table 6. 結紮蚕体液の Melanosis

結紮部位 区別	A	B	C	D	対照蚕	
					前	後
肉眼測定値	No.1	卅	卅	+	±	±
	2	卅	卅	+	±	±
	3	+	卅	+	±	±
光度計測定値	No.1	19.2	13.8	7.0	4.6	9.4 5.6
	2	10.9	18.0	6.7	5.6	8.0 4.8
	3	9.5	12.7	8.2	5.3	6.0 6.0
絶食蚕	±	±	+	±	±	±

材料 食桑蚕—日115×支108 5齢5日目
 絶食蚕—同品種5日目蚕36時間絶食後の体液

上記の様に結紮蚕体液の melanosis は食桑Iでは $B \approx A > C > D$ の関係にあり、B及A部黄褐変度は可也強くC之につき稍灰色を帯び、大体対照蚕体液に近いか又は稍濃色を示す。D部は melanosis が極めて微弱の場合が多く色調は淡灰色で前部と異なる。対照蚕では多くの場合前後の差が見られないが、差の生ずる場合もあつた。之に対し絶食蚕では melanosis が甚だ弱⁴いこと又食桑すれば再び活性を増すことは、渡辺の観察にも見られるが melanosis を起す基質そのものは食桑により消食管から体液内に吸収されるものでその量はA及B部に多いことが知られた。尙4齢蚕でも同傾向が見られた。

7 結紮蚕体液の酸素消費 (O₂ uptake)

melanosis の場合に示したように、蚕児を結紮すれば

Table 7. 結紮蚕体液の O₂ uptake (μl)

結紮部位 測定時間	A	B	C	D	対照蚕
10 分間	2.0	2.4	1.6	1.4	1.2
20	3.0	4.2	2.6	2.4	2.0
30	3.8	5.4	3.4	3.0	2.4

材料— 日115×支108 5齢6日目食桑蚕
 試料— 体液1ccに水2ccを加えた液

特にその前部(A又はB)の体液のOxidationが強いことを認めたので、更に体液の酸素消費量を Warburg manometer をもつて測定した。

上表によれば、結紮蚕体液の酸素消費量は $B > A > C > D$ の関係を示し大体 melanosis の場合に一致している。尚体液の酸素消費についてはホルモンの面より見た入戸野、Enzyme 面より研究している伊藤の場合と関連して興味ある問題と思われる。

8 結紮蚕体液の Free amino acids

結紮蚕体液の遊離アミノ酸を phenol 及ブタノール醋酸水をもつて展開した2次元ペーパークロマトグラフによつて比較した所、18種のアミノ酸を見ることが出来たがその量の顕著なもの数種につき各部の量的関係の概略を判定した。(Table 8.)

Table 8. 結紮蚕体液の Free amino acids

結紮部位 アミノ酸	A	B	C	D	対照蚕
Serine	卅	卅	卅	卅	卅
Alanine	卅	卅	卅	卅	卅
Glycine	卅	卅	卅	卅	卅
Glutamic acid	卅	卅	卅	+	卅
Histidine	+	卅	+	±	+
Lysine	+	卅	+	+	+
Arginine	+	+	+	+	+
Threonine	+	+	+	±	+

材料 黒縞蚕 5 齢 4 日目食桑中 は濃紫色面積大
+ は紫色淡く面積小 ± は痕跡の程度

即ち殆ど全部の種類のアミノ酸が $B > A > C > D$ の順位でB部に多くD部に少ない。尚部位により選択的に或種のを特に多く含むような現象は見られなかつた。又福田及桐村の微生物的定量の結果によれば体液遊離アミノ酸の中 Histidine 及 Lysine が最多で Serine 其他が之に垂くとなつており著者の場合の量的関係とは稍趣を異にしているが、之はペーパークロマトグラフによる不備ではなく材料の相違に基づくものと思われる。

9 結紮蚕体液の Protein

結紮蚕体液の屈折率や粘性を高める物質の大部分は先ず蛋白質やアミノ酸と考えられるので、蛋白質の量を比較した。方法としては(1)体液に3倍の Alcohol を加えて生ずる沈澱物を測定する場合と、(2)体液に10%のトリクロール醋酸を加えて生ずる沈澱物を測定する場合と両者を探つた。

Table 9. 結紮蚕体液の Protein (%)

結紮部位 頂	A	B	C	D	対照蚕	
I 食桑蚕	水分率	90.40	90.20	91.35	92.28	90.97
	乾物率	9.60	9.80	8.65	7.72	9.03
	蛋白質率	6.34	6.79	5.87	5.01	6.20
II 絶食蚕	蛋白質1	4.40	5.55	4.46	4.20	—
	蛋白質2	5.28	6.60	5.52	5.06	—
III 食桑蚕	蛋白質率	5.60	4.80	4.60	—	4.33

材料 実験I—黒縞5 齢 5 日目 Alcohol 沈澱
II—富岳5 齢 4 日目 1 日絶食蚕 Alcohol 沈澱
III—日115×支108 5 齢 6 日目 トリクロール醋酸沈澱

実験によるに食桑中の蛋白質は $B > A > C > D$ 又は $A > B > C > D$ の関係が見られA及B部には常に蛋白質多く、絶食蚕では $B > C \approx A > D$ の如くで順位が變つて来たがD部については常に最少であつた。(Table 9)

10 結紮蚕体液の Glucose

体液に Alcohol を加え除蛋白質した上清につきブタノール醋酸水で展開したペーパークロマトグラフを採用し、Glucose 検出には硝酸銀のアンモニア性溶液で銀鏡反応を起させ—60°で5分間加熱—Rf 0.18—0.20 に生じた紫黒色斑を見出し且つその面積をもつて多少を判定した。(Table 10.)

Table 10. 結紮蚕体液の Glucose

結紮部位 區別	A	B	C	D	対照蚕
食桑蚕	卅	卅	卅~卅	+	卅
1 日間絶食の蚕	+	卅	卅	卅	+~卅

材料 日115×支108 5 齢 6 日目及 6 日目蚕 1 日絶食のもの

実験回数が少なく正鵠を期し難いが Glucose については食桑中は $B > C \approx A > D$ の関係を示し、B部に最多D部に少ない。之に対し絶食蚕では $C > B > D > A$ でC部に多くAに少なかつた。之は他の昆虫に於て中腸後部皮膜組織に Glycogen が多量に存在するということ、Invertase がこの部に多いという松村の結果や著者の先の研究¹⁰⁾と深い関係があるように思われる。

考 察

胴部結紮蚕の体液に関する実験から主に5齢の食桑中の蚕においては体の最前部A、及次の部B、に体液成分が多くなり、酵素その他の活性度が高まり、最後部D、は最も下位に位しその前部C、は中間で対照蚕の体液の性質の夫れに近似している等の事実が知られた。

而して研究の結果を本実験の範囲で考察するに種々の事柄が示唆されるが、第一には食桑蚕の体液が絶食蚕のそれに比し各部共に成分の量が多く生理的活性度が高いということから食桑蚕にあつては、アミノ酸はB及A部即中胃中部及前部から、又炭水化物等はB又はC部即中胃中部及後部から、体液内へ吸収されるのではないかと考えられる。又D部即後腸部で屈折率や粘性が正常蚕体液よりも低いのは栄養成分の吸収が少なく、又水分吸収量が多いためと考えられる。尙第二には体液循環の面から見ると結紮により体液の循環が局部的に制限をうけ停滞せしめられる結果、蚕体組織全体の代謝の滞りを惹起し、後部よりも前部がその影響が多く異常の生理現象を招来するものではないかと考えられる。然し栄養成分や水分吸収、pH値の変化又は melanosis の活性化等、個々については更に深く研究を要する重要な問題が残されていると思う。

摘 要

著者は家蚕幼虫の胴部を結紮により二等区分した場合及消化管の形態を基準として食道及中胃前部を含む部分(Aとする)、中胃中部B、中胃後部C、及後腸D、の4部を分離できるように体軀を4区分した場合に現われる各部体液の種々の生理的性状の変化について実験観察を行った。その結果の概要を示せば次の通りである。

1) 5齢期の蚕児は胴部を弱く又は強く4区分結紮を施されても3時間内外の後之を解紮すれば、一時的に多少の衰弱を示すがその後食桑を続け、営繕も可能である。

2) 蚕児は前後2区分に結紮された場合後方の脈搏は大體正常蚕に近いが前方の脈搏は乱れがちで頻度が少い。尙結紮点が前方であればあるだけその前部の脈搏は少く弱い。結紮点が後方に至るに従つて前部の脈搏は正常に近くなる。すなわち横山の述べたように脈搏の自動能の起点は体の後方にあることがここでも証明される。

3) 幼虫体4区分結紮3時間(以後の結紮の場合も同じ)の場合、体液屈折率は食桑中では主に $A > B > C >$

Dの関係があり、又 $B > A > C > D$ の場合もあり体の前部(A及B)は後部(C及D)よりも高い。絶食蚕体液ではその順位は食桑中と異なる場合がある。最後部(D部)は常に小さい値を示す。

4) 体液の粘性については、前部 $>$ 後部又は $B \approx A > C > D$ の関係がある。

5) 体液pH値は前部 $<$ 後部又は $A < B < C < D$ で正常蚕pH6.4に対し、6.3-7.2の範囲の変化が見られる。

6) 体液の melanosis については $A > B > C > D$ 又は $B > A > C > D$ の順位でその差が顕著である。

7) 体液の酸素消費については melanosis と略平行し $B > A > C > D$ で $B \approx A$ の関係がある。

8) 体液遊離アミノ酸については $B > A > C > D$ の差が見られる。

9) 体液の蛋白質は食桑中は $B > A > C > D$ 絶食蚕では $B > C \approx A > D$ の関係があり、又一般に食桑蚕は絶食蚕よりも体液蛋白質が多くD部は正常蚕に比し少量である。

10) 体液 Glucose は食桑中 $B > C \approx A > D$ 絶食中では $C > B > D > A$ の如くであつた。

以上本研究の範囲では結紮によつて現われた結果が消化吸収作用に基くものか、体液の循環阻止により起きた異常生理現象であるか否かは判然としがたいが、食桑中と絶食中とを比較することにより消化吸収作用の消長と密接な関係がありはしないかと考えられる。

(本研究の一部は日本蚕糸学会第24回学術講演会に於て発表した。)

参 考 文 献

- 1 田口亮平 蚕糸学雑誌 4, 1. (1931)
- 2 横山忠雄 蚕業試験場報告 8, 2. (1932)
- 3 蒲生俊興・山口定次郎・永井覚
蚕糸学雑誌 5, 2. (1933)
- 4 渡辺綱男 日本蚕糸学雑誌 4, 2. (1933)
- 5 入野野康彦 日本蚕糸学雑誌 21, 5, 6.
(1952)
- 6 Toshio Ito (英文) 応用動物学雑誌 18, 3.
(1953)
- 7 — (英文) 遺伝学雑誌 29, 2. (1954)
- 8 山口定次郎 日本蚕糸学雑誌 23, 3.
(1954)
- 9 福田紀文・桐村二郎 日本蚕糸学雑誌 23, 3.
(1954)

10 山口定次郎 蚕糸学雑誌 14, 2 (1942)

11 松村季美 日本蚕糸学雑誌 6, 1. (1935)

Summary

In this paper an attempt has been made to investigate the pulse and several physico-chemical properties of the body fluid of the ligated silkworm, *Bombyx mori* L.. The results of this research are summarized as follows:

1. Even if the fifth instar larvae are ligated fast in three spots of the body for about three hours, almost all of the larvae, after unfastened, can recover their good health, take mulberry leaves and make cocoons.

2. The pulse in the anterior part of two portions into which the larva was divided by ligature is less in its frequency and irregular in circulation, while that of posterior part is normal in its frequency and regular in circulation.

3. In order to study the physico-chemical properties of the body fluid of the ligated silkworm larva, the larval body are ligated in three spots into four divisions (A, B, C and D) in accordance with the morphological basis of the digestive tract; division A (contains oesophagus and anterior mid-gut), division B (middle mid-gut), division C (posterior mid-gut), and division D (hind intestine), (see fig.1); and the body fluid is taken out from each of these four divisions of the living body and tested. The properties of the body fluid and their relations among A, B, C and D divisions are substantially demonstrated in a table as follows:

Table

Properties of body fluid	Range of figures	Order of figures (feeding larvae)
Refractive index	1.3500~1.3430	A>orC>D*
Viscosity	1.76~1.38	B=A>C>D
pH value	7.3~6.3	A<B<C<D
Melanosis	~±	A>B>C>D
O ₂ uptake	2.4~1.2μl/1ml/10m	B>or=A>C>D
Free amino acids	~ or+~±	B>A>C>D
Protein contents	6.79~5.01%	B>A>C>D
Glucose	~+	B>C>A>D

* A, B, C and D show the division of larval body in ligature.

In general the properties of a normal body-fluid are similar to that of C or D division, and the larvae which are stopped feeding temporarily are less in quantities and activities of the properties showed in the above table and irregular in the order of properties of four divisions.

From the facts obtained in these investigations it may be considered that there is a close relation between the properties of the ligated larval body-fluid and the physiology of digestion and absorption of nutrients in the silkworm larvae.

(Laboratory of Silkworm Egg Science, Faculty of Textile and Sericulture, Shinshu University Ueda, Japan)