資　　料

毛細管吸引に依る蠶卵胚子摘出法

山口定次郎
小林　敏

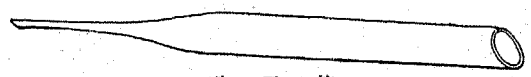
Sadajirō YAMAGUCHI and Satoshi KOBAYASHI : – A new method of pulling embryo out of silkworm egg by using the capillary tube (injector).

蠶卵胚子の卽時解剖法には古くより種々あるが、要するに (1) 蠶卵を乾熱、濕熱、藥液等により固定せる後、針又はメスを以て卵殻を除き、卵黄と共に胚子を摘出し、之を裸出せしめて觀察する方法、(2) 强アルカリ(苛性加里又は硫化加里)の熱液により、又は鹽素瓦斯の接觸により卵を固定すると共に卵殻を溶解せしめ、胚子を出さしめる方法、等を採用して來たが、何れも固定、脫殻の手數を要し、又相當の材料又は熟練を要するものである。

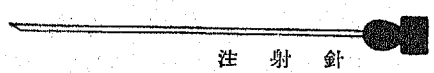
然るに著者等は是等とは全く異つた毛細管利用による胚子吸引摘出法を創案したが、之に依れば特殊な手數、材料等を要する事少く、卽時解剖法として相當便利なる方法と信ずるので、茲に紹介せんとする次第である。

解剖用具及び固定液

胚子吸引固定の爲には硝子毛細管又は注射針、肉池、Alcohol 及び Formalin (原液) 等を準備する。毛細管は注射針、硝子共に徑 1/2 ～ 2/3 mm 程度のものを可とし、先端の傾斜度 45° 內外が良い。永久的のものとしては注射針を利用するのが便利である。注射針はそのまゝでは一般に先端が尖鋭に過ぎて使用出來ぬから、砥の如きをもつて磨滅せしめ、角度を 45° 位とすれば良い。尙注射器の後部硝子の部分は無くても良い。針の價格は低廉で充分實用的である。唯金屬は銹がつきやすいし、又管內が他物により閉塞されやすいから此の點に注意を要する。尙硝子毛細管は自製すれば良い。之は3～5mm の硝子管の一端を火焰に熱して引伸し、適當の太さの所で先端を尖る樣に切れば良い。切口は多少不規則でも差支へがない。硬質のものが良い。



硝　子　管



注　射　針

註　注射針には太さ種々あるが、1/2mm 位のものが便利である。卵の大小により多少太さを變へても良い。

次に胚子の固定液としては次の如き Alcohol-Formalin 液を用意する。

Alcohol (75%)……10 : Formalin (原液)……1～2

胚子吸引摘出方法

胚子吸引摘出の方法は圖の如く、卵の精孔に近き胚子の存在せざる側に毛管を挿入する。同時に卵の反對側を卵殻の上から先端鈍圓の細い棒を持つて內に存在すべき胚子を、後方より漸時前方に追込むが如き手法をもつて卵殻を壓迫する。然るとき卵內胚子は之を圍む卵黃液と共に、生のまゝ毛細管の毛管作用により容易に管中に吸引され上昇するものである。(圖參照)

註　蠶卵の形は一般に卵の長軸に對し一側は彎曲度强く、他側は彎曲度少い。而して反轉期迄の胚子は彎曲度の大なる側に在り、頭部は卵の尖圓部(精孔の在る側)近くに存在する。

卵は臺紙に膠着しない散卵の場合でも、先づ毛管の反對側を押へる事により毛管を挿入し得る。

正確な觀察を要しない場合は、此の固定しない胚子でも明かに發育程度を知ることが出來るが、一般には斯くして得た卵內容は之を固定するのが良い。卽ち豫め肉池の如き小容器內に用意してある Alcohol-Formalin 液中に靜かに毛管の一端から吹込む樣にする卵液は、間もなく凝固をはじめるから、直ちに僅かの動搖を與へると卵黃は分散し胚子は固定をはじめる。最初から胚子を裸出せしめ固定するとき胚子は捲曲しやすく、その後の染色觀察に困難を感ずる。斯くして固定したものは寫眞に見る如きもので、殆ど完全といふことが出來る。其の後の染色觀察等の取扱ひは從來の方法と何等變りがない。

毛管法により胚子を取出す爲には前記の如く、卵の形態と胚子の位置的關係を豫め知つておかなくてはならない。常法に於ても此の關係を知る事は便利であるが、本法では特に注意すべき事項である。從つて卵が球形に近いものや、左右相稱のものは胚子の位置が判明しにくいから、比較的代表的な形を有するものを選別して材料とするのが能率的であらう。又卵殻が硬すぎたり、乾燥しすぎたりする場合は、豫め含水脫脂綿の如きをもつて卵面を少しく濕潤ならしめてから針を挿入すると良い。尙前記の操作は肉眼でも容易に行ひ得るが、解剖顯微鏡の下で行へば更に確實である。

尙又卵黃の觀察には上記の如く、吸引して得た卵內容液を豫めスライド硝子上に滴下しておいた 1～0.5% gelatin 溶液(中に Nacl 0.7% を含む)中に靜かに吹込んで、一樣に分散せしめて後鏡檢すれば良い。(寫眞 C 參照)

胚子及び卵黃の觀察

以上の方法に依れば 1～2 回の練習によつて相當の適確さをもつて胚子を得ることが出來る。胚子はそのまゝ、又は染色して觀察すべきは常法の如くである。

尙從來卵の發育を檢する爲には主として其の胚子の外形的變化を觀察することが唯一の方法であつた。然し乍ら胚子の未完成時代、例へば普通浸酸孵化法に於ける場合の如きは、胚子の解剖が困難であり、むしろ之を行ふものは少なく、卵の保護溫度と經過時間とより、その適期を推算するに止つてゐる。冷藏浸酸孵化法に於ける冷藏の適期も亦、誤認されやすい「所謂小豆色」を一つの標準としてゐた。勿論相當廣い安全圈はあるにしても、その適期を卵色の變化によつて推定することは相當の經驗家でない限り不安のものである。尙又胚子の或程度完成された場合のもの、卽ち春期(3～4月頃)の胚子の冷藏適期を見出す爲には、矢張り胚子の摘出に依るべきであるが、比較的若い休眠期の胚子は初心者には解剖が稍々困難である。

是等の場合胚子が胚盤から獨立してゐる限り、本法によれば容易に取出し觀察出來るし、又便利なことは若い休眠期の胚子から所謂最長期頃迄が最も容易に摘出し得ることである。然し胸脚突起發生の頃からは稍々困難となるから、此の後に於ける胚子は常法によるのが便利であ

らう。

尙胚子の完成前は此の毛管吸引法によつて卵黄の發生狀態が觀察出來るので、之によつて可成良く、其の卵の發育階梯を推定し得る。尤も卵黄の採取に就て梅谷博士や岩崎博士は硝子毛管を使用せられた事が記載されてゐる。

尙又本法は一般昆蟲の卵の胚子摘出にも應用して便利であらう。

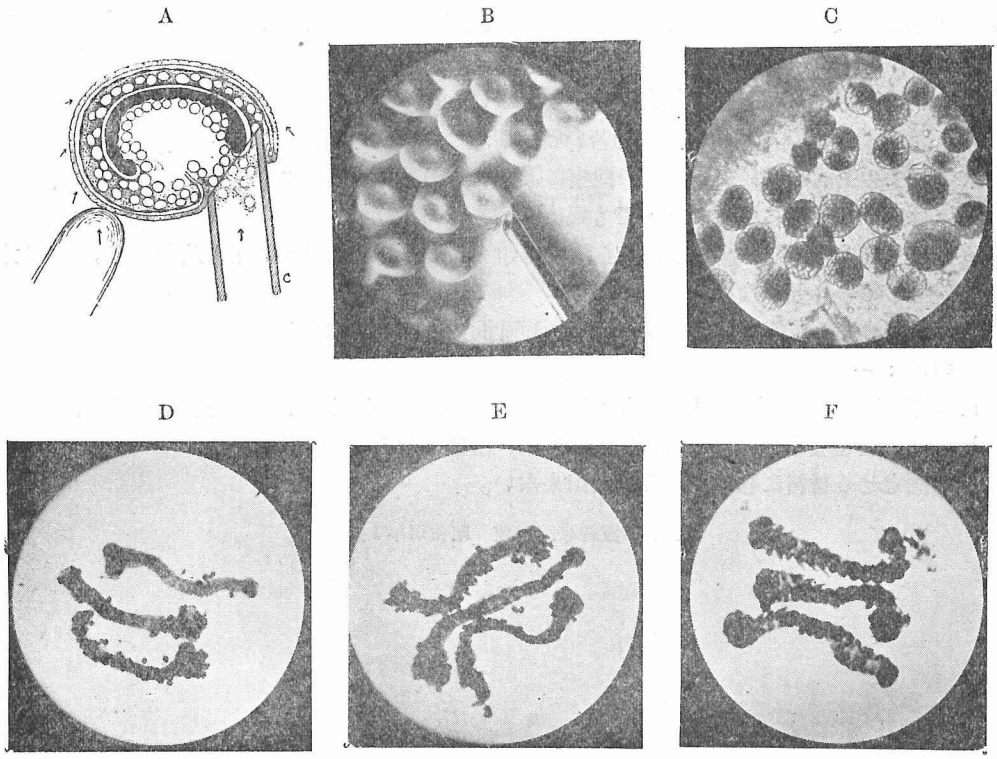


圖　の　說　明

A. 毛管に依る胚子吸引操作を示す。　c. は毛管(注射針)の先端。

B. 卵と注射針毛管の割合を示す。

C. 產卵後48時間目 (25°C) の卵黄(生)を示す。

D. 細長期丙Bの胚子。

E. 最長期稍前の胚子。

F. 胸脚發生時の胚子、胚子の近くに附着せる小黑點は卵黄細胞である。

(何れも毛管吸引法に仍る)

要　結

1. 蠶卵胚子及び卵黄の觀察上、特殊の簡易な卽時解剖法を考案した。之を毛細管法（又は毛管吸引法）と名づける。
2. 本法は胚子吸引摘出の爲硝子毛細管、又は注射針を少しく變形して使用する。
3. 卵内容は摘出後に於て Formalin-alcohol の如き固定液で固定を行ふ。
4. 本法は從來の方法に比して次の如き長所及び短所を有つてゐる。

長所：—

a. 胚子を取出す爲卵殻を除去する必要がない。
b. 休眠期又は細長期頃の比較的若い胚子が却つて摘出し易い。
c. 胚子の生成前に於ては卵黄の觀察により、卵の發育程度を推定することが出來る。
d. 胚子、卵黄共に生體のまゝでも觀察が容易である。
e. 胚子摘出前に卵を濡らさぬから常法の如く、蠶卵を gelatin の如き貼着劑で、臺紙に固定せしめる必要がない。
f. 練習少くして容易に熟練する。又極短時間内に胚子を取出し得る。

短所：—

a. 卵の形が左右相稱や球形のものは胚子の位置が判りにくく、胚子を壞しやすい。
b. 胸脚突起發生の頃より以後は吸引は稍々困難となる。
c. 固定せる材料に應用することは出來ない。

（於上田蠶絲專門學校　昭和14年1月15日）