

蛹期に於ける包卵被膜細胞の オキシダーゼ反應に就て

On the oxydase reaction of the follicle epithelium of the
egg of the silkworm pupa.

永 井 覺

緒 言

組織細胞内に於けるインドフェノール靑合成によるオキシダーゼ反應は細胞内呼吸と密接なる關係にあることが知られてゐる。従てこのオキシダーゼ反應の消長は、よく細胞内機能の盛衰と相伴ふことも認められてゐる。

Katsunuma 氏 (1924)⁽³⁾ は無脊椎動物の血球、その他各種組織細胞に就きて、上述の點を究明し、徳永氏 (1931)⁽⁹⁾ は家蠶、幼虫期に於ける各種組織、殊に絹絲腺細胞に就いて觀察し、亦横山氏 (1932)⁽¹⁰⁾ は家蠶の背脈管に就いて試みた結果を述べてゐる。何れも、インドフェノール靑合成によるオキシダーゼ反應が細胞内生活機能の消長とよく一致することを認めてゐる。

著者は蠶蛹期に於ける卵の發育が包卵被膜細胞と密接なる關係にあることが町田氏 (1922)⁽¹⁾ 高梨氏 (1927)⁽²⁾ 中曾根氏 (1930)⁽⁶⁾ 及び木暮氏 (1930)⁽⁷⁾ によりて認められてゐるので、之が該細胞に於けるオキシダーゼ反應の消長を觀察し、尙片側卵巢剔出による殘存卵巢、氣門閉鎖による呼吸障害及び蛹期保護温度の高低による包卵被膜細胞への影響について比較觀察し得たので、茲にその結果の概要を記する次第である。

尙本稿を草するに當り常に御鞭撻を賜りし浦生教授並に郡是製絲蠶事所三谷賢三郎氏に對し感謝の意を表し、尙刈尾勝、飯野丈次郎兩氏の助力に對し感謝する。

1 實驗材料及び方法

- 1) 供試蠶品種は國蠶支 106 號、同歐 18 號、分離白 1 號及び台白種を供試し、何れも標準飼育により、上簇後春期は 73°F 夏期は 77°F に保護したものである。
- 2) 包卵被膜細胞内オキシダーゼ反應の消長に及ぼす各種條件として、卵巢片側剔出は 5 齡起蠶に於て手術し、氣門閉鎖は化蛹直後、白エナメルを以て第 4、5、6 環節氣門を兩側共閉鎖せるもの、及び蛹期保護温度による比較は 80°F、75° 又は 74°F 及び 65°F 保護の 3 區の場合に就いて試みた。
- 3) 可檢材料は摘出生体のものに就き、目的部位を觀察し、發育の進める材料に在りては直接包卵被膜を剝離して觀察した。
- 4) オキシダーゼ反應を検すべき試薬は勝沼氏法に準據し

第 1 液…………… α -Naphthol (Merk 製) 0.2% の生理的食鹽水 (0.75%) 溶液
(煮沸しつゝ溶解せしめ冷却後濾過使用す)

第 2 液……………Dimethyl para phenylen diamin 0.2% の蒸溜水溶液
(室温にて溶解後濾過使用す)

使用に當りては第 1 及び第 2 液を等量に混和し材料に注ぎて 2~3 分後検する。材料の大なる場合は時々液を取換へる必要がある。

同時にマンガンメチル緑法⁽¹⁾による酸化還元部位をも観察した。本法は材料に 1% 過マンガン酸加里液を加へ、 $\frac{1}{1000}$ 規定鹽酸液にて軽く洗ひて後 1% のメチル緑液で染色する。

- 5) 本法によるオキシダーゼ反應は、細胞質内に淡青色乃至深青色の顆粒狀として現はれ、紫色に現はれるのは多く脂肪と看做されてゐるので、この所見を確むるために、ボーゲン III にて染色した場合と比較した。

尙マンガメチル緑法の場合 酸化部位は綠色に、還元部位は褐色に染色される。

- 6) オキシダーゼ反應が用液の P_H 價によつて如何なる消長を示すかに就きては、ゼーレンゼン氏燐酸混合液により 3.0~9.5 の範圍で種々なる P_H 價の液中に於て比較實驗した。尙包卵被膜細胞の P_H 價はブロームクレゾールグリーン及びブロームチモールブリユによりて比色的に測定した。
- 7) 本實驗の範圍に於てスタビール・オキシダーゼの反應は陰性であつたので、茲にはラビール・オキシダーゼ反應の結果に就て述べることにする。尙ラビール・オキシダーゼの存在は 60~70°C の熱により破壊せらるゝや否やを對照區と同時に比較染色して確めた。

II 實驗結果並に考察

A. 包卵被膜細胞の發育とオキシダーゼ反應との關係

- 1) 蛹期中に於ける包卵被膜細胞、殊に發育程度の進めるものにありては、明かに陽性のオキシダーゼ反應を示し、細胞質中特に核の周邊に強度に顆粒狀を呈して現はれ、核は全く陰性である。(附圖 V 圖参照)
- 2) マンガンメチル緑法による酸化、還元部位を観察した結果は、包卵被膜細胞に於ては、前記のオキシダーゼ反應の部位と略一致して居る。即ちオキシダーゼ反應強度なりし、細胞質特に核の周邊は明かに綠色を呈して、酸化部位であることを確めたが、オキシダーゼ反應に對する酸化部位の詳細に就ては今後の研究に俟たねばならぬ。
(備考: 卵内容は還元部位として認められた)
- 3) 包卵被膜細胞に於けるオキシダーゼ反應は發育初期に於ては一般に稍弱度に現はれ稍瀰漫性乃至小形顆粒狀に現はれるが、卵細胞の發育に伴ひ營養細胞の退行する時期に至れば、包卵被膜細胞内オキシダーゼ反應は急激に顯著に現はれ、稍大形の顆粒狀反應が觀られる。
- 4) 尙卵殼の分泌を終りて、中曾根氏⁽¹⁾の所謂卵管膨大部に於て脱却せられたる該被膜に於ても尙強度の反應が示される。即ち包卵被膜に於けるオキシダーゼ反應は永続性を持つてゐる。(附圖 I~IV 圖及び V 圖参照)

B. 包卵被膜細胞に於けるオキシダーゼ反應と P_H 價との關係

- 1) 卵の發育時期別に包卵被膜細胞のオキシダーゼ反應が用液の P_H 價と如何なる關係にあるかを觀たるに、發育の進展せる被膜の場合は P_H 價 3.0 以下及び 9.5 以上、發育初期の場合には P_H 價 3.0 以下及び 8.0 以上に於て反應の弱められることが認められた。
- 2) 尙、包卵被膜細胞の P_H 價は 5.9~6.0 であることが認められた。
上記の關係を表示すれば次の如くである。

第 1 表 (國蠶歐 18 號)

包卵被膜の發育時期別 用液のP _H 價	初 期 (栄養細胞の活動盛なる當時)	中 期 (卵殼形成始め當時の被膜)	後 期 (卵殼完成せられたる當時の被膜)	末 期 (膨大部に脱却せられたる被膜)
3.0 (HCl)	+	++	+++	++~+++
4.94 (ビレンゼン氏液)	+	++	+++	+++
5.59 (同)	+	+++	+++	+++
5.91 (同)	+	+++	+++	+++
6.47 (同)	+	+++	+++	+++
6.81 (同)	+	+++	+++	+++
7.73 (同)	+	+++	++	+++
8.04 (同)	+	++	-	+++
9.00 (KOH)	+	++~+++	-	+++
9.50 (同)	0~+	++~+++	++~+++	++~+++
包卵被膜細胞 P _H 價	5.90	5.90	6.00~60.5	6.00

C. 各種條件に於て發育せる包卵被膜細胞とオキシダーゼ反應との關係

- 1) 包卵被膜細胞は發育の進むに従ひ顯著なるオキシダーゼ反應を示すことに就ては既に述べた所であるが、片側卵巢別出せる場合は對照區に比し、明かにオキシダーゼ反應の強度なるを認め得る。
- 2) 蛹体保護溫度は 80°~65°F の範圍内に於ては高い程オキシダーゼ反應強度を示した。而して蠶兒飼育中軟葉給與及び水添食せる場合のものは一層その傾向顯著であつた。即ち軟葉及び水添食せる場合は蛹体低溫保護によりて特にオキシダーゼ反應が著しく弱められることが認められる。
- 3) 蛹期氣門閉鎖による呼吸障害は明かにオキシダーゼ反應を弱める。
- 4) オキシダーゼ反應の強度が氣門閉鎖による呼吸障害によりて弱められることは横山博士⁽¹⁰⁾が背脈管に於て認められた事と一致し、又蛹期保護溫度の高低に就ては木暮博士⁽⁷⁾が認められてゐる様に、高溫保護となるに従ひ卵形卵重を増大することに對し深い關係がある様に思へる。殊に軟葉又は水添食の蠶兒が上簇化蛹後に於て、低溫保護の場合オキシダーゼ反應が著しく弱められることは、著者⁽¹²⁾が蠶兒に軟葉給與せるものは低溫保護の場合産卵能率を低下し卵の酸中和能力を低下せしむること著しき結果を得たことと密接な關係がある様に思へる。

次に殘存片側卵巢の場合に就ては橋本氏⁽³⁾も認められてゐる様に對照蠶に比し強勢化する事と深い關係にあることが考へられる。

上述の如き關係を表示すれば次の如くである。

第 2 表 (國蠶支 106 號)

區 別 包卵膜の發育時期別	對 照 區 (74°F保護)	片側卵巢區 (74°F保護)	蛹 体 (80°F保護)	蛹 体 (65°F保護)	氣門閉鎖區 (74°F保護)
發 育 初 期	++	++~+++	++	++	+
中 期	+++	+++	+++	++	++~+++
後 期	+++	+++	+++	+++~+++	++~+++
末 期	+++	+++	+++	+++	+++

備考： 發育時期別は第 1 表に準ず。

第 3 表 蠶兒飼育條件及び蛹体保護溫度とオキシダーゼ反應

包卵膜發育期別	區 別	對 照 區			軟 葉 給 與 區			水 添 食 區		
		80°F	75°F	65°F	80°F	75°F	65°F	80°F	75°F	65°F
後 期		卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅~卅	卅
末 期		卅	卅	卅	卅	卅	卅~卅	卅	卅~卅	卅~卅

備考：軟葉及び水添食區は 4~5 齡給與のものである。(國蠶支 106 號)

5) 尙卵巢片側剔出による殘存卵巢及卵細胞の發育は包卵被膜細胞に於て觀られたオキシダーゼ反應の強度と深い關係にあるらしい事は、次表に示さるゝが如く、卵巢及び卵細胞數の増大せることによつても窺はれる。

第 4 表 (台白種)

項 目	卵巢の大き(長×巾)mm		對 1 卵 管 内 卵 細 胞 數			
	熟 蠶	上簇2日目	熟 蠶	上簇2日目	化蛹3日目	對 片 側 卵 巢 產 卵 數
對 照 區	2.41×1.85	2.80×2.12	57.3	61.2	96.2	235.5
片 側 卵 巢 區	2.84×2.16	3.05×2.45	68.9	77.8	158.7	387.4

備考：卵細胞數は 100 倍擴大鏡にて數へ得らるゝものを記した。

附記 本實驗によりて觀察せらるゝオキシダーゼ反應以外に、特有的染色状態によりて、何れの時期に於ても卵細胞榮養細胞及び包卵被膜細胞を區別し得らるゝのみならず、榮養細胞より卵内に移動せる榮養物質の量及び移動状態をも明かにすることが出来る(圖参照)。

總 括

以上包卵被膜細胞に於けるオキシダーゼ反應に就き實驗觀察せる結果の概要を總括すれば次の如くである。

- 1) 蠶蛹に於ける包卵被膜細胞にありては、インドフェノール青合成によるオキシダーゼ反應が明かに認められる。
- 2) 該反應は細胞質中特に細胞核周縁に強度に現はれる。
- 3) 該反應は發育初期の包卵被膜細胞にありては、稍瀰漫性乃至小形顆粒狀に稍弱度に現はれが、卵細胞の發育に伴ひ、殊に榮養細胞の退行期に入るに従ひ急激に顯著に、稍大形顆粒狀に認められる。
併かも卵の完成によつて、卵が卵管柄に移動せる後の脱却されたる包卵被膜に於ても強い反應が示される。即ち包卵被膜細胞に於けるオキシダーゼ反應は永續的である。
- 4) マンガンメチル綠法による酸化還元部位の觀察によれば包卵被膜は酸化部位としての染色反應(綠色)を示すので、本實驗の範圍では、オキシダーゼ反應を示す部位と所謂酸化部位とは密接な關係にあることが考へられる。
- 5) 包卵被膜細胞の發育に伴ふてオキシダーゼ反應が強度を増すことに對し、P_{ir} 價は本實驗の範圍にては無關係である。即ち用液の P_{ir} 價 3.0 以下及び 8.0 以上に於て初めて反應の弱められることが認められるが、(3) に述べたるが如き傾向に變りがないやうである。尙該被膜自体の P_{ir} は 5.9~6.0 である。
- 6) 包卵被膜細胞に示さるゝオキシダーゼ反應は

- (イ) 氣門閉鎖による呼吸障害を蒙れるものは然らざる場合に比し
 (ロ) 蛹期保護温度の低温となるに従ひ (殊に飼育中軟葉又は水添食せる場合に於て) 顯著
 (ハ) 片側卵巢剔出せざるものは、剔出せる場合に比し
 何れも弱められ、之によつて、卵細胞自体の増加發達にも密接なる關係が認められるので
 卵細胞の活動性とインドフェノール靑合成反應 (オキシダーゼ反應) の強度とは相伴ふも
 のと認められる。

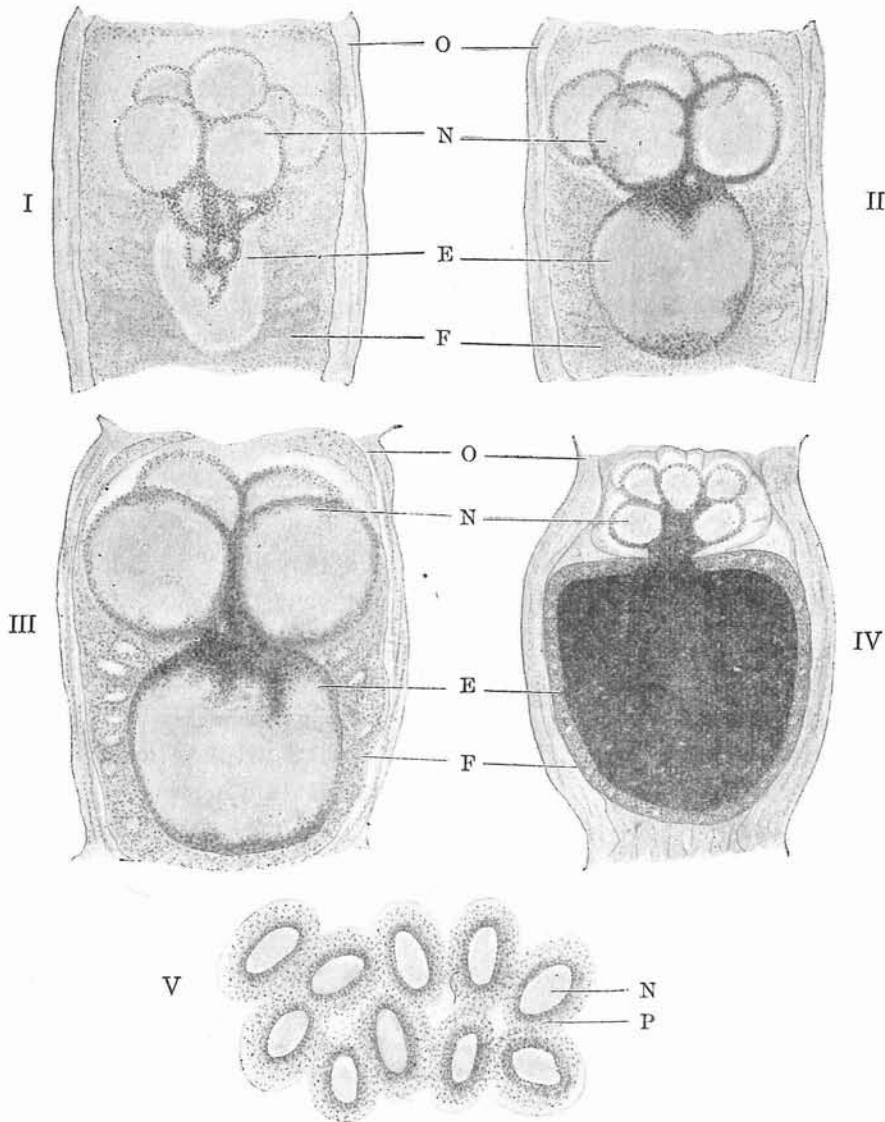
(於 郡是製絲株式會社蠶事所)

文 獻

1. 町田 次郎 (1922) 蠶業試驗場報告 第6卷 2號
2. 同 (同) 同 業報 第16號
3. Katsunuma. S. (1924) Intrazelluläre Oxydation und Indophenolblausynthese. Jena
4. 中曾根長男 (1927) 上田蠶絲專門學校校友會雜誌 第14號
5. 高梨亮次郎 (1927) 大日本蠶絲會報 第430號
6. 中曾根長男 (1930) 蠶絲學雜誌 第2卷 1號
7. 木暮 楨太 (1930) 日本蠶絲學雜誌 第1卷 1號
8. 橋本 春雄 (1930) 同 第1卷 2號
9. 徳永 雅明 (1931) 應用動物學雜誌 第3卷 1號
10. 横山 忠雄 (1932) 蠶業試驗場報告 第8卷 2號
11. 山羽 儀兵 (1934) 透過性と生體染色
12. 永井 覺 (1934) 郡是製絲株式會社蠶事所試驗業報 第1號

(受理 昭和10年7月20日)

附 圖



附 圖 說 明

- | | | | |
|--|----------|-----------|--|
| | O …… 卵管鞘 | N …… 栄養細胞 | |
| | E …… 卵細胞 | F …… 包卵被膜 | |
- (I) 熟蠶期に於ける卵管最下部位に存する卵細胞及び之を包む包卵被膜細胞に於けるオキシダーゼ反應像 (×330)
- (II) 上簇 4 日目 同上 (×330)
- (III) 化蛹 1 日目 同上 (本文第 1 表中初期に相當) (×330)
- (IV) 化蛹 3 日目 同上 (同 中期に稍近き時期に相當) (×100)
- (V) 但し卵細胞内顆粒は脂肪を含む。包卵被膜細胞に於けるオキシダーゼ反應顆粒 (×350)
- (N …… 細胞核 P …… 細胞質)
- 細胞核周邊にオキシダーゼ反應顆粒多し