

蠶卵の即時解剖及透性法に就 ての實驗

高橋清七 田角又十郎
長谷川正雄

目次

- I 緒言
- II 卵殼の除去方法
 - A 鹽素瓦斯に依る法
 - B 苛性加里液に依る法
 - C 其の他の藥液に依る法
- III 胚子の調査
 - A 胚子を取り出す方法
 - B 卵の透性方法
- IV 結論

I 緒言

蠶卵胚子發育の程度と蠶種保護との關係に就ては既に外山博士其他先輩諸氏の多くの實驗研究あり。就中近くは永野蠶業試驗場技師同場報告四卷四號。其他岩崎朝鮮總督府蠶業試驗場技師（動物學雜誌七卷八二號大正四年同場蠶胚子發育調査及大正十一年勸業模範場研究報告）等の實驗に依り蠶種保護上に一新紀元を畫したるの感あり其結果生種黑種の冷蔵。人工孵化。人工孵化施行前後の冷蔵。及其等の催青等は勿論春蠶種の貯藏催青等に至るまで胚子の發育程度を基礎とし。處置せざれば其目的を達成し難きを知り一般當業者間にも之を重視せらるゝに至れり。

而して之の目的を達成せんには極めて短時間に且つ簡易に卵を解

剖し其の胚子の發育程度を觀察するの必要あり。

然るに従來廣く行はれつゝある方法は種々なるも多くは針を以つて卵殻を破り胚子を取出すの方法にして其手段容易なる如きも技術と熟練とを要すること大なるの欠點あり。此の缺點を補はんが爲めに即時解剖の手段として創案せられたるは柳田賴母氏の柳田式即ちピベットを以つて水中にて胚子を露出せしむる方法及び土屋農夫人氏の即時乾熱固定方法等にして此れ等の諸實驗は斯界に於ける大なる貢獻である。

其の他即時解剖に就きては著者の知る範圍にては肥田宏氏、徳重直衛氏、佐瀬旭氏等なりとするも尙幾多の手數と時間とを要するの嫌無きにあらず。著者は今後の胚子研究には卵を透性ならしめ卵黃の移動と胚子の發育程度とを比較研究せざれば完全を期し難しと信するが故に之れが目的を達せんとし卵固定の煩を省きて最も短時間に且つ技術熟練を要せずして完全に胚子を觀察し得る方法を探究し以て當業者の參考に資せんとするものなり。

II 卵殻の除去法

茲に述ぶる予等の實驗せる卵殻除去は主として生卵（個定せざる卵）に就いての方法である。卵殻の除去方法には次の二法あり。

1. 針類を用ひて個々の卵につき卵殻を破りて除去する方法。
2. 化學的藥品を用ひて全部の卵殻を一時に融失せしむる方法。

第一の方法は従來廣く行はれし方法で時間と熟練とを要すること大なるものなり。予等は其の欠點を補はんが爲に第二の方法即ち化學的藥品により試みたり。其方法は數種あるならんも著者等は主として鹽素瓦斯と強アルカリ液にて處理し短時間に且つ熟練を要せずして脱殻し得らるゝことを確め得たり依りて此の方法につき述べん

とす。

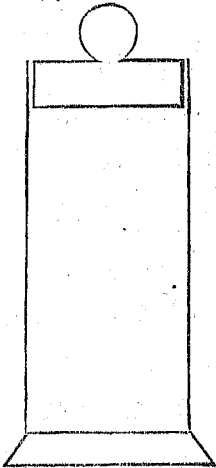
A 鹽素瓦斯に依る卵殻の除去法

從來鹽素瓦斯は蠶卵の卵殻を融解せずと信せられしも予等の行ひたる實驗は漂白粉に鹽酸を注ぎて發生する強烈なる發生機の鹽素瓦斯に蠶卵を接觸せしむれば數十分に於てよく卵殻を融解除去する事を得るなり。以下少しく其の方法を述べん。

濃厚なる發生機の鹽素瓦斯は化合力甚だ強大にして蠶卵を長時間此の瓦斯中に投入し置く時は蠶殻は勿論卵質全部消失するに至るものなり。依りて卵を此の瓦斯中に投じ卵殻の融解する程度に止めて引上ぐる時は比較的卵質を害することなくしてよく脱殻し得らる。而しく成るべく卵質を害することなく脱殻せんには濃厚なる鹽素瓦斯中に投じて短時間に其の目的を達するを可とす。之れ稀薄なる鹽素瓦斯中に長時間作用せしむる時は卵殻の未だ融解せざるに己に卵質は侵害せらるゝ虞あればなり。

鹽素瓦斯は空氣に比して重く攪撒性遅きと謂ふも前述の如く卵殻

第一圖

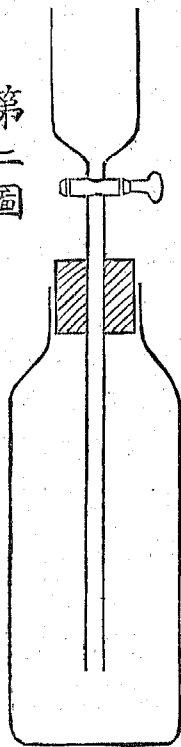


の除去には成る可く濃厚なるを可とするのみならず。徒らに此れを發散せしむるは藥品を徒費し且つ鹽素瓦斯は有毒なるものなれば成る可く之れを小容積に密閉し。其の中にて蠶卵を處理せしむるを可とす。而して化學的設備の存する所にては其れに適當なる用具を選択するを可とするも如斯設備なき所にては次の如き簡單なる方法に依るを可とす。

即ち直徑1-2寸。高さ2-3寸の第一圖の如き廣口瓶の密栓し得るものを選び其の内に少量の漂白粉を入れ次に卵を其の附着せる薄紙と共に

臺紙より剥ぎ取り其の一端を糸にて結び瓶の中央に垂下せしむべしかくして其れに相當の鹽酸（漂白粉3瓦に化學用鹽酸5ccの割合にて行ひたり）或は硫酸を注ぎ直ちに密栓蠟付をなし置くなり。然る時は蠶卵は漸次黄色となり30分位にして遂に褐色となり外部より透視するに全く漿液膜の色素を失ふに至る（中央の裏面の色素の無くなる迄）此の時に至れば脱殻は適當に行はれたものなるにより直ちに蠶卵を取出し。若し胚子取出すを目的とする時は水中に。又卵

第二圖



全形を其儘透性法を行ひて觀察せんとする時は70%の酒精中に投入しピットにて吸引放出攪拌を行ひ殘殻を除くべし。脱殻に要する時間は種々の事情により正確を知り難きも大略30分より1時間内外なる如し。尙化學的設備の存する所にては第二圖の如き括栓付漏斗を栓に装着したる瓶を用ひなば一層便なり。即ち此の器を用ふる時は密栓後に鹽酸を注ぐが故に發生する鹽素瓦斯の逸失することなく且つ瓶中の鹽素瓦斯の濃度を任意に加減し得るの便あり。

蠶卵は瓦斯接觸に先だち水中又はアルコールに浸漬し後水滴を除きて施行せば脱殻時間を短縮し且つ均一に脱殻し得らる。但蠶卵面に水滴ある時は反つて不均一に消失する傾向あり。又蠶卵面は成可一様に瓦斯に接觸する様に注意すべし。

次に著者等が實驗の一部を掲出し参考に供せん

内法直徑一寸一分、高さ三寸五分、ニオンスの標本瓶（第一圖）に各漂白粉三瓦宛を入れ之れに蠶卵を吊下し、鹽酸5cc宛を注入し即時に密栓をなし作用せしむること10分、20分、30分、40分、50分、1時間。

1時10分、1時20分、1時30分、1時40の各區を比較せるに30—40分にして適度となるものと一時間内外にて適度に達するものとありたり。之れに依りて觀れば30分以内のものは脱殻不充分にして適當なるは30分以上1時間内外なり。而して同時に同一方法にて同一卵質のものを處理するも前記の如く脱殻に遲速ありたり。之れを推察するに瓦斯の漏洩の結果ならん。

●本法施行に就いての注意要項

1. 漂白粉の量は稍多き方漸次に瓦斯を發生するの利あり。漂白粉の殘溜する時は折々振蕩すべし。鹽酸量多き時は瓦斯一時に發生する缺點あり。
2. 瓦斯は人体に有毒なること。點火爆發し易きこと。瓦斯の充滿により栓を吹き抜くこと。等あれば殊に注意すべし。
3. 既に固定(クローム酸等にて)しある卵にても略同時間に脱殻し得べし。但しアルコールにより取出してよく水滴を去りて後處理すべし。然らざれば卵殻の融解不均一となる虞あり。
4. 施行中卵の脱落することなし。故に數口の卵を同容器にて一時に處理する事を得。
5. 瓦斯中より取出すべき適度は卵個有の色を失ひて一樣に褐色と變じたる時とす。

B 苛性加里液脱殻法

本法は農學士三宅康次、農學士田所哲太郎兩氏「家蠶卵殻の組成分に就いて」(大日本蠶絲會報第239號)の研究を蠶卵解剖に應用したるものにして予等は數十回の實驗の結果次の如き方法により成功するを得たり。

先づ家蠶の生卵(固定せざるもの)を臺紙の儘適當の大きさに切り液に浸漬し易からしめ置くべし。次に苛性加里の約20乃至30%液を作

り之れを加温沸騰せしめ一度沸騰點に達せしものを火より稍些かに遠ざけ沸騰止まるに至らば直ちに蠶卵をピンセットにて持ちたる儘浸漬した卵の色澤の變化に注意す。而して約十秒にして卵色赤味を帯び卵粒四五粒脱落浮揚するに至らば直ちに出して水を入れたるシャーレー中に移すべし（此際未だ卵殼のよく取れざるものある時はピペットにて吸引放出攪拌を行ひ内容と卵殼とを分離すべし）。

如斯して水中に移したる蠶卵は約五分にして内外の浸透壓の差により稍膨張を初むるにより此の時を胚子取出の適期とす。但し透性を行ふ場合は内容の膨張を忌むが故に苛性加里液より取出したる蠶卵を直ちに70%の酒精中に入れて後の操作を行ふを要す。

尙苛性加里液は40%以上は脱殼甚だ速にて内容を侵かされ易く又10%以下1%位にても脱殼し得れ共長時間を要し其の間内容變化の虞あり。

C 其他の化學藥品使用脱殼法

鹽素瓦斯及苛性加里液の他に尙脱殼に利用せらるゝ藥品は種々あらんも著者等は硅酸曹達原液及炭酸曹達液の煮沸液にても同様に蠶卵の脱殼をなし得る事を確め得たり。（化學藥品を用ひて尙より以上簡易なる脱殼法の發見せらるゝ事を希望するものなり）

III 胚子の調査

A 胚子を取り出す方法

従來胚子を取り出す方法は針及筆等にて取出したれ共著者等は上述の如く鹽素瓦斯は或は苛性加里液によりて脱殼せる蠶卵を水中に約五分間放置し稍膨張を初めんとするに至りし時、ピペットを以て蠶卵を水と共に吸引し之れを稍強く押し出し水中にて數回之れを繰返し攪拌をなしたり。即ち柳田式水中攪拌胚子檢出法によりて胚子を

取出したり。此際注意すべき點は初め數個の卵吸引押出攪拌し卵が破れて各卵の胞子は頭部數環節を顯すにより爾後は各卵一粒宛丁寧に吸引放出を行ひ胚子を露出せしむべし。又内容の容易に破れざる時は（胚子は反轉期前は卵の半圓週の短き方に居るにより半圓週の長き側一圓の大なる方にて）精孔より稍下方に針にて僅かに傷を付け後ピペットにて胚子を露出せしむべし。

而して脱殻せる卵は永く水中に放置する時は卵の内容と水との浸透壓の差により漸次膨張するにより膨張する事を欲せざる場合には之れを直ちに70%の酒精中に入れ換ふべし。但し胚子を露出するには脱殻卵を水中に置き將に膨張せんとする時を最も容易なる時なりと思惟す。（露出せる胚子は檢鏡し次に述ぶる透性卵と比較研究するものなり）

B 卵の透性法

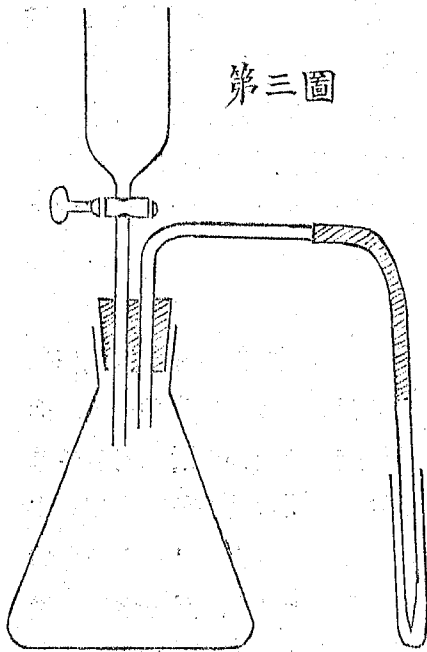
卵の透性法に就ては今日迄で先輩諸氏の種々なる研究あれ共何れも長時間を要する事と未だ充分の透性の行はれざるの欠點あり。而して其の時間を長からしむるの主なる原因は有色卵の漿液膜の脱色にあるが如し。依りて其の原因を究め速かに漿液膜の色素を奪取することを得ば餘程迄で實用化し得るものと信じ著者等は種々の實驗を反復し鹽素瓦斯による脱色法を案出するに到れり。又透性には從來主としてウインターグリーン油を用ひたるも予等はクレオリートにてより以上短時間に充分の透性の目的を達し得たり。以下鹽素瓦斯による脱色法より透性法に至る方法を詳述せん。

松室氏及東畑氏の蠶卵の透性法は卵殻を除去せずして行ひたるも著者等は卵殻除去後の卵につきて實驗せり。之れ一見先輩諸氏の方法に煩勞なる卵殻除去の一楷梯を加へたる如きも漿液膜の色素奪取に於て又染色其の他の點に於て時間を短縮することは其欠點を補ふ

て餘りあるものなり。

1. 固定 固定方法は普通行はるゝ固定法なれば水の方法にても可なるも最も簡單に行はんとするにはアルコール中に一時間内外投入し置かば可なり。

2. 脱殻 IIの A或は Bの脱殻法によりて行ふか或は従前の針類を用ひて一粒宛脱殻を行ふべし。



3. 漿液膜の脱色 白卵又はIIの Aの方法に依りて脱殻せるものは此の必要なきもIIの Bに依りて脱殻せるもの及び針類にて脱殻せる卵の透性法を行ふ前に漿液膜に有する色素を漂白せざるべからず。而して其の漂白劑としては過マンガン酸加里、過酸化水素等種々ありと雖も何れも其の漂白に長時間を有するが故に最も簡單に加之も速かに其目的を達せんには鹽素瓦斯に依るを可とす。而して著者等は此れを行ふ爲めに第三圖の装置を

用ひたり。

即ち漂白粉を入れたる鹽素瓦斯發生器より硝子管にて瓦斯を導き其末端を細管(細き程可なり)となし之れを水又は稀薄なる酒精中に脱殻卵を入れたる試験管中に挿入し次いで發生器に鹽酸を注ぎ鹽素瓦斯を發生せしめ之れを該試験管の液中の最低部より泡出せしむ。如斯くして瓦斯を泡出することを續くれば針類にて脱殻せる卵は約

1—2分にて又苛性加里液にて脱殻せる卵は3—5分にて容易に漂白せられて黄白色となるに至る。此處に至れば直に瓦斯接觸を止め取り出して70%内外の酒精中に投入して酸を洗滌す。

4. 染色 脱殻漂白せる卵は其の儘透明劑中に投入して透性し觀察するを得るも一層觀察に便ならしむるには染色するを可とす。而して染色劑として優良なるはヘマトキシリン類及びカーミン類なり殊にヘマトキシリン類中にはワイゲルト氏ヘマトキシリン、ハンセン氏ヘマトキシリン及び、デラフィールド氏明礬ヘマトキシリンを可としカーミン類にてはアラウンのコヘニンを可とす。次ぎに染色時間は染料により脱殻法により又其他の條件により多少異なると雖も普通一時間内外より觀察し得るに到る。一般に針類にて脱殻せる卵は鹽素瓦斯或は苛性加里液にて脱殻せる卵より短時間に染色せらる。又標本とするものは稍長時間染色するを可とす。

5. 脱色 染色卵は脱色劑を作用せしめて其色素との親和力弱き卵質の染色劑をより多く奪取して卵質と胚子との境界を明瞭ならしむるのみならず胚子其ものに於ても適度に脱色して各部の關係を明かならしめ以て觀察に便ならしめざるべからず。脱色に要する時間は其の染料の種類及び染色程度により異なるが故に常に一定せず。依て脱色の程度を知らんとするには卵の色合に依るべし。即ち次第に褪色し(數回脱色劑を換へるを要す)卵色殆んど灰白色又は黄白色となりたる時を可とす。此の時に到れば胚子の部分のみ帶狀に明視し得らるゝものにして、この程度に到りて脱色を中止すべし(脱色劑には鹽酸酒精を用ひたり)。

6. 脱水 以上の諸操作を受けたる卵は次に無水酒精中に投じ完全に脱水を行ふべし。脱水の良否は透性の良否に關係す。

7. 透性 松室氏、池田氏、東畑氏は透性劑としてウインターグリーン

ンオイルを賞讃せられたるも予等の用ひたる透性劑中（クレオソート・キシロール、ツエテル油、アニリン油、ペルガモツト油、テルペンチン油、ウイレターグリーンオイル）にてはクレオソート・ウイレターグリーン油、テレピン油等最も可なりき。然れ共單に胚子を觀察する程度のものなれば何れの油類にても又はキシロール等にも可なるが如し。（即時のものはクレオソート最も可なり）

以上の透性法によりて作りたる卵は之れを顯微鏡にて觀察せば可なるも之れを永久標本とし貯藏せんには上述の透性劑より取出し臺硝子（凹窩臺硝子を可とす）上にバルサムにて封すべし。次に永久標本の作製に就て注意すべき點を擧ぐ。

1. 永久標本にせんとする場合は必ず固定完全のものを用ふべし。
2. 脱殻は針類を用ひて行ふを可とす（鹽素瓦斯又はアルカリ液に比して）。
3. 染色は成るべく長時間に亘るを可とす但し一晝夜以上に亘るの必要なきが如し。
4. 染色劑はカーミン類に依るよりヘマトキシン類に依るを可とす
5. 脱色は成る可く稀薄なる脱色劑を用ひ長時間に亘る脱色を可とす。
6. 凹窩臺硝子にあらざる時は卵の週圍に小なる硝子破片を置きて封すべし。

IV 結 論

1. 本實驗の方法に依り處理する時は從來の解剖法の如く技術の巧拙と熟練の良否に關せず何人にも初めより最も簡單に且つ短時間に胚子を取り出し検査し得らるる長所あり。而かもIIのA法に依るときは其工程は蠶種の口數多き場合に於て比較的短時間に實驗し得

らるゝ便あり。

1. 卵殻除去は従來の方法に依る時は平均一分間に1-2個を普通とするも本實驗のIIの A法に依る時は40分内外を要するも一時に數十口數千粒を併せ行ひ得るの便あり。又IIの B法に依る時は十秒内外にして何十粒をも除去し得らる。然れ共卵粒が臺紙より脱落する爲に前の A法の如く一容器中に數口を同時に行ひ得ず。
1. 胚子取出の方法は巧拙により一定し難きも1-2分間に處理卵數の20-30%の胚子を得るにより従來行はれたる即時解剖法に比し二分の一乃至十分の一時間にて足る。
1. 透性法は従來知られし方法は二晝夜以上を要するも本法に依る時は漂白を3-5分のみにて終り全工程を了して透性を完成する迄での時間は約二時間内外にて充分なり。故に従來の方法に比し $1/24$ の時間にて足る。

備考 次に鹽素瓦斯及び苛性加里液及針類にて脱殻せる卵を透性する迄での各時間を示し參考に供せん。

針にて脱殻せるもの	アルカリに依りて脱殻せるもの	鹽素瓦斯に依て脱殻せるもの
脱殻.....10分(但し十粒に要する時間)	脱殻(苛性加里).....10秒	脱殻(塩素瓦斯).....40分
漂白(鹽素瓦斯に依る) 2分	洗滌(水又は酒精)..... 2分	洗滌(水又は酒精)..... 5分
洗滌(水又は酒精)..... 5分	漂白(鹽素瓦斯)..... 5分	染色..... 60分
染色.....30分	洗滌(水又は酒精)..... 5分	脱色(酸性アル).....30分
脱色(主として酸性).....20分	染色.....60分	脱色(アル).....30分
アルコール).....20分	脱色.....30分	脱水(無水アル)..... 5分
脱水(無水アルコール) 5分	脱水..... 5分	脱水(アル)..... 5分
透性(透明劑)..... 2分	透性..... 2分	透性..... 2分

1時14分

1時49分10秒

2時22分

文 獻

- | | | |
|-------|---------------|----------------------------------|
| 三宅康次郎 | 家蠶卵殻の組成分に就て | 明治四十四年 日本蠶絲會報 239號 |
| 田所哲太郎 | 蠶卵内胚子實驗法 | 大正九年六月及大正十年三月 蠶絲 |
| 青木頼母 | 蠶卵胚子即時檢出法に就て | 大正十年十月より 蠶絲 |
| 土屋農夫人 | 全縣下(鹿兒島)秋蠶黒種に | 大正十年九月 {大日本蠶絲會報356號
蠶業新報342號} |
| 肥田宏 | 復式冷蔵法斷行 | |

徳重直衛	蠶卵胚子解剖の必要と其方法	大正十二年六月	蠶業新報363號
佐瀬旭			
松室重正	蠶体の透性法に就て	大正五年六月	蠶業新報279號
東畑道夫	蠶卵の透性劑に就て	大正十三年六月	蠶絲學報6卷5號

蠶座面の蒸發水分量簡便測定法

小泉清明 山岸武

余等は曩に Stahl 氏が植物の葉面に用ひたる方法を應用し給桑直後より次回の給桑時迄に於ける蠶座面の相關蒸發水分量に就きて實驗せり。其方法を述べれば鹽化コバルトの濕氣を吸收する時赤變する性質を利用し質の粗なる濾紙を鹽化コバルトの飽和水溶液に浸しこれを乾燥し方二分に切斷して之を直徑三糎、深さ四糎半の硝子瓶に底より二糎の距離に白金線を以て取り付けて蠶座面に倒伏せしむ又一方別に同じ構造の容器に同様に濾紙を裝置したるものを作り之れは底部に數滴の蒸溜水を滴下して全底面をうるほさしめ口部は硝子板を以て掩ひ二者の紙面の一様に赤變するに到る迄の時間を各々測定し後者の赤變する時間を以て標準とし測定を行へり。

此の方法に於て標準管中の鹽化コバルト紙の赤變する迄に要する時間を v とし蠶座上に倒伏せる管中の紙片の赤變するに要する時間を l とせば蠶座面の蒸發壓は蠶座面を一の蒸發面と見做す場合は標準管の蒸發壓の $\frac{v}{l}$ 倍となる筈なり。而して蠶座面の包水力は $\frac{1}{v}$ と見做すことを得べし。