

家蠶卵發生過程에서 Acid Soluble Phosphorus의 變動과 放射線 影響에 關한 研究 (第二報)

林 永 祐

(서울 農業大學)

Study on the Change of Acid Soluble Phosphorus and Influence of Irradiation
on Embryonic Developmental Silkworm Egg, *Bombyx mori* L. (Part. II)

Y. W. Lim

(Seoul Municipal College of Agriculture)

Summary

On the seventh day of mounting male and female cocoons are distinguished. A part of those male and female pupae is irradiated for 40 min. with 1,000r-ray irradiation. Those eggs obtained from the irradiated pupae are divided into six groups of 5, 15, 45, 90, 720 and 2,400 minutes after laying. The changes of acid soluble phosphorus in the each group of eggs are as follows.

1. In the control group of the maximum quantity in acid soluble phosphorus was 1,456r/100mg D.P. in the 2,400 minutes group, while the minimum quantity was 1,232r/100mg D.P. in the 720 minutes group.

2. In the mated group of *irradiated female moths and control male moths, the quantity of acid soluble phosphorus was small as compared with the control group in the five minute group of 1,288r/100mg D.P. and in the 15 minutes group of 1,299r/100mg D.P. while the quantity increased to 1,484r/100mg D.P. in the 45 minutes group.

The quantity began to decrease again to 1,400r/100mg D.P. in the 2,400 minutes group which was smaller than that of the control group. The quantity was slightly small in the silkworm eggs laid in the early stage when compared with that of mated group of *irradiated male moths and control female moths. Both groups showed the larger quantity in the 720 minutes group than that of the control group. The quantity of acid soluble phosphorus in the mated group of control female moths and *irradiated male moths was larger in variation than in the mated group of control male moths and *irradiated female moths.

3. In the mated group of *irradiated male and female moths the largest quantity was 1,760r/100mg D.P. in 2,400 minutes group and second was 1,736r/100mg D.P. in 90 minutes group, and third was 1,288r/100mg D.P., in 5 minutes group. Generally the quantity was small in silkworm eggs laid by the irradiated one in the early stage than the control group, but in the later period of egg the quantity began to increase more than that of control group.

I. 緒 言

일찌기 蠶卵胚子 發育過程에 對하여 많은 研究報告

가 있다고 하겠으나 大部分이 形態學的 乃至 組織化學的 研究이 있으나 最近에 이르러 蠶卵의 化性, 生理等에 對한 生化學的 研究가 活潑히 진행되고 있는 것

*Irradiated female and male moths stand for moths from irradiated pupae.

은 사실이라 하겠다. 그러므로 本研究에 있어서도 雞卵發生過程인 受精, 卵內成熟分裂, 產卵後分化되는 時間을 中心으로 磷의 變動을 考察해 본다는 것이 生化學의 意義가 있을 것으로 料되있기에 몇 가지 얻어진 知見을 報告하며 이와 관련된 몇 가지 研究報告는 다음과 같다.

井上, 小出⁴⁾(1934)은 家雞卵內 存在하는 油脂는 linoleic acid이고 蛋體內 油脂는 isolinoleic acid이라고 報告한 바 있으며, 入戸³⁾(1950)는 催青卵內 DNA 와 RNA에 關한 feulgen反應과 Pyromine methyl green複染法에 依한 組織化學的研究報告를 하였다.

田島¹⁾(1958)는 雞品種에 따라 放射線에 對한 感受性이 높은 品種과 낮은 品種에 關한 試驗報告를 하였으며 金⁶⁾(1968)은 家雞卵內 RNA의 變動을 알기 為하여 starch gel을 利用한 電氣派動의 分割 및 X-線에 依한 影響을 報告했으며 同氏는⁵⁾(1968) 家雞卵胚子發育過程에서 ascorbic acid와 lipids 變動에 關한 研究報告를 하였다.

그 다음 金, 林⁹⁾(1969)은 家雞卵催青過程에서 glucose와 phosphorus 變動 및 放射線 影響에 關한 研究報告를 하였다. 그리고 Park, Yoshitake⁸⁾ (1969)는 胚子發育過程에서 催青溫度가 核酸 및 蛋白質合成에 미치는 影響에 對한 研究報告를 하였으며 同氏⁷⁾(1970)는 休眠期 雞卵內 卵黃細胞機能이 胚子發達과 관련된 核酸 蛋白質合成 與否 및 變動에 對한 組織化學的研究報告를 하였고 金, 林¹⁰⁾ (1971)은 本 研究報告와 關聯이 깊은 家雞卵發生過程에서 lipid phosphorus의 變動과 放射線의 影響에 對한 研究를 第一報로 報告하였다.

끝으로 本 研究를 遂行함에 있어서 많은 協助를 하여 주신 서울醫大 生化學 教室 여러분들에게 紙面을 通하여 深甚한 謝意를 表하는 바입니다.

II. 材料 및 方法

1. 材 料

(1) 品種 : 昭陽 × 雪岳

(2) 飼育 및 放射線 照射

雞種 5g를 減進催青法으로 1969년 5月 13日 掃鷄하고 飼育하여 6月 5日 上簇하였다. 上簇後 7日째 收藏하여 蘭을 切開하고 蛋體를 雌雄別로 鑑別한 다음 一部는 標準區로 하고 다른 一部는 放射線(Copper filter利用) γ線으로 50cm前方에서 1,000γ로 40分間 照射한 다음 化蛾를 기다려相互 다른 모양으로 交尾시킨 다음 產卵時間을 中心으로 表 1에서와 같이 供試材料

를 採取하였다. 그리고 蛹期化蛾, 交尾, 產卵까지는 常溫에 보호하였고 供試材料를 採取後의 雞卵은 그때마다 0°~5°C에 冷藏해 두었다.

Table 1. Collected of Sample and Time.

Copulation After laying	C(♀ × ♂)	i♀ × C♂	i(♀ × ♂)	C♀ × i♂
5 Min.	2g	2g	2g	2g
15 Min.	"	"	"	"
45 Min.	"	"	"	"
90 Min.	"	"	"	"
720 Min.	"	"	"	"
2400 Min.	"	"	"	"

C : Control. i : irradiation.

2. 實驗 方法³⁾

雞卵 1g를 秤取하고 0.1M의 phosphate buffer(pH 7.4) 5ml를 加한다음 細砂와 함께 粉碎하여 試驗管에 取하고 700g에서 10分間 遠沈한 後 上清液 1ml를 取하여 digestion시키지 않고 molybdate reagent I을 1ml加하여 發色시킨 다음 5分間 放置後 spectrophotometer를 利用하여 Filter 660mμ에서 測定하였다.

III. 結果 및 考察

磷合物은 生體 組織 細胞內에서 中間代謝物들이 磷酸과 結合되면서 그 條件에 따라 可逆的 磷酸化 反應과 不可逆的 磷酸化 反應이 이루어져 物質代謝에 必要되는 Energy 供給 및 蓄積을 이루게 됨은 既知의 事實이다. 第一報에서 分析 檢討한 lipid phosphorus는 一種에 有機磷이 있으나 本 研究에서 acid soluble phosphorus는 無機磷으로서 一般的의 見解로서 有機磷의 代謝가 活潑하여지면 無機磷의 代謝가 減少한다는 持論은 이미 잘 알려진 事實이다. 또 生細胞의 增殖 및 細胞活性화에 따라서 磷이 增加되며 아울러 炭水化物의 代謝가 活潑하게 되고 磷의 利用率이 많아짐에 역시 磷酸鹽의 減少를 초래하게 될 것이다. 가령 糖分이 解糖되는 一種의 代謝過程에서 必要되는 磷은 既存 또는 合成된 ATP가 作用하여 glucose-6-phosphate가 되면서 ADP가 생기게 될 것이며 또다시 ATP가 作用하여 glucose-1,6-di-phosphate가 이루어지면서 ADP가 유리된다. 이와같은 結果로 보아 만약 유리인(Pi)이 결핍된다면 반대로 ATP合成이 이루어지지 않는다는 것을 暗示하는 同時에 炭水化物의 利用, 即 Energy 代謝가 잘 이루어지지 않는 결과가 초래될 것으로 생각된다. 이와같은 見解에 비추어 雞卵 發生過程에서 acid soluble phosphorus를 分析한 結果는 表 2에서와 같

Table 2. The change of acid soluble phosphorus in the silkworm eggs

After laying times	Copulation Unit Quantity unit	C(우×♂)	i 우×C♂	i (우×♂)	C♀× i ♂
		r	r	r	r
		D.P. 100mg	D.P. 100mg	D.P. 100mg	D.P. 100mg
5 Min.		1,400	1,288	1,288	1,400
15 Min.		1,344	1,299	1,456	1,339
45 Min.		1,400	1,484	1,400	1,520
90 Min.		1,288	1,428	1,736	1,456
720 Min.		1,232	1,372	1,400	1,372
2,400 Min.		1,456	1,400	1,760	1,400

D.P: Dry Powder.

C: Control.

i: Irradiation.

은 결과를 얻게 되었다.

1. 產卵後 受精卵이 되기前 acid soluble phosphorus의 變動

產卵直後 蛋卵은 生理的으로 第一成熟分裂後期에 屬하고 10分이 經過되면 第一成熟分裂이 끝나는 同時に 第一極體가 形成되고 60分에 第二成熟分裂이 끝나 第二極體가 形成되어 卵核이 完成되는 時期다.

本 實驗結果 磷(acid soluble phosphorus)의 變動은 產卵直後 5分에 對照區(우×♂)와 대조구우×방사선처리区間에는 같은 量을 나타냈으나 이 兩區에 比하여 방사선처리우×대조구송 区와 방사선처리구(우×♂) 区에서는 다소 적은 量을 나타내게 됨은 雌 또는 雌·雄 다같이 放射線 照射를 시킨區로서 母系에 미친 放射線의 影響에 起因된 것이 아닌가 생각된다. 產卵後 15分에도 5分에서와 各區間 큰 차이는 없다 하겠지만 방사선처리구(우×♂)에서는 오히려 5분에서 보다 많은 量을 나타냈음을 確認할 수 있었다. 產卵後 45分에서는 5分 15分에서 보다 acid soluble phosphorus가 전반적으로 많은 量을 나타냄을 볼때 卵內 磷의 代謝가 離卵이 成熟함과 同時に 活發해지는 結果라고 볼 수 있으며 또한 第二成熟分裂로 因한 것이 아닌가 생각된다.

2. 產卵後 受精卵이 된 後 卵內 acid soluble phosphorus의 變動

卵內 進入된 精核과 卵核이合一하여 受精이 끝나 하니 的 完全한 個體가 發達해가는 過程에 磷의 變動이 많을 것으로 생각된다. 따라서 產卵後 90分과 2,400分에서는 各交雜區間 대조구(우×♂)에 있어서는 產卵後 2,400分에서 많은 量을 나타내다가 雌 또는 雄 片母體거나 片父體만 放射線 處理를 시킨 交雜區間이나 產卵後 90分 2,400分間에는 큰 變動이 없으며 대조구(우×♂)에 比하여 90分에서는 약간 증가된 量을 2,400分에서는 대로 다소 감소된 量을 나타냄을 알 수 있다. 그리고 雌

雄 다같이 放射線를 照射시킨 區에서 產卵時間別로 나交雜區間에 가장 많은 量을 確認할 수 있는데 이것은 放射線 障害로 異常代謝에 因된 磷의 變動 結果라고 생각된다. 產卵後 720分에서는 各交雜區間 큰 變動은 없다 하겠으나 90分, 2,400分에 比하여 各區가 적은 量을 나타냄을 알 수 있다. 전반적으로 보아 產卵時間이 45分後인 即 受精卵이 된 後 成長過程中에서 acid soluble phosphorus의 變動이 크며 放射線의 影響됨이 크게 나타남을 確認할 수 있었다(Fig. I). 먼저 對照區에서의

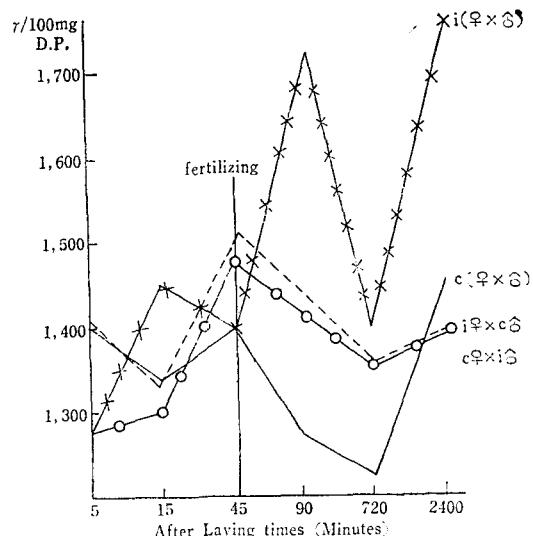


Fig I. The change of acid soluble phosphorus in the silkworm eggs.

卵內變動을 살펴 본다.

대조구(♀×♂) 区에서는 產卵後 45分에서 90分에 이르러 $1,288\gamma/100\text{mg D.P.}$ 이고 720分에 $1,232\gamma/100\text{D.P.}$ 로 급격한 감소를 보인 것은 無機磷의 대謝가 蟻卵生理的인 면에서 受精이후 分裂核의分化가 旺盛해지는 시기에 앞에서 언급한 바와 같이 有機磷의 대謝가 왕성해지면 無機磷의 대謝가 減少한다는 持論과一致되는 결과가 아닌가 한다. 그리고 2,400分에 $1,456\gamma/100\text{mg D.P.}$ 로 最高量을 나타낸 것은 이미 형성된 pyriform胚子의 성장이 계속됨에 따른 卵內 各種栄養物의 轉換을 위한 無機磷의 增加라고 생각된다. 다음 방사선처리구에 對照區 송을 交尾시킨 区에서는 產卵初期인 5分에서 $1,288\gamma/100\text{mg D.P.}$ 와 15分에 $1,299\gamma/100\text{mg D.P.}$ 로 標準區에 比하여 다소 적은 量을 表示했으나 45分에 $1,484\gamma/100\text{mg D.P.}$ 와 90分에 $1,428\gamma/100\text{mg D.P.}$ 로 가장 많은 量을 나타냈고 그 후 減少하였다가 다시 增加해가는 경향을 나타낸 것은 產卵初期까지에는 雌體에 照射된 放射線 影響으로 말미암아 누적된 生理的 障害현상이라고 생각되며 그 후에는 점차적으로 回復되어가는結果라고 볼 수 있다. 그리고 卵內 兩配偶子가 接合된 後標準區에 比하여 다소간 量의 差異는 認定 할 수 있다 하겠으나 雌體에만 放射線 영향을 준 것은 燥의 變動이 雄體에만 照射시킨 区보다 적게 나타남을 認定할 수 있다. 방사선처리구(♀×♂)区에서는 產卵初期 5分에서 $1,288\gamma/100\text{mg D.P.}$, 15分에 $1,456\gamma/100\text{mg D.P.}$ 와 45分에 $1,400\gamma/100\text{mg D.P.}$, 90分에 $1,736\gamma/100\text{mg D.P.}$ 로 卵核과 精核이 接合되는 時期를 中心으로 그 前期와 後期 二次의 으로 標準區에 比하여相反된 變動을 보임과 동시에 量의 면에 있어서도 急激된 變動은 雌雄兩쪽이 다 같은 放射線 照射에 依한 障害로 磷의 異常代謝 현상이 아닌가 한다. 그 다음 대조구에 방사선구 송을 交尾시킨 区間에 있어서 放射線 影響이 精核에 障害되어 acid soluble phosphorus 變動이 크다는 推理와 이미 第一報에서 報告한 lipid phosphorus의 경우와 acid soluble phosphorus의 變動이相反된 것은 前記한事實과一致되는 結果이며 今後 좀 더 研究 檢討할 問題라고 생각되는 동시에 發生學的으로도 意義가 있을 것으로 料되는 바이다.

IV. 摘 要

上簇後 7日째 收藏하고 雌雄을 鑑別하여 一部는 放射線(γ -線) $1,000\gamma$ 에서 40分間 照射시켜 化蛾 交尾後 產卵後 時間을 5分, 15分, 45分, 90分, 720分, 2,400分의 6區로 나누어 卵內 acid soluble phosphorus의 變動을 分析 檢討한 結果 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 標準區(對照區)에서 90分에 $1,288\gamma/100\text{mg D.P.}$ 로 점차 감소하여 720分에 $1,232\gamma/100\text{mg D.P.}$ 로 가장 적은 량을 나타냈으나 2,400分에 $1,456\gamma/100\text{mg D.P.}$ 로 가장 많은 량을 나타냄을 알 수 있었다.

2. 방사선처리한 우에 標準區(無處理) 송놈을 交尾시킨 区에서는 標準區(對照區)에 比하여 產卵初期 5분에 $1,288\gamma/100\text{mg D.P.}$ 15분에 $1,299\gamma/100\text{mg D.P.}$ 로 다소 적은 량을 나타냈으나 45분에 $1,484\gamma/100\text{mg D.P.}$ 로 增加된 량을 보이다가 2,400분에 $1,400\gamma/100\text{mg D.P.}$ 로 標準區(對照區)보다 적은 량을 나타냈다.

그리나 標準區에 우놈에 방사선처리구에 송놈을 交尾시킨 区와 比較할 때 初期에는 다소 적은 량이었으나 큰 差異는 確認할 수 없었으며 兩區 다같이 產卵後 15分에서 720分까지 양적으로 標準區(對照區) 많았음을 認定할 수 있고, 방사선처리한 우놈에 표준구(無處理)의 송놈을 交尾시킨 区보다 표준구의 우놈에 방사선처리한 송놈을 交尾시킨 区에서 變動이 크고, lipid phosphorus(Part I)의 경우와相反된 變動이 이루어지는 것을 알 수 있었다.

3. 우·송 다같이 방사선을 처리하여 交尾시킨 区에서 產卵後 90分에 $1,736\gamma/100\text{mg D.P.}$, 2,400분에 $1,760\gamma/100\text{mg D.P.}$ 로 많은 량을 나타냈고 5분에 $1,288\gamma/100\text{mg D.P.}$ 로 가장 적은 량을 나타냈으며 전반적으로 보아 產卵初期에는 標準區보다 적었으나 그 후에는 標準區보다 크게 增加하고 變動이 심한 것을 確認할 수 있었다.

V. 參考文獻

- 田島彌太郎(1958): 蟻品種別 X-線 影響に 關する 研究. 日本蠶絲學雜誌 26(3), 259
- 入戸野康彦(1950): 蟻卵內 核酸의組織化學的觀察. 日本蠶絲學雜誌 20(3), 182
- Fiske and Subbarow(1925): J. Biol. Chem. 66, 375
- 井上吉之·小出反雄(1934): 蟻の脂油に關する 研究. 日本蠶絲學雜誌 5, 80
- 金元敬 林永祐(1968): 家蠶卵 胚子發育 過程에서 ascorbic acid 와 lipids의 變動에 關하여. 韓國蠶絲學會誌 8, 35~40
- 金元敬(1968): 家蠶卵 RNA의 Starch-gel 電氣泳動的 分割 및 X-線 照射에 依한 影響. 서울農業大學50週年記念論文集, 5-20
- Kwang E. Park and Narumi Yoshitake(1970): Function of the embryo and the yolk cells in diapause of the silkworm egg. J. Insect Physiol., Vol. 19, 2223-2239

8. Kwang E. Park and Narumi Yoshitake (1969): Effect of incubation temperature on nucleic acid and protein syntheses during embryonic development. *Appl. Ent. Zool.*, 4(4), 1711~1716
9. 金元敬 林永祐(1969): 家蠶卵 胚子發育過程에서 glucose 와 phosphorus 의 變動 및 放射線에 의한 影響. 韓國蠶絲學會誌 10, 63~66
10. 金元敬 林永祐(1971): 家蠶卵 發生過程에서 lipid phosphorus 의 變動과 放射線 影響에 關한 研究. 韓國蠶絲學會誌 13(1), 31~34