

蛹期の 保護環境에 따른 不受精卵(雄性不妊蠶)의 誘發機構에 關한 調查研究

*尹 鍾 瓚, **吳 駿 植
(*서울農業大學 **密陽蠶絲高等專門學校)

Studies on the mechanism in the induced to unfertilized eggs(male sterility of Silkworm) by protected environment during pupae period

*C. K. Yoon · **J. S. Oh
(*Seoul Municipal College of Agriculture, **Milyang Sericultural Junior College)

SUMMARY

In order to find out effects of the generative power of silk worm moth which have been brought up in the high temperature accommodation at their pupa stage. For this specific study, 9 different kinds of male silk worms have been selected as specimen. All those specimen were brought up in the normal temperature at their larvae stage and after the pupation period they have been accommodated in the condition of high temperature for a certain length in accordance with the study programme. Afterwards, those male specimen were copulated with Suwon jam 103×104 which were all brought up in normal conditions. This study was carried out to find the copulation function as well as the ratio of unfertilized eggs(male sterility test). Results of study have been revealed as follows:

- 1) Although some differences were observed, male pupa which have been brought up in the condition of high temperature shown the low rate of unfertilized eggs rather than those were brought up in the normal condition.
- 2) In this group the eclosion(emergency) has been found to be poor rather than those specimen brought up in normal conditions.
- 3) The copulation function of Moran, Daedong, J124 and C108 specimen were found to be poor than those of Suwon jam.
- 4) Fertility rate of Moran, Daedong, J124 and C108 was found to be around 65%. This figure is rather lower than what we normally expect.
- 5) Unfertilized egg ratio of Moran, Daedong and C108 were found to be around 20% if they were brought up in the condition of high temperature for one day from the time of pupation: 40% at 2 days, and 70% at 3 days duration. More than 3 days treatment has shown no progress in the unfertilized egg ratio.
- 6) One day's treatment for the pupa at the later stage has shown the unfertilized egg ratio of about 10%; 20% at 2 day's treatment, 35% at 3 day's treatment, 40-60% at 4 day's treatment, more than 60% at 5 day's treatment, and the 70% of fertilized egg ratio was only observed when the treatment days come to 7 days. It was understood that the unfertilized egg ratio was high at the antepupa stage rather than that of post-pupa stage.
- 7) According to the result of observation the sperm in copulatory pouch and seminal

receptacle out of the normal female silk worm which have been copulated with the male brought up in the condition of high temperature at their moth stage. The reproduction system found in the control zone has been found to be normal and the sperm is amountful and active in motion while the sperm found in the treatment to be limited in amount and slow in motion. The observation was made within 5 hours from the copulation.

8) According to the result of observation of sperm of seminal receptacles of the female silkworm moth, and according to that observation of sperm in the seminal receptacle in female silkworm moth, the amount of sperm and mobility in the female moth brought up in high temperature were poor comparing that were brought up in normal temperature zone. Some of them are even found to be no trace of such.

9) Appearance and mosle of the copulatory organ of the male silkworm moth was found to be no anatomical change.

10) Testis of the later pupa stage which was brought up in the high temperature was found to be almost not developed to anucleate sperm and they are degenerated at stage of between maturation division and sperm abnormal stage. Mean time at control zone, the formation of anucleate sperm was already observed.

I. 緒 論

蛹期の保護環境에 의한 不受精卵比率 即 雄蠶의 不妊化에 대하여 最初로 UMEYA⁽⁶⁾⁽⁷⁾가 日 105號에서 分離한 不受精蛾系(遺傳의 異常系統)에서 檢索하고 이는 陰莖附屬筋肉의 退化에 의하여 誘發된다고 報告하였다. 蠶蛹은 保護溫度가 높으면(30°C) 異常蛾의 發現이 많다. 그러나 上簇後 30°C에 保護한 것은 5日째경이, 20°C에 保護한 것은 6日째경의 1日間이 高溫에 대한 感溫期에 該當된다고 하였고 그후 三谷⁽¹⁾는 日 114號의 種蠶을 高溫(32°C, 80%)과 常溫(23°C, 80%)에서 保護하고 그 나방을 交雜시켜 造卵數 產卵數 및 不受精數를 調査하고 또 雄蛾의 貯精囊 交尾後의 雌蛾의 交尾囊 및 受精囊의 肥大狀況 精子의 存否 또한 이것에서 採取한 精子의 運動力(大村法)⁽²⁾ 등을 調査해서 高溫保護를 했을 境遇 化蛾한 雄蛾는 雌蛾에 比하여 極도로 그 生殖能力을 減衰시키는 것을 發見하고 그 原因에 대하여서도 UMEYA의 境遇와는 全히 相反되는 解剖學的 觀察結果를 報하였다.

須具·木口⁽⁵⁾ 등은 化蛹後 雄蛹을 여러 方法으로 33°C에 保護하고 다시 多角度로 追究하여 蠶蛹은 後期보다 前期가 高溫의 影響을 받기 쉽다는 것을 報告했다. 그리고 最近의 研究에 依하면⁽⁴⁾ 化蛹後보다 吐絲에서 化蛹까지인 前蛹期가 高溫에 대하여 敏感하며 雄蛾의 生殖減退를 일으키기 쉽고 正常雄에 交配하였을 때의 不受精比率는 吐絲後 1日間을 32°C 接觸에 의해서 12.84% (23°C의 對照區는 7.24%) 2日間의 接觸으로 29.00% 3日間에 72.22% 4日間에 89.52%까지 到達하였으나

32°C와 23°C의 接觸을 12時間 間隔으로 交替하면 8日間을 繼續하더라도 不受精卵比率는 對照區와 다를 바 없다고 하였다. 즉 高溫이 24時間以上 繼續하면 雄蛾의 生殖減退는 顯著히 높아진다. 有核精子의 形成이 이루어지고 있는 幼蟲期의 高溫接觸의 影響을 보기 위해 4齡初期 4日間 5齡末期 3日間을 32°C에 接觸試驗도 하였으나 雄蛾에 의한 不受精比率에는 影響이 없다는 것이다. 이것은 給桑이 充分하면 幼蟲期에 高溫에 의한 雄蛾의 生殖減退가 防止된다는 것을 나타낸 것이라고 한다. 蠶蛹에 45°C로 8~24時間의 高溫衝擊을 준 경우에도 精子의 運動力은 阻害된다⁽³⁾.

이와 같은 事實에 있어서 著者 등은 上記 諸問題點의 解析을 試圖한바 2,3의 新知見을 얻었기에 그 結果를 이에 報告하는 바이다.

II. 實驗材料 및 方法

Table 1.에 表示된 9品種의 雄蠶을 供試하여 幼蟲期에는 各試驗區는 共히 適溫으로서 普通育을 하고 化蛹後는 實驗設計에 따라서 所定期間을 三谷, 須具·木口 등의 實驗例에 따라 高溫(33°C)에 保護하고 여기에 水原蠶 103×水原蠶 104의 正常 雌蛾를 交配하여 交尾能力과 供試調査蛾數에 있어서의 產下總卵數에 對한 不受精卵比率 即 雄性不妊狀況을 調査하였다. 交尾能力의 檢定基準은 化蛾한 試驗區의 處理雄蛾를 正常雌蛾에 接近시켜 人爲의 交尾可能狀態를 附與하여 24時間이 經過해도 交尾하지 못하는 것을 交尾不能蛾로 看做했다. 雌雄蛾生殖系內의 精子의 狀態에 있어서는 處理區 雄蛾의 貯精囊 이것과 交尾한 雌蛾의 交尾囊 및

Table 1. The difference in male pupa conditions with high temperature capability of fertilization and ratio of unfertilization between difference species

Verieties	Protective temperature	No. of Sample	No. of emergence	No. of pairing impotent moth	Pairing impotent ratio	No. of moth investigation	Total number laying eggs	Total number unfertilized eggs	Unfertilized egg ratio
Suwon, 103 × Suwon, 104	23°C	20	20	0	0%	10	6,400	13	0.2%
	33°C	20	20	3	15	10	6,290	19	0.3
Suwon, 101	23	20	19	0	0	10	5,230	21	0.4
	33	20	18	5	27.8	8	4,088	172	4.2
Suwon, 102	23	20	20	0	0	10	6,250	31	0.5
	33	20	18	7	38.9	7	4,270	239	5.6
Suwon, 103	23	20	20	0	0	10	6,350	13	0.2
	33	20	19	6	31.6	8	4,872	302	6.2
Suwon, 104	23	20	18	0	0	10	6,150	18	0.3
	33	20	19	7	36.8	9	5,328	256	4.8
Moran,	23	20	18	0	0	10	6,150	25	0.4
	20	20	14	70.0	5	2,910	2,110	72.5	33
Daedong	23	20	20	0	0	10	6,360	32	0.5
	33	20	19	13	68.9	6	3,684	2,410	65.4
J 124	23	20	19	0	0	10	6,160	31	0.5
	33	20	18	10	55.6	6	3,110	1,975	63.5
C 108	23	20	20	0	0	10	6,250	38	0.6
	33	20	19	8	42.8	7	4,172	2,941	70.5

- Note: 1. The number of unfertilized moth is found more in Moran, Daedong, J 124 and C108 than in comparison with species of Suwon Jam.
2. The ratio of fertilization of eggs capable of copulating in appearance is also inferior in Moran, Daedong, J124 and C108 even after copulation.
3. The ratio of fertilization in treatment with high temperature is generally inferior in comparison with the case at room temperature.
4. The state of eclosion(emergence) treated with high temperature is inferior in comparison with the case at room temperature.
5. The causes of undesirable of the fertilized ratio is presumed to be the decrease of sperm in quantity the abnormality of form and the decrease of movability due to stimulation by high temperature.

受精囊을 摘出하여 Slide glass 위에서 生體鏡檢을 하고 한편에서는 化蛹 1週日째 부터 化蛹할 때까지 適宜 精巢를 摘出하여 Formalin 8~10%液, Carnoy's fluid(90~100% alcohol-12, chloroform-6, Acetic acid-2), Bouin's fluid (picric acid 飽和水溶液 -75, Formalin-25, acetic acid-5) 등으로 固定하고 paraffin sections을 만들고 PAS(periodic acid schiff), Feulgen 등의 染色을 하여 精巢內 精子의 組織形態 및 化學的인 檢討를 하였다.

Ⅲ. 實驗結果

1. 品種間의 不受精卵比率

供試 各品種에 대하여 蛹期에 常溫(23°C)과 高溫(33°C)에 各各 保護했을 때의 各品種間에 있어서의 化蛾 頭數 交尾不能蛾數 및 그 比率 不受精卵比率 등을 調査한바 Table 1.의 結果를 얻었다. 即 蛹期에 있어서의 高溫保護는 常溫保護에 比하여 雄蛾의 不妊化가 顯著히 나타났지만 그 出現率은 供試品種에 따라서 相當한 差異가 있었다. 普遍的으로 高溫區는 常溫區에 比

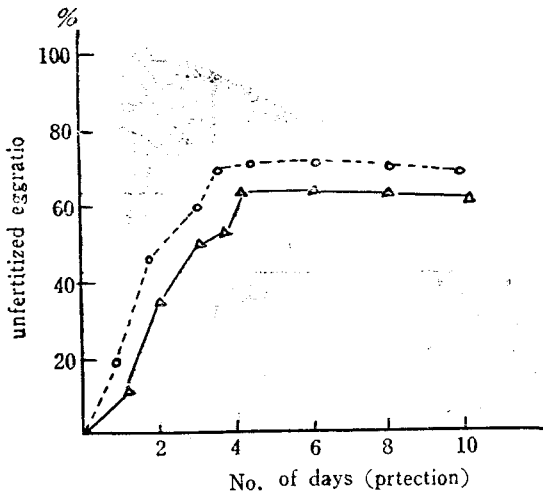


Fig 1. Number of days conditioned with high temperature after pupation and the ratio of unfertilized eggs.

Note: — — Moran
—△— C 108

2. Fixed amount of silkworm treats at 33°C are taken for the experiment in order of the first day, second day, third day……until pupation.
3. Collectes silkworm treats as above the kept in room temperature 23°C until eclosion(emergence)

하여 化蛾狀態가 不良하였고 交尾能力에 있어서는 水原蠶系에 比하여 牡丹, 大同, 日 124, 및 中 108 등이 不良할 뿐더러 外觀上 交尾能力이 있어 보이는 雄蛾도 이를 利用한 產下卵의 受精與否를 調査한바, 牡丹, 大同, 日 124 및 中 108 등에 있어서는 65%內외의 不受精率을 나타냈다.

2. 不受精에 미치는 感温時期

交尾不能蛾率과 不受精卵率이 가장 높은 牡丹과 中 108에 대하여 不受精에 미치는 感温의 時期에 關한 調査結果를 Fig 1.에서 보면 化蛹直後부터 33°C로 處理하되 만 1日, 2日, 3日…의 順으로 化蛹할 때까지 一定量의 處理蠶를 試驗用으로 採取하고 順序에 의하여 採取된 處理蠶은 常溫인 23°C에 옮겨 化蛾할 때까지 保護한 후 各區에 있어서의 不受精卵比率을 나타낸 것인데 여기에서 보면 牡丹, 中 108 共히 같은 傾向으로서 化蛹直後부터 高溫處理해서 만1日의 經過하면 20%內외의 不受精卵率을 나타내고 만 2日間の 繼續 高溫處理에서 40%內외 2日이 經過하면서 60%內외 3日째가 되면 70%內외가 되고 그以後는 化蛾時까지 處理하여도 70%內외의 不受精卵率을 持續하였다. 다음에 化

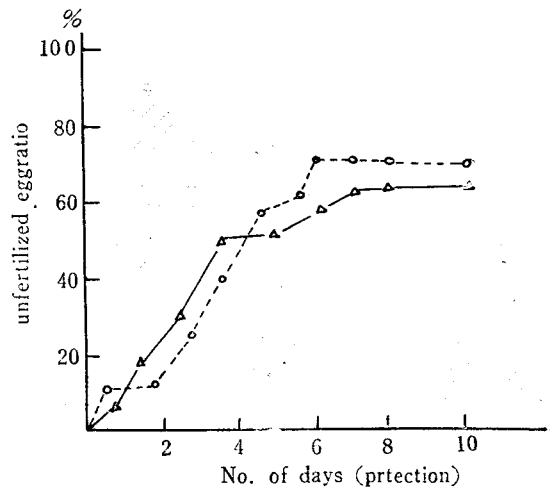


Fig 2. Ratio of unfertilized eggs and the number of days conditioned with high temperature and calculator reciprocally from the date of eclosion(emergence)

Note: 1. …… Moran

—△— Daedong

2. It was calculated reciprocally from the date of eclosion method for treatment and the measure after treatment are shown as in Fig 1.

蛾日로부터 逆算하여 高溫保護日數와 不受精卵率을 調査하기 爲하여 미리 化蛾까지의 所要日數를 念頭에 두고 化蛹直後부터 常溫인 23°C에 保護한 雄蛹을 化蛾當日부터 逆算한 所定の 期間만을 高溫處理한 各處理區의 不受精卵率을 調査한 結果는 Fig.2.에서와 같다.

不妊化에 對한 高溫의 影響力에 있어 時期別感温에 대한 敏感度의 有無 即 蛹期에 있어서, 一時的으로 高溫에 遭遇했을 때 前期와 後期에 있어서의 差異點의 有無를 調査目的으로 한 바 蛹의 末期 1日間の 處理區에 있어서는 10%內외의 不受精卵率을 나타냈고 2日째 20%內외 3日째 35%內외 4日째 40~60% 5日째 60% 7日째가 되어 비로소 最高值인 70%內외에 到達하였다.

3. 不受精要因의 解剖 및 細胞學的 檢討

1) 雌雄蛾生殖系의 解剖學的 觀察

雄蛹의 高溫處理에 依하여 不受精現象이 招來되는 機構에 關한 調査를 하기 위하여 雌雄蛾의 生殖系에 대하여 解剖學的 觀察을 하였다. 高溫處理 雄蛾와 交尾시키고 5時間이 經過한 正常 雌蛾에 대하여 그 交尾囊과 不受囊內의 精子의 狀態를 觀察한 結果 對照區에서는 精子量이 豐富하고 運動力도 極히 活潑하였지만 處理

Table 2. The state of sperm in the body of female pupa copulated with unfertilized male pupa

Temperature of pupa stage	No. of observing body	Copulatory pouch		Seminal receptacle	
		Quantity of Sperm	Physical exercise of Sperm	Quantity of Sperm	Physical exercise of Sperm
23°C	7	+++++	+ - + + + - +	+++++	- + + + - + +
33°C	7	+ - - + - + +	- - - + + - +	- + - + - - -	- - - + - - +

Note: 1) The observation was made to study sperms in copulatory organ and seminal receptacle of the female silkworm moth after 5 hrs from the copulation with male silkworm moth brought up in the condition of high temperature.

2) At the treatment zone, it was found that the amount of sperm and it's mobility are limited.

3) Some of the sample are found to be without sperm.

區에서는 精子量이 적고 運動力도 前者에 比하여 緩慢하였다. 다음에 雌蛾의 受精囊內의 精子의 狀態를 觀察한 바 高溫區는 常溫區에 比하여 精子의 量과 運動이 弱하였으며 個體에 따라서는 發見할 수 없는 것도 있었다. 그러나 雄蛾交尾器의 外部形態 및 交尾器의 附屬筋肉 등은 形態學的으로 아무런 異常을 發見할 수 없었다.

2) 精子의 細胞學的 觀察

高溫區에 있어서의 交尾囊 및 受精囊內의 精子의 樣相에서 보아도 不妊化現象의 主因은 精子의 異常에 起因하는 可能性이 있으므로 蛹期의 生殖系 內精子의 組織學的 調査를 하였다.

高溫區의 蛹末期의 精巢에서는 無核精子의 狀態까지 分化發達한 것이 거의 없고 大部分이 成熟分裂에서 精子의 細胞崩壞를 일으켜 退化하고 있지만 이 時期의 對照區에서는 이미 많은 無核精子가 形成되고 있다.

IV. 考 察

蛹期의 保護環境 即 高溫接觸에 의하여 雄性不妊화가 나타나지만 그 出現樣相은 供試品種에 따라 差異가 있다.

須具・木口⁽⁶⁾ 등은 供試品種에 따라 큰 差異가 있어 大造乞食 및 日 106×大造 등에서는 雄蛾의 不妊화가 認定되지 않지만 日125, 日126, 中108, 中25 등에서는 羽化는 하지만 거의 交尾能力이 없다고 했지만 本實驗에서는 Table I.에서와 같이 交雜種에서는 比較的 輕微하였고 原種에서는 水原蠶系에 적으며 牡丹 大同 및 日 124 등에서 60%內外의 交尾不能蛾比率을 나타냈을 뿐이다. 그리고 不妊化의 出現에 있어 特定 感溫時期의 有無 調査實驗에 있어서(Fig. 1. 參照) 化蛹直後부터의 高溫處理에서 만 1일이 되면 20%內外의 不受精卵率을 나타내고 만 2日間의 繼續 高溫處理에서 40%內外 3日째가 되면 70%內外가 되었지만 蛹의 末期 1日間의 處理區에서는(Fig. 2. 參照). 10%內外의 不受精卵率을

나타냈고 2日째 20%內外 3日째 35%內外 4日째 40~60% 5日째 60% 7日째가 되어 비로소 最高值인 70%內外에 到達한 事實에 의하여 보면 不妊性 出現樣相은 蛹의 後期에 比하여 前期에 보다 큰 影響을 받는다는 事實을 認定할 수 있다.

梅谷・邊田⁽⁷⁾ 등은 蛹期의 高溫接觸에 의하여 陰莖附屬筋肉이 退化하므로서 射精不能狀態가 되어 不妊性이 出現되는 것이라고 報告하였고 須具・木口⁽⁶⁾ 등은 雄蛾交尾器의 外部形態 및 附屬筋肉 등에 形態學的으로 아무런 異常이 없다고 하였으며 三谷⁽¹⁾은 高溫(32°C, 80%)과 常溫(23°C, 80%)에서 種蠶을 保護하고 雄蛾의 貯精囊 및 交尾器 또한 이것과 交尾한 雌蛾體內의 精子의 行動에 대하여 解剖學的 觀察을 行하고 精子量의 減少 運動力의 減衰 등을 指摘하였고 또한 須具・木口 등은 不妊性 雄蛾와 交尾한 雄蛾의 受精囊에서는 精子가 全히 存在치 않는다고 하였다. 그러나 本實驗에서는 三谷의 報告와 같이 精子量의 減少 運動力의 減衰 등은 確認할 수 있었지만 Table.2.에서와 같이 1部의 個體지만 受精囊에서도 精子를 發見할 수 있어 上記 須具・木口 등의 報告와 一致되지 않는 結果였다. 따라서 蛹期에 高溫에 接觸한 雄蛾의 不妊性 現象의 主因은 梅谷 등이 報告한 筋肉系 退化로 因한 發現事實이 아니고 精子自身の 異常에 起因되는 것으로 認定된다.

V. 摘 要

蛹期의 高溫保護가 雄蛾의 生殖力에 미치는 影響을 調査하기 爲하여 9品種을 供試하여 幼蟲期에는 各試驗區 共히 普通育을 하고 化蛹後에는 一定期間을 高溫(33. C)에 保護하고 여기에 水原 103×水原蠶 104의 正常 雄蛾를 交配하여 交尾能力과 調査蛾數의 產下總卵數에 對한 不受精比率 即 雄性不妊狀況을 調査한 結果 다음과 같은 結果를 얻었다.

1) 蛹期의 高溫保護는 常溫에 比하여 雄蛾의 不化가 顯著히 나타나지만 그 出現率은 品種에 따라서 큰

차가 있다.

2) 高溫區는 常溫區에 比하여 化蛾狀態가 不良하다.

3) 交尾能力은 水原蠶系統에 比하여 牡丹 大同 日124 및 中108 등이 不良하다.

4) 外觀上 受精能力이 있어 보이는 雄蛾도 이를 利用한 產下卵의 受精狀態를 보면 牡丹, 大同, 日124 및 中108 등에서는 65%內外의 不受精率을 나타냈다.

5) 蛹의 末期 1日間の 處理區에서는 10%內外의 不受精卵率을 나타냈고 2日째 20%內外 3日째 35%內外 4日째 40~60% 5日째 68% 7日째 70%內外에 達하였다. 이러한 事實에 의하여 不妊性의 出現樣相은 蛹의 後期보다 前期에 大影響이 미친다는 것을 알 수 있게 한다.

6) 高溫處理 雄蛾와 交尾시키고 5時間이 經過한 雌蛾에 대하여 그 交尾囊과 受精囊內의 精子의 狀態를 觀察한 結果 對照區에서는 生殖系가 正常的이고 精子量이 豊富하며 運動力도 活潑했지만 處理區에서는 精子量이 적고 運動力도 前者에 比하여 緩慢하였다.

7) 雌蛾의 受精囊內의 精子의 狀態를 觀察한바 高溫區의 것은 常溫區에 比하여 精子의 量과 運動이 弱했

으며 個體에 따라서는 發見할 수 없는 것도 있다.

8) 雄蛾交尾器의 外部狀態 및 交尾器의 附屬筋肉 등은 形態學的으로 아무런 異常이 없다.

9) 高溫區의 蛹末期의 精巢에서는 無核精子의 狀態까지 分化發達한 것이 거의 없고 大部分이 成熟分裂에서 精子의 細胞崩壞를 이르게 退化하고 있지만 이 時期의 對照區에서는 이미 많은 無核精子가 形成되고 있다.

參 考 文 獻

- 1) 三谷賢三郎(1948): 日蠶雜 17(1-2), 40-44
- 2) 大村清之助(1942): 日蠶雜 13(2), 39-48
- 3) 岡田 清(1967): 日蠶東海(8), 24
- 4) SUGAI, E. and ASHOUSH, I. (1968): Appl. Ent. Zool
- 5) 須具悅治・木口憲爾(1967): 日蠶雜 36(6), 491-496
- 6) UMEYA, Y. (1926): Jour. Coll. Agr. Imp. Univ. TOKYO 9(1), 57-84
- 7) 梅谷與七郎・邊田光雄(1953): 蠶試報, 14, 93-113