

家蠶卵殼의 構造 및 物理化學的 特性에 관한 研究

馬 永 一 · 朴 光 義*

農村振興廳 蠶業試驗場 *서울大學校 農科大學

Studies on the Structure and Some Physical and Chemical Properties
of the Egg Shell in the Silkworm, *Bombyx mori* L.

Yong Il Mah and Kwang E. Park*

Sericultural Experiment Station, Office of Rural Development, Suweon 170, Korea

*College of Agriculture, Seoul National University, Suweon 170, Korea

SUMMARY

These studies were done to find out any difference, ultrastructural, physical or chemical, between the shells of diapausing and non-diapausing eggs of the silkworm, *Bombyx mori* L.

1. From the electron-microscopic observation, the egg shells have four distinctive layers. In addition to the four layers, the shells in the diapausing eggs has another layer with low electron density on its surface.

2. The permeability of the egg shell to hydrochloride was much lower in diapausing egg than in non-diapausing egg. Also the permeability changed in the opposite directions with the egg age; the diapausing eggs decreased while non-diapausing ones increased.

3. The permeability increased when the diapausing egg shell was treated with HCl. When they were treated with ether, however, the increase in permeability was much smaller. It seems there was an ether soluble material involved in the content of the egg shell.

4. The diapausing eggs were also much more resistant to desiccation than the non-diapausing ones. The former, when treated with HCl or chilling, became less resistant to desiccation.

5. The positive histochemical response of the egg shell to PAS-Alcian blue and protein stainings suggests presence of abundant proteins and carbohydrates in the egg shell. On the other hand, the staining response to lipid was more positive in the inner layers than in the outer layer of the shell.

6. The egg shell adhesives seems to be mucopolysaccharides produced by colleterial glands, since the oviposited eggs showed a positive responses to carbohydrate and negative to lipid-staining chemicals, but not the mature oocytes in the ovarioles.

7. There were two bands on the electrophoretic pattern of the SH proteins extracted from the egg shells both in the diapausing egg and non-diapausing one; a slow moving major component and a fast moving minor one. However, the electrophoretic mobility showed a difference in the minor components between them. It is evident that the fast moving minor one of non-diapausing egg ran a little further than that of diapausing egg.

8. In amino acids analysis, no significant differences were found in their composition between diapausing and non-diapausing egg and SH proteins contain relatively more glycine and less cystine.

I. 緒 論

누에는 卵期에 休眠하는 昆蟲으로써 前代에 休眠홀몬의 分泌如何에 따라 休眠이 決定된다. 또한 休眠홀몬은 卵形成時 卵巢에 作用해서 卵巢의 透過性を 높이고 trehalase를 活性化시키는 등 卵細胞로 glycogen (Yamashita and Hasegawa, 1964, 1967; Yamashita et al, 1972)과 lipid (Ichimasa and Hasegawa, 1973; Ichimasa, 1975, 1976)의 蓄積을 促進시킨다고 하고 卵形成後期에 卵巢의 包卵 被膜細胞로부터 卵殼物質이 分泌된다고 한다.

한편 Chino(1957)는 休眠開始時期에 glycogen이 sorbitol과 glycerol로 轉換된다고 報告하고 있으며 Takahashi等(1974)은 이에 phosphorylase가 關與하는 休眠時 獨特한 嫌氣의 糖分解系가 存在한다고 하였다. 이와 관련해서 Okada(1971)는 休眠開始와 함께 酸素나 水分透過性이 낮아지는 事實로 보아 胚發育에 따른 卵殼透過性의 變化를 報告한 바 있다.

또한 實驗形態學的인 胚培養試驗에 있어서도 卵殼의 除去로써 休眠胚의 發生을 誘導한다고 하며 (高見, 1966; 大槻·杉山, 1972) 胚培養時 卵殼이 胚子發生에 密接한 關係가 있다는 것을 示唆하고 있다.

金等(1981)은 休眠現象과 關聯지어서 卵殼의 構成物質中 lipid가 關與한다고 하였으며 Lees(1967)는 *petrobilataens müller*에 있어서는 卵殼構造의 特異성과 休眠性은 깊은 關係가 있다고 하였다. 이와같이 卵殼 構成物質과 構造를 休眠現象과 關聯지어 볼 때 卵形成時 休眠홀몬의 影響으로 卵殼構成物質의 差가 생기리라 推測된다. 더욱이 卵殼形成時 含硫아미노酸이 그 構造에 重要な 役轄을 한다는 報告(近藤, 1959; 管家等 1972)와 卵殼構成物質中 96%가 硬蛋白質로 되어 있고 構成아미노酸中에는 glycine 및 cystine이 많이 含有되어 있다는 事實等(Kawasaki, 1970, 1971)으로 보아 呼吸 및 水分生理上 그 微細構造가 注目된다.

이와같이 누에에 있어서 卵殼이 休眠現象과 깊은 關係가 있다고 생각되나 卵殼組織에 對한 微細構造 및 物理化學的 性質에 對한 研究가 없고 또한 主要構成物質인 硬蛋白質에 對한 差異를 休眠現象과 關聯지어서 研究한 報告가 없어 本試驗에 있어서는 微細構造에 對해서 電子顯微鏡의 觀察을 行하였고 卵殼의 物理的 性質을 보기 爲해서는 胚發育에 따른 水分 및 鹽酸透過性을, 化學的 性質에 對해서는 染色化學的으로 卵殼層別染色性 및 粘液物質의 染色性을 보았다.

또한 卵殼構成物質中 硬蛋白質에 對한 電氣泳動像

및 아미노산 分析을 하여 그 中 含硫 아미노산에 對한 差異를 檢討 報告하고자 한다.

本 研究를 遂行함에 있어서 貴重한 助言과 學究精進에 陰陽으로 激勵해 주신 文在裕博士任, 姜錫權博士任, 그리고 夫庚生 博士任께 衷心으로 感謝를 드립니다.

아울러 本 研究를 遂行하는데 物心兩面으로 도와주신 蠶業試驗場 權寧河場長任, 試驗全過程에 걸쳐 도와주시고 보살펴 주신 育蠶科長 李相豐博士任 및 諸同僚들께 感謝를 드립니다. 또한 本 試驗을 遂行함에 試驗準備 및 資料整理에 애쓴 李龍基君에게 謝意를 표합니다.

II. 研究 史

家蠶의 卵休眠은 前代의 나방의 食道下神經節로부터 休眠홀몬이 分泌되어 誘導된다(Fukuda, 1951; Hasegawa, 1951). 그러나 누에 卵休眠性은 催青期の 保護條件에 따라서 變更될 수 있고 또한 卵期 어떤 時期에 鹽酸處理에 의해서도 變更될 수 있다. 따라서 누에의 休眠은 前代의 休眠誘導機構와 다음代 卵期에 休眠現象에 對한 研究로 나누어 생각할 수 있다. 나방이 때 休眠홀몬이 卵巢에 作用해서 卵巢의 包卵被膜細胞의 透過성을 높이는 同時에 trehalase를 活性化시켜 卵母細胞로 glycogen (Yamashita and Hasegawa, 1964, 1967; Yamashita and Hasegawa, 1972)과 脂質 (Ichimasa and Hasegawa, 1976; Ichimasa, 1975, 1976)의 蓄積을 促進시키는 등 卵形成時期에 卵構成物質의 差異가 생긴다.

한편 卵期の 休眠現象은 어떤 機構에 의해서인지 胚子中 胚葉形成이 始作될 즈음에 發生이 停止된다. 이와 관련해서 Chino(1957)는 休眠開始와 함께 糖代謝過程을 研究하여 glycogen이 sorbitol과 glycerol로 轉換됨을 밝혔고 Takahashi等(1974)은 glycogen phosphorylase가 關與한다고 하였다. 또한 休眠覺醒期에는 sorbitol에서 glycogen으로 再合成될 때 NAD-sorbitol 脫水素酵素가 이에 關與한다고 (Yaginuma and Yamashita, 1979)하는 등 休眠時 嫌氣의 代謝關係가 成立된다고 하였다. 이와 같이 누에알의 休眠現象은 卵의 呼吸生理와 깊은 關係가 있다고 보여지며 Okada(1971)는 休眠開始와 함께 酸素나 水分透過性이 낮아진다는 事實로 보아 胚發育에 따른 卵殼透過性의 變化를 報告하였다.

또한 休眠胚도 卵殼만 除去하면 發生이 進展되고 (高見, 1966; 大槻·杉山, 1972) 胚培養時 卵殼이 胚發生과 密接한 關係가 있다고 示唆하고 있다 (Krause and

Krause, 1972; Achitelig, 1973). 이와같이 누에 卵殼이 休眠성과 깊은 關係가 있다고 생각되나 休眠卵과 非休眠卵사이에 卵殼組織의 微細構造에 對한 報告는 아직 없다.

卵殼微細構造에 對하는 宮坂(1935) 및 町田(1940)가 光學顯微鏡으로 觀察한 바 3~4層의 層狀構造를 하고 있고 品種別, 卵殼部位別 氣孔의 크기, 數 및 두께를 調査하였다. 또한 赤井(1958)는 卵殼의 精孔部位에 對해서 觀察한 바 精孔部の 外層이 아주 얇고 中層이 두꺼운 層으로 되어 있으며 漏斗狀管이 存在하는 構造의 特性을 갖고 있다고 하였다.

한편 卵殼構造에 對한 電子顯微鏡的 觀察로는 赤井(1957)가 卵殼外面의 卵紋 및 表面形態를 觀察하여 本結果, 卵殼 內層은 海綿狀, 中層은 波狀層構造를, 外層은 25~30層의 層狀構造의 3層으로 되어 있다고 하였고 松崎(1968)는 內層, 中層은 包卵細胞의 分泌物의 層狀堆積에 依해서 形成되나 外層은 化學性質도 다르고 그 形成機構도 分明치 않다고 하였다. 武井와 長島(1975)는 이와는 달리 發生初期의 休眠卵과 非休眠卵과의 差異를 卵內容物에 對해서 觀察하였으나 卵殼構造에 對해서는 觀察한 바 없다.

또한 浸酸에 依한 人工孵化 機構 및 品種別 浸酸感受性を 알고서 卵殼部分別 鹽酸透過性的 差異를 調査한 바 卵殼의 두께에 따라 鹽酸透過성이 다르고 品種에 따라서도 다르다고 하며 그 構造의 特異性으로 인한 內·外 方向의 透過性도 다르다고 하였다. 또 卵의 上面과 下面에 따라서도 透過性的 差異가 있다고 하였다(高見·野口, 1955), 休眠의 開始時期에 卵殼의 透過성이 變한다고 하며(岡田, 1971, 1975; Sonobe等, 1979) 卵殼의 脂質成分이 水分透過에 影響을 미친다고 한다(金等, 1980, 1981).

한편 卵의 上·下面에 따라 透過性的 差異는 産卵當時 粘液腺으로부터 分泌되는 膠着性物質이 卵의 下面에만 分泌되기 때문에(高島, 1957) 基因하는 것으로 생각되며 이의 物質檢索을 한 바 *Drosophila melanogaster*의 경우는 糖蛋白質이 主要構成物質라 하나(Riley and Forgash, 1967) 누에에서는 아직 明確히 밝혀진 바 없어 이 膠着性物質이 卵殼透過性에 關與하는지는 不明이다.

卵殼의 組織化學的 性質에 對해서는 Sudan black B 및 PAS 陽性反應이며 卵殼層別로 染色反應이 다르다고 하는(赤井, 1958) 報告가 있고 浸酸卵의 경우 無浸酸卵과 呈色反應이 달라 浸酸에 依한 卵殼蛋白質의 變性이 原因이 아닌가 보고 있다(戶谷, 1937) 그리고 吉武(1954)는 化性에 따라 蠶卵의 染色성이 달라지고 이

는 卵殼과 包卵被膜의 染色性的 差異에 基因한다고 하였다.

또한 卵殼蛋白質에 關한 研究로는 Goldsmith等(1977, 1978)이 電氣泳動으로 分析한 結果 第2染色體에 連關되어 있는 遺傳子에 依해 支配된다고 發表하였고 Kawasaki等(1971)은 卵殼形成時 Serine이 glycine으로 轉移되는 機構가 있다고 하고 家蠶과 野蠶의 卵殼構造蛋白質에 對한 性狀을 比較研究한 바 있다.

以上을 綜合하여 보면 休眠卵과 非休眠卵의 卵殼의 微細構造의 差異, 組織의 物理化學的 性質 및 卵殼構造組成物質中 硬蛋白質에 對한 差異에 對해서는 研究된 바 없다.

III. 實驗結果

1. 卵殼의 電子顯微鏡的 觀察

家蠶 卵殼에 關한 光學顯微鏡的 研究는(町田, 1940; 布目, 1950; 大村·片岡, 1945; 高見·野口, 1955) 多數 報告된 바 있고 電子顯微鏡에 의한 研究도(松崎, 1968; 赤井, 1957; 武井·長島, 1975) 活潑하게 報告되고 있다.

이와 關聯해서 卵殼形成은 包卵細胞에서 卵殼前驅物質이 分泌되고 이 分泌된 物質들이 卵殼 各層을 形成한다고 한다.

이때 包卵細胞가 休眠 蠶문에 依해 卵殼前驅物質의 透過에 影響을 미쳐(長谷川, 山下, 1967; Yamashita and Hasegawa, 1972) 卵殼構成物質의 變化가 豫想되고 卵殼의 matrix 또는 卵殼의 間隙物質도 變化를 받을 可能性이 있을 것으로 생각되어 休眠, 非休眠 및 即浸卵의 卵殼表面의 電子顯微鏡的 觀察을 한 結果 몇가지 特異한 事實을 얻어 이에 報告한다.

가. 材料 및 方法

卵殼層에 對한 電子顯微鏡觀察 材料로는 大造品種의 黑種, 生種 및 即浸種을 使用하였고, 卵齡은 産卵後 20~24時間의 것이다.

固定은 5% Glutaraldehyde(0.2M sodium cacodylate buffer, pH 7.2)로 5°C 冷藏庫內에서 7~10日間 前固定하였고 0.05M sodium cacodylate로 3~4회 洗滌하였다.

2次 固定은 1% Osmium tetroxide(0.1M sodium cacodylate buffer, pH 7.2)로 5°C에서 24時間 後固定하였다.

이것을 Aceton series로 脫水하여 Luft(1961)法에 따라 Epon 812에 Embedding하였다.

切片은 Porter Blum-MT-1 ultra-microtome으로 glass knife를 써서 만들었다.

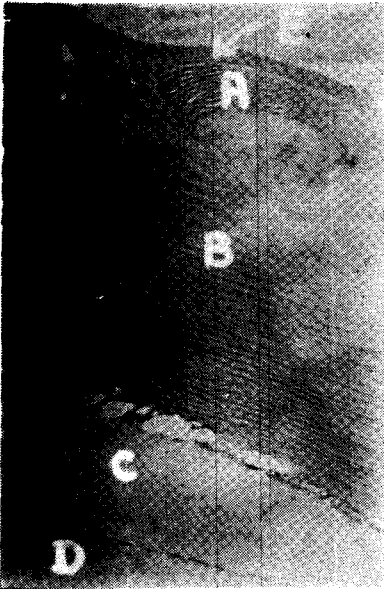


Plate 1

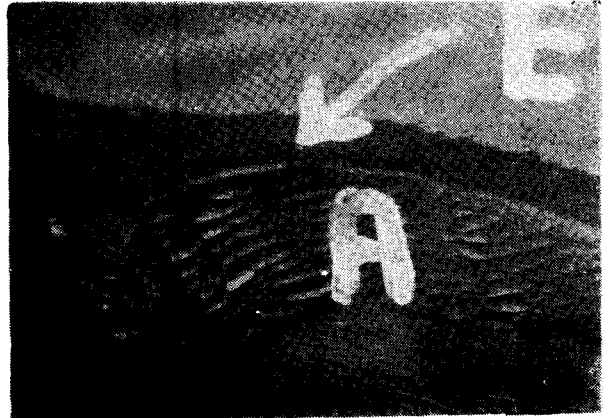


Plate 4

Plate 5

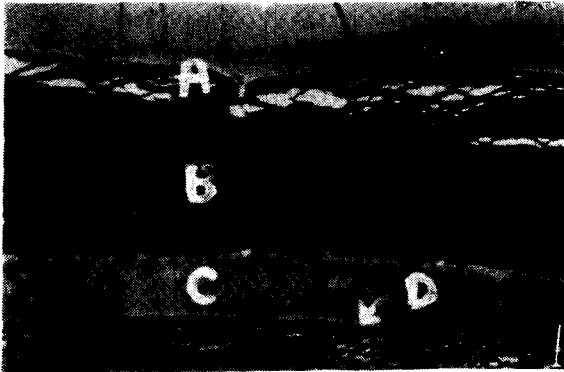


Plate 2

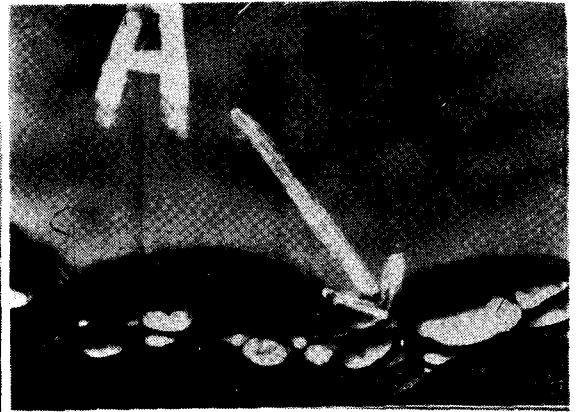


Plate 3

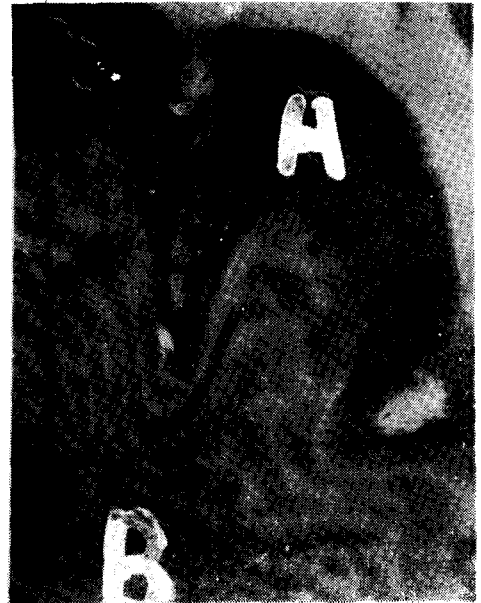


Plate 6

Explanation of plates

- Plate 1.** Cross section of diapausing egg shells showing that the outer layer(A) is covered by another dense layer(E) ($\times 6,200$).
A: Outer layer B: Mid. layer C: Inner layer D: Inner most layer E: Low dense layer.
- Plate 2.** Cross section of non-diapausing egg ($\times 5,000$). Electron micrograph showing non-existing of the low dense layer(E) over the other layer(A).
- Plate 3.** Cross section of the diapausing egg treated with HCl($\times 5,000$). The less dense layer(E) (cf. plate 2.) can no longer be seen.
- Plate 4.** Cross section of the diapausing egg shell at higher magnification($\times 8,500$).
A: Outer layer B: Mid. layer C: Inner layer D: Inner-most layer E: Low dense layer
- Plate 5.** Cross section of the non-diapausing egg($\times 6,200$). Electron micrograph showing no existence of the low dense layer(E) over the other layer(A).
- Plate 6.** Cross section of the HCl-treated egg($\times 6,200$). Electron micrograph showing unavailability of the low dense layer(E) over the other layer (A).

電子顯微鏡은 日立 HU-11型으로 直接倍率 4,800~8,500倍로 觀察했다.

나. 結果 및 考察

本 實驗에 있어서 卵殼의 電顯像을 보면 卵殼層이 뚜렷하게 4層으로 되어 있다.

그리고 卵殼層의 組織形態를 볼것 같으면, 外層部는 數回에 걸쳐 分泌된 卵殼物質이 集積되어 形成된 波狀 모양을 하고 있고, 中層部는 가장 두꺼운 層으로 이루어져 있다. 內層部는 中層보다는 얇으나 外層보다는 두껍고 最內層은 外, 中, 內層과는 달리 層狀이 아니고 Sponge같은 모양을 하고 있는 것이 特徵으로(Plate 1). 家蠶 卵殼層은 町田(1940), 赤井(1957)에 의해 4層으로 나누어진다는 報告와 잘 一致하고 있으나 松寄(1968)는 3層으로 되어 있다고 報告하고 있다. 그러나 松崎의 3層構造는 最內層이 가장 얇은 層이기 때문에 Vitelline membrane과 混同하여 3層으로 判斷한 것 같다.

한편 產卵後 24時間째의 休眠卵, 非休眠卵 및 即浸卵에 對한 電顯像을 보면 休眠卵의 경우, 外層(A)에 또 다른 얇은 層이 堆積되어 있고(Plate 1) 非休眠卵 및 即浸卵의 경우에는 전혀 보이지 않는다(Plate 2, 3). 이들을 高倍率로 擴大하여 보아도 같은 電顯像임을 알 수 있다(Plate 4, 5, 6).

Okada(1971)도 卵殼의 電子顯微鏡의 觀察로 休眠과 非休眠卵사이에 卵殼表面의 構造가 다르다는 事實을 記述하고 있으며, 松崎(1968)도 卵殼의 電子顯微鏡의 研究에서 休眠卵의 外層에 또 한層이 存在하는 것을 보여주나 전혀 言及한 바 없다. 그러나 特記할 事實은 本試驗에 있어서 Plate 2, 3의 電顯像으로 볼때 非休眠卵의 경우, 이와 같은 卵殼外層에 電子密度가 낮은 層이 없고 同一休眠卵을 浸酸 處理한 卵에서도 보이지 않는것으로 보아 卵殼形成時 包卵細胞가 休眠 홀몬의 影響을 받아 包卵細胞의 透過性이 變化되고, 이에 따라 卵殼構成 前驅物質에 差異가 생기는 것이 原因이 아닌가 思料된다.

2. 卵殼 透過性의 變化

卵殼은 卵의 外側을 둘러싸고 있으면서, 이를 통해 卵의 呼吸 및 水分蒸散이 이루어져 누에 生理上 매우 重要한 保護膜 구실을 한다. 이와같이 卵殼은 硬蛋白質인 chorion으로 되어있고(Tichomiroff, 1885; Kawasaki et al, 1971) 卵殼物質은 卵形成時 包卵被膜細胞에서 分泌된다고 한다(町田, 1940; 松崎, 1968).

이때 休眠 홀몬은 卵巢에 作用해서 透過性を 높이고(山下, 長谷川, 1964; Yamashita and Hasegawa, 1967, 1972), 卵殼透過성에 影響을 미칠 卵殼形成物質에 差異가 생길 것이라 생각되어, 本 實驗에서는 化性を 달

리하는 蠶卵의 鹽酸透過性 및 水分透過性을 調査하였다.

가. 材料 및 方法

(1) 卵殼의 鹽酸透過性

本 實驗에 供試한 蠶品種은 大造品種으로 1982年 春期에 飼育하여 採種한 것으로 高溫明催靑하였고, 生種은 低溫 暗催靑하였다.

또한 產卵後 胚子檢査에 依하여 黑種과 生種임을 確認하였다. 蠶種은 미리 풀을 입힌 產卵臺紙에 採種하여 물에 잘 씻어 加급적 빨리 건조시킨後 散種으로 만들어 25°C에 보관하였다. 卵殼의 鹽酸 透過性 調査는 高見等(1955)의 方法을 조금 수정해서 卵殼의 內面쪽에 thymol blue紙 代身 lithmus紙를 붙였고 이 pH 試驗紙가 鹽酸의 透過로 變色되는 時間을 調査하였다.

供試卵은 黑種, 生種 및 即浸種 各 5粒씩을 半分해서 各 卵殼片을 슬라이드상에 미리 準備한 椀에 매물하여 이 위에 20%의 鹽酸 한방울을 주사기로 떨어뜨려 解剖顯微鏡으로 變色與否를 觀察하였고, 變色되는데 要하는 時間을 測定하여 이들에 對한 測定值을 取했다.

(2) 卵殼의 水分透過性

卵殼의 水分透過性은 Okada(1970, 1971)의 方法으로 測定했다. 供試量 및 處理方法에 있어서는, 第1의 實驗에서 供試한 蠶種으로 各 處理卵 500mg 取하여, 生理代謝水에 依한 卵內水分으로 透過性이 變할것을 우려하여 各處理時期에 -20°C에서 10時間 凍結, 室溫에서 2時間 融解를 3回 反覆하여 죽인 後 이를 Desiccator 內에 保存하여 1日 2回 秤量하였고 이들에 對한 알무게의 감소량을 卵殼을 통한 水分蒸散量으로 하였다.

即浸卵은 產卵後 20~24時間 頃에 浸酸하였고(鹽酸 比重 1.075, 15°C, 5分), 冷浸卵에 있어서는 產卵後 48時間에 5°C에 40日間 冷藏한 後 바로 浸酸하였다(鹽酸 比重 1.100, 15°C, 5分).

나. 結果 및 考察

(1) 卵殼의 鹽酸透過性

本 試驗에서는 休眠卵, 非休眠卵 및 浸酸卵에 있어서 卵殼의 鹽酸透過性을 본 結果, 黑種에 비해 即浸卵 및 生種이 모두 透過性이 높았고 또한 卵齡이 지남에 따라 休眠卵은 透過性이 떨어지는데 反해 即浸卵 및 非休眠卵은 透過性이 높아졌다(Table 1).

한편 Table 2에서 보는바와같이 休眠卵을 ether 處理한 경우에도 處理卵은 無處理卵에 비해 卵殼의 透過性이 높아지는 것으로 보아, 卵殼構成物質에 ether 溶出物質이 있다고 보여진다. 이것은 休眠卵이 休眠에 들어감에 따라 卵殼自體의 變化때문인지 또는 卵殼形成時 休眠홀몬의 영향으로 卵殼構成物質差異때문인지는 不確實하다.

Table 1. Permeability* of the shell* in diapausing, non-diapausing and diapausing eggs treated with HCl.

Age of eggs after oviposition	Diapausing	Non-diapausing	HCl-treated diapausing eggs
12hrs	5.84	8.82	8.88
24hrs	2.86	8.90	9.09
48hrs	2.84	12.1	12.1

* The permeability figures are presented as required for penetration of HCl through the egg shell.
* Five samples for each measurement.

Table 2. Permeability of the egg shell after ether treatment

Replication	Diapausing eggs		Non-diapausing eggs	HCl-treated diapausing eggs
	No treatment	treatment		
1	2.88	3.20	8.92	9.01
2	3.00	3.51	9.00	9.50
3	2.78	3.00	9.12	8.80
4	3.12	2.98	8.88	9.90
5	2.95	3.34	8.90	8.90
Average	2.95	3.21	8.96	9.22

Twenty four hour old eggs were used for the measurement. The permeability is calculated from the inverse value of the laps of time required for the penetration of HCl through the egg shell.

그러나 누에알의 투과성은 卵殼의 部位, 品種 및 飼育條件에 따라서 달라진다고 한다(布目, 1950; 高見・野口, 1955; 井口・中村, 1982).

또한 卵殼의 構造上 밖에서 안으로의 투과성과 안에서 밖으로의 투과성이 다르다는 보고도 있고(高見・野口, 1955) 또한 Krause and Krause(1972)는 漿液膜과 chorion 物質이 서로 作用해서 休眠要因으로서 作用한다고 하였다. 卵殼의 투과성은 胚發育에 따라 卵殼에 어떤 物質이 分泌되어 chorion 自體에 있는 氣孔을 막기 때문이던가 또는 漿液膜形成으로 因하여 卵殼의 투과성이 낮아질 可能性도 있다(Okada, 1971).

또한 即浸卵에 있어 鹽酸處理에 의해 卵殼構成物質에 變化가 생겨 卵殼自體의 matrix의 變化가 생기는 것으로 休眠이 깨질수도 있을것으로 思料된다.

한편, 高見와 野口(1955)에 依하면 品種에 따라 ether 處理에 따른 투과성이 다르다고 하고 ether抽出物에 對한 檢討가 必要하다고 하였다. 또한 高橋(1958)는 卵殼의 脂質含量과 關聯하여 最內層의 투과성에 影響을

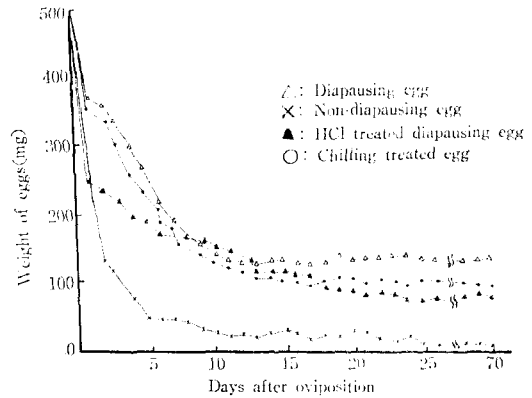


Fig. 1. Decrease of egg weight.

500mg of egg was repeatedly frozen and thawed in low temp. cabinet and was stored in a desiccator with silica gel. The eggs were weighed at regular interval twice a day continuously up to 70 days after oviposition.

미친다고 하였다.

金等(1981)도 卵殼構成物質中 炭化水素와 2個의 未同定物質이 休眠卵과 非休眠卵과의 사이에 큰 差異를 보이고 있다고 하였고 鹽酸處理에 依해 이들 物質이 減少한다는 것으로 보아 卵齡에 따라 漿液膜과 chorion의 相互作用으로 卵殼自體 構成物質의 變化가 일어나는 것이 아닌가 思料된다.

(2) 卵殼의 水分透過性

알무게는 各處理 모두 產卵後 7~10日사이에 急激히 減少하는 것이 特徵이며 그 後 卵齡이 지남에 따라 알무게의 減少率은 점점 둔해지고 30日 以上 지나면 그 減少는 매우 平行的이다.

그러나 非休眠卵의 경우 產卵後 알무게의 減少가 大 小 다른 어느 處理보다 緩히 減少하고 特히 產卵後 10日 以內에 90% 以上이 減少하는데 반해 休眠卵은 同時期에 62%가 減少하여 아주 大조적이며, 浸酸卵에 있어서는 浸酸한 即時 알무게가 急激히 減少하였으나 非休眠卵에 比해서는 減少率이 완만하였다.

또한 冷蔵浸酸卵의 경우에도 浸酸後 6日 사이에 急激히 減少하였다.

그 後 各 處理卵에 있어서 그 減少率은 完만하나 水分蒸散 蒸散量에 있어서는 休眠卵이 가장 높고 非休眠卵이 가장 적은 値를 가지고 徐徐히 減少해 갔다.

本 實驗에서 알무게의 變化는 卵殼, 漿液膜 및 卵黃膜 등을 通하여 水分蒸散이 이루어진다고 볼때 全的으로 卵殼만의 透過性이라고는 볼수 없으나 알을 둘러싸고 있는 膜중 卵殼을 除去하고 漿液膜만으로 둘러싸였을 경우에는 누에알이 죽어버리므로 누에알의 水分蒸

散問題만을 볼때 卵殼만큼 관여한다고 볼수 없을 뿐만 아니라, 卵膜中の 두께로 보아도 卵殼이 가장 두껍다는 事實로 보아, 누에알의 무게의 變化에는 卵殼이 水分蒸散에 깊게 관여하리라 思料된다.

이와같이 卵重量의 變化는 室質(1951)의 產卵後의 日數와 休眠의 정도와 一致하고 있고 또한 Okada(1971)의 報告와도 全體的으로 一致하고 있으나, 그 期間內 休眠卵의 卵重의 減少率이 本 實驗에서는 매우 急激하게 減少하는 傾向이 特徵이다.

이것은 供試한 品種의 差異에서 오는 것이 아닌가 示料된다.

또한 金等(1980)의 報告에서도 卵殼의 水分透過性은 卵殼의 脂質과 깊은 關係가 있다고 報告한바 있고, 특히 休眠卵과 非休眠卵과의 卵殼脂質成分에 差異가 보인다고 하는 點(金等, 1981), 또 本 實驗에서도 休眠卵 및 非休眠卵, 即浸卵 및 冷浸卵間에 水分蒸散率의 減少하는 傾向과 ether 處理時 化性を 달리하는 卵의 透過性의 差 등으로 보아 卵殼構成物質中 脂質成分이 休眠에 깊이 관여하는것 같은 結果는 매우 興味있다.

또한 休眠卵과 非休眠卵에 있어서 누에알의 무게 減少傾向이 產卵後 7~10日 사이에 현저하게 差異가 나는것은 卵殼의 炭化水素와 未同定の 二物質의 含量差異가 난다고 하는 報告로 보아(金等, 1981) 卵殼形成時 休眠홀몬에 依한 包卵被膜細胞의 差異에서 오는것인지, 또는 卵發育上 이 時期에 漿液膜이 形成되는것 때문에 卵殼의 透過性이 變하는 것이 그 原因인지 또한 即浸卵의 경우에는 鹽酸處理에 依한 卵殼構造蛋白의 變性으로 分子構造가 變하는 것이 原因인지 不明이다. 그러나 透過性의 差異는 電子顯微鏡像으로 보아 卵殼의 氣孔 形態 및 卵殼의 構造의인 差異에서 오는것이 原因이라고 思料된다.

3. 卵殼의 組織化學的 觀察

家蠶卵殼構造의 組織形態에 對해서는 宮坂(1935), 町田(1940), 布目(1950), 竹內(1955), 大村 等(1945) 및 赤井等(1956)이 光學顯微鏡으로 觀察한 바 있고, 또한 赤井(1958)等은 組織化學的 特性에 對한 研究도 報告하였다.

이들은 주로 卵殼의 構造의 特性을 形態의으로만 觀察하였고 卵齡에 따른 卵殼의 變化에 對해서는 아직 發表된 바 없다.

따라서 本 實驗을 實施한 바, 몇가지 特異성이 觀察되었고, 또한 卵殼이 產卵當時 粘液線에서 分泌되는 粘液物質이 卵殼의 組織化學的 性質에 影響을 미치는 가를 보고져 粘着物에 對한 組織化學的 檢定을 하였다.

가. 材料 및 方法

(1) 卵殼의 層別組織化學的 觀察

供試材料는 卵殼透過性 調査에 使用한 同一한 蠶品種으로 大造品種이다.

蠶卵固定은 Carnoy's液에서 固定할 경우 卵內內容物質이 浸出하기 쉽다하여(高見, 1952), 固定液은 Bouin's液으로 使用한 것을 除外하고는 一般的인 paraffin 切片法에 따라 卵殼層의 組織特性을 보았다.

組織化學的 標本도 上記와 같은 方法으로 操作하여 主로 蛋白質, 糖 및 脂質에 對한 反應을 보았으며, 특히 卵殼構造蛋白 아미노산 中 SH Group의 檢出을 위해서 Chévremont & Fredericq反應을 解剖顯微鏡에서 ($\times 20$) 卵殼組織染色程度를 觀察했다.

(2) 卵殼의 粘着性 物質에 對한 染色性

卵殼의 粘着物質에 對한 組織化學的 檢定에 있어서도 蛋白質, 糖, 脂質에 對한 染色性을 觀察하였다.

粘着物 檢定을 위해서는 Slide上에 蠶卵을 採種하였고, Slide는 미리 70% Alcohol에 洗滌한 것을 使用하였으며, 染色方法은 常法에 準했다.

나. 結果 및 考察

(1) 卵殼의 層別 組織化學的 觀察

本 試驗에 있어서는 卵殼層이 4層으로 되어 있고 또한 休眠卵은 非休眠卵에 비해 最外層 外에 電子密度가 낮은 한層이 더 堆積되어 透過性이 差異가 생기는지 또는 各層 組織의 化學的 性質이 다른 것이 그 原因인지를 究明코자 各層에 對한 組織化學的 觀察을 한바, 組織의 染色性으로 볼때는 卵殼外層은 染色성이 아주 나빠 染色이 거의 안되며, 內層으로 갈수록 染色성이 좋아진다(Table 3).

이들 卵殼層別 構成物質의 染色性을 보면 蛋白質의 경우 最外層은 亦是 染色성이 第一나빠 加溫의 경우에 만 弱게 染色되었다. 中層, 內層 및 最內層은 蛋白質 陽性反應을 나타냈으며 이는 赤井(1958)等의 實驗結果와 잘 一致하고 있으나 SH基에 對한 反應은 處理區와 無處理區와의 사이에 差異가 없었으며 또한 KCN 處理에 依해서도 兩者間에 差異가 없었다.

그러나 山本(1957)의 *clupea pallasii*의 成熟卵에 있어서 KCN 處理後 ferric-ferricyanide液에 浸漬한것과 KCN處理後 昇汞處理한 것과 卵殼層의 染色性에 差異가 있다고 하는 것과는 다른 結果였다. 即 各層 共히 蛋白質이 存在하나 最外層의 蛋白質 染色反應으로 보아 中層·內層 및 最內層과는 다른 特殊한 構造를 갖는 蛋白質이라 생각된다. 한편 SH基를 KCN으로 反應을 封鎖해서도 各層이 SH基 陽性反應을 띄우는 것은 卵殼層에 disulfide bond를 갖는 아미노산으로 構成된 蛋白質이 存在하는지, 或은 phenol類의 物質이 存在하

Table 3. Histochemical reactions of the shell in the diapausing eggs.

Responses	Outer layer	Mid layer	Inner layer	Innermost layer
Harris hematoxylin	+	light purple	light purple	purple
Mallory triple stain	+	pink	light green	pink
Acid fuchsin, Orange G	+	dark red	red	red
Light green, Orange G, Acetic acid	+	light purple	light blue	light blue
Methyl green	+	green	green	—
Sudan III	—	+	+	±
Sudan black	±	+	+	±
Millon's	+	±	±	±
Xanthoprotein	+	±	±	±
Ninhydrin	+	±	±	±
Biuret	+	±	±	±
Chévremont & Fredericq	+	+	+	+
KCN treatment-Chévremont & Fredericq	+	+	+	±
PAS, Alcian blue	±	±	±	±

+: positive -: negative ±: positive or negative

는 때문인지 本 實驗에서는 確認 할 수가 없었다. 그러나 卵殼蛋白質의 構成 아미노산 中 cystine 含量이 많은 硬蛋白質로 되어있다는 것(Kawasaki et. al., 1971, 1972)으로 볼 때 休眠卵, 非休眠卵 및 即浸卵 사이에도 差異가 없이 모두 SH基에 對한 反應이 陽性인 것은 妥當하다고 본다. 炭水化合物에 關하여도 PAS 反應 및 PAS-alcian blue 染色을 行하였으나, 各層 모두 이 染色에 陽性이어서 多糖類의 存在를 認定 할 수 있으며 (Table 3), 여기서는 PAS-alcian blue 反應에 對해서만 記述코져 한다.

產卵後 24時間頃의 休眠卵, 非休眠卵 및 即浸卵의 卵殼의 染色程度는 非休眠卵 및 即浸卵이 比較的 弱게 染色되는 反面, 休眠卵의 경우는 가장 強하게 染色되었다 (Table 4).

Table 4. Staining response of outer shell of the egg in diapsusing, non-diapsusing and diapsusing treated with HCl.

Dyes	diapsusing	Non-diapsusing	HCl treated
Amido black 10B	+++	+++	++
PAS-alcian	++	±	±
Sudan III	—	—	—
Sudan black	±	—	—
Chévremont & Fredericq	+	+	+

+: positive
-: negative
±: positive or negative

이와같이 糖에 對한 染色性的 差異로 보아 休眠卵 및 非休眠卵에 糖 含量의 差라고 생각될 수 있으나 또 한 糖의 存在形態의 差 때문에 생길 수도 있다고 생각 할 수 있다. 그러나 PAS-alcian blue에 多糖類뿐만 아니라 糖蛋白, 糖脂質 및 磷脂質도 陽性反應을 나타낸다는 報告(Pears, 1961; Riley and Forgasch, 1967)등으로 보아 本試驗에 있어서의 PAS-alcian 反應은 糖이 存在하더라도 複合糖의 形態로 存在할 可能性을 示唆하고 있다.

한편 脂質에 關한 染色反應에서는 Sudan III나 Sudan black에 最外層은 전혀 染色이 안되었고 內層으로 갈수록 점점 強하게 染色되었다. 特히 脂質에 對한 染色은 常溫에서 잘 染色이 되지 않는것이 特徵이었고, 60°C에서 1日동안 染色을 해야만 染色이 잘 되었다.

Sudan black에 對한 染色性은 加溫하였을 경우 外層이 좀 染色이 되는 듯 하였고 中層, 內層 및 最內層 등은 強하게 染色되었다. (Table 3)

또한 休眠卵, 非休眠卵 및 即浸卵 사이에 Sudan black에 對한 染色性이 다른것이 特徵으로 이는 卵殼層에 Lipoid性 物質이 存在하며 또한 染色度程로 보아 休眠卵과 非休眠卵 및 即浸卵 사이에 Lipoid性 物質에 差가 있는 것으로 思料되며 卵殼形成時 休眠 홀몬이 包卵細胞의 透過性에 影響을 미쳐(Yamashita and Hasegawa, 1972) 卵殼構成物質中의 하나인 Lipoid性 物質에 影響을 미치는 것이 아닌가 보여진다.

金等(1981)도 卵殼脂質類의 量的 差가 보이고 이것이 休眠機構와 깊은 關係가 있다고 報告하고 있다.

一般的으로 昆蟲의 卵殼脂質은 卵殼의 透過性과 깊은 關係가 있다고 한다. 또한 卵殼에 있어서 脂質은 蛋白質과 結合하여 Lipoprotein의 形態로 極히 少量存在한다고 하는 것으로 보아 休眠卵 및 非休眠卵 사이에 染色性의 差는 量的 差異가 原因이 아니고 그 結合形態의 差에서 생기는 것이 아닌가 한다. 이와 같은 事實은 卵殼을 ether 處理하므로써 透過性이 無處理區에 比해 높아진다는 것과 잘 一致하는 것이다.

(2) 卵殼의 粘着性 物質에 對한 染色性

昆蟲은 一般的으로 產卵時 卵에 粘着性을 주기 위해서 粘液腺으로 부터 粘着性 物質을 分泌한다고 한다 (Wigglesworth, 1953; Hinton, 1961).

누에에 있어서도 產卵時 누에알 表面에 粘着性 物質이 卵殼下側에 分泌되어 粘着性을 띄우게 된다고 한다(高島, 1957).

그러나 누에에 있어서 이들 점착성 물질에 대한 조직 化學적 特性이 명확히 밝혀진바 없고 또한 이들 물질로 인한 卵殼組織의 染色化學的 性質을 調査함에 있어 影響을 미치는가를 確認하고자 本試驗을 實施하였다.

먼저 이 粘着物質의 染色性을 調査하고자 슬라이드 상에 나방이가 자연 그대로 알을 낳도록 하여 產卵時 슬라이드 상에 粘液腺에서 분비되는 粘液物質이 묻게 한 뒤 산란한 알을 pin으로 除去하였고 한편 나방이를 解剖하여 產卵管에서 채취한 난의 卵殼에 染色性을 보아 점착성 물질의 蛋白質, 糖 및 脂質類를 조사하였다. Table 5에서 보는 바와 같이 粘着性 物質中 蛋白質의 染色性을 보면 두 처리구 사이에 差異가 없이 모두 陽性 反應을 띠었다.

糖에 대한 反應에 있어서도 큰 差異는 없었으나 나방이로부터 解剖하여 꺼낸 난의 卵殼의 경우에는 슬라이드에 채종했을 경우보다 PAS-alcian blue에 반응이 淡色인 것으로 보아 粘液性 物質은 產卵時 分泌되는 粘着性 糖物質이라 判斷되며 나방이로부터 꺼낸 알의 경우에 淡色인 것은 卵殼自體의 構成物質中 糖類때문 이라고 보인다.

한편 多糖類, 中性 mucopolysaccharides, 糖蛋白, 糖脂質 및 磷脂質 등이 모두 PAS-alcian 陽性反應物質이라고 하는바(Pearse, 1961; Riley and Forgasch, 1967) 本試驗에서는 脂質에 對한 反應이 陰性이고 蛋白質에 對한 反應은 陽性이나 卵殼自體에 蛋白質을 豊富하게 含有하고 있다는 點으로 보아 粘液腺에서 分泌되는 物質은 糖이거나 糖蛋白質일 可能性이 높다고 推料된다. 그러나 King (1960) 및 Riley와 Forgasch (1967)가 報告한 초파리(*Drosophila melanogaster*)의 경우를 보면

Table 5. Histochemical response of the shell surface from mature oocytes in ovarioles and oviposited eggs.

Components	Stains	mature oocytes	oviposited eggs
Protein	Fast green FCF	+	++
	Orange G	++	++
	Mercury-bromopheol blue	+	++
Carbohydrates	PAS	+	##
	Alcian blue, PAS	+	##
	Magenta	+	##
	Blue	+	##
Lipid	Sudan III in Hexheimer's sol	-	-
	Sudan black in Hexheimer's sol	-	-

+ : positive

- : negative

± : positive or negative

粘液性 物質은 酸性 mucopolysaccharides라 하는 것으로 보아 누에의 粘着性 物質도 酸性 mucopolysaccharides일 可能性이 높다. 따라서 卵殼層別 組織化學的 特性에는 아무런 影響을 미치지 않았다.

4. 卵殼 構造蛋白質의 電氣泳動像 및 아미노酸組成

化學에 따라 卵殼의 鹽酸 및 水分透過性의 差異가 보이고 電顯像에 있어서도 構造的으로 뚜렷한 差異가 認定된다. 한편 卵殼의 構成物中 大部分은 硬蛋白質로 되어 있고 構成아미노酸中 glycine과 cysteine이 많이 含有되어 있다고 한다. (Kawasaki et al, 1971) 또한 卵殼의 無機成分 分析 結果 硫黃을 많이 含有하고 있다는 事實(Tichomiroff, 1885) 등으로 보아 disulfide linkage를 하고 있는 難溶性 硬蛋白質이라 推料되어 卵殼의 構造蛋白質中 SH蛋白質에 對한 電氣泳動像 및 構成아미노酸 組成을 調査하였다.

가. 材料 및 方法

本試驗에 供試한 蛋種은 前試驗과 같은 方法으로 處理하여 休眠卵 및 非休眠卵의 構造蛋白에 對한 電氣泳動 및 아미노酸 分析을 爲해 Fig. 2와 같이 抽出하였다.

抽出한 構造蛋白에 對한 電氣泳動은 5% Polyacrylamide Gel에 不連續 buffer system으로 처음 30分間은 Gel column當 2mA를 通電한 後 5mA로 높여서 BPB가 Gel 先端에 到達할 때까지 3時間 半동안 泳動을 行했다. 使用한 Gel buffer는 8M Urea를 含有한

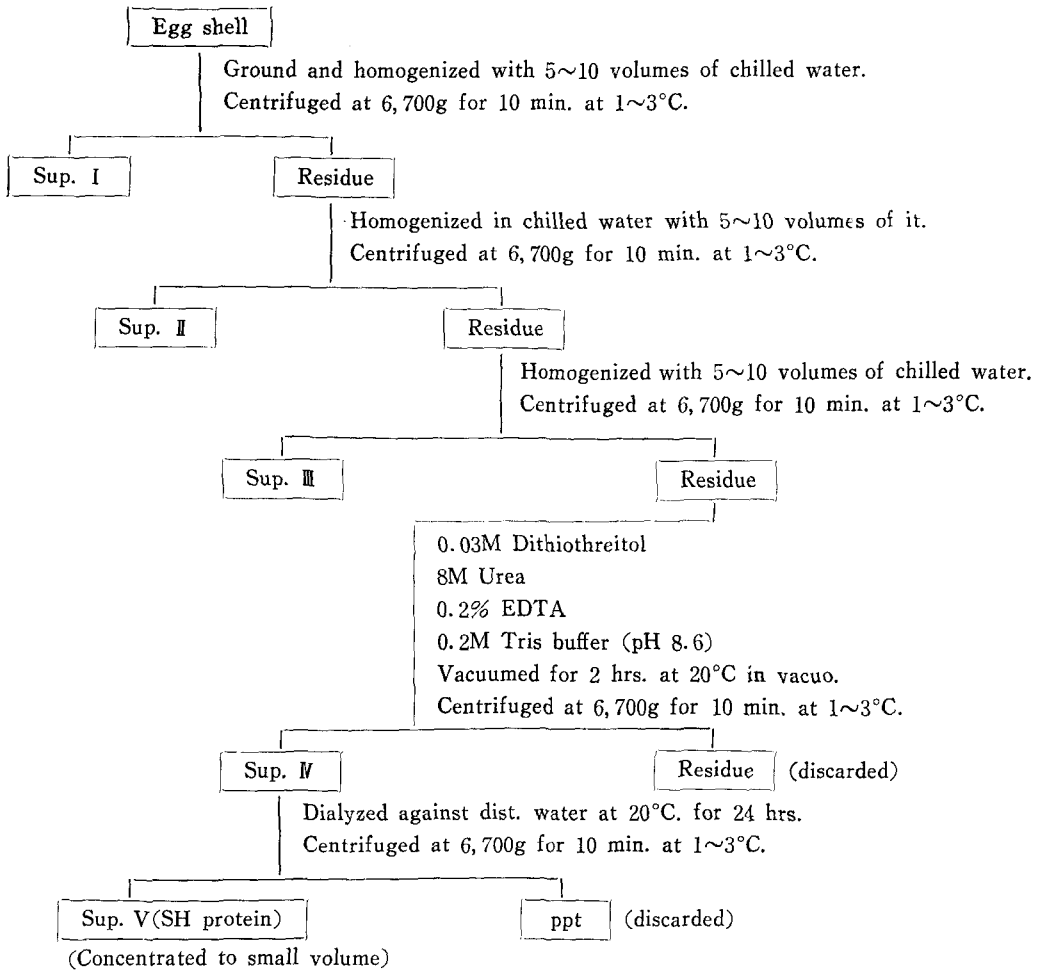


Fig. 2. Fraction of SH proteins of the structural protein of the egg shell, *Bombyx mori* L.

0.1M phosphate buffer (pH 7.8)를, electrode buffer는 β -mercaptoethanol, sample buffer는 8M urea와 β -mercaptoethanol을 각각 0.1M phosphate buffer에 녹였다. 電氣泳動後에는 Gel을 10% TCA에 24時間 동안 3회에 걸쳐 씻어내고 0.25% Coomassie blue(50% methanol과 10% acetic acid)에서 5時間 以上 染色하였다.

아미노酸分析을 爲해서는 6N HCl로 110°C에서 24時間 加水分解하였고 特히 cystine과 methionine은 蟻酸으로 5°C 冷蔵庫內에서 하루 放置한 後 自動아미노酸分析機(모델 Hitachi KLB-3B)로 分析하였다.

나. 結果 및 考察

(1) 電氣泳動像

休眠卵과 非休眠卵의 産卵後 20~24時間에 있어서 卵殼構造蛋白質中 SH 蛋白質에 對한 電氣泳動像의 差異를 比較하여 본 結果 卵殼構造蛋白質은 移動距離가 빠

른것과 느은 것의 2 band가 認定되며 非休眠卵의 경우 移動距離가 빠른것은 아주 痕跡의으로 나타나며 休眠卵에 比해 移動距離가 泳動原點에서 더 멀리 移動한 것으로 보아 休眠卵과 非休眠卵사이에 SH 蛋白質(minor component)의 差가 보였다. 그러나 移動距離가 느은 것(major component)은 泳動位置로 보아 同一하다고 思料된다(Plate 7). 이는 Kawasaki等(1971)이 報告한 바와 같이 卵殼構造蛋白質은 3 種類의 蛋白質로 構成되어 있으나 dithiothreitol과 같은 還元劑로 處理하면 2種의 SH 誘導體와 不溶性硬蛋白質로 分割될 수 있다고 한 바 本試驗에 있어서도 泳動帶가 2개인 것은 dithiothreitol로 處理하여 disulfide bond가 잘려 2個의 Subunit가 泳動 分離된것으로 보여진다. 앞으로 이에 對한 物理化學的 特性의 檢討가 要望된다.

(2) 아미노酸組成

産卵後 20~24時間頃의 休眠卵과 非休眠卵에 있어서

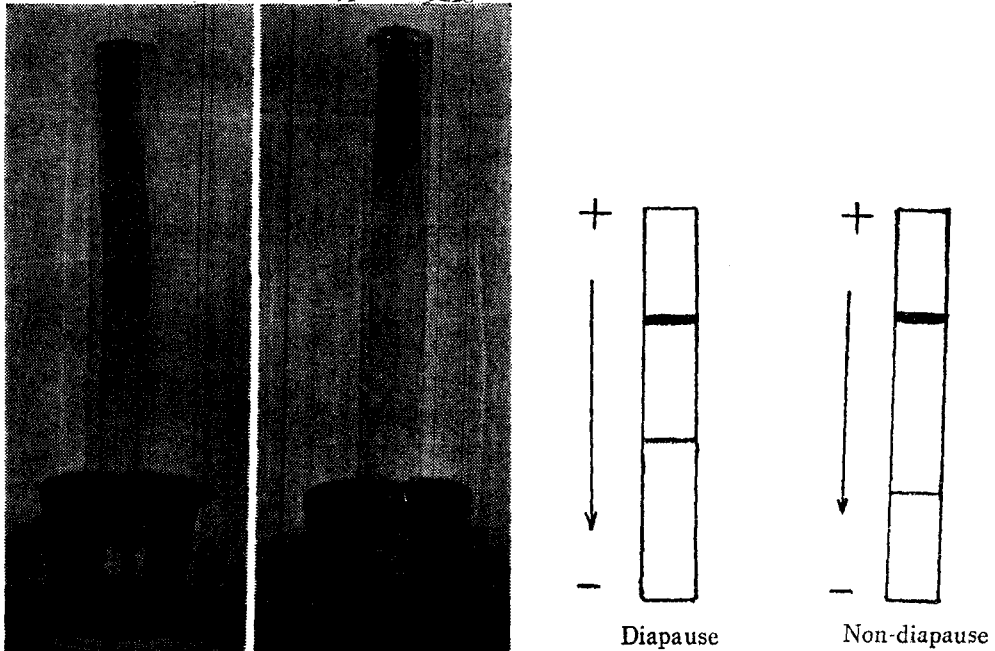


Plate 7. Electrophoresis of the structural protein extracted from the egg shell of the silkworm, *Bombyx mori* L. Depicted are the above electrophoretic patterns of SH proteins fractionated from the structural proteins of the egg shell.

Table 6. Amino acid composition of SH proteins fractionated from the scleroprotein of eggs of silkworm.

Amino acids	SH protein	
	Diapausing	Non-diapausing
Cystine	0.1324	0.1166
Methionine	0.1798	0.1833
Aspartic acid	0.7397	0.7387
Threonine	0.5943	0.5921
Serine	0.4176	0.4057
Glutamic acid	0.7840	0.7645
Proline	0.3605	0.3516
Glycine	7.4163	7.2150
Alanine	0.6373	0.6883
Valine	0.5144	0.5987
Iso-leucine	0.2533	0.3324
Leucine	0.3279	0.3331
Tyrosine	—	—
phenylalanine	—	—
Lysine	0.6417	0.3235
Histidine	—	—
Arginine	0.1425	0.1501
Amide	0.9081	0.8605

The values are expressed as a relative amount.

卵殼構造蛋白質中 SH 蛋白質에 對한 電氣泳動像에서는 minor component에 差異가 있어 (plate 7) 이들 蛋白質에 對한 아미노酸分析을 한 結果를 보면 電氣泳動像에서 보는 바와 같이 두 處理의 아미노酸組成은 거의 同一하다고 본다. 그러나 表 6에서 보는 바와 같이 卵殼蛋白質의 아미노酸中에는 glycine이 가장 많은 것이 特徵이며 cystine은 比較的 적은量이 있으나 含硫아미노酸中에서는 많은 편이다. 一般의 構造蛋白質에는 hydroxyproline, hydroxylysine 및 desmosine과 같은 아미노酸이 있다고 (Wilson, 1960) 하나 卵殼構成蛋白質中에는 上記와 같은 아미노酸은 檢出되지 않았다. 그러나 Kawasaki等(1971)은 SH 蛋白質의 아미노酸組成에 對해서는 言及한 바 없으나 卵殼蛋白質中 cystine의 含量은 比較的 많았던 點과 相異한 結果를 얻었다. 한편 α -keratin에 있어서는 cystine이 構造蛋白質의 構成아미노酸으로 重要한 役割을 한다는 事實 (Gillespie, 1958)로 보아 卵殼構成蛋白質中 cystine에 對한 物理化學的 性質을 좀 더 檢討하여야 할 것이다.

한편 休眠卵과 非休眠卵사이에 Lysine含量에 큰 差異를 보였다. 即 休眠卵이 非休眠卵에 비해 Lysine含量이 2배나 많았다는 事實은 Lysine이 卵殼의 硬化에 關與한다는 (金昌煥·金學烈, 1980) 것과 잘 一致하는 것으로 그만큼 休眠卵이 非休眠卵에 비해 組織構造上

緻密하게 되어 있다는 것을 잘 나타내 주고 있다. 따라서透過성에 差異가 생길 것이며呼吸生理上 休眠卵은 非休眠卵에 비해 酸素不足인 環境下에서 胚子期를 지나야 한다. Chino (1957)도 蠶卵의 休眠開始時 糖分解過程을 嫌氣的 代謝過程으로 說明하면서 이 代謝는 休眠의 原因이 아니라 그 結果라고 報告하고 있다. 이와 같은 觀點에서 볼 때 休眠卵과 非休眠卵사이에 卵殼構成物質에 對한 分子間結合이라는 側面에서 卵殼構造에 對한 生理的意義에 對해서는 앞으로 研究課題로 남아 있다.

IV. 綜合考察

幼蟲이나 번데기 때에 休眠하는 昆蟲은 腦나 前胸腺或은 Allata 體 등의 內分泌活動과 깊은 關係를 갖는다. 그러나 卵期에 休眠하는 것중에는 이와같이 內分泌腺이 形成되기 前에 休眠이 決定되는 것이 特徵이다

누에에 있어서도 卵休眠은 卵形成期인 蛹化 3~4日頃에 腦가 神經索을 通해서 食道下 神經球가 休眠홀몬을 分泌하도록 促進시킨다고 한다. (Fukuda, 1951; Hasegawa, 1951) 이와같이 蛋卵의 休眠성이 前代에 決定되나 胚子が 中胚葉形成이 된 以後부터 休眠現象이 나타난다.

누에 외에도 卵休眠하는 Coleoptera에 屬하는 *Atrachya menestriesi*는 胚子에 附屬肢原基가 形成될때 休眠에 들어가고 水銀化合物로 休眠이 破壞된다고 한다. (Kurihara and Ando, 1969).

또한 누에의 休眠에 있어서도 Krause and Krause는 (1972) 卵液膜과 卵殼物質과 相互作用에 依해서 始作된다고 하며, 休眠性卵에 鹽酸을 處理함으로써 胚의 發生을 繼續시킬 수 있다는 點과, 休眠卵, 非休眠卵 및 即浸卵의 卵殼水分透過성이 다르게 나타나는 등 卵殼이 休眠現象과 相互關係가 있다는 것이 示唆되고 있다.

따라서 本試驗에서는 卵殼層의 電子顯微鏡的 觀察, 蠶卵 卵殼透過성의 變化, 家蠶卵殼의 組織學的 染色性 및 卵殼蛋白質의 特性을 調査한 바 그 結果에 對해서 論하고저 한다.

卵殼의 構造를 電子顯微鏡의 으로 觀察한 結果 卵殼層이 뚜렷하게 4層으로 되어있으며, 外層部는 波狀層이고 中層部는 가장 두껍다. 內層部는 中層部 보다 얇으나 外層보다는 두껍고, 最內層은 sponge모양을 하고 있는 등(Plate 1) 이는 町田(1940)와 赤井(1957)의 報告와 같은 結果였다.

그러나 休眠성과 關聯하여 보면 卵齡이 産卵後 24時

間인 休眠卵의 卵殼에는 外層에 또다른 電子密度가 낮은 層이 있고, 特히 이層은 同一한 卵을 即浸한 경우에는 電子顯微鏡 사진에 보이지 않고(Plate 3) 非休眠卵에서도 나타나지 않고 있다(Plate 2).

이를 高倍率로 보아도 같은 電顯像이었다(Plate 4, 5, 6).

이는 卵殼形成時 休眠 홀몬의 影響으로 包卵細胞의 透過성이 變하고 이때 卵殼形成 前驅物質이 包卵細胞의 選擇的 透過성에 依해(Yamashita, 1970) 卵殼構成物質에 差異가 생기던가, 아니면 卵齡에 따라 卵殼과 卵液膜細胞와의 相互作用에 依해 形成되는 物質인지는 確實치가 않다.

한편 Rogers (1957)에 依하면 cysteinyl residue를 가진 蛋白質은 OsO_4 에 對한 染色성이 높다는 點으로 보아도 最外層이 다른層에 비해 가장 진하게 染色되어 cysteinyl residue를 갖는 特異한 構造를 하고 있다고 보여진다.

한편 卵殼의 鹽酸透過성은 黑種에 비해 即浸卵 및 生種이 모두 透過성이 높았고 또한 卵齡이 지남에 따라 黑種은 透過성이 떨어지는 데 反하여 生種 및 即浸卵은 透過성이 높아진다(Table 1).

또한 Fig. 1에서 보는 바와 같이 水分 蒸發에 依한 卵重減少傾向도 休眠卵은 非休眠卵 및 即浸卵과 다른 樣狀을 보여 이들 卵殼의 水分透過성에 差異가 있음을 알 수 있다.

한편 ether 處理에 의한 休眠卵은 無處理卵에 비해 卵殼의 透過성이 變하는 것으로 보아 卵殼物質中에 依해 어떤 物質이 溶出되어 나온다고 생각된다(Table 2). 이것은 卵休眠이 卵殼과 漿液膜의 相互作用에 依해 始作된다는 事實과 漿液膜의 發生過程에서 볼 때 卵을 25°C 保護의 경우 産卵後 20~24時間頃에 形成되는 등 卵殼層의 構造的 變化가 생겨 卵殼透過성이 떨어질 것은 自明하다.

이와 같이 卵殼 透過성이 낮아지므로 卵發育에 必要한 酸素供給이 不足하게 되어 卵內의 嫌氣的 解糖作用으로 glycerol과 sorbitol이 非休眠卵에 비해 많이 蓄積된다는(Chino, 1960, 1976) 事實 등으로도 推論이 可能하다. 한편 Okada (1971)도 非休眠卵과 鹽酸處理卵의 水分透過성이 胚子發生의 進展에 따라 透過성이 變한다고 報告한 바 있다. 이와같이 鹽酸處理에 依하여 卵殼構成物質中 disulfide bond에 酸化 即, HCl 의 H^+ ion에 依한 mercaptide가 形成되므로 卵殼構造가 變化될 可能性도 排除할 수 없고, 이런 경우는 *Atrachya menestriesi*에 있어서 볼 수 있다(Kurihara and Ando, 1969). 卵殼의 組織形態를 보면 Table 3에서와 같이

4層으로 되어 있고 이들 層에 對한 染色性を 보면 最外層은 染色이 거의 안되며 內層으로 갈수록 一般적으로 進하게 染色되는 것은 赤井(1957)의 報告와 거의 一致하고 있다.

특히 脂質에 對한 染色은 常溫에서는 染色이 잘 안되고, 加溫(60°C)下에서 1日程度 染色을 해야만 染色이 되는 것이 特徵이다.

또한 Sudan black에 對한 染色성에 있어서 休眠卵, 非休眠卵 및 即浸卵 사이에 差異가 보이고 있다. 이는 Yamashita 等(1972)이 報告한 바와 같이 卵殼形成時 休眠홀몬이 包卵細胞의 透過性에 影響을 미쳐 卵殼構成物質中의 하나인 Lipoid性物質의 透過에 影響을 미친 結果가 아닌가 생각된다.

또한 金等(1981)도 卵齡에 따라 卵殼脂質類의 量的 差異가 보이고 이것이 休眠機構와 깊은 關聯이 있다고 報告하고 있는 것으로 보아 이런 卵殼構成物質의 脂質成分에 對해서 物質分析과 아울러 이런 脂質類物質이 어떤 形態로 卵殼構成物質에 存在하는가는 앞으로 究明되어야 할 것으로 思料된다.

한편 山本(1957)는 *clupea pallasii*의 胚發育에 따른 卵殼의 Chévrement & Fredericq 反應이 變한다고 하여 胚發育에 따른 卵殼의 SH 基가 關與하고 있다고 報告한 바 있다.

本 實驗에 있어서도 卵殼構成 아미노산 中 disulfide bond基를 갖는 아미노산의 酸化還元的 反應을 본 結果 休眠卵과 非休眠卵 및 即浸卵 사이에 差異가 없이 모두 Chévrement & Fredericq 陽性反應을 나타내었다.

그러나 Chévrement & Fredericq 反應에 있어서 ferricferricyanide는 phenol 類에도 陽性을 나타내므로 胚發育에 따른 SH基의 變化를 確實하게 알수가 없고 앞으로 더욱 檢討의 餘地가 있다.

한편, 産卵時 卵殼에 分泌되는 粘着性 物質로 因해 卵殼 本來의 染色性 및 組織化學의 特性에 影響이 미칠 것을 우려하여 卵殼粘着性 物質에 對한 染色性を 본 結果粘着性 物質은 PAS-alcian blue에만 特徵의으로 陽性反應을 나타냈고 脂質類에는 陰性인 것으로 보아 누에의 粘着性 物質은 mucopolysaccharides임이 분명하고 이와 같은 事實은 *Drosophilla melanogaster*의 粘着性物質도 mucopolysaccharides란 것 (Riley and Forgasch, 1967)이라는 事實과도 잘 一致하고 있다.

이와 같이 卵殼의 構成物質은 主로 蛋白質, 糖, 및 脂質로 되어 있으면서 이외에도 이들 物質이 簡單히 組合하여 있는 것이 아니라 無機物과 複合的으로 matrix를 形成하여 卵殼이 形成된다고 보여진다.

이와 關聯해서 金等(1981)도 胚發育에 따른 卵殼構

成物質中 炭化水素 및 二個의 未同定物質이 休眠卵과 非休眠卵 사이에 差異가 난다고 하는 事實等으로 보아 이 點에 대해 앞으로 胚發生에 따른 卵殼構成物質의 分析이 기대된다.

한편 卵殼의 構成物質에 對한 分析은 Tichomirow (1885), Tomita (1921) 및 Kawasaki (1971, 1972)等에 의한 報告 뿐이다. 특히 卵殼은 保護膜으로써 뿐만 아니라 胚의 呼吸 및 水分生理上 重要한 役割을 하는 것으로 卵殼構造의 特徵을 갖고 있는 것이다. 그런데 卵殼構成物質中 大部分을 차지하고 있는 卵殼蛋白質에 對한 性質을 檢討하여 보면 卵殼蛋白質은 水溶性 蛋白質 및 弱알카리에 녹는 蛋白質은 적은 量이고 大部分이 難溶性 硬蛋白質로 되어 있다고 한다. 따라서 本試驗에 있어서는 難溶性 蛋白質의 含硫아미노酸中 cystine 이 分子間 構造의 橋樑役割(Gillespie, 1958)을 한다는 報告로 보아 卵殼의 難溶性 蛋白質中 SH蛋白質에 對한 電氣泳動像을 본 結果 休眠卵과 非休眠卵 사이에 移動距離가 빠른 band에 있어서 差異를 보여 非休眠卵의 band가 休眠卵의 것보다 泳動原點으로부터 더 멀리 移動하였으며 泳動帶은 아주 痕跡的이었다(Plate 7).

한편 이 SH蛋白質에 對한 構造아미노酸 組成을 分析한 結果 表 6에서 보는 바와 같이 休眠卵과 非休眠卵 사이에 큰 差異를 認定할 수 없고 두 處理 共히 glycine이 가장 많았고 lysine의 경우는 休眠卵이 非休眠卵에 비해 2배의 量이 檢出되었다. 二鹽基性 아미노酸인 lysine은 卵殼의 硬化過程에 關與한다는 事實(金昌煥·金學烈, 1980)로 보아 休眠卵이 非休眠卵에 비해 組織構造上 卵殼의 硬化와 micelles의 緻密한 結合으로(Wolfe, 1954) 透過性에 變化가 생겨 呼吸 및 水分生理上 差異가 생기고 특히 呼吸生理上 胚發育에 不利한 條件下에 嫌氣의 糖代謝가 이루어지리라 料된다. 또한 電子顯微鏡像의 層狀 構造의 差異(Plate 1, 2)와 層別 OsO₄에 對한 親和力(Rogers, 1958)으로 불매 disulfide bond를 갖는 아미노酸이 卵殼構造에 關與하리라 생각되나 本試驗에 있어서는 處理間에 큰 差異를 認定할 수가 없었다. 앞으로 이에 對한 分子間結合側面에서 物理化學의 研究가 要望된다.

V. 摘 要

家蠶의 休眠性を 卵殼의 組織學的 特性을 보고져 卵殼層에 對한 電子顯微鏡像을 觀察하였고 또한 卵殼의 物理化學의 特性에 對해서는 水分透過性, 鹽酸透過性, 染色性 및 卵殼構造蛋白質을 調査한 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. 卵殼構造를 電子顯微鏡으로 보면 뚜렷이 4層으로 되어 있으며, 또한 休眠卵과 非休眠卵 및 即浸卵 사이에 構造的인 差異가 보인다. 即外層밖에 또 다른 電子密度가 낮은 얇은 層이 休眠卵에는 存在하고 있으나 非休眠 및 即浸卵에는 이 層을 볼 수 없다.

2. 産卵後 20~24時間제의 休眠卵과 非休眠卵 및 即浸卵 사이에 卵殼鹽酸透過性的 差異를 보면 休眠卵에 비해 即浸卵 및 非休眠卵이 모두 透過성이 높았고 또한 卵齡이 지남에 따라 休眠卵은 透過성이 떨어지는데 反하여 即浸卵 및 非休眠卵은 透過성이 높아졌다.

3. 休眠卵의 ether 處理卵은 無處理卵에 비해 卵殼의 透過성이 變하는 것으로 보아 卵殼物質中 ether 溶出物이 存在한다.

4. 卵殼의 水分透過性도 鹽酸透過性에 있어서와 같이 休眠卵이 即浸卵 및 非休眠卵에 비해 水分透過성이 낮았다.

5. 家蠶卵殼의 組織化學的 特性은 蛋白質과 糖에 對한 染色성이 높아 卵殼에는 蛋白質과 糖이 풍부하며 特히 脂質에 對한 染色성은 거의 陰性이나 內層으로 갈수록 進하게 染色되었다.

6. 누에의 卵殼粘着物은 PAS-alcian 反應으로 보아 mucopolysaccharides이다.

7. 卵殼 構造蛋白質中 SH蛋白質에 對한 電氣泳動像에 있어서 休眠卵과 非休眠卵 모두 2個의 band가 認定되나 非休眠卵의 경우 移動距離가 빠른 band는 매우 痕跡的이며 또한 泳動距離도 原點으로부터 멀리 移動하여 두 處理間에 minor component에 差異가 보였다.

8. SH蛋白質에 對한 아미노酸組成에 있어서는 休眠卵 및 非休眠卵 사이에 큰 差異를 認定할 수 없었고 卵殼蛋白質中 SH蛋白質의 構成아미노酸에는 glycine이 가장 많고 cystine含量은 적었다.

引用 文 獻

- Achitelig, M. (1973) Nondormanz-entwicklung prospektiver diapause-eier von *Bombyx mori* oder ohne chorion unter paraffinol. Wilhelm Roux' Archiv. 171:295-300.
- 赤井弘. (1956) 家蠶卵殼의 微細構造について(要旨Ⅱ). 日蠶雜. 25(3):214.
- 赤井弘. (1957) 家蠶卵殼의 微細構造について(I). 日蠶雜. 26(5):335-340.
- 赤井弘. (1958) 家蠶卵殼의 組織學的ならび에 組織化學的 觀察. 日蠶雜. 27(6):403-408.
- 赤井弘. (1958) 家蠶卵殼精孔部의 二, 三의 觀察. 蠶絲研究. 26(2):19-21.
- Ando, Y. (1971) The effect of mercury compounds on breaking of diapause in the eggs of the False Melon Beetle, *Atrachya menestries* Faldermann (Coleoptera: Chrysomerae). Appl. Ent. Zool. 4(3).
- Chino, H. (1958) Carbohydrate metabolism in the diapause egg of the silkworm, *Bombyx mori* L. I. Conversion of glycogen into sorbitol and glycerol during diapause. J. Insect physiol. 2:1-12.
- Chino, H. (1960) Enzymatic pathways in the formation of sorbitol and glycerol in the diapausing egg of the silkworm, *Bombyx mori* L.-II. On the polyol-dehydrogenases. J. Insect physiol. 5:1-15.
- 茅野春雄. (1976) 比較生化學의 話題と周邊一環境適應의 生化學的しくみ. 化學の領域. 30(4):303-312.
- 福田宗一. (1940) 家蠶に於ける化性的決定と蠶卵漿液膜의 着色. 動雜. 52(1):415-429.
- Fukuda, S. (1951) The production of diapause eggs by transplanting the suboesophageal ganaglion in the silkworm. Proc., Japan Acad. 27:672-677.
- Gillespie, J.M. (1958) The isolation from wool of a readily extractable protein of low-sulphur content Biochem. biophys. Acta. 27:225-226.
- Goldsmith, M.R. and G. Basehoar. (1978) Organization of the chorion genes of *Bombyx mori* L. a multigene family. I. Evidence for linkage of chromosome 2. Genetics. 90:291-310.
- Goldsmith, M.R. and E.C. Rattner. (1979) Organization of the chorion genes of *Bombyx mori* L. a multigene family. II. Partial localization of three gene clusters. Genetics. 92:1173-1185.
- Hasegawa, K. (1951) Studies on the volutinism in the silkworm, *Bombyx mori* L. with special reference to the organs concerning determination of volutinism. A preliminary note. Proc., Japan Acad. 27:667-671.
- 長谷川金作・山下典亞. (1967) 家蠶의 休眠 Hormone と卵巢의 物質代謝. 日蠶雜. 36(4):297-301.
- Hogann, T.W. (1961) Application of chemicals to break diapause of some insects. Aust. J. Biol. Sci. 14:538-542.
- Hinton, H.E. (1961) The structure and function of eggshell in the *Nepidae* (Hemiptera). J. Insect

- physiol. 7:224-257.
- 浜清. 田中克己. (1967) 顯微鏡 標本の 作り方.
- Ichimasa, Y. and K. Hasegawa. (1973) Studies of mode of action of the diapause hormone with special reference to lipid metabolism in the silkworm, *Bombyx mori* L. I. Effect of the hormone on lipid in pupal ovaries and matured eggs. J. Sericult. Sci., Japan. 42:380-392.
- Ichimasa, Y. (1975) Studies on the mode of action of the diapause hormone with special reference to lipid metabolism in the silkworm, *Bombyx mori* L. II. Lipid component and fatty acid composition of glyceride in pupal ovary, fat body and haemolymph. J. Sericult. Sci., Japan. 44:137-145.
- Ichimasa, Y. (1976) Sterol accumulation in developing ovaries of the silkworm, *Bombyx mori* L. in relation to the diapause hormone. J. Insect physiol. 22:1071-1074.
- 井口民夫. (1972) 家蠶幼蟲の5齡期における血液遊離アミノ酸組成の雌雄差. 日蠶雜. 41:44-50.
- 井口民夫・中村晃三. (1982) 家蠶卵殼の無機成分に及ぼす飼料の影響. 日本應用動物 昆蟲學會誌. 第26卷(1):48-51.
- 井上吉元. 川口清水. (1943) 蠶卵殼中の含硫黄アミノ酸に就て. 日農化. 19:653-657.
- 石井耕一. (1951) 家蠶卵殼の形態について(要旨). 蠶技資. 29:22.
- Kawasaki, H., H. Sato, M. Suzuki and N. Ojima. (1969) Conversion of serine to glycine during the formation of egg shells in the silkworm, *Bombyx mori* L. J. Insect physiol. 15:25-32.
- Kawasaki, H., H. Sato and M. Suzuki. (1971) Structure proteins in the silkworm egg shells. Insect Biochem. 1:130-148.
- Kawasaki, H., H. Sato and M. Suzuki. (1972) Structural proteins in the egg shell of silkworms, *Bombyx mandarina* and *Antheraea mylitta*. Insect Biochem. 2:53-57.
- 加藤勝・原田稔. (1958) 鱗翅目の變態に関する生化学的研究. (II) カイコの變態時におけるSH基およびその消長(要旨). 動物雜. 67(1-2):12-13.
- 菅家英治・吉武成美・關潔. (1970) 家蠶灰白色卵系における放射性 methionineのとりこみについて. 日蠶雜. 39:125-127.
- 金三銀・甲斐英則・四方正義. (1980) カイコ卵殼の水
- 分蒸散における臨界温度と休眠性. 日蠶雜. 42(2):152-157.
- 金三銀・四方正義・甲斐英則. (1981) カイコの卵殼の脂質および水分透過と休眠卵. 日蠶雜. 50(2):94-100.
- 金昌煥・金學烈 共譯. (1980) 昆蟲の構造と機能. 592-596.
- King, R.C. (1960) Oogenesis in adult *Drosophilla melanogaster*. II. Studies on the cytochemistry and ultra-structure of developing oocytes. Growth. 24:265-323.
- King, R.C. and E.A. Koch. (1963) Studies on the ovarian follicle cells of *Drosophilla*. Quart. J. Microsc. Sci. 104:297-320.
- 近藤義和. (1959) 家蠶幼蟲體液から L-cystathionineの單離. 日蠶雜. 28:1-9.
- Kono, Y. (1973) Difference of cuticular surface between diapause & non-diapause pupae of *Pieris rapae crucivora* (Lepidoptera; pieridae). Appl. Ent. Zool. 8:50-52.
- Krause, G. und J. Krause. (1972) Die entwicklung trostechtiver diapause-keine (*Bombyx mori* L.) in vitro ohne dortenz. II. Freno deiwei medium (LYS) mit extra embryo-Malem. Detot material aus vershiedenem thasem der die diapause. Wilhelm Roux' archiv. 171:121-159.
- Kristyna, G., S. Elizabieta and L. Zoffia (1979) Polyadenylated RNA in diapausing and developing embryos of *Bombyx mori* L. Insect Biochem. 9:125-128.
- Kurata, S., K. Koga and B. Sakaguchi. (1979) Differential changes in nucleolar size and ribosomal RNA synthesis during diapause break by prolonged chilling in *Bombyx* eggs. Insect Biochem. 9:115-118.
- Kurihara, M. and Y. Ando. (1969) The effect of mercury compounds on breaking of diapause in the eggs of the False Melon Beetle, *Atrachia menestriesy*. Faldermann (Coleoptera Chrysomelidae). Appl. Ent. Zool. 4(13):149-151.
- 番掛久雄. (1952) 家蠶卵漿液膜細胞における Catalas 作用. (I) 冷蔵浸酸種の漿液膜細胞について. 日蠶雜. 21(4):163-166.
- Lees, A.D. (1961) On the structure of the egg shell in the mite *Petrobia latens* Muller (Acarina: tetranychidae). J. Insect physiol. 6:146-151.

- Machida, J. (1940) On the formation of volk and egg membranes in the silkworm, *Bombyx mori* L. Bull. Seric. Exp. Sta., Japan. 10:27-67.
- 松寄守夫. (1968) 家蠶卵の卵殻形成に關する電子顯微鏡的研究. 日蠶雜. 37(6):483-490.
- 宮坂收. (1935) 家蠶卵殻の一, 二調査に就て. 日蠶雜. 6:171.
- 宮慶一郎. (1959) 電子顯微鏡による家蠶の胚子發生の研究(要旨). (I) 越年卵における觀察. 日蠶雜. 28(3):163-164.
- 宮慶一郎. (1960) 電子顯微鏡による家蠶の胚子發生の研究(要旨). (II) 形成初期の漿液膜細胞の微細構造. 日蠶雜. 29(3):273.
- 宮慶一郎・沼田六七八. (1961) 電子顯微鏡にする家蠶卵殻の研究. (I) 包卵細胞における卵黃物質の形成とその卵細胞への移行. 日蠶雜. 30(3):249.
- 室賀兵左衛門. (1951) 蠶卵内の抑制質消耗係數に就いて. 日蠶雜. 20(2):92-94.
- 布月順郎. (1950) 家蠶卵殻層の厚さに就て. 日蠶雜. 19(4):315-323.
- Okada, M. (1971) Role of the chorion as a barrier to oxygen in the diapause of the silkworm, *Bombyx mori* L. Exp. 27:658-660.
- 岡田益吉. (1975) 昆蟲の休眠とChorion. 植物防疫. 29(3):105-110.
- 大村清之助・片岡平. (1945) 家蠶と桑蠶の卵紋の形. 大き及びその成因. 日蠶雜. 14:263-272.
- 大槻良樹・杉山八郎. (1972) 除殻卵培養による蠶卵の休眠生理に關する研究. I. 培養による休眠解除と胚發育. 蠶試報. 25:199-217.
- Paul, M.R., Goldsmith, J.R. Hunsley and F.C. Kafatos. (1972) Cellular differentiation and specific protein synthesis; production of eggshell proteins by silkworm follicular cells. J. Cells. Biol. 55:653-680.
- Paul, M. and F.C. Kafatos. (1975) Specific protein synthesis in cellular differentiation. 2. The program of protein synthesis changes during chorion formation by silkworm follicles and its implementation in organ culture. Develop. Biol. 42:141-159.
- Pearse, E.A. (1961) Histochemistry theoretical and applied. Little Brown, Boston.
- Riley, R.C. and A.J. Forgash. (1967) *Drotophila melanogaster* eggs hell adhesive. J. Insect physiol. 13:509-517.
- Rogers, G.E. (1957) Electron microscope studies of hair and wool. Ann. N.Y. Acad. Sci. 83:378-399.
- 新保博. (1959) 家蠶における硫黃について. 蠶試報. 28(2):187-201.
- 新保博・井口民夫. (1977) 家蠶の含硫アミノ要求にみられた雌雄間差異. 日蠶雜. 46:63-68.
- Shimbo, H. (1978) The sexual difference in degradation of sulfur amino acids in pupae and adults of the silkworm, *Bombyx mori* L. J. Seric. Sci. 47:57-64.
- Slifer, E.H. (1946) The effect of Xylol and other solvents on diapause in the grass hopper egg together with a possible explanation for the actions of two agents. J. Exp. zool. 102:333-356.
- 清水滋・堀内彬明. (1959) FeCl₃ による卵殻の染色性について(要旨). 日蠶雜. 28(3):163.
- 清水滋・堀内彬明. (1960) 各種金屬鹽化物添加鹽酸浸漬による家蠶卵殻の染色性. 日蠶雜. 29(1):50-51.
- 清水滋. (1962) 家蠶の卵殻の鹽化第二鐵による染色性の系統差. 日蠶雜. 31(1):49.
- Sonobe, M., M. Ikeda and H. Kaizuma. (1979) Oxygen permeability of the chorion in relation to diapause termination in *Bombyx* eggs. Experientia. 35:1650-1651.
- 住岡秀可・吉武成美. (1974) 卵形成期における蠶體諸組織中の遊離アミノ酸の變動. 日蠶雜. 43:65-71.
- 高見丈夫. (1944) 家蠶卵における胚子形成の實驗的研究. (IV) 羊膜と漿液膜. 動雜. 56(4-6):66-69.
- 高見丈夫. (1952) Carnoy液で固定した蠶卵についての觀察. 日蠶雜. 21(2-3):84-89.
- 高見丈夫. (1952) 浸酸効果の早期判定と黑種, 生種, 不受精卵の形態的識別. 日蠶雜. 21(5-6):245-251.
- 高見丈夫・野口和子. (1955) 卵殻の鹽酸透過性. 1. 品種及び卵殻の部分による透過性の差異. 日蠶雜. 24(4):255-258.
- 高見丈夫・杉山八郎・北澤敏男・神田俊男. (1966) 培養したカイコ卵に對する核多角體病の感染. 應動昆. 10:197-204.
- 高橋保雄. (1958) 家蠶卵殻の構造と透過性. 應動昆. 3:80-85.
- Takahashi, S.Y., T. Kajiura, T. Kageyama and E. Ohnishi. (1974) Polyol-dehydrogenases from silkworm eggs; purification and properties. Insect Biochem. 4:33-45.
- Tichomiroff, A. (1885) Chemische studien über die

- entwicklung der insectenier. Hoppe seyley's Z
Physiol. Chem. 9:518-532.
- 武井隆三・長島榮一。(1975) 家蠶の休眠卵並びに非休眠卵における發生初期の電子顯微鏡的研究。日蠶雜。44(2):118-124.
- 武井隆三・長島榮一。(1975) 家蠶卵における卵黃顆粒の電子顯微鏡的研究。日蠶雜。44(2):161-164.
- 武田隆三・吉武成美。(1975) 家蠶着色非休眠卵における發生初期の電子顯微鏡的研究。日蠶雜。44(3):169-175.
- 武井隆三・長島榮一。(1975) 家蠶生種死卵における發生初期の電子顯微鏡的研究。日蠶雜。44(3):176-182.
- 高島成之。(1957) 蠶卵に膠着性物質が附與される機構について。日蠶雜。26(2):53-54.
- 竹内孝三。(1955) 家蠶の孵化に関する研究。日蠶雜。24(1):49-56.
- 竹内孝三。(1955) 卵殼の浸酸透過性。日蠶雜。24(4):253-258.
- 電氣泳動實驗法(電氣泳動學會編)。241-274.
- 電子顯微鏡 試料技術集。(1970) 287-317.
- 戸谷和夫・早坂昭二。(1967) 浸酸卵と無浸酸卵との判別に役立つ卵殼の呈色反應。日蠶雜。36(5):400-402.
- Tomita, M. (1921) Über die Chemische Zusammensetzung der Eischale des Seidenspinners. Z. 116:40-47.
- 辻田光雄。(1948) 家蠶雌蛾粘液腺の細胞學的研究。特にミトコンドリア、ゴルジ體及び核と分裂との關係に就て。蠶試報。12(6):633-648.
- Wigglesworth, V.B. (1953) The principles of Insect physiology E.P. Dutton, New York.
- Wilson, B.R. (1960) Some chemical components of the egg shell of *Drosophila melanogaster*. I. Amino acids. Ann. Ent. Soc. Am. 53:170-173.
- Wolfe, L.S. (1954) Studies of the development the imaginal cuticle of *Caliphora erythrocephala*. Q.J. Microsc. Sci. 95:67-78.
- 山本正。(1957) 組織化學的に見たニシン卵の初期發生。動雜。66(6):289-294.
- Yaginuma, T. and O. Yamashita. (1979) NAD-dependent sorbitol dehydrogenases activity in relation to the termination of diapause in eggs of *Bombyx mori* L. Insect Biochem. 9:547-553.
- 山下興亞・長谷川金作。(1964) 家蠶休眠ホルモンの作用機構に関する研究。(IV) 休眠ホルモンの卵巢のグリコゲン量および血糖量に及ぼす作用。日蠶雜。33(5):407-416.
- Yamashita, O. and K. Hasegawa. (1967) The effect of the diapause hormone on the trehalase activity in pupal ovaries of the silkworm (A preliminary note). Proc. Japan Acad. 43:547-551.
- Yamashita, O. and K. Hasegawa. (1972) Effect of the diapause hormone on the trehalase activity in pupal ovaries of the silkworm, *Bombyx mori* L. Gen. Comp. Endocr. 18:515-523.
- 吉武成美。(1954) 鱗翅目昆蟲の化性に関する研究。(II) 化性を異にする蠶卵の染色性について。日蠶雜。23(6):349.
- 吉武成美。(1955) 鱗翅目昆蟲の化性に関する研究。(IV) 化性を異にする蠶卵の染色性について。日蠶雜。24(2):108-113.