

# 家蚕における黒蛹の発現機構に関する研究

橋 口 勉

## Studies on the Mechanism of the Black Pupal Manifestation in the Silkworm, *Bombyx mori* L

Tsutomu HASHIGUCHI  
(Laboratory of Sericulture)

### 目 次

緒 言	成する神経節の個々の役割
材料および方法	6. 黒蛹の発現に関与する黒蛹色決定ホルモンとアラタ体および前胸腺ホルモンの関係
実験結果ならびに考察	7. 他の黒蛹系統における蛹色の発現機構
1. 黒蛹の発現と上蔟期以後の保護温度との関係	8. 皮膚移植と蛹色発現との関係
2. BT 系統における黒蛹の発現に関与する遺伝子分析	9. パラビオーシスによる蛹色の変化
3. 結紮による蛹色の変化	10. 黒蛹発現におよぼす温度の効果
4. 黒蛹色決定ホルモンを分泌する内分泌器官の検索	11. 総括的考察
5. 黒蛹発現に関与する脳-胸部神経節連合体を構成する神経節の個々の役割	摘 要
	文 献

### 緒 言

家蚕の蛹色は一般的には多少濃淡の差こそあれ琥珀色をなすのが普通である。これに対して健康蚕でありながら蛹色が黒色を帯び、一見病蚕と見間違われる黒蛹と称する突然変異がある。この黒蛹の発現はいかなる時に、またいかなる状態においてもすべての個体が黒蛹となるというのではなく、蚕の系統や飼育時期あるいは環境条件などによってもその発現の程度に変異がみられ、時には多く黒蛹が発現するが又ある時には殆んど発現しないというように一見複雑な発現を示す。

昆虫の体色の発現が環境要因の支配を受けていろいろ変化することは多くの昆虫においてもみられるが、昆虫の体色が環境の諸要因と結びついてどのような機構で発現し、また決定されるかという問題は現在まで大別して次の2つの面から研究されてきた。

その1つは外部的環境要因例えば温度、湿度、光線などの影響によって体色が決定される現象についてであり、他の1つは昆虫のおかれた背景の色彩や変態あるいは休眠にともなっておこる体色の変化などである。この後者に属する体色変化のあるものは、ホルモンの機構によって支配されていることが知られており、それらの機構はそれぞれの昆虫によって異なっている。なおここでのべる体色の変化は、すべて形態学的体色変化 *morphological color change* に属するもので、いちど体色が決定されるとその後の環境条件のいかんをとわずもうそれ以上変化しないものである。

外部的環境要因のなかでも温度の作用は主要な環境要因であり、温度の相違や変化によって体色の発現が影響を受けることが知られている。鱗翅目では WEISMANN<sup>85)</sup>の鱗翅目昆虫の季節的2型の研究をはじめとし、URECH<sup>87)</sup>はタテハ蝶 *Vanessa-Arten* の鱗粉の色が高温では暗色に、冷却によって明色になることを明らかにし、また GIERSBERG<sup>29)</sup> は *Vanessa* の蛹色に対する温度の影響をみ

て、幼虫の頭だけを冷やすと **cool-form** が、また頭だけを暖めると **warm-form** ができることから蛹の体色を決定するのは体部に達する熱量によるものではなく、頭に作用する温寒の効果によるものであることを明らかにした。最近では一瀬<sup>49)</sup>はタマナギンウワバ *Plusia nigrisigna* Walker の蛹色が幼虫期の温度によって支配され、 $30^{\circ}\text{C}$  では全部黄褐色型に、 $20^{\circ}\text{C}$  以下では全部黒色型になり、 $25^{\circ}\text{C}$  では中間型の蛹色となることを見出した。また家蚕では渡辺<sup>88)</sup>は蟻蚕体色と催青温度との関係について、胚子の反転期以後の高温では蟻蚕体色が明色になり、また低温では暗色になることを明らかにした。

以上のべたように体色の発現と温度との関係は **URECH** のような例外もあるが、一般的には体色は低温において色素を増加して暗色になり、高温においては明色になることが知られている。

その他湿度の影響として蝶の *Hestina assimilis* の雨期型および乾燥期型は、水分を蛹の翅鞘に付着させたり、あるいはさせなかったりして作ることができ、乾燥期のものは淡色で雨期のものは暗色である。さらに光線的作用としてはモンシロチョウ *Pieris* の蛹色発現への影響が知られている。この場合にもっとも重要なのは反射光の波長と明るさであり、黄色の光は緑色蛹形成をうながすし、暗黒下では暗褐色の蛹となることが明らかにされている。<sup>5)6)7)16)75)78)</sup>

他方昆虫が発育のある時期に体色を変化することは、例えばスズメガ類 *Sphinx ligustri* やシヤチホコガ *Cerura vinula* その他の鱗翅目昆虫の幼虫が最終令の終り頃から吐糸営繭の前頃に行動の変化と前後して体色が徐々に変化することから、このような体色変化の現象は早くから知られていた。<sup>8)9)11)12)61)</sup>そして **BÜCKMANN**<sup>28)9)(10)</sup> はギンシヤチホコの近縁種 *Cerura vinula* の幼虫を用いてこの体色変化を分析した結果、終令幼虫における緑色から赤褐色への体色の変化は、前胸腺による変態ホルモンによって支配されていることを明らかにした。

アゲハチョウ *Papilio xuthus* では環境に応じて蛹の色に緑色型と褐色型の2種があり、緑色蛹は寄主植物の緑色葉に接して蛹化したときだけつくられ、他の場所で蛹化した場合は大部分が褐色蛹になる。<sup>51)74)</sup> **HIDAKA**<sup>45)46)47)48)</sup> はこの蛹色の決定にもホルモンの機構が関係していることを明らかにし蛹の色に関して褐色化を促すホルモンが存在し、それが欠如したときに緑色蛹ができること、この蛹の褐色化に関与するホルモンの分泌源は脳—食道下神経節—前胸神経節の連合体であるが、最終的には前胸神経節から分泌されるものであることを明らかにした。また同様の現象はクロアゲハ *Papilio protenor demetrins*<sup>45)</sup>、モンシロチョウ *Pieris rapae crucivora*<sup>75)</sup> などでも観察されている。

以上のべたように昆虫の体色発現と環境要因との間には比較的はっきりした対応がみられるが、昆虫体色の発現機構を知る上で最も重要な事柄は、先ず体色を決定する外的環境要因が何であるかを知り、つぎに外的環境要因の作用によって体内にどのような変化がおこり、そしてどのような内部的機構を経て体色が発現するかを究明することであると考える。

家蚕における黒蛹の発現機構に関する従来の研究は、遺伝学的な解析に重点がおかれて研究がおこなわれてきた。すなわち蒲生<sup>28)</sup>は日本種改良又昔から突然変異として発見された黒蛹と正常色蛹との交雑 **F<sub>1</sub>** および **F<sub>2</sub>** の結果から黒蛹の遺伝性を認め、かつ単純劣性であろうと報告した。**KOSMINSKY**<sup>60)</sup> は黒蛹相互間の交雑では常に黒蛹を生じるが、正常色蛹との **F<sub>1</sub>** には正常色蛹と各種程度の黒蛹を生じることから黒蛹の遺伝は多遺伝子よりなり、かつ修飾遺伝子が存在するのであると推察したが明確なる結論は得られなかった。その後最近にいたって、一般に黒蛹と称しているものにも第 **XI** 染色体上に座位する *bp* 遺伝子によって発現する黒蛹<sup>31)33)34)</sup> と、第 **XI** 連関群の遺伝子とは独立遺伝をする *so* 遺伝子によって発現する煤蚕黒蛹<sup>89)</sup> とがあることが明らかにされた。そして *bp* 黒蛹も *so* 黒蛹ともに黒蛹の蛹色を決定する外的環境要因は温度であり、結局黒蛹の発現

は吐糸終了期後から化蛹までの間の保護温度の高低によって影響をうけ、この期間を低温で保護すると黒蛹が発現し、反対に高温で保護すると黒蛹の発現が抑えられて正常蛹色となることが明らかにされた。<sup>34)80)</sup>

しかしながら外的環境要因すなわち温度の変化に伴う黒蛹の蛹色変化の仕組みはどのようなものであるかということは、きわめて重要な事柄であるにも拘らず、殆んど研究がおこなわれていない。針塚<sup>34)</sup>は感温期間を低温に保護して黒蛹色を発現すべきものと、 $28^{\circ}\text{C}$ 以上の高温で保護して正常蛹色を発現すべきものとは、その化蛹直後の蛹皮中の水溶性蛋白に著しい差がみられ前者に多量に、後者には極めて少量しか含まれていないことから、黒蛹の発現に関して蛋白変性説を提唱した。

著者はたまたま1955年に黒蛹の発現機構を内分泌学的な見地から究明するために、黒蛹の自然突然変異として系統保存中のBT系統を用いて胸腹間で結紮をおこなったところ、結紮后感温期間を低温に保護すると結紮前半部は黒蛹が発現したが、後半部は黒蛹の発現が抑止されて正常蛹色が発現するという結果を得た。さらに種々の内分泌学的な方法を用いて追究をおこなった結果、BT系統における黒蛹の発現過程には蛹色の決定に関与するホルモンの機構が存在していることが明らかになった。

本研究では黒蛹の発現機構をしらべるために、BT系統を中心にして黒蛹の発現と環境要因との関係、黒蛹の発現に関与する遺伝子の分析および黒蛹発現のホルモンの機構などについて遺伝学的ならびに生理学的な見地から解明をおこなった。

本文に入るに先だち、この研究について終始懇篤なる御指導、御鞭達を賜わった本学前教授永友雄博士、東京大学有賀久雄教授、吉武成美助教授に対して謹んで感謝の意を表します。また実験材料について種々御配慮をいただいた信州大学長島榮一助教授、農林省蚕糸試験場高崎恒雄博士、佐々木静博士、荒武義信技官ならびに材料蚕の飼育について御便宜をいただいた埼玉県蚕業試験場河野幹夫場長、西村浩部長、石井好一技師に対し厚くお礼申し上げます。

## 材料および方法

本研究に用いた系統は主としてBT系統であるが、その他に支4号、*mpbp*、*p 51*および*osso*などの黒蛹系統と種々の正常系統も用いた。これらの系統の主なる特性は表1および表2に示したとおりである。催青は約 $25^{\circ}\text{C}$ で行い、飼育法は普通育で稚蚕期の飼育温度は約 $27^{\circ}\text{C}$ 、壮蚕期は約 $23^{\circ}\text{C}$ であり、上蔭期以後は一部の実験をのぞいて黒蛹が発現するように約 $20^{\circ}\text{C}$ で保護した。一方第10節における実験においてのみ、催青温度と飼育温度とを種々変えて実験をおこなったが、これらの方法の詳細については実験結果のところ述べる。実験はBT系統が虫質虚弱であるため

Table 1. List of black pupa strains used for the experiments\*

Strain	Race	Voltine	Remark
C 4	Chinese race	Univoltine	Plain ( <i>p</i> )
BT	"	Bivoltine	Normal (+ <sup>P</sup> ), Quail, Chinese translucent
<i>mpbp</i>	Japanese race	Bivoltine	Plain
<i>osso</i>	"	Univoltine	Normal (+ <sup>P</sup> ), Sooty
<i>p 51</i>	"	"	Plain, Sooty

\* The experiments were mainly carried out from February to May.

Table 2. List of normal strains used for the experiments

Strain	Race	Voltine	Remark
<i>K</i>	Japanese race	Bivoltine	Knobbed
Okusa	"	"	
Mosaic	"	"	Hereditary mosaic
C 106	Chinese race	Bivoltine	
<i>lem oc pe</i>	"	"	Yellow skin, Chinese translucent.
E 16	European race	Univoltine	
Daizo	Cantonese race	Bivoltine	
Cambodge	Tropical race	Polyvoltine	
<i>w<sub>1</sub> (S)</i>	Japanese race	Bivoltine	White egg-1
<i>w<sub>1</sub> w<sub>2</sub> rb</i>	"	Univoltine	Red blood
<i>w<sub>2</sub> ch</i>	Chinese race	Bivoltine	White egg-2
<i>re</i>	"	"	Red egg
<i>pere</i>	"	"	Pink-eyed white egg and red egg

に、主として2月から5月にかけて行った。

本研究において結紮、神経節の摘出、神経連鎖の切断、神経節の移植、皮膚の移植およびパラピオーシス等を行ったが、その方法は次のとおりである。

**結 紮** 結紮時期は実験の目的によって異なるが、大体上蔭期後および吐糸終了期後と早熟蚕を得るために、4令の前期とに行った。結紮は細い絹糸を用いておこない、結紮後目的の温度で保護した。

**神経節の摘出および神経連鎖の切断** 試供蚕はエチルエーテルで麻酔した。手術は麻酔した前蛹を双眼解剖顕微鏡下で腹側を上にして固定し、先の鋭いピンセットでそれぞれ目的とする神経節の摘出および神経連鎖を切断したのち目的の温度で保護した。

**神経節の移植** 宿主は吐糸終了期後の前蛹を腹部第2環節の後方で結紮して、結紮前半部を切り離した遊離腹部を用いた。先の鋭いピンセットを使って双眼解剖顕微鏡下で供給蚕から目的の神経節、あるいは神経節連合体を摘出して、一旦生理食塩水に移しそのあと宿主の背側に背脈管を避けて小さい傷をつけ、ピンセットで移植を行い、移植後は20°Cで保護した。

**皮膚の移植** 材料としてBT系統およびBTとコブとの戻交雑 ( $K+ / +bp$ )  $\times +bp$  より分離する有瘤個体 ( $K+$ ) と無瘤個体 ( $+bp$ ) とを用いた。第2節において述べるごとくBTとコブ ( $K$ ) とは連関しているのでこれらの戻交雑からは  $K+$  および  $+bp$  なる2種類の遺伝子型が約1:1に分離し、 $K+$  個体は幼虫期に瘤を発現して蛹は正常の琥珀色となり、また  $+bp$  は幼虫は無瘤であるが蛹は黒蛹となる。移植の時期は4令期で宿主にはBTと戻交雑の分離個体である  $+bp$  を用い、供給蚕としては  $K+$  をつけた。移植片は第5環節の瘤の部分を含めてその周辺を相当広く切り取り、生理食塩水中でよく洗ったのち再び生理食塩水に入れて逐次移植した。

宿主はエチルエーテルで麻酔し、第6あるいは第7環節の皮膚を円形または楕円形に切除し、この切除部に移植片を挿入した後18—20°Cに1日～数日間保護した。

**パラピオーシス** 吐糸終了期後のBT系統と支4号および正常系統の大草の前蛹を用いて腹部第2、第3環節間で2つに切りはなし、目的とする前半部と後半部とを組合わせて、それぞれの背脈管に細いガラス管またはビニール管(長さ約15mm, 内径約1mm位)をさし込んで両体間を連絡

させそのまま化蛹させた。

上記した処理蚕はいずれも、濾紙を敷いたシャーレ内に入れ、予め目的の温度に保持した定温器中に保護した。その他一括してここに記載できない細かい点に関しては、実験結果のところでのつど述べることにする。

## 実験結果ならびに考察

### § 1 黒蛹の発現と上蔭期以後の保護温度との関係

BT 系統や支 4 号などの黒蛹系統における黒蛹の発現は、その飼育時期によって発現の割合がこととなる。一般に春蚕期において最も多く黒蛹が発現し、秋蚕期がこれに次ぎ、夏蚕期ではほとんど発現しない。このように飼育時期によって黒蛹が多く発現したり、あるいは発現しなかったりすることが、いかなる原因によるものかということが問題になるが先ず第一に考えられることは飼育温度の違いということであろう。すなわち春蚕期の飼育温度が全般的に低いのに対して、夏蚕期は温度が最も高く、秋蚕期の飼育温度は春、夏蚕期の中間に位することから、飼育温度の高低が黒蛹の発現に対してかなりの影響をもつものと考えられるのである。

ある遺伝形質の発現が発育過程のある特定の期間に受ける特殊な環境条件の影響によって変化することについての研究は古くからおこなわれている。すなわち、ショウジョウバエ *Drosophila* においては小眼の数<sup>14)15)54)55)65)</sup>、剛毛の数<sup>13)77)</sup>、翅の形態<sup>35)81)82)83)</sup> および眼色素<sup>17)</sup>などの形質の発現と各種の温度との関係において感温期があることが明らかにされた。例えばショウジョウバエの白眼の対立遺伝子である  $w^{bl}$  の発現において、温度の相違と赤色素および褐色色素の濃度との間に密接な関係があることが知られている。すなわち  $w^{bl}$  ホモの個体では  $30^{\circ}\text{C}$  では淡褐色の眼色を示すが、 $17^{\circ}\text{C}$  では濃赤紫色の眼色となる。上記の 2 種の色素の濃度が温度条件により変化するのであるが、この変化についての感温期は化蛹後 40—48 時間の蛹期であり、それ以外の時期に低温や高温処理を行っても眼色にはなんらの影響も認められない。<sup>17)</sup>

蚕においても諸星<sup>66)67)68)</sup>は幼虫に高温湿度処理（温度  $38^{\circ}\text{C}$ 、湿度 90%）を 24 時間行うことにより、幼虫に斑紋のない姫蚕（ $p$ ）の表現型を、普通の斑紋を持つ形蚕（ $+^p$ ）に変化させることができることを述べ、この処理の有効な時期は、幼虫の各脱皮期（眠期）前約半日から同期の半ばまでであることを明らかにした。

黒蛹の発現が温度によって影響を受けることは、すでに針塚<sup>31)34)</sup>、鈴木<sup>84)</sup>によっても報告されている。針塚は黒蛹の 1 系統である勝木氏モザイク  $Gnh-D$ （中国種 1 化）を用いた研究で、黒蛹の発現には吐糸終了期以後から化蛹までの期間の温度が影響を与え、この期間を低温で保護すると黒蛹が発現し、高温では正常蛹色となることを明らかにした。また鈴木も支 101 号から得た黒蛹が上蔭温度の高低によりその蛹色濃度を異にし、高温においては淡色となり低温では濃色となることを認めた。

このように黒蛹の発現は蚕の発育過程の一定時期に働く温度によって影響を受けることが考えられるので、本実験においては黒蛹の発現におよぼす温度の影響をしらべるために、上蔭期以後の保護温度をいろいろ変えてみて黒蛹の発現が温度によってどのような影響を受けるかを調査した。供試蚕は黒蛹系統としては BT および支 4 号であり、正常系統としては大草、支 106 号、欧 16 号、カンボージュ および  $w_1(S)$  などである。稚蚕期は約  $27^{\circ}\text{C}$ 、壯蚕期は約  $23^{\circ}\text{C}$  で飼育を行い、上蔭期以後を  $32^{\circ}\text{C}$ 、 $30^{\circ}\text{C}$ 、 $28^{\circ}\text{C}$ 、 $25^{\circ}\text{C}$ 、 $20^{\circ}\text{C}$ 、 $18^{\circ}\text{C}$  および  $15^{\circ}\text{C}$  の各区にわけてそのまま化蛹まで保護し化蛹後の蛹色を観察した。黒蛹系統では上蔭以後の保護温度の違いによって蛹色は、黒蛹色から正常蛹色にいたるまで蛹色濃度に一連の変異がみられたが、蛹色濃度の段階を容易

に分類するために、便宜上蛹色濃度を下記の 5 段階にわけて観察記載することにした。なお黒蛹の蛹皮における黒色素の発現は、化蛹後正常の琥珀色の発色に先立ち 1～2 時間頃から生じはじめ約 5～6 時間位で黒化の程度は相当進み 24 時間を経過すればこの種固有の体全体黒色となる。この黒色素発現の順序は最初体軀からはじまり体軀がある程度黒くなってはじめて蛹前翅に着色をはじめ、それから正常色蛹にみられる琥珀色が発現してくる。この場合蛹前翅の着色が遅く発現するにもかかわらず黒色の程度は濃い。黒蛹の黒色素は蛹皮の第 1 次外皮 *exocuticle* にのみ含有されるもので、化蛾するにおよび脱皮殻は黒色であるが蛾の体色は正常色である。この黒色素はアルカリに可溶で酸には不溶であり、また他の溶媒に対しても比較的安定であること、さらに蛹皮の黒色素の吸収曲線の測定からメラニン色素であることが判明している。<sup>4)</sup>

#### 蛹色濃度の分類

- I. 蛹体全体が正常蛹色
- II. 蛹の前翅および頭部のごく一部のみ極淡黒色で背腹部は正常蛹色
- III. 蛹の前翅および頭胸部が淡黒色又は黒色で背腹部は極淡黒色又は正常蛹色
- IV. 蛹の前翅および頭胸部が黒色又は濃黒色で背腹部は淡黒色
- V. 蛹の前翅および頭胸部のみならず背腹部まで体全体が黒色又は濃黒色

以上分類した 5 階級のうち I と II は正常蛹色をあらわし、III と IV および V は黒蛹色であるが III の階級に属する蛹色は I と II および IV と V の蛹色のほぼ中間に位する蛹色をあらわす。

表 1—1 および図 1—1 に示したように、黒蛹の発現は上簇期から化蛹までの間の保護温度の高低によって顕著な影響をうけ、黒蛹の発現には感温期 *temperature-sensitive period* 又は *temperature effective period* が存在することがあきらかとなった。この感温期間を 15—20°C のような低温に保護すると、BT 系統の場合にはすべての個体において黒蛹が発現し、特に 15°C 保護では大多数が V の蛹色濃度に属する濃黒色の個体が発現した。反対にこの期間を 30—32°C の高温に保護した場合には黒蛹の発現は完全に抑止されて全個体が正常蛹色となることが判明し、さらに 25—28°C で保護すると黒蛹濃度に連続的変化がみられ、黒蛹から正常蛹色にいたる種々の階級の蛹色が生じた。

これに対して同じ黒蛹系統である支 4 号では、感温期間を 18°C で保護すると大部分の個体が III の階級に属する黒蛹が発現し、その他 IV に属する黒蛹個体も多少発現した。しかし 18°C のような低温に保護しても II の階級に属する正常蛹色個体が少数ではあるが発現した。これに対して 28°C に保護した区では I と II の階級である正常蛹色個体のみ発現して黒蛹個体は発現せず、又 30°C 保護では全個体が I の階級に属する正常蛹色となり、さらに 25°C 保護区では正常蛹色個体の他に III の階級に属する黒蛹個体も発現した。このように同じ黒蛹系統でありながら BT と支 4 号とではそれぞれ温度に対する感受性がことなり、同一保護温度によって決定される蛹色濃度にも両系統間に大きな差異がみられた。例えば上簇期以後を 28°C に保護した場合に BT 系統においては正常蛹色から黒蛹色にいたる種々の階級の個体が発現したのに対し、支 4 号の場合には全個体が正常蛹色となったことから、一般に支 4 号における黒蛹の発現は、BT 系統にくらべて温度に対する組織の感受性が弱く、このために低温に保護しても IV と V というような黒蛹色の濃い階級に属する個体の発現数が少なく、特に V の階級に属する個体が皆無なのであろう。

このような黒蛹発現の差が単なる系統間の差異によるものか、あるいは黒蛹の発現を支配する遺伝子の作用発現の差異にもとづくものかは極めて興味ある問題であるが、この点については第 7 節においてのべる。

他方、正常系統である大草、支 106 号、政 16 号、カンボージュおよび  $w_1$  (S) などを用いて上簇期以後をいろいろな温度で保護してみたが、蛹色の発現に変化はみとめられず全個体が正常蛹色

Table 1-1. Relation between the environmental temperature during the prepupal stage and the manifestation of the black pupa

Strain	Temperature (°C)	No. of individuals showing pupal color type*					Total
		I	II	III	IV	V	
BT	15				2	75	77
	20				31	49	80
	25		12	19	31	5	67
	28	4	48	25	13		90
	30	72	4				76
	32	64					64
C 4	18		3	51	5		59
	25	10	39	12			61
	28	34	18				52
	30	71					71
Okusa	20	74	8				82
	25	92	12				104
	28	73	3				76
	30	85					85
E 16	20	76	2				78
	25	62	1				63
	28	81	1				82
	30	72					72
Cambodge	20	97	4				101
	25	88	5				93
	28	86	2				88
	30	104					104
w <sub>1</sub> (S)	20	70	7				77
	25	98	5				103
	28	80	2				82
	30	86					86
C 106	20	88	10				98
	25	108	13				121
	28	81	5				86
	30	83					83

\* As there was variation in the pigmentation of pupae, the scoring of pigmentation was made by comparing each pupa with five standard pupae which were chosen according to the distribution and density of black pigment as follows: I, the whole body was normally colored; II, a part of the fore-wing and head was very weakly dark-colored and the dorsal and abdominal parts were normally colored; III, the fore-wing and head were weakly dark-colored and the dorsal and abdominal parts were very weakly dark-colored; IV, the fore-wing and head were dark-colored and the dorsal and abdominal parts were weakly dark-colored; V, the whole body was dark-colored.

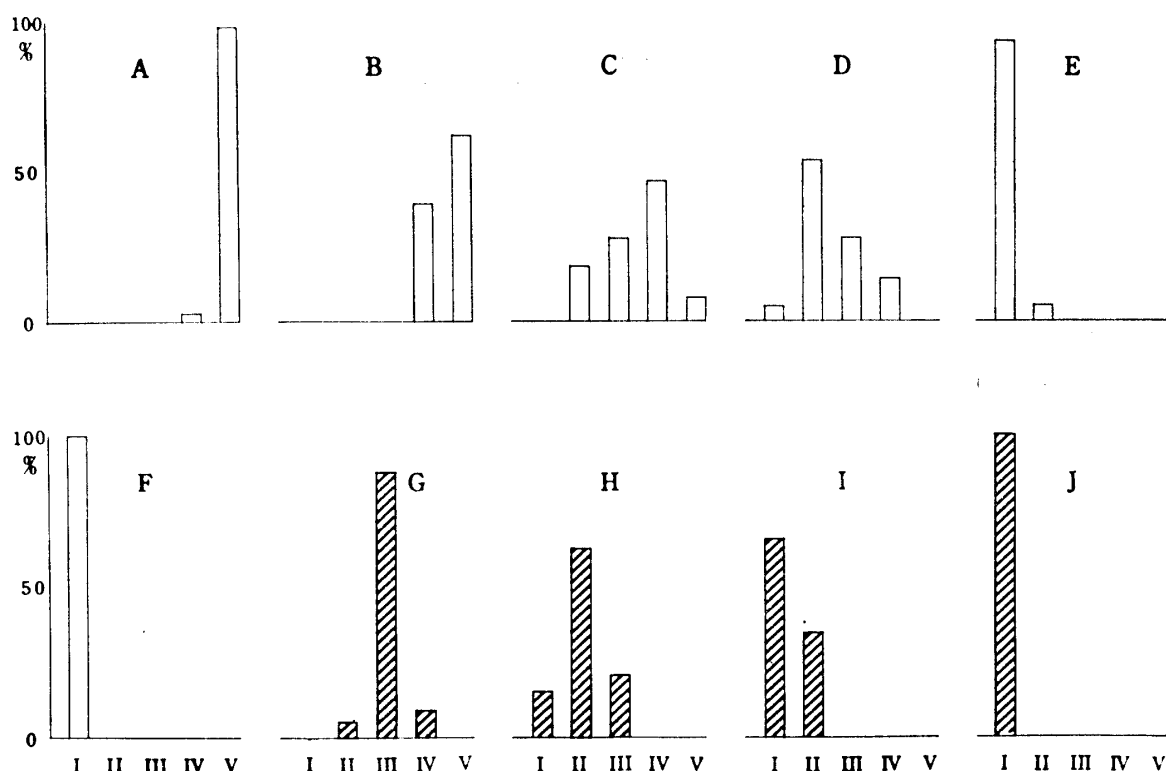


Fig. 1-1. Relation between the environmental temperature during the prepupal stage and the manifestation of the black pupa.

A~F, BT; G~J, C4;

A, 15°C; B, 20°C; C, 25°C; D, 28°C; E, 30°C,

F, 32°C; G, 18°C; H, 25°C; I, 28°C; J, 30°C.

となった。

これらの結果から飼育時期によって、黒蛹の発現個体が多かったり、あるいは少なかったりすることも次のように説明できる。すなわち、普通飼育法の場合には上蔭期の保護温度は春蚕期では18—23°C位、夏蚕期は25—30°C位でそして秋蚕期は20—26°C位であり、それ故に上蔭期の保護温度の一番低い春蚕期に黒蛹が一番多く発現し、秋蚕期がこれに次ぎ夏蚕期では感温期間が高温であるために黒蛹は殆んど発現しないのであろう。

## § 2 BT 系統における黒蛹の発現に関する遺伝子分析

BT 系統はその吐糸開始期（上蔭期）から化蛹期までを低温に保護すると黒蛹を発現するが、この黒蛹が如何なる遺伝子によって発現するかは不明である。またすでに表1に示したように、BT 系統の幼虫体色は極めて特徴的であり紫色を呈するとともに中程度の油蚕性を示し、カスリ斑紋（*q*）をも有する個体も相当出現する。卵色には特異性はみられないが一般に産卵性極めて悪く、特に虫質は虚弱で夏あるいは秋期の飼育は極めて困難である。このようにBT 系統は特異的なくつかの形質を有しているが、これらの幼虫形質と黒蛹との関係もまた全く解明されていない。

そこで著者は、従来黒蛹発現に関係する遺伝子として知られている黒蛹遺伝子（*bp*）ならびに媒蚕黒蛹遺伝子（*so*）のうちどちらの遺伝子をこのBT 系統は有しているのか、あるいは全く別個の新しい黒蛹遺伝子によって発現するのかを明らかにするとともに、幼虫形質と黒蛹発現との関係についても調査を行った。さらに同じ *bp* 遺伝子を有していても黒蛹の発現型が非常に異なる場合が



あるが、これらの原因についても研究を行ったので以下順次述べることにする。

### (1) BT 系統における黒蛹の発現を規定する遺伝子

BT 系統における黒蛹の発現が黒蛹遺伝子 (*bp*)、煤蚕黒蛹遺伝子 (*so*) あるいは新しい黒蛹遺伝子のいずれによるものかを知るために、*bp* 遺伝子を有する支 4 号および *mpbp* ならびに *so* 遺伝子を有する *osso* および *p 51* などの系統と BT 系統との交雑をつくり、その  $F_1$  における蛹色の調査を行った。その結果表 2—1 に示したように、BT 系統における黒蛹の発現は *so* 遺伝子によるのではなく、*bp* 遺伝子によるものであることが明らかになった。

さらにこの点を明確にするために、BT 系統における黒蛹を規定する遺伝的要因と第 XI 連関群に属するコブ遺伝子 (*K*) との連関の有無を調べた結果、表 2—2 に示したように両遺伝子は連関しており、この黒蛹を規定する遺伝子は既知の *bp* 遺伝子と同じ遺伝子と考えられる。

BT 系統の幼虫斑紋は形蚕 (+<sup>p</sup>) で個体によってはカスリ斑紋 (*q*) を呈し、また体色はすべて紫色を呈し油蚕性を有していることはすでに述べたとおりである。すなわち +<sup>p</sup> 遺伝子や油蚕性遺伝子についてはホモであるが、*q* 遺伝子についてはヘテロと考えられる。従って BT 系統における黒蛹の発現に対して *q* 遺伝子は一応無関係であると考えられよう。しかし油蚕性遺伝子についてはそれが如何なるものか未定であり、また黒蛹発現との関係も不明なので、種々の既知の油蚕性遺伝子と BT 系統との交雑をつくり遺伝子分析を行った。その結果この油蚕は支那油蚕 (*oc*) であることが明らかとなり、また黒蛹の発現にも直接関係がないことがわかった。

Table 2-1. The pupal color in  $F_1$  hybrids of BT with other black pupa strains

Cross	No. of individuals showing pupal color type					Total
	I	II	III	IV	V	
BT × C 4			114	327	21	462
C 4 × BT			85	160	77	322
BT × <i>mpbp</i>			147	250	3	400
<i>mpbp</i> × BT			93	156	6	255
<i>osso</i> × BT	100	23				123
P 51 × BT	69	57				126

Table 2-2. The pupal color in segregants from backcross of BT with *K* gene

Experimental series	<i>K</i> +	<i>K bp</i>			++	+ <i>bp</i>			Total
		III	IV	V		III	IV	V	
212	174	5			7	114	80	22	402
214	192	3			5	97	47	46	390

Table 2-3. The pupal color and translucent in segregants from the cross between BT and *oc*

Cross	No. of 5 th instar larvae	No. of <i>oc</i> individuals	No. of individuals showing pupal color type					Total
			I	II	III	IV	V	
<i>lem oc pe</i> × BT	213	213	96	93				189

## (2) 黒蛹の発現に關与する遺傳的背景

BT 系統が *bp* 遺伝子をホモに有していることはすでに述べたとおりであるが、上蔭以後の保護温度が高い場合にはたとえ *bp* 遺伝子が存在していても黒蛹は発現せず蛹色は正常の琥珀色を呈する。しかしこのようなものの次代を低温保護すればまた黒蛹が発現する。かかる事実から保護温度の相違による表現型の変化は一時的変異であり遺傳的変異でないことは明らかである。これは丁度化性が催青温度の高低によってその発現型が一時的に変化するのと極めて類似した現象である。

一方 BT 系統と支 4 号は同じ *bp* 遺伝子を有しているにもかかわらず、上蔭期以後を全く同じ条件で保護しても黒蛹色発現の程度は相当異なる。この発現型の相違は上述の保護温度の高低に対する系統による感受性の差異によるものではないかと考えることもできるが、すでに鈴木<sup>84)</sup>も指摘しているように黒蛹発現に關与する *bp* 遺伝子以外の遺傳的要因の差異にもとづくものとも考えるのが最も一般的ではなからうか。

このような假定のもとに著者は BT 系統と種々の正常色蛹系統との交雑をつくり、その F<sub>2</sub> における蛹色の分離状態を調査した。その結果表 2—4 に示すように、黒蛹色個体の発現程度は交雑した正常色蛹系統の種類によって非常に異なることがわかった。

Table 2-4. The pupal color in F<sub>2</sub> hybrids of BT strain with several normal strains

Cross	No. of individuals showing pupal color type					Total
	I	II	III	IV	V	
C 4 × BT			35	19	9	63
<i>mpbp</i> × BT			70	63	15	148
Daizo × BT	143		28	5	1	177
Okusa × BT	142		40		6	188
Mosaic × BT	100		26	4		130
K × BT	50	25	17	12	4	108
<i>w<sub>1</sub> w<sub>2</sub> rb</i> × BT	74	51	62	11		198
<i>re</i> × BT	98		20	8	8	134
BT × <i>w<sub>2</sub> ch</i>	108	24	33	9		174
<i>pere</i> × BT	50	67	44	20	10	191
BT × Cambodge	100	35	37	14		186

すなわち *bp* 遺伝子に關しては同一であっても、他の遺傳的背景の差によって黒蛹の発現状態が異なることを示している。厳密な意味における遺傳的背景の影響を調べるためには、BT 系統に種々の正常系統を 10 数代戻し交雑したものについて比較しなければならない。しかし *bp* 遺伝子は劣性遺伝子であり戻し交雑を続けるためには種々の困難が伴い相当の年月が必要とされるので、本研究においては一応 F<sub>2</sub> における分離結果で代用したわけである。

一般に黒蛹系統における黒蛹色発現の程度を雌雄について比較すると、雄の方が濃色を呈する場合が多い。BT および支 4 号 × BT あるいは BT × *mpbp* の F<sub>1</sub> についてみても表 2—5 および図 2—1 に示すように蛹色濃度の濃いものにおいて占める雄の比率は大である。

このような現象が蛾の体色においてみられるような、いわゆる従性的 (sex-control) 形質であるためにみられるものなのか、それとも単に性の相違にもとづく成長あるいは発育の差異によって生じた生理的なものであるのか現在の段階では不明である。

すでに前節で述べたように、BT と支 4 号の黒蛹発現と上蔭期以後の保護温度との関係は、両者

Table 2-5. Ratios of male and female in the manifestation of the black pupa

Strain	No. of individuals showing pupal color type										Total
	I		II		III		IV		V		
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	
BT					2	2	18	42	21	66	151
C 4 × BT F <sub>1</sub>					47	38	72	88	6	71	322
BT × <i>mpbp</i> F <sub>1</sub>					135	12	72	178		3	400

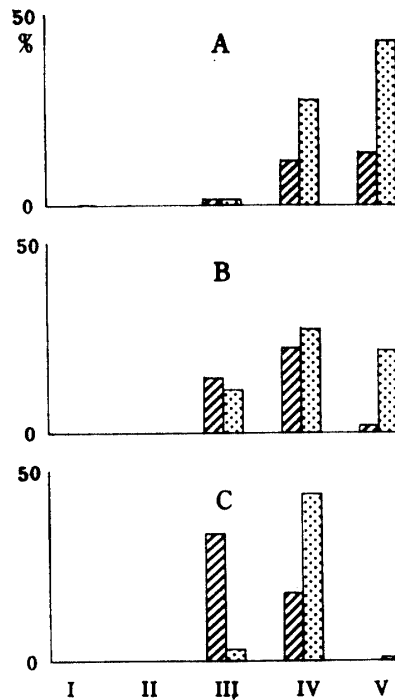




Fig. 2-1. Ratios of male and female in the manifestation of the black pupa.

 ♀,  ♂.  
 A, BT; B, C 4 × BT; C, BT × *mpbp*.

とも保護温度が高温から低温になるに従って濃色個体の発現率は大きくなるが、その変化の状態は非常に異なる（図1—1参照）。すなわち BT 系統において 30°C 保護をしたものでは蛹色濃度は殆んど I の階級に属するが、それを 15°C 保護した場合には殆んど全部 V となる。しかるに支 4 号では低温で保護しても蛹色濃度 IV のものが多少出現する程度で大部分は III の階級のものである。

このように発現型が保護温度によって変化するのは、化性あるいは眠性の発現と極めて類似した現象である。例えば化性についていえば、1 化性および多化性は種々の発育段階の保護温度の影響を殆んど受けることなく常に休眠卵（1 化性の場合）あるいは非休眠卵（多化性）を産下する。これに反して 2 化性はその種々の発生段階にうける温度の影響によって、ある場合には休眠卵を産下し、またある場合には非休眠卵を産下する。すなわち発現型からいえば、1 化性および多化性は幅がせまく均一であるのに反し、2 化性は幅が広いと考えられる。BT 系統と支 4 号における黒蛹の発現を化性の場合と比較すると、相対的には支 4 号の黒蛹の発現型は化性では 1 化性あるいは多化性の発現型に近く、BT 系統における黒蛹の発現は化性における 2 化性のそれに類似していると考えることができよう。

化性における1化性、2化性あるいは多化性というものの根本的な差異として考えられるものは脳の温度に対する感受性の相違であろう。すなわち1化性および多化性はいずれも外界の環境条件に対しての脳の感受性は低い、特に前者は低温に対してまた後者は高温に対しての感受性が低いと考えられる。これに対して2化性は微細な温度変化によってその発現型が異なることから脳の温度に対する感受性は極めて高いものと考えられる。化性が遺伝的形質であるというのは脳の温度に対する感受性が遺伝性を有するためと思考されるが黒蛹の発現も丁度これらと類似した現象のように思われる。

黒蛹発現におけるBTと支4号との相違が如何なる遺伝的機構の差にもとづくものかは、本節に述べた研究の範囲では不明であるが以下節を追ってこれを追求する。

### § 3 結紮による蛹色の変化

本実験では黒蛹の蛹色決定と発現に関して、ホルモンの機構が存在するかどうかを確かめるために結紮処理を行い、結紮に伴う蛹色の変化を観察した。供試蚕はBT系統である。

#### (1) 結紮後の保護温度と蛹色との関係

BTの前蛹を吐糸終了期後において結紮し、結紮後の保護温度の相違が蛹色の発現にいかなる影響を及ぼすかをしらべた。結紮は腹部第2環節の後方でおこない、その後直ちに20°Cと30°Cとにそれぞれ分けて保護し化蛹後の蛹色を観察した。その結果は表3-1に示したとおりである。

Table 3-1. The color of pupae kept at 20°C and 30°C after ligaturing of prepupae of BT strain

Temperature after ligature	No. of ligatured individuals	No. of dead individuals	Pupal color of the anterior part		Pupal color of the posterior part	
			Black	Normal	Black	Normal
20°C	20	2	18	0	0	18
30°C	20	5	0	15	0	15

結紮後20°Cに保護した区では、結紮前半部と後半部の蛹色はそれぞれ異なり結紮前半部は例外なくすべて黒蛹色となったが、後半部においては黒蛹色素の形成が抑止せられて正常蛹色が発現した。これに対して結紮後を30°Cに保護した区では、結紮前半部も後半部も共に正常蛹色を示した。

20°C保護区のような黒蛹が発現する条件下で、結紮前半部のみが黒蛹色となり後半部においては黒蛹色が発現されずに正常蛹色となったことは、後半部のみが特に温度の影響を受けて黒蛹色発現が抑えられたとは考えられず、むしろ蛹色の発現がホルモンの機構によって支配されていることを暗示するもので、後半部内には黒蛹色発現に関与するホルモンが存在しないために、正常蛹色となったものと考えられる。これに対して結紮前半部内には黒蛹の発現をつかさどる内分泌系が存在しており、この内分泌系から分泌されるホルモンによって黒蛹色となったのであろう。他方結紮後を30°Cに保護した個体の結紮前半部と後半部とが、ともに正常蛹色となったのは結紮前半部内に存在する内分泌系からのホルモンの分泌が何らかの作用で抑えられたためと考えられる。すでに述べたように黒蛹の発現が温度によって影響をうける時期は、上蔟期以後であるところから黒蛹の発現に関与するホルモンが分泌されるかどうかは、上蔟期以後の保護温度の高低によって支配されるものと考えられる。

結局黒蛹の蛹色を決定する内分泌系が結紮前半部内に存在しており、感温期の温度が20°Cのよ

うな低温の場合には、内分泌系の機能は活性化されてホルモンが分泌されて黒蛹色となり、 $30^{\circ}\text{C}$ のような高温の場合には内分泌系の働きが抑制されてホルモンが分泌されず、したがって正常蛹色が発現したものと思われる。しかしながら温度の作用がどのような仕組によって内分泌系に伝わるかということは、結紮実験結果からだけでは解明できない。ここで考慮せねばならぬ点は、黒蛹色を決定するホルモンと蛹化ホルモンとの関係である。黒蛹の蛹色が決定される時期は上蔟期以後であると考えられるが、この時期にはすでに蚕の前胸部に存在する前胸腺 *prothoracic gland* から蛹化ホルモンが分泌されており、このホルモンの分泌臨界期は福田<sup>19)</sup>により熟蚕後30時間を経過した頃であることが明らかにされている。BTを吐糸終了期後において結紮すると、結紮前半部も後半部もともに化蛹は完全に進行し、結紮前半部、後半部のいずれかが幼虫態のまままでとどまることはない。従って黒蛹の蛹色を決定するホルモンと蛹化ホルモンとは別個なものであろうが全く関係がないとはいきれない。蛹化ホルモンとの関連については、第6節において述べることにする。

## (2) 結紮部位と蛹色との関係

結紮前半部内には黒蛹の蛹色を決定する内分泌系が存在することは判明したが、この内分泌系は結紮前半部のはたしてどの部分に存在しているかをさらにくわしく確かめる目的で、各環節ごとに結紮を行った。黒蛹が発現するように上蔟期以後を $20^{\circ}\text{C}$ に保護したBTの前蛹を、吐糸終了期後に頭部から腹部第4環節にいたる各環節の後方で結紮処理を行い、その後また $20^{\circ}\text{C}$ に保護して化蛹後の蛹色をしらべた。

表3—2に示したように、頭部の後方で結紮を行った個体はすべて黒蛹の発現が抑えられて正常蛹色となった。つぎに胸部第1環節の後方で結紮すると、結紮前半部も後半部も共に正常蛹色が発現したが、さらに胸部第2環節の後方で結紮した場合においても、前半部が黒蛹色となった1頭をのぞいて同様の結果が得られた。

Table 3 2. The color of pupae after being ligatured in the prepupal stage at different segments

Portion of ligature	No. of ligatured individuals	No. of dead individuals	Pupal color of the anterior part		Pupal color of the posterior part	
			Black	Normal	Black	Normal
Behind the head	17	1	—	—	0	16
Behind the 1st thoracic segment	19	1	0	18	0	18
Behind the 2nd thoracic segment	22	2	1	19	0	20
Behind the 3rd thoracic segment	20	1	14	5	0	19
Behind the 1st abdominal segment	18	1	15	2	0	17
Behind the 2nd abdominal segment	13	0	13	0	0	13
Behind the 3rd abdominal segment	10	0	10	0	0	10
Behind the 4th abdominal segment	10	1	9	0	0	9
Both behind the heads and behind the 2nd abdominal segments	10	0	0	10 <sup>(1)</sup>	0	10 <sup>(2)</sup>

(1) The pupal color of the parts anterior to the 2nd abdominal segments.

(2) The pupal color of the parts posterior to the 3rd abdominal segments.

一方胸部第3環節の後方で結紮すると、結紮前半部は黒蛹色が発現し、後半部は全個体が正常蛹色となった。また腹部第1環節の後方での結紮処理区においても同様な結果を得たが、両区とも前半部になお少数の正常蛹色個体があられた。これに対して腹部第2、第3および第4環節の後方での結紮では例外なしに結紮前半部は黒蛹色が、後半部は正常蛹色が発現した。一方頭部の後方と腹部第2環節の後方との2カ所で結紮を行った結果は、腹部第2環節より前の部分も、腹部第3環節より後の部分も共に正常蛹色となった。

このように結紮によってすべての個体の後半部において、黒蛹色が発現せずに例外なく正常蛹色となったことは、本節の(1)の実験結果と完全に一致し、黒蛹色発現におけるホルモンの機構の存在を示すものであろう。

頭部の後方での結紮によって得られた結果は、頭部内のある器官が蛹色の決定に関与していることを暗示するが、このことは2カ所結紮区において腹部第2環節より前の部分が正常蛹色となった結果からも証明される。すなわち、腹部第2環節の後方みの結紮では前半部がすべて黒蛹色となるのに、この結紮に加えて更に頭部の後方で結紮すると、前半部において黒蛹色素が形成されないことから、頭部内の器官一恐らく脳であろう一が黒蛹色の決定に重要な役割を果していることが想像される。しかしながら頭部内の器官のみでは、黒蛹色を発現することが出来ないことは、胸部第1および第2環節の後方で結紮した場合に、前半部が正常蛹色となることから理解できる。したがって頭部内の器官は直接に黒蛹色の決定を行うのではなく、何か胸部にある第2の内分泌系を介して黒蛹の発現が行われるものであろうと考えられる。

胸部第3環節の後方で結紮したときに、はじめて前半部に黒蛹色が発現したことは、頭部から胸部第3環節までの間、すなわち頭胸部内に含まれる内分泌系が黒蛹色決定を司るものと考えられよう。そして胸部第1環節および第2環節の後方で結紮して前半部が正常蛹色となったのは、頭部からこれらの環節内までには黒蛹色決定にあずかる内分泌系が存在しないために、黒蛹色素の形成が出来なかったものと思われる。

胸部第3環節の後方での結紮において少数の例外個体が生じたが、この理由は恐らく結紮によってこの内分泌系に何らかの障害が生じそのために正常蛹色となったのであろう。腹部第2環節以下の環節の後方で結紮を行った結果では、例外なく前半部において黒蛹色が発現したところから、これらの結紮前半部内には黒蛹色決定の内分泌系が完全な形で存在していることを示している。

結局黒蛹色を決定する内分泌系は、頭部から腹部第2環節附近までの間に存在するものとみてよい。

結紮を行った蚕の蛹化脱皮は、結紮後半部については殆んど異常なく行われるが、まれに自己脱皮できない個体もある。これに対して前半部ではすべての個体が自己脱皮できないので、これらの個体はピンセットを用いて蛹皮の上を覆っている旧皮をのぞいてやるが、全般的に正常蛹色となった前半部の蛹色は後半部の正常蛹色となった個体の蛹色とくらべ蛹色の判別には支障はないが琥珀色の濃度が多少濃い傾向がある。この理由は今のところ不明であるが、自己脱皮できない事情にもとづく現象のようである。

### (3) 黒蛹色決定ホルモンの臨界期の検索

BTの前蛹を吐糸終了期後まもなく胸腹間で結紮すると、結紮後半部において黒蛹色素の発現が抑えられて正常蛹色となることはすでに述べたが、さらに吐糸終了直後から化蛹直後に至るまでを1時間ごとに区切って結紮し、これら結紮時期と蛹色発現との関係をしらべた。その結果黒蛹色の発現に関与するホルモン(以下黒蛹色決定ホルモンと呼ぶ)の分泌臨界期の存在を知ることができた。

結紮は腹部第2環節の後方で行い、結紮後はただちに20°Cで保護した。結紮をおこなった蚕の吐糸終了直後から化蛹までの経過は、本実験では20°Cで約30時間であった。結果は表3—3に示したとおりである。

Table 3-3. The color of the posterior parts of pupae after being ligatured in different prepupal stages of BT strain

Pupal color of the posterior part	Stage of prepupae at the time of ligaturing expressed in hours before pupation															Total		
	30-16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2		1	0*
Normal	34	3	2	2	2	3	2	1										49
Black									1	3	4	3	3	1		1	2	18

\* Immediately after pupation.

結紮時期は結紮した時から化蛹時刻までの時間を逆算して示し、化蛹時刻は脱皮殻が蛹体後端から離脱した時をもって化蛹直後とした。

化蛹前9時間から30時間（丁度吐糸終了直後にあたる）までに結紮した個体の後半部はすべて正常蛹色が発現した。これに反し化蛹前8時間から化蛹直後までに結紮した個体の後半部は例外なく黒蛹色となることがわかった。なお結紮した蚕の前半部はすべて黒蛹色が発現した。

吐糸終了直後から化蛹前9時間頃にかけて結紮を行うと後半部が正常蛹色となるのは、前半部内に存在する内分泌系からのホルモンの分泌が結紮をしたのちに行われたためか、あるいはホルモンの分泌が結紮前にすでに行われてもホルモンの濃度がある一定の段階に達する以前に、結紮により体液の流通が阻止されそのために前半部のみ黒蛹色となったのであろう。これに対して化蛹前7時間頃から化蛹時にかけては、ホルモンの分泌量は黒蛹色発現に必要なだけの濃度に達しており、その結果ホルモンは体全体にゆきわたっているために、結紮によっても後半部の黒蛹色の発現を抑えることができなかったのであろう。ホルモンの分泌量とこれに伴う色素形成との関連については、化蛹前7—8時間頃に結紮したものの後半部の黒蛹色の濃度は幾分うすく淡黒色であったのくらべ、結紮時期が化蛹時に近づくにしたがって黒色の濃度を増し、化蛹前4—5時間頃から化蛹直後までの結紮では体全体が黒蛹の固有色である黒色となった。このことは黒蛹の色素形成の程度と黒蛹色決定ホルモンの分泌量との間には比例的関係があるように思われる。

以上の結果から黒蛹の蛹色を決定するホルモン分泌の臨界期は、化蛹前7—10時間頃にあることが明らかになった。

#### § 4 黒蛹色決定ホルモンを分泌する内分泌器官の検索

結紮実験の結果から、黒蛹の蛹色は前蛹期において頭胸部内に存在する内分泌系からホルモンが分泌されて決定されることがほぼ明らかとなった。しかしながら結紮実験の結果だけではホルモンの存在を確認することはできないし、また一方では結紮によって体内の神経系が切断された結果にもとづくものとも考えることもできる。ホルモンの存在を確かめるためには、先ず第一に器官の摘出をおこなってホルモンを分泌する器官を見つけることが必要である。

本実験では黒蛹色決定をつかさどるホルモンの分泌器官を検索するために、先ず最初に神経節の摘出実験を行い、つぎに種々の神経節を連ねている神経連鎖を切断した。そしてこれらの方法によってみつけた器官が果してホルモンを分泌する機能があるかどうかを確かめるために、さらに移植実験をこころみた。供試蚕はBT系統を用い、黒蛹が発現するように手術の前後を20°Cに保護した。

## (1) 神経節の摘出と蛹色発現との関係

黒蛹が発現するように上蔭期以後を 20°C に保護した BT の前蛹を吐糸終了期後に、脳 brain 食道下神経節 suboesophageal ganglion, 前胸神経節 prothoracic ganglion, 中胸神経節 mesothoracic ganglion, 後胸神経節 metathoracic ganglion, 腹部第 1 神経節 first abdominal ganglion および腹部第 2 神経節 second abdominal ganglion をそれぞれ個々に摘出した。

Table 4-1. The color of pupae from which various ganglia were removed in the prepupal stage of BT strain

Ganglion removed	No. of treated individuals	No. of dead individuals	No. of individuals showing pupal color type				
			I	II	III	IV	V
Brain	20	1	11	3	3	2	0
Suboesophageal ganglion	22	0	9	5	4	3	1
Prothoracic ganglion	20	1	11	5	2	1	0
Mesothoracic ganglion	20	0	10	6	3	1	0
Metathoracic ganglion	22	3	10	6	2	1	0
First abdominal ganglion	20	5	1	2	1	5	6
Second abdominal ganglion	20	4	0	1	2	5	8
Control	15	0	0	0	0	6	9

その結果は表 4—1 に示したように脳、食道下神経節、前胸、中胸および後胸神経節を摘出した区の大部分は、黒蛹色素の発現が抑えられて、蛹色濃度の階級が I と II に属する正常蛹色となった。

これに対して腹部第 1 神経節を摘出すると、多くの個体は蛹色濃度が IV および V に属する黒蛹色が発現した。同様の結果は腹部第 2 神経節の摘出の場合にも得られた。また摘出を行わずに同じ時期に皮膚の傷付けだけをした対照区の蛹色は、全部の個体が IV と V の階級に属する黒蛹色となった。

黒蛹が発現するような条件下で、脳から後胸神経節までの神経節のいずれか 1 つを摘出すると、他の神経節はその機能を代行することなく大部分の個体が正常蛹色となったことは、頭胸部内に存在するこれら脳、食道下神経節、前胸、中胸および後胸神経節が黒蛹の発現を支配するホルモンの分泌源と密接な関係をもつことを示すものであり、この結果は内分泌系が頭胸部内に存在するという結紮実験の結果と一致する。一方腹部第 1 あるいは第 2 神経節を摘出しても、これらの神経節は黒蛹色決定に関与しないか、あるいは分泌機能が微弱であるために黒蛹色素の形成に何ら影響を与えず、黒蛹色が発現したものと思われる。ただ少数の例外個体がでたことは、これらの神経節も、わずかながら黒蛹の発現に関与していることを意味するのかもしれない。

また脳から後胸神経節までの摘出において少数の黒蛹色個体があらわれたが、これらの神経節摘出による黒蛹色個体の出現は摘出時期と密接な関係があり、摘出時期がホルモン分泌の臨界期に近づくに従い黒蛹色個体が多く発現する傾向がみられた。この説明については第 5 節において詳しく述べることにする。

## (2) 神経連鎖の切断と蛹色発現との関係

摘出実験において黒蛹色を決定するホルモンの分泌源は、脳から後胸神経節までの各神経節であることが明らかとなったが、次に上記の各神経節を結んでいる神経連鎖の役割をしらべるために、



神経節そのものには手をつけずに各神経節の後方の神経連鎖を切断して蛹色発現との関係を観察した。この結果は表4-2のとおりである。

Table 4-2. The color of pupae whose nervous commissures were severed in the prepupal stage of BT strain

Level of severing	No. of treated individuals	No. of dead individuals	No. of individuals showing pupal color type				
			I	II	III	IV	V
Behind brain	20	1	8	3	2	3	3
Behind suboesophageal ganglion	20	0	7	5	4	2	2
Behind prothoracic ganglion	18	0	8	3	4	3	0
Behind mesothoracic ganglion	15	0	10	4	0	1	0
Behind metathoracic ganglion	21	2	1	2	3	8	5
Behind the first abdominal ganglion	20	4	0	1	3	5	7
Behind the second abdominal ganglion	20	2	0	0	2	6	10

脳、食道下神経節、前胸神経節および中胸神経節の後方で神経連鎖を切断した区の大部分は、神経節がもとどおりの位置に存在しているにもかかわらず正常蛹色が発現した。

これに対して、後胸神経節の後方で神経連鎖を切断すると蛹の大部分は黒蛹色となった。同様の結果は腹部第1神経節あるいは腹部第2神経節の後方で切断した場合にも得られた。

以上の結果は、脳から後胸神経節までの各神経節は神経連鎖で連ねられてはじめて機能を發揮するもので、各神経節が1つの連合体として存在するときのみ黒蛹が生じ得ることを示していると考えられる。

### (3) 神経節の移植と蛹色発現との関係

神経節の摘出および神経連鎖切断の結果をさらに裏付けるために、神経節の移植を行った。移植した器官は脳、脳—食道下神経節連合体、あるいは脳—食道下神経節—前胸神経節—中胸神経節—後胸神経節連合体で、宿主としては結紮前半部を切り離した遊離腹部を用い、これに移植片を1個あて移植した。

Table 4-3. Pupal color after the implantation of ganglia

Implanted ganglia	No. of treated abdomens	No. of dead abdomens	No. of isolated abdomens showing	
			normal pupal color	black pupal color
Control	10	0	10	0
Brain	10	0	10	0
Complex of brain and suboesophageal ganglion	10	0	10	0
Complex of brain-thoracic ganglia	15	1	4	10

表4-3に示したように、対照区として皮膚の傷付けのみをおこなった遊離腹部は例外なしに正常蛹色が発現した。つぎに脳だけの移植あるいは脳—食道下神経節連合体を移植すると、蛹色の発現には影響はなく、いずれの遊離腹部においても正常蛹色が発現した。一方脳から後胸神経節までの神経節連合体（以下脳—胸部神経節連合体と称する）を移植すると、遊離腹部の大部分は黒蛹色

が発現した。そして黒蛹色となった個体の蛹色の濃度は淡黒色から黒色までの種々の段階がみられた。

このように正常蛹色となるべき遊離腹部に、脳一胸部神経節連合体を移植すると黒色色素が形成されて黒蛹色が発現したことは、さきに述べたようにこの連合体が黒蛹色決定ホルモンを分泌する機能をもつという神経節の摘出実験および神経連鎖切断の実験結果をさらにうらがきするものである。脳一胸部神経節連合体の移植において少数の例外個体があったが、この理由は恐らく移植の際の神経節の破損や神経連鎖の切断などによるものとおもわれる。

### § 5 黒蛹の発現に關与する脳一胸部神経節連合体を構成する神経節の個々の役割

黒蛹の蛹色発現は黒蛹蚕の頭胸部内に存在する脳一胸部神経節連合体から分泌されるホルモンによって決定されることは前に述べたとおりであるが、つぎに上記の連合体を構成する各神経節は黒蛹色決定ホルモン分泌の際に個々にはどのような役割を演じているかということを確認してみる必要がある。すなわち上蔟期以後の低温保護によってこれら神経節はすべて活性化されて黒色化ホルモンの分泌機能をもち、それぞれ同種のホルモンを殆んど同時に分泌するのか、あるいは黒蛹色決定ホルモンを分泌するのは連合体に含まれるある特定の神経節だけであり、他の神経節は単にホルモン分泌の刺激を伝える役割だけを果しているのかを知る必要がある。

本実験においては、黒蛹色決定ホルモンが分泌される時期と推定される吐糸終了期頃と吐糸開始期頃（上蔟後）およびホルモン分泌の臨界期（化蛹前7—10時間頃）前後の各時期に脳から腹部第1神経節にいたる各神経節を摘出し、化蛹後の蛹色を観察した。供試蚕はBT系統を用い、手術の有無を問わず黒蛹が発現するように上蔟期以後を20°Cで保護した。その結果は表5—1、5—2および5—3に示したとおりである。

Table 5-1. The color of pupae from which various ganglia were removed in the mounting stage of BT strain

Ganglion removed	No. of treated individuals	No. of dead individuals	No. of individuals showing pupal color type					Total
			I	II	III	IV	V	
Brain	20	2	16	2				18
Suboesophageal ganglion	15	1	1	5	4	2	2	14
Prothoracic ganglion	15	2	6	4	2	1		13
Mesothoracic ganglion	15	3	6	4	1	1		12
Metathoracic ganglion	16	4	6	5	1			12
First abdominal ganglion	15	4			1	5	5	11
Control	15	1			1	4	9	14

先ず吐糸開始時期（上蔟後）に各神経節を摘出した結果は表5—1に示したように脳、前胸神経節、中胸神経節あるいは後胸神経節をそれぞれ摘出した区では大部分の蛹が正常蛹色となり、特に脳摘出区においては例外なく正常蛹色のみが発現した。食道下神経節の摘出区においても蛹色濃度がIおよびIIに属する正常蛹色個体のほか、IIIに属する中間型蛹色（蛹色濃度の分類では黒蛹に属する）のほかにIVとVの黒蛹色個体が発現した。一方腹部第1神経節を摘出した区ではすべての蛹が黒蛹色となり、また摘出処理を行わず麻酔のみをおこなった対照区でも全個体で黒蛹色が発現した。このように吐糸開始時期に脳から後胸神経節までの各神経節を個々に摘出すると、食道下神経節摘出区をのぞいて大多数の手術蛹が正常蛹色となり、特に脳摘出蛹では正常蛹色のみが発現

した。この結果からこれらの各神経節が黒蛹の発現にいかに関与しているかが明らかであろう。なお食道下神経節摘出区では正常蛹色蛹と黒蛹色蛹とがほぼ同数に発現したが、これについては本節の終りにまとめて考察する。

次に吐糸終了期の前後に神経節を摘出した結果を表 5—2 に示した。

Table 5-2. The color of pupae from which various ganglia were removed before or after the end of spinning of BT strain

Ganglion removed	No. of treated individuals	No. of dead individuals	No. of individuals showing pupal color type					Total
			I	II	III	IV	V	
Brain	20	4	6	4	2	3	1	16
Suboesophageal ganglion	20	1		3	5	8	3	19
Prothoracic ganglion	18	3	6	2	2	3	2	15
Mesothoracic ganglion	23	3	9	5	1	4	1	20
Metathoracic ganglion	25	5	10	5	3	2		20
First abdominal ganglion	21	4	1	2	4	8	2	17
Control	15	0				4	11	15

すなわち脳、前胸神経節、中胸神経節および後胸神経節を摘出した場合には、前にのべた吐糸開始時期に摘出したときと同じように大多数の蛹は正常蛹色となり、また腹部第 1 神経節を摘出した区は大部分の蛹が黒蛹色となり、さらに麻酔のみをおこなった対照区では、すべての蛹が黒蛹色となった。食道下神経節を摘出した区では正常蛹色個体も発現したが、他方黒蛹色個体も多く発現した。以上の吐糸終了期前後の摘出実験の結果から特に注目すべき点は脳、前胸、中胸および後胸神経節を摘出した場合には、吐糸開始時期に神経節を摘出したときと同じように、大多数の個体が正常蛹色となるとはいえず、後胸神経節摘出区以外では少数ながらも蛹色濃度が IV と V に属する黒蛹色個体が発現したことである。特に脳摘出区においては吐糸開始時期に摘出した場合には I と II に属する正常蛹色個体しか発現しなかったにもかかわらず、吐糸終了期前後に摘出した場合には 10 頭の正常色蛹に対して 2 頭の間中型蛹色を含む 6 頭の黒蛹色蛹が発現していることに注目せねばならない。

次に黒蛹色決定ホルモンの分泌臨界期である化蛹前 7—10 時間頃に脳、食道下神経節、前胸神経

Table 5-3. The color of pupae from which various ganglia were removed before or after the critical period of BT strain

Ganglion removed	No. of treated individuals	No. of dead individuals	No. of individuals showing pupal color type					Total
			I	II	III	IV	V	
Brain	15	1	1	4	5	3	1	14
Suboesophageal ganglion	17	2		1	4	7	3	15
Prothoracic ganglion	12	2		1	2	6	1	10
Mesothoracic ganglion	16	3	1	2	3	4	3	13
Metathoracic ganglion	17	2	4	3	3	5		15
First abdominal ganglion	17	1		1	3	10	2	16
Control	15	0				10	5	15

節および中胸神経節を摘出した区では、表 5—3 に示すように吐糸開始時期および吐糸終了期頃摘出の場合とは逆に、正常蛹色の発現個体は少なく大部分が黒蛹となった。

これに対し後胸神経節を摘出した個体では蛹色濃度がVの黒蛹は発現しなかったが、正常蛹色蛹と黒蛹がほぼ同数発現した。一方麻酔のみの対照区は例外なくすべて黒蛹となった。この時期における神経節の摘出実験において、後胸神経節摘出区をのぞき他の神経節摘出では大多数の個体が黒蛹色を示したが、このように後胸神経節摘出によってのみ正常蛹色個体が出現するという結果ならびに前述の神経連鎖切断実験の結果などから、黒蛹色決定ホルモンの真の分泌源は後胸神経節であろうと考えられる。その他の前胸、中胸神経節は一段階前すなわち吐糸終了期頃から、後胸神経節が分泌を終了する時期つまり化蛹前 7—10 時間頃までの間にその分泌的機能を終了させているものと思われる。そしてこれらの神経節の内分泌的機能は黒蛹色決定ホルモンの分泌にあるのではなく、脳からの刺激を後胸神経節へ伝える役目を演じているものと思われ、脳は吐糸開始時期に前胸神経節へ刺激を伝えたあとはその役目は吐糸終了期頃には終え、前胸神経節は中胸神経節へ、中胸神経節は後胸神経節へとホルモン分泌についての脳の刺激作用を伝達するのであろう。

以上の結果から脳は黒蛹色の発現に関与する重要な器官であることは明らかであるが、すでに述べたように脳が黒蛹色決定ホルモンの真の分泌源であるか否かという点については問題がある。恐らく脳の分泌するホルモンは蛹色決定に直接参画するものではなく、食道連合 *oesophageal connectives* および神経連鎖を通して後胸神経節からの黒蛹色決定ホルモンの分泌を促す働きをもつものと思われる。すなわち上蔕期以後の保護温度の高低が脳の分泌機能に影響をおよぼし、食道連合および神経連鎖を通じて後胸神経節からのホルモン分泌に促進的あるいは抑止的に働き、その結果黒蛹色決定ホルモンが分泌されたり、あるいはされなかったりすることによって蛹色が決定されるのであろう。若し感温期間を低温に保護した場合には、蚕の脳は食道連合を通して後胸神経節からのホルモン分泌を促してその結果黒蛹が発現し、これに反して感温期間が高温の場合には、脳は食道連合を通じてホルモンの分泌を抑止するため正常蛹色が発現するものと思われる。このような黒蛹色発現における脳の役割については、第 3 節 (2) においてのべた如く、結紮実験において頭部の後方での結紮および頭部の後方と腹部第 2 環節との 2 カ所で結紮した場合に得られた結果からも十分うらがきできる。

脳の機能と他の神経節の機能との関連については、FUKUDA<sup>20)–26)</sup>によっても家蚕の化性の決定におけるホルモンの機構の解明においてあきらかにされている。すなわち家蚕卵の越年、不越年性の決定は蛹の時期に脳—食道下神経節連合体が中心となって行われるもので食道下神経節は越年卵の生成に必要な休眠要因の分泌源であり、その分泌が十分行われるか(越年卵)あるいは全く行われない(不越年卵)かは蛹の脳が支配するものであることをあきらかにした。

黒蛹の蛹色の発現過程における脳のこのような促進あるいは抑止作用が神経的なものであるか、それとも神経内分泌によるものであるかは今のところ明らかではないが、表 5—4 に示したように

Table 5-4. The color of pupae from which the brains were extirpated in the mounting stage and then implanted

No. of treated individuals	No. of dead individuals	No. of individuals showing pupal color type					Total
		I	II	III	IV	V	
15	1	12	2				14

上蔟期後において脳を摘出した蚕に再び元の脳を移植しても蛹色の変化を阻止し得ないという結果は、脳の黒蛹色決定への関与が移植によって効果のあらわれるという種類の作用、つまり脳の機能がホルモン分泌の如き作用によるものでないといえるであろう。

さらに表 5—1 に示した吐糸開始時期（上蔟期）における脳摘出実験において例外なく正常蛹色が発現し、それ以後における摘出（表 5—2 および表 5—3）では黒蛹色個体があらわれるという結果は、上蔟期前後における蛹色発現に関する脳の働きの重要性を示すものであり、脳の他の神経節に対する促進あるいは抑止はこの時期に行われるものと推定される。

次に食道下神経節の機能について述べる。すでに表 5—1、表 5—2 および表 5—3 に示したように各時期に食道下神経節を摘出した場合に他の神経節を摘出した区に比べて黒蛹色個体の発現が多い傾向がみられた。特に上蔟期（吐糸開始時期）に摘出した場合において顕著で、正常蛹色と黒蛹色個体とがほぼ同数発現した。後胸神経節からの黒蛹色決定ホルモンの分泌に対する脳の刺激（促進あるいは抑止）の伝達機能に関しては食道下神経節も他の神経節の機能と同じであることが推定され、これは前述の神経連鎖切断の実験からもうらがきされる。しかし本節における摘出実験は切断実験とある意味において同様であるけれども、神経節自身が内分泌機能を有するような場合には摘出と切断とでは非常に意味が異なってくる。特に食道下神経節のように蚕の化性に重要な働きを有する神経節の摘出は、単に摘出により脳と胸部神経節との神経連鎖切断を意味するのみでなく、蚕の生理状態にも急激な変化を及ぼし間接的に蛹色決定機構にも何らかの影響を与えることが考えられる。このような意味において上述の食道下神経節摘出実験結果と他の神経節摘出の結果とが異なるのではないかと推定されるがその詳細については不明である。

#### § 6 黒蛹の発現に関与する黒蛹色決定ホルモンとアラタ体および前胸腺ホルモンとの関係

蚕の幼虫脱皮の回数は、眠の回数をもってかぞえられ一般に眠性とよばれているが普通の品種では 4 回（4 眠蚕）、品種によっては 3 回（3 眠蚕）や 5 回（5 眠蚕）のものもあり、何れも遺伝的形質である。従って眠性は遺伝子によって定められるといえる。しかし幼虫脱皮はホルモ的な支配をうけており Fukuda<sup>18)19)</sup>によりアラタ体と前胸腺から分泌される 2 種のホルモンの協同作用によって誘発されるものであることが明らかにされている。

一般にアラタ体ホルモンの作用は令の初期においては強いが、その作用力は次第に減退し中期以後になると殆んどその作用はなくなってしまう。これに反し前胸腺ホルモンの作用は令の初期に弱く後期に強いことが認められている。さらに蚕の幼虫期全般について考えれば、稚蚕期はアラタ体ホルモンの主導権を有する成長の時期であり、壮蚕期は逆に前胸腺ホルモンの作用が優位を示す発育の時期であると考えられている。従って終令期の末期において行われる化蛹という現象は、前胸腺ホルモン単独の作用によって誘導される脱皮であるといえる。

本研究の対象である黒蛹形質は、すでに述べたように化蛹に伴って発現する形質であり、黒蛹色素発現に関与する黒蛹色決定ホルモンの作用も化蛹という変態の過程を通してはじめて発揮されるものである。従って黒蛹の発現過程において、上述のアラタ体ホルモンや前胸腺ホルモンなどのホルモンが直接的かあるいは間接的に関係していることは想像に難くない。

本実験では BT 系統を用い、4 令期での頭胸間結紮によって得られた早熟蚕と 4 令期の高温多湿度衝撃によって生じた 3 眠蚕の蛹色発現について、黒蛹色決定ホルモンとアラタ体ホルモンおよび前胸腺ホルモンとの関連性について研究を行ったのでその大要について述べる。

##### （1）頭胸間結紮によって得られた早熟蚕の蛹色発現

BT 系統の 4 令期において早熟蚕を得る目的で 4 令餉食後 45 時間目と 60 時間目の幼虫を用いて頭部と前胸部との間、すなわち頭胸間で結紮をおこなった。頭胸間結紮による早熟蚕の発生は

FUKUDA<sup>18)19)</sup>によっても家蚕の変態を支配する中枢器官を検索する目的でおこなわれたが、4令期での結紮において餉食後30時間までの蚕はすべて斃死したが、35—80時間に頭胸間で結紮された蚕の多くは、4眠に入ることなく早熟蛹化して小さい無頭の蛹になった。60時間以後に結紮された蚕の中には蛹化するものと眠について脱皮するものがあり、85時間以上食桑した蚕はすべて脱皮し無頭の第5令蚕となった。本実験においても表6—1および6—2に示したように、FUKUDAの結果と同様に4令餉食後45時間目頃に結紮した場合には、4眠に入ることなくそのまま熟蚕となる個体が生じたが、60時間目頃に結紮をおこなった区では眠について脱皮する個体も若干生じた。

4眠に入らずに3眠蚕のまま熟蚕となったBTの早熟蚕を、20°Cと30°Cとにそれぞれ保護して化蛹後の蛹色を観察した。

Table 6-1. pupal color of trimolters produced by ligaturing in 45 hours after first feeding of the fourth instar of BT strain

Temperature after the mounting stage	No. of treated individuals	No. of matured trimolters	No. of pupated individuals	No. of tetramolters	No. of individuals showing pupal color type				
					I	II	III	IV	V
20°C	30	13	9	0	9				
30°C	30	17	11	0	11				

Table 6-2. Pupal color of trimolters produced by ligaturing in 60 hours after first feeding of the fourth instar of BT strain

Temperature after the mounting stage	No. of treated individuals	No. of matured trimolters	No. of pupated individuals	No. of tetramolters	No. of individuals showing pupal color type				
					I	II	III	IV	V
20°C	30	17	13	5	13				
30°C	30	20	16	8	16				

その結果表6—1および表6—2に示したように早熟蚕を上蔭後20°Cに保護した場合でも黒蛹個体は発現せずに全個体が正常蛹色となり、又30°Cに保護した場合にもすべての個体が正常蛹色を呈した。上蔭期以後を20°Cのような低温にして黒蛹が発現するような条件下に保護したにも拘わらず、黒蛹の発現が完全に抑止されて、すべて正常蛹色個体のみ発現したのはいかなる原因によるものであろうか。4令期での頭胸間の結紮すなわち頭部除去によって早熟蛹化がおこるのは、FUKUDA<sup>19)</sup>が証明したように頭部と共にアラタ体がとりさられたため、アラタ体のホルモンと共に幼虫脱皮を誘導すべきはずの前胸腺のホルモンが、アラタ体欠失のために単独に働いた結果であると考えられる。頭胸間結紮によって生じた早熟蚕を低温に保護しても黒蛹が発現しない説明として次のようなことが考えられる。すなわち

i) 黒蛹色決定ホルモンの分泌に関与する脳が頭胸間結紮による頭部の除去によって欠失した結果、早熟処理をおこなわないで正常に4眠したBTの蚕について吐糸終了後に頭胸間結紮を行って正常蛹色が発現した場合と同様に、脳による後胸神経節への黒蛹色決定ホルモン分泌の刺激がおこなわれず、その結果正常蛹色が発現した。

ii) 黒蛹の蛹色発現は変態という一つの過程を通しておこなわれるものであるが、黒蛹の発現に関与する黒蛹色決定ホルモンが分泌され、それがホルモンの機能を発揮するには、変態に関与する前胸腺ホルモンの濃度がある一定の閾値に達することが必要であるという考え方で、早熟処理に

よりアラタ体ホルモンと前胸腺ホルモンの正常なホルモンバラガスが急激にくずれた結果、黒蛹色決定ホルモンの分泌の体制あるいは黒蛹色素形成における皮膚組織の準備体制などが十分整わないうちに変態が進行し、黒蛹色決定ホルモンが十分機能を果たすことができなかった。

以上の説明のうちいずれが正しいかは、はっきりした裏付けがないので断言はできない。変態ホルモンがある種の昆虫の体色変化を支配していることは BÜCKMANN<sup>8)9)10)57)</sup> によって明らかにされている。シャチホコガの一種 *Cerura vinula* では終令幼虫は蛹化前約 12 日になると緑色から赤褐色に体色を変化する。この体色変化は種々の結紮実験から前胸腺のホルモンによって支配されていることがわかり、さらに前胸腺ホルモンの抽出物である  $\alpha$ -ecdysone の注射によっても裏付けられた。また若令幼虫で頭胸間の結紮によりアラタ体を除去すると、幼虫の早熟化と同時に体色の褐色化が起ることも確かめられた。このようにこの昆虫では体色変化は変態ホルモンによって支配されているが、体色変化は変態よりも少量のホルモンによって起るといえる。

以上のような頭胸間結紮の実験結果からしても結果的には、前胸腺ホルモンとアラタ体ホルモンのホルモンバランスの不均衡にもとずき生じた早熟蚕が、20°C 保護の黒蛹の発現しやすい環境下においても正常蛹色となったことは、黒蛹の発現が直接的には黒蛹色決定ホルモンによって支配されているとはいえ、アラタ体ホルモンも前胸腺ホルモンとともに黒蛹色の発現に間接的に作用を及ぼしているといえるであろう。

## (2) 高温多湿度衝撃によって得られた 3 眠蚕の蛹色発現

人為的に 3 眠蚕を生ぜしめる他の方法としては、幼虫期での高温多湿度衝撃による眠性的変化があげられる。諸星<sup>66)67)68)</sup> は家蚕の幼虫を高温多湿度すなわち 38°C、90% に 24 時間接触させて眠性的変化を観察した結果、2 令中の接触では眠性には変化はみとめられなかったが、3 令中では 3 眠蚕および 3 令不眠蚕を少数生じ、4 令起蚕の処理では 3 眠蚕を 28% 生じた。

本実験においても BT の 4 令期において早熟蚕を得る目的で 4 令餉食後 20 時間目に温度 38°C、湿度 90% に調節した定温器中で 40 時間高温多湿度衝撃を与えた。その結果は表 6—3 に示したように、眠性的変化がおこり 3 眠蚕が 65% の割合で発現し、眠性が変化せずにそのまま 4 眠蚕となった個体は 8% であった。

Table 6-3. Change of the number of molting by high temperature-moisture shock in the fourth instar of BT strain

No. of treated individuals	No. of matured individuals	Per cent of matured trimolters	No. of tetramolters	Per cent of tetramolters	No. of dead individuals	pupal color of tetramolters				
						I	II	III	IV	V
50	28	56	4	8	18					4

このように高温多湿度衝撃によって 3 眠蚕となった早熟蚕を 20°C と 30°C とにそれぞれ上蔭させて化蛹後の蛹色を観察した。

その結果は表 6—4 のように早熟蚕を上蔭後 20°C に保護しても、30°C に保護した場合でも黒蛹は発現せず全個体が正常蛹色となり、4 令期での頭胸間結紮により生じた早熟蚕の蛹色発現と同様の結果が得られた。これに反して早熟蚕とならずに 4 眠した個体について上蔭後を 20°C に保護した区では全個体黒蛹色が発現した。

このように高温多湿度衝撃によって生じた 3 眠蚕は、上蔭後を黒蛹が発現しやすい 20°C のような低温に保護しても黒蛹は発現せずに全個体が正常蛹色となるのに対し、眠性が変化せずにそのま

Table 6-4. pupal color of trimolters produced with high temperature-moisture shock in the fourth instar of BT strain

Temperature after the moulting stage	No. of treated individuals	No. of pupated individuals	No. of individuals showing pupal color type					Total
			I	II	III	IV	V	
20°C	14	10	9	1				10
30°C	14	7	7					7

ま 4 眠した個体では黒蛹が発現したことから、幼虫形質の維持、造成をはかるため前胸腺ホルモンと拮抗作用を保つアラタ体ホルモンの機能は BT の黒蛹の発現においては極めて重要な役割を果たし、黒蛹色決定ホルモンの分泌体制が十分整うための前提条件としてアラタ体と前胸腺の両ホルモンが正常に均衡状態を保つことが必要なことのように思われる。

先に述べた 4 令期での頭胸間結紮によって生じた 3 眠蚕は、結紮により頭部に含まれる脳とアラタ体は欠失されたが、高温多湿度衝撃によって生じた 3 眠蚕は、脳、アラタ体はそのまま存在しており、この場合には恐らく温湿度の影響によってアラタ体の機能が変化されたために、アラタ体と前胸腺の両ホルモンのホルモンバランスがこわれ、前胸腺ホルモン単独の働きによって早熟蛹化が急激に生じたものと推定される。このために変態に伴っておこる黒蛹色決定ホルモンの分泌体制が整わないうちに蛹化してしまったために正常蛹色が発現したのであろう。

さらに別の見方としては、脳の機能が 38°C という高温衝撃の影響によって丁度上蔭期以後を高温に保護した場合と同様の結果となり、後胸神経節からの黒蛹色決定ホルモン分泌の刺激がおこなわれないうちに正常蛹色となったと考えることもできる。しかし高温多湿度処理によっても 3 眠化しなかった個体は全部黒蛹色を呈したという結果は、高温多湿度処理が単に脳に上蔭期以後高温保護と同様の効果を与えたと理解することは困難であらう。すなわち眠性が 4 眠から 3 眠へ変化した場合に生ずる内分泌的機構の変化は、黒蛹色を呈すべきものが正常蛹色を示したという現象に対して直接的な関連を有すると思われ。換言すればアラタ体ホルモンおよび前胸腺ホルモンは黒蛹色発現に対して密接なる関連を有し、特にアラタ体ホルモンの機能低下は黒蛹色を呈すべきものに正常蛹色化する傾向を与えると推定される。

以上述べたように黒蛹が発現するためには、黒蛹色決定ホルモンの他に、アラタ体ホルモンおよび前胸腺ホルモンが直接あるいは間接的に黒蛹の発現に対して影響を与えているものと考えられる。

## § 7 他の黒蛹系統における蛹色の発現機構

一般に黒蛹と称せられているものには、第 2 節において述べたように第 XI 染色体上に座位する *bp* 遺伝子によって発現する黒蛹と、佐々木<sup>80)</sup>によって明らかにされた第 XI 連鎖群とは独立遺伝子をする *so* 遺伝子によって発現する煤蚕黒蛹とがある。前者の *bp* 遺伝子によって発現する黒蛹系統としては、BT のほか支 4 号などがあげられる。一方後者の煤蚕黒蛹というのは田中<sup>86)</sup>により発見された自然突然変異で、幼虫の皮膚は全面煤けたような汚灰色を呈して蛹は黒蛹となり、さらに蛾の体色も淡灰白色を帯びているもので正常系統に対して単純劣性として遺伝するのが特徴である。

*bp* 遺伝子をもつ BT 系統における黒蛹の発現は、黒蛹色決定ホルモンによって支配されていることはすでに述べたが、同じ *bp* 遺伝子によって黒蛹となる支 4 号などにおいても BT と同じような



ホルモンの機構が存在するかどうかを確かめるため、更に他の黒蛹系統である *so* 黒蛹についても蛹色の発現がホルモンの機構によって支配されているかどうかを明らかにするために、*bp* 遺伝子をもつ支 4 号と *so* 遺伝子を有する *osso* および P 51 などの 2 系統を用いて結紮、神経節の摘出実験をこころみた。

#### (1) 支 4 号の黒蛹発現におけるホルモンの機構の有無

*bp* 遺伝子をもつ支 4 号の黒蛹の発現は、第 1 節において述べたように、BT 系統と同じく上蔟期以後の保護温度の高低によって影響を受け、18°C のような低温では黒蛹個体が多く生じ、28°C 以上の高温では黒蛹の発現が抑えられて全個体が正常蛹色となった。また 25°C の中間温度に保護すると、正常蛹色から黒蛹色まで種々の濃度の階級の個体が発現した。しかしながら支 4 号の黒蛹色は、低温に保護しても中間温度に保護した場合でも BT の黒蛹色に比較して全般的に黒色濃度が淡い傾向がみられた。このように支 4 号における黒蛹の発現は、BT の蛹色に比して上蔟期以後の保護温度の作用に対して鋭敏には感応しない。かかる支 4 号のような型の蛹色と BT の蛹色発現との相違がいかなる原因によるものであろうかということは、両型の黒蛹がいずれも *bp* 遺伝子によって発現したものであるという事実から考えまことに興味深い。

そこで支 4 号の黒蛹発現過程においてもホルモンの機構が介入するかどうかを確かめるために、先ず結紮処理をおこない、次に神経節の摘出実験をおこなった。供試蚕として支 4 号を用い、黒蛹が発現するように上蔟期以後を 20°C で保護し、手術をおこなった蚕も処理後なるべく早く 20°C に保護した。

最初に吐糸終了後の支 4 号の前蛹を用いて腹部第 2 環節の後方で結紮をおこない化蛹後の蛹色を観察した。その結果は表 7—1 に示したように結紮による蛹色の変化は認められなかった。

Table 7-1. The color of pupae which had been ligatured after the end of spinning of C 4 strain

No. of ligatured individuals	No. of dead individuals	Pupal color of the anterior part					Pupal color of the posterior part					Total
		I	II	III	IV	V	I	II	III	IV	V	
20	2			16	2		16		2		18	

先にのべた如く支 4 号の黒蛹発現は 18°C のような低温に保護した場合でも BT においてみられたような黒蛹色濃度の高い個体は発現せず、その蛹色濃度の大半は III の階級に属するものが多い。故に若し蛹色の発現がホルモンの機構によって支配されている場合に生じる結紮後半部における蛹色の変化は、支 4 号の場合には蛹色は大半が頭胸部および蛹翅のみ黒蛹色で腹部はほぼ正常蛹色に近い蛹色濃度を示すので判別することは困難であるが、蛹色濃度が IV を示す 2 個体については結紮前半部も後半部もともに黒蛹色を示し、結紮による蛹色の変化は起らなかったとみてよいであろう。しかし支 4 号の場合には吐糸終了期頃には黒蛹色決定ホルモンの分泌の臨界期がすでに過ぎていたと考えることもできるわけで、このために結紮後半部にもすでにホルモンがゆきわたっていて黒蛹色が発現したものと考えられる。この点を確かめるために結紮の時期をさらにはやめて吐糸終了前におこなった。薄い繭に幼虫が包まれた頃から繭外より繭内の幼虫を透視できなくなった時期、すなわちまだ吐糸中の蚕について腹部第 2 環節の後方で結紮を行った結果は表 7—2 のとおりで、吐糸終了後における結紮実験結果と同様の結果が得られた。

以上の結果から支 4 号にみられる黒蛹の発現は BT のようにホルモンの機構によって発現するも

Table 7-2. The color of pupae which had been ligatured before the end of spinning of C 4 strain

No. of ligatured individuals	No. of dead individuals	Pupal color of the anterior part					Pupal color of the posterior part					Total
		I	II	III	IV	V	I	II	III	IV	V	
20	1			16	3		16		3		19	

のではなく他の異なる機構によるものらしいが、結紮実験の結果をさらに裏付けるために神経節の摘出実験をおこなってみた。手術の時期は吐糸終了期前と吐糸終了期後の2回おこない、手術の前後は20°Cに保護して黒蛹が発現しやすい条件においた。

上蔟後まもなく、すなわちまだ吐糸を終了しない時期と吐糸終了期後において脳から腹部第1神経節にいたる神経節をそれぞれ個々に摘出した結果は表7-3および7-4に示したとおりで、神経節の摘出による蛹色の変化は認められず、対照区の傷付け区と同じ蛹色となった。

BT系統における黒蛹の発現は、黒蛹色決定ホルモンによって黒蛹色が決定されることはすでにのべたとおりであるが、支4号の黒蛹の発現においても若しも黒蛹色の発現がホルモンの機構によるものであれば、当然上記の黒蛹色発現に関与する内分泌器官を摘出すれば、BTの実験において

Table 7-3. The color of pupae from which various ganglia were removed before the end of spinning of C 4 strain

Ganglion removed	No. of treated individuals	No. of dead individuals	No. of individuals showing pupal color type					Total
			I	II	III	IV	V	
Brain	15	2		2	9	2	13	
Suboesophageal ganglion	15	0		1	10	4	15	
Prothoracic ganglion	15	1		1	11	2	14	
Mesothoracic ganglion	15	2			10	3	13	
Metathoracic ganglion	15	3		1	10	1	12	
First abdominal ganglion	15	2			10	3	13	
Control	15	0		2	11	2	15	

Table 7-4. The color of pupae from which various ganglia were removed after the end of spinning of C 4 strain

Ganglion removed	No. of treated individuals	No. of dead individuals	No. of individuals showing pupal color type					Total
			I	II	III	IV	V	
Brain	15	3		1	10	1	12	
Suboesophageal ganglion	15	1			11	3	14	
Prothoracic ganglion	15	0		1	13	1	15	
Mesothoracic ganglion	15	2			11	2	13	
Metathoracic ganglion	15	3		1	10	1	12	
First abdominal ganglion	15	2		2	9	2	13	
Control	15	0		1	11	3	15	

みられたように黒蛹の発現が抑えられて正常蛹色が発現するはずである。神経節の摘出が蛹色の発現に何等の影響も与えなかったことは、結紮実験の結果と考え併せて、支4号における黒蛹の発現にはホルモンの機構は存在せず、他の機構によって黒蛹色が決定されるのであろう。

ここで支4号やBT系統などと同じように *bp* 遺伝子によって黒蛹が発現するクワコ *Theophila mandarina* Moore の蛹色発現について述べる。野外に棲息するクワコの蛹色は黒蛹色を呈しているが、針塚<sup>33)34)</sup>はこのクワコの黒蛹と家蚕の *bp* 黒蛹との遺伝的関係をしらべた結果、クワコの黒蛹遺伝子は家蚕の *bp* と等しいことを明らかにした。

そこでクワコの黒蛹色発現過程にもホルモンの機構が存在するかどうかを確かめるために、桑園内で採集したクワコの幼虫をシャーレで飼育し、上蔭期(吐糸開始期)以後を20°Cで保護して吐糸終了期後に腹部第2環節の後方で結紮をおこなった。その結果はいずれの個体においても結紮前半部、後半部ともに黒蛹色が発現し、支4号における場合と同様に黒蛹の発現に関与するホルモンの機構の存在はみとめられなかった。

クワコが家蚕の祖先型であることは今日定説となっている<sup>58)79)</sup>が一般に中国種系統に黒蛹の発現が多いことから、針塚は家蚕の *bp* 黒蛹は中国においてクワコとの交雑により家蚕(中国種)に導入されたものと推定した。針塚が実験に用いたGNh-D黒蛹も鈴木が支101号より得た黒蛹もともに中国種系統の黒蛹であり、しかもその蛹色や蛹色発現の状態が支4号とよく似ているところから、クワコを含めたこれら各黒蛹系統は蛹色発現に関して同一の機構によって黒蛹となるものと思われる。

以上の結果から支4号あるいはクワコにおける黒蛹の発現は、組織(恐らく皮膚の真皮細胞と考えられる)自身の温度に対する直接の反応によって決定されるのではなからうかと想像される。すなわち真皮細胞内で行なわれる黒蛹色素の生成あるいは形成された色素の沈着などの現象が、上蔭期以後の保護温度の影響を直接うけるのであろう。

しかしBT系統における黒蛹の発現は、色素形成に関与する代謝過程に関しては *bp* 遺伝子によって支配されているのであるから支4号の場合と同じであろう。ただ上蔭期以後の保護温度の感受の様式が異なり、支4号の場合には組織が直接的に温度の影響を感受するものと考えられるのに対し、BTの場合には温度の影響を先ず脳が感受してホルモンの分泌をうながし、さらにホルモンが組織に影響を与えるといった間接的に温度の影響を感受する点が異なるものと推定される。後者の場合には温度と組織の間に神経系を介しているがため、それだけ微細な温度の変化を拡大して組織へ伝えることができるのであろうと思われる。すでに述べたが、支4号はBTに比して上蔭後の保護温度の作用に対して敏感でないのは恐らく上記のような理由によるものであろう。

## (2) 煤蚕黒蛹(*so*)における蛹色の発現機構

### A) 吐糸終了期以後の保護温度と蛹色との関係

佐々木<sup>80)</sup>は煤蚕黒蛹の1系統である *osso* 系統の黒蛹の発現は、蚕の吐糸終了直後から化蛹までの間の保護温度の高低によって影響を受け、この期間の保護温度が低温の場合には黒蛹が発現するが高温となるにしたがって蛹色は淡色化することを明らかにした。しかしながら感温期間中の保護温度と蛹色発現との関係について、種々の異なる保護温度に遭遇させた場合の蛹色の発現については細かい観察がおこなわれていないので、この点を確かめるために *osso* および P 51 の両系統を用いて吐糸終了期以後を20°C、25°Cおよび30°Cの3段階に保護した場合の蛹色の変化について調査をおこなった。蛹色濃度の分類は第1節においてのべた方法に準じておこなった。

その結果は表7—5に示したように、*osso* の場合には吐糸終了期以後を20°Cに保護すると蛹の大多数では黒蛹が発現し、しかもこの蛹色は漆黒色を呈するものが多かった。これに対し30°Cに

Table 7-5. Relation between the environmental temperature during the prepupal stage and the manifestation of the sooty

Strain	Temperature after the end of spinning (°C)	No. of individuals showing pupal color type					Total
		I	II	III	IV	V	
<i>osso</i>	20		5	4	18	23	50
	25	8	11	9	12	22	62
	30	28	12	13	5	2	60
P 51	20	6	13	11	24	31	85
	25	7	11	18	22	26	84
	30	22	18	7	12	10	69

保護した区では、蛹色濃度が I と II に属する正常蛹色個体が全体の 66.7% 発現したが、しかしこのように 30°C の高温に保護しても黒蛹の発現を完全に抑止することはできず 33.3% の黒蛹が生じた。25°C のような中間温度に保護すると、正常蛹色から黒蛹色にいたる種々の濃度の蛹色が発現したが、この場合には正常蛹色個体よりはむしろ黒蛹個体の方が多く発現した。

一方 P 51 を吐糸終了期以後 20°C に保護すると大多数の個体では黒蛹が発現したが、正常蛹色も 22.4% の割合で発現した。そしてこの正常蛹色個体の発現率は P 51 の方が *osso* よりも高い傾

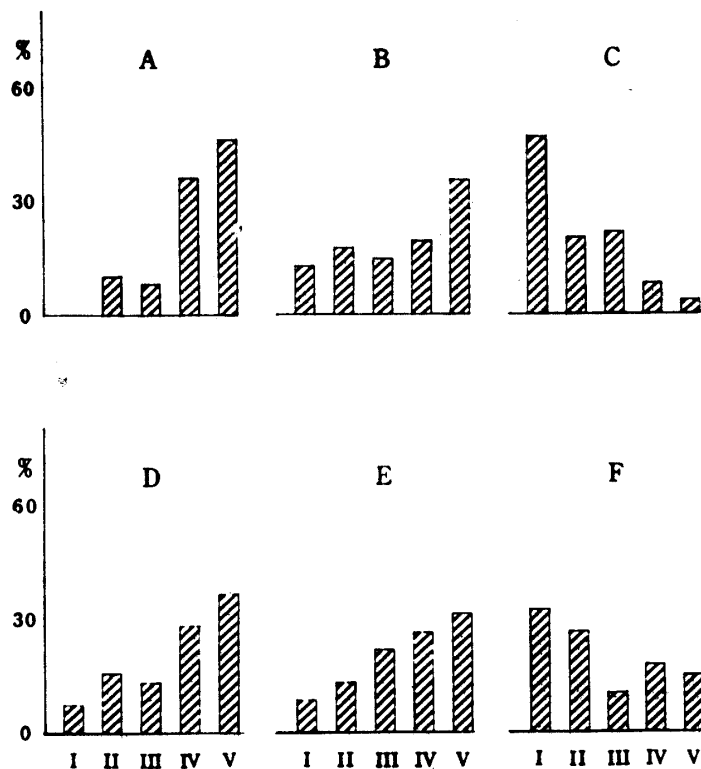


Fig. 7-1. Relation between the environmental temperature during the prepupal stage and the manifestation of the sooty.

A, *osso* kept at 20°C; B, *osso* kept at 25°C;  
 C, *osso* kept at 30°C; D, p51 kept at 20°C;  
 E, p 51 kept at 25°C; F, p51 kept at 30°C.

向がみとめられた。黒蛹となった個体の蛹色は *osso* の場合と同様に漆黒色を呈するものが多かった。これに対して  $30^{\circ}\text{C}$  に保護した場合の蛹色は正常蛹色個体が多く発現したが黒蛹個体も半数近く発現し、*osso* における場合と同様に  $30^{\circ}\text{C}$  のような高温保護によっても黒蛹の発現を完全には抑止できなかった。  $25^{\circ}\text{C}$  の中間温度で保護した場合には、正常蛹色から黒蛹色まで種々の濃度の蛹色が得られたが、前に述べた *osso* と同じように正常蛹色個体よりもむしろ黒蛹色個体の方が多く得られた。

以上述べたように *osso* および P 51 のような煤蚕黒蛹においても、*bp* 遺伝子をもつ黒蛹と同様に吐糸終了期以後に黒蛹発現の感温期が存在し、この期間を低温に保護すると黒蛹が発現し、保護温度が高温となるに従って蛹色は淡色化することが明らかになり佐々木の結果と一致した。

しかしながら *so* 黒蛹における黒蛹の発現は、*bp* 黒蛹の BT におけるような保護温度の相違による明瞭なる蛹色の分離はみられなかった。すなわち  $20^{\circ}\text{C}$  のような黒蛹の発現しやすい条件下に保護しても全個体が黒蛹とならずに相当数の正常蛹色個体が発現したし、又  $30^{\circ}\text{C}$  の高温に保護した場合には、*bp* 黒蛹である BT や支 4 号などでは全個体が黒蛹の発現が完全に抑止せられて正常蛹色となったのにくらべ、*osso* および P 51 の場合には黒蛹の発現は完全には抑止されず、共に 33—42% の黒蛹が発現した。

以上の結果から *so* 黒蛹の発現は吐糸終了期以後の保護温度の高低によって支配されているとはいえ、温度の作用に対する組織の感応性は *bp* 黒蛹よりも弱い傾向がみとめられ、このために上蔟期以後を低温および高温に保護しても、黒蛹かあるいは正常蛹色蛹の一方のみの蛹色が発現せずに種々の濃度の蛹色を示す個体が発現したのであろう。

吐糸終了期以後を各種温度に保護した場合の煤蚕黒蛹の蛹色濃度の分類は、*bp* 遺伝子をもつ BT 系統などにくらべてその蛹色の判別が困難であったが、この原因は *bp* 黒蛹のもつ蛹色と *so* 黒蛹の蛹色とが外見上明らかに異なるからであると考えられる。すなわち感温期間を低温で保護して発現した黒蛹の蛹色は、*bp* 黒蛹においては黒色のほかにわずかながら正常色蛹のもつ琥珀色をも帯びるのに対し、*so* 黒蛹の蛹色は体全体が光沢をもった漆黒色で琥珀色は全然認められない。また両者を高温で保護すると *bp* 黒蛹においては正常色蛹の固有の蛹色である琥珀色となるのに対し、*so* 黒蛹では琥珀色は全然呈さずに黄味を帯びた淡黄茶色（黄褐色）となることである。

以上のべたように *bp* 黒蛹と *so* 黒蛹における蛹色発現は、本質的には全く異なった代謝系によるものと考えられるが、皮膚における黒色素形成あるいは形成された色素の沈着に関しては、外界条件特に温度に対して同じような反応を示すものと思われる。

#### B) 吐糸終了期後における結紮と蛹色発現との関係

黒蛹が発現するように上蔟期以後を  $20^{\circ}\text{C}$  に保護した *osso* および P 51 の前蛹を吐糸終了期後に腹部第 2 環節の後方で結紮し、その後直ちに  $20^{\circ}\text{C}$  に保護して化蛹後の蛹色を観察した。

その結果は表 7—6 に示したように *osso* および P 51 のいずれにおいても、BT にみられたような結紮による蛹色の変化は認められず、結紮前半部も後半部もともに黒蛹色が発現した。

Table 7-6. The color of pupae which had been ligatured after the end of spinning

Strain	No. of ligatured individuals	No. of dead individuals	Pupal color of the anterior part			Pupal color of the posterior part			Total
			III	IV	V	III	IV	V	
<i>osso</i>	20	1			19			19	19
P 51	20	2		6	12		6	12	18

これらの結果から一般に黒蛹と称せられているもののうち *so* 遺伝子によって黒蛹が発現する *osso* および P51 系統における黒蛹の発現は, *bp* 遺伝子をもつ BT とは異なり, 蛹色の発現過程において, 黒蛹色の発現を支配するホルモンの機構は存在しないものと思われる。

### C) 吐糸終了期以前における神経節の摘出と蛹色発現との関係

吐糸終了期後における結紮実験の結果から *so* 黒蛹の発現過程においては, 黒蛹の発現を支配するホルモンの機構の存在は認められなかった。しかし一方では吐糸終了期頃には黒蛹色決定ホルモンの分泌の臨界期がすでに過ぎていたと考えることもできるので, 吐糸開始前の幼虫から吐糸終了期までの間を種々の時期にわけて神経節の摘出をおこない, 化蛹後の蛹色をしらべてホルモンの支配の有無を確かめた。

供試蚕は *osso* を用い, 各時期に脳, 前胸神経節, 後胸神経節および腹部第 1 神経節をそれぞれ個々に摘出した。そして黒蛹が発現するように材料蚕は手術の前後を 20°C に保護した。神経節摘出の時期は次の 4 つの時期である。

- a) 吐糸開始前約 20 時間頃
- b) 吐糸開始時期
- c) 繭外より繭内の幼虫を透視できなくなった頃
- d) 吐糸終了直後頃

これらの結果は表 7-7, 7-8, 7-9 および 7-10 に示したように, 吐糸開始前約 20 時間頃から吐糸終了直後にかけてのいずれの時期に, また脳, 前胸, 後胸および腹部第 1 神経節のどの神経節を摘出した場合でも摘出による顕著な蛹色の変化は認められなかった。

ただ試験区によっては蛹色濃度が I と II に属する正常蛹色個体が発現したが, これは神経節の摘出時期, 摘出した神経節の種類および正常蛹色個体の発現割合などにおいて各区相互間に関連性がないことから考えて, 摘出によって起った蛹色の変化によるものではなく, 本節 (2) の A) に

Table 7-7. The color of pupae from which various ganglia were removed before the mounting stage of *osso* strain

Ganglion removed	No. of treated individuals	No. of dead individuals	No. of individuals showing pupal color type					Total
			I	II	III	IV	V	
Brain	20	4		1	3	3	9	16
Prothoracic ganglion	20	1			1	1	17	19
Metathoracic ganglion	20	3	1	1	1	2	12	17
First abdominal ganglion	20	3		1	2	4	10	17

Table 7-8. The color of pupae from which various ganglia were removed after the mounting stage of *osso* strain

Ganglion removed	No. of treated individuals	No. of dead individuals	No. of individuals showing pupal color type					Total
			I	II	III	IV	V	
Brain	20	2			1	7	10	18
Prothoracic ganglion	20	0	1	1	3	4	11	20
Metathoracic ganglion	20	1			4	5	10	19
First abdominal ganglion	20	2	1		1	6	10	18

Table 7-9. The color of pupae from which various ganglia were removed before the end of spinning of *osso* strain

Ganglion removed	No. of treated individuals	No. of dead individuals	No. of individuals showing pupal color type					Total
			I	II	III	IV	V	
Brain	20	2			4	4	10	18
Prothoracic ganglion	20	0			2	1	17	20
Metathoracic ganglion	20	1			2	3	14	19
First abdominal ganglion	20	1	1	1	2	1	14	19

Table 7-10. The color of pupae from which various ganglia were removed immediately after the end of spinning of *osso* strain

Ganglion removed	No. of treated individuals	No. of dead individuals	No. of individuals showing pupal color type					Total
			I	II	III	IV	V	
Brain	20	1		1	3	5	10	19
Prothoracic ganglion	20	1			3	3	13	19
Metathoracic ganglion	20	2				2	16	18
First abdominal ganglion	20	4			1	1	14	16

において述べたように無処理の吐糸終了期後 20°C 保護区にみられた正常蛹色個体と類似のものと思われる。

以上述べたように *osso* や P 51 系統のような *so* 黒蛹の発現過程においては、ホルモンの機構が存在しないことから、煤蚕黒蛹系統における黒蛹の発現は、感温期の保護温度の作用が直接組織（恐らく皮膚の真皮細胞）に伝わって蛹色が決定されるものと思われる。

§ 8 皮膚の移植と蛹色発現との関係

本実験においては黒蛹の発現に関してホルモンの機構を有する BT を宿主にして、供給蚕には黒蛹色決定ホルモンを有しない正常系統の皮膚を用いて移植をおこない、宿主の黒蛹色決定ホルモンの作用が正常系統の移植片の蛹色発現にいかなる影響をおよぼすかをしらべた。

移植は宿主および供給蚕ともに 4 令期の蚕を用いておこなったが、上蔭期以後は黒蛹が発現しやすい 20°C に保護して化蛹後の蛹色を観察した。

その結果は表 8-1 に示したように、宿主の BT の黒蛹の発現にともなって移植片の蛹皮にも黒色素が形成されて黒蛹となり移植片は宿主の支配をうけた。

移植片が宿主の脱皮および変態ホルモンの支配をうけて宿主の脱皮あるいは化蛹にともなって同

Table 8-1. The pupal color of recipients which were implanted with integument of normal strain

Age of recipients at implantation	Age of donors at implantation	No. of implanted individuals	No. of dead individuals	No. of individuals showing pupal color type					Total
				I	II	III	IV	V	
4th instar of BT	4th instar of K	12	6			4	2		6

時に脱皮あるいは化蛹することは、昆虫の変態機構の解明のためにおこなった **BODENSTEIN**<sup>3)4)</sup> による *Vanessa urticae* の胸脚の移植実験および **PIEPHO**<sup>76)</sup> による *Galleria mellonella*, *Achroea grisella*, *ptychopoda seriata*, *Ephestia* などの相互間における皮膚の移植実験によって明らかにされ、さらに家蚕では長島<sup>71)72)73)</sup> によって種々の突然変異を用いての広範な皮膚移植実験においても確かめられたが、本実験においても移植片は宿主の脱皮あるいは化蛹と同時に脱皮あるいは化蛹をおこなった。

次に宿主の蛹色と移植片の蛹色発現との関係であるが、宿主の蛹色とは異なる他の系統の皮膚を供給蚕として移植した場合に移植片の蛹色は宿主の影響をうけて宿主と同じ蛹色が発現するか、あるいは宿主の影響をうけずに移植片本来の蛹色が発現するかということが問題になる。本実験における **BT** を宿主にして、供給蚕として正常系統の皮膚を移植した場合には移植片の化蛹後の蛹色は正常蛹色とはならず宿主と同じ黒蛹色が発現したが、この結果は移植片の蛹色発現が宿主の影響を受けたことを意味し、おそらく宿主の **BT** の黒蛹色決定ホルモンが移植片の蛹色発現の過程に作用して黒蛹色となったのであろう。

一方他の黒蛹系統である煤蚕黒蛹 (*so*) における皮膚移植については、長島<sup>74)</sup> は *so* を宿主にして正常蚕の皮膚を移植した実験において、移植片は正常蚕本来の褐色蛹皮を形成して宿主の影響は認められず、また正常蚕を宿主にして *so* の皮膚を移植した場合にも例外なく移植片の蛹皮に黒色メラニンが形成されず正常蛹色が発現したと述べている。

この *so* 黒蛹における移植の結果は **BT** における場合とは異なる結果となったが、この原因はおそらく第7節において述べたように、**BT** における黒蛹はホルモンの機構を介して発現するのに対し、*so* 遺伝子により発現する煤蚕黒蛹は黒蛹の発現過程においてホルモンの機構は存在せず、皮膚に対する温度の直接的作用によって発現することにもとづくものと考えられる。しかしこのような皮膚移植実験においては、つねに移植自体によるアーティファクトを伴っており、移植片が着色したかあるいは着色しないかということの判別は極めて微妙な問題である点に留意すべきである。

いずれにしても **BT** に移植された正常系統の皮膚の移植片の蛹色が宿主の影響をうけて宿主の蛹色と同じ黒蛹色が発現したことは、**BT** における黒蛹の発現がホルモンの機構によって支配されていることの裏付けであると考えられる。

## § 9 パラビオーシスによる蛹色の変化

いままで述べてきた黒蛹の発現機構の解明には、主として **BT** 系統を材料として実験を行ってきた。そして **BT** の黒蛹の発現は脳—胸部神経節連合体によるホルモンの機構によって支配されていることが判明した。本実験においては蛹色の発現がホルモンの機構によって支配される **BT** 系統と、ホルモンの機構をもたないと考えられる黒蛹系統である支4号並びに正常系統(大草)を用いてこれらの系統の個体相互間でパラビオーシスをおこない、**BT** が有する黒蛹色決定ホルモンが他の系統の蛹色発現に対していかなる影響を及ぼすかという点について追求を行った。パラビオーシスは吐糸終了期後におこない、処理を終った個体は直ちに  $20^{\circ}\text{C}$  に保護した。パラビオーシスによって両体間はガラス管あるいはビニール管を通じて体液が交流し、かつ両体片とも化蛹した。なお両体片のうちいずれか一方のみが化蛹し、他の体片が斃死した場合は斃死個体として扱った。

先ず黒蛹色の発現がホルモンの機構によって支配されている **BT** 系統の上蔟期以後を  $20^{\circ}\text{C}$  に保護した個体間すなわち同個体、および異個体についてパラビオーシスをおこなったところ、表9—1に示したようにどの場合でも前半部、後半部ともに黒蛹色となった。上蔟期以後を  $30^{\circ}\text{C}$  で保護



Table 9-1. Relation between the manifestation of pupal color and parabiosis

Members of couple (Anterior part-posterior part)	No. of treated individuals	No. of dead individuals	Pupal color of the anterior part					Pupal color of the posterior part					Total
			I	II	III	IV	V	I	II	III	IV	V	
BT - BT* <sup>1</sup>	15	1				10	4			4	7	3	14
BT - BT* <sup>2</sup>	15	2				8	5			2	8	3	13
BT 30°C - BT 20°C	15	4	3	8					11				11
C 4 - C 4* <sup>3</sup>	15	2			11	2		5	6	2			13
C 4 - C 4* <sup>4</sup>	15	3			11	1		4	7	1			12
Okusa - Okusa* <sup>5</sup>	15	1	4	10				10	4				14
BT - C 4	15	3				4	8		3	5	4		12
BT - Okusa	15	2			1	7	5		10	2	1		13
C 4 - BT	15	3			11	1			12				12
Okusa - BT	15	1	8	6					14				14

The two partners were brought into communication with each other by a connecting capillary tube.

\*<sup>1</sup>)<sup>3</sup>) : Parabioses were performed between anterior and posterior parts of same individuals.

\*<sup>2</sup>)<sup>4</sup>)<sup>5</sup>) : Parabioses were performed between anterior and posterior parts of different individuals.

して黒蛹の発現が抑止され正常蛹色が発現するように決定づけられている高温保護の BT の前蛹を前半部にとり、上蔟期以後を 20°C に保護して吐糸終了直後に体を切半した BT の遊離腹部を後半部にしてパラビオーシスした区では、両体片ともに正常蛹色が発現した。次に黒蛹色の発現過程においてホルモンの機構の介入を受けずに、組織自身の温度に対する直接の反応によって黒蛹となると考えられる支 4 号について、上蔟期以後を 20°C に保護した支 4 号の前蛹の同個体あるいは異個体間についてパラビオーシスを行った結果は、パラビオーシスによる蛹色の変化は認められず支 4 号本来の蛹色が発現した。

正常色蛹である大草を用いての個体同志間のパラビオーシスにおいても、特に変わった結果はみられず両体片ともに予想されたとおり正常色蛹となった。

以上のべた実験は同じ系統同志間のパラビオーシスであるが、次に前半部、後半部のいずれか一方に異なる系統の体片を組合わせて体液を交流させた結果は次のとおりである。

黒蛹色決定ホルモンの分泌源を前半部にもつ BT と、支 4 号の遊離腹部を後半部にしてパラビオーシスした結果は、前半部は BT 固有の黒蛹色が発現したが、後半部の蛹色は支 4 号本来の蛹色濃度よりも濃い黒蛹色が発現し、明らかにパラビオーシスによる影響が認められた。反対に支 4 号を前半部にとり BT の遊離腹部を後半部にした組合わせでは前半部のみは支 4 号固有の黒蛹色が発現したが、後半部は正常蛹色となりパラビオーシスによる影響は特にみられなかった。

次に BT と正常系統である大草との組合わせでは、BT のホルモン分泌源が前半部に入るようにし大草の遊離腹部を後半部にしてパラビオーシスした結果は、前半部は BT 固有の黒蛹色が発現したが、後半部においても黒蛹色と判別できる程度の蛹色が発現した場合もあったが、多くの場合はパラビオーシスによる影響は認められなかった。大草を前半部にし、BT の遊離腹部を後半部にしてパラビオーシスした結果は、前半部、後半部ともに正常蛹色が発現した。

以上のべたパラビオーシスの実験結果からいえることは、同じ系統間同志のパラビオーシスにお

いては両体片ともにその系統固有の蛹色が発現しており、この結果はガラス管あるいはビニール管を通して両体片の体液が交流し合い、変態現象に伴い正常に蛹色が発現したことを示すものである。次に異系統間のパラピオーシスにおいて、BTの黒蛹色決定ホルモンの分泌源が前半部に入るようにして、他の支4号および大草の遊離腹部を後半部にして体液を交流させた場合、後半部は支4号の場合には蛹色の濃度に濃淡があるとはいえ大部分の個体において黒蛹色が発現し、又大草の場合にも少数ではあるが着色した個体があることは注目し得る。すなわち黒蛹色決定ホルモンはBTのみに作用をおよぼすだけではなく、他の系統に対してもホルモンの効果を与えるものと推定される。表現を変えればBTおよび支4号はともに黒蛹色決定ホルモンに対する組織感受性を有しているといえよう。前述のBTを前半部にして支4号の後半部とパラピオーシスすると、後半部の蛹色は支4号本来の蛹色濃度よりも濃い黒蛹色があらわれたという現象は、支4号の温度に対する直接反応と内分泌機構を介しての黒蛹色素形成が相伴ってあらわれた結果と考えることができる。

一方BTと正常系統である大草との組み合わせでは、後者を後半部にした場合、支4号を後半部にして用いた場合ほど顕著ではないが少数個体において黒蛹色が発現した。これはパラピオーシスによる前半部から後半部へのホルモンの移動に原因することは支4号の場合と同様であるが、大草は支4号のようにbp遺伝子を有せず黒蛹色素生成能力がないため、たとえホルモンが存在しても正常蛹色を呈するはずであるが、パラピオーシスによって黒蛹色素原もホルモンとともに後半部へ移動したためではないかと推定される。しかしながら後半部の大部分の個体が黒蛹色が発現せずに正常蛹色となったことから、正常系統においては黒蛹色決定ホルモンに対する組織の感受性はbp遺伝子を有する黒蛹系統に比して非常に微弱なのであろう。さらにホルモンの供給を受けて黒蛹色となった支4号の個体間で蛹色の濃度に個体差がみられる場合があるが、これは黒蛹色決定ホルモンの作用発現の差異が単なるホルモンの分泌量の多少によるものであるのか、あるいは個体によってホルモンの作用に対する組織の感受性に差があるのかは明らかではない。

### § 10 黒蛹発現におよぼす温度の効果

家蚕における黒蛹の発現は、温度の作用との関連において黒蛹色決定ホルモンによって支配されることはすでに述べたとおりである。すなわちBT系統においては上蔭期以後を20°Cのような低温で保護した場合には、30°Cのような高温で保護した場合にくらべ黒蛹発現率が大きく、殆んど全部の個体が黒蛹となる。

ところがたまたま夏蚕期にBT系統を飼育したところ、上蔭期以後を低温で保護したにもかかわらず黒蛹が殆んど発現しないという事実遭遇した。この場合黒蛹の発現を抑える要因としてもっとも考えやすいのは、夏蚕期における高温であろう。すなわち上蔭期以後の保護温度の作用だけが黒蛹の発現を左右するのではなく、卵の催青温度あるいは幼虫期の飼育温度といった上蔭期前の保護温度の高低が黒蛹の発現に影響を与えていることが推定される。

そこで本実験においてはこれらの点を確認、さらに黒蛹の発現に関与する温度と内分泌機構との関連をさらに詳細に検討するため、催青温度および稚蚕期、壮蚕期の飼育温度について種々の組合せの温度に遭遇させた場合における黒蛹の発現への影響を研究した。供試材料としてはBT系統を用い、催青は恒温恒湿の定温器中でおこない、また飼育温度の影響については恒温恒湿のキャリア蚕室で蚕を飼育してしらべた。

#### (1) 催青温度を異にした場合の黒蛹の発現

催青温度は15°C(暗)、18°C(明)、25°C(明)および28°C(明)とし湿度は80%に調節し

て孵化日が大体揃うように催青をおこない、普通蚕室にて稚蚕期の飼育温度を約  $27^{\circ}\text{C}$ 、壮蚕期は約  $23^{\circ}\text{C}$  で飼育し、上蔭期以後を  $20^{\circ}\text{C}$  で保護して黒蛹の発現率の比較を行った。その結果は表 10—1 に示す。

Table 10-1. Relation between incubated temperature and the manifestation of BT strain

Incubating temperature( $^{\circ}\text{C}$ )	No. of individuals showing pupal color type					Voltinism		Total
	I	II	III	IV	V	Per cent of diapause moths	Per cent of non-diapause moths	
15				35	31		100	66
18				41	38		100	79
25			2	30	35	100		67
28				58	42	100		100

催青温度を  $15^{\circ}\text{C}$ 、 $18^{\circ}\text{C}$ 、 $25^{\circ}\text{C}$ 、 $28^{\circ}\text{C}$  とそれぞれ異にして催青した場合に、いずれの区においても全個体黒蛹が発現し、催青温度の高低による黒蛹色発現への影響はみられなかった。

家蚕の化性は 1 化性 univoltine、2 化性 bivoltine および多化性 polyvoltine に分類されている。そして 1 化性あるいは多化性といわれる蚕はその生活史中環境の条件にはほとんど影響されず、1 化蚕は 1 世代で蛾は必ず越年卵（休眠卵）を産み、多化蚕の蛾は必ず不越年卵（非休眠卵）を産み年中世代を繰返す。これに反して 2 化蚕は環境条件の支配を受けやすく、その蛾の産む卵の休眠性は前代の卵期の保護条件すなわち催青温度の高低、光線の有無などによって左右される。BT 系統は 2 化性であるので表 10—1 に示したように催青温度の影響を顕著にうけ、 $15-18^{\circ}\text{C}$  の低温催青では不越年卵を生じ、 $25-28^{\circ}\text{C}$  の高温催青では全部越年卵を生じる。このように催青温度の高低によって BT の化性は変化するにも拘らず、黒蛹の発現には何ら変化はみとめられないところから、食道下神経節から分泌される休眠ホルモンは黒蛹発現に影響を与えないものと考えられる。

催青温度と黒蛹の発現との関係については針塚<sup>34)</sup>によっても GNh-D 系統の bp を材料として催青温度を  $20^{\circ}\text{C}$  と  $30^{\circ}\text{C}$  とで催青した場合についてしらべた結果、催青温度は黒蛹の発現に影響を与えないことを明らかにしたが、本実験における結果も針塚の結果と一致した。

## (2) 黒蛹の発現におよぼす飼育温度の影響

黒蛹の発現における飼育温度の効果を追求するために、先ず幼虫期を 2 期に分けて 1 令期から 3 令期までのいわゆる稚蚕期と、4 令および 5 令期のいわゆる壮蚕期の飼育温度をそれぞれ低温 ( $20^{\circ}\text{C}$ ) と高温 ( $28^{\circ}\text{C}$ ) との種々の組合せで飼育した。さらに上蔭期以後を低温ならびに高温で保護し、幼虫期の飼育温度の黒蛹発現におよぼす効果について調査した。なお卵催青温度は  $25^{\circ}\text{C}$  であり、各時期における湿度は約 75% であった。実験結果を表 10—2 および図 10—1 に示す。

表からわかるように上蔭期以後を  $20^{\circ}\text{C}$  に保護した場合でも、稚蚕期ならびに壮蚕期の飼育温度が高い場合には正常蛹色個体が発現する。

特に全令を  $28^{\circ}\text{C}$  で飼育した場合には 42% の正常蛹色個体が発現した。さらに試験区 H5—4 と H5—8 との結果を比較すると両者とも黒蛹個体が 100% 出現し（蛹色濃度からすれば後者の方が V の階級の発現が多い）、稚蚕期の  $28^{\circ}\text{C}$  飼育は正常蛹色個体発現を増加せしめるような作用をしていないが、H5—2 と H5—6 との結果からは稚蚕期の  $20^{\circ}\text{C}$  飼育は黒蛹色個体の発現を増加せしめる。一方壮蚕期の  $28^{\circ}\text{C}$  飼育は正常蛹色個体の発現をやや増加せしめ、また壮蚕期の  $20^{\circ}\text{C}$  飼育は稚蚕期の  $20^{\circ}\text{C}$  飼育よりさらに黒蛹色個体の発現を増加せしめる。

Table 10-2. Relation between rearing temperature during larval stage and manifestation of BT strain

Experimental series	Temperature (1st~3rd instars)-(4th~5th instars) -(after the mounting stage)	No. of individuals showing pupal color type					Total
		I	II	III	IV	V	
H 5-1	28°C-28°C-28°C	16	6	1			23
H 5-2	28 - 28 - 20	6	4	4	9	1	24
H 5-3	28 - 20 - 28	3	5	5	10	2	25
H 5-4	28 - 20 - 20				9	23	32
H 5-5	20 - 28 - 28	18	19	5	4		46
H 5-6	20 - 28 - 20	4	4	5	23	5	41
H 5-7	20 - 20 - 28	10	7	3	4		24
H 5-8	20 - 20 - 20				2	22	24

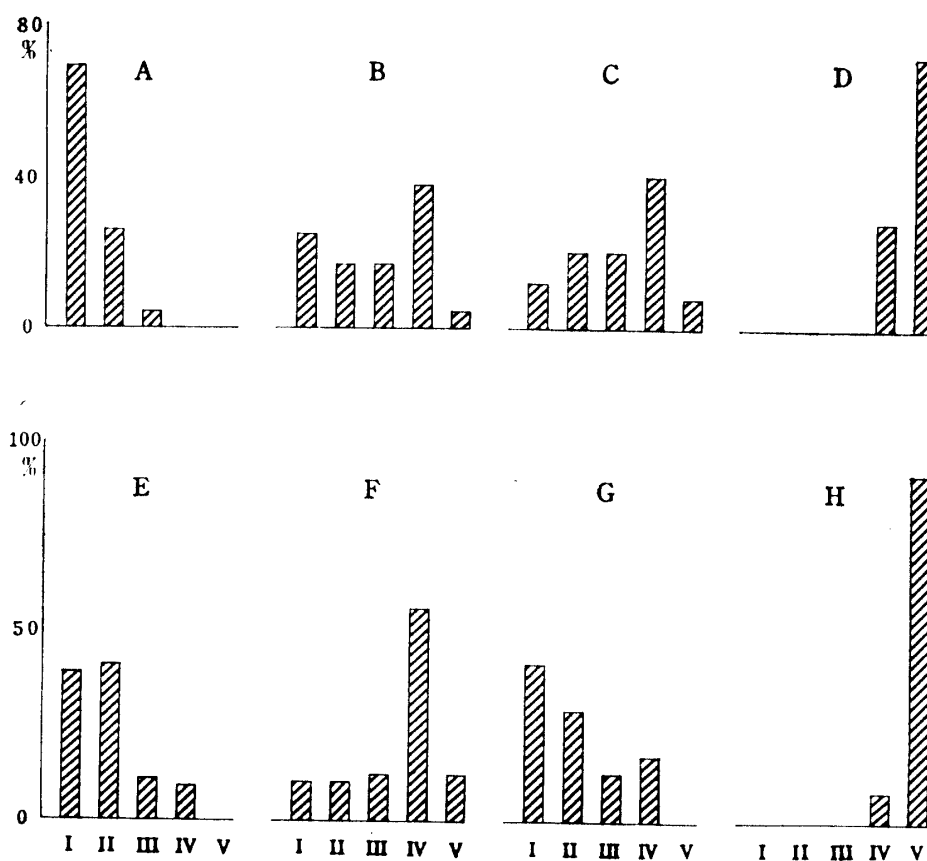


Fig. 10-1. Relation between rearing temperature during larval stage and manifestation of BT strain.

- A, 1st~3rd instars 28°C-4th~5th instars 28°C-after the mounting stage 28°C;  
 B, 28°C-28°C-20°C; C, 28°C-20°C-28°C; D, 28°C-20°C-20°C;  
 E, 20°C-28°C-28°C; F, 20°C-28°C-20°C; G, 20°C-20°C-20°C.

以上のような結果からわかることは、黒蛹発現におよぼす幼虫期の飼育温度の影響は、稚蚕期よりも壮蚕期における場合の方が大であり、さらに壮蚕期の飼育温度よりも上蔟期以後の保護温度の影響の方が、黒蛹発現に強く作用していることがわかる。すなわち黒蛹色個体の発現を助長する低

Table 10-3. The effect of rearing temperature during the fourth and fifth instars on the manifestation of BT strain

Experimental series	Temperature (4th instar) - (5th instar)- (after the mounting stage)	No. of individuals showing pupal color type					Total
		I	II	III	IV	V	
H 10-1	28°C-28°C-28°C	30	75	2			107
H 10-2	28 - 28 - 20	14	22	32	44	5	117
H 10-3	28 - 20 - 28	7	64	55	10		136
H 10-4	28 - 20 - 20			4	60	87	151
H 10-5	20 - 28 - 28	22	35	12	2		71
H 10-6	20 - 28 - 20	5	8	16	23	18	70
H 10-7	20 - 20 - 28	6	19	30	26	12	93
H 10-8	20 - 20 - 20				12	104	116

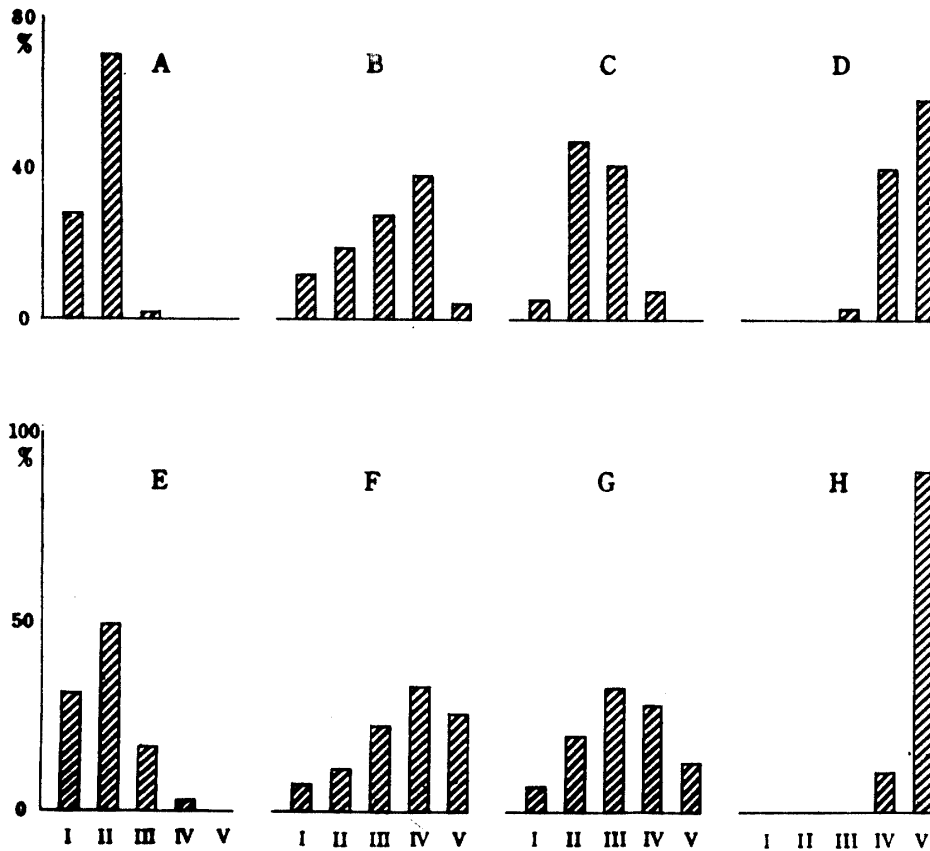


Fig. 10-2. The effect of rearing temperature during the fourth and fifth instars on the manifestation of BT strain.

- A, 4th instar 28°C—5th instar 28°C—after the mounting stage 28°C;
- B, 28°C—28°C—20°C; C, 28°C—20°C—28°C; D, 28°C—20°C—20°C;
- E, 20°C—28°C—28°C; F, 20°C—28°C—20°C; G, 20°C—20°C—28°C;
- H, 20°C—20°C—20°C.

温 (20°C) の影響は稚蚕期よりも壮蚕期、 壮蚕期よりも上蔟期以後と令が進むにつれ次第にその効果が高くなり、 正常蛹色個体の発現を助長する高温 (28°C) の影響は稚蚕期には殆んど認められないが、 壮蚕期、 上蔟期と令が進むにつれ次第にその効果が大きくなる傾向が認められた。

次に 4 令および 5 令期の飼育温度をそれぞれ低温と高温との種々の組合わせで飼育し、 上蔟期以後を低温ならびに高温で保護して、 4、 5 令期の黒蛹発現におよぼす温度効果について追究を行った。 その結果は表 10—3 および図 10—2 に示した。

表からわかるように、 前述の稚蚕期と壮蚕期の場合の結果と類似し、 4 令期と 5 令期とでは後者の方が高温でも低温でもその効果が大きい傾向が認められた。 これはすでに述べた令が進むにつれ温度に対する感受性が増加する (低温に対しても高温に対してもその効果が大きくなる) ということをさらに裏がきするものであろう。

黒蛹の発現と飼育温度との関係について針塚<sup>34)</sup>は、 稚蚕期と壮蚕期における飼育温度は黒蛹の発現に対して影響のないことを明らかにしている。 しかし針塚の用いた黒蛹系統は中国種の 1 化性系統である GNh—D であるところから著者の用いた BT 系統と異なり、 多分著者の中国種 1 化性系統である支 4 号黒蛹に相当するものと考えられる。 支 4 号黒蛹の発現はすでに述べたようにホルモンの機構によって決定されるものではなく、 上蔟期以後の低温保護の影響はホルモンの機構を介せず直接組織 (おそらく皮膚の真皮細胞) におよぶものと考えられる。 従って支 4 号においてはその黒蛹発現における温度効果の生ずる機構からみて、 温度効果が幼虫初期からあるとは考えられず、 たとえあったとしても 5 令期あるいはその末期ではないかと想像される。 この点は針塚の研究結果とよく一致する。

前節で述べたように BT 系統における黒蛹の発現は、 最も普通の飼育条件すなわち稚蚕期 27—28°C、 壮蚕期 22—24°C のような条件下においては、 上蔟期以後 (感温期) を 20°C のような低温で保護すれば 100% 黒蛹が発現し、 逆に 30°C のような高温で保護すれば 100% 正常蛹色個体となる。 しかし幼虫の種々の時期を 20°C あるいは 28°C といったような温度で飼育すると、 上蔟期以後を 20°C で保護しても全部が黒蛹とならず正常蛹色個体が発現することがある。 換言すれば BT 系統における黒蛹発現の感温期が上蔟期後から化蛹までの期間であるというのは、 幼虫期の飼育条件がある特殊下の時のみで、 一般には幼虫期初期から化蛹までの非常に長い期間がそれであると考えられる。

## § 11 総括的考察

BT 系統、 支 4 号、 クワコ、 *osso* および P 51 といった系統の蛹色はいずれも黒色を呈し、 正常蛹色の琥珀色とは明らかに区別することができる。 これらのうち前 3 者は第 XI 染色体に座位する *bp* 遺伝子によって発現するものであり、 後の 2 者は *bp* 遺伝子とは独立遺伝をする *so* 遺伝子によって発現する黒蛹である。 しかし同じ *bp* 遺伝子に支配される BT、 支 4 号あるいはクワコといった *bp* 黒蛹系統においてもその発現機構は必ずしも同一でなく、 特に BT 系統の黒蛹の発現は複雑である。

先ず黒蛹の発現と上蔟期以後の保護温度との関係であるが、 *bp* 黒蛹あるいは *so* 黒蛹のいずれにおいても低温 (20°C) において黒蛹色個体の発現率が大きくなり、 逆に高温 (28—30°C) において正常蛹色個体の発現率が増加する。 しかしその程度は系統によって異なり、 *so* 黒蛹は *bp* 黒蛹にくらべ保護温度の相違による黒蛹発現状態の差は小さく、 従って温度に対する感応性が低い。 また *bp* 黒蛹に属する BT 系統と支 4 号とを比較すると上蔟期以後の保護温度に対してはほぼ同様の反応を示すが、 BT 系統においては幼虫期の飼育温度の高低も黒蛹発現に影響をおよぼし、 飼育

温度が低い場合には黒蛹個体の発現率が大きくなる。しかもその温度効果は発育の後期になるほど大となる傾向がある。しかし支4号においては黒蛹発現に対する幼虫期の飼育温度の影響は殆んどなく、上蔭期以後の保護温度の高低のみで黒蛹の発現率は支配される。

次に黒蛹が発現するように上蔭期以後を20°Cに保護した種々の黒蛹系統の前蛹を、吐糸終了期後に腹部第2環節の後方で結紮して化蛹後の蛹色を観察すると、*bp* 黒蛹に属するBTにおいてのみ、結紮前半部は黒蛹色、後半部は正常蛹色を呈し、他の*bp* 黒蛹である支4号あるいは*so* 黒蛹の*osso*, P51系統においては結紮による蛹色の変化は認められず、結紮前半部も後半部もともに黒蛹色となった。このような結果からBT以外の系統は、黒蛹色の発現過程においてホルモンの機構は存在しないことがわかる。

BT系統における黒蛹色発現に関与するホルモンの機構を解明するため、神経節の摘出、神経連鎖の切断、神経節の移植、パラピオースあるいは皮膚の移植などを行って検討した結果、黒蛹色が発現するような条件下においては脳が食道連合および神経連鎖をとおして後胸神経節を刺激し、その結果後胸神経節から黒蛹色決定ホルモンが分泌され黒蛹色が発現することが明らかになった。

この場合幼虫期の飼育温度あるいは上蔭以後の保護温度の影響は、直接黒蛹色素が形成される皮膚の組織に影響をおよぼすのではなく脳—胸部神経節連合体の黒蛹色決定ホルモン分泌機能に影響を与えると考えられる。すなわち後胸神経節を摘出したBT系統では上蔭期以後を低温で保護しても黒蛹色個体は発現しない事実、あるいは高温保護したBTの遊離腹部にホルモンが分泌するよう決定づけられた脳—胸部神経節連合体を移植すれば黒蛹色個体となる点から、BT系統では温度の影響は皮膚におよぼされるのではないことが明瞭である。これに反して支4号あるいは*so* 黒蛹系統では、神経節の摘出を行っても上蔭期以後を低温保護すれば黒蛹が発現することから、温度の影響は直接皮膚組織に与えられ、*bp* あるいは*so* 遺伝子の存在において黒蛹が発現するものと思われる。

以上を総合すると表11-1に示したように、一般に黒蛹の発現には、*bp* あるいは*so* 遺伝子の存在と上蔭期以後の低温保護という2つの条件がそろふことが必要である。

BT系統では幼虫期の飼育温度および上蔭期以後の保護温度は、ホルモンの機構を介して黒蛹の発現に影響をおよぼすが、他の黒蛹系統では上蔭期以後の保護温度は直接皮膚組織に作用し、*bp*

Table 11-1. Mechanism of the manifestation of the black pupa

Pupal color	Strain	Endocrine activity of black pupa hormone	Susceptibility of tissue to black pupa hormone	Ability to form the black-pupal pigment
Black pupa( <i>bp</i> )	BT	+	++	+*1)
"	C 4	-	+	+*2)
"	<i>Theophila mandarina</i> Moore	--	+	+*2)
Sooty ( <i>so</i> )	<i>osso</i>	-	± (?)	+*2)
"	P 51	-	± (?)	+*2)
Normal (+)	Okusa	-	± (?)	-

\*1) : Pigment formation in black pupa is controlled by a hormonal mechanism.

\*2) : Pigment formation in the black pupa is not due to the hormonal mechanism. The effect of temperature upon the manifestation of the black pupa is directed to the integument.

ならびに *so* 遺伝子の働きによる黒蛹色素生成に、あるいはその色素の沈着に影響を与えるものと考えられる。

## 摘 要

家蚕における黒蛹の発現機構を知るために、BT その他数系統を供試して黒蛹の発現と環境要因との関係、黒蛹の発現に関与する遺伝子の分析ならびに黒蛹の発現を支配するホルモンの機構などについて遺伝学および生理学的見地から解明をおこなった。その結果の概要は次のとおりである

1) 黒蛹の発現は上蔟期から化蛹までの期間の保護温度の高低によって顕著な影響をうけ、この期間を  $15-20^{\circ}\text{C}$  のような低温に保護すると BT の場合にはすべての個体において黒蛹色が発現する。これに反しこの期間を  $30-32^{\circ}\text{C}$  のような高温に保護した場合には、黒蛹の発現は完全に抑止されて全個体が正常蛹色となる。さらに  $25^{\circ}\text{C}$  のような中間温度で保護すると黒蛹の蛹色濃度に連続的変化がみられ、黒蛹色から正常蛹色にいたる種々の段階の蛹色のものが出現する。このような場合著者は便宜上蛹色濃度を I (完全正常蛹色) から V (完全黒蛹色) までの 5 階級に分けて観察記載した。

感温期間を高温で保護するよりも低温で保護した場合に、黒蛹色個体の発現率は大となるという点に関しては、同じ黒蛹系統である支 4 号においても BT 系統の場合と同じであるが、種々の温度に対する感受性は両者で異なり、従って同一保護温度によって決定される蛹色濃度にも大きな差違が認められた。

2) BT 系統における黒蛹の発現に関与する遺伝子分析を行うために、既知の種々の黒蛹系統と交雑し黒蛹個体発現の状態を調べた結果、BT 系統における黒蛹の発現は *so* 遺伝子によるものではなく、支 4 号と同じく *bp* 遺伝子によるものであることが判明した。しかし BT および支 4 号は同じ *bp* 遺伝子を保有しているにもかかわらず、前述のように両者における黒蛹の発現は相当異なる。このような事実は黒蛹発現に対して *bp* 遺伝子は主遺伝子であるには違いないが、他にもこの発現を修飾する遺伝的要因が存在していることを暗示している。そこで著者は BT 系統と種々の正常蛹色系統との交雑をつくり、その  $F_2$  における蛹色発現の状態を比較検討した結果、同じ *bp* 遺伝子を保有していても遺伝的背景が異なる場合には黒蛹の発現状態に差があることを証明した。

3) BT 系統を実験材料として黒蛹の発現に関してホルモンの機構が存在するか否かを確かめるため、腹部第 2 環節の後方で結紮処理を行い、結紮に伴う蛹色の変化を観察した。その結果結紮前半部内に黒蛹の蛹色を決定する内分泌系が存在することが明らかになった。つぎにこの内分泌系が結紮前半部のはたしてどの部分に存在しているかを知るために、各環節ごとの結紮実験を行った。その結果これらの内分泌系は頭部から胸部第 3 環節附近までの間、すなわち頭胸部内に存在していること、さらに頭部内の器官が黒蛹色決定に重要な役割をなしていること、しかし頭部内の器官は直接に蛹色の決定を行うのではなく、胸部に存在する第 2 の内分泌系を介して黒蛹が発現するものであろうということが暗示された。

一方この黒蛹色決定ホルモンの臨界期を検索したところ、化蛹前 7—10 時間頃にあることが判明した。

4) 結紮実験の結果判明した頭胸部内に存在する内分泌系の存在をさらに詳細に検討するために、神経節の摘出、神経連鎖の切断あるいは神経節の移植などを行い内分泌器官の検索を行った。その結果 BT 系統における黒蛹の発現は、脳—胸部神経節連合体から分泌される黒蛹色決定ホルモンによって支配され、このホルモンは感温期間を低温保護した場合に分泌されて黒蛹を生ぜしめ、反対に高温保護の場合には分泌が抑止されて正常蛹色蛹が発現することがわかった。



5) ホルモン分泌の臨界期前後の各時期に脳から腹部第1神経節にいたる各神経節をそれぞれ個々に摘出し、黒蛹の発現に関与する脳一胸部神経節連合体を構成する神経節の個々の役割を検討した。その結果脳は黒蛹の発現に関与する重要な器官であることは明らかであるが、黒蛹色決定ホルモンの真の分泌源ではなく、食道連合および神経連鎖を通じて後胸神経節からの黒蛹色決定ホルモンの分泌を促す働きをもつものと思われる。すなわち上蔟期以後の保護温度の高低が脳の機能に影響をおよぼし、後胸神経節からのホルモン分泌を促進あるいは抑止して蛹色が決定されるものと考えた。

黒蛹の蛹色の発現過程における脳の促進あるいは抑止作用が神経的なものであるか、それとも神経内分泌によるものであるかは明確ではないが、脳摘出蚕における脳移植実験の結果から脳の機能はホルモン分泌のような作用を有するものではないと思われる。

6) BT系統を用い4令期に頭胸間結紮を行って得た3眠蚕および4令期高温多湿度衝撃によって生じた3眠蚕の蛹色を調査したところ、いずれの場合にも上蔟期以後を低温保護しても黒蛹にはならず正常蛹色個体のみが発現した。これは眠性が4眠から3眠へ変化した場合に生ずる内分泌的機構の変化が、蛹色発現に影響を与えていることを示すもので、換言すればアラタ体ホルモンおよび前胸腺ホルモンは黒蛹色発現に対して密接なる関連を有し、特にアラタ体ホルモンの機能低下は黒蛹色を呈すべきものに正常蛹色化する傾向を与えるものと推定される。

7) BT系統以外の *bp* および *so* 黒蛹系統における黒蛹発現の機構を調べた結果、黒蛹発現におけるホルモンの機構を有するのはBT系統のみであることが明らかになった。一方BTにおいては上蔟期以後の保護温度の影響は先ず脳が感受してホルモンの分泌をうながし、さらにホルモンが組織に影響を与えるといった間接的感受であるが、支4号における温度の影響は皮膚組織が直接温度の影響を感受し、黒蛹色素形成に変化をもたらすものと推定された。また *so* 黒蛹の発現は *bp* 黒蛹の場合と同様に吐糸終了期以後の保護温度の高低によって支配されるが、温度の作用に対する組織の感受性は *bp* 黒蛹よりも弱い傾向が認められた。なお *so* 黒蛹発現における温度の感受形式は支4号の場合と同じであると考えられる。

8) さらに黒蛹発現の機構を詳細に検討するために、種々の系統間において皮膚移植およびパラピオーシスを行った。皮膚移植においては、移植片の蛹色は宿主の支配を受けることが判明し、さらにパラピオーシスの結果からBTにおけるホルモンの作用は *bp* 遺伝子を有しながらホルモンの機構のない支4号などの黒蛹色発現においても影響をおよぼすことがわかった。

9) 黒蛹の発現に関与する温度と内分泌機構との関連をさらに広く検討するため、BT系統を用い催青温度および稚蚕期(1令~3令)、壯蚕期(4令~5令)の飼育温度について種々の組合わせの温度に遭遇させた場合における黒蛹の発現におよぼす影響を調査した。催青温度についてはその高低による黒蛹色発現への影響はみられなかった。しかし幼虫期の飼育温度の高低は、黒蛹の発現に影響をおよぼし、その効果は稚蚕期よりも壯蚕期における場合の方が大であり、いずれも低温において黒蛹個体の発現率が大きくなった。さらに壯蚕期の飼育温度よりも上蔟期の保護温度の影響の方が、黒蛹発現に強く作用していることが明らかになった。すなわち黒蛹の発現を助長する低温(20°C)の影響は稚蚕期よりも壯蚕期、壯蚕期よりも上蔟期と令が進むにつれ次第にその効果が高くなり、正常蛹色個体の発現を助長する高温(28°C)の影響は稚蚕期には殆んど認められないが、4令、5令、上蔟期と令が進むにしたがって次第にその効果が大きくなる傾向が認められた。しかるに同じ *bp* 遺伝子を有する支4号においては、黒蛹発現に対する幼虫期の飼育温度の影響は認められなかった。

10) 以上の実験結果を総合すると次のように黒蛹発現を説明できる。すなわち黒蛹が発現する

ためには *bp* 遺伝子あるいは *so* 遺伝子の存在と上蔭期以後の低温保護という 2 つの条件がそろふことが必要である。 *bp* 黒蛹の 1 系統である BT では幼虫期の飼育温度および上蔭期の保護温度はホルモンの機構を介して黒蛹の発現に影響をおよぼすと考えられる。しかし他の黒蛹系統ではホルモンの機構は存在せず上蔭期以後の保護温度は直接皮膚組織に作用して、 *bp* ならびに *so* 遺伝子の働きによる黒蛹色素生成に影響を与え黒蛹色が決定されるのであろう。

昆虫における体色発現と環境要因との間には比較的はっきりした対応がみられるが、外的環境要因とこれによって体内に生ずる内部的機構の変化との関係については従来明確な説明は得られていなかった。しかし本研究により BT 系統における黒蛹の発現機構を外的環境要因としての温度と内部的要因であるホルモンの機構との関連から明らかにすることができた。

### 文 献

- 1) 有賀久雄：蚕試報，**9** (6)，295-304 (1939)
- 2) 有賀久雄・川瀬茂美：日蚕雑，**23** (4)，240-243 (1954)
- 3) BODENSTEIN, D: *Arch. Entwicklungsmech. Organ.*, **130**, 747-770 (1933)
- 4) \_\_\_\_\_ : *Ibid.*, **136**, 745-785 (1937)
- 5) BRECHER, L : *Roux' Arch. f. Entw.-mech. d. Organismen*, **43**, 88-221 (1917)
- 6) \_\_\_\_\_ : *ibid.* **45**, 273-322 (1919)
- 7) \_\_\_\_\_ : *Arch. f. mikr. Anat.u. Entw. -mech.*, **102**, 501-516 (1924)
- 8) BÜCKMANN, D: *Naturwiss.*, **43**, 43 (1956)
- 9) \_\_\_\_\_ : *Verh. Deutsch. Zool. Gesell. Hamburg.*, 220-225 (1956)
- 10) \_\_\_\_\_ : *J. Ins. Physiol.*, **3**, 159-189 (1959)
- 11) VON BUDDENBROCK, W: *Z. vergl. Physiol.*, **14**, 415-428 (1931)
- 12) CASPARI, E. und E. PLAGGE: *Naturwiss.*, **33**, 751 (1935)
- 13) CHILD, G: *Genetics.*, **20**, 127-155 (1935)
- 14) DRIVER, E.C: *Jour. Exp. Zool.*, **46**, 317-332 (1926)
- 15) [DRIVER, O. W: *Jour. Exp. Zool.*, **59**, 29-44 (1931)
- 16) DÜRKEN, B: *Zeit. f. wiss. Zool.*, **116**, 587-626 (1916)
- 17) EPHRUSSI, B. and J. L. HEROLD: *Genetics.*, **30**, 62 (1945)
- 18) FUKUDA, S: *Proc. Imp. Acad. Japan.*, **16**, 417-420 (1940)
- 19) \_\_\_\_\_ : *J. Fac. Sci. Tokyo Univ, sec. IV*, **6**, 477-532 (1944)
- 20) \_\_\_\_\_ : *Proc. Jap. Acad.*, **27**, 582-586 (1951)
- 21) \_\_\_\_\_ : *Ibid.*, **27**, 672-677 (1951)
- 22) \_\_\_\_\_ : *Annot. Zool. Japon.*, **25**, 149-155 (1952)
- 23) \_\_\_\_\_ : *Proc. Jap. Acad.*, **29**, 381-384 (1953)
- 24) \_\_\_\_\_ : *Ibid.*, **29**, 385-388 (1953)
- 25) \_\_\_\_\_ : *Ibid.*, **29**, 389-391 (1953)
- 26) 福田宗一：日蚕学会中部支部講演集 VI, 1-15 (1953)
- 27) 福田宗一・日高敏隆：実験形態学新説, 1-14 (1959), 養賢堂
- 28) 蒲生俊興：佐久良会雑誌 (13), 14-15 (1923)
- 29) GIERSBERG, H: *Zeit. vergl. Physiol.*, **9**, 523 (1929)
- 30) GOLDSCHMIDT, R: *Physiological genetics*, McGraw-Hill Book Co, New york (1938)
- 31) 針塚正樹：日蚕雑，**13** (1)，4-8 (1942)
- 32) \_\_\_\_\_ : 蚕試報，**11** (2)，197-210 (1943)
- 33) \_\_\_\_\_ : 日蚕雑，**14** (3-4)，203-204 (1943)
- 34) \_\_\_\_\_ : 蚕試報，**12** (5)，531-593 (1947)
- 35) HARNLY, M, H: *Proc. 6th Int. Congress. Genetics* **2.**, 79 (1932)
- 36) HASEGAWA, K: *Proc. Jap. Acad.*, **27**, 667-671 (1951)

- 37) HASEGAWA, K : *J. Fac. Agric., Tottori Univ.*, **1**, 83-124 (1952)
- 38) 長谷川金作 : 実験形態学新説, 58-72 (1959), 養賢堂
- 39) 橋口 勉 : 遺雜, **35** (9), 269-270 (1960)
- 40) \_\_\_\_\_ : 日蚕学会九州支部講演集, 5 (1961)
- 41) HASHIGUCHI, T : *Jap. Jour. Genet.*, **37** (2), 91-96 (1962)
- 42) 橋口 勉 : 日蚕雜, **32** (3), 194 (1963)
- 43) HASHIGUCHI, T : *Mem. Fac. Agric. Kagoshima Univ.*, **5**(1), 33-38 (1964)
- 44) 橋口 勉 : 未発表
- 45) HIDAKA, T : *Annot. Zool. Japon.*, **29**, 69-74 (1956)
- 46) \_\_\_\_\_ : *Annot. Zool. Japon.*, **30**, 83-85 (1957)
- 47) \_\_\_\_\_ : *C. R. Soc. Biol.*, **165**, 1682-1685 (1960)
- 48) \_\_\_\_\_ : *J. Fac. Sci. Tokyo Univ.*, sec. IV, **9**, part 2, 223-261 (1961)
- 49) 一瀬太良 : 応動昆, **4** (1), 26-31 (1960)
- 50) ISHIZAKI, H. and M. KATO : *Mem. Coll. Sci., Univ. Kyoto, Ser. B.* **23**, 11-19 (1956)
- 51) 石崎宏矩 : 生理生態, **8** (1), 32-35 (1958)
- 52) 伊藤智夫 : 蚕試報, **13** (10), 585-611 (1951)
- 53) \_\_\_\_\_ : 実験形態学新説, 199-217 (1959), 養賢堂
- 54) IVES, P. T : *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **21**, 646-650 (1935)
- 55) \_\_\_\_\_ : *Genetics.*, **24**, 315-331 (1939)
- 56) 岩下 嘉光 : 宇都宮大農学術報告特輯, (17), 1-93 (1963)
- 57) KARLSON, P : *Vitam. and Horm.*, **14**, 227-266 (1956)
- 58) KARLSON, P. und D. BÜCKMANN : *Naturwiss.*, **43**, 44-45 (1956)
- 59) 川口 栄作 : 蚕業新報, (358, 359, 361) (1923)
- 60) 金 順 鳳 : 日蚕雜, **10** (2), 86-97 (1939)
- 61) KOSMINSKY, P. A : *Zool. Jour.*, **11**, 49-50 (1932)
- 62) KÜHN, A. und H. PIEPHO : *Ges. Wiss. Göttingen.*, **2**, 141-154 (1936)
- 63) 小林勝利 : 蚕試報, **15** (3), 181-273 (1957)
- 64) \_\_\_\_\_ : 実験形態学新説, 167-183 (1959), 養賢堂
- 65) 木暮 楨太 : 長野蚕試, (23), (1932)
- 66) LUCE, W. M : *Jour. Exp. Zool.*, **59**, 467-498 (1931)
- 67) 諸星静次郎 : 九大農学芸誌, **8**(3), 276-281 (1939)
- 68) \_\_\_\_\_ : 遺雜, **18** (3), 139-140 (1942)
- 69) \_\_\_\_\_ : 小熊捍博士退職記念論文集 (上), 21-24 (1948)
- 70) 室賀兵左衛門 : 日蚕雜, **10** (1), 1-9 (1939)
- 71) \_\_\_\_\_ : 日蚕雜, **10** (4), 231-240 (1939)
- 72) 長島 栄一 : 日蚕雜, **27** (4), 227-234, 235-241, 242-246 (1958)
- 73) \_\_\_\_\_ : 日蚕雜, **27** (6), 393-399 (1958)
- 74) \_\_\_\_\_ : ニュー・エントモロジスト, **9** (3-4), 9-13 (1960)
- 75) 大西英爾・日高敏隆 : 動雜, **65** (5), 185-187 (1956)
- 76) OHTAKI, T : *Annot. Zool. Japon.*, **33**, 97-103 (1960)
- 77) PIEPHO, H : *Biol. Zentralbl.*, **58**, 481-495 (1938)
- 78) PLUNKETT, C. R : *Jour. Exp. Zool.*, **46**, 181-244 (1926)
- 79) POULTON, E. B : *Tranu. Ent. Soc. London*, **1892**, 293-487 (1892)
- 80) SASAKI, C : *Annot. Zool. Japon.*, **2** (2) (1898)
- 81) 佐々木 静 : 蚕糸研究, (6), 5-6 (1953)
- 82) STANLEY, W. F : *Anat. Rec.*, **41**, 114 (1928)
- 83) \_\_\_\_\_ : *Physiol. Zool.*, **4**, 394-408 (1931)
- 84) \_\_\_\_\_ : *Jour. Exp. Zool.*, **69**, 459-495 (1935)
- 85) 鈴木簡一郎 : 小熊捍博士退職記念論文集 (上), 15-19 (1948)

- 86) WEISMANN, A : *Zool. Jahrb. Abt. f. Syst.* **8**, (1895)  
87) 田中義磨 : 蚕業新報, (367, 368) (1924)  
88) URECH, F : *Zool. Anz.*, **19**, 163-174, 177-185, 201-206 (1896)  
89) 渡辺勘次 : 蚕試報, **3** (8), 439-456 (1918)  
90) WIGGLESWORTH, V. B : *Physiology of insect Physiology*, Cambridge University Press, (1954)

### R é s u m é

The effect of temperature, genetic constitution and hormone on the manifestation of the black pupa in the silkworm has been investigated. The silkworm strains used in this investigation are BT, C 4 and *so*. The results can be summarized as below.

1. In the BT strain (bivoltine) the color of pupa becomes black without exceptions if the prepupa is kept at 15-20°C and always remains normal at 30-32°C, but varies with the individual from normal to black at 25°C. Thus the manifestation of the black pupa is affected by the environmental temperature during the period from the end of spinning to pupation. The above-mentioned fact is quite true of C 4, but between C 4 and BT the susceptibility to the temperature is different and there is a great difference in the density of pupal color under the same temperature.

2. It has been proved by gene analysis that the manifestation of the black pupa is not due to *so* gene but to *bp* gene in BT as well as in C 4. But between BT and C 4, both of which have one and the same *bp* gene, the condition in the manifestation of the black pupa is different as mentioned above, so some other genetical factor besides the *bp* gene seem to be present, and in this respect it has been clarified by hybridization-test that the factor in question is of a genetical background.

3. By ligature in BT it has been determined that the endocrine organs, which gain control of the manifestation of the black pupa, are present in the head and thorax, and it has been suggested that the organ in the head plays an important role in the manifestation of the black pupa, but its action is not direct but exerts through the organ in thorax. The critical period in the secretion of hormone in question is at 7-10 hours before pupation.

4. It has been determined in BT by means of severing of nervous commissures as well as extirpation and implantation of ganglia that the manifestation of the black pupa is governed by the hormone secreted from the brain and thoracic-ganglion complex, whose secretion is controlled by the temperature during the prepupal period.

5. It has been supposed by the removal of each ganglion from brain to the first abdominal ganglion that, through the oesophageal connectives and nervous commissures, the brain facilitates the secretion of hormone from the metathoracic ganglion, which determines the manifestation of the black pupa. As to the action of brain upon the manifestation of the black pupa there can be two possibilities, *i.e.*, (1) mechanical stimulus through the nerves and (2) chemical stimulus such as the substance from the neurosecretory cell. Judging from the results of the experiments in which the extirpation and implantation of brain were made the former hypothesis seems more probable.

6. In the pupae of BT strain, whose molting character is artificially changed from the tetramolting to trimolting one either by ligaturing the fourth-instar larvae behind the head or by exposing fourth-instar larvae to high temperature and high humidity, the pupal color remains normal, even though the prepupa is kept at the low temperature. It may be presumed that the manifestation of the black pupa is influenced by the change of endocrine mechanism controlling the molting character, that is to say, it is deeply connected with the action of corpus allatum hormone and prothoracic gland hormone, especially that of the former, whose depression causes the color of the pupa to be normal.

7. It has been shown in *bp* strains other than BT and in *so* strains that the

manifestation of the black pupa is not due to the hormonal mechanism, and it has been presumed in C 4 that the effect of temperature on the manifestation of the black pupa is directed to the integument. It has been found in *so* strains that the manifestation of the black pupa is controlled by the environmental temperature during the prepupal period as in BT strain, although the susceptibility to the temperature appears to be weaker than in BT strain, the effect of temperature seems to be directed to the integument as in C 4.

8. It has been ascertained by the implantation of integument and the parabiosis among the various strains that the integument implanted becomes concolorous with the host and the hormone in BT has an effect upon the manifestation of the black pupa of C 4 and other strains with *bp* gene but without the hormonal mechanism.

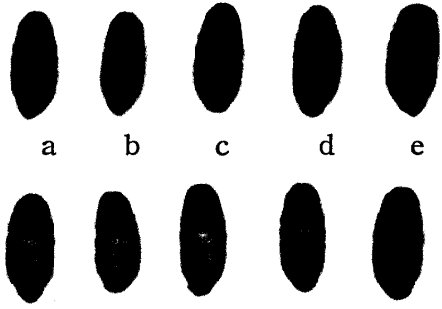
9. It has become clear by the rearing of various immature stages under the various temperature that in BT the low temperature ( $20^{\circ}\text{C}$ ), which fosters the manifestation of the black pupa, has no effect on the egg and is heightened gradually in effect on the prepupa > the fourth-and fifth-instar larva > the first- to third-instar larva, and the high temperature ( $28^{\circ}\text{C}$ ), which fosters the manifestation of normal color pupa, has no or almost no effect respectively on the egg and the first- to third-instar larva and is heightened gradually in effect on prepupa > the fifth instar larva > the fourth instar larva, while in C 4 which has the same *bp* gene, the manifestation of the black pupa is not affected at all by the temperature throughout the larval period.

10. In conclusion, the two conditions, *i.e.*, the presence of *bp* or *so* gene and the low temperature during the prepupal period are necessary for the manifestation of the black pupa. It seems that in BT one of the *bp* strains, the temperature during the larval and prepupal period gains control of the manifestation of the black pupa through the hormonal mechanism, but in the other black pupa strains, which lack such hormonal mechanism, the integument is directly influenced by the environmental temperature.

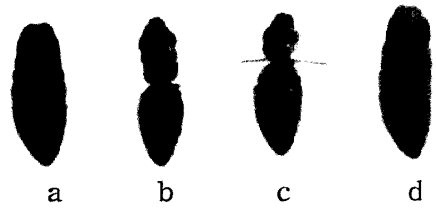
### Explanation of Plate

- Fig. A. Five standard pupal color types which were chosen according to the distribution and density of the black-pupal pigment (dorsal and ventral views). a, pupal color type I; b, type II; c, type III; d, type IV; e, type V.
- Fig. B. The color of pupae which were ligatured in the prepupal stage. Ligatures were performed behind the second abdominal segment after the end of spinning. Ligatured individuals were kept either at 20°C or 30°C. a, non-ligatured pupa kept at 20°C; b, ligatured pupa kept at 20°C; c, ligatured pupa kept at 30°C; d, non-ligatured pupa kept at 30°C.
- Fig. C. The color of pupae which were ligatured in the prepupal stage. Ligatured individuals were kept at 20°C. a, pupa ligatured behind the head; b, pupa ligatured behind the second thoracic segment; c, pupa ligatured after the critical period behind the second abdominal segment; d, pupa ligatured both behind the head and behind the second abdominal segment.
- Fig. D. The color of pupae from which various ganglia were removed in the prepupal stage. The treated individuals were kept at 20°C. a, pupa from which the brain was removed before the critical period of the manifestation of the black pupa; b, pupa from which the prothoracic ganglion was removed before the critical period; c, pupa from which the metathoracic ganglion was removed before the critical period; d, pupa from which the first abdominal ganglion was removed before the critical period.
- Fig. E. The color of isolated abdomens which were implanted with ganglia. a, b and c, isolated abdomens implanted with the complex of brain-thoracic ganglia; d, abdomen implanted with the brain; e, abdomen implanted with the complex of brain and suboesophageal ganglion; f, abdomen which was only wounded and kept as a control.

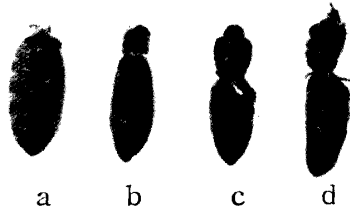
**A**



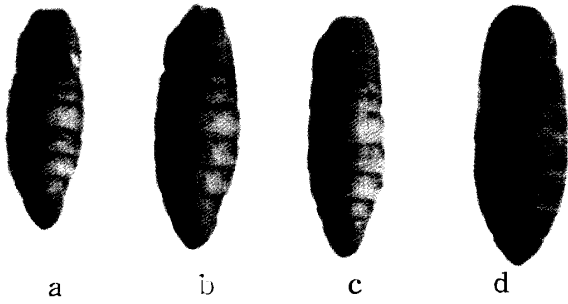
**B**



**C**



**D**



**E**

