Seri. J. of Korea Vol. 10 1969

家蠶卵胚子發育過程에서 Glucose 와 phosphorus 의 變動 및 放射線에 의한 影響

金 元 敬, 林 永 祐

〈서울農業大學〉

On the change of glucose and phosphrus of the silkworm eggs Bombyx, mori. L. during it development and the effect of γ-ray irradiation.

Kim, Won Kyong · Lim, Young Woo

Seoul Municipal Agricultural of College.

Summary

As a result of analyzing the change of material substance of all sorts biochemically and comparing the control with γ-ray irradiation (800r, 400 min), incubating the silkworm egges (bombyx. mori. L.) as the objective in the process of growth of embyro shortly before hatching, the following conclusion has been found.

1. Glucose has shown the increase of 281.2 mg/g in control during the pigment stage and it has shown the increase of 179.6mg/g in γ-ray irradiation during the same period. The difference in quantity between the former and the latter is due to the fact that the growth of embyro has been influenced by the radio active.

Glucose has changed with phosphorus the other way round. 2. Control organic phosphorus has shown the increase of 5.23 mg/g during the Byong B or KI A in which organ and tissue in the embyro has been formed.

Organic phosphorus in γ-ray irradiation has shown the increase of 5.73 mg/g during KI B.

Inorganic Phosphorus has shown only a little change in the control and γ-ray irradiation. The phosphorus in both has shown a little quantity in the γ-ray irradiation in early period of incubation.

After the Ki A embyro,, it has increased rapidly and it has increased till the hatching more continually than in control.

The about results of the research will be helpful and instructive to the betterment and improvement, breeding and management of animals and plants.

1. 緖 論

家蠶卵內 중요한 營養物로서 glucose 와 phosphorus 은 胚子發育에 따른 代謝作用에서 많은 變動이 있을 것으로 생각되는 등시에 放射線의 戟刺을 줌으로써 量的인 變動의 差異가 있을 것으로 豫見된다.

Chikushi(1939)[1]은 家蠶卵에 X-ray 照射는 致死的 影響을 주고 照射量이 많음에 따라 催青中 胚子發育이 느리고 死卵率이 增加한다는 것을 報告하였다.

AkaO HiRoNaKa (1941)[2]은 家蠶幼蟲 發育過程에서 glycogen 이 物質代謝에 必要되는 energy 源으로 重大한 生理的 意義가 있다고 하고 Itonsi (1951)[3]은 催青卵內에 DNA 와 RNA 에 關하여 feulgen 反應과 Pyromine Methyl Green 複染法에 依한 組織化學的 報告가 있다.

J.J. Burns (1956)[4]은 L-ascorbic acid 가 動物과 植物組織內에서 D-glucose 로 부터 合成된다는 報告가 있으며, Takeda (1959)[5]은 催青卵에 X-ray 을 照射시킨 것은 正常에 比하여 掃蠶後發育이 顯著하게 느리고 減蠶比率이 增加하며 繭의 形態가 異狀型이 많이 出現한다는 報告를 하였다.

그 밖에 Kurose T (1965)[6,7,8]은 燐이 缺乏된 桑葉에

人工的으로 ATPK_2 (adenosine-5-triphosphate K_2 salt) 와 GMPK_2 (α-*D*-glucose monophosphate K_2 salt) 및 K_2HPO_4를 添食시키고 糖分으로서 sucose와 glucose로 飼育한 結果 K_2HPO_4를 주지 않은 群에서 發育에 좋은 結果를 얻었다는 報告가 있다.

本 硏究에서는 家蠶卵을 對象으로 胚子發育過程에서 glucose와 phosphorus에 關聯된 諸物質의 變動을 生化學的으로 硏究한다는 것은 今後 蠶品種改良 및 保存에 길잡힘이 될것으로 著者는 思料되기 本 硏究를 行하게 된 것이다.

Ⅱ. 材料 및 驗實方法

1. 材　　料

가) 供試品種. 昭陽×雪岳

나) 產卵日字 1968年 6月 28日 採種한後 慣例的으로 自然溫度에서 保護하다가 多期에는 氷庫에 保護하여 이듬해 (1969) 5月 14日 卵內胚子가 丙$_B$에 이르러 40 g를 取하고, 催靑前에 20 g는 放射線 800 r (Cu filter 50 cm 前方)에서 40分 동안 照射시켜 標準區와 같이 漸進催靑法에 依하여 恒溫機內에서 催靑시키면서 供試材料를 Table I에서와 같이 採取하였다.

Table 1. Sample

Sample No.	Embryo stage Control	γ-ray irradiation
1	Byong B	Byong B
2	Ki A	Ki A
3	Ki B	Ki B
4	Pigment stage	Pigment stage
5	incubating stage	incubating stage

2. 實 驗 方 法

가) Glucose의[9,10] 測定

蠶卵 1 g를 採取하여 0.1 M phosphate buffer 5 m*l*를 넣고 sea sand와 함께 粉碎한 다음 10分間 centrifuging하여 上淸液을 取하고 여기에 9.5 m*l*의 borium hydroxide ($Ba(OH)_2$)를 넣고 强하게 混合한후 9.5 m*l*의 $ZnSO_4$ 溶液을 加하여 다시 잘 混合시키고 濾過시켜 濾液 0.5 m*l*를 取하여 1 m*l*의 alkaline copper를 添加한後 20分間 water bath에서 加熱시켜 冷却시킨 다음 여기에 1 m*l*의 Arsenomolybdate Color reagent를 넣어 잘 흔들어 混合하고, 표준용액으로는 10 m*l*의 蒸溜水에 0.5 m*l*의 standard glucose溶液을 만들어 specterophotometer를 利用하여 OD를 零에 맞춘 다음 filter 540 mμ에서 測定하였다.

나) phosphorus의[11,12] 測定

(1) Organic phosphorus

蠶卵 1 g를 採取하여 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4) 5 m*l*를 加하고 sea sand와 함께 粉碎한 다음 試驗管에 取하여 700 g에서 10分間 遠沈한 後 上淸液 1 m*l*를 取하여 5*N*-H_2SO_4 1 m*l*를 넣고 digestion시킨다. 만약 이때에 白煙이 나면서 黑變및 黃變할때에는 90%의 H_2O_2 2~3滴을 加하고 無色이 될때까지 繼續加熱한 다음 冷却 식히고 여기에 蒸溜水 5 m*l*을 넣고 그 다음 molybdate reagent Ⅱ를 1 m*l* 加하고 5*N*-1,2,4 Aminonaphtol sulforic acid 0.5 m*l*를 加한 다음 5分間 放置한後 spectrophotometer filter 660 mμ에서 測定하였다.

(2) Inorganic phosphorus

Organic phosphorus와 같은 方法으로 處理하여 上淸液을 取하고 10% TCA를 加하여 除蛋白하고 다시 上淸液을 取하여 5*N*-H_2SO_4 0.5 m*l* 加하여 digestion시키지 않고 molybdate reagent Ⅰ을 1 m*l* 加하여 發色시켜 5分間 放置後 specterophotometer 660 mμ에서 測定하였다.

Ⅲ. 實驗結果 및 考察

가) Glucose

Glucose는 生體內 原形質을 構成하고 있는 한가지 成分으로 物質代謝過程에서 energy sourse로 重要한 成分이다.

卽 이들 化合物은 加水分解되어 1 mole當 2~3 kcal에서 10 kcal에 이르는 free energy를 낼수있는 物質이다 또 glucose는 原來生體內에서 酸化되어 CO_2와 H_2O까지 分解되면서 energy를 產出하는 것이 그 代謝의 使命이라는 점에 蠶卵胚子 發育過程에서도 많은 變動이 있음을 本 實驗結果 確認하였다.

AkaO, HiRoNaRa은 蠶兒가 化蛹後 經過日數에 따라 體內 glycogen이 顯著하게 減少하여 化蛾直前 最少가 된다. 하였으며 雌蛾는 雄蛾에 比하여 glycogen量이 많았다는 것은 蠶卵內에 glycogen量이 많았다는 것을 의미하는 것으로 產卵直後 含量은 蛹體內 全量에 55%에 해당 한다고 하였다.

그리고 Chikushi은 蠶卵에 各種量의 X-線을 照射시킨 結果 卵에 致死的 影響을 주고.

Table 2. Analysis of Glucose during its development in silkworm egg

item	Treatment \ Sample No.	1	2	3	4	5
Glucose	Control	mg/g 78.1	mg/g 31.2	mg/g 39.1	mg/g 281.2	mg/g 125.0
	γ-ray	46.8 〃	15.6 〃	39.1 〃	〃 179.6	109.3 〃

照射量이 많을수록 發育이 느리며 死卵率이 增加한다 하였다.

本 實驗結果 Table 2에서와 같이 標準區에서는 點青期에 281.2 mg/g, γ-ray 處理區에서도 點青期에 179.6 mg/g으로 같은 時期에 各各 peak를 나타냈고 己$_A$ 胚子時期에 標準區가 31.2 mg/g, γ-ray 處理區가 15.6 mg/g으로 催青 過程中 最少量을 나타낸것은 胚子成長生理로 보아 反轉期後 孵化 2日前 卵內胚子 完成段階로서 이때에 活動이 活發하고 호흡量이 急激히 增加하여 energy源의 glucose가 增加된것이 아닌가 생각된다. 그리고 標準區에 比하여 γ-ray處理區에 glucose가 量的으로 적은 것은 放射線의 障害를 받은 結果라고 생각된다.

나) phosphorus

phosphorus는 動 植物細胞에 重要한 構成成分의 하나로서 一般的으로 細胞增殖 및 細胞가 活性化됨에 따라 增加하여 體內 炭水化物 代謝物로서 triosephosphate나 hexose phosphate의 燐酸化를 爲한 利用率이 增加하게 됨으로 炭水和物이 많은 때에는 燐酸鹽의 減少를 초래한다고 하는 事實에 비추어 本 實驗結果 Table 1와 glucose 變動과 Table 1의 organic phosphorus의 相互相反된 增減은 이사실과 一致되는 結果라고 생각된다.

Kurose T은 K_2HPO_4에 依한 蠶體成長과 糖分에 依하여 成長이 지연되었다는 점에 비추어 糖分이 吸收되는 것은 物質代謝過程에서 ATP와 作用하여 glucose-6-phosphate로 된다음 吸收되는것이 아닌가 생각되며 ATP는 燐自體가 主成分이라 볼 수 있으며, 만약 燐이 缺乏되면 ATP合成이 잘되지 않음을 暗示하여 glucose

Table 3. Analysis of organic phosphorus during its development in silkworm egg

item \ Treatment \ Sample No		1	2	3	4	5
Organic phosphorus	Control	4.89 mg/g	5.23 mg/g	3.05 mg/g	3.16 mg/g	3.63 mg/g
	γ-ray	2.72 mg/g	5.39 〃	5.73 〃	4.08 〃	4.01 〃

의 利用이 잘 이루어지지 않는 결과라고 생각된다. 또 Kim[13]은 蠶卵內 胚子發育過程에서 細胞分裂과 蛋白質合成에 關與되는 RNA (Ribonucleic acid)의 增加와 同時에 phospho lipid가 增加된다고 하였다.

卽 phospho lipid와 RNA增加는 細胞活性으로 因하여 物質代謝가한다는 것을 의미하며 동시에 蛋白質合成이 旺盛한 細胞일수록 RNA含量이 많은 것을 보더라도 蛋白質合成과 密接한 關係가 있음을 알 수 있다.

蛋白質이 合成될때에는 먼저 遺傳情報(genetic code)의 支配를 받게됨으로 遺傳因子는 deoxyribo nucleic acid (DNA)를 構成하고 있는 nucleotide에 AMP (adenosine monophosphate) GMP (guanosine monophosphate) CMP (cytosine monophosphate) TMP (thymine monophosphate)가 一定하게 配列되어 이루어지는 것으로 이들은 다같이 含燐 有機物에 屬한다 그런고로 本 實驗結果 Organic phosphorus가 反轉期前 胚子 內部組織 機管形成 時期前과 後인 己$_A$ 胚子에서 5.23 mg/g으로 peak를 나타낸것은 이 時期에 蠶卵內 細胞分裂과 蛋白質 合成이 가장 旺盛한 時期라 볼 수 있으며 Kim이 報告한바와 一致하는 結果를 얻었다.

有機物 代謝에서 燐이 生命維持에 重要한 機能을 가지고 있다는것과 物質代謝過程에서 energy 貯蓄 放出 및 運搬에 있어서 high energy phosphate bond (ATP)의 根本的인 역활이라던가 炭水化物 中間代謝時 hexose phosphate 및 triosephosphate의 重要性과 燐 脂質 核酸과 같은 燐含物의 代謝的 意義에 비추어 Table 2에서 Organic phosphorus와 Table 3에서 inorganic phosphorus가 己$_A$ 胚子에서 各各 peak를 나타낸것은 生理的으로

Table 4. Analysis of inorganic phosphrus its development in silkworm egg.

item \ Treatment \ Sample No		1	2	3	4	5
inorganic phosphorus	Control	3.07 mg/g	2.76 mg/g	2.61 mg/g	2.53 mg/g	2.84 mg/g
	γ-ray	2.76 〃	2.92 〃	2.13 〃	2.76 〃	3.30 〃

이 時期에 phosphorus가장많이 必要로 하게 됨을 暗示하는 것이고 그後 漸次的 減少는 호흡량이 增加하고 細胞分裂 및 蛋白質合成이 緩慢해진 結果라고 생각된다.

그리고 點青期부터 孵化直前에 이르기까지 增加를 보이는 것은 蠶蛾가 今後卵을 産고 나와 活動에 必要되는 energy 發動에 基因된 것으로 생각할 수 있다. 다음 放

은 照射한 區에서는 催青初期인 丙$_B$에서 Organic phosphorus가 2.72 mg/g이고 enorganic phosphorus 27.6 mg/g으로 最少로 標準區보다 적은것은 燐酸化應에 障碍를 받은 結果라고 보며 그後 己$_A$胚子를 前後서 標準區보다. 增加를 보인것은 放射線으로 因한 刺이 一定한 時間經過함에 따라 回復된 다음 오히려 刺되어 燐酸化 反應이 촉진 된것이 아닌가 생각된다. 리고. inorganic phosphorus가 催青卵期에서 3.30 mg/g로 最高를 나타낸 것은 胚子 成長 完成段階에서 蠶蛾 體形組織이 形成되기 爲한 無機質代謝가 旺盛한 結라고 생각된다.

Ⅳ. 結　　論

家蠶卵를 對象으로 試料의 一部를 催青하기前 放射線 10 r에서 40分間 照射시킨후 標準區와 같은 條件에서 催青하면서 glucose와 phosphorus의 變動을 生化學的으로 分析 檢討한 結果 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. glucose는 標準區가 點青期에서 281.2 mg/g으로 가장 많은 增加를 보이고 放射線 照射區에서도 같은 時期에 279.6 mg/g으로 最高를 나타내어 一致하였으나 定的으로 γ-ray 處理區가 적었다는 것과 phosphorus와 는 相反된 變動을 함을 알 수 있었다.

2. 標準區에서 Organic phosphorus는 反轉期前 內部 絲織機管이 形成되는 時期인 丙$_B$에서 5.23 mg/g 이었고 γ-ray 處理區는 己$_A$에서 5.73 mg/g으로 가장 많은 量을 나타내었고, inorganic phosphorus에서는 약간의 變動이 있었음을 알수 있었다.

그리고 放射線 處理區는 organic phosphorus와 inorganic phosphorus 다같이 催青初期에는 적었으나 己$_A$以後는 急激히 增加하여 孵化直前에 이르기까지 標準區보다 많았음을 확인하였다. 이상과 같은 結果를 얻은 것은 今後 生物의 品種改良을 爲한 育種 및 取扱保存에 크게 밑받침 될것으로 생각된다.

Ⅴ. 引 用 文 獻

1. ChiKuShi, H.O.; J.Seri. Japan., 10, 1939.
2. Akao, A. etal.; J. Seri. Japan., 12, 1941.
3. Itonsi, Y.etal.; J.Seri. Japan., 40, 18-185, 1951.
4. Burn, J.J. etal.; J.Biol. Chem., 231, 107, 1956.
5. TaKaDa, K. etal.; J.Seri. Japan., 28, 186, 1959.
6. Kurose, T.; J.Seri. Japan., 33, 333-338, 1964.
7. Kurose, T.; ibid., 34, 405-409, 1965.
8. Kurose, T.; ibid., 36, 71-75, 1967.
9. Nelson, N.; J. Biol. Chem., 153, 375, 1944.
10. Somogyi, M.; J.Biol. Chem., 160, 62, 1945.
11. Edward, H. etal; J. Clin Chem., 7, 37, 1961.
12. Fiske and Subbarow.; J.Biol. Chem., 66, 375, 1925.
13. Kim, H.S. etal.; J. Seri. Korea., 3, 23-28, 1963.