蛙卵の発育に対する高圧の影響に就て

岡山大学医学部第一生理学教室(主任:林 香苗授教)

安田浩士

[昭和34年8月20日 受稿]

」 緒

高圧の生活組織に及ぼす影響に就ては、当教室に於 て従来多くの研究がなされているが、其等の研究の一 端として蛙卵に対し、特にその発育を中心として高圧 が如何なる影響を与えるかを実験観察し、些かの知見 を得たので報告する.

雷

細胞分裂に対する高圧の影響に就ては、既に Marsland,¹², Pease¹⁶,~¹⁸, 等により広汎な研究 がなされ,800気圧以上の高圧でも分割する Ascaris megalocephala の卵を除くと、Echinodermata, Nematoda, Annelida, Mollusca 等の卵分割が200 ~400気圧前後の圧で阻止されることを報告してい る.一方,超音波^{8,22},紫外線^{2,9},の如きものによ る卵に対する作用に就ても古来多くの研究がなされて いる.之等の成績を比較検討してみるのも意味あるも のと考えられる.

「実験装置並びに材料・方法」

実験装置に就ては前に述べた様に,高圧油圧ボンベ 装置を使用した²³. 一部の成績を除き大部分のもの は小型(500 kg/cm² 迄可能のボンベ)高圧装置を使 用した.

実験材料としてはとのさま蛙(Rana nigromaculata)の卵を用いた.成書¹⁰,によればとのさま蛙は 5月中旬頃に多く産卵するとされているが、当所では 多少それより早い傾向があり、従つて実験は昭和25, 26年の4月から5月にかけて行なつた.受精卵を得る には人工的に得る方法もあるが、恒温設備のないため 気温の点等も考え自然産卵の時期を選んだ.冬眠より さめた雄蛙に抱擁された雌蛙を一対宛容器内に飼育 し、それより産卵された卵を受精卵として用いた.未 受精卵は雌のみ別に飼育したものより採取した.

実験方法としては,特に述べる程のことはなく,蛙 卵は大きさも大であり,ウニ卵の如く顕微鏡による観 察も必要でなく,肉眼乃至 Lupe を以て種々なる変 化を時間を追つて観察した。受精卵を対照と加圧例と に大体二分して試験管に入れ加圧実験した。この際油 の混入を防ぐために磨合せした蓋を有する試験管を特 別に作り(第1図), 先端迄水を満して高圧装置内に



挿入した.加圧強度の大なる程蓋の 開放性先端部より油が侵入するが、 之は除圧後先端部を指で押えつつ蓋 をとれば油の混入する恐れはない。 かかる操作を加えた卵並に対照卵を-夫々、水に満したシャーレに入れ、 逐次起つてくる変化を時間を追つて 観察したものである。尚、対照例は 出来るだけ加圧例と条件を同じくす る様に努めた、実験はすべて室温 (18°~20°C) に於て行なつた。 尚、水圧の圧力単位は気圧を以てし たこと従来と同じ、産卵直後は卵相 互の間隔が密であるが、時間の経過

するにつれ次第に周囲のゼリー層は膨潤し間隔は漸次 広くなるので、この間隔から或る程度産卵の時期を推 定出来る.

■ 実験成績

▲ 予備実験として、室温に放置して蛙卵の分割発 育過程の時間的経過を知る目的で産卵直後より変化を 追つて観察した.温度を一定にし得ないため以下の実 験は常に対照をとつて行なつたが、大体時間的経過は 一定していた。即ち産卵後3時間前後になると球形を していた卵の上極部がやや扁平となり、突然に幽かな 線条を認め之が直ちに上半球をきれいに二等分する溝 となる(第一分割).更に略々1時間前後すると上極 て第一分割溝と直交する経線上に溝が現われ、卵は4 つの殆んど等しい大きさの分割球になる(第二分割). その後1時間前後すると緯線的に、且つ上極に偏つた 分割溝が現われて上下を不等分に二分する(第三分)

加圧強度 (kg/cm ²) 加圧時間 (min.)	分	割	その後の発育
50~100,10	対照と差な	L	正常発育39(%) 異常発育 0
200, 10	対照に比し 稍々深い・ 不規則分割	分割溝が はない・	正常発育26 異常発育 2
300, 10	不規則な分 分割時期は ぬ.	割を認める. 対照と変ら	正常発育16 異常発育 6
400, 10	不規則な分	割多し	正常発育 9 異常発育 7
500, 10	分割の時期 又不規則な れる。(分 のの数が増	が遅れる. 分割がみら 割しないも す)	正常発育 0 異常発育16
300, 30	分割は認め 不規則なも る.(32%)	られるが, のが多くな	正常発育 7 異常発育 3
500, 30	 一部の のが、 のが、 である 尚,除凹、 時間 に い に い に い い	分割を認め 則なものは (64%) 後卵るものの の 経過と共	正常発育 0 異常発育10
1000~1600 30分	卵の位置 , 乱れ,分割(られず,尚) のに細いそ した部分を がある。	方向が全く は全く認め 一部のも 月状に褐色 認めること	発 育0

第1表 分割前の受精卵に対する加圧成績

割). その後第三分割溝に直交した溝を生ずる(第四 分割). それ以後は各分割球により遅速があり且つ不 規則であるが、上半球では分割がどんどん行なわれ多 数の小細胞になる、産卵後10時間前後経過すると分割 溝は認め難くなる.数日後蝌蚪となり外包を脱出し解 化が完成する.以上の変化の内,第一分割から第四分 割位迄は観察し易いし時間的経過も余り長くないの で,主としてそれらの時期について圧の影響を見た.

- B 受精卵に対する加圧実験:
- (1) 産印直後より第一分割以前の時期の卵に対する 加圧の影響:

100~1600 気圧迄の圧力を5~60分, 受精後より第 一分割以前の種々なる時期に加え除圧後、卵割の経過 を追究した. その一部の成績を第1表に示したが, 500 気圧 以下の圧力では分割を認めるか,1000気圧以 上では全く分割は阻止される。従つて1000気圧以上で はその後の発育もみられないが、500気圧では分割は

第2表	第1分割以後の受精卵に対する
	加圧成績

				_	_
加圧強度 (kg/cm ²) 加圧時間 (min.)	加圧時期	分	割	その 発	ーーー 後の 育
100, 20	2-cell stage	対照と大差 分割満が少 じあり・	なし. し深い感	正常発 異常発	育76 %) 育3
300, 20	"	分割がおく; 又多少不規	れる. 則.	正常発 異常発	育28 育16
1000, 20	11	分割は 停止 (時間の経 不規則,不 をみる)	す. 過と共に 完全な溝	発	育0
100, 10	4-cell stage	対照と大差 規則正しい みる・	なく , 分割を	正常発 異常発	育88 育 0
300, 10	"	対め化の割照時に分にありる、 照てなもをが、対割進る少)、 にそれのす第第照をん・し 第加、はす43としで(早 のして(早	分別のくる割割時以く後も割に後れがへをに後も対のしは一て、移せ第同の照も始変部分対るず4様がよあ	正常発 異常発	育57 育14
500, 10	11	加割例の面も消尙で 加割例の面も消尙同ずるはく 加割例の面も消尙の 「 に あ (100 100 100 100 100 100 100 10	はがも割ず間の分分。こか 第、4-球ると場割割分比多 分圧11表とにと経移溝深、	正常発 異常発	育21 育25
700, 10	"	分割はおく 完全,不規 を認める.	れ、又不 則な分割	発	育0
500, 30	"	除 除 低 後 40分	して 対め 規 た 始 が 規 思 ま ・	兊	育0
100, 20	8-cell stage	加川市の市内である。	は 第 加 観 約 の 制 制 の 分 む し	正常発 異常発	育94 育0

```
第2図
```



認められても殆んど不規則,歪な分割であり,その後 の発育を観察しても正常な発育をせるものは全く認め られない.比較的低い圧では正常と大差を認めない が,300気圧前後より不規則な分割(第2図)が現わ れるようになり、その数も圧力が増すと共に増える. 加圧卵に共通している事は、分割溝が深いことで、対 照卵に於ては美しい秩序整然とした分割を示すに反し て、加圧卵では人為的に刻み込んだ如き観を呈する分 割溝を示す。1600気圧という高圧では、全く分割が認 められない外に、対照例乃至加圧例でも分割の進行す るものは、どの卵も黒色の上半部を上に、淡黄白色の 下半球を下に秩序よく排列しているのに反して、その 排列は全く乱れバラバラになつている. 更にかかる卵 はその後長く放置するも 最 初 の ままの姿から変化せ ず、又一部に多少の白色溷濁を生ずるも、対照卵の如 く分割せざる場合の強い白濁輪は認められない。加圧 卵が分割する場合、上述の分割溝の深いこと、不規則 な分割を示すこと以外に、分割の時期がおくれる事が ある(加圧強度の大なる程)。唯一部のものて正常の 卵より多少経過が速やかに進行したものも認められた が, かかる時も除圧後或る 時期 迄は殆んど差がない か,おくれていた。尚、1600気圧加圧の場合、一部の ものに細い半月状の褪色した部分を認めたが、之は分 割する場合に溝となる部分に相当した場所の如く思わ れた。

(2) 第一乃至第四分割迄の時期の卵に対する加圧実 験:

第2表に示す如く2~8 cell stage の卵に加圧し たものにつき除圧後その発育経過を観察した.(1)の場 合より変化を詳しく認めることが出来た。直接加圧中 の変化は装置の関係上観察出来なかつたが、次の分割 へ移る直前のものを撰ぶことにより加圧中の分割の有 無を知ることも出来る。100気圧,20分加圧の場合。 除圧直後の観察で,既に加圧前より次の分割へ進んだ ものを認めたので、かかる比較的低い圧力下では何等 分割に影響を与えていないということが云えよう. 300 気圧 前後の圧力になると、分割は一時停止乃至遅 延し, 更に高い圧になると完全に阻止される。 又, 300 気圧 前後で種々不規則な分割を起し、例えば 4cell stage ても極めて不均一な 4-cell 或は 3-cell など(第2図)が認められるに至る.興味あることは 300~500気圧で、除圧後の観察により分割が一時停止 している像を呈しているものが、次の分割へ移ること なくそれを経ないで更に次の分割へいきなり移ること である.場合によつてはそれ以後は寧ろ対照より幾分 分割が早くなることもある。尚,(1)と同様,分割溝は 対照に比し加圧卵は溝が深く、又歪なものが出現す る.分割前の受精卵への加圧成績と比較して,第一分 割後の卵への加圧は同一加圧でもその影響が少ない様 に思われる.

(3) Neurula の時期に於ける加圧実験:

前二者の成績と比較して, 圧影響が少ない様であ る.尚.比較的低い圧では促進的傾向を認め得るので はないかと考えて加圧してみたが,対照との間に認む べき差は見出せなかつた.

(4) 圧の後作用:

上述の加圧による卵が、その後如何に発育するかを 観察することにより、圧の後作用ともいうべきものを しらべた。第1,2表に示す如く低い圧では正常な対 照と差のない発育を示すものが多く、高い圧になるに つれ、正常なものの数が減じ、逆に異常形態をとるも のが出現して来る(第3図).更に蝌蚪として完全に 孵化したものについても,高い圧 (300~500気圧) で は第3図(下)の如き 異様な形態を具えた蝌蚪とな り,正常な発育をするものの数は減じ,500気圧では 全くなくなる。更に高い圧では異常形態のものも見ら れずすべて発育したものは見られなくなる。従つて一 時的に不規則な分割を示したものの中には途中で発育 しなくなるものがあるものと考えられる。尚、異常な 形態をしたものは、運動も正常のものと異なり、容器 の底をグルグルと廻転するか或は極めて緩徐に前進運 動する。多くの異常な形態を具えたものを観察すると 第3図



大体次の如き点が認められる、即ち正常の蝌蚪に比し 体が極めて倭小である、尾部の彎曲が著しい、腹部が 風船状に膨大している、腹部或は背部に症状乃至半球 状の突起を認める、眼を認め得ないものがある等極め て多様性に富んだ像が認められる、又、蝌蚪が寒天様 の外包を脱出するのが、加圧圧ではおくれるものが多 い.

C 未受精卵に対する加圧実験:

未受精卵に対し種々なる強度、時間の圧を加えてみ たが、特別認むべき変化はなかつた。唯或る時期に極 めて不規則な、分割溝に類似のものを生ずることもあ ったが、その後何等変化は見られなかつた。従つて加 圧により分割をおこさせること、 或は parthenogenesis は認められなかつた。

D 加圧卵への加熱実験:

蛙卵は産卵直後から次第に外層にあるゼリー層が膨 潤して厚くなるが、産卵後の受精卵に加圧した場合に 此の層の膨潤に対し、圧は何等かの影響を与えている ものと考えられる。之を間接的にみる為に、加圧卵に 熱を加えておこる変化を観察して対照卵と比較した。 大体 70~80°C 前後になると、 非加圧卵のゼリー層 は白色に溷濁し、時間の経過と共に薄くなるが、卵表 面の層は強く白濁し二重層を形成する。之に対し、 1000~1600気圧を加えた卵では僅かに 膜様に、且つ eccentric に白濁を生じて前者と比べ、 相当の相違 を示す (第4図). 圧が低いとゼリー層の薄い白濁を 生じ、更に低い圧では対照と同様の像を呈する。之か らゼリー層の膨潤に対し圧が何等かの作用を与えてい ると考えられる、

尚,参考迄に魚卵(金魚卵の受糖卵)に対する加圧 実験を行なつたが、蛙卵のそれに比して圧に対する抵 抗が強く、500気圧以上でも発育し得る。 之は蛙卵の





場合,周囲のセリー層に対する圧の影響がある為か, 或は従来の種々なる成績から類推して高等動物の組織 程圧に対し抵抗が弱いとも考えられよう.

Ⅳ考 按

卵分割乃至発育に関する水圧作用の実験は古くから 種々なる材料によつて為されている。即ち Regnard 19) は Salmonidae (魚卵)を100~650気圧迄の圧 で6時間加圧し、100~200気圧では対照と同様である が、400、500気圧では6日後、650気圧では2日後死 減すると云い, その後 Draper, Edwards +> 7 は Fundulus (海産) の卵を受精後直ちに加圧 (1200~ 1950 lbs/in²) することにより対照より遅れて発育す ることを報告し、特に 1500~1950 lbs., 1~2 時間 加圧で、各分割期が対照より15分位宛おくれることか ら、細胞分裂の機構よりも発育をおこさせる過程に影 響を与えるのであろうと云つている、又、同時にその 後の発育に於て、 体軀の彎曲、 循環系の変化などの 異常発育をなすものがあると云つて居る. その後. Brown, 8, Marsland, 12, 18, Pease 16,~18, 等に より Arbacia 卵を中心として多くの材料に就いての 研究がなされ、大体200~400気圧で分割を阻止し得る といい,加圧により分割の遅延乃至停止することを述 べているが、例外的なものとして Ascaris megalocephala が800気圧以上の圧力下でも分割することか ら8000米の深海にすむ生物の細胞分裂の可能性を指摘 している.

一つの細胞が二つに分れるという過程は多くの反応 を含んでいると考えられる. 圧力がこの分割乃至分裂 に作用する場合,かかる反応に関係する酵素系の働き に直接影響を及ぼすと共に,細胞の Sol-Gel 反応及 び細胞全体の構造の上に影響を及ぼすことも考えるこ とが出来よう. Marsland¹²,等は特別な centrifuge-pressure apparatus を使用し,Arbacia 卵の 粘性が加圧した場合減少するを証し,分割溝の形成に 内部細胞質及び皮質層の Sol-Gel 反応が主要な 役割 をなすという Schectman, Chambers⁵,等の考え から,この Sol-Gel 反応を変調するため 加圧卵の分 割が遅延乃至阻止される,或は分割溝の浅くなること を説明している.

私の蛙卵の加圧実験に於ては除圧後、分割溝が不規 則, 歪であることの外に溝が深いことが認められた. Marsland, Jaffe 14) によると, Rana pipiens に於 て分割溝は深くなるが(約500~700気圧相当の圧で) 一過性であり、1~4分で再び浅くなる、又約700気 圧以上では深くなること が 認められないと云つて居 る.私の実験では加圧中の変化を追求することは装置 の関係上出来なかつたが、200~300気圧でも除圧後分 割溝の深いのが認められる. Marsland 等の云う様 に、溝が一過性にだけ深くなるのならば、それは除圧 後には観察出来ない筈である。何れにしても, 蛙卵の 場合、溝の深くなることは確実であり、之は Arbacia 卵の場合と趣きを異にして居る。分割が遅れ又は阻止 されること, 不規則な分割がみられること等に於て, Arbacia卵 を含めその他の 卵分割と本質的な相違は 多分ないと思われるか, Sol-Gel 反応からのみでは蛙 卵の観察成績は説明され難いとも考えられ、蛙卵が 卵、黄を多く有し比較的大きい卵てあることに、かか る相違の一因があるのかも知れない. 尚Marsland14) 等の実験温度は23~25°C,私の場合18~23°C であ り、温度に於ては大差がないと考えられる。

加圧卵が除圧後, 或る stage をとび越え て次の stage に移ることが観察されたが, この興味ある現象 は, Marsland^{12,18)}等, 或はその後行なつた教室 のウニ卵の観察(未発表)から類推して, 加圧により 細胞質の分割は停止しても細胞核の方は分裂してゆく ためであろうと考えられる.

受精蛙卵に対する圧影響は、その卵の分割時期によ り相違があり、第1、2表で判る如く同一加圧でも分 割前の方が分割中(2~8 cell stage)のものより 影響が大きい、更、Neurulaでは圧影響があまりみ られない、X線照射²⁰⁾の場合、受精卵が最も感受性 大であり、次いで第1分割卵、Neurula、蝌蚪の順であ るという報告があるが、私の圧実験の成績とも同じて あり発育時期によりその感受性が異なつていることが よくわかる.更に超音波^{8, 22,}の場合にも,分割前に処 理した方が分割後に処理したものより発育の異常,或 は不規則な分割を示す範囲が多いという成績がある.

さて、生活組織に対する物理的な要因として Vlès ⁹⁴)は、機械的エネルギー、radiation のエネルギー、 電気エネルギーの三つに分類しており、機械的刺激を 更に高水圧、ガス圧、重力作用、遠心力、超音波等の 五つに分け、高水圧をその第一番目に上げている。か かる機械的刺激とみられるものの卵分割或は発育に対 する諸研究者の種々なる成績を参考としその内の二、 三につき比較検討して卵分割乃至発育に対する圧作用 を論じてみよう。

ヒキガエルの卵を遠心沈澱すると尾が頭の先につい ている如き畸型を生じたと云われているが,之は内部 の細胞質の移動することによるものと思われ,私の使 用した高水圧は全周から平等に作用するものであり, 従つて生ずる畸型も自ら差のあるわけである。又, Beams, King^{1,6},が重力の150,000倍の遠心力に より蛔虫卵の卵割を阻止したというが,この遠心力 によつて卵に加えられた圧力は Marsland の示す如 く僅かな皮質の液化を惹起させるにも足りないもので ある.従つてこの遠心作用の影響が卵割現象にとつて 重要な或る種の物質の沈澱によるものであると云えよ う.

超音液³³はウニ卵の分割を遅らせ、不規則にする、 軽度乍ら促進効果が観察される、受精膜形成を促進す る、異常発育をさせる等の変化をおこさせる。之に 対し、圧作用はウニ卵の受精形成を抑制する、^{11,17,1} 卵分割を遅延乃至阻止せしめる^{12,1}ことなどが認めら れ、超音波の如く促進作用を認める如き成績が殆んど みられない。或は非常に低い圧の処で促進させる如き 圧があるのかもしれないが、私の蛙卵に於ても明らか に促進したという事実は認め難かつた。

尚、加圧により,特に 500 気圧前後迄の圧力により 著明に異常形態を具えた蝌蚪を認めた。即ち,正常に 比し体の倭小なこと,營曲の著しいこと,体に膨隆乃 至突起を認めること,眼を具えてないものがあること 等の畸型を呈している。之より程度は軽いが類似した ものが多数の対照中に稀に見られることもある点から 圧に特 異 的 な ものがどうかは断言 出 来ないが, 唯 Rugh ²⁰,の蛙卵のX線照射により異常形態を生じた という成績をみると,非常に私の見たものと酷似して いることは興味深いものであり,発育過程に何等か傷 害をうければその起させるものの種類によらず,かか る畸型を生ずるものかもしれない.又,この加圧受精 卵から畸型を生ずることは、Chromosome の Aberation によるという考え方も出来ようが、 今後更に 核、染色体の詳しい研究が必要であろう.

最後にゼリー層に対する圧の影響に就て一言した い・蛙卵のゼリー層は構成物質も明らかでないが,内 部の卵に比して比較的均一なものと思われるから多分 圧作用の影響も少ないと考えられる。併し前述の加熱 実験におけるゼリー層の態度が加圧で異なる事実か ら、分割前に加圧せる方が分割後に加圧したものより 影響の大きいことに何等かの影響を及ぼしていると考 えられる。産卵直後からゼリー層が膨潤する現象に対 し特に圧は著明に働くのではないかということが,ウ ニ卵の受精膜隆起が圧で抑制されるという事実¹⁷,と も関連して十分考え得るのではあるまいか。従つて私 の蛙卵の成績に於て,このゼリー層に対する圧影響も 除圧後の発育に対し見逃し難いものと考えられる。

V 結

蛙の受精卵に対し水圧を加えた場合、次の如き成績

渝

文

- 1) Beams a. King : J. of Cell. a. Comp. Physoil., 34, 439, 1949.
- 2) Blum, Robinson a. Loos : J. of General Physiol., 35, 323, 1952.
- Brown: J. of Celll. a. Comp. Physiol., 5, 335, 1934.
- 4) Cattell : Biol. Rev., 11, 441, 1936.
- 5) Chambers : J. of Cell. a. Comp. Physiol., 12, 149, 1938.
- Davson: A Textbook of General Physiology, J. & A. Churchill Ltd., London, 1951.
- 7) Draper a. Edwards : Biol. Bull., 63, 99, 1932.
- 8) 原:実験生物学報,Ⅲ,2,47,1953.
- 9) Henshaw: Biol. Bull., 71, 399, 1936.
- 10) 市川: 蚌学, 裳華房, 昭26年.
- Johnson, Eyring a. Polissar: The Kinetic Basis of Molecular Biology, Wiley, New York, 1954.
- 12) Marsland : J. of Cell. a. Comp. Physiol.,
 12, 57, 1938 ; ibid., 13, 15, 1939 ; ibid., 36,

浩士

が得られた.即ち,

(1) 1000気圧以上では分割は全く阻止される.

(2) 300~500気圧では不規則且つ歪な分割が認められ,分割は遅延する.又,加圧卵は対照に比し分割満 が深い.

(3) 除圧後分割の或る時期(例えば第3分割)を越 えていきなり次の stage に移行するものがある.

(4) 受精後種々の時期の卵に圧を加えた場合,分割 前の卵が最も圧の影響をうけ易い.

(5) 加圧卵より体の倭小, 彎曲, 膨隆など異常形態 を呈する蝌蚪が出現する.

(6) 未受精卵には形態的に認められる如き変化はなく, parthenogenesis も生じなかつた.

(7) 圧はゼリー層にも影響を与えるものと考えられる.

擱筆するに当り終始御懇篤な御指導並に御校閲を賜 わつた恩師林教授に謹みて感謝の意を表す.

献

205, 1950.

- Marsland a. Brown : J. of Cell. a. Comp. Physiol., 20, 295, 1942.
- 14) Marsland a, Jaffe : J. of Cell. a. Comp. Physiol., **34**, 439, 1949.
- 15) 本川,一般生理学,上卷,三共社,昭24.
- 16) Pease : Biol. Bull., 78, 103, 1940.
- 17) do: J. of Cell. a. Comp. Physid., 19, 1, 1942.
- Pease a. Marsland : J. of Cell. a. Comp. Physiol., 14, 407, 1939.
- 19) Regnard : C. R. Soc. Biol., 37, 48, 1885.
- 20) Ruch : J. of Cell. a. Comp. Physiol., 43, Suppl. 39, 1954.
- 21) Schectman: Science, 85, 222, 1937.
- 22) 高島, 桂: 解剖学雑誌, 28.
- 23) 丹原: 岡医誌, 第64巻, 5号, 第683号, 909, 昭27年.
- 24) Vlès : Traité de physiol. norm. et path.
 T. 1, 861, 1933.

Studies on the Effects of high Hydrostatic Pressure upon Fertilized Frog Eggs

By

Hirosi Yasuda

lst. Dep. of Physiol. Okayama Univ. Medical School (Director : Prof. K. Hayasi, M. D.)

Following results were obtained with fertilized frog eggs.

(1) The cleavage delays at 500 kg/cm^2 and stops at higher pressure than 1000 atm.

(2) The cleavage furrow becomes irregular and deep at $300 \sim 500 \text{ kg/cm}^2$.

(3) Abnormal tadpole often developes from compressed fertilized eggs.

(4) It is supposed that jelly layer of frog eggs is also affected by high pressure.