



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

ウリミバエの精子形成に対するガンマー線照射の影響

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2022-06-07 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 桜井, 宏紀, 白石, 礼子, 伊藤, 嘉昭, 照屋, 匡, 武田, 享 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/5506

ウリミバエの精子形成に対するガンマー線照射の影響*

桜井宏紀・白石礼子・伊藤嘉昭¹⁾・照屋 匡²⁾・武田 享

生物生産制御学講座

(1989年8月1日受理)

Effect of Gamma-Radiation on the Spermatogenesis of Melon Fly, *Dacus cucurbitae*

Hironori SAKURAI, Reiko SHIRAISHI, Yoshiaki ITO**

Tadashi TERUYA*** and Susumu TAKEDA

Department of Controlled Plant Production

¹⁾*Faculty of Agriculture, Nagoya University*

²⁾*Okinawa Prefectural Agricultural Experiment Station*

(Received August 1, 1989)

SUMMARY

The melon fly, *Dacus cucurbitae* Coquillett is an important pest in Okinawa Prefecture, the South Eastern Island of Japan. They do harm to 55 species of vegetables and fruits. A large scale eradication program through the sterile-male technique has been done by the Okinawa Prefectural Agricultural Experiment Station since 1975. For advancement of this technique, the study of the sterilizing mechanism by gamma-radiation in the melon fly is necessary. The effect of gamma-radiation on the spermatogenesis was studied in the melon fly, which was irradiated with 7kR gamma-ray at pupal stage.

Light microscopic observation demonstrated that the testis of irradiated fly was much smaller than that of normal one, in which the cysts of spermatogonia and spermatocyte atrophied (Figs. 1—6). In the seminal vesicle of irradiated fly, the spermatozoa were much fewer than in the normal fly (Figs. 7—10). In the spermatheca of normal female which mated with irradiated male, hardly any spermatozoa were found (Figs. 11, 12).

Electron microscopic observation demonstrated that in the testis of irradiated fly the spermatogonium and spermatocyte were collapsed and these cysts were vacuolated (Figs. 19, 20). Also the nucleus of trophic cell was collapsed and absent (Figs. 17, 18). Compared to the normal fly, the spermatozoa of irradiated fly were very few; the structure of fine filaments was obscure and only thick filament originated from mitochondria was found distinctly (Figs. 13—16). In the spermatheca of normal female which mated with the irradiated male, the spermatozoa were few and showed almost an abnormal appearance (Figs. 21, 22).

Gamma-radiation of the melon fly pupae greatly disturbed spermatogenesis and resulted in

* 岐阜大学農学部昆虫学教室業績No.118

1) 名古屋大学農学部害虫学教室

2) 沖縄県農業試験場

production of abnormally few spermatozoa. Results demonstrate the mechanism to cause almost 100% sterility in the melon fly by gamma-radiation.

Res. Bull. Fac. Agr. Gifu Univ. (54) : 59—69, 1989.

要 約

ウリミバエは沖縄県では重要な害虫であり、55種の野菜や果実を加害する。沖縄県農業試験場は1975年以来、不妊雄放飼によるウリミバエの大規模な撲滅計画を実施してきた。この方法を発展させる上で本種におけるガンマー線照射による不妊化機構に関する研究は重要である。そこで蛹期にガンマー線を照射した成虫について、精子形成の異常を検討した。

顕微鏡観察の結果、照射虫の精巣は正常虫に比べて著しく小型で、精原細胞と精母細胞の退化がみられた。照射虫の貯精囊中の精子含量は少く、またこれと交尾した正常雌の受精囊では精子は殆ど見出されなかった。顕微鏡観察の結果、照射虫では精原細胞と精母細胞の崩壊とシストの空胞化がみられ、端細胞の核は崩壊、消失した。照射虫の精子の構造は不明瞭であり、またこれと交尾した雌の受精囊では異常な形状の精子が少数観察された。

観察結果から、7 kR のガンマー線照射によりウリミバエの精子形成は強力に攪乱され、少数の異常精子が形成されることにより、ほぼ100%の不妊化率をひき起すものと推定された。

諸 言

ミバエ類の多くは果樹や果菜類の重要な害虫である。ウリミバエ *Dacus cucurbitae* Coquillett はニガウリ、スイカ、キュウリなどのウリ類や、トマト、ピーマンなどの果菜類、パパイヤ、マンゴウなどの果実類の大害虫である。本種は東南アジアが原産地で、日本には約80年前に侵入し、沖縄諸島全域及び奄美諸島に分布域を拡大し、現在本土への侵入が警戒されている。そのため本種及びこれ加害する作物の沖縄県外への移動は、植物検疫法により一切禁止されている。沖縄県農業試験場は本種の撲滅のために不妊虫放飼法による大規模な防除計画を1975年以来実施し、現在までに久米島や宮古群島で根絶が確認されており、沖縄本島での根絶も間近かに迫っている。本種におけるガンマー線照射による不妊化の機構を明らかにすることは、不妊虫放飼法の技術を発展させる上で不可欠である。

そこで本研究では、ウリミバエの精子形成に及ぼすガンマー線の影響を、顕微鏡及び顕微鏡により組織学的に検討することにより、不妊化の機構を明らかにした。

材料及び方法

供試昆虫：沖縄県農林水産部ミバエ対策事業所で、人工飼料により累代飼育しているウリミバエ¹⁾を実験に使用した。不妊化処理のため羽化2日前の蛹に対しコバルト60によりガンマー線を70kR照射し、放射線照射虫を得た。成虫は粗糖とタンパク分解物を4:1に混合した餌を与えて飼育した。

電子顕微鏡観察：2.5%グルタルアルデヒド・リン酸緩衝液中で虫体を解剖し、精巣と受精囊をとり出し前固定した後、2%オスミック酸で後固定した。エタノール系列により脱水し、QY-1を浸透剤としてエポキシ樹脂に包埋した。ガラスナイフで試料の超薄切片を作製し、フォルムバールを支持膜とするシートメッシュに付着させた。2%酢酸ウラニルと佐藤²⁾の鉛染色液で切片を二重染色し、岐阜大学計測センターの電子顕微鏡(日立H-800型)により組織観察と写真撮影を行った。

光学顕微鏡観察：10%ホルマリンまたは90%アルコールで固定した虫体を水洗後、ブタノール系列で脱水した後、パラフィン包埋した。ミクロトームにより5 μ mのパラフィン連続切片を作製し、ヘマトキシリンとエオシンで試料を二重染色し、顕微鏡観察した。

結 果

1. 光学顕微鏡観察

羽化1日後：正常虫の精巣は楕円形を呈し、その前端部では精原細胞と精母細胞のシストが存在し(Fig.

1), 後端部では精細胞嚢や精子束が分布していた(Fig. 3)。一方, 照射虫の精巣は正常虫に比べて小型で, その前端部では精原細胞と精母細胞の核濃縮がみられ(Fig. 2), 後端部でみられる精子束は正常虫に比べて全般に膨大, 伸長していた(Fig. 4)。

羽化15日後: 正常虫の精巣は発達し, 後端部では貯精嚢の領域が分化して精子が貯溜されており(Fig. 7), また前端部では精原細胞と精母細胞の数は増加した(Fig. 5)。これに対し, 照射虫の精巣の外皮は肥厚して否な形状を呈し, 後端部では貯精嚢に精子の貯溜がみられたものの, 精子束や精細胞は存在しなかった(Fig. 8)。また前端部では精原細胞と精母細胞の崩壊, 退化が観察された(Fig. 6)。

羽化25日後: 正常虫の精巣は発達して細長く管状となり, 後端部では貯精嚢はだ円状となり, 中央部では精子束と精細胞が充満し, 前端部では精原細胞と精母細胞の発達が顕著であった(Fig. 9)。照射虫の精巣の外皮は著しく肥厚し, 後端部の貯精嚢では精子は減少し(Fig. 10), 前端部では精原, 精母細胞群は退化した。

受精嚢: 8日令の雌を25日令の正常雄または照射雄と1時間交尾させた後, 雌の受精嚢中の精子の存在状況を観察した。正常雄と交尾した雌の受精嚢中には精子が充満していた(Fig. 11)。一方, 照射雄と交尾した雌の受精嚢中では精子の存在状況は不明瞭であった(Fig. 12)。

2. 電子顕微鏡観察

正常虫: 羽化25日後の雄成虫の精巣の微細構造を電顕により観察した。精子の頭部は電子密度が著しく高く, 頭部後端より鞭毛が伸長し, 精子は集合して精子束を形成していた(Fig. 13, 15)。鞭毛は2本のミトコンドリアのコードと1本の軸索により構成され, また軸索は1対の微小管の周囲を9対の微小管が取り囲み, 更にその周囲を9本の粗大な管が取り囲んだ構造であった(Fig. 14)。精母細胞のシストは電子密度が高過るため, 精原細胞と精母細胞の両シストの区別はできなかった(Fig. 17, 19)。端細胞は非常に大型の細胞で不定形の核を有し, その周囲に精原細胞, 精母細胞, 精子などが分布していた(Fig. 17)。

照射虫: 羽化25日後の照射虫の精巣では, 端細胞の周囲及び崩壊した精母細胞群の間に少数の精子が存在していた(Fig. 16)。精子の構造は不明瞭で太いミトコンドリアのコードのみが観察された。また端細胞は核が崩壊し, 核内に核濃縮物が集積していた(Fig. 18)。精母細胞の大部分は細胞質が崩壊し, 空胞化していた(Fig. 20)。しかし少数の精巣では正常虫とほぼ同様な構造の精子が僅かではあるが観察された。

受精嚢: 25日令の雄と1時間交尾した8日令の雌について, 受精嚢中の精子の存在状況を電顕観察した。正常虫と交尾した雌の受精嚢中には, 正常な形状の精子が充満していた(Fig. 21)。一方, 照射虫と交尾した雌の受精嚢では精子数は著しく少く, また大部分の精子の構造は不明瞭で軸索の繊維束構造はみられなかった(Fig. 22)。

考 察

不妊虫放飼法を害虫防除に適用し発展させる上で, 不妊化の機構の解明は不可欠である。昆虫の精子形成に対する放射線の影響については, ラセンウジバエ³⁾, チチュウカイミバエ⁴⁾, ミカンコミバエ⁵⁾, ウリミバエ^{6,7,8)}などで照射による精子形成の異常が報告されている。ガンマー線照射したウリミバエにおける光顕観察で, 精原細胞の消失と精母細胞の崩壊・退化がみられたことから, 精子形成機能が阻害されていることが分る。また羽化1日後の照射虫でみられた結合力の弱い伸長した精子束は, 活力の低下した異常精子となる前段階的变化と考えられる。羽化15日及び25日後の照射虫の貯精嚢中に存在していた精子の大部分は, 電顕観察によりほとんど異常精子とみなされた。また照射虫の精巣中でみられる精子は, 精子束を形成しない自由精子であったことは, 規則的な精子形成の過程が照射により攪乱されたことに原因すると考えられる。更に照射虫では精母細胞の退化や, 精原細胞の養育に関係する端細胞の核の崩壊・消失がみられたことは, 精子形成機能の顕著な阻害作用を示しており, 照射虫の精子形成能力の回復の可能性がほとんどないことが示唆される。

ウリミバエの精子の鞭毛の構造は一般の背椎動物のそれと同様であり, 2本のミトコンドリアと1本の軸索により構成されている。また軸索の中心部に1対の微小管がみられたことは, 昆虫全般に共通的な構

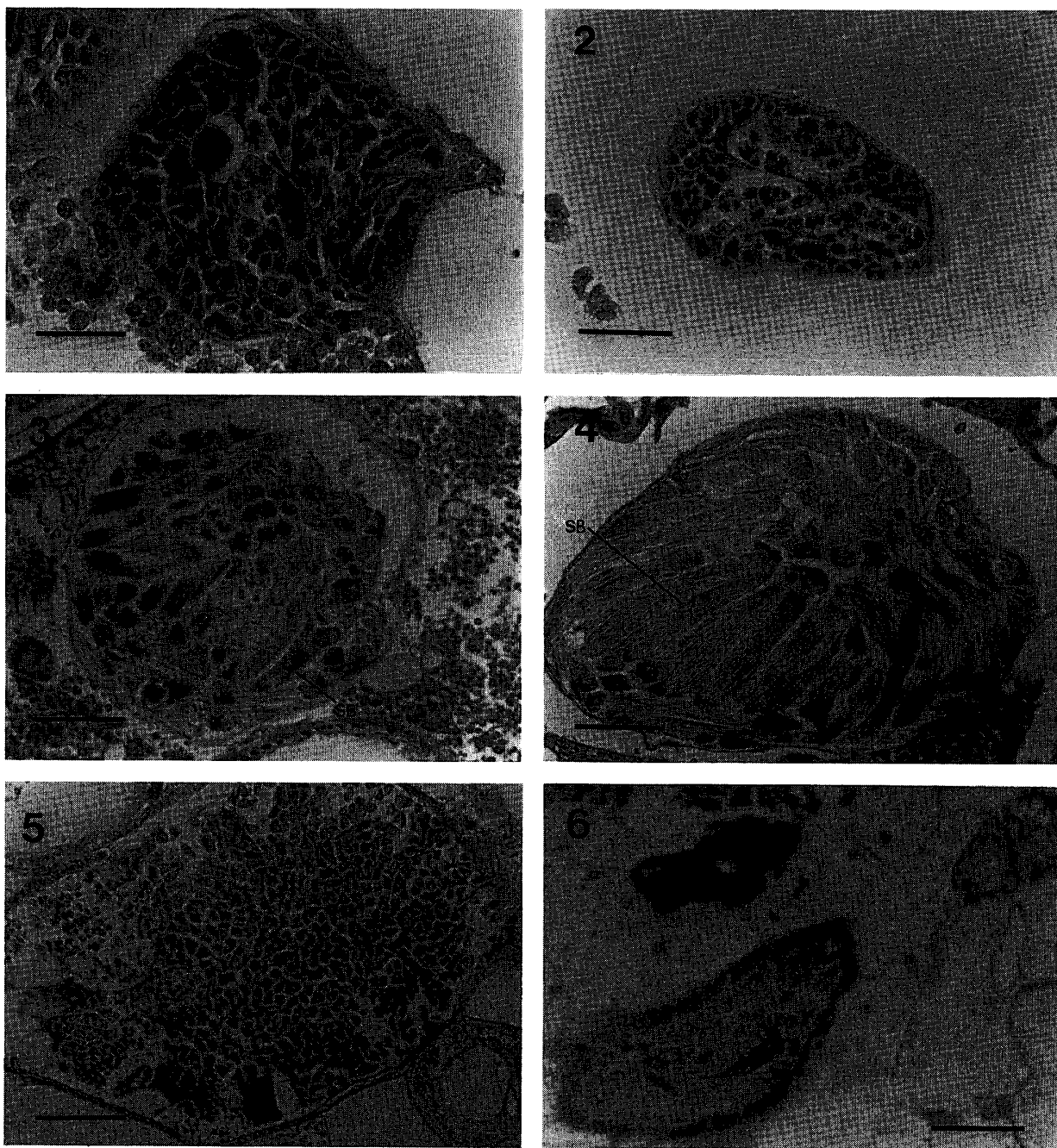
造と考えられる^{9,10)}。照射虫の精巣中にみられた少数の精子は、大部分が鞭毛の軸索の構造が不明瞭でミトコンドリアのコードのみしか観察できなかったことから、不妊化に関係する精子の異常はこの鞭毛の軸索の異常に関係しているのではないかと考えられる。事実、不妊虫の精巣を解剖し顕微鏡観察してみると、鞭毛の活発な運動性を示す精子が極く僅かしかみられないことから、このことは裏づけられる。照射虫と交尾した雌の受精嚢内には精子はわずかしか取り込まれておらず、またその精子も鞭毛の構造が不明瞭な異常精子が大部分であった。従って、この異常精子が受精に関与する可能性は非常に少ないと考えられる。照射虫と交尾した雌が産んだ卵のふ化率は約1%で、99%の不妊化率を示す¹¹⁾。この照射雄によってもたらされる不妊効果、即ち優性致死突然変異は外観上は正常精子と変らない行動の活発な不妊精子が卵の受精に関与し、胚子の発生過程が中断されることにより起ると一般には考えられている。しかし、本研究の結果からは照射虫の精子の大部分は活力のない異常精子と判断されたことから、ガンマー線照射による優性致死突然変異の実態を知るためには、胚子発生学的アプローチが今後必要と考えられる。

謝 辞

電顕観察に際して御便宜を頂いた岐阜大学計測センターの村瀬由美子技官と高橋知美氏に感謝申し上げます。本研究の一部は文部省科学研究費補助金（No.63480040）および第14回日産学術研究助成金の補助を受けて行った。記して謝意を表する。

文 献

- 1) Nakamori, H. & Kakinohana, H. : Mass-production of the melon fly, *Dacus cucurbitae* Coquyukkett, in Okinawa, Japan. Rev. Plant Protec. Res. **13** : 37-53, 1980.
- 2) 佐藤泰山：超薄切片用鉛染色法の一改良法。J. Electromicroscopy, **17** : 158-159, 1968.
- 3) Riesman, J. G. : A cytological study of radiation effects in testes of the screw-worm fly, *Cochliomyia hominivorax* (Diptera ; Calliphoridae). Ann. Entmol. Soc. Am. **60** : 308-320, 1967.
- 4) Anwar, M., Chambers, D. L., Ohinata, K. & Kobayashi, R. M. : Radiation of the mediterranean fruit fly (Diptera : Tephritidae) : Comparison of spermatogenesis in flies treated as pupae or adults. Ann. Entomol. Soc. Am. **64** : 627-633, 1971.
- 5) 清久正夫：¹³⁷Csガンマー線不妊線量照射ミカンコミバエの精子と卵形成および染色体の異常。応動昆中国支部会報**18** : 5-11, 1976.
- 6) 林 幸治・小山重郎：ウリミバエ成虫の外部および内部形態に対するガンマー線照射の影響。応動昆**25** : 141-149, 1981.
- 7) 照屋 匡・西田喜美子・田尾政博・久場洋之：ウリミバエ *Dacus cucurbitae* Coquillett (Diptera : Tephritidae) の精巣による不妊虫と野生虫の判別法—精巣の外観による判別の再検討と染色による識別について—。沖縄農業 **20** : 31-37, 1985.
- 8) 坂之内踐行・大戸謙二・佐土嶋敏明・福島・満：ウリミバエ雄生殖細胞の観察による不妊虫と野生虫の識別について。植防研報**21** : 17-26, 1985.
- 9) Retenakaran, A. & Percy, J. : Fertilization and special modes of reproduction. Comprehensive Insect Physiol. : 231-293, 1985.
- 10) Philips, D. M. : Insect sperm : their structure and morphogenesis. J. Cell Biol. **44** : 243-277, 1970.
- 11) Teruya, T. & Isobe, K. : Sterilization of the melon fly, *Dacus cucurbitae* Coquillett, with gamma-radiation : Effect on rate of emergence, longevity and fertility. Appl. Ent. Zool. **10** : 298-301, 1975.



Abbreviation of term in the figure.

AF : axial filament, CB : condensed body, M : mitochondria, N : nucleus,
SB : sperm bundle, SC : spermatocyte, SV : seminal vesicle,
SZ : spermatozoa, T : trophic cell.

Fig. 1-12. Light microscopic observation of testis and spermatheca. Scale : 50 μ m.

Fig. 1. Anterior part of testis in 1-day-old normal adult.

Fig. 2. Anterior part of testis in 1-day-old irradiated adult.

Fig. 3. Posterior part of testis in 1-day-old normal adult.

Fig. 4. Posterior part of testis in 1-day-old irradiated adult.

Fig. 5. Anterior part of testis in 15-day-old normal adult.

Fig. 6. Anterior part of testis in 15-day-old irradiated adult.

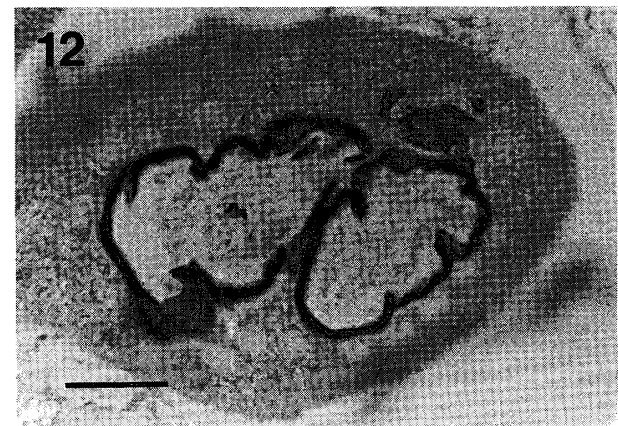
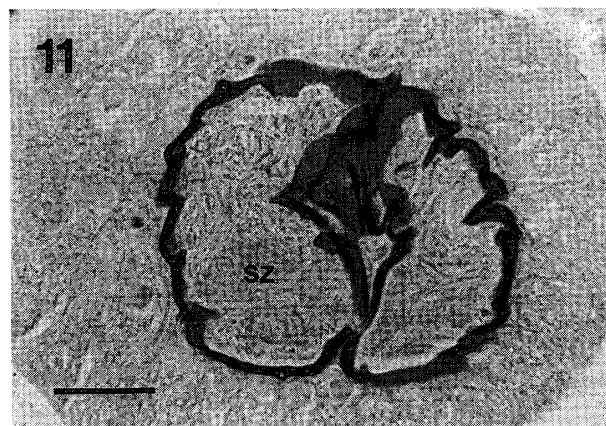
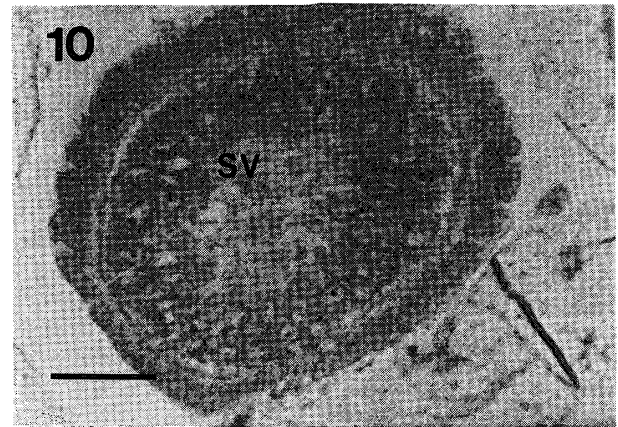
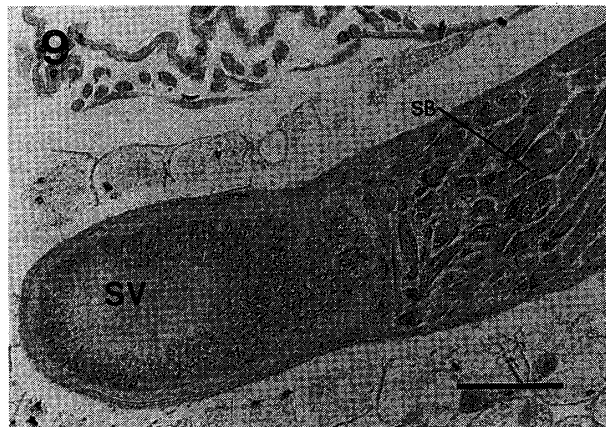
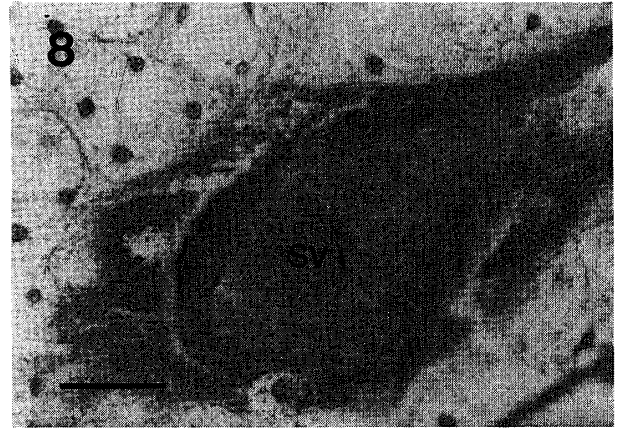


Fig. 7. Posterior part of testis in 15-day-old normal adult.

Fig. 8. Posterior part of testis in 15-day-old irradiated adult.

Fig. 9. Posterior part of testis in 25-day-old normal adult.

Fig. 10. Posterior part of testis in 25-day-old irradiated adult.

Fig. 11. Spermatheca of female mated with normal male.

Fig. 12. Spermatheca of female mated with irradiated male.



Fig. 13-22. Electromicroscopic observation of testis and spermatheca.

Fig. 13. Spermatozoa of normal male. Scale : $1\mu\text{m}$.

Fig. 14. Spermatozoa of normal male. Scale : $2\mu\text{m}$.

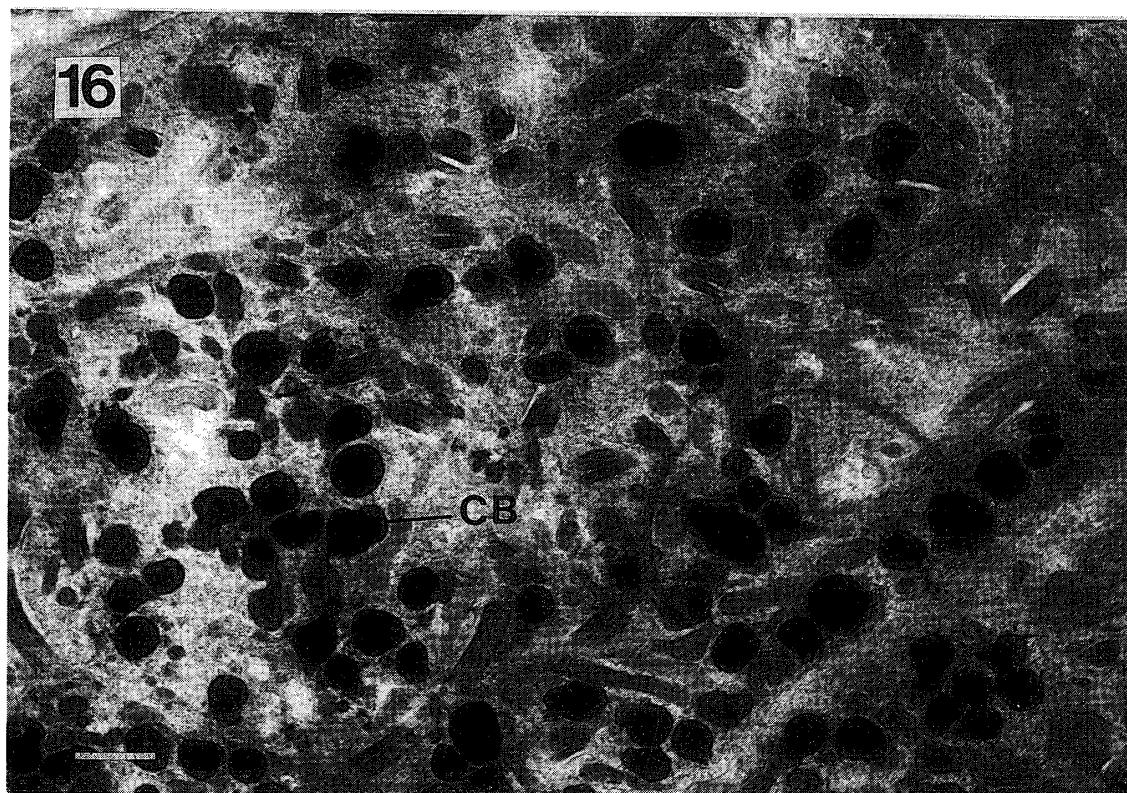
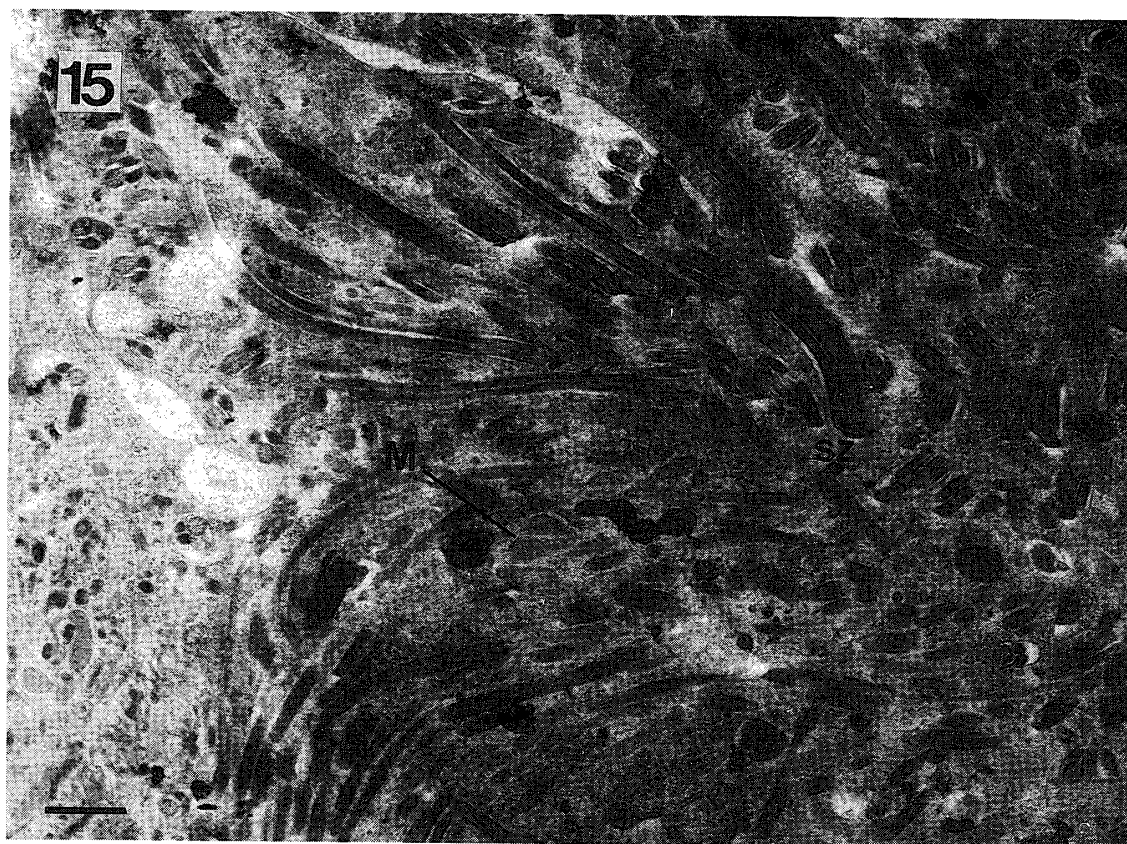


Fig. 15. Spermatozoa of normal male. Scale : $1\mu\text{m}$.

Fig. 16. Spermatozoa of irradiated male. Scale : $1\mu\text{m}$.

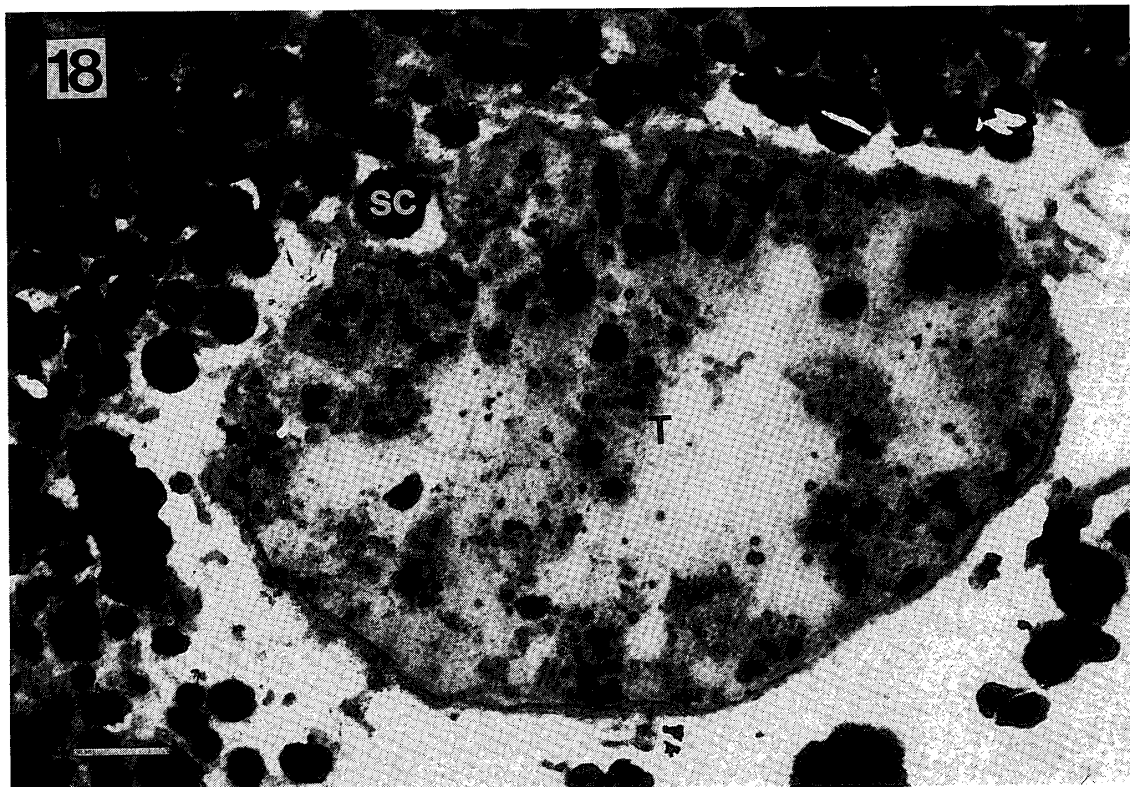
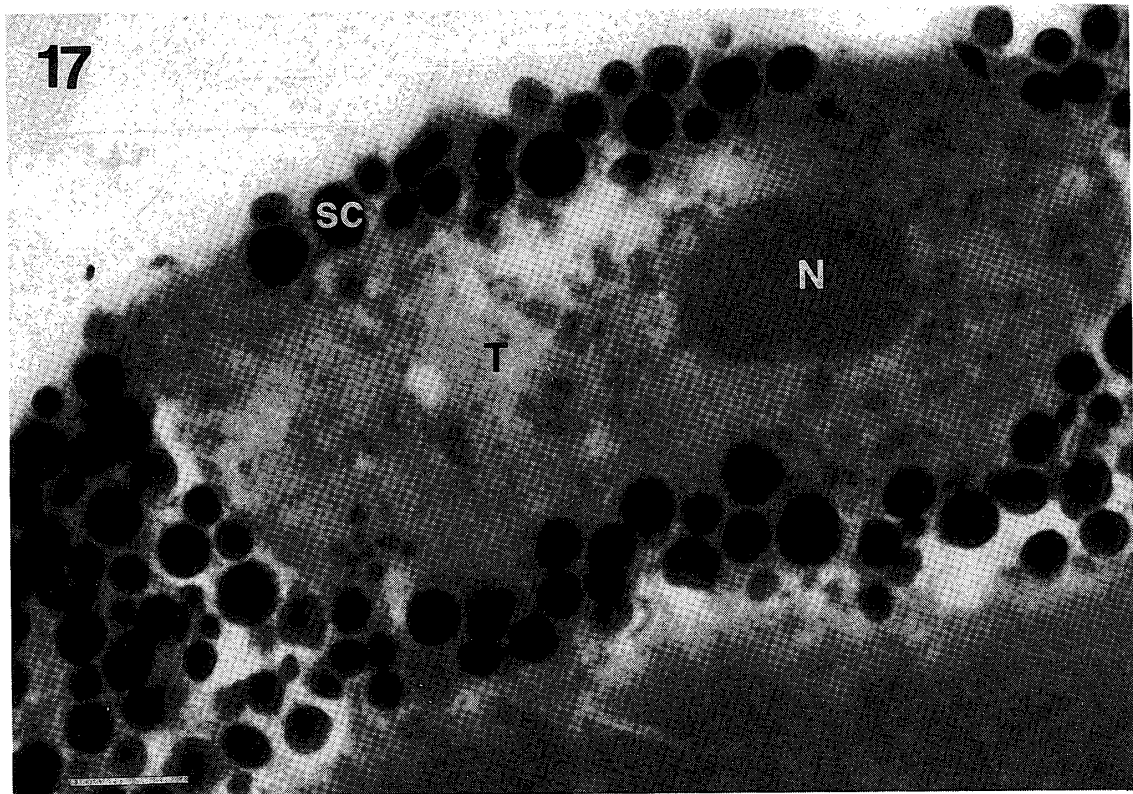


Fig. 17. Trophic cell of normal male. Scale : $2\mu\text{m}$.

Fig. 18. Trophic cell of irradiated male. Scale : $2\mu\text{m}$.

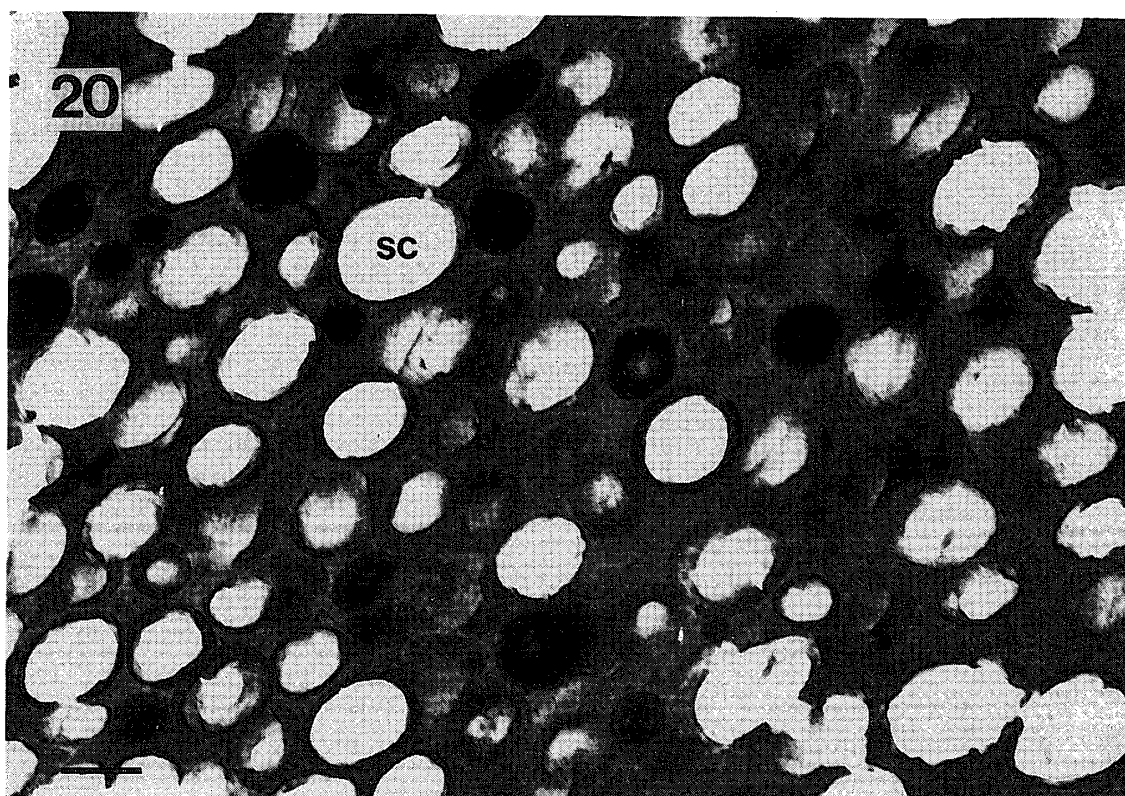
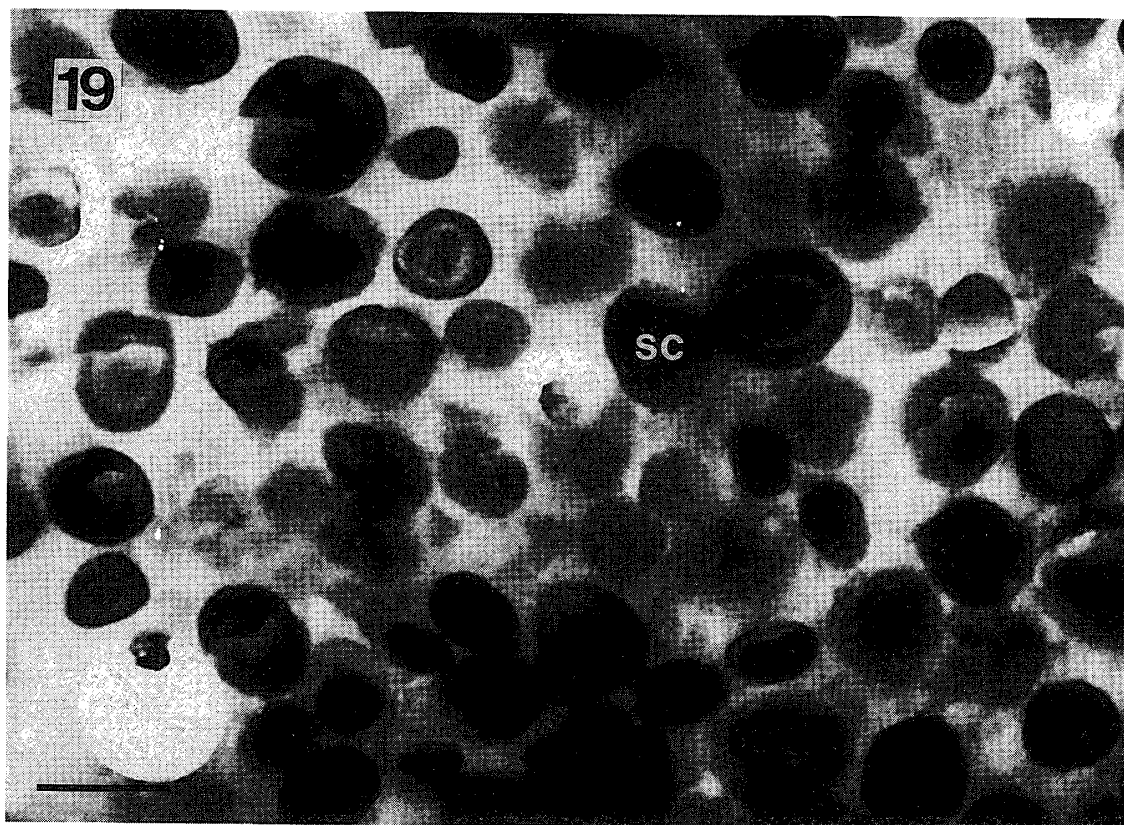


Fig. 19. Spermatocyte of normal male. Scale : $1\mu\text{m}$.

Fig. 20. Spermatocyte of irradiated male. Scale : $1\mu\text{m}$.

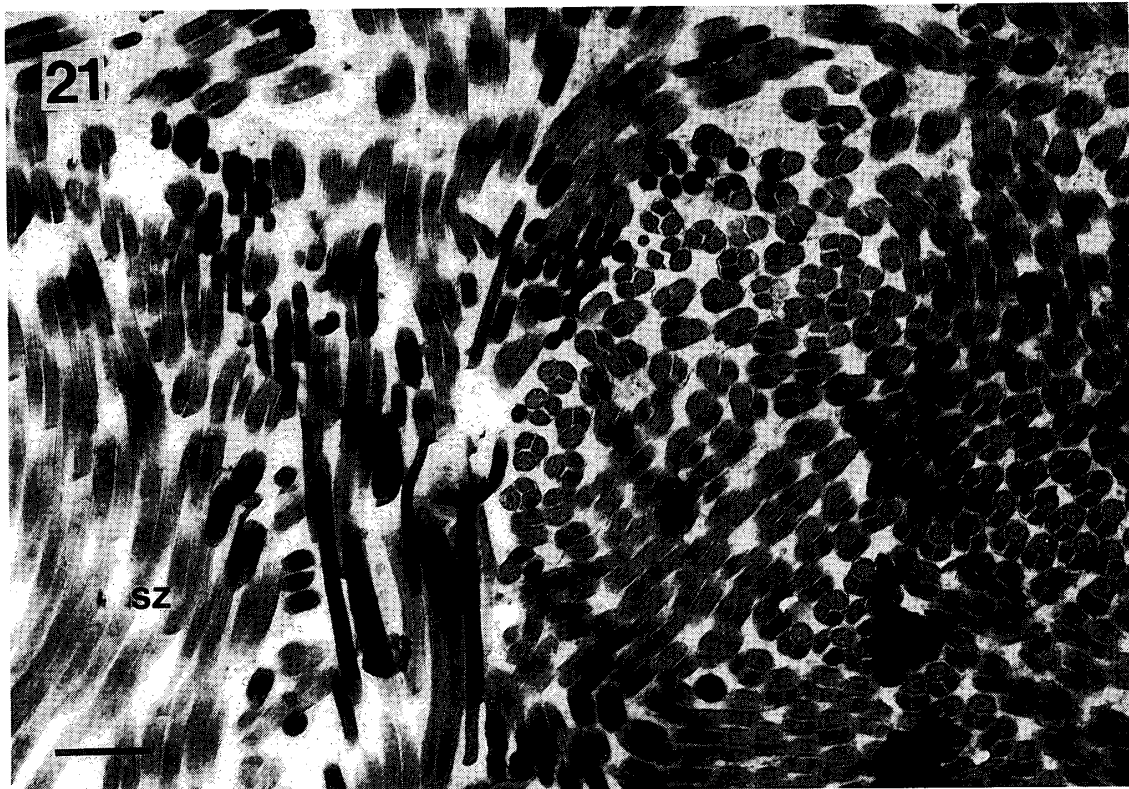


Fig. 21. Spermatheca of female mated with normal male. Scale : $1\mu\text{m}$.

Fig. 22. Spermatheca of female mated with irradiated male. Scale : $1\mu\text{m}$.