



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

ガンマ線照射によるイモゾウムシ雌の不妊化機構に関する研究

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2022-06-08 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 桜井, 宏紀, 村上, 善紀, 小濱, 継男, 照屋, 匡 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/5518

ガンマ線照射によるイモゾウムシ雌の 不妊化機構に関する研究

桜井宏紀・村上善紀・小濱継男¹⁾・照屋 匡¹⁾

生物生産制御学講座
(2000年7月19日受理)

Sterilizing Mechanism of Gamma-radiation in the Female of West Indian Sweet Potato Weevil, *Eusceps post fasciatus*

Hironori SAKURAI, Yosiki MURAKAMI, Tsuguo KOHAMA and Tadasu TERUYA

Department of Controlled Plant Production

(Received July 19, 2000)

SUMMARY

To study the mechanism of gamma-radiation in the female adults of the West Indian sweet potato weevil, *Eusceps postfasciatus*, the effects of gamma-radiation on their oogenesis and digestive function were examined histologically. In the irradiated female adults, histological changes related to the inhibition of oogenesis were found in light- and electron-microscopic observations. In the irradiated adults, a collapse of epithelial tissue of the midgut was also observed. This suggested digestive obstruction resulting in the short life-span of gamma-irradiated female adults.

Res. Bull. Fac. Agr. Gifu Univ. (65):13-20, 2000

要 約

イモゾウムシの雌における放射線不妊化の機構を明らかにするため、卵形成と消化機能に及ぼすガンマ線照射の影響を検討した。羽化後2日目の雌個体へのガンマ線照射により、卵母細胞の発育は抑制され、70Gy照射虫では卵胞の濾胞上皮細胞の核濃縮や核崩壊により、卵母細胞への栄養供給は阻害されて成熟卵が形成されず不妊化した。一方、70Gy照射虫の中腸上皮では円柱細胞の核の崩壊・退化がみられ、中腸内腔には桿状の共生細菌が群生した。また、成虫の虫体のグリコーゲン含量は照射により激減し、90Gy照射では減少は顕著であった。このことから、ガンマ線照射により中腸上皮に障害を生じ、栄養欠乏を起こすことが成虫の寿命低下の一因であると推察され、体細胞に影響が少ない照射線量や照射時期の決定の必要性が示された。

緒 言

現在、我が国の南西諸島ではサツマイモの最重要害虫であるイモゾウムシ (*Eusceps postfasciatus* Fairmaire) とアリモドキゾウムシ (*Cylas formicarius* Fabricius) の防除を目的として、不妊虫放飼法による防除試験が行われている^{1, 2)}。不妊虫放飼法による防除に際しては大量増殖した不妊虫を雌雄ともに放すので、放飼雌についても不妊化の実態を明らかにすることは重要である。また近年、不妊虫作成の過程で照射虫の寿命が正常虫と比べて低下していることが問題化しており、この照射虫の寿命低下の原因を探ることも重要な課題となっている。そこで、イモゾウムシの雌に対するガンマ線照射による不妊化機構を明らかにするため、雌の生殖細胞と体細胞に及ぼすガンマ線照射の影響を、卵巣と消化管の中腸 (midgut) を中心に組織学的に検討した。また、成虫の貯蔵栄養に対するガンマ線の影響について、虫体のグリコー

1) 沖縄県ミバエ対策事業所

ゲン含量を測定し検討した。

材料及び方法

供試昆虫：沖縄県ミバエ対策事業所で累代飼育しているイモゾウムシの雌成虫を実験に使用した。不妊化処理のため羽化後2日目の成虫にコバルト60によるガンマ線を50, 70, 90, 120Gy (グレイ) の各線量を照射した。羽化後14日目の照射虫について卵巣と中腸を光学顕微鏡と電子顕微鏡により組織観察した。

光学顕微鏡観察：70%エチルアルコールで固定した虫体を水洗し、ブタノール系列で脱水した後、パラフィン包埋し、ミクロトームにより5 μ mの連続切片を作成し、光学顕微鏡により組織観察した。

電子顕微鏡観察：2.5%グルタルアルデヒド・リン酸緩衝液 (pH7.2) 中で虫体を解剖し卵巣と中腸を取り出して前固定した後、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成し、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の鉛染色液³⁾で切片を二重染色し、岐阜大学機器分析センターの電子顕微鏡 (日立H-8100型) により組織観察と写真撮影を行なった。

グリコーゲン含量の測定：雌成虫を1頭ずつ5%トリクロール酢酸 (TCA) を加えてガラスホモゲナイザーで磨碎し、遠心分離により得られた上清に5倍容のエタノールを加え5℃に1日間置いた後、遠心分離によりグリコーゲンを沈殿させ、アンスロン硫酸法によりグリコーゲン含量を比色定量した⁴⁾。

結 果

1. 非照射虫の卵形成過程

イモゾウムシの卵巣は、端栄養室型 (telotrophic type) の4本の卵巣小管 (ovariole) からなり、卵巣小管は端糸 (terminal thread), 生殖巣 (germarium), 卵黄巣 (vitellarium) 及び卵巣小管柄 (ovariole stalk) の4つの部分に区別された (Fig.1, (a))。卵形成初期 (羽化2日後) の生殖巣では卵原細胞から未熟な卵胞 (follicle) が分化した (Fig.1, (b), Fig.2, A, B)。卵胞は1個の卵母細胞 (oocyte) を濾胞上皮細胞 (follicle cell) が取り囲んだ構造である。羽化4~6日後には卵胞は肥大し栄養素が発達し、羽化8日後には発達した卵母細胞核を有する卵胞が卵管柄中に送り出された。羽化10~12日後の卵黄形成後期の卵胞は卵母細胞により占められ、薄層化して扁平状になった濾胞上皮細胞より卵殻が卵胞の周囲に分泌され (Fig.2, C), 種々な形状の卵黄球が卵質中に蓄積していた (Fig.2, D)。

電子顕微鏡観察の結果、卵黄形成中期の卵胞の濾胞上皮細胞の核は発達し、分散クロマチン (dispersed chromatin) と濃縮クロマチン (condensed chromatin) によって占められ、細胞質中に発達したミトコンドリアや粗面小胞体が分布し、細胞の外周囲には顆粒状の卵黄前駆物質が多量に分布している組織像が見られた (Fig.3, A)。卵黄形成後期の卵胞では濾胞上皮細胞の細胞質中にタンパク小球が多量に分布し、また濾胞上皮細胞と卵母細胞の表層部の卵黄層 (vitellogenic layer) との間の細胞間隙には、卵母細胞の卵黄層より伸びた微絨毛状の突起物が多数存在しており (Fig.3, B), 卵黄層中にはタ

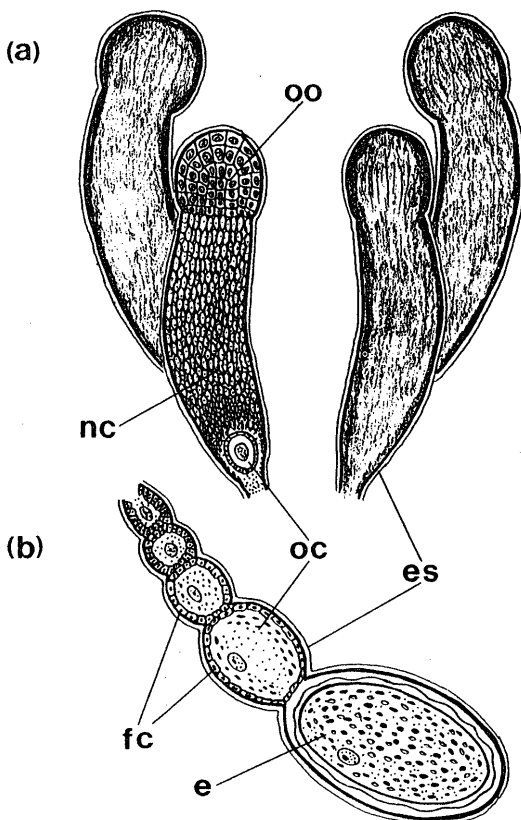


Fig.1. Diagram of reproductive system in female adult of *Euscepes postfasciatus*.

(a) germarium, (b) vitellarium. Abbreviation of term in the figures, e: egg, es: epithelial sheath, fc: follicle cell, n: nucleus, nc: nurse cell, oc: oocyte, og: oogonium

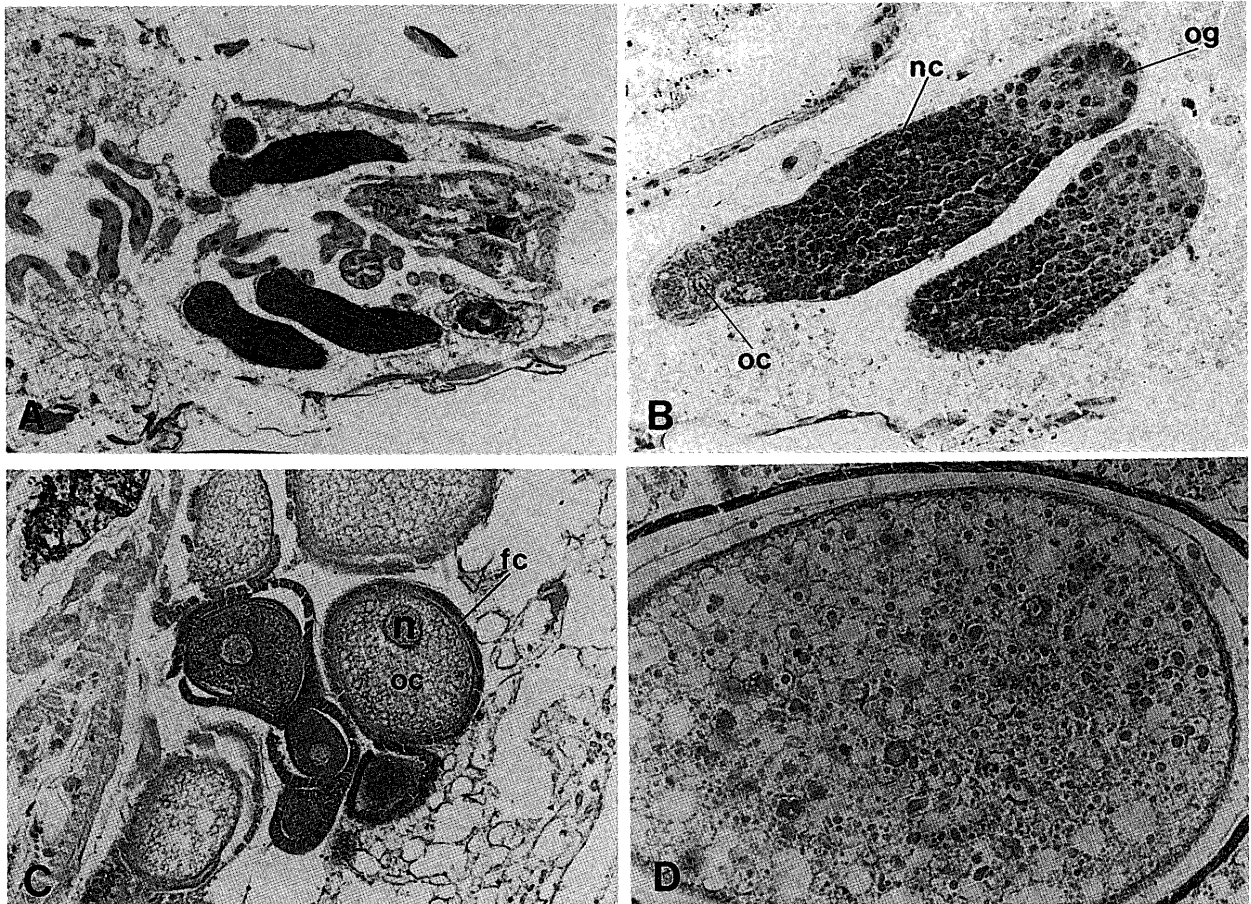


Fig.2. Histological features of reproductive tissue of non-irradiated females.

Fig.A,B: Ovarioles of 1-days old adult (A:×40, B:×200).

Fig.C,D: Ovary of 14-days old adult. (C: ×200, D: ×400).

Abbreviation of term in the figures, fc: follicular cell, n:nucleus, nc:nurse cell, oc:oocyte, og:oogonium.

ンパク性卵黄球 (protein yolk sphere), 脂質性卵黄球 (lipid yolk sphere), グリコーゲン顆粒 (glycogen granule) が蓄積していた (Fig.3, C)。

2. 照射虫の卵形成過程

照射虫の卵胞の発育は阻害され卵母細胞の発育は見られず、卵胞の大きさは分化直後のままとどまり、卵細胞の崩壊、退化がみられた (Fig.4)。生殖巣から分化した卵母細胞の数は50Gy照射虫では非照射虫の約40%に減少し、成熟卵は見られず、70, 90Gy照射虫では卵形成は完全に阻害された (Table 1)。

電子顕微鏡観察により、濾胞上皮細胞の核は濃縮クロマチン (condensed chromatin) によって占められ、細胞質中には電子密度の高い細長いミトコンドリアや遊離のリボソームが分布し、濾胞細胞の外周囲には卵黄前駆物質は全く分布していない組織像が示された (Fig.3, D)。

3. 非照射虫の中腸の組織構造

昆虫の消化管は外胚葉性の前腸 (foregut) と後腸 (hindgut), 内胚葉性の中腸 (midgut) の3つの部分に大別され、中腸で消化と吸収の大部分が行われる。中腸皮膜細胞 (中腸上皮) は円筒細胞 (columnar cell) と新生細胞 (generative cell) から構成されている。非照射虫の中腸は厚みがある円筒細胞が一層状に配列し、中腸内腔には囲食膜が存在していた (Fig.5, A)。電子顕微鏡による中腸の観察では、円筒細胞と新生細胞が観察できたが、盃状細胞 (goblet cell) は確認できなかった。円筒細胞の微細構造の模式図をFig.6に示す。円筒細胞の微絨毛 (microvilli) の部位の近くには2層の膜構造のクリステを持つミトコンドリア、粗面小胞体 (rough endoplasmic reticulum), リボソームが存在し、核の内部には分散クロマチン

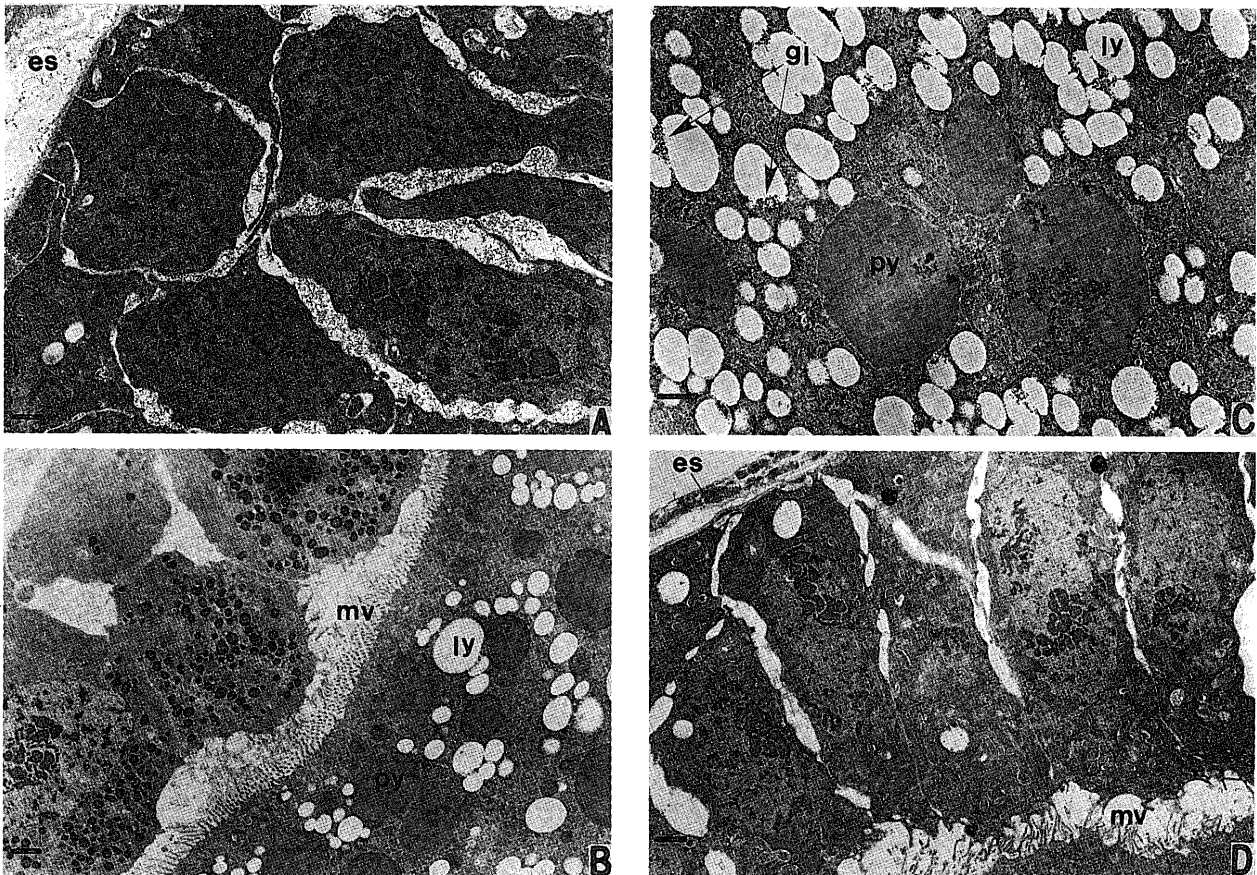


Fig.3. Electron-microscopical features of ovary in 14-days old adult (scale: 1 μ m).

Fig.A-C: Normal adults, Fig.D: Adults irradiated with 70Gy gamma-rays.

Abbreviation of term in the figures, fc:follicular cell, n:nucleus, nc:nurse cell, oc:oocyte, og:oogonium.es: epithelial sheath, gl: glycogen granule, mv: microvilli ly: lipid yolk sphere, py:protein yolk sphere.

が存在した (Fig.7, A)。円筒細胞の下部では基底膜 (basement membrane) より伸びた原形質陥入部位である細胞内間隙が顕著に発達し (Fig.7, B), 基底膜の上縁部では新生細胞 (generative cell) が集合し存在していた (Fig.7, C)。また, 中腸上皮の各所に腸内共生細菌を有する球形の菌細胞 (mycetocyte) が存在し, 細胞内の核の周囲には多数の共生細菌が緊密に収容されていた (Fig.7, D)。

4. 照射虫の中腸の組織構造

照射虫の中腸上皮の円筒細胞は歪な形状を呈し, 中腸上皮は乱れた層状構造をしていた (Fig5, B, C, D)。円筒細胞の数は照射により激減し, 照射線量の増加につれ有意に減少した (Table 1)。

70Gy照射虫の中腸の電子顕微鏡観察では, 円筒細胞からの微絨毛の分布状況は正常虫と同様であったが, 細胞は著しく薄く, 核の内部には濃縮クロマチンが存在し (Fig.7, A), 基底膜より伸びた細胞内間隙の発達は顕著でなく, 空洞状の構造が多く確認された (Fig.7B)。新生細胞の核は崩壊・退化しており (Fig.7, C), 中腸の内腔には桿状の腸内共生細菌が無数に分布していた (Fig.7, D)。

5. 体成分含量への照射の影響 (Table 1)

雌成虫のグリコーゲン含量は照射線量の増加に伴い著しく減少し, 90Gy照射区では非照射個体の1/5に減少した。

Table 1. Effect of gamma-radiation on mature egg number in oviduct, columnar cell number in midgut and glycogen content in whole female body.

Irradiation (Gy)	No. of mature eggs (n=15)	No. of columnar cells (n=15)	Glycogen content (μ g/mg) (n=10)
0	5.4 \pm 0.5a	49.7 \pm 2.7a	54.4 \pm 5.1a
50	0.4 \pm 0.2b	37.0 \pm 1.9b	19.7 \pm 2.3b
70	0 b	28.3 \pm 2.3c	16.4 \pm 1.1b
90	0 b	19.1 \pm 1.3d	10.4 \pm 2.0b

Values are the mean \pm S.D. Means with the same letter are not significantly different (Scheffe's Test, $P < 0.05$).

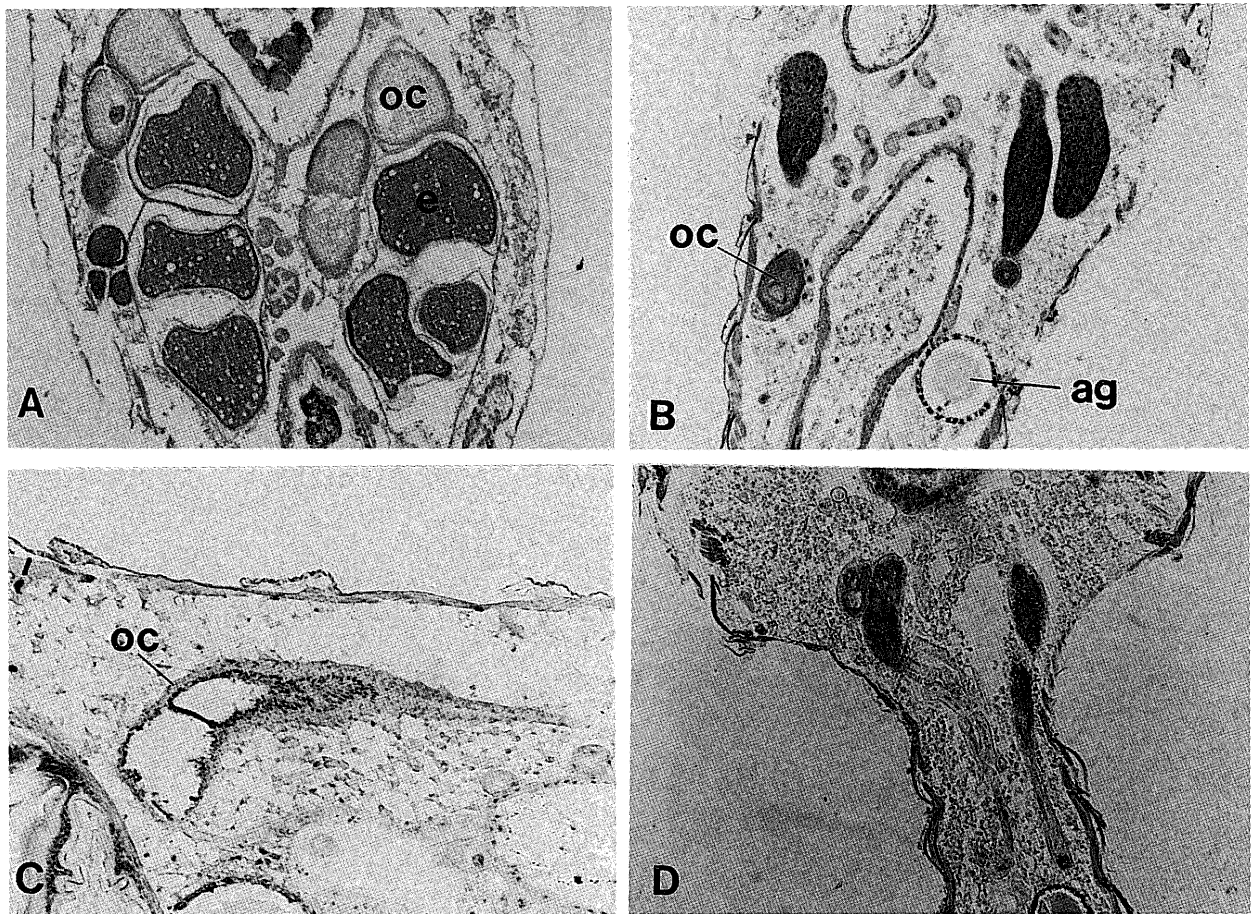


Fig.4. Histological features of ovary in 14-days old adults ($\times 40$).

Figs.A: non-irradiated, B: 50Gy-irradiated, C: 70Gy-irradiated, D:120Gy-irradiated.

Abbreviation of term in the figures, ag: accessory gland, e: egg, oc: oocyte.

考 察

イモゾウムシの非照射虫の卵黄形成中期の卵胞では、濾胞上皮細胞の核が発達し、細胞質中には粗面小胞体が発達し、卵母細胞の表層部の卵黄と濾胞上皮細胞との間の細胞間隙には多数の微絨毛状の突起がみられた。同様な組織像はネッタイシマカ⁵⁾、シヨウジョウバエ⁶⁾、セクロピアガ⁷⁾、ウリミバエ⁸⁾でも観察されており、この微絨毛突起を介して濾胞上皮細胞から卵母細胞中に飲細胞的に卵黄タンパク前駆物質のビテロジェニン (vitellogenin) が取り込まれていることが推測される。卵黄形成後期には細胞間隙は拡大し物質蓄積がみられ、タンパク性卵黄球や脂質性卵黄球が卵黄層に蓄積し、卵母細胞で卵黄形成が活発に行なわれていることが示唆される。一方、照射虫の卵巣は日令が経過しても羽化直後の大きさのままで、卵母細胞の発育は見られなかった。濾胞上皮細胞の核は濃縮クロマチンによって占められ、濾胞細胞の周囲には卵黄前駆物質は分布していなかったことから、照射による濾胞細胞の異常化と卵黄前駆物質の供給阻害によって、卵母細胞の発達が阻害されることが推定される。

イモゾウムシの照射虫の中腸の円筒細胞は著しく薄く、腸の内腔には腸内共生細菌が無数に分布していた。この腸内微生物は正常虫の腸内には菌細胞内にのみしか存在しなかったのに対して、照射虫の腸内には無数に存在していたことから、照射によって中腸上皮の円筒細胞の生理機能が阻害されることにより、共生細菌が菌細胞から放出されて、異常増加したものと考えられる。共生細菌が中腸上皮の微絨毛を損傷させる組織像が見られたことから、共生細菌が消化機能に悪影響を及ぼしていることが推測される。中腸上皮を構成する円筒細胞は新生細胞によって常に更新されているが、照射虫では新生細胞の核は崩壊し細胞の分裂が阻害されることにより、中腸上皮の円筒細胞の更新が阻止され、消化機能の阻害をきたしたと

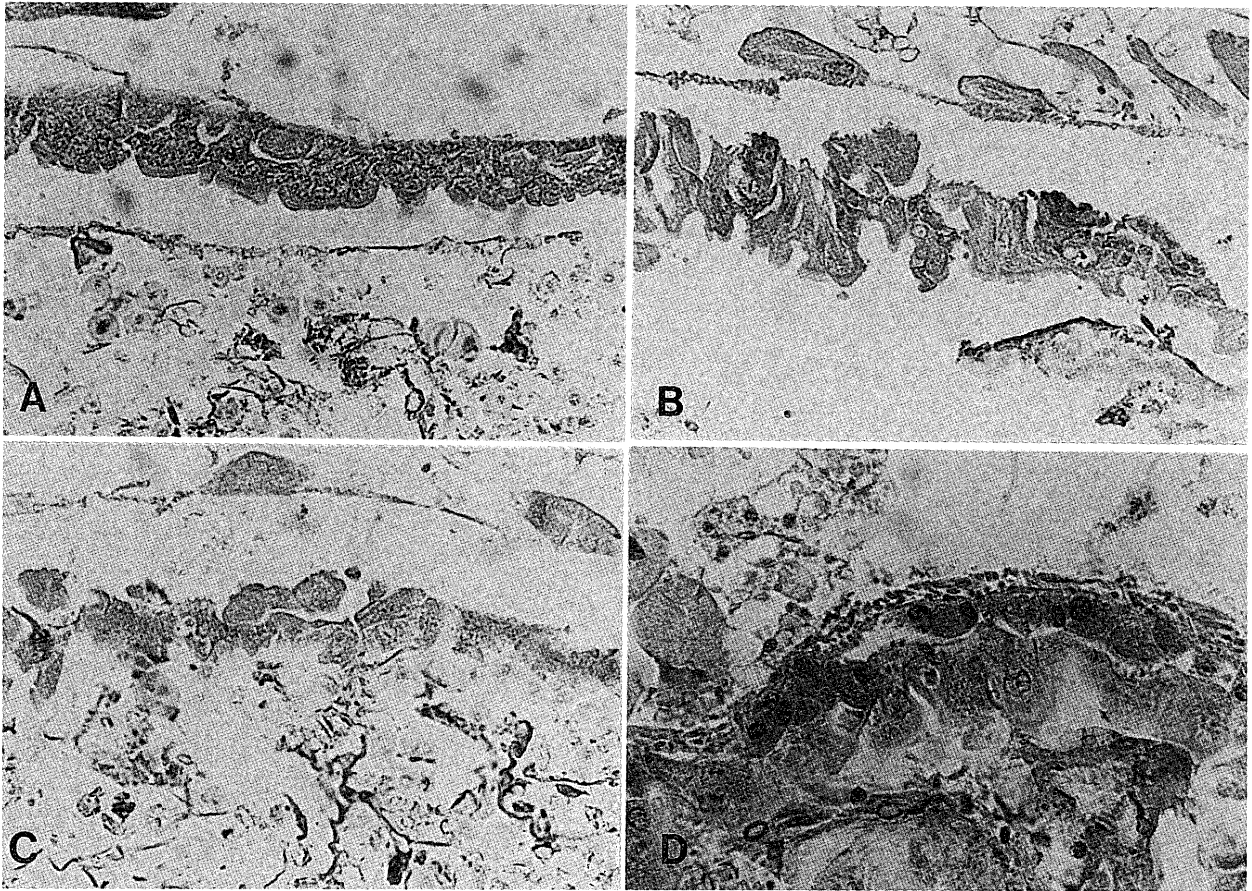


Fig.5. Histological features of mid-gut epithelial cells in 14-days old ($\times 100$).
Figs.A:non-irradiated, B: 50Gy-irradiated, C:70Gy-irradiated, D: 120Gy-irradiated.

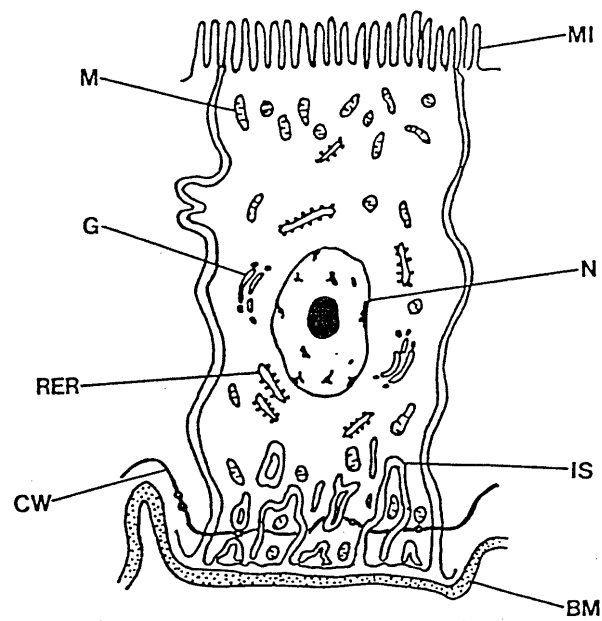


Fig.6. Schematic diagram of a columnar cell of midgut.
BM:basement membrane, CW:cell wall structure, G:golgi apparatus, IS:intercellular space, M:mitochondria, MI:microvilli, N: nucleus, RER: rough endoplasmic reticulum.

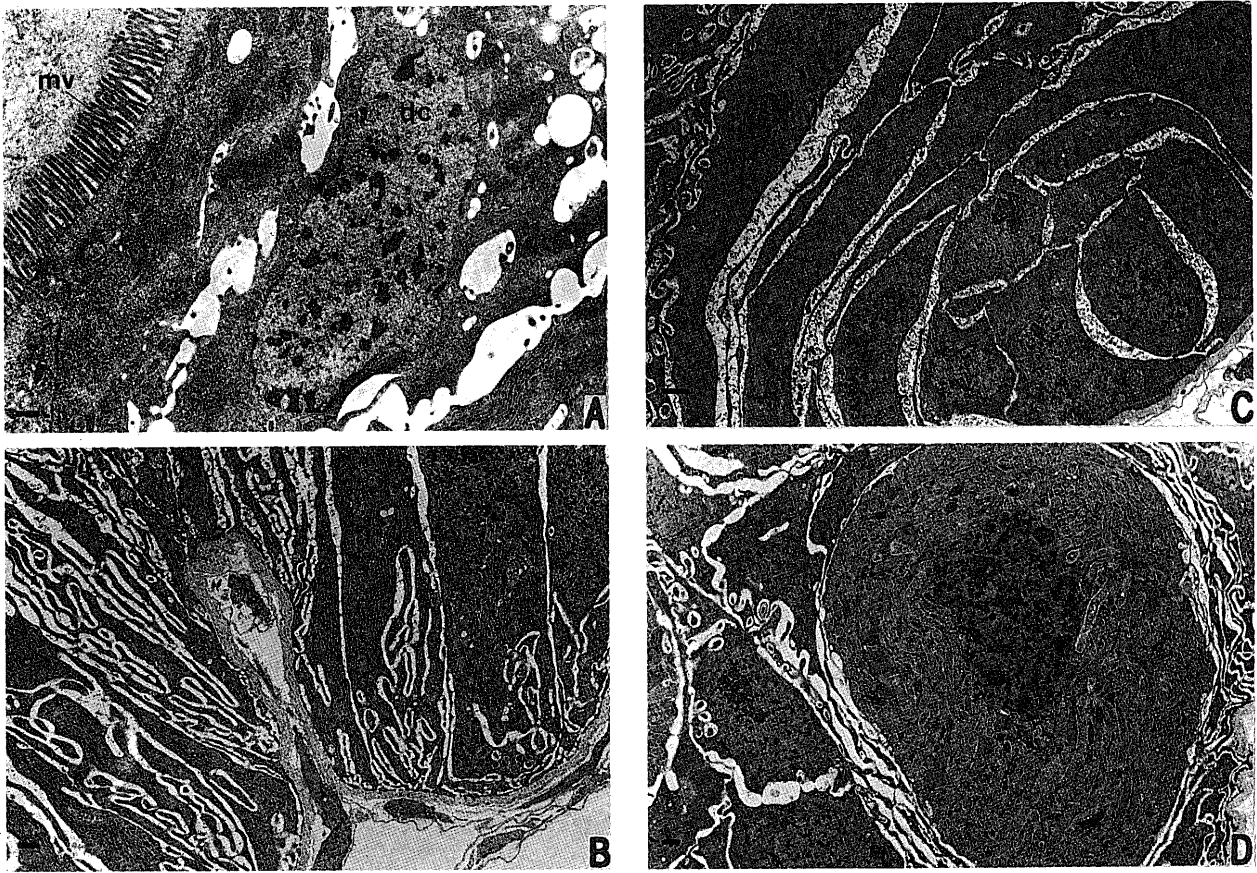


Fig.7. Electron-microscopical features of mid-gut epithelial cells in 14-days old adult, non-irradiated (scale:1 μ m).

Figs.A: upper part of columnar cells, B: lower part of columnar cells, C: generative cells, D: mycetocytes.

Abbreviation of term in the figures, cc: condensed chromatin, mv: microvilli, pc: peripheral chromatin.

考えられ、同様な知見がアリモドキゾウムシでも得られている^{1, 2)}。このように照射虫の寿命低下と卵形成阻害は、消化機能の阻害による栄養供給の低下を反映したものであり、ガンマ線照射したウリミバエ雌成虫に置ける観察結果と一致していた^{8, 9)}。

イモゾウムシの雌では50Gyの照射線量で卵成熟は阻害されたのに対して、雄では70Gyでも優勢致死効果を示すと考えられる完成精子が貯精嚢内に多量に存在したことから、雌雄間でガンマ線に対する生殖細胞の感受性に差異があることがわかる。昆虫の生殖細胞は雄では蛹期に分化するのに対して、雌では成虫期に分化することから、ガンマ線の蛹照射では雌の方が雄よりも生殖細胞はより強く影響をうけると考えられる。同様な知見はアリモドキゾウムシについても示されている^{1, 2)}。不妊虫放飼法による防除実験が現在行われているアリモドキゾウムシやイモゾウムシについても、生殖細胞にのみ影響を及ぼし中腸などの体細胞に影響を与えず、寿命低下を引き起こさせない最低照射線量や適切な照射時期の決定が緊急な検討課題である。

謝辞：実験に際し御便宜を頂いた沖縄県ミバエ対策事業所の方々に感謝申し上げます。電子顕微鏡観察に際してご便宜を頂いた岐阜大学機器分析センターの村瀬由美子、春日美由紀両技官に感謝申し上げます。本研究の一部は文部省科学研究補助金 (No. 06454059) の補助を受けて行なった。記して謝意を表する。

引用文献

- 1) 桜井宏紀・渡辺博幸・杉本 毅・櫻谷保之・瀬戸口 修・川添幸：アリモドキゾウムシの配偶子形成に及ぼすガンマ線照射の影響. 岐阜大学農研報59:11-20, 1994.
- 2) 桜井宏紀・土山康彦・和泉省勝・山口卓宏：ガンマ線照射によるアリモドキゾウムシ雄の放射線不妊化の超微

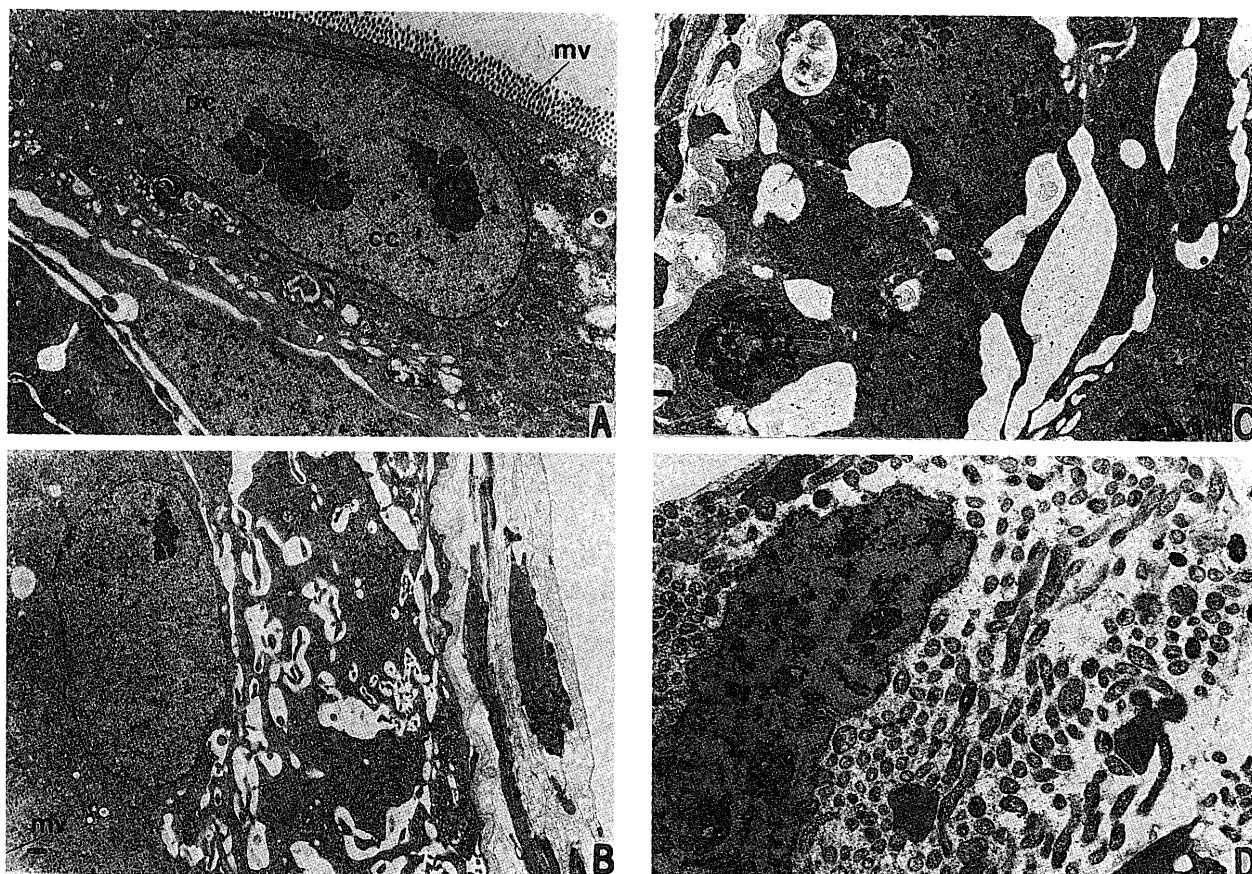


Fig.8. Electron-microscopical features of mid-gut epithelial cells in 14-days old adults, irradiated with 70Gy gamma-rays. (scale:1 μ m).

Figs.A: upper part of columnar cells, B: lower part of columnar cells, C: generative cells, D: distribution of rod-like bacteria in lumen of mid-gut..

Abbreviation of term in the figures, dc: dispersed chromatin, mv: microvilli

形態学的観察. 岐阜大学農研報63:31-36, 1998.

- 3) 佐藤泰山: 医学生物学領域における電子顕微鏡試料の電子染色法. 細胞11:26-36, 1979.
- 4) 桜井宏紀・平野哲司・武田 享: ナナホシテントウの夏眠及び越冬に伴う体成分の変化. 岐阜大学農研報52:31-35, 1987.
- 5) Roth, T.F. and Porter, K.R.: Yolk protein uptake in the oocyte of the mosquito *Aedes aegypti* L.. J.Cell Biol. 20:313-332, 1964.
- 6) King, R.C.: "Ovarian development in *Drosophila melanogaster*". Academic Press, New York and London, 227pp., 1970.
- 7) King, R.C. and Aggarwal, S.K.: Oogenesis in *Hyalophora cecropia*. Growth 29:17-83, 1965.
- 8) 桜井宏紀・田畑幸司・照屋匡・小濱継雄: ガンマ線照射によるウリミバエ雌の不妊化機構の超微形態学的観察. 岐阜大学農研報61:31-38, 1996.
- 9) 桜井宏紀・田畑幸司・照屋匡・小濱継雄: ガンマ線照射によるウリミバエ雌の不妊化機構に関する研究. 岐阜大学農研報60:35-42, 1995.