

^{137}Cs によるハスモンヨトウ *Spodoptera litralis* (B) の Sterile Male Technique のための基礎研究*

1. γ 線を照射した雄と交配させた雌の交尾・精子移動
および産卵率に関する解剖観察

佃 律子・清久正夫

Experimental Studies on the Foundations of Sterile Male
Technique of *Spodoptera litralis* (B), by the
Gamma Radiation from ^{137}Cs

- I. Anatomical Observations on the Mating, Transfer
of sperm and Fecundity of Normal Females
paired with Irradiated Males

Ritsuko TSUKUDA and Masao KIYOKU

When normal females mated with males irradiated by the gamma radiation from ^{137}Cs (12KR) as pupae, they showed conspicuously the radiation-induced sterility. Four types of sterility were found in the experiments through the dissection of reproductive systems of both sexes. The sterilities attributed to (1) inability to mate of irradiated males, (2) imperfect incorporation into the spermatophore or (3) loss of motility of the spermatozoa were more frequently observed than that attributed to (4) chromosome damage in the germ cells (*so-called dominant lethal mutations*.) F_1 -progenies emerged from the cross between irradiated males and unirradiated females were perfectly sterile when the F_1 -males mated with the unirradiated females (*Inherited sterility*). Sometimes the abnormal development occurred in the testis of F_1 -males. The causes of the inherited sterility seemed to be (1) inability to mate (2) incomplete transfer of spermatozoa into the spermathecae according to the abnormal development in testes.

緒 言

^{137}Cs ガンマ線の 16KR や 8KR を蛹に照射し、羽化させた雄成虫 (T♂) を無照射雌 (U_1 ♀) と交配すると、不受精卵が得られるが受精卵もかなりの割合で産卵される。受精卵より発生した雄 (F_1 ♂) と 2 世代目の無照射雌 (U_2 ♀) とを交配すると多くの不受精卵が得られた (清久・佃 1970・1971)。ところが無照射の雄と雌との交配においても交尾をしない場合

* 昭和46年度文部省科学研究費による。昭和46年11月日本昆虫学会第31回大会において講演した。

や、交尾をしても不受精卵が生まれる場合が往々みられる。したがって、ガンマー線照射をした雄と無照射雌との交配において交尾したかどうかを確かめないと、不受精卵が生まれたという事実だけではガンマー線の効果を認めることはできない。また LaChance らはガンマー線が生殖細胞に作用すると共に生殖系の組織へも影響して不受精卵の生まれる原因を分類し、4種示している (Kilgore et al. 1967)。そこで同一線量においても条件によっては異なる過程によって不妊が生ずることが予想される。Sterile male technique の基礎事項として、用いた線量が不妊を生ずる過程を明らかにする必要があるであろう。

この実験において 12 KR を雄蛹に照射し、羽化した成虫と無照射雌を交配させ、その後産卵数やその孵化率を調査する一方において、雄と雌を解剖し完全な交尾が行なわれたかどうか、更に精子の雌生殖器内の移動状態を調査し、それらの結果と産卵および孵化との関係を検討した。

材料および方法

実験に供した材料は半合成飼料を用いて累代飼育したものである。12 KR を 7・8 日目の雄蛹に照射し、その後羽化した成虫と無照射区の累代飼育系統の同日に羽化した雌成虫との交配を 10 組作った。雌が産卵を開始すればその翌日に雄・雌を取り出し解剖に供した。その時まで飼育器内に産卵された卵塊の数と卵数を算え、卵の孵化を待って総卵数に対する孵化幼虫数の比の百分率を算出した。成虫の解剖はリンゲル液中で、双眼実体顕微鏡の下で実施された。解剖日はおよそ交配後 2・3 日目にあたり、総産卵数とは産卵初日と 2 日目の産卵数の合計である。しかし産卵開始がおくれた実験区では解剖日も遅れて交配後 6～8 日目になったものもある。

解剖は雄成虫では精巢、貯精囊、輸精管、附属腺、射精管の順序にその形態の異常の有無、内部の精子包囊および包囊より脱出した精子の状態を調べた。雌成虫では、卵巢小管とその内部の卵の形態の異常の有無、交尾囊の形態、精莖の形態およびその数、精莖内の精子の有無、受精囊の精子侵入による肥大状態とその中の精子の有無および活動状態を調べた。

照射区の雄と無照射雌との組み合わせより得た受精卵は孵化させてこの実験における第 2 代目の飼育を行ない、幼虫の精巢の発達状態を調べるために、4 令虫より解剖を実施した。取り出した精巢はスライド上のリンゲル液中に置き外形の観察後、針の先端で壁に傷をつけてから 1 滴の酢酸カーミンを落とした後、静かにカバーグラスをかけ、脱出する内容を位相差顕微鏡の下で検鏡した。この際に特に注意して観察した点は各種の発育段階にある生殖細胞とその形態の異常の有無であった。

結 果

1. ガンマー線照射区の雄 (T_{δ}) と無照射雌 ($U_{\text{f}} \text{♀}$) の交配後に見られる雄・雌生殖器内の状態と雌の産卵およびその孵化との関係。

精巢の大きさは個体変異があったが、照射区の雄の精巢が目立って小型となっているとは思えなかった。しかし、その内容物である精子包囊の形態は一般に細長い型のものが見られる割合が、棍棒状や線虫状のものより常に多かった。これら細長い型は精子包囊発育の初期の型であると思われるので、照射区の精子包囊の発育は無照射区のものに比べていくぶん遅れるのではないかと考えられる。なお、調査したもののうちに、これら精子包囊がいずれもきわめて小

型である場合が時々見られた。つぎにごく一部ではあるが射精管の途中が黒化しその内部が閉塞されたように見えるものがあった。すでに 20 KR 照射の雄に認めた(清久・佃 1969) のと類似の現象であるので、今回は 12 KR という前回より低い線量ではあるが照射区の雄にはやはり往々このような現象がおこることがわかった。これらと無照射雌とを交配すると交尾の状態や精子の移動がどうなるかを雌を解剖して調べた。その結果の概要は上記雄のそれと並列させて第 1 表に示した。

第 1 表 T♂ × U₁ ♀ 交配後の T♂ と U₁ ♀ の解剖結果と産卵の状態

| 実験 番号 | 交配日後 解剖日まで の日数 | 雄 | | | 雌 | | 解剖日までの (卵塊数) と総産卵数 | 孵化率 (%) |
|----------|----------------------|--------------------|-----------|----------------|------------------|--------------|--------------------------|------------|
| | | 貯精囊 | 附属腺 | 射精管 | 交尾囊 | 受精囊 | | |
| T 1 | 8 | — | — | 途中がつまる。 黒変。 | Sph. なし | Sp. なし | 224 (1) | 0 |
| T 4 | 2 | Scy. 普通 Esp. 若干 | Scy. 若干 | Sp. なし | Sph. 1 Sp. なし | " | 0 | — |
| T 5 | 6 | Scy. 小型 | — | — | Sph. なし | " | 1007 (5) | 0 |
| T 6 | 3 | Scy. 普通 Fsp. 若干 | Fsp. なし | Sp. なし | Sph. 2 Sp. なし | NoAsp. 多数 | 1671 (14) | 4.71 |
| T 7 | 2 | " | Fsp. 若干 | " | Sph. 1 | Sp. なし | 20 (1) | 0 |
| T 8 | 2 | " | " | " | Sph. 1 Sp. なし | Actsp. 多数 | 252 (1) | 7.93 |
| T 11 | 4 | Scy. 若干 | Actsp. 若干 | " | Sph. 2 Sp. なし | NoAsp. 若干 | 200 (4) | 3.50 |
| T 101 | 5 | Scy. 小型 | Sp. なし | " | Sph. なし | Sp. なし | 0 | — |
| T 102 | 8 | " | " | " | " | " | 32 (1) | 0 |
| T 105 | 3 | Scy. 普通 Fsp. 若干 | Fsp. 多数 | " | Sph. 2 Sp. なし | Actsp. 多数 | 2895 (2) | 12.7 |

Scy. 精子包囊 Fsp. 包囊より分離中の精子 Sp. 個々の精子 Actsp. 活動精子
 NoAsp. 不活動精子 Sph. 精莢

雌を解剖すると、交尾囊中に精莢が全く見つけられなかったものが 4 例あった。それらのうち 3 例の相手の雄はすべて貯精囊内の精子包囊がきわめて小型のものであった。他の 1 例の相手の雄はその射精管の途中が黒変し内容が閉塞状態のものであった。これら 4 例はガンマー線が雄生殖系に異常をおこし、おそらく交尾ができなかったか、交尾は試みられたが精莢が雌へ入らずに不完全交尾に終わったものと思われる。つぎに交尾囊内には正常な精莢が見られ、それらの相手の雄の生殖系には特別な異常が見られないにもかかわらず、受精囊中に精子を見つることができなかったものが 2 例あった。これはガンマー線による影響でおそらく雄附属腺の分泌異常で精子を精莢内へうまくつつみ込むことができなかった結果ではあるまいか。これらはいずれも前の 4 例と同様産卵しても、卵の孵化率は 0 であった。その他の組み合わせ 4 例はすべて交尾囊中に正常な精莢を、受精囊中に精子が認められ、その内 2 例はそれら精子が活発に活動していた。けれどもそれらの組み合わせの卵の孵化率はかなり低い値を示したことから、これらはおそらく生殖細胞に誘発された致死変異に依るものと判断された。4 例のうち他の 2 例は受精囊中の精子の活動が活発でなく、全く不動のものも比較的多かった。これらの卵

の孵化率は前者より更に低いので、この場合は致死変異の他に精子の活動力の低下が主に不妊に影響するようと思われる。これらの成績に対して無照射区の飼育系統より7組の交配を行ない産卵と解剖所見を調べた結果を第2表に示す。

第2表 U₁ ♂ × U₁ ♀ 交配後のそれぞれの解剖結果と産卵の状態

| 実験番号 | 交配日後解剖日まで の日数 | 雄 | | | 雌 | | 解剖日までの (卵塊数) と総産卵数 | 孵化率 (%) |
|------------------|------------------|--------------------|------------|-----------|--------------------------|--------------|--------------------------|------------|
| | | 貯精囊 | 附属腺 | 射精管 | 交尾囊 | 受精囊 | | |
| U ₁ 1 | 2 | Scy. 普通 Fsp. 若干 | Fsp. 若干 | Sp. なし | Sph. 1 Sp. 若干 | Actsp. 多数 | 686 (1) | 34.1 |
| U ₁ 2 | 2 | " | " | " | Sph. 1 但し小型 Sp. なし | — | 1072 (10) | 5.31 |
| U ₁ 3 | 2 | " | " | " | Sph. 1 Sp. なし | Actsp. 多数 | 134 (1) | 8.20 |
| U ₁ 4 | 3 | " | " | " | " | Actsp. 若干 | 1811 (10) | 56.26 |
| U ₁ 5 | 2 | " | " | " | " | " | 668 (5) | 60.47 |
| U ₁ 6 | 3 | Scy. 普通 Fsp. 多数 | Fsp. 多数 | " | " | NoAsp. 多数 | 215 (1) | 0 |
| U ₁ 7 | 2 | " | " | " | " | Actsp. 多数 | 1109 (4) | 62.12 |

第2表の結果によれば孵化率が比較的低い値を示す例があり、平均値として37.7%が得られた。この値は対照区としては高い値とは言えないが、1例を除き交尾囊中に精莖を、受精囊中に活動をしている精子を認めたのでおおむね正常な交尾・産卵ができたものと思われる。

これらの結果より考えて、ガンマー線照射雄と交配した交尾雌の不妊現象は比較的低い線量を用いた場合においてもその半数以上が雄生殖系に生じた異常に起因して生じるように思われる。したがっていわゆる優性致死変異による不妊のみを利用しようとするれば、今後ガンマー線を照射する時期を厳密に選ばねばならないだろう。しかし、この実験で示された過程による不妊がハスモンヨトウの Sterile male technique に充分間に合うならば、もちろん優性致死変異に基づく不妊を作る必要性は少なくなる。

2. 照射区の雄と無照射雌の組み合わせより発生した雄幼虫 (F₁ ♂) の精巢の発育状態。

4令、5令および7令幼虫を解剖し精巢を取り出した。この実験で見られた顕著な現象はどの令においても調査材料の半数の精巢が明瞭に小型であったことである。1例として5令幼虫の精巢の長径を第3表に示したが、無照射のものの長径平均値を1とすれば、それは0.40にあたる。これらの内容は無照射のものに比べて貧弱で、これら幼虫が発育し羽化しても雌に対し正常な交尾を試み正常な産卵をさせることはできまいと思われた。

第3表 U₂ ♂ と F₁ ♂ 5令幼虫の精巢の長径比較

| | U ₂ ♂ (mm) | F ₁ ♂ (mm) |
|----|-----------------------|-----------------------|
| 1 | 1.009 | 0.237 |
| 2 | 0.580 | 0.362 |
| 3 | 0.491 | 0.327 |
| 4 | 1.058 | 0.241 |
| 5 | 0.684 | 0.368 |
| 平均 | 0.765 | 0.307 |
| 比 | 2.49 1 | 1 0.40 |

3. 照射区の雄と無照射雌の交配より得た第2世代雄 (F₁♂) と第2世代無照射雌 (U₂♀) との交配後の産卵調査と解剖所見.

実験結果の概要を第1表と同様にして列記したのが第4表である.

第4表 第2世代目 F₁♂ × U₂♀ 交配後雌解剖結果とそれの産卵状態

| 実験番号 | 交配日後解剖日までの日数 | 交尾囊 | 受精囊 | 解剖日までの(卵塊数)と総産卵数 | 孵化率(%) |
|------|--------------|------------------|--------|------------------|--------|
| F 2 | 3 | Sph. 3 Sp. なし | Sp. なし | 428 (1) | 0 |
| F 3 | 2 | Sph. なし | " | 108 (3) | 0 |
| F 4 | 4 | Sph. 4 Sp. なし | " | 111 (1) | 0 |
| F 5 | 5 | Sph. なし | " | 0 | — |
| F 6 | 3 | Sph. 1 Sp. なし | " | 0 | — |
| F 7 | 5 | Sph. なし | " | 0 | — |
| F 8 | 3 | " | " | 0 | — |
| F 9 | 2 | Sph. 1 Sp. なし | " | 0 | — |
| F 10 | 2 | Sph. 2 Sp. なし | " | 115 (1) | 0 |
| F 11 | 8 | Sph. なし | " | 0 | — |

第4表によれば、調査したものの半数は交尾囊中に精莢がなく、他の半数のものにはそれが認められたが、その中にもまた受精囊中にも精子を全く見る事ができなかった。一方において産卵に関する調査では、卵の孵化率がすべて0であった。したがってこの実験区より完全な Inherited sterility の現象が得られたが、その原因はガンマー線による染色体異常に基づくものというよりは、雌雄の不完全交尾による雌生殖器官内の無精子に起因した不妊といえる。すでに前項でのべたように幼虫時代において精巢の発育がよくないものが多かったこ

第5表 第2世代目, U₂♂ × U₂♀ 交配後の雄・雌の解剖結果と産卵の状態

| 実験番号 | 交配日後解剖日までの日数 | 雄 | | | 雌 | | 解剖日までの(卵塊数)と総産卵数 | 孵化率(%) |
|------------------|--------------|--------------------|---------|--------|---------------------|------------|------------------|--------|
| | | 貯精囊 | 附属腺 | 射精管 | 交尾囊 | 受精囊 | | |
| U ₂ 1 | 5 | — | — | — | Sph. 2 Actsp. 若干 | Actsp. 多数 | 3764 (16) | 91.44 |
| U ₂ 2 | 8 | Scy. 多数 Fsp. 多数 | Fsp. 若干 | Sp. なし | Sph. 2 Sp. なし | " | 4780 (13) | 100.00 |
| U ₂ 3 | 8 | — | — | — | Sph. 5 Sp. なし | No Asp. 若干 | 441 (8) | 11.79 |
| U ₂ 4 | 3 | Scy. 多数 | Fsp. 多数 | Sp. なし | Sph. 2 Sp. なし | Actsp. 多数 | 1196 (2) | 100.00 |
| U ₂ 6 | 5 | — | — | — | Sph. なし | Sp. なし | 315 (1) | 0 |
| U ₂ 7 | 2 | Scy. 多数 | Scy. 若干 | Sp. なし | Sph. 1 Sp. なし | Actsp. 多数 | 1747 (5) | 100.00 |
| U ₂ 8 | 2 | — | — | — | Sph. なし | Sp. なし | 0 | — |

とがここに反映しているものと考え、これに対して、無照射区の第2代目の雄雌交配に関する成績を比較のために第5表に掲げたが、もちろん雄生殖器も雌生殖器も大体正常の状態を示し、産卵された卵の孵化率平均値は前世代より高く80.6%を示している。

摘 要

本実験は ^{137}Cs ガンマー線 12KR を用い、蛹時代に照射された雄を無照射雌と交配させた際の雌の不妊現象および、その一部より孵化した2代目雄と無照射区の2代目雌の交配の際の Inherited sterility と呼ばれる不妊現象の原因を、雄・雌生殖器解剖によって検討したものである。

1. 照射区の雄と無照射雌の交配における雌の不妊は、ガンマー線による精子の致死変異に起因するものより、むしろ雄生殖系の組織の機能異常に基づく不完全交尾や精子が精莖中へ挿入されないこと、あるいは精子の活動力の低下による場合が多かった。

2. それら組み合わせから孵化し得た幼虫の精巣を解剖してみると、一般にその発育がよくないものが多かった。

3. 上記の幼虫が発育し羽化したとき無照射雌と交配すると完全な Inherited sterility が認められた。その原因は生殖細胞の染色体異常によるよりも雄の精巣の発育不全に基づく不完全交尾や精子の移動機能の欠除に基づく雌受精嚢内の無精子に起因する場合が多かった。

引 用 文 献

- 1) KILGORE, W. W, and R. L. DOUTT (1967): Pest control. Academic press, New York and London. 154-161.
- 2) 清久正夫・佃 律子 (1969): 人工不妊昆虫の生態に関する研究. IV. γ 線処理ハスモンヨトウの性行動. 岡大農・学術報告. 34: 15-24.
- 3) 清久正夫・佃 律子 (1970): 人工不妊昆虫の生態に関する研究. V. ガンマー線を照射したハスモンヨトウの蛹から生じた子孫の発育と繁殖. 岡大農・学術報告. 36: 19-26.
- 4) 清久正夫・佃 律子 (1971): ^{137}Cs 放射線 8KR 照射によるハスモンヨトウの Inherited sterility. 応・動・昆中国支部会報. 13: 18-20.

学術報告 38 号 正誤表

| P. | 行 | 誤 | 正 |
|----|-------------|---------------------|--------------------------------|
| 12 | 第2表 孵化率 (%) | 5.31 | 53.1 |
| | " | 8.20 | 82.0 |
| " | 下から20 | 37.7 | 49.7 |
| 13 | 第5表 下から1 | Sph. なし Sp. なし 0 -, | Sph. 1 Act sp 多数 1800(5) 80.00 |
| 45 | 下から3 | 発酵的品種 | 発酵的品質 |