

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*

坂之内 踐行・大戸 謙二**

佐土嶋 敏明・福島 満***

門司植物防疫所名瀬支所

Studies on the Distinction between Normal and Irradiated Male Melon Flies, *Dacus cucurbitae* COQUILLET (Diptera: Tephritidae), by Observation of Germ Cell. Fumiyuki SAKANOUCHI, Kenji OHTO, Toshiaki SADOSHIMA and Mitsuru FUKUSHIMA (Naze Branch, Moji Plant Protection Station). *Res Bull. Pl. Prot. Japan* 21: 17-26 (1985).

Abstract: Irradiation damages in the testes of the melon flies were recognized 12 hours after emergence. The spermatogonial and spermatocyte cells showed pycnosis and the loss of organization of the cell cysts. The spermatids lost their typical structure, and abnormal sperms could be recognized to mid-region of the testes. As the time proceeds, these characteristic contents in the testes disappeared. No difference was found in all stages of spermatogenesis between wild flies and non-irradiated ones under mass culture. These results suggested that normal and irradiated flies are distinguishable by observation of testes more than 12 hours from emergence. Based on these results, a procedure was suggested for distinguishing the wild individuals from unmarked flies captured in the eradication programs.

はじめに

鹿児島県喜界島における不妊虫放飼法によるウリミバエ *Dacus cucurbitae* の根絶防除では、大量増殖され⁶⁰Coのガンマー線70 Gy (7 Krad) で照射された蛹を、蛍光色素でマークしたのち放飼している。喜界島にあらかじめ設置されているモニタートラップに誘殺されたミバエは、頭部の蛍光色素の有無によって、マーク虫(M)と非マーク虫(U)とに識別され、このMとUの比(M/U)を調べることによって防除効果判定の一つの目安としている。

蛍光色素マーキングによる不妊虫識別の方法は、簡便な操作で大量の試料を処理できる反面、マークの脱落、あるいは誘引剤や他の物質による汚染、虫体の腐敗、体液等が蛍光を現わす場合があり、識別精度が低下するため、防除の最終段階では、より精密な識別調査が必要である。このことから林・小山(1981)は、照射によって精巣や卵巣の発育が停止するため、これらの形態的特徴の観察(精巣幅の測定等)により不妊虫

と野生虫の識別が可能であり、これによってマーク脱落のチェックができるとした。

しかし、鹿児島県ウリミバエ防除対策室(1983)によれば、林・小山(1981)の方法を参考に精巣の形態的特徴によって識別を試みたが、不妊虫と野生虫の第4腹節上部における精巣幅の分布には重なる部分があり、識別はできなかった。

一方、LACHANCE and RUUD (1977) は、ラセンウジバエ *Cochliomya hominivorax* の精巣生殖細胞をFeulgen染色して、Whole mount法で生殖細胞の照射による影響を観察することによって、不妊虫を野生虫から識別する方法を提案し、また、RAWLINS et al. (1981)は、ラセンウジバエの不妊虫と野生虫の識別にあたり、精巣生殖細胞の染色法と観察方法について再検討した結果、アセトオルセインで染色し、押しつぶし法で観察すれば、LACHANCE & RUUD (1977)の方法よりも簡便に正確に識別できるとした。

これら生殖細胞染色による、不妊虫識別の手法については、すでに、東京都小笠原諸島におけるミカンコミバエ *Dacus dorsalis* の根絶防除(土生, 1984, 私信)やカリフォルニアにおけるチチュウカイミバエ *Ceratitis capitata* の防除(梅谷ら, 1981)では、誘殺虫の精巣生殖細胞の観察による不妊虫と野生虫の識別法が

* 本報告の一部は、第28回日本応用動物昆虫学会大会(宇都宮, 1984)において発表した。

** 現在、横浜植物防疫所調査研究部害虫課

*** 現在、門司植物防疫所国際課

採用されている。

筆者らは、本手法によりウリミバエの不妊虫と野生虫の識別が可能か否かについて調査し、この結果を受けて喜界島におけるウリミバエ根絶防除の効果調査への導入についてもあわせて検討した。

調査を行うにあたり、ミカンコミバエの精巣観察結果等種々御教示下さった岡山大学農学部佃律子先生、東京都小笠原支庁土生稷毅氏、また、供試虫の提供等御協力をいただいた鹿児島県大島支庁ウリミバエ防除対策室に対して、感謝の意を表する。

材料と方法

1. ウリミバエ雄成虫の羽化日齢とキュールAに対する反応

鹿児島県ウリミバエ防除対策室で大量増殖された非照射蛹（累代飼育虫21世代）を羽化3日前に当所飼育室（26±1℃，12L-12D，湿度60～80%）の飼育ケージ（40×40×40 cm，5面サランネット張り，以下同じ）で飼育し，同一日に羽化したものを供試虫とした。

雌雄各100頭を屋外網室（2.8×4.4×1.8 m）に放飼し，羽化当日から1週間，毎日10時と15時（羽化当日は15時のみ）から15分間，キュールA（0.4 g）とジプロム（0.1 g）を浸みこませた綿棒（直径1 cm×長さ3 cm）をセットしたスタイナー型トラップ（直径10 cm×長さ15 cm）を床面から1.5 mの高さに設置し誘殺虫数を調べた。

誘殺虫を回収のつど，自然死亡虫等も回収し，補充用に屋外の飼育ケージで飼育しておいた同日齢のウリミバエを追加放飼し，網室内の供試虫数が雌雄各100頭となるようにした。

網室内及び飼育ケージには，水と成虫飼料（アンバーBYF100® 1：砂糖5，以下同じ）を設置した。

調査は3反復行った。

2. 不妊虫と野生虫の識別に関する調査

(1) 照射前日における蛹の精巣生殖細胞の状況

ウリミバエの大量増殖においては，幼虫飼育培地から飛び出した幼虫を，3日間にわたり回収し，それぞれを蛹化箱に移した後蛹化させている。これらの蛹は，羽化日をそろえるために，種々の温度下で生育を調整し，羽化3日前に⁶⁰Coのガンマー線70 Gyで不妊化されている。照射前日における蛹の日齢は，27℃で1日飼育した場合を1日齢とすると，第1日目および3日目に飛び出した幼虫に由来する蛹が6.25であり，第2日目に飛び出した幼虫に由来する蛹が6.40である。そこ

で，照射前日における精巣の状態をみるために，第1日目飛び出し幼虫由来の蛹と第2日目由来の蛹について各20頭を，リングル氏液内で解剖し，酢酸エタノール（酢酸45：エタノール55）で30分～1時間固定した後，乳酸・酢酸オルセイン（小熊，1980）を用いて1～2時間染色し，これを超広視野顕微鏡を用い，Whole mount法（摘出した完全な精巣をホールスライドグラス上で染色液に浸漬する）により観察した。

(2) 羽化後48時間以内における照射虫と非照射虫の生殖細胞の状況

本調査には大量増殖後，羽化3日前に照射された蛹（以下照射虫）と照射処理を経なかった蛹（以下非照射虫）から羽化したウリミバエを用いた。

照射虫，非照射虫とも当所飼育室の飼育ケージに移し，羽化後は水と成虫飼料を与えた。

羽化後のサンプリングは，羽化直後（羽化後3時間以内のもの），12時間（±1.5時間，以下同じ），24，36および48時間後に行った。

サンプリングした虫体は，生体の精巣観察用にCO₂ガスで麻酔後サンプルビンに入れ，リングル氏液を満たして冷蔵庫に保管した。一方，喜界島のモニターラップに誘殺されるウリミバエは，15日間隔で自然乾燥状態で回収されることから，本調査では乾燥体精巣の観察用にシリカゲルを入れたデシケータ内で2週間乾燥させた後，供試虫として用いた。

虫体からの精巣の摘出は，生体の場合はリングル氏液内で行い，乾燥体の場合はリングル氏液5 ccと合成洗剤0.15%液1滴を混合した液に1～2時間浸漬して虫体を軟化した後，リングル氏液内で行った。

精巣の固定には酢酸エタノールを用い，30分～1時間固定した。

染色液として，乳酸・酢酸オルセインを用い，1～2時間染色した。

大部分の精巣の観察は，固定後Whole mount法で行ったが，一部は染色後押しつぶし法により観察した。

観察個体数は，各サンプリング毎に生体，乾燥体のそれぞれ30頭ずつ，計600頭であった。

(3) 羽化後48時間以降の生殖細胞の状況

本調査には，照射虫，非照射虫および奄美大島の北部と南部で採集したオキナワスズメウリ *Diplocyclops palatus* に寄生していたウリミバエを親世代とし，次世代をキュウリで飼育して得られた成虫（以下野生虫）を用いた。これらの三系統の成虫は，飼育室の飼育ケージで水と成虫飼料を与え飼育した。

羽化後のサンプリングは，18時から翌日の18時まで羽化したものを1日齢として，1～6日齢，10，14，

31 および 52 日齢とした。

サンプリング後の生体標本の保管および虫体の乾燥方法、精巢の摘出、固定、染色および観察の方法等は、前記(2)と同じである。

観察個体数は、羽化1~52日齢の生体標本について照射虫は1,245頭、非照射虫は654頭および野生虫1,536頭であった。乾燥標本は、予備調査で生体精巢と同様の内容が確認されていたので、各日齢毎に照射虫と非照射虫各10頭ずつ、計200頭の精巢を観察した。

結 果

1. ウリミバエ雄成虫の羽化日齢とキュールアに対する反応

調査の結果は Fig. 1 のとおりであり、1日齢で1頭誘殺された後4日齢までは誘殺がなく、5日齢以降誘殺が増加した。

調査期間中の最高最低温度は30℃および22℃で、平均は25.9℃であった。

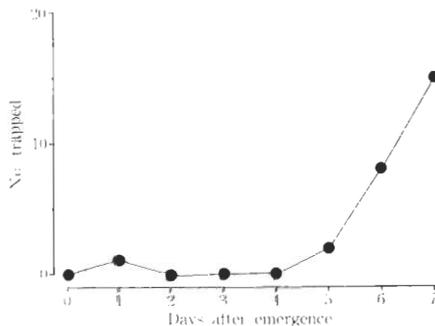


Fig. 1. Relation between days after emergence and number of males trapped with Cue lure in the melon fly.

2. 不妊虫と野生虫の識別に関する調査

(1) 照射前日における蛹の精巢生殖細胞の状況

照射前日には、精巢先端部に精原・精母細胞、中央部には精子細胞があった。これらの細胞は濃く染色され、その密度も高かった。

100倍から400倍の顕微鏡倍率でWhole mount法により観察した場合、精原細胞から精母細胞への发育段階の区別は困難であった。しかし、これらの細胞の分布域では、精原細胞や精子細胞を包んでいる細胞のうかが観察され、押しつぶし法で検鏡することにより、第二精母細胞の有糸分裂像を確認できた。

中央部から下端部にかけては、球状の精子細胞が精

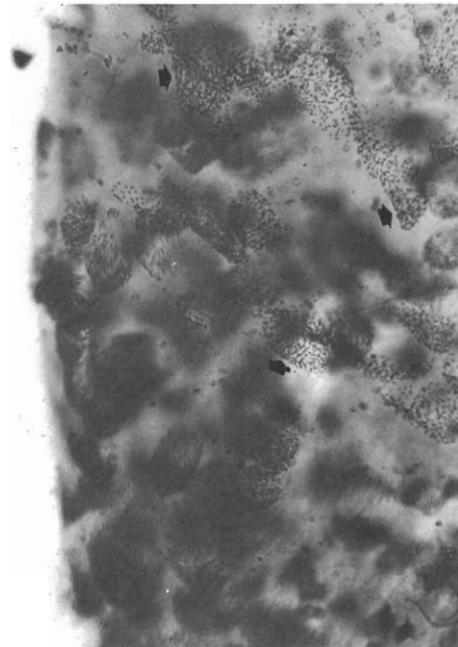


Fig. 2. Spermatids from normal male of melon fly being observed as U-or V-shaped mass.

子細胞のうに包まれ精子細胞群となり、精子細胞群内の各細胞の分布はU字形やV字形の集団として観察された (Fig. 2)。

さらに下端部には、精子細胞群の個々の細胞から鞭毛が伸びて、精子束へ発達していく過程が見られたが、この蛹齢における精子束は十分に染色される状態ではなかった。

以上の生殖細胞の发育には、蛹齢による明らかな差異は認められなかった。

(2) 羽化後48時間以内の照射虫と非照射虫の生殖細胞の状況

① 羽化直後および12時間後

非照射虫：生体精巢の先端部および中央部における生殖細胞の状態は、前記2の(1)と同じであった。

中央部から下端部にかけては、精子束の发育が進み、結束部位が濃く染色された精子束が数個認められるようになり、12時間経過後には、染色された精子束の数も増え、個々の精子束の染色されている部分の割合も増加していた。

乾燥虫では、精巢生殖細胞の状態が生体のそれと、ほぼ同様であった。

照射虫：羽化直後の生体では、精巢先端部の精原・精母細胞は、非照射虫よりも密度が低く、分布域も非

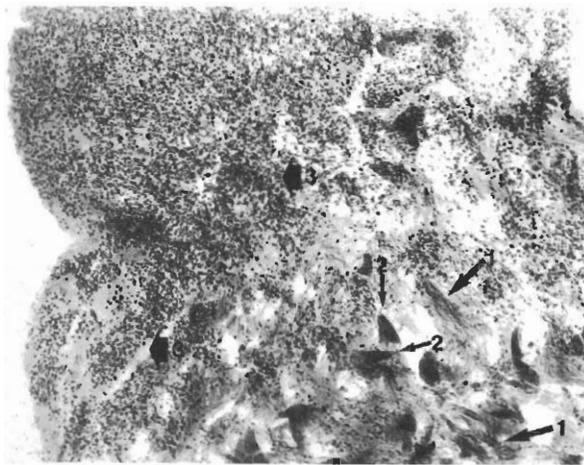


Fig. 3. Testes from 12-hour-old fly irradiated. 1. abnormal sperm, 2. sperm bundle, 3 spermatid

照射虫のそれよりも先端部へ移動しており、精原細胞のうは観察されなかった。

12時間後にはさらに精原・精母細胞の異常凝集や壊死が進み、細胞の間隙が目立つようになった。

先端部から中央部にかけては、非照射虫で見られた第二精母細胞の有糸分裂像は観察されず、精子細胞が無秩序に分散していた。中央部には、精子細胞群が残存しているが、非照射虫に見られる精子細胞群特有のU字形やV字形の細胞の分布は失なわれていた。また、精子形成過程に乱れが生じており、結束部位が染色された精子束とともに、全体が明瞭に観察されずに発育前期で結束部位が解けた状態に近く、自由精子（完成精子）よりも形状の大きい異常精子が認められた。

異常精子は、羽化直後では、約半数の観察個体で中央部の1~2ヶ所に認められるにすぎないが、12時間後では、観察した全個体で中央部での異常精子の拡がりや、先端部への流入がみられた（Fig. 3）。

乾燥虫でも、生体とはほぼ同様のことが観察された。

以上のように、生体・乾燥虫のいずれについても、精巣先端部における異常精子の出現に加えて、精原・精母細胞の残存状態および精子細胞群の形態等を総合的に観察することによって、羽化12時間後において、非照射虫と照射虫の識別が可能であった。

② 羽化24・36・48時間後

非照射虫：生体・乾燥虫ともに、精原・精母細胞および精子細胞の状態は、24時間から48時間後まで羽化直後の精巣と同様であった。中央部では、時間の経過とともに精子形成過程がさらに進み、染色される精子束の密度および個々の精子束の染色される部分の割

合が高まった。

羽化48時間後の精子束の分布は、精巣の1/3から1/2を占めるようになった。

照射虫：生体・乾燥虫ともに、24時間後には精巣先端部に精原・精母細胞、続いて精子細胞および極めてまとまりの悪い精子細胞群が散在している。先端部におけるこれらの細胞の密度は著しく低下した。

中央部から下端部にかけては、異常精子が充満し、染色された精子束が散在していた。また、異常精子は先端部にも流入し、精巣の約60~70%を占めていた。

精原・精母細胞の消滅は、時間の経過とともに進行し、36時間後で約10%、48時間後では約20%の個体でこれらの細胞が認められなくなり、存在する場合でも精巣の最先端部に極めてわずかに存在するにすぎなかった。さらに、分散した精子細胞群の間にまで異常精子が流入するようになった。

なお、生体精巣と乾燥体精巣の内容は同様に観察されたので、以下生体精巣の観察結果について述べる。

(3) 羽化後48時間以降の生殖細胞の状況

① 羽化1日齢から6日齢

非照射虫および野生虫：精巣先端部と中央部の精巣内容は上記(2)の②と同じであった。羽化2日齢における照射虫と非照射虫の精巣の状況を模式的に示したのがFig. 4である。非照射虫、野生虫とも下端部には、殆ど完成した精子束が、羽化2日齢頃から見られるようになった。完成精子束から自由精子が出現する日齢は、Fig. 5のとおりである。押しつぶし法観察により非照射虫は2日齢で約4%、野生虫では3日齢で約1%の標本で貯精のうにわずかな自由精子が認められた。

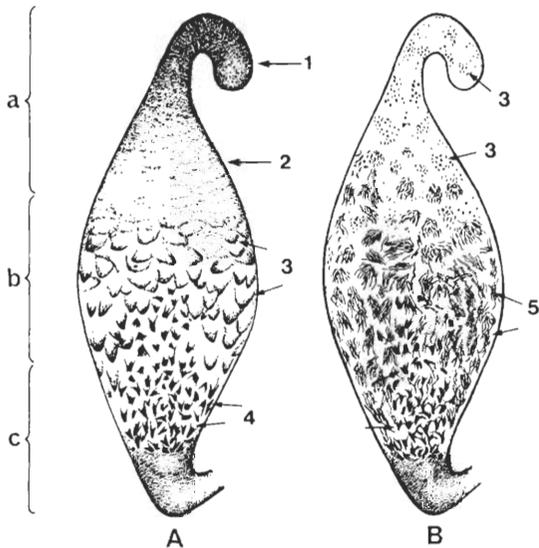


Fig. 4. Testes from 2 day old melon fly (A: normal, B: irradiated).
 a: apical region
 b: middle region
 c: basal region
 1: spermatogonia
 2: spermatocyte
 3: spermatids
 4: sperm bundle
 5: abnormal sperm

Whole mount 法により 90% 以上の精巣で自由精子が観察されるのは、非照射虫で 4 日齢、野生虫は 6 日齢になってからであった。

この間に 916 頭の野生虫の精巣を観察したが、このうち 5 頭で両精巣あるいは片側精巣が、通常の精巣の長さの約 1/2 程度と小さく、その内容物が全くなかったり、精原細胞様の細胞のみが観察された。

照射虫: 1 日齢と 2 日齢の精巣内容物は上記 (2) の ② に記述した。

先端部や中央部に存在した精子細胞は、日齢を追って退化、消失し、4 日齢で約 50%、6 日齢では全ての標本で見られなくなった (Fig. 6)。

外見上正常に見える自由精子は、3 日齢で押しつぶし法により観察できるようになり、6 日齢で Whole mount 法により 90% 以上の精巣で認められた (Fig. 6)。同系統の非照射虫の自由精子出現日齢よりも 2 日ほど遅れた。

6 日齢の精巣では、ほぼ全体に分布する異常精子、中央部や下部には密度の低くなった精子束および精巣の長さの 1/3 から 1/5 を占める貯精のうに自由精子が

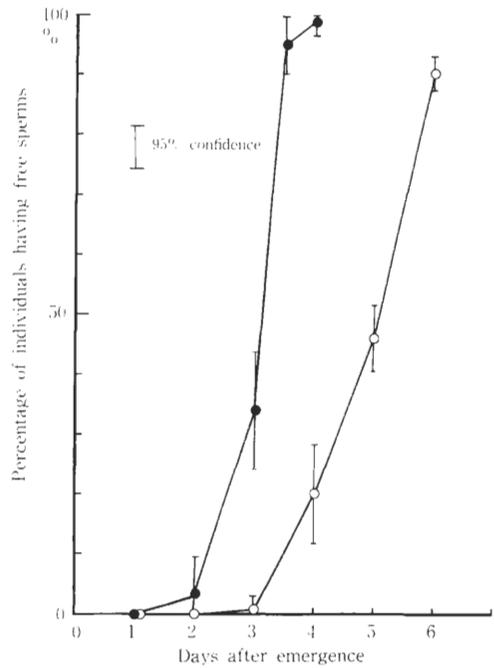


Fig. 5. Relation between days after emergence and percentage of individuals having free sperm in mass reared (●) and wild (○) males.

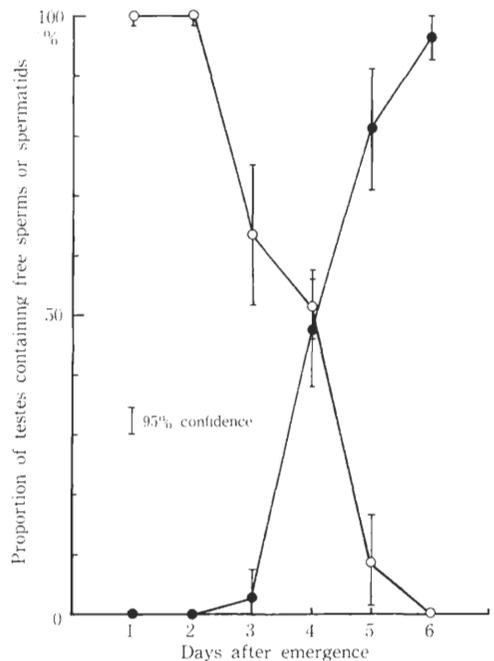


Fig. 6. Relation between days after emergence and proportion of testes containing free sperm (●) or spermatids (○).

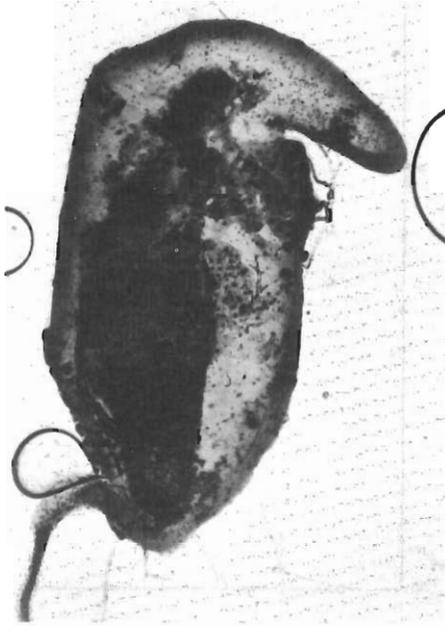


Fig. 7. Testis from a 2-week old fly irradiated.

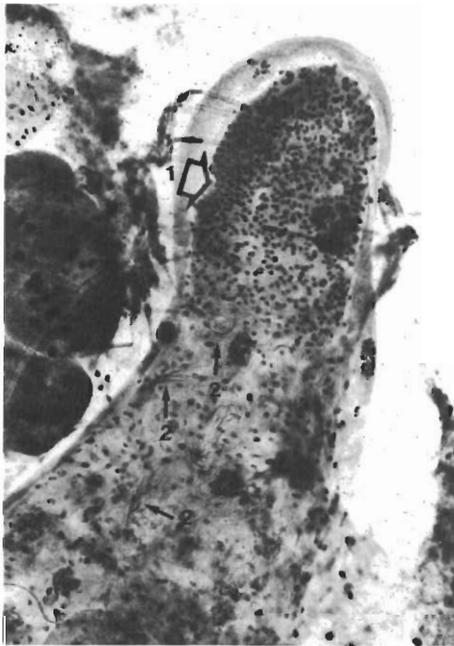


Fig. 8. Testis from a 2-week-old melon fly irradiated
(1: spermatogonia-like cells,
2: sperm bundle)

観察された。

② 羽化10日齢以降52日齢まで

非照射虫および野生虫: 精巣には、精原・精母細胞、精子細胞、精子束および貯精のうには自由精子が認められる。

自由精子が貯精のうに現われてから、精子の量は日齢の経過とともに増加するが、精子で満たされた貯精のうが、精巣全体の長さにも占める割合は1/2を越えることはなかった。

野生虫は、10日齢から52日齢まで620頭を調査したが、3頭は両精巣、2頭は片側精巣が通常の精巣に比べて小さく、それらの精巣には生殖細胞と思われるものが全く含まれていなかった。

照射虫: 精巣のほぼ全体に拡がっていた異常精子、中央部や下端部に散在していた精子束は、10日齢になると、殆ど観察されなくなり、精子束が存在する場合でも、数個であった。中央部から下端部にかけては自由精子が分布していた (Fig. 7)。

6日齢では、先端部で精子細胞が消失し、10日齢で異常精子も殆ど認められなくなったが、先端部には精原細胞様のものが出現した (Fig. 8)。このような状況は、10日齢で27.4%、14日齢で25.9%、52日齢で35.



Fig. 9. Testis from a 52-day-old melon fly irradiated.
(1: string-like substance,
2: abnormal sperm.)

6%の精巣で認められた。

非照射虫や野生虫では、細胞のうに包まれた精原・精母細胞が濃密に存在した。一方、照射虫においては、精原細胞様の細胞が散在したり、先端部の一部を満たしていることもあり、これらには生殖細胞特有の細胞のうが観察されず、精巣最先端部から細胞分裂が行われているとは考え難い状況を示すものが多かった。

なお、52日齢では、精原細胞様の細胞、紐状物(Fig. 9)および自由精子が同時に観察される精巣と、これらの二者又は一者のみが存在する精巣があった。

考 察

1. ウリミバエ雄成虫の羽化日齢とキュールアに対する反応

浜田(1977)は、ウリミバエ雄成虫のキュールアに対する反応の日齢変化について27°Cで調査したところ、3日齢から4日齢ではキュールアに誘引されず、5日齢から反応を示す個体が現れ、7日齢付近で反応を開始する個体が急速に増加していると考えられるとした。

ウリミバエがキュールアと殺虫剤をセットしたトラップに誘殺される日齢について、KOYAMA et al. (1982)は高温条件下(平均26.6°C)で7日齢、低温条件下(20.6°C)では15日齢で安定するとした。

筆者らが用いたウリミバエは、累代飼育虫(21世代)を母虫とし、浜田(1977)は約10世代の累代飼育虫を使用しているなど、三者の調査方法が異なるため、直接の比較はできないが、高温条件下(約26°C)では、ほぼ同様の結果が得られていることから、およそ羽化5日齢でキュールアに反応するようになり、トラップに誘殺されるものと考えられる。低温下における反応については、KOYAMA et al. (1982)およびミカンコミバエにおける梅谷ら(1972)の調査結果から、高温期よりもさらに日齢を経過するものと考えられる。

なお、喜界島のトラップに実際に誘殺された標本の識別において、放飼虫の精巣に精原・精母細胞および精子細胞が確認されなかった。このことから、ウリミバエがトラップに誘殺される日齢は、羽化後5、6日以降であると示唆された。

2. ウリミバエの不妊虫と野生虫の識別

昆虫にエックス線やガンマー線を照射した場合、生殖細胞が受ける影響については、多くの細胞学的研究が行われている(中西, 1967; RIEMANN, 1967; RIEMANN and THORSON, 1969; ANWAR et al., 1971;

HUQUE, 1971; 清久・佃, 1974; 清久, 1976)。

LACHANCE and RUUD (1977)は、ガンマー線照射や化学物質による不妊化処理で多くの昆虫の精子が優性致死変異を引き起こすことや、精巣の精原・精母細胞が壊死するという細胞学的知見を基に、ラセンウジバエの精巣生殖細胞を染色して不妊虫を識別する方法を提案した。

70 Gyのガンマー線を照射されたウリミバエの精巣生殖細胞と非照射虫および野生虫の生殖細胞を乳酸・酢酸オルセインで染色してWhole mount法により比較観察した結果、少なくとも羽化後12時間で生体および乾燥虫ともに照射虫の生殖細胞に対する非照射虫および野生虫の精巣内容に明らかな差異が認められ、識別は可能であった。

すなわち、羽化直後(照射後約3日)には精原・精母細胞の染色性が弱まり、これらの細胞のうが不明瞭になった。この状況は、羽化2日前にガンマー線(100 Gy)を照射した蛹から羽化した1日齢のチチュウカイミバエの生殖細胞の状況(ANWAR et al., 1971)と類似していた。

羽化12時間後になると、さらに精原・精母細胞は異常凝集(中西, 1967; ANWAR et al., 1971)や壊死が進行し、精子細胞のう内の精子細胞は、非照射虫や野生虫の精子細胞が持つ独特の分布を失い混乱した。ラセンウジバエでも同様の影響が観察され(RIEMANN, 1967; LACHANCE et al., 1977; RAWLINS et al., 1981)不妊虫の識別点の一つとされた。

Whole mount法により供試虫の90%以上で自由精子を貯精のうに観察できるのは、非照射虫で4日齢、野生虫では6日齢であるのに対し、照射虫では精巣中央部に羽化12時間で異常精子(ANWAR et al., 1971)が出現した。さらに照射虫で、外見上正常な自由精子が6日齢で貯精のうに認められた。これは、精子細胞が精子束へ発達する過程において、発育前期にある精子束が照射を受けた場合には、異常精子となり、発育がさらに進んでいるものは自由精子状となったと考えられる。

さらに日齢の経過とともに、精子細胞、異常精子および精子束が消滅した。52日齢でも精巣内の自由精子の密度は低く、新たな精子の追加はないものと思われる。

LACHANCE and RUUD (1977)はWhole mount法で生殖細胞を観察する場合、ラセンウジバエの若日齢の標本では、精巣に付着する脂肪等により識別が困難であるとし、RAWLINS et al. (1981)は押しつぶし法による精子細胞核の大きさと形状を調べることによ

り、若日齢のものでも正確に識別できるとした。

ウリミバエ照射虫の生殖細胞においても、精原・精母細胞、精子細胞は羽化後数日間残存する。しかし、羽化12時間後には、精原・精母細胞のうが破壊されていることや、精子細胞群の分布の乱れ、さらに異常精子の出現を Whole mount 法により確認でき識別上も支障はなかった。

本調査では、照射虫の生殖細胞と比較するために、非照射虫に加えて、野生虫の精巣も供試した。その結果、非照射虫では生殖細胞に異常のある標本を見なかったが、野生虫では生殖細胞を欠くなど正常な精巣と異なるものが見られた。これらの精巣は、照射虫の生殖細胞の日齢変化と、その特徴等の知見により識別が可能であり、さらに両側精巣を観察することによって、より正確な判定が可能である。

なお、10日齢から52日齢の照射虫で見られた精原・精母細胞様の細胞は、RIEMANN and THORSON (1969) が、双翅目の3種 (イエバエ *Musca domestica*; クロキンバエ *Phormia regina*; ラセンウジバエの一種 *Cochliomyia macellaria*) にエックス線を照射した場合に、「照射2週間後に、精原・精母細胞が消失し、生殖細胞様の組織の再生が見られたが、細胞のうが形成されておらず、その細胞核が正常な第1精原細胞のそれよりも小さく、きめの荒い染色質を持つことから、生殖細胞組織というよりもむしろ、体細胞組織である。」としたことと、同様の性質のものであると考えられる。

以上のように、本調査で得られた照射虫および非照射虫の生殖細胞に関する種々の知見をもとに、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は、羽化12時間以降可能であった。しかしながら、野生虫で見られた異常精巣のように、識別に際して注意

を要するものもあるため、観察の蓄積による識別精度の向上およびさらに詳細な細胞学的調査等を実施する必要が残されている。

防除効果確認調査への導入方法

乾燥状態にある誘殺虫から精巣を摘出する作業の能率は、現段階において1人1時間当たり40頭前後である。一方、喜界島に設置されている100個のトラップの1ヶ月あたりの誘殺虫数は約11,000頭であり、これらをすべて精巣生殖細胞観察の対象とするには無理がある。

従来、鹿児島県ウリミバエ防除対策室では、蛍光色素によるマーク識別との併用の形で、10トラップ分の誘殺虫のうちマーク識別の困難なものについて、林・小山(1981)の方法に従い精巣外部形態観察を行い、腹部第4節部位の左側精巣最大幅0.3mmを不妊虫(S)と野生虫(N)の識別基準としてSN比調査を行っている。従って、染色による精巣観察を導入する場合もSN比調査用の10トラップ分の誘殺虫についてマークの有無を調べた後、非マーク虫あるいはマークが不明瞭な個体を対象に、本識別法を適用するのが妥当であると考ええる。誘殺虫を対象にした防除効果確認作業体系に組み入れた場合、作業の流れは、Fig. 10のとおりとなる。

この作業体系に従って、SN比調査用誘殺虫について本法により識別を行った結果、両側精巣幅が0.3mm未満の標本および左右いずれかの精巣幅が0.3mm以上の標本は、すべて不妊虫であった。また、両側精巣幅が0.3mm以上の標本のうち13頭が不妊虫で7頭が野生虫で、形態観察と比較して精度が高いことを示

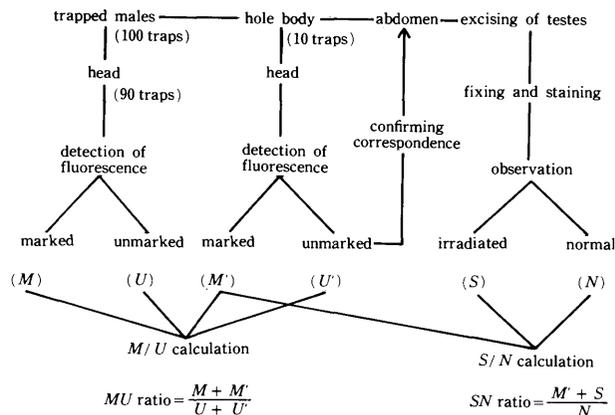


Fig. 10. Flow chart for confirming wild individuals from unmarked flies trapped.

Table 1. Confirmation of wild individuals from trapped melon flies on which the marking dye was not or indistinctly detected (trapped, 16 June '83-2 May '84)

Testis width* (mm)	Detection of fluorescent dye on head			Distinction by observation of testes			
	Indistinct	Negative	Total	Sterile	Normal	**	Total
0.3 > Right & left	25	51	76	73	0	3	76
0.3 ≤	Right	2	8	10	10	0	10
	Left	1	6	7	7	0	7
	Both	3	18	21	13	7	21
Total	31	83	114	103	7	4	114

* : Measurements were made at Melon Fly Control Center, Ohsima-branch, Kagoshima Prefectural Government.

** : Testes could not be excised from abdomen which has already rotted.

した (Table 1)。

摘 要

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調査した。

照射虫では、羽化12時間後で精原・精母細胞の異常凝集、同細胞のうの消失、精子細胞のう内の精子細胞の分布の混乱および精巢中央部での異常精子の出現等が認められ、日齢の経過とともに精原・精母細胞、精子細胞、異常精子および精子束は消滅し、精巢内容が乏しくなった。

累代飼育の非照射虫および野生虫の精巢では、精原・精母細胞から精子細胞、精子束および自由精子まで、一連の精子形成過程が観察された。90%以上の標本の貯精のうに自由精子が出現したのは、非照射虫で4日齢、野生虫で6日齢であった。

以上の結果から、少なくとも羽化12時間後に誘殺され、2週間程度の自然乾燥を経た後に摘出された精巢でも、その生殖細胞の状態を観察することにより、不妊虫と野生虫の識別は可能である。したがって、この方法は現在行われている誘殺虫を対象とした不妊虫識別手法として、精度も高く、有効であると考えられる。

なお、虫体から精巢を摘出する作業の能率は1人1時間当たり約40頭であった。

引用文献

- ANWAR, M., D.L. CHAMBERS, K. OHINATA and R.M. KOBAYASHI (1971) Radiation-sterilization of the mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae): Comparison of spermatogenesis in flies treated as pupae or adults. *Ann. Entomol. Soc. Am.* **64**(3) 627-633.
- 浜田竜一(1977) ウリミバエ雄成虫のキュールアに対する反応の日齢変化。昭和55年度沖縄県特殊病害虫防除事業報告 42-43.
- 林 幸治・小山重郎(1981) 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.
- HUQUE, H. (1971) Effect of gamma radiation on the reproductive organs of *Dacus zonatus*. Sterility principle for insect control or eradication. IAEA. Vienna. 31-36.
- 岩橋 統(1979) 不妊虫放飼法によるウリミバエ *Dacus cucurbitae* COQUILLET の根絶に関する生態学的研究。沖縄県農業試験場特別報告 **1**: 1-72.
- 鹿島島大島支庁ウリミバエ防除対策室, 農業試験場大島支場(1983) 精巢の外観によるウリミバエの野生虫と放飼虫の判別法。ウリミバエ試験成績書 **II**: 34-39.
- 清久正夫・佃 律子(1974) 人工不妊昆虫の生態に関する研究。VII. 奄美大島のミカンコミバエに及ぼす¹³⁷C₆₀ガンマー線の影響。岡山大学農学報 **43**: 1-9.
- 清久正夫(1976) ¹³⁷C₆₀ガンマー線半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.
- KOYAMA, J., Y. CHIGIRA and O. IWAHASHI (1982) An estimation of the adult population of the melon fly, *Dacus cucurbitae* COQUILLET (Diptera: Tephritidae), in Okinawa Island, Japan. *Appl. Ent. Zool.* **17**(4): 550-558.
- LACHANCE, L.E. and R.L. RUUD (1977) Cytological identification of native and irradiated released screwworm flies in trap catches. *J. Econ. Entomol.* **70**: 501-504.
- 中西 宥(1967) 精子形成, 生物の科学, 遺伝 **21**(3): 24-28.
- 小熊 譲(1980) トノサマバットの内部形態。材料・実習編(吉武成美編), 東京: 学会出版センター, pp 115-119.

- RAWLINS, S.C., D.O. MCINNIS and J.R. ELLISON (1981) Evaluation of techniques for distinguishing normal and irradiated male screwworm flies. *J. Econ. Entomol.* **74**: 241-243.
- RIEMANN, J.G. (1967) A cytological study of radiation effects in testes of the screw-worm fly, *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* **60**(2), 308-320.
- RIEMANN, J.G. and B.J. THORSON (1969) Comparison of effects of irradiation on the primary spermatogonia and mature sperm of three species of Diptera. *Ann. Entomol. Soc. Am.* **62**(3): 613-617.
- 梅谷献二・関口洋一・潮新一郎 (1972) ミカンコミバエの産卵能力およびメチルオイゲノールに対する反応. *応動昆* **17**: 63-70.
- 梅谷献二・尊田望之・石田里司 (1981) カリフォルニアにおけるチチュウカイミバエの発生. *植物防疫* **35**: 310-315.