

ガンマ線を照射されたウリミバエ(*Dacus cucurbitae* COQUILLET)の妊性回復について

佐土嶋敏明・坂之内踐行*・榎原 則幸
武石 博實・桐野 嵩・大戸 謙二**

門司植物防疫所名瀬支所

西岡 稔彦

鹿児島県大島支庁ウリミバエ防除対策室

Studies on the Recovery of Fertility of the Melon Fly, *Dacus cucurbitae* COQUILLET (Diptera; Tephritidae), Irradiated with Gamma-Rays. Toshiaki SADOSHIMA, Fumiyuki SAKANOUCHI, Noriyuki ENOHARA, Hiromi TAKEISHI, Takashi KIRINO, Kenji OHTO (Naze Branch, Moji Plant Protection Station) and Toshihiko NISHIOKA (Melon Fly Eradication Project Office Oshima-branch, Kagoshima Prefectural Government). *Res. Bull. Pl. Prot. Japan* 22: 11-21 (1986).

Abstract: Recovery of spermatogenesis of testes of the melon fly irradiated with sub-sterilizing doses, 30 Gy or 40 Gy, two full days before emergence was completed superficially about two weeks after treatment. The rates of individuals with recovered testes among the flies treated with 30 Gy or 40 Gy were 49% and 1% respectively, on 14th day after emergence. The males with such testes recovered their fertility.

The females treated with 30 Gy or 40 Gy, were 74% and 4% respectively, kept their ovaries developing. The fecundities of these females, however, decreased exceedingly than that of normal group. The number of eggs per female laid by irradiated female increased with age, further, the percentage hatch of eggs laid by female treated, particularly, with 30 Gy increased on and after 29th day after emergence.

On the male irradiated with 70 Gy two full days before emergence, the rate of male flies with recovered testes were less than 0.03% in laboratory-reared group, and ca. 0.05% in the males marked, released and recaptured in Kikai island.

The results suggested that the frequency of the irradiated and released flies with recovered testes in the project was very low. Therefore the cytological identification method can be used to distinguish the wild individuals from sterilized flies, which were caught in traps, in eradication programs.

結 言

不妊虫放飼法による害虫防除では、野生虫の密度を正確に把握することが重要である。防除効果の進展にともなって野生虫の密度が低下し、低密度下での正確な個体数の推定が要求される（湯嶋・平野，1973）。

鹿児島県喜界島でのウリミバエ根絶防除事業では、放飼する不妊虫に蛍光色素でマークし、同島に設置されているモニタートラップによる誘殺虫のマーク検出調査を行って、マーク虫（不妊虫；M）と非マーク虫（野生虫；U）の密度（MU比）を調査している。また、1983年8月から、マーク検出調査を補完し、不妊虫と野生虫の識別精度を高めるため、マーク不明瞭個体や

非マーク虫について、精巣生殖細胞の観察による識別法を導入した。同調査には、設置されている100トラップのうちの10トラップの誘殺虫を供試し、不妊虫（S）と正常虫（野生虫；N）の密度（SN比）を調査している（坂之内ら，1985）。

喜界島におけるウリミバエの寄生果率調査では、1983年8月から1985年3月まで寄生果がまったく認められず、同島における野生虫残存の可能性は極めて低かった。

ところが、同期間のSN比調査では37,707頭の誘殺虫のうち158頭がマーク不明瞭虫または非マーク虫で、このうち7頭が正常虫と判定された。この7頭は、1983年11月から1984年4月までの6カ月間に集中して誘殺されたものであった。

一方、東京都小笠原では、ガンマ線80 Gyを照射されたミカンコミバエの精巣生殖細胞が再生する可能性

* 現在、門司植物防疫所 国際課

** 現在、横浜植物防疫所 調査研究部害虫課

が示唆された(東京都, 1984)。このことは、ウリミバエにおいても不妊虫の精巢生殖細胞が再生し、正常虫のそれと識別できない可能性を示唆するものであり、その出現頻度によっては、精巢生殖細胞観察による識別精度に影響をおよぼすことが考えられる。

そこで筆者らは、羽化3日前のウリミバエの蛹にガンマ線を低線量(30および40 Gy)照射し、羽化した成虫の生殖細胞の状況と妊性について調査した。また、同事業で用いられている照射線量(70 Gy)で処理されたものの精巢についても同様の調査を行い、生殖細胞再生個体がSN比調査に与える影響について検討した。

本文に入るに先立ち、本稿の御校閲の労を煩わせた沖縄県農業試験場の照屋 匡氏、また供試虫の解剖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の方々に厚く御礼を申し上げる。

材料および方法

1. 低線量照射虫の精巢生殖細胞および卵巣の發育

供試虫は、鹿児島県ウリミバエ防除対策室で大量増殖され、羽化3日前に ^{60}Co を線源とするガンマ線30 Gyを照射された蛹(累代30世代, 以下30 Gy照射虫と記す)と40 Gyを照射された蛹(累代31世代, 以下40 Gy照射虫と記す)および非照射蛹(累代30および31世代, 以下非照射虫と記す)であった。これらを当所飼育室内($26\pm 1^\circ\text{C}$, $70\pm 10\%$ R.H., 16L 8D)で各照射線量ごとに大型ケージ(40×40×40 cm, 5面サランネット張り)で飼育したものをを用いた。羽化した成虫には、水と成虫飼料(アンバーBYF 100[®] 1:砂糖5)を与えた。

(1) 精巢生殖細胞

30 Gy照射虫は、羽化当日から14日目まで毎日、以後20日目から5日ごとに60日目まで、また40 Gy照射虫は羽化直後、5, 8, 11, 14, 17, 35および60日目まで各100頭ずつサンプリングして調査した。

虫体からの精巢の摘出、固定、染色および精巢生殖細胞の観察は、坂之内ら(1985)の方法に従った。

(2) 卵巣の發育状況

30 Gyおよび40 Gy照射虫は、100頭ずつ、非照射虫は20頭ずつ、羽化後8, 11, 14, 20および60日目にサンプリングした。

虫体からの卵巣の摘出は、実体顕微鏡下、リンゲル氏液中で行った。

摘出した卵巣は、スライドグラス上でカバーグラスをかぶせた後、押しつぶし、林・小山(1981)の方法で

卵巣卵の形成過程を前卵黄形成期(I~IV)、卵黄形成期(V~VII)および完成した成熟卵(VIII)に分け、各日齢ごとに卵巣卵の形成度および成熟卵保有雌率を調べた。また、羽化後14日目および60日目には成熟卵数を数えた。

2. 低線量照射虫の妊性

1と同じ供試虫を羽化24時間後に雌雄に選別し、30 Gyと40 Gyの照射線量ごとに照射雄×非照射雌区(以下I♂×N♀と記す)、非照射雄×照射雌区(以下N♂×I♀と記す)、および対照区として非照射雄×非照射雌区(以下N♂×N♀と記す)を設定した。

30 Gy照射区では、各調査区ごとに雌雄20対を1対ずつポリプロピレン容器(直径11 cm, 高さ9 cm)で飼育(以下つがい飼育と記す)して一雌当たりの産卵数とふ化率を調べ、また各区雌雄120対を30対ずつ4個の小型ケージ(15×15×15 cm, 4面サランネット張り)で飼育(以下集団飼育と記す)し、ふ化率を調べた。

40 Gy照射区では、各調査区ごとに雌雄100対を50対ずつ2個の小型ケージで水と成虫飼料を与えて飼育し、産卵数とふ化率を調べた。

採卵器として、つがい飼育では半月状の切れ込みを入れたフィルムケースの底に寒天を流し込み、その上にカボチャの薄片を置いたものを用い、また集団飼育ではシャーレ(直径9 cm)に寒天を流し込んだ上にカボチャの薄片を置いたものを用いた。

採卵は、つがい飼育では全数、集団飼育では1ケージ当たり最高200卵を湿った濾紙の上に黒いゴース布を敷きその上に並べて48時間後にふ化率を調査した。

なお、つがい飼育を行った30 Gy照射雄については、ふ化率調査終了後に、1の(1)と同様の方法で精巢生殖細胞の観察を行った。

3. 70 Gyを照射された雄成虫の妊性と生殖細胞の再生する個体の出現頻度

(1) ふ化率

本調査には、羽化3日前に防除事業で採用されている照射線量70 Gyを照射された蛹(以下70 Gy照射虫と記す)と非照射蛹から羽化したものをを用いた。

羽化24時間後に雌雄に選別し、照射雄×非照射雌区を設定し、水と成虫飼料を与えて飼育した。調査は3回行い、各回の供試対数は次のとおりであった。

第1回: 累代30世代目の供試虫750対を50対ずつ15個の小型ケージに収容。

第2回: 累代31世代目の供試虫1,000対を100対ずつ10個の中型ケージ(25×25×25 cm)

に収容。

第3回：累代32世代目の供試虫2,000対を10個の中型ケージに収容した。

採卵およびふ化率の調査は、毎週1回、2の集団飼育と同じ方法で行った。調査期間および調査卵数は次のとおりであった。

第1回：羽化後12日目から89日目までの間に11回採卵し、1ケージ当たり最高400卵について調査した。

第2回：羽化後12日目から47日目までの間に6回採卵し、1ケージ当たり最高800卵について調査した。

第3回：羽化後33日目から61日目までの間に5回採卵し、1ケージ当たり最高1,000卵について調査した。

(2) 雄の精巣生殖細胞

ふ化率調査終了後および調査期間中に死亡した個体についてはその都度、1の(1)の方法で精巣生殖細胞の観察を行い、再生個体の出現頻度を調べた。

4. 喜界島のモニタートラップに誘殺されたマーク虫の精巣の外部形態および生殖細胞

供試虫は、1983年11月15日から1984年4月2日までに喜界島のモニタートラップに誘殺されたウリミバエのマーク虫を用いた。

精巣外部形態の調査は、小山・千木良(1981)の方法に従い、精巣上端の位置および第4腹節部位における精巣幅を調べ、照射虫と非照射虫に識別するとともに、生殖細胞の観察によって不妊虫と正常虫に識別した。

結 果

1. 低線量照射虫の精巣生殖細胞および卵巣の发育

(1) 精巣生殖細胞

① 羽化直後

(30 Gy 照射虫)

精巣先端部の大部分には精細胞(spermatid)が無秩序に分散しており、本来その部分に分布している精原・精母細胞(spermatogonia and spermatocyte)は先端部分に凝集していた。また、精原・精母細胞を包んでいる細胞のう(cyst)は消失していた。

先端部から中央部にかけては、精細胞群が非照射虫のそれと同様にU字形もしくはV字形の集団として観察されたが、その分布はまばらであった(Fig. 1)。

下端部では、精細胞から精子束(sperm bundle)へと発達していく過程が観察されたが、ここには異常精

子(abnormal sperm)が認められた。また、下端部に自由精子(free sperm)はなく貯精のう(seminal vesicle)も形成されていなかった。

(40 Gy 照射虫)

羽化直後の精巣生殖細胞の状態は前記30 Gy照射虫と同様であった。

② 羽化後1~10日目

(30 Gy 照射虫)

照射の影響が進行し、異常精子が充満する精巣と生殖細胞が再生して非照射虫の精巣に近い状態になるものと大別された。

前者は、精原・精母細胞の状態が前記(1)の①と同様であり、先端部から中央部にかけて分散していた精細胞は日齢の経過とともにその密度が著しく低下し、4日目にはすべての精巣から消失した(Fig. 2)。また、異常精子は精巣全体に拡がり、中央部には精子束が、下端部には自由精子が分布しており、貯精のうは不明瞭で、自由精子は精巣の1/3から1/5を占めるなど同日齢の70 Gy照射虫の精巣(坂之内ら, 1985)と同様の状態であった。

一方、後者は羽化後4日目に精原・精母細胞が精巣の約1/2まで再生した精巣が認められ、さらに8日目以降には精細胞群が形成された精巣が観察された。これらの精巣においても下端部には異常精子が残存し、貯精のうも不明瞭であるなど非照射虫の精巣との識別は可能であった。Table 1に示すように部分的再成のみられる精巣の割合は、10日目まで40%前後を示した。

自由精子は羽化後3日目に押しつぶし法により30%の精巣で、また、3日目にWhole mount法によりすべての精巣で確認された。

(40 Gy 照射虫)

大多数の精巣は、生殖細胞の状態が前記②の30 Gy照射虫において、照射の影響が進行した精巣と同様であったが、5日目および8日目ともに100頭中2頭の精巣に生殖細胞の一部再生が認められた(Table 1)。しかし、5日目では精原・精母細胞、8日目でも精細胞が形成されておらず、30 Gy照射虫の再生程度に較べて1~2日遅い傾向を示した。その他の点については照射の影響が進行した精巣と同様であった。

③ 羽化後11~60日目

照射の影響が進行した精巣では、最先端部で精原・精母細胞がほとんど認められなくなり、精原細胞様細胞(坂之内ら, 1985)が出現した。また、異常精子の量が急激に減少し、かわって精巣先端部から中央部にかけて紐状物(坂之内ら, 1985)が現われた。下端部

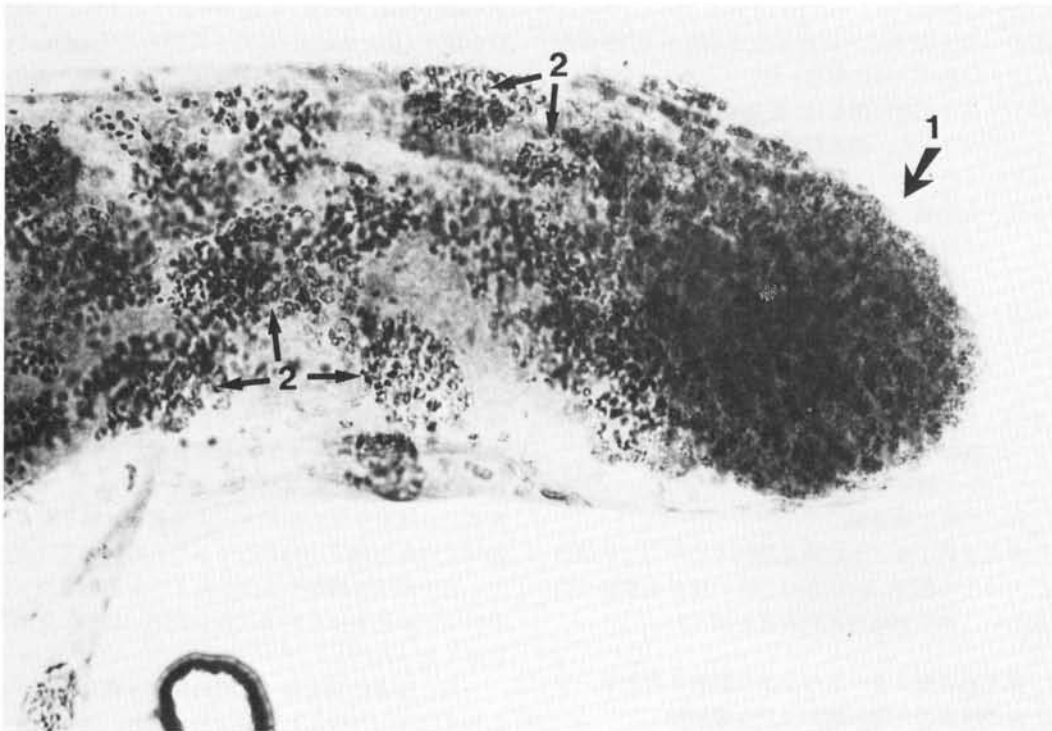


Fig. 1. Testis from one-day old meon fly irradiated with 30 Gy two full days before emergence. 1: spermatogonia and/or spermatocyte cells, 2: spermatids loosening their typical structure.

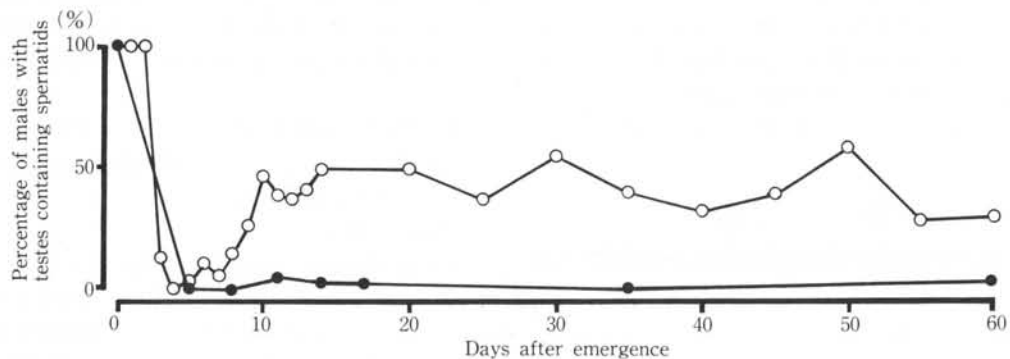


Fig. 2. Changes in the percentage of the melon fly with testes containing spermatids irradiated with 30 Gy or 40 Gy two full days before emergence. ○: irradiated with 30 Gy, ●: irradiated with 40 Gy.

の自由精子の分布域は、20日目以降精巢の1/2を超えるようになったが、貯精のうは非照射虫のように明瞭には観察されなかった。

生殖細胞が再生した精巢は、先端部から中央部まで精原・細胞のうが明瞭に観察された。さらに、精細胞から貯精のう内の自由精子に至るまでの精子形成過程

も確認でき、貯精のうも非照射虫のそれと同様に明瞭であった。

しかし、貯精のう内の自由精子が照射を受けた生殖細胞に由来するものか、再生した生殖細胞から形成されたものか、外見上不明であった。

羽化後11日目以降になると、精巢内に異常精子が観

Table 1. Recovery of spermatogenesis in testes of the melon fly after irradiation with 30 and 40 Gy two full days before adult emergence.*

Days after emergence	30 Gy		40 Gy	
	% testes showing			
	partial recovery	full recovery	partial recovery	full recovery
0	3	0	0	0
1	31	0	—	—
2	19	0	—	—
3	40	0	—	—
4	28	0	—	—
5	35	0	2	0
6	46	0	—	—
7	36	0	—	—
8	40	0	2	0
9	36	0	—	—
10	48	0	—	—
11	1	39	6	0
12	3	37	—	—
13	0	41	—	—
14	0	49	5	1
17	—	—	0	2
20	0	49	—	—
25	0	37	—	—
30	0	54	—	—
35	0	39	0	2
40	0	32(3)	—	—
45	0	39(25)	—	—
50	0	56(11)	—	—
55	0	29(14)	—	—
60	0	30(10)	0	4

() : No. of males showing full recovery in one testis.

* : 100 males were examined per day per treatment.

察されなくなり、Whole mount 法による観察では非照射虫の精巣の生殖細胞の状態と同様になった。このような精巣を持つ個体の割合は、羽化後 11 日目以降約 40% で推移し、40 日目以降はその割合がやや低下した (Table 1)。

なお、40 日目以降左右の大きさが極端に異なる精巣を持つ個体を、各調査日ごとに 3, 25, 11, 14 および 10 頭認めた。小さな精巣は照射の影響の進んだ精巣に、また、大きな精巣は非照射虫のそれに類似するものであった。

(40 Gy 照射虫)

大多数の精巣の状態は、前記 30 Gy 照射虫と同様であった。

生殖細胞が再生している精巣では、羽化後 11 日目に

先端部から中央部まで精原・精母細胞のうが認められたが、精細胞の特徴的な集団は形成されておらず、貯精のうも非照射虫の精巣のように明瞭ではなかった。また、精細胞や自由精子の間に紐状物が混在していた。このような生殖細胞の部分的再生を示す個体の割合は、11 日目に 5%、14 日目に 6% であった。

羽化後 14 日目になると、U 字形や V 字形の精細胞群が形成され、貯精のうも同日齢の非照射虫のそれと比較してやや未発達ではあるが明瞭に観察されるようになった。さらに、1 個体については紐状物が認められず、Whole mount 法で非照射虫の精巣との識別ができないほどになった。以後、精巣生殖細胞の完全に再生した個体の割合は、35 日目で 2%、60 日目で 4% であった。

Table 2. Development of ovary of the melon fly irradiated with 0, 30 and 40 Gy two full days before adult emergence.

Dose (GY)	Days after emergence	% females with each developmental stages of ovary								No. of matured eggs at 14 or 60 days after emergence (Mean±SD)
		I	II	III	IV	V	VI	VII	Matured	
0	8	0	0	65	10	25	0	0	0	—
	11	0	0	0	20	30	15	5	30	—
	14	0	0	0	0	15	5	0	80	33.85±22.12
	20	0	0	0	0	5	0	0	95	—
	60	0	0	0	0	0	0	0	100	43.20±17.30
30	8	64	0	0	0	30	0	0	6	—
	11	30	0	0	0	6	0	0	64	—
	14	44	0	0	0	0	4	0	52	4.06± 5.14
	20	28	0	0	0	2	4	0	66	—
	60	26	0	0	0	0	0	0	74	9.26±11.22
40	8	99	0	0	0	0	0	0	1	—
	11	100	0	0	0	0	0	0	0	—
	14	100	0	0	0	0	0	0	0	0
	20	100	0	0	0	0	0	0	0	—
	60	96	0	0	0	0	0	0	4	0.13± 0.69

(1) 卵巣の発育状況

非照射虫, 30 Gy および 40 Gy 照射虫の卵巣の発育状況を Table 2 に示した。

成熟卵を保有する雌の割合は, 非照射虫および 30 Gy と 40 Gy 照射虫の羽化後 14 日目まで各々 80%, 52% および 0%, 60 日目には 100%, 74% および 4% であった。また, 個体当たりの成熟卵数は羽化後 14 日目に約 33.9 個, 4.1 個および 0 個であり, 60 日目には約 43.2 個, 9.3 個および 0.1 個であった。

調査期間中における卵巣の形成度は, 非照射虫でステージ I のものが認められなかったのに対し, 30 Gy では平均 38%, 40 Gy で平均 99% がステージ I の形態にあった。

2. 低線量照射虫の妊性

ガンマ線 30 Gy を照射された雌の産卵数およびふ化率を Fig. 3 に示した。

1 雌当たりの産卵数(産卵数/調査雌数)は N ♂×N ♀区と I ♂×N ♀区で羽化後 30 日目まで 20~40 個, 以後 10~20 個で推移し, 両区ともほぼ同様の傾向を示した。一方, N ♂×I ♀区では, 40 日目までは極めて少なく平均 1.4 個であったが, それ以降やや増加し 60 日目では 5.3 個であった。

ふ化率は, N ♂×N ♀区で調査期間中 80% 前後と

安定しており, 平均ふ化率は 82.8% であった。N ♂×I ♀区では羽化後 27 日目まで 50% 前後で推移し, 30 日目以降は 70% 前後に高くなり, 平均ふ化率は 66.7% であった。I ♂×N ♀区では 15 日目まで 10% 未満であったが, その後次第に高くなり 30~40% を示した。平均ふ化率は 26.5% であった。

つがい飼育のふ化率は, 調査期間中集団飼育よりやや低く, 調査日ごとのばらつきが大きかったが, その推移は集団飼育とはほぼ同様であった。

なお, つがい飼育の照射虫について精巢生殖細胞の観察を行った結果, 照射の影響が進んだ両精巢を持つ個体のふ化率は 10.8%, 片側のみ照射の影響が進んだ精巢を持つ個体では 28.1%, 両精巢とも非照射虫様に再生した個体では 44.1% であった。

ガンマ線 40 Gy を照射された雌の産卵数およびふ化率を Fig. 4 に示した。

1 雌当たりの産卵数は N ♂×N ♀区で羽化後 21 日以降 20 個前後で推移し, I ♂×N ♀区では前者よりやや少ない傾向にあった。N ♂×I ♀区では 0~0.02 個と前 2 区と比較して極めて少なかった。

ふ化率は N ♂×N ♀区で比較的安定した値を示し, 平均 80% であった。N ♂×I ♀区では 7 回の調査のうち 3 回ふ化が認められ, 平均 60% であった。I ♂×N ♀区では, 羽化後 15 日目に 0.5% のふ化が認められ,

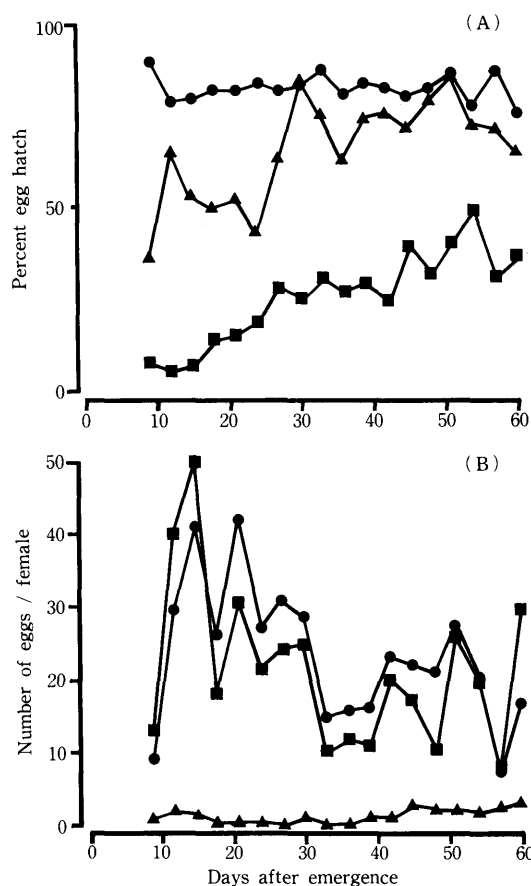


Fig. 3. Changes in the percentage of hatchability (A) and the number of eggs laid per female (B) of the melon fly irradiated 30 Gy two full days before emergence. ●: normal ♂ × normal ♀, ▲: normal ♂ × irradiated ♀, ■: irradiated ♂ × normal ♀.

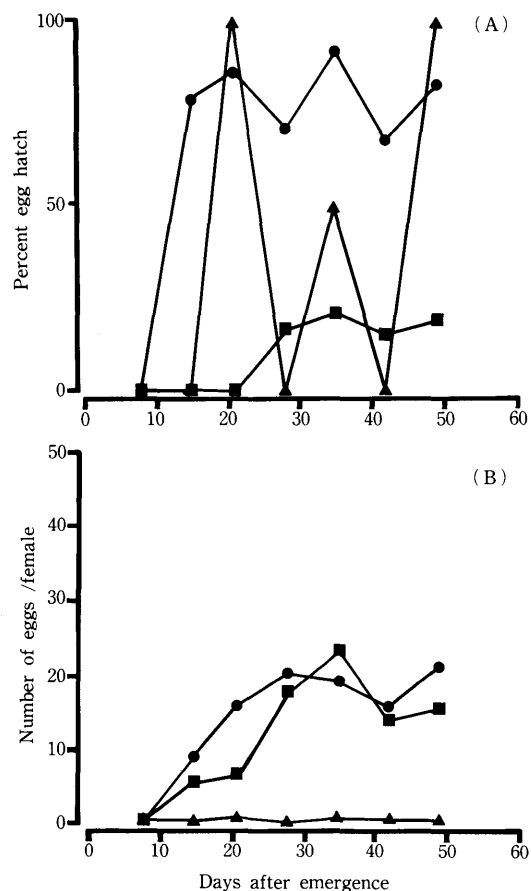


Fig. 4. Changes in the percentage of hatchability (A) and the number of eggs laid per female (B) of the melon fly irradiated 40 Gy two full days before emergence. ●: normal ♂ × normal ♀, ▲: normal ♂ × irradiated ♀, ■: irradiated ♂ × normal ♀.

Table 3. Rates of the melon fly with 70 Gy two full days before emergence with testes recovering germ cell.

Days after emergence	No. of flies examined	No. of flies identifies as		Rate of male with testes recovering germ cell
		sterile	normal	
12-89	750	780	0	0
12-47	1000	999	1	1/1000
29-61	2000	2000	0	0
Total	3750	3749	1	1/3750

Table 4. Result by observation of germ cell of trapped melon flies on which the marking day was detected. (trapped, 15 November 1983-2 April 1984, in Kikai Island)

	Distinction by external morphological observation of testes		Total
	Irradiated	Non-irradiated	
Distinction by observation of germ cell	Sterile	2	2019
	Normal	1	1
Total	2017	3	2020

Dissection were made at Melon Fly Eradication Project Office, Oshima Branch, Kagoshima Prefectural Government.

28 日目以降 20% 前後で推移し、平均ふ化率は 12.2% と低かった。

3. 70 Gy を照射された雄成虫の妊性と生殖細胞の再生する個体の出現頻度

(1) ふ化率

平均ふ化率は第 1 回調査から第 3 回調査まで、それぞれ 0.06, 0.05 および 0.12% であった。

なお、第 2 回調査において、9 個のケージではふ化率が 0.25% 未満で推移したのに対し、残りの 1 個のケージのみは羽化後 33 日目から 0.47~0.64% と他の約 2 倍のふ化率を示した。

(2) 雄の精巣生殖細胞

結果は Table 3 のとおりであり、1 頭のみ非照射虫の精巣生殖細胞の状態を示す個体があった。これは前述の第 2 回調査でふ化率の高かったケージに収容されていた個体であった。

4. 喜界島のモニタートラップに誘殺されたマーク虫の精巣の外部形態および生殖細胞

2,020 頭を調査したところ、外部形態観察では 3 頭が正常虫であったが、生殖細胞観察では 1 頭が正常虫と識別された (Table 4)。

考 察

放射線による昆虫の精巣生殖細胞への影響についてはラセンウジバエ *Cochliomya hominivorax* (RIEMANN, 1967; LACHANS and RUUD, 1977; RAWLINS *et al.*, 1981), チチュウカイミバエ *Ceratitis capitata* (ANWAR *et al.*, 1971), ミカンコミバエ *Dacus dorsalis* (東京都, 1973; 清久・佃, 1974; 清久, 1976), *Dacus zonatus* (HUQUE, 1971), イエバエ *Musca*

domestica, クロキンバエ *Phormia regina*, ラセンウジバエの 1 種 *Cochliomyia macellaria* (RIEMANN and THORSON, 1969), カイコ *Bombyx mori* (中西, 1967) およびウリミバエ (坂之内ら, 1985) など、照射による生殖細胞の障害や異常についての細胞学的な研究が行われている。しかし、照射後の生殖細胞の経時的再生や再生した生殖細胞に由来する自由精子の妊性等については論じられていない。

本調査において、羽化 3 日前のウリミバエの蛹にガンマ線 30 Gy および 40 Gy を照射したところ、大部分の個体で羽化直後には精巣最先端部の精原・精母細胞は、照射による影響を受けていた。このような状態はラセンウジバエをはじめ、各種の双翅目昆虫において若日齢で報告されている (RIEMANN, 1967; RIEMANN and THORSON, 1969; LACHANCE and RUUD, 1977; RAWLINS *et al.*, 1981; 坂之内ら, 1985)。

一方、照射後の精巣生殖細胞の再生に関して、 ^{60}Co 15 Gy をラセンウジバエの 2 日齢の蛹に照射した場合、精原・精母細胞が照射後 3 日目に活性を回復した (RIEMANN, 1967)。

さらに、RIEMANN and THORSON (1969) は、イエバエ、クロキンバエおよびラセンウジバエの 1 種に X 線 5~90 Gy を段階的に照射し、その影響を調べたところ、照射 2 週間後に精子形成の全過程が回復する個体の割合は、30 Gy 照射虫でそれぞれ 0, 70 および 95%, 40 Gy 照射虫で 0, 22 および 74% と種によって異なっていたが、照射のために中断された自由精子の生産が再開される日齢は、照射後およそ 2 週間と推定した。

ウリミバエにおいては、30 Gy 照射虫の精巣で羽化後 3 日目に精原・精母細胞、8 日目に精細胞群が再生し、10 日目には精巣下端部における異常精子の存在や貯精のうが未発達であることを除いて、ほぼ正常に近

い精巣が認められた。11日目(照射後14日目)になると、異常精子が消失し、貯精のうが同日齢の非照射虫のそれよりもやや未発達であるものの、39%の個体の精巣はほとんど非照射虫の精巣と変わらないまでに再生した。

また、40 Gy 照射虫では、同日齢の30 Gy 照射虫と比較して再生過程が1~2日遅く、羽化後14日目(照射後17日目)に1%の個体の生殖細胞が非照射虫のそれと同様の状態になった。

これらの調査結果は、照射により精巣生殖細胞が完全に破壊されない個体が存在し、その生殖細胞が再生する場合には、羽化後若日齢で活性を回復し、照射後2週間で精子形成過程の全ステージが復活することを示しており、前記のRIEMANN (1967)やRIEMANN and THORSON (1969)の調査結果とよく一致していた。

なお、40 Gy 照射虫の精巣生殖細胞の再生過程が30 Gyのそれに比較して1~2日遅いと推察された点については、30 Gy 照射虫においても同一日齢の個体で再生の過程に多少の差が認められたので、その遅れが照射線量の増加に伴い生殖細胞の影響が大きくなったことによるものか、放射線に対する感受性の個体差によるものか、さらに調査する必要がある。

RIEMANN (1967)によれば、不妊化線量である62 Gyを照射したラセンウジバエにおいて、精原・精母細胞が破壊されているにもかかわらず、照射後2週間目の貯精のう内に自由精子を観察したが、これらは、照射時に精細胞や未成熟精子であった細胞に由来する自由精子とし、さらに25 Gy 照射虫において1頭のみ精子形成の復活を認めた。

今回の調査では、30 Gy 照射雄のふ化率が羽化後2週間まで10%未満で推移し、40 Gy 照射虫では15日目の0.5%を除いて21日目までふ化は認められなかった。また、つがい飼育した30 Gy 照射雄の中に、生殖細胞は典型的な不妊化虫様であるにもかかわらず、ふ化率が約10%を示した。これらは、RIEMANN (1967)の報告と同様の細胞に由来する自由精子の中に妊性を維持したものがあつたためと考えられる。

しかし、羽化後2週間以降にふ化率が上昇したのは、精巣生殖細胞の再生によって新たに形成された妊性のある自由精子によるものと考えられた。

また、ふ化率がゆるやかに上昇したのは、妊性のある自由精子が同2週間以降貯精のうに蓄えられるものの、照射により優性致死遺伝子変異を生じた自由精子が残存して、貯精のう内の妊性を持つ自由精子の濃度が直ちに高くならなかったためと考えられる。さらにTERUYA and ISOBE (1982)がウリミバエの雌は1回交

尾の傾向があり、2回交尾を経験した場合には、1回目に受けた自由精子のふ化率への影響を否定できないとしたこともその要因と考えられた。

照射による卵巣への影響については、HUQUE (1971)や清久・佃(1974)、清久(1976)により卵巣の発育が停止あるいは遅延することが報告されている。

本調査においては、羽化後60日目でも30 Gy 照射雌で26%、40 Gy 照射雌では96%の個体の卵巣の発育が停止した。発育が停止しなかった卵巣においても、卵形成は著しく阻害されており、羽化後14日目の1雌当たりの成熟卵数は30 Gy 照射雌で4.06個、40 Gy 照射雌で0個であり、非照射雌の34個と比較してかなり少なかった。しかし、60日目の成熟卵数は30 Gyで9.26個、40 Gyで0.13個とやや増加しており、また、1雌当たりの産卵数についても、わずかながら同様の傾向が認められた。

ふ化率についても、30 Gy 照射雌では照射を受けた卵母細胞に由来すると考えられる産卵開始初期の卵では50%前後のふ化率を示し、数回の産卵を経た後に形成された卵では60~85%と上昇した。

これらのことから、低線量照射雌では、放射線によって卵巣の大部分が直接破壊されるが、卵巣の一部は照射の影響が完全ではなく、日齢の経過とともに妊性の回復につながる造卵機能の回復が明らかとなった。

坂之内ら(1985)は、羽化3日前にガンマ線70 Gyを照射した蛹から羽化したウリミバエで、羽化直後から52日齢までの生体および乾燥虫1,645頭の精巣生殖細胞を観察したが、非照射虫と類似の精巣を持つ個体は認めなかった。

本調査における70 Gy 照射雄のふ化率は、0.05~0.12%で、これは沖縄県が行った試験結果0.1~1.0% (TERUYA and ISOBE, 1982)や鹿児島県ウリミバエ防除対策室が行った試験結果0.5% (鹿児島県, 1984a) 0.06% (鹿児島県, 1984b)とよく一致していた。このふ化率調査の供試虫3,750頭の中に、1頭のみ非照射虫様の精巣を持つ個体が認められた。また、喜界島で誘殺されたマーク虫についても、2,020頭の中に1頭のみ非照射虫と類似する精巣を持つ個体があり、これらの精巣はWhole mount法によって非照射虫の精巣との明確な区別点を見いだせなかった。

このような非照射虫様の精巣を持つ個体の由来については、①放射線に対する感受性の低い個体、②照射後精巣生殖細胞の再生した個体、また、マーク虫の中に認められた1頭については、前記①、②以外に、③何らかの原因により、野生虫に蛍光色素が付着した等と考えられる。

①については、調査を行っていないが、ウリミバエでは放射線の感受性についての個体変異の幅が大きく、結果に示されるように、わずかではあるが極端に感受性の低い個体が存在する可能性がある。②については、本調査において、精巢生殖細胞が照射後2週間以降に非照射虫と識別できないまでに再成したことや、20日以降雌雄の妊性が上昇することが明らかとなったこと、および東京都小笠原のミカンコミバエ防除の際、60 Gyで照射されたミカンコミバエに精巢生殖細胞が再生した個体が出現しており、80 Gyの線量で照射した場合でもその可能性を指摘している(東京都1984)。③については、マークが極めて明瞭に検出されたことや、「無マーク虫および蛍光色素でマークしたウリミバエを同時に同一トラップに誘殺して、モータートラップの誘殺虫に適用される頭部押しつぶしによるマーク検出を行ったところ、無マーク虫に蛍光色素は検出されず、虫体洗浄による方法では蛍光色素が検出された(大戸ら、未発表)ことから、野生虫の頭部に蛍光色素が付着した可能性は極めて少ない。

したがって、①についての可能性は依然として残るものの、70 Gy照射虫およびマーク虫で認められた非照射虫様の精巢を持った個体の由来は、低線量照射虫と同様に、精巢生殖細胞が再生した個体である可能性が強い。

おわりに

現在の防除効果確認体系のSN比調査(坂之内ら、1985)においては、マーク検出調査の結果マーク虫であれば、精巢生殖細胞が完全に再生した個体は妊性を有する可能性があっても不妊虫として処理されざるを得ないことを意味する。一方、マークが不明瞭な個体、あるいは、非マーク虫であって照射による生殖細胞の破壊が不完全で、精巢が正常に機能する個体は野生虫として識別される。

ところで、1983年8月16日から1985年3月31日までのSN比調査数は37,707頭で、158頭が非マーク虫、またはマーク不明瞭虫であり、このうち7頭が野生虫として判定された。

この結果を基に算出した放飼虫のマーク脱落率を、マーク脱落率=

$$\frac{(\text{マーク不明瞭虫数} + \text{非マーク虫数} - \text{野生虫数})}{(\text{調査虫数} - \text{野生虫数})} \times 100$$

で求めると0.4%で、7頭の野生虫をマークが脱落した照射虫とした場合の値は0.42%であった。

一方、70 Gy照射虫およびマーク虫の精巢生殖細胞観察の結果によれば、生殖細胞が再生したと考えられた個体の出現率は、それぞれ $1/3,750=0.03\%$ (Table 3)および $1/2,020=0.05\%$ (Table 4)であった。

これらのことから、現行SN比調査においてマークが脱落し、70 Gyの照射線量に感受性が低い個体、もしくは精巢生殖細胞が再生する個体(その妊性の有無にかかわらず)の出現する頻度を求めると、約1,000,000頭に1頭または2頭の割合となる。したがって、精巢生殖細胞観察による不妊虫の識別法に与える影響は、ほとんどないものと考えられる。

これらのことから、1983年11月から1984年4月までの6カ月間に7頭が野生虫として識別されたのは、放射線非感受性個体や、精巢生殖細胞再生個体であるとするよりも、むしろ、ウリミバエ分布地域から侵入した個体であるとするのが妥当であろう。

摘 要

羽化3日前のウリミバエの蛹に ^{60}Co を線源とするガンマ線を低線量(30 Gyおよび40 Gy)照射し、生殖細胞の再生状況と妊性を調査した。また、ウリミバエ根絶防除事業における不妊化線量(70 Gy)を照射し、精巢生殖細胞が再生した個体の出現頻度を調査して、精巢生殖細胞観察による識別法を採用した現行SN比調査への影響を検討した。

低線量を照射された精巢生殖細胞が外見上非照射虫のそれと同様に再生した日齢は、照射後2週間以降であり、再生した個体の割合は、羽化後14日目の30 Gy照射虫で49%、40 Gy照射虫で1%であった。さらにふ化率は、30 Gy照射虫で羽化後17日目以降、40 Gy照射虫は同21日目以降に上昇したことから、再生した精巢生殖細胞は妊性を維持したと考えられた。

卵巣発育状況は、羽化後60日目の観察において、30 Gy照射虫で26%、40 Gy照射虫で96%の個体で卵巣の発育が停止しており、発育を停止しなかった個体でも造卵機能が著しく阻害され、産卵数は対照区に比較してかなり少なかった。

一方、個体当たりの成熟卵数および産卵数は、羽化後14日目より同60日目のほうが多くなり、ふ化率は、特に30 Gy照射虫において同29日以降に上昇したことから、卵巣の一部は照射による影響が不完全で、日齢の経過とともに妊性の回復につながる造卵機能が向上したと考えられた。

70 Gy照射虫において、非照射虫の精巢生殖細胞と類似する精巢を持つ個体の出現頻度は約0.03%であ

り、喜界島で誘殺されたマーク虫のそれは0.05%であった。

さらに、放飼虫のマーク脱落率は約0.4%であり、SN比調査においてマーク検出後、精巢生殖細胞観察の際に、再生個体が出現する頻度(マーク脱落個体率×精巢生殖細胞再生個体出現率)は1,000,000頭に1頭または2頭と推定された。

したがって、このような出現頻度であれば、現行防除効果確認体系のSN比調査には、ほとんど影響はないと考えられた。

引用文献

- ANWAR, M., D.L. CHAMBERS, K. OHIMATA 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**: 627-633.
- 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.
- 鹿児島県大島支庁ウリミバエ防除対策室, 農業試験場大島支場 (1984a) コンベア照射によるウリミバエ不妊化. ウリミバエ試験成績書 I: 90-96.
- 鹿児島県大島支庁ウリミバエ防除対策室, 農業試験場大島支場 (1984b) 蛹齢別照射虫の不妊化. ウリミバエ試験成績書 IV: 183-189.
- 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¹³⁷Csガンマ線の影響. *岡山大学農学報* **43**: 1-9.
- 清久正夫 (1976) ¹³⁷Csガンマ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**: 5-11.
- LACHANCE, L.E. and R.L. RUUD (1977) Cytological identification of native and irradiated screwworm flies in trap catches. *J. Econ. Entomol.* **70**: 501-504.
- 中西 有 (1967) 精子形成, 生物の科学, 遺伝 **21**: 24-28.
- 小山重郎・千木良芳範 (1981) 精巢の外観によるウリミバエの照射虫と非照射虫の判別法. 沖縄県特殊病害虫防除事業報告 6号補遺, 8-14.
- 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**: 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**: 613-617.
- 坂之内踐行・大戸謙二・佐土嶋敏明・福島 満 (1985) 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.
- TERUYA, T. and K. ISOBE (1982) Sterilization of the melon fly, *Dacus cucurbitae* COQUILLET (Diptera: Tephritidae), with gamma-radiation: Mating behaviour and fertility of females alternately mated with normal and irradiated males. *Appl. Ent. Zool.* **17**: 111-118.
- 東京都 (1973) ミカンコミバエのX線照射による不妊雄産出の研究. 小笠原諸島におけるミカンコミバエ生態研究報告 54-59.
- 東京都 (1984) ミカンコミバエ防除月例報告 (1, 2, 3月).
- 湯嶋 健・平野千里 (1973) 不妊雄法の基礎と問題点. 総合防除 (深谷昌次・桐谷圭治 編), 東京: 講談社, pp 256-267.