

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*

清久正夫・佃 律子・和田 脩**

Studies on the Ecology of Insect which was sterilized Artificially (Gamma Radiation)

IV. Sexual Behaviour of *Spodoptera littoralis* (Boisd.) sterilized as Pupae by the Gamma Radiation

Masao KIYOKU, Ritsuko TSUKUDA and Tohru WADA

The mating ability of males sterilized by gamma radiation— ^{137}Cs was examined. A male moth sterilized by a dose of $20\text{K}\gamma$ applied to pupae could mate with 3~5 virgin females in succession. The female mated with the sterilized male laid no-viable eggs. Significant difference occurred in the egg-production curves of females mated by sterilized or unsterilized males. Both beginning and maximum time for egg production were delayed by two and four days, respectively, as compared with the control.

Virgin females were mated first with unirradiated males and two days later with irradiated ones. In most cases they produced many viable eggs even after the second mating with irradiated males. When females were mated first with irradiated males and two days later with unirradiated ones, females of not less than 50 percentages produced no-viable eggs in spite of the mating with unirradiated males, but the others produced viable eggs after the second mating.

The structure of reproductive organs, development of germ-cells and behaviour of sperms in the reproductive organ of females were observed. Moreover, the course from copulation to fertilization was investigated. It was found that the eggs of females mated with irradiated males did not hatch by two different reasons. One was due to sterility of sperms and another to no-sperms in a receptaculum seminis according to abnormality of ejaculatory duct or spermatophore by the gamma radiation. It seemed to be necessary for the successful sterile male technique that the ejaculatory duct or spermatophore was not injured but only sperms were sterilized by the gamma radiation.

結 言

「Sterile Male Technique」による害虫防除の基礎的研究として、筆者らはこれまでに ^{137}Cs の放射線によるハスモンヨトウの不妊に関する実験を行なった(清久・佃1968, 1969a, 1969b, 佃・清久1969)。その放射線によって不妊虫をつくるに要する γ 線の線量、照射するときの昆

* 昭和44年4月、日本応用動物昆虫学会名古屋大会において講演した。

** 広島市・和田造園。

虫の発育時期、雄・雌の交尾習性をふまえて、 γ 線照射による不妊虫と正常虫との各種組み合わせを実験的に作ったときにみられる各組の産卵状態、一定の実験環境下で不妊虫を導入した正常の雄・雌個体群の繁殖能力の低下などが一応明らかにされた。しかしこの方法が野外に適用されるためには、更にこまかな基礎研究が必要であることがわかった。今回は γ 線を照射して不妊化した虫の性行動——交尾などはもちろん精子の行動を明らかにし、交尾と精子が卵と合体する過程との関連を検討する。

I. 材 料 と 方 法

放射線の照射方法、材料昆虫の取り扱いや交配法、産卵数や卵の孵化調査法は前報(清久・佃1969b)と基本的に同様であったから記載を省略し、今回の実験で特に説明を要すると思われた事項のみを記する。

(1) γ 線を照射した雄の「交尾能力」を調べるため、蛹の時代に20 Kr.の放射線を照射し雄蛾が何匹の雌蛾と交尾しその卵を不発にするかを調査した。その方法は γ 線照射を2昼夜の間隔でそれが死ぬまで徐々に未交尾の雌と交配し、交配ずみの雌の産む卵の数とその孵化率を、雌が死ぬまで毎日算えた。また交尾後の雌の産卵状態が交尾した相手の雄の状態でどのように異なるかを検討した。そのために γ 線を照射した雄と交尾した雌の産卵曲線を、正常雄と交尾した雌および交尾しなかった雌のそれらと比較した。産卵曲線とは、毎日の産卵数を縦軸に、交配日からの日数を横軸にとって作図した山型曲線である。

(2) すでに交尾をして受精卵を産みはじめた雌へ更に別の雄が交尾を試みた場合、その雌の産卵状態の変化を調べた。この実験では1つの雌に対して数匹の未交尾雄を2昼夜間隔で次々と交配し、それらの雌の毎日産む卵の数とその孵化率を、定めた1対の組み合わせの雌のそれと比較した。

また正常雌に対して γ 線を照射した雄と正常雄とを一定間隔で交互に交尾させる実験を今回も行なったが、前回の実験(清久・佃1969b)と異なった点は雄を取りかえる時間の間隔を2昼夜としたこと、雄の交換を3回まで行なったことである。

(3) 雄が雌と交尾をしたかどうかは交尾嚢内の精莖の有無によって判断した。

(4) 雄はもちろん雌の生殖器の解剖を行ない、精巣内の精子包囊および精子の発育状態、 γ 線を照射した雄と交尾させた雌の交尾嚢内の精莖、交尾嚢および受精嚢内の精子の活動状態、受精嚢よりリングル液中へ放出させた精子の活動を観察した。

II. 実 験 成 績

1. 不妊化雄の性行動と相手の雌の産卵状態

蛹時代に γ 線20 Kr.を照射していわゆる不妊化した雄が何匹の雌に交尾を試み、相手の何匹の雌の卵を不発とするかを調べた成績は第1表のとおりである。

第1表によると、 γ 線で不妊化された雄は3匹以上5匹の未交尾雌に交尾を試み、相手の雌はすべて不発の卵を産むことがわかった。この場合に産卵数が少ないばかりでなく、産卵を開始する日が早くても3日目、遅くて9日目以上であって、正常雄と交尾した雌のそれ(通常は1・2日目)よりはるかに遅れた。なおそれらの産卵曲線と正常雄と交尾した雌および交尾しなかった雌のそれらと比較するために示したのが第1図である。

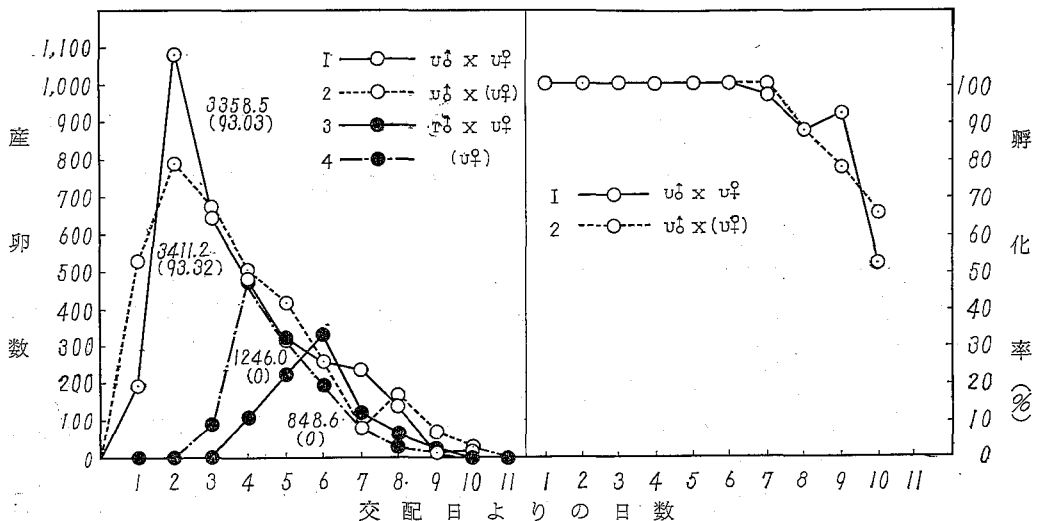
第1図の(1)と(2)の産卵曲線はいずれも正常雄と交尾した雌から得られたもので、前者は交

第1表 1頭の雄を2昼夜ごとに数頭の雌に交配させた場合の
それぞれの雌の産卵数と孵化率

組み合わせ	産 卵 数					孵 化 率 (%)					
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	
T♂	U♀ ₁	1189(3)	718(5)	51(5)	0	914(7)	0	0	0	-	0
	U♀ ₂	1874(3)	662(6)	445(5)	192(4)	319(7)	0	0	0	0	0
	U♀ ₃	1308(3)	177(4)	110(9)	167(2)	887(7)	0	0	0	0	0
	U♀ ₄		122(12)	0	0	367(6)		0	-	-	0
	U♀ ₅		317(5)	385(3)				0	0		
U♂	U♀ ₁	3009	788	583	1002	233	100	98.4	100	90.0	0
	U♀ ₂	4243	2233	1277	1795	805	100	100	98.9	98.7	33.2
	U♀ ₃	3708	2261	1645	1820	0	100	83.8	100	100	-
	U♀ ₄	4308	0	91	757	1147	100	-	5.2	50.7	5.2
	U♀ ₅	3307					100				

* T♂はγ線照射雄, U♂, U♀は正常雄・雌 ()は産卵前期間(日数)を示す。

尾後も雄が死ぬまで雌と共存させた場合、後者は交尾後雄を取り除いた場合である。これに対して(3)がγ線で不妊化した雄と交尾した雌の、(4)が交尾しなかった雌の産卵曲線であって、(3)は明らかに(1)や(2)とも、また(4)とも異なっている。産卵曲線の型から言えば、(1)と(2)は山がかなり左寄りであるのに対して、(3)はほぼ中央にあり、(4)はそれらの中間に位する。産卵曲線の位置は、左側がそれぞれ異なり、(3)は産卵開始が(1)および(2)より2日、その最盛日が4日遅れることになり、(4)よりもそれぞれ1日と2日おけている。不妊化された雄と交尾した雌の卵は、交尾しなかった雌のそれと同様1個も孵化しなかったが、正常雄と交尾した雌の卵は(1)の場合では6日目まで、(2)の場合では7日目まで、それぞれ100%の孵化率を示し、それ以後は低下した(第1図、右図)。



第1図 各種の組み合わせから得られる毎日の産卵数と孵化率
図内の数字は総産卵数、括弧内のそれは孵化率を示す。

2. 正常雌に対して不妊化した雄と正常雄を交互に交尾させる実験

ハスモンヨトウの雌は雄と交尾して受精卵を9~11日にわたって産卵し、その後は相手の雄と再び交尾するのと限らないが、別の雄とは更に交尾してその後の産卵数や孵化率が増加することがあった(佃・清久1969)。また1つの雌に対して正常雄とr線によって不妊化した雄を交互に交尾させてみると、はじめ交尾する雄が不妊化したものであれば、後で正常雄と交尾しても産卵数は多くなりず孵化率も高くない。しかし、はじめの交尾の相手が正常雄であれば、後で不妊化した雄と交尾させてもその後も少なくない受精卵が生まれた(清久・佃1969b)。

上記の交互交尾の実験において、相手の雄を5日目に取りかえたが、その間隔は少し長すぎるように思われたので、今回はそれを2日間として実験し、前回の実験結果を再検討する。ただし対照区としては、1匹の正常雌に対していくつかの未交尾正常雄を2日間の間隔で逐次交配し、はじめの交配日より雌の死ぬまでの間毎日産卵数とその孵化率とを調べ、その結果を第2表に示した。

第2表 1頭の雌へ2昼夜ごとに数頭の雄を交配した場合の雌の毎日の産卵数と孵化率

組み合わせ	交配日 よりの 日数	産 卵 数					孵 化 率 (%)				
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
U♂ ₁	1	0	526	0	0	0	—	90.3	—	—	—
	2	776	986	0	308	118	100	100	—	100	2.5
U♂ ₂	3	578	759	550	1599	0	100	93.8	100	100	—
	4	696	50	607	668	578	100	60.0	100	100	98.8
U♂ ₃	5	330	121	0	0	↓	100	50.4	—	—	↓
	6	267	55	382	(死) 0	433	100	60.0	97.4	—	89.6
U♂ ₄	7	85	(死) 0	0		0	100	—	—		—
	8	0		68		90	—		100		100
U♂ ₅	9	158		↓		118	100		↓		77.1
	10	0		47		0	—		100		—
U♂ ₆	11	(死) 0		(死) 0		(死) 0 (16)	—		—		—
合計		2890	2496	1657	2575	1337	100	72.6	99.5	100	85.6

* 表中の矢印は調査しなかった日である、(死)は雌の死んだ日、(死16)は交配日より16日目に雌の死んだことを示す。

第2表によると、しばしば雄を取りかえることが雌の産卵を妨害するらしく、産卵期間中に産卵をしない日があり、1雌の産卵総数はむしろ少ない傾向を示す(固定した1対からの産卵総数は3000が珍らしくない)が、卵の孵化率は、はじめの雄との交配日より9・10日目まで高い値(固定した1対では6・7日目まで)を示した。

この成績に対し、はじめ正常雄と交尾させ、2日後に不妊化した雄と、更に2日後に正常雄とそれぞれ交尾させて、毎日産卵数および孵化率を調べた成績が第3表である。

第3表によると、正常雄と交尾した雌はたいてい2日目から受精卵を産みはじめた。2日目に不妊化された雄と取りかえると交尾はしたが、実験1の卵のみは低い孵化率を、他の実験区の卵は100%を示した、更に2日目に正常雄と取りかえるとその後は高い孵化率が示された。

次に、はじめ不妊化された雄と交尾した雌を2日後に正常雄と、更に2日後に不妊化された雄と交尾させた実験成績を第4表に示した。

第3表 正常雌へ正常雄と γ 線照射雄を交互に交配した場合の
正常雌の毎日の産卵数と孵化率

組み合わせ	交配日 よりの 日 数	産 卵 数					孵 化 率 (%)				
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
U♂	1	0	0	0	0	0	—	—	—	—	—
	2	142	269	1819	1363	0	52.8	100	100	100	—
T♂ → U♀	3	0	1549	994	↓	↓	—	100	100	↓	↓
	4	23	362	0	882	1646	8.7	100	—	100	100
U♂	5	0	193	230	143	357	—	100	100	100	100
	6	1843	116	174	114	680	100	92.2	100	100	100
	7	202	199	0	110	335	100	100	—	100	100
	8	150	(死) 0	0	52	110	100	—	—	100	100
	9	0		120	↓	61	—		100	↓	100
	10	258		↓	72	54	100		↓	100	100
	11	82		44	0	(死) 0	100		81.8	—	—
		(死) 0		(死) 0	(死) 0		—		—		
		(16)		(16)	(13)						
合計産卵数 平均孵化率		2700	2688	3381	2736	3243	80.2	98.2	92.1	100	100

第4表 正常雌へ γ 線照射雄と正常雄を交互に交配した場合の
正常雌の毎日の産卵数と孵化率

組み合わせ	交配日 よりの 日 数	産 卵 数					孵 化 率 (%)				
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
T♂	1	0	0	0	↓	0	—	—	—	↓	—
	2	0	0	0	9	0	—	—	—	0	—
U♂ → U♀	3	0	0	0	0	0	—	—	—	—	—
	4	1561	81	26	55	0	100	0	0	0	—
T♂	5	613	315	0	60	727	100	0	—	0	18.6
	6	38	0	↓	48	1510	100	—	↓	0	85.2
	7	(死) 0	0	(死) 647	57	260	—	—	↓	0	68.1
	8		0		52			—	0	0	↓
	9		(死) 0		0	↓		—	—	—	↓
	10				(死) 0	(死) 215				—	22.3
合計産卵数 平均孵化率		2212	396	673	281	2718	100	0	0	0	48.6

第4表によれば、これらの実験では、2回目は正常雄と交尾したにもかかわらず、その後も孵化率が0を示す場合(実験2, 3, 4)と、2回目正常雄との交尾後に孵化率が増加する場合(実験1と5)とが認められた。同一種の実験中にこのような2種の成績が得られたことは前報(1969b)と趣が異なっている。

3. 解剖的所見

この実験において、 γ 線照射時期の蛹の精巢を解剖して200倍で観察すると第2図Aに示されるよう精細胞がまだ細胞の型を示すもの、発達してその両端が伸びたもの、精子包囊となったものなど各種の發育段階がみられた。羽化1日目の蛾の精巢では同図Bのように、ほとんどが精子包囊であった。その中の精子束を取り出して400倍に拡大したのが第3図Aである。精子束は貯精囊、射精管に到って律動しながら逐次包囊より脱出する。その状態を第3図Bに示した。脱出した精子束は精子群となり、貯精囊や射精管中で盛んに活動する。その状態は γ 線を照射したものと、照射しなかったものと余りかわりがなかった。

ハスモンヨトウの交尾は、精子間接移入型であって、長さ5mm内外の精莢(第4図)によって雌の交尾囊内へ送られる。1回交尾した雌の交尾囊内には通常2・3個の精莢が見られる。2回以上交尾したと思われる交尾囊内の精莢の数は最も多いとき6個であった。この数から判断すると、ハスモンヨトウの雌は何回も交尾するとは思われない。もしするとしても後からする雄の精莢は雌の交尾囊内へ移入される数が少ないようである。

一般に交尾囊内の精莢からまもなく精子が放出される。それらは受精管を通して受精囊内(第5図A)に送られて集積される。交尾囊内の精莢中に精子がとどまる時間は短かいらしいが、受精囊内ではその中一ぱいに拡がり盛んに活動し(第5図B)、その期間は8・9日またはそれ以上に及ぶ。

蛹時代に ^{137}Cs の放射線20Kr.を照射した雄蛾の生殖系および生殖物にみられる変化は、(1)射精管の一部の褐色化(この部分は少しくびれたようになり、内容物が通過しにくいのではないかと)、(2)精莢の奇型(小型で黒い、これから精子が放出されにくいようである)であった。もちろん観察した材料のすべてがこのように奇型化したものばかりではなかった。 γ 線によって不妊化された精子の形状や活動状態は正常なものにくらべて大きい相違がなかった。

これらの実験成績から、放射線を照射した雄が、正常雌と交尾しその雌の産む卵が孵化しないという事実には2種の原因が関係していることを判断する。その1は交尾して精子が無事雌の受精囊内におくり込まれても、精子が不妊化(優性致死変異などで)しているため不受精卵が生まれる場合と、今1つは射精管の一部や精莢の異常によって、精子が無事に移行しないため、受精囊内は無精子の状態で必然的に不受精卵が生まれる場合である。

III. 考 察

前節第2項の実験において、はじめに正常雄と交尾をした雌が、その後 γ 線を照射した雄と交尾してもなお受精卵が生まれたのはすでにのべたように、それらの雄の射精管や精莢が γ 線で異常となっているときは、その精子が雌体内に移行しないから、はじめの交尾で入った正常雄の精子が受精に関与するからである。もし、射精管や精莢が異常となっていなければ、第2回目に交尾した雄の精子は受精囊へ移行するはずであるが、受精囊内ははじめ交尾した正常雄の精子が充満し活動しているので、2回目交尾による精子は受精競争において不利となり受精はおもにはじめの正常精子によることになるからである。しかし後者では2回目交尾によって不受精卵が生まれる可能性がある。なぜならば2回目の交尾で送り込まれる精子が常に卵と合体しないと断言できないからである。もしそれらが合体すると、精子が γ 線によって不妊化されているので不受精卵が生まれることになる。実際、第3表の実験1にそれを暗示するような実験結果がみられる。

これに対して、はじめに γ 線を照射した雄と交尾した雌が、その後正常雄と交尾した場合には明らかに異なった2つの結果(2回目の交尾後孵化率が増加した場合とやはり低い値を示した場合)がでた過程について検討してみる。 γ 線を照射した雄の射精管の一部や精莢が異常となっておれば、はじめの交尾で精子が受精囊内へ入る機会がきわめて少ない。ゆえに受精は2回目の正常雄との交尾によるので当然受精卵が生まれることになる。射精管の一部や精莢が異常となっていなければ、はじめの交尾で不妊化された精子が受精囊内に充満し活動しているので、これが2回目の正常雄との交尾で送られた正常精子を制限し受精競争において優位となって不受精卵が生まれる結果となる。

交尾が1回かぎりという習性をもつ雌では、射精管の一部や精莢の異常も、精子の不妊化とともに相手の雌の卵を孵化させない原因となるが、ハスモンヨトウのように2回またはそれ以上交尾する雌では、交尾している雌に γ 線を照射した雄を交尾させてその効果を期待しようとする場合、またはじめに γ 線を照射した雄と交尾した雌が、その後正常雄と交尾しても不妊効果が減退しないようにするには、生殖器には異常をおこさずして精子に致死突然変異などをおこして不妊にすることがぜひ必要である。そのためには生殖細胞のどの発育時期に、どれだけの放射線の線量を照射すればよいかを組織的に探究することである。一方において雌の交尾囊内の第1回交尾による精莢と2回目の交尾によるその精子放出状態や、受精囊内における両者からの精子の行動をもっと明確にすべきであろう。

IV. 摘 要

^{137}Cs の放射線を蛹に照射したハスモンヨトウの雄蛾は3~5匹の雌へ次々と交尾し、その卵を孵化させなかった。放射線を照射した雄と交尾した雌の産卵曲線は、正常雄と交尾した雌のそれとかなり異なり、産卵開始日が2日、最盛日が4日おくれた。

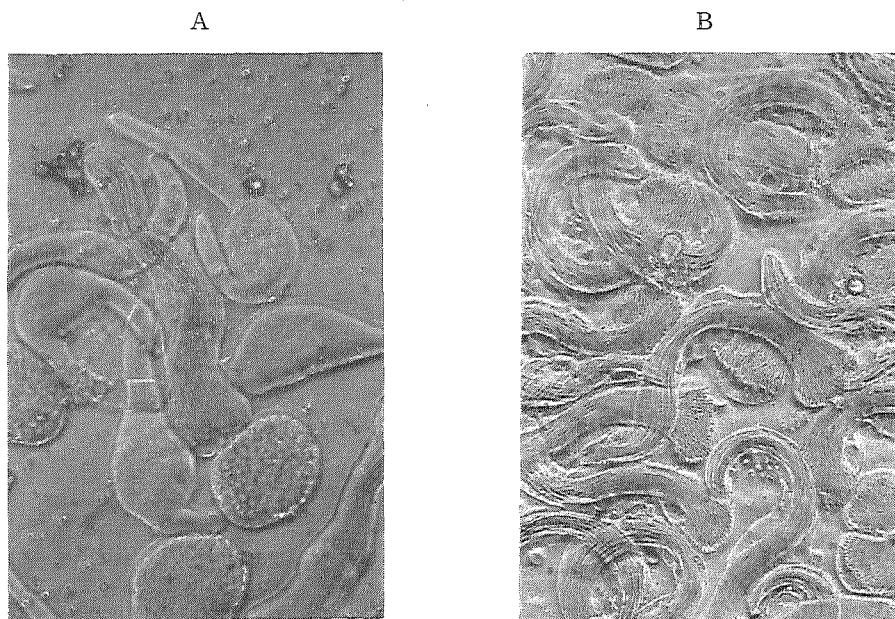
正常雄と交尾した雌を2日後に γ 線を照射した雄と交尾させると、その内の大部分の雌は受精卵を毎日産んだ(一部では第2回交尾後に不受精卵を産む傾向を示したが)、はじめ γ 線を照射した雄と交尾し、2日後に正常雄と交尾した雌では、おわりまで不受精卵を産むものと、2回目交尾後に受精卵を産むものがあつた。

解剖によって生殖器の構造、生殖細胞の発育、交尾後の精莢や精子の行動を観察し、交尾から受精までの過程を吟味した。 γ 線を照射した雄と交尾をした雌が不受精卵を産む事実には2つの原因が関与することを知った。その1は精子が γ 線によって不妊化(おそらく優性致死突然変異によるだろう)されること、今1つはすべてではないが雄の生殖系において射精管の一部が褐変したり、精莢が黒い奇型となって、精子の移行や放出がさまたげられ、交尾しても受精囊内が無精子となることであつた。

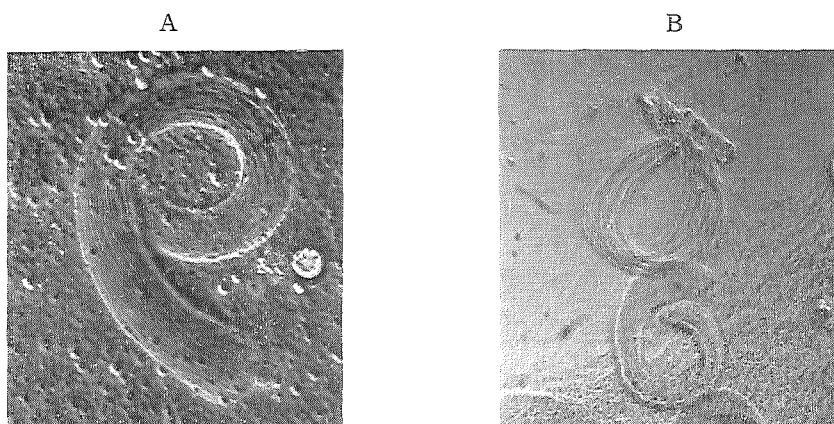
γ 線による上記のような雄生殖系の異常は相手の雌に不受精卵を生ませる原因となるが、2回以上交尾する習性をもつ昆虫では、このようなものに「Sterile Male Technique」を充分利用できない。有効な適用のためには、生殖系へは異常をおこさず、精子が不妊化されるように γ 線の線量と、それを照射するときの生殖細胞の発育時期を厳密に選ぶべきである。

引用文献

- 1) 清久正夫・佃 律子 (1968) : ハスモンヨトウの γ 線処理の雄または雌が, 正常の雄・雌個体群に及ぼす不妊効果. 日本生態学会中四国地区会報 23 : 6.
- 2) 清久正夫・佃 律子 (1969 a) : ハスモンヨトウの正常雄雌と放射線による不妊虫とからなる実験個体群の繁殖能力. 応・動・昆中国支部会報 11 : 29~31.
- 3) 清久正夫・佃律子 (1969 b) : 人工不妊昆虫の生態に関する研究. III. ^{137}Cs のハスモンヨトウに対する不妊効果. 日本応・動・昆会誌 13 (2) : 61~69.
- 4) 佃 律子・清久正夫 (1969) : Sterile male technique の基礎知識のためのハスモンヨトウの交尾産卵実験. 応・動・昆中国支部会報 11 : 27~29.



第2図 精巢内の精子の包囊群

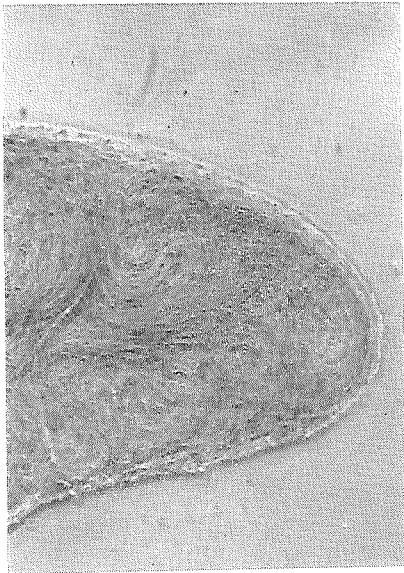


第3図 貯精囊より取り出した精子束



第4図 雌交尾囊より取り出した精莢

A



B



第5図 受精囊内および取り出した精子群