

# 琉球大学学術リポジトリ

ウリミバエ *Dacus cucurbitae* COQUILLET  
(Diptera:Tephritidae) の精巢による不妊虫と野生  
虫の判別法 —精巢の外観による判別の再検討と染  
色による識別について—

メタデータ	言語: 出版者: 沖縄農業研究会 公開日: 2009-01-29 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 照屋, 匡, 西田, 喜美子, 田尾, 政博, 久場, 洋之, Teruya, Tadashi, Nishida, Kimiko, Tao, Masahiro, Kuba, Hiroyuki メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002015373">http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002015373</a>

# ウリミバエ *Dacus cucurbitae* COQUILLET (Diptera:Tephritidae) の精巢による不妊虫と野生虫の判別法

— 精巢の外観による判別の再検討と染色による識別について —

照屋<sup>\*</sup> 匡・西田喜美子<sup>\*\*</sup>・田尾政博<sup>\*\*\*</sup>・久場洋之<sup>\*\*\*\*</sup>

<sup>\*</sup>(沖縄県農業試験場) <sup>\*\*</sup>(琉球産経株式会社) <sup>\*\*\*</sup>(那覇植物防疫事務所) <sup>\*\*\*\*</sup>(沖縄県ミバエ対策事業所)

Tadashi TERUYA, Kimiko NISHIDA, Masahiro TAO and Hiroyuki  
KUBA: Cytological identification of testes from native and  
irradiated melon flies, *Dacus cucurbitae* COQUILLET  
(Diptera : Tephritidae)

## 1. 緒 言

不妊虫放飼法によるウリミバエの防除において、野  
外の放飼不妊虫(不妊虫)の生息密度や分布状況およ  
び野生虫に対する比率などを調査する一方法として誘  
殺剤を装着したワナ(モニタートラップ)が用いられ  
る。モニタートラップで誘殺されるハエが不妊虫か野  
生虫かの識別を容易にするため、不妊虫を蛍光染料で  
着色(マーク)している。しかし、この蛍光マークは  
蛹の状態やモニタートラップの管理状況等によっては  
不鮮明になったり脱落したりする。このようなマーク  
の不十分さを補完する方法として小山・千木良(1981)  
は精巢の幅や腹部での占有位置による照射虫(不妊虫)  
と非照射虫の判別法を提案した。すなわち、左側精巢  
の位置が第4腹部背板上端を越え、かつ第4腹部背板  
に被覆される部位(第4節部)での幅長が0.30mm以上

であるか否かを、不妊虫と非照射虫の判別基準とした。  
しかしその比較に使われたのは人工増殖虫(増殖虫)  
同士であった。増殖虫は飼育条件によって成虫の大き  
さが異なり、そのことが精巢サイズに影響を及ぼすこ  
と、また、野外でトラップされた標本では調査や測定  
に供されるまでの時間や保存湿度による標本の乾燥程  
度の差異による影響なども考えられる。それにもまし  
て野生虫の精巢のデータが明らかでなかったことなど  
の点で不十分なものであった。

一方、放射線照射によって精巢内の生殖細胞やその  
構成に変化が生じることはすでに多くの昆虫で知られ  
ていた(RIEMANN and THORSON 1969,  
ANWAR et al. 1971, LACHANCE and RUUD  
1977)。この生殖細胞やその構成の違いを利用した  
不妊虫と野生虫の識別がチチュウカイミバエ、ミカン  
コミバエ、ラセンウジバエの防除事業で実用化されて  
きている。

そこで筆者らは、精巢の幅による不妊虫と野生虫の  
判別法の再検討と同時に精巢内の生殖細胞やその構成  
の違いによる識別がウリミバエにおいても可能か否か  
を検討するためにいくつかの観察を行った。ここにそ  
の一部を報告する。

本文に先だち、標本調査では友利京子、塩浜めぐみ、  
新里清子、東江絢子の各氏に協力をいただいた。また、  
沖縄県農業試験場の志賀正和博士には精巢模式図の作

\* Okinawa Prefectural Agricultural Experiment Station, Naha 903, Japan

\*\* Ryukyu-sankei Co., Ltd. Tomigusuku, Okinawa 901-02, Japan

\*\*\* Naha Plant Protection Station, Naha 900, Japan

\*\*\*\* Fruit Fly Eradication Project Office of Okinawa Prefecture, Naha 902, Japan

画ならびに御校閲をいただいた。ここに感謝の意を表す。

## 2. 材料および方法

### 精巣幅の観察

実験に用いられた野生虫は沖縄本島全域で行われているウリミバエ発生消長調査の cue-lure + BRP 剤装填のトラップで、1984年5月～10月の間に捕獲されたものである。不妊虫は久米島および沖縄本島周辺離島で同時期に得られた虫である。

精巣は腹部に付着したままの状態では、顕微鏡に対して水平な位置で幅長を測定できなかつたり、脂肪体の被覆により輪郭が不明確であったりするので、摘出して測定した。したがって精巣の幅の測定は最大部位のみで、第4節部ではおこなわなかつた。

### 精巣の生殖細胞の観察

実験に用いたウリミバエは室内導入後約80世代を経過した人工飼育虫である。蛹と成虫の飼育温度は25°Cであった。ガンマ線照射は羽化2日前に行った。蛹か

ら羽化した成虫には蛋白加水分解物、砂糖および水を与え標準ケージ(30×30×45cm)で飼育した。羽化後、所定の日に各区から雌雄を各々40頭ずつサンプリングし、その半数は炭酸ガス麻酔後70%アルコールに保存し、残りの半数はエチルエーテルにより麻酔・殺虫後、湿度40～60%RHの室内に2週間以上放置し乾燥した。アルコール標本の精巣の摘出はそのまま、乾燥標本は熱湯で軟化後、70%アルコール滴下のホールスライドガラス上で行った。生殖細胞の観察は乳酸酢酸オルセインで染色後、生物顕微鏡下で行った。生殖細胞の構成比は目測で測定した。生殖細胞は染色により形態的に異なる4段階を基本にして区別した。すなわち、精原細胞・精母細胞 spermatogonia & spermatocyte、精細胞 spermatid、精子束 sperm bundle および自由精子 free sperm である。自由精子の部分は貯精のう seminal vesicle をそれとみなした。照射虫の精巣ではこれらに加えて異常な精細胞や自由精子様のものがみられる (Fig. 1)

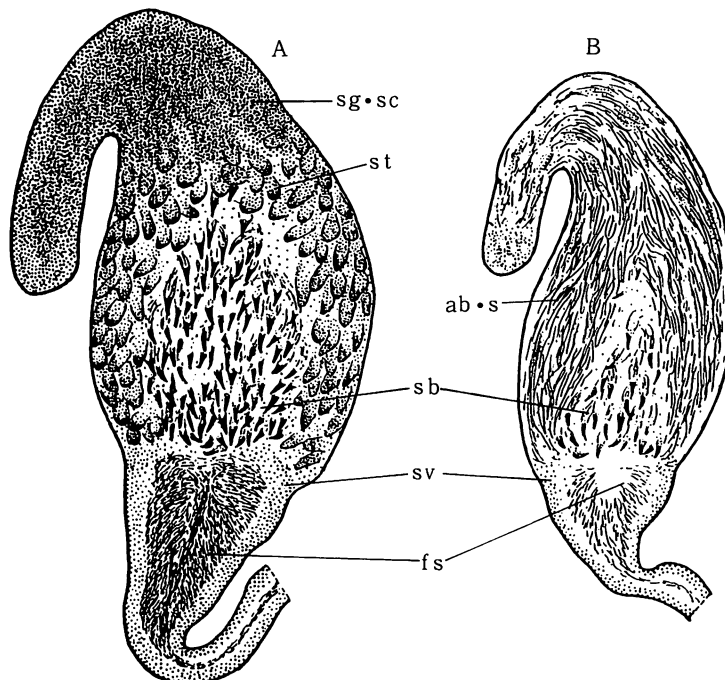


Fig. 1 Ten-day-old and 6-day-old adult testes of unirradiated (A) and irradiated (B) (70 Gy as 80% segment of pupal period) *Dacus cucurbitae*, respectively. sg•sc = spermatogonia•spermatocyte, st = spermatid cyst, ab•s = abnormal sperm, sb = sperm bundle, fs = free sperm, sv = seminal vesicle.

3. 結果および考察

野生虫と放飼不妊虫の最大精巣幅の比較

野生虫と不妊虫の精巣幅の頻度分布をFig.2に示す。野生虫の精巣幅の平均値は左と右でそれぞれ  $0.38 \pm 0.06 \text{ mm}$  ( $n = 550$ ),  $0.38 \pm 0.06$  ( $n = 563$ )で、不妊虫ではそれぞれ  $0.27 \pm 0.05 \text{ mm}$  ( $n = 1509$ ),  $0.28 \pm$

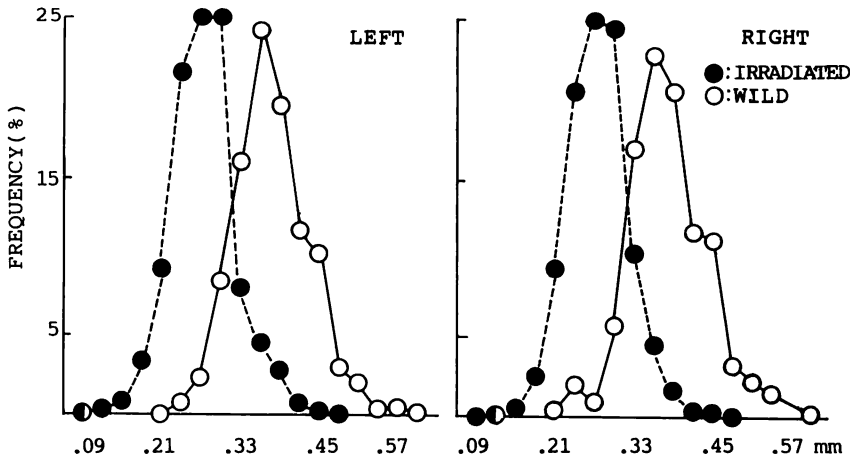


Fig. 2 Frequency distributions of testes width of native and irradiated males of the melon fly.

$0.05 \text{ mm}$  ( $n = 1468$ )であった。野生虫の精巣幅のレンジは左と右でそれぞれ  $0.29 \sim 0.60 \text{ mm}$ ,  $0.12 \sim 0.60 \text{ mm}$ で、不妊虫では左右いずれも  $0.09 \sim 0.48 \text{ mm}$ であった。最頻値は野生虫および不妊虫のいずれでも左右で等しく、それぞれ  $0.39$  および  $0.27 \text{ mm}$ であった。

一方、鹿児島県農業試験場大島支場のウリミバエ試験成績書(1983)によれば、野生虫の左側の精巣幅は  $0.391 \pm 0.053 \text{ mm}$  (平均値 $\pm$ SD)であり不妊虫のそれは  $0.278 \pm 0.049 \text{ mm}$ である。その時の野生虫のレンジが  $0.225 \sim 0.555 \text{ mm}$ であり不妊虫で  $0.175 \sim 0.425 \text{ mm}$ である。最頻値は野生虫で  $0.355 \text{ mm}$ 不妊虫で  $0.255 \text{ mm}$ である。小山・千木良(1981)では、非照射虫の左側の精巣幅は  $0.41 \pm 0.05 \text{ mm}$ で、不妊虫では  $0.22 \pm 0.03 \text{ mm}$ である。左側精巣幅で  $0.30 \text{ mm}$ を基準にした場合、我々のデータでは、野生虫の  $3.2\%$ がそれ未満で、基準を越える不妊虫は  $40.2\%$ である。鹿児島県(1983)のデータでは、野生虫の  $2.6\%$ がこの基準値に満たず、不妊虫の  $29.0\%$ が基準値を越える。これらのことは、野生虫と不妊虫の識別に精巣幅を用いる場合に慎重であるべきことを

示している。

野生虫の精巣幅と頭幅および左右の精巣幅との関係

野生虫の左右の精巣幅と頭幅および左右の精巣幅の分布図をFig.3に示す。この調査は野生虫の精巣幅と頭幅の間や左と右の精巣幅の間の相関の有無を調べ、もしそれらに相関が見出されれば、補正することで、

幅長を用いた識別精度を上げ得るのではないかと考えたためである。しかし、精巣幅と頭幅の間には相関は認められず(左側： $r = 0.0946$ , 右側： $r = 0.0386$ ), 左と右の精巣幅の間の相関も低かった( $r = 0.6222$ )。

精巣の生殖細胞観察

アルコール保存標本

非照射虫と照射虫の生殖細胞の構成の経時変化をTable 1に示す。非照射虫では羽化直後から2日目までは精原・精母細胞, 精細胞および精子束がほぼ等しい割合で存在した。3日目頃から、まだ小さい貯精のうちの中にわずかながら自由精子がみえ始めた。その後、自由精子の占める割合が経時的に増加していく以外は精原・精母細胞, 精細胞および精子束の精巣内の比率は一定である。自由精子の占める割合は、羽化後10日目までは急速に増大するが、その後の増大は緩やかであった。

一方、羽化2日前に  $70 \text{ Gy}$  ( $7 \text{ KR}$ )で照射された雄の精巣の大きさは、羽化直後では非照射虫とあまり違わないが、日令の経過に伴い逆にわずかながら縮少

する。精巣内の生殖細胞の構成も羽化当日は精細胞のシストが壊れている以外は非照射虫とほぼ同様であった。しかし、日令の経過に伴い精原・精母細胞→精細

胞→精子束の順で減少・消滅した。精原・精母細胞は羽化後3日目には消滅した。非照射虫の発達した精細胞はシスト(染色標本ではイチゴ果状)で観察される。

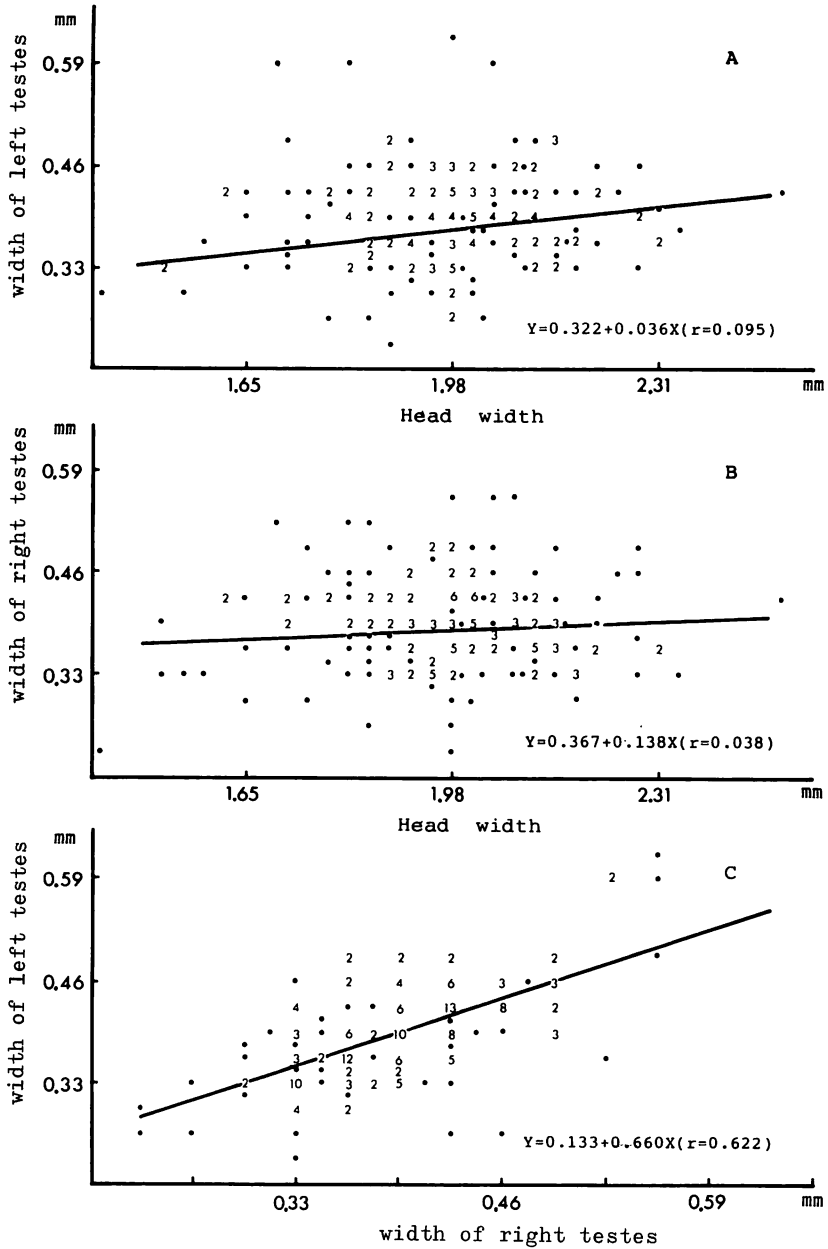


Fig.3 Correlations between width of testes and head width(A and B), and those between width of left testes and width of right testes(C). Numbers in figure show number of samples which occupied the same point.

Table 1 Changes of reproductive cells in testes from unirradiated (U) and irradiated (I) males with adult age. Specimens kept in ethanol (70%).

reproductive cell		age (day)											
		0	2	4	6	8	10	12	14	20	30	50	
U	* SG・SC	**	38±2	35±2	31±1	31±1	34±1	32±1	28±1	33±2	27±1	27±0	25±0
	St		31±1	31±4	37±2	36±2	33±1	34±3	34±1	31±1	26±0	27±0	24±1
	SB		31±1	33±1	27±2	24±2	24±2	24±2	25±2	21±1	26±0	27±0	25±1
	FS (SV)		—	—	6±0	8±1	9±1	10±1	13±1	16±1	20±1	20±0	26±0
I	Id		—	—	—	+	4±1	53±3	47±3	42±2	31±2	28±2	100
	SG・SC		22±2	2±1	1±0	—	—	—	—	—	—	—	—
	AbSt		34±2	38±3	1±1	—	1±1	+	—	—	—	—	—
	St		4±2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	AbS		—	36±2	64±1	60±1	56±2	+	+	+	—	—	—
	SB		40±3	23±3	25±1	18±1	—	—	—	—	—	—	—
	FS (SV)		—	1±1	9±1	22±1	40±2	48±3	54±3	58±2	69±2	72±2	+

\* : Id=Indistinct, SG・SC=Spermatogonia and Spermatocyte, AbSt=Abnormal spermatid, St=Spermatid, AbS=Abnormal sperm, SB=Sperm bundle, FS(SV)=Free sperm (Seminal vesicle)

\*\* : Mean±SE

Table 2 Changes of reproductive cells in testes from unirradiated (U) and irradiated (I) males with adult age. Specimens kept dry.

reproductive cell		age (day)									
		0	2	4	6	8	10	14	20	30	
U	* Id	**	46±9	23±6	45±4	41±2	37±6	42±2	41±2	23±4	42±1
	SG・SC		14±8	23±5	2±2	—	7±4	—	—	12±3	—
	St		9±4	14±3	+	—	2±1	—	—	12±3	—
	SB		31±5	40±3	50±13	50±2	39±4	40±1	47±2	35±2	39±1
	FS (SV)		—	1±1	3±1	9±1	15±2	17±1	13±1	18±2	19±1
I	Id		50±10	41±8	11±4	7±2	1±1	7±3	43±2	29±7	26±5
	SG・SC		8±8	14±8	1±1	—	—	—	—	—	—
	St		—	2±2	1±1	—	—	—	—	—	—
	AbS		7±7	12±2	51±7	59±4	57±2	50±6	—	—	—
	SB		33±3	31±2	25±4	18±2	—	—	—	—	—
	FS (SV)		2±1	6±2	10±2	16±2	41±2	42±5	57±2	71±7	74±2

\*, \*\*: See Table 1.

それに対し、照射虫の精細胞は不規則に分散して存在する (abnormal spermatid)。シストは、あってもわずかで、羽化後 1 日目までしかみられなかった。精細胞は 4 日目には観察されなくなった。精細胞と精子束の層の間には、羽化後 1 日目から、非照射虫ではみられない直毛状の自由精子様のものがみられた (ab-

normal sperm)。これは以後次第に増大し羽化後 4 日目には精原・精母細胞および精細胞が占めていた部分にまで広がり、更に精子束の層とも重複してみられるようになる。しかし、羽化後 9 日目以後その密度は極端に希薄となり、経時的に更に薄くなった。精子束も次第に減少し、8 日目には全くみられなくなった。

自由精子は非照射虫よりも、1日早く、2日目からみられる。自由精子の増大の比率も非照射虫より極めて高く、精子束が減少した部分に置き換わるとともに増大する。9日目以後も自由精子のある貯精のうの増大は進行し、20日目頃には精細胞が占めていた部分まで広がるようになる。しかし、照射虫の精巢の貯精のうの増大はかならずしも自由精子の増加を意味しない。9日目以後は逆にその密度は経時的に低下していく。また、14日目以後は大多数の精巢で貯精のうとその他の部分との境界が不明瞭となる。50日目の精巢は扁平となり、染色される内容物が全く観察されない。

#### 乾燥標本

乾燥標本の精巢内生殖細胞の経時変化をTable 2に示す。非照射虫の精巢では染色により形態が明瞭な生殖細胞は精子束と自由精子を含む貯精のうのみである。精原・精母細胞および精細胞はアルコール標本では明瞭に染色されたのに反して、乾燥標本では殆どは不明瞭で見え方も個体変異が大きかった。この不明瞭な部分の精巢に占める割合は、羽化直後が最も大きく日令の経過とともに減少した。精子束は初め30%程度であったのが4～6日目には約50%と最大になり、以後漸減する。乾燥標本の精子束部の占める割合はアルコール標本におけるよりも約6～20%増大している。何故そうなのかは不明であるが、不明瞭な部分を含めて考察すると、アルコール標本で精原・精母細胞に精細胞を加えた部分が占めていた割合から不明瞭部分を差引いた値が乾燥標本の精子束部で増えた値とはほぼ一致する。したがって標本を乾燥することにより、精細胞部分の未成熟なものは精原・精母細胞とともに染色されにくくなり、比較的発達した細胞のみが精子束様に表出したか、もしくは精子束の立体的な位置が平面的にみると精細胞と重複して、そのような部分では精子束が内側で精細胞が外側にあるために染色時の押潰しによりアルコール標本では外側だけが見えているのであろう。それが乾燥標本では何らかの理由により未成熟な生殖細胞が染色されにくくなり精子束部分が浮出て増えたように見えるのかも知れない。自由精子の占める割合や増大の傾向はアルコール標本の場合と同様であった。

照射虫の精巢では、羽化当日は非照射虫の場合と同様に不明瞭な部分が大半を占めた。精子束部分や異常精

子部分の減少もしくは増大の傾向もアルコール標本と同様であった。自由精子部分もアルコール標本と基本的には同様な傾向ではあったが、若令期にはやや小さめであった。10日目以後はアルコール標本でもそうであったように貯精のう中の自由精子の密度は希薄になり、その他の部分との境界も次第に不明瞭な個体が増えた。

以上のことは、生殖細胞の種類によって染色による表われ方がアルコール標本の場合と多少異なるが、羽化当日を除けば、乾燥標本においても照射虫と非照射虫の精巢の識別は可能であることを示している。また、精巢内の発育段階の異なる生殖細胞の占有部分の比率の評価が安定し一般化できれば、調査個体の令を特定することができる。したがって野外で収集された標本の令の推定が可能となり、野生虫や不妊虫の生態解明の手段となりうる。

#### 4. 総合考察

沖縄県におけるウリミバエ根絶事業では、放飼日程の都合上、不妊化のためのガンマ線照射は羽化ピーク3日前を目安に行っている。ところが実際には羽化日調節のための温度管理や虫の個体変異もあって照射は2～5日前に渡っている。本実験では羽化2日前照射であったが、羽化3日前照射についての報告(坂の内・大戸, 1984)でも詳細は不明であるが定性的には、傾向はほぼ同様であった。しかし「事業」における不妊化では、異なる日令や線量など色々な条件下で照射する場合が考えられるので、それらを想定した対応が必要となろう。

精巢を摘出し染色して生殖細胞を観察する方法はきわめて高い精度で野生虫と不妊虫の識別を可能にした。しかしこの作業は熟練者でも1人1日で50頭程度しか処理できない。したがって、精巢の外観(腹部上の位置、幅、長さ、色彩、厚さ等々の組合せ)などによる新たな簡易識別法の開発により可能な限り不妊虫を識別し、染色法は最後に用いることが望ましい。

#### 5. 摘 要

野外におけるウリミバエ *Dacus cucurbitae*

COQUILLET (Diptera : Tephritidae), の野生虫や放飼不妊虫の生息密度や分布状況を知るために、収集された標本からこれら二つのタイプの虫を識別する方法が必要である。そのため不妊虫を蛍光染料でマークして放飼している。しかしこのマークはしばしば脱落する欠点がある。それを補完する方法として、精巢の幅による識別法ではある程度精度を高め得るがまだ不十分である。放射線照射による照射雄の精巢内の生殖細胞やその構成が変化することを利用して野生虫との区別が可能か否かを検討した。その結果、乾燥した標本であっても、二者を識別できるだけでなく成虫の生理的エイジの推定も可能であることが分った。

## 6. 引用文献

- ANWAR, M., D. L. CHAMBERS, K. OHNATA, 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. Amer.* 64 : 627-633.
- 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 (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 2 : 34-39
- 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 (補遺) : 8-14
- LA CHANCE, 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.
- 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. Amer.* 62 : 613-617.
- 坂之内踐行・大戸謙二 (1984) ウリミバエ不妊虫の雄生殖細胞の観察, 第28回応動昆大会講演要旨 E32.

## Summary

In field studies involving population density and distribution of native and mass-reared, sterilized flies of *Dacus cucurbitae* COQUILLET (Diptera : Tephritidae), indentification of the two types is required. Marking, with fluorescent powder, of the released flies, which are later caught in traps, is not sufficiently reliable. Testes of irradiated and unirradiated males were examined cytologically to see if it is possible to separate the two types. The method not only separates irradiated flies from unirradiated ones but also can be used to differentiate all ages of adult males, even after the specimens are dried.