

**Metepa-Induced Degeneration and Resorption of Spermatocytes of the Cabbage Armyworm, *Mamestra brassicae* L.** ISAMU NAKAYAMA and SHIGEMI YAGI\* (Research Department, Pesticide Division, Sumitomo Chemical Co. Ltd., Takarazuka, Hyogo, Japan and \*Laboratory of Applied Zoology, Faculty of Agriculture, Tokyo University of Education, Komaba, Meguro-ku, Tokyo, Japan) Received August 4, 1977. *Botyu-Kagaku*, 42, 158, 1977. (with English Summary 164)

**24. Metepa により誘起されるヨトウガ精母細胞の退化吸収現象** 中山 勇, 八木繁実\* (住友化学工業株式会社, 農薬事業部研究部, 兵庫県宝塚市高司4丁目, \*東京教育大学農学部応用動物学研究室, 東京都目黒区駒場2丁目) 52. 8. 4 受理

ヨトウガ終令3日目の幼虫に化学不妊剤の一種である metepa を注射し, これが精子形成過程におよぼす影響を電子顕微鏡観察により検討した。その結果, 精母細胞の核小体の凝集, ミトコンドリアの巨大化, 崩壊, 空胞化が観察された。退化崩壊した精母細胞はその後精巣被膜に吸収された。さらに精子束において不規則な mitochondria derivative と axoneme の凝集が見られた。

緒 言

昆虫の精子形成におよぼす化学不妊剤の影響を病態組織学的に究明した報告<sup>1)</sup>はすでに多数あり, いずれも精子形成途上の精原細胞や精母細胞が異常をきたしている<sup>2)</sup>と述べられている。しかし, こうした異常精母細胞のその後の退化過程については放射線照射を受けたノシメダラメイガ *Plodia interpunctella* の精母細胞に関する電子顕微鏡観察の結果が報告されている<sup>2,3)</sup>だけであり, 化学不妊剤に関するそれはいまだになされていない。そこで, 著者らは metepa 処理を行なったヨトウガの精母細胞およびその退化過程における微細構造の変化を明らかにするために, 電子顕微鏡観察により検討した結果, 若干の知見を得たのでここに報告する。

本文に入るに先だち, 御校閲の労を賜った日本国際教育協会, 高橋保雄博士に厚く御礼申し上げる。

材料および方法

**供試昆虫:** 人工飼料をもちいて非休眠条件(温度 22°C, 日長 16L-8D)で累代飼育を続けてきたヨトウガの終令幼虫をもちいた。

**実験方法:** 終令3日目の幼虫に metepa 水溶液 5mg/25 $\mu$ l を第1腹脚より注射し, 蛹化直後, 蛹化後3日, 10日および14日目にそれぞれ精巣を取り出し, 1%のオスミウム酸を含んだ Millonig's buffer (pH = 7.2) で2時間固定した。その後, 常法にしたがってエタノールで脱水, プロピレンオキサライドで置換し, エポン 812 に包埋した。超薄切片はライヘルトの超ミクロトーム (0mU<sub>2</sub>) により 50~100 $\mu$  とし, 酢酸ウランルで電子染色した。観察は日本電子製 JEM-7A 型電子顕微鏡を使用し, 加速電圧 50kV で

おこなった。

結 果

無処理個体における精子形成: 蛹化後3日目の正常な精母細胞の微細構造を Fig. 1 に示した。細胞内には多数のリボソームが見られ, 核を取りまく粗面小胞体およびミトコンドリアが明確に認められた。Fig. 2 には telophase 後期の精母細胞を示した。ミトコンドリアは肥大し, nebenkern が見られ, その周囲にはよく発達した粗面小胞体が配列していた。Fig. 3 には精子束の横断面を示した。整然と配列した mitochondria derivative, axoneme, single plasma membrane が認められた。

Metepa 処理された個体の精子形成: Fig. 4 には終令3日目の幼虫に metepa を処理して得た蛹化後3日目の個体の精母細胞を示した。ミトコンドリアの空胞化および不規則なクリステ, 核の不整形化, 縮小が見られた。また核小体は円形となり凝集し, 核のまわりに微小な小体が出現した。Fig. 5 には蛹化後10日目の精母細胞を示した。退化過程の初期であり, 細胞の崩壊, ミトコンドリアの凝集, dense body, ミエリン像の出現などが認められた。Fig. 6 では巨大化したミトコンドリア, その内部のクリステの消失, 空胞化, 細胞の崩壊が観察された。これらの崩壊した精母細胞は Fig. 6-3, 6-4 に示したごとく, その後は精巣被膜に吸収されていく事実が認められた。Fig. 7 には精子束の横断面像を示した。精子束の配列は整然とせず, 1対の mitochondria derivative は不整形となり, 消失または巨大化していた。さらにこの mitochondria derivative と axoneme の凝集が見られ, また2個の精子が single plasma membrane で包まれているのが観察された。

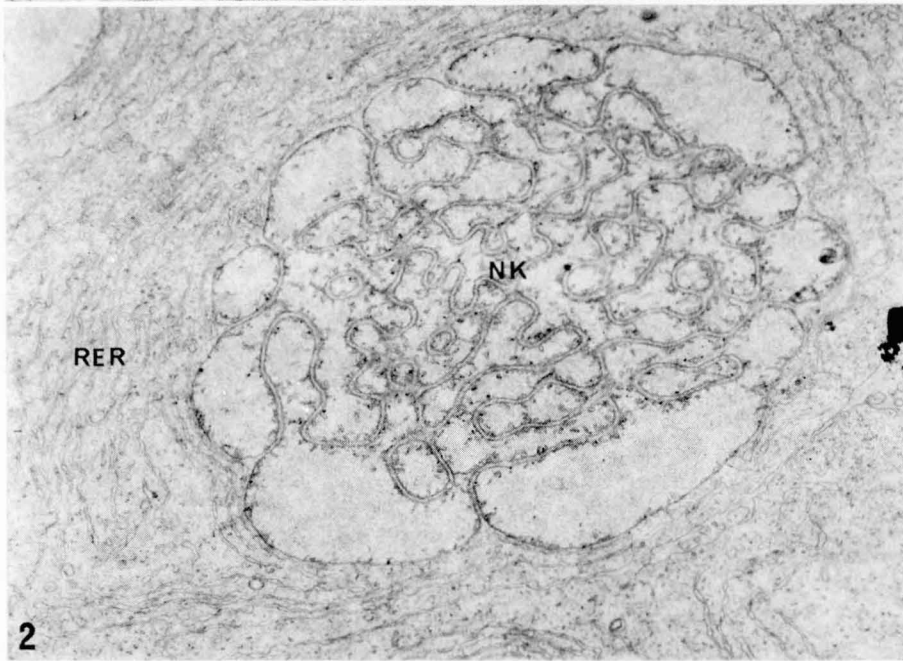
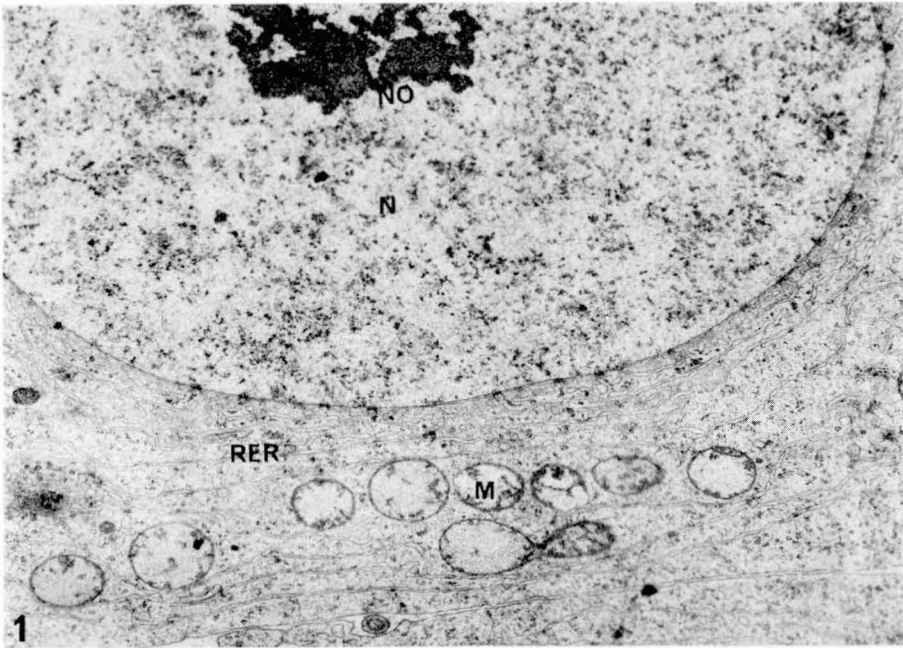


Fig. 1. A fully developed spermatocyte of 3-day-old normal pupa. RER : rough endoplasmic reticulum, M : mitochondria, N : nucleus, NO : nucleolus ( $\times 5,000$ )

Fig. 2. A spermatocyte of the end of telophase in normal pupa. NK: nebenkern. ( $\times 5,000$ )

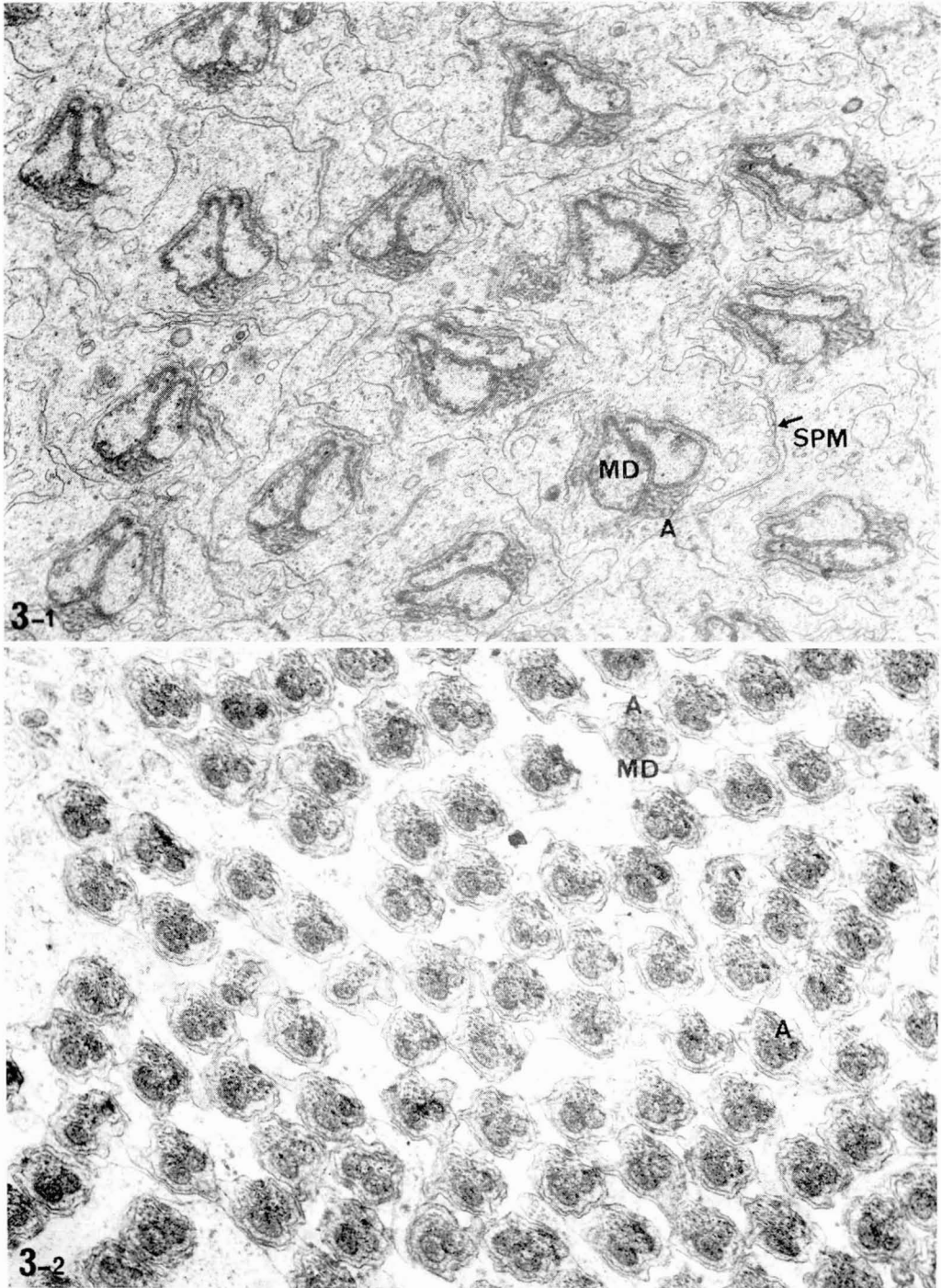


Fig. 3. Cross section of spermatids in normal pupa membrane. 3-1: late elongating spermatids, ( $\times 5,000$ ) 3-2: sperm bundle. ( $\times 3,000$ )

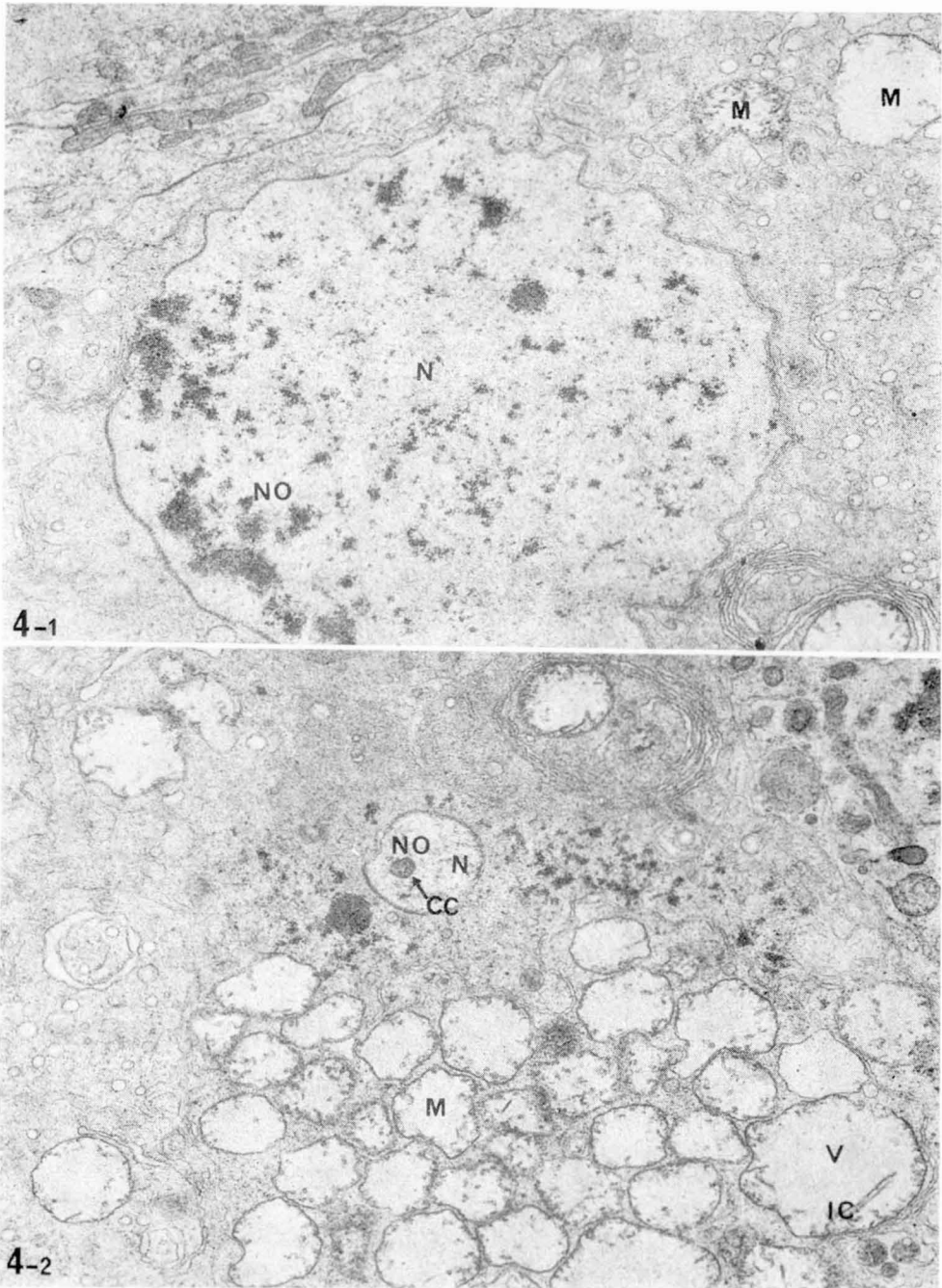


Fig. 4. Spermatocyte of 3-day-old pupa after treated with metepa. ( $\times 5,000$ )  
CC: chromatin condensation (arrow), IC: irregular cristae, V: vacuolated mitochondria,  
4-1: slightly degenerated spermatocyte, 4-2: strikingly degenerated spermatocyte.

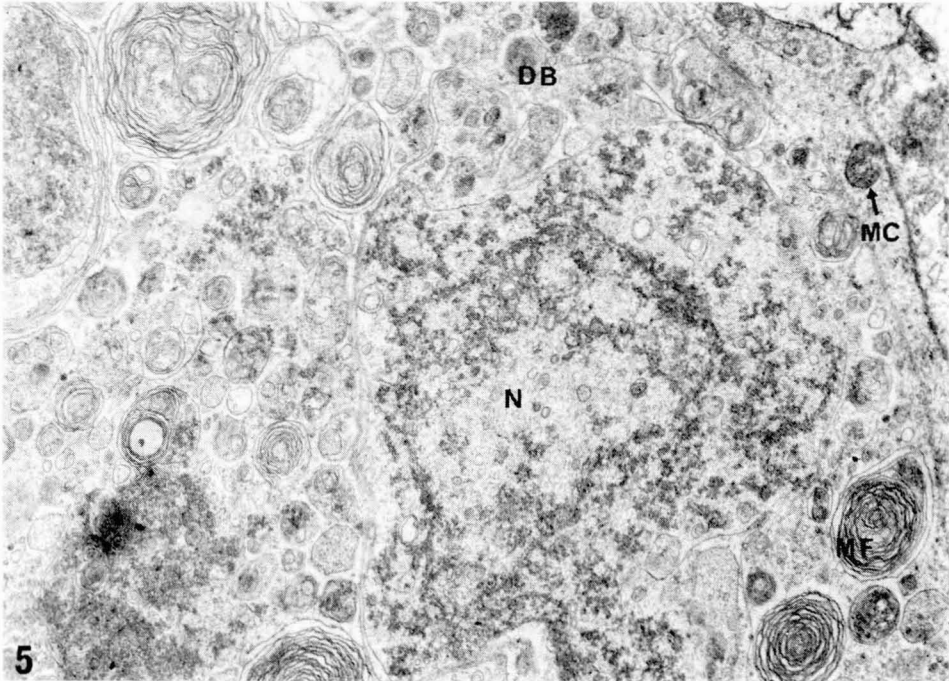


Fig. 5. Spermatocyte of 10-day-old pupa after treated with metepa. ( $\times 5,000$ )  
MF: myelin figure, DB: dense body, MC: mitochondrial condensation (arrow).

## 考 察

Ashrafi and Roppel<sup>2,3)</sup> は放射線照射されたノシメダラメイガ *Plodia interpunctella* の精子形成過程について検討を加え、精母細胞におけるクロマチンの凝集、ミトコンドリアの崩壊、空胞化、および精原細胞におけるいくつかの異常について報告した。また Riemann<sup>4)</sup> はスジコナダラメイガ *Anagasta kuehniella* の雄に放射線を照射し、その後の精子におよぼす影響を調べたところ、精子束中に空胞化、凝集した精細胞を見出した。これらはいずれも本実験で得た結果と類似している。Fig. 4-2, 5 に見られたようなミエリン像、核小体の凝集は apholate で処理されたネッタシマカの卵巣の退化過程で Mukunnenkeril<sup>5)</sup> が報告しており、これらの現象が退化崩壊細胞の一過程であることを示している。また Fig. 4-2 に示したような核小体の凝集は、放射線照射を受けた初期の精母細胞においても見出されている (Ashrafi and Roppel<sup>2)</sup>)

ところで鶴沼<sup>6)</sup> はアクチノマイシン D、アフラトキシン B<sub>1</sub>、シクロヘキシミドなど多くの代謝阻害剤をラットに投与し、肝細胞中の核小体の形態におよぼす影響を詳細に検討した。すなわち、投与薬剤の作用機

構の違いによって核小体が形態的にも異なることを酵素処理法を用いて明らかにした。本実験においても metepa 処理区における Fig. 4-2 のごとき核小体の凝集以外にすでに述べた通りの多くの形態的变化が認められた。中山<sup>7)</sup> はハチミツガの鱗片形成過程における metepa の作用をマイトマイシン C のそれと比較した結果、いずれの処理においても鱗片形成がなされないことから、両者が類似した作用をするのであろうと推定した。したがって、今後はこれらの代謝阻害剤と関連させて、化学不妊剤の核小体におよぼす形態的变化を詳細に比較検討することにより、化学不妊剤の作用機構をさらに明確にすることが可能と思われる。

配偶子の吸収については、Campion<sup>8)</sup> が *Diparopsis castanea* の卵形成過程において報告しており、さらに中山<sup>9)</sup> は hempa 処理したアズキゾウムシの卵形成において、産下直前の成熟卵が総輸卵管に吸収されることを明らかにした。しかしながら、Fig. 6-3, 6-4 に示したような精子形成過程における崩壊細胞の精巢被膜への吸収についてはこれまでほとんど報告されていない。中山・赤池<sup>10)</sup> は終合3日目に metepa (5mg/25 $\mu$ l) を注射したヨトウガの蛹化後10日目の精巣を解剖したところ、ほとんど精母細胞、精子束が観察さ

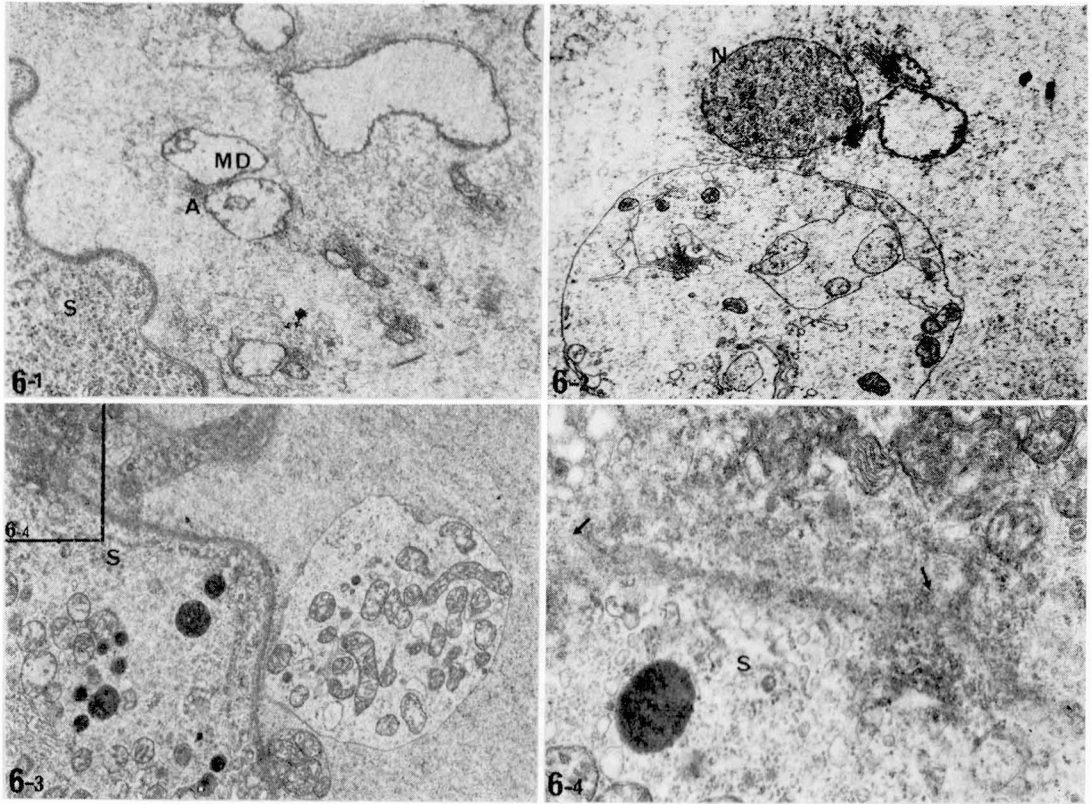


Fig. 6. Degenerated and disintegrated spermatocyte of 14-day-old pupa after treated with metepa.

S: follicular septum, 6-1: giant and irregular mitochondria with disappeared cristae, 6-2: disintegrated spermatocyte, 6-3: cluster of mitochondria separated from degenerated spermatocyte, (×5,000), 6-4: resorption of degenerated spermatocyte into follicular septum (arrow). (×15,000)

れず、微小な顆粒のみが認められたと報告している。さらに彼らは、同様な処理をされた蛹化直前のアゲハの精巣において異常精子束および先端細胞が精巣被膜に吸収されることを示した。これらの事実からも、ヨトウガにおいて上述したような精子形成過程で壊死し、崩壊した生殖細胞は、その精巣被膜に吸収されることは間違いないものと思われる。

#### 引用文献

- 1) LaChance, L. E., D. T. North and W. Klassen: In Principles of Insect Chemosterilization, (Ed. by LaBrecque, G. C. and C. N. Smith) Apleton-Century-Crofts, New York, 1963, p. 99.
- 2) Ashrafi, S. H. and R. M. Roppel: *J. Econ. Entomol.*, **66**, 1309 (1973).
- 3) Ashrafi, S. H. and R. M. Roppel: *J. Econ. Entomol.*, **66**, 1324 (1973).
- 4) Riemann, J. G.: *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **66**, 147 (1973).
- 5) Mukunemkeril, G. M.: *Dissertation Abstr. Intern.*, B **34**, 3109 (1974).
- 6) 鶴沼直雄: *Ann. Rep. Inst. Adult Dis.*, **12**, 127 (1972).
- 7) 中山勇・安居院宣昭・八木繁実: *防虫科学*, **42**, 50 (1977).
- 8) Campion, D. G.: *Bull. ent. Res.*, **61**, 577 (1972).
- 9) 中山勇: *防虫科学*, **42**, 92 (1977).
- 10) 中山勇・赤池宣介: 応動昆第18回大会講演要旨(札幌).

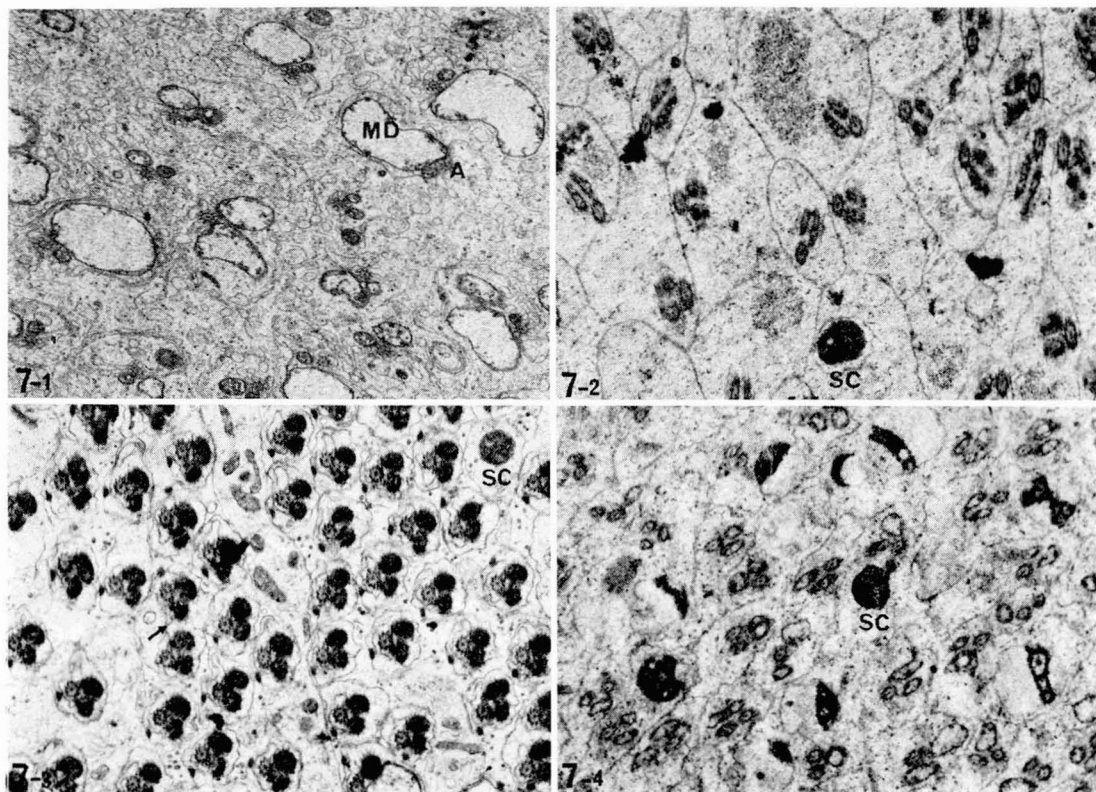


Fig. 7. Cross sections of spermatid in 14-day-old pupa after treated with metepa. Mitochondrial derivatives (7-1) and flagellar figures (7-2,3,4) were irregularly disposed. Two flagellar figures enclosed within a single plasma membrane (arrow in 7-3). SC: sperm bundle clumping. ( $\times 3,000$ )

### Summary

Spermatogenesis in the testes of the cabbage armyworm, *Mamestra brassicae*, was studied by electron microscopy after injection of metepa to 3-day-old larvae of the last instar. Many abnormalities such as chromatin condensation in nuclei, irregular cristae in mitochondria, giant, degener-

ated and vacuolated mitochondria of spermatocyte were observed in the treated testes. Degenerated and disintegrated spermatocytes were subsequently resorbed into follicular septum, and mitochondrial derivatives in spermatid exhibited irregular cristae and sperm bundle clumping were observed in the testes.