

Deforming Mechanism of Metepa for Wing Part of the Smaller Citrus Dog, *Papilio xuthus* L., and the Cabbage Armyworm, *Mamestra brassicae* L. Isamu NAKAYAMA, Noriaki AGUI* and Shigemi YAGI* (Research Department, Pesticides Division, Sumitomo Chemical Co. Ltd., Takarazuka-shi, Hyogo 665, Japan and *Laboratory of Applied Zoology, Faculty of Agriculture, Tokyo University of Education, Komaba, Meguro-ku, Tokyo 153, Japan) Received Sept. 29, 1976. *Botyu-Kagaku*, 42, 50, 1977. (with English Summary 57)

6. アゲハおよびヨトウガ蛹に誘起される metepa の催奇機構 中山 勇, 安居院宣昭*, 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) 51. 9. 29 受理

鱗翅目昆虫の幼虫期に metepa, tepa および apholate を経口投与すると、その蛹の翅部に奇型が生じる。このような不妊剤による催奇機構を明らかにするために、とくに metepa を中心に実験を行なった。まず metepa が処理された前蛹期のアゲハおよびヨトウガから翅原基をとり出し、その外部形態を観察した結果、真皮細胞と気管の発育が阻害されていた。さらに metepa 処理されたアゲハの翅原基について病態組織学的な検討をおこなったところ、真皮細胞の分裂が抑制されており、巨大核の出現、細胞の崩壊、脱落等が認められた。次に不妊剤の翅形成に対する直接的な影響を調べるために、ヨトウガ幼虫の翅原基を metepa および β -ecdysone の混入培地中で培養したところ β -ecdysone によって誘起されるべき発育が抑制された。これらの結果から、metepa によって誘起される蛹翅部の奇型は翅原基の真皮細胞の分裂阻害に起因すると結論した。一方軽度の奇型蛹から羽化した個体には翅の黒色化したアゲハおよび茶色化したヨトウガが出現したが、両者共その鱗片形成は不完全であり、しかも鱗片は短小化していた。こうした異常鱗片の形成機構はハチミツガ蛹に代謝阻害物質を処理して比較検討した結果から、metepa のアルキル化作用にもとづく鱗片形成細胞の異常分裂であることが推察された。一方 hempa の催奇性はアゲハ、ヨトウガのいずれに対しても認められなかった。

化学不妊剤は生殖器官以外の組織に対しても作用を持つことが知られている。たとえば George¹⁾ らは hempa がネックイシマカ (*Aedes aegypti*) の脳細胞の染色体に影響をおよぼすことを見出した。また、平野²⁾ は apholate をカイコガ (*Bombyx mori*) の幼虫に経口投与すると奇型蛹が誘起されることを報告した。さらに Nagasawa and Nakayama³⁾ は metepa 投与によってもカイコガをはじめ、マイマイガ (*Por-thetria dispar*)、アゲハ (*Papilio xuthus*) およびヨトウガ (*Mamestra brassicae*) に apholate と同様な奇型蛹の発現することを報告した。

一方、化学不妊剤でない ethylenediaminetetra-acetic acid (EDTA) を tobacco hornworm (*Manduca sexta*) の幼虫に摂食させると種々の奇型蛹が得られることが Terranova and Callenbach⁴⁾ によって報告された。さらに Ruscoe⁵⁾ はインドせんだん neem tree (*Azadirachta indica*) の抽出物質である Azadirachtin をキャベツ葉に散布し、これをオオモンシロチョウ (*Pieris brassicae*) の終令幼虫に摂食させて奇型蛹を得た。また *Bacillus thuringiensis* Berliner の体外毒素 β -exotoxin がアゲハに対して口吻欠損⁶⁾を、またイエバエ (*Musca domestica*) に対

しても奇型蛹⁷⁾を誘起させることが知られている。さらに Nagasawa and Nakayama³⁾ は幼虫期に metepa を処理したアゲハにおいて、羽化成虫の翅が黒化する異常を報告した。こうした事実から化学不妊剤を処理して得られる奇型蛹の発現に関する機構を検討することは、未知物質の作用性を推察したり、さらにその応用研究を行なう上で貴重な手掛かりとなるものと思われる。以上の観点から、本報告においては化学不妊剤の生殖組織以外の器官におよぼす作用の内、特に翅部への影響を検討し、その発現機構について若干の考察を試みた。

本文に入るに先だち、種々の御助言と原稿御校閲の労を賜った島根大学農学部、長沢純夫教授、ならびに実験の御協力をいただいた東京教育大学農学部、杉野正雄氏 (現在・都立狹江高校) に対し深く感謝申し上げる。

材料および方法

供試昆虫：アゲハ——野外で採集した雌成虫から得た卵を孵化させ、実験室内 (25°C 18L-6D) でミカンの葉をあたえて飼育した終令幼虫。

ヨトウガ——実験室で人工飼料⁸⁾をもちいて、22°C

16L-8D の照明条件下で累代飼育をつづけてきた終令幼虫。

ハチミツガ——実験室で人工飼料をもちいて 30°C, 18L-6D の照明条件下で飼育した蛹。

実験方法：*In vivo* における不妊剤の翅原基に対する影響——アゲハの終令直後の幼虫に metepa 4mg/0.5ml および hempa 8mg/0.5ml を経口投与した後、ミカンの葉を与えて飼育し、蛹化直前（前蛹化 1 日後）に解剖して翅原基を実体顕微鏡で観察した。また、ヨトウガでは終令 3 日目に metepa を 5 mg/25 μ l, hempa を 8 mg/40 μ l, 第 1 腹脚から注射した後、人工飼料を与えて飼育し、蛹化直前（前蛹化 5 日後）に解剖して無処理区の翅原基と比較観察した。

In vitro における不妊剤の翅原基に対する影響——ヨトウガ終令 3～4 日目の幼虫から翅原基を取り出し、Grace の昆虫組織用培地（GIBCO 社製）に移し、Agui and Fukaya⁹⁾の方法に準じて器官培養をおこない、その発育におよぼす metepa の影響を対照区との間で比較、観察した。予備実験の結果から、metepa および hempa はあらかじめ培地中にそれぞれ 0.5 μ g/ml および 5 μ g/ml 混入した。これらの培地に翅原基の分化を促進させるために加えた β -ecdysone の濃度は 1.5 μ g/ml とした。対照区としては培地のみ、培地 + 不妊剤および培地 + β -ecdysone の 3 区をもうけた。実験は 2 回の繰り返しをおこない、1 区当り 6 個の翅原基をもちいた。

アゲハ翅原基の病態組織学的観察——Metepa (4 mg/0.5 ml), hempa (8 mg/0.5 ml) を経口投与したアゲハの終令 3 日目の幼虫および前蛹化 1 日後の個体から翅原基を取り出し、ブアン液で固定した。次に、常法にしたがいアルコールで脱水し、パラフィン包埋後、7 μ の組織切片を作った。切片はデラフィールドヘマトキシリンとエオシンで複染色を行ない、無処理区のものと比較観察した。

異常鱗片の観察——幼虫期に metepa 投与を行なったアゲハおよびヨトウガ成虫の翅表面を実体顕微鏡により調べた。一方ハチミツガ蛹をもちいて、不妊剤と代謝阻害物質の鱗片におよぼす影響を比較するために、metepa (100, 50, 25 μ g/2 μ l), hempa (2, 1, 0.5 mg/5 μ l), マイトマイシン C (10, 5, 2.5 μ g/2 μ l), アクチノマイシン D (1, 0.03, 0.015 μ g/2 μ l), EDTA (500, 250 μ g/2.5 μ l) を蛹化 20 時間以内の個体に、腹部第 3 節腹面から注射した。これらの蛹はパラフィンを塗って体液の流出を防いだ後、前述の条件下で飼育し、羽化後にその翅の状態を調べた。

実験結果

1. アゲハおよびヨトウガにおける奇型蛹の発現：ア

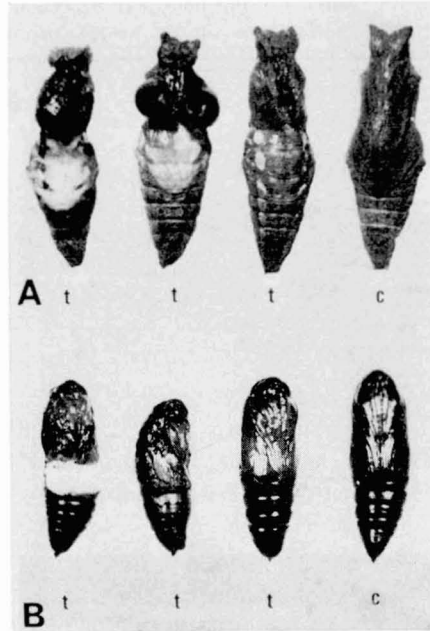


Fig. 1. Deformed pupae induced by the treatment of metepa at the last instar larvae. A: *P. xuthus* administered orally at 3 mg/larva, B: *M. brassicae* injected at 5 mg/larva, c: control. t: metepa.

ゲハについては終令脱皮直後の幼虫に 3mg, ヨトウガについては終令脱皮 3 日後の幼虫に 5 mg の metepa を処理することによって得られた奇型蛹を Fig. 1 に示した。ヨトウガのそれは前者ほど顕著な奇型ではなかった。Table 1 にはヨトウガに対する metepa および hempa の致死作用と、幼虫および蛹期間におよぼすそれらの影響を示した。Metepa の 5mg 処理区では雌雄共に死亡率が高く、幼虫ならびに蛹期間も延長し、すべての生存個体は Fig. 1 に示したような奇型蛹となった。一方、hempa の 8mg 処理区では両性共に幼虫期間の延長が見られたが、奇型蛹は全く得られず死亡率もそれほど高くなかった。こうした傾向はアゲハの結果³⁾とおおむね一致していた。しかしながら、metepa, hempa の致死作用に対する幼虫感受性はアゲハより低いようであった。

2. 奇型蛹の発現機構：上述の奇型蛹の発現機構を解明するために、まず不妊剤を投与した幼虫体内の翅原基を解剖学的および病態組織学的に観察し、その発育過程におよぼす不妊剤の影響を調べ、次に器官培養法をもちいて標的器官である翅原基に対する不妊剤の直接的な作用を調べた。

i) *In vivo* におけるアゲハおよびヨトウガ幼虫の翅原基に対する metepa の影響：まず metepa によ

Table 1. Physiological effects of injected metepa and hempa on the 3 days old larvae of the last instar of *M. brassicae*.

Chemical	Dosage $\mu\text{g/larva}$	Sex	No. of used larvae	Mortality (%)	Average duration (days)		Deformity (%)
					Larva	Pupa	
Metepa	5000	Male	38	55.3	11.0	50.0	100.0
		Female	17	47.1	11.3	47.0	100.0
Hempa	8000	Male	20	18.0	9.1	40.8	0.0
		Female	20	20.0	10.0	41.7	0.0
Control	—	Male	22	18.6	7.1	44.5	0.0
		Female	32	9.4	7.5	41.9	0.0

って蛹の翅部に顕著な奇型を生じるアゲハについて調べた。所定の令期に metepa を投与した蛹化直前の個体を解剖し、翅原基を取り出したのが Fig.2 である。同時に metepa の 2 倍量の hempa を投与した場

合の翅原基と無処理個体のそれとを比較のために示した。Fig.2 から明らかなように、無処理および hempa を投与した前蛹の翅原基は十分に发育していた。すなわち、気管(t)は著るしく伸長分枝し、さらに翅組織が发育して折り重なったヒダ状の縞模様(s)が観察された。しかしながら、metepa 処理個体における翅原基の发育は十分でなく、小型で、気管の発達もほとんど進んでいなかった。しかも翅組織は未发育で前述の縞模様は見られず一層の囊状を呈していた。一方、hempa はアゲハの翅原基の发育に影響をおよぼさないことが確認された。Fig.3 にはアゲハの場合と同じ処理をして得たヨトウガの翅原基を示した。この図が

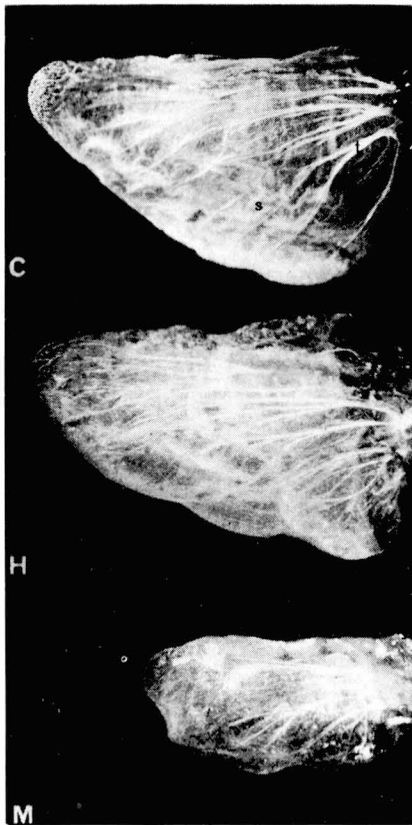


Fig. 2. Effects of metepa and hempa on the morphogenetic development of wing disc *P. xuthu* prepupa.

C: control H: hempa (8 mg/larva),
M: metepa (4mg/larva), t: trachea,
s: tuck of wing tissue.

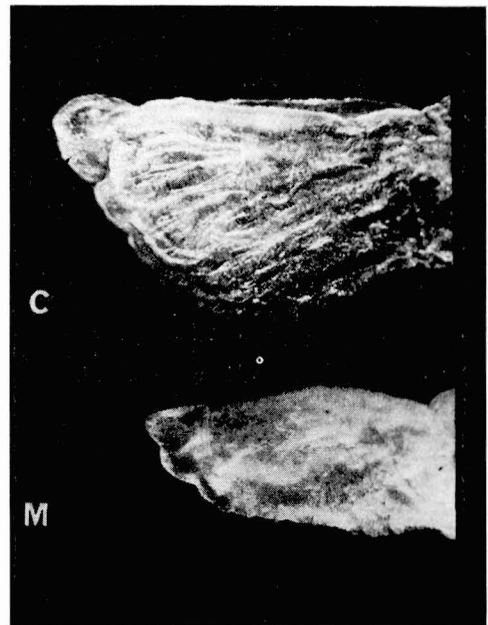


Fig. 3. Effect of metepa on the morphogenetic development of wing disc of *M. brassicae* prepupa.

C: control, M: metepa (5 mg/larva).

ら明らかにアゲハと同様な傾向が観察された。なお Fig. 3 に *hempa* 投与された場合の翅原基を示さなかったが、その発育は無処理と変わりなかった。以上の形態的な観察から *metepa* の翅原基に対する影響が明らかになったが、さらにその詳細を知るために病態組織学的な解明を試みた。

ii) 翅原基の病態組織学的観察: *Metepa* のアゲハおよびヨトウガの翅原基に対する作用性に変わりのないことから、ここではアゲハのそれについてのみ検討を加え、Fig. 4 に示した。AC 図は終令5日後(発育の初期)、そして BC 図は蛹化直前の翅原基を示した。翅原基の発育は終令5日後から著しく促進され、真皮細胞(e)は盛んな有糸分裂をくり返し数層を形成した。さらにこの時期、真皮細胞の基底膜(bm)も明瞭に認められた。その後蛹化直前に、真皮細胞は伸展し基底部が繊維状となった高足細胞(p)となり、入り組んだ皺壁を形成した。気管(t)もよく発育し肥大した。こうした翅原基の発育に関しては既に素木¹⁰⁾、Imms¹¹⁾、Counce and Waddington¹²⁾ によって述べ

られた。

一方、*metepa* 投与区の真皮細胞の数は減少し、多数の壊死(nc)が認められ、一部の基底膜はくずれ、中葉もまた明瞭でなかった。さらに気管を取りまく細胞にも壊死が認められた。蛹化直前にいたっても、分裂増殖は劣り、核の巨大化(gc)、細胞の壊死、崩壊(dg)、空隙への脱落(dc)が観察された。また基底部の繊維も一部くずれ崩壊し、気管の発育も正常でなかった。

iii) *In vitro* における *metepa* のヨトウガ幼虫の翅原基に対する影響: 今まで述べてきたように *in vivo* の実験によって *metepa* の作用がかなり明確となったが、ここでは不妊剤の翅原基に対する直接的な作用を調べるために次のような一連の実験をおこなった。まず *metepa* を混入した培地中で翅原基を7日間培養し、3日目迄の変化を観察した結果を Fig. 5 に示した。*Metepa* と β -ecdysone の混入区(V)における翅原基の発育は培養開始48時間後まで観察されたが、その後翅原基は退化への過程をたどった。この状態は

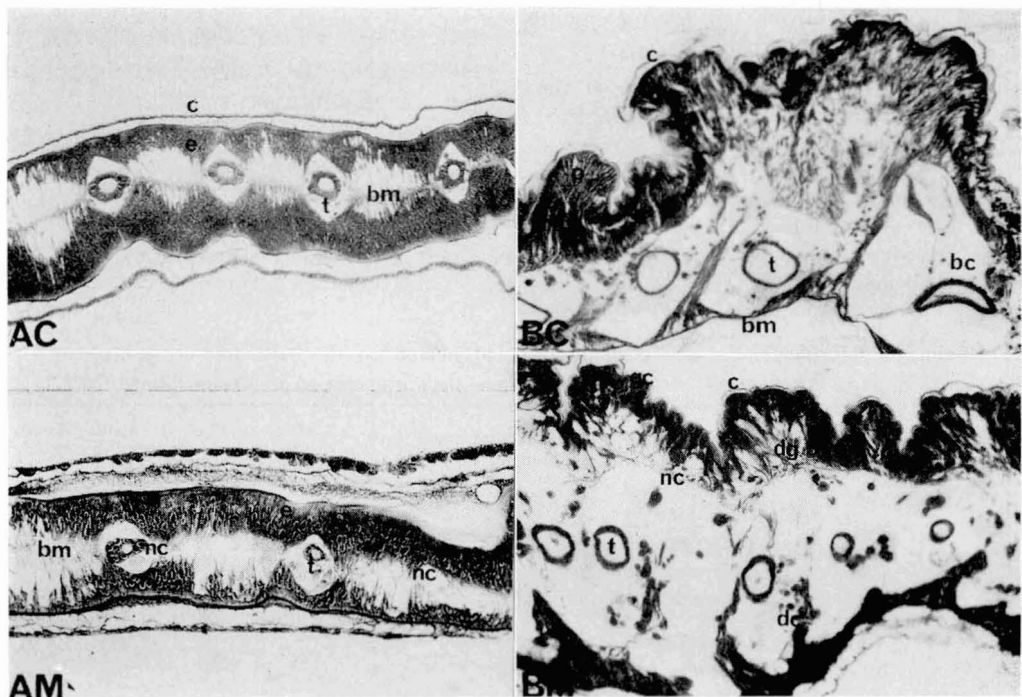


Fig. 4. Cross section of the wing disc of *P. xuthus*.

A: 5-day-old at the last instar, B: just before pupation, C: control, M: *metepa* 4 mg/larva, c: cuticle of developing wing, e: epidermal cell, p: process of epidermal cell, bm: basement membrane, t: trachea in cavity of developing vein, bc: blood corpuscle, nc: necrosis, dg: degenerative cell, dc: drop cell, gc: giant cell.

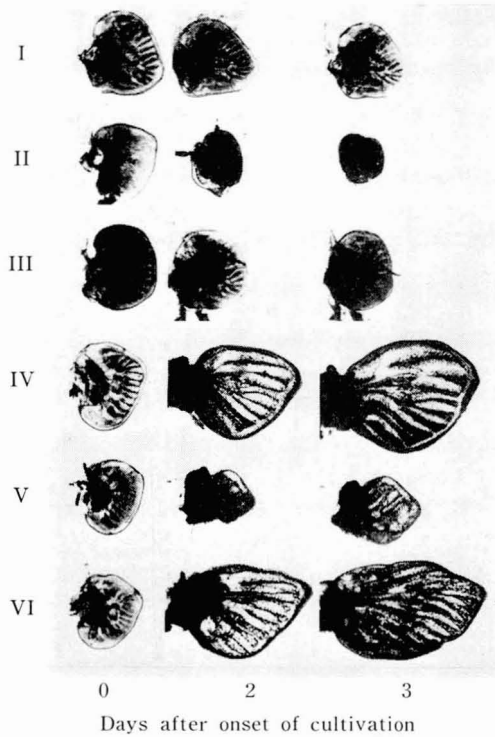


Fig. 5. Effects of metepa and hempa on the morphogenetic development of *M. brassicae* wing disc *in vitro*.

I: Medium alone, II: + metepa (0.5 $\mu\text{g/ml}$), III: + hempa (5 $\mu\text{g/ml}$), IV: + β -ecdysone (1.5 $\mu\text{g/ml}$), V: + β -ecdysone + metepa, VI: + β -ecdysone + hempa.

明らかに β -ecdysone だけを処理した区 (IV) と比較して、発育の程度も弱く、かつ退化も早く起こった。しかし hempa と β -ecdysone の混入区 (VI) の翅原基はホルモンのみを加えた対照区 (IV) と変わりなく発育した。一方、培地中に β -ecdysone を入れず不妊剤だけ、すなわち、metepa 区 (II) における翅原基の状態は4時間後まで、培地だけの区 (I) と変わりなく維持されたが、その後は細胞の壊死が起こり退化した。また、hempa 区 (III) では72時間後まで、ほぼ培地だけの区 (I) と変わらない状態で保たれたが、96時間後には退化の徴候を示し、その後 hempa の影響によって、細胞が壊死し、退化現象が見られた。

以上の結果から、培養開始後48時間以内にホルモンによって誘起される翅原基の発育は metepa によって阻止されるということが明らかになった。しかしこのような発育の阻止を起こす要因としては、培地中の β -ecdysone と metepa が直接作用し、その結果生じる反応生産物あるいは分解産物がこのような阻止作用をおこすということが考えられたので、さらに次のような実験をおこなった。まず培地に β -ecdysone と metepa を加え、この調製培地を2日間 25°C に放置した。その後、翅原基をこの混合培地中で培養し、培地調製直後から培養した場合とその発育の程度を比較した。その結果は Table 2 に示したごとく metepa および hempa に β -ecdysone を加えて48時間放置してもこの濃度における metepa と β -ecdysone の活性は失なわれないことがわかった。一方、hempa は翅原基の発育に影響をもらさなかった。

Table 2. Morphogenetic effects of metepa and hempa on the cultivated wing discs of *M. brassicae* *in vitro* at 0 and 2 days after preparation of the medium.

Incubation time of the medium before cultivation	Treatment	No. of used wing discs	Days after cultivation				
			0	1	2	3	4
0	Medium alone*	5	—	—	—	—	—
	+ β -ecdysone	5	—	±	+	++	++
	+ β -ecdysone + metepa	5	—	±	+	++	++
	+ β -ecdysone + hempa	5	—	±	+	++	++
2 days	Medium alone*	5	—	—	—	—	—
	+ β -ecdysone	5	—	±	+	++	++
	+ β -ecdysone + metepa	5	—	±	+	++	++
	+ β -ecdysone + hempa	5	—	±	+	++	++

* : Grace's medium

** : Degeneration

— : no elongation, tracheal migration nor evagination of the cultured wing discs;

± : tracheal migration; + : tracheal migration and elongation, but no evagination;

++ : tracheal migration, elongation and evagination.

3. 羽化成虫における異常翅の発現機構

i) 異常鱗片の観察: 終令幼虫期に metepa 4mg を経口投与したアゲハと 5mg を注射したヨトウガの成虫を Fig. 6 に示した。アゲハでは正常な個体の翅にくらべ処理個体は若干小型であり、著しく翅が黒化し

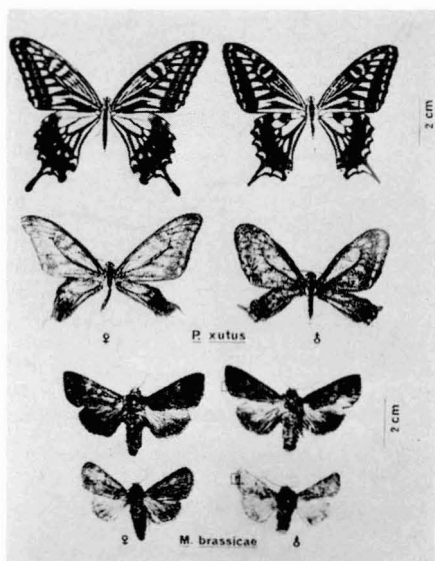


Fig. 6. Effect of metepa on wing scales of *P. xuthus* (4 mg/larva) and *M. brassicae* (5 mg/larva). Upper photos are the untreated adults and lower photos are the treated ones. Square parts are magnified in Fig. 7.

た成虫が出現した。この翅の部分拡大し鱗片の配色およびその形態を Fig. 7, I に示した。無処理個体の黄色および黒色鱗片は高密度に整然と並び、明確な配置をなしていた。これらの鱗片の先端は鋭角的で、かつ黄色ないし黒色が強かった。一方、metepa 処理個体のそれは約 2 倍に巨大化した数が減少した。さらにそれらの配列は乱れ、黄色と黒色の境が不鮮明であった。このために黄と黒が対照的に引き立たず翅は全体的に黒化して見えた。またこの鱗片の形態は短かく、先端部が丸いために黄および黒色部が減少した。

ヨトウガでは Fig. 6 に示したように正常な個体にくらべると、処理個体のそれはアゲハと同様に若干小型となり、黒色部が少なく、全体に薄茶色を呈するようになった。この翅の一部を拡大すると Fig. 7, IIM のように翅縁の鱗毛は発達せず消失していた。個々の鱗片について見ると、長軸が短くなり、黒色部の消失が見られた。また先端が丸味を帯び、十分な発育をしていないこともわかった。正常な鱗片では先端部がまず黒色化しており、次いで茶色の色素が配列してい

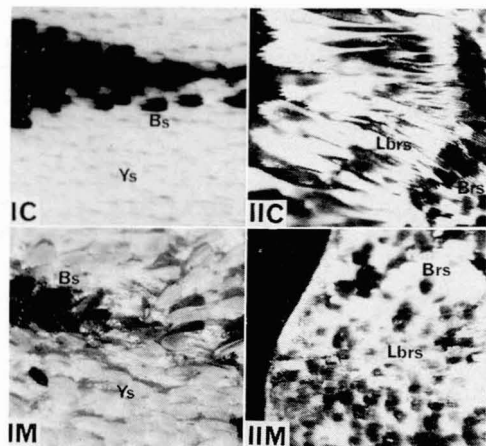


Fig. 7. Magnified diagrams of the square parts in Fig. 6.

I: *P. xuthus*, II: *M. brassicae*. C: control, M: metepa, Brs: brown scale, Lbrs: light brown scale, Bs: black scale, Ys: yellow scale.

た。

このような幼虫期に metepa を処理して誘起される鱗片の縮小ないし変形機構を明らかにするために、ハチミツガの蛹をもちいて以下の実験を試みた。

ii) 不妊剤と代謝阻害物質によってもたらされる鱗片形成阻害作用の比較: 多くの鱗翅目昆虫では蛹化 28 時間以内に真皮細胞が 2 回の有糸分裂を行ない、その内の 1 つが鱗片を形成する細胞となることが明らかにされている。そこで、蛹化 20 時間以内のハチミツガ蛹に metepa, hempa およびマイトマイシン C, アクチノマイシン D 等の代謝阻害剤を注射し、これらの薬剤がその後の成虫の鱗片におよぼす影響を比較した。Table 3 は成虫に現われた鱗片の欠損の程度をいくつかのランクに分け集計したものである。Metepa を 50 μ g 処理すると著しく鱗片を欠いた成虫が出現し、マイトマイシン C と同様な結果を示した。一方、hempa の 1,000 および 500 μ g 処理で蛹期間は無処理にくらべ 2 日ほど延びたが、鱗片の異常は認められなかった。アクチノマイシン D, EDTA については鱗片、蛹期間のいずれも無処理と変わりなかった。

考 察

LaChance ら¹³⁾は不妊剤が生殖組織以外の組織におよぼす影響は不妊剤の種類、投与法、処理時の細胞の生理的狀態など左に右されると述べている。また前述したように不妊剤以外の薬剤、たとえば EDTA が tobacco hornworm の幼虫に (Terranova and Callenbach⁴⁾), β -exotoxin がアゲハの幼虫に (中山⁶⁾)

Table 3. Effects of chemosterilants and the various chemicals on the wing scale formation of *Galleria mellonella*.

Chemical	Dosage ($\mu\text{g}/2\sim 5\ \mu\text{l}$)	No. of used pupae	Duration of pupal stage	No. of adults in rank of scale-free*					Mortality (%)
				—	+	++	+++	++++	
Metepa	100	10	—						100
	50	10	8.5				1	1	80
	25	10	8			1	8		10
Hempa	2000	10	—						100
	1000	10	10	4					60
	500	10	10	7					30
Mitomycin-C	10	10	—					10**	100
	5	10	8				1	5	40
	2.5	10	8			9	1		0
Actinomycin-D	1	20	—						100
	0.03	20	8	1					95
	0.015	20	8	5					75
EDTA	500	10	—						100
	250	10	8	2					80
Control	0	10	8	10					0

* —: normal, +: light, ++: moderate, +++: high, ++++: extreme.

** Results of dissected pupae.

それぞれ投与されると種々の奇型蛹が生じると報告されている。したがって催奇性をもった薬剤がある成育時期の昆虫に何らかの方法で投与された場合に、増殖中の特定組織に作用し、それぞれ特異な奇型現象を誘起するものと推定される。

本実験において、まず *in vivo* で不妊剤が翅原基にどのように作用するかを観察したところ、Fig. 2 や 3 に示したように、処理個体の翅原基は十分發育せず、小型で、気管の発達も不十分で、その翅組織は一層の囊状を呈していた。これは metepa によって真皮細胞の分裂、増殖が抑制されたためであろうと推察される。この点を詳細に知るために、アゲハの翅原基をもちいて形態組織学的な検討をおこなった所、翅原基の真皮細胞は metepa の作用によって、壊死、崩壊、脱落を生じていた。したがって、正常な真皮細胞層が形成されず、翅原基の發育が阻害されるのであろうと考えられる。

そこでさらに metepa によって生じた奇型蛹の発現機構をより直接的に知るために、*in vitro* におけるヨトウガの翅原基に対する metepa の影響を調べたところ、metepa は直接標的器官である翅原基に作用し、その發育を阻害する結果を得た。一方、翅原基の發育に ecdysone 類⁹⁾が必要なことはすでに報告されている。そこで内分泌、特に脱皮ホルモン分泌系、あるいは脱皮ホルモンそのものに直接 metepa が

作用し、正常な翅原基の發育を阻害することも考えられた。しかしこの考え方は前述の *in vitro* の実験で metepa が直接翅原基の發育を阻害したことから否定された。したがって、metepa によって誘起される蛹の翅部における奇型は翅原基の真皮細胞の分裂阻害に起因するものであることはより確かであるといえよう。

さて、*in vivo* における hempa の作用はこの量量では翅原基の發育に何ら影響をもたさなかった。このように、hempa が蛹に対して催奇性を持たなかったという事実はすでに Nagasawa and Nakayama³⁾ がアゲハの幼虫にそれを経口投与することによって確認している。そして hempa の作用がとくに *in vivo* のレベルで、非常に弱い理由のひとつとして、まず作用点、すなわち翅原基に達するまでにそれが分解あるいは代謝されるであろうということが考えられる。しかしながら、*in vitro* における Table 2 の実験で hempa の翅原基に対する作用に変化がなかったことから、このような考えは否定されるであろう。

羽化成虫における異常翅の発現は Fig. 7 より鱗片の減少、消失、短小化等の異常形態に起因していることを示した。鱗片の形成過程については伊藤¹⁴⁾によって、カイコガを材料として蛹化直後の鱗片形成細胞から分泌されることがすでに明らかにされている。また本実験において metepa の処理によってアゲハでは

翅の黒化が、ヨトウガでは茶色化が認められた。このようなアルキル化剤の作用は八木¹⁵⁾によってすでに報告された結果、すなわち白蝶科の昆虫にその鱗片の発育途上にγ線を照射すると、鱗片のない個体や、鱗片内のリュコプテリンタンパク、すなわち色素顆粒の形成過程に異常を示す個体が出現するということとよく付合するようである。したがって、ここで述べた、アゲハ、ヨトウガの鱗片および色素顆粒形成もすでに真皮細胞から metepa の影響を受けているものと推察される。Metepa のこうした色素におよぼす化学的研究分野は今後の興味ある研究課題であろう。

Krishnakumaran ら¹⁶⁾は蛹化20時間以内のハチミツガおよびクスサンの蛹にマイトマイシンCを投与すると、DNA合成が阻害される結果、鱗片分泌細胞は真皮細胞から形成されず、鱗片のない成虫が羽化することを報告している。本実験ではハチミツガ蛹をもちいて不妊剤と代謝阻害剤の作用を比較検討したところ、metepa はマイトマイシンCと同様にハチミツガ成虫の鱗片形成を阻害した。このことは metepa が鱗片形成細胞の分裂に伴う DNA 合成に対してアルキル化作用をもたらし、その後の蛋白合成を阻害したために鱗片形成が阻害されたことを示唆している。

一方、hempa はアクチノマイシンD、EDTA等と同じに鱗片形成に対しては何ら影響をもたさなかった。これは hempa が metepa と違ってアルキル化作用をもたないことから直接鱗片形成に必要な DNA 合成には関与しないためであろう。しかし hempa が不妊作用をもたらすことは明らかであり、この作用が metepa と異なった機作によるものであることは当然考えられよう。ところが Grover ら¹⁷⁾は Bořkovec¹⁸⁾の説、すなわち hempa が昆虫生体内でアルキル化作用をもった化合物に代謝され、それが精巣へ作用するという仮説を支持している。しかし Nakayama ら¹⁹⁾は *in vitro* において、ヨトウガの精巣に直接 hempa を作用させたがその明確な作用を見出すことはできなかった。また、すでに記した一連の実験においても、hempa の催奇性は認められなかった。したがって hempa の持つ不妊作用については多くの報告がなされているが、その効果については研究者ごとに必ずしも一致した結論を得ていないことなどからも、その不妊作用の解明についてはさらに検討を要しよう。

引用文献

- 1) George, J. A. and A. W. A. Brown: *J. Econ. Entomol.*, 60, 974 (1967).
- 2) 平野千里: 防虫科学, 30, 109 (1965).
- 3) Nagasawa, S. and I. Nakayama: *Appl. Ent.*

Zool., 9, 159 (1974).

- 4) Terranova, A. C. and J. C. Callenbach: *J. Econ. Entomol.*, 63, 886 (1970).
- 5) Ruscoe, C. N. E.: *Nature New Biology*, 236, 159 (1972).
- 6) 中山 勇, 北垣忠温, 篠原 寛: 昆虫病理談話会会報, 15, 2 (1970).
- 7) 浅野昌司, 武藤文雄, 井上忠彦: 昆虫病理談話会会報, 15, 1 (1970).
- 8) 安居院宣昭, 小倉信夫, 大河原通高: 応動昆, 19, 91 (1975).
- 9) Agui, N. and M. Fukaya: *Appl. Ent. Zool.*, 8, 73 (1973).
- 10) 素木得一: 基礎昆虫学, 北隆館, 1964, p. 239.
- 11) Imms, A. D.: "A General Textbook of Entomology, 9th ed." Methuen and EP. Dutton, London and New York, 1964, p. 41.
- 12) Counce, S. J. and C. H. Waddington: "Developmental systems: Insects 2", Academic Press, New York and London, 1973, p. 52.
- 13) LaChance, L. E., D. T. North and W. Klassen: "Principles of Insect Chemosterilization", Ed. by LaBrecque, G. C. and C. N. Smith Appleton-Century-Crofts, New York, 1968, p. 99.
- 14) 伊藤智夫: 蚕糸試験場報告, 14, 229 (1954).
- 15) 八木誠政: 第2回原子力シンポジウム報文集, 4, 218 (1958).
- 16) Krishnakumaran, A., S. J. Berry, H. Oberlander and H. A. Schneiderman: *J. Insect Physiol.*, 13, 1 (1967).
- 17) Grover, K. K., M. K. K. Pillai and G. M. S. Dass: *J. Med. Entomol.*, 9, 451 (1972).
- 18) Bořkovec, A. B.: *Isotopes and Radiation in Entomology*, (IAEA, Vienna), 201 (1968).
- 19) Nakayama, I., S. Yagi and N. Agui: *Appl. Ent. Zool.*, 11, 141 (1976).

Summary

It has been known that the wing parts of some lepidopterous pupae are deformed by the oral administration of several alkylating agents such as metepa, tepa or apholate at their larval stage. In both the *in vivo* and *in vitro* experiments, the effects of chemosterilants on the deformation process of wing discs in *Papilio xuthus* L. and *Mamestra brassicae* L. was simultaneously investigated. When the morphological differences between the wing discs of prepupae treated with

and without metepa were compared, the development of both epidermal cells and tracheoles was disturbed by the treatment of this chemical. According to the histopathological observation in *P. xuthus*, there appeared the inhibition of cell division and giant nuclei or both degeneration and histolysis of epidermal cells were observed in the wing discs treated with metepa. While, in the *in vitro* experiments, the development of *M. brassicae* wing discs was inhibited in the medium containing both metepa and β -ecdysone after 48 hr of cultivation, although they were developed by the β -ecdysone-action at the beginning of cultivation. From these results it

was concluded that the deformation of the wing parts in these species was caused by the inhibitory effects of metepa on the division of epidermal cell of wing discs. Abnormal adults with the darkened and light browned wing emerged from slightly deformed pupae of *P. xuthus* and *M. brassicae*, respectively. The wing scales of these adults showed the morphological abnormality. These deformed scales were due to abnormal division of scale-forming cell induced by alkylating action of metepa in *Galleria*. No deformity in the wing parts was observed by the administration of nonalkylating agent hempa.

Effects of Oral Administration of Acid, Base and Salt Solutions Upon the Concentration of Some Blood Constituents in Silkworm Larvae. Shigeru KURODA (Sericultural Experiment Station, Hino-shi, Tokyo) Received June 19, 1976. *Botyu-Kagaku*, 42, 58, 1977. (with English Summary 60)

7. 経口投与による酸、塩基、塩溶液のカイコの体液成分におよぼす影響 黒田 稔 (農林省蚕糸試験場, 東京都日野市) 51. 6. 19 受理

葉液の経口投与の設定を目的として、カイコに各種葉液を投与し体液成分中の蛋白質と α -ケトグルタル酸の量への影響を調べたところ、塩類の投与濃度に比例して、これら体液成分量に増加が認められ、影響の現われる最近投与量は約 2 mg/g 体重と推定された。体液成分の増加の原因は、脱水にともなう体液の濃縮によることが判明した。

経口投与による各種葉液の昆虫類に対する影響については多くの研究が行なわれている。しかし、投与葉液自体の効果を明確に把握するためには投与条件の綿密な設定が必要であるが、種々の条件による一般的な生体への影響についてはあまり知られていないようである。そこで、投与条件設定の資料を得るため、まずカイコの幼虫に酸、塩基、塩溶液を経口投与して蛋白質および α -ケトグルタル酸 (α -KG) などの体液成分におよぼす影響を調べたところ、興味深い知見を得たので報告する。

本文に先だち、有益な助言をいただいた理化学研究所深見順一博士に、また本稿の御校閲の労を賜った農林省蚕糸試験場入戸野康彦博士、蒲生卓磨博士に心から謝意を表する。

材料および方法

供試昆虫：実験には現行蚕品種の原種支 124 号の第 5 齢 2 日目の雌幼虫を用いた。

供試薬剤：実験に用いた薬剤は塩酸、マロン酸、水酸化ナトリウム、塩化ナトリウム、リン酸カリウム緩衝液 (pH 6.5) の各溶液であり、おのおの致死濃度

に至るまでの 4～7 段階の希釈液を調整した。

実験方法：これら葉液はツベルクリン用注射器を用い一頭当たり 0.1 ml を消化管内に経口的に注入する方法で投与した。体液の採取には 1 区 15 頭の幼虫を供試し、4 時間絶食の後に 5 頭づつ 3 分割して体液を採取し測定まで -20°C で凍結保存した。測定は各区 3 連制で行ないそれらの平均値で分析値を示した。体液成分の分析は、まず体液 0.1 ml に 3% トリクロル酢酸 2 ml を加え遠心分離した。蛋白質の定量は沈澱分画を 0.4M 水酸化ナトリウム 2ml で溶解後、その 50 μl について Hartree¹⁾ の方法により Folin 試薬を用いて行なった。一方、 α -KG は上清分画から 0.5 ml を分取し大倉ら²⁾ の方法によって定量した。また、体液における蛋白質の成分は Ornstein³⁾ の方法に従い、5% ポリアクリルアミドゲルディスク電気泳動により調べた。なお、泳動には蛋白質の定量値に従い、一定の蛋白量になるよう体液量を加減して用いた。

結果および考察

種々の濃度の水酸化ナトリウム溶液、塩酸、塩化ナトリウム溶液、リン酸緩衝液をそれぞれ経口投与し、