

カブラハバチ精子の凍結保存

畠山 正統・澤 正実・大石 陸生

Masatsugu HATAKEYAMA¹⁾, Masami SAWA²⁾ and Kugao OISHI³⁾: Cryopreservation of sperm in the sawfly, *Athalia rosae* (Hymenoptera)*

¹⁾Division of Science of Biological Resources, Graduate School of Science and Technology, Kobe University, Nada, Kobe, Hyogo 657, Japan

²⁾Department of Biology, Aichi University of Education, Kariya, Aichi 448, Japan

³⁾Department of Biology, Faculty of Science, Kobe University, Nada, Kobe, Hyogo 657, Japan

これまで家畜をはじめ、ヒトを含む多くの哺乳動物で、遺伝資源の保存、あるいは個体の保存という観点から精子、卵、および発生初期胚の凍結保存が行われている。昆虫では、配偶子の保存よりもむしろ胚や個体の保存が試みられており (Leopold, 1991)、例えば、キイロショウジョウバエ *Drosophila melanogaster* では系統維持の目的で胚の凍結保存に成功しているが、生存率がよいのは胚発生後期の数時間の胚に限られている (Steponkus *et al.*, 1991; Mazur *et al.*, 1992)。また、配偶子の凍結保存が成功しているのは、これまでのところ、精子を女王バチの貯精嚢に注入する方法で人工授精の可能なミツバチ *Apis mellifera* だけであるが、この場合、哺乳類の場合と同様に解凍後の精子に運動性があることが必要である (Harbo, 1977, 1983)。昆虫で配偶子の保存が困難であるのは、その受精方法が特殊で、一般に体外での人工受精が非常に困難であること (Clarke, 1990)、また人工授精が可能だとしても、解凍後の精子の運動性の再生が最大の問題となり、凍結に際して凍害保護物質が必要であり、凍結条件が複雑化するためだと考えられる。

カブラハバチ *Athalia rosae* (膜翅目・ハバチ科) では体外人工受精が可能で、これはマイクロインジェクション法を用いて行うので (Sawa and Oishi, 1989)、精子の運動性の有無はあまり問題にならないと考えられる。そこで、カブラハバチの精子を凍結し、解凍後にも受精能があるかどうか人工受精を行って調べた。精子の凍結に際しては、雄成虫、内部生殖器 (貯精嚢)、精子懸濁液 (0.15M NaCl) をそれぞれ液体窒素中で瞬間凍結し、-80℃で3週間以上保存した。雄成虫、内部生殖器は25℃の0.15M NaCl中で解凍、解剖し、取り出した精子を蒸留水に移して、また、精子懸濁液は25℃の蒸留水中で解凍して観察した。いずれの場合も精子は運動性を失っており、形態的には懸濁液として凍結保存しておいた精子が正常のものに最も近かった。それぞれの精子をマイクロインジェクション法によって成熟未受精卵の前極から注入した。その結果、雄成虫を凍結して得られた精子では8.1%、内部生殖器 (貯精嚢) 中で凍結して得られた精子では8.4%、精子懸濁液で凍結した精子では14.4%の割合で受精卵が得られた (Table 1)。通常の人工受精での受精率は約10%であり (Sawa and Oishi, 1989)、凍結保存しておいた精子を用いても受精率に大差はないと思われる。

このように、カブラハバチでは非常に簡単な方法で、受精能をもったまま精子を凍結保存することが可能である。これは将来的に、系統維持、あるいは得られた突然変異を維持する上で、たいへん有用だと考えられる。

* Abstract of paper read at the 29th Annual Meeting of Arthropodan Embryological Society of Japan, June 4-5, 1993 (Rokko, Kobe).

Table 1 Fertilization by cryopreserved sperm injection.

Sperm preserved as	No. of eggs injected (+ or yfb)	No. of embryos normally developing after 2 days	No. of larvae hatched	No. pupated and examined	No. of haploid males (unfertilized)	No. of diploid females (fertilized)
Whole body	136 (100)	62 (45.6)	54 (39.7)	41 (30.1)	29 (21.3)	11 (8.1)
Spermatheca	83 (100)	30 (36.1)	29 (34.9)	27 (32.5)	20 (24.1)	7 (8.4)
Sperm suspension	125 (100)	59 (47.2)	56 (44.8)	49 (39.2)	30 (24.0)	18 (14.4)

引用文献

- Clarke, C. A. (1990) *J. Roy. Soc. Med.*, **83**, 214-218.
- Harbo, J. R. (1977) *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **70**, 257-258.
- Harbo, J. R. (1983) *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **76**, 890-891.
- Leopold, R. A. (1991) In R. E. Lee and D. L. Denlinger (eds.), *Insects at Low Temperature*, pp.379-407. Chapman and Hall, New York.
- Mazur, P., K. W. Cole, J. W. Hall, P. D. Schreuders and A. P. Mahowald (1992) *Science*, **258**, 1932-1935.
- Sawa, M. and K. Oishi (1989) *Zool. Sci.*, **6**, 557-563.
- Steponkus, P. L., S. P. Myers, D. V. Lynch, R. E. Pitt, T.-T. Lin, R. J. MacIntyre, S. P. Leibo and W. F. Rall (1991) In R. E. Lee and D. L. Denlinger (eds.), *Insects at Low Temperature*, pp.408-423. Chapman and Hall, New York.