

助成番号：177

サシバエ類の吸血行動に関する研究，とくに吸血量と腸内プロテアーゼ活性との関連について

倉持 勝久

畜産環境学科畜産環境学研究室

1. 目 的

ノサシバエ (*Haematobia irritans* (L.)) およびサシバエ (*Stomoxys calcitrans* (L.)) は牛に寄生する吸血害虫として北海道に広く分布しており，他の吸血昆虫類と異なり，雌雄とも吸血性である。それゆえ寄主依存性はきわめて高く，他の吸血昆虫類に比べ家畜に及ぼす被害はきわめて大

きいものと予測される。吸血昆虫類を有効に防除する方法の開発にあたっては、これらの吸血行動の生態的および生理的研究は不可欠であり、今までに多くの研究がなされてきた。しかしサシバエ類に関する研究は他の吸血昆虫に比べてあまり多く行なわれておらず、特に吸血行動と消化生理の関係については未知な点が多い。そこで本研究においては、これらサシバエ類の吸血行動と消化生理に関する研究の一環として、吸血量のちがいが消化器官の酵素、特にプロテアーゼの活性にどのような影響を及ぼすのかについて実験を行なった。

2. 方 法

(1) 供試昆虫：野外より採集したノサシバエおよびサシバエを室内で産卵させ、得られた卵を常法に従って飼育し、羽化した成虫を実験に供した。

(2) 吸血量の測定：吸血量の測定は、吸血前および吸血後の体重差を測定し、その差を吸血量とする、いわゆる体重測定法を用いた。用いた血液は帯広食肉センターより採取した牛血で、凝固防止のためにACDを、腐敗防止のためにクロロマフェニコールを加えた。吸血量に応じて吸血段階を次のように分けた。ノサシバエの場合は0~0.5mgをⅠ、0.6~1.0mgをⅡ、1.1~1.5mgをⅢ、1.6mg~以上をⅣとし、サシバエの場合は0~2.5mgをⅠ、2.6~5.0mgをⅡ、5.1~7.5mgをⅢとした。

(3) 酵素液の調整：ノサシバエ、サシバエとも吸血前、および各吸血段階の成虫を一定時間放置した後、雌雄別々に0.9%食塩水中で中腸を摘出した。2mlの生理食塩水にノサシバエは3頭分、サシバエは2頭分の中腸を入れ、ホモジナイズし、遠心分離したものの上澄液を酵素液として用いた。

(4) 酵素活性の測定：トリプシン様酵素（以下TLEと略す）の場合は、pH7.9の50mMトリス緩衝液に6.6%のDMFを加え、基質であるBAPNAを2mM溶かしたものを基質液とした。4mlの基質液に0.3mlの酵素液を加え、30℃で40分間インキュベートした後、光電比色計を用い、410nmの波長における吸光度を測定して酵素活性とした。アミノペプチダーゼ（以下APと略す）の場合はpH8.0の50mMリン酸緩衝液に10%DMFを加え、基質であるLpNAを1.66mM加えたものを基質液とし、TLEと同様の操作によった。

(5) たん白質の定量：たん白質の定量には、Lowry-folin法により行なった。基準たん白としてはCrystalline bovine albuminを用いた。

3. 結 果

(1) 各吸血段階における経時変化に伴う酵素活性の変化

1) ノサシバエ

図1はノサシバエ雌のTLEの活性変化を示したものである。図からも明らかのように、活性のピークは各吸血段階とも吸血後4時間経過したときに現われ、その値は吸血量が多い程高くなった。図には示さなかったが、雄もほぼ同様の結果を示した。一方APは、活性の絶対量が少なく、雌雄とも経時変化に伴う明瞭な傾向は認められなかった。

2) サシバエ

図2はサシバエ雌のTLEの活性変化を示したものである。図からも明らかのように、吸血量が増加するにつれて、活性のピークは高くなり、また活性がピークに達するまでの時間は長くなる

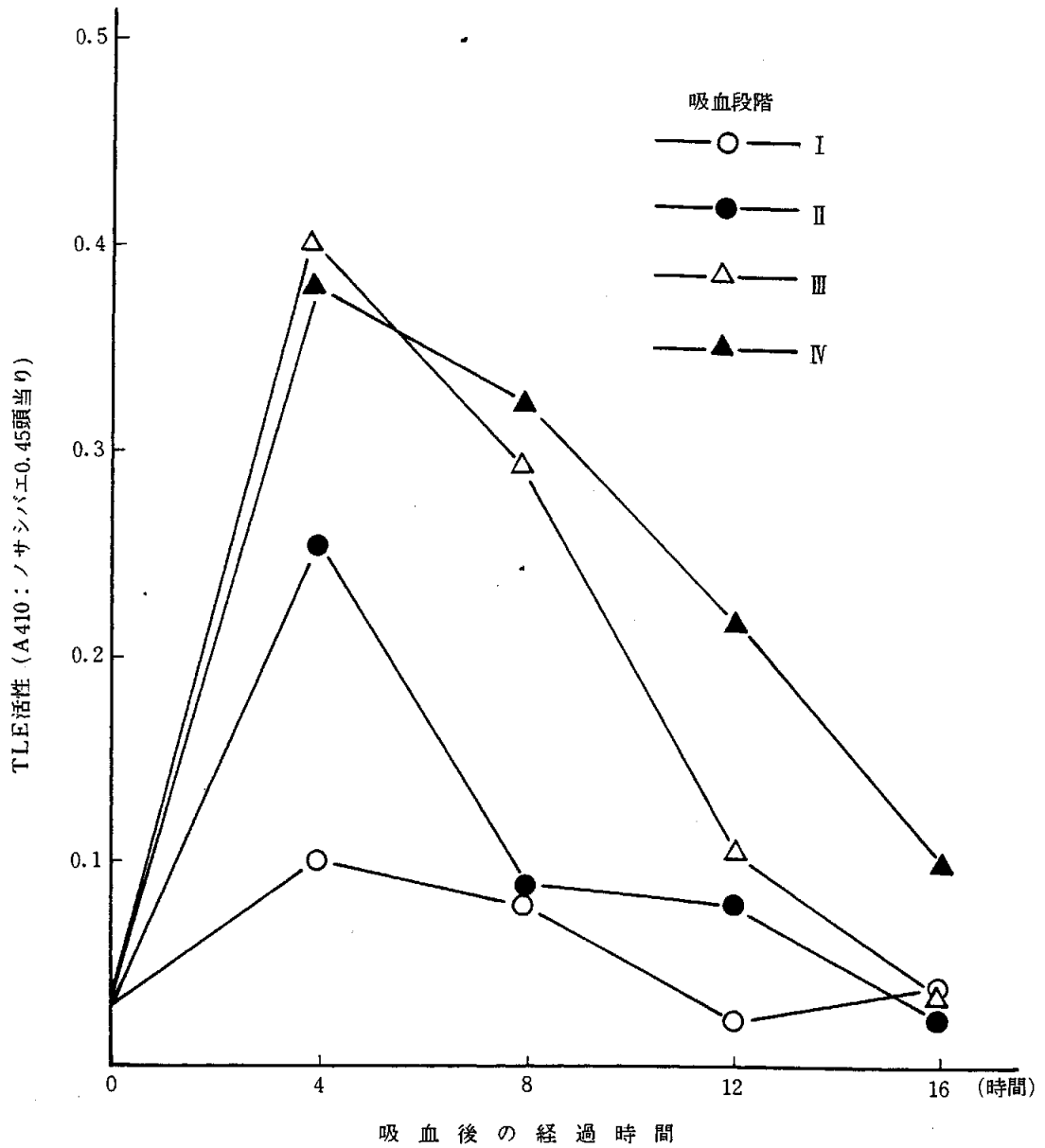


図1 ノサシバエ雌の吸血後の経過時間に伴うTLE活性の変化

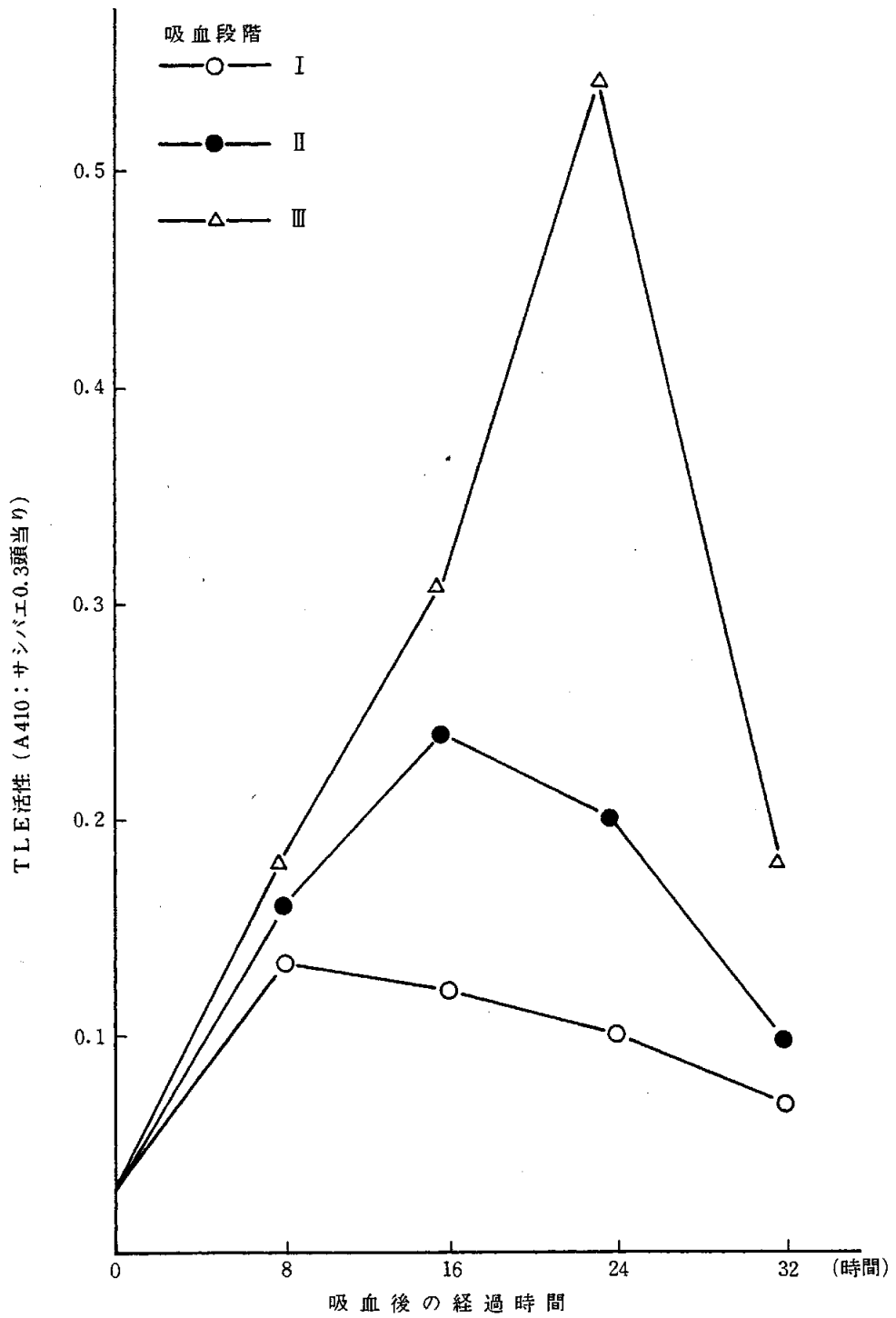


図2 サシバエ雌における吸血後の経過時間に伴うTLE活性の変化

傾向になることがわかった。図には示さなかったが、雄もほぼ同様の傾向が認められた。一方APは、図には示さなかったが、雌ではTLEとほぼ同様の傾向が認められたが、雄では経時変化に伴う明瞭な傾向は認められなかった。

(2) 吸血量と酵素活性の相関

ノサシバエおよびサイバエにおいて、吸血量と各吸血量におけるTLEおよびAPの活性の最大値との相関を求めたところ、表1に示されるように、すべてに有意な正の相関が認められた。

表1 ノサシバエおよびサイバエにおける吸血量と酵素活性の相関

種名	性	酵素	供試虫数	相関係数	有意水準 (危険率)
ノサシバエ	雌	TLE	24	0.90	1%
	雄	TLE	25	0.70	1%
	雌	A P	23	0.42	5%
	雄	A P	23	0.55	1%
サイバエ	雌	TLE	13	0.60	5%
	雄	TLE	13	0.82	1%
	雌	A P	13	0.73	1%
	雄	A P	13	0.56	5%

(3) 各吸血段階における経時変化に伴うたん白量の変化

図3は、ノサシバエ雌における中腸中におけるたん白量の変化を示したものである。図からも

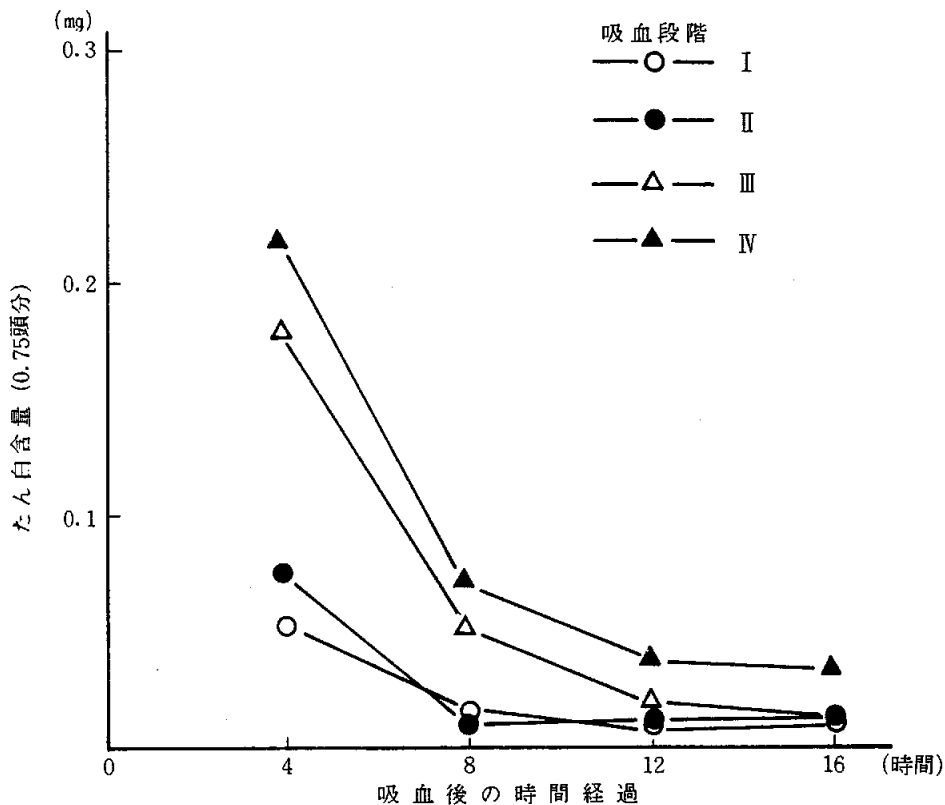


図3 ノサシバエ雌の吸血後の時間経過に伴う中腸内のたん白量の変化

明らかなように、吸血量に関係なく吸血後4時間経過した時が最大でありその後直線的に減少した。また最大値は、吸血量が多い程高くなった。図には示さなかったが、ノサシバエの雄、およびサシバエの雌雄ともほぼ同様の結果が得られた。

(4) 吸血量とたん白含量の相関

ノサシバエおよびサシバエにおいて、吸血量と中腸中のたん白含量（最大値）との間には、雌雄を問わず、すべて正の相関が認められた（表2）。

表2 ノサシバエおよびサシバエにおける吸血量とたん白含量の相関

種名	性	供試虫数	相関係数	有意水準 (危険率)
ノサシバエ	雌	24	0.85	1%
	雄	25	0.78	1%
サシバエ	雌	13	0.95	1%
	雄	13	0.68	5%

(5) たん白含量と酵素活性の相関

ノサシバエにおいては、TLEおよびAP活性とたん白含量には雌雄ともに有意な正の相関が認められたが、サシバエにおいては、APの活性とたん白含量の関係において、雄では有意な相関は認められなかった（表3）。

表3 ノサシバエおよびサシバエにおけるたん白含量と酵素活性の相関

種名	性	酵素	供試虫数	相関係数	有意水準 (危険率)
ノサシバエ	雌	TLE	23	0.83	1%
	雄	TLE	25	0.64	1%
	雌	A P	23	0.68	1%
	雄	A P	18	0.68	1%
サシバエ	雌	TLE	13	0.85	1%
	雄	TLE	13	0.57	5%
	雌	A P	13	0.69	1%
	雄	A P	13	0.22	有意でない

4. 考 察

ノサシバエにおけるTLE活性の経時変化に伴う変化をみた場合、吸血量が異なっても活性のピークに達するまでの時間は吸血後4時間目と変化は認められなかった。しかしその後の活性の減少パターンをみると、吸血量が少なるにつれて急激に下る傾向が認められた。一方サシバエにおいては、吸血量が増加すると、活性のピークに達するまでの時間およびその後の活性の減少のパターンが変化することがわかった。これらのことから、吸血量が増加した場合、酵素活性の最大値が増加するだけでなく、吸血後の時間経過に伴う酵素の分泌パターンも変化することがわかった。APに関しては、サシバエにおいてはそのような傾向が認められたが、ノサシバエにおいては活性の絶対量が少なかったため、はっきりした傾向はわからなかったため、今後はサンプリング方法や分析方法、

吸血量の測定方法等を改良して更に調べる必要がある。次に中腸中のたん白含量の経時変化をみると、ノサシバエおよびサシバエとも吸血後の時間経過とともに直線的に減少したが、これは血液中のたん白質が分解されたためと考えられる。以上のことより、ノサシバエおよびサシバエにおけるたん白質の消化のメカニズムは次のように考えられる。摂食による刺激により、酵素分泌細胞に貯蔵されていた酵素が分泌され、血液に由来するたん白質はアミノ酸に分解され、その一部は直ちにプロテアーゼを合成する材料として使われる。合成されたプロテアーゼが更にたん白質を分解し、そのため中腸内ではその吸血量に応じて絶えずプロテアーゼが生産、供給されるものと思われる。また、たん白質の分解が完了に近づくとき、酵素を合成するアミノ酸が減少するので、その結果として酵素活性も低下するものと思われる。これらのことは、吸血昆虫類における消化メカニズムに関して Gooding (1975) によって示されたセクレトゴージュ機構および Lehane (1977) によるアミノ酸機構説によく合致するものである。またサシバエにおける TLE と AP の経時変化に伴う酵素活性の変化のパターンをみた場合、両者には若干の相異が認められたことから、これら両者の分泌のメカニズムには何らかの相異があることが示唆された。