

## ホシチョウバエ *Psychoda alternata* Say 胚における生殖細胞形成

安部 紀子・櫻井 千香子・立川 紀子・矢島 英雄

Noriko ABE, Chikako SAKURAI, Noriko TACHIKAWA and Hideo YAJIMA: A preliminary report on the development of germ cells in the moth-fly, *Psychoda alternata* Say (Diptera, Psychodidae)\*

Department of Biology, Faculty of Sciences, Ibaraki University, Mito, Ibaraki, 310–0056, Japan

チョウバエ (チョウカ) 科 Psychodidae 昆虫の胚発生に関する研究は、これまで矢島 (1974a, b) および矢島・鈴木 (1979) により行われてきた。そして、矢島 (1974b) で用いられた映画をヒントとして、Sander はチョウバエ胚の胚発生学的研究を次々に発表してきた：すなわち、卵巣より体外に取り出した卵の、希釈したりンガー液への漬浸による人工付活の研究 (Sander, 1985a, b)、卵のヒートショックによる体節パターンの欠落および遠心分離による双頭奇形形成による胚パターン形成機構に関する解析 (Sander, 1988, 1993) などである。これらの論文の中で Sander は、チョウバエ胚および幼虫にはショウジョウバエに見られるような体節およびその中の区画の部分を区別できるような剛毛列があり、パターン形成機構の解析には至適の材料であると述べている。

ところで、チョウバエ類では、他の双翅目胚の発生初期に見られるような大型の極細胞形成は、外観からは認められない (矢島・鈴木, 1979)。そこで、ホシチョウバエ胚の固定染色切片を作成し、発生早期胚の後端に始原生殖細胞の分化に関係するような生殖質の存在が認められるのか、周辺の胚盤葉細胞から内容物により、あるいは形態的に区別されるような始原生殖細胞の存在が認められるのか、そうでないのなら、始原生殖細胞の分化の時期はいつ頃であるのかを検討することを目的に、本研究を行った。あわせて、ホシチョウバエの胚発生の概略も示す。

### 材料および方法

今回の実験に使用したホシチョウバエ *Psychoda alternata* Say の成虫は水戸市の民家の浄化槽周辺にて採集し、ネットを張った木製のケージ (25×25×30 cm) で飼育し、卵産下場所として、水で戻した茶の葉10–20枚を小型のシャーレ (内径5.5 cm、深さ2 cm) に入れ、水を深さ1 cm 位まで加えてケージに入れた。

この茶葉から、解剖顕微鏡下で有柄針を用いて採卵し、一部の卵は、次世代を得るため、シャーレごと25℃のインキュベーターに移し幼虫の孵化まで培養した。

卵は生きのまま、あるいは固定切片標本にして、顕微鏡カメラで発生変化を撮影した。胚の生体観察および固定切片作成のため、卵殻を次亜塩素酸ナトリウムで短時間処理して取り除いた。胚の固定は FAA 液で24時間行った。ブタノール–エタノールシリーズで脱水・透徹後、5–7 μm のパラフィン切片とし、ハイデンハイン・ヘマトキシリンとライトグリーンで染色した。

### 結果および考察

#### 1. 外部観察による胚発生の概略

ホシチョウバエの胚発生の概略を Figure 1A–O と Figure 2A–K に示す。産下直後の卵は約310×100 μm のバナナ型で、前端は鋭端、後端は鈍端である (Fig. 1A)。産下直後は卵内容物は卵黄膜直下まで充たしているが、やがて卵細胞質の収縮により前端および後端に小さな空隙を生ずる (Fig. 1A–C)。しかし、卵後端での極細胞の形成は認められなかった。なお、卵前期の切片は Figure 3B に示した。

\* Abstract of paper read at the 34th Annual Meeting of Arthropodan Embryological Society of Japan, May 21–22, 1998 (Mikawa, Aichi).

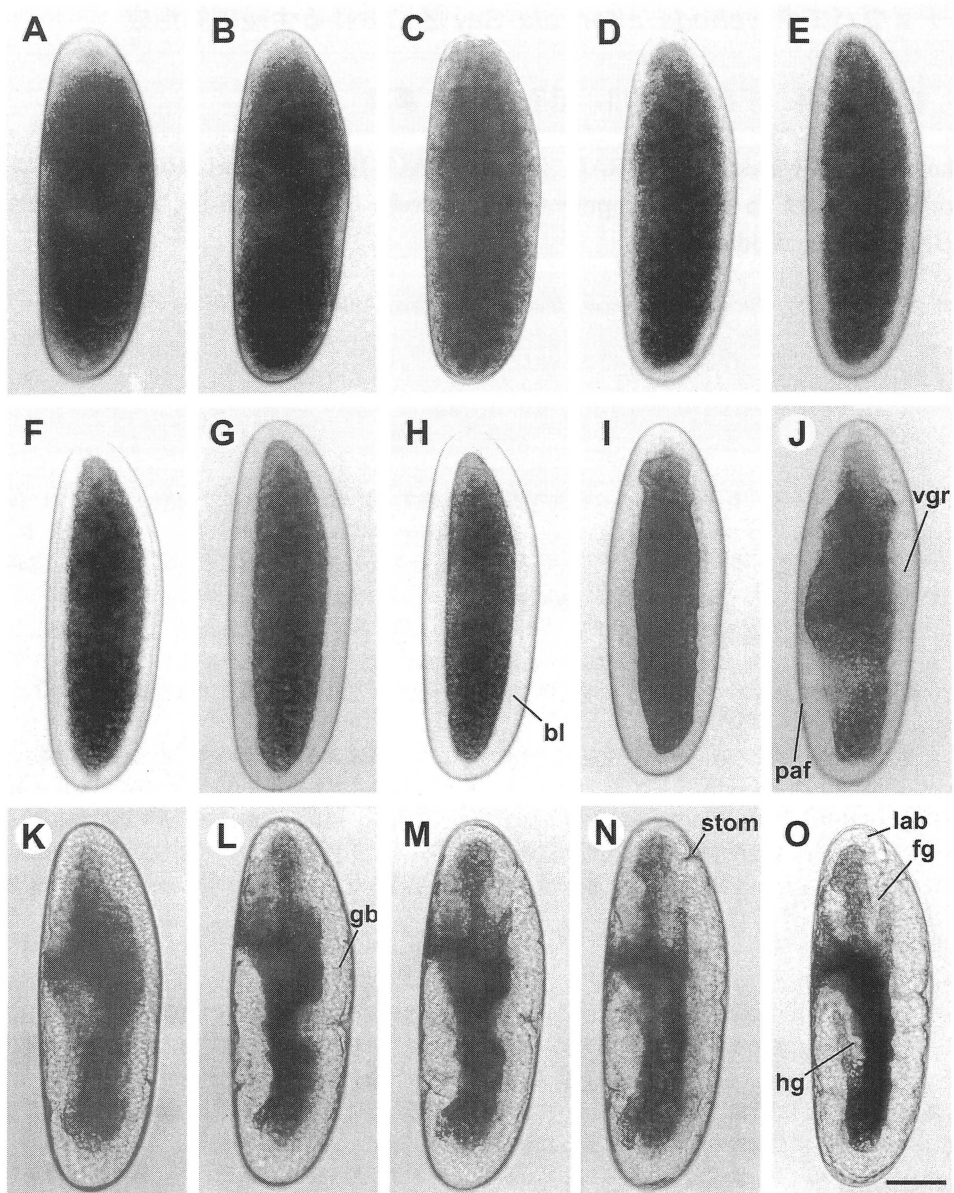


Fig. 1 Embryogenesis of the moth-fly, *Psychoda alternata* Say (incubated in tap water at 26–28°C): from 10 min after oviposition (a.o.) to 7 h a.o. (A–O). Anterior pole to the top and the ventral side to the right. A–C. Intravitelline nuclear multiplication (A: 10 min a.o., B: 30 min a.o., C: 70 min a.o.). Pole cells cannot be observed near the posterior end of egg. D–H. Superficial nuclear division and the formation of cellular blastoderm (D: 1 h 40 min a.o., E: 2 h a.o., F: 2 h 30 min a.o., G: 2 h 40 min a.o., H: 2 h 50 min a.o.). I–O. Germ band formation and early segmentation (I: 3 h 50 min a.o., J: 3 h 10 min a.o., K: 3 h 30 min a.o., L: 5 h a.o., M: 5 h 50 min a.o., N: 6 h 20 min a.o., O: 7 h a.o.). bl: cellular blastoderm, fg: fore gut, gb: germ band, hg: hind gut, lab: labrum, paf: posterior amniotic fold, stom: stomodeal invagination, vgr: ventral groove. Bar = 50  $\mu$ m.

産下約3時間 (26±2°C) で cellular blastoderm は完成し (Fig. 1H)、その15–20分後には、側方から見て卵の平らな側、すなわち背側の後端から卵長のおよそ1/3に posterior amniotic fold、腹側の中央1/3にわたる ventral groove の形成が始まる (Fig. 1I–J)。産下4時間位で germ band が完成し、胚は卵腹側の全長から後端

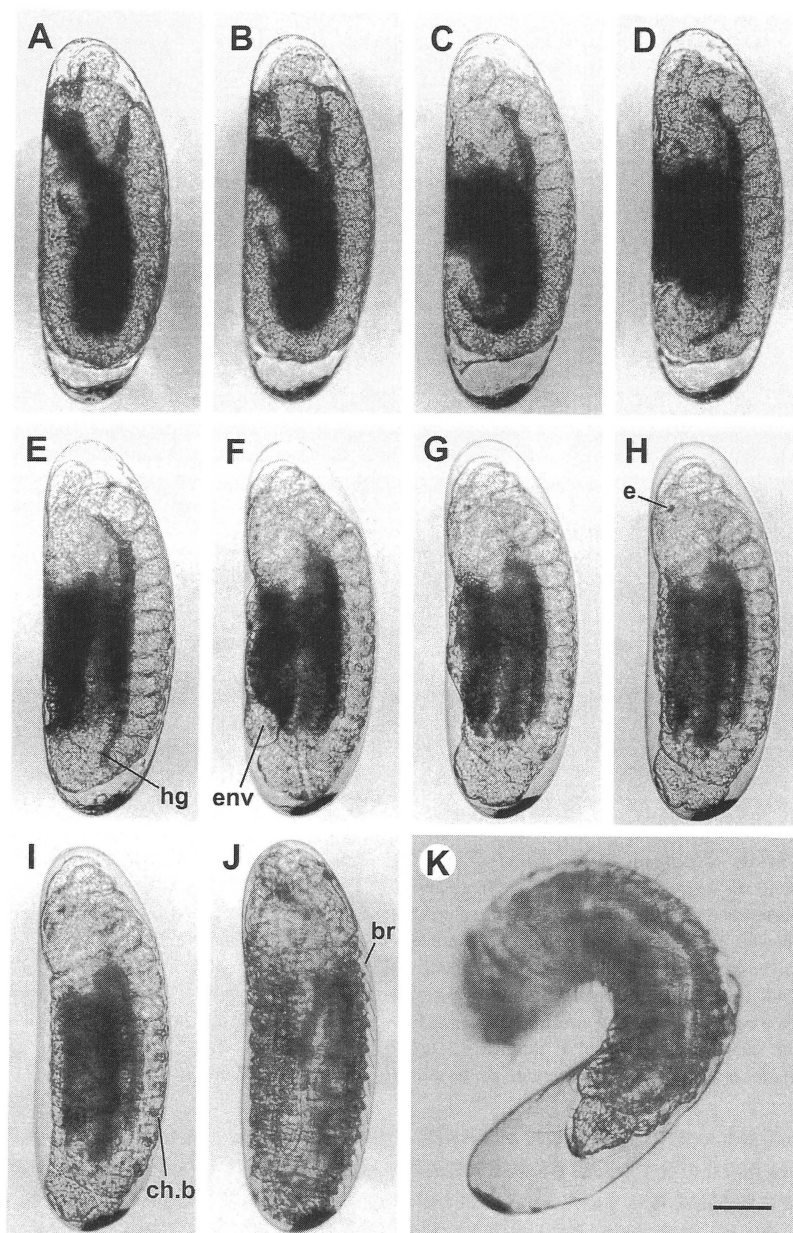


Fig. 2 Embryogenesis of the moth-fly, *Psychoda alternata* Say (incubated in tap water at 26–28°C) II: from 6 h 45 min a.o. to 23 h 45 min a.o. (A–K) (continued from Fig. 1). A–E. Shortening of the embryo (A: 6 h 45 min a.o., B: 8 h 45 min a.o., C: 9 h 35 min a.o., D: 10 h a.o., E: 10 h 30 min a.o.). F–I. Incorporation of the serosa and amnion into the embryo and the dorsal closure (F: 14 h 15 min a.o., G: 15 h 20 min a.o., H: 15 h 45 min a.o., I: 18 h 55 min a.o.). J, K: Hatching (J: 22 h 55 min a.o., K: 23 h 45 min a.o.). br: bristle, ch.b: chitized band, e: larval eye, env: absorbing embryonic envelopes, hg: hind gut. Bar = 50  $\mu$ m.

を回って、胚後端が卵背側の前端から卵長の20%のところまでにわたって存在する (Fig. 1K–L)。

germ band 完成までに、ユスリカ (Tanypodinae を除く) の胚発生に見られるような、卵長軸の周りで起こる卵黄を含む胚体の180°の回転や、ショウジョウバエ胚やカ科昆虫胚で認められるような、頭褶やその他の付加的褶の形成は見られない。

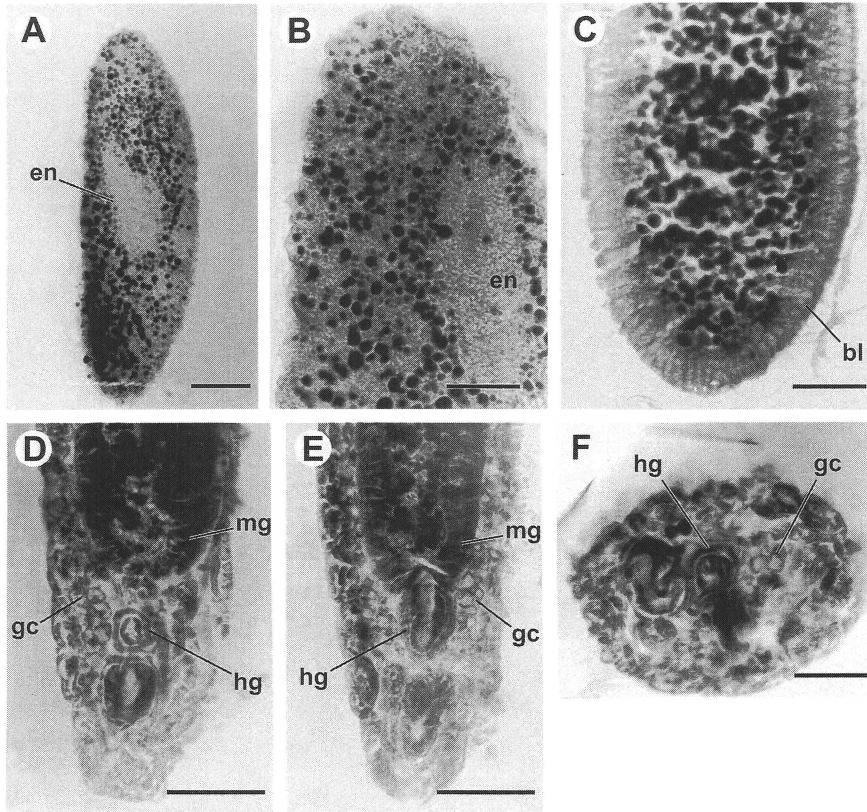


Fig. 3 Sections of embryos of the moth-fly, *Psychoda alternata* Say. A. A section of an embryo shortly after the oviposition, showing the first energid. There cannot be seen the germ plasm near the posterior end of the embryo (at the bottom). Bar = 50  $\mu$ m. B. Anterior half of section of an embryo, showing the energid shortly before the nuclear division. Bar = 25  $\mu$ m. C. Posterior half of section of an embryo at the cellular blastoderm stage. There are found no pole cells. Bar = 25  $\mu$ m. D, E. Two successive horizontal sections of an embryo shortly after the completion of dorsal closure, showing gonad-like structures. Bars = 50  $\mu$ m. F. A paratransverse section of an embryo in approximately the same stage as D and E through the level of the gonad-like structure. Bar = 25  $\mu$ m. bl: cellular blastoderm, en: the first energid, gc: gonad-like structure, hg: hind gut, mg: mid-gut.

その後産下10時間30分までに、胚の後端が卵後端に接するように胚体が収縮する (Fig. 2A–E)。この間、多くの *Nematocera* 昆虫胚の発生中に観察される胚体の卵長軸の周りの180°の回転運動もまた見られない。

この時期までに胚表面を覆っていた amnion および卵黄膜に接して存在した serosa は胚腹面中央付近から崩壊・収縮して、産下後15時間30分位までに胚背面中央付近から胚内へ吸収され、消失する (Fig. 2F–H)。dorsal closure は産下後19時間位までに終了する (Fig. 2I)。その少し前に、頭部背面に幼虫複眼の存在が明らかになる (Fig. 2G, H)。23時間位までに、特に幼虫体の背面において、胸部から腹部第1節までに体節を二つに、以後の腹部体節では三つに分ける小環節様のしきりが認められるようになる (Fig. 2J)。これらの小環節様の部分にはそれぞれに小毛が具えられる。これ以降、幼虫は体を盛んにくねらすようになり、23時間30分前後で孵化する (Fig. 2K)。孵化直後の体長は卵長 (孵化時の卵長は350  $\mu$ m) の約1.5倍で、0.53 mm程である。

## 2. 染色切片による始原生殖細胞の観察

ハイデンハイン・ヘマトキシリンは germ plasm の検出の簡便法として用いられてきたが、ホシチョウバエの産下直後卵の切片標本では、卵後端付近に特別な染色性を示す極細胞質を認めることはできなかった (Fig. 3A)。さらに、cellular blastoderm 期においても、胚盤葉細胞から形態や内容物により区別されるような、極細胞と思われる特別な細胞の存在も確認されなかった (Fig. 3C)。また胚発生後期での始原生殖細胞の発見、確定もでき

なかった。ただ、背部閉鎖期以降の胚で、中腸から後腸へと移行する部分の体両側と中腸との間に、やや膨れたように見える細胞群が存在することが確認されたが、これらが始原生殖細胞の集団であるかもしれない (Fig. 3D-F)。

これらの細胞の最終的な同定には、ショウジョウバエの胚発生で認められている *vasa* 遺伝子産物に対する抗体で染色するような方法が必要であろう。この結果、このホシチョウバエの胚発生では細胞性胚盤葉期以前に他の種に見られる極細胞にあたる細胞が存在するのか、そうでないならいつ始原生殖細胞は分化するのか、その場合、ショウジョウバエで認められている始原生殖細胞の発生分化に関連する遺伝子の相同遺伝子がどのように関係しているのか、解決されるべき問題が多々あるように思われる。

#### 引用文献

- Sander, K. (1985a) *Int. J. Invert. Reprod. Dev.*, **8**, 175–183.  
Sander, K. (1985b) In H. Metz and A. Monroy (eds.), *Biology of Fertilization*, Vol. 2, pp. 409–430. Academic Press, New York.  
Sander, K. (1988) *Development*, **104** (Suppl.), 11–121.  
Sander, K. (1993) *Acta Biol. Exp. Sinica*, **26**, 343–351.  
矢島英雄 (1974a) *Proc. Arthropod. Embryol. Soc. Jpn.*, **1**–9, 27.  
矢島英雄 (1974b) *Proc. Arthropod. Embryol. Soc. Jpn.*, **10**, 10–11.  
矢島英雄・鈴木敦子 (1979) *Proc. Arthropod. Embryol. Soc. Jpn.*, **14/15**, 9, 16.