

コカゲロウ類の卵膜の微細構造とその形成過程 (昆虫綱：カゲロウ目)

夏坂 和史・塘 忠顕

Kazuhumi NATSUSAKA¹⁾ and Tadaaki TSUTSUMI^{1,2)}: Ultrastructure and Formation of Egg Membranes in Two Baetid Mayflies, *Cloeon dipterum* (Linnaeus) and *Baetis thermicus* Uéno (Insecta: Ephemeroptera)*

¹⁾ Biological Laboratory, Faculty of Education, Fukushima University, Fukushima, Fukushima 960–1296, Japan

²⁾ Current Address: Department of Environmental System Management, Faculty of Symbiotic Systems Science, Cluster of Science and Technology, Fukushima University, Fukushima, Fukushima 960–1296, Japan

E-mail: thrips-tsutsumi@sss.fukushima-u.ac.jp (TT)

コカゲロウ科は、カゲロウ類の原型的な形態をとどめた分類群の一つであると考えられており (小林, 1989)、コカゲロウ科のカゲロウ類の卵巣構造や卵形成過程を明らかにすることは、カゲロウ類の卵巣構造や卵形成過程の系統進化を考える上で重要である。これまでにコカゲロウ科のカゲロウ類の卵巣構造や卵形成過程に関しては、卵胎生種であるフタバカゲロウ *Cloeon dipterum* (Linnaeus) と卵生種であるシロハラコカゲロウ *Baetis thermicus* Uéno で詳しく研究されてきた (生亀, 1999; Ikigame *et al.*, 2000; 高橋, 2000, 2002; 大森, 2001; 高橋・塘, 2001; Takahashi and Tsutsumi, 2002; 影山, 2003; 影山・塘, 2004)。その結果、左右の卵巣が短い橋様構造でつながることにより、卵巣全体がアルファベットの H 型を呈することや卵巣構造の発達過程にみられる特徴など、卵巣構造に関する特徴のほとんどはフタバカゲロウとシロハラコカゲロウとの間で共通していることが明らかになった (影山・塘, 2004)。一方、卵胎生種であるフタバカゲロウの卵形成過程に認められた特徴の多くは (例えば、好エオシン性タンパク質性卵黄を欠く卵黄形成、著しく薄い卵膜、少ない蔵卵数など)、シロハラコカゲロウの卵形成過程では認められず、フタバカゲロウに固有な特徴である可能性が高いことが明らかになった (影山・塘, 2004)。

ところで、両種の卵膜には相違点があることは明らかであるが、まだその知見は断片的である。フタバカゲロウについては、卵膜の厚さが約 100 nm と非常に薄く、卵黄膜とコリオンが明確には区別できず、それぞれの形成過程も不明である (生亀, 1999; Ikigame *et al.*, 2000)。また、シロハラコカゲロウについては、卵黄膜の厚さの情報のみであり (卵黄膜だけでも約 500 nm とフタバカゲロウの卵黄膜とコリオンを合わせた厚さよりも厚い) (影山・塘, 2004)、コリオンの微細構造や形成過程はまったく不明である。そこで、本研究では両種の卵膜を主に透過型電子顕微鏡を用いて観察し、卵膜の微細構造とその形成過程を比較した。

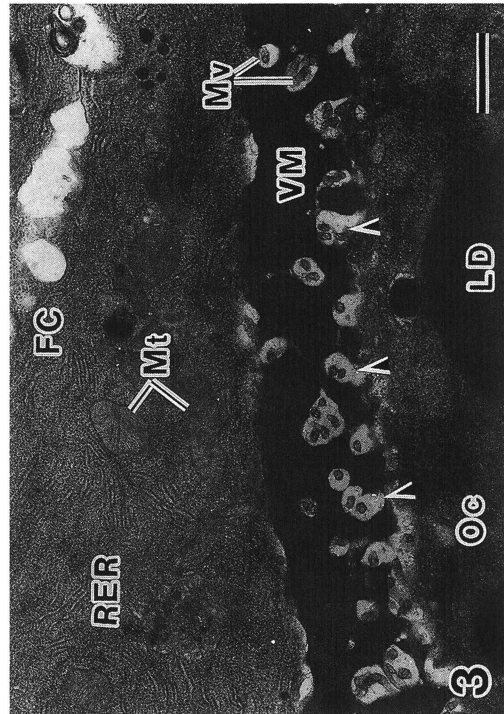
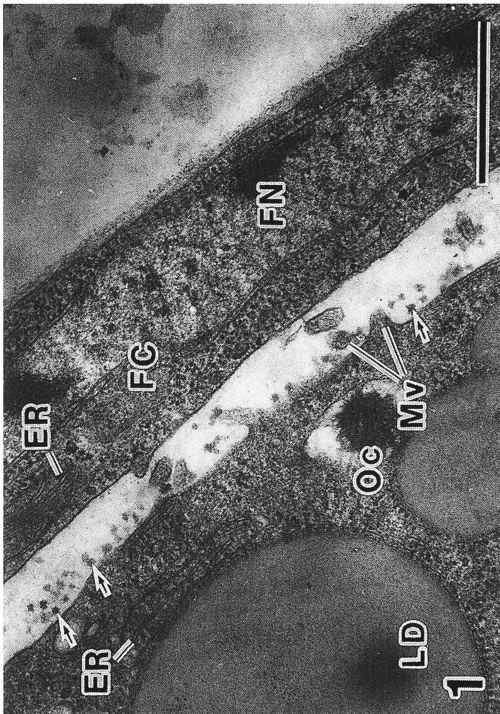
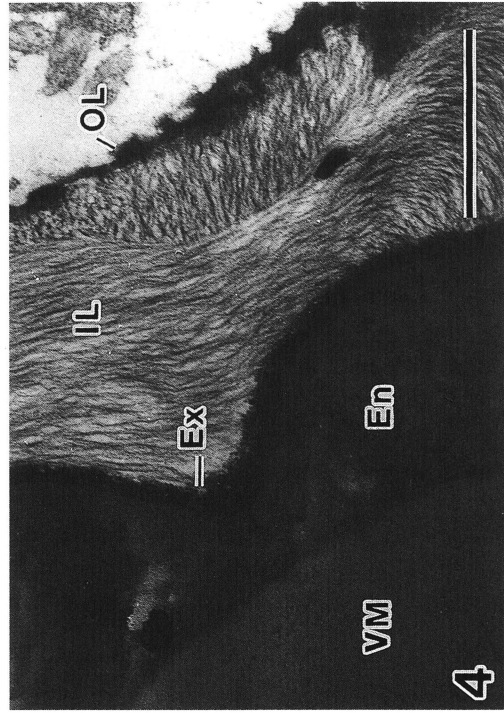
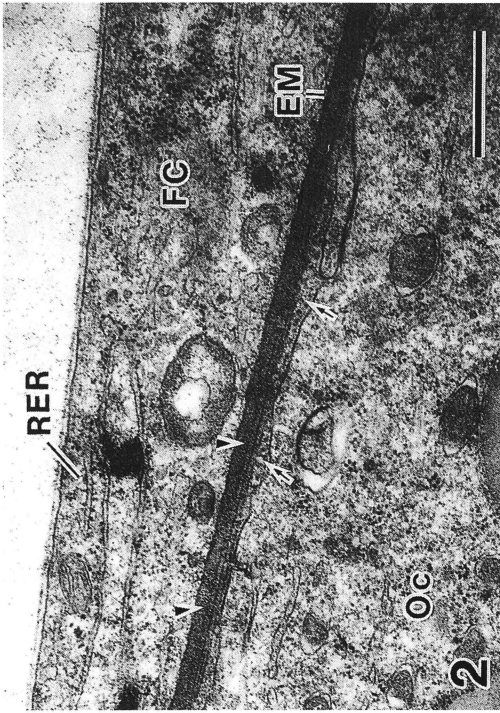
フタバカゲロウは福島大学構内 (福島市) の池から幼虫を採集し、それらを実験室内で飼育し、羽化させた亜成虫および成虫を材料とした。シロハラコカゲロウは水原川 (福島市) と払川 (二本松市) から幼虫を採集し、その中から羽化直前の幼虫を実験室にもちかえり、羽化させた亜成虫および成虫を材料とした。解剖によって取りだした卵巣あるいは卵母細胞を一般的な方法 (*e. g.*, Takahashi and Tsutsumi, 2002) で透過型電子顕微鏡用の試料とし、透過型電子顕微鏡 (JEOL JEM-1010) で観察した。

結果および考察

1. フタバカゲロウ

老熟幼虫の卵黄形成期の卵母細胞は、厚さ 600–700 nm の濾胞細胞層によって覆われているが、卵膜は認めら

* Abstract of paper read at the 40th Annual Meeting of the Arthropodan Embryological Society of Japan, June 17–18, 2004 (Sugadaira, Nagano).



Figures 1-4

れなかった (Fig. 1)。濾胞細胞の細胞質内には発達した小胞体やゴルジ体が観察され、ゴルジ体の周辺には卵黄膜の前駆物質と思われる分泌顆粒が認められた。この時期の卵母細胞の周辺細胞質には、発達した小胞体が認められた (ER in Fig. 1)。また、卵母細胞と濾胞細胞の間の細胞間隙 (幅約 40 nm) には、多数の小顆粒が卵母細胞側に偏って蓄積されていた (arrows in Fig. 1)。これらの小顆粒は、その偏った分布からおそらく卵母細胞由来であると考えられる。亜成虫の卵母細胞には Ikigame *et al.* (2000) も示したように、すでに厚さ約 100 nm の卵膜が認められた (Fig. 2)。細胞間隙に蓄積された小顆粒は卵膜よりも卵母細胞側のみに認められた。また、この時期の卵膜は、卵膜の卵母細胞側に蓄積された小顆粒が多数認められる部分においては 1 層であったが、小顆粒が少量しか認められない部分においては、卵膜の厚さは約 100 nm のまま変化することなく約 30 nm の内層と約 70 nm の外層の 2 層からなっていた (arrowheads in Fig. 2)。このことは、生亀 (1999) が指摘したように、2 層の卵膜のうち、内層は卵母細胞由来であると考えられる小顆粒と濾胞細胞由来の卵膜とから形成され、外層は濾胞細胞のみに由来することを示唆しているのかもしれない。成虫の卵母細胞では、すでに濾胞細胞が退化し、上述した細胞間隙に蓄積されていた小顆粒も減少し、厚さ約 100 nm で 2 層からなる完成した卵膜が認められた。完成された卵膜の外層に粘着層は認められなかった。

このようにフタバカゲロウの卵膜は非常に薄いものの、濾胞細胞と卵母細胞由来の卵黄膜と、もっぱら濾胞細胞のみに由来するコリオンの 2 層からなるものと考えられる。

2. シロハラコカゲロウ

老熟幼虫の卵黄形成期の卵母細胞は、フタバカゲロウよりも大量の発達した粗面小胞体を細胞質に含む濾胞細胞層によって覆われており、影山・塘 (2004) が報告したように、濾胞細胞と卵母細胞の間の細胞間隙には形成途中の卵黄膜がすでに認められた (Fig. 3)。卵黄膜の形成されつつある細胞間隙には、濾胞細胞と卵母細胞の微絨毛がまだ認められ、微絨毛の周囲には卵黄膜が蓄積されていなかった (arrowheads in Fig. 3)。この時期の卵母細胞質における小胞体などの活性は、濾胞細胞におけるそれらの活性と比べると著しく低いものであった。亜成虫の卵黄膜は、厚さ約 500 nm となり、卵母細胞と濾胞細胞の微絨毛は消失していたが、微絨毛の痕跡としていくつかの小孔が認められた。成虫の卵母細胞では、卵黄膜の外側に電子密度が低く、厚さ約 100–200 nm の内コリオンと電子密度がかなり高く、厚さ約 80 nm の外コリオンがすでに認められた (Fig. 4)。外コリオンは構造的に均一であるが、内コリオンは電子密度が極端に低い部分と高い部分を含むなど、構造的に不均一であった。成虫の卵母細胞にはフタバカゲロウと同様に濾胞細胞が退化して認められなかったもので、卵黄膜とコリオンを合わせて約 800 nm の卵膜がシロハラコカゲロウの完成した卵膜であると考えられる。

成虫の卵母細胞には、コリオンのさらに外側に電子密度と構造の違いから 2 層に区別できる粘着層が認められた (Fig. 4)。電子密度の低い粘着層内層は厚さ約 400–500 nm で、内部は繊維状構造で満たされていた。一方、電子密度の高い粘着層外層は厚さ約 100–150 nm であった。

シロハラコカゲロウの卵膜については、その形成過程を十分に観察することができなかったため、卵黄膜、コリオン、粘着層の起源を明らかにするためにはさらなる観察が必要である。しかしながら、コリオンと粘着層は卵黄膜がほぼ完成した後形成されることから、その形成に卵母細胞が深く関わることは考えにくく、おそらくはもっぱら濾胞細胞のみに由来するのではないかと思われる。一方、卵黄膜形成には卵母細胞の微絨毛も関与を示唆する観察結果が得られたが、この時期の濾胞細胞における粗面小胞体やゴルジ体などの細胞小器官の活性が極めて高いのに比べて、卵母細胞には粗面小胞体やゴルジ体などの細胞小器官がほとんど認められないため、シロハラコカゲロウの卵黄膜は濾胞細胞のみに由来するのかもしれない。

- Fig. 1 Vitellogenic oocyte and follicular cells in the older larval stage of *Cloeon dipterum*. Arrows show the deposition of egg membrane precursor in the space between the vitellogenic oocyte (Oc) and follicular cells (FC). ER: endoplasmic reticulum, FN: nucleus of follicular cell, LD: lipid droplet, Mv: microvilli of oocyte. Scale = 500 nm.
- Fig. 2 Egg membrane in the subimaginal stage of *Cloeon dipterum*. Note that the egg membrane precursors (arrows) are still observed in the space between the vitellogenic oocyte (Oc) and egg membrane (EM). Arrowheads show the two-layered egg membrane. FC: follicular cell, RER: rough endoplasmic reticulum. Scale = 500 nm.
- Fig. 3 Vitelline membrane in the older larval stage of *Baetis thermicus*. The remaining microvilli (Mv) of oocyte (Oc) or follicular cell (FC) may serve as molds of the vitelline membrane pores (arrowheads). Mt: mitochondria, LD: lipid droplet, RER: rough endoplasmic reticulum, VM: vitelline membrane. Scale = 500 nm.
- Fig. 4 Egg membrane and mucous layer in the imaginal stage of *Baetis thermicus*. Egg envelope of this species was composed of a vitelline membrane (VM), a two-layered chorion [endochorion (En) and exochorion (Ex)] and a two-layered mucous layer [inner layer (IL) and outer layer (OL)]. Scale = 500 nm.

Table 1 Ultrastructures of the egg membranes in the baetid mayflies species examined in the present study.

Species	Vitelline membrane	Chorion	Mucous layer
<i>Cloeon dipterum</i> *	extremely thin (ca. 30 nm)	monolayered, ca. 70 nm	absent
<i>Baetis thermicus</i> **	thick (ca. 500 nm)	two-layered, ca. 280 nm	present

* Ovoviviparous mayfly.

** Oviparous mayfly.

Table 1はフタバカゲロウとシロハラコカゲロウの卵膜の微細構造的特徴を比較したものである。両種の卵膜は、その厚さと粘着層の有無において大きく異なっていた。これらの違いは、卵膜が胚の保護に重要な役割を果たしていることを考えると (Sahlén, 1995)、両種の生殖様式の違いを反映しているものと考えられるが、粘着層の有無については、むしろ両種の幼虫の生息環境の違いを反映しているのであろう。卵生種であるシロハラコカゲロウの幼虫は河川の流水域に生息するため、流水中に産下された卵が川底の基質に付着して流されないようにするために、粘着層が発達したのではなかろうか。また、卵は発生が完了するまで水中に存在するので、物理的な傷害や細菌類などによる感染を防ぐため、比較的厚い卵膜によって保護される必要があるのだろう (Gaino and Rebora, 2001; Gaino *et al.*, 2001)。一方、卵胎生種であるフタバカゲロウの幼虫は池や沼など止水域に生息するため、卵が流される心配がなく、粘着層を発達させる必要はなかったものと考えられる。また、卵は発生が完了するまで親の体内に存在するため、厚い卵膜で保護される必要もないと思われる。このように、フタバカゲロウの卵膜が著しく薄いという特徴は、本種の卵形成過程に関する多くの特徴と同様に、卵胎生という生殖様式に起因する特徴である可能性が高いが、粘着層をもたないという特徴はおそらく生殖様式とは無関係な特徴であろうと思われる。

引用文献

- Gaino, E. and M. Rebora (2001) *Acta Zool.*, **82**, 41-48.
 Gaino, E., M. Sartori and M. Rebora (2001) *Ital. J. Zool.*, **68**, 1-8.
 生亀純子 (1999) 福島大学教育学部平成 10 年度卒業論文。
 Ikigame, J., A. Takahashi and T. Tsutsumi (2000) *Proc. Arthropod. Embryol. Soc. Jpn.*, **35**, 1-5.
 影山昌幹 (2003) 福島大学教育学部平成 14 年度卒業論文。
 影山昌幹・塘 忠顕 (2004) *Proc. Arthropod. Embryol. Soc. Jpn.*, **39**, 61-64.
 小林紀雄 (1989) 日本の水生昆虫 種分化とすみわけをめぐって (柴谷篤弘・谷 一三編), pp. 53-67. 東海大学出版会, 東京。
 大森美紀 (2001) 福島大学教育学部平成 12 年度卒業論文。
 Sahlén, G. (1995) *Int. J. Insect Morphol. Embryol.*, **24**, 281-286.
 高橋歩希 (2000) 福島大学教育学部平成 11 年度卒業論文。
 高橋歩希 (2002) 福島大学大学院教育学研究科平成 13 年度修士論文。
 高橋歩希・塘 忠顕 (2001) *Proc. Arthropod. Embryol. Soc. Jpn.*, **36**, 7-9.
 Takahashi, A. and T. Tsutsumi (2002) *Proc. Arthropod. Embryol. Soc. Jpn.*, **37**, 29-33.