モンシロチョウ鱗片顆粒の形成過程

和久 義夫・北川 全宏

京都工芸繊維大学応用生物学科

Developmental Process of Scale Pigment Granules in the Cabbage Butterfly, *Pieris rapae crucivora*. Yoshio WAKU and Masahiro KITAGAWA (Department of Applied Biology, Kyoto Institute of Technology, Matsugasaki, Kyoto 606, Japan). *Jpn. J. Appl. Ent. Zool.* **30**: 35-42 (1986)

The scales of the cabbage butterfly have characteristic granules which presumably contain pteridine pigments. Electron microscopic observation revealed that rudimentary granules appeared on the 4th day of adult development, as minute accumulations of electron-dense fibrous substances (ca. 10 nm in thickness and ca. 200 nm in length) in the scale-forming projections of the trichogen cells. The occurrence of these granules was restricted to the scale projections only and they did not appear in the main cell bodies of the trichogen cells, tormogen cells and general hypodermal cells. On day 5, the content, size and number of the granules increased considerably and the granules completed their development, without showing limiting membranes and developmental 'cores,' suggesting that they were not formed through the activities of the cytoplasmic membrane system. On day 6, cytoplasmic degeneration in the scale projections occurred and the granules remained *in situ* adhering to the scale cuticle even after the completion of scale formation on day 7.

鱗翅目昆虫の鱗片は、電子顕微鏡観察によれば、上面の屋根状クチクラと下面の床状クチクラとにかこまれた偏平多孔な空洞構造物であり、上下両クチクラの間には柱や桁に相当するクチクラもある (Fig. 11 参照)。このような複雑な構造は、丈夫で軽い力学的性質を鱗片に与えているが、一方このクチクラを生産分泌した細胞質は、鱗片完成時には退化消失してしまう。シロチョウ科 Pieridae の蝶では、鱗片内部の空洞に多数の紡錘型顆粒があるのが電顕により観察され、これは同科の特徴となっている (YAGI, 1954; 八木, 1955; HIRATA and KUBOTA, 1957; HIRATA and UEHARA, 1959; 日高・岡田, 1970; GHIRADELLA et al., 1972)。八木 (1955) は、シロチョウ科鱗片に特有のいろいろなプテリン系物質がこの顆粒に含まれていると考えたが、その正確な化学的組成については現在まで明らかにされていない。日高・岡田 (1970) によれば、日本産モンシロチョウ *Pieris rapae crucivora* ではこの顆粒数にいちじるしい性差 (雄が雌より多い) があり、これが紫外線を吸収する物質を含んでいるならば、顆粒数の性差は同種の性行動と関連があるかもしれないという。この顆粒の存在は古くから知られ、かつ非常に特徴的なものであるにもかかわらず、その性格や生理的意義については不明の点が多いので、わ

れわれは電顕でその形成過程と成因を追及した。この研究では、真鍋幸明君の熱心な助力を得た。走査電顕観察では、日本電子株式会社の援助を得た。また金沢大学理学部・梅鉢幸重教授には、文献その他に関して有益な助言をいただいた。あわせて感謝の意を表する。

材 料 と 方 法

モンシロチョウは野外で卵を採集し、幼虫は 25°C 16 時間明条件下でキャベツ葉を与えて飼育した。蛹期間は 7 日間を要した。蛹化後毎日、雌雄に分けた蛹の翅を切り出して固定した。光学顕微鏡観察用には、ブアン液固定の組織をパラフィン切片とし、マロリー三重染色をほどこした。透過電顕観察用には、グルタルアルデヒド・オスミック酸二重固定した組織をエポン樹脂包埋し、水酸化鉛・酢酸ウラニウムの二重電子染色をほどこした。走査電顕用には、成虫翅の右後翅の一部をとり、自然乾燥後金蒸着を行って観察した。

結 果

光顕での予備観察によれば、蛹化直後の翅は 1 層の背の高い真皮細胞群から成る偏平な袋状組織である。蛹 1 日目 (蛹化後 24 時間経ったものを 1 日目とする) には、

この真皮細胞層の中から、将来鱗片を形成する生毛細胞 *trichogen cell* とソケット細胞 *tormogen cell* とが分化する。2日目には、生毛細胞が鱗片になるべき突起（以下鱗片突起という）を翅表面に突出させる。3ないし4日目には、この突起が長く伸びて偏平になるが、突起内にはなお細胞質が存在している。5ないし6日目には鱗片の外観がほぼ完成に近くなる。鱗片突起内細胞質の退化は6日目に始まり、7日目にはまったく退化消失してクチクラのみとなった鱗片が完成する。なお全期間を通じ、問題の顆粒は光顕の解像力をこえるほど小さいので光顕では観察できない。

透過電顕観察では、3日目までは生毛細胞とその鱗片突起・ソケット細胞・一般真皮細胞のいずれにも顆粒はまったく認められない。Fig. 1は4日目雄蛹の、鱗片突起基部（Fig. 1, sp）およびそれを取りかこむソケット細胞細胞質の一部（to）を示したものである。これらの細胞は一般真皮細胞と同じく、粗面小胞体（rer）、ゴルジ体、微小管、ミトコンドリア（m）等の諸細胞小器官がよく発達し、クチクラ物質を活発に生産分泌していることをうかがわせるが、とくに大きな特徴は認められない。Fig. 2は3日目雄蛹の鱗片突起の横断面である。突起表面のクチクラはまだ薄く、突起の形態も単純な棒状で、鱗片各部クチクラの複雑な形態はまだ現われていない。突起内の細胞質も、マイクロフィラメント（Fig. 2, mf）や微小管（mt）が多量に現われる（OVERTON, 1966 参照）ことを除き、他の時期と大差がなく、顆粒もまったくない。4日目雄（Fig. 3）の鱗片突起は、すでにクチクラ上面の屋根状構造（Fig. 3, lr）が形成されつつある。細胞小器官の発達は悪く、退化の傾向があり、細胞基質のみが充満している。この基質内のところどころに、まだきわめて少数ながら問題の顆粒の始原的な構造物が発見される（矢印）。Fig. 4は蛹4日目におけるこの始原顆粒の高倍率写真である。始原顆粒は、太さ約 10 nm、長さ約 200 nm 程度の細くて電子密度の高い繊維状物質が、やや粗に集積したものである。これをとりかこむ限界膜や、顆粒形成の中心となるべき核は存在しない。この始原顆粒は、Fig. 5に示すように、蛹5日目になるとその大きさと数をいちじるしく増し、長径約 400~500 nm、短径約 150~200 nm 程度の紡錘形構造物として完成される。

しかし前日と同じく、その基本的構造はやはり繊維状物質の集積（より密になっている）であって、限界膜や核は見られない。顆粒内部はきわめて密で硬いものと思われ、薄切の際破損消失した人工像がしばしば見られ

る。

6~7日目になると、鱗片突起内の細胞質は退化消失する。その際、すでに完成した紡錘形顆粒は、退化途上の細胞質内に生じる数多い空胞に圧迫され、屋根状の上面クチクラに押しつけられて付着する（Fig. 6）。そして細胞質が完全に消失してしまうと、鱗片内部に残存することになる。Fig. 7, 8は7日目雄・雌の鱗片断面を示したものであるが、雄では多数の残存した顆粒がクチクラに付着しているけれども、雌では非常に少ないかほとんど見られない。これは日高・岡田（1970）と一致する結果である。また Fig. 9は、4日目雄の生毛細胞本体の全景を示す低倍率写真であるが、顆粒は全細胞質にわたって存在せず、その後も現われない。すなわち顆粒の形成は、鱗片突起内にも限られる現象である。

完成された成虫鱗片を走査電顕で観察すると、Fig. 10に示されたように、雄では多数の顆粒が屋根状の上面クチクラに付着しているのが見られる。雌では顆粒の数ははるかに少ない。また Fig. 11は、上述の鱗片と顆粒形成の過程を模式的に示したものである。

論 議

モンシロチョウにおける鱗片形成の基本的過程は、すでに他の鱗翅目昆虫（スジマダラメイガ : OVERTON, 1966 ; セクロピア蚕 : GREENSTEIN, 1972 a, b ; SEDLAK and GILBERT, 1975 ; モンキチョウ一種 : GHIRADELLA, 1974 ; シジミチョウ一種 : GHIRADELLA and RADIGAN, 1976）で観察記載された結果と大差はない。蛹初期の翅真皮細胞のうちの一部分が生毛細胞とソケット細胞に分化した後、生毛細胞から突出した鱗片突起の基部をソケット細胞がとりかこむ。鱗片突起はその後数日間に複雑な形態形成過程と細胞質の退化を経て、ついにクチクラのみから成る鱗片が完成するが、その際マイクロフィラメントや微小管が重要な役割を果たす（OVERTON, 1966）。モンシロチョウの場合も基本的にはこれらと一致するが、特徴的なのは顆粒の形成である。

この顆粒はモンシロチョウだけでなくシロチョウ科の特徴として現われるが、GHIRADELLA (1974) はモンキチョウ一種 *Colias eurytheme* において、この顆粒は通常の固定包埋法では研究が困難であるのでその形成過程には触れることができないと述べている。モンシロチョウでもかなりの困難がともなうが、われわれは多数の切片を観察して形成過程を示すことができた。

シロチョウ科鱗片の顆粒は、その化学的性質は十分に解明されていない。しかしすべての蝶のなかで、鱗片内

にプテリジン系統の色素をもつものはシロチョウ科に限られることが古くから知られている (FORD, 1947 a, b ; UMEBACHI, 1985)。この顆粒もシロチョウ科鱗片内のみ特徴的に現われるので、プテリジン色素と顆粒の存在には並行関係がある。したがってこの顆粒はプテリジン色素を含んでいると考えるのは必ずしも不当ではないで

あろう。八木 (1955) は、日本産やヨーロッパ産のモンシロチョウでは顆粒に含まれるプテリジン色素の種類が異なり、顆粒の形態も異なるとした。また、HIRATA and KUBOTA (1957), HIRATA and UEHARA (1959), GHIRADELLA (1974) はそれぞれモンキチョウ属 *Colias* においてこの顆粒を“色素顆粒”と呼んでいるが、色素

- Fig. 1. Neck region of the scale projection (sp) of the trichogen cell (tr) and tormogen cell (to) surrounding it, cross-section view. Day 4, male pharate adult. Note the absence of pigment granules in both cells. cto : cuticle of tormogen cell, ctr : cuticle of trichogen cell, m : mitochondria, rer : rough endoplasmic reticulum. $\times 20,000$.
- Fig. 2. Cross-section of the two scale projections. Day 3, male. Pigment granules are absent. Cytoplasm with rough endoplasmic reticulum (rer), microtubules (mt) and bundles of microfibrils (mf) occupies the whole projection. c : cuticle, $\times 20,000$.
- Fig. 3. Cross-section of the developing scale projections. Day 4, male. Note the occurrence of minute rudiments of pigment granules (arrows). lr : longitudinal ridges of the upper part of the cuticle. Cytoplasm has not degenerated yet. $\times 20,000$.
- Fig. 4. Highly magnified view of rudiments of pigment granules (arrows). They appear first as rough accumulations of thin filamentous substances. Day 4, male. r : ribosome. $\times 100,000$.
- Fig. 5. Completion of the development of the pigment granules (g). Their size increases and their contents become denser. They are not surrounded by limiting membranes and lack a core. The vacant central part of the granules is due to the cutting artefact of thin sections. Day 5, female. $\times 100,000$.
- Fig. 6. The granules (g) which have completed their development are pressed against the cuticle (c) by the vacuoles (v) associated with cytoplasmic degeneration. The granules remain attached to the cuticle even after complete cytoplasmic degeneration. Day 6, male. $\times 80,000$.
- Fig. 7. Cross-section view of a scale which completed development. Day 7, male. A large amount of granules is attached to the upper part of the cuticle. Cytoplasm has completely degenerated. $\times 20,000$.
- Fig. 8. Ditto, day 7, female. The scale of the female contains fewer granules than that of the male. In this picture no granules are present. $\times 20,000$.
- Fig. 9. Low-power electron micrograph of the main cell body of a trichogen cell. The cytoplasm is totally devoid of pigment granules whose presence is restricted to the scale projection. a : apical extremity of the cell body, b : basal extremity of the cell body, c : cuticle, n : nucleus. Day 4, male. 6,000.
- Fig. 10. Scanning electron micrograph of the scale of male adult. Note the presence of numerous pigment granules (g) attached to the longitudinal ridges (lr) and transverse ribs (tvr) of the upper part of the cuticle. $\times 40,000$.

Fig. 11. Diagrammatic representation of the development process of the pigment granules. Left column shows the appearance of the developing scales. Dotted lines denote the direction of the sections which are shown in the right column. The abbreviations are the same as those used in the preceding micrographs.

の正確な名称は述べていない。

MAKINO et al. (1952)によれば、日本産モンシロチョウ雄成虫の翅は雌よりもはるかに多量のプテリジン色素、とくにロイコプテリンを含んでいる。日高・岡田(1970)は、走査電頭によって雄鱗片の顆粒が雌よりはるかに多いことを観察した。また八木(1955)と異なり、雌雄の顆粒に形態上の差はないとした。これらはわれわれの観察と一致している。日高らは、性の認識行動が翅の紫外線反射を介して行われるモンシロチョウにおいて、両性の翅(表と裏)の紫外線反射率がそれぞれの鱗片内顆粒数とちょうど逆の相関関係になっていることに注目した。そして、もしこの顆粒が紫外線を吸収する物質を含むとすれば、性行動を支える翅の光学的性質と鱗片の微細構造との間に興味ある符合が認められるとし

た。一方、GHIRADELLA et al. (1972)は、キチョウの一種 *Eurema lisa* においては紫外線反射が鱗片の屋根状上面クチクラの突起の光学的性質によっておこり、色素顆粒の多少には関係がないとした。

モンシロチョウの顆粒は、おそらく同種の特徴的色素であるロイコプテリンやその他のプテリジン色素を含むものと考えられるが、その形成過程や機構は従来まったく知られていなかった。われわれの観察では、それが鱗片突起細胞質内の微小な繊維状構造物として出現し、やがて紡錘形顆粒に成長することが示された。

このような形成型式は、昆虫の真皮細胞や中腸・マルピーギ管などにしばしば現われる、同心円状球形顆粒の形成過程(和久, 1974)とはまったく異なる。球形顆粒の周囲には、その形成初期に小胞体由来の限界膜が見ら

れる。鱗片顆粒には限界膜がないことは、これが小胞体・ゴルジ体などなどの膜系を經由して形成されるものでないことを示す。すなわち細胞基質内のある部位で顆粒物質の濃度がとくに高まり、ついに（おそらく結晶化した形で）繊維状構造物として析出するものであろう。しかしその部位はどのようにして定められるかは、顆粒形成の核になるようなものが見られないので不明である。さらに、鱗片を作る生毛細胞の細胞本体にまったくこの顆粒がなく、鱗片突起にのみ多量に現われることは、この物質の細胞内分布にいちじるしい極性のあることを示し、これまた興味深い。なお、桜井・辻田（1973）は、カイコ幼虫の真皮細胞に現われる長楕円形のプテリジン顆粒を報告しているが、これはその形成過程や性質がモンシロチョウの鱗片顆粒とはまったく異なるものと思われる。

HARMSSEN（1966）は、ヨーロッパ産オオモンシロチョウ *Pieris brassicae* ではロイコプテリン等のプテリン類が脂肪体で合成され、羽化2日前から翅に移行すると報告した。一方、WATT（1967）はモンキチョウ一種 *Colias eurytheme* で、蛹の翅を *in vitro* で培養し、これに¹⁴C-グアノシンを与えると種々のプテリン類が合成されることを述べ、プテリンは脂肪体ではなく翅で合成されるとした。われわれの電顕観察はこのような問題の解決に直接役立つものではないが、少なくとも色素物質が電顕で可視になるほど多量に蓄積されるのは、翅の生毛細胞、それも鱗片突起に限られることを明らかにした。

今後、生化学的・形態学的両面からの研究の進歩が望まれる。

摘 要

モンシロチョウ成虫鱗片内部に特徴的に現われる顆粒（おそらくロイコプテリンなどのプテリン類を含む）の形成過程を、電顕観察により追及した。蛹期は7日間であったが、その4日目には将来鱗片となる生毛細胞の鱗片突起に顆粒の始原が出現し、5日目にはこれが成長して完成顆粒となった。始原顆粒は、太さ約10 nm、長さ約200 nmの細い繊維状構造物がやや粗に集積したものであるが、完成顆粒ではこの集積がさらに密になりかつ大型になる。顆粒の限界膜や顆粒形成の核になるべきものは見られなかった。また顆粒の形成は鱗片突起内に限られ、生毛細胞の本体やその他の細胞ではまったくなかった。さらに顆粒の数は雌よりも雄がはるかに多かった。このような形成過程は他の顆粒では見られない特徴的なものであるので、その意義について論じた。

引用文献

- FORD, E.B. (1947 a) A murexide test for the recognition of pterines in intact insects. *Proc. R. Ent. Soc. Lond. (A)* 22 : 72—76.
- FORD, E.B. (1947 b) Studies on the chemistry of pigments in the Lepidoptera, with reference to their bearing on systematics. 5. *Pseudopontia paradoxa* FELDER. *Proc. R. Ent. Soc. Lond. (A)* 22 : 77—78.
- GHIRADELLA, H. (1974) Development of ultraviolet-reflecting butterfly scales : How to make an interference filter. *J. Morph.* 142 : 395—410.
- GHIRADELLA, H. and W. RADIGAN (1976) Development of butterfly scales II. Struts, lattices and surface tension. *J. Morph.* 150 : 279—298.
- GHIRADELLA, H., D. ANESHANSLEY, T. EISNER, R.E. SILBERGLIED and H.E. HINTON (1972) Ultraviolet reflection of a male butterfly : Interference color caused by thin-layer elaboration of wing scales. *Science* 178 : 1214—1217.
- GREENSTEIN, M.E. (1972 a) The ultrastructure of developing wings in the giant silkmoth, *Hyalophora cecropia* I. Generalized epidermal cells. *J. Morph.* 136 : 1—22.
- GREENSTEIN, M.E. (1972 b) The ultrastructure of developing wings in the giant silkmoth, *Hyalophora cecropia* II. Scale-forming and socket-forming cells. *J. Morph.* 136 : 23—52.
- HARMSSEN, R. (1966) A quantitative study of the pteridines in *Pieris brassicae* L. during post-embryonic development. *J. Insect Physiol.* 12 : 9—22.
- 日高敏隆・岡田益吉 (1970) 走査電子顕微鏡による観察で認められたモンシロチョウ鱗片の性差. *動雑* 79 : 181—184.
- HIRATA, K. and T. KUBOTA (1957) Microstructure of the scale of the butterfly, *Colias erate poligraphus* MOTSCHULSKY ♂, elucidated by electron microscopy. *Sci. Rep. Kagoshima Univ.* No. 6 : 151—167.
- HIRATA, K. and J. UEHARA (1959) Studies on the structure of scales and hairs of insects II. Microstructure of scales of the blank female of the butterfly, *Colias erate poligraphus* MOTSCHULSKY. *Sci. Rep. Kagoshima Univ.* No. 8 : 155—174.
- MAKINO, K., K. SATOH, M. KOIKE and N. UENO (1952) Sex in *Pieris rapae* L. and the pteridin content of their wings. *Nature* No. 4335 : 933—934.
- OVERTON, J. (1966) Microtubules and microfibrils in morphogenesis of the scale cells of *Ephesia kuehniella*. *J. Cell Biol.* 29 : 293—305.
- 桜井 進・辻田光雄 (1973) 熟蚕期の家蚕幼虫皮膚および体液におけるペプチダーゼ活性の変動とプテリジン顆粒. *日蚕*

- 雑 42 : 349—356.
- SEDLAK, B. J. and L. I. GILBERT (1975) Hormonal control of insect epidermal cell activities : An ultrastructural analysis. *Trans. Am. Micros. Soc.* **94** : 480—500.
- UMEBACHI, Y. (1985) Papiliochrome, a new pigment group of butterfly. *Zool. Sci.* **2** : 163—174.
- 和久義夫 (1974) カイコのマルピギ管細胞の微細構造および変態にともなう変化. *動雑* **83** : 152—162.
- WATT, B.W. (1967) Pteridine biosynthesis in the butterfly *Colias eurytheme*. *J. Biol. Chem.* **242** : 565—572.
- YAGI, N. (1954) Note of electron microscopic research on pterin pigments in the scales of pierid butterflies. *Annot. Zool. Jap.* **27** : 113—115.
- 八木誠政 (1955) シロチョウ科鱗片内ブテリン色素の電子顕微鏡による研究. 特にそれが分類に対する寄与. *ニュー・エントモロジスト* **4** : 1—20.
-