

走査電子顕微鏡で観察した日本産ハマダラカ 5種の卵表面構造

長島義介・関川弘雄*

The Egg Surface Structure of Five Species of *Anopheles* from Japan
observed under the Scanning Electron Microscope

by

Yoshisuke Nagashima, Hiroho Sekikawa*

ハマダラカ (*Anopheles* 属) は、マラリアを伝播する蚊として知られているが、その種類によって伝播性が異なる。そのため、マラリアの研究において媒介蚊の分類学的研究は重視されている。厄介なことに、ハマダラカ類には形態が酷似するため、種群 *species group* とか複合 *complex* として取り扱われる種類や遺伝学的には区別されるが形態的にはほとんど区別できない同胞種 *sibling species* と呼ばれる種類があり、種の鑑別が難しい。しかも、近年マラリアの伝播性は種以下のレベルでも異なるとみなされるようになってきたので、それらの形態的特徴を把握し、種を正確に同定し、分類することが従来にも増して重要になってきた。ハマダラカの卵には複雑な装飾構造があり、それらの形態的相違は分類学的標徴として古くから注目されてきた。Hinton (1968) は世界各国のハマダラカ11種の卵を走査電子顕微鏡 (以下 SEM) で観察し、光学顕微鏡では不明瞭にしか観察されない卵微形態が、種を鑑別するのに役立つことを指摘した。筆者らは、本邦産ハマダラカ類の卵微形態について、従来から光学顕微鏡で観察を行なっており、また先に SEM によるシナハマダラカ卵の微細構造についても報告した。今回さらにハマダラカ亜属の5種の卵微形態について SEM による観察を行い興味ある所見が得られたので、これまでの成績に併せ報告したい。

I 材料及び方法

- 1) 材料 各種の卵微形態を比較観察するために、下記の地域から得た卵を観察に供した。
- シナハマダラカ *Anopheles sinensis*. : 沖縄 (名護市 II. 1976). 九州 (荒尾市 VI. 1976). 新潟 (巻町 VII. ~ IX. 1977). 北海道 (留辺薬町 VIII. 1976).
 - エンガルハマダラカ *Anopheles engarensis*. : 聖マリアンナ医科大学病害動物教室飼育個体群 (1977).
 - オオツルハマダラカ *Anopheles lesteri*. 沖縄 (名護市 II. 1973). 北海道 (岩内町 VIII. 1982, 江別市 IX. 1974).
 - エセシナハマダラカ *Anopheles sineroides*. : 新潟県 (巻町 VII ~ IX 1982). 岩手県 (岩泉町 VIII. IX 1976). 北海道 (日高町 VIII. 1976, 留辺薬町 VIII. 1976).
 - チョウセンハマダラカ *Anopheles koreicus*. : 岩手県 (岩泉町 VIII. IX. 1983).
 - ヤマトハマダラカ *Anopheles lindesaii japonicus*. : 新潟県 (巻町 VI ~ IX. 1977). 岩手県 (岩泉町 VIII. IX 1976). 北海道 (新得町 VIII. 1976).

* 新潟大学医学部医動物学教室講師

観察に供した卵は、各地域で採集した吸血雌蚊を実験室に運び、個別分離して産卵させた卵と母蚊の両形態を光学顕微鏡下で観察し、種を確かめた後に10%ホルマリン液で保存したものをを用いた。*An. l. japonicus* は、幼虫から羽化した雌蚊に人血を吸血させて産卵させた。観察した卵は、各地とも10卵塊100個以上である。

2) 方法

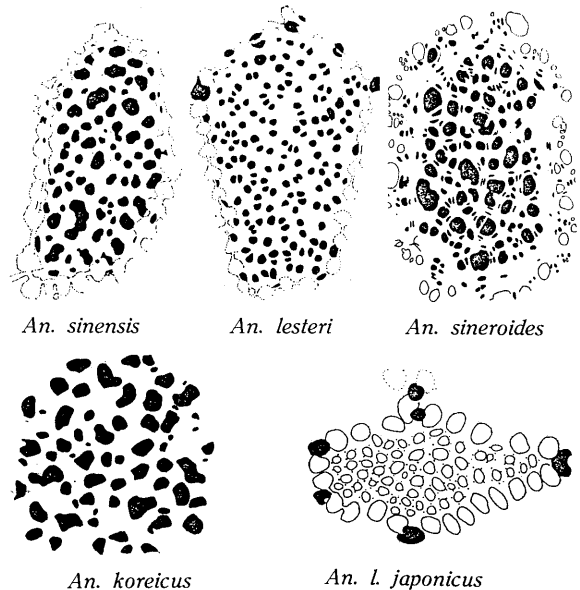
保存液から取り出した卵は、純水で洗浄後、小筆を用いて両面テープを張りつけた金属試料台へ移し、観察しやすいように卵の位置を調えた。この場合、試料台に載せた卵は、両面テープの面が乾燥しない内に移動することが大切であった。卵の立体構造を観察するために、双眼実体顕微鏡の下で昆虫標本用の微針を付けた柄付針で卵を破壊し、また乾燥によって生じる卵の萎縮を防ぐために、柄付針で卵に小さい穴を開け、室内で約30分間自然乾燥させた後、イオンスパッタコーティング法で金蒸着を施した。観察に用いた走査電子顕微鏡の機種は日立S-405型である。観察に当たっては、電圧25KV、WDは15mmとし、主として1,000倍～3,000倍の間で観察したが、最大1万倍までの倍率で観察した。微細網目の比較は、卵腹中央部の微細網目を3,000倍の同一に拡大して観察した。本文中に用いた微形態の名称はHinton⁴⁾に従い、日本語名称は筆者らが仮りの名称として用いた。

II 結 果

1. 卵腹膜微細網目 Plastron network of sides and lower surface

シナハマダラカ *Anopheles sinensis* (以下 *sinensis*) の多角形網目は、25前後の中結節が5～6角形に配列して多角形網目の境界を形成している。その内面に平均50前後の小結節が散在する。小結節間は紐状の薄膜が連結し、不規則な雲形の穴からなる網目紋様を呈する(図3, 37)。オオツルハマダラカ *Anopheles lesteri* (以下 *lesteri*) の多角形網目は *sinensis* に酷似するが、その内面に散在する小結節は平均100前後である。小結節間には円形の小さな穴が散在し、全体として篩状の網目紋様(篩型)を呈する(図13, 14, 16, 17)。しかし、沖縄産 *lesteri* の微細網目の紋様型には篩型(図17)以外に、小結節が60前後からなり、網目穴の大きい金網状の網目紋様(金網型)を呈する卵(図18)が観察される。また、北海道産では篩状の網目がほとんど消失する卵も観察される(図15)。エセンナハマダラカ *Anopheles sineroides* (以下 *sineroides*) の多角形網目は *sinensis* に似ているが、その境界を形成している結節は、2～3の細長い隙間のある薄膜によって連結している(図21, 40)。1つの多角形網目の内面にある小結節数は60前後で、糸状の薄膜が3～4本平行し、相隣接する小結節間を放射状に結び、全体としては編物のレース模様にした網目紋様を呈する(図40)。

チョウセンハマダラカ *Anopheles koreicus* (以下 *koreicus*) には多角形網目がない。*sinensis* よりも若干大きい小結節が平均的に分布する。小結節間は短い



各種多角形網目内微細網目紋様型模式図

紐状の薄模によって連らなり、全体として不定形の網目穴を有する網目紋様を呈する(図26, 41)。ヤマトハマダラカ *Anopheles lindesai japonicus* (以下 *japonicus*) の多角形網目は板状を呈し、多角形網の角に気孔状の穴が存在する。その内面にある小結節はわずかに隆起し、小結節間の薄膜には微細な穴が散在する(図35, 42)。

2. 甲板縁飾 Frill of deck

sinensis, *lesteri*, *sineroides* は、通常甲板を縁取る柵状の幅狭い縁飾がある。その形状による前記3種の区別は困難である(図2, 8, 20)。この甲板縁飾はいずれも季節的に変化し、甲板両側の縁飾が一部を残して融合する卵も観察される(図11, 12, 20)。*koreicus* の甲板縁飾は、通常中央部が融合し縁飾が消失している(図25, 29)が、稀に中央部が融合していない卵もみられ(図28)、甲板縁飾の上面幅は *sinensis* よりも2~3倍広い(図28, 29)。*japonicus* の卵背面中央部は、浮囊に覆われ(図34)、甲板縁飾は通常観察されない。両卵端付近の甲板縁飾は *sinensis* よりも2~3倍大きな襟状を呈する(図31)。

3. 甲板小結節 Tubercles of deck

sinensis, *lesteri*, *sineroides* の甲板にある小結節は、大きさ及び分布密度がほぼ同じく区別困難である(図2, 8, 20)。*koreicus* と *japonicus* の小結節は、前記3種よりも若干大きい(図28, 29, 31)。

4. 卵端疣状結節 Lobed tubercles at apices of egg

sinensis, *lesteri*, *sineroides*, *koreicus* の疣状結節は、通常5~7個で、上面から見た形は円形か楕円形(図6, 9, 24)を呈し、その変異幅からみて種の区別は困難である。個々の結節は5~8個の小葉からなり、これまでの観察成績から種による相違は指摘できない。また地理的、季節的な変異は認められない。*japonicus* の疣状結節は、前記4種よりやや細長(図31)で、小葉数は5~8のものが多い。

5. 精門域 Micropylar area

精門域は、中心部に漏斗状を呈する精門 micropyl を取り囲むように、ほぼ円形輪状の幅広い精門襟 micropylar collar がある。その下部から等間隔に、細長い刺 ridg が中央部の精門に向かって7~8本伸びる(図4, 30)。その形態は *sinensis*, *lesteri*, *sineroides*, *koreicus* 共に区別が困難である。精門襟の形態は、若干の個体変異幅を有するが、基本的な形質は一定で地理的、季節的な変化はない。*japonicus* の場合は、襟の内縁が前記4種よりも僅かではあるが不規則な形状を呈する(図36)。

Ⅲ 考 察

これまで光学顕微鏡でハマダラカ類の卵微形態を観察し、特に観察が困難であった甲板縁飾、甲板小結節、卵端疣状結節、卵腹膜微細網目、精門域などの微細構造を SEM で比較観察した結果、種に対応した形質は卵腹膜微細網目の紋様型に認められた。その紋様型は *sinensis*, *sineroides*, *koreicus*, *japonicus* では形態的に1紋様型を示していたが、*lesteri* の場合は、他の種類とは異なり、明らかに形態的に異なる2紋様型が観察された。即ち、*lesteri* の微細網目は通常篩状の紋様型であるが、北海道産の卵には篩の目に当たる小穴が消失した型が観察される。しかし、小結節の数も基本型の卵と変わりなく、同一卵塊の卵にその移行型も観察されるので個体変異か季節の変異の範ちゅうに属するものと考えられる。一方、光学顕微鏡による所見では *lesteri* と同定される沖縄産の別々の個体の卵に、篩型(小結節数100前後)とは異なる金網型(小結節数60前後)を有する卵が観察された。この網目紋様の変異は、多角形網目内小結節の数が通常の *lesteri* より少なく、

北海道産にみられるような個体変異や季節的変異とは考えられない。不完全な卵の一例の観察に過ぎないが、後者の金網型はフィリピン産の *lesteri* 卵の網目紋様に似ているように思われる。現在 *lesteri* は、*An. lesteri lesteri* Baisas and Hu, 1936¹⁾ (フィリピン)、*An. lesteri paraliae* Sandosam, 1959¹⁸⁾ (マレーシア)、*An. lesteri anthropophagus* Xu and Feng, 1975²¹⁾ (中国) の3亜種に区別され、本邦産 *lesteri* が何れの亜種に属するか、それとも独立した種であるか、さらに北海道産と沖縄産の *lesteri* が同一種類か否かも問題となっている。神田鍊蔵(1983)によれば、沖縄産 *lesteri* はタンパク質の構造からすると2系統に分けられる(私信)という。従って、沖縄産 *lesteri* に見られる2紋様型の存在は、種以下の個体群を特徴づける形質が微細網目に存在することを示唆しているようにも思われる。しかし、ハマダラカの卵微形態に関する知見は未だ少なく、現状ではこれらの問題を検討する段階までに至っていないので、今後さらに多くの種や個体群の卵微形態に関する知見の集積が必要と考える。

IV 結 論

本邦産ハマダラカ亜属に属する *sinensis*, *lesteri*, *sineroides*, *koreicus*, *japonicus* 5種について走査電子顕微鏡を用い、卵背面甲板縁飾、甲板小結節、卵端疣状結節、卵腹膜微細網目、精門域などの卵微形態の比較観察を行なった結果、次のごとき所見を得た。

1. 光学顕微鏡では観察困難である卵微形態のうち、種を鑑別するのに役立つ形質は、卵腹膜微細網目の紋様型に認められた。卵腹膜微細網目の紋様型は、種によって明瞭に異なり、若干の変異幅を有しながら基本的には安定しているものと考ええる。
2. シナハマダラカ群 *sinensis* group として取り扱われている *sinensis*, *lesteri*, *sineroides* の卵微形態は、微細網目の紋様型以外区別が困難であった。また、*sinensis* の同胞種とみなされている *engarensis* の卵微形態は、*sinensis* と区別できなかった。
3. *koreicus*, *japonicus* は、甲板小結節の大きさ、形が *sinensis* group と若干異なり、卵腹膜の微細網目の構造は質的に異なることが認められた。

謝 辞

稿を終わるにあたり、終始ご指導をいただいている琉球大学医学部 寄生虫学教室の大鶴正満教授、走査電子顕微鏡の観察、調査などに対してご協力下さった農林水産省北海道農業試験場畑害虫研究室早川博文室長、*An. engarensis* の卵を提供いただいた聖マリアンナ医科大学病害動物学教室の神田鍊蔵教授に感謝の意を表わします。また、ハマダラカ卵の収集についてご協力いただいた沖縄公害衛生研究所の岸本高男室長に感謝の意を表わします。

参 考 交 献

1. Baisas, F. E. and Hu S. M. K. (1936) : *Anopheles hyrcanus* var. *sinensis* of the Philippines and certain parts of china, with some comments on *Anopheles hyrcanus* var. *nigerrimus* of the philippines. Mon. Bull. Bur. Helth. Philipp., 16:205~242.
2. Hackett, L. W., E. Martini and A. Missiroli (1932) : The races of *A. maculipennis*. Amer. J. Hyg., 10:137~162.
3. Harrison, B. A. (1972) : A new interpretation of affinities within the *Anopheles hyrcanus* complex of Southeast Asia. Mosq. Syst., 4:73~83.

4. Hinton, H. E. (1968) : Observation on the biology and taxonomy of the eggs of *Anopheles* mosquitoes. Bull. Entomol. Res., 57:495~508.
5. 上村清 (1976) : 北海道から報告された *Anopheles yessoensis* Tsuzuki. 衛生動物, 27:2.
6. Kanda, T. and Oguma, Y. (1978) : *Anopheles engarensis*, a new species related to *sinensis* from Hokkaido Island, Japan. Mosq. Syst., 10:45~52.
7. 長島義介, 大鶴正満, 中村靖人, 岸本高男 (1975) : 沖縄産シナハマダラカ群の卵型調査. 衛生動物, 25:300.
8. 長島義介, 大鶴正満, 関川弘雄, 中村靖人, 岸本高男 (1976) : 走査電子顕微鏡による *A. sinensis* と *A. lesteri* 卵の比較. 衛生動物, 27:53.
9. 長島義介, 大鶴正満 (1977) : SEM による *Anopheles koreicus* と *Anopheles lindesatii japonicus* 卵の構造. 衛生動物, 29:51.
10. 長島義介, 大鶴正満 (1978) : 日本産ハマダラカ属卵の形態的比較. 衛生動物, 29:24.
11. 長島義介, 大鶴正満, 中村靖人 (1979) : 北海道北東部におけるハマダラカの調査成績. 衛生動物, 30:12.
12. 長島義介, 大鶴正満 (1980) : シナハマダラカ近似群の卵微細構造について. 衛生動物, 31:154.
13. 長島義介, 関川弘雄, 大鶴正満 (1983) : 本邦産 *Anopheles lesteri* の変異. 衛生動物, 34:114.
14. 長島義介 (1983) : 走査電子顕微鏡によるシナハマダラカ卵の微細構造. 新潟青陵女子短期大学研究報告, 15:13~25.
15. Oguma, Y. and Kanda T. (1977) : The distribution of *Anopheles sinensis*, *A. sinensis* E, *A. lesteri* and *A. sinensis* at thirty-four localities of Japan. Jap. J. Sanit. Zool., 28:417~421.
16. Otsuru, M. and Ohmori Y. (1960) : Malaria studies in Japan after world War II. Part. II. The research for *Anopheles sinensis* sibling species group. Jap. J. Exp. Med., 30:33~65.
17. 大鶴正満, 長島義介, 中村靖人, 岸本高男 (1976) : 沖縄産シナハマダラカ群の卵型調査. 衛生動物, 27:301~303.
18. Sandosham A. A. (1959) : Malariology with special reference to Malaya Singapore. Univ. Malaya press, 327pp.
19. Simpson, C. G. (1961) : Principle of animal taxonomy (Columbia Univ. Press.) 邦訳『動物分類学の基礎』白上謙一郎訳 (1974 岩波書店). 272pp, 東京.
20. Tanaka, K., S. Edward and K. Mizusawa (1975) : Mosquitoes of the Ryukyu Archipelago. Mosq. Syst., 7:207~233.
21. Xu, J., and Feng, L. (1975) : Studies on the *Anopheles hyrcanus* group of mosquitos in China. Acta. Entomologica Sinica., 18:77~98.
22. Xu, J., Zhao, M. and Ma, J. (1981) : Comparative studies on the scanning electron micrographs of *Anopheles sinensis* wied. and *Anopheles lesteri anthropophagus* Xu et Feng. Entomotaxonomia, 3: 265~272.

走査電子顕微鏡で観察した日本産ハマダラカ類の卵表面構造

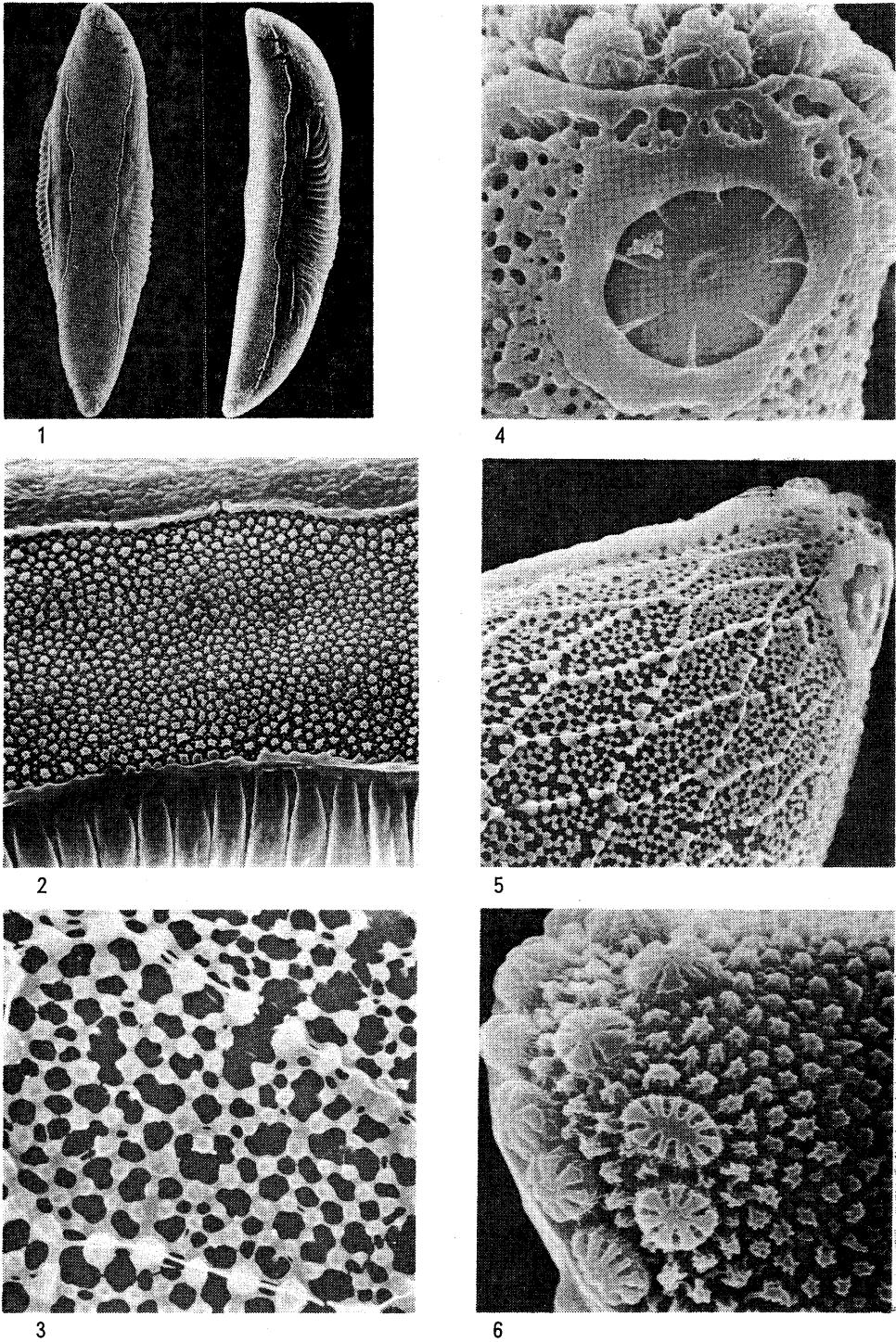
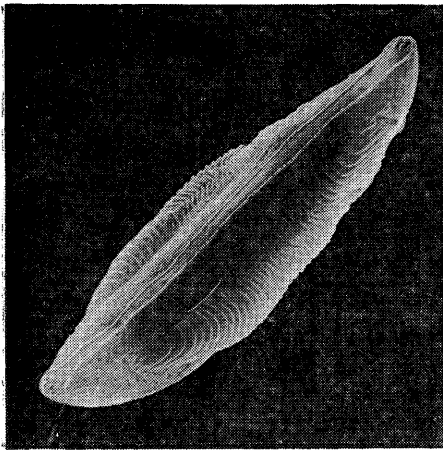


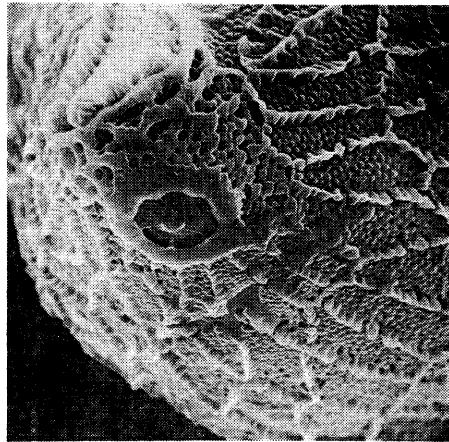
図 1—6. *Anopheles (Anopheles) sinensis*.

1. 卵の全体像 2. 卵背面中央部の甲板と小結節。図下部は浮囊上縁。3. 卵腹膜単位多角形網目とその内面にある微細網目。4. 卵先端にある精門域。5. 卵先端の側面像と多角形網目。6. 卵先端背面の疣状結節と甲板小結節。

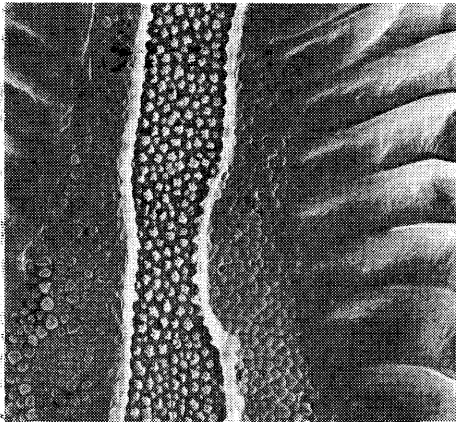
走査電子顕微鏡で観察した日本産ハマダラカ類の卵表面構造



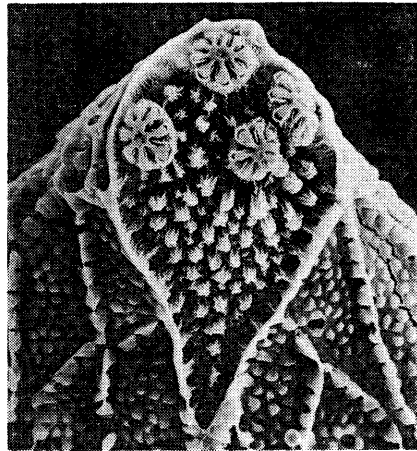
7



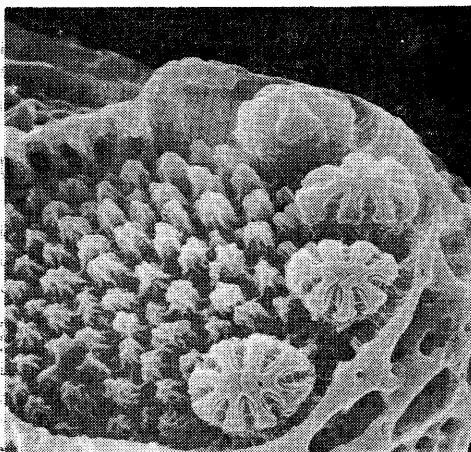
10



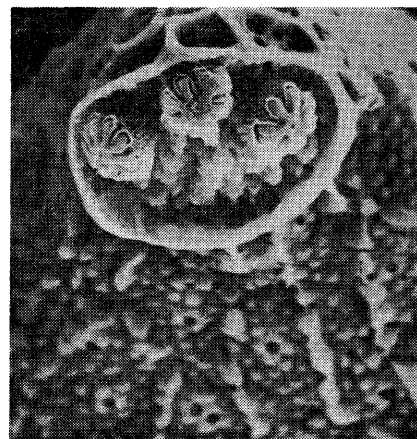
8



11



9

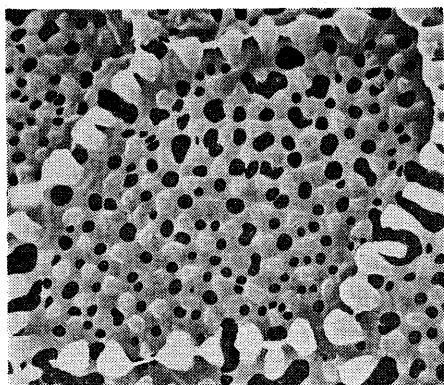


12

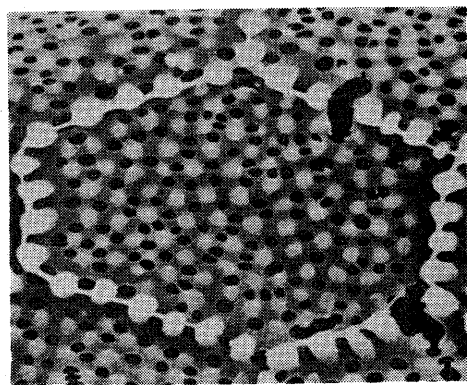
図 7—12. *Anopheles (Anopheles) lesteri*.

7. 卵の全体像 8. 卵背面中央部の甲板と小結節。左右両側は浮囊上部。9. 卵先端背面の疣状結節と甲板小結節。10. 卵先端正面像と精門域。11. 季節型卵の先端背面像。12. 季節型卵の後端背面像。

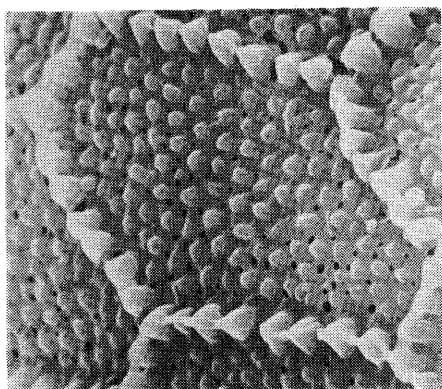
走査電子顕微鏡で観察した日本産ハマダラカ類の卵表面構造



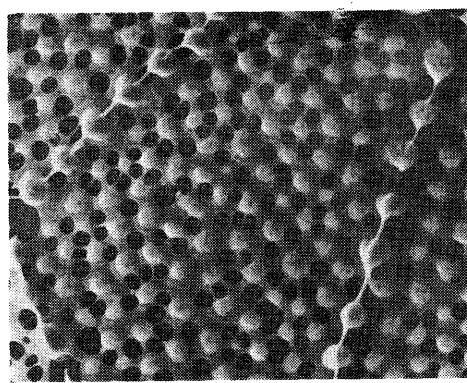
13



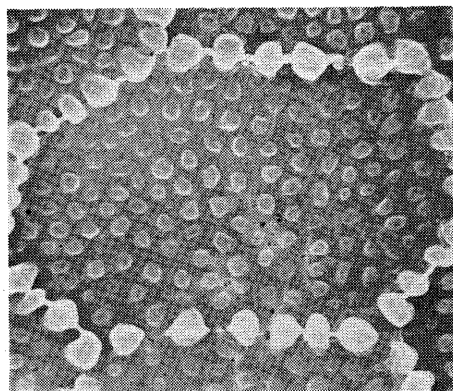
16



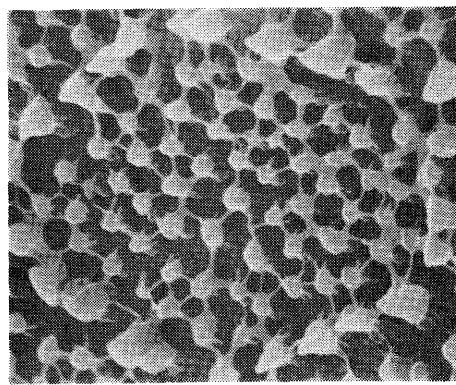
14



17



15

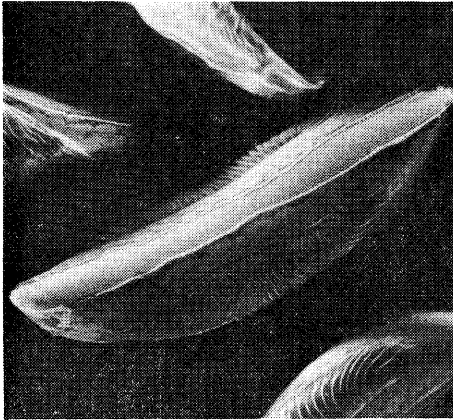


18

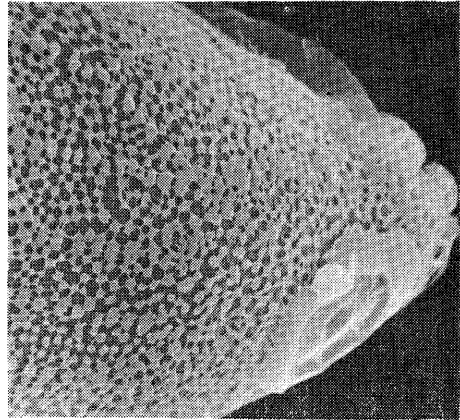
図 13—18. *Anopheles (Anopheles) lesteri*. 卵の卵腹膜微細網目 ($\times 3000$)

13—16. 北海道産の篩型微細網目。15は網目が消失しかけている。17. 沖縄産の卵に見られる通常の篩型網目。18. 通常の *lesteri* 卵とは異なる沖縄産金網型微細網目。

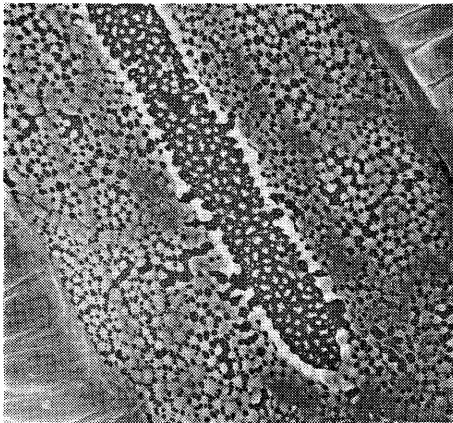
走査電子顕微鏡で観察した日本産ハマダラカ類の卵表面構造



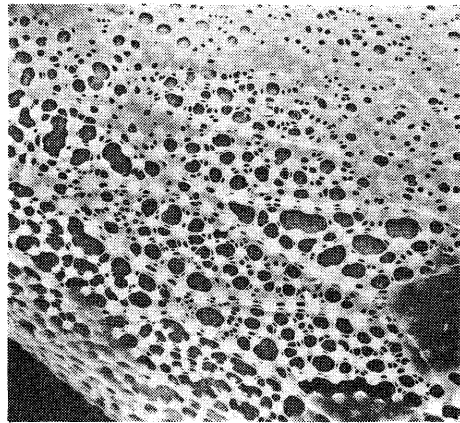
19



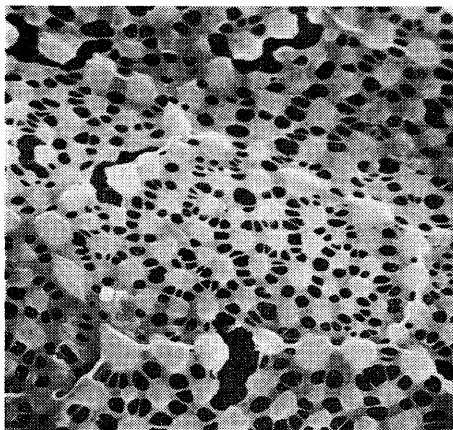
22



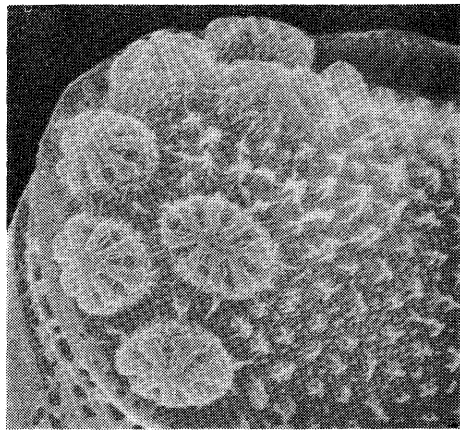
20



23



21

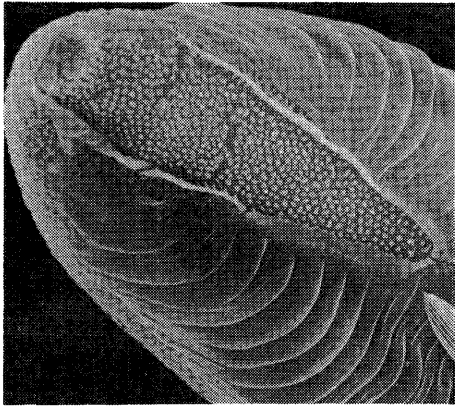


24

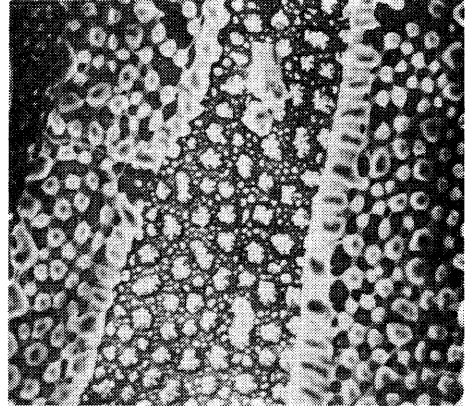
図 19—24. *Anopheles (Anopheles) sineroides*.

19. 卵の全体像。20. 季節型卵の背面中央部の甲板と縁飾。21. 単位多角形網目とその内部にある微細網目。22. 卵先端側面像と精門域。23. 卵先端側面の多角形網目と微細網目。24. 卵先端背面の疣状結節。

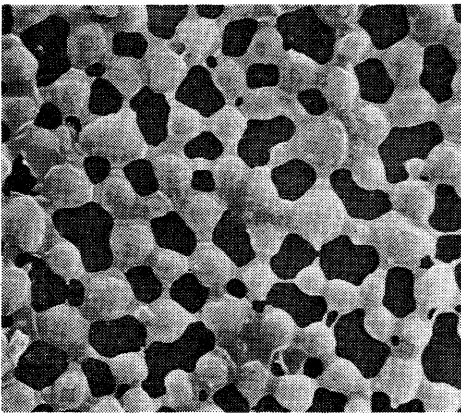
走査電子顕微鏡で観察した日本産ハマダラカ類の卵表面構造



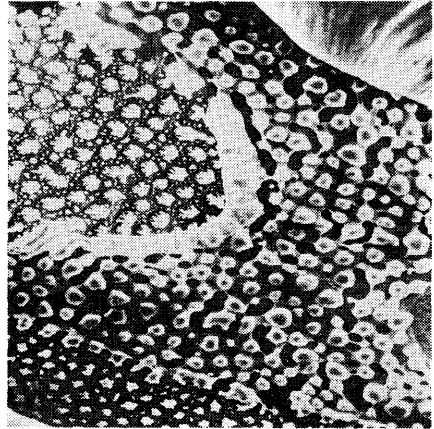
25



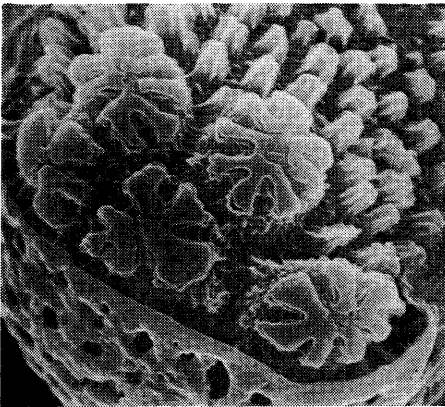
28



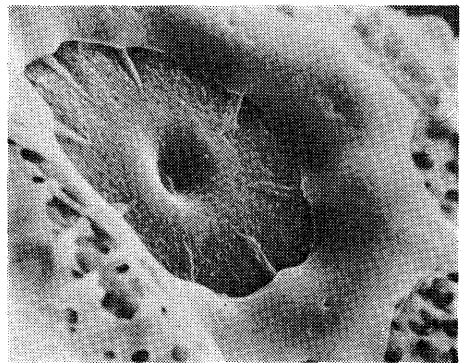
26



29



27

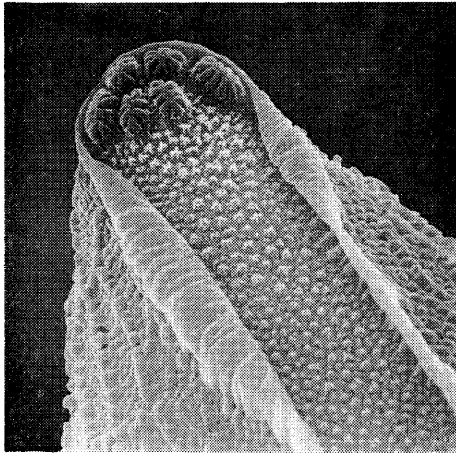


30

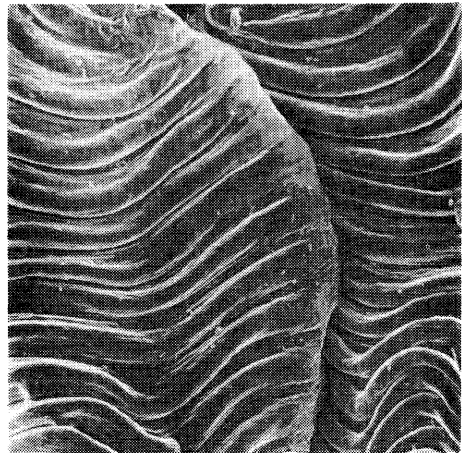
図 25—30. *Anopheles (Anopheles) koreicus*.

25. 卵の先端背面像。26. 卵腹膜微細網目。27. 卵後端背面の疣状結節。28. 卵背面中央部の甲板縁飾が融合しない卵の甲板像。29. 卵背面中央部の甲板縁飾が融合している普通の卵型像。30. 精門域の拡大像。中央の凹みが精門。

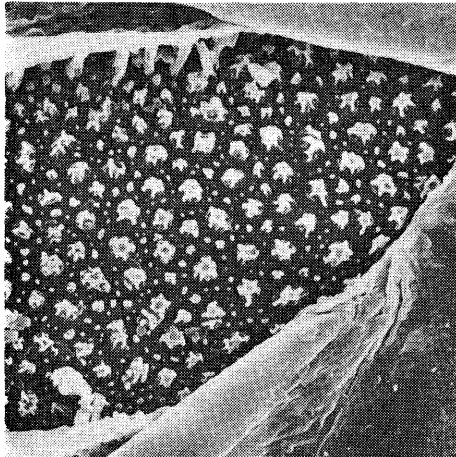
走査電子顕微鏡で観察した日本産ハマダラカ類の卵表面構造



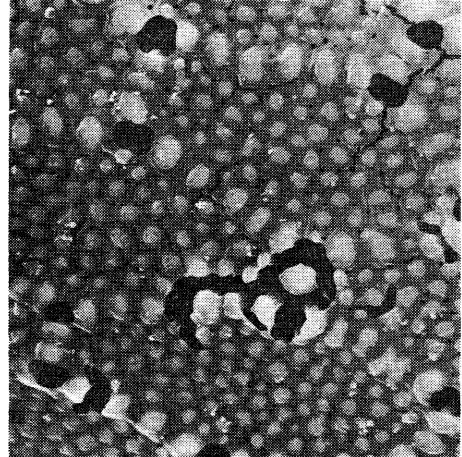
31



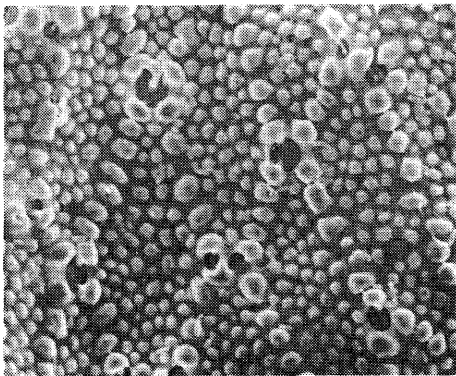
34



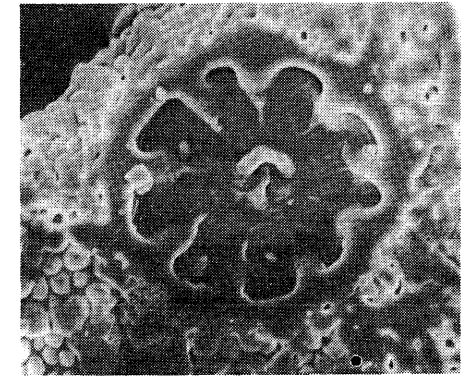
32



35



33

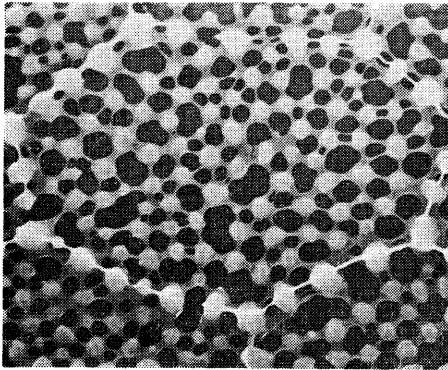


36

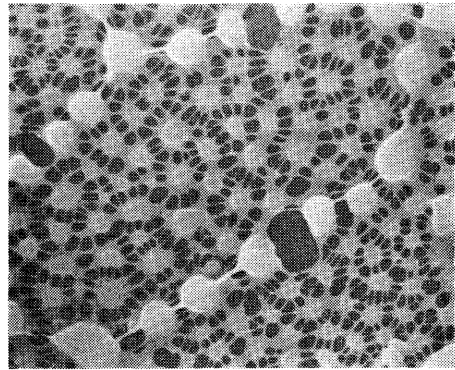
図 31—36. *Anopheles (Anopheles) lindesai japonicus*.

31. 卵の先端背面像。甲板縁飾及び疣状結節が観察される。32. 卵背面中央部の甲板小結節。右側は浮囊の上部周縁。33. 卵腹膜の多角形網目。34. 卵中央部で重なる浮囊上部。35. 多角形網目とその角にある気孔。多角形網目内の小結節間の薄膜に微小な孔が観察される。36. 卵先端正面から見た精門域。

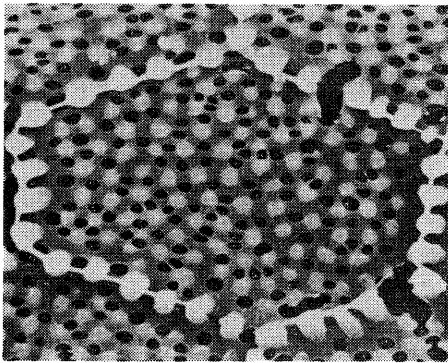
走査電子顕微鏡で観察した日本産ハマダラカ類の卵表面構造



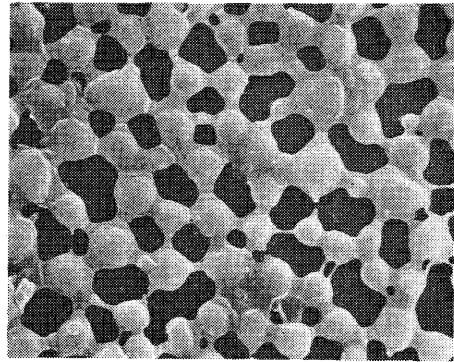
37



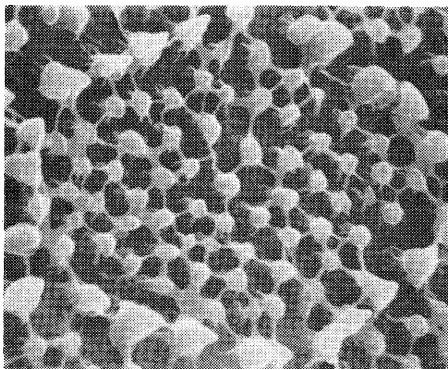
40



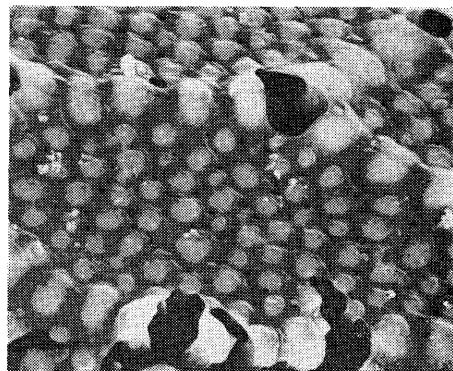
38



41



39



42

図 37—42. ハマダラカ類の卵腹膜微細網目紋様型の比較.

37. *Anopheles sinensis*, 38. *Anopheles lesteri*, 39. *Anopheles lesteri*. (沖縄産, 金網型)
 40. *Anopheles sineroides*, 41. *Anopheles koricus*, 42. *Anopheles lindesaii japonicus*.