

感潮河川にすむカニの浸透圧調節能力

土井原美桜・富永紗代・桑井はづき
(ノートルダム清心高等学校 2 年)

はじめに

私たちが住んでいる広島市は、典型的なデルタ地形だ。その三角州を放射状に 6 筋の河川が南に向かって流れ、広島湾に注いでいる。

多くの大都市では、そこを流れる川には護岸工事がなされ、川は陸地に降り注いだ雨水を出来るだけ早く海に押しやるための単なる水路としての役割しか持っていないことが多い。広島市も例外ではなく、6 筋のうち 5 筋は同様である。しかし、西端を流れる太田川放水路だけは趣が異なり、約 9km にわたって広大な河川敷を持っており、干潮時にはその下段に干潟が出現する。これは、河川を多様な生物を育む場所として見直していこうという声に後押しされたことなどが理由としてあげられる。この干潟には適度な傾斜があり、軟泥から固い地盤まで多様な底質が見られ、塩生植物や底生生物は多様である。

しかし、市民にはそれほどこの貴重な環境が知られておらず、広島市内で生まれ育った私たちも干潟に興味を持ち始めるまではその状況や価値を全く知らなかった。

一昨年（2011 年）の終わり頃、太田川放水路で干潟の生物を観察する機会に恵まれ、私たちは干潟の生物、特に干潟で多く見られるカニに興味を持つようになった。そして、この太田川放水路がカニなどの感潮域にすむ生物に実に適した環境であることを知った。

私たちは、2012 年 1 月から研究を始めた。昨年はまず、それぞれのカニの水平分布や垂直分布、生息状況の調査から始めた。さらに、カニを生理的な面からも知るために、それぞれのカニの種ごとに体液の浸透圧を測定し、それぞれのカニの生態と浸透圧測定の結果をあわせて考察した。その結果、上流部に分布する種ほど、同じ場所であればより地盤高の高い位置に分布する種ほど、体液の浸透圧が低い傾向があるということがわかった（桑井はづきら、2012）。

感潮河川では、一日に 2 回ずつ繰り返される満潮と干潮の影響で塩分濃度が変化する。つまり、カニがある場所に

生息するならば、そのカニはその場所の塩分濃度の変化に対応できる能力を持っていないてはならない。カニが種によって分布が違うのは、底質や地盤高の違いだけでなく、浸透圧調節能力にも違いがあるためではないかと私たちは考えた。そこで、今年はそれぞれの種の浸透圧調節能力と水平分布・垂直分布や生息状況との関係について調べた。

さらに、研究を進める中で、汽水域にすむヤマトシジミは浸透圧を調節するための一手段として、自らのエラの細胞内のタンパク質を分解・合成しているという情報を私たちは得た。軟体動物と節足動物は系統的に近いので、カニについても同じことが言えるのではないかと考え、タンパク質の電気泳動により、このことを調べた。

第1章 感潮河川にすむカニの分布調査

I 調査の方法

- ・ 調査期間 2012 年 1 月から 2013 年 8 月まで
- ・ 調査地 太田川放水路を中心とした、広島デルタの河川の感潮域
- ・ 調査内容

1. 干潟に下りて、そこで確認したカニの種類と生息状況を記録した。

初めのうちは専門家に同行してもらって同定を依頼し、慣れてきたら独自で調査を進めた。確認は個体を採集することによって確実にし、確認後はリリースした。種が不確かなものは専門家に同定を依頼した。

2. 記録をもとに地図にポイントを打ち、全ての種ごとの生息場所のマップを作った。

3. 太田川放水路の上流から下流にかけて、大潮の日の干潮時と満潮時に 10 地点の塩分濃度をそれぞれ測定した。これには屈折型塩分濃度計を用いた。

II 結果

この調査で確認したのは、以下の 25 種である。

表1 種ごとの分布と生息状況

科名	種名	水平分布 分布域	垂直分布						生息状況
			N	T3	T2	T1	T0	F	
コブシガニ	マメコブシ	下流域	○	○					砂の中、滞筋
ワタリガニ	ガザミ	下流域	○						転石の下、砂の中
	タイワンガザミ	下流域	○						転石の下、砂の中
	イシガニ	下流域	○						転石の下、砂の中
ベンケイガニ	アカテガニ	上流域					○	○	支流、陸域
	ユビアカベンケイガニ	上流域					○		地盤高の高い石の隙間
	クロベンケイガニ	上流域					○		地盤高の高い石の隙間
	フタバカクガニ	上流域				○	○		岩の上、隙間
	カクベンケイガニ	全域				○	○		岩の上、隙間
モクズガニ	ハマガニ	上流域					○		アシ原の地盤高が高い部分に掘った巢穴
	ヒメアシハラガニ	中流域			○	○			チゴガニの生息域に掘った巢穴
	アシハラガニ	中流域			○	○			アシ原、泥地に掘った巢穴
	イソガニ	下流域	○	○					岩の隙間、転石の下
	ケフサイソガニ	中流域	○	○	○				転石の下
	タカノケフサイソガニ	中流域	○	○	○				転石の下
	ヒライソガニ	海域	○	○	○				転石の下
	モクズガニ	下流域	○					○	転石の下
ムツハリアケガニ	アリアケモドキ	上流域	○	○					泥の中、滞筋
コメツキガニ	チゴガニ	全域		○	○	○			砂泥地に掘った巢穴
	コメツキガニ	全域			○	○			砂地に掘った巢穴
オサガニ	オサガニ	下流域	○	○					砂の中
	ヤマトオサガニ	全域	○	○					泥地に掘った巢穴
スナガニ	スナガニ	下流域				○	○		地盤高の高い砂地に掘った巢穴
	ハクセンシオマネキ	中流域			○	○			地盤のやや固い泥地に掘った巢穴
サワガニ	サワガニ	淡水域						○	山地の沢

表の中の上流、中流、下流は、感潮域の上流、中流、下流を表す。

F：淡水域、T0：潮上帯、T1：高潮亜帯、T2：中潮亜帯、T3：低潮亜帯、N：潮下帯

表1の25種のうち、12種を第2章の浸透圧調節能力の調査で扱った。その12種を、全域にすむカニ、上流域にすむカニ、中流域にすむカニ、海域にすむカニに分けて分布を示したのが図1～4である。なお、地図の最上流部は、河口部から8.0kmの地点である。

- ・ 全域に分布するカニ：カクベンケイガニ、モクズガニ、チゴガニ、コメツキガニ、ヤマトオサガニ、ケフサイソガニ

- ・ 上流域に分布するカニ：アカテガニ、ユビアカベンケイガニ、クロベンケイガニ、フタバカクガニ
- ・ 中流域に分布するカニ：ヒメアシハラガニ、ハクセンシオマネキ
- ・ 海域に分布するカニ：ヒライソガニ

なお、アカテガニが宇品島でも発見されているが、これは山地の沢に生息していたものである。

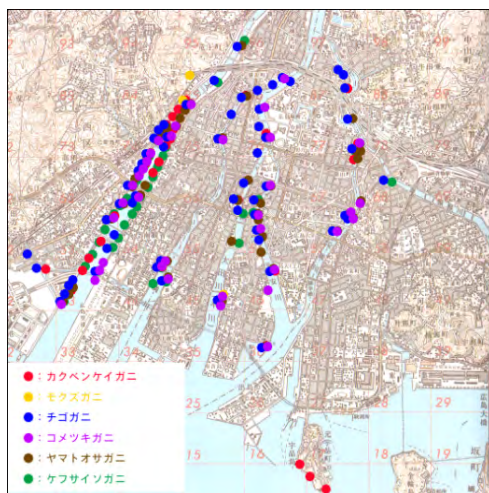


図1 全域に分布するカニ

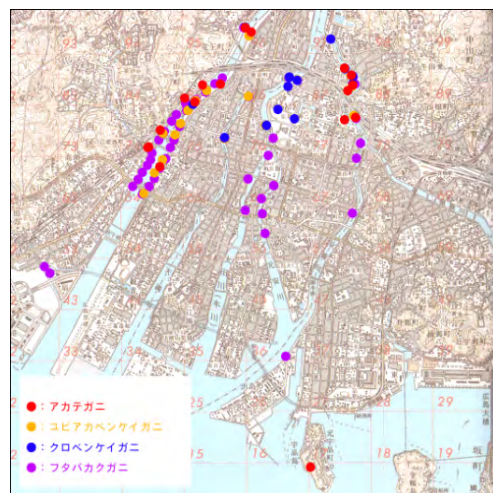


図2 上流域に分布するカニ

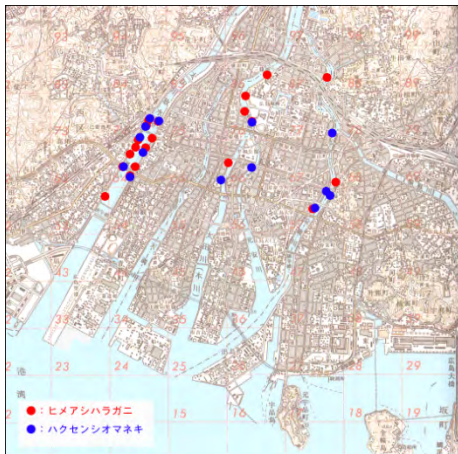


図3 中流域に分布するカニ

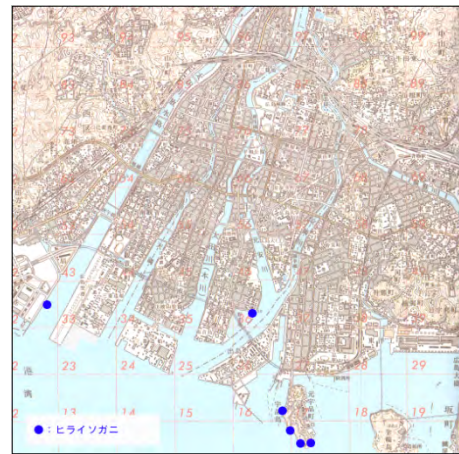
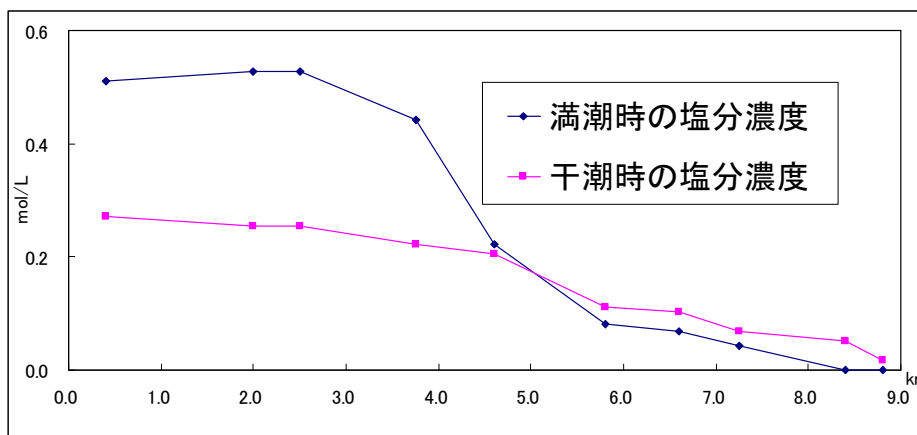


図4 海域に分布するカニ

潮の干満に伴って、干潮域の各地点で塩分濃度がどの程度変動するかを把握するため、大潮の日の干潮時と満潮時に10地点の塩分濃度をそれぞれ測定した。グラフの横軸

は河口からの距離、縦軸は測定したサンプルの塩分濃度である。



測定日

・満潮時

2013年9月20日

10時10分～10時55分

(満潮9時57分、381cm)

・干潮時

2013年9月22日

16時58分～18時8分

(干潮17時18分、84cm)

図5 太田川放水路感潮域河川水の塩分濃度

第2章 外液濃度の変化に対するカニの浸透圧調節能力

I 予想

今回、私たちが浸透圧調節能力の調査をおこなったのは、第1章の中で確認した25種のうち、比較的採集しやすく、個体数も多い12種である。第1章で、私たちはそれらの12種のカニを、分布状況により4つのグループに分け(第1章II結果 参照)、それをもとに各種の浸透圧調節能力について考えることにする。

感潮河川の水は、上流ではほぼ淡水であり、下流では海水が混ざって汽水となる。そして、上流では塩分濃度の変化は小さく、下流では塩分濃度の変化が大きい。

そこで、私たちは、昨年の浸透圧調査の結果も含めて考え、以下のように予想した。

- ・感潮域の全域に分布する種は浸透圧調節能力が高い。
- ・上流域、中流域に限定的に分布している種は、浸透圧調節能力は全域に生息する種ほど高くない。また、それぞれの種の分布域の塩分濃度変化の範囲内では浸透圧調節機能が高いが、それ以外の濃度では浸透圧調節機能が低い。
- ・海域のみに分布している種はきわめて浸透圧調節能力が低い。
- ・上流域より分布している種は海域より分布している種よりも体内の浸透圧が低い。また、地盤高の高いところに分布している種は、低いところに分布している種よりも体内の浸透圧が低い。

II 研究方法

浸透圧の測定は基本的にバージェー法によった。ただし、

一部をアレンジした。

(i) 実験材料

太田川放水路を中心とした、広島デルタの河川の感潮域にすむ 25 種のうち、採集しやすく、個体数も多い 12 種。巣穴や転石の下に生息しているものを用いた。ただし、モクズガニは太田川漁業協同組合から提供を受けた。

(ii) 道具

器具・・・水槽、メスシリンダー、シャーレ、解剖ばさみ、ピペット、乳鉢、乳棒、さらし木綿、マイクロチューブ、遠心分離器、電子天秤、アルミ箔、顕微鏡、マイクロメーター、スライドグラス、ガラスキャピラリー（7 cm、内径 0.8 mm）、両面テープ、セロハンテープ、電熱器、ティッシュ、アルコールランプ

薬品・・・人工海水の素（インスタントオーシャンプレミウム）、食塩、水

(iii) 方法

①採集後直ちに、塩素を抜いた水道水、質量パーセント濃度 1,2,3% の人工海水を用意し、それぞれの液に 2 日間浸けたカニを材料として使用する。ティッシュで十分にカニの体外についた水分を取り去る。体内のエラの間に含まれている水分もカニの体をやや抑えぎみにして吸い取る。

②サンプルに使用するカニの足を切断し、甲の部分のシャーレに乗せ、電子天秤で質量を測定する。

③カニの甲を乳鉢に移し、解剖ばさみで甲を切断して、乳棒ですりつぶす。さらに、カニの甲の質量の 5 倍希釈になるように水を加え、もう 1 度よくすりつぶす。ただし、カニの質量によっては例外的に 4 倍または 6 倍希釈にした場合もある。

④③をさらし木綿にとって絞り、絞った液をマイクロチューブに分けて 5 分間遠心分離する。さらし木綿に残った固形物はアルミ箔に移し、電熱器で軽く加熱して乾燥させる。その後、乾燥重量を測定する。

⑤遠心分離したサンプルをシャーレに移す。基準食塩水を別のシャーレに用意しておく。使用する基準食塩水の濃度は、 $1/8\text{mol/L}$ 、 $1/16\text{mol/L}$ 、 $1/32\text{mol/L}$ 、 $1/64\text{mol/L}$ である。まず、基準食塩水（known solution）をキャピラリーに 3~4 mm 程度とり、3~4 mm 程度の空気を挟んで、次にサンプル（unknown solution）を同じく 3~4 mm 程度とる。これを数回繰り返して、基準液とサンプルが交互になるようにする。ただし、両端は基準液になるようにする。キャピラリーの

両端をアルコールランプで熱し、ピンセットでつまんで焼封する。

⑥各濃度の溶液について、それぞれ 3 本ずつ作る。できた試料をスライドグラスに両面テープとセロハンテープで貼り付ける。顕微鏡の接眼レンズに接眼マイクロメーターを装着し、基準食塩水とサンプルのそれぞれの液柱の長さを計測する。48 時間後に再度計測して、その変化を記録する。（本来は 24 時間後に再計測することになっているが、私たちの使用したキャピラリーはやや太かったため、水蒸気の移動に時間がかかると考え、再計測を 48 時間後とした。）

⑦作成直後の液柱の長さ（図 6 の a）を 100 とし、48 時間後の長さ（図 6 の b）をパーセントで示す。全てのサンプルの液柱の長さを顕微鏡で計測し、それぞれの変化の割合の平均を求める。変化の割合が 100% になる濃度がサンプルの濃度である。

⑧②と④で測定したカニの質量と乾燥重量から、カニの体液の質量を求め、サンプルにおけるカニの体液の濃度を求める。サンプルの濃度を換算して、カニの体液の浸透圧を求める。

⑨各種ごとに、外液の塩分濃度に対する体液の浸透圧のグラフを作る。これは Schmidt-Nielsen, K. 1997. を参考にした。

なお、この方法で採取したカニの体液は、厳密には「体液」ではなく、「細胞内液と体液の混合物」ということになる。しかし、モクズガニ以外のカニは体のサイズが小さく、体液だけを取り出すことが困難だったため、細胞内液と細胞外の体液は浸透圧的には平衡状態にあると考えて、この方法を用いることにした。

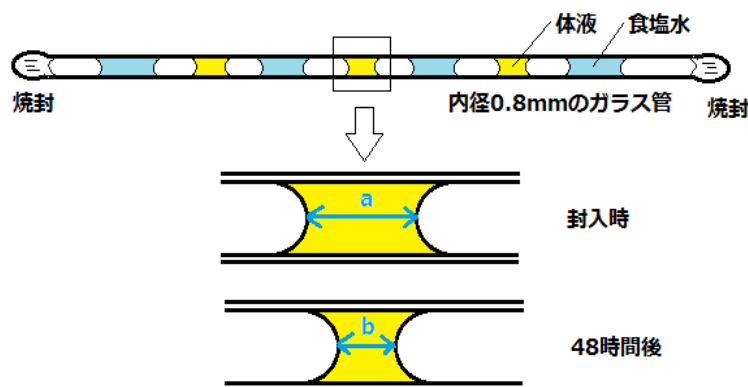


図 6 サンプルの液柱の測定方法

Ⅲ 結果

表 2 測定したカニの種ごとの体液の浸透圧測定結果と、実験に使用したカニの総個体数一覧

科名	種名	採集日		人工海水の質量パーセント濃度に対する サンプルの体液の浸透圧(mol/L)				実験に使用 した総個体 数(匹)
				0%	1%	2%	3%	
ベン ケ イ ガ ニ	アカテガニ	2012/10/09, 2013/06/06		0.415(1)	0.338(1)	0.369(1)	0.483(1)	18
				0.311(1)	0.331(1)	0.421(1)	0.425(1)	
				0.350(1)	0.410(1)	0.448(1)	0.422(1)	
				0.422(1)	0.345(1)	0.436(1)	0.495(1)	
				0.355(1)		0.412(1)		
			平均	0.371	0.356	0.417	0.449	
	クロベンケイガニ	2012/10/27, 2013/07/14, 08/22		0.401(1)	0.339(1)	0.376(1)	0.463(1)	6
				0.296(1)			0.463(1)	
			平均	0.349	0.339	0.376	0.463	
	ユビアカベンケイガニ	2013/06/02, 07/17		0.453(1)	0.679(1)	0.484(1)	0.553(1)	19
				0.551(1)	0.483(1)	0.548(2)	0.527(2)	
				0.372(2)	0.474(2)	0.489(2)	0.440(2)	
			平均	0.459	0.545	0.507	0.507	
	カクベンケイガニ	2013/03/19, 03/30		0.340(1)	0.544(1)	0.554(1)	0.423(1)	11
					0.511(1)	0.398(1)	0.520(1)	
					0.518(1)	0.422(1)		
					0.395(1)			
					0.356(1)			
			平均	0.340	0.465	0.458	0.472	
	フタバカクガニ	2013/5/19, 07/11, 08/19, 08/23		0.220(1)	0.348(1)	0.415(1)	0.333(1)	14
				0.358(1)	0.408(1)	0.398(1)	0.379(1)	
					0.407(1)	0.391(1)	0.314(1)	
					0.359(1)		0.327(1)	
					0.354(1)			
			平均	0.289	0.375	0.401	0.338	
モ ク ズ ガ ニ	モクズガニ	2012/10/23, 10/29		0.235(1)	0.280(1)	0.360(1)	0.405(1)	12
				0.250(1)	0.340(1)	0.320(1)	0.330(1)	
						0.320(1)	0.360(1)	
						0.310(1)	0.300(1)	
			平均	0.243	0.310	0.328	0.349	
	ケフサイソガニ	2012/11/24, 2013/07/20, 08/19, 08/23		0.474(2)	0.378(1)	0.393(2)	0.335(2)	11
				0.221(1)	0.381(1)	0.311(1)		
						0.297(1)		
			平均	0.348	0.380	0.334	0.335	
	ヒメアシハラガニ	2013/03/23, 03/26, 07/11, 08/22		0.411(1)	0.438(1)	0.353(1)	0.414(1)	11
					0.414(1)	0.398(1)	0.403(1)	
						0.525(1)	0.557(1)	
						0.439(1)		
						0.365(1)		
			平均	0.411	0.426	0.416	0.458	
	ヒライソガニ	2013/06/11, 08/17		-	0.276(1)	0.380(1)	0.395(1)	7
				-		0.462(1)	0.564(1)	
						0.351(1)	0.582(1)	
			平均	-	0.276	0.398	0.514	
コ メ ツ キ ガ ニ	チゴガニ	2013/3/25		0.347(3)	0.459(9)	0.634(10)	0.656(10)	61
					0.568(10)	0.537(10)	0.661(9)	
			平均	0.347	0.514	0.586	0.659	
	コメツキガニ	2012/11/06, 2013/03/16, 08/17		0.251(3)	0.470(3)	0.495(3)	0.529(3)	25
				0.372(1)	0.421(2)		0.52(3)	
				0.296(1)	0.396(2)		0.504(2)	
							0.589(2)	
			平均	0.306	0.429	0.495	0.536	
オ サ ガ ニ	ヤマトオサガニ	2013/3/24		-	0.489(1)	0.477(1)	0.539(1)	6
				-	0.548(1)	0.562(1)	0.440(1)	
			平均	-	0.519	0.520	0.490	
ス ナ ガ ニ	ハクセンシオマネキ	2012/11/11		-	0.429(2)	0.412(2)	0.517(2)	14
				-	0.490(3)	0.438(3)	0.463(2)	
			平均	-	0.460	0.425	0.490	

()内はサンプルの個体数である。

表のハイフンは、カニの死亡によってデータが得られなかったことを示す。

図 7～図 10 の横軸は外液の濃度、縦軸は体液の浸透圧を表す。

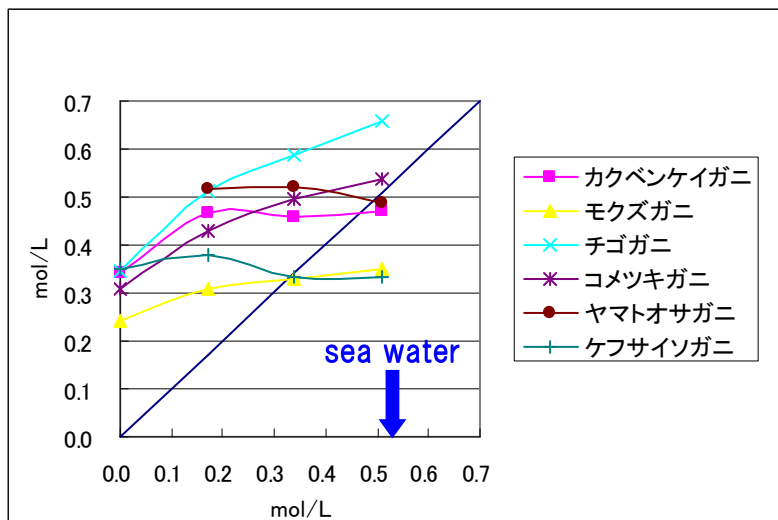


図 7 全域に分布する種の測定結果

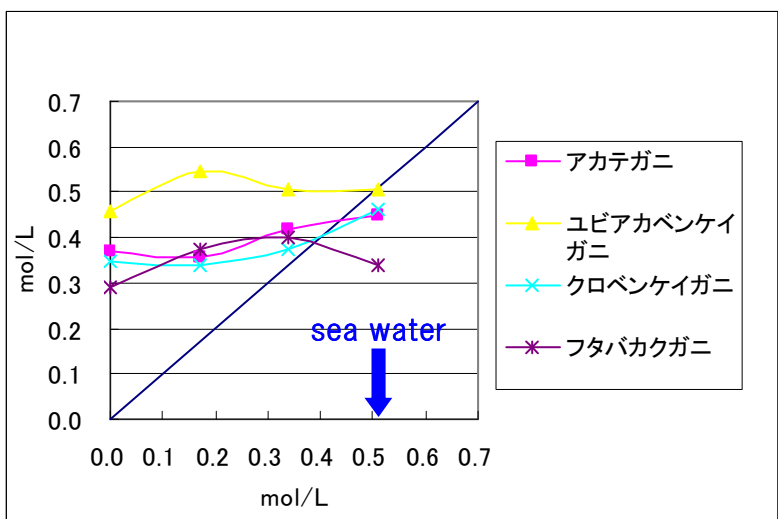


図 8 上流域に分布する種の測定結果

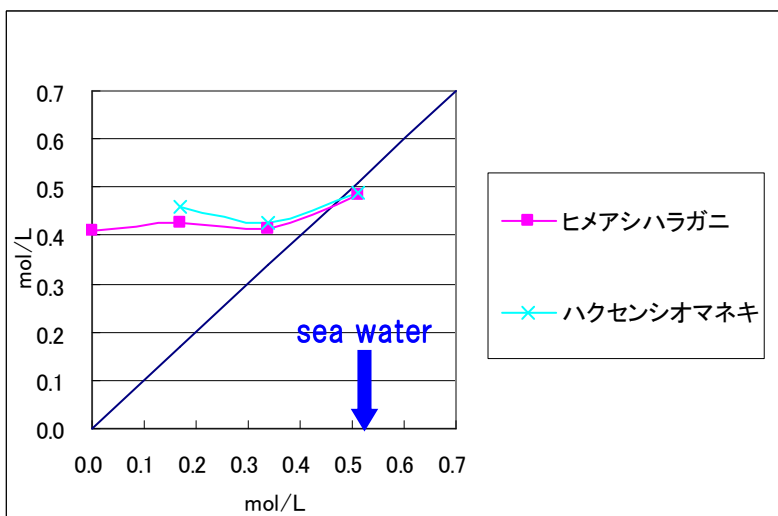


図 9 中流域に分布する種の測定結果

全域に分布している種の測定結果は、図 7 のようになった。モクズガニとケフサイソガニは、どの塩分濃度の外液に対しても体液の浸透圧をほぼ一定に保っていた。カクベンケイガニ、ヤマトオサガニは、0.2～0.5mol/L 程度の塩分濃度の外液に対しては体液の浸透圧を一定に保っていたが、0～0.2mol/L 程度の塩分濃度の外液に対しては体液の浸透圧が外液の塩分濃度に影響されていた。チゴガニとコメツキガニは、外液の塩分濃度の変化に対して体液の浸透圧を一定に保てていなかった。

上流域に分布している種の測定結果は、図 8 のようになった。ユビアカベンケイガニ、アカテガニ、フタバカクガニは、どの塩分濃度の外液に対しても体液の浸透圧をほぼ一定に保っていた。クロベンケイガニは、0～0.3mol/L 程度の塩分濃度の外液に対しては体液の浸透圧をほぼ一定に保っていたが、0.4～0.5mol/L 程度の塩分濃度の外液に対しては体液の浸透圧が外液の塩分濃度に多少影響されていた。また、ユビアカベンケイガニは、外液の塩分濃度にかかわらず常に他の種より体液の浸透圧が高かった。

中流域に分布している種の測定結果は、図 9 のようになった。ヒメアシハラガニは、0～0.3mol/L 程度の塩分濃度の外液に対しては体液の浸透圧をほぼ一定に保っていたが、0.4～0.5mol/L 程度の塩分濃度の外液に対しては体液の浸透圧が外液の塩分濃度に多少影響されていた。ハクセンシオマネキは、0.2～0.3 mol/L 程度の塩分濃度の外液に対しては体液の浸透圧をほぼ一定に保っていたが、0.4～0.5mol/L 程度の塩分濃度の外液に対しては体液の浸透圧が外液の塩分濃度に多少影響されており、0mol/L の塩分濃度の外液に対しては生存できなかった。

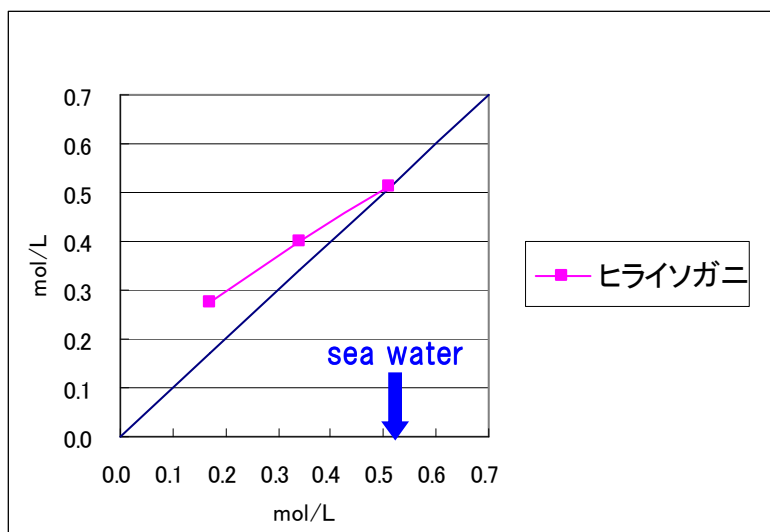


図 10 海域に分布する種の測定結果

IV 考察

1. 全域に分布する種について

ケフサイソガニは、どの塩分濃度の外液に対しても体液の浸透圧をほぼ一定に保っており、浸透圧調節能力が高いと考えられる。この浸透圧調節能力によって感潮域の上流部から下流部まで広範囲にわたっての生息が可能になっているといつてよい。

モクズガニは、感潮域からさらに上流の淡水域にも分布するが、成体は秋から冬にかけて繁殖のために海に下ることが知られている。このように、淡水と海水を行き来することができるのは、高い浸透圧調節能力を持つためであると考えられる。また、体液の浸透圧を常に他の種より低く保つことによって、エネルギーのロスを少なくしていることもうかがえた。

カクベンケイガニは、基本的に浸透圧調節能力が高いが、外液が低塩分濃度の時は浸透圧調節機能がやや低いことがうかがえる。カクベンケイガニは、全域に分布するといつても上流域には個体数が少なく、低塩分濃度の外液にさらされることが少ない中流域から下流域に多く分布している。これは、低塩分濃度の外液に対する浸透圧調節機能があまり発達していないからだろう。

ヤマトオサガニは、主に感潮域の中流域から下流域まで分布しており、上流域にも多少分布している。しかし、ヤマトオサガニは、中・高塩分濃度の外液に対しては一定の調節能力を持ちながら、外液の塩分濃度が 0mol/L の時は死亡している。感潮域上流域では 1 日のうち何度か 0mol/L に近い塩分濃度の水にさらされているが、分布していることを考えると、長時間にわたらない場合は耐え

海域に分布するカニの結果は、図 10 のようになった。ヒライソガニは、どの塩分濃度の外液に対しても体液の浸透圧が外液の塩分濃度に影響されていた。0mol/L の塩分濃度の外液に対しては生存できなかった。

ることができるのだろう。

チゴガニ、コメツキガニは、全域に分布し、かなり多数の個体が生息しているため、浸透圧調節能力が高いと予想していたが、測定結果は予想に反した。特に、低塩分濃度の外液にさらされたときに浸透圧調節機能が低かった。チゴガニ、コメツキガニは、外液が 0mol/L の環境では生存できないヤマトオサガニとは違い、外液に影響されつつも生存していた。外液の塩分濃度の低下に伴って、血液の浸透圧が低下しても、細胞内の浸透圧は維持するような仕組みがあるのだろうか。干潟の優占種ともいえるこの 2 種については、さらに研究をすすめていきたい。

2. 上流域に分布する種について

低塩分濃度の外液に対しては体液の浸透圧をほぼ一定に保ち、浸透圧調節能力が高いが、高塩分濃度の外液には対して体液の浸透圧を一定に保てず、浸透圧調節機能が低いと予想した。しかし、測定結果をみると、いずれの種においても浸透圧調節能力は比較的高かった。

フタバカクガニは、地盤高の高い岩の隙間や、干潟の干出した部分に広く生息しているが、時には、中潮亜帯にまで下がり、水に浸かっても平気であることを私たちは確認している。高塩分濃度の外液にさらされても体液の浸透圧を一定に保っていて、浸透圧調節能力が高かったのは、こういった生息状況と結びついているのだろう。

アカテガニは、干潟の干出した部分や支流の淡水の環境、時には田畑の水路などにも生息していて、夏の産卵期には河口域または海岸に下ることを私たちは確認した。高い浸透圧調節能力を持つことで、このような生息状況や生態を可能にしているのだと考えられる。

クロベンケイガニは、外液が高塩分濃度のときは体液の浸透圧が幾分上昇しており、浸透圧調節機能がやや低下していることが分かる。これは、クロベンケイガニが、満潮時と干潮時の塩分濃度の差が小さく、塩分濃度が常に低い上流域（図 5 参照）にしか分布しておらず、高塩分濃度の外液にさらされる下流域には全く生息していないことと合致している。

ユビアカベンケイガニは、どの塩分濃度の外液に対しても他の種より体液の浸透圧を高く保っていた。私たちが昨年の研究で、干潟で採集した直後に浸透圧を測定したときも、ユビアカベンケイガニの浸透圧は他の種よりかなり高かった。これは、ユビアカベンケイガニがほとんど水没することのない高潮帯のあたりに生息していることが関係しているのかもしれない。

3. 中流域に分布する種について

予想どおり、それぞれ種の分布域の塩分濃度と等しい塩分濃度付近の外液に対しては体内の浸透圧を一定に保っており、その濃度付近では浸透圧調節機能が高かった。

ヒメアシハラガニは、中・低塩分濃度の外液に対しては浸透圧調節機能が高いが、高塩分濃度の外液に対しては低かった。これは、上流域と中流域には適応能力が高いが下流域には適応能力が低いことを示している。このことは、ヒメアシハラガニは主に中流域に分布しているが、上流域にも多少分布していることを裏付けている。

ハクセンシオマネキは、中塩分濃度の外液に対しては浸透圧調節機能があるが、低塩分濃度の外液に対してはなく、高塩分濃度の外液に対しては低かった。これは、中流域には適応能力が高いが、上流と下流域には適応能力が低いことを示している。このことは、ハクセンシオマネキはほぼ中流域にしか分布していないことを裏付けている。

4. 海域に分布する種について

予想どおり、ヒライソガニは、体液の浸透圧が外液の塩分濃度に強く影響されており、浸透圧調節能力がほぼないことがわかった。ヒライソガニは浸透圧調節能力が無いため、常に外液の塩分濃度が一定である海域にしか分布していないのだろう。外液の塩分濃度が海水の濃度である約 0.5mol/L の時、体液の塩分濃度が外液とほぼ等しくなっていることから、ヒライソガニに浸透圧調節能力がないことがうかがえる。

IV 結論

感潮河川に生息するカニの種ごとの分布域は、底質や地盤高だけでなくそれぞれの種の浸透圧調節能力にも制限

されることが分かった。

V 展望

今回の研究で明らかにしたそれぞれの種の浸透圧調節能力は、今後、カニの種の保全にも役立てることができるだろう。また、今後は今回調査した 12 種だけでなく、さらに多くの種の浸透圧調節能力も調べ、研究を深めたい。

第3章 外液の濃度とエラのタンパク質の関係

I 予想

魚は、外液に対して体内の浸透圧を一定に保つために、体表、口、腸、えら、腎臓などの各器官を使っている。

一方、Matsushima et al., 1985 によると、ヤマトシジミは外液の濃度が変化した際、浸透圧調節の方法の 1 つとして、自らのエラの細胞内のタンパク質を分解・合成するらしい。

そこで、節足動物は軟体動物と系統的に近いので、カニについても同じ仕組みがあるのではないかと考えた。

つまり、カニを塩分濃度の低い外液に浸けると、体内の浸透圧を保つために、エラの細胞内の何らかのタンパク質を分解して細胞内のモル濃度を上げ、一方塩分濃度の高い外液に浸けると、逆のことは行わないのではないかと考えた。

そこで、塩分濃度の違う外液にカニを浸けると、タンパク質に変化がみられるのではないかと考えたのである。

II タンパク質の電気泳動実験の方法

器具：水槽、マイクロチューブ、マイクロピペット、ピンセット、解剖ばさみ、乳鉢、乳棒、パストゥールピペット、ビーカー、ガスコンロ、遠心分離器、1000mL メスシリンダー、泳動槽、電源装置、バット、ゴム手袋

薬品：人工海水の素、サンプルバッファー (Laemmli Sample Buffer)、2-メルカプトエタノール (還元剤)、高度純水、泳動バッファー (10x Tris/Glycine Buffer)、染色液 (Bio-Safe Coomassie)、標準タンパク質混合液 (Precision Plus Protein Standards)

材料：フタバカクガニ 12 個体

実験日：2013 年 8 月 22 日

- ① 実験材料には、採集した後、質量パーセント濃度 1, 2, 3% の人工海水と塩素を抜いた水道水にそれぞれ 3, 6, 48 時間浸けておいたフタバカクガニを、各濃

度につき 1 個体ずつ使用する。解剖ばさみとピンセットを使い、カニのエラを取り出す。フタバカクガニを測定に使用した理由は、第 2 章の結果から、浸透圧調節能力が高く、かつ体のサイズが大きいので、サンプルとなるエラが取りやすいからである。

カニを外液に 3, 6, 48 時間の間浸けた理由は、次のとおりである。私たちは、カニは 48 時間以内で浸透圧調節が完了していると考え、浸透圧の測定を行った。そこで、電気泳動に用いる材料についても同様に考え、48 時間後の個体を用いた。また、Matsushima et al., 1985 によると、ヤマトシジミは 24 時間以内にエラの細胞内の浸透圧調節を行うので、3 時間および 6 時間、各濃度の外液に浸けたカニを用いて泳動した。

- ② サンプルバッファー 950 μ L と 2-メルカプトエタノール 50 μ L をマイクロチューブに入れ、混合する。
- ③ カニのエラを乳鉢に入れ、②の混合液を加えて乳棒でよくすりつぶす。
- ④ ③をマイクロチューブに入れ、95℃で 5 分間湯煎する。
- ⑤ マイクロチューブに入ったサンプルを約 10 分間遠心分離し、上澄みと沈殿に分離する。
- ⑥ ゲルのコームを抜き、溝を高度純水か泳動バッファーで軽く洗浄する。泳動槽にゲルを装着し、⑤で遠心分離したサンプルの上澄みをゲルの溝に 10 μ L 程度入れる。
- ⑦ ゲルに挟まれた内側には上の縁まで、ゲルの外側にはゲ

ルの底が浸かるくらいまで、泳動バッファーを注ぎ入れる。

泳動バッファーには市販のものを高度純水で 10 倍希釈したものを用いる。

⑧ 100 V の電圧で通電する。泳動先端を確認しながら適当なときに通電を止める。

⑨ バットに入れた高度純水の中で、ゲルからプラスチックの板をはずす。ゲルを高度純水で 5 分間を 3 回、合計 15 分間洗浄する。

⑩ バットから高度純水を捨て、ゲルが浸かるくらい染色液を入れる。時々バットを揺らしながら、30 分間待つ。

⑪ 染色されたゲルを高度純水で 30 分間洗浄する。

III 結果

図 11 は、3, 6, 48 時間それぞれの濃度の外液に浸けたカニのエラの細胞内のタンパク質を電気泳動したものである。

全てのレーンに共通して見られる、中部のバンドを A とする。カニを 48 時間外液に浸けたとき、0%~3%のレーンにおいて、A の下部のバンドが次第に薄れている。また、A の下部のバンドが薄れるとともに、A のバンドは濃くなっている。しかし、カニを 3 時間および 6 時間、外液に浸けたときのレーンには、外液の濃度の違いによる目立った変化は見られなかった。

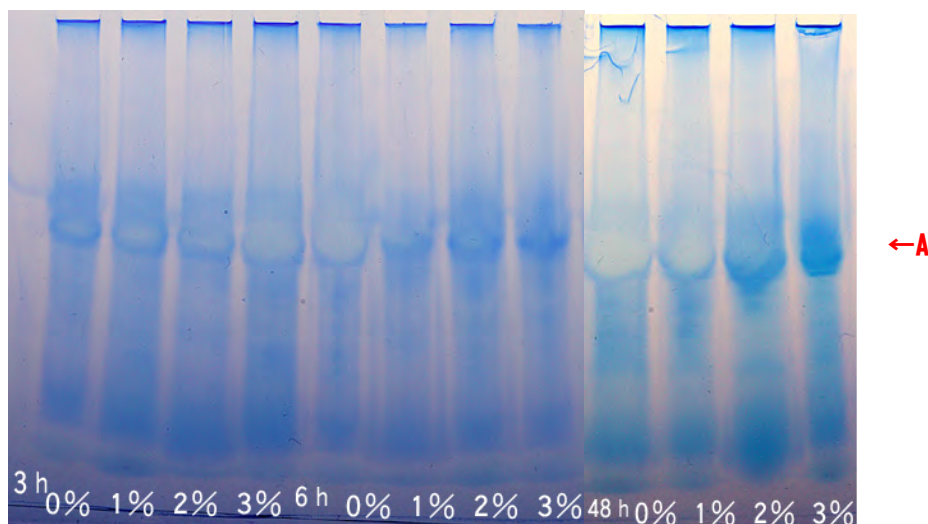


図 11 フタバカクガニのタンパク質の電気泳動の結果

IV 考察

フタバカクガニは、塩分濃度の高い外液に 48 時間浸けた場合は、予想どおり体内の浸透圧を保つためにエラの細胞内のタンパク質を合成し、モル濃度を下げているのでは

ないかと考えられる。逆に塩分濃度の低い外液に浸けるとエラの細胞内のタンパク質を分解し、モル濃度を上げていたと考えられる。

カニを 3 時間および 6 時間外液に浸けたときには、外液

の塩分濃度の違いによるバンドの変化がほとんど見られない。これは、3時間および6時間ではエラの細胞内のタンパク質の分解・合成による浸透圧調節はまだ至っていないと考えられる。

それ以外の時間カニを外液に浸けたときのタンパク質の変化も調べると、タンパク質の分解・合成による浸透圧調節に要する時間がわかるはずである。

V 課題

カニを外液に浸ける時間の間隔を縮めて泳動を行い、タンパク質の分解・合成に要する時間を調べたい。また、分布域や浸透圧調節能力の異なるその他の種のカニについても、浸透圧調節方法の1つとしてエラの細胞内のタンパク質を分解・合成しているのか調べたい。

謝辞

今回の研究では、たくさんの方々にご協力をいただきました。心から感謝します。

広島工業大学の松島治教授（前広島大学教授）には、浸透圧の測定方法とその技術について教わり、文献を複写していただき、そのうえ遠心分離器を2年にわたってお借りしました。また、タンパク質の電気泳動の実験方法を教わり、そのための実験器具をお借りし、薬品をいただきました。

トーヨー株式会社広島工場の西村滋工場長には、内径0.8mmのガラス管をたくさん無償で提供していただきました。このガラス管がなかったら、今回の浸透圧の研究はできませんでした。

太田川漁業協同組合からはモクズガニを無償で提供していただきました。

私たちの同級生である泰井久乃さんと竹森祥子さんにはカニの採集を手伝っていただきました。

私たち3人の家族は、研究の期間中温かく見守ってくれ、時に車での送迎や差し入れをしてくれました。

そして研究全般にわたって、ラボ・オルカの久家光雄塾長には最初から最後までご指導をいただきました。

参考文献

Osamu Matsushima et al.. 1985. Salinity-related changes in protein pattern of gill tissue in the brackish-water bivalve, *Cobocula japonica*. Special Publication of the Mukaishima Marine Biological

Station, pp243-250.

Schmidt-Nielsen, K. 1997. Animal Physiology. Adaptation and Environment, 5th edn. Cambridge University Press. Cambridge.

村本哲哉. 1997. スナガニ類の生理と生態-その陸上への適応戦略-. 大学印刷出版社

日本ベントス学会編. 2012. 干潟の絶滅危惧動物図鑑. 東海大学出版会

広島大学生物学会編. 1971. Illustrated animal anatomy. 森北出版株式会社

桑井はづき・土井原美桜・富永紗代. 2012. 広島デルタにすむカニの生態と生理（未刊）



コメツキガニ *Scopimera globosa*