

Y器官を除去したベンケイガニの 5脚除去による脱皮について

川崎医科大学 生物学教室

佐藤国康・松本邦夫・泰山浩司

(昭和58年9月16日受理)

On the Molting after Removal of Five Legs in the
Y-organ-ectomized *Sesarmops intermedium*

Kuniyasu SATOH, Kunio MATSUMOTO and Kouji YASUYAMA

Department of Biology, Kawasaki Medical School

Kurashiki 701-01, Japan

(Received on Sept. 16, 1983)

概 要

カニに脱皮を引きおこすには多脚の自切除去が有効な方法である。多脚自切後、カニは脚を再生し、脱皮する。一方、カニの脱皮は前胸部にある1対のY器官で作られ、そこから分泌される脱皮ホルモンにより引きおこされる。また、自切後に形成される再生芽はY器官からの脱皮ホルモンにより成長が促進されることが知られている。

著者らはY器官(脱皮ホルモン)がカニの脱皮や再生芽の脱皮前期における成長に及ぼす影響を調べる目的で、汽水産の雄のベンケイガニを用い、Y器官を除去した後、更に脱皮誘発刺激である5脚の自切除去をおこなった再生芽の成長と脱皮の有無を観察した。あらかじめ両側のY器官を除去していても、5脚の自切除去により、8匹中6匹のカニでは再生芽の成長が進み、脱皮が観察された。

この結果は5脚除去により脱皮を誘発したベンケイガニでは、Y器官は再生芽の脱皮前期の成長や脱皮には影響を及ぼしていないことを示している。

Abstract

In many species of crabs, the removal of multiple legs by autotomy induces leg regeneration and molting. Also, paired Y-organs in the prothoracic part produce a hormone which performs a positive role in the molting process. The molting hormone from Y-organs induces the growth of regenerated limb buds during the premolt period.

The effects of the removal of bilateral Y-organs on the growth of regenerated limb buds and on molting were examined in a brackish water crab, *Sesarmops intermedium*. In eight male crabs, the bilateral Y-organs were extirpated previous to removing five legs on the right side by autotomy. In six Y-organless crabs, the growth of regenerated limb buds during the premolt period was observed, and molting also occurred.

This indicates that the removal of bilateral Y-organs does not effect either the growth of regenerated limb buds after intermolt or molting in crabs in which molting has been induced by multiple autotomy.

緒 言

Skinner と Graham¹⁾ は *Gecarcinus maenus* で 6 または 8 脚の自切除去が次の脱皮の到来をはやめることを示した。そして、脱皮間期のカニに脱皮をおこさせるには 5 脚以上の多脚の自切除去が必要であることを報告した²⁾。

この後、多くのカニで、多脚の自切除去は脱皮誘発に有効な刺激であることが認められた^{3)~8)}。そして、多脚の自切除去はカニの脱皮誘発刺激として多くの研究室で用いられている。

著者らは汽水産のベンケイガニを用い、多脚の自切により一度脱皮させた脱皮後まもないカニでは、2 回目の多脚自切後誘発される 2 回目の脱皮は 1 回目の脱皮よりもはやめられ、自切後ほぼ一定期間後におこることを報告した⁹⁾。

一方、カニの脱皮は前胸部に位置する 1 対の Y 器官で作られ、そこから分泌される脱皮ホルモンにより引きおこされ、自切後形成される再生芽の脱皮前期における成長もこの脱皮ホルモンにより促進されることが知られている^{9), 9)~11)}。

本実験では、多脚自切により一度脱皮させた雄のベンケイガニを用い、Y 器官の脱皮ホルモンが脱皮や再生芽の脱皮前期の成長に及ぼす影響を調べる目的で、両側の Y 器官を除去した後に、脱皮を誘発する 5 脚 (右側) を自切除去し、形成される再生芽の成長と脱皮の有無を観察した。Y 器官を欠如しているにもかかわらず、8 匹中 6 匹のカニでは、再生芽の成長が見られ、脱皮が観察されたので報告する。

材 料 と 方 法

1982 年 7 月と 9 月に岡山市洲崎の旭川の河口で採集した汽水棲のベンケイガニ *Sesarmops intermedium* (de Haan, 1835) を材料とした。採集後、5 倍稀釈海水を浅く入れた容器にしばらく飼育した後、甲幅の最大幅が 20.0~21.0 mm の雄個体に脱皮に関する生理的状态を一定化するため、右側の 5 脚を自切させて一度脱皮させた後使用した。

1 回目の脱皮の 10 日後に次の方法により Y 器官を摘出した。厚さ約 1.5 cm の発泡スチロールの 2 枚の板 (約 3 × 6 cm) の間にカニをゴムバンドで固定した。実体顕微鏡下で Y 器官が位置する前胸の甲殻に前面から電気ドリルで直径約 1.5 mm の孔を開けた。そして、先を細くしたピンセットで表皮を除去し、露出した Y 器官をすくいとるように除去した。両側の Y 器官を同時に摘出し、傷つけた孔は血液の損失を防ぐため小さなビニールの小片でおおった。

Y 器官摘出後、すぐにあるいは 10 日目および 20 日目に右側の 5 脚を自切させて除去した。そして、Y 器官を摘出しない個体を対照とし、実験個体とともに次の方法により飼育した。

カニは水が通るよう底部にたくさんの小孔を開けた小容器 (約 10 × 10 × 10 cm) 内に、底に薄く砂を敷き、1 個体ずつ入れ、この小容器を底に浅く 5 倍稀釈海水が入るように深さ約 30 cm の大きな容器 (約 40 × 60 × 30 cm) 内に設置し、市販の淡水魚用の餌 “ミニペット” を 1 個体当たり 1 日に 3 粒ずつ与えて飼育した。稀釈海水と砂はときどき新しいものと交換し、水温はサーモスタット付ヒーターで加温することにより約 25°C に保った。

脚の自切除去後、自切面に形成される再生芽のうち第3脚のものの長さを1週間ごとに目盛りの付いた拡大鏡で計測した。再生芽の大きさはR値：(再生芽の長さ÷最大甲幅)×100で示した。

また、Y器官の摘出の成否は、摘出したY器官およびY器官除去部位については脱皮後にフォルマリン固定し、10% EDTA水溶液で脱灰した後厚さ10 μ mのパラフィン連続切片にし、アザン染色をして、光学顕微鏡下で調べ確認した。また、死個体については死後すぐに実体顕微鏡下で解剖し調べ、Y器官のないことを確認した。

結 果

1. 5脚除去による脱皮誘発

採集後に右側の5脚を除去することにより1回目の脱皮を誘発した6匹のカニは、失ったすべての脚の自切面に再生芽を形成し、そしてすべてのカニが脱皮をした(第1表)。5脚除去から脱皮までに要した日数は31~122日(中央値69日)である。第1図に示すように長い日数を要した個体では短いものの約4倍もの日数を要している。この多脚除去から脱皮までに要する日数の差は、各個体の脱皮に関する生理状態の差によるものと考えられる。

ところが、多脚除去により一度脱皮させたカニでは、1回目の脱皮後10日目に再び多脚除去し脱皮を誘発すると、次の2回目の脱皮は短縮することが知られている⁸⁾。1回目の脱皮を完了した6匹で、脱皮の10日後に再び右側の5脚を自切させ除去した結果、前回と同じようにすべての自切面に再生芽が形成され、6匹すべてに脱皮が観察された(第1表、第1図)。2回目の脱皮では5脚除去から脱皮までの日数は32~45日(中央値39日)であり、1回目の脱皮の場合より短縮され、脚除去後はば一定期間後に脱皮が観察された。第2図に示すように右の第3脚の再生芽は脱皮するまで中断することなく成長した。

Table 1 Effects of removal of bilateral Y-organs on molting in crabs in which molting has been induced by multiple autotomy

Group	No. of animals	Carapace width (mm)	Treatment	No. of molted animals	Days before molt
1	6	20.7±0.2	5 L. A.*	6	31, 49, 50, 88, 107, 122
2	6	21.4±0.2	5 L. A. on the 10th day after molting	6	32, 38, 39, 39, 41, 45
3	1	21.1	5 L. A. on the day of removal of Y-organs	1	67
4	4	20.8±0.3	5 L. A. on the 10th day after removal of Y-organs	3	35, 48, 66
5	3	20.9±0.3	5 L. A. on the 20th day after removal of Y-organs	2	61, 69

*L. A.=Leg autotomized

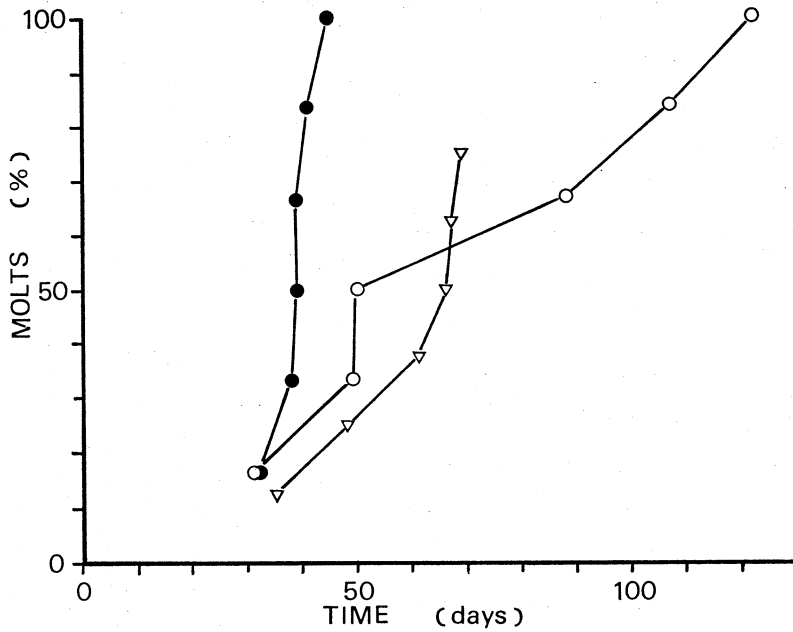


Fig. 1 Graph showing the percentage of male animals which underwent molting after multiple autotomy. Animals were caused to autotomize five legs on the right side on the day indicated by 0. ○: Six animals were caused to autotomize legs in September ●: 6 animals were caused to autotomize legs on the tenth day after the experimentally induced molting ▽: 8 Y-organless animals were caused to autotomize legs.

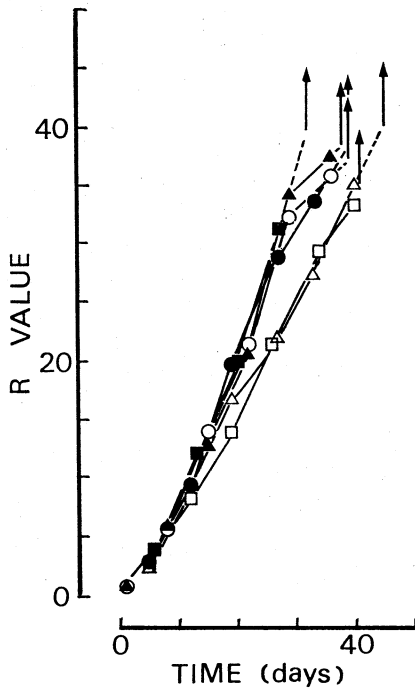


Fig. 2 Growth of regenerates after multiple autotomy. Six animals were caused to autotomize five legs on the right side on the tenth day after the experimentally induced molting. Molting of each animal is indicated by an arrow. Treatment was done on the day indicated by 0.

Y器官摘出実験には多脚除去から脱皮までの期間が一定する多脚除去により1回脱皮させた個体を用いた。

2. Y器官除去個体の5脚自切による脱皮

右側の5脚を自切することにより、一度脱皮させたベンケイガニ8匹を用いた。8匹すべての個体で1回目の脱皮後10日目にY器官の摘出をおこなった。この内1匹はY器官を摘出した日に右側の5脚を自切により除去した。残りの7匹のうち4匹はY器官摘出後の10日目に、3匹は20日目に右側の5脚を自切させた。

第1表および第1図に示すように、2匹のカニは脱皮することなく5脚除去後19日目と154日目に死んだが、残りの6匹のカニは自切したすべての自切面に再生芽を形成し、脱皮した。Y器官除去ガニの脚除去から脱皮までに要した日数は35~69日(中央値63.5日)であり、Y器官をもつ対照より少し長い日数である。

Y器官と5脚を除去されたカニの第3脚の再生芽は対照群のものと同じように脱皮前期にその成長がみられ、脱皮後には脚の再生が観察された(第3および4図)。

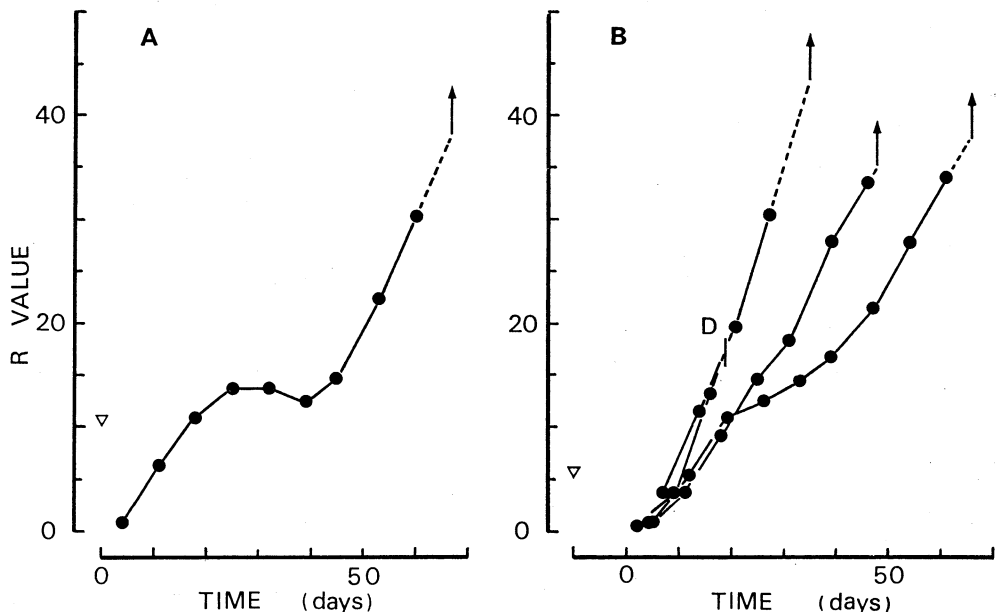


Fig. 3 Growth of regenerates after multiple autotomy in Y-organless animals. Animals were caused to autotomize five legs on the day indicated by 0. In one animal the Y-organs were removed on the day of multiple autotomy (A). In four animals the Y-organs were removed on the tenth day before multiple autotomy (B). Molting of each animal is indicated by an arrow. One of the animals died 19 days after multiple autotomy (D).

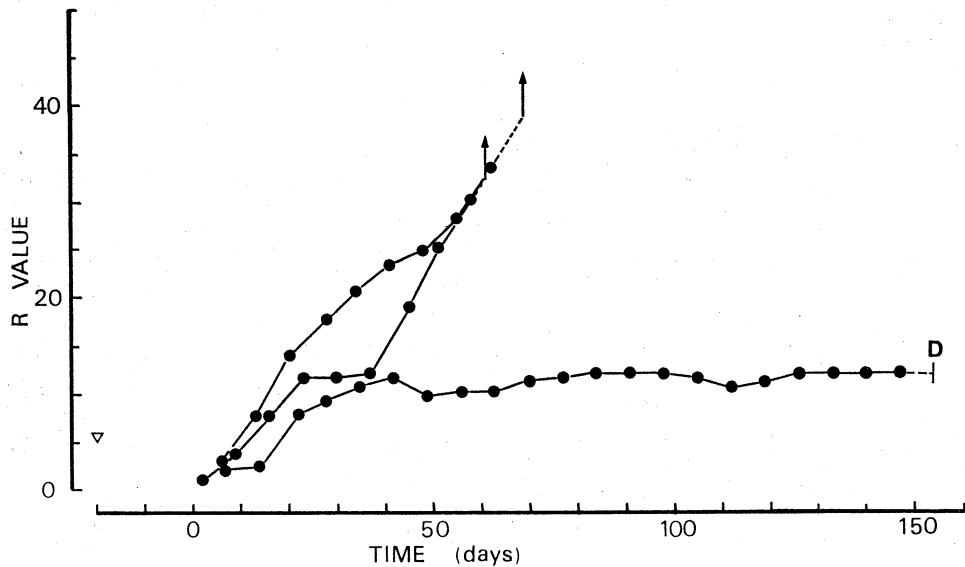


Fig. 4 Growth of regenerates after multiple autotomy in Y-organless animals. Animals were caused to autotomize five legs on the day indicated by 0. In all animals the Y-organs were removed on the twentieth day before multiple autotomy. Molting of each animal is indicated by an arrow. One of the animals did not reach molting and died 154 days after multiple autotomy (D).

考 察

甲殻類のカニでは脱皮は前胸部にある対をなしたY器官で産生されそこから分泌される脱皮ホルモンにより引きおこされること、また、このホルモンは再生芽の脱皮前期の成長を促進していることが知られている^{9),11)}。

この考えを明らかに示す実験が Passano と Jyssum¹⁰⁾ により報告された。彼らは *Sesarma reticulatum* を用い、両眼柄を切除すると脱皮がおこること、更に両眼柄と共に2つのY器官を除去すると脱皮がおこらず、また再生芽の成長は基再生 (basal growth) に止まり以後の成長をしないこと、そしてこのカニに活性化したY器官を移植すると再生芽の成長 (premolting growth) がはじまり、やがて脱皮することを示した。

本実験に用いたベンケイガニ (*Sesarmops intermedium*) では、両方のY器官を失っても、再生芽は成長を続け、そして脱皮が観察された (第3および4図)。この結果は多脚の除去により一度脱皮させたベンケイガニではY器官は脱皮に不可欠の器官ではないことを示している。

脱皮を抑制している両眼柄を切除すると、脱皮はY器官の有無に左右されるが、両眼を切除しない本実験では両側のY器官を除去しても、脱皮が引きおこされた。このことはY器官以外にも脱皮をおこさせる物質の生産部位 (組織あるいは器官) が存在することを示唆している。

カニの脱皮におけるY器官の役割を知るには、多脚除去したカニでの眼柄やY器官の除去や移植等によるさらに多くの実験結果が必要であろう。

参 考 文 献

- 1) Skinner, D. M. and D. E. Graham (1970) Molting in Land Crabs: Stimulation by Leg Removal. *Science* **169**: 383-385.
- 2) Skinner, D. M. and D. E. Graham (1972) Loss of Limbs as a Stimulus to Ecdysis in Brachyura (True Crabs). *Biol. Bull.* **143**: 222-233.
- 3) Holland, C. A. and D. M. Skinner (1976) Interactions between Molting and Regeneration in the Land Crab. *Biol. Bull.* **150**: 222-240.
- 4) Weis, J. S. (1976) Regeneration in the Fiddler Crab, *Uca pugilator* after Injury or Removal of Limb Buds. *J. Exp. Zool.* **197**: 21-30.
- 5) Lee, P. H. and J. S. Weis (1980) Effect of Magnetic Fields on Regeneration in Fiddler Crabs. *Biol. Bull.* **159**: 681-691.
- 6) Suzuki, S. (1980) The Effects of Leg-Removal to the Molting of the Crab, *Sesarma (Holometops) haematocheir* (H. Milne Edwards). *Reser. on Crustacea*. No. 10. 61-68.
- 7) Kurup, K. N. P. and R. G. Adiyodi (1981) The Programming of Somatic Growth and Reproduction in the Crab, *Paratelphusa hydrodromous* (Herbst). *Int. J. Invert. Reprod.* **3**: 27-39.
- 8) 佐藤国康・松本邦夫 (1981) ベンケイガニの多脚自切除去による脱皮誘発. *川崎医学会誌一般教養篇* 7号: 77-88.
- 9) Bliss, D. E. (1960) Autotomy and Regeneration. *The Physiology of Crustacea*, vol. 1, ed. by T. H. Waterman, Academic Press, New York and London, pp. 561-589.
- 10) Passano, L. M. and S. Jyssum (1963) The Role of the Y-organ in Crab Proecdysis and Limb Regeneration. *Comp. Biochem. Physiol.* **9**: 195-213.
- 11) McCarthy J. F. and D. M. Skinner (1977) Proecdysial Changes in Serum Ecdysone Titers, Gastrolith Formation, and Limb Regeneration following Molt Induction by Limb Autotomy and/or Eyestalk Removal in the Land Crab, *Gecarcinus lateralis*. *Gen. Comp. Biochem. Physiol.* **33**: 278-292.