

ザリガニの体色変化と β カロテン量の関係 関本 樹

1. 背景

アジやサバ、ジャガイモなどカロテン量の少ないエサを与えると、脱皮を繰り返すごとにザリガニの体色が青色になり、そして白色へと変化する。この色の変化は一般的に「体色変化」と呼ばれており、たくさんの研究例がある中、どれもカロテンの量が原因で起こる変化であると結論づけている。



図 1 体色変化によって生じた青のアメリカザリガニ

2. 先行研究

ザリガニの体色は青、紫、赤色の 3 種類のカロテノプロテインとカロテノイドの共存によると報告されている。

3. 研究目的

ザリガニの体色変化の過程で現れる青色の状態と、その青色を維持するのに必要なカロテノイド量との関係を明らかにした。本実験はカロテノイドの一種である β カロテンを用いて実験を行った。

4. β カロテン (beta-Carotene)

分子式： $C_{40}H_{56}$ /分子量：536.87/水、グリセリン等には不溶で、油脂に可溶。

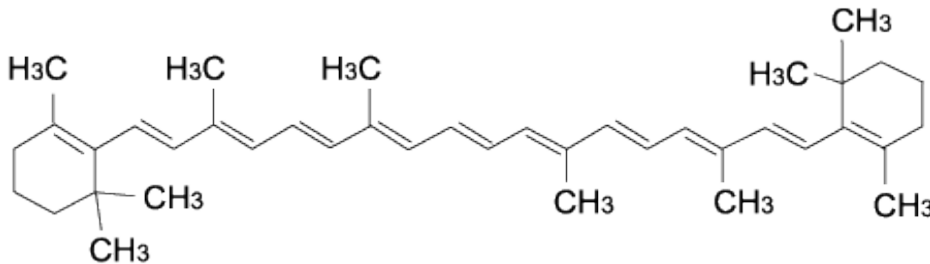


図 2 β カロテンの分子量とその粉末



5. 予備実験

〈目的〉 β カロテンの有無によるザリガニの体色変化を明らかにした。

〈方法〉4cm ほどのアメリカザリガニを 3 匹用意した。

それぞれの個体を以下の条件で飼育し、3 か月間観察した。

個体 I と II：アジの干物 (β カロテン無し)

個体 III：水草、タニシ (β カロテン有り)

※個体 I と個体 II は信憑性を上げるため同条件で二匹を飼育

〈結果〉

個体 I



個体 II



個体 III



図 3 個体 I と個体 II、個体 III の実験前の個体と 3 か月後の個体

βカロテンを含まない餌だけを与えた個体Ⅰと個体Ⅱは、褐色から白へと体色に変化した。また、脱皮回数は、個体Ⅰと個体Ⅱは5回であるのに比べて個体Ⅲは7回だった。また、個体Ⅲは個体Ⅰ、個体Ⅱよりも大きく育った。

〈考察〉

参考文献の「ザリガニの食と変色」ではアジを食べさせることで、体色が赤色から青、青から白へと変化したと書かれていた。本実験で使用したザリガニは褐色の個体であり、青を通さず白へと変化した。このことから、褐色の個体にβカロテンを含まないアジを与えると青にはならないと結論づけた。

6. 本実験（実験期間：8/3～9/16）

〈目的〉ザリガニの体色が青色になるのに必要なβカロテン量を明らかにした。

- ① 4cm前後のアメリカザリガニを100匹購入し、それらの中から同じ体重・体長をした個体を34匹選定し、そのうち2匹を予備とした。
- ② 4匹を1群として32匹を8つの群に分けた。
- ③ 水槽（45cm×30cm×25cm）を16個用意し、クリアファイルを用いて1つの水槽を2つに区切ることで一つの水槽で2匹を別々に飼育できるようにした。
- ④ 餌に含まれるβカロテンの含有量を右表のように変化させたエサを作った（→【エサの作製】を参考）。
- ⑤ 食べ残したエサに含まれるβカロテン量を求めるために、食べ残しは取り出して重さを量り、記録した。
- ⑥ 実験開始8/3から11日目の8/13、18日目の8/20、25日目の8/27、45日目の9/16に合計4回各個体の体色を色彩色査計（コニカミノルタ社 CR-300）用いて、図4のように全個体3箇所ずつ計測してその平均をとった。

※脱皮殻はすべて水槽から取り出した。

【エサの作製】

〈準備物〉

- グルテン（図5-A）・・・薄力粉から抽出したタンパク質。
- 粉末状態のアジ（図5-B）・・・アジの干物をミルサーで粉砕。
- ザリガニフード（図5-C）・・・ザリガニのエサ（製造販売元：キョーリン）



5-A



5-B



5-C

図5 βカロテン量を計測した資料

- βカロテン(図2)

	アジの干物	グルテン	ザリガニフード
水分含有時の質量(g)	6.932	20.201	6.600
乾物状態での質量(g)	6.001	6.035	6.008
吸光度の平均(Abs)	0	0	0.050
乾物状態のβカロテン含有量(mg/g)	0	0	0.150

表2 βカロテン量の計測（→参考文献）

	1gあたりのβカロテン量 (mg/g)	45日間に与えるβカロテン量の合計(mg)
1群	0	0
2群	0.025	0.9
3群	0.050	1.8
4群	0.075	2.7
5群	0.100	3.6
6群	0.125	4.5
7群	0.150	5.4
8群	0.175	6.3

表1 各1群～8群に与えたβカロテン量

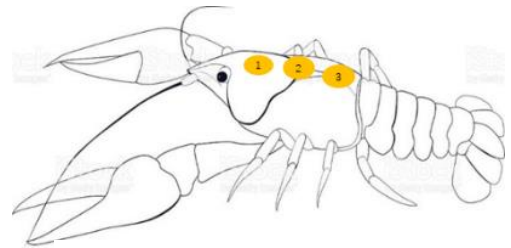


図4 生体の体色の計測ポイント

〈作り方〉

アジの干物を、ミルサーを使って粉末状態にしたもの 0.3g と β カロテン（粉末）を乳鉢と乳棒を用いて混ぜ合わせた。それらをグルテン 0.5g に練りこんだ。

ザリガニフードだけで飼育した個体は赤色となっているので、ザリガニフードに含まれる β カロテン量と同じ量を 7 群に与える β カロテン量と設定し、各群に与えるエサに含ませる β カロテン量を決定した。

(表 1)

【L*a*b*色空間】

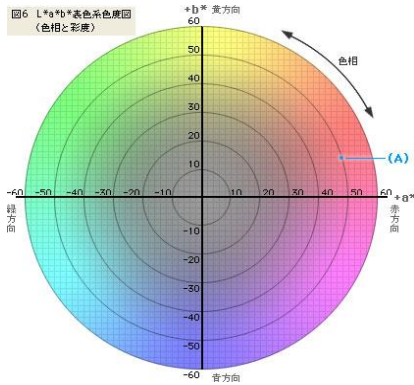


図 6 L*a*b*色空間色度図

本研究では、ザリガニの体色を表現する方法として、色彩色査計を用いて L^* 、 a^* 、 b^* を求め、 a^* と b^* を基にしてザリガニの体色変化を観察した。

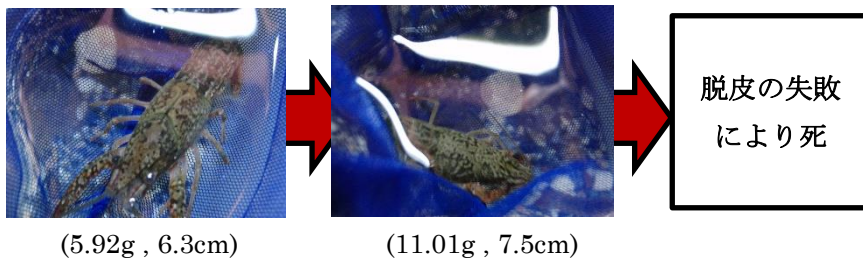
L^* 、 a^* 、 b^* 色空間では、明度を L^* 、色度を a^* 、 b^* で表している。図 6 は、 L^* 、 a^* 、 b^* 色空間色度図である。図から分かるように、 a^* 、 b^* は、色の方向を示しており、 a^* は赤方向、 $-a^*$ は緑方向、そして b^* は黄方向、 $-b^*$ は青方向を示している。数値の絶対値が大きくなるに従って色あざやかになり、中心になるに従ってくすんだ色になる。

〈結果〉

図 7 は、実験開始 8/3 から 11 日目(8/13)、18 日目(8/20)、25 日目(8/27)、45 日目(9/16)に撮影した。4 個体を観察したが、脱皮回数の多かった 2 個体を載せた。その 2 個体のうち片方を個体 IV、もう片方を個体 V とした。個体 IV、個体 V の変化は以下のようになった。

【1 群】

個体 IV



個体 V

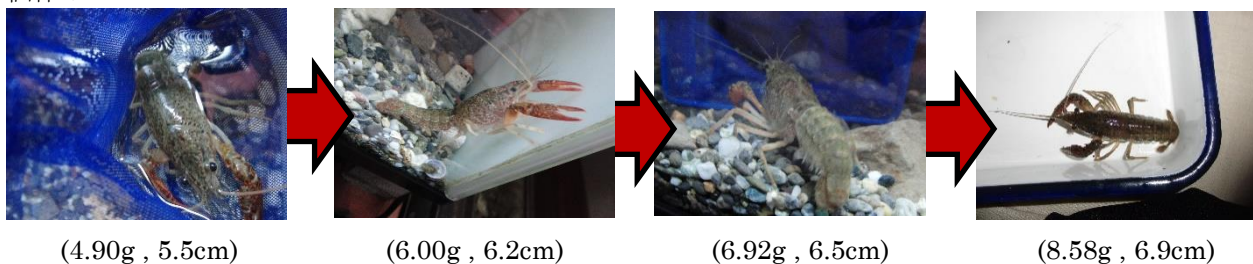


図 7 実験開始から 11 日目、18 日目、25 日目、45 日目に撮影した 1 群の個体の写真 (各写真下は (体重・体長) を示した)

他の 2 匹の個体は個体 IV と同じく、脱皮の失敗により死んだ。

〈考察〉

図 8 は実験開始から 11 日目(8/13)、18 日目(8/20)、25 日目(8/27)、45 日目(9/16)に色彩色差計で計測した色の変化を a^* 、 b^* を基準に表した。この散布図から、8/3～9/16 日にかけて、個体の色はほとんど変化していないことがわかった。よって、エサに β カロテンが含まれていないと、脱皮回数が少なくなり、体色を変化させる

ことができないものと考えられた。また、βカロテンを含まないエサばかりを与えることで脱皮に失敗しやすくなる傾向にあった。このことから、βカロテンはザリガニの殻を形成するのに必須な成分ではないかと推察された。

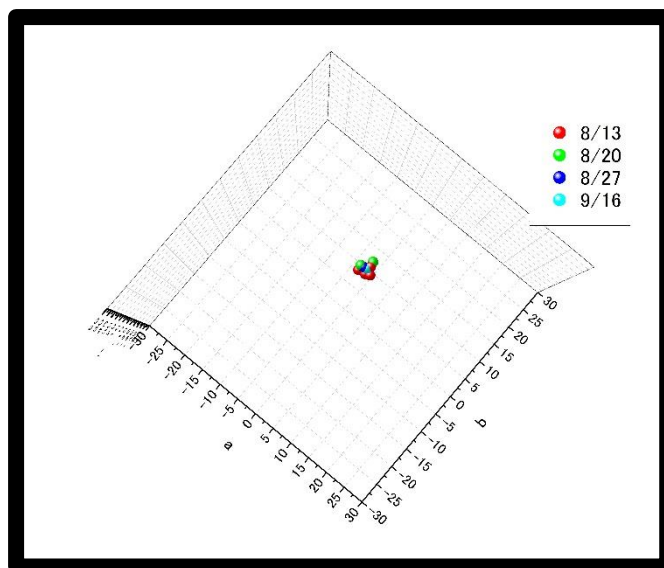
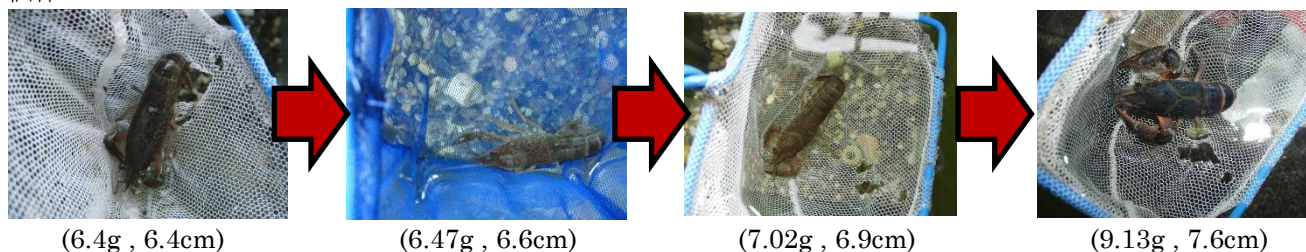


図8 1群の4個体の体色の推移を散布図で表した図

【2群】

個体VI



個体VII

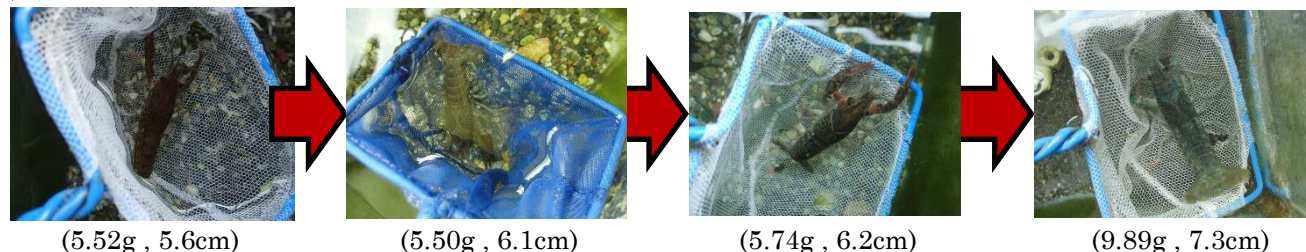


図9 実験開始から11日目、18日目、25日目、45日目に撮影した2群の個体の写真
(各写真下は(体重・体長)を示した)

脱皮回数が多かった個体では、個体VIと個体VII共にどちらとも4回の脱皮を行った。しかし、その他の2匹は脱皮回数2回で体色の変化がなかったため写真は載せていない。個体VIの摂取したβカロテン量は0.80mg、個体VIIの摂取したβカロテン量は0.79mgであった。

〈考察〉

図10は実験開始から11日目(8/13)、18日目(8/20)、25日目(8/27)、45日目(9/16)に色彩色差計で計測した体色の変化をa*-b*を上から見たところを示したものである。この図から、8/3~9/16日にかけて、青方向へと変化する個体が2匹いた。よって、個体VIと個体VIIから、エサに含まれるβカロテン量が0.80mg、0.79mgに近い値である場合、体色を青色へと変化させる可能性は低いと結論づけた。

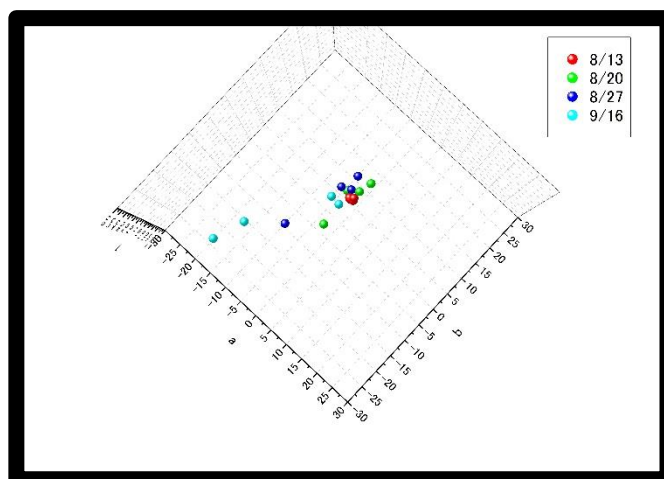
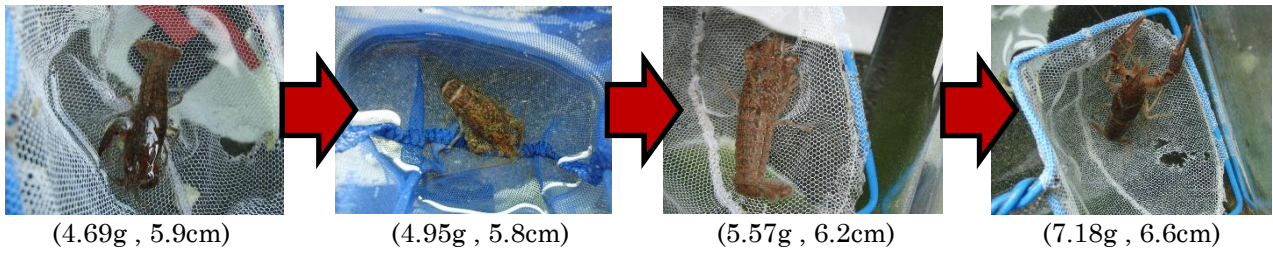


図10 2群の4個体の体色の推移を散布図で表した図

【3群】

個体Ⅷ



個体Ⅸ

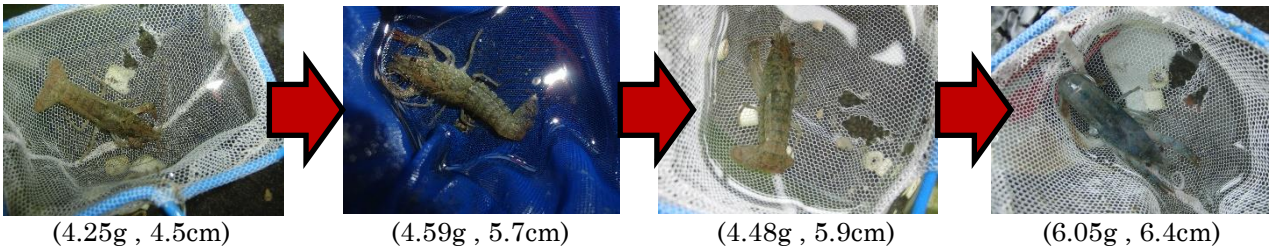


図 11 実験開始から 11 日目、18 日目、25 日目、45 日目に撮影した 3 群の個体の写真
(各写真下は (体重・体長) を示した)

個体Ⅷは 4 回の脱皮を行い、個体Ⅸでは 3 回脱皮を行った。もう 2 匹は 3 回脱皮したが個体Ⅸと同じく、色の変化が見られなかったため写真を載せていない。個体Ⅷの摂取したβカロテン量は 1.43mg、個体Ⅸの摂取したβカロテン量は 1.5mg であった。
(考察)

図 12 は実験開始から 11 日目(8/13)、18 日目(8/20)、25 日目(8/27)、45 日目(9/16)に色彩色差計で計測した体色の変化を $a^* \cdot b^*$ で表した。図 12 から、4 匹のうち 1 匹が青方向へと体色に変化した。しかし、それ以外の 3 個体は色の変化がほとんどなかった。よって、βカロテン摂取量が 1.43mg、1.5mg に近い値である場合、必ずしも青色に変化するということではないと結論づけられた。

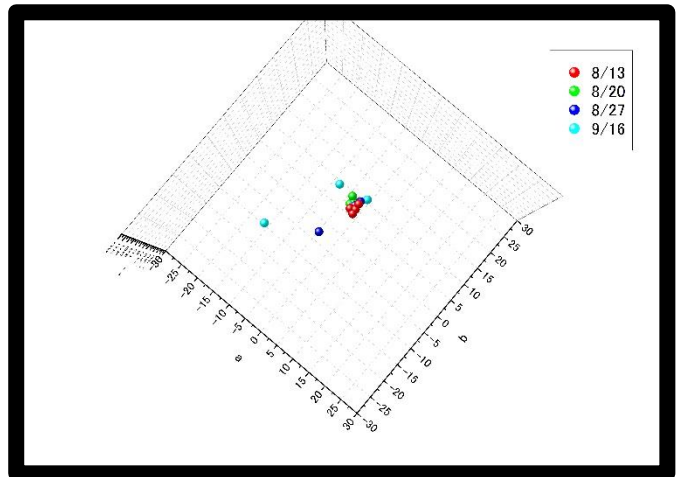
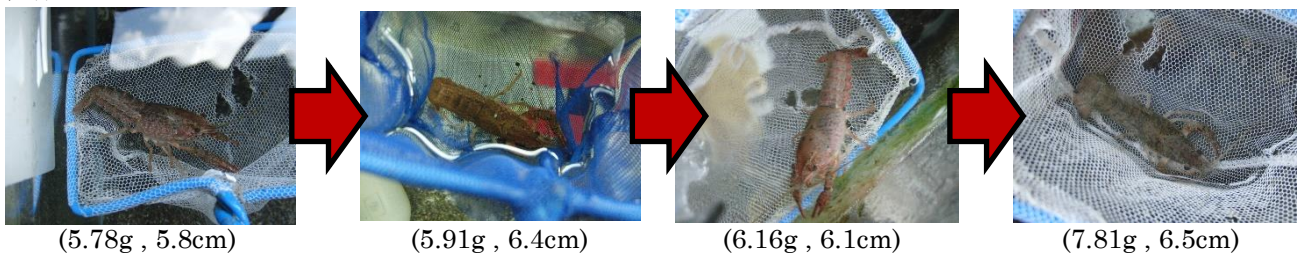


図 12 3 群の 4 個体の体色の推移を散布図で表した図

【4群】

個体Ⅹ



個体Ⅺ

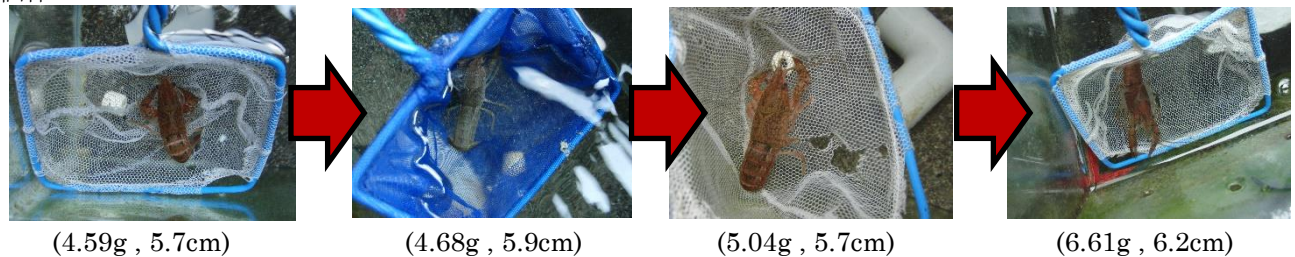


図 13 実験開始から 11 日目、18 日目、25 日目、45 日目に撮影した 4 群の個体の写真
(各写真下は (体重・体長) を示した)

個体X、個体XIは4回の脱皮を行った。また、個体Xの摂取したβカロテン量は2.44mg、個体XIの摂取したβカロテン量は2.37mgであった。しかし、それ以外の3個体は色の変化がほとんどなかったため、写真は載せていない。

〈考察〉

図14は実験開始から11日目(8/13)、18日目(8/20)、25日目(8/27)、45日目(9/16)に色彩色差計で計測した色の変化をa*・b*で表した。それぞれの個体の体色は黄色方向と赤方向へと変化した。今回与えたβカロテン量が個体の体色を黄色方向かつ赤方向へと変化させる可能性が考えられた。

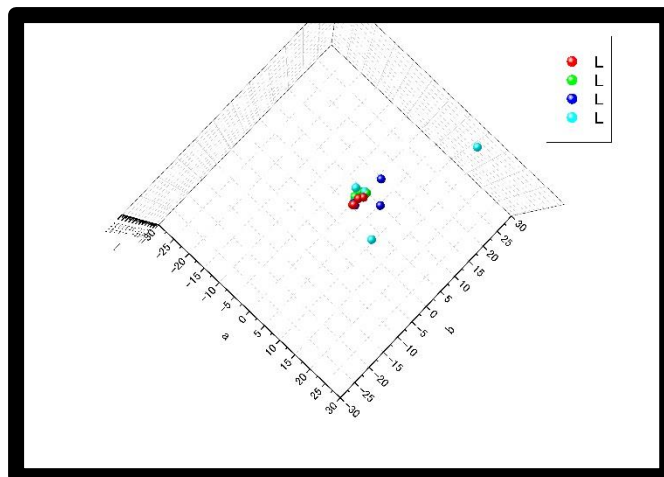
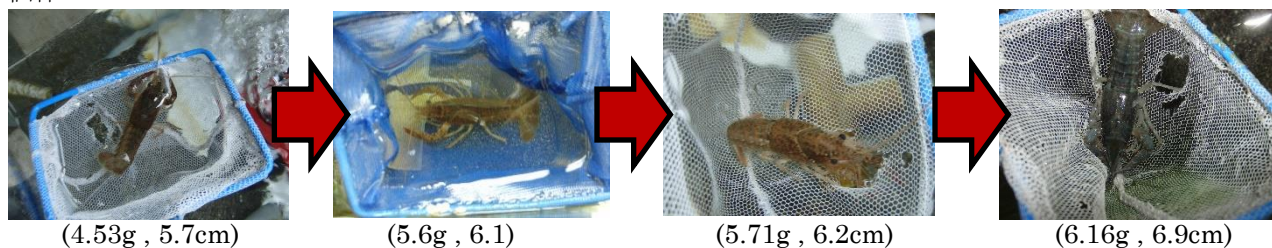


図14 4群の4個体の体色の推移を散布図で表した図

【5群】

個体XII



個体XIII

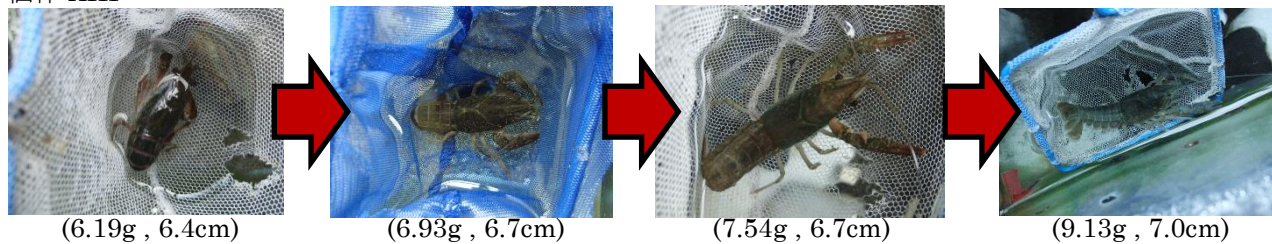


図15 実験開始から11日目、18日目、25日目、45日目に撮影した5群の個体の写真
(各写真下は(体重・体長)を示した)

個体XIIは4回の脱皮を行い、個体XIIIでは3回脱皮を行った。また、個体XIIの摂取したβカロテン量は3.15mg、個体XIIIの摂取したβカロテン量は3.27mgとなった。

〈考察〉

図16は実験開始から11日目(8/13)、18日目(8/20)、25日目(8/27)、45日目(9/16)に色彩色差計で計測した色の変化をa*・b*を基準に表した。図16より、赤方向へと変化した個体が1匹見られたが、それ以外の個体はすべて青方向へと変化した。このことから、βカロテンを摂取させて個体を青くさせるには3.15mg、3.27mgに近い量のβカロテンを与える必要があると考えられた。

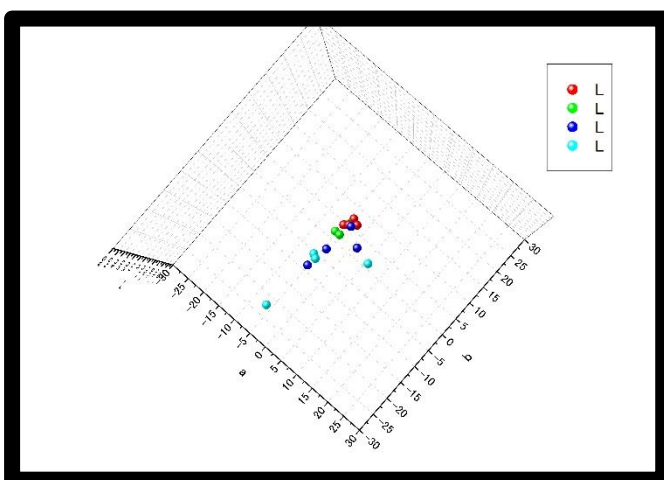
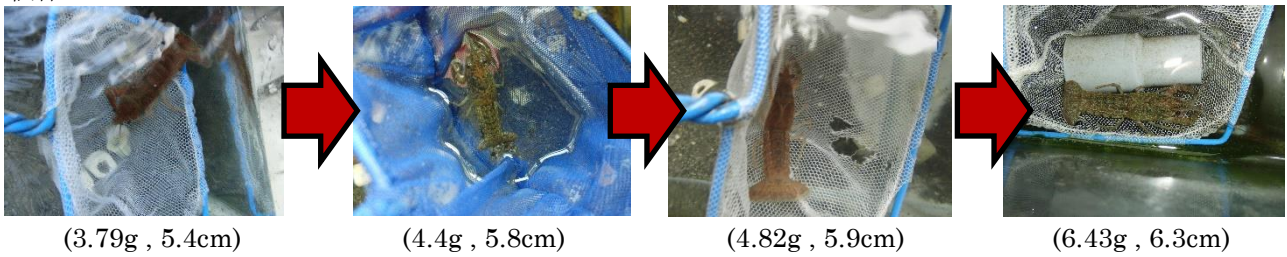


図16 5群の4個体の体色の推移を散布図で表した図

【6群】
 個体 XIV



個体 XV

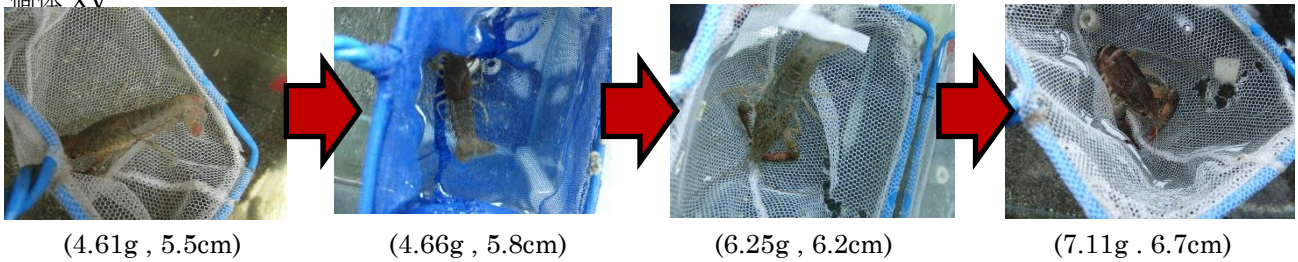


図 17 8/13、8/20、8/27、9/16 に撮影した 6 群の個体の写真 (各写真下は (体重・体長) を示した)

個体 XIV は 4 回の脱皮を行い、個体 XV では 3 回も脱皮した。また、個体 XIV の摂取した β カロテン量は 3.87mg、個体 XV の摂取した β カロテン量は 3.83mg となった。しかし、それ以外の 2 個体は色の変化がほとんどなかったため、写真は載せていない。

〈考察〉

図 18 は実験開始から 11 日目(8/13)、18 日目(8/20)、25 日目(8/27)、45 日目(9/16)に色彩色差計で計測した色の变化を $a^* \cdot b^*$ で表した。赤方向に著しく变化した個体はおらず、黄色方向へと变化した個体、青方向へと变化した個体が見られた。その原因として、 β カロテンの量を正しく与えられていなかったこと、または、6 群で与えた β カロテン量が個体の色を黄色方向かつ赤方向へと変化させる可能性が考えられた。

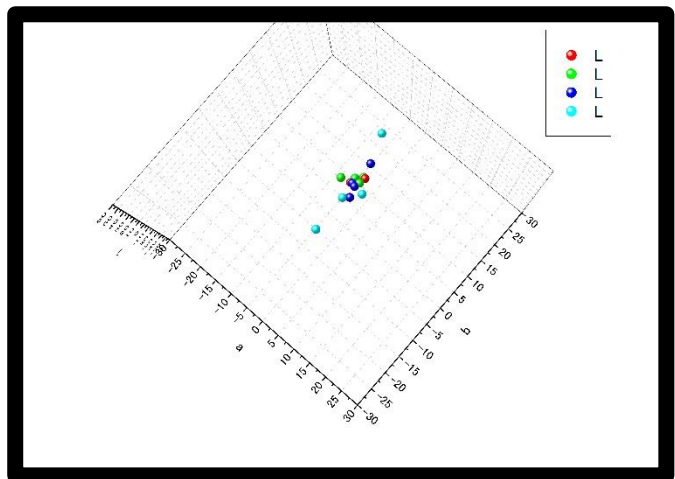
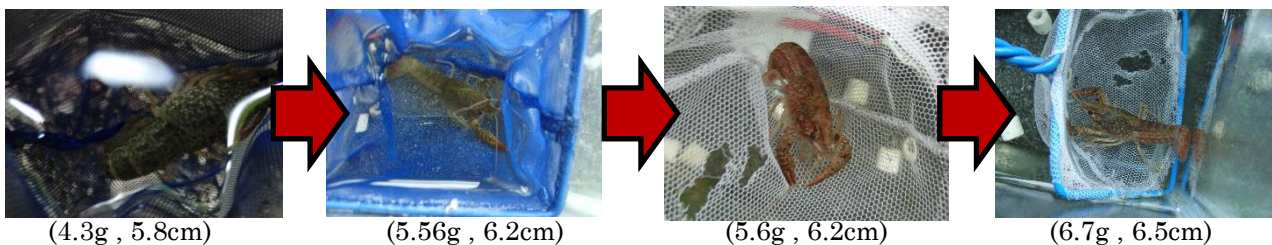


図 18 6 群の 4 個体の体色の推移を散布図で表した図

【7群】
 個体 XVI



個体 XVII

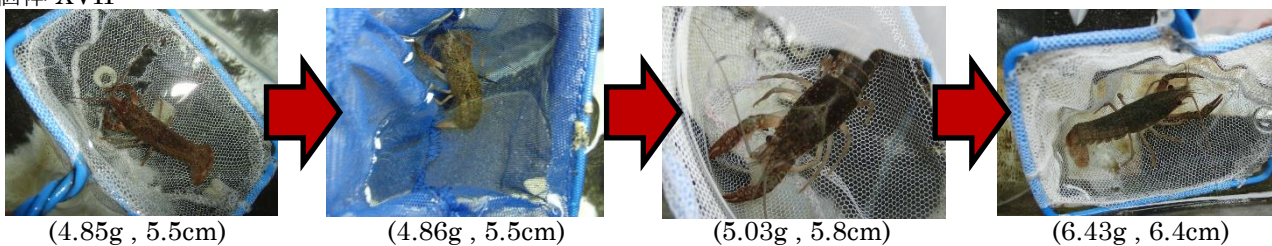


図 19 実験開始から 11 日目、18 日目、25 日目、45 日目に撮影した 7 群の個体の写真 (各写真下は (体重・体長) を示した)

個体 XVI は5回の脱皮を行い、個体 XVII では4回脱皮を行った。また、個体 XVI の摂取したβカロテン量は4.1mg、個体 XVII の摂取したβカロテン量は4.12mgとなった。しかし、それ以外の2個体は個体 XVII と同じく色の変化がほとんどなかったため、写真は載せていない。

図 20 は実験開始から 11 日目(8/13)、18 日目(8/20)、25 日目(8/27)、45 日目(9/16)に色彩色差計で計測した色の変化を a^*b^* で表した。この変化から、1匹は赤方向へと変化した但那以外は、脱皮をしているにもかかわらず体色は黒色のままであった。目視からは、爪先が赤みを帯び始めた個体が確認できた。

〈考察〉

結果から、与えたエサに含まれるβカロテン量が、脱皮殻に含まれるβカロテン量に近いためにこのような変化が起こったと推察された。また、体色を青色に維持するのに必要なβカロテン量を超えているために体色が赤みを帯び始めたと推測され、個体 XVI と個体 XVII の体の大きさに対する4.1mg、4.12mgのβカロテン摂取量は青色に維持するためには多すぎる量であろうと推察された。

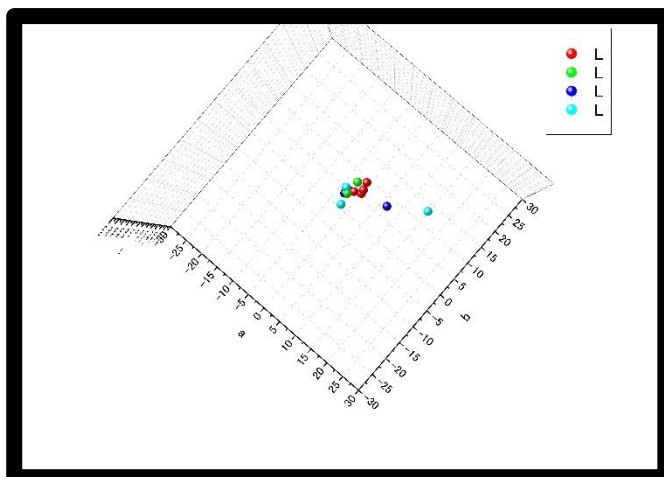
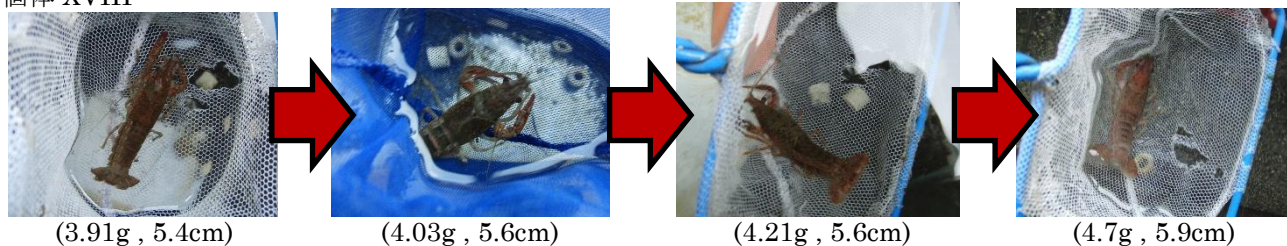


図 20 7群の4個体の体色の推移を散布図で表した図

【8群】

個体 XVIII



個体 XIX

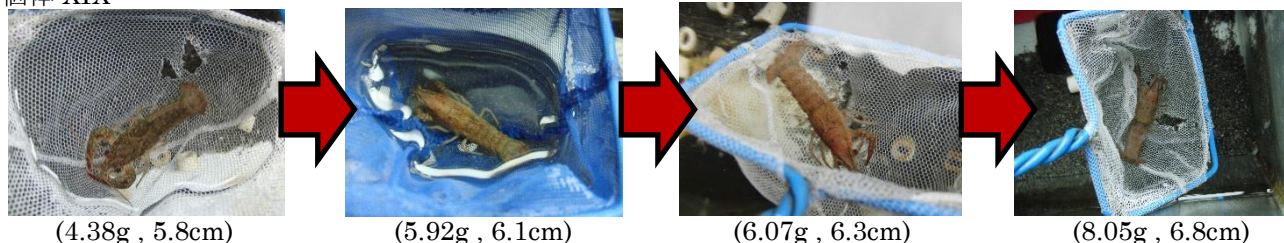


図 21 実験開始から 11 日目、18 日目、25 日目、45 日目に撮影した 8 群の個体の写真 (各写真下は (体重・体長) を示した)

個体 XVIII は4回の脱皮を行い、個体 XIX では3回の脱皮を行った。また、個体 XVIII の摂取したβカロテン量は5.04mg、個体 XIX の摂取したβカロテン量は5.23mgとなった。図 22 は実験開始から 11 日目(8/13)、18 日目(8/20)、25 日目(8/27)、45 日目(9/16)に色彩色差計で計測した色の変化を a^*b^* で表した。

〈考察〉

赤方向に進むものが2匹、変化しないものが2匹いたため、著しく体色が変わった2個体を考察した。赤方向へと変化した個体は、与えたえさに含まれるβカロテン量が、脱皮をするごとに脱皮殻で失われるβカロテン量を上回ったために赤方向へと変化したものと考えられた。

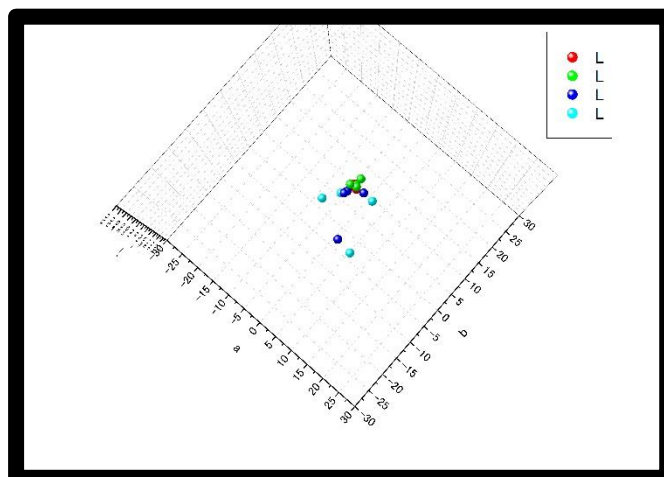


図 22 8群の4個体の体色の推移を散布図で表した図

7. 結論

1群～8群のそれぞれの個体の体色の変化により、ザリガニの体色が青色になるのに必要なβカロテン量は、5群のザリガニが摂取したβカロテン量に近い値であるものと推測された。また、5群の4個体が摂取したβカロテン量は、3.15,3.15,3.34,3.27と3.15～3.34の範囲に存在し（表3）、青色の体色を持つ個体と黒色の体色をもつ持つ個体が2匹ずつ存在した。（図23）

	与えたβカロテン総量 (mg)	食べ残しに含まれるβカロテン量 (mg)	βカロテン総摂取量 (mg)
個体Ⅰ	3.6	0.45	3.15
個体Ⅱ	3.6	0.45	3.15
個体Ⅲ	3.6	0.26	3.34
個体Ⅳ	3.6	0.33	3.27

表3 5群の4個体の詳細

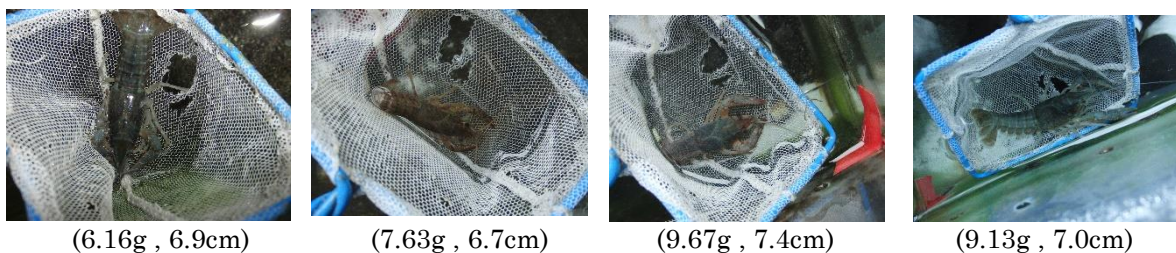


図23 5群の実験最終日の4個体の写真

5群の結果（図16）から、1匹を除いた他の3匹においては**-b***方向へと変化しており、さらに継続して実験と観察を続けると、体色が青色に最も近づいていくものと推察された。ゆえに、体色を青色に維持するためには、5群の摂取量である3.15～3.34の範囲が最も良いものと結論づけられた。

また、本実験の1群よりβカロテンが含まれないエサを食べ続けると体色が褐色から変化せず、死ぬ確率が上昇した。さらに、予備実験のようにβカロテンが含まれないエサを与えることで体色が白色に変化した。これらのことから、βカロテンは体色変化だけでなく、生きていくために必要な物質であると考えた。

8. 今後の展望と課題

本研究において、まず用いたエサでは、水槽の中にエサを入れた時エサの表面からβカロテンが溶け出してしまったものがいくつか存在したため、βカロテンを確実に摂取させる方法を考える必要があった。また、さらに再現性を高めるため、各群の個体を4匹からさらに増やす必要があるものと考えられた。また、アメリカザリガニは1匹500円、遺伝的に青いザリガニは1匹3000円ほどで売られている。もし体色の赤いアメリカザリガニで青色の個体を作りそれを維持することができたなら、1匹当たり2500円安く青いザリガニを生産することができるという利点がある。

また、βカロテンは体色変化だけでなく、ザリガニが生きていくために必要な物質であると考えた。カロテノイドは抗酸化作用をもつことが知られており、βカロテンも同様の作用をもつ。ザリガニの体内でのβカロテンの作用を調べたい。

9. 参考文献

- ザリガニの食と変色
<http://school.gifu-net.ed.jp/ena-hs/ssh/H22ssh/sc2/21046.pdf>
- βカロテンの計測方法
<http://www.ari.pref.niigata.jp/chikusan/Environment/kani/caroten.pdf#search=%27%CE%B2%E3%82%AB%E3%83%AD%E3%83%86%E3%83%B3+%E8%A8%88%E6%B8%AC%27>
- 水生動物におけるカロテノタンパク質に関する研究
I. ザリガニの外骨格におけるカロテノプロテイン分布（1971）
http://ir.lib.hiroshima-u.ac.jp/files/public/4/41160/20160913092228905393/JFacFishAnim_10_61.pdf

II. ザリガニから得られたカロテノプロテインの赤変 (1972)

https://ir.lib.hiroshima-u.ac.jp/files/public/4/41182/20160914104745119162/JFacFishAnim_11_129.pdf

III. ザリガニの外骨格における青色と紫色のカロテノプロテインの関係 (1973)

http://ir.lib.hiroshima-u.ac.jp/files/public/4/41189/20160914131649797132/JFacFishAnim_12_21.pdf

IV. ザリガニのカロテノイド色素 (1974)

http://ir.lib.hiroshima-u.ac.jp/files/public/4/41206/20160916093555944916/JFacFishAnim_13_1.pdf

広島大学 中川 平介、鹿山 光、浅川 末三

色彩色素計によって表現される色について

<https://www.konicaminolta.jp/instruments/knowledge/color/part1/07.html>

10. 謝辞

本研究は広島大学との連携による GSC (Global Science Campus) の上に成り立った研究であり、広島大学生物生産学部の西堀正英先生、杉野利久先生、小山寛喜先生には研究に当たって多くの助言をいただきました。

また、色彩色差計を快くお貸しくださった都築政起先生にも感謝申し上げます。高松第一高等学校の蓮井先生、伊賀先生、佐藤先生、空先生、三好先生、にもお世話になりました。厚く御礼申し上げます。