

課題名:グリセリン浸透法によるウミウシ類標本の作成

交付番号:19013

機関名:きしわだ自然資料館 氏名:北詰 美加

目的

海産無脊椎動物の液浸標本を作成する際には、エチルアルコールにより固定・保管を行うのが一般的であるが、その場合脱水および色素の脱色により、生時の質感を保つことは困難である。特に、軟体動物門腹足綱に属するウミウシ類は、貝殻等の明確な形質をもたず、色彩が種同定を行う際の重要な分類形質とされている。そのため、エチルアルコールに浸漬した標本では、生時のウミウシ類がもつ多様な情報を伝えることは困難であり、博物館等において標本類の展示が行われていないのが現状である。この問題を解決する一つの手段として、グリセリン浸透法が知られている。先行研究では、魚類において詳細に手法の検討が行われているが、ウミウシ類をはじめとした海産無脊椎動物において本手法の妥当性を詳細に検証した事例は限られている。そこで、本研究では、色彩が重要な情報源であるウミウシ類を材料として、グリセリン浸透法を用いた標本作成の妥当性の検証に加え、作成手法の確立をめざす。

手法

軟体動物類における液浸標本を作成する手法は、1) 麻酔、2) 固定、3) 保存の大きく3つの手順からなるが、今回の検討においても同様の手順で実施した。なお、グリセリン浸透法では保存液としてグリセリンを用いる。以下に手順ごとの手法および検討結果を報告する。

1) 麻酔方法の検討

採集したウミウシ類をそのまま固定液に浸漬すると、体が収縮してしまい自然な状態で標本化することが難しくなるため、固定前には麻酔をかける必要がある。本研究では、一般的な麻酔薬として知られる、メントール、硫酸マグネシウムによる麻酔。その他、麻酔以外の簡易的手法として低温処置（凍結法）を用いて、どの手法で処理をする場合が最も自然な状態で標本化できるかを検証した。

メントールおよび硫酸マグネシウムによる麻酔では、カノコキセワタ *Philinopsis gigliolii*、カグヤヒメウミウシ *Hypselodoris variobranchia*、クロシタナシウミウシ *Dendrodoris arborescens*、凍結法には、カノコキセワタ、アオウミウシ属の一種 *Hypselodoris violacea*、クロシタナシウミウシをそれぞれ用いた。メントール麻酔では、生体試料を海水で満たした容器に入れ、海水 200 ml に対し、メントール結晶 0.05 g を粉碎して添加し、麻酔が完全に効くまで静置する。

硫酸マグネシウム麻酔では、水道水で希釈した 8 %硫酸マグネシウム溶液を準備し、海水 50 ml に対し 1 時間に 10 ml ずつ添加した。いずれの手法についても、一定時間毎に麻酔のかかり方を確認し、刺激に対する触角、鰓の縮みがなくなった時点で完全に麻酔にかかったと判断した。

低温処理については、生体試料を海水で満たした容器に入れ、家庭用冷凍庫 (-20 °C) で 4 時間以上静置し、その後凍結した試料を室温で完全に融解させ、固定液に移した。麻醉および解凍が完了した後は、10 %ホルマリンで 1.5 時間固定し、100 %グリセリンに浸漬した。

結果、メントールおよび硫酸マグネシウムによる麻醉で、試料の変形・脱色も少なく、概ね良好な結果が得られた。硫酸マグネシウムでは、麻醉は生時とほぼ同じ状態でかかるが、ホルマリンで固定した後にグリセリンへ置換をすると、急速な脱水が起こり標本は小さく縮んでしまった。しかし、ホルマリンへの浸漬時間が短かったこともあり、十分に固定ができていなかったために、脱水が生じた可能性もある。一方、凍結についてはウミウシの体型が凍結時のまま維持されるので、鰓や触角が必ずしも伸張した状態で維持することはできない。また、グリセリンに置換後、わずかながら脱色が確認された。これは、凍結により体組織が破壊されたことによるものと考えられる (図 1)。

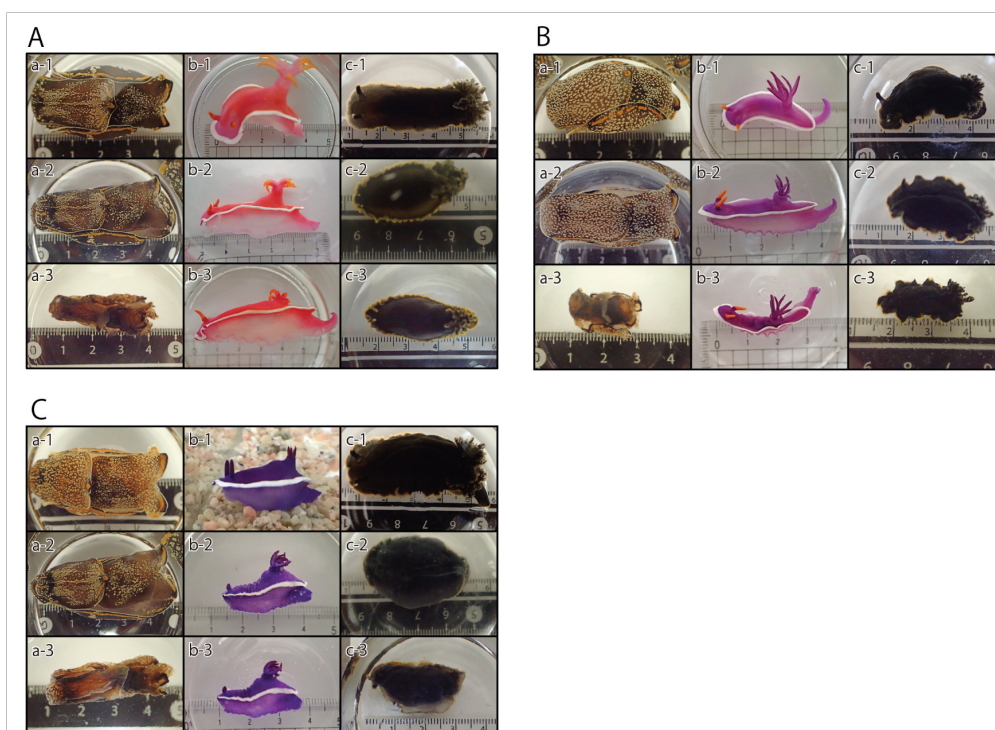


図 1. メントール麻醉 (A)、硫酸マグネシウム麻醉 (B)、および凍結法 (C) による検討結果
a: カノコキセワタ、b: カグヤヒメウミウシ (A、B) と *Hypselodoris violacea* (c)、c: クロシタナシウミウシ、1: 麻醉前 (凍結前)、2: 麻醉後 (凍結後)、3: 100 %グリセリン置換後の状態

2) 固定液の検討

一般にウミウシ類の固定には、10 %ホルムアルデヒドあるいは70 %エチルアルコールが用いられるが、今回はより脱色が少ないとされるホルムアルデヒド溶液を用いる。処置には、5 %、10 %、20 %、30 %のホルムアルデヒド溶液を用いて試料の固定を行い、どの濃度がもっともグリセリン浸透法に適しているかの検証を行う。

ホルマリンの濃度 (なし、5 %、10 %、20 %、30 %) および固定時間 (1時間、2時間、3時

間) による影響の違いを、カノコキセワタを用いて調べたところ、ホルマリン濃度が高く、浸漬時間が長いほど、色素が溶け出すことがわかった。このことから、ホルマリン濃度については、10 %あるいはそれより低い濃度が妥当であると考えられる。今回の検討では、ホルマリン濃度は薄い方が色の保存には適しており、固定は10 %の濃度に1.5時間程度で比較的状态良く標本化ができた (図2)。

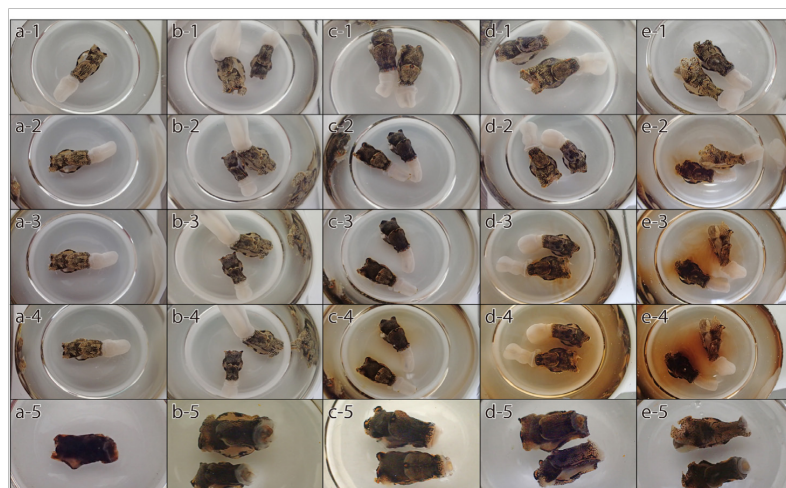


図2. カノコキセワタのホルマリン固定による脱色の検討結果

a: ホルマリン無し、b: 5 %、c: 10 %、d: 20 %、e: 30 %、1: 固定前、2: 固定液に浸漬してから 1 時間後、3: 2 時間後、4: 3 時間後、5: 100 %グリセリン置換後

3) グリセリンによる置換

グリセリンを体組織に浸透させる際に、高濃度の溶液に直接浸漬すると収縮が生じることがあるため、本検証では 30 %濃度のグリセリン溶液から 10 %ずつ段階的に濃度を上げる試験区 (以下、10 %試験区) と 30 %ずつ濃度を上げる試験区 (以下、30 %試験区) のそれぞれで標本の作成を行った。試料はグリセリン溶液に投入後しばらく浮かんでいるが、時間の経過に伴い徐々に沈降をはじめる。そして、試料が容器の底に完全に沈んだ時点で置換完了と判断し、次の濃度の溶液に移した。これを100 %の濃度まで繰り返し行った。

検証には、クロソデウミウシ *Polycera hedgpethi* およびシロウミウシ *Goniobranchus orientalis* を用いた。麻酔時、固定時、グリセリンの各濃度に浸漬した際の体長の変化を図4に示す。両種ともに、麻酔の際に一定の収縮が見られたものの、固定後およびグリセリン浸漬時には体長の大きな減少は確認されなかった。また、10 %試験区と 30 %試験区ではどちらも明確な違いは見られなかった (図3)。

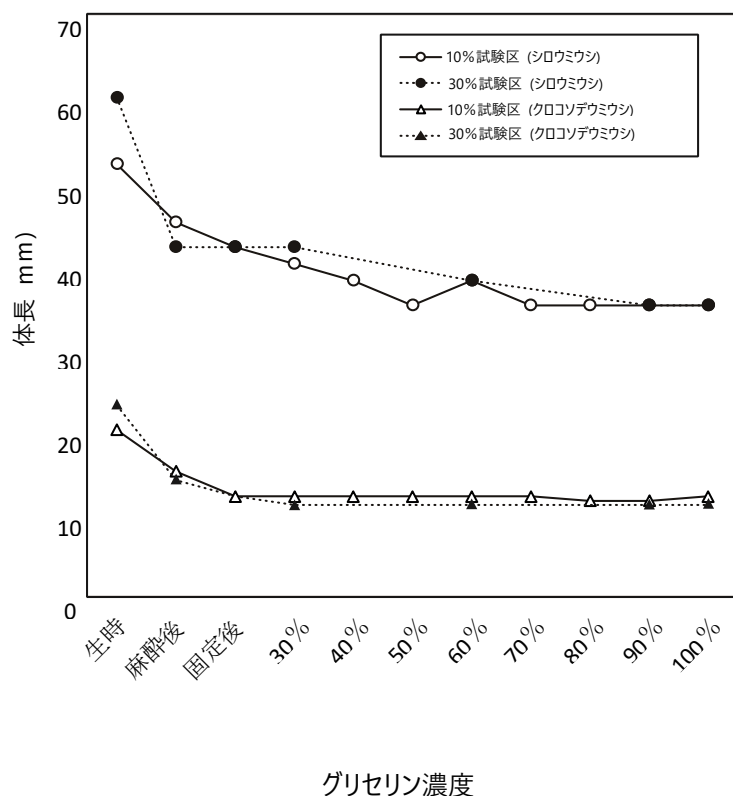


図 3. グリセリンによる置換手法の検討結果

以上の結果から作成手順を下記に記す。

麻酔

メントール麻酔では、海水 200 ml に対し最大 0.1 g まで粉砕したメントールを微量ずつ添加する。硫酸マグネシウム麻酔の場合は、水道水で 8 % に希釈した硫酸マグネシウム水溶液を、海水 50 ml に対し 1 時間毎に 10 ml ずつ、海水と同量になるまで添加する。簡易的な方法として、試料を海水ごと冷凍庫で凍結する手法 (- 20 °C で 4 時間以上) も有効である。ピンセット等で刺激を与え、完全に反応が見られなくなった時点で麻酔完了とする。

固定

麻酔が完了した試料を海水で希釈した 5 ～ 10 % ホルマリン溶液に浸漬する。大きさ約 2 ～ 5 cm のウミウシ類の場合、3 時間程度の固定でグリセリン置換後も収縮は確認されなかったが、固定時間が長くなるほど脱色が生じる傾向にある。

置換

ホルマリンによる固定が完了した後、試料を流水で軽く洗浄し、30 % グリセリン溶液に入れる。試料が容器の底面に沈降した時点で置換完了と判断し、次の濃度に移し替え、段階的に濃度を上げる。最終的に 100 % グリセリン溶液に入れる。

保管

スクリー管など気密性の高い容器で、100 % グリセリンのまま保管する。紫外線および高温環境

下では退色する可能性があるため、冷暗所で保管する。

さらに、発展的研究として、固定液をホルマリンの代わりに組織標本の固定に用いられるグルタルアルデヒドを使用した標本や、置換液をグリセリンの代わりに水溶性樹脂であるポリエチレングリコールを用いた標本の作成も行った (図 4)。

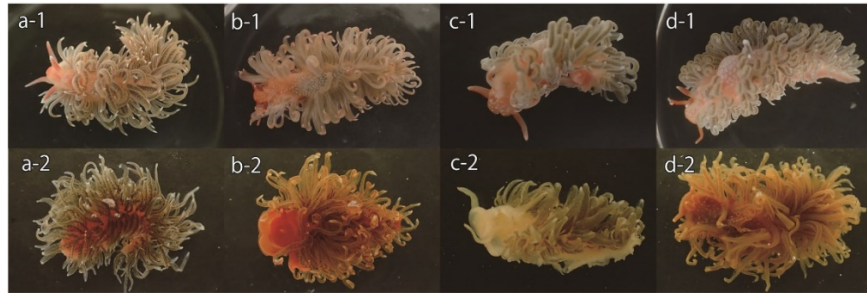


図 4. イズミノウミウシ *Spurilla braziliana* の固定と置換の検討

a: ホルマリン固定グリセリン置換 b: グルタルアルデヒド固定グリセリン置換

c: ホルマリン固定ポリエチレングリコール置換 d: グルタルアルデヒド固定ポリエチレングリコール置換、1: 固定前、2: 置換後

グルタルアルデヒド固定の場合、標本の色彩は濃く赤みを帯びる傾向が見られた。ポリエチレングリコールを用いた置換では、作成した標本はグリセリン置換の標本に比べて硬化しているが、脱水が原因の時に生じる標本の収縮は見られなかった。グルタルアルデヒドの色彩が濃く残る性質を生かせば、固定の際に脱色しやすいウミウシの色彩を残す手法としての可能性がある。ポリエチレングリコールでの置換は色彩標本の長期保存という点において今後注目したい。

ゲル封入したウミウシ類標本の展示事例

本手法により作製したウミウシ類の標本は、以下の企画展で展示を行った。展示用の標本を作製する際、グリセリン溶液に入れたままの状態では試料が標本瓶の底に沈み、手にとって観察できる場合を除いて展示には不適である。そこで、今回はより高い粘性をもつゲルを用いてウミウシ類を標本瓶の中央に配置したまま封入した (図 4)。ゲル封入剤には、一液加熱冷却型ゲル封入材 (エーノール ANY-007) を用いた。

事例 1 (図 5)

Where culture meets nature ～日本文化を育んだ自然～ 2019年8月30日～ 9月16日

「Where culture meets nature」は、国内各地の自然史博物館が協力し、歴史的建造物がもつ空間の趣と自然史標本のもつ美しさを融合させ、日本の自然と文化の関わりを伝えるシリーズ展示である。2019年は「JAPAN COLOR」をテーマに、色という切り口で日本の自然と文化の関わりを紐解いた。来場者数、2,100人

野口家住宅 花洛庵 (京都市中京区藤本町) 自然史レガシー継承・発信実行委員

会主催標本展示数:9 点



図5. Where culture meets nature ～日本文化を育んだ自然～での展示

事例 2 (図 6)

IKITERASU ～いきとしいけるものをてらす展～ 2019年10月7日～11日

光を受けて美しく照らし出されるものというテーマで、生き物の写真や作品を展示。顕微鏡で覗き込んだミクロの世界の作品や、キノコ、コケ植物、光に照らし出されいつもと違う幻想的な表情を見せる生き物や作品を主に展示した。

神戸酒心館 酒心館ホール (兵庫県神戸市東灘区) IKITERASU 実行委員会主催

標本展示数: 7点



図 6. IKITERASU～いきとしいけるものをてらす展での展示

事例 3 (図 7)

大阪自然史フェスティバル 2019 2019 年 11 月 16 日 ～17 日開催

大阪周辺の自然に関連する団体が集まり、大阪の自然の面白さ、活動の楽しさを伝える「自然派市民の文化祭」として開催。来場者数、26,000 人

大阪市立自然史博物館本館（大阪市東住吉区長居公園）認定特定非営利活動法人大阪自然史センター、大阪市立自然史博物館、関西自然保護機構主催 標本展示数:20 点

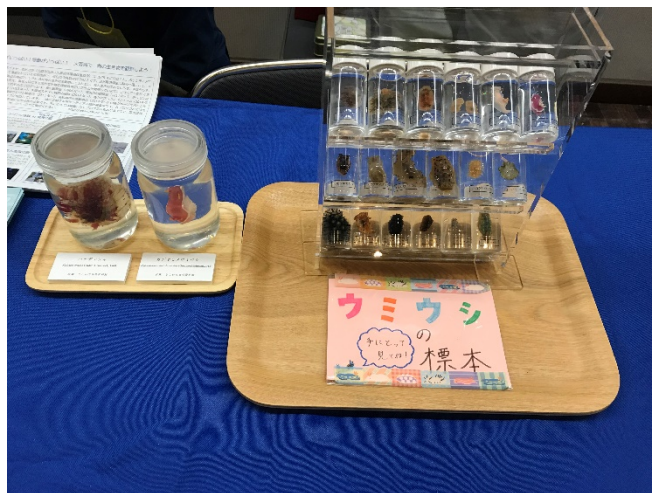


図7. 大阪自然史フェスティバル2019での展示

事例 4 (図 8)

きしわだ自然資料館 2020 年 2 月～

岸和田市立の自然史系博物館であるきしわだ自然資料館では、チリメンモンスターをはじめとした教育普及事業のほか、ウミウシ類などの大阪湾に生息する海岸生物の調査・研究を行っている。2020年2月からきしわだ自然資料館2階の常設展示室で、主に沖縄で採集したウミウシ類のグリセリンおよびゲル封入標本の展示を行っており、標本に対する来館者の反応や標本の経年変化などについて今後も継続的に調べていく予定である。



図8. きしわだ自然資料館での展示

標本の展示はいずれも好評で、Where culture meets nature～日本文化を育んだ自然～でのアンケートの結果では、印象に残った展示としての記載が多く寄せられた。また、IKITERASU～いきとしいけるものをてらす展～では、標本を是非入手したいとの声がとても多く、標本に「非売品」との掲示をするほどであった。大阪自然史フェスティバルでは、実際に標本瓶を手にとって観察してもらったところ、瓶のあらゆる角度から観察する様子うかがえた。写真で見て思っていたよりも、サイズが小さいとの声が多く聞かれ、写真や図鑑では補いきれない情報を提供できたと考えられる。きしわだ自然資料館では、グリセリン浸透法によるウミウシ類標本を長期展示するという初の試みを行うことにより、標本の色彩の保持の検証が期待できる。

まとめ

グリセリン浸透法を用いて、ウミウシ類の標本化手法の検討を行った結果、種類による程度の差は見られたものの、色彩および質感を保持したままの標本を作成することができた。しかし、本検証により得られた知見は、一部の限られたウミウシ類に対して当てはまるものであり、種類や標本作成時の条件等によっても結果は異なると考えられる。

今後、さらにグリセリン浸透法を用いた標本作成手法を確立することにより、博物館等でのウミウシ類の常設展示が可能となる。さらに、本研究の成果はウミウシ類以外の軟体動物にも広く応用できる可能性があり、海産無脊椎動物の色彩を保持した状態での標本作成技術として、博物館における新たな展示手法の一つとなりうるものである。

また、ウミウシは鮮やかな色彩をもつ種類が多く知られており、その美しさから「海の宝石」と呼ばれ、近年写真集や図鑑などで人気を博している。しかし、ウミウシ類の生態はほとんど解明されておらず、水族館における飼育例も限られている。本研究による成果物の展示は、来館者や地域住民にウミウシの色彩の鮮やかさやその多様性を知ってもらうことにつながり、ひいては身近な海の生き物に興味、関心をもつきっかけを与えるものである。

さらに、グリセリンは食品添加物や保湿剤として本来使用されるものであり、エチルアルコールやホルマリンと比較し安全に扱うことが可能である。そのため、今後の展望として、本成果物の学校等教育機関への貸し出し教材としての活用も期待できる。しかし、標本の色彩がどの程度保持されるかの検証はできておらず、これらは今後の検討課題である。

本検討を行うにあたって、ご指導を仰いだ神奈川県立海洋科学高等学校 藤岡高昌教諭に深く感謝する。また、今回のウミウシの標本作成法は、博物館等での展示を目的として検討したものである。この技術がインテリア、アクセサリーの作成等に応用され、ウミウシの乱獲につながるようなことがないことを切に願う。