

## 実施内容報告書

課題名 : グリセリン・ポリエチレングリコール浸透法を用いた無脊椎色彩保存標本作成  
の検討  
交付番号 : 23001  
機関名 : ふくしま海洋科学館  
氏名 : 日比野麻衣

### 1. 事業概要

生体を展示する水族館にとって、「生存時の色彩」は大変重要な形質である。しかし、多くの無脊椎動物は、固定時エタノール標本にするため長期保管の点において脱色が著しい。そのため「色彩を残す」ことで、教育的にも展示効果が高い標本作成の手法を検討する。

### 2. 目的

当館では多くの無脊椎動物を扱う一方、標本の多くは研究を行う過程でエタノール標本として保管するため、長年の調査および研究を経て論文が公表される時には、すでに色彩が脱落している。しかし、本来多くの来館者にとって生物の「色彩」はとても重要な情報の一つであり、生物の形態・行動・色彩等「視覚から得る情報」を通じて、生物の特異性や魅力を感じ、その生物に興味関心を頂くきっかけとなる場合が多いと考えられる。そのため、色彩が脱落した無脊椎動物の標本では、「その種」の特性、魅力を十分に伝えることは難しい。近年「色彩保存」の手法に着目した標本作製の試みはあるものの、その手法は未だ確立されているとはいえない状況である。そこで本事業では、無脊椎動物にとって重要な形質である「色彩」を残した標本の作製方法を検討し、より「生体に近い状態の標本」を作成する手法を確立することを目的とする。

### 3. 事業期間

サンプル収集 2023 年 5～11 月  
標本作成期間 2023 年 9 月～2024 年 3 月

### 4. 結果

#### I・甲殻亜門

これまで先行研究において対象とされた甲殻類は、干潟、淡水域の甲殻類(小野, 2004)、カニ類(藤原, 2017)、オオコシオリエビ(安原, 2022)等があるが、これらは種の特異性や重量など条件が大きく異なる。また、複数のサンプルを精査しておらず、標本自体の条件によって結果は異なることが想定された。

今回用いる深海性のコエビ下目は、鮮やかな赤色の体色を有する種が多く、「色彩パター

ン」は時に重要な形質となる。しかし、これらに対する知見はなく先行研究の条件が適用可能か精査する必要性があった。本研究では、標本条件(重量、色彩、脱皮前後)の異なる計7種を用い、1) 固定、2) 置換、3) 保管方法の3つの区分に分け比較を行った。

**対象種** ＊写真は生時

タラバエビ科 5 種

ラウスブドウエビ *Pandalus spinosior*

(重量：約 35g)



ヒゴロモエビ *Pandalus coccinatus*

(重量：約 50g)



シレトコモロトゲエビ *Pandalus hoyyuu*

(重量：約 20-40g)



シラユキモロトゲエビ *Pandalus princeps*

(重量：約 25g)



ツヤモロトゲエビ幼体 *Pandalus glabrus*

(重量：約 0.1g)



ヒメサンゴモエビ科 2 種

ラウスツノナガモエビ *Lebbeus fujimotoi*

(重量：約 10g)



キタモエビモドキ *Biluria sachalinensis*

(重量：約 3g)



## 1) 固定

### 材料と方法

甲殻類の固定では、一般的に 70%エタノールが用いられることが多い。この場合、深海性のコエビ下目では、種差はあるものの数日～1 週間ほどで褪色がみられることが多く、先行試験ではヒゴロモエビは固定時 3 日で褪色がみられた。そのため今回は最大固定時間を 24 時間と設定し、固定 1 時間の条件時との比較を行った。また、固定方法は無固定（冷蔵）、70%エタノール、10%ホルマリンの計 3 手法で検討を行った。無固定は、重量の異なる 4 種（ツヤモロトゲエビ幼体、キタモエビモドキ、ラウスツノナガモエビ、ラウスブドウエビ）を用い、腐敗を遅らせるため、業務用冷蔵庫（5℃）で置換が終わるまで管理を行った。固定液を用いた 2 手法では、4 種各 4 個体を用いた。

### 結果

無固定では日数の経過に伴い、ラウスブドウエビ(重量：35g)で筋部と体色の白色部が透明化がおり、甲殻が弱い脱皮直後であったラウスツノナガモエビ(重量：10g)では急激な縮小がみられた。また、キタモエビモドキ（重量：3g）は、腐敗により体表上が黒色化し、最も小型のツヤモロトゲエビ幼体(重量：0.1g)では、置換の経過とともに、体色の透明化、色彩が褪色した（図 1）。しかし、70%エタノール 1 時間固定の標本では、上記の現象は見られなかった。また、70%エタノールおよび 10%ホルマリンの 24 時間固定では、大きな差は見られなかった（図 2）。

#### 【無固定】



図 1 左からラウスブドウエビ、ラウスツノナガモエビ、キタモエビモドキ、ツヤモロトゲエビ

#### 【固定】



図 2 左からエタノール 1 時間、エタノール 24 時間、ホルマリン 24 時間



## 2) 置換

### 材料と方法

グリセリンおよび、低分子ポリエチレングリコール（以下、PEG）の2種を用いた。グリセリンは安原(2022)に準じ、30%濃度から置換を開始し、段階的に30%ずつ濃度を上げた。またPEGでは藤原(2017)に準じ、固定後に50%PEG-400溶液に2週間含浸し置換を行う手法(以下、50%PEG)、30%から開始し段階的に濃度を50%まで上げる手法(以下、30%PEG)、30%から段階的に100%まで濃度をあげる手法で実施した(以下、100%PEG)。

### 結果

グリセリン浸透は、小型のキタモエビモドは良好であったが、大型のタラバエビ科では、シラユキモロトゲエビなど体色の白色部が多い種ほど、濃度上昇に伴い透明化および橙色への変化（以下、暖色化）が顕著であった（図3）。PEG浸透では、50%PEGを行ったヒゴロモエビでは暖色化が強くみられた。一方、徐々に濃度をあげた30%PEG、100%PEGにおいては、全ての種において色彩の保存には一定の効果がみられた。特に、グリセリン浸透で影響がでたシラユキモロトゲエビでは、やや暖色化の傾向はあるものの、種として重要な色彩パターンはある程度保存された（図4）。

#### 【グリセリン浸透】



図3 影響がでたシラユキモロトゲエビ(右写真、下)

#### 【PEG浸透】



図4 左から 50%PEG、100%PEG、30%PEG

### 3) 保管

#### 手法

グリセリンおよび PEG 浸透法で標本作製後の保管方法について、液浸保管と乾燥保管について比較を行った。

#### 結果

小型のキタモエビモドキの液浸保管では、両浸透法ともに色彩保存されたが、乾燥保管では 1 ヶ月以上経過した時点で、両浸透法ともに色彩の著しい褪色が確認された(図 5)。また、大型のタラバエビ科では、グリセリン置換後の液浸保管ではさらに顕著に暖色化が進み、乾燥保管でもグリセリンの質感は拭えない状況であった。これは、グリセリン置換から乾燥を行う際の、表面洗浄が足りなかった可能性も考えられる。一方、PEG 浸透法では、液浸、乾燥いずれの保管方法でも色彩は保存された。特に、乾燥保管では、甲殻表面の質感は適度な光沢感を保ち、グリセリン置換時に比べ、より生体に近い質感保っていた(図 6)。

#### 【キタモエビモドキ】

グリセリン浸透

PEG 浸透



図 5 左乾燥保管、右液浸保管

#### 【シレットコモロトゲエビ、シラユキモロトゲエビ】

グリセリン浸透

PEG 浸透



図 6 各左乾燥保管、右液浸保管

#### 考察

今回の結果から、固定は標本の重量、固定液にかかわらず短時間でも行う必要がある。また、大型のタラバエビ科(重量: 25・50 g)では、最低 24 時間以上の固定が必要であるが、体色の色彩構成によって時間調整が必要だと考えられる。置換に関しては、従来の体色が橙色系の場合グリセリンでも可能だが、PEGの方が鮮赤～白色まで幅広く色彩保存において有効であった。総合的に保管方法を考慮しても、PEGは取り扱いも容易で、甲殻類の標本作成に適していると考えられる。

## II 一他無脊椎動物（棘皮動物門、軟体動物門）、脊索動物

これまで先行研究では主にグリセリン浸透法を用い、ウミウシ類（北詰, 2020）、棘皮動物（小野, 2004）、スルメイカ（安原, 2022）などが対象に行われてきた。特に、北詰（2020）ウミウシ類のグリセリン浸透法では、麻酔、固定、置換まで詳細に記されているが、その他の分類群については、詳細に検討された例はない。本研究では、水深 500m 以深に生息する独特な形態の 3 種を対象に、1) 固定、2) 置換の区分に分け比較を行った。

対象種 ＊写真は生時

### 棘皮動物門

センジュナマコ *Scotoplanes theeli*



### 軟体動物門

オオメンダコ *Opisthoteuthis californiana*



### 脊索動物門

オオグチボヤ *Megalodicopia hians*



## 1) 固定

### 材料と方法

甲殻類と同様に、無固定、70%エタノール、10%ホルマリンの 3 手法を用い、時間は 1 時間または 24 時間で比較を行った。ただし、オオメンダコは大型で標本数が限られることから、以前の先行試験に基づき、10%ホルマリン 72 時間固定を行った。

### 結果

無固定では、透明化が顕著に進み、最終的に形状の維持ができず体の損壊がおこった。固定については、センジュナマコの場合、いずれの 2 手法および固定時間においても差異はみられなかった（図 7）。一方、オオグチボヤでは、ホルマリン 1 時間固定の場合、置換時、徐々に透明化する傾向があったが、24 時間エタノール固定では良好であった（図 8）。また、オオメンダコ(重量：約 2000g)の場合は、置換を進めるにつれて徐々に体表の



損壊がみられた。同サイズの場合、固定は最低 1 週間以上行う必要性があったと考えられる (図 9)。

### 【センジュナマコ】



図 7 左から無固定、エタノール 24 時間、エタノール 1 時間、ホルマリン 1 時間

### 【オオグチボヤ】



図 8 左グリセリン 1 時間、右エタノール 24 時間

### 【オオメンダコ】



図 9 左から固定 1 日後、20 日後、60 日後

## 2) 置換

### 材料と方法

甲殻類と同様の 2 種の置換液を用い、30%から開始し段階的に 100%まで濃度をあげて置換を行った(以下、グリセリン、100%PEG)。オオメンドコは、先行試験で 30%グリセリン浸透法を行ったことから、本試験では PEG を 10%ずつ段階的にあげる手法で行った(以下、10%PEG)。

### 結果

オオグチボヤでは、両浸透法ともに縮小等は見られなかったが、濃度の上昇に伴い透明化が進んだ。これはいずれも固定が不十分であったと考えられる(図 10)。またセンジュナマコは、両浸透法において大きな差異はないものの、体表の質感については、100%PEGの方がより生体時に近い印象をうけた(図 11)。しかし本種は、置換時に急に破裂(収縮)することが多くみられた。オオメンドコは、10%PEG によって若干の褪色があるが縮小はみられなかった。しかし、他種に比べ置換に長期間要するため、全ての置換行程が終了しておらず、現在も経過を観察中である。

#### 【オオグチボヤ】



図 10 左グリセリン浸透法、右 PEG 浸透法

#### 【センジュナマコ】



図 11 左から固定前、グリセリン浸透法、PEG 浸透法

### 考察

センジュナマコの場合は、採集時に大量の海水を含み膨張した状態となっている標本が多い。それが置換時に破裂(縮小)する要因となっているが、形状さえ維持していれば、全置換終了後に置換液を体内にシリンジ挿入することで成形は可能であった。このこと



から、1) 状態の良い標本の使用、2) 固定を丁寧に行う、3) 置換濃度は緩やかにあげることが重要だと考えられる。オオメンダコの場合は、従来赤みが強い体色で固定時にも褪色しづらいことから、重量をよく考慮したうえで、固定は入念に行う必要があったと思われる。また、先行試験の傘径 10cm 個体でグリセリン浸透の完了に 10 ヶ月近く要しており、今回の様な大型個体（傘径 20cm 以上）の場合、置換完了にはさらに時間を要すると考えられる。

## 5. 公表

- ・当館 2F 飼育員レポートにて 2024 年 7 月よりポスターおよび標本掲示予定。
- ・2024 年甲殻類学会にて本内容を発表予定。



## 6. まとめ

今回扱った甲殻類では、1) 固定は最低 1 時間以上。(個体重量、種によって 24 時間以上)、2) 置換は PEG もグリセリン同様、徐々に行うことが好ましい、3) PEG 浸透後、液浸保管の順が好ましいという結果となった。また、甲殻類を除くその他無脊椎、脊索動物では、各種の特性を理解したうえで、1) 固定は丁寧に行う、2) 置換は緩やかに行うことが重要であった。しかしこれらは前述のとおり、種の特性である色彩パターンや重量、標本条件に影響されるだけでなく、固定、置換、保管方法全てが連動すると考えられる。そのため、固定不足によって、置換、保管の際に色彩に影響がでた可能性もあるため、今後はそれぞれの種において各項目をさらに詳細に検証する必要がある。

これまで「色彩保存」では、グリセリン浸透法が主流で、今回用いた PEG-400 は関節の可動性を保持した標本作製を目的とし藤原（2017）が使用したものを応用した。PEG は水溶性で毒性もなく、比較的安価に入手でき、グリセリンと比較すると粘性が低く扱いやすい。今回対象とした種の結果を考慮しても、今後より多くの種への応用が可能であると考えられる。

一般の方にとって深海生物は少し前までは「遠い未知の存在」であったが、近年情報や技術の発達、商品化などに伴い、「直接見たい」「触れてみたい」と感じる身近な存在となりつつある。しかし技術は発達しても、未だに多くの種が「生体展示」すら叶わないという現状もある。そのうえで、「生物」としての魅力を伝える場として、生体展示ができない生物を標本という形で見せるために「色彩の保存」は欠かすことができない。

今後は、さらに各種の条件を精査し、「リアルな色彩」を保った標本作製することを目指すとともに、長期間の色彩保存についても検証していきたい。