

短報

魚類標本におけるグリセリン浸透法の検討

廣田大輔¹・中島経夫¹

Glycerol penetration method in fish specimens improved

Daisuke HIROTA¹ and Tsuneo NAKAJIMA¹

Abstract: As a preservation method of fish specimens, we focused on glycerol penetration method (Ono, 2004), which allows easy handling in student practices. We attempted to improve this method. In our improvement, fish samples were fixed in 10% formalin and penetrated with pure glycerol in an incubator and a microwave oven. This saved the time in making specimens, and retained the color and pattern of the fish body surface, although deformation of the body due to shrinkage was remarkable in some species with thin scales.

I. はじめに

魚類は水分が多いため、液浸標本として保存することが主流となっている。19世紀初頭までは、鱗、鰭および頭骨以外を取り除いて、さく葉標本のような乾燥標本が作製され、模式標本とすることもあった(図1)。乾燥標本では、鱗数、鰭条数などの計数はできるが、標本が変形するため計測にはむかない。また、乾燥標本の1種であるグリセリン浸透標本は、学生実習などで標本に容易に触れることができるため、臓器標本に用いられている。一方、液浸標本は変形が少なく、計数および計測がいつでも可能なため、魚類標本の主流となった。しかし、液浸標本、特にアルコール保存標本では、脱色する欠点がある。

そこで、グリセリン浸透法による生物標本の作成(小野 2004)に着目し、その改良を試みた。小野のグリセリン浸透法の概要は下記のとおりである。

①試料を低含水アルコールに浸して脱水する。

②グリセリン原液中に試料を入れ、グリセリンを浸透させる。浸透液の濃度回復のために、揮発性の



図1. パリ自然史博物館に収蔵されている*Bulyrinus bananus*の模式標本。

差を利用して晴天時に開封して約1日放置する。脱水した試料では1日おきにグリセリンを交換する。

③グリセリン浸透が完了したら、水またはアルコールで数10秒から1分程度洗浄し、その後、表面の水分を取り除く。

④脱脂綿等の上で乾燥させる。

⑤防水性の高い素材でできた容器内に、化繊綿

1. 〒700-0005 岡山県岡山市北区理大町1-1 岡山理科大学生物地球学部生物地球学科 Department of Biosphere-Geosphere Science, Faculty of Biosphere-Geosphere Science, Okayama University of Science, 1-1 Ridai-cho, Kita-ku, Okayama-shi, Okayama-ken 700-0005, Japan.

などのクッション材の上にのせ、標本を保管する。

ところが、小野(2004)のグリセリン浸透法には、試料の脱水のみを目的としているため、固定についての記述がなく、さらに、浸透の方法についての詳細な記述がないことから、固定期間とグリセリンの浸透方法について検討した。

II. 材料と方法

1. 使用した薬品、器具および材料

使用した薬品：10%ホルマリン溶液、70%アルコール(エタノール)を固定液として使用した。グリセリン浸透を行うまでの試料の保存液として70%アルコールを使用した。

使用した機器：グリセリンを浸透させるために、インキュベーターを使用した。グリセリン濃度の回復には電子レンジを使用した。

材料として使用した魚種を表1に示した。

2. 方法

(1) 固定期間と退色についての検討

魚類で一般的に行われている10%ホルマリンと70%アルコールで固定し、色彩の変化を経時的に観察した。体長約70mmのオイカワを使用し、生の試料を10%ホルマリンと70%アルコール液で固定し、経時的に色彩の変化を観察した。また、体長約60mmの婚姻色がよくでているカネヒラについては、10%ホルマリン液に浸し、固定期間と退色について観察した。

(2) 浸透環境と浸透期間についての検討

体長約70mmのオイカワ12個体を、10%ホルマリンに浸し固定する。これらを6個体ずつAとBの2つのグループに分けた。Aグループは、インキュベーター(設定温度30℃)内でグリセリンを浸透させた。Bグループは、室温環境下(15~20℃)でグリセリンを浸透させ、グリセリンの浸透状況、標本の状態、浸透期間について比較した。グリセリン浸透の完了は、グリセリン濃度の低下が見られなくなったことで確認した。Aグループは、1日毎にグリセリンを交換したグループ(A1)とグリセリン交換をせずに電子レン

表1. 材料として使用した魚類試料。

オイカワ	<i>Zacco platypus</i>
カワムツ	<i>Nipponocypris temminckii</i>
ヌマムツ	<i>Nipponocypris sieboldii</i>
ヤリタナゴ	<i>Tanakia lanceolata</i>
カネヒラ	<i>Acheilognathus rhombeus</i>
コウライニゴイ	<i>Hemibarbus labeo</i>
ムギツク	<i>Pungtungia herzi</i>
カワヒガイ	<i>Sarcocheilichthys variegatus variegatus</i>
カマツカ	<i>Pseudogobio esocinus</i>
ギンブナ	<i>Carassius</i> sp.
コイ	<i>Cyprinus carpio</i>
ギギ	<i>Tachysurus nudiceps</i>
アユ	<i>Plecoglossus altivelis altivelis</i>
ドンコ	<i>Odontobutis obscura</i>
カワヨシノボリ	<i>Rhinogobius flumineus</i>
オヤニラミ	<i>Coreoperca kawamebari</i>

学名は中坊(2013)による

ジでグリセリン濃度回復をしたグループ(A2)に分けた。Bグループは1日毎にグリセリンを交換した。

電子レンジでのグリセリン濃度回復は500Wで10秒から1分程度行う。

また、インキュベーターの設定温度を30℃および40℃で、グリセリン浸透の試料におよぼす影響を検討した。この実験で使用した試料は、ヤリタナゴ、ドンコ、ムギツク、オイカワ、ギンブナを使用した。

(3) グリセリン浸透法が魚種に与える影響について

さらにさまざまな魚種(6科16種)でグリセリン浸透標本作製し、その魚種毎の適性を検討した。

(4) 長期保存した試料でのグリセリン浸透標本作製

長期保存されたヤリタナゴ、カネヒラ、カマツカ、カワヨシノボリにおいてもグリセリン浸透標本作製した。本実験では、10%ホルマリン固定し、約1年間70%アルコールで保存された試料を用いた。試料



図2. 10%ホルマリンと70%アルコール固定による退色の比較. A-C: 10%ホルマリン固定, D-F: 70%アルコール固定, A, D: 固定前, B, E: 固定2日目, C, F: 固定4日目. スケール=20mm.

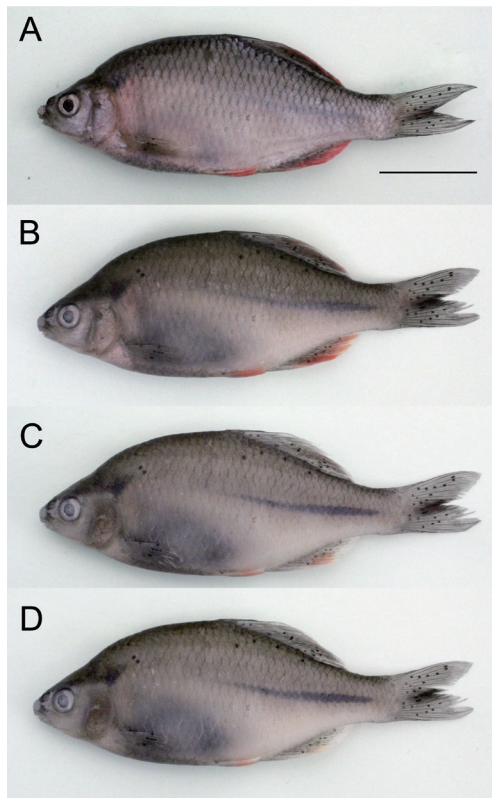


図3. カネヒラの婚姻色について10%ホルマリンによる退色. A: 固定前, B: 固定2日目, C: 固定3日目, D: 固定4日目. スケール=20mm.

はすでに黒色以外の色彩は退色している。

III. 結果

1. 固定期間と退色についての検討結果

70%アルコール固定では1日後ですでに全体に白色になり、眼が白く濁った。2日後には皮膚に凹凸ができ皺ができた。4日後には内蔵が圧迫され、胆嚢が潰れて腹部が黒っぽく変色した。10%ホルマリン固定では、70%アルコール固定とは異なり、短期間で

表2. グリセリン浸透に要した日数.

グループ	浸透環境	グリセリン濃度回復の方法	浸透期間(日)
A1	インキュベーター内 (30℃設定)	毎日グリセリン交換	4
A2	インキュベーター内 (30℃設定)	電子レンジで濃度回復	6
B	室温 (15~20℃)	毎日グリセリン交換	7

は体色に大きな変色は起こらず、皮膚に凹凸があまりできることもなかった。鰭の黄色については、70%アルコール固定の方が良く保存されていた(図2)。

婚姻色のよくでたカネヒラで、10%ホルマリン液内での色彩の変化については、1日後では鱗のグアニンの銀白色が退色し、3日後には臀鰭のカロチノイドの赤が退色している。4日後には腹鰭、臀鰭の赤色が退色してしまった。試料の変形はほとんどなかった(図3)。

2. 浸透環境と浸透期間についての検討結果

インキュベーター内でグリセリン浸透を行ったAグループでは、半日で目がくぼみ、体に沿って皺が出始め、2、3日で全体的に皺が増え、一気にグリセリンの濃度が低下した。毎日グリセリン交換したA1グループでは、4日でグリセリン濃度低下が見られなくなり、グリセリン浸透が完了した。グリセリン交換を行わず、電子レンジでグリセリン濃度回復したA2グループでは、6日目以降、試料に変化が見られなくなった。

室温(15~20℃)でグリセリン交換を毎日行いながら、グリセリンを浸透させたBグループ(小野の方法)では、浸透が徐々に起こった。Aグループと同じような皺ができるのに4日、グリセリン浸透が完了するのに7日を要した(表2)。

電子レンジでのグリセリン濃度回復は、グリセリン中の水分が沸騰しない程度、500Wで30秒程度が適当であった。また、3つのグループの浸透標本の状態に違いはなかった。

インキュベーターの設定温度は、40℃では変形が著しく、特にヤリタナゴ、ドンコでは側偏が著しかった(図4)。



図4. インキュベーターの設定温度を40℃にしたときの標本状態。A：オイカワ，B：ヤリタナゴ，C：ドンコ。収縮による変形が著しい。スケール=20mm。

表3. さまざまな魚種におけるグリセリン浸透標本。

魚種	評価	グリセリン浸透標本の状態
ムギツク ギンブナ コイ ドンコ	図5 ◎	鱗が硬い、または表皮が厚い魚では変形が少ない。 コイのヒゲは縮れなかった。 鱗の銀色(グアニン)、黒色(メラニン)、黄色(カロチノイド)が良く残った。
カワムツ ヤリタナゴ オヤニラミ	図6 ○	胴部はほとんど側偏せず、皺もできなかった。 黒色以外は退色した。 オヤニラミでは、鰭の赤色は良くのこっていたが、体表では黒っぽく変色した。
オイカワ ヌマムツ コウライニゴイ カワヒガイ カマツカ	図7 △	胴部の皺がよったりして変形し、側偏が著しい。 カマツカ、カネヒラのヒゲは縮れなかった。 黒色、黄色、銀色が残った。
カネヒラ ギギ アユ カワヨシノボリ	図8 ×	胴部に皺がより、著しく側偏した。 ギギではヒゲが縮れた。 黒色以外は退色した。

3. グリセリン浸透法が魚種に与える影響について

魚種毎のグリセリン浸透の結果、全ての魚種に収縮がおこり、次のような変形が起こった。眼窩が凹み、体側部が側偏、縦方向の皺という変形が起こった。また色彩の退色も起こったが、黒色および橙色はよく残った。収縮や変形、退色の度合いは、魚種毎に異なっていた。魚種毎の結果については表3にまとめた(図5-8)。

4. 長期保存した試料でのグリセリン浸透標本作製

10%ホルマリン固定、70%アルコールで長期(約1年間)保存した試料でもともと黒色以外の色が退色しているが、グリセリン浸透による収縮や変形は、ほ

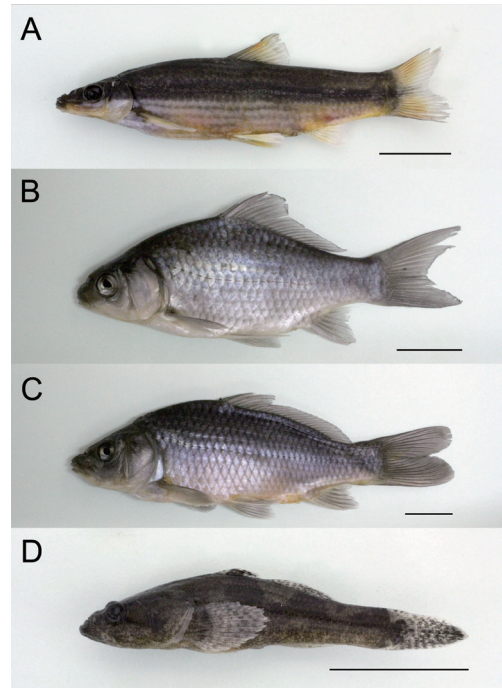


図5. 本研究により作成されたグリセリン浸透標本。A：ムギツク，B：ギンブナ，C：コイ，D：ドンコ。スケール=20mm。

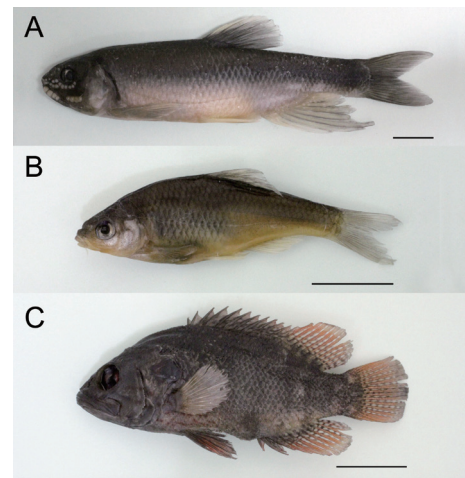


図6. 本研究により作成されたグリセリン浸透標本。A：カワムツ，B：ヤリタナゴ，C：オヤニラミ。スケール=20mm。

とんど見られなかった(図9)。

IV. 考察

70%アルコールでの固定は、色彩の退色が著しく、試料が収縮し皺ができた。70%アルコールや10%ホルマリンに保存しておいた試料でグリセリン浸透標本

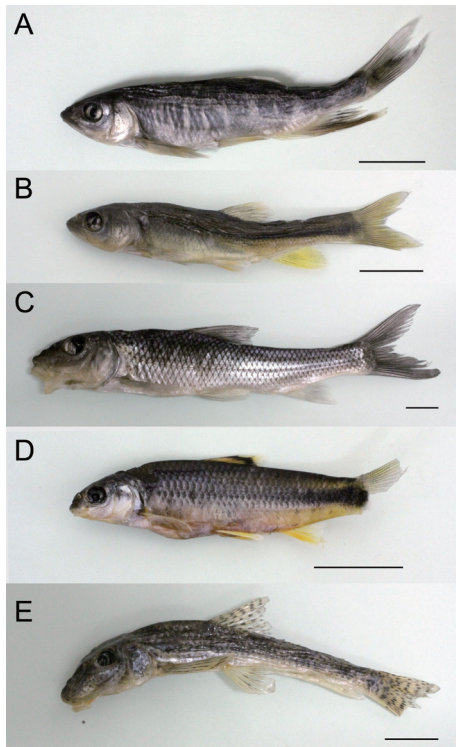


図7. 本研究により作成されたグリセリン浸透標本. A: オイカワ, B: ヌマムツ, C: コウライニゴイ, D: カワヒガイ, E: カマツカ. スケール=20mm.

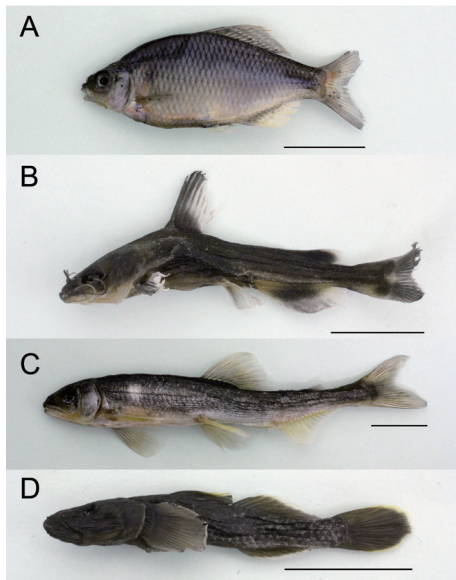


図8. 本研究により作成されたグリセリン浸透標本. A: カネヒラ, B: ギギ, C: アユ, D: カワヨシノボリ. スケール=20mm.

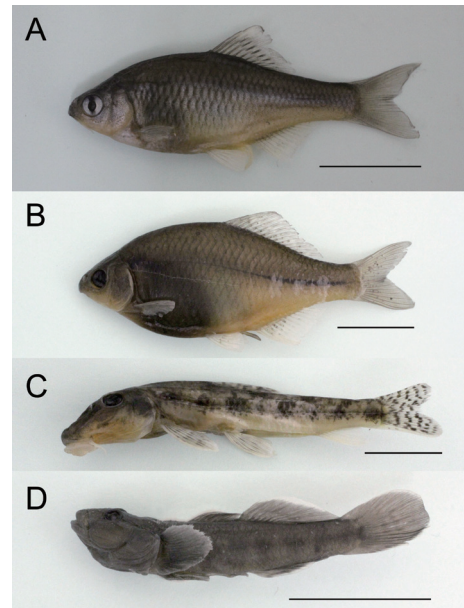


図9. 長期保存されていた試料によるグリセリン浸透標本. A: ヤリタナゴ, B: カネヒラ, C: カマツカ, D: カワヨシノボリ. スケール=20mm.

を作製することは、色彩保存の点では不適である。収縮による変形がないグリセリン浸透標本を作製するには、液浸標本として長期間保存したものをを用いると良い結果が得られる。

グリセリンの浸透に関しては、インキュベーターで行うと、浸透期間を短縮できる。インキュベーターの設定温度は、30℃が適当である。これより高い温度設定では、試料の変形が著しい。また、電子レンジを使用し、グリセリン濃度回復を行うと、グリセリン使用量が節約できるが、浸透期間は液交換するより長くなる。

グリセリン浸透標本は、脱水による収縮が著しいという欠点があるが、図5や図6に示した鱗や表皮が硬い魚種では、収縮による変形がほとんど起こらなかった。色彩については、図5や図7に示したギンブナ、コイ(図5-B, C)、オイカワ、コウライニゴイ、カマツカ(図7-A, C, E)では銀色(グアニン)が残った。ムギツク(図5-A)、ヌマムツ、カワヒガイ(図7-B, D)では黄色(カロチノイド)が残った。オヤニラミ(図6-C)では鰭の赤色が良く保存されていたが、体表の色彩は黒っぽく変色し、退色した。全ての魚種で色彩が良く保存されることはな

かった。

V. まとめ

グリセリン浸透法で色彩を残したい場合は、固定後速やかに標本作製しなければならないが、魚種によって、退色、変形が起こる。変形の少ない標本作製したい場合は、長期保存された液浸標本からグリセリン浸透標本を作製すると良い。

グリセリン浸透標本がいつまで保存できるのか、また、模様や色彩が維持できるのかについては検証できていない。標本状態について長期間の経過を観察する必要があるが今後の課題である。

今回新たに改良したグリセリン浸透標本の作製方法を以下に記述する。

①固定

色彩の保存を優先する場合は、試料を死亡させた後、直ちに10%ホルマリンに浸して固定する。固定期間は試料のサイズによって異なり、体長50-70mmで2日、体長約90-150mmで4日、体長約180mm以上で1週間程度を要する。大きい試料(体長約200mm以上)では固定後内臓を除去、腹腔内へ綿を充填する。

変形のない標本作製する場合は、固定後、液浸標本として長期間保存された試料を用いる。

②グリセリン浸透

グリセリン原液中に試料を入れ、グリセリンを浸透させる。グリセリン濃度の低下がみられる間は、毎日グリセリンを交換する。

ただし、グリセリンの使用量を節約する場合は、濃度低下のたびに、電子レンジで濃度回復させる。電子レンジに晒す時間は、500Wで30秒程度、グリセリン溶液から湯気が出る程度で、沸騰させてはならない。

浸透液の濃度低下はグリセリンの粘性の低下、液量の増加で確認する。

③浸透の確認と洗浄

グリセリンの濃度低下が見られなくなったことで浸透完了を確認する。グリセリン浸透が完了した試料を水で数10秒から1分程度洗浄し、その後、表面の水分を取り除く。

④乾燥

自然乾燥させる。表面の水気がなくなる程度で乾燥は十分である。

⑤保管

防湿性の高い素材でできた容器内に、クッション材の上にのせ、標本を保管する。

参考文献

- 中坊徹次編(2013). 日本産魚類検索全種の同定. 第3版. 東海大学出版会, 神奈川.
- 小野榮子(2004). グリセリン浸透法による生物標本の作成. 「第36回東レ理科教育賞受賞作品集」: 39-41. 東レ科学振興会.

(2014年1月9日受理)