

## 青色系スズメダイ科魚類の標本青色還元法と色彩保存標本作製法

## A restoration method of blue color in damselfishes (Pomacentridae), with notes on retaining blue coloration in preserved fish specimens

岩坪洸樹・本村浩之

Hiroki Iwatsubo and Hiroyuki Motomura

## ABSTRACT

Some species of damselfishes (Pomacentridae) have a bright blue body color. The body surface of these species has scattered iridophores, which induce changes in their blue coloration. The blue color is readily converted to blackish color during formalin fixation of fresh specimens, making it difficult to take photographs of specimens of bluish damselfishes representing live coloration. In this study, an innovative method for restoring the blue coloration in formalin fixed specimens of bluish damselfishes is described. Chromatophore conditions before and after the blue coloration restoration are also illustrated. In addition, a glycerol penetration method to preserve the blue coloration of glycerin immersed preserved specimens are discussed.

**Key Words:** Pomacentridae, chromatophores, iridophore, glycerol penetration method

## はじめに

スズメダイ科 (Pomacentridae) に属する一部の種には、ルリスズメダイ *Chrysiptera cyanea* (Quoy and Gaimard, 1825) やレモンスズメダイ *Chrysiptera rex* (Snyder, 1909), ソラスズメダイ *Pomacentrus coelestis* Jordan and Starks, 1901 など、体全体または一部に鮮やかな青色の色彩を呈する種が存在する。これらの種は色素細胞のひとつである虹色素胞をもつ (大島・杉本, 2001)。虹色素胞内には主としてグアニンから成る板状結晶 (光反射小板) の重なり (小板堆) が存在し、屈折率の高いプリン結晶の重層で生じる反射光の薄膜干渉現象によって鮮やかな青色の

色彩が発現する (梅鉢, 2000; 大島・杉本, 2001)。鮮やかな青色の色彩を呈するスズメダイ科魚類がもつ虹色素胞は、皮膚表面に存在する核領域から放射状に配列している反射小板が、平行的に一斉に移動することで間隔が増減し体色変化の主要な役割を担っている (大島・杉本, 2001)。しかし、小板の間隔が変化する機構は明らかになっていない (大島・杉本, 2001)。

青色の色彩をもつスズメダイ科魚類は、麻酔をかける際 (藍澤, 2009) や氷で絞める際、あるいはホルマリンを用いて展鱗する際に体色が黒色を帯びる。そのため、生鮮標本の撮影において生時の通常の色を記録することがきわめて困難である (例えば、西山, 2013a: セナキルリスズメダイの写真; 西山, 2013b: ソラスズメダイの写真)。青色を還元する方法が開発されれば、撮影した標本について生時の色彩の情報を残すことができるため大変有益である。そこで本研究では、標本処理の際に一度黒色がかかった個体を生時の通常の色に還元する方法を考案したのでここに報告する。

小野 (2005) は乾燥やホルマリン液浸、樹脂包埋などの生物標本作成時における脱色や変色、変形などの問題を解決するため、グリセリンを使用した生物標本作製法を開発した。その後、廣田・中島 (2014) は日本産淡水魚 16 種を用いて、小野 (2005) に詳細な記述がなかった固定期間とグリセリンの浸透方法について検討した。廣田・中島 (2014) は脱水の行程を省略し、固定をした後グリセリン浸透を行う方法を開発した。さらに、廣田・中島 (2014) はグリセリン浸透方法と浸透完了の確認について詳

鹿児島大学総合研究博物館  
〒890-0065 鹿児島市郡元1-21-30  
The Kagoshima University Museum, 1-21-30 Korimoto,  
Kagoshima 890-0065, Japan

細に記述した。小野 (2005) と廣田・中島 (2014) は一部の分類群や色彩について検討したが、青色系スズメダイの色彩保存については本研究が新知見となる。本研究ではグリセリン溶液浸標本での色彩保存とグリセリン浸透法について若干の考察を行ったので同時に報告する。

## 材料と方法

本研究では、*Chrysiptera hemicyanea* (Weber 1913), シリキルリスズメダイ *Chrysiptera parasema* (Fowler, 1918), レモンスズメダイ *Chrysiptera rex* (Snyder, 1909), *Chrysiptera springeri* (Allen and Lubbock, 1976), および *Pomacentrus alleni* Burgess, 1981 を用いた。固定条件による青色還元と比較には、シリキルリスズメダイ (産地: フィリピン) を用いた。種ごとの青色還元の比較には、*C. hemicyanea* (産地不明), レモンスズメダイ (産地: 鹿児島県与論島), *C. springeri* (産地不明), および *P. alleni* (産地不明) を用いた。本研究で用いた標本は、すべて鹿児島大学総合研究博物館 (KAUM) に所蔵されている。また、標本写真も同館の画像データベースに登録されている。使用した標本の登録番号と標準体長 (standard length: SL) は以下のとおり。 *Chrysiptera hemicyanea*: KAUM-I. 59065, 38.2 mm SL。シリキルリスズメダイ *Chrysiptera parasema*: KAUM-I. 59054, 26.6 mm SL; KAUM-I. 59055, 30.4 mm SL; KAUM-I. 59056, 33.1 mm SL; KAUM-I. 59057, 26.5 mm SL; KAUM-I. 59058, 33.2 mm SL; KAUM-I. 59059, 30.0 mm SL; KAUM-I. 59060, 28.4 mm SL; KAUM-I. 59061, 31.3 mm SL; KAUM-I. 59062, 28.3 mm SL; KAUM-I. 59063, 34.3 mm SL; KAUM-I. 59064, 25.0 mm SL; KAUM-I. 59454, 31.8 mm SL。レモンスズメダイ *Chrysiptera rex*: KAUM-I. 59066, 37.0 mm SL。 *Chrysiptera springeri*: KAUM-I. 59067, 29.0 mm SL。 *Pomacentrus alleni*: KAUM-I. 59068, 21.3 mm SL。

### 固定条件による青色還元の比較

生きた状態のシリキルリスズメダイを氷が入った海水で絞め、原液ホルマリンを海水で9%に希釈した溶液を満たした食品用トレーの中で展鰭を行っ

た。鰭が固定されたことを確認した後、原液ホルマリンを蒸留水で3%, 6%, および9%に薄めた3試験区に標本を1日間固定した。その後、固定した標本を蒸留水、水道水 (鹿児島市), および濾過海水のそれぞれの液体に浸して色彩の変化を比較した。また、展鰭後に原液ホルマリンを蒸留水で9%に希釈した溶液でそのまま保管した個体も比較に用いた。すべての試験区とも、展鰭後は7度の恒温槽内で保管した。時系列での色彩変化を比較するため、展鰭直後、ホルマリン溶液での固定後、および固定後1日おきに、それぞれの試験区の標本を撮影した。本実験で用いた標本は、すべて70%エチルアルコールで保存した。青色還元前後で色素胞を顕微鏡下で撮影し、色素胞の変化の観察も行った。

### 種ごとの青色還元の比較

シリキルリスズメダイの固定条件による青色還元の比較において、もっとも短期間で生時の通常の状態の色彩に還元できた試験区で *C. hemicyanea*, レモンスズメダイ, *C. springeri*, および *P. alleni* の処理を行い、それぞれの種で展鰭直後と青色還元後を撮影し記録した。なお、同期間で還元できた試験区があった場合は、もっとも容易に入手できる液体にて行った。本実験で用いた標本は、すべて70%エチルアルコールで保存した。

### グリセリン保存による色彩保存

シリキルリスズメダイ1標本を青色還元した後、グリセリン中にて保存した。グリセリン保存は小野 (2005) と廣田・中島 (2014) のグリセリン浸透法を参考にしたが、退色を防ぐためエチルアルコールを使用する行程を省略した。また、腐敗防止のため液全体量の1%のチモールを加えたグリセリン溶液を用いた。

## 結果と考察

### 固定条件による青色還元の比較

氷を入れた海水で絞めた直後に、すべての標本で体色が黒色を帯びる変化がみられた。展鰭直後も黒色がかかった体色が変化することはなかった (図1: Start)。その後、1日間のホルマリン溶液での固定後

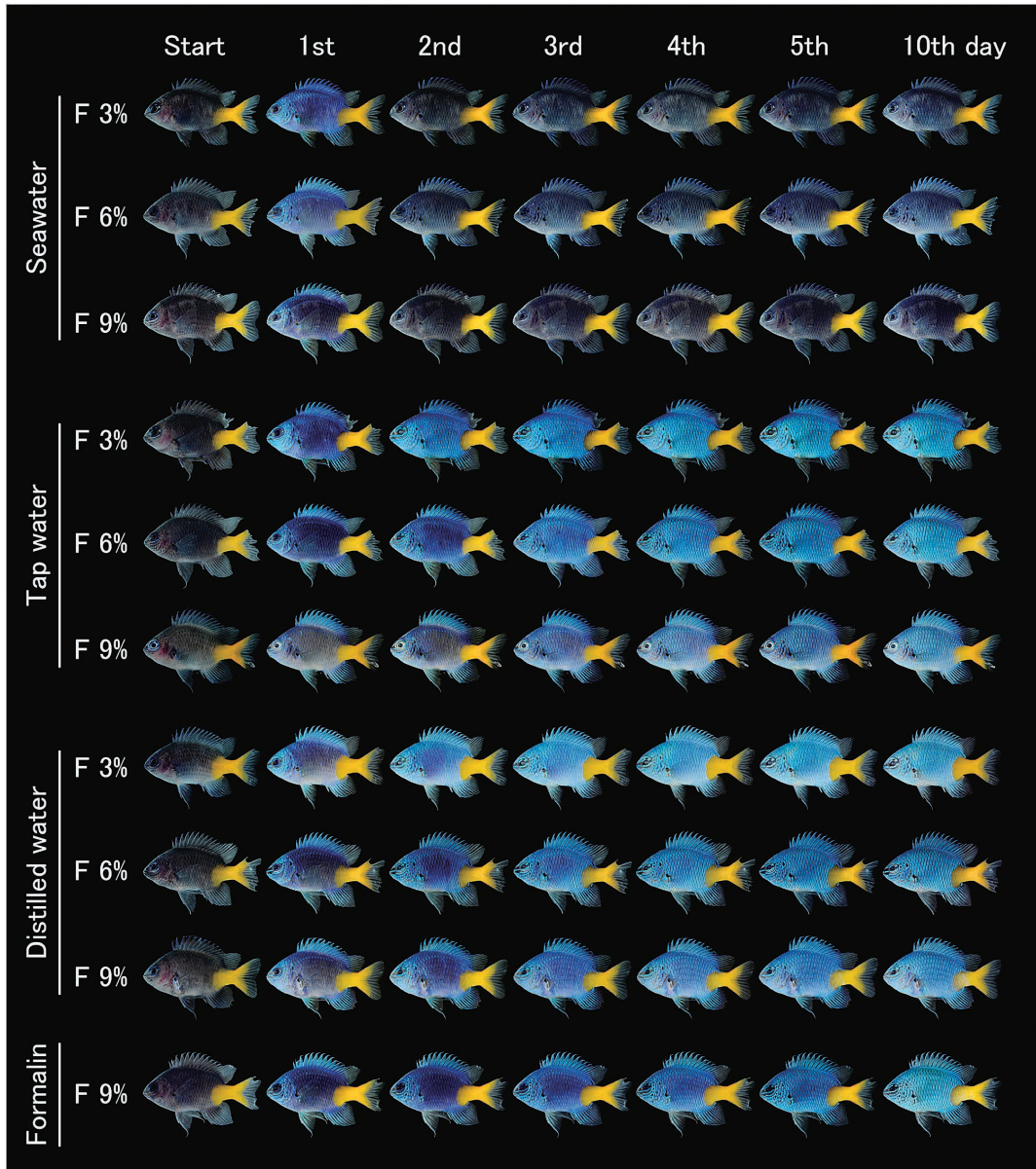


図1. シリキルリスズメダイ *Chrysiptera parasema* の青色還元過程のカラー写真。Fは展鰭後の固定用ホルマリンの濃度；Startは展鰭直後のカラー写真，その後右に向かって展鰭後1日おきのカラー写真。標本は最上行から最下行に向かって以下の通り：KAUM-I. 59054, 26.6 mm SL; KAUM-I. 59055, 30.4 mm SL; KAUM-I. 59056, 33.1 mm SL; KAUM-I. 59057, 26.5 mm SL; KAUM-I. 59058, 33.2 mm SL; KAUM-I. 59059, 30.0 mm SL; KAUM-I. 59060, 28.4 mm SL; KAUM-I. 59061, 31.3 mm SL; KAUM-I. 59062, 28.3 mm SL; KAUM-I. 59063, 34.3 mm SL.

はすべての試験区において，青色への変化が若干みられた（図1: 1st day）。しかし，実験開始2日目では，海水で保存したすべての試験区の標本で青色が消え黒色を帯びた（図1: 2nd day）。水道水，蒸留

水，および9%ホルマリン溶液での試験区では，すべての標本で青色への変化が進行した（図1: 2nd day）。その後も，海水での試験区は黒色を帯びた状態から変化することはなく，水道水，蒸留水，およ

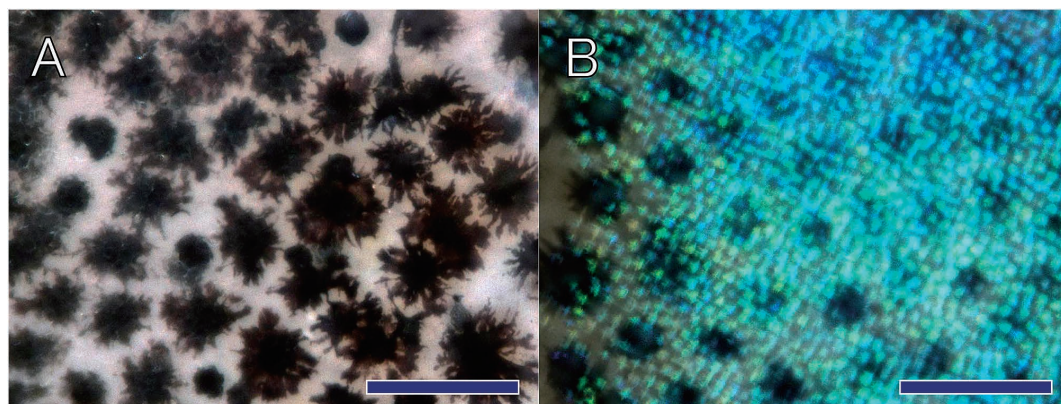


図2. シリキルリスズメダイ *Chrysiptera parasema* (KAUM-I. 59454, 31.8 mm SL) の青色還元前後の虹色素胞と黒色素胞のカラー写真. A, 青色還元前; B, 青色還元後. スケールバーは0.01 mm.

び9%ホルマリン溶液での試験区では青色への変化が進行していった (図1: 1st–10th days). 3%ホルマリンで固定した後、水道水と蒸留水で保管した標本では3日目ではほぼ完全に鮮やかな青色に変化した (図1: 3rd day). 水道水と蒸留水の他の試験区および9%ホルマリン溶液で保管したそれぞれの標本では4日目にはほぼ完全に鮮やかな青色に変化した (図1: 4th day). 以上の結果から、海水では青色の還元はできず、淡水で薄めたホルマリン溶液と淡水では青色の還元ができることがわかった. そして、水道水と蒸留水では、双方に顕著な差がみられなかった. また、展鰭後にホルマリン固定する際は、ホルマリン濃度の低い方が青色の還元に要する時間が少ないこともわかった. なお、青色還元後そのまま液中で保管した場合、徐々に白色を帯びる変化がみられた (図1: 10th day).

青色還元前後の色素胞を観察した結果、還元前は全体の90%程度の黒色素胞に色素顆粒の拡散がみられ、虹色素胞が透明であることに対し (図2A)、還元後は全体の90%程度の黒色素胞に色素顆粒の凝集がみられ、虹色素胞が鮮青色を呈したことが確認された (図2B).

### 種ごとの青色還元の比較

実験に用いたすべてのスズメダイ科魚類で青色の色彩還元が認められた (図3). *Chrysiptera hemicyanea* とレモンスズメダイ *Chrysiptera rex* は展鰭後3日で青色還元が認められた (図3A–1, 2, B–1, 2). しか

し、*Chrysiptera hemicyanea* は、腹部から尾柄部にかけての黄色域に若干の退色がみられた (図3A–1, 2). また、頭部を除く体のほぼ全体が黄色を呈するレモンスズメダイでは、黄色の退色が顕著であった (図3B–1, 2). *Chrysiptera springeri* と *Pomacentrus alleni* は1日で青色還元が認められた (図3C–1, 2, D–1, 2). *Pomacentrus alleni* の還元にかかる時間が少なかったのは、標準体長が21.3 mmと小さかったためと考えられる. また、*P. alleni* は還元にかかる時間が少なかったため、臀鰭の黄色域の退色もみられなかった (図3C–1, 2). *Chrysiptera springeri* がシリキルリスズメダイとほぼ同体長であるにもかかわらず、還元にかかる時間が少なかったのは、種の違いのためと考えられる.

以上の結果から、体の色彩に黄色域があるスズメダイ科魚類では、青色を還元する間に黄色が退色することが判明した. そのため、青色の色彩還元の時間をいかにして短縮するか、または黄色の退色を防止するかが今後の検討課題である. また、体サイズや種によって還元時間が変化すると考えられるため、それらに合わせて還元時間を調整する必要があることも明らかになった.

### グリセリン保存による色彩保存

小野 (2005) は乾燥やホルマリン液浸、樹脂包埋などの生物標本作成時における脱色や変色などの問題を解決するため、グリセリンを使用した生物標本作製法を開発した. その後、廣田・中島 (2014) は

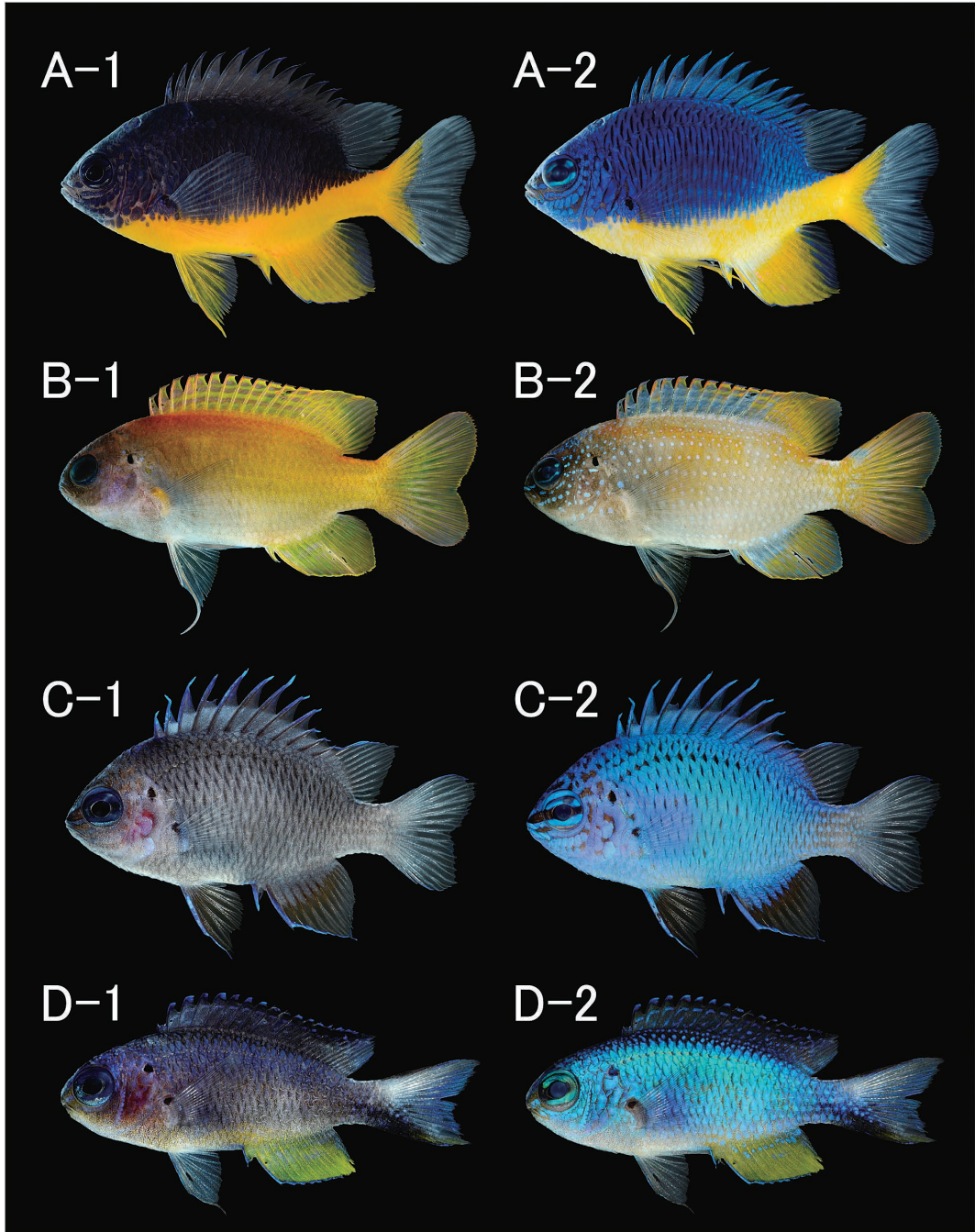


図3. 青色系スズメダイ科魚類の青色還元前後のカラー写真. A, *Chrysiptera hemicyanea* (KAUM-I. 59065, 38.2 mm SL); B, レモンスズメダイ *Chrysiptera rex* (KAUM-I. 59066, 37.0 mm SL); C, *Chrysiptera springeri* (KAUM-I. 59067, 29.0 mm SL); D, *Pomacentrus alleni* (KAUM-I. 59068, 21.3 mm SL). 1, 青色還元前; 2, 青色還元後 (A, 展鱗から3日後; B, 3日後; C, 1日後; D, 1日後).

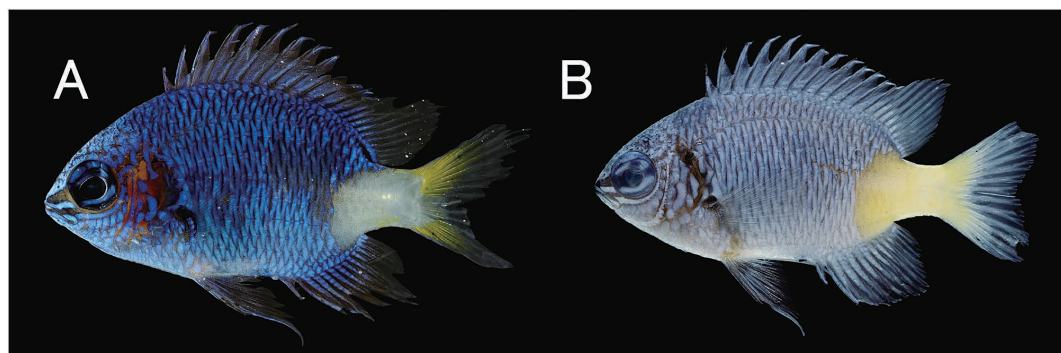


図4. 青色還元したシリキルリスズメダイ *Chrysiptera parasema* 標本のカラー写真. A, グリセリンで30日間保存された標本 (KAUM-I. 59064, 25.0 mm SL); B, エチルアルコールで30日間保存された標本 (KAUM-I. 59060, 28.4 mm SL).

小野 (2005) のグリセリン浸透方法の検討と改良を行った. 小野 (2005) は, 構造色をもつ魚類には脱水工程を十分行うほうが良いとしている. しかし, どの分類群の魚類に対して有効なのか明記していない. また, 廣田・中島 (2014) では青色の構造色をもつ魚類でのグリセリン浸透法を検証していない. 青色還元法を用いた標本をエチルアルコールに浸すと退色するため, 青色のスズメダイ科魚類に用いるグリセリン浸透法では脱水工程を省略する必要がある. また, 小野 (2005) や廣田・中島 (2014) では標本の長期保存での劣化や腐敗の有無については述べられていないが, 本研究では腐敗防止のため液全体量の1%のチモールを加えたグリセリン溶液を用いた.

液全体量の1%のチモールを加えたグリセリン溶液と70%エチルアルコールのそれぞれに, 青色還元したシリキルリスズメダイ1標本を保管した. その後30日経過した時点で, グリセリン溶液と70%エチルアルコール保存下のそれぞれの標本の色彩を比較した. その結果, グリセリン中での保管標本は尾柄部の黄色域の退色と透明化がみられたが, 青色域の退色はみられなかった (図4A). 一方, 70%エチルアルコール中での保管標本は体全体の色彩の退色が認められた (図4B).

固定後速やかにグリセリン溶液で保存した場合, 眼が窪むことや体幅が著しく小さくなることなど, 体型が大きく変化する (廣田・中島, 2014; 本研究). したがって, 固定後速やかにグリセリン溶液で保存した場合は, 生鮮時の色彩を保存する点では

有効であるが, 体型を維持する目的での保存には不適切である. 色彩を保存し, かつ体型変化が少なくすることが今後の課題である. また, 廣田・中島 (2014) でも述べられているが, どれくらいの期間グリセリン浸透標本が保存できるのか, 色彩を維持することができるのか今後観察していく必要がある.

#### 謝辞

有限会社ブルーコーナーの太田竜平氏 (当時) ならびに社員のみなさまには, 実験に用いたシリキルリスズメダイの収集に協力いただいた. 鹿児島大学魚類分類学研究室の目黒昌利氏, 吉田朋弘氏, 田代郷国氏, 畑 晴隆氏, 岐阜県高山市の山下真弘氏にはレモンスズメダイの採集に協力いただいた. 鹿児島市のアクア伊敷店の中島政昭氏ならびにスタッフの方々には種ごとの色彩変化で用いたスズメダイ科魚類と色素胞の観察に用いたシリキルリスズメダイの収集に協力いただいた. 鹿児島大学総合研究博物館の内村公大博士には顕微鏡下での色素胞の撮影に協力いただいた. ボルネオ海洋研究所の Bernardette Mabel Manjaji Matsumoto 氏には本報告の Abstract を校閲して頂いた. 以上の方々には深く感謝の意を表する. 本研究は, 鹿児島大学総合研究博物館の「鹿児島県産魚類の多様性調査プロジェクト」の一環として行われた. 本研究の一部はJSPS科研費 (19770067, 23580259, 24370041), JSPS アジア研究教育拠点事業「東南アジアにおける沿岸海洋学の研

究教育ネットワーク構築」, JSPS若手研究者インターナショナル・トレーニング・プログラム「熱帯域における生物資源の多様性保全のための国際教育プログラム」, 総合地球環境学研究所「東南アジア沿岸域におけるエリアケイパビリティーの向上プロジェクト」の援助を受けた。

## 引用文献

- 藍澤正宏 2009. 標本用麻醉薬. 本村浩之(編), 魚類標本の作成と管理マニュアル, p. 8, 鹿児島大学総合研究博物館, 鹿児島.
- 廣田大輔・中島経夫 2014. 魚類標本におけるグリセリン浸透法の検討. *Naturalistae*, 18: 47-52.
- 西山 肇 2013a. セナキルリスズメダイ. 本村浩之・出羽慎一・古田和彦・松浦啓一(編), 鹿児島県三島村 硫黄島と竹島の魚類, p. 235, 鹿児島大学総合研究博物館, 鹿児島・国立科学博物館, つくば.

- 西山 肇 2013b. ソラスズメダイ. 本村浩之・出羽慎一・古田和彦・松浦啓一(編), 鹿児島県三島村 硫黄島と竹島の魚類, p. 239, 鹿児島大学総合研究博物館, 鹿児島・国立科学博物館, つくば.
- 小野榮子 2005. グリセリン浸透法による生物標本の作成. 東レ科学振興会(編), 東レ理科教育賞受賞作品集 第36回(平成16年度), pp. 39-41, 公益財団法人東レ科学振興会, 浦安.
- 大島範子・杉本雅純 2001. 魚類における色素細胞と体色変化. 松本二郎・溝口昌子(編), 色素細胞機能と発生分化の分子機構から色素性疾患への対応を探る, pp. 161-176, 慶應義塾大学出版会, 東京.
- 梅鉢幸重 2000. 動物の色素—多様な色素の世界—. 373 pp. 内田老鶴圃, 東京.

(受付: 2014年3月14日)

(受理: 2014年6月22日)