

多足類の骨格構造の観察への試料透明化法適用の試み

岡田 朋之 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 八畑 謙介 (筑波大学 生命環境系)

背景と目的

生物学において形態の観察はもっとも基本的な研究手法の一つである。形態の観察手法として、標本の外部形態の観察や、試料の解剖による内部形態の観察があげられる。しかし、特に内部形態に関して、小さな動物では内部の構造などは解剖による観察が難しい。また、節足動物の気管系などの構造は解剖などの破壊的な手法では生体での構造が失われる可能性がある。生物の内部形態の観察手法として、骨格の染色と軟組織の透明化によって生物の構造を維持したまま内部形態を観察する手法がある。しかし、節足動物のような外骨格をもつ生物においては透明化法により内部形態を観察する手法はあまり一般的ではない。

本研究では、試料透明化による観察法の確立を目的とした。また、高価な薬品や危険な薬品を避け、安全で安価な手法による形態の観察法を確立することを試みた。簡便な手法による観察法が確立できれば、教育の現場などへも応用が可能になる。

本研究では、解剖による観察の難しい節足動物の気管系など、虫体の内部に陥入した外骨格構造の観察を可能にする試料透明化法を検討した。

材料と方法

本研究では材料として唇脚類 (ムカデ類) を用いた。唇脚類は 1 年を通して成体を採集可能なため季節を問わず試料を得ることができる。また、体サイズが極端に大きくも小さくもなく、また外骨格も極端に厚くも薄くもないため、一般的な節足動物のモデルとして用いることができると考えた。現生の唇脚類はすべて陸生であり気管系を有している。なお、従来は唇脚類の骨格構造や気管系の観察手法は試料の解剖などによる方法が一般的であった。おもに埼玉県行田市、および茨城県つくば市筑波大学構内において採集した唇脚綱オオムカデ目のセスジアカムカデ *Scolopocryptops rubiginosus* を試料として用いた。

試料は 10% ホルマリン液により固定した。試料からホルマリン液を洗い流した後、10% 乳酸水溶液、20% 乳酸水溶液、40% 乳酸水溶液に漬け、60°C のインキュベータで 24 時間、48 時間、100 時間など乳酸水溶液の濃度と処理の時間などを変え、いくつかの条件下で処理を行った。

透明化処理後、実体顕微鏡を用いて気管系など、おもに骨格の陥入構造を観察し、処理条件の検討を行った。

結果と考察

乳酸による処理によって外骨格および軟組織が透明化し、軟組織を残したまま全身の気管系を観察することができた。乳酸水溶液の濃度を高くするほど透明化の程度は高くなった。しかし、乳酸水溶液の濃度が高くなるほど試料は脆弱になり、40% 乳酸水溶液を用いた処理では外骨格の損傷や軟組織の漏出がみられ、試料が観察に適さない状態になることがあった。気管系のおおまかな観察に適した透明化処理条件は、20% 乳酸溶液による 48 時間の処理であった。

この条件で作成した試料の観察では、解剖では観察することの難しい歩脚や触覚への微細な気管の伸長を非破壊的に観察することができた。

本研究の方法による透明化ではクチクラ骨格以外の組織はほぼ完全に透明化するため、消化器系、筋肉系などの組織の観察には適さない。しかし、解剖によって観察することの難しい節足動物の内部骨格構造を観察する方法としては適している。

また本研究で用いた乳酸による透明化法は比較的安価で安全であり、また、複雑な操作も必要としないため、節足動物の内部骨格構造の簡便な観察法として利用可能である。