

# 有機溶媒を用いたトンボ標本の変色を抑える方法

千葉県立佐倉高等学校生物部 3年 岩井太陽

はじめに

私は昆虫採集を好み、幼い頃から現在まで専ら昆虫を捕まえては標本の作製を行ってきた。そんな中で多くの昆虫は死後時間が経過すると体の色に変化してしまうことに気づき、これを少しでも抑えることはできないのかと考え、今回はトンボに種を絞って抑制する方法を検討することにした。変色の対処方法の研究に関しては、既に先行研究が少なからず存在している上に、方法として確立されているものもいくつかあるが、それらは全て完全に変色を抑えるまでには至っていない。したがって、従来の方法に比べてより効果的な方法を考案し、限りなく生前に近い姿を残した標本作製することが研究の目標である。また、多数の個体の標本作製することを考慮すると、その方法が可能な限り簡単に行えることが望ましい。今回は、参考文献とした「兵庫の昆虫雑誌きべりはむし第42巻第2号『トンボの標本作り』（石田真載・哲載、2019）」にも紹介されている有機溶媒を用いた方法について特に実験を行った。そもそも、トンボが変色してしまう原因は体に存在する筋肉や脂が酸化してしまうことである。つまり、それらを有機溶媒によって溶かすことで変色の抑制することを図るということだ。

実験準備

全体を通した実験準備として、実験に利用したトンボについて述べておく。今回はシオヤトンボ *Orhetrum japonicum* (Uhler, 1858)、シオカラトンボ *Orhetrum albistylum speciosum* (Uhler, 1858) の二種を用いた。二種は共に全国的に広く分布する普通種であり、採集が容易であること、またシオヤトンボは春のかなり早い時期から活動を開始し、シオカラトンボは主に晩春から秋という長期間活動するので、年度始め直前から継続的に行った実験の試料として適していたことが二種を用いた理由である。なお、二種は体の色などの特徴が非常に似ているため、実験において種類による区別は行わず、同じものとして扱った。

体の色の特徴としては、幼虫から羽化してすぐの未成熟個体は光沢のない金色のような色をしており、成熟するとオスは薄い水色になり、メスは基本的にほとんど変化しない。(例外として稀にオスのような色や両者の色が混じったような色をした中間型個体が出現することがある。後述のグループ分けの都合上、中間型は今回の実験で一切利用していない。)このことから、一般的に未成熟個体と成熟したメス個体でみられる色をした個体をメス型、成熟したオスにみられる色をした個体をオス型として、体の色によって2グループに区別した。各グループをそれぞれメス型、オス型としたが、未成熟個体は性別を無視してメス型としていることや成熟したメスにもオスのような体色をした個体が存在することなどから、必ずしもメス型の個体がメス、オス型の個体がオスであるとは限らないという点に注意して頂きたい。

トンボの採集に関して、実験を行うにあたって数十匹の個体を採集したが、乱獲による個体数の減少や採集地の生態系の破壊を避けるため、念のため3ヶ所の採集地(これらは互いに十分離れた場所に位置する)で期間をあげながら、複数回に渡って少数ずつ採集した。

予備実験

予備実験では、参考文献とした「兵庫の昆虫雑誌きべりはむし第42巻第2号『トンボの標本作り』（石田真載・哲載、2019）」に記載されている方法のうち、アセトンを用いたものを再現し、抑制効果を確認した。使用した道具として、チャック付きポリ袋、アセトン、銅の針金(線径9mm)、1000ml ビーカー1個、竹串1本、標本針(志賀製有頭4号)、ラベル、展足板を使用した。アセトンは洗浄用溶剤などの用途としてホームセンターで販売されているものを利用した。今回において、展足板は針に刺した個体を単に静置するためのスペースとしてのみ利用しており、展足などの作業は省略している。続いて実験方法を手順ごとに記す。

手順1 採集した個体をチャック付きポリ袋に入れて保管し、餓死させた。個体の生死は毎日確認することで少なくとも死後24時間以内には実験を行った。

手順2 死亡した個体の腹部に腹部と同じ程度の長さの切った銅の針金を入れ込んだ。このとき、腹部の第8部と第9部の背面の境界線あたりを竹串を用いて穴を開けて、その穴から針金を挿入した。こうすることで、標本の腹部の形崩れを防ぐことができる。

手順3 1000ml ビーカーにアセトン約50mlを注ぎ、そこへ手順2までが完了した個体を1時間程度浸けた。アセトンの約50mlというのは、1000ml ビーカーに注ぐとちょうど個体の全身が浸かるほどの体積である。また、注ぐ溶媒の体積に対して非常に大きな容積のビーカーを用いた理由は、ビーカーの底面積が大きいからである。底面積が大きいことで複数の個体を重なることなく同時に浸けることができる。

手順4 個体に標本針を刺し、展足板にそれを刺した。また、ラベルも同様に展足板に刺した。この状態で1週間ほど静置した。

手順5 ここまでの手順から手順3を省いた、つまりアセトンによる処理を行わなかった個体の標本も作製し、アセトンによる処理を行った個体の標本と色の変化の差異を実験準備で述べた2グループにおいてそれぞれ目視によって確認した。

以上の実験の結果、メス型の個体のアセトン処理有り無し、オス型の個体のアセトン処理有り無しの4パターン別に各7個体、計28個体を実験に用いたが、メス型の個体全てにおいてアセトンによる処理をした個体の方が生前に近い色を残せていた。オス型に関しては、抑制は腹部ではほとんどみられず、胸部において少し確認できる程度であり、個体によっては無処理の状態とほぼ変わらないものもみられた。

この結果より、アセトンによる変色の抑制効果が確認された。これは体表面の脂をアセトンが溶かすことで、酸化する脂が減少したことで変色が抑制されたと考察できる。つまり、少なくとも体表面の脂は変色に影響を与えているとも言えるだろう。また、オス型の個体に比べてメス型の個体における抑制効果が高いと考えられる。この原因は、オス型が分泌するワックスが関係していると考えた。「eLife『Molecular basis of wax-based color change and UV reflection in dragonflies』」(二橋亮ら他12名、2019)によると、シオカラトンボのオスは成熟する過程で紫外線を反射するワックスを分泌する。このワックスが何かしらの要因で変色を抑制していると思われる。しかしながら、具体的な要因は現時点で不明である上、シオヤトンボについても同様のことが必ずしも言えるとは限らず、単なる予想に過ぎない。これは今後調べていく必要がある事項である。

## 本実験

予備実験では、少なくとも体表面の脂が変色に影響を与えていることがわかったが、内部の脂や筋肉は変色の要因となっているのであろうか。そのことを確認するのが本実験である。もし、内部からも影響を与えていることになれば、内部の脂や筋肉もアセトンによって溶かすことでさらに変色を抑制することが期待できる。使用した道具に関して、予備実験で利用したものに加えて注射器(250 $\mu$ l)を用いた。これの用途は内部の脂や筋肉を溶かすために、アセトンをトンボへ注入することである。

次に実験方法について記す。まず、予備実験で行ったアセトン処理を「通常処理」、新たに注射器を用いた処理を「注射処理」と呼ぶことにする。このとき、メス型とオス型の2グループにおいてそれぞれ、処理なし、通常処理のみ、注射処理のみ、通常処理と注射処理の両方という4パターンの処理の方法が得られる。処理なしは予備実験の方法における手順1から4のうち、手順3を省いたものに同じである。通常処理のみは予備実験の方法における手順1から4までのものに同じである。注射処理のみに関して、予備実験の方法における手順1、2が完了した個体に注射器を用いて胸部背面からアセトンを注入した。その後、予備実験の方法における手順4を行った。なお、アセトンは揮発性のある有機溶媒のため、注入したアセトンを外部へ出す作業は行わなかった。通常処理と注射処理の両方については、予備実験の方法における手順1、2が完了した個体に注射器を用いて胸部背面からアセトンを注入した後、予備実験の方法における手順3、4を行った。以上が各処理の手順である。内部による変色の影響を確認するために、それぞれの処

理を行った個体の色の変化の差異を目視によって比較した。

結果として、4つのパターンを比較したときの抑制の度合いを以下の表のようにまとめた。(表1、2)両方の処理をした個体が最も変色が少なく、順に通常処理のみ、注射処理のみ、処理なしとなった。(通常処理のみと注射処理のみでは大差が見られなかったため、表では同程度のものとして表している。)しかしながら、オス型の個体には抑制効果が腹部を中心に非常に小さく、表2の結果は比較的颜色の変化の差異が見られた胸部を見て判断したものである。違いはメス型の方が明確であり、以下の図からでもおおよそ確認できるだろう。

表1 抑制の度合い(メス型)

	注射処理有り	注射処理なし
通常処理有り	◎	○
通常処理なし	○	×

表2 抑制の度合い(オス型)

	注射処理有り	注射処理なし
通常処理有り	◎	○
通常処理なし	○	×

(◎:非常に抑制した ○:抑制した ×:抑制しなかった)



図 各処理による色の変化 (左から、両方の処理、通常処理のみ、注射処理のみ、処理なし)

結果より、注射処理のみでも抑制効果があったことや両方の処理を行うことで効果が高まったことから、内部の筋肉や脂も変色に影響を与えていると考えられる。通常処理に加えて注射処理を行うことは従来の方法に比べてより効果的な方法と言えるだろう。

#### 今後の展望

今回は使用する有機溶媒をアセトンに絞って実験を行ったが、他の有機溶媒を用いた実験も行っていきたい。例えば、参考文献である「兵庫の昆虫雑誌きべりはむし第42巻第2号『トンボの標本作り』」(石田眞載・哲載、2019)では、アセトン以外にもヘキサンが紹介されており、両者における抑制力の違いなどに注目することで、より効果的な方法の考案に繋がるかもしれない。

オス型における抑制度合いが小さくなる原因についても調べていきたい。今回は予想としてオスが分泌するワックスとの関連性について言及したが、具体的にどのようにして抑制の阻害に繋がっているのか、あるいは無関係であるのかなど確認する必要があるだろう。

また、今回はトンボの種類を絞ったり、体の変色に着目したりして実験を行ったが、種類による抑制度合いの違いや目の色の変色についても将来的に議論したい内容である。

#### 参考文献

尾園暁、川島逸郎、二橋亮 「ネイチャーガイド 日本のトンボ」 文一総合出版 2017年

石田眞載・石田哲載 「トンボの標本作り」 兵庫の昆虫雑誌 きべりはむし 第42巻第2号(3から7ページ)

[https://www.konchukan.net/pdf/kiberihamushi/Vol42\\_2/kiberihamushi\\_42\\_2\\_3-7.pdf](https://www.konchukan.net/pdf/kiberihamushi/Vol42_2/kiberihamushi_42_2_3-7.pdf)

「産総研:トンボ由来の紫外線反射物質を同定」 (2022年7月10日参照)

[https://www.aist.go.jp/aist\\_j/press\\_release/pr2019/pr20190115/pr20190115.html](https://www.aist.go.jp/aist_j/press_release/pr2019/pr20190115/pr20190115.html)

二橋亮、山濱由美、川口研、森直樹、石井大佑、奥出絃太、平井悠司、川原(三木)玲香、吉武和敏、

矢嶋俊介、針山孝彦、深津武馬 「Molecular basis of wax-based color change and UV reflection in dragonflies」

eLife <https://elifesciences.org/articles/43045>