

マイクロ波と乾燥用特殊ユニットによる 植物標本の迅速乾燥と吸水復元に関する解剖学的検討

岡崎 智鶴子¹⁾・小林 和貴²⁾・三田 直樹¹⁾・金井 豊¹⁾・早坂 英介²⁾・寺澤 弘陽²⁾・
米倉 浩司²⁾・大山 幹成²⁾・鈴木 三男²⁾・吉光 見稚代³⁾・毛利 千香³⁾・御影 雅幸³⁾

Quick drying of botanical specimens by microwave with special drying unit
and their restoration by water absorption : An anatomical study

Chiduko OKAZAKI¹⁾, Kazutaka KOBAYASHI²⁾, Naoki MITA¹⁾, Yutaka KANAI¹⁾,
Eisuke HAYASAKA²⁾, Hiroaki TERASAWA²⁾, Koji YONEKURA²⁾, Motonari OHYAMA²⁾,
Mitsuo SUZUKI²⁾, Michiyo YOSHIMITSU³⁾, Chika MOURI³⁾, Masayuki MIKAGE³⁾

はじめに

北海道は大雪山系をはじめとして多様な自然環境に恵まれ、様々な動植物・地形・岩石等が存在している。普遍的に見られるもの、地域特有で貴重なもの、どちらも標本による保存と社会での活用の両立は重要な課題である。著者らはこの点に留意しながら関連研究を行ってきている。植物標本は社会への教育・啓蒙などに役立つばかりでなく、地質(環境, 鉱床, 成分組成, 汚染なども含む)と植物の相互関係(生育, 生体濃縮, 植物探鉱なども含む)を理解する為にも、植物の乾燥前の組織や色, 成分を保持することは重要である。本報告では、植物標本などの高品質保存方法に焦点を合わせた研究を報告する。

植物標本を作製する主な方法として、乾燥法と化学固定法がある。乾燥法にはいくつかの方法があり、吸水紙乾燥法やシリカゲル乾燥法では3-4日から1週間以上、加熱器乾燥法でも1-2日間加熱器に試料を入れて乾燥する必要がある。いずれの方法も乾燥に長時間を要し、乾燥および保存中に色や組織構造などの品質が劣化する欠点を有している。さらに、これらの方法では乾燥後に水に戻した時の状態が悪く、色素・組織・成分などの研究試料としての価値が低下するという問題も有している。化学固定法は、ホルマリンやエ

タノール等により解剖学的, 組織学的な研究試料を保存する方法であるが、保存中の植物試料の脱色や成分の溶出などの欠点を有している。

1980年代には、マイクロ波によって植物を処理する研究が盛んに行われるようになった。これらは、セラミック板・アクリル板・スポンジ・吸水紙などで植物試料を挟んでマイクロ波を照射する方法である。これらの方法は植物を数分で乾燥でき、さらに従来の加熱器乾燥法などに比べて葉や花の色の保持に優れていることが報告されている(Bacci et al. 1985)。しかし、胞子や花粉の外壁が傷害を受けること(Arens and Traverse 1989)、葉の表皮の外部形態や木部の構造は保持されるが海綿状組織・柵状組織・篩部は壊れること(Bacci et al. 1985, Jacquin-Dubreuil et al. 1989)、茎が割れること(Hill 1983)などが報告されている。

これに対して岡崎らは、植物標本用の新しい乾燥や保存のための処理方法(OK処理法と称す)を開発した(岡崎・三田 2000)。OK処理法は、被乾燥試料をOKユニットという特殊器具で包んでマイクロ波を照射する方法であり、色や香り等を生体時に近い品質で乾燥することが達成されるうえ、乾燥剤なしに長期間安定した品質で室温保存が可能となった。この方法は、薬用植物や植物標本の迅速な乾燥やその他様々な利用が

- 1) (独)産業技術総合研究所 地質調査総合センター 〒305-8567 つくば市東1-1-1 つくば中央第7 Geological Survey of Japan, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, Central 7, Higashi 1-1-1, Tsukuba 305-8567, Japan
- 2) 東北大学植物園 〒980-0862 仙台市青葉区川内12-2 Botanical Gardens, Tohoku University, Aoba-ku, Sendai 980-0862, Japan
- 3) 金沢大学薬用植物園 〒920-1192 金沢市角間町 Herbal Garden, Kanazawa University, Kakuma, kanazawa 920-1192, Japan

期待されるが、解剖学的、組織学的な検討は未だ十分になされていない。組織構造の保持性においても優位性が示されれば、有害なホルマリン等を用いる化学固定法に代わる試料保存法として将来的な利用も期待される。

本研究では、OK処理法と従来の標準的な標本作製法による乾燥試料について、色の保存性と同時に顕微鏡レベルで細胞構造を詳細に比較検討した。試料には、従来法で保存試料中に試料が褐変することで知られるアオキ (*Aucuba japonica* Thunb.) など3種類の植物を用いた。

材料および実験方法

1. 試料

東北大学学術資源研究公開センターの植物園に生育するアオキとゲッケイジュ (*Laurus nobilis* L.)、及び市販されている食品用のアオジソ (*Perilla frutescens* (L.) Britton var. *crispa* (Thunb.) H. Deane f. *viridis* (Makino) Makino) の葉を用いた。

2. 乾燥試料の調製方法

乾燥標本の調製には以下の3つの方法を主に用いた。

2-1. OK処理法

本法は、数種類の吸湿材料を組み合わせた特殊ユニット (OKユニットと称する) で試料を覆い、マイクロ波を1回あたり2分以下照射するものである。なお、OKユニットには複数の種類がある (岡崎・三田2000)。マイクロ波照射装置にはR-A3 (ES) (株式会社東芝) を用い、マイクロ波の照射時間は、1枚の葉につき、照射による試料の重量変化のなくなるまで繰り返した。アオキが90秒、ゲッケイジュが80秒、アオジソが70秒で、それぞれを乾燥できた。

2-2. 加熱乾燥法

試料を電熱器105℃で8時間加熱した。電熱器は定温乾燥器DOV-450 (アズワン株式会社) を用いた。

2-3. 標準的なさく葉標本作製法

吸水紙に試料をはさみ、その上に重石をのせて室内で1週間以上乾燥させた。乾燥初期は2日に1度吸水紙を交換した。

3. 乾燥状態の評価

各乾燥方法で10枚の葉について重量変化が認めら

れなくなるまで乾燥し、重量残存率 (乾燥後質量/乾燥前重量×100) の平均値を求めた。その比較によって乾燥方法と乾燥試料を評価した。

4. 組織復元性検討のための試料調整方法

組織復元性の検討のために、乾燥試料の水戻しと煮戻しを行った。水戻しは、乾燥試料の葉身中央部から切り出した葉片 (約2×3mm) を、蒸留水1mlとともにサンプルチューブ (容量2ml) に入れて、室温で半日から2日間静置して行った。煮戻しは、同様に処理した葉片をサンプルチューブごと沸騰水に5分から30分浸漬して行った。

5. 切片作製方法と観察

生試料、上記の3方法による乾燥試料および各乾燥試料の水戻し・煮戻し試料を、FAA (ホルマリン: 酢酸: 70%エタノール=1:1:18) で化学固定した後にアセトン系列で脱水し、Agar Low Viscosity Resin (Agar Scientific) に包埋した。ロータリーマイクロトームHM350 (MICROM) で厚さ5μmの横断切片を作製し、トルイジンブルー0で染色したものを、光学顕微鏡BX50 (オリンパス株式会社) で組織構造を観察した。さらに、切片画像をデジタルカメラHC-300 (富士フイルム株式会社) で撮影し、画像解析ソフトImageJ 1.36b (National Institutes of Health, USA) を用いて、葉の厚さを計測した。生葉におけるそれぞれの厚さを100として吸水した葉の厚さを求めた。計測は1枚の切片あたり100μm間隔で10ヶ所行った。

結果と考察

1. 乾燥状態の評価

試料を乾燥させるためには、熱・気流・吸収などによって水分を試料から除去する必要がある。その際に、水分だけではなく揮発成分や分解した成分なども、試料から除去されることが考えられる。従って、水分以外の成分を試料内に可能な限り保持しつつ、水分のみを除去するのが理想的な乾燥方法である。そこで、OK処理法と標準的なさく葉標本作製法ならびに加熱乾燥法による乾燥試料の重量残存率を比較し、乾燥方法と乾燥試料の評価をした。

ゲッケイジュ、アオキ、アオジソにおける10試料の重量残存率の平均値と標準偏差を図1に示した。

ゲッケイジュとアオキでの重量残存率は、それぞれ

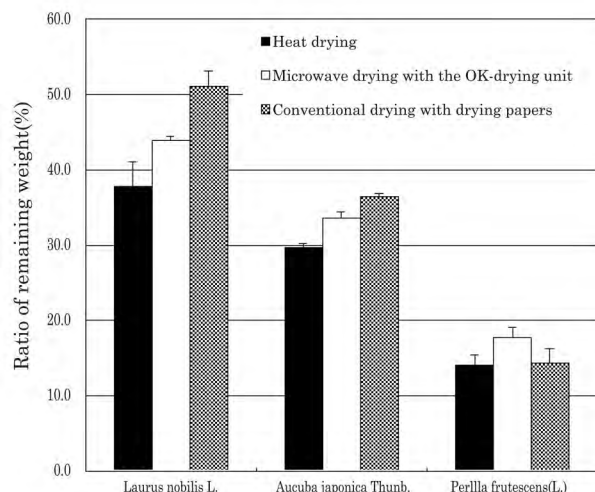


図1. 加熱乾燥法, OK法および吸水紙を用いた従来法の3種の乾燥法によるゲッケイジュ, アオキ, アオジソの重量残存率 (10試料の平均と標準偏差)

Fig.1. Remaining weight ratios of *Laurus nobilis*, *Aucuba japonica* and *Perilla frutescens* var. *crispa* f. *viridis* that were treated with three drying methods. Data are the averages of ten experiments with the standard deviations.

38-51%, 30-36%であり, 標準的なさく葉標本作製法, OK処理法, 加熱乾燥法の順に小さくなる傾向がみられた。その理由として, 乾燥温度が方法別に異なることが考えられる。加熱乾燥法では105°Cの高温で乾燥させたために, 試料に含まれる水分以外の成分が揮発し, 重量残存率が低くなった可能性がある。また, 標準的なさく葉標本作製法は室温で乾燥させるため, 揮発成分が保持されて重量残存率が高くなったものと考えられる。一方, アオジソの重量残存率は14-18%の範囲であったが, 3種類の乾燥法の重量残存率の傾向が他の2種とは異なっていた。この原因の一つとして, 葉の組織構造の違いが考えられる。アオジソの葉の表面のクチクラ層は, アオキやゲッケイジュと比較するとやや発達していないため, 加熱しない標準的なさく葉標本作製法であっても比較的容易に水分除去が行われたと考えられる。

2. 色変化

ゲッケイジュ, アオキ, アオジソの生葉とOK処理法および加熱乾燥法の乾燥試料との比較写真を図2に示す。いずれの植物についても乾燥試料の色調は, OK処理法のものが生葉とほぼ同等であったのに対し, 加熱乾燥法では黒変していた。また, 全体の形状として前者では生葉に近い形状が保持されていたのに対し, 後者では葉縁が大きく湾曲していた。

図3には, アオキの生葉, OK処理法と標準的なさく葉標本作製法による乾燥試料, それを水戻し, 煮戻した試料の写真と組織切片の染色写真を示した。色の変化については, 図2と同様に, OK処理法のもものが生葉と同等であったのに対し, 標準的なさく葉標本作製法では黒変した。水戻した試料では, OK処理法によるものがわずかに褐変したのに対し, 標準的なさく葉標本作製法では明らかに褐変した。一方, 煮戻した試料では, どちらの処理方法による場合でも水戻し試料より褐変の度合いが大きかった。これら色調の変化は, 葉が褐色化するメカニズムに関与する酵素等が, 乾燥法や水戻し, 煮戻しによる温度変化や水分変化により影響を受けた結果であると仮定すれば, OK処理法では乾燥・水戻しによる酵素の作用は弱い一方, 標準的なさく葉標本作製法では乾燥段階で影響を受けている可能性がある。詳細については更なる研究が必要である。

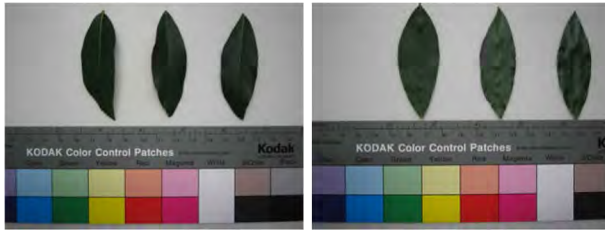
3. 組織構造と組織の復元性

OK処理法と標準的なさく葉標本作製法によるアオキの乾燥試料の葉肉部の厚さは, いずれの方法でも乾燥後は生葉の約40%程度減少した。これらの葉肉部を顕微鏡観察すると, OK処理した試料では, 生葉と比較すると葉肉組織が圧縮された状態になっているが, 海綿状組織, 柵状組織, 篩部を含む維管束等の形状が残っており, その組織構造はよく保持されているのに対して, 標準的なさく葉標本作製法による乾燥試料では, 損傷のために組織構造が保持されていなかった(図3)。

水戻しを行った乾燥試料を顕微鏡で観察すると, OK処理による試料では全般的に組織の保存性が高いが, 標準的なさく葉標本作製法による試料では表皮部は保存されているものの, 他の組織の破損が顕著であった。OK処理法と標準的なさく葉標本作製法による乾燥試料を煮戻した場合の組織構造の変化も, これと同様な結果であった。

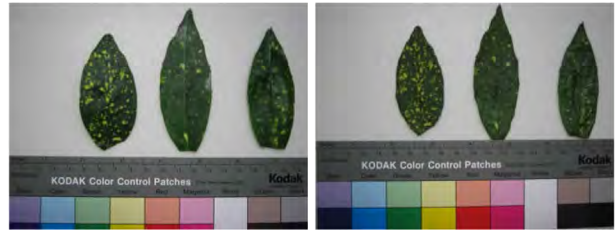
さらに, 組織の水戻しおよび煮戻し後の復元性を検討するため, 上記2種類の乾燥法による試料の葉肉部の厚さについて, 水戻し及び煮戻し前後の変化を測定した。その測定結果を図4に示す。

いずれの方法でも乾燥後の葉肉部の厚さは生葉の40-44%で大差はないが, 水戻し及び煮戻し後の試料の葉肉部の厚さは, OK処理法によるものは80%以上

(1) *Laurus nobilis*

(a) fresh leaf

(b) dried leaf by OK method

(2) *Aucuba japonica*

(e) fresh leaf

(f) dried leaf by OK method



(c) fresh leaf

(d) dried leaf by heat drying



(g) fresh leaf

(h) dried leaf by heat drying

(3) *Perilla frutescens* var. *crispa* f. *viridis*

(i) fresh leaf

(j) dried leaf by OK method



(k) fresh leaf

(l) dried leaf by heat drying

図2. OK法と加熱乾燥法による(1)ゲッケイジュ(a-d), (2)アオキ(e-h), (3)アオジソ(i-l)の生および乾燥試料の写真

Fig.2. Photos of fresh and dried leaves by OK method and heat drying method for (1) *Laurus nobilis* (a-d), (2) *Aucuba japonica* (e-h) and (3) *Perilla frutescens* var. *crispa* f. *viridis* (i-l). a, c, e, g, i, k: fresh leaves. b, f, j: dried leaves by OK method. d, h, l: dried leaves by heat drying method.

に復元するのに対し、標準的なさく葉標本作製法による試料の水戻しでは60%程度、煮戻しによる復元ではさらに低く、OK処理法による試料は葉肉部の復元の度合いが高いことが明らかになった。

このような相違は、OK処理法では乾燥後の組織構造が良く保持される一方、従来法では乾燥時に組織構造が損傷を受けているために、水戻し、煮戻しによる復元性が悪くなっているためと考えられる。本研究で行われた解剖学的検討結果は、様々な分野での応用技術の開発に今後利用できると期待される。

謝辞

本研究は、平成17年度JST大学発ベンチャー創出事業による研究プロジェクト「食草・薬草・香草を生きた品質のまま長期保存できるOK迅速乾燥法の実用化」によって実施された。JSTの新規事業創出課の浅野保氏と松本葵氏には、本研究の達成に向けて終始、助言と激励をいただきましたことに謝意を表します。

また、当プロジェクト員の江本匡博士には研究の助言をいただくとともに、本稿に目を通していただきました。(財)科学技術振興財団の田代英俊氏と東北大学佐藤雅志准教授には論文に助言をいただきました。十

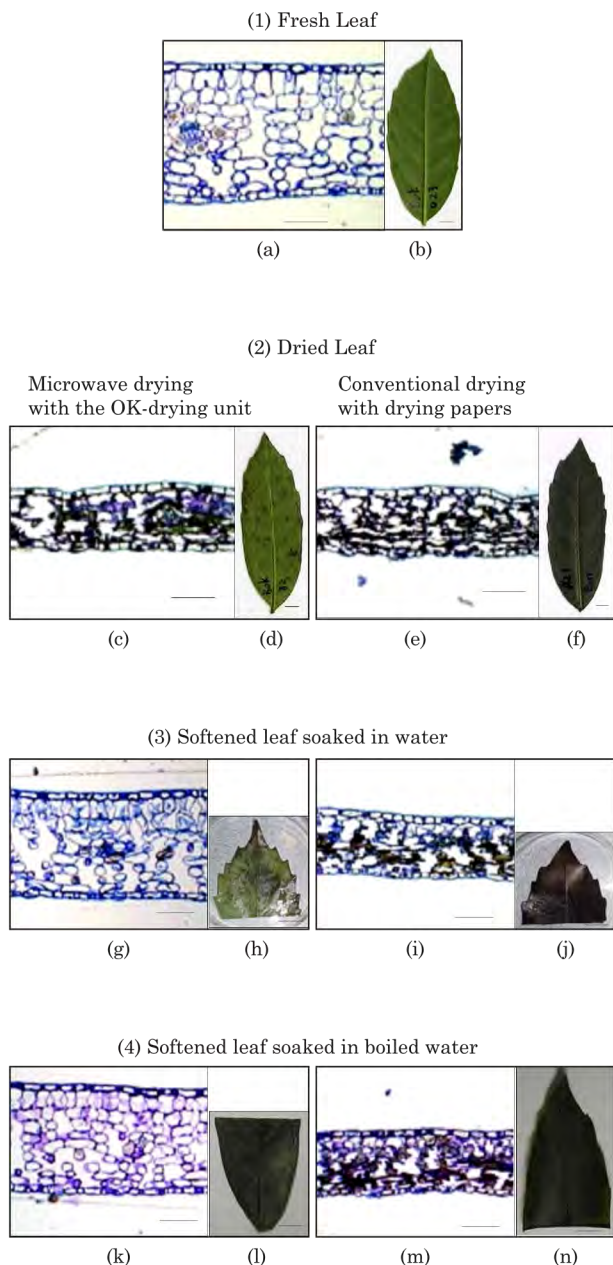


図3. アオキの葉の(1)生と(2)乾燥試料および(3)水戻しと(4)煮戻した葉の全体像と切片の顕微鏡観察像。切片はトルイジンブルーで染色した。スケールバー：1mm(葉の全体像)、100 μ m(横断切片像)

Fig.3. Photos and microscopic photos of leaf section of (1) fresh (a, b), (2) dried (microwave-dried leaf with the OK-drying unit (c, d) and conventional-dried leaf with drying papers (e, f)) and (3-4) restored samples (softened microwave-dried leaf soaked in water (g, h), softened conventional-dried leaf soaked in water (i, j), softened microwave-dried leaf soaked in boiled water (k, l), softened conventional-dried leaf soaked in boiled water (m, n)) for *Aucuba japonica*. Leaf cross sections (a, c, e, g, i, k, m) were stained with toluidine blue O. Scale bars: 100 μ m (a, c, e, g, i, k, m); 1 mm (b, d, f, h, j, l, n).

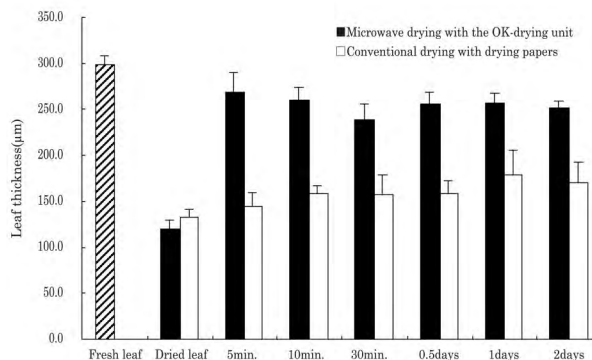


図4. アオキの葉の生、乾燥後、復元後の葉の厚みの変化(10試料の平均と標準偏差)。5-30分は煮戻し、0.5-2日は水戻し
Fig.4. Leaf thickness of fresh, dried and rehydrated leaves of *Aucuba japonica*. Data are the averages of ten measurements with the standard deviations.
5-30min: restoration with boiled water, 0.5-2days: restoration with water.

勝の自然史研究会の大石由樹子氏にはサンプリングに協力して頂きました。これらの方々に、心から感謝いたします。(なお、著者ならびに各氏の所属はプロジェクト当時の所属です。)

引用文献

- Arens, N. C. and Traverse, A. (1989) The effect of microwave oven-drying on the integrity of spore and pollen exines in herbarium specimens. *Taxon* 38: 394-403.
- Bacci, M., Checcucci, A. and Palandri, M. R. (1985) Microwave drying of herbarium specimens. *Taxon* 34: 649-653.
- Hill, S. R. (1983) Microwave and the herbarium specimen? potential danger. *Taxon* 32: 614-615.
- Jacquin-Dubreuil, A., Breda, C., Lescot-Layer, M. and Allorge-Boiteau, L. (1989) Comparison of the effects of a microwave drying method to currently used methods on the retention of morphological and chemical leaf characters in *Nicotiana tabacum* L. cv Samsun. *Taxon* 38: 591-596.
- 岡崎智鶴子・三田直樹 (2000) 植物標本作製の新技术の開発-1, 2分間で、生きた時の色や香りを長期に保持した乾燥物を作る新技术-. 博物館学雑誌 26(1) : 口絵1, 口絵2, 17-22.

Summary

Plant specimens prepared by the conventional methods of paper- or heater-drying cannot be preserved without losing the fresh color and the microscopic structure of the tissues. Two of the authors (C.O and N.M) have developed a new method (OK method) of preparing specimens with the microwave oven and the special drying unit, which improved the preservation of specimens in color and fragrance or perfume of the fresh materials. In this paper, we examined the microstructure of the tissues of specimens prepared by the OK method to evaluate the preservation of such structure by the method in comparison with the conventional ones. We confirmed that the OK method produces specimens with better-preserved microstructure of the tissues than the conventional methods in a quick procedure, and that the tissues prepared by the OK method better restore the internal structure by water absorption than those prepared by the conventional methods. We consider that the well-preserved microstructure of the tissues prepared by the OK method brings about the preservation of the fresh color and the large degree of restoration by water absorption of the specimens.