



山梨県総合理工学研究機構 研究報告書 第8号



Y-CROST
Comprehensive Research Organization for Science and Technology
Yamanashi Prefectural Government

山梨県総合理工学研究機構研究報告書

第 8 号

Y-CROST

Research Report No. 8 (2013)

目 次

はじめに

研究課題及び研究体制

研究成果報告

1	マイクロ金型による微細転写加工技術に関する研究	
	マイクロ金型による微細転写加工技術に関する研究（第3報）	1
2	南アルプスにおけるニホンジカによる高山植物への影響と保護対策および個体数管理に関する研究	
	1) 南アルプスにおけるニホンジカによる高山植物への影響と保護対策および個体数管理に関する研究	7
	2) 衛星データを用いた北岳周辺の積雪分布抽出	13
	3) 野生ジカの効率的な捕獲方法および一時飼育管理技術の検討	19
	4) タカネマンテマおよびタカネビランジ種子の発芽特性の解析	25
	5) 北岳に生育するミヤマハナシノブにおける野生集団の遺伝構造と組織培養サンプルの遺伝子型	29
3	装身具向け貴金属合金の開発に関する研究	
	装身具向け貴金属合金の開発に関する研究	35
4	生物利用型水質浄化システムの構築と応用に関する研究	
	生物利用型水質浄化システムの構築と応用に関する研究	41
5	果実の収穫適期の把握と専用カラーチャートの開発	
	1) ブドウ‘シャインマスカット’の収穫適期の把握と専用カラーチャートの開発（第2報）	59
	2) スモモ‘サマービュート’および‘サマーエンジェル’の収穫適期の把握と専用カラーチャートの開発	63
6	農畜産物の流通形態に対応した鮮度保持技術に関する研究	
	1) 鶏肉の保存性向上技術の開発（高抗酸化活性含有資材の飼料への利用）	67
	2) 品種と刈取時期の違いがキノアの乾物収量に及ぼす影響	77
7	LED単波長光照射が動植物の生体に及ぼす影響と利用技術に関する研究	
	動植物への単波長照射に適したLED光源の開発	81
8	タケ資源の有効利用に関する研究	
	タケ資源の有効利用に関する研究	85
9	クニマスの生態解明及び増養殖に関する研究	
	クニマスの生態解明及び増養殖に関する研究	89

資 料

1	平成24年度山梨県総合理工学研究機構の活動	103
	別表1 総合理工学研究機構運営委員会委員名簿	104
	別表2 山梨県総合理工学研究機構テーマ等調整会議構成員名簿	104
2	平成24年度山梨県総合理工学研究機構組織図	105
3	平成24年度職員名簿	106
4	研究課題及び担当コーディネーター一覧	107

Index

Preface

Index of Research Projects

Research Project and Title of Report

1. Study on transcription molding of micro-pattern using microdie Study on transcription molding of micro-pattern using microdie (3rd report)	1
2. Studies for effects of sika deer (<i>Cervus nippon</i>) on alpine and subalpine vegetation and their management at Minami-Alps mountains, Yamanashi Prefecture	
1) Studies for effects of sika deer (<i>Cervus nippon</i>) on alpine and subalpine vegetation and their management at Minami-Alps mountains, Yamanashi Prefecture	7
2) Snow-covered area extraction around Mount Kita using a satellite data	13
3) Examination of the efficient capture method of Japanese deer and the consideration of its breeding and managing technology	19
4) Analysis of germination characteristics of Takane-mantema (<i>Silene wahlenbergella</i>) and Takane-biranji (<i>S. akaisialpina</i>) from the Southern Japanese Alps	25
5) Genetic structure of wild populations and genotype of tissue culturing samples of <i>Polemonium caeruleum</i> ssp. <i>yezoense</i> var. <i>nipponicum</i> in Mount Kita	29
3. Research on development of precious metal alloys for jewelry Research on development of precious metal alloys for jewelry	35
4. Study on the development of the water purification method in lakes and ponds using ecological techniques Study on the development of the water purification method in lakes and ponds using ecological techniques	41
5. Development of the color chart and a dedicated grasp of proper time of harvesting of fruit	
1) Development of the color chart and a dedicated grasp of proper time of harvesting of grape 'Shine Muscat' (2nd Report)	59
2) Development of the color chart and a dedicated grasp of proper time of harvesting of plum 'Summer Beaut' and 'Summer Angel'	63
6. Studies of freshness keeping techniques corresponding to agricultural and livestock products marketing (Methods of applying Peach and Chicken meat)	
1) Development of long preservation methods of chicken meat (Effects of dietary resources in high antioxidant activity on broiler chickens)	67
2) Effect of variety and cutting time on Dry-matter Yield of Quinoa (<i>Chenopodium quinoa</i> WILLD)	77
7. Studies on the effects of the illuminance of monochromatic LED lamps on animals and plants and the technical development of its utilization Development of the LED light source suitable for monochromatic light irradiation to animals and plants.	81
8. Studies on the effective utilization of bamboo resources Studies on the effective utilization of bamboo resources	85
9. Studies on the ecology and multiplication and culture of Kunimasu (<i>Oncorhynchus kawamurae</i>) in the population of Lake Saiko Studies on the ecology and multiplication and culture of Kunimasu (<i>Oncorhynchus kawamurae</i>) in the population of Lake Saiko	89

Appendix

1. Activity Record of Y-CROST 2011	103
Appendix 1 Administration Committee Member of Y-CROST	104
Appendix 2 Member for Liaison Committee	104
2. Diagram of Y-CROST Structure	105
3. List of Y-CROST Stuff	106
4. List of Research Projects and Their Coordinator	107

はじめに

山梨県総合理工学研究機構は、県立10試験研究機関が有する人的資源や設備を有機的に結びつけ、領域横断的な研究開発を推進し、その成果を本県の産業の発展や県民生活の質の向上に役立てる目的で、平成17年4月に設立され、今年で9年目を迎えております。

この研究報告書は、山梨県総合理工学研究機構が平成24年度に行った9課題の研究成果をとりまとめたものです。このうち「マイクロ金型による微細転写加工技術に関する研究」[平成23-24年度]、「南アルプスにおけるニホンジカによる高山植物への影響と保護対策および個体数管理に関する研究」[平成23-24年度]及び「装身具向け貴金属合金の開発に関する研究」[平成23-24年度]の3課題は最終年度の研究で、7月22日に開催予定の運営委員会で事後評価を受けることになっています。

これ以外の6課題は継続中の課題ですが、「生物利用型水質浄化システムの構築と応用に関する研究」、「果実の収穫適期の把握とカラーチャートの開発」、及び「農畜産物の流通形態に対応した鮮度保持技術に関する研究」のように23年度に始まり25年度に最終年度を迎える研究3課題と、「LED単波長光照射が動植物の生体に及ぼす影響と利用技術に関する研究」、「タケ資源の有効利用に関する研究」及び「クニマスの生態解明及び増養殖に関する研究」のように24年度から始まり26年度に終わる研究があります。

いずれも領域横断型研究としての成果が期待されております。研究は必ずしも年度始めに開始し年度末に終了できるものではなく、良い成果は研究終了後にも継続して出されるものです。事後に研究が深化されるよう願っています。

以上が、本機構に配分された資金による研究ですが、このほかに本機構の役割として、重点研究の採択と推進を行っています。重点研究は、県の研究資金を重点的に投資する研究として採り上げるもので、政策的研究と言えるかもしれません。本来、行政の出先機関として存在する試験研究機関は行政上のニーズに応じた研究をすべきで、行政上に生じた県民的課題に対して解決策を提言できるものでなくてはなりません。そこで、機構としては重点研究についても事前評価・中間評価・事後評価を行うことにし、一昨年から年に2回実施しています。

毎年、繰り返しになりますが、『二番煎じの成功例より新しい失敗例の方が役に立つ』と私は思っています。勇気を持って役に立つ新しい失敗例が報告されることを希望してやみません。

世界的な景気減速と大震災による逼塞した厳しい経済環境の中では、新たな時代を拓く技術開発が強く希求されており、これまで以上の成果を県民に還元して行かねばならないと自覚しております。試験研究機関、大学、企業が連携して、持てる力を最大限に発揮するように仕向けるため、当機構は、メルマガ「こんにちは総理研です」を発刊するなどして異分野間の人的交流による知的触発や研究者同士の切磋琢磨を促し、潜在能力を引き出すとともに俯瞰的視野に立てる研究者の育成にも努めたいと思います。どうかこれからも、当機構へのご理解とご支援を宜しくお願い申し上げます。

平成25年7月5日

山梨県総合理工学研究機構

総長 小林 正彦

研究課題及び研究体制

(◎は主幹事を示す)

1 マイクロ金型による微細転写加工技術に関する研究

山梨県工業技術センター ◎小松 利安
石黒 輝雄
佐野 正明
勝又 信行
山梨県富士工業技術センター 山田 博之
阿部 治

2 南アルプスにおけるニホンジカによる高山植物への影響と保護対策および個体数管理に関する研究

山梨県森林総合研究所 ◎長池 卓男
西川 浩己
飯島 勇人
山梨県環境科学研究所 杉田 幹夫
北原 正彦
中野 隆志
土橋 宏司
山梨県酪農試験場 亀井 忠文
山梨県立笛吹高校 横川 昌史
大阪市立自然史博物館 井鷲 裕司
京都大学 中村 健一
東京都農林総合研究センター 会田 秀樹
信州大学 竹田 謙一

3 装身具向け貴金属合金の開発に関する研究

山梨県工業技術センター ◎宮川 和博
有泉 直子
望月 陽介
鈴木 文晃
山梨県富士工業技術センター 阿部 治
布施 嘉裕
古屋 雅章

4 生物利用型水質浄化システムの構築と応用に関する研究

山梨県衛生環境研究所 ◎吉澤 一家
山梨県水産技術センター 高橋 一孝
山梨県総合農業技術センター 山崎 修平
山梨県森林総合研究所 戸沢 一宏
山梨大学 宮崎 淳一
芹澤如此古

5 果実の収穫適期の把握と専用カラーチャートの開発

山梨県果樹試験場 ◎小林 和司
宇土 幸伸
富田 晃
萩原 栄揮
山梨県工業技術センター 鈴木 文晃
串田 賢一

6 農畜産物の流通形態に対応した鮮度保持技術に関する研究

山梨県畜産試験場 ◎松下 浩一
山梨県総合農業技術センター 石井 利幸
上野 直也
山梨大学 岩間 巧
廣瀬 裕子

7 LED単波長光照射が動植物の生体に及ぼす影響と利用技術に関する研究

山梨県工業技術センター 河野 裕
木島 一広
鈴木 文晃
山梨県総合農業技術センター ◎藤木 俊也
窪田 浩一
山梨県畜産試験場 船井 咲知
松下 浩一

8 タケ資源の有効利用に関する研究

山梨県森林総合研究所 ◎戸澤 一宏
山梨県畜産試験場 片山 努
山梨県酪農試験場 保倉 勝己
鈴木 希伊
土橋 宏司
神藤 学
山梨県工業技術センター 木村 英生

9 クニマスの生態解明及び増養殖に関する研究

山梨県水産技術センター ◎青柳 敏裕
山梨県水産技術センター忍野支所 加地 奈々
山梨県衛生環境研究所 長谷川裕弥

Y-CROST Research Report No.8 (2013)

Research Report of Comprehensive Research Organization for Science and Technology,
Yamanashi Prefectural Government (Y-CROST) No.8 (2013)

Index of Research Projects

1. Study on transcription molding of micro-pattern using microdie

Yamanashi Prefectural Industrial Technology Center
Toshiyasu KOMATSU
Teruo ISHIGURO
Masaaki SANO
Nobuyuki KATSUMATA
Yamanashi Prefectural Fuji Industrial Technology Center
Hiroyuki YAMADA
Osamu ABE

2. Studies for effects of sika deer (*Cervus nippon*) on alpine and subalpine vegetation and their management at Minami-Alps mountains, Yamanashi Prefecture

Yamanashi Forest Research Institute
Takuo NAGAIKE
Hiroki NISHIKAWA
Hayato IJIMA
Yamanashi Institute of Environmental Sciences
Masahiko KITAHARA
Mikio SUGITA
Takashi NAKANO
Yamanashi Prefectural Dairy Experiment Station
Kouji DOBASHI
Yamanashi Prefectural Fuefuki High School
Tadafumi KAMEI
Osaka City Museum of Natural History
Masashi YOKOGAWA
Kyoto University
Yuji ISAGI
Tokyo Metropolitan Agriculture and Forestry Research Center
Ken-ichi NAKAMURA
Hideki AIDA
Shinshu University
Ken-ichi TAKEDA

3. Research on development of precious metal alloys for jewelry

Yamanashi Industrial Technology Center
Kazuhiro MIYAGAWA
Naoko ARIIZUMI
Yosuke MOCHIZUKI
Fumiaki SUZUKI
Yamanashi Fuji Industrial Technology Center
Osamu ABE
Yoshihiro FUSE
Masaaki FURUYA

4. Study on the development of the water purification method in lakes and ponds using ecological techniques.

Yamanashi Institute for Public Health and Environment
Kazuya YOSHIKAWA
Yamanashi Prefectural Fisheries Technology Center
Kazutaka TAKAHASHI
Yamanashi Prefectural Agritechology Center
Shuhei YAMASAKI
Yamanashi Forest Research Institute
Kazuhiro TOZAWA
University of Yamanashi
Jun-ichi MIYAZAKI
Yukihiko SERISAWA

5. Development of the color chart and a dedicated grasp of proper time of harvesting of fruit

Yamanashi Fruit Tree Experiment Station
Kazushi KOBAYASHI
Yukinobu UDO
Yamanashi Industrial Technology Center
Fumiaki SUZUKI
Ken-ichi KUSHIDA
Yamanashi Fruit Tree Experiment Station
Akira TOMITA
Eiki HAGIHARA

6. Studies of freshness keeping techniques corresponding to agricultural and livestock products marketing (Methods of applying Peach and Chicken meat)

Yamanashi prefecture Livestock experimental station
Koichi MATSUSHITA
Yamanashi prefecture Agritechology center
Toshiyuki ISHII
Naoya UENO
Yamanashi University
Takumi IWAMA
Yuko HIROSE

9. Studies on the ecology and multiplication and culture of Kunimasu (*Oncorhynchus kawamurae*) in the population of Lake Saiko

Yamanashi Fisheries Technology Center
Toshihiro AOYAGI
Yamanashi Fisheries Technology Center Oshino-branch
Nana KAJI
Yamanashi Institute for Public Health
Yuya HASEGAWA

7. Studies on the effects of the illuminance of monochromatic LED lamps on animals and plants and the technical development of its utilization

Yamanashi Prefectural Industrial Technology Center
Hiroshi KONO
Kazuhiro KIJIMA
Fumiaki SUZUKI
Yamanashi Prefectural Agritechology Center
Toshiya FUJIKI
Koichi KUBOTA
Yamanashi Prefectural Livestock Experiment Station
Sachi FUNAI
Koichi MATSUSHITA

8. Studies on the effective utilization of bamboo resources

Yamanashi Forest and Forestry Product Research Institute
Kazuhiro TOZAWA
Yamanashi Prefectural Livestock Experiment Station
Tsutomu KATAYAMA
Yamanashi Prefectural Daily Experiment Station
Katsumi HOKURA
Kii SUZUKI
Kouji DOBASHI
Manabu JINDOH
Yamanashi Prefectural Industrial Technology Center
Hideo KIMURA

マイクロ金型による
微細転写加工技術に関する研究

Study on Transcription Molding of Micro-Pattern using Microdie

マイクロ金型による微細転写加工技術に関する研究（第3報）

小松 利安¹・石黒 輝雄¹・佐野 正明¹・勝又 信行¹・山田 博之²・阿部 治²
(山梨県工業技術センター¹, 山梨県富士工業技術センター²)

要約 マイクロ部品は、材料への直接加工により小ロット製造されていることが多く、この場合、製造コストが高くなるため、今後は微細転写加工による量産化技術が必要になる。しかし、実用化には転写加工条件の最適化等、まだ多くの課題が残されている。そこで、本研究では、熱可塑性フッ素樹脂（FEP）フィルムとガラスに転写加工実験を行い、基本的な加工条件等について確認した。特にガラスの場合、Niメッキを用いた微細転写型を用いて実験を行い、マイクロ流体デバイスの流路の微細転写加工に十分対応可能であることが分かった。

Study on Transcription Molding of Micro-pattern using Microdie (3rd Report)

Toshiyasu KOMATSU¹, Teruo ISHIGURO¹, Masaaki SANO¹, Nobuyuki KATSUMATA¹,
Hiroyuki YAMADA² and Osamu ABE²
(Industrial Technology Center¹, Fuji Industrial Technology Center²)

Abstract A machining of micro parts is often produced in a small lot performed through directly from the material. Therefore, production cost become higher and it is a reason why mass production technology such as transcription molding is needed. However, there are still many problems to be solved. In this study, the basic conditions in order to transcript to FEP film and optical glass were presented. Case of glass, it was found that a fine die using a Ni plating may be sufficient for transcription processing of the flow path of the micro fluid device.

1. 緒言

近年、マイクロテクノロジーは様々な分野への応用が期待されている。しかし、多くのマイクロ部品は、各種微細加工機を用いた小ロット加工によって製造されている場合が多く、材料から除去加工によって直接製造するため、コストが高くなる傾向にある。このため、今後は微細転写加工による量産化技術の必要性が高まることが予想される。現在、半導体製造技術を応用したマイクロ金型の作製技術に関する研究、ホットエンボス法およびインプリント法等の転写加工技術に関する研究が盛んに行われている^{1) - 3)}。しかし、実用化にはまだ多くの課題が残されている。例えば、マイクロ金型の耐久性や離型性等を含めた品質の向上、材料に応じた転写加工条件の最適化等、これらの課題を解決する必要がある。そこで本研究では、数十 μm から数百 μm の微細形状を有するマイクロ流体デバイスの流路加工や、光学フィルタ等のようなマイクロ部品の加工を念頭において、樹脂フィルムと一般的なガラスに対する、微細熱転写加工実験を継続的に行っている^{4) , 5)}。

本研究では、撥水性や耐薬品性に優れたフッ素樹脂フィルムを対象とした。転写加工実験では、ステンレス製薄板を積層し、複数の微小リブと微小溝を形成した実験用簡易マイクロ転写型や、複数の立体微細形状を有する

グラッシーカーボン（ガラス状炭素材料）製マイクロ転写型を製作し、実験を行った。

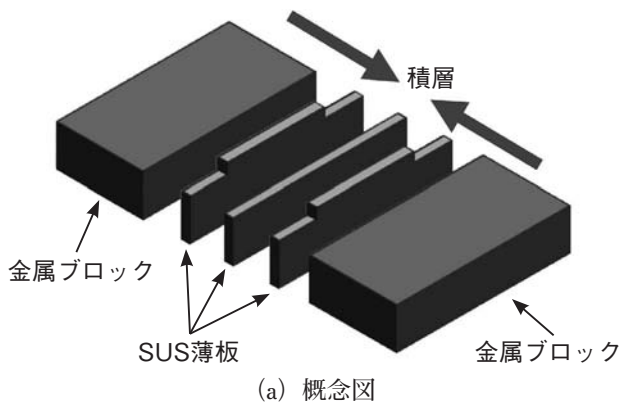
ガラス（BK-7相当）への転写加工実験では、転写型を600 $^{\circ}\text{C}$ 以上に加熱する必要があるため、前報まではセラミックス製の転写型を使用していた⁵⁾。しかし、セラミックス製転写型では、マイクロ流体デバイスの流路等で必要性があると考えられる、自由曲線状の溝加工等は困難である。そこで、本研究では、転写型形状を自由に設計可能なNiメッキを用いた微細転写型を用いて、ガラスへの転写性について実験を行った。

2. 実験方法

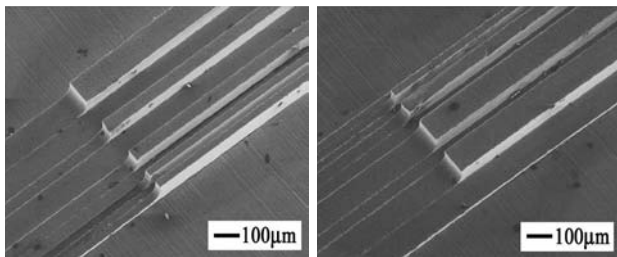
2-1 樹脂フィルムへの転写加工実験

転写加工実験では、2種類の実験用転写型を準備した。

最初に、リブや溝などの微細形状と転写加工性との関係を調べることを目的として、金属薄板積層による実験用簡易マイクロ転写型を作製した^{4) , 5)}。その概念図と電子顕微鏡観察写真を図1に示す。転写型の微小リブは、高さが約95 μm で、幅がそれぞれ100 μm 、50 μm 、20 μm であり、溝幅すなわちリブ間隔は100 μm 、50 μm 、20 μm である。角RやスミRは小さく、また表面粗さもリブの寸法に対して小さいので、転写性を検討する実験用転写型



(a) 概念図



(b) 電子顕微鏡写真

図1 金属製薄板積層による実験用簡易マイクロ転写型

として利用可能と考えられる。

また、転写型として耐熱・耐食性に優れたグラッシーカーボンに、立体的な微細形状を作製して実験を行った。材料は東海カーボン(株)製GC-20SSを用い、表面を鏡面加工した材料を使用した。ハーフトーンマスクを用いてレーザ透過率を変化させ、レーザ強度分布を整形することで、グラッシーカーボンに立体的な微細形状を加工した。レーザ光は、アブレーション加工が可能で微細加工に適した紫外線レーザを用いた。また、ハーフトーンマスクは、フォトリソグラフィによるパターン化、アノード酸化、化学エッチングを組み合わせたアルミ薄膜形成プロセス^{6)・7)}を利用して作製した。一辺が約200μm、高さが約12nmの四角錐形状のアルミ薄膜を、市松模様成膜したマスクである。図2にグラッシーカーボン表面の1mm×1mmの領域に複数の立体微細形状を加工した例を示す。立体微細形状は、幅20~30μm、高さ10~50μmの突起形状である。

本研究では、撥水性や耐薬品性に優れた熱可塑性フッ素樹脂 (FEP) フィルムへの熱転写加工実験を行った。

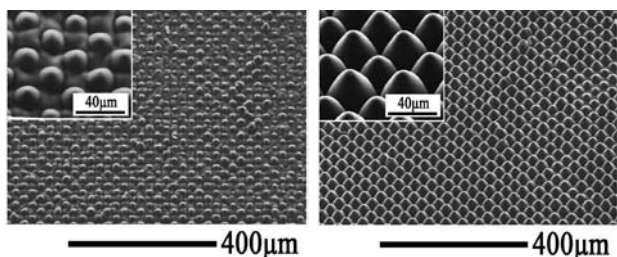


図2 グラッシーカーボン製マイクロ転写型

表1 樹脂フィルムへの転写加工条件

加工装置	新東工業(株)製 精密ホットプレス CYPT-L
ステージ温度	220, 230, 240, 250 °C
転写圧力	0.5, 1.5, 2.5, 3.5, 4.5, 5.5 MPa
加熱加圧時間	15, 30, 60, 120, 180, 240 sec
冷却時間	300 sec
被加工材料	フッ素樹脂ネオフロンFEP, 厚さ:250μm

厚さ250μmのFEPフィルムに、表1に示す加工条件で熱転写加工を行い、加工条件と転写加工状態との関係を調べた。

2-2 ガラスへの転写加工実験

前報同様⁵⁾、ガラスへの転写加工実験では、真空中で転写型を600℃以上に加熱可能な真空精密ホットプレス装置 (新東工業(株)製: CYPN-10) を使用した。転写加工条件については、前報までの研究結果を基にして、表2に示すようにした。ガラスはBK-7相当の材質で寸法は30×30×0.5mm、転写加工した形状は、コンフォーカル顕微鏡 (レーザーテック(株)製: OPTELICS H1200) で非接触測定した。

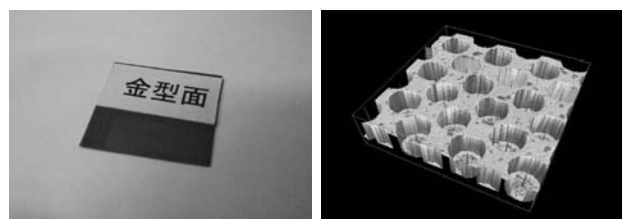
表2 ガラスへの転写加工条件

転写荷重	800 N
保持時間	60 sec
加熱時間	1800 sec
加熱温度	670 °C
転写雰囲気	真空
冷却方法	空冷

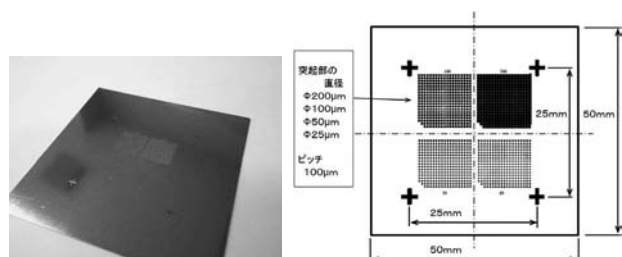
前報までは、耐熱性に優れたセラミックス製の転写型を使用していた。しかし、セラミックスでは、マイクロ流体デバイスの流路等で必要になる、自由曲線状の溝加工等は困難である。本研究では、Niメッキを積層させて微細穴や微細リブ等を作製した微細転写型を使用した。転写型の種類は図3に示すように、複数突起用転写型 (穴径約160μm・深さ約20μm・ピッチ約260μm)、複数穴用転写型 (深さ約40μm・ピッチ約100μm・突起直径約200・100・500・36μm)、マイクロ流体デバイスの流路を摸した流路用転写型 (高さ約20μm・リブ幅100・50・25μm) の3種類を用意した。

最初に、本研究で使用する転写型材料が、前報と異なるため、①加熱温度670℃に耐えられるか、②離型・潤滑剤の効果が変わるか、について複数突起用転写型を用いて実験を行った。その後、突起直径やリブ幅を変えた微細形状転写型を用いて、熱転写加工実験を行った。転

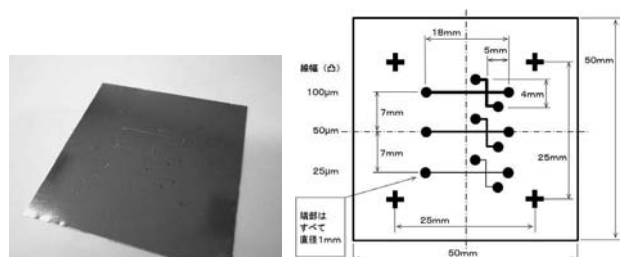
写性については、図4に示すように、微細転写型の穴深さ（またはリブ高さ）に対する、ガラス表面に転写加工された突起部高さ（または溝深さ）の比率で評価した。



(a) 複数突起用転写型



(b) 複数穴用転写型



(c) 流路用転写型

図3 実験用微細転写型

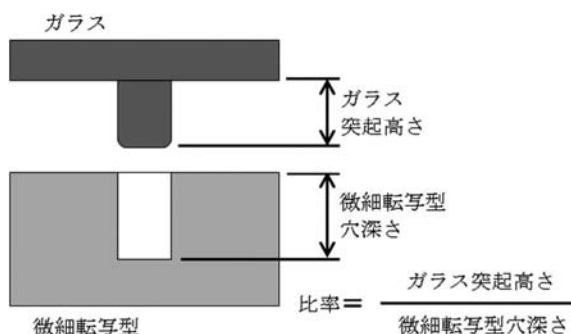


図4 転写性評価方法の概念図

3. 実験結果及び考察

3-1 樹脂フィルムへの転写加工実験

金属製薄板積層による簡易マイクロ転写型を用いて、厚さ250μmのFEPフィルムへ転写加工した例を図5に示す。

加工条件と転写加工状態との関係を検討した結果、十分な軟化温度である230~250℃の領域では、ステージ温度が高くなるほど転写性が向上し、溶融開始温度よ

り少し低い温度の250℃の時に幅20μm、高さ約95μmの微細リブ・溝が転写加工できた。なお、温度条件の設定には樹脂流動評価装置フローテスタの測定結果を活用した。また、ステージ温度250℃の場合、転写圧力が高くなるほど転写性が向上し、4.5MPa以上で幅20μm、高さ約95μmの微細リブ・溝が転写加工できた。一方、設定温度に達した転写型を樹脂材料に押し付けて加熱加圧する時間については、温度と圧力が転写加工に十分な加工条件であれば、加熱加圧時間が約30sec以上における転写性には大きな変化はみられなかった。FEPフィルムへの転写加工の場合、温度や圧力の条件に比べて時間の影響は小さいと考えられる。また、加工後のフィルムに反りなどが残ることや、転写型表面が変色してしまうことが今後の検討課題である。

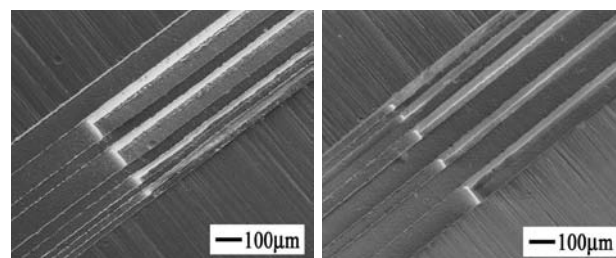


図5 FEPフィルムへの微細リブ・溝の熱転写加工例

図6に、グラッシーカーボン製マイクロ転写型を用いて、厚さ250μmのFEPフィルムに、ステージ温度を250℃、転写圧力を4.5MPa、加熱加圧時間を60secに設定して転写加工を行った例を示す。転写型に加工した幅20~30μm、高さ10~50μmの複数の微細立体形状を、FEPフィルム表面に転写することができた。

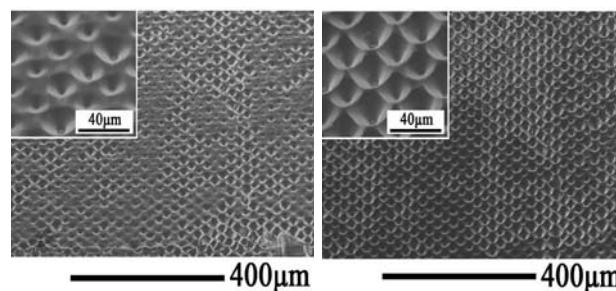


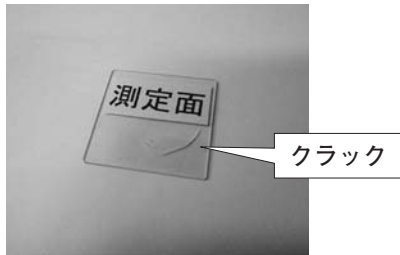
図6 FEPフィルムへの立体微細形状の熱転写加工例

3-2 ガラスへの転写加工実験

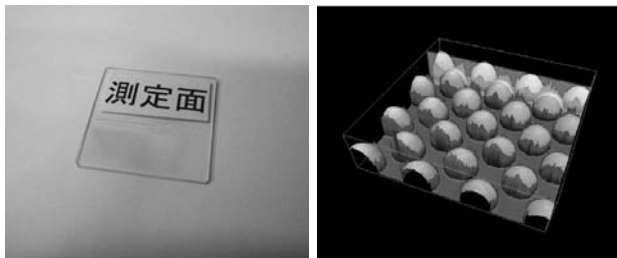
複数突起用転写型を用いた転写加工実験の結果を示す。本研究では、離型・潤滑剤として、真空中で蒸着した金とカーボン膜、そして前報⁵⁾より効果が確認できた窒化ホウ素粉末の3種類について検討を行った。転写加工後のガラス表面の写真と形状を図7に、微細転写型の穴深さに対するガラス突起部の高さの比率を図8に示す。

離型・潤滑剤として金蒸着膜を用いた場合は、ガラスは簡単に剥離せず、図7 (a) に示すように、表面にクラックが発生した。また、カーボン蒸着膜の場合は、剥離性は良いが、図8に示すようにガラスの未充填率が高く、転写性が悪いことが分かった。対して、窒化ホウ素粉末の場合は、転写型穴深さとガラス突起高さの比率は約90%であり、転写性が向上することが分かった。

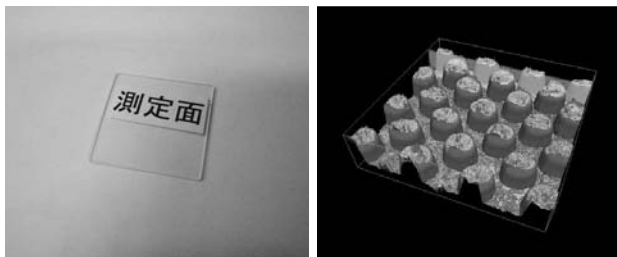
次に、複数穴用転写型を用いた転写加工実験を行った。転写加工後のガラス試験片の写真と、穴直径200 μm の場合の形状を図9に、微細転写型の突起高さに対する



(a) 金蒸着膜



(b) カーボン蒸着膜



(c) 窒化ホウ素粉末

図7 離型・潤滑剤による転写加工後のガラス

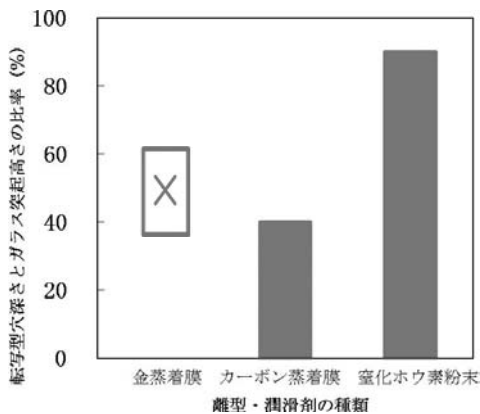


図8 離型・潤滑剤によるガラスへの転写性

ガラス穴深さの比率を図10に示す。穴周辺部に多少だれ形状があり、転写型突起直径が小さくなるほど転写性が低下した。前報の実験結果より、周辺だれの発生はガラスの加熱不足が考えられる。また、セラミックスと比較してNiメッキは弾塑性があるため、極度な微細形状

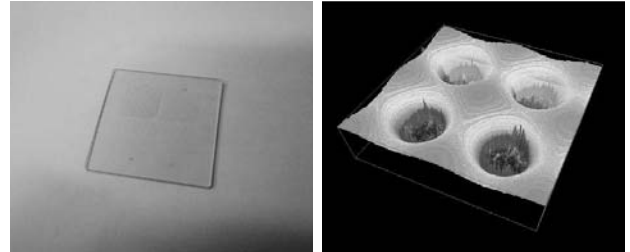


図9 複数穴を転写加工したガラス

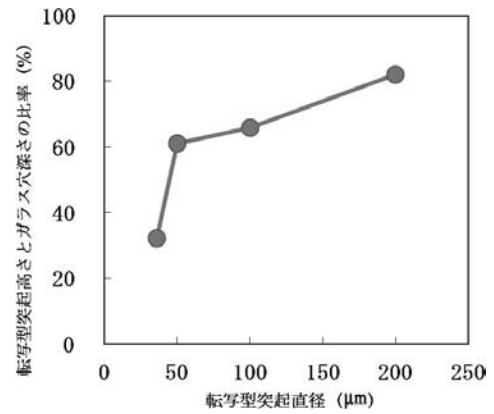


図10 転写型突起直径によるガラスへの転写性

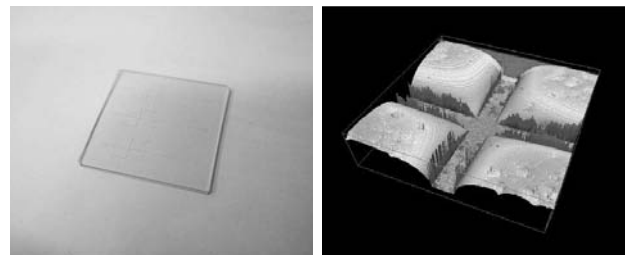


図11 微細流路を転写加工したガラス

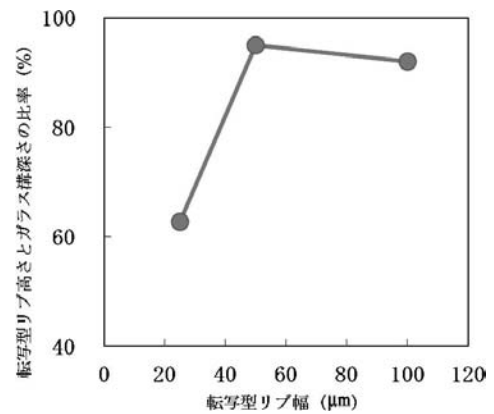


図12 転写型リブ幅によるガラスへの転写性

になると転写加工負荷で転写型が変形すると考えられる。対応策として、①ガラスの加熱温度を上げて転写加工負荷を軽減する、②表面の硬度が高い材料か表面処理を使用する、の2点が考えられる。ただし、転写型突起直径が200 μm の場合では、現状の微細転写型を用いても転写性の向上が確認できた。本研究で使用したNiメッキ製転写型でも、転写型の寸法・形状を十分検討すれば、微細転写加工に対応可能であることが分かった。

また、流路用転写型を用いた転写加工実験の結果を図11・12に示す。複数穴用転写型の場合と同様な結果となり、100 μm 以上の流路幅であれば、マイクロ流体デバイスの流路加工への可能性が得られた。

4. 結 言

熱可塑性フッ素樹脂 (FEP) フィルムとガラスに転写加工実験を行い、各種加工条件と転写加工性との関係について検討を行い、得られた結果は以下のとおりである。

- (1) 熱可塑性フッ素樹脂フィルムへの転写加工実験を行った結果、温度250 $^{\circ}\text{C}$ 、圧力4.5MPa以上、加熱加圧時間が約30sec以上の加工条件で、幅20~100 μm 、高さ約95 μm の微細リブ・溝や、幅20~30 μm 、高さ10~50 μm の微細立体形状を転写加工することができた。
- (2) Niメッキを用いた微細転写型を用いて、ガラスへの転写性について実験を行った結果、転写型の寸法・形状を十分検討すれば、微細転写加工に対応可能であることが分かり、マイクロ流体デバイスの流路加工への可能性が得られた。

5. 謝 辞

本研究の遂行にあたり、東洋大学吉田善一教授、寺田信幸教授には多大なご指導とご協力をいただき、厚くお礼申し上げます。

また、本研究で使用したNiメッキ製微細転写型は、株式会社アルファ精工のご協力で作製しました。重ねて厚くお礼申し上げます。

参考文献

- 1) (社)高分子学会編：微細加工技術 [応用編]、(株)エヌ・ティー・エス、P.147 (2003)
- 2) 早乙女康典：マイクロ塑性加工ーマイクロ塑性加工技術の現状と展望ー、精密工学会誌、Vol.69, No.9, P.1221 (2003)
- 3) 前田龍太郎ら：ナノインプリントのはなし、日刊工業新聞社 (2005)

- 4) 小松利安、萩原義人、石黒輝雄、宮川和幸、勝又信行、佐野正明、山田博之、西村通善、吉田善一、寺田信幸：マイクロ金型による微細転写加工技術に関する研究 (第1報)、山梨県総合理工学研究機構研究報告書、No.6, P.55 (2011)
- 5) 小松利安、萩原義人、石黒輝雄、勝又信行、宮川和幸、佐野正明、山田博之、阿部 治、吉田善一、寺田信幸：マイクロ金型による微細転写加工技術に関する研究 (第2報)、山梨県総合理工学研究機構研究報告書、No.7, P.41 (2012)
- 6) 勝又信行、他2名：表面技術、Vol.59, No.5, P.333 (2008)
- 7) 山田博之、他4名：2011年度精密工学会春季大会学術講演論文集、P.161 (2011)

成果発表状況

学会発表

- 1) 山田博之、阿部 治、吉田善一、小松利安、勝又信行：簡易ハーフトーンマスクを用いた微細3次元レーザー加工技術の開発、山梨講演会2012、山梨、2012

南アルプスにおけるニホンジカによる高山植物への 影響と保護対策および個体数管理に関する研究

Studies for Effects of Sika Deer (*Cervus nippon*) on Alpine and Subalpine Vegetation and Their
Management at Minami-Alps Mountains, Yamanashi Prefecture

南アルプスにおけるニホンジカによる高山植物への影響と保護対策および個体数管理に関する研究

長池 卓男¹・西川 浩己¹・飯島 勇人¹・北原 正彦²・杉田 幹夫²・中野 隆志²・土橋 宏司³
亀井 忠文⁴・横川 昌史⁵・井鷲 裕司⁶・中村 健一⁷・会田 秀樹⁷・竹田 謙一⁸
(¹山梨県森林総合研究所, ²山梨県環境科学研究所, ³山梨県酪農試験場, ⁴山梨県立笛吹高校,
⁵大阪市立自然史博物館, ⁶京都大学, ⁷東京都農林総合研究センター, ⁸信州大学)

要約 本研究課題は、南アルプスの高山帯・亜高山帯にこれまで進出していなかったニホンジカの影響と対策を考えるために、①高山・亜高山帯における植生影響対策を目的とした研究、②大きな影響が危惧される植物種の保護のための増殖技術確立と遺伝的特性の研究、③ニホンジカの個体数管理のための調査および効率的な捕獲方法の研究、④捕獲したニホンジカの行動調査と飼育管理技術の研究を行った。本稿では、ニホンジカによる被食・剥皮状況、ニホンジカの出没状況、ミヤマハナシノブ・キタダケソウの培養に関して報告した。ニホンジカの影響は依然強いものの、その年次的な変化に特定の傾向は見られなかった。また、針葉樹への剥皮は、高茎草原が存在している山塊の方で多いことが明らかとなった。センサーカメラによる調査の結果、2700mの旧北岳山荘付近でも多くのニホンジカが生息していることが明らかとなった。ミヤマハナシノブは、種子親での発芽率に大きな違いがあったため、得られた無菌実生の数には差があったが、いずれの無菌実生からは多芽体を誘導することが可能であった。キタダケソウは、採取した種子のうち、充実したものは少なく、培地置床30日後では発芽する個体は観察されなかった。

Studies for effects of sika deer (*Cervus nippon*) on alpine and subalpine vegetation and their management at Minami-Alps mountains, Yamanashi Prefecture

Takuo Nagaike¹, Hiroki Nishikawa¹, Hayato Iijima¹, Masahiko Kitahara², Mikio Sugita², Takashi Nakano², Kouji Dobashi³, Tadafumi Kamei⁴, Masashi Yokogawa⁵, Yuji Isagi⁶, Ken-ichi Nakamura⁷, Hideki Aida⁷, and Ken'ichi Takeda⁸
(¹Yamanashi Forest Research Institute, ²Yamanashi Institute of Environmental Sciences,
³Yamanashi Prefectural Dairy Experiment Station, ⁴Fuefuki High School, ⁵Osaka Museum of Natural History,
⁶Kyoto University, ⁷Tokyo Metropolitan Agriculture and Forestry Research Center, ⁸Shinshu University)

Abstract We studied effects of sika deer (*Cervus nippon*) and their management at Minami-Alps, Yamanashi Prefecture. Browsing effect by sika deer was still severe for vegetation, and annual changes of the effect had large variation. In subalpine forests, debarking for coniferous trees was abundant in sites with subalpine meadows. Sika deer population was found in 2700m around former Kitadake-Sanso, based on camera-trapping method. The method to make pathogen-free seedlings of *Polemonium caeruleum* ssp. *yezoense* var. *nipponicum*, as vulnerable species, was nearly established. Most of collected seeds of *Callianthemum hondoense*, critically endangered species, were empty.

1. 緒言

ニホンジカによる農林業および自然生態系への影響が各地で報告されている。山梨県でも農林業被害が増加傾向にあり、これまで生息していなかった南アルプスの高山帯にもニホンジカが進出している。その結果、キタダケソウをはじめとする貴重な高山植物やそれらを含む生態系への影響が危惧されており、早急な対策が迫られている。しかしながら、その状況把握や対策はほとんど手が付けられていない。そのために本研究課題では、①高山・亜高山帯における植生影響対策を目的とした研究、②大きな影響が危惧される植物種の保護のための増殖技術確立と遺伝的特性の研究、③ニホンジカの個体数管理のための調査および効率的な捕獲方法の研究、④捕獲し

たニホンジカの行動調査と飼育管理技術の研究を行っている。

ニホンジカの高山植物への影響を検討するうえでは、高山植物のみならず周辺の亜高山帯針葉樹林における出没・剥皮状況を検討する必要がある。なぜならば、高山植物群落に出現するニホンジカは周辺の亜高山帯針葉樹林で休息を行うと考えられることから、剥皮による亜高山帯針葉樹林の存続可能性は高山植物の摂食状況にも影響すると考えられるためである。また、今後の対策（捕獲、植生保護柵）を考える上では、いつ、どこに、ニホンジカが出現しているかを明らかにすることが重要である。

ミヤマハナシノブは近年の個体数の減少により、環境省レッドデータブックでは絶滅危惧Ⅱ類（VU）に指

定されている。北岳周辺と北アルプスの白馬岳周辺にのみ生育するとされニホンジカによる摂食が危惧されている。ミヤマハナシノブについては有効な増殖方法が確立されていないのが現状である。

今年度は、摂食状況から見た保全優先度の検討、亜高山帯針葉樹林におけるニホンジカによる剥皮状況とニホンジカの出没状況、ミヤマハナシノブの遺伝解析と培養、キタダケソウの無菌播種、ニホンジカの飼育を目指した生体捕獲と飼育に関して調査研究を行った。高山植物の増殖に関連する種子発芽特性とミヤマハナシノブの遺伝解析、ニホンジカの飼育状況等については別稿で報告する。

2. 調査方法

2-1 ニホンジカによる被食状況

調査は、2010年に行った調査地で以下のように再調査を行い、2010年から2012年への変化を基に保全優先度の検討を行った。標高2200~2800mまでの通称右俣および草すべりの登山道沿いでダケカンバ林および高茎草原を対象とした。登山道沿いの約30mおきに長さ20mの調査区を設定し（ダケカンバ林16調査区、高茎草原26調査区）、登山道の両側に5m間隔で1×1mの植生調査区を設置した（1調査区あたり10植生調査区、合計420植生調査区）。各植生調査区に出現した植生高2m以下の維管束植物種を記録し、ニホンジカによる摂食の有無も記録した。種多様性・被食率・絶滅危惧種の出現頻度と被食の変化をもとに、主成分分析を用いて保全優先度を検討した。保全優先度は、「種多様性や絶滅危惧種の出現頻度が低下し、被食率や絶滅危惧種の被食が増加している調査区」が高いとした。

2-2 ニホンジカによる剥皮状況

剥皮状況に関する調査は、2010-2012年に、北沢峠周辺の標高2000m付近（以下、低標高とする）および仙丈ヶ岳、双児山、栗沢山に至る標高2500m付近（以下、高標高とする）の針葉樹林で行った。これらの山は約7kmという狭い領域内にあり、かつ北沢峠から全て山頂に到達することが可能であるが、仙丈ヶ岳は高茎草本群落豊富に存在するのに対し、双児山および栗沢山には高茎草本群落がほとんど見られない。また、2つの標高帯で調査を行ったのは、亜高山帯におけるニホンジカによる剥皮の程度は、標高によって異なることが報告されているためである¹⁾。

低標高域で8個、高標高域で11個の調査区を設定した。1つの調査区の大きさは10m×40mである。調査区内の胸高直径3cm以上の木本（以下、立木とする）について、樹種、周囲長、剥皮率（周囲長に対する剥皮された部分の割合）を調査した。また各調査地において、1

×2mの方形区を8個設定し、方形区内の樹高30cm以上の木本（以下、稚樹とする）について樹種、樹高、剥皮率を調査した。さらに、2011年10月に、各調査区の半分となる5×40mの範囲について、ニホンジカの糞粒数をカウントした。

なお結果については、2010年9月に調査した低標高域3個、高標高域3個の調査区の結果も加えて示した。

糞粒数、立木および稚樹の剥皮率、稚樹密度に影響する要因を、一般化線形モデル（GLM）または一般化線形混合モデル（GLMM）によって検討した。糞粒数については山系（仙丈ヶ岳またはそれ以外）と標高帯を、稚樹の剥皮率については調査区の糞粒数、稚樹の樹高、樹種を、稚樹密度については調査区の糞粒数、母樹のBA、立木密度、樹種を、立木の剥皮率については個体の周囲長、調査区の糞粒数、樹種を説明変数とした。また、稚樹の剥皮と稚樹密度については方形区を、立木の剥皮率については調査区をRandom effectとして用いた。なお、剥皮率の解析において、トウヒは剥皮された個体が1個体もなかったため係数を推定することが不可能であり、解析に加えなかった。構築したモデルについて、全ての説明変数の組み合わせでAICを比較し、AICが最小となるモデルに含まれる変数について有意な影響があった変数と判断した。

2-3 ニホンジカの出没状況

2012年5月下旬に、ダケカンバ林（2220m, 2230m, 2240m, 2700m）と高茎草原（2250m, 2560m, 2570m, 2740m）に、デジタルセンサーカメラを1台ずつ設置した。また、旧北岳山荘付近（2700m）にも7月中旬に設置した。1回の感知で2枚撮影され、感知後3分間は再感知しないように設定した。また、同一個体が連続して撮影されていると思われた画像は、撮影枚数に集計しないこととした。

2-4 ミヤマハナシノブの組織培養による生息域外保全

北岳で結実している個体より種子を採取し（山梨県みどり自然課より許可）、70%エタノール等で表面殺菌をおこない、無菌的に発芽させ、約3ヶ月間育成した実生の葉柄と根を切断して、成分を1/2に調整したMS培地にBAP（6-Benzylaminopurine）を単独、あるいはBAPとGA3（Gibberelic acid）を組み合わせで添加した培地に置床して多芽体を誘導した。誘導された多芽体のシュートは分割して、ショ糖を10g/l添加した1/2MS培地に置床して、発根を誘導した。試験管内で幼植物体として保存するため、得られた幼植物体のシュートを切断して、ショ糖を10g/l添加した1/2MS培地に置床して、幼植物体を育成した。また発根した個体の一部は培地から抜き取り、水中で根についた培地を落とし、培養土を入れたプラスチック製ポットに植え付け、植物体の順化を

行った。

2-5 キタダケソウの種子の無菌的播種

北岳の標高2,900m付近で結実している5個体よりそう果を採取した(関東地方環境事務所より許可)。採取したそう果は、供試まで4℃で保存した。そう果は果皮を取り除き、種子を取り出した。種子は中性洗剤で10分間洗浄後、水道の流水で15分間すすいだ。その後、70%エタノール中で1分間、ついで有効塩素量1%の次亜塩素酸ナトリウム水溶液中で15分間、それぞれマグネチックスクレーパーを用いて攪拌し、さらに3%過酸化水素水溶液中で3分間浸漬して表面殺菌をおこなった。表面殺菌した種子は、クリーンベンチ内で風乾し、ショ糖無添加の成分を1/4に調整したMS培地に、寒天10g/lを加え、pHを5.6に調整した培地上に置床した。培養条件は20±2℃、昼光蛍光灯で照度5,000lux、16時間/日照明とした。培地置床30日後に種子の変化を調査した。

3. 結果および考察

3-1 ニホンジカによる被食状況

ダケカンバ林と高茎草原では、被食率は依然ダケカンバ林で高かった(図1)。両植生タイプとも、被食率は若干低下していた。調査区ごとで被食率の変化を見た場合、植生タイプごとやその他の要因(例えば、標高)などによって影響されておらず、その変化はランダムに生じていることが示唆された(図2)。保全優先度の高い場所は図3のように示された。

3-2 ニホンジカによる剥皮状況

糞粒数は標高帯によらず、高茎草本群落が存在する仙丈ヶ岳で他の山よりも多かった(図4)。本調査の対象とした仙丈ヶ岳、双子山、栗沢山は方法で述べたように非常に近接した位置にあるにも関わらずこのような結果が得られたことは、ニホンジカが高茎草本群落を持つ山を選択している可能性を示唆していると考えられる。

糞塊数が多いほど稚樹の剥皮率は高まり、稚樹密度は低下し、立木の剥皮率は高まっていたことから、ニホンジカが誘引される場所では摂食圧が高まっていたと考えられる。ただし、剥皮率は稚樹では樹高が大きいほど高かったのに対し、立木では細い個体ほど高かった。このことから、ニホンジカによる剥皮のリスクは、一山形の分布を示すと考えられる。また、シラビソやトウヒはオオシラビソやコマツガと比べて剥皮されにくい傾向が認められた。この結果は、ニホンジカによる摂食圧が継続した場合、林分の種構成がシラビソやトウヒに偏る可能性を示唆している。以上の結果から、亜高山帯におけるニホンジカによる摂食リスクは高茎草本群落を持つ山で特に高いこと、また稚樹の摂食リスクが高いこと、さら

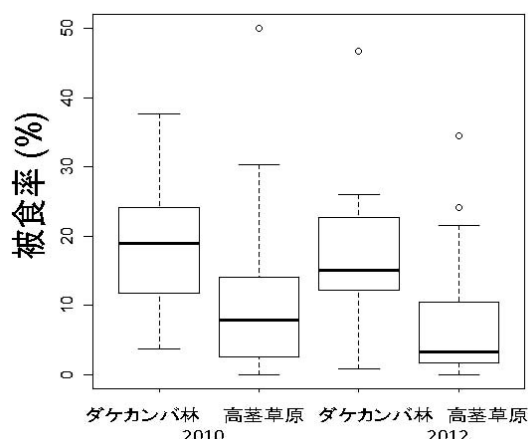


図1 植生タイプごとの被食率の変化

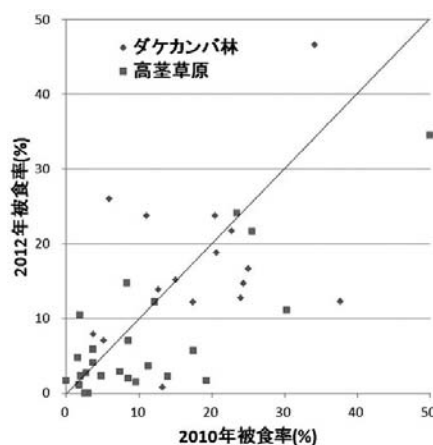


図2 調査区ごとの被食率の変化

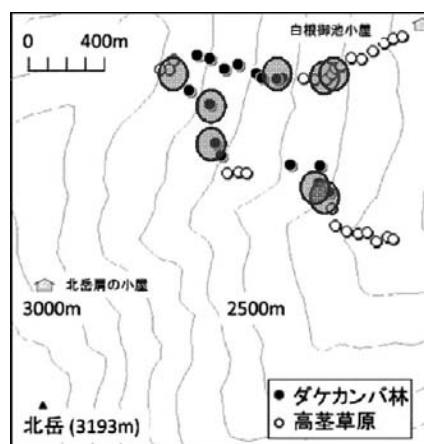


図3 植生保護対策候補地

にオオシラビソやコマツガはトウヒやシラベと比較して摂食リスクが高いことが明らかになった。

3-3 ニホンジカの出没状況

カメラ設置直後からニホンジカが多く撮影された(図5)。7月に旧北岳山荘(2700m)に設置されたカメラでは、もっとも多く撮影された。主要な登山道から離れて

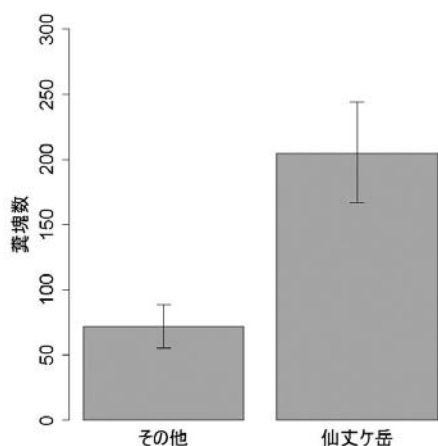


図4 山系による糞粒数の違い (エラーバーは標準誤差を示す)

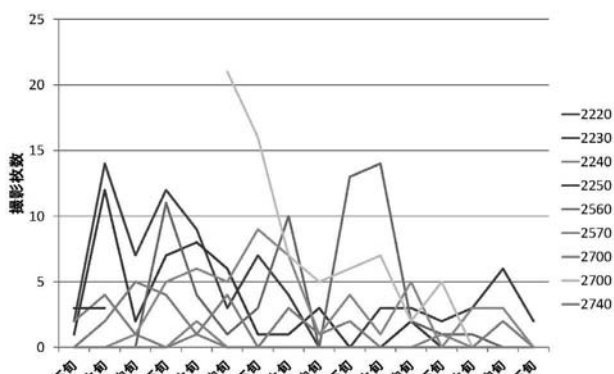


図5 ニホンジカの撮影枚数の季節変化



図6 撮影された7頭のニホンジカ (2700m)

いることから、ニホンジカの警戒も薄れて摂食・休息しているものと思われた (図6)。

3-4 ミヤマハナシノブの組織培養による生息域外保全

種子親11個体より無菌実生が得られた。種子親での発芽率に大きな違いがあったため、種子親による得られた無菌実生の数には差があったが、いずれの無菌実生からは多芽体を誘導することが可能であった。多芽体を分

割して培地に置床したシュートはそのまま伸長し、培養開始15日頃には発根するシュートも観察された (図7)。さらに置床したシュートの基部から二次的にシュートが伸長し多芽体を形成する個体もみられた。増殖し、試験管内で保存している個体数を表1に示す。

発根した個体のほとんどが順化可能であった。順化後、約60日間育成した培養苗は25cm程度に成長した (図8)。

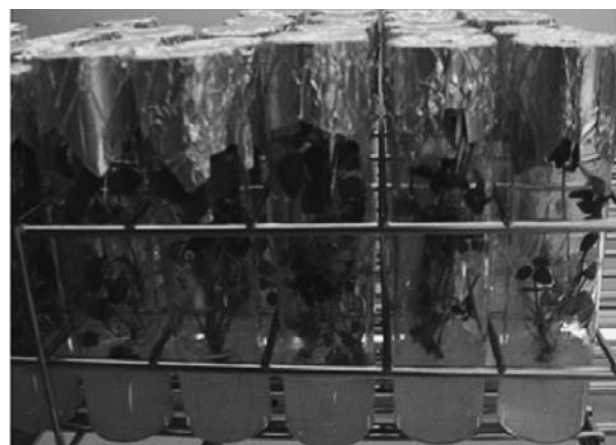


図7 試験管内で生育している幼植物体



図8 育成した培養苗

ミヤマハナシノブではいずれの個体も、ショ糖を10g/l添加した1/2MS培地にシュートを移植し幼植物体を育成して、試験管内で継代培養することにより、組織培養による生息域外保全が可能であった。継代培養している幼植物体は、比較的成長が良好なため、約6ヶ月間隔で移植を行っている。タカネビランジ、タカネマンテマでは、約10ヶ月程度で継代培養を行っている。ミヤマハナシノブにおいても、今後できるだけ継代培養の手間を省くため、培地濃度等の調整により成長量を調節していきたい。タカネビランジでは順化後6ヶ月間²⁾、タカネマンテマでは順化9ヶ月間³⁾、育苗した培養苗の中には開花する個体が観察されている。ミヤマハナシノブについても今後の生育について検討していきたい。

組織培養による生息域外保全を行うためには、突然変異を起こさない増殖、保存方法を開発する必要がある。クローナル植物では体細胞突然変異によって同じクローンであっても遺伝子型が異なる場合がある⁴⁾。別章で示されるようにミヤマハナシノブでのマイクロサテライトマーカーを用いた解析では、組織培養で増殖した個体の遺伝子型は、個体毎にすべて同じであった。自生地ではシカによる食害も確認されており、今後、生息域外保全しているミヤマハナシノブ個体の植栽を行う必要性が生じる恐れがある。そのため、突然変異が生じていないかモニタリングを継続しながら、生息域外保全を持続的に行う必要がある。

3-5 キタダケソウの種子の無菌的播種

採取したそう果の果皮を取り除いたところ、充実した種子のあるものは少なかった。材料が貴重のため、充実していない種子も含めて表面殺菌を行った。種子の雑菌汚染は少なく、全体の約10%しか汚染されなかった。培地置床30日後では発芽する個体は観察されなかった(図9)。

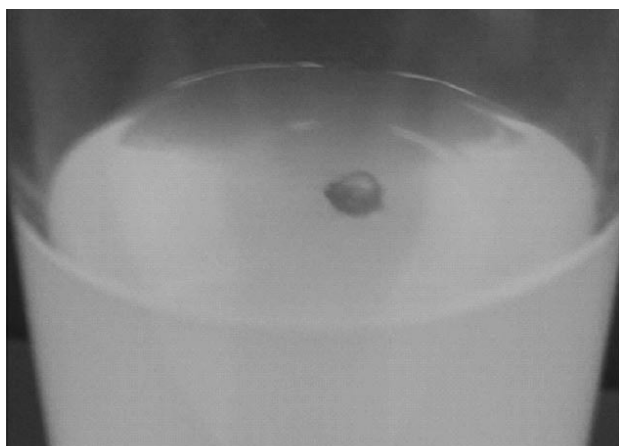


図9 培地に置床したキタダケソウの種子

表1 試験管内で保存されているミヤマハナシノブ個体

種子親	増殖個体数	保存幼植物体数
1	7	113
2	50	298
3	25	142
4	13	102
5	7	44
6	1	5
7	1	4
8	4	14
9	10	26
10	10	40
11	1	3

今回採取したキタダケソウ種子は、充実したものが少なく自生地での授粉等に問題が生じている可能性がある。日本の高山域に生育する植物に、様々な面で温度が制限要因として強く作用しており、キタダケソウについても開花日が早まっていることが示唆されている⁵⁾。また、媒介昆虫の活動との不調和により授粉に問題が生じているのではないかと指摘されている(森, 私信)。自生地の環境変化はキタダケソウの個体群維持に影響を与えている可能性が高く、種の保存のため早急に生息域外保全を進める必要がある。

引用文献

- 1) Takeuchi, T., Kobayashi, T., and Nashimoto, M.: Forest Ecology and Management, 261, 11, 2089-2095. (2011)
- 2) 西川浩己, 井出雄二: 植物組織培養, 10, 3, 47-53. (1993)
- 3) 西川浩己, 清藤城宏: 山梨県森林総合研究所研究報告, 28, 1-6. (2009)
- 4) Gitzendanner MA, Weekley CW, Germain-Aubrey CC, Soltis DE, Soltis PS: Conservation Genetics 13, 1, 223-234. (2012)
- 5) 名取俊樹: 日本生態学会誌, 58, 183-189. (2008)

成果発表状況

学会発表

- 1) 飯島勇人・長池卓男: 亜高山帯針葉樹林におけるニホンジカによる剥皮発生に影響する要因, 第60回日本生態学会大会, 静岡, 2013
- 2) 長池卓男・飯島勇人: 亜高山帯植生におけるニホンジカ摂食からの保全優先度の検討, 第60回日本生態学会大会, 静岡, 2013

学会誌等掲載

- 1) Nagaike T: Effects of browsing by sika deer (*Cervus nippon*) on subalpine vegetation at Mt. Kita, central Japan, Ecological Research 27: 467-463, 2012.

衛星データを用いた北岳周辺の積雪分布抽出

杉田 幹夫¹

(¹山梨県環境科学研究所)

要約 ランドサット7号衛星データを用いて、北岳および鳳凰三山（薬師岳、観音岳、地藏ヶ岳）を含む領域の積雪分布域の抽出を行った。積雪域と無積雪域を判別するための指標として、正規化積雪指標NDSIと積雪指標S3の利用を比較検討し、より安定して積雪域を抽出できたNDSIを採用した。可視域緑色と短波長赤外域のバンドの反射率から計算されるNDSIで積雪状況を評価し、積雪分布を地図化した。得られた積雪分布図は、高山植生の変化やニホンジカの生息域の解析への応用が可能である。

Snow-covered area extraction around Mount Kita using satellite data.

Mikio Sugita¹

(¹Yamanashi Institute of Environmental Sciences)

Abstract Remotely sensed satellite data was used to extract snow-covered region in the study area including Mt. Kita and Three mountains of Hoo (Mt. Jizougatake, Mt. Kannongatake and Mt. Yakushigatake). Snow-covered area extraction was investigated using two methods: (1) normalized difference snow index (NDSI) which uses visible green and shortwave infrared reflectances, and (2) snow index S3. NDSI could discriminate snow-covered areas more stable and more accurate than S3 in this study. Applying NDSI method to Landsat 7 ETM+ satellite data, snow-covered map of the study area was created. The obtained snow coverage map is applicable for analysis such as distribution change of alpine vegetation, or the habitation region of sika deer (*Cervus nippon*).

1. 緒言

既報¹⁾において、北岳周辺におけるニホンジカの生息域の標高帯の対応関係を調べた結果、季節ごとの分布域の特徴から積雪域との関連性が明らかとなり、雪の無い時期には2500mを越す高標高の場所にも高頻度でニホンジカが存在することが示唆された。このため積雪分布の把握とその経年変動を把握することは、高山植物等への影響が懸念されているニホンジカ対策においても重要な課題になると考えられる。

広域かつ均一に積雪分布を把握するには、衛星データを用いたりモートセンシング解析が有効である²⁾。本研究で使用したランドサット衛星データは、我が国では原則として有償配布されている。しかし、米国地質調査所 (United States Geological Survey : USGS) は、全てのランドサットアーカイブデータを無償で配布することを2008年4月に発表しており、USGSをはじめ幾つかの検索サイトから無償ダウンロードすることが可能になっている。

一方、積雪の光学特性は高アルベドに象徴される。積雪分布を光学センサによって求める場合、積雪面は他の地表面に比べ、可視域でアルベドが高いため、もし雲がなければ適当な閾値により積雪の存在を見分けるとこと

ができる²⁾。既往研究では、正規化積雪指数 (Normalized Difference Snow Index : NDSI)^{3) 4)} など積雪の光学特性を良く反映した積雪指数が提案されているほか、積雪面と植生などが混在した場合に、積雪の特性をよく表すための積雪指数S3⁵⁾なども提案されている。

こうした背景を踏まえ、本研究ではランドサット7号衛星データを用いて、北岳および鳳凰三山（薬師岳、観音岳、地藏ヶ岳）を含む領域の積雪分布域の抽出を行った。

2. 解析方法

2-1 使用した衛星データ

2009年から2011年にかけて、3月から8月の期間に観測されたランドサット7号衛星データを用いて北岳周辺の積雪分布を求めた。解析の対象は、北岳および鳳凰三山を含む東西約13km、南北約19kmの範囲であり、その中心緯経度は北緯35°40'35"、東経138°15'11"である(図1)。

Enhanced Thematic Mapper Plus (ETM+)は、ランドサット7号に搭載された光学センサで、空間分解能30m、刈り幅180kmの熱赤外を含む7つの観測波長帯 (バンド) を有する。表1に示した観測日のランドサット7

号衛星ETM+データ (Path 108, Row 35) を米国地質調査所 (USGS) のサイトから無償ダウンロードして用いた。カラー合成画像の目視による簡易的な雲量評価を行うことにより、雲の影響の大きい観測日 (表1に括弧付きで表記) は解析から除外した。ETM+データは、記録されているデジタル値 (DN) から反射率に変換して使用した。

2-2 積雪指数による積雪判別

ETM+による積雪域の同定には、可視域の観測バンドの合成画像 (R:バンド3, G:バンド2, B:バンド1) と、赤外域バンドの合成画像 (R:バンド4, G:バンド5, B:バンド7) が利用されてきた⁶⁾。積雪は、地表に存在する植物被覆に比べ、可視域、近赤外域で輝度が高く、中間赤外域は輝度が低い。このため、積雪域は可視域の合成画像では白く、赤外域の合成画像では赤く表示され、目視による積雪域の同定が可能である。計算機上では、適当な閾値処理により積雪域を判別することが可能である。しかし、この方法では一般に観測シーンごとに閾値が変化するため、多時期のデータを用いた積雪モニタリングには適さない。

一方、適切な指標を用いることで、観測時期に依らず一定の値による閾値処理を可能とすることができる。本

研究では、可視域から短波長赤外域の観測バンドの反射率を用いて計算される積雪指標として、NDSI^{3) 4)} と積雪指数S3⁵⁾ で積雪状況を評価し、積雪分布の地図化を行った。ここで、雲域が積雪域と誤判定されることを避けるために、一戸らの方法⁶⁾ を参考に、ETM+バンド5およびバンド6を用いた閾値処理を行って、雲域をあらかじめ積雪解析から除外した。

表1 解析に使用したランドサット7号衛星データ

月\年	2009年	2010年	2011年	計
3月	29日	(16日)	3日, (19日)	2(2)
4月	30日		4日, (20日)	2(1)
5月		3日	6日, (22日)	2(1)
6月	(1日), 17日	4日	(7日), (23日)	2(3)
7月	(3日), (19日)	(6日), (22日)	(9日), (25日)	0(6)
8月	4日	7日, (23日)	10日, (26日)	3(2)
計	4(3)	3(4)	4(8)	11(15)

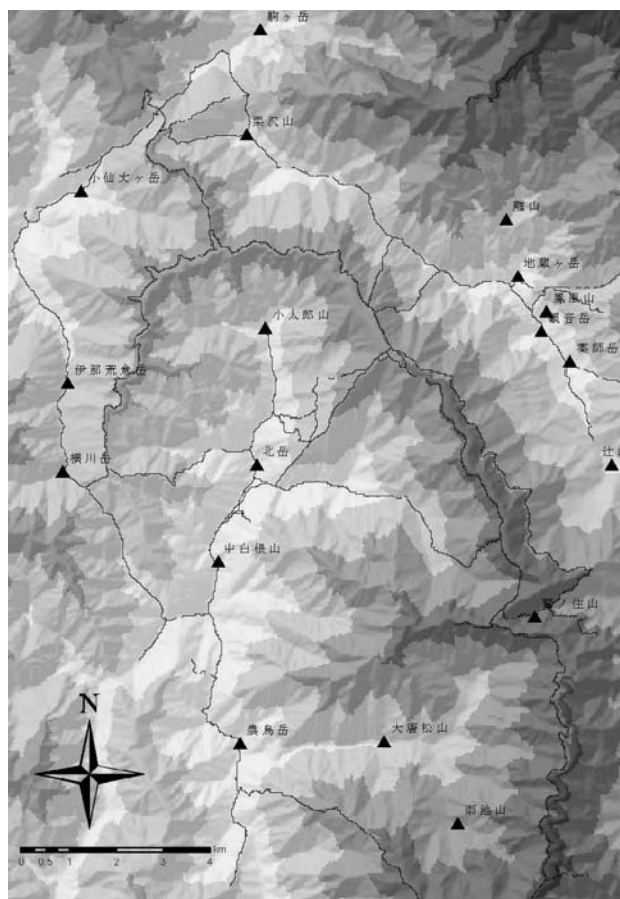


図1 積雪分布解析範囲

2-2-1 正規化積雪指数NDSI

衛星データを利用して積雪分布域をモニターする手法が多く提案されているなかでも、NDSIを基準とした積雪域判別が国際的にも広く用いられている。

積雪指数NDSIは次式で定義される³⁾。

$$NDSI = (\text{green} - \text{SWIR}) / (\text{green} + \text{SWIR}) \cdots (1)$$

ここで、green, SWIRはそれぞれ、可視域緑色 (ETM+バンド2: 0.525-0.605 μm)、短波長赤外域 (ETM+バンド5: 1.55-1.75 μm) の反射率である。NDSIは-1から1までの範囲の値をとる。積雪の有無を判別する閾値としてはNDSI ≥ 0.4 が用いられ、これにgreen > 0.10 , NIR > 0.11 の条件を加えて積雪判定を行う。ここで、NIRは近赤外域 (ETM+バンド4: 0.75-0.90 μm) の反射率である。

NDSIの閾値0.40は、カリフォルニア州シエラネバダを対象地として、ランドサットTMデータを用いた解析により、積雪面積率50%に対応するNDSI値として決定された⁸⁾。NIRの閾値0.11は、水域が積雪と判定されることを避ける目的で設けられた。greenの閾値0.10は、可視域で低い反射を示す対象物 (常緑針葉樹など) が積雪と判定されることを避けるために用いられる⁹⁾。本研究では、上記のパラメータを用いてNDSIによる積雪判

定を行った。

2-2-2 積雪指数S3

積雪指数S3は、林床の積雪であっても植生の影響を軽減して、積雪の有無を判別することが可能な量として開発された⁵⁾。

積雪指標S3は次式で定義される。

$$S3 = \frac{SWIR (red-SWIR)}{(NIR+red)} \div \frac{(NIR+SWIR)}{\dots} \quad (2)$$

ここで、redは可視域赤色 (ETM+バンド3 : 0.603-0.690 μ m) の反射率であり、NIR, SWIRは前述と同じく、近赤外域および短波長赤外域の反射率である。Shimamura et al.は、 $S3 > 0.18$ の画素を積雪域と判別し、 $0.05 < S3 < 0.18$ の値をとる画素を林床の積雪や植生と混合した積雪域と判定することを提案している¹⁰⁾。本研究では、上記のパラメータを用いてS3による積雪判定を行った。

2-3 積雪分布の年間変動

2009年から2011年の期間のデータ解析により、積雪分布の抽出に利用する積雪指数を決定した後、あらためて1999年から2012年までのランドサット7号衛星データを用いて解析を行い、積雪域を評価できたシーンについて、1月1日からの年間通算日と積雪面積、年間通算日と積雪標高の関係を調べた。積雪標高は、積雪と判定された地点の標高分布の第1四分位によって評価した。

3. 結果

3-1 積雪指数による積雪判別

2種の積雪指数、NDSIとS3を判別基準とした積雪域抽出結果を目視比較した結果、NDSIの方が良好で安定した抽出結果であった。積雪指数S3を用いた積雪域抽出の場合、積雪域 ($S3 > 0.18$) はNDSIによる結果と比較し、日向斜面と日陰斜面で抽出される傾向が異なる場合もあった。また積雪指数S3の特長となっている林床の積雪に対応する領域 ($0.05 < S3 < 0.18$) は、積雪域の周囲の針葉樹等森林の範囲に広がり、的確に把握されていると考えられるシーンもあったが、一部のシーンでは誤抽出が多いなど、安定した積雪抽出ができなかった。このため、本研究では積雪分布の抽出に積雪指数NDSIを利用することとした。

表1に示した雲の影響の少ない観測日の衛星データ、計11シーンを用いて、NDSIを基準とした積雪判別によって求めた積雪分布図を図2に示す。7月および8月については、積雪域が抽出できないか、表示するには小規模であるため、割愛した。図の中に左上から右下の斜め方

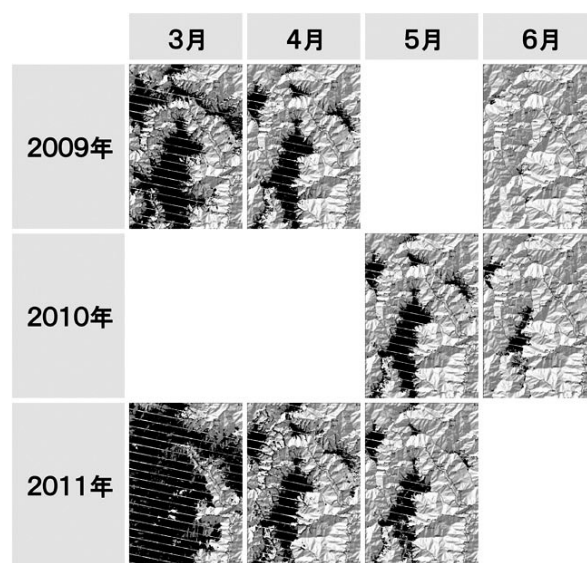


図2 積雪分布図

各画像は図1と同じ範囲を表示。黒色の範囲が積雪域を表す。

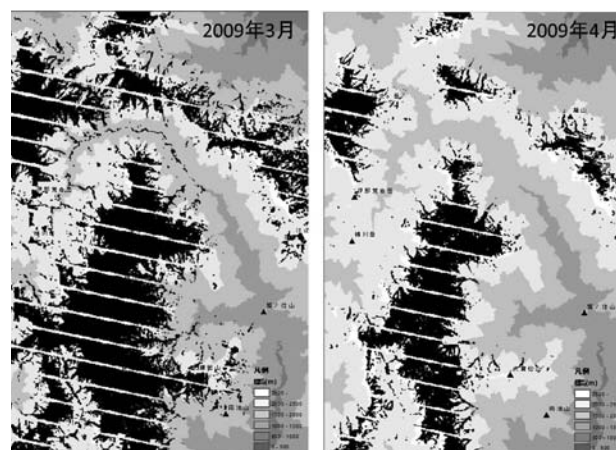


図3 積雪域と標高の関係

黒色の範囲が積雪域を表す。

向に走る平行縞状の構造が認められるが、これは、ランドサット7号の観測装置の一部故障に起因するデータ欠損域の影響である。

図3に積雪域と標高の関係を示す。積雪域は、標高2000m~2500mよりも高い標高に多く分布している。この標高帯は、既報¹⁾において積雪時期にニホンジカの集中分布がほとんど認められなかった領域とよく合致していることがわかった。

3-2 積雪分布の年間変動

1999年から2012年まですべての月のランドサット7号衛星データを、前述と同じく米国地質調査所 (USGS) のサイトからダウンロードして用いた。入手したシーンの総数は168シーンであり、そのうち、雲の影響の少なく、かつNDSIを用いた積雪域抽出により積雪が認められたシーンは62シーンであった。

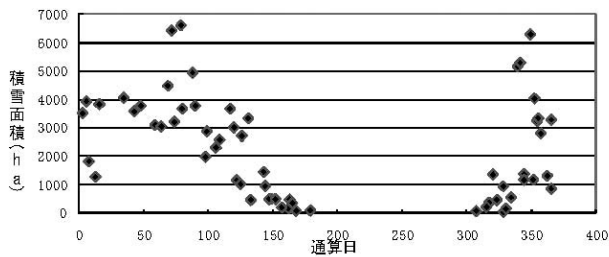


図4 年間通算日と積雪面積の関係

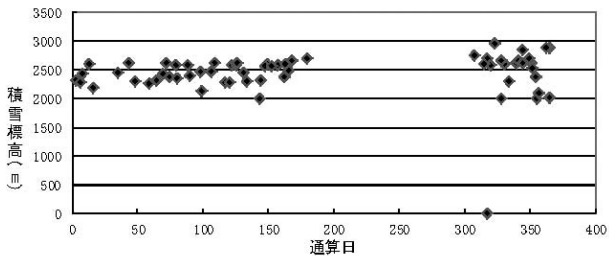


図5 年間通算日と積雪標高の関係
積雪標高は、積雪と判定された地点の標高分布の第1四分位によって評価

図4に年間通算日と積雪面積の関係を示し、図5に年間通算日と積雪標高の関係を示す。

積雪期間は通算日300日頃（10月下旬）から翌年170日頃（6月下旬）までに及んでいた。気象庁の1981年～2010年の平年値データでは、甲斐駒ヶ岳の初冠雪が10月27日となっており、妥当な結果であると考えられる。また、12月から5月までの期間では、おおむね2500mより高い標高は積雪状態であることがわかった。

4. 考 察

積雪指数S3は林床の積雪情報を獲得できることが特長であるが、本研究の解析結果では、安定した積雪把握には適さないことがわかった。一部のシーンでは、日陰斜面に通常の積雪域、日向斜面に林床の積雪域が分布する結果が得られていることから、事前に衛星データの大地形効果補正が必要であるとも考えられる。また、林床積雪条件としてShimamura et al.が提案している $S3 = 0.05$ の閾値¹⁰⁾が妥当ではない可能性もある。林床の積雪はニホンジカの生息域、行動圏に少なからず影響する因子であることから、衛星データから林床の積雪情報が得られると期待される積雪指数S3をベースに、パラメータや解析処理手順を再検討する余地が十分あると考えられる。

抽出された積雪域の分布を詳細に観察したところ、針葉樹林以外で積雪があるところが抽出されていた。特に鳳凰三山周辺において、この傾向が見られた。一方で、白根御池から西への登山道周辺で森林限界以下では、少しの針葉樹林と多くのダケカンバ林で構成されているが、ここは積雪として抽出されたシーンも存在した。積

雪指標としてNDSIを採用しているため、針葉樹林等の林床の積雪を把握するには限界があると考えられるが、条件によっては、林床の積雪も抽出される可能性が示唆された。

特にダケカンバ林の林床でのニホンジカの活動が活発である¹¹⁾ので、ダケカンバ林および高茎草原での3月から7月頃の積雪の経年変化が明らかになれば、摂食との関連付けが可能になると考えられる。

5. 結 言

2009年から2011年に観測された3月から8月までのランドサット7号衛星データを用いて、2種の積雪指数による積雪分布抽出を検討し、より安定して良好な抽出結果を得た正規化植生指数NDSIを積雪抽出の基準指標に採用した。

積雪域は、標高2000m～2500mよりも高い標高に多く分布しており、この標高帯は既報¹⁾において、積雪時期にニホンジカの集中分布がほとんど認められなかった領域とよく合致していることがわかった。

1999年から2012年までの期間に観測された全ての月のランドサット7号衛星データ168シーンを用いて、NDSIにより積雪分布を評価し、積雪分布図を作成した。積雪域を捉えることが出来た62シーンの結果から、年間通算日と積雪面積および積雪標高との関係を調べた結果、積雪期間は10月下旬から翌年6月下旬までに及び、積雪の多い12月から5月までの期間では、おおむね2500mより高い標高は積雪状態であることがわかった。

本研究で得られた積雪分布図は、高山植生の変化やニホンジカの生息域解析へ応用が期待される。

参考文献

- 1) 杉田幹夫：山梨県総合理工学研究機構研究報告書 No.6, 65-67. (2011)
- 2) 青木輝夫：雪氷 69 (2), 155-167, (2007)
- 3) Dozier J. : Remote Sens. Environ., 28, 9-22. (1989)
- 4) Hall D. K., Riggs, G. A. and Salomonson, V. V. : Remote Sens. Environ. 54, 127-140. (1995)
- 5) 齊藤篤思, 山崎剛：水文・水資源学会誌, 12, 28-28, (1999)
- 6) Dozier J. and Marks D. : Annals of Glaciology, 9, 97-103. (1987)
- 7) 一戸慎也, 丹波純雄, 飯倉善和：日本リモートセンシング学会学術講演会論文集, 38, 193-194. (2005)
- 8) Hall D. K., Riggs, G. A. and Salomonson, V. V. : Algorithm theoretical basis document (ATBD) for the MODIS snow and sea ice-mapping algorithms, NASA/Goddard Space Flight Center, 45p. (2001)

- 9) Klein, A. G., Hall, H. K., and Riggs, G. A. :
Hydrological Processes, 12, 1723-1744. (1998)
- 10) Shimamura Y, Izumi T, and Matsuyama H. : Int. J.
Remote Sens., 27, 4867-4884. (2006)
- 11) Nagaike T : Ecological Research, 27, 467-473.
(2012)

野生ジカの効率的な捕獲方法および一時飼育管理技術の検討

土橋 宏司・鈴木 希伊・神藤 学
(山梨県酪農試験場)

要約 捕獲されたニホンジカの飼育環境に対する馴化状況を調査したところ、導入から約1週間はフェンスへの衝突や走行といった行動が多く、給与飼料の採食開始までには約2週間は要していることから、飼育開始から約2週間は注意が必要であると共に、一定量の牧草や野草等の生育を確保しておく必要があると思われる。飼育施設内において、シカは高台や林といった場所での滞在割合が高く、飼育施設を設置する際にはシカが隠れやすい場所の配置が必要であると思われる。また、制限給飼の条件下における採食頻度は給与直後が最も高く、給与時間を調整することで捕獲時の誘引等に応用可能であると思われる。また、囲い罠によるニホンジカの生体捕獲では、牧草地に出現するシカの誘因には牧草が効果的であることがわかったが、効率的な捕獲を行うためには解決すべき課題が多いものと思われる。

Examination of the efficient capture method of Japanese deer and examination of momentary feeding procedure

Koji Dobashi, Kii Suzuki, Manabu Shindo
(Yamanashi Prefectural Dairy Experiment Station)

Abstract We investigated the acclimation of captured Japanese deer to the rearing environment. A lot of behaviour such as hitting the fence or running were observed during one week from a feeding started and it took two weeks until deer started eating the feed. Therefore, attention is needed for the first two weeks of feeding. It's also necessary to keep a certain surface layer containing a mat of weeds and grass. According to the observation that deer has a tendency to stay in a forest or on a hill in the rearing facilities, it seems to be necessary that places where deer can easily hide are arranged. We investigated how the amount of feed effected on the eating frequency. The frequency was highest immediately after feeding under the feed restriction. This result may be applicable by adjusting the feeding time to attract deer for capturing.

1. 緒言

ニホンジカによる影響の把握・解析や植生保護柵設置対策をはじめとする貴重植物種の保護対策及び行動圏の把握を基にした個体数管理のための捕獲対策プロジェクトの一環として、捕獲した野生ジカの一時飼育の実証試験を行い、シカの行動生理および飼育環境への馴化状況等について調査を継続するとともに、食肉利用としての出荷過程について検証を行う。

2. 調査方法

2-1 捕獲ジカの飼育状況下における馴化状況

(1) 捕獲ジカの馴化状況調査

捕獲されたニホンジカの飼育状況下における馴化を観察するため、行動及び滞在場所、および人に対する馴化状況等について継続調査を行った。

行動調査は、前年度に準じ、行動類型については採食、反芻、走行、フェンスへの衝突等の行動を5分間隔で記録した。同時に、施設内をその形状により6区分

し、各個体の滞在場所を15分間隔で記録した。これらの調査は1日6時間とし、シカ導入から2週間までは継続して実施し、以後週1回の間隔で飼育開始から230日目まで実施した。

人に対する接近距離の観察は、林の中に設置した飼槽を中心として5m間隔でマーカーを設置し、給餌の際にシカを正視しないように中心に座り、5分間でシカが最も接近した距離を目視で計測した。観察頻度は行動観察と並行して実施した。

(2) 飼料給与条件による採食頻度の違い

飼料の給与条件が異なる場合の採食頻度の違いについて2012年7月8日～8月10日まで調査を行った。

飼料の給与量については、事前に1日で完食可能な給与量について確認を行い、ヘイキューブ6kg、配合飼料1kg、圧ペントウモロコシ1kgを1日あたりの給与量とした。

飼料の給与条件は、1日で完食する量を給与する制限給餌区と、2～3日分をまとめて給与する飽食区とし、飼料給与時刻は両区とも12時とした。採食行動の観察は、飼槽付近にデジタルセンサーカメラ (MOULTIRE

GameSpy D-55IR) を設置し、撮影間隔を5分間で設定した。

撮影された採食行動は時間毎にカウントし、1時間あたりの採食頻度を求め、各試験区での比較を行った。

(3) 観察用施設への移動および電気柵に対するシカの行動調査

電気柵に対するシカの行動について調査を行うため、飼育ジカを2013年8月20日に試験用施設(200m²)へと移動した。移動に際しては(株)野生動物保護管理事務所(WMO)に協力を依頼し、麻酔銃を用いて麻酔薬(キシラジン塩酸塩100mg/mlと塩酸メデトミジン1mg/mlの混合薬)を投与して不動化し、移動後に拮抗薬(塩酸アチパメゾール5mg/ml)を投与して覚醒を行った。観察用施設には、分離用シューターが設置されており、移動後は定期的に体重測定を実施した。

電気柵は、飼槽前の幅5mに、地面高を①30, 60, 90, 120cm②45, 90cmで設置した。対象として、物理柵(高さ180cmのワイヤーメッシュ)を設置した。飼槽には配飼料と圧ペントウモロコシを入れ、デジタルセンサーカメラで柵への接近および接触状況等を観察し、各条件との差を比較した。

(4) 飼育個体の出荷過程の検証

飼育した個体の食肉としての出荷過程を検証する目的で、飼育ジカ3頭を用いて、屠殺から食肉処理施設への搬送、出荷したシカ肉の成分分析を実施した。

屠殺は2013年2月13日に実施した。施設内に設置したシューターにシカを誘導して個体毎に分離し、①頭部打撃法(Ⅱ)電気屠殺装置(富士平工業(株) ST-EC2ST, ST-ZK)を用いる方法で失神させた後、頸動脈を切開し放血を行った。放血は斜面を活用して尾部を高く保持し、胸部を左右各20回圧迫して実施した。放血終了後、体温を測定し胸骨丙下部を内臓を傷つけないように腹膜まで切開し腹部へのガス貯留を防止する創口を開けた。作業終了後、個体を搬送用バットに入れ左右腹側に雪を詰めたビニールを置いて屠体を冷却して処理施設に搬送した。また、作業開始から施設搬入までの作業時間を記録した。屠体の食肉処理は、富士河口湖町ジビエ食肉加工処理施設に搬入し、食肉としての処理を依頼した。シカ肉の一般成分分析は、山梨県工業技術センターに依頼し、水分、タンパク質、脂質、灰分の測定および炭水化物とエネルギーの算出を行った。

2-2 囲いワナによる効率的な捕獲方法の検討

(1) 誘因物の効果確認

生牧草以外の誘因物の効果確認を行うため、2012年4月上旬から9月末までの期間、篠尾圃場西端の林に誘因物とデジタルセンサーカメラを設置しシカの採食状況を確認した。誘因物には、配合飼料、圧ペントウモロコシ、大豆粕、ヘイキューブ、鉍塩、ヘイキューブ+醤油

を用いた。

(2) ワナ内部草地環境の改善

前年度までの捕獲作業における課題として、ワナ内部の牧草生育条件が周囲に比べ乏しく、改善が必要であると考えられた。このため、2012年4月上旬にワナ内部の草地更新(ハイブリッドライグラス種子5kg+高度化成肥料10kg)を行った。牧草生育後は、周囲牧草の収穫状況に合わせて月2回の頻度で掃除刈りを行い、常に牧草が良好な条件で生育しているよう努めた。また、8月上旬にはワナ内部にシカのデコイ4基を設置した。

10月上旬には、ワナ内部および外周8m幅に同一種子を追播するとともに施肥(硫安10kg)を行った。

11月中旬には、上記追播部分を残して周囲牧草の刈取りを実施し新たに生育した牧草による誘因を行った。牧草の維持管理を行うと共にワナ周囲に5か所、内部に3台のデジタルセンサーカメラを設置し、ワナへのシカの接近状況を確認した。

3. 結果および考察

3-1 捕獲ジカの飼育状況下における馴化状況

(1) 捕獲ジカの馴化状況調査

飼育開始から2週目までは走行やフェンスへの衝突が次第に減少する形で観察された。11日目からは反芻行動が観察されるようになり、次第に増加した。給与飼料の積極的な採食は13日目から確認されるようになり、これまでの間は施設内の自生植物を採食していた。(図-1)

施設内での滞在場所(図-2)は、1週目では高台と土手を主な滞在場所とし、野草を採食するようになると、行動可能な範囲で野草の生育が多い林と土手での滞在割合が高くなり、次第に主な滞在場所から遠い平地での滞在も確認されるようになった。冬期に入り、野草の生育量の減少と、飼育場所に吹き付ける風が強くなるに伴い、土手での滞在割合は低下し、林及び平地での滞在が多く観察されるようになった。また、給与飼料採食割合の増加に伴い、飼槽付近での滞在も増加した。春に入り、野草の生育量と採食量が増加するに伴い、土手と高台での滞在が増加した。

林での滞在割合は飼育開始から観察終了時期までの間、大幅に増減することがなく、移動する際には林を経由する様子が観察されていることから、シカにとって林は安心して滞在できる場所として認識されているものと考えられた。

以上の結果から、ニホンジカの一時飼育において飼育開始から約2週間は管理を行う際にシカを刺激しないよう注意が必要であると共に、シカが採食可能な植物生育量の確保や、林や丘などシカの隠れ場所となる場所を設置しておく必要があると考えられた。

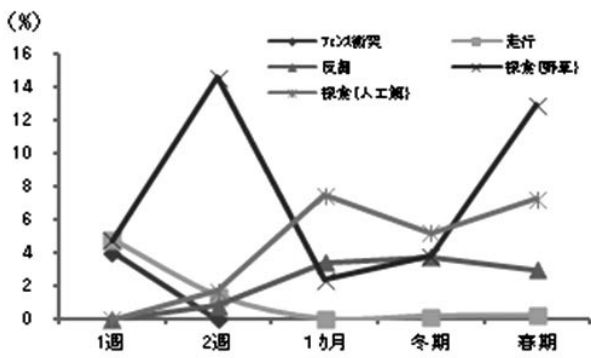


図1 施設内におけるシカの行動割合

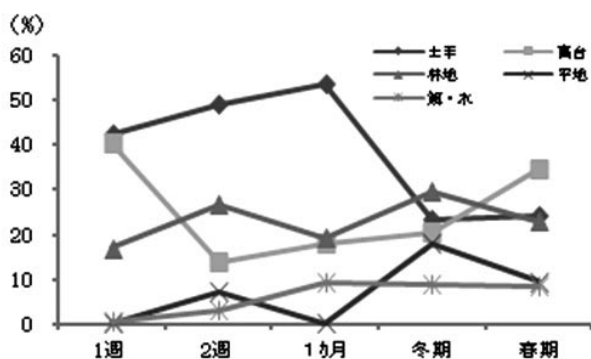


図2 施設内におけるシカの滞在割合

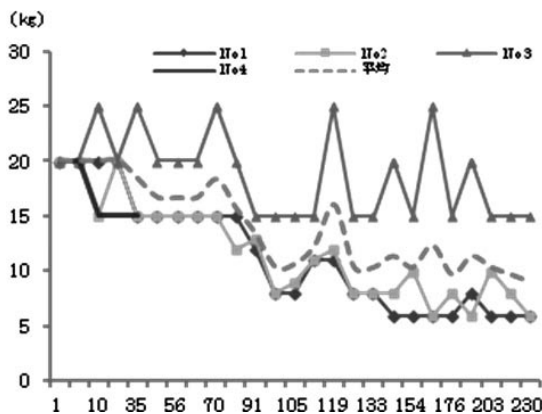


図3 人に対する接近距離の推移

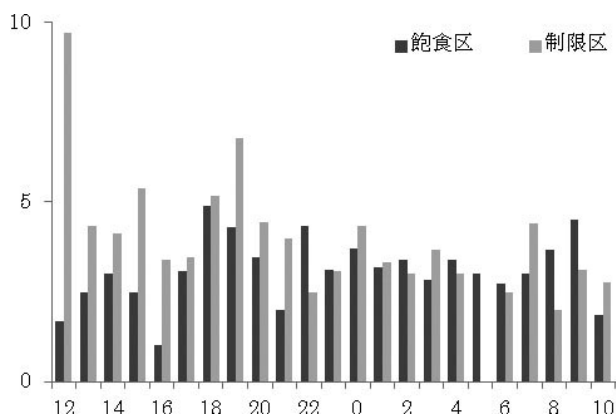


図4 飼料給与条件による採食頻度の違い

人に対する接近距離は、10日目から接近し始める個体が現れ、35日目付近から次第に短くなったが、10m以内に接近する個体が観察されるようになったのは98日以降になってからであった。飼育開始後の最接近距離は6mで、以降これ以上の接近距離の短縮は認められなかったが、接近距離が短縮することにより個体観察や目視診断が容易となった。しかし、飼育個体のうち1頭は非常に警戒心が高く、接近距離の短縮はあまり認められなかった(図-3)。以上のことから、シカのハンドリングに際しては、飼育開始から1ヶ月程度までは20m以上、それ以降で接近距離が短縮していても10m以上の距離を保って静かに誘導することでシカの群れを動かすことが可能である。

(2) 飼料給与条件による採食頻度の違い

飼料の給与条件を変えた場合のシカの採食頻度は、飽食状態では、概ね終日に分布していたのに対し、制限給飼の条件下では給餌直後の1時間に集中する傾向があったことから、連日、定時に制限給餌を行うことにより、シカを給餌場所に集めることが可能であり、個体の詳細な観察や捕獲を行う際の誘因等に応用が可能であると思われる(図4)。

(3) 観察用施設への移動および電気柵に対するシカの行動

飼育個体の移動には麻酔銃を使用し、不動物用麻酔薬を投与したが、シカにとって通常と異なる状況であったことから、シカは興奮して飼育施設内を走行し、単回麻酔薬を投与しても十分に不動物化することができず、不動物化まで通常の倍量の麻酔薬を投与した個体が存在した。また、1頭は、麻酔からの覚醒時にふらついて暴れ、右後肢を解放骨折したため、予後不良と診断して安楽死処分した。

この個体を病理解剖したところ、右腹腔内に腸管の癒着を伴う手拳大の膿瘍形成が確認された。この個体は導入直後から右腰付近が脱毛し、同部位の浸出物を舐める行動が観察されており、麻酔銃による捕獲実施時に腹腔内に針が刺入し、膿瘍が形成されたものと推察された。

飼育個体の体重は、飼育開始から春にかけて大幅に減少した。春以降、採食量増加に伴い、秋にかけて増加傾向を辿ったが、捕獲時の体重まで回復することはなく、秋以降、採食量の減少に伴い再び減少する傾向にあった。(図-5)

電気柵に対する反応及び忌避行動の観察では、飼育シカは電気柵に強い警戒を示し、3頭いずれも口唇で電気柵への接触が観察された。電気柵の高さを①30, 60, 90, 120cmとした場合、高い侵入防止効果が認められたが、接触に伴いシカが逃避行動を示す際に電気柵が破損(断線)する場合があります。断線部位からシカが飼槽側に侵入する様子が観察された。②45, 90cmでは設置当初は警戒により侵入する個体はいなかったが、くぐり抜けによ

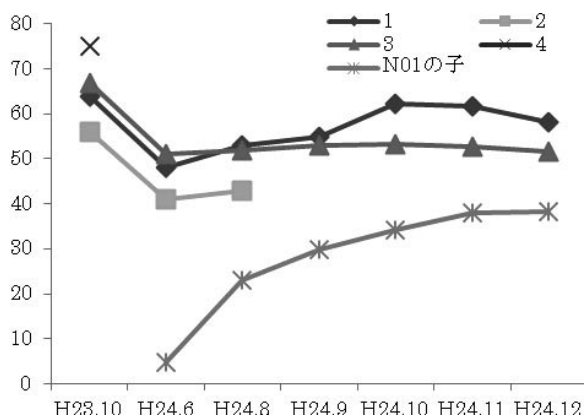


図5 飼育ジカの体重

り1頭が飼槽側に侵入した。物理柵では、飼槽への侵入は見られなかった。また、1頭は接触後の警戒が極めて強く、試験終了まで電気柵に接近することはなかった。

(4) 飼育個体の出荷過程の検証

飼育個体の出荷作業において、個体分離のためにシューターへの誘導とネット等を使用した保定を行う際にシカは激しく抵抗した。屠殺方法の比較では、打撃法では失神させるまでに複数回の打撃が必要であり、熟練を要するものと思われた。一方、電気屠殺装置は保定後に頭頸部を濡らすことで確実に失神させることが可能であった。(図-6)

1頭のシカを屠殺処理するのに要した時間は10分以内であったが、3頭全ての処置を終了し処理施設に搬送するのに要した時間は1時間58分であった。処理施設に搬入した個体の枝肉検査(図-7)を行ったところ、全個体の放血状態は良好であったが、屠殺後経過時間の長い個体では内ロース周囲の筋肉が一部変色し、ムレ肉の所見を呈していた。また、枝肉の検査では保定時の抵抗に起因すると思われる皮下出血斑が全個体において認められていたことから、前日に個体を分離しておく等、屠殺作業の直前にシカを刺激しない配慮が必要であるとともに、これら一連の作業を行う上では、シカの取り扱いに熟練した狩猟者の存在が必要であると思われた。また、今回搬入した個体はいずれも県のガイドラインで定める屠殺終了後2時間以内に搬入したが、氷冷を行って搬送しても消化管の発酵は継続しているため直腸温は36℃以下には低下しておらず、内臓周囲の筋肉に影響が生じていたことから、処理施設が近隣に存在しない地域でのシカ肉の有効活用に関しては、施設の存在を含めて解決すべき課題が多いものと思われる。

シカ肉の成分分析を行った結果、シカ肉は他の畜肉に比ベタンパク質や炭水化物含量が高く、脂肪含量は少ない肉質であった。また、今回測定は行っていないが、カルシウムや鉄分等の無機成分も多く含まれていることが報告されている。また、タンパク質に関しては、春から8月に向けて増加傾向を示し、11月まで維持されること



図6 電気屠殺装置を使用した飼育ジカの屠殺作業



図7 飼育ジカの枝肉および皮下出血斑(点線内)

が報告されている。飼育を行った個体の体重は、冬期に大幅に減少し、夏にかけて増加傾向を示し11月以降には低下傾向を示していたことから、捕獲した個体の一時飼育において個体の出荷は11月までに実施することが枝肉量および成分的にも好ましいと思われた。

3-2 囲いワナによる効率的な捕獲方法の検討

(1) 誘因物の効果確認

設置した誘因物の中で、シカの嗜好性が認められたのは鉾塩のみであった(7月上旬~8月)。その他誘因物に対しては、キツネ、タヌキ、アナグマ、カラス、キジバトが誘引される割合が高く、シカが発見する前にこれらの動物に採食されていることが多かった。また、他の場所で効果が見られているヘイクューブに関しては嗜好性が低く、他の動物に採食されずに残存していてもシカが採食する様子は観察されなかった。

(2) 囲い罠周囲におけるシカの出現状況および捕獲の実施

春から夏のワナ周囲へのシカの接近頻度は低く、7月と10月に各1頭(雄)の接近を確認したのみであった。

しかし、11月中旬にワナ周囲を残して牧草の刈取りを行うと、連日シカの接近が観察されるようになり、撮影される延べ頭数も次第に増加した。11月29日には雄1頭が西側ゲートから2回侵入する様子が確認された。(図-8, 9) 12月2日からワナ周囲の林との境とゲート付近

に米糠を設置し誘因効果を確認したところ、シカの接近頭数が増加した。12月8日の降雪後には、3頭の雄シカがワナ内部に侵入し、約2時間に渡り牧草、米糠を採食する様子が確認されたことから、降雪後にワナ内部に侵入する可能性が高いと考えられた。これ以降、降雪のタイミングにより捕獲を行うこととし、侵入の認められない北側ゲートを閉鎖し、誘因物の設置を西側ゲート付近のみに限定した。その後、ゲート前へのシカの接近は連日観察されたが、ワナ内部への侵入は認められなかった。このため、ゲート上部に設置されていたセンサーカメラの稼働を停止し、ゲートから離れた位置から侵入の様子を観察するように変更した。2013年1月に入ると再度シカの侵入が観察されるようになった。そこでゲートの間隔を次第に狭くし、シカが侵入する際にはゲートに触れるよう調整した。調整後もシカの侵入が観察されたことから、次の降雪後にゲートを作動させることとし、降雪のタイミングを伺った。

1月14日に大量の降雪(図-10)があり、ワナ周囲には約40cmの積雪があった。ワナ内部とゲート前の除雪を行い、16日からワナを作動させ第1回目の捕獲を試みたが、16日夜に何らかの要因によりゲートの扉が閉じ、シカはワナ内部に興味を示しているが侵入できない状況となり、捕獲には至らなかった。その後、ワナ周囲への接近頻度は減少し、約2週間シカの接近は認められなかった。これ以降、シカはワナ周囲に接近してもゲートに強い警戒心を抱き、ゲートを全開してもワナ内部に侵入することはなくなった。その後2月下旬までの間に、降雪のタイミングに合わせ2回の捕獲を試みたが捕獲には至らなかった。

1月14日の大量の積雪により圃場および周辺環境が大きく変化したことにより圃場に接近するシカの個体数が減少した可能性や、ゲートの誤作動によりシカがワナ内部に違和感を覚えたことにより捕獲に至らなかったものと推察されたが、当圃場において目視で確認されてい

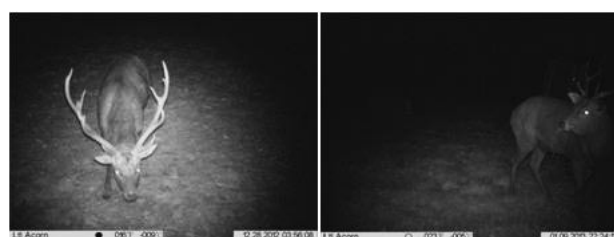


図9 誘引されたオスシカ(左:ゲート前 右:罠内部)



図10 罠周囲への積雪および除雪状況

るシカの群れは20頭程度の群れであり、罠に警戒を抱いた場合、再度接近するまでに時間を要し、捕獲を実施する機会が限られることや、ゲートの構造に更なる改良が必要であること等、囲い罠を用いた生体捕獲には多くの課題があるものと思われる。

4. 謝 辞

シカ肉の成分分析に御協力いただいた、山梨県工業技術センター食品酒類・バイオ科小嶋匡人研究員に感謝します。また、シカの行動観察について適切な助言をいただいた、信州大学農学部食料生産科学科動物行動管理学研究室竹田謙一先生に深く感謝します。

参考文献

- 1) 浅野早苗, 及川真理亜, 天野里香, 黒川勇三, 板橋久雄: 丹沢大山総合調査学術報告書 (2007)
- 2) 佐藤衆介, 近藤誠司, 田中智夫, 楠瀬良: 家畜行動図説, 朝倉出版 (2002)
- 3) 池田昭七: 宮城県農業短期大学紀要, 10, 1-51 (2000)
- 4) 岡本匡代: 獣医畜産新報, 65, 487-490 (2012)

成果発表状況

学会発表

- 1) 土橋宏司, 鈴木希伊, 神藤 学: 捕獲されたニホンシカの飼育状況下における馴化状況, 応用動物行動学会2013年度春季研究発表会, 広島, 2013

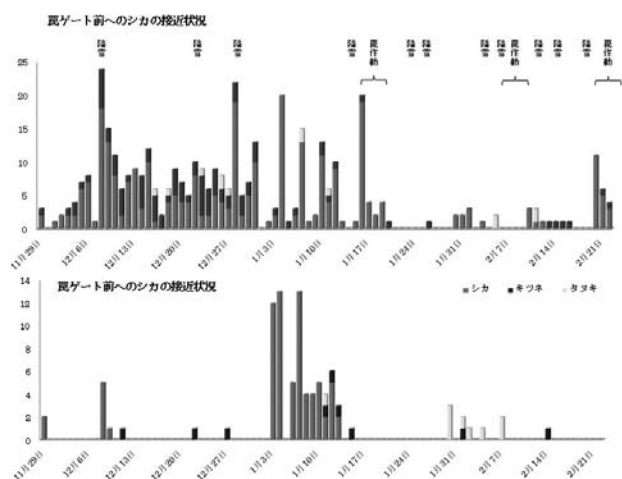


図8 囲い罠へのシカの接近状況

タカネマンテマおよびタカネビランジ種子の発芽特性の解析

亀井 忠文

(山梨県立笛吹高等学校)

要約 冷蔵保存中の南アルプス産のタカネマンテマとタカネビランジの種子の発芽特性を解析した。高い発芽率を得るための種子の低温処理期間は、タカネマンテマでは低温処理2か月以上、タカネビランジでは1か月以上必要だった。タカネマンテマは明発芽種子であることが判明した。タカネビランジは暗黒下でもよく発芽し、光は発芽の必須条件ではないことが分かった。冷蔵保存中のタカネマンテマ種子(2004~2010年採種)とタカネビランジ種子(2002~2010年採種)を無菌播種し発芽状況を確認した。タカネマンテマでは、冷蔵3年までは発芽率80%程度だった。しかし、冷蔵5年以上ではほぼ発芽せず、種子の寿命は3年程度であった。タカネビランジでは、冷蔵5年までは発芽率80%程度だった。しかし、冷蔵7年以上では著しく発芽率が低下し、9年目ではまったく発芽しなかった。種子の寿命は5年程度であった。タカネマンテマとタカネビランジは同属の植物であるが、種子の発芽条件、冷蔵保存性に違いが見出された。これは個々の植物の生い立ちと自生地の環境が関わりあると考えられた。

Analysis of germination characteristics of Takane-mantema (*Silene wahlenbergella*) and Takane-biranji (*S. akaisialpina*) from the Southern Japanese Alps

Tadafumi KAMEI

(Yamanashi Prefectural Fuefuki High School)

Abstract The germination characteristics of the seeds of Takane-mantema (*Silene wahlenbergella*) and Takane-biranji (*S. akaisialpina*) from the Southern Japanese Alps in cold storage preservation were analyzed. The low temperature treatment period of such seeds was necessary to obtain a high germination rate. For Takane-mantema, low temperature treatment for 2 months or over, and for Takane-biranji the treatment for 1 month or over was necessary. It became clear that Takane-mantema was a light germinating seed. Light was not the indispensable condition for the seed germination of Takane-biranji. Seeds of Takane-mantema (harvested from 2004 to 2010) and Takane-biranji (harvested from 2002 to 2010) in the cold storage preservation were sown in a aseptic condition and the germination rate was tested. The germination rate of Takane-mantema was about 80% in 3 years or less of cold storage. However, almost no seed germinated after 5 years or more of cold storage, concluding that the longevity of the seed was 3 years. The seed germination rate of Takane-biranji was about 80% in 5 years or less of cold storage. However, almost no seed germinated in 7 years or more and no seed germinated in 9 years or more of cold storage, concluding that the longevity of the seed was 5 years. Takane-mantema and Takane-biranji belong to the same genus, however, the difference was found out to the characteristics of the germination condition and cold storage preservation condition of seeds. It might be because of the environmental difference of the background and habitat of the species.

1. 緒言

タカネマンテマ (*Silene wahlenbergella*) とタカネビランジ (*S. akaisialpina*) は、南アルプス(赤石山脈)のみに自生するナデシコ科の絶滅危惧種である。著者らは種の保全を目的として、これら植物の増殖研究を行ってきた。そして、この2種の種子の休眠打破と実生苗獲得や屋外での栽培技術¹⁾、タカネビランジの受粉様式の解明およびタカネマンテマの組織培養による大量増殖系²⁾、DNAマーカーを利用したタカネビランジの個体識別法³⁾を確立した。また、栽培データからタカネマンテマの野生個体群での種子の発芽・定着の状況を推測した⁴⁾。

この研究では、これら2種の遺伝資源保存技術並びに選抜育種のための基礎的知見を得るため、過去数年間、毎年採種し冷蔵庫にて低温暗黒条件で冷蔵保存してきたタカネマンテマとタカネビランジの種子を無菌播種し、種子の発芽状況を調べた。具体的には発芽に及ぼす低温期間の長さや光条件を検討し種子の発芽特性や種子の寿命を解析した。なお、マンテマ属 (*Silene* L.) 植物の種子の発芽特性や寿命などに言及した報告は見あたらない。

なお、この実験および議論の一部は、山梨県立笛吹高等学校生徒の特別活動の一環で実施したものである⁵⁾。

2. 実験方法

実験に用いた種子は、環境省及び山梨県の許可を得て採取した種子、またはそれを元手に増殖し、山梨県立笛吹高等学校附属農場にて屋外栽培した個体から得たものである。2種の種子は毎年5～7月に採種され、本校植物バイオ実験室内の冷蔵庫で密封状態にて4℃低温暗黒条件下で保存してきた。

この実験では、冷蔵保存中の種子を2011年3月から7月にかけて無菌播種し、恒温培養器内で培養した。基本的な培養条件は、照度3,000lxで24時間人工照明、温度は24±2℃とした。基本培地はMurashigeとSkoogの処方⁶⁾を用いた。ただしショ糖を10g/lに改変した。

2-1 種子の休眠打破のための低温処理の効果

休眠打破に及ぼす低温処理の効果について調べた。2種とも2010年に採種した種子各区50個ずつ試験した。実験は2010年6月～2011年6月にかけて行った。著者ら¹⁾の方法で両種の種子を処理し、採種直後並びに冷蔵1・2・3・6および12か月経過した種子を一斉無菌播種し、低温処理がいつから休眠打破に有効になるのかを3日ごと発芽状況を調査し、1か月間追跡して確かめた。

2-2 光条件と種子発芽

タカネマンテマ・タカネビランジの種子の発芽に対する光の要求性を確認するため、恒温培養器内に照明区と遮光区を設け培養した。タカネマンテマ・タカネビランジとも2007年および2009年に採種した種子を各区50個ずつ試験した。1か月後に発芽状況を調査した。

2-3 冷蔵保存年数と種子発芽

種子の冷蔵保存年数と発芽に及ぼす影響を調べた。タカネマンテマは2004年から2010年までの7年間、タカネビランジは2002年から2010年までの9年間、毎年採種し冷蔵保存してきた種子を用いた(表1)。

調査は年ごとに種子100個を無菌播種し、1か月後の状況を「最終発芽個数」とした。「発芽」とは子葉が開いたものとした。

表1 種子の冷蔵保存期間

種	採種年(冷蔵保存期間)
タカネマンテマ <i>S. wahlenbergella</i>	2004～2010 (7～1年)
タカネビランジ <i>S. akaisialpina</i>	2002～2010 (9～1年)

²⁾ 毎年採種後、4℃冷暗所にて密封し冷蔵保存。

3. 結果

3-1 種子の休眠打破のための低温処理の効果

タカネマンテマの発芽は、2か月以上冷蔵保存した種

子で、播種直後より急速に発芽しはじめ、6か月間および12か月間保存では80%を越える発芽率だった(図1)。

タカネビランジでは、1か月間以上冷蔵保存した種子で、播種直後より急速に発芽しはじめ、6か月間および12か月間保存では80%を越えた(図2)。

実験の結果、タカネマンテマでは高い発芽率を得るには、低温期間2か月以上、タカネビランジでは低温期間1か月以上が必要であることが分かった。

3-2 光条件と種子発芽

実験結果は図3のとおりだった。タカネマンテマは暗黒下では、まったく発芽が観察されなかった。一方、タカネビランジは暗黒下でもよく発芽し照明区との差は見出されなかった。

以上の結果から、タカネマンテマは発芽するのに光が必要な明発芽種子であり、タカネビランジの種子発芽に

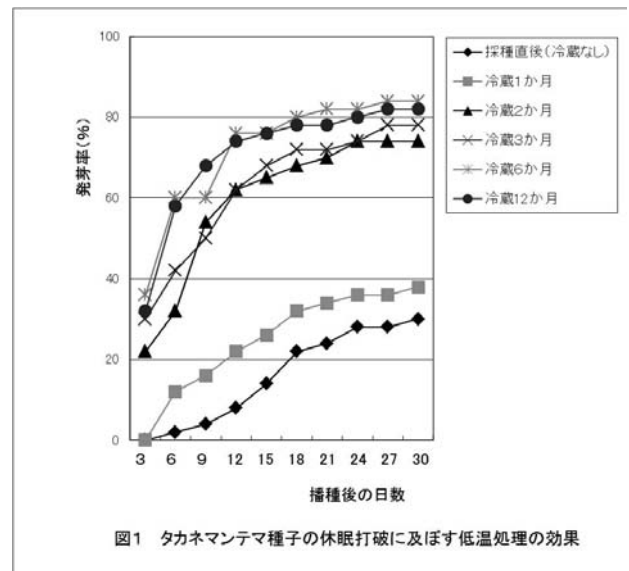


図1 タカネマンテマ種子の休眠打破に及ぼす低温処理の効果

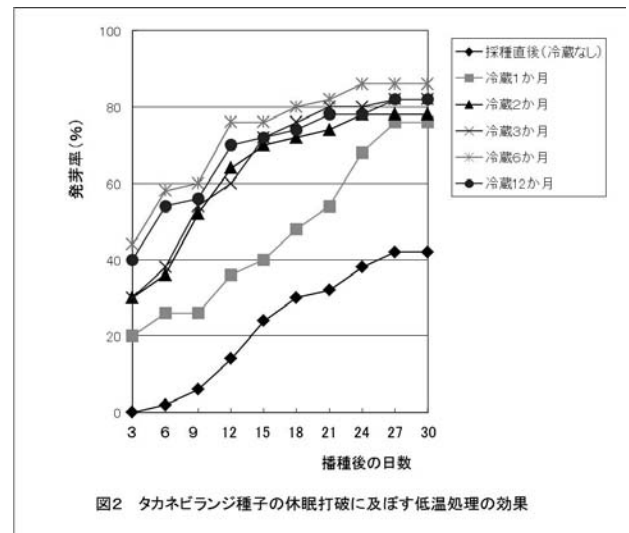
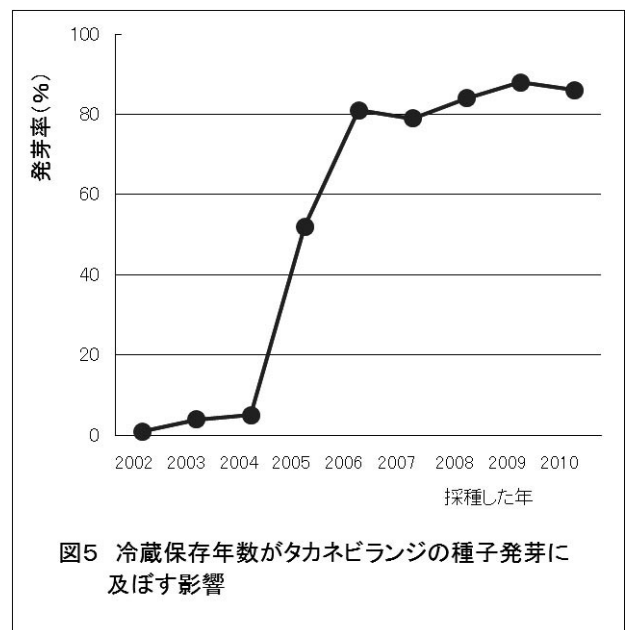
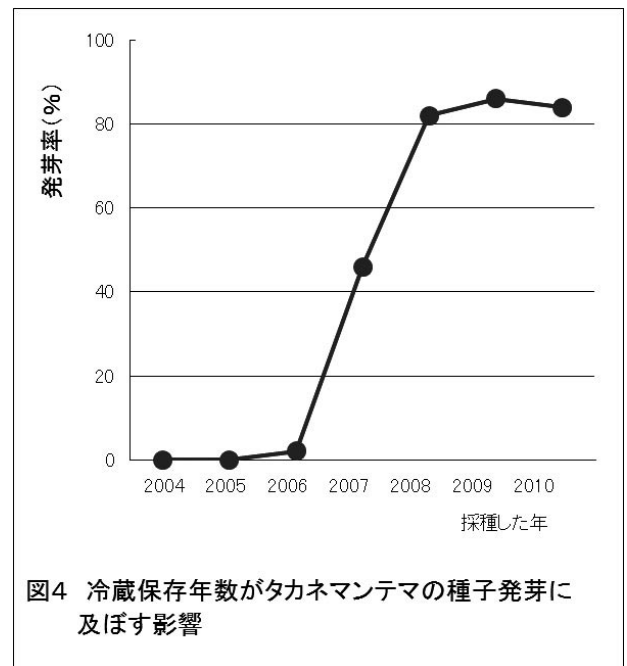
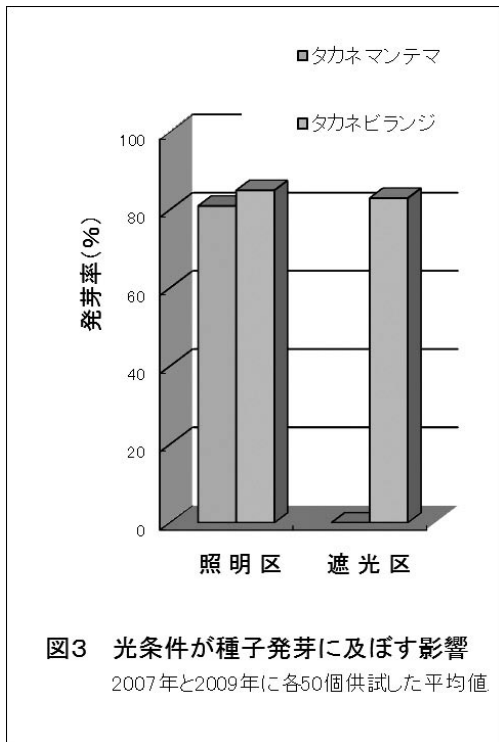


図2 タカネビランジ種子の休眠打破に及ぼす低温処理の効果



は光が不要であることが分かった。

3-3 冷蔵保存年数と種子発芽

冷蔵保存年数の異なる種子を無菌播種したところ、タカネマンテマでは図4、タカネピランジでは図5の結果を得た。タカネマンテマは2004年から2006年産の種子はまったく発芽せず、2008年から2010年産では発芽率が80%台に達した。

タカネピランジでは2002年産の種子はほとんど発芽せず2003年から2004年産の発芽率もきわめて低率だった。2006年から2010年産では発芽率がほぼ80%台に達した。この実験から、冷蔵保存した場合の種子の寿命は、タカネマンテマでは3年程度、タカネピランジでは5年程度であることが分かった。

4. 考 察

種子の休眠打破・発芽には2種ともに低温処理が必要だった。一定期間低温におかれると、春先の比較的低い温度条件で活発に発芽するという富士山高山帯のオンタデ (*Aconogonon weyrichii* var. *alpinum*) の報告⁷⁾がある。供試した2種にも自生地において冬季雪の下で低温に置かれて休眠解除され、翌年容易に発芽する仕組みがあると考えられた。ただしタカネマンテマは種皮が硬く物理的に休眠しており、発芽には低温の他、種皮が傷つくことで種子内部に水が浸入することが必要と考えられた。タカネマンテマの場合は、自生地で夏に散布された種子は砂礫との接触や昼夜の激しい温度差、周囲の水の凍結

・溶解、乾燥などで種皮が劣化・剥離し、やがて雪に覆われて低温を受け、翌年の発芽に備えるものと考えられた。

種子発芽と光条件については、厳しい自然環境の高山草原の植物には明発芽種子が多いという報告がある⁸⁾。タカネマンテマの種子は大きく平べったいため、北岳山頂付近の自生地の浅い表土にはあまり潜り込まず、翌年太陽光を受けて他種に先駆けて発芽するものと考えられた。

一方、タカネピランジの発芽には光は不要だった。タカネピランジは、もともと先祖種が低山帯の植物オオピランジ (*Silene keiskei*) であるといい⁹⁾、その発芽生理

を残しているものと考えられた。また、自生地の鳳凰三山では花崗岩を母材とする流動的な砂地に小さい種子が容易に潜り込むと考えられ、そのため砂に埋もれても発芽できる仕組みだと思われた。同属植物の間のこのような相違は、それぞれの植物の生い立ちの違いや自生地の環境に適応した生存戦略の現れだと推察された。

種子の発芽方法については、段階温度法などさまざまな方法が考えられており今後検討していきたい。

種子の冷蔵保存については、タカネマンテマよりタカネピランジのほうが保存性が良かった。しかし、種子の長期保存にはこれ以外の方法、例えば液体窒素による冷凍保存などを検討する必要があると思われた。

引用文献

- 1) 亀井忠文・吉田智彦：日本農業教育学会誌, 39 : 33-42. (2008)
- 2) 亀井忠文・吉田智彦・和田義春：日本農業教育学会誌, 40 : 93-104. (2009)
- 3) 亀井忠文・Ly Tong・吉田智彦・和田義春：日本農業教育学会誌, 40 : 67-81 (2009)
- 4) Kamei, T., Y. Takahashi and T. Yoshida : Japan. J. Agric. Educ., 42 : 49-53. (2011)
- 5) 山梨県立笛吹高等学校植物研究部：第36回全国高等学校総合文化祭自然科学部門発表論文集：122-123. (2012)
- 6) Murahige and Skoog : *Physiol. Plant.*, 15 : 473-497. (1962)
- 7) 増沢武弘：高山植物の生態学, 81-84. 東京大学出版会 (1997)
- 8) 増沢武弘：高山植物の生態学, 8-14. 東京大学出版会 (1997)
- 9) 植松春雄：植物研究雑誌, 26 : 33-40 (1951)

北岳に生育するミヤマハナシノブにおける 野生集団の遺伝構造と組織培養サンプルの遺伝子型

横川 昌史¹, 長池 卓男², 西川 浩己², 井鷲 裕司³

(¹大阪市立自然史博物館, ²山梨県森林総合研究所, ³京都大学農学研究科)

要約 山梨県北岳に生育するミヤマハナシノブの遺伝的多様性と遺伝構造の評価および組織培養による域外保全集団の遺伝子型の決定を行った。北岳に分布するミヤマハナシノブの5集団(大樺沢, 草すべり, 旧北岳山荘, 大仙丈沢, 大樺沢下流)および組織培養サンプルから遺伝解析用のサンプルを採取し, 近縁種であるハナシノブで開発された10遺伝子座のマイクロサテライトマーカーを用いて解析した。大仙丈沢では遺伝的多様性が低く, ほかの集団に比べて対立遺伝子の組成が異なっており, 遺伝的浮動の影響が示唆された。そのほかの4集団の間では遺伝的多様性や対立遺伝子の組成に大きな違いはなかった。組織培養サンプルの遺伝子型を決定したところ, 同じ培養系のサンプルはすべて同じ遺伝子型, 異なる培養系のサンプルは異なる遺伝子型であった。これらのことから組織培養に伴う体細胞突然変異は起こっておらず, 組織培養による域外保全集団において遺伝子型タグを使った管理が可能であると考えられる。

Genetic structure of wild populations and genotype of tissue culturing samples of *Polemonium caeruleum* ssp. *yezoense* var. *nipponicum* in Mount Kita

Masashi Yokogawa¹, Takuo Nagaike², Hiroki Nishikawa², Yuji Isagi³

(¹Osaka Museum of Natural History ²Yamanashi Forest Research Institute ³Graduate School of Agriculture, Kyoto University)

Abstract *Polemonium caeruleum* ssp. *yezoense* var. *nipponicum* (Polemoniaceae) is a threatened perennial herb that occurs in Mount Kita, central Japan. We analyzed five populations (Okanbasawa, Kusasuberi, Old-Kitadakesanso, Osenjosawa and lower Okanbasawa) and ex situ population by tissue culturing of this species using ten microsatellite markers to inform future conservation management strategies for the species. Level of genetic diversity in Osenjosawa was much lower than that in other four populations, and the allele composition in this population differ from other four populations. Level of genetic diversity and allele composition in other four populations were similar to each other. These results indicated that Osenjosawa population was affected by genetic drift. In respect of tissue culturing samples, the samples from same culturing line were same genotype and the samples from different culturing line were different genotypes. These results indicated that no somatic mutation associated with tissue culturing was occurred on analyzed microsatellite loci. Thus, genetic tagging using these loci was useful for management of this species in ex situ conservation with tissue culturing.

1. 緒言

ミヤマハナシノブ *Polemonium caeruleum* L. subsp. *yezoense* Hara var. *nipponicum* Koji Ito (ハナシノブ科) は山梨県および富山県に分布する日本固有の多年草であり, 明るく湿った山地に生育する¹⁾。文献上の記録によると, 山梨県の北岳・櫛形山・鳳凰山御室・北荒川岳, 富山県の白馬岳に分布している^{2, 3)}。しかし, 近年は北岳以外では生育が確認されておらず, 北岳の集団がほぼ唯一の自生地となっている。園芸用の採取や登山客の踏み付けによって個体数が減少しており, 環境庁レッドデータブックでは絶滅危惧Ⅱ類 (VU) に指定されている⁴⁾。また, 近年, シカによるミヤマハナシノブへの食害が確認されており⁵⁾, 個体群動態への影響が懸念されている。このようにミヤマハナシノブは北岳の植物の中で

も早急な保全策の構築が必要とされている種の一つである。

一般的に個体数の減少した集団では, 近親交配や遺伝的浮動の影響によって遺伝的多様性が失われやすい⁶⁾。また, 集団の縮小・分断化は集団間の遺伝子流動を低下させ, 近親交配や遺伝的浮動の効果を大きくする⁶⁾。遺伝的多様性の消失は, 環境変動に対する集団の適応可能性を低下させる可能性があるため, 絶滅危惧種の集団内の遺伝的多様性や近親交配の程度, 集団間の遺伝的分化や遺伝構造を詳細に把握したうえで保全策を立案・実施することが望ましい。野生生物の遺伝解析を行う際には, 共優性で高い多型性を持ち, 淘汰に対して中立なマイクロサテライトマーカーの使用が有効である⁷⁾。昨年度の報告によって, 近縁種であるハナシノブ *P. kiushianum* Kitam. (ハナシノブ科) で開発されたマイク

ロサテライトマーカーをミヤマハナシノブに転用が可能であることが確かめられており⁸⁾、これらのマーカーを用いての解析が有効であると考えられる。

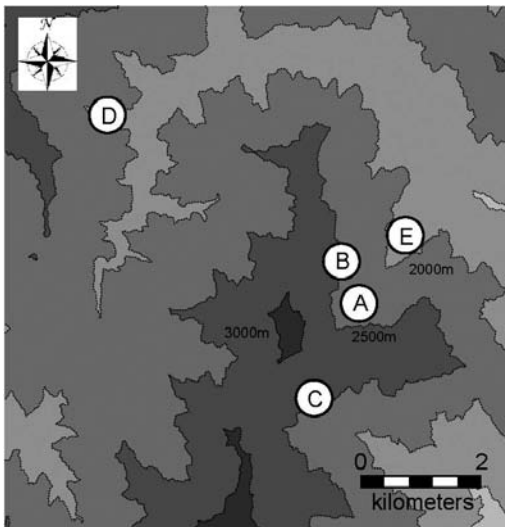
また、ミヤマハナシノブにおいて組織培養による域外保全が行われている⁹⁾。域外保全においてはマイクロサテライトマーカーなどを用いて遺伝的なタグ付をして管理をすることでサンプルの由来などを明確にして管理することができる⁷⁾。また、クローン成長する植物では体細胞突然変異により同一クローンでもマイクロサテライト遺伝子座の遺伝子型が異なる場合があることが知られており¹⁰⁾、組織培養による増殖でも体細胞突然変異が起こる可能性も捨てきれない。

本報告では、今年度新たに発見された大仙丈沢のミヤマハナシノブ集団のサンプルを加えて、野生集団の遺伝的多様性と遺伝構造の評価を行い、組織培養サンプルの遺伝子型を決定することで培養による体細胞突然変異がないかどうかを確かめた。

2. 方法

2-1 調査地とサンプリング

調査地は山梨県南アルプス市の北岳のミヤマハナシノブが生育する大樺沢、草すべり、旧北岳山荘、大樺沢下流、大仙丈沢の5カ所である(図1)。2012年10月に、大仙丈沢に生育するミヤマハナシノブ21個体から個体の生存に影響のないようにごく少量の葉を採取した。採取した葉は、多量のシリカゲルと一緒に保存し急速乾燥した。これらのサンプルに、2010年¹¹⁾ および2011年⁸⁾ に採取したサンプルを加えて、全部で5集団189個体のサンプルを用意した。



A : 大樺沢, B : 草すべり, C : 旧北岳山荘
D : 大仙丈沢, E : 大樺沢下流

図1 調査した集団の位置関係。それぞれの集団は樹林帯で分断されている。

2-2 組織培養サンプルの採取

長池ほか(2012)⁹⁾によって報告されている組織培養サンプルを遺伝子型解析に用いた。培養方法の違いによる影響を調べるため、添加するBAP(6-Benzylaminopurine)の濃度が異なる培養サンプルを用いた。0, 0.1, 1.0mg/lの三段階のBAP濃度で継代培養して増殖を行い、培養元サンプルとBAP濃度が異なる3つの培養系で増殖した培養サンプルから葉を採取した。採取した葉は、多量のシリカゲルと一緒に保存し急速乾燥した。

2-3 DNAの抽出およびマイクロサテライトマーカーによる遺伝子型の決定

改良CTAB法¹²⁾を用いて、ゲノムDNAの抽出を行った。近縁種であるハナシノブで開発されたマイクロサテライト遺伝子座のうち、ミヤマハナシノブに転用可能な遺伝子座10座⁸⁾(Pkiu006, Pkiu129, Pkiu135 Pkiu208, Pkiu227, Pkiu314¹³⁾; Pkiu965¹⁴⁾; Pkiu853, Pkiu965, Pkiu1052, Yokogawa et al. unpublished data)を用いて解析を行った。

Qiagen Multiplex PCR kit (Qiagen)を用いて、標準のプロトコルに従い、PCRによる各遺伝子座の増幅を行った(最終液量10 μ L中に5ngの抽出DNA, 2 \times Multiplex PCR Master Mix 5 μ L, 各プライマーペア 0.2 μ Mを含むように調整)。GeneAmp PCR System 2700 thermal cycler (Applied Biosystems)を用いてPCR反応を行い、初期熱変性95 $^{\circ}$ C 15分の後、熱変性94 $^{\circ}$ C 30秒、アニーリング1分30秒(アニーリング温度は遺伝子座ごとに最適温度⁸⁾を用いた)、伸長反応72 $^{\circ}$ C 1分を28サイクル行った後、最終伸長を60 $^{\circ}$ C 30分を行った。ABI PRISM 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems)およびGENESCANTM analysis software (Applied Biosystems)を用いてPCR産物の断片長の計測を行い、遺伝子型を決定した。

2-4 データ解析

集団内の遺伝的多様性を評価するために、遺伝子座あたりの対立遺伝子数(A: number of alleles per locus)、ヘテロ接合度の観察値(H_0 : observed heterozygosity)、ヘテロ接合度の期待値(H_E : expected heterozygosity)、近交係数(F_{IS} : Fixation index)を算出した。対立遺伝子数はサンプル数に依存して増加するため、サンプル数で補正した対立遺伝子の期待値である対立遺伝子多様度(AR: allelic richness)¹⁵⁾と固有対立遺伝子多様度(PAR: private allelic richness)¹⁶⁾を算出した。加えて、今回のデータセットの個体識別率(P_1 : Probability of identification)および片親が同じ場合の個体識別率(PI_{SIB} : Probability of identification of sibling)をGenAlEx¹⁷⁾を用いて算出した。また、集団遺伝構造を評価するた

め、STRUCTURE¹⁸⁾ (以後、STRUCTURE解析と呼ぶ)を用いた解析を行った。STRUCTURE ver. 2.3を用いて、admixture model, allele frequencies model¹⁹⁾, LOCPRIOR model²⁰⁾に基づき、 K 個のクラスターに各個体を配分した。10⁶のburn-inを行った後、MCMCによるシミュレーションを10⁶回行った。これらの設定を用いて $K=1\sim 5$ について20回の繰り返しで計算した。

3. 結果

10遺伝子座において全189個体のミヤマハナシノブの遺伝子型を決定したところ、3遺伝子座 (Pkiu208 ; Pkiu314 ; Pkiu965) では多型が確認されなかった。以後の解析は多型が確認された7遺伝子座を用いて行った。ミヤマハナシノブの集団レベルの遺伝的多様性の指数は遺伝子座あたりの平均対立遺伝子数 (A) が1.8~2.9, 平均対立遺伝子多様度 (AR) が1.61~2.15, 平均固有対立遺伝子多様度 (PAR) が0.01~0.13, ヘテロ接合度の観察値 (H_0) の平均値が0.29~0.42, ヘテロ接合

表1. マイクロサテライトマーカー7遺伝子座によるミヤマハナシノブの野生集団における遺伝的多様性

	N	A	AR	PAR	H_0	H_E	F_{IS}
大樺沢	73	2.9	2.15	0.13	0.33	0.38	0.14
草すべり	52	2.9	2.15	0.10	0.31	0.40	0.14
旧北岳山荘	35	2.7	2.04	0.10	0.29	0.36	-0.11
大仙丈沢	21	1.8	1.61	0.01	0.32	0.29	0.13
大樺沢下流	8	1.9	1.85	0.08	0.42	0.26	0.20

N , サンプル数; A , 対立遺伝子数; AR , 対立遺伝子多様度; PAR , 固有対立遺伝子数; H_0 , ヘテロ接合度の観察値; H_E , ヘテロ接合度の期待値; F_{IS} , 近交係数

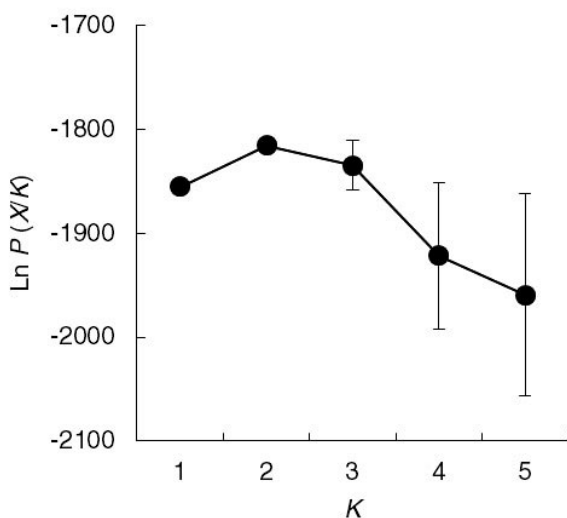


図2. STRUCTURE解析における $K=1$ から $K=5$ の場合の $\text{Ln } P(X/K)$ 。エラーバーは20回のランから得られた $\text{Ln } P(X/K)$ の標準偏差を表す。

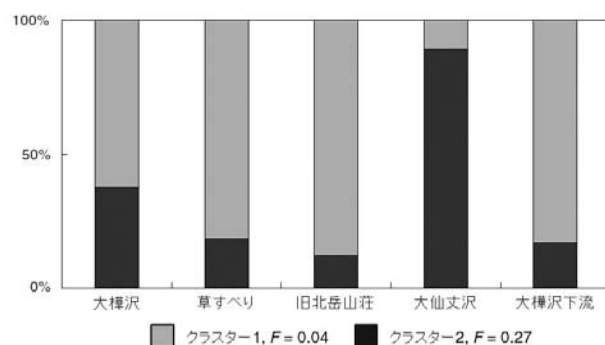


図3. STRUCTUREによって推定された2つのクラスター (遺伝子プール) への各集団の配分確率。Fは共通祖先集団と各クラスターとの遺伝的距離を示し、各クラスターが受けた遺伝的浮動の大きさの指標となる。

度の期待値 (H_E) の平均値が0.29~0.40, 平均近交係数 (F_{IS}) は-0.11~0.20であった (表1)。解析に用いた7遺伝子座トータルの個体識別率 (PI) は0.002, 片親が同じ場合の個体識別率 (PI_{SIB}) は0.054であった。

集団遺伝構造の解析であるSTRUCTURE解析では任意交配集団を2つと仮定した場合にもっとも対数尤度 ($\text{Ln } P(X/K)$) が大きく、シミュレーションごとの対数尤度のばらつきが小さかった (図2)。大樺沢, 草すべり, 旧北岳山荘, 大樺沢下流ではクラスター1が優占し, 大仙丈沢ではクラスター2が優占していた (図3)。遺伝的浮動の影響の指標であるFはクラスター1が0.04, クラスター2が0.27であった。組織培養サンプルの遺伝子型については、同じ培養系のサンプルはすべて同じ遺伝子型, 異なる培養系のサンプルは異なる遺伝子型であった (表2)。また, BAP濃度の違いによる遺伝子型の違いは確認されなかった。

4. 考察

4-1 野生集団の遺伝的多様性および遺伝構造

本研究で解析した5集団と比較するとサンプル数の違いを補正した指標である対立遺伝子多様度 (AR) や固有対立遺伝子多様度 (PAR) は, 大仙丈沢で低い傾向にあった (表1)。加えて, STRUCTURE解析の結果から, 大仙丈沢だけ他の集団と遺伝的組成が異なり, 優占するクラスターのFの値が大きいことから (図3) 強い遺伝的浮動の影響が示唆された。大仙丈沢は他の集団と比べて, 地理的に離れた場所に位置しており大きな谷を挟んで位置している (図1)。大仙丈沢全域のミヤマハナシノブの調査は行われていないため集団サイズや生育環境の詳細はまだわからないが, 遺伝的多様性と遺伝構造のデータから判断すると, 大仙丈沢集団はボトルネックなどの有効集団サイズが小さくなるイベントを経験した可能性が考えられる。

表2. 組織培養サンプルの遺伝子型

サンプルID	サンプルの由来	BAP添加量 mg/l	Pkiu006		Pkiu129		Pkiu227		Pkiu853		Pkiu961		Pkiu1052		Pkiu135	
培養系1																
TC_C32	増殖元	-	101	103	98	100	196	196	302	302	86	88	130	130	129	129
TC_C32-1a	継代培養	0	101	103	98	100	196	196	302	302	86	88	130	130	129	129
TC_C32-1b	継代培養	0	101	103	98	100	196	196	302	302	86	88	130	130	129	129
TC_C32-1c	継代培養	0	101	103	98	100	196	196	302	302	86	88	130	130	129	129
TC_C32-2a	継代培養	0.1	101	103	98	100	196	196	302	302	86	88	130	130	129	129
TC_C32-2b	継代培養	0.1	101	103	98	100	196	196	302	302	86	88	130	130	129	129
TC_C32-2c	継代培養	0.1	101	103	98	100	196	196	302	302	86	88	130	130	129	129
TC_C32-3a	継代培養	1	101	103	98	100	196	196	302	302	86	88	130	130	129	129
TC_C32-3b	継代培養	1	101	103	98	100	196	196	302	302	86	88	130	130	129	129
TC_C32-3c	継代培養	1	101	103	98	100	196	196	302	302	86	88	130	130	129	129
培養系2																
TC_C33	増殖元	-	99	105	98	100	196	196	302	302	88	88	130	130	129	131
TC_C33-1a	継代培養	0	99	105	98	100	196	196	302	302	88	88	130	130	129	131
TC_C33-1b	継代培養	0	99	105	98	100	196	196	302	302	88	88	130	130	129	131
TC_C33-1c	継代培養	0	99	105	98	100	196	196	302	302	88	88	130	130	129	131
TC_C33-2a	継代培養	0.1	99	105	98	100	196	196	302	302	88	88	130	130	129	131
TC_C33-2b	継代培養	0.1	99	105	98	100	196	196	302	302	88	88	130	130	129	131
TC_C33-2c	継代培養	0.1	99	105	98	100	196	196	302	302	88	88	130	130	129	131
TC_C33-3a	継代培養	1	99	105	98	100	196	196	302	302	88	88	130	130	129	131
TC_C33-3b	継代培養	1	99	105	98	100	196	196	302	302	88	88	130	130	129	131
TC_C33-3c	継代培養	1	99	105	98	100	196	196	302	302	88	88	130	130	129	131
培養系3																
TC_C34	増殖元	-	103	105	98	98	196	196	302	302	88	88	130	130	129	129
TC_C34-1a	継代培養	0	103	105	98	98	196	196	302	302	88	88	130	130	129	129
TC_C34-1b	継代培養	0	103	105	98	98	196	196	302	302	88	88	130	130	129	129
TC_C34-1c	継代培養	0	103	105	98	98	196	196	302	302	88	88	130	130	129	129
TC_C34-2a	継代培養	0.1	103	105	98	98	196	196	302	302	88	88	130	130	129	129
TC_C34-2b	継代培養	0.1	103	105	98	98	196	196	302	302	88	88	130	130	129	129
TC_C34-2c	継代培養	0.1	103	105	98	98	196	196	302	302	88	88	130	130	129	129
TC_C34-3a	継代培養	1	103	105	98	98	196	196	302	302	88	88	130	130	129	129
TC_C34-3b	継代培養	1	103	105	98	98	196	196	302	302	88	88	130	130	129	129
TC_C34-3c	継代培養	1	103	105	98	98	196	196	302	302	88	88	130	130	129	129

一方で、大樺沢、草すべり、旧北岳山荘、大樺沢下流は遺伝的多様性や遺伝構造について今回解析した遺伝子座については明瞭な違いはなかった。大樺沢、草すべり、旧北岳山荘は明るい高茎草本群落の中にミヤマハナシノブが多数群生しているのに対して、大樺沢下流集団は樹林帯の中に位置し、ミヤマハナシノブの個体数は少なく生育状況が良好だとは言いがたい。生育環境が樹林で集団サイズが小さい大樺沢下流が他の集団サイズが大きい集団と遺伝的多様性が同程度である理由は現時点ではよくわからないが、過去の個体群動態が関係しているかもしれない。また、これらの集団の対立遺伝子の組成は似ていたものの、現在は樹林帯で隔離されている。今回はミヤマハナシノブの主な自生地である高茎草本群落の登山道沿いでサンプリングを行ったが、調査した場所にまだ知られていない自生地があれば、それらが飛び石の役割を果たして遺伝的分化を妨げている可能性が考えられる。

4-2 組織培養サンプルの遺伝子型

今回解析した組織培養サンプルの遺伝子型は培養系ごとすべて同じであった(表2)。クローナル植物では体細胞突然変異によって同じクローンであっても遺伝子型が異なる場合があることが知られている¹⁰⁾が、今回の培養過程では体細胞突然変異は確認されず、また培養方法によって体細胞突然変異が起こるといこともなかった。当面は今回使用した遺伝子座を用いて遺伝的にタグ付された組織培養サンプルの個体識別を行うことが可能である。しかし、長期間の培養過程で体細胞突然変異が起こる可能性は残されており、今後も遺伝子型のモニタリングが必要だと思われる。また、個体識別率(PI)は0.002、片親が同じ場合の個体識別率(PI_{SIB})は0.054であった。全く由来の異なる株については偶然同じ遺伝子型になる確率は1%以下であるが、片親が同じ場合は5%程度の確率で偶然同じ遺伝子型が検出されてしまう。組織培養による域外保全では種子を採取して行うため、種子親が同じ株を多数管理することが想定され、大規模に培養を行う場合は個体識別ができないケースが出てくる可能性がある。本格的に遺伝的なタグ付を行うのであれば利用可能な遺伝子座を増やして片親が同じ場合の個体識別の精度を上げる必要があると考えられる。

4-3 保全上の留意点と今後の展望

今回の解析の結果では、大仙丈沢のみ遺伝的組成が異なり遺伝的浮動の影響が示唆された。また、大仙丈沢以外の集団は互いに遺伝的組成が似ており、明瞭な遺伝的な分化は認められなかった。これらの結果は大仙丈沢以外のミヤマハナシノブの集団は大きな一つの管理単位であることを示唆しているのかもしれない。しかしながら、今回使用したマイクロサテライトマーカーはハナシ

ノブで開発されたものであり、一般に他種のマーカーを転用した場合は多型性が低くなることが知られている^{21) 22)}。より高解像度の解析を行うならば、ミヤマハナシノブのマイクロサテライトマーカーを開発する必要がある。また、中立マーカーでは局所適応を検出できないが、局所適応を考慮せずに個体を移動させると、異系交配弱勢など集団の存続に悪影響が出る可能性がある。これらのことから安易に個体の移動などは行わず、現状を維持していくことが重要だと考えられる。また、組織培養の域外保全個体についてマイクロサテライトマーカーを用いて遺伝的タグ付ができることが示された。域外保全個体を自生地に植え戻す場合は遺伝的多様性や由来する集団に配慮する必要がある⁶⁾、これらの遺伝子型タグは域外保全集団の管理に有用である。現状では、ミヤマハナシノブの自生地への植え戻しを行う必要はないと考えられるが、将来に渡って再導入ソースとして域外保全集団を位置づけるためには、今回使用した遺伝マーカーを用いた管理が必須だと考えられる。

参考文献

- 1) Yamazaki T : Flora of Japan Vol. III a, Kodansha 242-243. (1993)
- 2) 植松春雄 : 南アルプスの植物, 井上書店 (1967)
- 3) 植松春雄 : 山梨の植物誌, 井上書店 (1981)
- 4) 環境庁 : 改訂・日本の絶滅のおそれのある野生生物8 [植物II (維管束植物)], 自然環境研究センター (2000)
- 5) 長池卓男, 西川浩己, 飯島勇人, 北原正彦, 杉田幹夫, 中野隆志, 伊藤和彦, 亀井忠文, 横川昌史, 井鷲裕司, 中村健一, 田村哲生, 竹田謙一 : 山梨県総合理工学研究機構研究報告書, 6, 61-64. (2011)
- 6) Flankham R, Ballou JD, Briscoe DA : Introduction to Conservation Genetics, Cambridge University Press (2010)
- 7) Schwartz MK, Luikart G, Waples RS : Trends in Ecology and Evolution, 22, 1, 25-33. (2007)
- 8) 横川昌史, 長池卓男, 西川浩己, 井鷲裕司 : 山梨県総合理工学研究機構研究報告書, 7, 59-62. (2012)
- 9) 長池卓男, 西川浩己, 飯島勇人, 北原正彦, 杉田幹夫, 中野隆志, 伊藤和彦, 亀井忠文, 横川昌史, 井鷲裕司, 中村健一, 田村哲生, 竹田謙一 : 山梨県総合理工学研究機構研究報告書, 7, 59-62. (2012)
- 10) Gitzendanner MA, Weekley CW, Germain-Aubrey CC, Soltis DE, Soltis PS : Conservation Genetics 13, 1, 223-234. (2012)
- 11) 横川昌史, 長池卓男, 西川浩己, 井鷲裕司 : 山梨県総合理工学研究機構研究報告書, 6, 69-75. (2011)
- 12) Milligan B : Molecular genetic analysis of

- populations : apractical approach, IRL Press, 59-88. (1992)
- 13) Yokogawa M, Kaneko S, Isagi Y : Conservation Genetics, 10, 5, 1445-1447. (2009)
 - 14) Yokogawa M, Kaneko S, Takahashi Y, Isagi Y : Biological Conservation 157 : 401-408. (2013)
 - 15) El Mousadik A, Petit RJ : TAG Theoretical and Applied Genetics, 92, 7, 832-839. (1996)
 - 16) Kalinowski ST : Conservation Genetics, 5, 539-543. (2004)
 - 17) Peakall R, Smouse PE : Molecular Ecology Notes, 6, 1, 288-295. (2006)
 - 18) Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P : Genetics, 155, 2, 945-959. (2000)
 - 19) Falush D, Stephens M, Pritchard JK : Genetics, 164, 4, 1567-1587. (2003)
 - 20) Hubisz M, Falush D, Stephens M, Pritchard JK : Molecular Ecology Resources, 9, 5, 1322-1332. (2009)
 - 21) Wright TF, Johns PM, Walters JR, Lerner AP, Swallow JG Wilkinson GS : Genetic Research, 84, 27-40. (2004)
 - 22) Pashley CH, Ellis JR, Mccauley DE, Burke JM : Journal of Heredity, 97, 4, 381-388. (2006)

成果発表状況

学会発表

なし

学会誌等掲載

なし

装身具向け貴金属合金の開発に関する研究

Research on Development of Precious Metal Alloys for Jewelry

装身具向け貴金属合金の開発に関する研究

宮川 和博¹・有泉 直子¹・望月 陽介¹・鈴木 文晃¹・阿部 治²・布施 嘉裕³・古屋 雅章²
(山梨県工業技術センター¹, 山梨県富士工業技術センター²,
山梨県富士工業技術センター (現 山梨県工業技術センター)³)

要約 貴金属装身具に適した特性を持ったパラジウム合金の開発を目的として、パラジウム主体の2元合金を作製し、機械的性質等の評価を行った。そのデータを基に、パラジウムの含有量を95%とし、残りの5%に2種類の元素を添加した3元合金を製作し、評価を行った。その結果、従来のパラジウム合金に比べて casting 性も良く、高硬度かつ色相も遜色ない配合のパラジウム合金を開発することができた。

Research on Development of Precious Metal Alloys for Jewelry

Kazuhiro MIYAGAWA¹, Naoko ARIIZUMI¹, Yosuke MOCHIZUKI¹, Fumiaki SUZUKI¹,
Osamu ABE², Yoshihiro FUSE³, Masaaki FURUYA²
(Yamanashi Industrial Technology Center¹, Fuji Industrial Technology Center²)

Abstract The purpose of the development of palladium alloys with properties suitable for jewelry noble metal to produce a binary alloy of palladium principal, we have evaluated the mechanical properties, such as. Ternary alloys manufactured on the basis of the data, and the palladium content of 95% was added to two different elements of the remaining 5%, we have evaluated. As a result, we were able may castability compared to conventional palladium alloy, palladium alloy to develop a formulation not favorably high hardness and color.

1. 緒言

本県を代表する地場産業である研磨宝飾産業は、業界の衰退が著しく業界活性化のために商品開発など新たな取り組みが期待されている。

装飾用の貴金属材料は、銀系合金、金系合金、白金系合金に大別できるが、使用するユーザ側では、希少価値を含む価格面、その材料のもつ色彩的な魅力、および機械的な機能・特性、変色などの耐食性、アレルギー性を考慮した商品を選定している。しかし、最近の経済情勢を反映して、価格的に安価であって、品質の良いものを求める傾向が顕著になっている。こうした消費者の意向を考慮して、各企業では貴金属の成分量を少なくして低価格な製品開発を目指す傾向がある。

価格を安くするためには、貴金属成分の配合量を減らすことになり、それにより本来貴金属の持つ耐食性や機能・特性が損なわれ、一定限度を超えた貴金属合金は購入時に問題はないが、長く使用することにより変色などの問題が発生する恐れがあり、ユーザの信頼性低下を招く可能性がある。

このため、5年ほど前から、中国、欧州、北米などではパラジウムジュエリーが流通するようになりパラジウムが宝飾用貴金属素材として定着しつつある。

一方、日本では宝飾材料としては、プラチナやホワイ

トゴールドの割金としての利用がほとんどであり、パラジウムが主体となったジュエリーはほとんど製造されていない。

パラジウムは、自動車用触媒や歯科用材料などに多く使用されている安全性及び耐食性に優れた白金系の貴金属であり、価格的にもプラチナの1/2、金の1/2以下であり、コスト的にも優位な材料である。

しかし、装身具用としてのパラジウム合金は、開発もほとんど行われておらず、現在流通している材料も硬さや色相といった装身具に必要とされる特性が低いため、今後より高品質な材料を開発できる可能性が高い。

そこで本研究では、貴金属装身具に適した特性を持ったパラジウム合金の開発を目的として、様々な元素を添加したパラジウム主体の2元合金および3元合金を試作し、その評価を行った。

2. 2元合金の試作実験

2-1 添加元素の検討

パラジウム合金については、ISO9202およびJIS H6309において99.9%、95%、50%の3種類が規定されている。

そのため装身具向けとしては、95%パラジウム合金を中心に検討を行った。添加する元素については、機械的性質の向上、有害でない、流動性の向上といった点を

考慮して、Ga, Ge, Hf, Mo, Nb, Re, Ru, Ta, Ti, W, Y, Zrの12種類の元素を選択した。なお、Au, Ag, Pt, Cuについては既存のデータがあり5%までの添加では、性質の向上が期待できないため添加元素には含めなかった。

2-2 実験方法

12種類の元素について、それぞれ1~5%を添加したパラジウム合金をアーク溶解炉（日新技研(株) NEV-AD03）にて作製し、硬さおよび引張強度、伸びの測定を行った。その後、測定データから元素毎に最も良好な特性の配合率を選択し、真空加圧鋳造機（吉田キャスト(株) YGP-10S-YA）にて鋳造実験を行った。鋳造は表1に示す条件で行った。鋳造時の湯流れ性、鋳造品の鋳造欠陥（鋳造巣、割れ）の有無や鋳肌の状態といった鋳造性の評価を目視および顕微鏡観察にて行い、微小硬度計で鋳造品の硬さを測定した。また、磨きや石留めといった装身具には必要な作業について、その作業性についても評価を行った。

表1 鋳造条件

使用埋没材	ALL89
混水比	40%(埋没材 1kg : 4%水溶液 400ml)
乾燥	6h
焼成	室温→150℃→250℃→950℃
鋳造機	真空加圧鋳造機 吉田キャスト(株) YGP-10S-YA
鋳型温度	950℃
	サンプル室を、10Pa まで真空引きし、その後アルゴン置換し鋳造 鋳造終了後、10分放置し、その後水冷

2-3 実験結果

2元合金の硬さ測定結果を図1に、引張試験結果を図2に示す。GeおよびYでは、2%の添加で硬さはHV150近くまで上がり、引張強さも向上することが分かった。その他の元素では、5%の添加でもHV100前後と向上しているものの目標とする数値までは届いていない。

これらの測定結果を基に、Yは1%、Geは2%、Tiは4%、その他の元素は5%添加した合金を選択し、鋳造実験を行った。鋳造性や硬さ、磨きなどの評価結果を表2に示す。

Zrに関しては、溶湯の粘性が高く、材料全てがろつばに残留してしまい鋳造が不可能であった。Hfにおいても一部ろつばへ残留してしまったことから良好な鋳造が行えなかった。他の元素については、湯流れ性の問題はなかったが、材料によっては鋳肌荒れや割れやひけな

どの鋳造欠陥が発生したものもあった。

表2に示す鋳造性および石留め・磨きの3段階評価結果および鋳造品の硬さ測定結果を総合的に判断し、使用できる可能性が高い元素としてGa, Ge, Nb, Ru, Ta, W, Yの7種類を選択した。しかし、これらの元素についても2元合金では、全ての項目で良好な結果が出ていないため、3元合金を検討することとした。

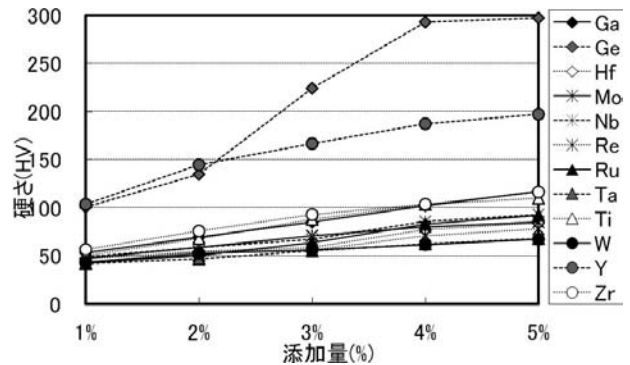
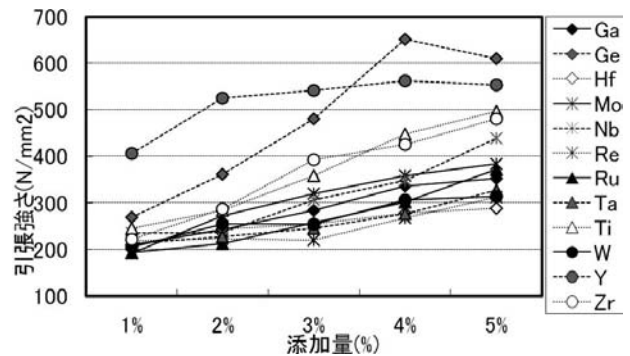
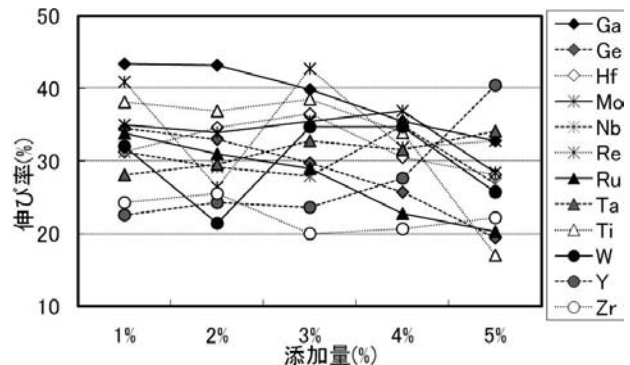


図1 硬さ測定結果



(a) 引張強さ



(b) 伸び率

図2 引張試験結果

表2 鑄造品評価結果

添加元素 割合	鑄造性			試験片 硬さ	石留め 磨き
	鑄肌	湯流れ	欠陥		
Ga5%	◎	○	◎	118	○
Ge2%	◎	○	◎	139	○
Hf5%	○	×	△	101	—
Mo5%	△	○	△	99.4	○
Nb5%	○	○	○	169	△
Re5%	△	○	△	90	○
Ru5%	◎	○	◎	98.5	○
Ta5%	○	○	○	187	△
Ti4%	△	○	△	209	△
W5%	△	○	△	90	○
Y1%	△	○	○	134	○
Zr5%	—	×	—	—	—

3. 3元合金の試作実験

3-1 実験方法

2元合金の評価データから選択した元素の中から2種類を選択し添加量を決めパラジウム95%合金を作製し、サンプルの鑄造を行った。鑄造は、2元合金のときと同様に表1に示す条件で行い、サンプルは、必要な評価項目に合わせ、図3に示す平板（鑄造欠陥、色相測定）、指輪（鑄造欠陥）、硬さ測定試験片（硬さ、鑄造欠陥）の3種類の形状を鑄造した。

表面の鑄造欠陥については目視（図4）にて、内部の鑄造欠陥についてはマイクロフォーカスX線透視装置（株島津製作所SMX-160GT）、超音波映像装置（インサイト株 Insight-300）にて非破壊での観察を行った。

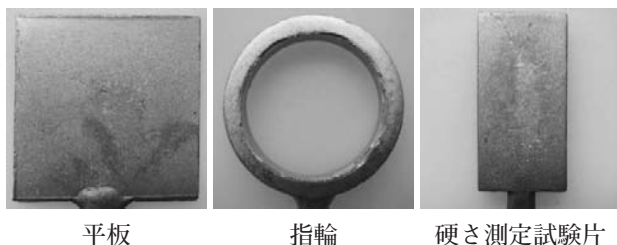


図3 鑄造サンプルの形状



図4 鑄造欠陥が発生したサンプル

また、微小硬度計で硬さを、紫外可視分光光度計（日本分光株 V-570）で色相の測定を行った。これら鑄造および評価を、良好な結果が得られるまで添加元素の組み合わせ・添加量を換え繰り返し行った。

3-2 実験結果

試作した3元合金の評価結果を、表3に示す。なお、一部の配合については、湯流れ性を向上させるため選択した元素の一つをベースとして、他の元素を添加した。No.16～No.24の合金については、鑄肌もきれいで、硬さについても高い数値を示し良好であったが、ほとんどのサンプルで割れが発生した。No.25～No.28の合金については、鑄造品に硬さのばらつきがあり、割れが多く発生した。

鑄造した合金のマイクロフォーカスX線透視装置による観察画像例を図5に示す。内部に鑄造欠陥（鑄造巣、割れなど）がある場合には、X線の透過量が異なる箇所が観察されるが、全ての3元合金については図5に示すように、一様な画像が観察され、顕著な内部欠陥がないことがわかった。また、鑄造した合金の超音波映像装置による観察画像の例を図6に示す。こちらではさまざまな観察画像が得られた。これは鑄造欠陥（鑄造巣、割れなど）に加えて、鑄造時の湯流れ性や鑄肌の状態の違いなどの要因により超音波波形の違いが現れていると考えられる。鑄造性の評価を目視および顕微鏡観察で行う際の参考データとして活用した。

この結果を基に、鑄造性および硬さの良好だった8種類の配合（No.5, 10, 11, 12, 13, 32, 33, 36）について、再度サンプルを鑄造し、硬さ、色相、鑄造性の評価を行った。その結果を表4に示す。現在流通しているパラジウム合金（Pd95-Ru5）を比較対象として、同様の評価を行った。色相測定についてはL*a*b*表色系にてa*, b*については大きな変化は見られなかったため、明るさを示すL*を評価対象とした。

この結果から、No.12やNo.32合金で、硬さ、色相、鑄造性とも良好な結果が得られた。そこで、これらの配合で、実際の製品に近い図7に示すサンプルを鑄造し磨きを行ったところ、磨きの作業性、製品の仕上がりについても良好であり、新たな材料として利用可能であることが確認できた。

4. 鑄造機の違いによる鑄造品の評価

4-1 実験方法

プラチナやパラジウム、一部のホワイトゴールドなど高融点の貴金属材料の鑄造方法には、本研究で行った加圧鑄造法の他に、遠心力を利用した遠心鑄造法があり、現場ではどちらかの鑄造方法で製造を行っている。そこで、同一のパラジウム合金を用いて、鑄造機の違いによ

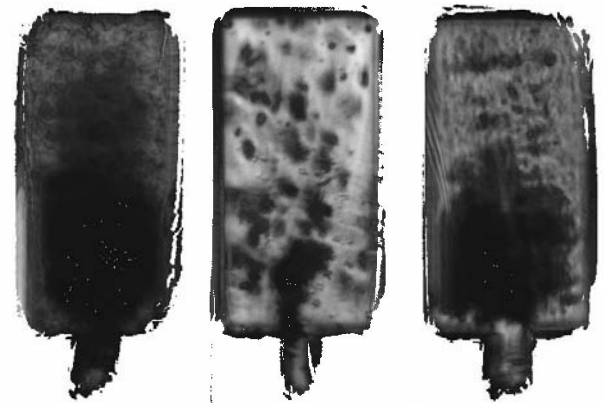
表3 試作した配合の評価結果

配合	鋳造性	硬さ(HV)
No.1	×	124
No.2	×	135
No.3	×	129
No.4	×	117
No.5	○	119
No.6	×	111
No.7	○	139
No.8	△	166
No.9	△	162
No.10	○	115
No.11	○	117
No.12	○	152
No.13	△	149
No.14	△	161
No.15	○	130
No.16	×	168
No.17	×	172
No.18	×	172
No.19	×	117
No.20	×	127
No.21	×	162
No.22	×	155
No.23	×	182
No.24	△	153
No.25	△	124
No.26	△	148
No.27	△	90.4
No.28	△	143
No.29	△	152
No.30	△	138
No.31	×	133
No.32	○	122
No.33	○	106
No.34	△	157
No.35	△	132
No.36	△	165
No.37	△	134

※鋳造性： ○:亀裂・割れ無
 △:亀裂・割れわずか
 ×:亀裂・割れ有



図5 鋳造したパラジウム合金のマイクロフォーカスX線透視装置による観察画像例 (配合No.12)

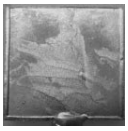

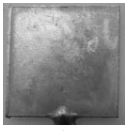



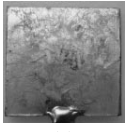

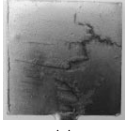



配合No.12 配合No.13 配合No.32

図6 鋳造したパラジウム合金の超音波映像装置による観察画像例

表4 3元合金評価結果 (最終)

配合	硬さ(HV)	明るさ(L*)	鋳造性		総合評価
			平板	指輪	
No.5	119 △	84.00 ○	 ○	 ○	○
No.10	115 △	85.27 ○	 ○	 ○	○
No.11	117 △	84.83 ○	 ○	 ○	○
No.12	152 ○	83.87 ○	 ○	 ○	◎

No.13	149 ○	84.18 ○	 ×	 ×	△
No.32	122 ○	85.54 ○	 ○	 ○	◎
No.33	106 △	84.02 ○	 ×	 ○	○
No.36	165 ○	85.35 ○	 ×	 ×	△
Pd95 Ru5 (従来品)	98.5 ×	82.91 ×	 ×	 ×	×

※硬さ：○：120～ △：100～120 ×：～100
 明るさ：○：83以上 ×：83以下
 铸造性：○：亀裂・割れ無 ×：亀裂・割れ有
 総合評価：◎：○3個 ○：○2個△1個or○1個△2個
 △：○2個×1個 ×：×2以上

表5 铸造条件

	加圧铸造法	遠心铸造法
使用埋没材	ALL89	
混水比	40%(埋没材 1kg : 4% 水溶液 400ml)	30%(埋没材 1kg : 5% 水溶液 300ml)
乾燥	6h	
焼成	室温→150℃→250℃→950℃	
铸造機	吉田キャスト (株) YGP-10S-YA	安井インターテック VCC
铸型温度	950℃	
	サンプル室を、10Pa まで真空引きし、そ の後アルゴン置換し 铸造 铸造終了後、10分放 置し、その後水冷	サンプル室を、真空 引きし、その後アル ゴン置換し铸造 回転数 400RPM 铸造終了後、10分放 置し、その後水冷



(a) 加圧铸造法

(b) 遠心铸造法

図8 ワックスツリー



図7 リングサンプル

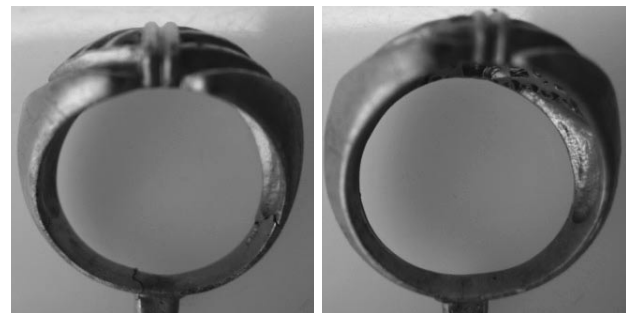
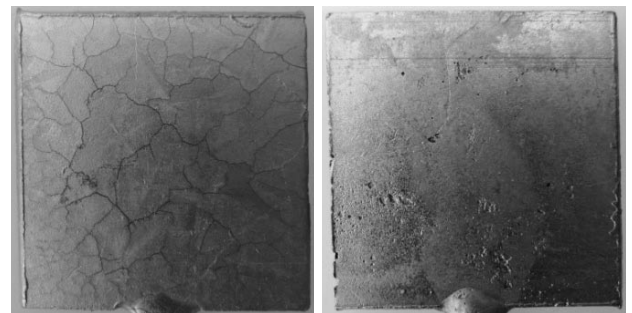
る铸造品への影響について検討を行った。

使用したパラジウム合金は、铸造欠陥の発生状況を確認するため、铸造性があまり良くなかった配合No.21を使用した。

両者の铸造条件については、表5に示す。また、図8に示すとおり両者とも一般的なワックスツリーにて铸造を行った。

4-2 実験結果

各铸造法で铸造したサンプルを図9に示す。加圧铸造法では平板、リングとも割れが発生しているが、铸造巣の発生はなかった。一方、遠心铸造法では、割れは発生はないが、ガスが原因と思われる铸造巣が多く発生した。



(a) 加圧铸造法

(b) 遠心铸造法

図9 铸造サンプル

これは、遠心铸造法の方が加圧铸造法に比べ熔融した金属を高い圧力で注入できるため割れの発生が抑えられ

たとえられる反面、鑄造機の構造上、サンプル室が広い遠心鑄造機は、加圧鑄造機ほど真空度を上げられないため溶融金属中の残留ガスにより、多くの鑄造巣が発生したものと考えられる。

ガスの吸収が非常に多いパラジウム合金では、より高真空で溶解等が行える加圧鑄造機の方が、鑄造巣を抑えることが可能であることが確認できた。

5. 結 言

貴金属装身具に適した特性を持ったパラジウム合金の開発を目的として、パラジウム主体の2元合金および3元合金を作製し、評価を行った。得られた結果は以下のとおりである。

- (1) YおよびGeは少量の添加で硬さや引張強さが向上することが分かった。
- (2) パラジウム主体の2元合金に関する基礎データの蓄積ができた
- (3) 従来のパラジウム合金に比べて鑄造性も良く、高硬度かつ色相も遜色ない配合のパラジウム合金を開発することができた。
- (4) ガス吸収が多いパラジウム合金では、より高真空で鑄造が行える加圧鑄造法の方が、鑄造巣の発生を抑えることができる。

謝 辞

本研究を進めるにあたりご協力いただきました鋳工房 深澤 深澤利彦様に感謝いたします。

最後に、本研究のアドバイザーとして、計画段階からご助言、ご指導いただきました清水技術士事務所 清水進先生に厚く感謝申し上げます。

参考文献

- 1) 諏訪小丸：ジュエリーキャスティングの基本と実際、柏書店松原（2001）

生物利用型水質浄化システムの構築と 応用に関する研究

Study on the Development of the Water Purification Method in Lakes and Ponds
Using Ecological Techniques

生物利用型水質浄化システムの構築と応用に関する研究

吉澤 一家¹, 高橋 一孝², 山崎 修平³, 戸沢 一宏⁴, 宮崎 淳一⁵, 芹澤 如比古⁵

(¹衛生環境研究所, ²水産技術センター, ³総合農業技術センター, ⁴森林総合研究所, ⁵山梨大学)

要約 環境負荷が少なく, エネルギー消費量が少ない生態工学的方法が, 水質改善方法として湖沼・河川に用いられている。本研究ではより多様な水域で応用可能にするための手法を確立するとともに, 水生植物の供給から, 再利用にいたる一連のプロセスを確立することを目的として研究を進めている。2年目の2012年度は水槽内での植物栽培試験, 都市公園内の池において沈水植物の植栽及びタテボシガイの飼育等の隔離水界実験を行なった。またバイオマスの利用方法について, 沈水植物の成分分析, 肥料としての有効性に関する実験などを行い, 以下の諸点が明らかとなった。

- 1) 光質を変えて20℃, 長日 (16時間明期8時間暗期), 光量39 μ E/m²/sで栽培した結果, 赤色光下のクロモの生長 (総枝長, 輪生葉段数, 全長) は青色光下よりも大きくなることが分かった。
- 2) 竹炭粉末と赤土等を材料として植栽基物を作成し, これを用いた栽培試験において水生植物の成長阻害は認められず, 水質へ与える影響, 製作コストの面から「ビゼンソイル」を用いた基物が最適と考えられた。
- 3) 隔離水界実験において, 二枚貝処理区では他の処理区に比べて吸光係数と濁度が低く, 透明度と透視度が高かったため, 水質浄化効果が高いことが分かった。
- 4) セキショウモ植物体のC-N比は18.3であり, 小松菜を用いた栽培試験から, セキショウモは緑肥としての効果が認められた。

Study on the Development of the Water Purification Method in Lakes and Ponds Using Ecological Techniques.

Kazuya YOSHIKAWA, Kazutaka TAKAHASHI, Shuhei YAMASAKI, Kazuhiro TOZAWA, Jun-ichi MIYAZAKI and Yukihiko SERISAWA

(¹Yamanashi Institute for Public Health and Environment, ²Yamanashi Prefectural Fisheries Technology Center, ³Yamanashi Prefectural Agritech Center, ⁴Yamanashi Forest Research Institute, ⁵University of Yamanashi)

Abstract In this study, we are intended to suggest not only a purification method of water quality with ecological method in various ponds and lakes, but also the supply method of the aquatic macrophyte used for purification, and also the usage of the macrophyte as product. In 2012, the second year of this study, cultivation experiments of water-plants with water tank at the various conditions and cultivation experiments of bivalves and aquatic macrophyte in several mesocosms were carried out. Several facts were revealed from these experiments ; i. e.

- 1) As a result of the cultivation experiment at 20℃ under 39 μ E/m²/s light intensity of different light quality and a 16 h : 8 h light : dark (LD) cycle, the growth (total length of branches, number of stages in verticillate leaves and plant length) of *Hydrilla verticillata* was larger under the red light than under the blue light.
- 2) Comparison of the vegetation tools made with various soil or sand showed that vegetation tools made with "Bizensoil" was most suitable to vegetate the aquatic macrophyte.
- 3) The effective water purification was found in bivalves treated area because absorption coefficient and turbidity were lower and transparency and degree of transmittance were higher than in other treated area.
- 4) According to the analysis of components included in the aquatic macrophyte, *Vallisneria asiatica*, it was considered that they were usable as manure directly.

1. 緒言

環境負荷が少なく, エネルギー消費量が少ない生態工学的方法が, 水質改善方法として湖沼・河川に用いられている。昨年度の研究ではより多様な水域で応用可能にするための手法を確立するとともに, 水生植物の供給

ら, 再利用にいたる一連のプロセスを確立することを目的として, 水槽内での植物栽培試験, 都市公園内の池において沈水植物の植栽及びタテボシガイの飼育等の野外実験を行なった。その結果植物及び二枚貝に対する, 魚類や鳥類などの既存の生物による食害の影響は予想以上に大きく, 食害対策の重要性が再認識された。また30

℃を超える高水温で飼育できる二枚貝としてタテボシガイが適していることが明らかとなった。その一方で水生植物の利用方法として、含有成分の分析結果から緑肥として用いることが可能であることが明らかとなった。

これらを受けて2012年度は都市公園内の池で、食害等を避け、水質変化をより明確に把握するために、複数の隔離水界（メソコスム）を設置し、処理方法と水質浄化効果に関する野外実験を行った。また昨年度に引き続き、水生植物の安定供給のために、栽培実験を行うとともに、収穫された植物の有効利用法に関する以下の実験を行った。

- I 水生植物の安定供給に関する研究
 - ・クロモの至適光質に関する研究
- II 応用水域の拡大に関する研究
 - ・水流による糸状藻類の発生抑制に関する研究
 - ・植栽基物を用いた沈水植物栽培試験
 - ・都市公園池における隔離水界実験
- III 発生バイオマスの有効利用に関する研究
 - ・セキショウモ植物体の成分組成に関する研究
 - ・セキショウモ植物体の保温静置培養による窒素無機化の推移に関する研究
 - ・セキショウモ植物体の緑肥利用に関する研究

2. 実験方法

2-1 クロモの至適光質に関する研究

水質浄化植物の栽培実験は、3波長LED照明付き培養庫を用いて、温度20℃、長日（16時間明期8時間暗期）、光質を赤色LEDランプのみを点灯させた赤色光、青色LEDランプのみを点灯させた青色光の2種の光質環境下で行った。

なお、光量は培養庫1の照明機器の青色光を最大とした39 μ E/m²/sに、培養庫2の照明機器の赤色光の光量を合わせた。

材料として沈水植物のクロモを使用した。実験に先立ち、クロモの先端部を5cmに切り出し、温度20℃、中日（12時間明期12時間暗期）で3日間予備栽培した。実験では痛んでいないクロモの先端部1つをロックウール栽培マット（2×2×2cm）1個に差し込み、そのロックウール栽培マット9個を3Lの透明な円筒状の容器に入れ、栽培初日（9/3）と、7日目（9/10）、15日目（9/18）、23日目（9/26）に総枝長（主軸と枝の全ての長さの和）、輪生葉段数、全長、分枝数を測定し、植物体の様子を観察した。

2-2 水流による糸状藻類の発生抑制に関する研究

沈水植物を栽培する場合、沈水植物と競争的に*Spirogyra*類や*Mougeotia*類などの糸状藻類が増殖する現象がしばしば見られる。糸状藻類が沈水植物に絡まり、覆

うようになると光が遮られ、沈水植物の成長を妨げてしまい、その結果として糸状藻類が優占もしくは独占的に底面を覆うようになる。水質浄化のために沈水植物を植栽する場合、これらの糸状藻類が植物体に付着して混入することが一因として挙げられ、藻類が全く付着していない状態にして植栽することが、糸状藻類繁茂に対する基本的な対策である。しかし沈水植物を完全に藻類フリーの状態にすることは非常に困難であるため、植栽後に糸状藻類が優占化しない技術を確認することが求められている。一般に藻類を抑制する手法として、硫酸銅などの成長抑制剤を添加する方法があるが、沈水植物の成長も抑制する可能性があるためここでは糸状藻類抑制方法として、栽培水塊に水流を生じさせることが有効であるか検討することを目的として、室内水槽実験を行った。

室内において水流の異なる4本の水槽に沈水植物を植栽し、糸状藻類を定量ずつ添加し蛍光灯下で栽培を行った（図1）。実験に用いた器具と植物は以下のとおりである。

水槽：600×300×400mm（約60L）

照明：20W直管蛍光灯（45～80 μ mol/m²/sec）

12hr./day

水流発生用ポンプ：神畑養魚株式会社製

RIO+50（吐出量 2.6L/min*）

RIO+200（吐出量 4.0L/min）

RIO+600（吐出量 6.8L/min）

栽培用土：GEX製 水草育成用土「水草一番サンド」

植栽沈水植物：セキショウモ、クロモ
（草丈10cm程度 2株）

添加糸状藻類：*Spirogyra* spp. *Mougeotia* sp. 混合物
（1g湿重量）

*実験時には水流が強すぎたため、流量調整弁により60%程度に流量を絞って使用した

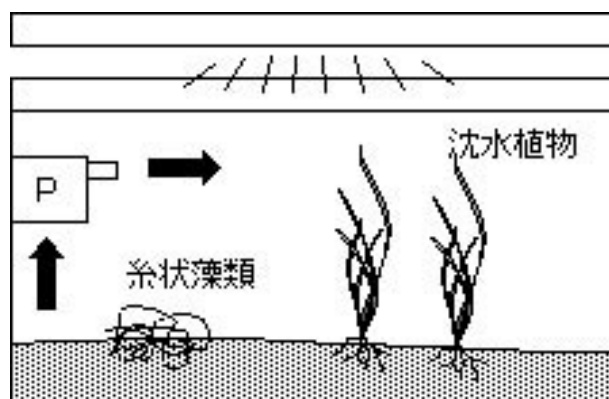


図1 水槽実験概略図

2-3 植栽基物を用いた沈水植物栽培試験

沈水植物を利用した水質浄化を行う場合、対象水域に負荷を与えないために植栽場所の底泥を用いる植栽方法

を先行研究で考案した。さらに都市公園などの底面がコンクリート等で底泥が採取できない場合の植栽に用いるため、種々の素材に竹炭粉を混合した基物を作成した。本実験では素材による沈水植物の生育及び水質に対する影響の差を明らかにすることを目的として、室内で水槽を用いた栽培を行った。

無植栽の水槽1本に加え、以下に示した4種の素材からなる基物で沈水植物を植栽した4本の水槽で室内栽培実験を行った。沈水植物の生育状況は目視で確認するとともに、栽培開始直後、40日後、105日後に各水槽から採水し、硝酸態窒素 (NO_3^- -N)、亜硝酸態窒素 (NO_2^- -N)、アンモニア態窒素 (NH_4^+ -N)、塩化物イオン (Cl^-)、硫酸イオン (SO_4^{2-})、ナトリウムイオン (Na^+)、カリウムイオン (K^+)、マグネシウムイオン (Mg^{2+})、カルシウムイオン (Ca^{2+})、CODを測定した。

実験に供した器具等を以下に示した。

- 基物1 (以後「赤土」と表記) : 赤土+竹炭粉末+MgO (粉状ブロック)
- 基物2 (以後「赤粒」と表記) : 赤土+竹炭粉末+MgO (粒状ブロック)
- 基物3 (以後「永土」と表記) : 永土+竹炭粉末 (粉状ブロック)
- 基物4 (以後「備前」と表記) : ビゼンソイル**+竹炭粉末 (粒状ブロック)
- 水槽 : 398×254×280mm (約20L)
- 照明器具 : GEX製 フラットビーム
オーロラ2灯 (25~30 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{sec}$) 連続照射
- 栽培用土 : 甲府市内玉諸公園内底泥
- 栽培温度 : 室温 (5~25 $^{\circ}\text{C}$)
- 沈水植物 : セキショウモ 草丈約15cm 3株
- * (株)連代コンストラクト製 主成分は真砂土、添加物として CaSO_4 等
- ** 山陽ロード工業製 主成分は真砂土、添加物としてセメント等

2-4 都市公園池における隔離水界実験

先行研究において公園内の池において、予備的に沈水植物の植栽及び二枚貝の飼育実験を行った。その結果魚類や両生類などの動物による捕食圧が非常に高いことが明らかとなった。そのため、これらの捕食者からの影響を完全に避けることと、外部からの流入負荷をなくすことで、外部因子を極力排除し、水質に与える植物や二枚貝の効果をより比較しやすくすることを目的として、側面を完全に囲った隔離水界を公園内の池に設置して、沈水植物の植栽および二枚貝の飼育実験を行った。

実験は甲府市内にある玉諸公園内の池で、鉄製折りたたみ簡易テント (3000mm×3000mm×1500mm) をフレームに使用し、テント屋根のシートをはずした上、側面を透明ビニールシート (1mm厚) で覆った隔離水界5基

を用いて行った (図2, 3)。底面にはシートを張らないため、底泥からの溶出や逆に底泥への沈降などは行われる状態である。それぞれの隔離水界の処理内容は次のとおりとした。

- 水界1 : (以後Cont. と表記) 無処理区
- 水界2 : (以後PGA+WPと表記)
ポリグルタミン酸による凝集処理後、沈水植物を植栽
- 水界3 : (以後PGAと表記)
ポリグルタミン酸による凝集処理のみ
- 水界4 : (以後WPと表記) 沈水植物を植栽
- 水界5 : (以後Biv. +WPと表記)
沈水植物の植栽に加えて二枚貝を飼育

また次の薬品、生物を実験に用いた。

- ポリグルタミン酸 : 日本ポリグル株式会社製 PG α 21Ca
- 沈水植物 : セキショウモ
- 二枚貝 : タテボシガイ (滋賀県琵琶湖産)

実験期間中は定期的に各処理水界および外界で光環境及び水質の測定を行った。光環境項目としては、光量、透明度、透視度、濁度の測定を、水質項目として

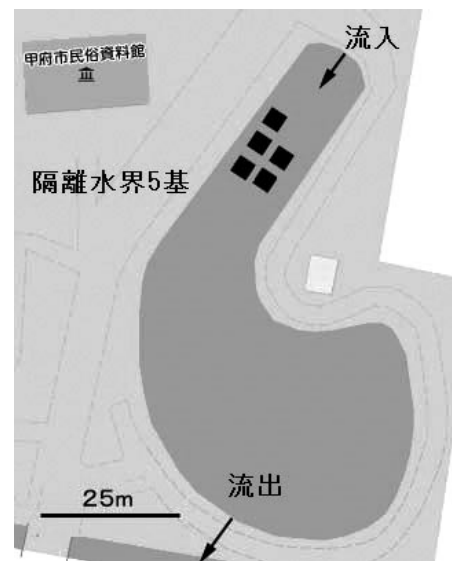


図2 玉諸公園内池の水界配置図

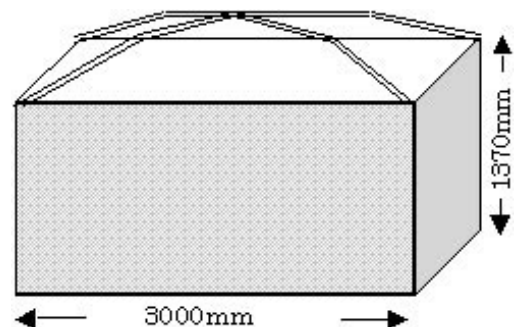


図3 隔離水界立体図

は、水温、導電率 (EC), pH, 溶存酸素濃度 (DO) を現場測定し、浮遊懸濁物質濃度 (SS), クロロフィル a (chl-a), 全窒素濃度 (TN), 全りん濃度 (TP), COD を採水試料で分析した。

また実験に供したタテボシガイを定期的に取り出し、殻長、殻高、殻幅、湿重量を測定し成長状況を把握した。

2-5 セキショウモ植物体の成分組成に関する研究

水草バイオマス資源再利用の方法を検討するため、セキショウモ植物体の成分組成を調査した。セキショウモ植物体試料は、2012年7月31日、8月7日、14日、21日、28日に水深より長く伸びた葉を刈り取り供試した。分析した成分は全窒素、全炭素、全リン酸、カリウム、マグネシウム、カルシウム、銅、亜鉛であった。各成分の分析は堆肥等有機物分析法 (財日本土壌協会, 2010) によった。すなわち、含水率は加熱減量法で、全窒素はケルダール法で、全炭素はチューリン法で、リンおよび金属元素は乾式灰化法により灰化および試料液調整を行い、リンはバナドモリブデン発色・吸光光度法で、金属元素は原子吸光光度法でそれぞれ行った。

2-6 セキショウモ植物体の保温静置培養による窒素無機化の推移に関する研究

セキショウモ植物体を緑肥作物のように畑にすき込んだ場合の分解過程と窒素供給能を明らかにするため、保温静置培養法により窒素無機化量の推移を調査した。セキショウモ植物体は新鮮物および乾燥物として供試した。植物体供試量は窒素として5mgに相当する量、すなわち新鮮物は5.4g相当、乾燥物は0.43g相当であった。供試土壌は県内に広く分布する黒ボク土壌を乾土換算で30g用いた。培養水分条件は供試土壌の最大容水量の60%に調整し、全暗、25℃であった。また、実験にはセキショウモ植物体を添加しない処理区を設け、添加した処理区から無機態窒素量を差し引くことで、セキショウモ植物体からの無機化量とした。

2-7 セキショウモ植物体の緑肥利用に関する研究

セキショウモ植物体の緑肥の利用による窒素肥料効果と生育抑制効果をコマツナのポット栽培により検証した。栽培は山梨県総合農業技術センター内雨よけハウスで行った。実験処理はガス害などを回避するための施用から播種までの期間について5水準 (4週, 3週, 2週, 1週, 1日), セキショウモ植物体の施用量検討のために3水準 (新鮮物として0.5t/10a, 2.0t/10a, 4.0t/10a) 設定した。化学肥料は緑肥施用した処理区では、リン酸20kg/10a, カリ20kg/10aを施用し、窒素を無施用とした。また、対象として緑肥を無施用とし、コマツナの基準量である窒素20kg/10a, リン酸20kg/10a, カリ20kg/10aを施用した処理と、リン酸・カリのみを施用

した処理を設けた。耕種概要は次の通りであった。緑肥施用日は2012年7月31日、8月7日、14日、21日、28日、化学肥料施用日は2012年8月28日、播種日は2012年8月29日、収穫調査日は2012年9月26日であった。

3. 結果

3-1 クロモの至適光質に関する研究

クロモの伸長生長に対する光質の影響を図4に示した。赤色光下で栽培したクロモは青光下で栽培したものとは比べ総枝長、輪生葉段数、全長ともに大きく生長したが、両者の分枝数には大きな違いは見られなかった。赤色光下で栽培したクロモは栽培開始時に比べ23日間で総枝長と輪生葉段数は2.4倍、全長は1.8倍に生長した。一方、青色光で栽培したクロモは栽培開始時に比べ23日間で総枝長は2.0倍、輪生葉段数は1.9倍、全長は1.6倍に生長した。

3-2 水流による糸状藻類の発生抑制に関する研究

栽培試験は2012年9月13日から2013年3月21日まで約6ヶ月間行った。実験水槽4本に水草育成用土を約5cm敷詰め、水道水を60L入れ1日放置した後、沈水植物を植栽した (写真1)。植栽1週間後、湿重量1gの糸状藻類をそれぞれの水槽に添加し (写真2)、吐出能力の異なる3種の水中ポンプを1基ずつ、異なる3本の水槽に設置し、水の循環を開始した。残る1本の水槽はポンプを設置せず、静止状態とした。栽培は室温条件化 (10℃~23℃) で行い、目視による観察を定期的に行ったが、流速については水槽が小型のため複雑な水流となることと、低流速であったことにより測定は不可能であった。

糸状藻類添加後2週間程度はいずれの水槽でも藻類を確認できたが、3週間後には造流水槽では糸状藻類を確認できなくなった (写真3, 4)。栽培6ヵ月後においても同様に静止水槽のみで糸状藻類が確認できた (図5, 6)。各水槽中の糸状藻類を取り出し、湿重量を求めた結果を図5に示したが、静止水槽のみ添加時の約6倍の6.3gの糸状藻類が回収された (写真7)。

3-3 植栽基物を用いた沈水植物栽培試験

玉諸公園内池の水および水道水を各水槽に8Lずつ入れ、2013年6月12日から2013年3月21日まで栽培実験を行った (写真8)。実験開始5日後には基物3「永土」の水槽において白濁が発生したが、1週間ほどで消失した (写真9)。同じく40日後には無植栽の水槽でプランクトンの増殖で濁度が上がる現象が見られ3週間ほど継続した (写真10)。一方、植栽した全ての水槽ではガラス面に付着藻が発生するのが見られたのみで、濁度は上昇することはなかった。その後、植栽したセキショウモはランナーを伸ばして成長し、各種の基物が植物の成長を妨

げることではないことが確認された(写真11, 12).

この間の各水槽内の水質測定結果を図6-1から11までに示した. ナトリウム, 塩化物イオン濃度は無植栽系と植栽系との間で大きな差がないが, アンモニア態窒素, カリウムイオン濃度では差が見られ, 特にアンモニア態窒素は無植栽系で高濃度であった. その結果硝酸態窒素, 亜硝酸態窒素, アンモニア態窒素濃度の総和は105日後には無植栽系でのみ高濃度であった. これは沈水植物の成長に伴う窒素の取込みにより, 植栽系では水中の窒素濃度が減少したことによるものと考えられた.

植栽に用いた基物の素材により, 水質に与える影響も異なっており, 「永土」では硫酸イオンとカルシウムイオンがともに高濃度であった. これは「永土」には硫酸カルシウムが添加されているため, 栽培開始5日後に「永土」系で白濁が生じた原因もこれによるものと考えられた. またマグネシウムイオンは「赤土」, 「赤粒」, 「備前」で濃度が高かった. 「赤土」と「赤粒」では基物製作時に固化剤として酸化マグネシウムを質量比で25%添加していることが原因と考えられたが, 「備前」については不明であった. COD濃度は無植栽系と「永土」では40日から105日の間で大きな変化を示さなかったが, 他の植栽系では時間経過とともに上昇しており, 内部生産が継続して進行していることが伺えた.

3-4 都市公園池における隔離水界実験

3-4-1 実験池の概要

甲府市向町に位置する玉諸公園は甲府市民俗資料館を

有する都市公園である. 公園内にある池の水深は深い場所でも80cm以下で, 浮泥の堆積により多くが50cm程度と浅く, 常時茶色く濁っており, 夏季にはアオコも発生する. 表1に玉諸公園池の諸元を示した. なお一次生産量は2012年10月15日の測定データにより算出した. 各水界の作業内容は表2に示した.

3-4-2 隔離水界の光環境の経日変化

光量については, 光量子計2組を用いて, 空中光量と同時に水深10cm, 50cmで水中光量を約20秒間の平均値として求め, 相対光量(水中光量/空中光量×100)を求めた. また, 相対光量水深曲線を対数回帰して吸光係数を算出した. その他の測定項目は透明度, 透視度, 濁度, 導電率, DO(溶存酸素濃度), pH, 水温である. なお, 透明度はセッキー透明度板を, 透視度は透視度センサを, 濁度は非対称投下散乱光方式の濁度計を, 導電率は電導度メーターを, pHはpHメーターを, DOは隔膜形ガルバニ電池式DOメーターを, 水温はペッテンコーヘル水温計を用いて測定した.

2012年9月~2013年2月の光環境を実験処理水界別に図7-1~4に示した. それぞれの水界における吸光係数の平均は4.1~7.0であり, 水界5(Biv.+WP)で最も低く, 次いで水界2(PGA+WP), 水界3(PGA), 水界4(WP)であり, 水界1(Cont.)で高かった. また, 濁度の平均は8.0~23.4NTUであり, 水界5(Biv.+WP)で顕著に低く, 次いで水界3(PGA), 水界2(PGA+WP), 水界4(WP)であり, 水界1(Cont.)で最も高かった.

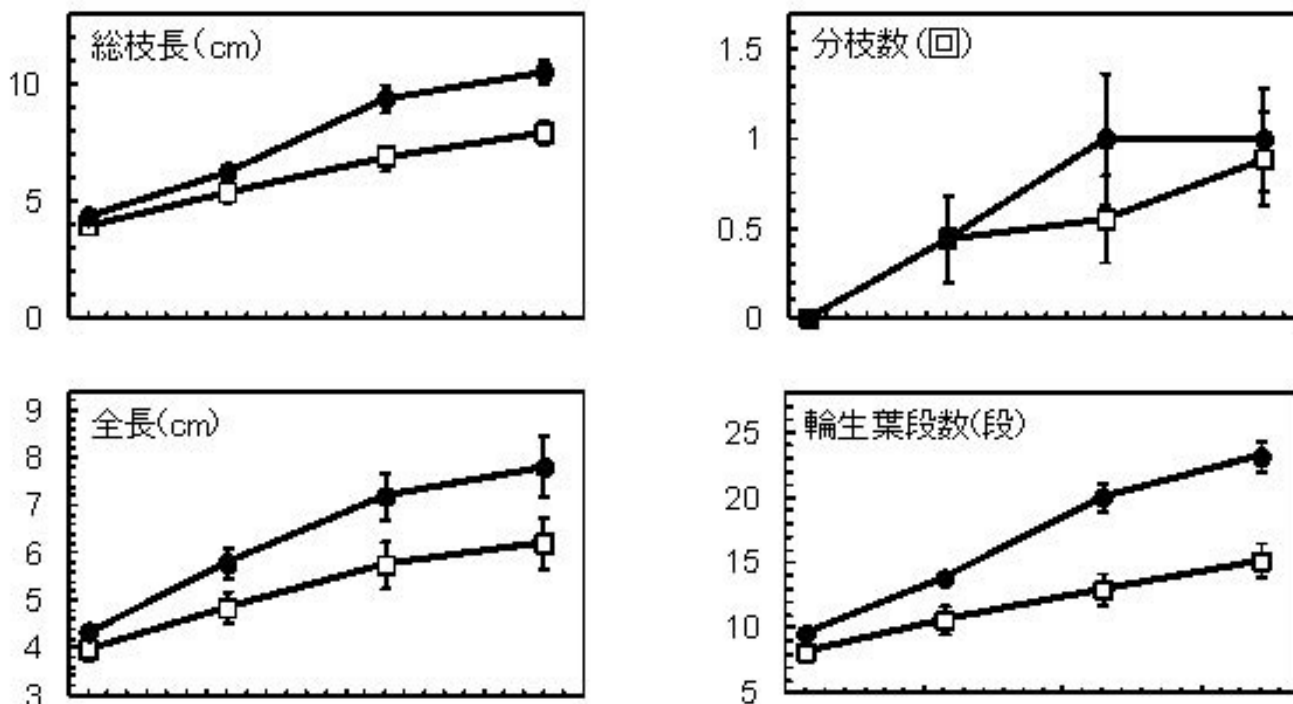


図4 赤色光および青色光で培養したクロモの生長. ●: 赤色光. □: 青色光. エラーバー: 標準誤差



写真1 沈水植物の植栽直後の水槽



写真2 添加した糸状藻類



写真3 藻類添加3週間後（静止水槽）

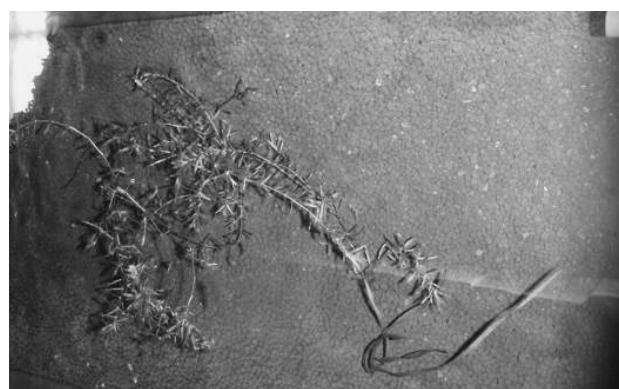


写真4 藻類添加3週間後（造流水槽6.8L/min）

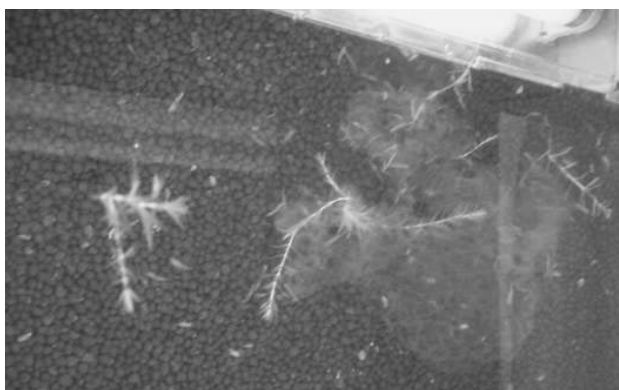


写真5 栽培6月後（静止水槽）

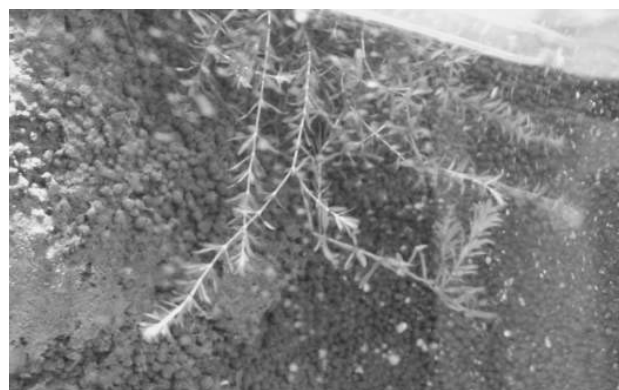


写真6 栽培6月後（造流水槽6.8L/min）



写真7 静止水槽で採取された糸状藻類

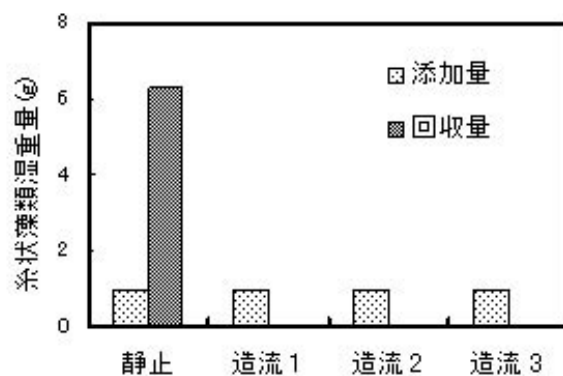


図5 回収された糸状藻類量



写真8 実験水槽



写真9-1 無植栽 (5日後)

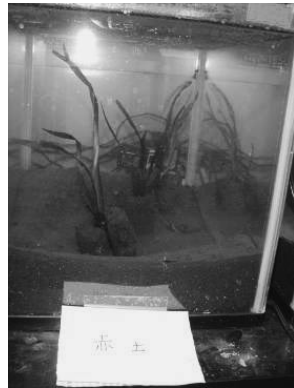


写真9-2 赤土 (5日後)



写真9-3 赤粒 (5日後)



写真9-4 永土 (5日後)



写真9-5 備前 (5日後)



写真10-1 無植栽 (40日後)



写真10-2 赤土 (40日後)



写真11-1 無植栽 (47日後)



写真11-2 赤粒 (47日後)



写真12-1 無植栽 (67日後)



写真12-2 赤粒 (67日後)

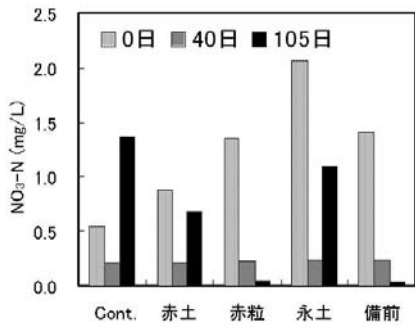


図6-1 硝酸態窒素濃度の経日変化

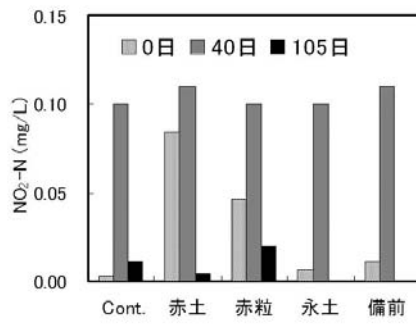


図6-2 亜硝酸態窒素濃度の経日変化

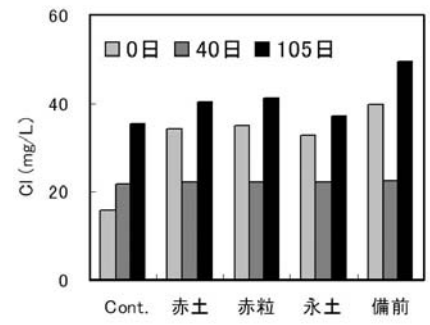


図6-3 塩化物イオン濃度の経日変化

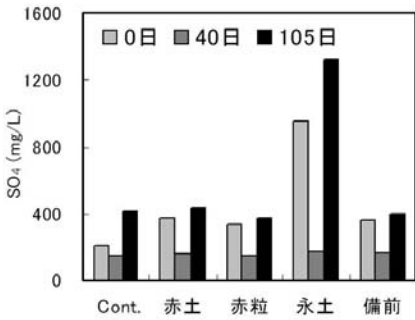


図6-4 硫酸イオン濃度の経日変化

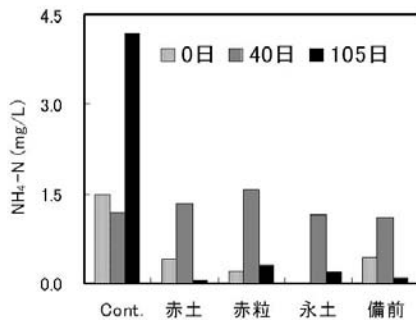


図6-5 アンモニア態窒素濃度の経日変化

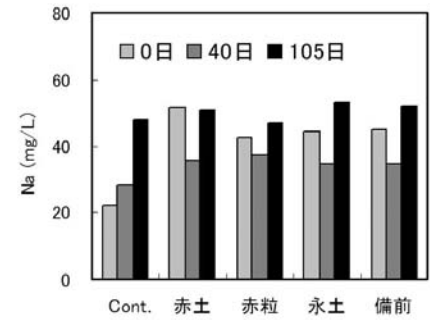


図6-6 ナトリウムイオン濃度の経日変化

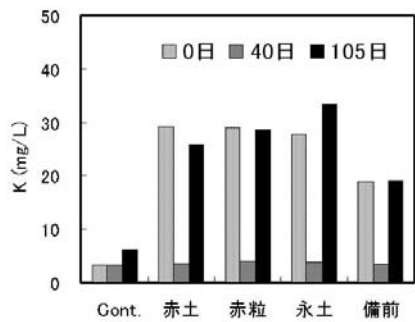


図6-7 カリウムイオン濃度の経日変化

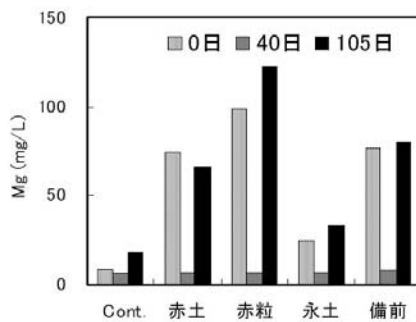


図6-8 マグネシウムイオン濃度の経日変化

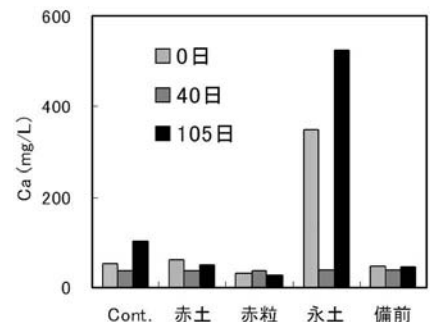


図6-9 カルシウムイオン濃度の経日変化

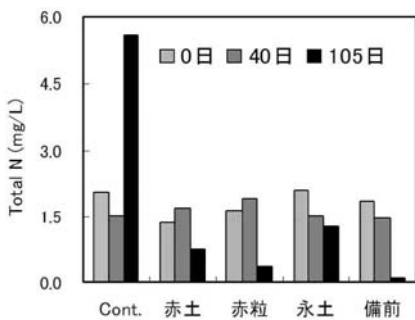


図6-10 窒素濃度合計の経日変化

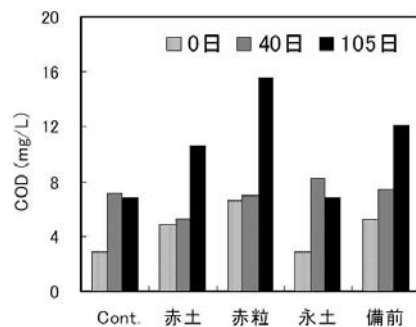


図6-11 CODの経日変化

表1 玉諸公園池の諸元

項目	測定・計算値	単位	項目	測定・計算値	単位
表面積	2300	m ²	底泥堆積厚	0.2	m
周囲	230	m	底泥堆積量	460	m ³
平均水深	0.8	m	底泥量	579.6	t
総容量	1840	m ³	底泥中窒素含有量	310	kg
流入水量	1	L/sec	底泥中りん含有量	140	kg
流出水量	1	L/sec	総光合成量	0.72	mg O ₂ /L・hr
交換率	21.3	day	一時生産量	5.1	kg C/8hr

表2 各水界での処理内容

Date	2012/7/9	2012/7/12	2012/7/17	2012/8/2	2012/8/6	2012/9/3	2012/9/11	2012/9/13
Cont.	水界新設							鳥除けネット
PG + WP	水界新設	PG2kg添加	植栽30株		植栽17株	水草確認	鳥除けネット	
PG	水界新設	PG2kg添加						鳥除けネット
WP	水界新設		植栽30株			水草確認		鳥除けネット
BIV. + WP				新設+貝100	植栽30株	水草確認		鳥除けネット

*PG：ポリグルタミン酸 (PG α 21Ca)

それぞれの水界における透明度の平均は0.4～0.8mであり、水界5 (Biv.+WP) で最も高く、次いで水界3 (PGA) であり、水界2 (PGA+WP) と水界4 (WP) は同じ値で、水界1 (Cont.) が最も低かった。透視度の平均は23.0～75.4cmであり、水界5 (Biv.+WP) で顕著に高く、次いで水界3 (PGA)、水界2 (PGA+WP) であり、水界4 (WP) がそれに続き、水界1 (Cont.) で低かった。

3-4-3 隔離水界の水質の経日変化

2012年9月～2013年2月の水質を実験処理水界別に図8-1～3に示した。それぞれの水界における水温の平均は12.5～13.3℃と測定時間による差が若干認められた。DOの平均は7.9～11.7mg/Lで、水界5 (Biv.+WP) で顕著に高く、次いで水界3 (PGA)、水界2 (PGA+WP)、水界1 (Cont.)、水界4 (WP) であった。pHは7.8～9.2で、水界5 (Biv.+WP) で顕著に高く、次いで水界2 (PGA+WP) と水界4 (WP)、水界3 (PGA) と水界1 (Cont.) であった。電気伝導率の平均は222.8～244.4μS/cm、電気伝導率の25℃換算値の平均は216.3～237.1μS/cmであり、いずれも水界3 (PGA) で最大であった。

採水試料の分析結果を図9-1～5に示した。浮遊懸濁物質濃度 (SS) は水界水界5 (Biv.+WP) と水界3

(PGA) で時間経過とともに低い値となり、透明度の変化とよく一致していた。この傾向はクロロフィルa濃度 (chl-a) 及びCODも同様であり、実験池での懸濁物質は主に植物プランクトンによるものと考えられ、CODにも影響を及ぼしていると考えられた。一方、栄養塩類では、全窒素濃度 (TN) が後期に水界5 (Biv.+WP) と水界3 (PGA) で低くなる傾向は見られたものの、全りん濃度 (TP) ではほとんど水界による差はなかった。これは底泥から窒素、りんが溶出可能なことが一因と考えられた。

以上の結果から、水草の植栽に加え二枚貝を飼育した水界5及びPGA処理をした水界3では、透明度などの改善に効果が見られた。

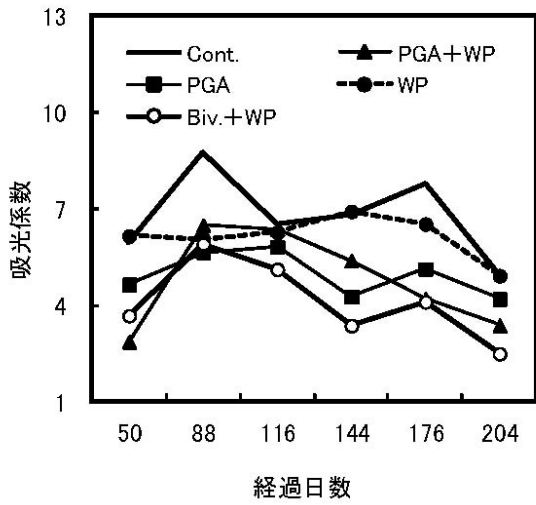


図7-1 吸光係数の経日変化

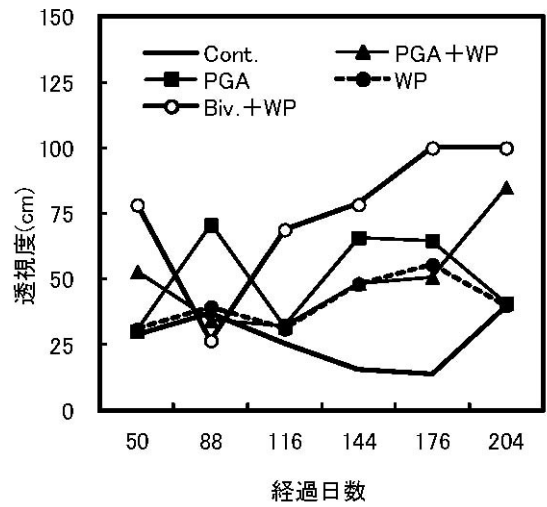


図7-2 透明度の経日変化

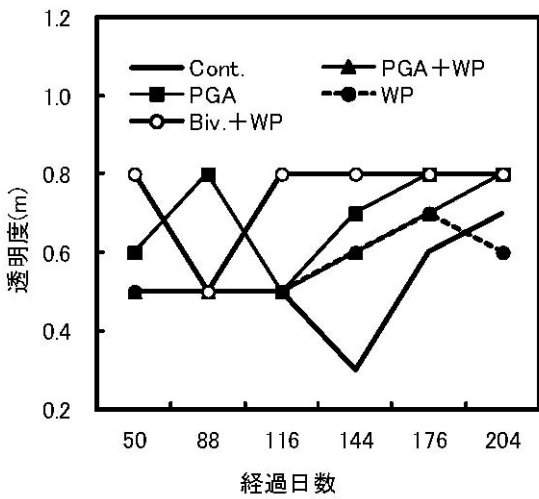


図7-3 濁度の経日変化

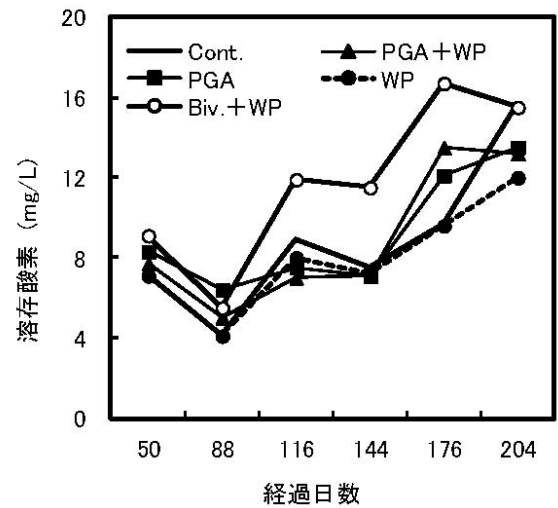


図7-4 透視度の経日変化

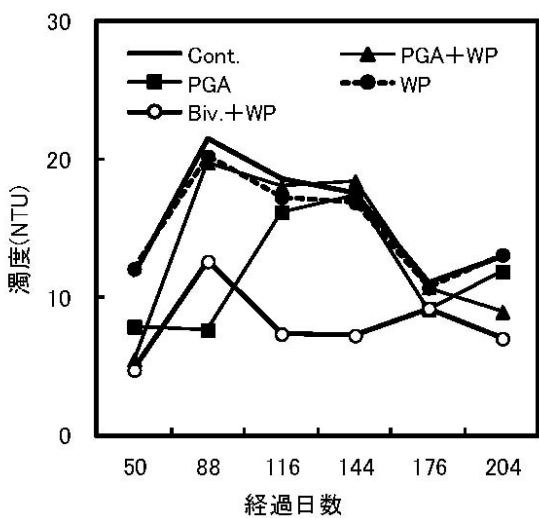


図8-1 溶存酸素の経日変化

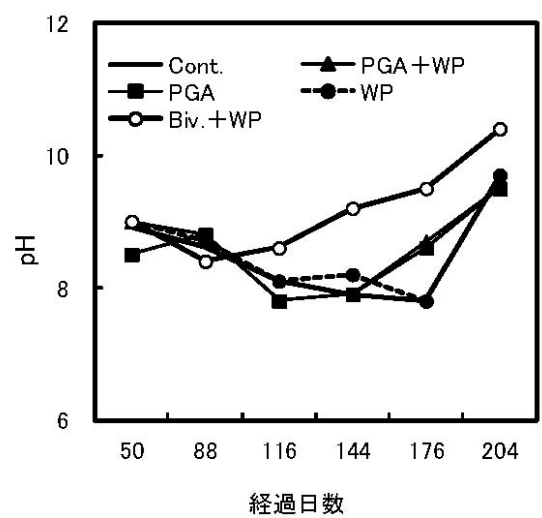


図8-2 pHの経日変化

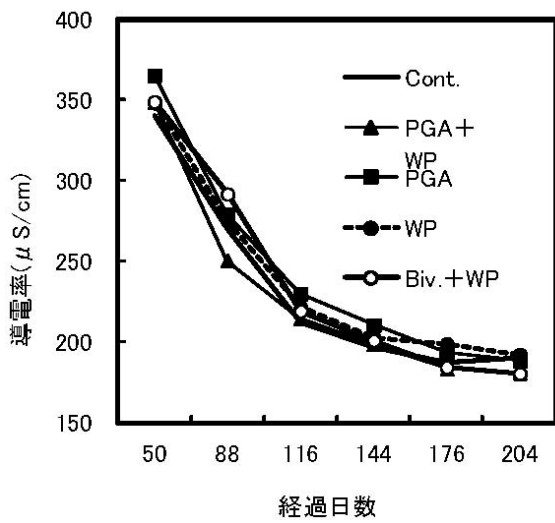


図8-3 導電率の経日変化

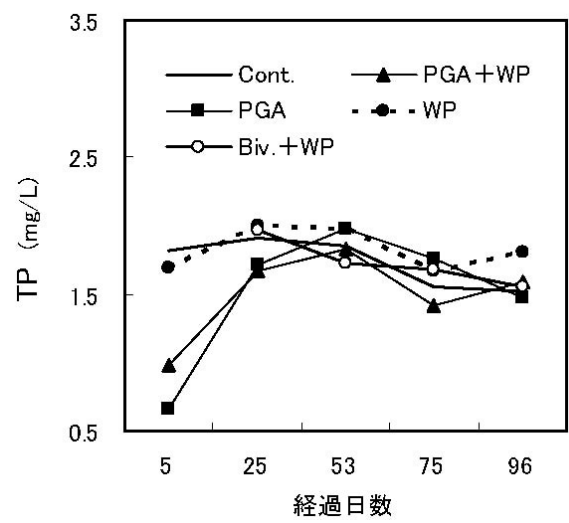


図9-1 SSの経日変化

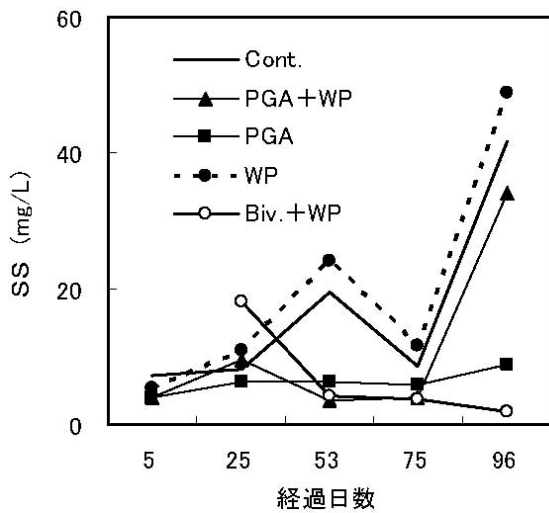


図9-2 TNの経日変化

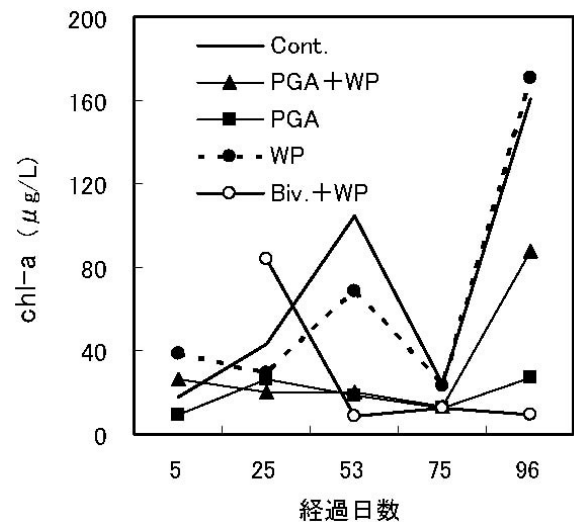


図9-3 TPの経日変化

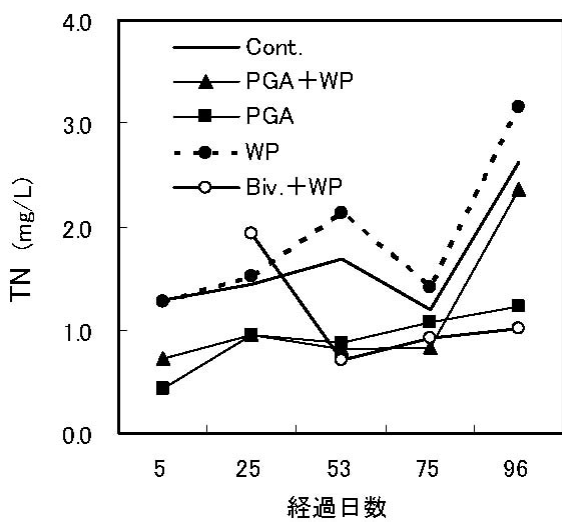


図9-4 chl-aの経日変化

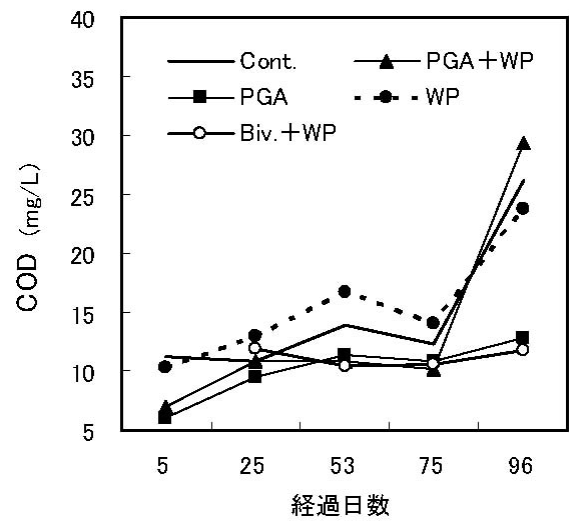


図9-5 CODの経日変化

3-4-4 二枚貝の公園内の池への設置及び成長量の測定

予備調査としてタテボシガイを予備調査用の隔離水界内で2011年11月4日から飼育を始めた。その後、本実験期間を含めて、2012年2月3日、2012年5月7日、2012年8月2日、2012年11月12日（約3カ月毎）に殻長、殻高、殻幅、湿重量を測定した。

平均殻長は2011年11月、2012年2月、5月、8月、11月でそれぞれ49.2、49.3、50.0、50.4、50.7mmであり、特に2012年2月から5月にかけて増加した（図10-1）。平均殻高はそれぞれ24.9、25.0、26.2、26.6、26.7mmであり、特に2012年2月から5月にかけて増加した（図10-2）。平均殻幅はそれぞれ18.4、18.7、19.0、19.1、19.3mmであり、ほぼ同じ割合で増加した（図10-3）。平均湿重量はそれぞれ16.1、16.5、17.3、17.4、17.8gであり、特に2011年11月から2012年5月にかけて及び8月から11月にかけて増加した（図10-4）。

3-5 セキショウモ植物体の成分組成に関する研究

セキショウモ植物体の各成分は各採取日による変動が少なく推移した（表3）。平均値は水分が92.9%、窒素が3.0%、炭素が55.6%、C/Nが18.3、リンが0.2%、カルシウムが0.7%、マグネシウムが0.5%、カリウムが6.2%であった。

3-6 セキショウモ植物体の保温静置培養による窒素無機化の推移に関する研究

新鮮物と乾物では異なる分解過程を示した。新鮮物では培養開始5～7日目にアンモニアのピークが認められた後、硝酸が急激に増加する傾向であった（図11、12）。一方、乾物では培養開始7日目までアンモニアの減少が認められた後、14日目にわずかにアンモニアの増加に転じたが、その後再び減少し、硝酸は培養開始3日目から濃度の減少が見られ14日目まで低く推移し、その後急激に上昇する結果であった（図11、12）。培養後のアンモニア態窒素量と硝酸態窒素量を合計し、添加窒素量で除した値を窒素無機化率とすると、新鮮物は培養開始直後に負の値をとり、わずかに有機化が起こっていたが、その後は直線的に無機化率が上昇し、培養開始14日頃に頭打ちになった（図13）。培養開始28日目の無機化率は12.3%であった。乾物を供試した処理では培養開始後、急激に有機化が進行し、7日目に無機化率が-18.3%となった。その後、直線的に無機化率が上昇したが培養終了時の無機化率は-4.5%であった。

3-7 セキショウモ植物体の緑肥利用に関する研究

約1ヶ月の栽培期間でのコマツナ乾物収量を表4に示した。セキショウモ植物体の施用から播種までの期間について乾物収量を比較すると、いずれの施用量において

も、短ければ短いほどコマツナの生育が良好であった。セキショウモ植物体の施用量について乾物収量を比較すると、いずれの施用時期においても、4.0t/10a施用が良好であった。施用したセキショウモ植物体の窒素含有量から窒素投入量を算出し、コマツナの窒素吸収量から除して窒素利用率を求めると、播種1日前・4t/10aの施用で約13.7%であった。

4. 考 察

4-1 クロモの至適光質に関する研究

先行研究によりクロモを25℃の長日（16時間明期、8時間暗期）、光量30 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ で電球型蛍光灯にセロハンフィルムを用いて光質を変えて栽培した実験から、クロモは赤色光下で栽培すると分枝数が多くなり、緑色光下では伸長生長が大きく、生物量は赤色光と青色光下で大きいことが報告されている（Van et al. 1977）。また、昨年度今回と同様に光質にLED電球を用いて光量44 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ 、15℃、長日（14時間明期10時間暗期）で行った栽培実験から、クロモと外部形態的に共通点の多いコカナダモでも同様に赤色光下で分枝数が顕著であり、生物量も最大となることが確認されている（吉澤ら2012）。

今回、クロモを温度20℃、長日（16時間明期8時間暗期）、光量39 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ の赤色光と青色光で栽培した実験から、赤色光で栽培した方が総枝長、輪生葉段数、全長の生長が大きいことが明らかになった。しかし、分枝数は赤色光と青色光で大きな差は見られなかった。先行研究では赤色光下で分枝数が多くなったが（Van et al. 1977）、これは今回使用したLED電球が蛍光灯に比べエネルギーが限られた波長域に集中していることや、水温が5℃違うことも影響しているのかもしれない。いずれにしても赤色光下でクロモの分枝が誘導されるかどうかは、今後、温度や光量を変えて再度実験を繰り返して検証する必要がある。

4-2 水流による糸状藻類の発生抑制に関する研究

水槽実験の結果から、水流を発生させることは水槽内での糸状藻類の抑制に有効である可能性が示唆された。McIntireは付着性珪藻などが流速の早い河川に優占する一方で、*Oedogonium*などの糸状藻類は流速の遅い環境中に優占すると報告しており、流速により付着藻類の組成に差があるとしている。これは本実験の結果を支持するものと考えられた。一方でWhitford, L. A., and G. J. Schumacher. は、流速が早いほど*Oedogonium*などの生理活性が高まるとしており、今回の結果と一致しなかった。本実験でも造流ポンプの吸引によるろ過効果により糸状藻類がトラップされた可能性がある。また実験時の光量も通常の太陽光の1/10～1/20と低かったため、沈

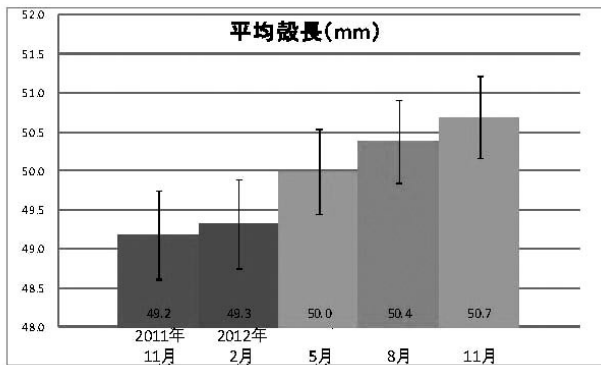


図10-1 平均殻長の経月変化

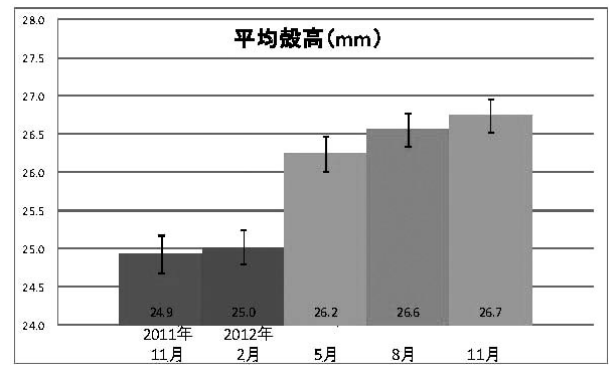


図10-2 平均殻高の経月変化

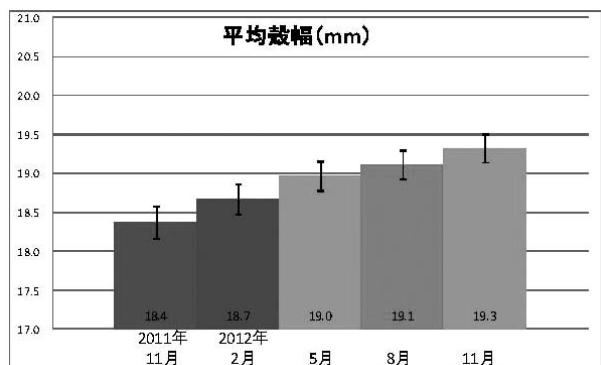


図10-3 平均殻幅の経月変化

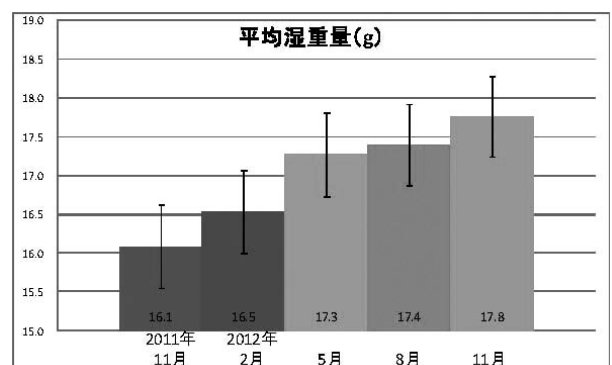


図10-4 平均湿重量の経月変化

縦軸はそれぞれ殻長 (mm)、殻高 (mm)、殻幅 (mm)、湿重量 (g) を、横軸は測定月を、バーは標準誤差を示す

表3 セキシウム植物体の成分組成

	水分率	窒素(%)	炭素(%)	C/N	リン(%)	Ca(%)	Mg(%)	K(%)
7月31日	92.7	2.8	56.7	20.1	0.23	0.65	0.52	6.32
8月7日	93.0	3.0	56.5	18.8	0.23	0.58	0.52	6.05
8月14日	92.8	3.1	54.9	17.8	0.26	0.77	0.55	6.67
8月21日	93.3	3.2	57.0	17.9	0.27	0.79	0.53	5.93
8月28日	92.8	3.1	53.1	17.3	0.25	0.85	0.55	6.24
平均	92.9	3.0	55.6	18.3	0.25	0.73	0.53	6.24

表4 セキシウム植物体施用によるコマツナ乾物収量への影響

セキシウム施用量	乾物収量(kg/10a)				
	4週	3週	2週	1週	1日
4t/10a	55	39	115	101	139
2t/10a	14	12	16	34	76
0.5t/10a	4	3	6	18	17
化学肥料	—	—	—	—	359
無窒素	—	—	—	—	13

水植物、糸状藻類ともに成長速度が十分に確保できなかった可能性もある。さらに光源の波長域も太陽光とは異なるため、屋外での栽培時には適応できない可能性も残されている。これらをふまえて今後は野外での大型水槽を用いて、水質浄化のための植栽時により近い条件化で実験を行う予定である。

4-3 植栽基物を用いた沈水植物栽培試験

水槽実験の結果から、今回実験に供した素材を用いた植栽基物は沈水植物の成長を阻害することはなく、実際の池などでの使用が可能であることが明らかとなった。また素材の選択に際しては、水質に与える影響や、添加物の有無、作成の容易さ、材料のコストを考慮する必要がある。表5でそれぞれの項目について比較を行った。「永土」は白濁を生じる期間があるため、景観影響面で問題があると判断した。水質影響はカルシウムイオン、マグネシウムイオン、硫酸イオンの濃度を上昇させる程度に応じて判断した。また製造工程は作業工程数と所要時間を判断基準とした。総合的に判断すると、「備前」系が最も植栽基物として適していると考えられた。

表5 素材別基物の比較表

素材	景観影響	水質影響	製造工程	材料コスト
赤土	○	×	○	230円/kg
赤粒	○	×	×	230円/kg
永土	×	×	△	150円/kg
備前	○	△	△	100円/kg

4-4 都市公園池における隔離水界実験

4-4-1 処理方法による隔離水界の光・水質環境

二枚貝を入れた水界5では他の処理区や、コントロール、外界に比べて顕著に吸光係数と濁度が低く、透明度、透視度が高かった(図7-1~4)。したがって、今回試行した処理の中では透明度の上昇をもって水質浄化とするならば、二枚貝を入れる処理が最も水質浄化効果が高いと考えられた。また、二枚貝を入れた水界5ではDOとpHについても上昇していた(図8-1~3)。通常、DOとpHの上昇は植物プランクトンの増加を意味する。しかし、それらは二枚貝の餌料になってしまうはずであり、事実、植物プランクトンなどを二枚貝が過剰摂食したため、水界5で透明度が高くなっていったと考えられた。しかしその水界5でDOとpHが高い値を示したことは興味深い。今回は沈水植物を植栽した水界2, 4, 5での水草の現存量を確認できなかったため、各水界の光合成量に対する沈水植物の寄与率が把握できなかったが、水界5では、沈水植物の光合成によりDOとpHが高くなった可能性がある。また水界5では沈水植物体に加え、二枚貝設置のためのメッシュパネルも水界中に吊り下げ

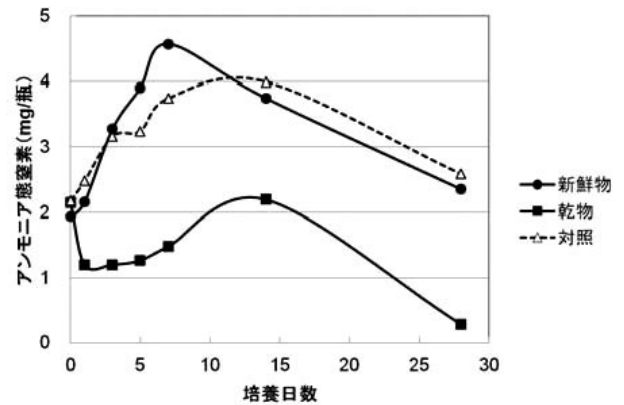


図11 保温静置培養法によるアンモニア態窒素の推移

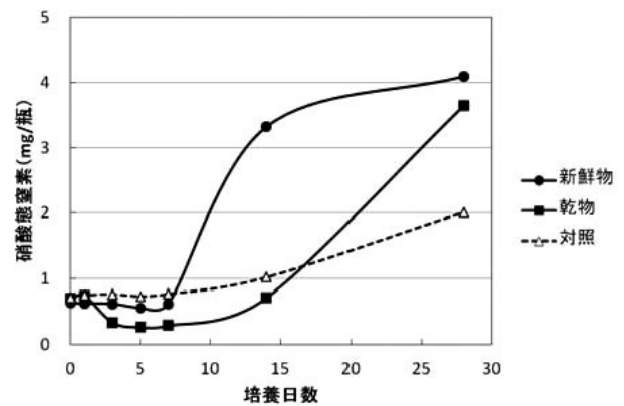


図12 保温静置培養法による硝酸態窒素の推移

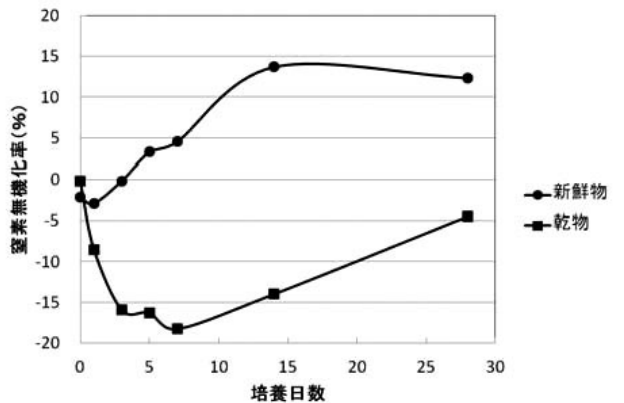


図13 保温静置培養法による窒素無機化率の推移

られており、付着藻類のハビタットが他の水界よりも豊富であったことが考えられ、付着藻類の光合成量が多かった可能性も考えられた。また濾過摂食されないような小型の植物プランクトンが増殖している可能性もあり、今後は他の水界とのプランクトン相の比較を行う予定である。

4-4-2 二枚貝の移植について

メッシュパネルに取り付けたネットに二枚貝を入れて設置したのは、二枚貝をある程度成長させてから回収す

必要があるからである(図14)。移植して成長させた後に回収することで、自然水系から有機物を除去し、水質浄化を適切に行うことができる。定期的に回収しなければ、単に水質悪化の原因となる有機物を投入したことになる。玉諸公園内の池に二枚貝を移植した際に、初めに移植した個体のいくらかが次の調査時に死亡していた。本来二枚貝は砂泥に潜って底生生活を行うので、ネットを使った場合死亡率が高くなる可能性があり、今後さらに設置法を工夫する必要がある。青木ら(2011)は真珠養殖に用いられるアコヤガイの成熟状態を把握する方法を確立するため、閉殻力とタンパク質量、グリコーゲン量、筋肉量の関係を調査した。閉殻力とタンパク質量及びグリコーゲン量との間に有意な正の相関があり、閉殻力を調べることで、二枚貝の生理・栄養状態を把握することができると考えられる。この方法によって二枚貝を選定し、より健康なものを移植することによって死亡率を下げるができると思われる。

Kamermans (1994) は堆積物摂食及び懸濁物摂食を行う海産二枚貝の食物競争について明らかにするため、両者の胃内藻類と環境要因との関係を調査した。堆積物摂食及び懸濁物摂食を行う二枚貝の濾過と潮汐周期との間には有意な相関があり、潮汐によって引き起こされる速い水流は二枚貝の摂餌に負の影響を及ぼすと報告している。Stuart, Eversole and Brune (2001) は淡水魚を養殖する際に発生する緑藻及び藍藻の除去法を確立するため、*Elliptio complanata* の濾過率を異なる流量で測定した。二枚貝の濾過率は流量2.5l/minまでは増加したものの、3.0l/minでは減少した。そのため、自然環境において流量が大きく濾過摂食の障害となる場合には、玉諸公園内の池に設置したように人工的な閉鎖水系を作り、二枚貝を移植することで、濾過率を高い状態に保つ必要がある。

二枚貝を移植するには移植する時期にも配慮する必要がある。自然水系内の懸濁物質を取り除くには、成長率の高い時期に二枚貝を移植するのが効果的であると思われる。本研究で玉諸公園内に移植したタテボシガイの平均殻長は2月から5月に増加した(図10-1)。近藤(1992)は京都市内の水路において、タテボシガイ(*Unio douglasiae biwae*)の亜種のイシガイ(*Unio douglasiae nipponensis*)の殻長の季節的变化を明らかにした。イシガイの殻長の平均的な成長は、1987年7月から10月まで0.94mm、10月から11月まで0.58mm、11月から1988年2月まで0.13mm、2月から3月まで0.05mm、3月から5月まで0.06mm、5月から7月まで0.13mm、7月から9月まで0.13mmであり、1987年と1988年のほぼ同じ時期で異なるように見える。また、本研究で用いたタテボシガイとも成長時期が異なる。これは、得たエネルギーを生殖に用いる時期と成長に用いる時期が、地域で、また年によって異なる可能性を示している。一方、二枚貝の成長を

判断する上では湿重量に注目する方が妥当であると思われる。

本研究で玉諸公園内に移植したタテボシガイの平均湿重量は2011年11月から2012年5月及び2012年8月から11月(すなわち5月から8月を除いて)に顕著に増加した。近藤(1987)は祇園川において、淡水二枚貝の幼生であるグロキディウムが付着する魚類を採集し、イシガイ類7種のグロキディウムの放出時期を明らかにした。これによるとイシガイのグロキディウム放出時期は4~8月であった。これより、繁殖期はそれより少し前から始まると思われる。繁殖期がタテボシガイでも同様であるとすれば、本研究でタテボシガイの湿重量の増加が少なかった春季から夏季は繁殖期であり、この時期には濾過摂食により得たエネルギーが生殖に使われたと考えられる。それゆえ、その時期を避けてタテボシガイを移植するのが効果的である。

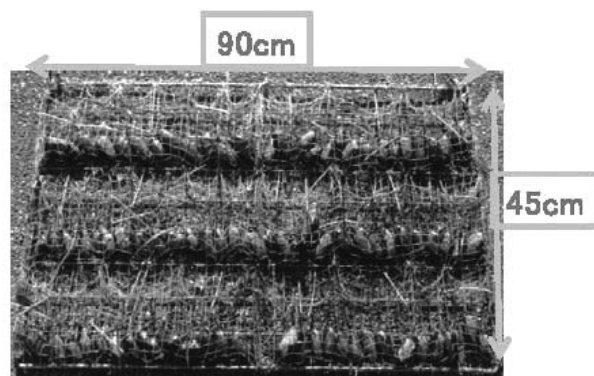


図14 二枚貝のメッシュパネルによる飼育

4-5 セキシウム植物体の成分組成に関する研究

セキシウム植物体のC-N比は18.3であり、マメ科やアブラナ科などの緑肥作物と同程度であったことから、セキシウム植物体はそのまま圃場にすき込む緑肥的な利用法をとることで肥料効果が期待できると考えられた。また、セキシウム自体の水分率は約93%であったが、実際に湖沼などから回収されることを想定した場合、付着している水分も相当多いことが予想されることから、堆肥化するには大量の水分調整用副資材が必要になる。水分調整用副資材にオガクズやモミガラ、ワラ類など炭素率の高い資材を利用する場合、堆肥化を促進するための窒素源もあわせて配合する必要がある。このようなことからセキシウム植物体の再利用法としては堆肥化より緑肥の利用が有効であると考えられた。

4-6 セキシウム植物体の保温静置培養による窒素無機化の推移に関する研究

セキシウム植物体のC-N比は20以下であるため、比較的早く分解することが予想され、新鮮物の保温静置培

養法による窒素無機化率の推移は予想を裏付ける結果であった。培養初期の有機化量は小さく、すぐに無機化に転じているため有機化に伴う窒素飢餓の可能性も少ないと思われた。

一方、乾物では培養初期の有機化と無機化の遅延が認められた。還元糖とアミノ化合物（アミノ酸、ペプチド及びタンパク質）を加熱したときなどに褐色物質（メラノイジン）を生み出す反応としてメイラード反応が知られている（加藤・倉田，1999；片山・田辺，2003）。また、有機質肥料に温度処理をすると窒素の無機化が遅延するという報告がある（長坂，2006）。今回用いた乾物試料は、60℃設定の通風乾燥機で処理した物であり報告より温度は低かったものの、一昼夜の乾燥処理を行ったためメラノイジンが生成されて無機化の遅延につながったのではないかと考えられた。

4-7 セキショウモ植物体の緑肥利用に関する研究

有機質肥料を使用する際、施用直後には土壤中の無機態窒素の有機化による窒素飢餓や亜硝酸等のガス害のおそれがあるため、施用直後の播種は避けることが一般的であるが、本実験の結果は施用と播種の間隔が短いほど生育が良好であった。保温静置培養の結果より有機化に伴う窒素飢餓の恐れは少ないと予想されたが、ガス害についても有機質肥料ほど窒素濃度が高くないので発生しなかったと考えられた。また、緑肥を畑地に施用した場合、植物体が急激に分解する時に土壤糸状菌とくにピシウム菌も爆発的に増殖し、立枯症などの障害を引き起こすことが知られている（沢田，1969；東條ら，2010）。本実験ではこのような立枯症状も確認することはなかった。これは用いた土壤が市販の園芸培土であったため、製造段階で滅菌処理が行われていたためであると推察され、実際の圃場などに施用する場合には、施用からは種までは2～3週間の間隔をとる必要があると考えられた。

5. 結 語

生物を利用し様々な水域で水質浄化を行うための手法を確立することを目的として、利用する生物の供給から、発生するバイオマスの活用方法までを研究対象として水槽実験、野外実験を行ってきた。

水生植物の供給についてはクロモオおよびセキショウモの栽培実験を行い、栽培時の光質は水生植物の生育に影響を与え、赤色光の有効性が明らかとなった。一方で二枚貝についての飼育及び増養殖の方法については未検討に終わった。

これら生物を利用しての、都市公園での隔離水界実験では、沈水植物と二枚貝を用いることにより、透明度などの改善効果が認められた。実験に供したタテボシガイについては、生育可能な水温域が幅広いことから、野外

での実用が可能であることが昨年度の研究で明らかとなったが、効果的に利用するにはその飼育方法や設置時期を適性に行う必要性が認められた。

また水質浄化に用いた水生植物は、根を残して葉体を刈り取ることで、水域から窒素、りんを取出すことが可能であるが、刈り取られた葉体の利用方法として、セキショウモでは、植物体のC-N比は18.3であることが明らかとなり、小松菜を用いた栽培試験から、緑肥としての効果が認められた。しかし施用時期に関しては、播種の直前が最も肥料としての効果が高く、施用方法に注意が必要であることが明らかとなった。

参考文献

- 1) Van TK, Haller WT, Bowes G, Garrard L.A., *Journal of Aquatic Plant Management* 15, 29-31 (1977)
- 2) 吉澤一家, 堀内雅人, 佐々木裕也, 高橋一孝, 山崎修平, 戸沢一宏, 宮崎淳一, 芹澤如此古, 山梨県総理研報, 7, 63-74. (2012)
- 3) Whitford, L. A., and G. J. Schumacher, *Ecology* 45, 168-170 (1964)
- 4) C. David McIntire, *Hydrobiologia*, 27, 559-570 (1966)
- 5) 青木秀夫, 藤原孝之, 石川卓, 渥美貴史, 阿部久代, 神谷直明, 古丸明, 三重県水研報, 20, 1-7 (2011)
- 6) Kamermans, *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 104, 63-75 (1994)
- 7) 近藤高貴, *VENUS*, 46, 227-236 (1987)
- 8) 近藤高貴, *VENUS*, 51, 219-224 (1992)
- 9) Stuart K. R., A. G. Eversole, and D. E. Brune, *Journal of the World Aquaculture Society*, 32, 105-111 (2001)
- 10) 片山 修, 田島 真, 食品と色, 光琳, 東京, P.111.
- 11) 加藤博通, 倉田忠男, 食品保蔵学, 文永堂出版, 東京, P.109-123.
- 12) 長坂克彦, 山梨県総合農試研究報告, 18, 21-23.
- 13) 沢田泰男, 北海道農試報告, 76, 1-62.
- 14) 堆肥等有機物分析法 (2010年版), (財)日本土壌協会
- 15) 東條元昭, 中山佳代子, 三村浩子, 農業および園芸, 85, 183-189

成果発表状況

学会発表

中沢公士ら：淡水二枚貝を用いた水質浄化方法の検討、平成24年度 日本動物学会 中部支部大会、松本、2012

学会誌等発表

中沢公士ら：. 淡水二枚貝を用いた水質浄化方法の検討
(予報), 山梨大学教育人間科学部紀要14 : 7-18, 2013

