

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

**Effects of sika deer (*Cervus nippon*) on Alpine and
Subalpine Vegetation and Their Management at
South Alps, 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⁵, 中村健一⁶, 田村哲生⁶, 竹田謙一⁷
 (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, ⁵京都大学,
⁶東京都農林総合研究センター, ⁷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ている。

本年度は、ミヤマハナシノブおよびタカネマンテマの培養、ミヤマハナシノブの遺伝解析、亜高山帯針葉樹林の剥皮状況とニホンジカの出没状況、ニホンジカの生体捕獲と飼育に関して研究を行った。

剥皮に関しては、立木、稚樹ともに糞粒数が多い場所ほど剥皮率が高く、ニホンジカがよく利用する場所において剥皮が発生すると考えられた。出没状況に関しては、季節の進行とともに高標高へニホンジカが移動していることが示唆された。また、ダケカンバ林の方が撮影枚数多い傾向が見られた。ミヤマハナシノブの増殖はシュート形成の条件をほぼ確立し、発根した個体のほとんどが順化可能であった。麻酔銃による捕獲を実施し、メス4頭を捕獲した。大型囲いわなでは4月から誘引を継続し、誘引物の誘引効果を確認した。2012年2月28日から3月6日の期間に頻繁に進入することが確認された。飼育個体の採食行動は、給与飼料の積極的な採食は13日目以降からであった。給与飼料に対する嗜好性調査では、圧ペントウモロコシ>配合飼料>ペレニアルライグラス>ヘイキューブ>野草の順に高く、乾草の採食は観察されなかった。

Studied 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 IJIMA¹, Masahiko KITAHARA², Mikio SUGITA², Takashi NAKANO², Kouji DOBASHI³, Tadafumi KAMEI⁴, Masashi YOKOGAWA⁵, Yuji ISAGI⁵, Ken'ichi NAKAMURA⁶, Tetsuo TAMURA⁶, and Ken'ichi TAKEDA⁷

(¹Yamanashi Forest Research Institute, ²Yamanashi Institute of Environmental Sciences, ³Yamanashi Prefectural Dairy Experiment Station, ⁴Yamanashi Prefectural Fuefuki High School, ⁵Kyoto University, ⁶Tokyo Metropolitan Agriculture and Forestry Research Center, ⁷Shinshu University)

Abstract We studied effects of sika deer (*Cervus nippon*) and their management at Minami-Alps, Yamanashi Prefecture.

In sub-alpine zone, debarking for trees and saplings of conifer species was abundant in sites with much faecal pellet of sika deer. Sika deer population would move from lower elevation area in early summer to high area in late summer, 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. To get fundamental data under breeding situation of sika deer, 4 male individuals of sika deer was captured using tranquilizer gun. At trap in the farm field in Yamanashi Prefectural Dairy Experiment Station, sika deer was attracted by bait. The most like bait for breeding sika deer was rolling corn.

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, 植生保護網)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。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おらず、限定された増殖材料からの増殖は困難である。

今年度は、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、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。このうち、タカネマンテマの増殖とミヤマハナシノブの遺伝解析については別稿で報告する。

2. 調査方法

2-1 ニホンジカによる剥皮状況

剥皮状況に関する調査は、北沢峠周辺の標高2000 m付近(以下、低標高とする)および仙丈ヶ岳、栗沢山、双児山に至る標高2500 m付近(以下、高標高とする)の針葉樹林で行った。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⁾。

2011年9～10月に、低標高域で8カ所、高標高域で11カ所の調査区を設定した。1つの調査区の大きさは10 m×40 mである。調査区内の胸高直径3 cm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、1×2 mの方形区を8個設定し、方形区内の樹高30 cm以上胸高直径3 cm未満の木本(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5×40 m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カ所、高標高域3カ所の調査区の結果も加えて示した。

立木の剥皮率、稚樹の本数及び剥皮率に個体サイズ、糞粒数、樹種が与える影響を、一般化線形モデル(GLM)によって検討した。剥皮率については説明変数は個体の周囲長(稚樹については樹高)、調査区の糞粒数、標高、樹種、稚樹の本数については説明変数は調査区の糞粒数、標高、オフセッ

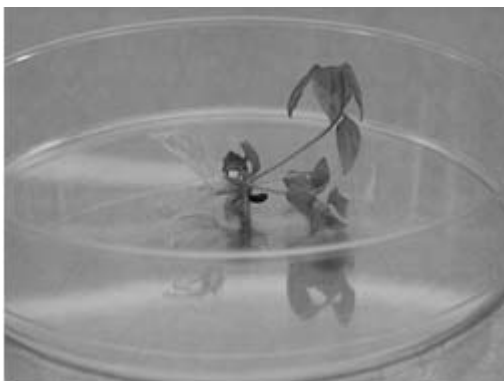


写真1 供試した無菌実生

ト項としての調査区の面積とした(すなわち、稚樹密度に影響する要因を解析した)。AICによるモデル選択を行った。解析にはR2.13.2²⁾を用いた。

2-2 ニホンジカの出没状況

2011年6月上旬に、ダケカンバ林(2220 m, 2230 m, 2240 m, 2700 m)と高茎草原(2250 m, 2560 m, 2570 m, 2740 m)に、デジタルセンサーカメラを1台ずつ設置した。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。

2-3 ミヤマハナシノブの組織培養による増殖

実験には、2010年度に無菌的に発芽させ、3ヶ月間育成した実生を供試した(写真1)。培養条件は、20±2°C、昼光蛍光灯で照度5,000lux、16時間/日照明とした。

初代培養には、上述の無菌実生を供試し、シュートの伸長および多芽体誘導のための培地条件について検討した。培養には成分を1/2に調整したMS培地³⁾にBAP(6-Benzylaminopurine) 0, 0.1, 0.5, 1, 5 mg/lとGA₃(Gibberelic acid) 1 mg/lの濃度でそれぞれ、単独あるいは組み合わせて添加した計10種類の処理区を用意した。これらの培地にショ糖20g/l、寒天10g/lを加え、pHはオートクレーブ前に5.6に調整した。無菌実生は、葉柄と根を切断して(写真2)、培地に置床した。

初代培養後、発根した個体について、幼植物体の順化を行った。幼植物体を培地から抜き取り、水中で根についた培地を落とし、プラスチック製ポットにバーミキュライトを培養土として植え付けた。

2-4 ニホンジカの捕獲

麻醉銃における捕獲は、八ヶ岳牧場周辺で実施した。ワナにおける捕獲は、山梨県北杜市小淵沢町の酪農試験場篠尾圃場(捕獲用大型囲いワナの設置箇所)で実施した。

麻醉銃における捕獲は2011年10月25日～10月28日にか

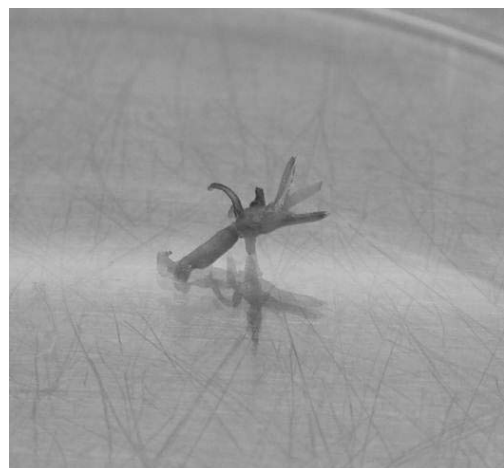


写真2 置床した切片

て実施した。麻酔銃(Dan-Inject社JM SP)を用いて行った。不動化の際は、塩酸ケタミン200 mgと塩酸キシラジン200 mgの混合液を用い、副作用を取り除くために硫酸アトロピンも適宜追加した。捕獲したシカは、両耳に番号付き耳標を装着し、計測、採血等を行い、作業終了後は拮抗剤としてアンチセダンを筋注してから放野した。

2010年度設置された捕獲用大型囲いワナを用いて、誘引物の誘引効果確認、ワナ内への誘引、捕獲の実施などを行った。月1回程度囲いワナの内外に誘引物を撒くこととした。誘引物の誘引効果の確認は赤外線自動撮影カメラを6台を設置し、調査を行った。これは、カメラを固定して設置し、赤外線センサーの範囲内を動物が通ると写真が撮られる仕組みである。この方法は、比較的少ない労力で行うことができ、環境の攪乱も小さい。さらに、痕跡などの指標からは困難な種の判定や、他の調査方法を適用するには困難な地形においても細かな情報を得ることができる。また、昼夜を問わず安定してデータを集めることが可能である。自動撮影カメラの前に誘引物(岩塩、小粒岩塩、ヘイキューブ、ヘイキューブ+醤油、白菜、白菜+醤油、大豆ミール、トウモロコシ圧片、刈取り立て牧草など合計9

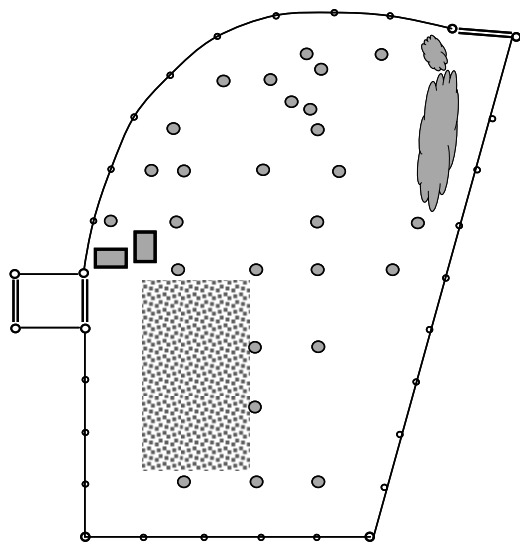


図1 ニホンジカー時飼育施設(模式図)



写真3 飼育施設内に設置した飼槽及び水槽

種類を設置した。さらに、3月になってからデコイを設置し、誘引効果を試した。撮影された写真と現場の餌利用状況を確認し、その後の誘引物の選別と捕獲方針を検討した。

誘引物の誘引効果の確認と雪の状況を合わせて、ワナにおける捕獲は、2012年1月30日～2月1日、2月7日～9日、3月6日～8日の3回実施した。

2-5 ニホンジカの飼育

一時飼育施設は、酪農試験場篠尾圃場内に2011年3月に整備した。本施設は約1300 m²の広さで、高さ2.4 mの金属製フェンスで囲われている。施設管理のための出入り口は、シカの脱柵を防止するために2重扉を設置し、ゲート付近には飼槽と90 Lの水槽及び鈹塩を設置した。水槽には、冬期間の凍結を防止するためにサーモスタット付投入型ヒーターを設置した(図1、写真3)。

施設内の地形は、北東部分が小高い丘となっており、中央部は直径約50 cmの杉が植栽され林となっている。南側は平坦地で、一部に石礫が積まれている。主な植生は、生育の多い順にカナムグラ、アズマネザサ、アメリカセンダグサ、ススキ、リードカナリーグラス、ヤマブドウ、タラノキであった。シカ導入時、フェンス外周はカナムグラにより覆われており外部からの目隠しとなっていた。

供試ジカは、2011年10月25日から27日に山梨県立八ヶ岳牧場周辺で麻酔銃により捕獲されたニホンジカのメス4頭である(表1)。いずれの個体も夜間に捕獲が実施され、体側や年齢の推定、耳標装着を行った後、施設内に搬入し麻酔からの覚醒を行った。

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、および給与飼料に対する嗜好性調査を行った。行動調査は、複数個体追跡法により実施し、供試ジカの行動類型を調査した。調査項目は採食、飲水、歩行、走行、横臥について5分間隔で観察を行い、フェンスへの衝突については観察された毎にその回数を記録した。滞在場所は、施設内を高台、フェンス沿い、林地内、餌場周辺、岩場および平坦地の6区画に分類し15分間隔で観察を行った。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回の間隔で実施した。

給与飼料に対する嗜好性調査は、アルファルファヘイキューブ、圧ぺんトウモロコシ、牛用配合飼料、リードカナリーグラス(乾草)、ペレニアルライグラス(青刈)、野草(カナムグラ、アズ

表1 供試ジカの概要

個体番号	No.1	No.2	No.3	No.4
捕獲年月日	H23.10.25	H23.10.26	H23.10.26	H23.10.27
性別	♀	♀	♀	♀
推定年齢*	3.5歳	1.5歳	3.5歳	3.5歳
体重(kg)	64	56	67	75
全長(mm)	1592	1531	1520	1670
体長(mm)	995	805	1025	1100
体高(mm)	880	863	885	932

※年齢の推定: 歯の磨耗及び露出状況により推定

マネザサ, アメリカゼンダグサ, ススキ)の原物2 kgを各餌槽に入れ, カフェテリア方式によりシカの採食状況について調査した. 通常給与する飼料は, アルファルファヘイキューブを主とし, 補助飼料として圧ペントウモロコシと牛用配合飼料を1日1回給与した.

3. 結果および考察

3-1 ニホンジカによる剥皮状況

低標高域の林分密度および胸高断面積合計は1142±244本/ha(平均値±標準偏差, 以下同様)および52.2±9.3 m²/ha, 高標高域の林分密度は1875±378本/haおよび62.1±9.6 m²/haであった. 樹種は箇所による差は見られるものの, シラビソ, オオシラビソ, トウヒ, コメツガの常緑針葉樹がいずれの箇所でも胸高断面積合計で70%以上を占める針葉樹天然林であった.

低標高域の稚樹密度は1.7±0.8本/m², 高標高域の稚樹密度は2.5±1.8本/m²であった.

調査時点で生残していた個体の剥皮率は, 低標高域の調査区の平均で12.2%, 高標高域の調査区の平均で5.5%であった. 枯死個体については剥皮かどうか判定することが難しい個

体が多く, 十分な標本数を確保することができなかった. AICによるモデル選択の結果, 立木の剥皮率はサイズが小さい個体, 糞粒数が多い調査区, 低標高域で高かった. 一方, 剥皮率に対する樹種の影響は明確ではなかった.

AICによるモデル選択の結果, 稚樹密度は糞粒数が多い調査区(図2), 高標高域で多かった. 稚樹の剥皮率は, 生残していた個体では低標高域で22.9%, 高標高域で8.3%, 枯死個体では低標高域で93.4%, 高標高域で69.0%であった. AICによるモデル選択の結果, 稚樹の剥皮率は個体サイズが大きく, 調査区の糞粒数が多い, 低標高域で高かった. 一方, 剥皮率に対する樹種の影響は明確ではなかった.

立木, 稚樹ともに糞粒数が多いほど剥皮率が高く, ニホンジカがよく利用する場所において剥皮が発生すると考えられた. 稚樹の本数密度は糞粒数が多いほど少なかったこと, 稚樹の枯死個体は低標高域で93.4%, 高標高域で69.0%と非常に高い割合で剥皮されていたことから, ニホンジカによる摂食の影響は特に稚樹で深刻であると考えられる. また, 調査区ごとの糞粒数を考慮しても高標高域の方が稚樹密度が高く, 立木や稚樹の剥皮率が低かった. 糞粒数は調査時期前後でのニホンジカ密度を示すと考えられるが, 高標高域のニホンジカ密度は10月以外の時期についても低標高域より低い可能性が考えられる.

3-2 ニホンジカの出没状況

ニホンジカの撮影枚数は, 2200 mでは2011年6月上旬, 2500 mでは6月下旬, 2700 mでは7月上旬にピークが見られ, 季節の進行とともに高標高へニホンジカが移動していることが示唆された(図3). また, ダケカンバ林の方が撮影枚数多い傾向が見られた.

3-3 ミヤマハナシノブの組織培養による増殖

BAP, GA₃無添加区では, 頂芽そのまま伸長し, 培養開始15日頃には発根するシュートも観察された(写真4). GA₃ 1 mg/l添加区においても, BAP, GA₃無添加区と同様に芽から1本のシュートを形成し, 発根するシュートが観察された. BAPを単独, あるいはBAPとGA₃を組み合わせて添加した処理区では頂芽から1本のシュートが伸長し, その基部から二次的にシュートが伸長し多芽体を形成した(写真5). 本研究の範囲で

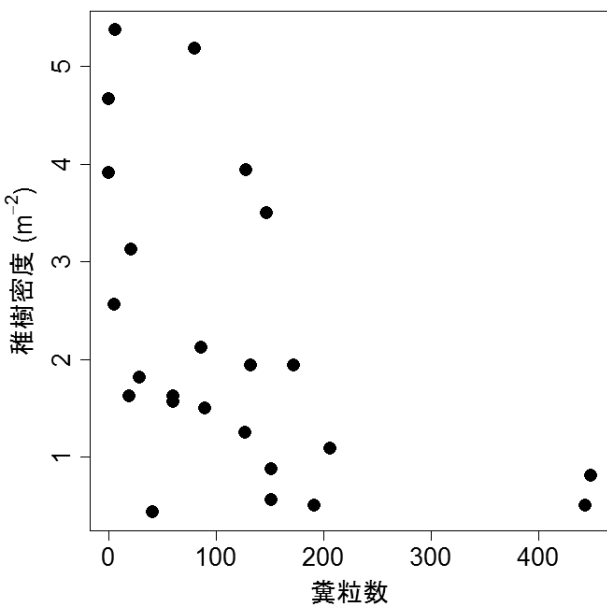


図2 糞粒数と稚樹密度の関係

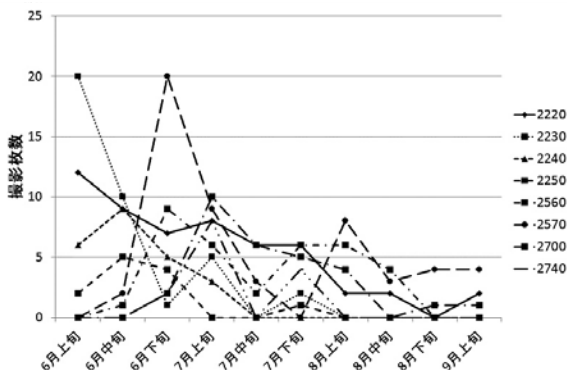


図3 ニホンジカの出没状況



写真4 シュートの伸長・発根

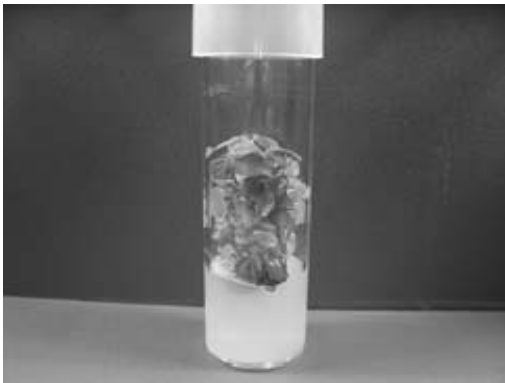


写真5 多芽体の誘導



写真6 順化が終了した培養苗

はいずれの濃度のBAPを単独,あるいはBAPとGA₃を組み合わせる場合でも,シュートの増殖に有効であった。しかし,培地にBAPを添加した場合,葉条の形態的な異常や白化を引き起こす可能性があることが報告されている。また,多芽体形成時のBAP添加によって培養容器内での生育は早い,葉条がいくぶん軟弱に育つ傾向があるため鉢上げ率が低下することも報告されている。これらのことからBAPを単独,あるいはBAPとGA₃を組み合わせる場合で8処理区で継代培養を実施し,継代培養および発根での増殖において,初代培養における処理区を選択する必要があると考えられる。

発根した個体のほとんどが順化可能であった(写真6)。タカネビランジ,タカネマンテマでは順化後,9ヶ月間育苗した培養苗の中には開花する個体が観察されており,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。

3-4 ニホンジカの捕獲

表1に示したとおり,2011年10月25日~28日4日間麻酔銃による捕獲を実施し,メス4頭を捕獲した(写真8~11)。

ワナでは4月から誘引を継続し,第3回捕獲を実施する前日まで誘引物の誘引効果を確認した。

ワナのゲートの開放期間にシカが進入した状況を図4にまとめた。2011年10月7日にも2~3歳のオスの進入を確認した。その後,12月17日まで進入の記録が無かった。12月17日の進



写真8 捕獲個体1101



写真9 捕獲個体1102



写真10 捕獲個体1103



写真11 捕獲個体1104

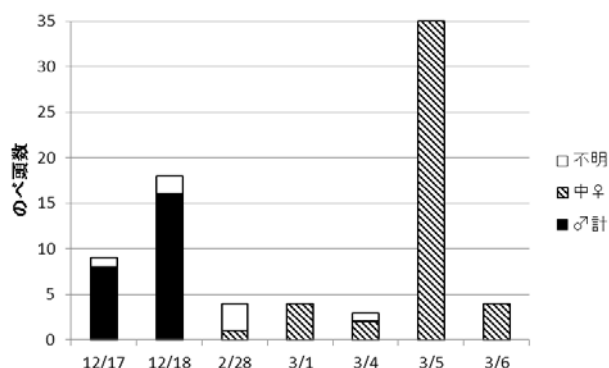


図4 大型囲いワナへのシカの進入記録

入後、また相当な間進入は無く、2月28日から3月6日の期間に頻繁に進入することが確認された(図4)。

2012年2月28日から3月8日まで、3回に渡って捕獲を実施したが捕獲には至らなかった。今回の捕獲事業においてシカの捕獲に至らなかった原因は、牧草地としての環境が良好であったことによる誘引物の誘引効果の低下、刈り取った牧草の誘引効果の低下、急に出来たワナに対する警戒、ワナ設置完了から捕獲開始までの期間の短さが考えられた。

また、これからの対策として、牧草地内で捕獲するための新たな誘引方法を考案すること(例えば、誘引するため牧草を柵内で育てる)、誘引効果が高い降雪の直後に捕獲を実施すること等があげられた。

3-5 ニホンジカの飼育

行動類型では、施設導入から1週間までの間は、走行、フェンスへの激突行動が観察されたが次第に減少し、フェンスへ

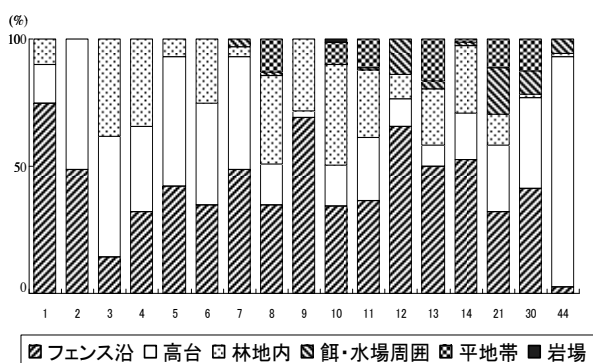


図5 行動類型の時間割合

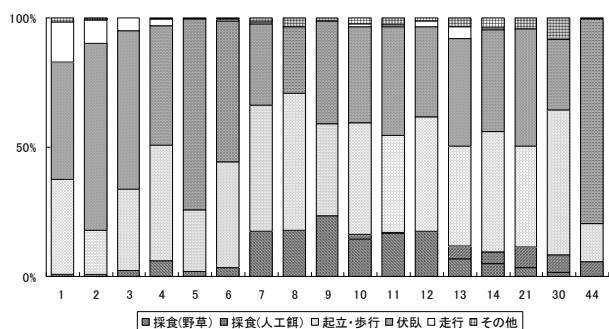


図6 施設内における滞在割合

の激突は8日目以降観察されなくなった。しかし、導入後28日目に1頭がフェンス沿いで死亡しているのが確認された。フェンス支柱には血痕が観察され、病理解剖を行ったところ第三頸椎および第四頸椎の粉碎骨折が認められた。周辺には犬の足跡が見られたことから、犬の接近に驚きフェンスに激突したものと推測された。このため、外部から施設へ容易に接近できないよう、5 mの幅で飼育施設周囲に電気牧柵を設置した。一定の距離を設けたことにより、シカは接近者に突然遭遇する機会が減少し、安全な場所に逃避することが可能となった。

採食行動は、導入後3日目から観察されたが割合は少なく、7日目以降から自生植物の採食が増加した。給与飼料の積極的な採食は13日目以降からであった(図5)。

施設内における滞在割合では、フェンス沿いと高台での滞在割合が観察期間を通じて高く、林地内での滞在は自生植物の減少に伴い低くなる傾向にあった。餌場周辺と平地は、どちらも滞在割合は低いものの、導入後8日目以降から滞在が開始され、シカの飼育施設内における利用場所が増加している様子が観察された(図6)。

これらのことから、飼育状況下では導入から約1週間はフェンスへの衝突や走行といった行動が生ずる可能性が高く、飼育を行う際には注意が必要であると思われる。また、この期間はシカがフェンス沿いを走行する割合が高く、接合部やゲートのボルト等で外傷や耳標の脱落を生じやすいことから、設置に際しては突出部分が外側に向くよう配慮すると共に、必要に応じてフェンス内側に1.5 mの樹木食害防止ネットを張ることで軽減される。

給与飼料に関しては、採食開始までには約2週間を要していることから、飼育施設の設置に際しては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。給与飼料に対する嗜好性調査では、圧ペントウモロコシ>配合飼料>ペレニアルライグラス>ヘイキューブ>野草の順に高く、乾草の採食は観察されなかった。また、通常給与を行っている飼料の採食量は、1頭あたりヘイキューブ1.5 kg、圧ペントウモロコシ300 g、配合飼料300 gであったが、1月下旬からヘイキューブの採食量が低下した。ヘイキューブを自由採食させたニホンジカでは、10月から2月にかけて採食量が減少することが報告されており、冷温帯のシカ科における自由採食量の季節変化によるものと推測される。

引用文献

- 1) Takeuchi, T., Kobayashi, T., and Nashimoto, M.: Forest Ecology and Management, Vol 261, No11, P2089-2095. (2011)
- 2) R Development Core Team.: R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, <http://www.R-project.org/>. (2011)
- 3) Murashige T and F. Skoog: Physiologia Plantarum Vol, 15, No, 3 473-497 (1962)

成果発表

学会発表

- 1) 長池卓男・飯島勇人:南アルプス北岳亜高山帯におけるニホンジカ出現の季節変化, 第1回関東森林学会, 前橋, 2011

タカネマンテマ (*Silene wahlenbergella*) の大量増殖系の確立と 種子生産能力の調査

亀井忠文

(山梨県立笛吹高等学校)

要約 タカネマンテマの組織培養による大量増殖系および屋外栽培方法を確立した。培養部位は生長期の根元に派生する分枝シュート腋芽の茎頂組織が適当だった。培養確立および大量増殖のためのシュート塊誘導はMS処方 (Murashige・Skoog, 1962) に BA (N⁶-benzyladenine) 0.5 mg/l~1.0 mg/l 添加でシュート発生が優れた。根毛を多数有する不定根の誘導には2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) 0.5 mg/l 添加がきわめて有効であった。順化および屋外における栽培は容易だった。

開花期間や種子生産能力について栽培中の50個体を調査した。甲府盆地での開花日は平均4月18日、開花最終日は平均5月16日、開花期間は平均29.5日だった。1蒴果あたり平均145.0個の種子が得られた。1個体には平均861.3個の種子ができた。50個体から計41,466個採種できた。

Establishment of Multiplication System and Survey on Seed Productivity for Takane-mantema (*Silene wahlenbergella*) from Minami-Alps mountains, Yamanashi Prefecture

Tadafumi KAMEI

(Yamanashi Prefectural Fuefuki High School)

Abstract Multiplication system for Takane-mantema (*Silene wahlenbergella*) was established by tissue culture. For the explant in primary culture, we used the shoot apex of the ramification axillary bud or seedling *in vitro*. Many shoots in primary culture were obtained in MS medium supplemented with BA 0.5-1.0 mg/l. Multiple shoots were obtained in the same MS medium as primary culture. Roots with many root hairs were effectively developed in MS medium supplemented with 2,4-D 0.5 mg/l. Acclimation and the outdoor cultivation were easily accomplished.

Flowering period and the seed productivity were investigated for 50 plants in a cultivation condition. The day of first flowering, the day of final flowering and flowering period were recorded for each plant. Average the day of first flowering, the day of final flowering and flowering period in Koufu Basin were April 18, May 16 and 29.5 days, respectively. 145.0 seeds were produced, on average, in a capsule, and 861.3 seeds were produced, on an average, in a plant. (Total seeds number in 50 plants was 41,466.)

1. 緒言

南アルプス(赤石山脈)は地史的にたいへん古く、氷期に遙か北方から日本列島に進入し、その後の温暖化で取り残された周北極要素の植物など、植物地理学的に貴重な植物を多数産する。

しかし、近年北岳山頂付近などの高山域においても酸性雨が観測され、気温の上昇が指摘されるなど、これら植物の生育環境が劣化してきている^{1,2)}。また、最近ではニホンジカの食害が南アルプスの全域にわたって深刻化しつつあるという³⁾。

筆者は以上のような状況を意識しつつ南アルプス高山域に生育し絶滅が危惧されるいくつかの植物種について、保全・増殖技術の開発とその教材化を進めてきた⁴⁾。

タカネマンテマ (*Silene wahlenbergella*) は、ナデシコ科 (Caryophyllaceae) の多年草で、我が国では北岳など南アルプス北部の高山域のみに生育し、当地の個体群は世界的には分布の南限となっている。本種は環境省「レッドリスト」⁵⁾ で絶滅危惧 I A 類にランクされ、個体数は100個体以下と推定されており絶滅寸前である。

本報においては、組織培養による大量増殖系の確立や個体の種子生産能力の調査など、筆者がこれまでに明らかにし報告した本種の増殖や栽培に関する一連の知見を整理すること

とする。

なお、実験に用いた材料はすべて環境省および山梨県の許可を得て採種、発芽させて得た実生個体またはそれを元に増殖した個体である。

2. 実験方法

2-1 組織培養による大量増殖系の確立⁶⁾

(1) 培養部位の選定と無菌培養系の確立

この実験では、本種の組織培養の培養部位として、花茎腋芽の茎頂組織、株の根元から派生する分枝シュートの頂芽の茎頂組織、そして子葉の展開した無菌培養実生のいずれが適当か調べた。花茎腋芽と分枝シュートは、茎頂組織を含む切片を10 mm長程度に調整した後、いずれも0.1% Tween20を滴下した次亜塩素酸ナトリウム (NaClO) 水溶液 (有効塩素1.0%) に15分間浸漬・攪拌して表面殺菌した後、クリーンベンチに持ち込み滅菌水で3回洗浄を行った。茎頂組織を双眼実体顕微鏡下で0.5~1.0 mm程度の大きさに摘出しそれぞれ培地に置床した。実生は無菌的に供試培地に継代培養した。培地は Murashige・Skoog⁷⁾ の処方 (以下、MS処方という) を基本とし、ショ糖20 g/l と BA (N⁶-benzyladenine) 0.1, 0.5 および 1.0 mg/l の各濃度で添加した計3種類とし、pH5.6に調整した後固着剤としてゲルライトを3 g/l 添加しオートクレーブで加圧滅菌 (121°C,

20分間、1.2 kg/cm²した後冷却した。培養条件は恒温培養室内において温度20±2°C、白色蛍光灯24時間照明下で試験を行った。それぞれ20個ずつ供試した。培地置床後30日目に各培地における外植体の生存状況や生育状況(平均シュート発生本数)を比較観察し本種の組織培養に適した培養部位とその好適培地を判定した。なお「シュート」とは、ここでは本葉2、3枚以上を有する不定芽をさすものとした。

(2)シュート塊の形成と分割増殖

大量増殖を目的として、1)で得られた本葉2、3枚を有するシュートを1本ずつに切り分け、それからのシュート塊(多芽体)の誘導を試みるため、引き続き先述の3種類の培地に継代培養した。培養条件も同一とした。継代後30日目に各培地におけるシュート塊の形成状況(平均シュート発生本数)を比較観察し、好適培地を判定した。それぞれ20個ずつ供試した。

(3)不定根の誘導・順化と大量増殖系の確立

不定根の誘導を目的として、2)で得られたシュート塊(シュート3~5本有する組織塊)を1個ずつ、基本培地・培養条件を一切変えずに植物ホルモンの部分のみ改変した不定根誘導培地に置床した。供試培地には、植物ホルモン無添加およびNAA(α-Naphthaleneacetic acid)と2,4-D(2,4-dichlorophenoxyacetic acid)をそれぞれ0.1、0.5および1.0 mg/lの各濃度で添加した計7種類を用いた。それぞれ20個ずつ供試した。置床後30日目に各培地における不定根の誘導・形成状況(平均不定根本数、根毛発生程度)を比較観察し、好適培地を判定した。

十分に発根した培養個体を培養ビンから出し、根を損傷しないように注意しながら流水で固化剤を洗い流し、湿った用土を詰めたポリポットに植えた。用土は前報¹⁾のタカネビランジ栽培用のものとした。湿度を保つためポリポットごとビニル袋で覆い10日間培養室内に置いた。その後通常栽培に移行し生存状況を観察した。

2-2 種子生産能力の調査²⁾

2008年8月北岳で採種した種子を無菌播種して苗に養成し、本校附属農場(山梨県笛吹市)にて鉢植え栽培してきた個体のうち50個体を任意に抽出し実験に用いた。各個体ごとに開花初日・開花最終日・開花期間を記録し、さらに花茎の本数、蒴果の着果数および1蒴果あたりの種子数を数え、この植物の種子生産能力の特性を調べた。調査は、2010年年春から夏にかけて行った。開花日の調査は、50個体からランダムに1個ずつ花を選び合計50個の花で行った。「開花初日」とは5枚の花弁が完全に開いた日とした。「開花最終日」とは受粉・受精を終えた萼筒が真上を向き、その後蒴果の頂部が裂けはじめた日とした。「開花期間」とは開花日から開花最終日までの日数とした。花茎本数および蒴果の着果数は直接観察により確認した。採種時期は蒴果頂部が裂け2 mmくらいの穴ができて中の種子が見えた日とし、種子数はすべての蒴果について数えた。

3. 結果

3-1 組織培養による増殖系の確立

(1)培養部位の選定と無菌培養系の確立

タカネマンテマの組織培養による大量増殖系の確立を試みた。培養部位の培養結果は図1のとおりだった。分枝シュートの頂芽茎頂組織または無菌播種で得た実生では、MS処方にBA0.5および1.0 mg/l添加の範囲で、前者が平均シュート発生本数13.7および16.8本、同様に後者が14.4および14.8本であった。BA0.1 mg/lでは、どちらも本数が8本程度と少なかった。なお、花茎腋芽ではシュート発生本数が著しく少なかった。

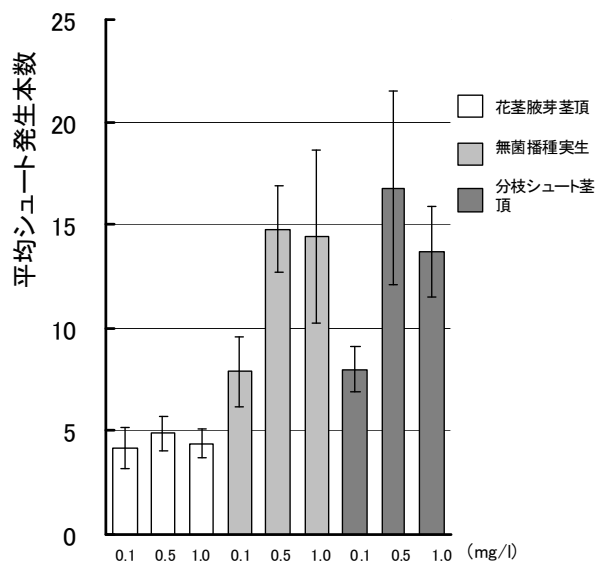


図1 タカネマンテマ組織培養における外植体およびBA添加濃度がシュート発生に及ぼす効果
基本培地MS処方、20±2°C、3000lx、24時間照明、各区20個供試。置床30日後に調査。縦棒は標準誤差。

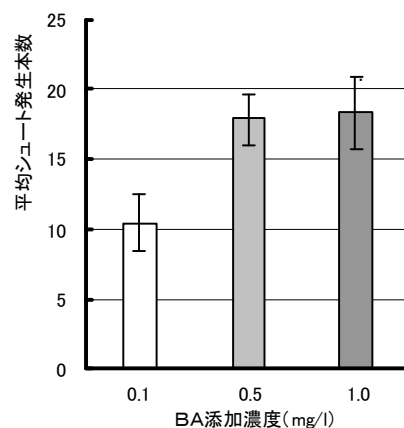


図2 タカネマンテマ組織培養におけるBA添加濃度とシュート発生本数

各区20個供試。置床30日目に調査。縦棒は標準誤差。培養条件は図1と同じ。

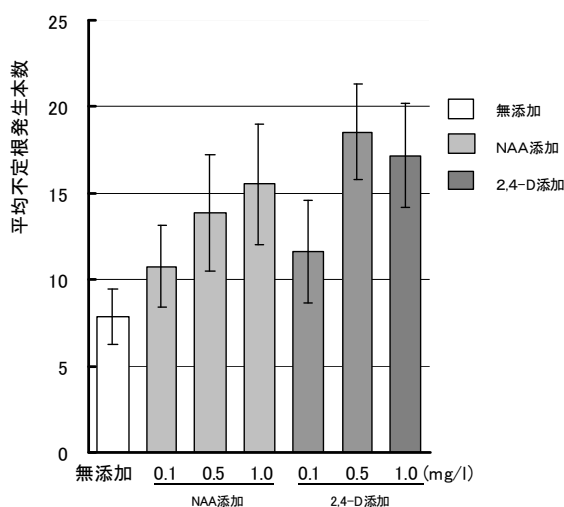


図3 タカネマンテマ組織培養におけるオーキシン (NAAおよび2,4-D) 添加濃度と不定根誘導状況
各区20個供試。置床後30日目に調査。縦棒は標準誤差。
培養条件は第5図と同様。



図4 屋外栽培中の培養起源個体 (笛吹高等学校附属農場)

た。

(2) シュート塊の形成と分割増殖

分枝シュートから得たシュートの増殖率を上げるための培養条件は、平均シュート発生本数から調べ、BA0.1 mg/l添加で10.5本、0.5 mg/l添加で17.9本、1.0 mg/l添加で18.4本であった。本種の大量増殖のためのシュート塊誘導にもBA0.5~1.0 mg/l添加の範囲が適していた (図2)。

(3) 不定根の誘導・順化と大量増殖系の確立

不定根はいずれの試験区でも観察された (図3)。不定根誘導状況は、2,4-D 0.5および1.0 mg/l添加の範囲が良好で18.6および17.2本、次いでNAA 0.5および1.0 mg/l添加の範囲でもよく発根した。無添加でも7.9本の発根が見られた。なお、2,4-D 0.5 mg/l添加区では、根毛を無数に有する細根が多数誘導され、不定根誘導には2,4-D 0.5 mg/l添加区が有効であった。

その後の順化・屋外栽培においては、タカネビランジと同じ方法¹⁰⁾で問題なかった。ただし、やや乾燥に弱い傾向が見られたので、湿度保持に注意する必要があった。増殖個体の栽培の様子を図4に掲げる。

表1 タカネマンテマの開花時期(2010)⁴

項目	最も早い個体	最も遅い個体	平均
開花初日 ⁵⁾	4月7日	4月20日	4月18日
開花最終日 ⁶⁾	5月6日	5月27日	5月16日
開花期間(日) ⁷⁾	22.5	35.0	29.5

⁴⁾50個体供試。⁵⁾5弁が完全に開いた日。⁶⁾受粉・受精を終え蒴果の頂部が裂けはじめた日。⁷⁾開花初日から開花最終日までの期間。

表2 花・蒴果および種子の数(2010)²⁾

1個体あたり平均花茎発生本数	2.7本
1花茎あたり平均蒴果数	2.2個
1蒴果あたり平均種子数	145.0個
1個体あたり平均種子数	861.3個

²⁾50個体供試

以上の実験結果を組み合わせることにより、本種の組織培養による大量増殖系を確立した。

3-2 種子生産能力の調査

まず、栽培中のタカネマンテマ50個体の開花初日・開花最終日・開花期間は表1のようだった。

開花初日は、最も早い花で4月7日、最も遅い花で4月30日、平均4月18日だった。開花最終日は、最も早い花で5月6日最も遅い花で5月27日、平均で5月16日だった。1つの花の開花期間は平均29.5日だった。花茎は実験に用いた50個体から計133本得られた。1個体あたり平均2.7本ということになる。蒴果は50個体から計286個得られた。花の数は1花茎あたり平均2.2個だった。種子は50個体から計41,466個得られた。1蒴果あたり平均では145.0個の種子が得られた (表2)。

4. 考察

タカネマンテマ (*Stene wahlenbergella*) は環境庁2000年版「レッドデータブック」¹¹⁾で絶滅危惧IB類 (EN) にリストされ、生育地7メッシュ中3メッシュで現状不明、現存する4メッシュではそれぞれ数十個体が確認され総計約100個体と推定された。平均減少率は約50%、20年後の絶滅確立は約50%とされた。その後2007年IA類に格上げされた⁹⁾。個体数減少の主因は園芸用の採集で、本種に関しては今のところシカによる食害の報告はないが、登山客の踏みつけの影響などが指摘されている。

本種の増殖法については、西川ら⁹⁾が組織培養を試み順化に至ったと報告している。著者ら¹⁰⁾はNaClO水溶液浸漬による種子の休眠打破と無菌播種による実生個体獲得法並びに屋外栽培法について報告した。また本報で紹介したように、生育期に根元に多数生じるシュート (「分枝シュート」と呼称) の腋芽茎頂組織の培養によるきわめて効率よい大量増殖系を独自に開発した⁶⁾。安定的な種子繁殖法・栄養繁殖法 (組織培養) の完成により、実生苗獲得が周年可能となり、一応絶滅回避のための技術は確立できたと考えている。

さらに本種の種子生産能力の調査結果⁸⁾について紹介し

た。1個体あたりの種子生産能力等を明らかにしたが、原報⁸⁾ではこれら栽培個体で得たデータをもとに、南アルプス野生個体群において毎年発芽する種子の定着状況について推測した。それは個体群の存続に殆ど寄与しない程度であり、キタダケノウより遙かに絶滅の危険性が高くより深刻であると結論づけた。著者はほぼ毎年北岳にて調査を行っているが、山頂付近の稜線上でこの貴重な植物を見つけることは最近ではきわめて稀である。鳳凰三山を中心に分布するタカネビランジは個体数が多いが、北岳のタカネマンテマは正に絶滅寸前状態といえる。著者は本報で紹介したような本種の絶滅回避のための技術開発のほか、現在本種の育種的可能性を探っており、将来的には優良個体を選抜して流通させることができれば、野生個体の盗掘の抑止力になるものと考えている。

なお、著者らは本種と同属で同じく南アルプス固有種のタカネビランジ (*Silene akaisialpina*) について、安定的な種子繁殖や組織培養を含む栄養繁殖法による大量増殖法並びに屋外栽培法^{10,12)}を報告した他、本種の受粉様式(雄性先熟する多殖性植物)を突き止め⁶⁾、DNAマーカーを利用した狭義のタカネビランジとシロバナタカネビランジを識別する手法¹³⁾を報告した。

本報で紹介したタカネマンテマやタカネビランジの種子繁殖、組織培養による大量増殖、屋外栽培に関するデータは、本研究の目的の一つであるシカ食害からの個体の緊急避難技術として、万が一の場合に十分活用できるものと考えられる。

さらにこれらの技術は、エゾマンテマ *S. foriosa*、カムイビランジ *S. hidaka-alpina*、チシママンテマ *S. repens* var. *latifolia*、スガワラビランジ *S. stenophylla* (以上、絶滅危惧 I A 類)、カラフトマンテマ *S. repens*、アオモリマンテマ *S. aomorensis*、オオビランジ *S. keiskei*、アポイマンテマ *S. repens* var. *apoiensis*、テバコマンテマ *S. yanoei* (以上、絶滅危惧 II 類) など¹¹⁾、同属の絶滅危惧植物や他のなでしこ科植物の保全・増殖への応用が可能と思われる。

引用文献

- 1) 日本高山植物保護協会: JAFPA, No.39:2-3 (2002)
- 2) 名取俊樹: 日本生態学会誌, 49:301-305 (1999)
- 3) 元島清人: 増沢編著: 高山植物学, 共立出版, 東京, p.414-420 (2009)
- 4) 亀井忠文: 山梨県における絶滅危惧植物の保全や増殖技術の確立とそれを教材とする農業高等学校における学習指導法の開発に関する研究(東京農工大学大学院博士学位論文). 144pp (2010)
- 5) 環境省: http://www.biodic.go.jp/rdb/rdb_top.html(2007)
- 6) 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)
- 7) Murahige and Skoog: *Physiol.Plant.*, 15:473-497.(1962)
- 8) Kamei, T., Y. Takahashi and T. Yoshida: *Japan. J. Agric. Educ.*, 42:49-53 (2011) (in press)
- 9) 西川浩己, 清藤城宏: 山梨県森林総合研究所研究報

告, No.28:1-9 (2009)

- 10) 亀井忠文, 吉田智彦: 日本農業教育学会誌, 39:33-42 (2008)
- 11) 環境庁: 改訂・日本の絶滅のおそれのある野生植物 8 (維管束植物) (2000)
- 12) 亀井忠文: 山梨科学アカデミー会報, 第22号: 54-74 (2006)
- 13) 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)

成果発表状況

学会誌等掲載

- 1) 亀井忠文, 吉田智彦: 山梨県における絶滅危惧植物の保全および増殖技術の開発とその教材化(第1報)南アルプスにおけるマンテマ属絶滅危惧植物の教材化, 日本農業教育学会誌, 39:33-42 (2008)
- 2) 亀井忠文, Ly Tong, 吉田智彦, 和田義春: DNAマーカーを利用した絶滅危惧植物タカネビランジ (*Silene akaisialpina*) における鳳凰三山と北岳産個体の識別とその教材化, 日本農業教育学会誌, 40:67-81 (2009)
- 3) 亀井忠文, 吉田智彦, 和田義春: 山梨県における絶滅危惧植物の保全および増殖技術の開発とその教材化(第2報)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の確立. 日本農業教育学会誌, 40:93-104 (2009)
- 4) 亀井忠文, 吉田智彦, 和田義春: 山梨県における絶滅危惧植物の保全および増殖技術の開発とその教材化(第3報)南アルプス産ツリガネニンジン属 (*Adenophora Fischer*) 2種の組織培養による増殖法の検討, 日本農業教育学会誌, 40:105-113 (2009)
- 5) 亀井忠文, 吉田智彦, 和田義春: 山梨県における絶滅危惧植物の保全および増殖技術の開発とその農業高等学校における教材化(第4報)微細繁殖法によるキタダケデンドラの増殖技術の確立, 日本農業教育学会誌, 41:1-10 (2010)
- 6) Kamei, T., Y. Takahashi and T. Yoshida: Conservation and Multiplication of Endangered Plants in Yamanashi Prefecture and Its Application for Teaching in Agricultural High School V. A survey on the Seed Productivity of Takane-mantema (*Silene wahlenbergella*). *Japan. J. Agric. Educ.*, 42:49-53 (2011) (in press)

北岳に生育するミヤマハナシノブ全4集団における遺伝的多様性と 遺伝構造

横川昌史¹, 長池卓男², 西川浩己², 井鷲裕司¹

(¹京都大学農学研究科, ²山梨県森林総合研究所)

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および遺伝構造を評価した。北岳に分布するミヤマハナシノブの既存のすべての集団(大樺沢, 草すべり, 旧北岳山荘, 大樺沢下流)において遺伝解析用のサンプルを採取した。近縁種であるハナシノブで開発された10遺伝子座を用いて遺伝的多様性および遺伝構造を評価した。10遺伝子座のうち, 3遺伝子座は多型が検出されなかったため, 遺伝的多様性および遺伝構造の解析からは除外した。遺伝的多様性は草すべりで低い傾向にあったが, 全体として大きな違いはなかった。遺伝的分化の指標である F_{ST} , R_{ST} の値はともに小さかった。STRUCTURE解析を用いて, 遺伝構造の評価を行ったところ, 4つの集団間には遺伝的な分化は認められなかった。

Genetic diversity and genetic structure of all four populations of *Polemonium caeruleum* ssp. *yezoense* var. *nipponicum* in Mount Kita

Masashi YOKOGAWA¹, Takuo NAGAIKE², Hiroki NISHIKAWA², Yuji ISAGI¹

(¹Graduate School of Agriculture, Kyoto University, ²Yamanashi Forest Research Institute)

Abstract *Polemonium caeruleum* ssp. *yezoense* var. *nipponicum* (Polemoniaceae) is a threatened perennial herb that occurs in Mount Kita, central Japan. We investigated genetic diversity and genetic structure of all known four populations (Okanbasawa, Kusasuberi, Old-Kitadakesanso and lower Okanbasawa) of *P. caeruleum* ssp. *yezoense* var. *nipponicum* using ten microsatellite markers to inform future conservation management strategies for the species. Because three of these 10 loci were monomorphism, these three loci were excluded from analysis of genetic diversity and structure. Level of genetic diversity in Kusasuberi was much lower than that in other populations. F_{ST} value and R_{ST} values among the four populations were very low. STRUCTURE analysis indicated that there was no genetic divergence among the four populations.

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被害も確認されており, 個体群動態への影響が懸念されている。

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⁵⁾。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⁵⁾。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⁶⁾。昨年度の報告によって, ミヤマハナシノブ3集団の間で遺伝的多様性に差がなく, 対立遺伝子の組成に違いがないことが示された

⁷⁾。本報告では, 北岳の高標高域に生育するミヤマハナシノブ集団のサンプルを加えて, 既存のサンプルと遺伝的多様性を比較し, 遺伝構造の評価を行った。

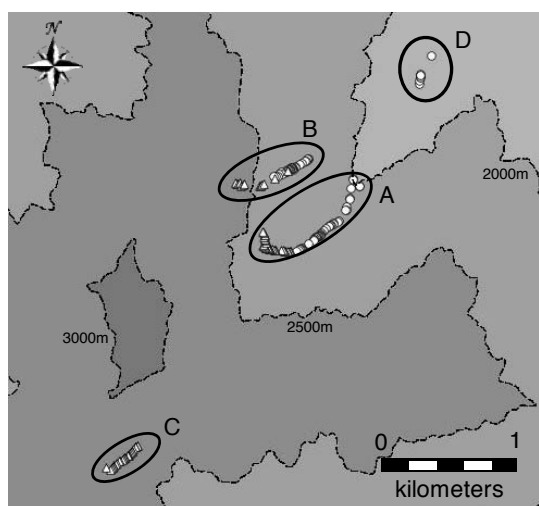
2. 方法

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, 大樺沢下流の4カ所である(図1)。2011年11月に登山道沿いを歩きながら大樺沢の一部, 草すべりの一部, 旧北岳山荘においてDNA解析用のサンプルを採取した。2010年に採取したサンプル⁸⁾と合わせて大樺沢から73個体, 草すべりから52個体, 旧北岳山荘から32個体, 大樺沢下流から8個体, 合計165個体を対象に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DNA抽出まで-30°Cで保存した。

2-2 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⁸⁾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 *P. kiushianum* Kitam. (ハナシノブ科) 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9座⁶⁾(Pkiu006, Pkiu129, Pkiu208, Pkiu227, Pkiu314⁸⁾; Pkiu853, Pkiu961, Pkiu965, Pkiu1052, Yokogawa et al. unpublished data)を用いて解析を行った。また, ハナシノブで開発されたマイクロサテライト遺伝子座を用い



○ 2010年採取 A: 大樺沢 B: 草すべり
△ 2011年採取 C: 旧北岳山荘 D: 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。

たスクリーニングを新たに行い、1座(Pkiu135⁸⁾)においてミヤマハナシノブでも良好なピークパターンが得られることを確認した。この遺伝子座Pkiu135も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5 ng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 $^{\circ}$ C15分の後、熱変性94 $^{\circ}$ C30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 3100 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。

2-3 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(N_A : number of alleles per locus), 特定の集団にしか出現しない固有対立遺伝子(P_r : private allele), ヘテロ接合度の観察値(H_O : observed heterozygosity), ヘテロ接合度の期待値(H_E : expected heterozygosity)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(A_R : allelic richness)¹⁰⁾を算出した。また、FSTAT¹¹⁾を用いて固定指数 F_{IS} の算出および各遺伝子座におけるハーディ・ワインベルグ平衡からのずれを検定した。

個体群間の遺伝的分化を評価するため、GenAlEx¹²⁾を用いてペアワイズの F_{ST} 値および R_{ST} 値を算出し、それぞれの0からのずれの有意性を検定した。また、集団遺伝構造を評価するため、STRUCTURE¹³⁾(以後、STRUCTURE解析と呼ぶ)を用

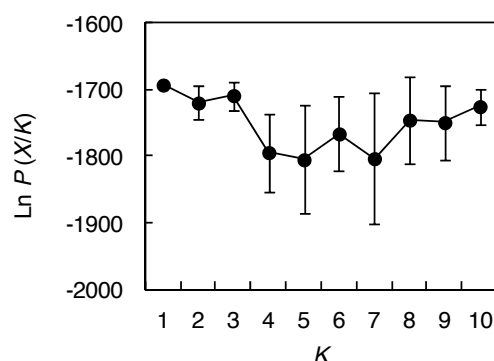


図2 STRUCTURE解析における $K = 1$ から $K = 5$ の場合の $\ln P(X/K)$ 。エラーバーは10回のランのそれぞれの $\ln P(X/K)$ の標準偏差を表す。

いた解析を行った。STRUCTURE ver.2.3を用いて、admixture model, allele frequencies model¹⁴⁾, LOCPRIOR model¹⁵⁾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 $K = 1 \sim 10$ について10回の繰り返しで計算した。

3. 結果

10遺伝子座において全165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(N_A)が2.29~4.00, 平均対立遺伝子多様度(A_R)が2.20~2.66, ヘテロ接合度の観察値(H_O)の平均値が0.23~0.33, ヘテロ接合度の期待値(H_E)の平均値が0.25~0.40であった(表1)。固有対立遺伝子は大樺沢, 草すべり, 旧北岳山荘においてのみ検出された(表1)。また、平均固定指数(F_{IS})は0.04~0.15で、遺伝子座別に見た場合、高い値を示す遺伝子座もあったが(表1)、各遺伝子座におけるハーディ・ワインベルグ平衡からの有意なずれは検出されなかった。

遺伝的分化の指標である集団間の F_{ST} および R_{ST} はいずれも大きな値は示さなかった(表2)。 F_{ST} に関してはそれぞれの集団間で有意に0よりも大きかったが、 R_{ST} では有意差はなかった(表2)。集団遺伝構造の解析であるSTRUCTURE解析では任意交配集団を1つと仮定した場合にもっとも対数尤度($\ln P(X/K)$)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)。

4. 考察

4-1 ミヤマハナシノブの遺伝的多様性

本研究で解析した4集団で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(A_R)は、草すべりで低い傾向にあった(表1)。大樺沢, 草すべり, 旧北岳山荘は明るい高草草本群落の中にミヤマハナシノブが多数群生している

表1 ミヤマハナシノブの4集団における遺伝的多様性

遺伝子座	大樺沢 (n = 73)						草すべり (n = 52)					
	N_A	A_R	Pr	H_O	H_E	F_{IS}	N_A	A_R	Pr	H_O	H_E	F_{IS}
Pkiu006	9	3.80	2	0.45	0.47	0.04	7	3.60	1	0.52	0.64	0.19
Pkiu129	3	2.80	0	0.48	0.49	0.02	3	3.00	0	0.44	0.55	0.20
Pkiu135	6	3.40	0	0.34	0.49	0.32	6	2.90	1	0.29	0.56	0.48
Pkiu227	2	1.90	0	0.21	0.25	0.17	2	1.00	0	0.12	0.11	-0.06
Pkiu853	3	2.50	0	0.32	0.32	0.01	3	1.00	0	0.33	0.36	0.08
Pkiu961	3	2.60	0	0.40	0.51	0.22	3	2.00	0	0.35	0.45	0.23
Pkiu1052	2	1.60	0	0.11	0.13	0.14	2	1.90	0	0.12	0.11	-0.06
平均	4.00	2.66	0.29	0.33	0.38	0.13	3.71	2.20	0.29	0.31	0.40	0.15

遺伝子座	旧北岳山荘 (n = 32)						大樺沢下流 (n = 8)					
	N_A	A_R	Pr	H_O	H_E	F_{IS}	N_A	A_R	Pr	H_O	H_E	F_{IS}
Pkiu006	7	4.30	1	0.41	0.60	0.32	4	4.20	0	0.25	0.33	0.24
Pkiu129	3	2.70	0	0.47	0.52	0.09	3	2.40	0	0.38	0.53	0.29
Pkiu135	4	3.30	0	0.27	0.33	0.20	3	2.40	0	0.38	0.40	0.06
Pkiu227	2	1.60	0	0.13	0.12	-0.07	1	1.60	0	0.00	0.00	-
Pkiu853	3	2.60	0	0.41	0.49	0.18	1	2.90	0	0.00	0.00	-
Pkiu961	4	2.40	2	0.25	0.34	0.26	2	2.50	0	0.50	0.38	-0.33
Pkiu1052	2	1.60	0	0.13	0.12	-0.07	2	1.60	0	0.13	0.12	-0.07
平均	3.57	2.64	0.43	0.29	0.36	0.13	2.29	2.53	0.00	0.23	0.25	0.04

N_A , 対立遺伝子数; A_R , 対立遺伝子多様度; Pr , 固有対立遺伝子数

H_O , ヘテロ接合度の観察値; H_E , ヘテロ接合度の期待値

表2 ペアワイズ F_{ST} (左下)およびペアワイズ R_{ST} (右下)

	大樺沢	草すべり	旧北岳山荘	大樺沢下流
大樺沢	0	0.00	0.02	0.00
草すべり	0.06	0	0.29 *	0.00
旧北岳山荘	0.01 *	0.03 *	0	0.03
大樺沢下流	0.05 *	0.02	0.02 *	0

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難い。生育環境が良好である草すべりにおいて遺伝的多様性が低い理由は現時点ではよくわからないが、過去の集団サイズの増減が関係しているかもしれない。今回新しく解析に加えた旧北岳山荘集団は、その他の集団に比べて特別高い遺伝的多様性は有していなかったが、最も多く固有対立遺伝子を持っていた。北岳全体のミヤマハナシノブの遺伝的多様性を維持するためには旧北岳山荘集団は重要であると考えられる。

4-2 ミヤマハナシノブの集団間の遺伝的分化および集団遺伝構造

本研究で解析した4集団間では、 F_{ST} および R_{ST} の値は一部の集団の組み合わせで有意に0より大きかったものの、値は極めて小さかった(表2)。また、STRCUTRE解析では、4つの集団を一つの遺伝子プールとして認識した場合に最も対数尤度が高くなった(図2)。これらの結果から、調査を行った4集団は

樹林帯で分断されているにも関わらず、遺伝的な分化は大きくないと言える。また、一般に、高標高の山岳は生物の移動を妨げ遺伝的な交流を阻害する障壁として機能することが知られている¹⁶⁾。実際に山岳の高い稜線が障壁となって遺伝子流動が制限されている例は、北米に生息するアライグマ *Procyon lotor*¹⁷⁾、北米に生息するアカガエル属の一種 *Rana luteiventris*¹⁸⁾、新熱帯に生育する木本であるセドロ *Cedrela odorata*¹⁹⁾、ウダイカンバ *Betula maximowicziana*²⁰⁾などで報告されている。今回新たに解析に加えた旧北岳山荘集団は、その他の集団とは標高2,500 m級の尾根で分断されている(図1)にもかかわらず、遺伝的組成は集団間で大きく異ならず遺伝的障壁が検出されなかった。このように調査を行った集団間で遺伝的分化が大きくない理由として比較的最近まで大きな一つの集団だった可能性、集団間で花粉や種子の移動がある可能性、調査していない樹林帯内に遺伝子流動の飛び石となるパッチ状の集団がある可能性の3つが考えられる。今後、北岳周辺の植生の変遷や送粉者の動態、登山道沿い以外でのミヤマハナシノブの分布が明らかになることで、これらの背景の特定が可能になるかもしれない。

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、草すべりで遺伝的多様性が低い傾向にあったものの、集団間の遺伝的な分化は認められなかった。これらの結果は今回調査した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。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。

参考文献

- 1) Yamazaki T: Flora of Japan Vol. IIIa, 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 I (維管束植物)], 自然環境研究センター(2000)
- 5) Flankham R, Ballou JD, Briscoe DA: Introduction to Conservation Genetics, Cambridge University Press (2010)
- 6) Schwartz MK, Luikart G, Waples RS: Trends in Ecology and Evolution, 22, 1, 25-33 (2007)
- 7) 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 (2011)
- 8) Milligan B: Molecular genetic analysis of populations: a practical approach, IRL Press, 59-88 (1992)
- 9) Yokogawa M, Kaneko S, Isagi Y: Conservation Genetics, 10, 5, 1445-1447 (2009)
- 10) El Mousadik A, Petit RJ: TAG Theoretical and Applied Genetics, 92, 7, 832-839 (1996)
- 11) Goudet J: Journal of Heredity, 86, 6, 485-486 (1995)
- 12) Peakall R, Smouse PE: Molecular Ecology Notes, 6, 1, 288-295 (2006)
- 13) Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P: Genetics, 155, 2, 945-959 (2000)
- 14) Falush D, Stephens M, Pritchard JK: Genetics, 164, 4, 1567-1587 (2003)
- 15) Hubisz M, Falush D, Stephens M, Pritchard JK: Molecular Ecology Resources, 9, 5, 1322-1332 (2009)
- 16) Manel S, Schwartz MK, Luikart G, Taberlet P: Trends in Ecology and Evolution, 18, 4, 189-197 (2003)
- 17) Root JJ, Puskas RB, Fisher JW, Swope CB, Neubaum MA, Reeder SA, Piaggio AJ: Vector-borne and Zoonotic Diseases, 9, 6, 583-588 (2009)
- 18) Funk WC, Blouin MS, Corn PS, Maxell BA, Pilliod DS, Amish S, Allendorf FW: Molecular Ecology, 14, 1, 483-496 (2005)
- 19) Cavers S, Navarro C, Lowe AJ: Conservation Genetics, 4, 5, 571-580 (2003)
- 20) Tsuda Y, Sawada H, Ohsawa T, Nakao K, Nishikawa H. Ide: Tree Genetics & Genomes, 6, 3, 377-387 (2010)
- 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)

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, 堀内雅人¹, 佐々木裕也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山梨県衛生環境研究所, ²山梨県水産技術センター, ³山梨県総合農業技術センター, ⁴山梨県森林総合研究所, ⁵山梨大学人間教育科学部)

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、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。その結果以下の諸点が明らかとなった。

- 1) 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いことが判明した。
- 2) タテボシガイは水温が30℃を超える可能性がある池等でも水質浄化に利用可能であることも明らかとなった。
- 3) 水生植物についての栽培実験では、赤色LED光は水生植物の生育に効果的であり、光質により成長形態が異なることも確認された。
- 4) 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と考えられた。
- 5) その一方で、植物体内の亜鉛含有率が高く、水生生物に影響があるとされている亜鉛の除去対策に用いることができる可能性が示唆された。

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

Kazuya YOSHIZAWA¹, Masato HORIUCHI¹, Yuya SASAKI¹, Kazutaka TAKAHASHI², Shuhei YAMASAKI³, Kazuhiro TOZAWA⁴, Jun'ichi MIYAZAKI⁵ and Yukihiko SERISAWA⁵

(¹Yamanashi Prefectural 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 2011, the first year of this study, cultivation experiments of water-plants with water tank at the various lights conditions and cultivation experiments of bivalves in a pond of the park were carried out. Several facts were revealed from these experiments; i.e.

- 1) Aquatic macrophytes and bivalves located in the experimental area were seriously damaged by attack of fishes and birds.
- 2) It was revealed that *Unio douglasiae biwae* was available for purification of water under the water temperature condition higher than 30 °C.
- 3) As a result of the cultivation experiment at 15 °C under 44 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ light intensity of different light quality and a 14 h:10 h light: dark (LD) cycle, the growth (elongation, number of branches and fresh weight) of *Elodea nuttallii* was larger under the red light than in the white light and blue green light.
- 4) According to the analysis of components included in the aquatic macrophytes, it was considered that they were usable as manure directly.
- 5) Additionally, high concentration of zinc in *Vallisneria asiatica* suggested that macrophytes would be available to remove zinc from the water and the bottom.

1. 緒言

先行研究では生態工学的手法を用いて、山中湖において底泥を利用した植栽方法により植栽した水生植物と、二枚貝による水質浄化法を試みた。本法では水質の浄化だけではなく、植物マスの有効利用による循環型社会の形成、及び底生動物や付着藻等の生物相の多様化の観点から環境に好ましい効果を期待できる。

しかし実施するには、水生植物が安定して入手できること、成長して刈取られた植物をどのように処理するか、底泥が得られない場合にはどのように植栽するか、などの課題が残された。

これらの課題を解決する方法を見出すことを目的として本研

究を実施した。

研究は次の3サブテーマで構成した。

1. 小規模な池・沼など応用水域の拡大に関する研究
公園内の池等の小規模な閉鎖性水域での適切な生物種の選定や植栽方法などの開発を行なう。
2. 発生バイオマスの有効利用に関する研究
余剰発生した水生植物の土壌改良材などへの再資源化方法の開発を行なう。
3. 水生植物の安定供給に関する研究
植栽に利用する水生植物を安定的に供給するための保存方法や、組織培養技術などを用いた栽培技術の開発を行なう。

2. 実験方法

2-1 最適二枚貝の選定試験

二枚貝による水質改善の研究は、2007～2010年までの3年間で、山中湖の水質浄化を目的として行われてきた。その結果、小型水槽を用いた室温実験ではイシガイ科のヨコハマシジラガイ(*Inversunio jokohamensis*)、ヌマガイ(*Andonta lauta*)、河口湖タテボシガイ(*Unio douglasiae biwae*)、山中湖タテボシガイ、カワシンジュガイ科のカワシンジュガイ(*Margaritifera laevis*)が有効である事、低温実験ではヨコハマシジラガイ、河口湖タテボシガイが有効である事が明らかとなった。また、タテボシガイを山中湖に移植したところ、1年間の生存率は高く、成長もみられた。生物をある環境に移植する際、その環境に適した生物を選択する事が重要である。本研究では、都市型の公園内の池や堀の水質の浄化を行う手法を確立することを目的とした。こうした池や堀の水温は山中湖と異なり夏に30℃近くになることが予想されたので、鉱物粒子であるカオリンを指標として水槽実験を行い、高水温に適した二枚貝の選定を検討した。

実験に用いた二枚貝は種名や産地が明確である貝のみを使用した。それぞれの個体は、殻長、殻高、殻幅、湿重量を測定し、識別できるようにマーキングした。

山中湖カラスガイは、2008年7月23日、8月24日、9月22日に山中湖平野ワンドにて採集した貝を用いて、2個体を1グループとし手実験に供した。一方、山中湖タテボシガイは2010年8月24日、2011年8月11日、2012年1月16日に山中湖平野ワンドにて採集した貝を用いて、10個体を1グループとして実験に供した。

水質改善の指標として濁度に注目し、人工的に濁度を上げ水槽内に二枚貝を入れた場合と、対照実験として二枚貝を入れなかった場合を比較した。45 L水槽に24 Lの水と貝を入れ、ヒーターとサーモスタットを用いて水温を30℃にした。24時間後、貝が環境に順応したところで、粒径4 μm、2 μm、0.2 μmの鉱物粒子カオリンをそれぞれ1.0 g、0.9 g、0.9 g加えて濁度をあげた。実験開始から1時間毎に36時間後まで精密な機器(OPTEX社の濁度チェッカーTC-3000)を使用して濁度を測定した。実験中はカオリンが沈殿しないよう空気量を調節出来るエアポンプを用い常に攪拌し続けた。実験は粒径毎に3回ずつ

行った。

二枚貝による浄化は次の式を用いて計算した。

$$\text{二枚貝の湿重量1 g当たりの浄化効率(\%/g)} = \{(A-B)/A-(C-D)/C\}/G \times 100 \quad \dots \text{式①}$$

ここで、

A=二枚貝を入れた際の開始時の濁度(FTU)

B=二枚貝を入れた際の36時間後の濁度(FTU)

C=対照実験開始時の濁度(FTU)

D=対照実験36時間後の濁度(FTU)

G=使用した二枚貝の合計質量(g)

とした。

2-2 遊亀公園池における野外実験

(1) 実験池の概要

甲府市太田町10番に位置する遊亀公園は平日でも多くの親子連れや年配者の憩いの場として多くの市民に親しまれている都市公園であり、遊亀公園池は遊亀公園とその園内に併設された遊亀公園附属動物園やいくつかの神社の境内を非常に緩やかに流れる水路である(図1)。水深は深い場所でも1 m以下であり、浮泥の堆積により多くが50 cm程度である。

(2) 実験池の生物調査

調査は遊亀公園の池(水深1～1.5 m)において、2011年6月20日の11時から14時30分まで行った。漁具は小型地曳網(目合10節:25×8 m、袋18節:直径4 m)、お魚キラー(目合3 mm、商品名)、ビンドウ(プラスチック製)を用いた。地曳網は3地点で実施し、船で入網し、2名で曳いた。また、岸周辺部6地点にお魚キラーとビンドウを設置し、2時間後に取り上げた。餌はコイ釣り用配合飼料(練り団子として使用)を用いた。

採捕魚は10%ホルマリンで固定し、後日一括して魚体測定に供した。コイとアカミミガメは生体で測定後放流した。

(3) 実験池の光環境と水質調査

光環境と水質の調査は2011年7月～2012年2月まで毎月1回手漕ぎボートを用いて行った。7月には図1に示したSt.1のみで測定を行い、8月以降はSt.1～5までをボートで廻って測定を行った。

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10 cm、50 cm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。なお、8月以降の光量の測定は8～9月にはSt.1、2で、10月にはSt.1、2、4、5で、11～2月にはSt.1、2、4で行った。

その他の測定項目は透明度、透視度、濁度、電気伝導率、DO(溶存酸素濃度)、pH、水温、TN(全窒素濃度)、TP(全リン濃度)、COD、気温であり、8月以降St.1～5の各定点について測定した。なお、透明度はセッキー透明度板を、透視度はアクリル円筒型の透視度計を、濁度は非対称投下散乱光方式の濁度計を、電気伝導率は電気伝導率計を、pHはpH計を、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、気温は水銀棒状温度計を用いて測定した。

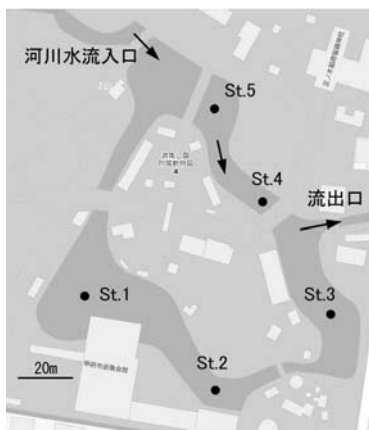


図1 遊亀公園池の環境調査地点



図2 植栽及び保護ネットの敷設

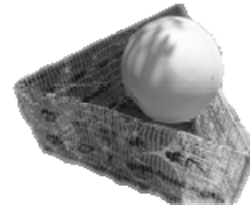
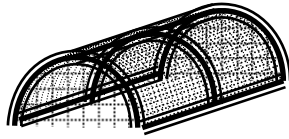


図3 二枚貝を移植する際に用いた設置物

(4) 実験池での沈水植物植栽実験

水質浄化に用いる沈水植物が現場水域で生育可能か確認するため、実験池に試験的にセキショウモ及びクロモの植栽を行なった。実験池に生息する魚類や両生類による食害を防ぐために、植栽後に自作のプラスチック製保護ネット(1 cmメッシュ 180 cm×90 cm)を植栽株の上部に敷設した(図2)。

(5) 実験池での二枚貝飼育実験

本研究では試験的に二枚貝を遊亀公園の堀に移植した。実験には比較的容易に手に入れやすい琵琶湖産のタテボシガイを使用した。二枚貝は殻長、殻高、殻幅、湿重量をあらかじめ測定し、識別できるようにマーキングした。二枚貝を移植する際、90 cm×45 cmのステンレス製の柵1つに対して18のポケットができるようにポリエチレン製のネットを張り、これを3つ用意し、ポケット1つ当たり2~3個体ずつ計140個体の二枚貝を入れた。二枚貝を装着した3つのステンレスの柵を三角形になるように組立て、ブイを取り付けた(図3)。これを実験池のSt.1(水深約70 cm)に設置した(図1)。設置後、3ヶ月毎に殻長、殻高、殻幅、湿重量を測定し、成長率を算出した。

なお、移植した際、形態学的にタテボシガイとそれ以外の貝を区別したが、タテボシガイであるかの確認と、混在する貝の種類を明らかにするためにそれぞれのDNA解析を行った。移入したタテボシガイの中からランダムに選んだ5個体と、混在していた形態的にタテボシガイと異なる二枚貝を同定する為にDNAの塩基配列を決定した。

まず、二枚貝の足からDNAを調製し、テンプレートとした。酵素としてKOD-Dashを用いてPCR法によって核の16SリボソームRNA遺伝子(16SrRNA)とミトコンドリアのNADHデヒドロゲナーゼ・サブユニット1遺伝子(ND1)の領域を増幅した。16SrRNA用のプライマーとして、センスプライマー16S3L(5'-TGAGCGTGCTAAGGTAG

C-3')とアンチセンスプライマー16S4H(5'-AGCCAACATC GAGGTCGC-3')を使用した。ND1用プライマーとして、センスプライマーLeu-uur(5'-TGGCAGAAAAGTGCATCAGAT

TAAAGC-3')とアンチセンスプライマーNIJ-12073(5'-TCGGAATTCTCTTCTGCAAAGTC-3')を使用した。サーマルサイクラーの設定は、16SrRNAでは94°C2分、(94°C1分、57°C30秒、72°C1分)×35サイクル、72°C8分に、ND1では94°C4分、(94°C40秒、50°C1分、68°C1分30秒)×35サイクル、68°C5分に設定した。増幅したDNA断片をエタノール沈殿で精製した。シーケンスリアクションを行った後、377DNASequencer

(Applied Biosystems)を使用して塩基配列を決定した。得られた塩基配列のアライメントは、MEGA4.0.2(Kumar *et al.*,2004)を用いて行い、近隣結合法(NJ)法により系統樹を構築した。樹形の信頼性を調べるために1000回の反復によりブートストラップ検定を行った。遺伝的距離は木村の2パラメーター法(Kimura,1980)により算出した。系統樹を作成する際、16SrRNAではタイワンシジミ(*Corbicula fluminea*)を、ND1ではカワシジメ(*Margaritifera laevis*)をアウトグループとして用いた。

(6) 懸濁物質組成の調査

水中の懸濁物質のサイズは二枚貝の濾過効率に影響を与えるとともに、食餌として有効な成分であるかも飼育に影響を与える。そこで水中の懸濁物を観察するため、2011年7月11日に遊亀公園の貝設置場所から水を採集し、8枚のプレパラートを作成した。生物顕微鏡とデジタルカメラを使用し、プレパラート上でランダムに選んだ26箇所の写真撮影を行った。懸濁物質の大きさの測定には、対物マイクロメータを用いた。

2-3 水生植物の栽培実験

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15°C、長日(14時間明期10時間暗期)、光量44 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ で、光質を赤色LEDランプのみを点灯させた赤色光、青・緑色LEDランプを点灯させた青緑光、赤・青・緑LEDランプを点灯させた白色光下の3種の光質環境下で行った。材料として沈水植物のクロモを使用する予定であったが、実験を開始したのが低水温期であったため、西湖産のコカナダモで代用した。実験に先立ち、コカナダモの先端部を5 cmに切り出し、1/2C培地を入れた2 Lの培養バックで通気させて予備栽培を1週間行った。また、実験では500 mLの柄付きフラスコに約6 cmに生長したコカナダモを5本ずつ入れ、栽培1日目(スタート時)と、13、19、28、36日目に全長、湿重量を測定し、植物体の様子を観察した。

2-4 水生植物及びその堆肥の有効性の検討

水生植物による水質浄化法において、供給から浄化利用、回収、バイオマス資源の再利用にいたる循環のプロセスを確立することを目的に、浄化に利用された水草および水草に副資材を配合して作成した堆肥の成分分析を行った。

水草および堆肥の含水率は加熱乾燥法で、全窒素分析はケルダール法で、全炭素はチューリン法で、全リン分析および金属元素分析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。

2-5 沈水植物植栽基物の作成

山中湖のような自然湖沼では、湖底堆積物を用いて植栽基物を作成できるが、公園内の池など人工湖沼では原材料を得ることができない。そのような場合でも植栽が行なえるように、環境負荷の少ない素材からなる基物の作成を外部発注(株式会社 SCI)により試みた。

基本素材として木炭あるいは竹炭の端切れ(クズ炭)を用い、数種の材料を固化材として用いて製作を試みた。

3. 結果

3-1 最適二枚貝の選定試験

実験開始時の濁度にばらつきがあったため、実験開始時の濁度を100%として標準化を行った。標準化した値は、粒径4 μm のカオリンを用いた場合には図3、粒径2 μm のカオリンを用いた場合には図4、粒径0.2 μm のカオリンを用いた場合には

表1 山中湖産二枚貝の浄化効率(%/g)

	4 μm	2 μm	0.2 μm	平均	合計湿重量(g)
カラスガイ	0.0051	0.0077	0.0255	0.0128	1556.83
タテボシガイ	0.0131	0.0031	0.1181	0.0448	298.6

図5に示す。浄化効率を式①を利用して計算し、結果を表1に示した。

粒径4 μm のカオリンを用いた場合には、山中湖タテボシガイによる濁度の低下がより大きく(図3)、浄化効率もより高かった(表1)。粒径2 μm のカオリンを用いた場合には、山中湖カラスガイによる濁度の低下がより大きく(図4)、浄化効率(表1)もより高かった。粒径0.2 μm のカオリンを用いた場合には、山中湖カラスガイと山中湖タテボシガイによる濁度低下は共に大きかった(図5)。しかし、浄化効率(表1)は山中湖タテボシガイを用いた場合の方がより高く、総合的に考えると山中湖タテボシガイが適していると考えられ、水温30°Cにおいて浄化に用いることができることが確認された。

3-2 遊亀公園池における野外実験

(1) 実験池の生物調査

調査当日の天候は曇りであった。採捕種の測定結果を表2～4に示した。採捕種はオイカワ、モツゴ、オオクチバス、ブルーギル、コイ、アカミガメの6種類であった。優占種は、尾数ではブルーギル(75.4%)、重量ではアカミガメ(40.7%)であった。この他に草食性の大型のソウギョも20尾程度目視で確認されたが、採捕はできなかった。今後、水生植物を移植した際は捕食防止対策が必要と考えられた。ビンドウではモツゴとブルーギルが合計3尾採捕されただけで、お魚キラでは採捕できなかった。採捕数が少なかったのは、設置時間が短かったためと考えられた。

池は荒川の水を導水しているが、採捕魚は荒川由来の在来魚に加え、外来種のオオクチバス、ブルーギル、アカミガメといった密放流由来のものも多かった。魚類の2種は小型魚が多かったことから、自然繁殖していることが示唆された。

なお、オイカワ、モツゴには明らかな二次性徴が見られ、産卵期と推定された。

(2) 実験池の光環境と水質調査

調査期間中の遊亀公園池の光環境と水質を定点別に表6、7に示した。測定地点の相対光量は月により変化し、水深10 cmと水深50 cmでは概ね同様の変化を示した。調査期間中の相対光量は水深10 cmで47.2～84.1%、水深50 cmで4.9～34.9%の範囲にあり、水深50 cmの相対光量は水深10 cmの約3～6割に減衰していた。調査地点の相対光量を比較すると、水深10 cm、50 cmともに概ねSt. 1からSt.5にかけて値が上昇していた。また、9月に低い値を示した。透明度は全ての定点で水深が浅いためほとんど50 cm程度であったが、11月以降は全透で池底が見える地点が多くなり、調査期間中に全地点で40～80 cmの範囲にあった。透視度はSt.1からSt.5にかけて概ね上昇する傾向が見られ、12～1月に急上昇し、調査期間中に全地点で16.5～100 cmの範囲にあった。濁度はSt.1からSt.5にかけて概ね低下する傾向が見られ、9月に上昇してその後下降し、1月から再び上昇傾向を示し、調査期間中に全地点で1.3～21.3NTUの範囲にあった。電気伝導率は全地点で概ね2月にかけて減少する傾向が見られたが、地点間の傾向ははっきりしなかった。また、電気伝導率(25°C換算値)は月によりばらつきが大きく、地点間の傾向もはっきりせず、調査期間中に全地点で95.3～165 $\mu\text{S}/\text{cm}$ の範囲にあった。DOは9月にSt.1～4で2.9～4.5にまで激減し、その後緩やかに増加する傾向が見られ、調査期間中に全地点で2.9～13.7 mg/Lの範囲にあった。pHは調査期間中St.5でやや低い値を、全地点で1～2月に高い値を示し、調査期間中に全地点で6.8～9.7の範囲にあった。また、調査期間中に全地点で水温は4.5～28.8°C、気温は4.6～35.8°Cの範囲にあった。

窒素、リンの栄養塩濃度の経月変化を図7、8に示した。両項目ともSt. 1, 2 > St. 3, 4, 5という傾向が見られたが、経月変化に大きな特徴は見られなかった。またどちらも高濃度で存在し、OECDが示した基準によれば、富栄養水域に分類された。さらに全窒素と全リンの比(N/P比)は全地点とも7.5～14の間にあり、植物プランクトンの増殖に適した状況であった。

しかし池に隣接する動物園から不規則に排水が流入することに加えて、取水している河川(荒川)の水位や天候により流入水量が変動することにより、池への栄養塩類の負荷量を正確に把握することはできなかった。

(3) 実験池での沈水植物植栽実験

平成23年7月11日に、長さ15 cmから20 cmのセキショウモとクロモを合わせて30株を植栽した。植栽には底泥を焼成した基物を用いた。

植栽後は目視にて生育状況を観察したが、植物の伸長は見られなかった。植栽直後に保護ネットを敷設した水域で、実

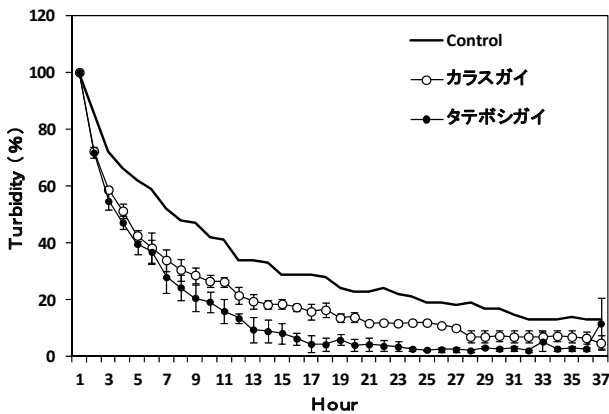


図4 粒径4 μmのカオリンを用いた実験結果 (エラーバーは標準誤差)
 マーカーなし:コントロール ●:山中湖カラスガイ ○:山中湖タテボシガイ

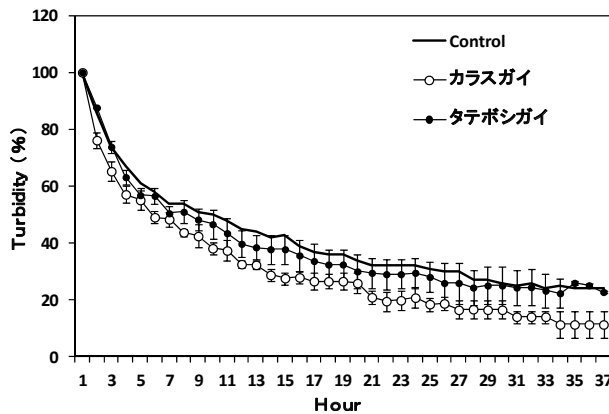


図5 粒径2 μmのカオリンを用いた実験結果 (エラーバーは標準誤差)
 マーカーなし:コントロール ●:山中湖カラスガイ ○:山中湖タテボシガイ

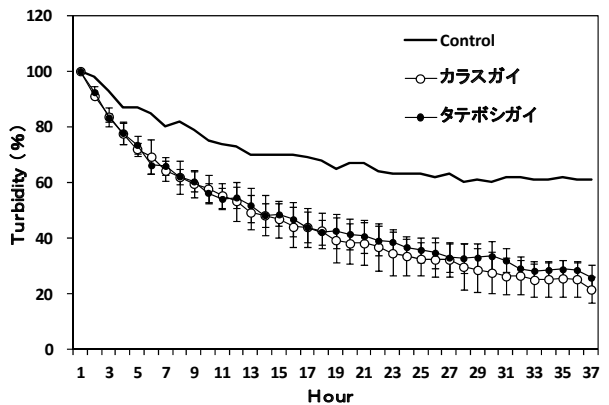


図6 粒径0.2 μmのカオリンを用いた実験結果 (エラーバーは標準誤差)
 マーカーなし:コントロール ●:山中湖カラスガイ ○:山中湖タテボシガイ

験池で飼育されている2羽の白鳥の食餌行為が目撃されており、生物調査ではコイ、ソウギョも確認されていることから、これらの生物の被害により消滅したものと思われた。

表2 採捕種

種名	採捕数(尾)	総重量(g)	尾数割合(%)	重量割合(%)
オイカワ	44	131.5	18.3	3.7
モツゴ	1	13.4	0.4	0.4
オオクチバス	12	2.74	5.0	0.1
ブルーギル	181	667.17	75.4	18.7
コイ	1	1,300	0.4	36.5
アカミミガメ	1	1,450	0.4	40.7
合計	240	3,565	100.0	100.0

表3 全長(cm)

種名	測定数	平均値	最大値	最小値	標準偏差
オイカワ	44	5.7	12.7	3.5	2.3
モツゴ	1	10.4	-	-	-
オオクチバス	12	2.5	3.2	1.8	0.4
ブルーギル	181	5.8	14.4	4.1	1.4

表4 体重(g)

種名	測定数	平均値	最大値	最小値	標準偏差
オイカワ	44	3.0	25.5	0.3	5.7
モツゴ	1	13.4	-	-	-
オオクチバス	12	0.2	0.5	0.1	0.1
ブルーギル	181	3.7	62.3	0.9	5.3
コイ	1	1,300	-	-	-
アカミミガメ	1	1,450	-	-	-

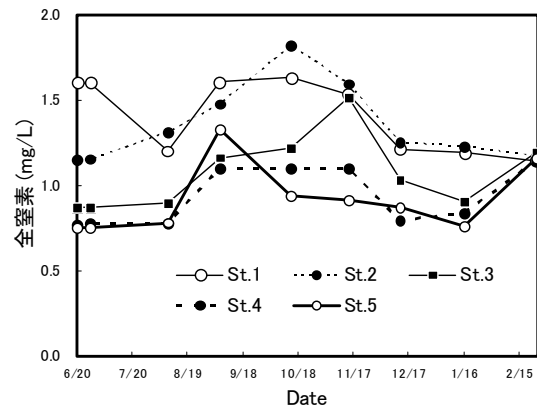


図7 遊亀公園池の全窒素濃度の経月変化

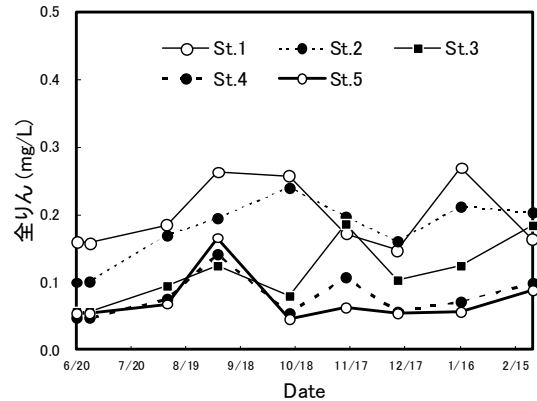


図8 遊亀公園池の全りん濃度の経月変化

(4) 実験池での二枚貝飼育実験

二枚貝は2011年7月4日に大きさを測定し、以後2011年10

表5 遊亀公園池の水中光量

	水深	St. 1			St. 2			St. 4			St. 5		
		空中光量 ($\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$)	水中光量 ($\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$)	相対光量 (%)	空中光量 ($\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$)	水中光量 ($\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$)	相対光量 (%)	空中光量 ($\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$)	水中光量 ($\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$)	相対光量 (%)	空中光量 ($\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$)	水中光量 ($\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$)	相対光量 (%)
2011/7/11	10cm	1798.6	1212.8	67.4									
	50cm	1795.2	169.0	9.4									
2011/8/8	10cm	1599.1	1182.9	74.0	1564.6	1011.4	64.6						
	50cm	1544.3	509.3	33.0	1583.5	387.5	24.5						
2011/9/5	10cm	343.3	162.1	47.2	371.3	176.1	47.4						
	50cm	394.1	19.3	4.9	392.5	47.3	12.0						
2011/10/11	10cm	516.8	290.4	56.2	1039.3	562.3	54.1	764.9	458.7	60.0	635.5	402.1	63.3
	50cm	512.7	37.2	7.3	1167.7	123.2	10.6	635.8	118.2	18.6	621.5	217.0	34.9
2011/11/14	10cm	936.2	686.9	73.4	953.2	600.7	63.0	1065.3	759.8	71.3			
	50cm	953.8	204.2	21.4	995.8	117.0	11.7	1096.6	273.2	24.9			
2011/12/12	10cm	768.0	629.2	81.9	735.5	618.6	84.1	560.4	315.6	56.3			
	50cm	669.4	208.2	31.1	375.2	119.0	31.7	655.9	183.6	28.0			
2012/1/16	10cm	212.0	134.1	63.3	243.3	150.6	61.9	202.5	127.4	62.9			
	50cm	216.6	49.5	22.8	229.8	50.2	21.8	194.8	47.8	24.5			
2012/2/20	10cm	1035.2	731.9	70.7	1106.0	712.1	64.4	1168.7	890.9	76.2			
	50cm	1108.2	248.1	22.4	1031.2	147.1	14.3	1191.6	313.2	26.3			

表6 遊亀公園池の水質

	測定日	2011/7/11	2011/8/8	2011/9/5	2011/10/11	2011/11/14	2011/12/12	2012/1/16	2012/2/20	調査期間中		
										最大	最小	平均
St.1	測定開始時間	10:30	11:03	9:50	10:15	10:36	12:50	12:41	10:08	最大	最小	平均
	透明度(cm)	40.0	50.0	40.0	40.0	50.0	全透	全透	50.0	50.0	40.0	45.0
	透視度(cm)	16.5	21.0	18.0	24.0	26.0	57.5	41.5	20.5	57.5	16.5	28.1
	濁度(NTU)	19.1	16.4	21.3	15.3	10.0	4.0	5.9	9.1	21.3	4.0	12.6
	電気伝導率 $\mu\text{S cm}$	153.7	148.2	103.8	115.2	104.9	91.6	83.8	79.3	153.7	79.3	110.1
	電気伝導率 $\mu\text{S cm}(25^\circ\text{C換算値})$	145.1	141.6	105.9	131.6	128.5	137.8	135.7	117.5	145.1	105.9	130.5
	DO	7.8	8.8	4.5	11.6	9.8	10.1	12.2	12.2	12.2	4.5	9.6
	PH	8.0	8.4	6.9	7.3	7.4	7.4	9.4	8.8	9.4	6.9	7.9
	水温($^\circ\text{C}$)	28.8	28.8	24.1	18.9	16.2	8.1	5.3	10.0	28.8	5.3	17.5
	気温($^\circ\text{C}$)	32.0	33.5	23.1	21.8	17.0	8.5	5.5	9.3	33.5	5.5	18.8
St.2	測定開始時間		11:16	10:20	10:40	11:02	13:15	13:23	10:40	最大	最小	平均
	透明度(cm)		60.0	50.0	50.0	50.0	全透	全透	50.0	60.0	50.0	52.0
	透視度(cm)		22.5	21.0	21.0	19.0	64.0	38.0	20.5	64.0	19.0	29.4
	濁度(NTU)		9.7	19.3	16.9	14.7	5.2	6.0	13.6	19.3	5.2	12.2
	電気伝導率 $\mu\text{S cm}$		148.5	93.5	107.4	108.8	92.2	89.4	97.8	148.5	89.4	105.4
	電気伝導率 $\mu\text{S cm}(25^\circ\text{C換算値})$		139.8	95.4	122.9	133.5	138.6	144.3	144.5	144.5	95.4	131.3
	DO		7.9	2.9	9.5	9.0	10.4	13.4	13.7	13.7	2.9	9.5
	PH		8.4	6.9	9.2	7.9	7.5	9.7	9.4	9.7	6.9	8.4
	水温($^\circ\text{C}$)		28.5	24.1	18.8	16.3	8.2	5.2	8.6	28.5	5.2	15.7
	気温($^\circ\text{C}$)		35.4	24.1	21.0	18.8	8.0	5.1	10.7	35.4	5.1	17.6
St.3	測定開始時間		11:36	10:55	11:10	11:14	13:30	13:31	11:05	最大	最小	平均
	透明度(cm)		65.0	50.0	50.0	50.0	全透	全透	50.0	65.0	50.0	53.0
	透視度(cm)		27.6	22.0	21.5	19.0	41.0	37.5	23.0	41.0	19.0	27.4
	濁度(NTU)		7.3	17.6	13.0	13.6	4.1	5.5	10.3	17.6	4.1	10.2
	電気伝導率 $\mu\text{S cm}$		150.5	93.8	112.9	109.5	90.6	87.8	99.5	150.5	87.8	106.4
	電気伝導率 $\mu\text{S cm}(25^\circ\text{C換算値})$		142.4	95.3	128.0	134.1	135.9	143.0	145.7	145.7	95.3	132.1
	DO		7.2	3.0	9.8	8.3	10.7	13.4	13.4	13.4	3.0	9.4
	PH		7.6	6.9	7.5	7.6	7.5	9.7	9.4	9.7	6.9	8.0
	水温($^\circ\text{C}$)		28.5	24.3	19.1	16.0	7.9	4.8	9.2	28.5	4.8	15.7
	気温($^\circ\text{C}$)		32.9	24.4	21.1	19.7	13.5	4.6	12.2	32.9	4.6	18.3
St.4	測定開始時間		12:11	11:05	11:21	11:25	13:45	13:46	11:20	最大	最小	平均
	透明度(cm)		60.0	50.0	50.0	50.0	全透	全透	50.0	60.0	50.0	52.0
	透視度(cm)		23.5	22.0	>30	24.0	65.0	45.0	26.5	65.0	22.0	34.3
	濁度(NTU)		8.8	14.6	6.8	9.4	3.7	6.1	11.6	14.6	3.7	8.7
	電気伝導率 $\mu\text{S cm}$		151.9	100.0	125.8	107.2	87.6	86.9	93.5	151.9	86.9	107.6
	電気伝導率 $\mu\text{S cm}(25^\circ\text{C換算値})$		144.3	101.7	142.0	132.8	132.3	142.4	138.1	144.3	101.7	133.4
	DO		6.9	2.9	8.3	8.2	11.9	12.5	10.0	12.5	2.9	8.7
	PH		7.5	6.8	8.4	7.4	7.5	9.7	9.3	9.7	6.8	8.1
	水温($^\circ\text{C}$)		28.2	24.1	18.9	15.8	7.4	4.7	9.0	28.2	4.7	15.4
	気温($^\circ\text{C}$)		35.6	23.9	20.9	19.8	13.2	5.1	13.8	35.6	5.1	18.9
St.5	測定開始時間		11:55	11:20	11:37	11:43	14:06	14:07	11:40	最大	最小	平均
	透明度(cm)		60.0	50.0	全透	全透(80)	全透	全透	50.0	80.0	50.0	53.3
	透視度(cm)		24.5	20.0	>30	>30	100.0	45.0	39.0	100.0	20.0	45.7
	濁度(NTU)		6.3	17.1	4.0	3.3	1.3	5.1	12.8	17.1	1.3	7.1
	電気伝導率 $\mu\text{S cm}$		151.8	116.1	144.2	102.0	88.9	85.7	90.2	151.8	85.7	111.3
	電気伝導率 $\mu\text{S cm}(25^\circ\text{C換算値})$		144.8	118.0	165.0	127.9	134.4	140.8	134.1	165.0	118.0	137.9
	DO		7.0	7.0	7.4	8.3	12.5	9.5	9.0	12.5	7.0	8.7
	PH		7.7	7.0	8.1	7.5	7.6	8.7	8.4	8.7	7.0	7.8
	水温($^\circ\text{C}$)		27.7	24.3	18.5	15.3	7.3	4.5	9.2	27.7	4.5	15.3
	気温($^\circ\text{C}$)		35.8	24.6	22.1	19.2	9.9	5.1	15.6	35.8	5.1	18.9

月14日, 2012年1月11日に貝の成長量を測定した. なお, 飼育のための移植は2011年7月11日に行い, 貝の測定後の再移

植はそれぞれ2011年10月19日, 2012年1月11日に行った. 各期での成長率を表7にそれぞれ示す. これらは, 正確な値を得

るために1月の測定時に生存していた33個体を用いて算出した。

7月、10月、1月の測定時において全ての測定項目で成長が見られた。一定の大きさで成長をした殻長と湿重量に対し、殻幅は7月から10月にかけて大きく成長し、殻高は10月から1月にかけて大きく成長した。

成長率においても7月から10月にかけては殻幅が大きく増加し、10月から1月にかけては殻高が大きく増加していた(表7)。7月に二枚貝を設置した後、亀にネットを破られ貝を食べられてしまった。その為、7月に移植した140個のうち10月の測定時には35個体しか生存していなかった。そこで、10月の再移植時には貝を入れたネットを覆うようにステンレス製の柵を装着した(図9)。尚、10月に貝の測定を行ってから再移植をするまでの間に1個体が死んでしまったので、34個体の二枚貝を再移植した。1月の測定の際、死んだ個体は1個体のみだったので、柵は効果的であったと考えられる。

二枚貝をDNAによって種の同定を行なった。16SrRNAによる結果は図10に、ND1による結果は図11に示す。河口湖タテボシガイ1、移植の際混在する可能性のある種E~J、Mにおいては、16SrRNAの結果のみを示した。

移植に用いた琵琶湖タテボシガイ1~5は16SrRNAとND1どちらにおいても、異なる産地のタテボシガイと単系統群を形成した。移植の際の混在種E~Hは、擬主歯と後側歯をもたなかったためドブガイの仲間であると思われた。16SrRNAにおいて、

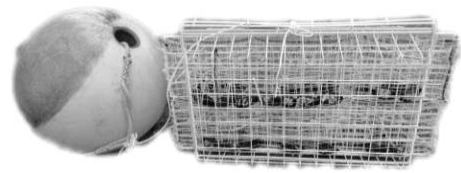


図9 食害防止柵を装着した設置物

表7 タテボシガイの成長率

	殻長(%)	殻高(%)	殻幅(%)	湿重量(%)
第1期	+0.239	+1.234	+3.412	+1.791
第2期	+0.246	+2.455	+0.484	+1.952

第1期:2011年7月11日~10月14日
第2期:10月14日~2012年1月11日

これらはヌマガイと近縁な単系統群を形成した。移植の際の混在種I~Lは高い信頼性をもってイケチョウガイ属に近縁な単系統群を形成した。これらの混在種はタテボシガイを移植する際により分けて移植には用いなかった。

(5) 懸濁物質組成の調査

26枚の写真より懸濁物質が301個観察された。そのうち270(89.7%)が直径約3 μm, 長さ約330 μmと40 μmのアウラコセイラ属の珪藻であった(図12)。アウラコセイラ属以外には、ボル

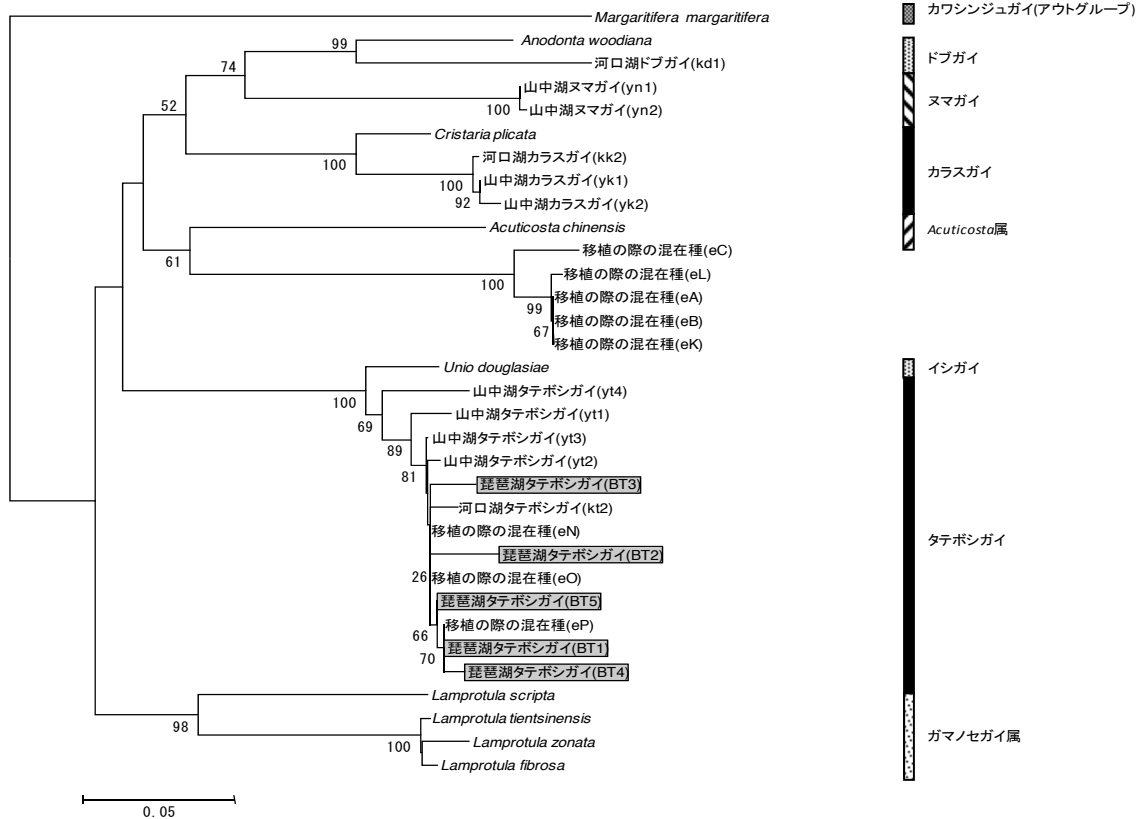


図10 16SrRNAに基づき構築した系統樹 枠囲い:今回配列を決定した貝

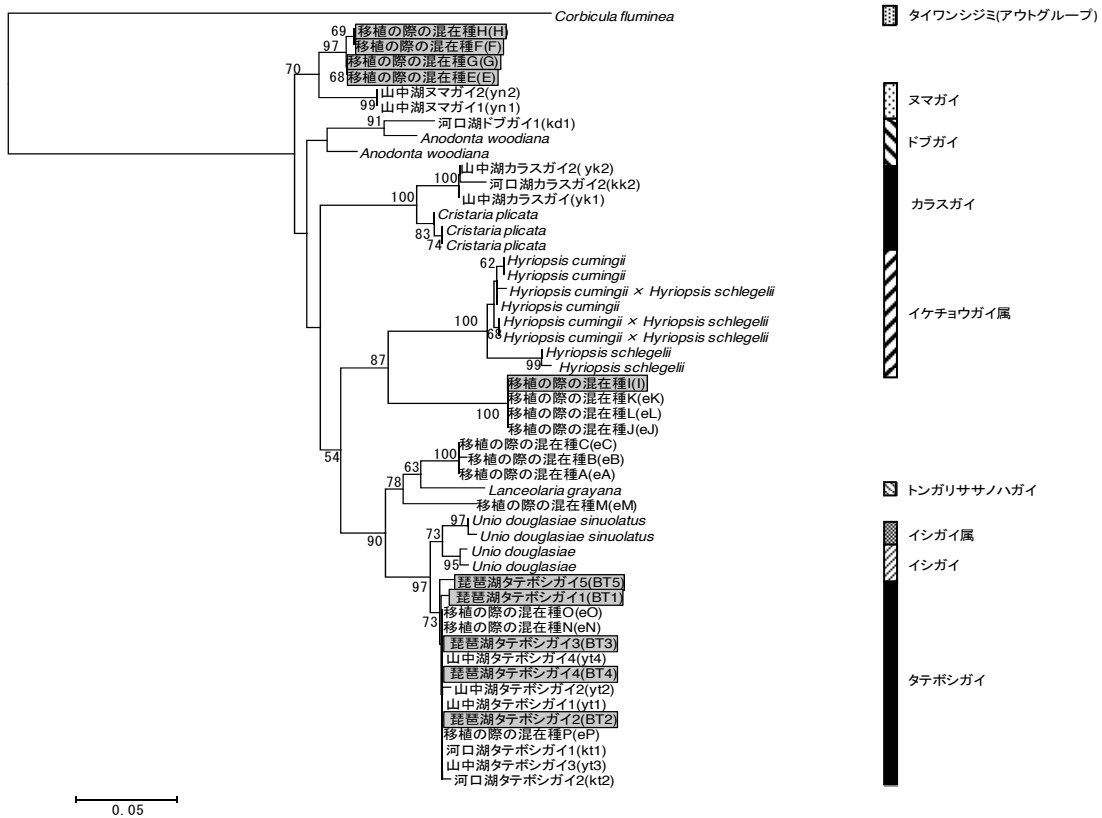


図11 ND1に基づき構築した系統樹 枠囲い:今回配列を決定した



図12 実験池の懸濁物質の位相差顕微鏡写真

ボックス、クンショウモ、オビケイソウ、スタウロネイス等が観察された。

3-3 水生植物の栽培実験

コカナダモの伸長生長に対する光質の影響を図13に示した。赤色光下で栽培したコカナダモは青緑色光や白色光下で栽培したものとは大きく伸長生長した。また、赤色光下で栽培したものは分枝数が顕著に多くなり、湿重量についても最終的に最大となった。

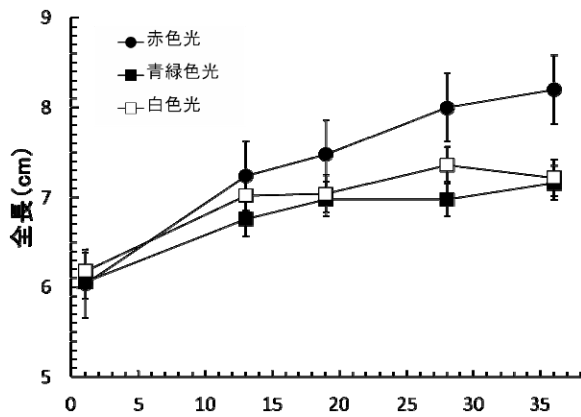


図13 コカナダモの生長に対する光質の影響 (エラーバーは標準誤差)

3-4 沈水植物及びその堆肥の有効性の検討

山梨県総合農業技術センター内で栽培したセキショウモ植物体およびセキショウモ、ホザキノフサモ、クロモと副資材を用いて作成した堆肥の成分値を表に示す。

セキショウモ植物体は含水率が約93%でありキャベツやホウレン草などの葉菜類と同程度の値であった。また、その他の成分値も同様の傾向が認められたが、銅および亜鉛の濃度については非常に高い値を示した(表8)。

水草堆肥の含有成分は原料の種類および配合割合により大きな違いが認められ、腐熟度の目安に利用するC/N比はパークおよびウッドチップを副資材として用いた堆肥が30から60程度、廃菌床を副資材として用いた堆肥が20程度であった。

水草堆肥の含有成分は原料の種類および配合割合により大きな違いが認められ、腐熟度の目安に利用するC/N比は



図14 セキショウモとバーク材の混合試料

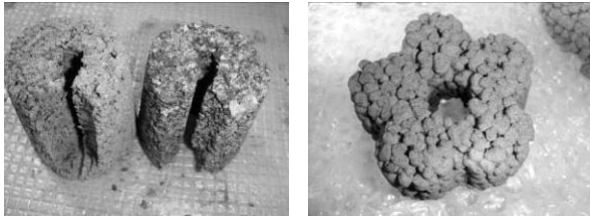


図15 竹炭素材の植栽基物

バークおよびウッドチップを副資材として用いた堆肥が30から60程度、廃菌床を副資材として用いた堆肥が20程度であった。

3-5 沈水植物植栽基物の作成

竹炭に種々の固化材を添加して数種の基物を製作した。基物を、①水中で形状を維持できる強度、②植物が根張りをしやすい適度な空隙を有すること、③製作の容易さ、④製作コストの各項目で評価したところ、図に示した黒土、竹炭粉末を用い

た基物が量産には適していると判断した。

4. 考察

4-1 最適二枚貝の選定試験

二枚貝の種別にみる浄化効率を検討したところ、粒径4 μm と0.2 μm の懸濁粒子の除去には山中湖タテボシガイが、粒径2 μm の懸濁粒子の除去には山中湖カラスガイが有効であると考えられた。これは口の構造の違いにより種によって摂食されやすい粒径があることが原因だと思われる。実際に二枚貝を設置する際は、数種の貝を移入するべきである。また、これまでの実験で浄化効率が高いことが示されているヨコハマシジラガイでも実験を行い、より浄化効率の高い種を検討していく必要がある。

4-2 遊亀公園池の光環境と水質調査

(1) 実験池の光環境と水質調査

実験池である遊亀公園池は付属動物園を取り囲むように位置し、St.5の近くに入水口が、St.4の近くには水路の分流があるため、非常に遅いながらもSt. 5から4にかけては水の動きがあるが、St.1~3までは水の動きがほとんどない。この水路では特にSt.1付近で年によっては夏季にアオコが発生し、問題となっており、水質浄化が望まれている。

アオコの発生には付属動物園からの雑排水の混入による栄養塩の付加も看過できない影響を与えていると考えられるが、今回の調査では概ねSt.1~5にかけて水中光量、透明度、透

表8 試作堆肥および植物体セキショウモの成分含有率と原料配合比

堆肥原料	水分	炭素	窒素	C/N	リン酸	Ca0	Mg0	K20	Cu	Zn
水草	木材廃棄物	添加土壌	加水	(%)	(%)	(%)	比	(%)	(%)	(%)
生セキショウモ 1.5L(689g)	バーク 2L(200g)	—	—	12.9	53.2	1	54	0.29	1.5	0.3
生セキショウモ 1.5L(804g)	木材チップ 4L(135g)	—	—	68.3	56.9	1	57.4	0.33	1	0.4
生ホザキノフサモ 2L(612g)	バーク 2L(190g)	—	—	47	61.7	1	61.8	0.29	1.7	0.3
生ホザキノフサモ 2L(784g)	木材チップ 4L(110g)	—	—	74.7	55.6	0.9	60.3	0.34	1.1	0.4
生ホザキノフサモ 2L(653g)	バーク 2L(237g)	黒土 2L(1590g)	—	21	19.3	0.6	33.8	0.38	0.5	0.4
生ホザキノフサモ 2L(568g)	木材チップ 4L(143g)	黒土 2L(1560g)	—	11.7	15	0.5	28	0.37	0.4	0.4
生クロモ 1.3L(532g)	乾燥バーク 2L(127g)	黒土 2L(1500g)	—	48.7	13.3	0.4	29.9	0.45	0.5	0.4
乾燥セキショウモ 1.5L(80.3g)	バーク 2L(211g)	黒土 2L(1500g)	水道水 200mL	41.2	14.6	0.5	30.8	0.43	0.5	0.4
乾燥ホザキノフサモ 2L(80.3g)	バーク 2L(220g)	黒土 2L(1500g)	水道水 200mL	12.9	18.1	0.6	29.6	0.38	0.5	0.4
生セキショウモ 0.2% (容積比)	キノコ廃菌床 99.8% (容積比)	—	—	74.6	45.3	2.2	21	7.44	4.5	2.1
—	キノコ廃菌床 100%	—	—	63.1	44.5	2	21.9	6.29	3.9	1.9
植物体セキショウモ	92.5	55.5	3.5	16.1	0.91	1.2	0.5	4.7	155.7	5428

視度は上昇し、濁度は低下していたので(表5, 6), 水塊の動きの無さが主に光環境を悪化させる主要因であることが推察された。

pHがSt.5で他の地点よりやや低い値を示したことから, St.5では植物プランクトンが少ない, または動物の糞が採水地点に面していないため雑排水の混入が少ないものと考えられる。DOは9月にSt.1~4で2.9~4.5と極めて低い値を示したことから, 9月にはSt.1~4でプランクトンが異常発生していた可能性がある。

(2) 実験池での沈水植物植栽実験

水質調査結果から, 池の南側にあたるSt.1~3では動物園からの栄養塩類流入と水の滞留が主因となり, 植物プランクトンが増殖しやすい環境にあると考えられた。この水域では泥質の底であることも考慮すると, 植物による水質浄化の対象として適した水域と考えられたので, 沈水植物の植栽を試みた。

しかし植栽した植物の活着は確認できず, 鳥類や魚類により食害があったものと考えられた。特に本実験池では生物調査で, 大型のコイやソウギョ, アカミガメなどが生息することが確認されており, 植物に対する捕食圧がかなり高いことが推察された。

今回はその対策として自作したトンネル状の保護ネットを用いたが, 食害防止効果が不十分であったと思われる。しかし都市公園の場合, 観賞魚としてコイが放流されている例は多く, 白鳥などの水鳥が飼育されている場合もしばしば見られるので, 水質浄化のために水生植物を用いることが適切であるかを含めた検討が必要である。この点については対象水域の生態系状況, 景観への影響, 浄化効果が顕在化するまでの時間と継続性, 投入可能な経費とエネルギー量といった観点を考慮して今後検討する予定である。

(3) 実験池での二枚貝飼育実験

最初に移植した二枚貝の多くがカメによって捕食されたと思われるが, 二枚貝を移植する際, 既存の環境を攪乱させないことは重要なことなので, 慎重に前もって既存の生物等の環境調査を行い, それに応じて二枚貝の設置方法も考えることが必要であった。2011年7月4日から2012年1月11日の期間に, 測定項目である殻長, 殻高, 殻幅, 湿重量の全てが増加した。これは, 二枚貝が堀の懸濁物質を摂食していることを示している。また, 堀内の懸濁物質は約90%が二枚貝の栄養源となる珪藻であった。よって, 二枚貝による浄化が効果的であることが示唆される。また, 7月から10月の期間と10月から1月の期間では二枚貝の成長する部位が異なったので, 二枚貝の成長には何らかの周期があるのではないかと考えられる。従って, 引き続き定期的に貝の成長量の測定を行い, その周期を解明することが必要と考えられた。

実験に用いた二枚貝のDNA解析により, 琵琶湖タテボシガイ1~5は河口湖産, 山中湖産のタテボシガイと共に単系統群を形成した。よって, 形態学的同定によってタテボシガイと判断したこれらの二枚貝は遺伝学的にもタテボシガイであることが分かった。タテボシガイは琵琶湖の固有種であるが, 琵琶湖

産のタテボシガイの塩基配列が決定されたのは本研究が初めてであり, データベースに琵琶湖産タテボシガイのデータは存在しない。それゆえ, タテボシガイであると最終的に判断するのは現時点ではひかえるべきだと考える。16SrRNAの結果において, 移植の際の混在種E~Hはヌマガイに近縁である事が分かった。ドブガイの仲間には, ドブガイ, ヌマガイ, タガイの3型があり, 琵琶湖にはこの3型全てが生息している。系統樹からドブガイの可能性はなく, ヌマガイまたはタガイの可能性が示唆された。今後, ND1において混在種E~Hの塩基配列を決定すると共に16SrRNAとND1においてタガイの塩基配列も決定することで明確に同定できると思われる。移植の際の混在種I~Lはイケチョウガイ属に近縁である事が分かった。今後は, イケチョウガイ属の他の種を含めた系統解析を行い, 種あるいは集団を同定する必要がある。今回塩基配列を決定した二枚貝以外にも移植する際に混在する可能性があるものがみられたので, 今後これらを正確に同定していくことが必要である。

4-3 水質浄化植物の栽培実験

Van et al. (1977) は, 25℃の長日(16時間明期, 8時間暗期), 光量30 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ でセロハンフィルムを用いて光質を変えた実験から, 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している。今回の光質にLED電球を用いた実験から, 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分かった。

一方, これまでの知見でクロモの伸長生長が緑色光下で高かったことは, 比較的深い水深帯にクロモやコカナダモが生育しており, そこに届く光質が緑色である点からも興味深い。

今回の実験では15℃で, LED照明装置の光量を赤色光単独での最大値であった44 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ に設定したので, 緑色光単独ではその光量に達せず, 青色光との混合で青緑光として実験を行った。今後, 光質を変えたさらなる実験を行い, 効率的に水質浄化植物を増産するための基盤研究を行う必要がある。また, 一般にクロモは冬季には消失するが, コカナダモは生残するものがあることが知られており, 両者には温度特性に差異があるものと考えられる。水草を使って水質浄化を効率的に行うためには, 使用する水草の温度特性についても把握し, どの時期に何を植栽すべきか検討する必要がある。

4-4 沈水植物及びその堆肥の有効性の検討

(1) セキシウム植物体

農業技術センター産セキシウム植物体の銅および亜鉛濃度が非常に高かったが, これは栽培プールを寒冷紗で遮光した際, 支柱として亜鉛コーティングした鉄パイプを用いたことが原因であると考えられた。しかしながら, 栽培に使用した井水中の亜鉛濃度は0.18 mg/kgであり, 特別高い濃度ではなかった。また, 比較を行うため山中湖産セキシウム植物体の亜鉛

濃度を測定したところ約370 mg/kgであり、農業技術センター産の10分の1以下であった。一方、海草類の昆布やわかめの素干し品の濃度は約10 mg/kgであり、山中湖産よりはるかに低い値である。これらのことから、セキショウモは水中の亜鉛を積極的に吸収していると考えられるため、次年度以降、亜鉛またはその他の金属元素の吸収能について調査を行いたい。

水中の亜鉛については水生生物への影響が懸念されることから、平成15年に水質環境基準が設定され、河川や湖沼での水質監視や、工場などからの排水対策が強化されつつある。本研究により沈水植物の亜鉛吸収活性が明らかになれば、今後の水質改善の一方策となる可能性がある。

(2) 水草堆肥

試作堆肥の各成分含有量については配合原料や割合で大きく異なること、副資材の選択により堆肥としての特性も大きく変わることから、最終的な目標を定めて資材の選択と割合の設定を行う必要があると思われた。また、セキショウモの含水率は92.5%であり、陸上の草本植物と大きな違いは無かった。このため、堆肥化を行う上では表面に付着した水分を取り除くことができれば、数多くの知見がある陸上植物残渣の堆肥化を参考にすることができると考えられた。

一方、セキショウモについては乾燥物の成分含有率がエンバク茎葉やキャベツ結球部と同等であったことから、堆肥化せずに緑肥として直接ほ場に施用することも有効であると思われた。

今後は、試作堆肥および水草単体について、土壌への施用と植物の栽培について検討を行いたい。

4-5 沈水植物植栽基物の作成

公園内の池などはコンクリート張りの場合もあり、このような場所では底質を用いた植栽基物を作成することができない。そのために通常だと廃棄されるクズ炭を用いて器物を作成した。既存の研究成果や製品化技術の特許権の関係もあり、炭を成型するときの固化剤の選定に難しさがあったが、黒土を用いて固める方法が簡便でエネルギー消費も少ないことから、最も適した方法と考えられた。

図16は山中湖の底泥を焼成した基物を用いて、三面コンクリート張りの実験池に植栽した例を示した。この実験池の栄養塩濃度は遊亀公園の1/2程度であり、底面に土がなくても水中の栄養塩を用いて水生植物は生育が可能であることが確認された。今後は炭を用いた基物を用いて植栽を行い、その有用性を明らかにしていく予定である。

5. 結 言

水生植物を利用した生態工学的な手法を用いて、様々な水域での水質浄化を行なうことを目的として、植栽方法、植物の栽培方法、利用方法及び併用を試みている二枚貝の最適種の検討などを行った。

実験水域を都市公園(遊亀公園)内の池に設定し、植栽実

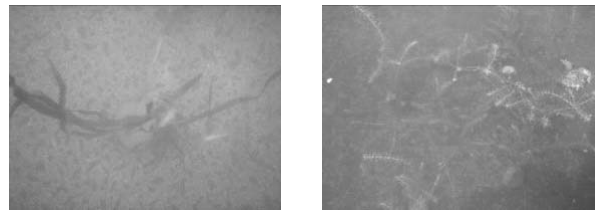


図16 コンクリート底への植栽

験と二枚貝の飼育実験を行なった結果、魚類や鳥類などの既存の生物による食害の影響が予想以上に大きいことがわかった。都市公園においては鯉や白鳥などの動物を鑑賞のために飼育している場合がしばしば見られるため、本法の適用の可否も含めて対応方法を検討していきたい。

しかしながら室内実験及び実験池での飼育実験から、水温が30℃を越す場合も想定される、公園内の池での水質浄化用の二枚貝として、タテボシガイが有用であることが判明し、一定の成果を得ることができた。

水生植物の栽培については、LED光を用いた実験から、赤色光で栽培が順調に行なえることが明らかとなった。波長などの光質により分枝などの生育状況も異なる可能性が見られた。クロモは分枝する節には不定根が生じるため、分枝が多くなると根を持つ植栽株を多く作ることができる。そのため光質を調整することにより、まず分枝数を増やしその後伸長させるなど、より効率的に栽培できる条件を引続き明らかにしていきたい。

また水生植物の利用方法として堆肥化を試みたが、陸上植物との大きな差がないことから、堆肥原料として使用できる可能性が高かった。しかし緑肥での施用可能性も認められ、加工せずに用いた場合の有効性を検討する予定である。その一方でセキショウモの亜鉛含有率が高いことが判明し、水中からの亜鉛吸収能が高い可能性が伺えたことから、亜鉛の除去という新しい有効利用法も考えられた。

参考文献

- 1) Van TK, Haller WT, Bowes G, Garrard LA: Effects of Light Quality on Growth and Chlorophyll Composition in *Hydrilla*. Journal of Aquatic Plant Management Vol, 15, 29-31, 1977
- 2) 日本土壌協会: 堆肥等有機物分析法(2010年版), 2010
- 3) 川那部浩哉, 水野信彦, 細谷和海: 日本の淡水魚. 山と溪谷社, 東京, 302-305, 1989
- 4) 科学技術庁資源調査会: 五訂 食品成分表, 科学技術庁, 2002

成果発表状況

学会発表

- 1) 中沢公士, 三森勇太, 森本絢加, 吉澤一家, 宮崎淳一: 自然公園における水質, 日本動物学会第82回大会, 旭川市, 2011

- 2) 吉澤一家, 江頭恭子, 肥田宏美: 沈水植物による底泥巻上げ抑制効果に関する基礎実験, 水草研究会第33回全国集会, 群馬県, 2011
- 3) 吉澤一家, 江頭恭子, 肥田宏美: 自作標識板を用いた透視度の広範囲測定法, 第46回日本水環境学会年会, 東京都, 2012

果樹の収穫適期の把握と
専用カラーチャートの開発

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

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

小林和司¹, 宇土幸伸¹, 鈴木文晃², 串田賢一²
(¹山梨県果樹試験場, ²山梨県工業技術センター)

要約 ブドウ‘シャインマスカット’用のカラーチャートを試作するとともに、果皮色と果実品質の関係について調査した。撮影画像をもとに試作したカラーチャートは、本品種の果皮色を再現していた。試作したカラーチャートを用いて果皮色と果実品質の関係を調査した。通常の栽培条件下では糖度の上昇にしたがって果皮色は変化した。一方、棚が明るい部分では糖度の上昇が停滞しても、果皮色は進むことが確認された。収穫始め期においては、果皮色と糖度との相関が高く、収穫適期を判断する指標としてカラーチャートが利用できることが示唆された。

Development of the Color Chart and a Dedicated Grasp of Proper Time of Harvesting of Grape‘Shine Muscat’

Kazushi KOBAYASHI¹, Yukinobu UDO¹, Fumiaki SUZUKI² and Ken-ichi KUSHIDA²
(¹Yamanashi Fruit Tree Experiment Station, ²Yamanashi Industrial Technology Center)

Abstract We have developed a color chart for the grape "Shine Muscat". Then, we investigated the relationship between skin color and fruit quality. Color chart was fabricated based on the captured image, was to reproduce the color of the pericarp of this breed. Investigated the relationship between skin color and fruit quality was fabricated using a color chart. Cultivation under conditions of normal skin color has changed according to the increase in sugar content. On the other hand, even in bright areas of the stagnant increases in sugar content, skin color proceeds has been confirmed. Harvest in the beginning stage, the color chart that can be used as an index correlated with a high sugar content and skin color, to determine the proper time of harvesting was suggested.

2. 実験方法

1. 緒言

ブドウ‘シャインマスカット’は平成18年に(独)農研機構果樹研究所が育成した黄緑色の新品種である。果粒が大きく、硬い肉質とマスカット香を有し食味が良い。また、裂果が少なく、露地栽培も可能であるなど栽培性にも優れていることから、全国的に生産量が急増している。登録されてまもなく流通量が少ないことから、現在は市場において高単価で取引されている。今後、産地間競争の激化が予想され、各産地では他産地との差別化に向けた様々な取り組みがなされている。山梨県においても黄緑色系の主力品種として位置づけられており、果粒の大きさや糖度、外観などの出荷基準を策定し、果実品質の優れたものを生産する体制を整備している。

一方、本品種は果皮色が黄緑色であることから、外観で熟期を判断することが難しく、栽培経験の浅い生産者は、未熟で食味の悪い果実を収穫してしまう恐れがある。

産地間競争が激化している昨今、‘果樹王国やまなし’のブランドイメージを守り、高品質な果実を提供するためには収穫適期の把握が重要となる。

このため、成熟期前後の果皮色と果実糖度、酸含量、機能性成分含量等の関係を明らかにし、果皮色から収穫適期を判断するための基準を策定する必要がある。

本研究では、‘シャインマスカット’の果粒を撮影した画像をもとに、果皮色の判断基準となる色表(カラーチャート)を試作するとともに、このカラーチャートを用いて、果皮色と果実品質の関係について諸調査を行ったのでその結果を報告する。

2-1 カラーチャートの試作

熟成ステージの異なる6つの果粒を撮影ブースにおいて同一の照明環境のもと、色調整用ツールのキャスマッチを設置した状態で撮影した。写真のデータをPhotoshopに取り込み、キャスマッチを用いた色調補正を行った。その後、画像内の果粒の範囲を選択し、その範囲内の平均色を求めることで作成した(図1)。これを熟成時期ごとの果皮の写真について行い、7段階のチャート色を作成した。(図2;第1版)。なお、この第1版カラーチャートは、2011年度に実施したアンケートで、使用現場から、‘チャート色間の色差が小さく目視での判別が難しい’という意見が多かったことから、1・3・5・7番目のチャート色を抽出し、さらに、1番目のチャート色より濃い緑色を検量線から推定して加え5段階のカラーチャート(図3;第2版)とする修正を行った。なお、本品種では果粒の保護のために果皮表面に白い粉

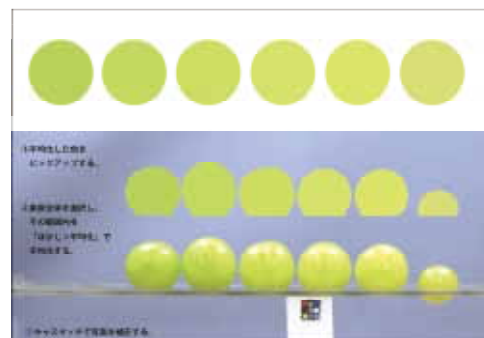


図1 果実の写真からのチャート色の作成



図2 ‘シャインマスカット’用カラーチャート(第1版)



図3 修正後の‘シャインマスカット’用カラーチャート(第2版)

状のブルームが生じ、チャート色の作成に影響を与える。このため、ブルームがある状態とない状態のカラーチャートをそれぞれ作成した。

2-2 果皮色と果実品質との関係

(1) 供試樹の耕種概要

試験には、山梨県果樹試験場に植栽されている13年生の長梢せん定樹(雨よけ栽培T-5BB台)、15年生の長梢せん定樹(露地栽培T-5BB台)及び8年生の短梢せん定樹(露地栽培T-5BB台)の無核化した果房を供試した。いずれの供試樹も開花始め時に4cm程度に整房し、無核化と果粒肥大促進のために、開花前にストレプトマイシン液剤200 ppmを花穂に散布、満開時にジベレリン水溶剤25 ppmとホルクコロフェニユロン液剤5 ppmの混用液を花穂浸漬、満開2週間後にジベレリン水溶剤25 ppmを果房浸漬した。果房は35粒前後に摘粒し、収穫約3週間前まで白色果実袋をかけて管理し、除袋後はポリエチレン製透明カサをかけて管理した。新梢管理や施肥、薬剤防除などの管理は慣行とした。

(2) 果皮色と果実品質の関係

果皮色の基準には、7段階の第1版カラーチャート(図2)を用いた。

①果皮色と糖度の経時的変化

供試樹は棚の明るさ別に2段階に区分した。ベレーズン期の7月27日から7日間隔で明るさ別に各10果粒を採取し、糖度とカラーチャート値を追跡調査した。糖度は10果粒をまとめて搾汁し屈折計示度(アタゴ, PR-100)を用いて測定した。カ

ラーチャート値は10果粒の果頂部の色を目視で判断した値を平均した。

②収穫時期別の果皮色と果実品質

雨よけ栽培の長梢せん定樹を供試した。収穫始め(2011年8月17日)、収穫盛期(8月30日)及び収穫後期(9月30日)にカラーチャート値別にそれぞれ10果粒を採取して糖度、酸含量及び総フェノール含量を測定した。

糖度は1果粒ごと搾汁し屈折計示度を用いて測定した。酸含量は、10粒をまとめて搾汁した果汁を0.05N-水酸化ナトリウムで中和滴定し酒石酸含量に換算した。L*a*b*値は果粒の果頂部を色彩色差計(コニカミノルタCM-3500d)により測定した。

総フェノール量の測定は以下のとおりに行った。果粒の腹部から直径10 mmのコルクボーラーを用いて、1果粒から2枚、合計20枚の果皮を採取した。果皮は、果汁を十分に除去した後、-20°Cで冷凍保存した。果皮サンプルに10 mlの80%エタノールを加え、16時間、4°C、暗条件下に静置した。その後、30分間煮沸処理を行い、遠心分離(3000g, 10分)後の上清を10 mlに定容し、フェノール化合物抽出液とし、フォーリンチオカルト法により、総フェノール含量を測定した。

3. 結果

3-1 カラーチャートの試作

第1版及び第2版の色数値を表1に示した。

チャート色の色調は本品種の果皮色を再現していた。また、未熟期からの果皮色変化をカラーチャートで表すことで、果皮

表1 ‘シャインマスカット’用カラーチャートの色数値

	1									2			3		
	CC値	76 -26 54			79 -24 58			83 -23 61							
第1版	Lab	172	197	89	186	207	90	197	216	94					
	CC値	4			5			6							
	Lab	86	-20	61	88	-19	61	89	-17	64					
	RGB	209	223	100	218	230	108	222	230	103					
	CC値	7													
	Lab	85	-11	56											
	RGB	218	217	109											
	CC値	1			2			3							
第2版	Lab	60	-27	39	76	-26	54	83	-23	61					
	RGB	126	156	78	172	197	89	197	216	94					
	CC値	4			5										
	Lab	88	-19	61	85	-11	56								
	RGB	218	230	108	218	217	109								

表2 ‘シャインマスカット’における糖度とカラーチャート値の推移(2011)

栽培条件	棚の明るさ	調査項目	7/27	8/3	8/10	8/17	8/24	8/31	9/7	9/14	9/21	9/28	10/5	10/12
露地(短梢)	普通	糖度(Brix)	7.6	11.3	14.1	15.8	16.1	16.3	15.5	15.8	16.1	15.1		
		CC値	0.1	0.3	0.9	1.7	2.0	3.1	3.1	3.1	3.3	3.5		
雨よけ(長梢)	普通	糖度(Brix)	12.7	14.8	16.1	17.5	18.0	18.1	18.6	18.9	18.6	18.2	19.0	18.8
		CC値	0.7	0.9	1.6	2.3	2.6	3.8	4.0	4.1	4.3	4.5	4.5	4.4
	明るい	糖度(Brix)	11.9	14.8	16.6	18.4	18.7	18.9	18.1	18.7	18.1	19.2	18.4	17.3
		CC値	0.8	1.6	3.6	3.7	4.6	5.0	4.8	5.0	5.4	5.4	5.5	5.7
露地(長梢)	普通	糖度(Brix)	10.8	13.9	15.6	17.2	17.7	18.0	17.9	17.8	18.1	18.1		
		CC値	0.3	0.5	1.6	2.0	1.9	3.2	3.5	3.9	4.0	4.1		
	明るい	糖度(Brix)	10.7	14.1	16.5	18.6	18.9	19.5	18.7	19.7	18.5	18.3		
		CC値	0.5	0.9	3.3	3.3	4.9	5.4	4.8	5.4	5.3	5.9		

色の判定が容易になると考えられた。

使用場面において、果皮色評価のためにブルームを拭き取ることは、商品価値の低下につながるため、ブルームがついた状態のままの果皮色を判定することとし、ブルームありのカラーチャートを採用した。なお、チャート色の視認を向上させるために、背景色を黒にし、‘シャインマスカット’の出荷目標である15gの果粒を想定し、色表の直径を15g程度の果粒の径と同じ28mmにした(図3)。

表3 ‘シャインマスカット’におけるCC値と果実品質、L*a*b値との関係

収穫期	CC値	糖度		酸含量 g/100ml	総フェノール μg/cm ²	L*a*b*(D65)		
		Brix	± SD			L*	a*	b*
収穫始め (8/17)	1	16.7	± 0.63	0.52	21.1	44.9	-6.0	22.0
	2	17.1	± 0.63	0.53	26.8	45.5	-6.0	21.1
	3	17.2	± 0.77	0.53	28.1	46.5	-5.7	22.0
	4	18.8	± 0.68	0.42	29.3	46.8	-4.4	20.7
	5	19.0	± 0.82	0.34	51.6	48.9	-4.1	22.1
	6	19.9	± 0.65	0.33	44.6	50.4	-3.2	21.3
	7	20.4	± 1.01	0.27	70.1	50.6	-1.8	21.1
収穫盛期 (8/30)	2	10.0	± 0.61	0.58	28.1	43.4	-6.2	18.6
	3	14.1	± 3.84	0.47	23.6	43.7	-5.8	19.1
	4	17.8	± 1.16	0.37	26.8	47.5	-5.5	22.5
	5	17.0	± 1.44	0.33	30.0	47.8	-4.0	21.9
	6	18.2	± 1.21	0.28	51.0	50.4	-3.2	23.5
	7	20.4	± 1.69	0.24	77.7	48.2	-1.0	20.5
	3	18.3	± 1.37	0.34	23.6	48.4	-5.8	23.4
収穫後期 (9/30)	4	18.4	± 2.00	0.33	26.8	49.5	-5.5	23.2
	5	16.8	± 1.93	0.32	38.9	50.7	-4.3	23.6
	6	17.6	± 2.75	0.29	56.7	51.3	-2.3	20.6
	7	19.1	± 2.77	0.30	-	51.1	-1.5	18.9

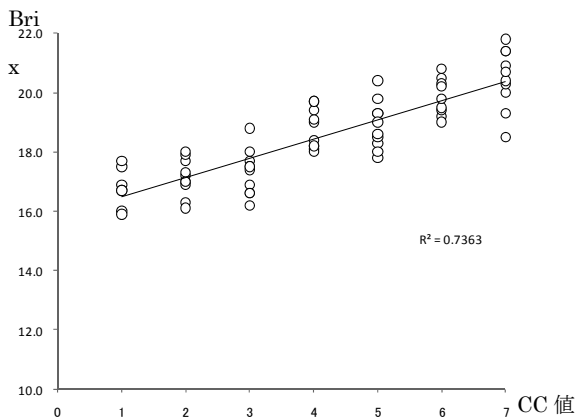


図4-1 カラーチャート値と糖度の関係(8月17日)

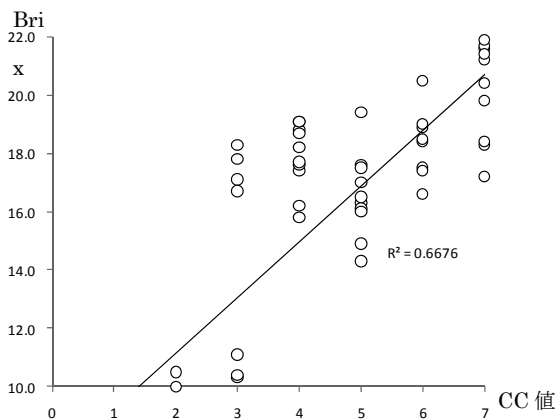


図4-2 カラーチャート値と糖度の関係(8月30日)

3-2 果皮色と果実品質との関係

(1) 果皮色と糖度の経時的変化

糖度とカラーチャート値の推移を表2に示した。2011年は、露地の短梢せん定樹では糖度が上昇せず、収穫期を過ぎても16Brix前後で推移した。カラーチャート値は経時的に上昇し収穫後期で3.5に達した。雨よけ及び露地の長梢せん定樹では、棚の明るさによる糖度上昇の差は見られず収穫期は18～19Brix程度に達した。カラーチャート値は経時的に上昇し、通常の棚の明るさの場合は4～4.5に、棚が明るい場合は5～6程度に達した。棚が明るい場合は糖度上昇が停滞してもカラーチャート値は上昇する傾向であった。

(2) 収穫時期別の果皮色と果実品質

収穫時期別のカラーチャート値と果実品質、L*a*b値との関係を表3に、カラーチャート値と糖度の相関について図4-1～4-3に示した。収穫始めの8月17日から収穫盛期の8月30日にかけてはカラーチャート値と糖度の相関は高いが、収穫後期の9月30日になると相関は見られなかった。総フェノール量はカラーチャート値が上昇するにしたがって増加し、特にカラーチャート値5以上になると急激に増加した。L*a*b値との関係をみるとカラーチャート値が上昇するにしたがいL*値(明度)及びa*値(緑-赤)が上昇した。

4. 考察

4-1 カラーチャートの試作

人の色の感じ方については様々な要素が関係し、測色計の数値が必ず見え方に反映するものではない。実際、色彩色差計で測定した果皮のL*a*b値を用いて、チャート色の作成を行ったが、この手法で作成したチャート色は明らかに本品種の果皮色と離れたものになった。このため、果粒の写真のデータをもとにしてチャート色を作成した。その検証には実際に作業従事者の使用感を重要視してカラーチャートの試作を進めた。これは上記のような色の感じ方を考慮したものであり、最終的に現場で使用するにあたり有用なカラーチャートに繋がると考えたからである。

今回試作した第2版カラーチャートについては、形状は単純

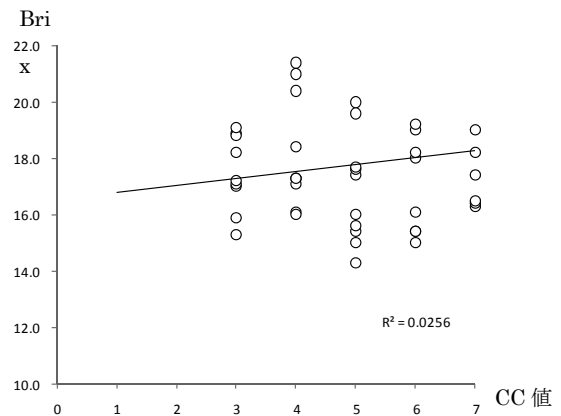


図4-3 カラーチャート値と糖度の関係(9月30日)

な矩形であるが、今後、実際の現場作業の状況に応じた適切なデザインへと修正していく予定である。また、同一の作成環境と同一の出力機器を用いたことにより、チャート色の一定化を図ったが、今後、この色の一定化については、測色を行うことで管理する予定である。

4-2果皮色と果実品質との関係

カキやナシなど果樹類では熟度を把握する手段として果皮色のカラーチャートが用いられている。ブドウでも赤・紫・黒色系の12段階のカラーチャートが作成されており、一般的な指標となっている。一方、果皮が着色しない‘ロザリオビアンコ’や‘シャインマスカット’のような黄緑系ブドウでは成熟に伴う果皮色の変化が比較的少ないため、これまでカラーチャートの市販及び使用の実態はなかった。

本研究では、‘シャインマスカット’において、果皮色から収穫適度を把握する基準を策定するため、果皮色の判断基準となるカラーチャートを試作するとともに、果皮色と果実品質との関係を調査した。

まず、第1版カラーチャートを用い、果皮色と糖度の経時的推移をみた。ベレーゾン以降、経時的に糖度は上昇し、果皮色は緑から黄緑へと変化した。一般的な栽培条件下では、糖度と果皮色は概ね対応していると考えられた。一方、樹冠周囲のような棚が明るい部分では糖度の上昇が停滞しても、果皮色が進む傾向が確認された。本品種では果皮色が黄色みを帯びてくると‘かすり症’と呼ばれる果面障害の発生が増加することが確認されている。‘かすり症’が発生すると果実の商品性を著しく損なうため、発生防止対策が検討されているが、‘かすり症’の発生程度は成熟または老化とともに症状が拡大すると思われるため、発生防止対策も兼ねた収穫適度を判断する指標として、カラーチャートは利用できるものと考えられた。

次に、収穫時期別の果皮色と果実品質をみた。収穫始め期では、果皮色と糖度との相関は高く、カラーチャート値4以上(第1版;なお、この値は修正後5段階の第2版カラーチャートでは3.5に対応)で、本県の出荷基準である糖度18Brix以上の果粒の割合が高かった。このため、収穫始め期においては収穫適度を判断する指標としてカラーチャートは利用できるものと考えられた。一方で、収穫盛期以降では相関がなくなり、カラーチャート値4以上でも低糖度の果粒が認められた。これは、収穫時期を過ぎても糖度が上昇しない‘味なし果’が混在していたためと思われる。‘味なし果’の発生原因は不明であり、継続して観察する必要があると考える。

5. 結 言

熟成過程ごとの果皮の写真データから作成したチャート色による第1版カラーチャートは、実地での検討と修正を加える中、果皮色の判定に使用できるものを開発することができた。このカラーチャートを用いて果皮色と果実品質を調査した結果、収穫始め期には、熟度の判断基準としてカラーチャートが利用できることが示唆され、未熟果の出荷防止につながるもの

と考えられた。糖度や果皮色は気象条件に左右されるため、年次変動の確認も含め第2版カラーチャートの適応性について継続調査を行う予定である。また、2011年度のカラーチャートの試作の中で開発した果皮色データからのチャート色の作成手法は、2012年度以降の他品種のチャート色作成にも適用し、カラーチャートの開発を行っていく予定である。

6. 謝 辞

本研究のコーディネーターとして、試験の進行や取りまとめに際し適切なご助言を頂いた総合理工学研究機構の市川和規特別研究員に深く感謝申し上げます。

参考文献

- 1) 山田昌彦, 山根弘康, 佐藤明彦, 平川信之, 岩波宏, 吉永勝一, 小澤俊治, 三谷宣仁, 白石三樹夫, 吉岡美加乃, 中島育子, 中野正明, 中畝良二:ブドウ新品種‘シャインマスカット’, 果樹研究所研究報告, 第7号, P. 21-38 P. (2008)
- 2) 山下泰生: 香川県における‘シャインマスカット’の適期収穫に向けた取り組み, 果実日本, Vol67 P54-58. (2012)
- 3) 平成23年度シャインマスカットの栽培管理のポイント:JA全農山梨県本部 (2011)

スモモ‘サマービュート’の収穫適期の把握と専用カラーチャートの開発

富田晃¹, 萩原栄揮¹, 鈴木文晃², 串田賢一²
(¹山梨県果樹試験場, ²山梨県工業技術センター)

要約 山梨県の特産であるスモモを適切な時期に収穫することを目的として、果皮色から収穫適期を判断するためのカラーチャート(色表)の開発を行った。‘サマービュート’果皮の測色データや写真などから判断色を抽出し、実際に果皮色判定に使用する中で検討を加えながら、試作版のカラーチャートを作成した。さらに、開発した試作版カラーチャートに基づいて収穫し、果実品質や果皮色、機能性成分の変化を調査した。

Development of the Color Chart and a Dedicated Grasp of Proper Time of Harvesting of Plum 'Summer Beaut'

Akira TOMITA¹, Eiki HGIHARA¹, Fumiaki SUZUKI², Kenichi KUSHIDA²
(¹Yamanashi Fruit Tree Experiment Station, ²Yamanashi Prefectural Industrial Technology Center)

Abstract The optimum time to harvest the plums in Yamanashi Prefecture is a specialty, we have developed a color chart to use as a color table to determine the optimum time for harvest from skin color. Considered in this fiscal year while applying for the 'Summer Beaut', to extract the color, photos and judging from the colorimetric data of the pericarp, used to determine the actual skin color, you create a color chart of the trial version. In addition, the harvest on the basis of (trial version) color chart has been developed, we investigated the changes in skin color and fruit quality, functional ingredients.

1. 緒言

山梨県特産であるスモモは、外観(果皮色)や味がバラエティーに富んだ様々な品種が育成されている。これらは品種ごとに色合いが異なるため、外観による収穫時期の判断が難しい。カキリやナシ²⁾、リンゴなどでは果実の熟度判定のためのカラーチャート(色表)が作成されている。スモモでも生産者が果皮色を基準として、本県オリジナル品種の収穫適期の判断ができるカラーチャートの開発を目指した。

カラーチャーの実用化は、栽培経験が少ない人でも収穫適期の果実を的確に判断できるようになり、高品質な果実の出荷を可能にする。このことは山梨県産果実に対する評価の向上につながり、「山梨ブランド」の確立に寄与するものと考えられる。

本研究は山梨県果樹試験場と山梨県工業技術センターとの共同研究として実施した。山梨県果樹試験場は、成熟過程ごとに果実品質や果皮色、機能性成分の変化を調査するとともに、追熟特性を明らかにする。また、山梨県工業技術センターは、果樹試験場から提供される果皮色のデータから、果皮色判定に使用するための成熟過程ごとの果皮色の作成を行う。最終的に、果皮色と食味との関係を明らかにしたところで、収穫適期となる果皮色を求め、それを判定できるカラーチャートの開発を行なう。

本研究では本県オリジナル品種の‘サマービュート’のカラーチャートを試作し、その適応性を調査したので報告する。

2. 実験方法

2-1 カラーチャートの作成と実用性の検討

‘サマービュート’について成熟過程ごとに果皮色を表す色(チャート色)を作成し、それらをまとめてカラーチャートとする方

法で開発を進めた。スモモの熟成に関しては、果実が熟すほど果皮に赤みを帯びる部分が増えていくような変化をする性質がある。その赤みも均一に帯びるのではなく、果頂部を中心にまだら状に着色する。この赤みを帯びる部分(着色部位)の果皮色と主に果梗部を中心とする赤色しない部分(地色部)の果皮色のどちらが収穫時期の判定に適するかを検討するため、この両方の部分の果皮色についてカラーチャートを作成することとした。

また、スモモは成熟過程において果皮表面にブルームが生じる。ブルームは果実の保護のために発生する白い粉状の物質である。これが発生することにより、果皮色は白を帯びたようになり、チャート色の作成に影響を与える。そこでブルームがある状態のカラーチャートとない状態のものを作成することとした。

チャート色の作成については、果樹試験場で測色計(KONICA MINOLTA社製, CR-400)を用いて測色した成熟時期ごとにおける果皮色のL*a*b*値を用いて、Adobe社製Photoshopにおいてその色を作成した。提供されたデータをもとにして、9段階の仮カラーチャート(第1版)を作成した(図1)。

なお、カラーチャート(第1版)の作成は、印刷機を特定して行うことでチャートの色の一定化を図った。この出力の際、画像編集ソフトおよび印刷機において色補正を行わないような設定で出力した。出力したカラーチャートは色の退色を防ぐためラミネート加工を施した。

作成したカラーチャート(第1版)は、実際に圃場での果皮色判定に使用し、その成熟過程を適切に表現しているか、視認性や使用感について課題点はないかなどの検討および必要な修正を行った。

2-2 試作カラーチャート(第2版)の適応性

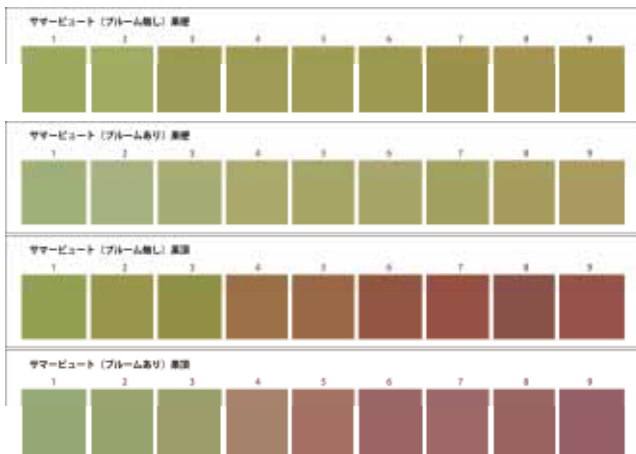


図1 ‘サマービュート’のカラーチャート(第1版)

試験にはY字形整枝の7年生‘サマービュート’を2樹供試した。適熟前後の果実を第2版のカラーチャート値1～5の色調に基づいて、果実を収穫した。

果皮色は着色しない部分の地色を色彩色差計(KONICA MINOLTA CR-400)で測定した。果実品質は、果実重、硬度、糖度、酸度、着色、食味を調査した。糖度は、果汁の可溶性固形物含量を糖度計(ATAGO PAL-1)で測定し、屈折計示度で示した。硬度はユニバーサル硬度計で、果実赤道部を測定した。酸度は、pH試験紙(ADVANTEC BCG)で果汁のpHを測定した。着色は1(劣る)～5(優れる)の5段階の指数で評価した。食味は同一被験者による官能試験で評価し、5段階の指数で示した。

機能性成分のうち、ポリフェノール含量は、フォーリンオカルト法により、果肉の新鮮重あたりのポリフェノール含量に換算して求めた。果皮の総アントシアニン含量は、分光光度計(NanoDrop)を用いて、抽出液の520 nmの吸光度を測定し、Cyanidin-3-glucoside chlorideの検量線($y=163.29x$)によりアントシアニン濃度を求め、果皮の新鮮重あたりのアントシアニン含量に換算して求めた。

2-3 収穫後の追熟特性の把握

棚仕立ての7年生‘サマービュート’(おはつもも台)を6樹供試した。第2版のカラーチャート値2～4の果実をそれぞれの色調に合わせて収穫した。収穫した果実は20℃の温度条件下に置いて追熟させた。果実品質、果皮色の色調の変化を処理当日、2日後、4日後で比較した。調査は、2-1の方法に準じて行った。

なお、第2版は試作の第1版の中から1・3・5・7・9番目のチャート色を抽出し、5段階のチャートとして修正した。また



図2 修正後の‘サマービュート’用カラーチャート(第2版)

チャート色の視認を向上させるために、チャート色間にスペースを設ける修正や、果実と接触させて色比較を行えるような形状への修正を行った。また背景色を白から黒へ変更する修正も行った(図2)。

3. 結果

3-1 カラーチャートの作成と実用性の検討

‘サマービュート’の赤みを帯びる部分(赤色部分)とそれ以外の部分(地色部分)の果皮色の第1版カラーチャート(図1)を作成し、その有用性や使用感について検討したところ、果実の赤色部分は、育成場所や個体ごとに差が生じやすく、必ずしも熟成状態を示すものとは言い切れない点があることが分かった。一方、地色部分の果皮色は、果実の成熟を適切に示すことから、収穫適期の判断には地色部分の果皮色を使用するカラーチャートを採用することとした。またブルームの有無については、ブルームを拭き取ることは商品価値に繋がる要因であるため、ブルームがついた状態のままの果皮色を判定することとし、ブルームありのカラーチャートを採用することとした。

第1版カラーチャート(図1)のチャート色は9段階で作成したが、実際使用したところ、チャート色間の色差が小さく目視での判別が困難であった。

3-2 試作カラーチャート(第2版)の適応性

試作カラーチャート(第2版)(図2)を使って収穫した‘サマービュート’の果実品質の推移を表1に示した。

カラーチャート値2を基準にした収穫では、糖度は13.6 Brixで、13 Brixを超えていたが、食味は0.9(5段階の指数)と低かった。カラーチャート値3で収穫すると、糖度は13.9 Brixで、カラーチャート2を基準に収穫した場合とほぼ同じであった。しかし、食味は3.2に向上した。さらにカラーチャート値4では、糖度が15.0 Brix、食味が4.2となり、果実品質はさらに向上した。

カラーチャート値を基準にした収穫で、‘サマービュート’の果皮はカラーチャートの基準値が変わっても地色の変化を示すa*値とb*値が変化しただけで、L値、 ΔE_{ab} 値には、一定の傾向は認められなかった(表2)。

果肉の総フェノール量にカラーチャート値の基準による変化は認められなかった。果皮のアントシアニン量は、カラーチャート値による収穫基準の変化に伴って増加したが増加量

表1 カラーチャートを使った‘サマービュート’の果実品質の推移

カラーチャート値	果実重 (g)	硬度 (kg)	糖度 (Brix)	酸度 (pH)	食味 (指数)
1	123.0	2.5	11.3	3.4	0.0
2	153.5	2.1	13.6	3.7	0.9
3	160.8	1.9	13.9	3.8	3.2
4	169.9	1.8	15.0	3.9	4.2
5	171.3	1.6	16.3	4.0	5.0

食味の指数は1(劣る)～5(優れる)の5段階評価で示した。

は少なかつた(表3)。

3-3 収穫後の追熟特性の把握

「サマービュート」の収穫後の果実品質の変化を比較し、表4に示した。カラーチャート値2では追熟しても品質はほとんど変化しなかつた。カラーチャート値3、カラーチャート値4で収穫した果実は、追熟によって糖度、食味とも向上し追熟後の硬度も

表2 ‘サマービュート’の果皮色の変化

カラーチャート値	L	a*	b*	ΔEab
1	67.7	-11.0	22.3	72.2
2	70.1	-9.2	24.0	74.1
3	77.0	-7.3	25.0	75.6
4	69.8	-5.0	26.7	74.7
5	68.2	-1.1	27.4	73.6

表色系は、L：暗(-)～明(+)、a*：緑(-)～赤(+)、b*：青(-)～黄(+)を表す。

$$\Delta E^*ab = [(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2]^{1/2}$$

表3 ‘サマービュート’の機能性成分の変化

C.C値	anthocyanin量(果皮)		Total phenol(果肉)	
	μg/g	(DW)	mg/g	(DW)
2	28.7		15.0	
3	59.3		12.1	
4	99.3		12.0	

表4 カラーチャートを使った‘サマービュート’の果実品質の推移

カラーチャート値	追熟日数	果実重(g)	硬度(kg)	糖度(Brix)	酸度(pH)	食味(指数)
2	0	155.7	2.1	13.1	3.7	0.9
	2	153.9	2.1	12.3	3.7	1.2
	4	154.7	2.0	12.8	3.7	2.2
3	0	160.8	1.9	13.9	3.8	3.2
	2	159.0	1.9	14.7	3.8	3.8
	4	152.4	1.8	14.7	4.0	4.1
4	0	169.9	1.8	15.0	3.9	4.2
	2	162.3	1.6	15.3	3.9	4.4
	4	162.0	1.6	15.7	3.8	4.5

食味の指数は1(劣る)～5(優れる)の5段階評価で示した。

表5 ‘サマービュート’の果皮色の変化

カラーチャート値	追熟後日数	L	a*	b*	ΔEab
2	0	70.1	-9.2	24.0	74.7
	2	69.5	-9.0	22.3	73.6
	4	68.0	-7.7	25.0	72.9
3	0	77.0	-7.3	25.0	75.6
	2	76.9	-6.6	24.7	75.3
	4	69.4	-5.6	24.2	73.8
4	0	69.8	-5.0	26.1	74.7
	2	70.1	-3.4	25.5	74.7
	4	67.1	-2.4	23.8	71.3

表色系は、L：暗(-)～明(+)、a*：緑(-)～赤(+)、b*：青(-)～黄(+)を表す。

$$\Delta E^*ab = [(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2]^{1/2}$$

4日後で1.6～1.8 kgを保持していた。このことから、カラーチャート値3、4での収穫が実用であった「サマービュート」はカラーチャート値2～4で収穫して追熟すると色彩色差計による果皮色の測定で、a*値の増加傾向が認められた。また、b*値の減少傾向がカラーチャート値3～4で収穫して追熟した場合に認められた。その他の測定値には一定の傾向はなかつた(表5)。

3. 考 察

3-1 カラーチャートの作成と実用性の検討

人の色の感じ方については様々な要素が関係し、測色計の数値が必ず見え方に反映するものではない。今回のカラーチャート開発では果皮の測色値や写真のデータをもとにしてチャート色を作成したが、その検証には実際に作業従事者の使用感を重要視してカラーチャートの開発を進めた。これは上記のような色の感じ方を考慮したものであり、最終的に現場で使用するにあたり有用なカラーチャートに繋がると考えたからである。

試作カラーチャートの今後の進め方については、現在これの形状は単純な矩形であるが、実際の現場作業の状況に応じた適切なデザインへ修正していく。また今年度作成した試作カラーチャートは、同一の作成環境と同一の出力機器で作成することにより、チャート色の一定化を図った。今後この色の一定化については、測色を行うことで管理する予定である。

3-2 試作カラーチャート(第2版)の適応性

チャート色を基準にして収穫すると果実の品質はカラーチャートの基準値が上がるに従って向上した。この結果は、これまでに富田³⁾が示した地色が淡黄色になり、果実にやや弾力があることを目安に収穫するとして「サマービュート」の収穫基準と一致している。このことから熟度と果皮色の変化には相関があると考えられた。

‘サマービュート’には、光の当たる陽光面だけが着色する特性があるので着色部位の測定はばらつきが大きいため調査から除外した。本試験では、果梗部付近の着色していない部分の果皮色をブルームがある状態で測定した。果皮色はカラーチャートの基準値が変わっても地色の変化を示すa*値とb*値が変化しただけであった。地色の緑を示すa*値の変化が、b*値よりも大きいことから、着色していない部分の果皮色の測定が適切であったことが示された。

3-3 収穫後の追熟特性の把握

果樹では、樹種ごとに果実品質の評価基準が異なる⁴⁾。また、スモモは、品種ごとに追熟特性が異なるため、品種ごとに特性を明らかにする必要がある⁵⁾。本試験ではスモモの新品種‘サマービュート’について収穫後の追熟特性を検討した。未熟な状態では消費者への流通が予想される収穫2～4日後の果実品質から判断すると、カラーチャート値3～4で収穫すれば、

1.6 kgの果実硬度を維持し、糖度が14.0 Brix, 食味が4.0以上の高品質の果実を消費者に提供できると考えられた。

4. 結 言

熟成過程ごとの果皮の測色数値および写真データから作成したチャート色による試作版カラーチャートは、実地での検討と修正を加える中、果皮色の判定に使用できるものを開発することができた。

カラーチャート(第2版)作成の中で開発した果皮色データからのチャート色の作成手法は、他品種のチャート色作成にも適用し、今後のカラーチャートの開発を行っていく。

さらに、収穫の基準としたカラーチャート値の色調と、それを基に収穫した果実の色調との相関について解析するとともに、生産現場での実際の使い勝手を検討する。

5. 謝 辞

本研究のコーディネーターとして、試験の進行や取りまとめに際し適切なお助言を頂いた総合理工学研究機構の市川和規特別研究員に深く感謝申し上げます。

参考文献

- 1) 山崎利彦, 鈴木勝柁, 村瀬昭治, 大竹智: 果実の熟度判定のためのカラーチャートの作成とその利用に関する研究(第2報), 果樹試験場報告 A第8号79-84 (1981)
- 2) 鈴木勝柁, 山崎利彦, 村瀬昭治, 宮川久義, 野方俊秀, 水戸部満, 森田彰: 果実の熟度判定のためのカラーチャートの作成とその利用に関する研究(第3報)成熟と果皮色との関係, 果樹試験場報告 A第8号84-100 (1981)
- 3) 富田晃: スモモ「サマービュート」「サマーエンジェル」の収穫適期 山梨県果樹試験場編平成19年度成果情報, (2007)p.250-251.
- 4) 果樹課題別研究会資料, 果実品質の評価基準と栽培上の問題, 農林水産省果樹試験場編集(1995)p.1-50.
- 5) 山梨県果樹園芸会, スモモ栽培の手引き(1988)p.1-105.

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

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

エチレン作用阻害剤1-MCP処理によるモモ貯蔵果実の鮮度保持効果

手塚 誉裕, 加藤 治
(山梨県果樹試験場)

要約 エチレン作用阻害剤の1-MCPをモモ果実処理し、低温貯蔵による鮮度保持効果について調査した。5°C貯蔵では、無処理区の貯蔵可能日数が10日間程度に対し、処理区は14日間程度であり鮮度保持効果があった。-1°C貯蔵は、処理区と無処理区に差はなかったが、出庫後において果実硬度の低下をやや抑制した。また、やや果肉が硬い状態で処理することにより、処理効果が高くなると考えられた。

Freshness maintenance effect on stored peach fruit by the ethylene action repressor 1-MCP processing

Takahiro TEZUKA, Osamu KATOU
(Yamanashi Fruit Tree Experiment Station)

Abstract To develop the freshness preservation technique correspondence to distribution formation, peach fruits was proceed with ethylene action inhibitor "1-MCP", and the freshness preservation effect by carrying out low temperature storage was researched. In the case of 5°C storage, while the storage day of the conditions which didn't use 1-MCP were about 10 days, the storage day of the conditions which used it were about 14 days. In -1°C storage, it wasn't the difference between 1-MCP use or nonuse, but the peach fruit of used it was controlled the decline of fruit hardness after taking out the storage facility. Besides it was effective that it was proceeding when flesh of the peach fruit was slightly hard. It was suggested that there was freshness preservation effect in 1-MCP.

場合の鮮度保持効果について報告する。

1. 緒言

モモは本県の主要農産物であり、年間約53,000 t生産されている。生産物は市場出荷が主体ではあるが、直売・宅配の増加や海外への輸出が始められ、流通形態は多様化している。市場出荷では、7月下旬に出荷量が集中するため価格が低下する。このため、果実の貯蔵等により計画的に出荷量を分散させ、価格の安定化が望まれている。また、果実を貯蔵し、収穫が終了した9月以降に出荷するなど、長期的な販売が必要とされている。一方、近年、直売や宅配を行う生産者は急増している。直売や宅配では、果実の貯蔵を行い、消費者の要望に応じた販売をする必要がある。

現在、台湾向け輸出が主体であり、輸送期間は航空便で4～5日間かかっている。県では、輸出量を4～5倍に増加し、台湾の他に香港やシンガポールにまで拡大する計画をたてている。輸出量の増加に伴い船便の利用が考えられるが、船便の輸送期間は10～14日間となる。このため、輸出では長期間の輸送を可能とする果実の鮮度保持技術が必要となる。

モモ果実の貯蔵性は、25°Cの常温下で3日程度、5°Cの低温貯蔵において10日間程度であり、それ以上になると

果肉の軟化や風味が消失し、食味が低下する。このように、モモは貯蔵性が極めて低い。

そこで、各流通形態に対応した鮮度保持技術を開発するため、長期貯蔵や貯蔵に適した品種の選定、鮮度保持剤や機能性冷蔵庫による鮮度保持技術、モモの香気成分の消失特性及び消失抑制方法等について研究している。

本報では、カキやナシ等で鮮度保持効果が認められる、エチレン作用阻害剤の1-MCP(商品名:スマートフレッシュ、Rohm & Haas China Inc.)をモモ果実に処理し、低温貯蔵した

2. 実験方法

2-1 「白鳳」における低温貯蔵と1-MCP処理効果

試験には、山梨県果樹試験場内で2010年に収穫した「白鳳」を、収穫後携帯用光センサーにより果実硬度を揃え供試した。試験区はやや硬度が高い早期収穫区(硬度2.7 kg程度)と適熟硬度(硬度2.3 kg程度)で収穫した適期収穫区とした。各区に1-MCP処理区と無処理区を設置し、それぞれ5°Cと-1°Cの冷蔵庫(湿度80%)で貯蔵し、貯蔵温度の違いによる鮮度保持効果について検討した。処理方法は、収穫後ただちにコンテナに果実を並べコンテナごと100Lプラスチック容器に入れた。その容器内の1-MCP濃度は2000 ppbとし、容器を密閉し20°C設定の庫内で16時間処理した。処理後はコンテナをポリビニール袋で包み、5°Cと-1°Cで貯蔵した。貯蔵期間は40日程度とし、貯蔵開始から7日間隔で、硬度、糖度、酸度、食味など果実品質の調査を行った。なお、果実調査は、出庫後15°Cで15時間保冷処理し、果実を常温にもどした後に行った。

2-2 「浅間白桃」、「幸茜」における低温貯蔵と1-MCP処理効果

品種による処理効果の違いを調査するため、2011年に肉質など果実品質の異なる「浅間白桃」、「幸茜」を使用した。試験には、JAの出荷果実の中から共選所の透過型光センサーで適熟果を選別し、熟度を揃えた果実を供試した。1-MCP処理後の貯蔵温度を5°Cと-1°Cに設定し、貯蔵温度の違いによる鮮度保持効果について検討した。1-MCPの処理濃度や処理方法は試験2-1における「白鳳」と同様にした。果実調査は、貯蔵開始から7日間隔で行い、硬度、糖度、酸度、香気、食味、外観などについて調査した。なお、冷蔵庫から出庫してからの日

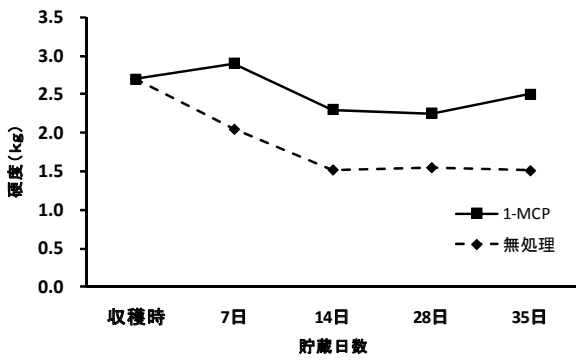


図1 1-MCP処理による白鳳の貯蔵中の硬度推移 (早期収穫区, 5°C 貯蔵)

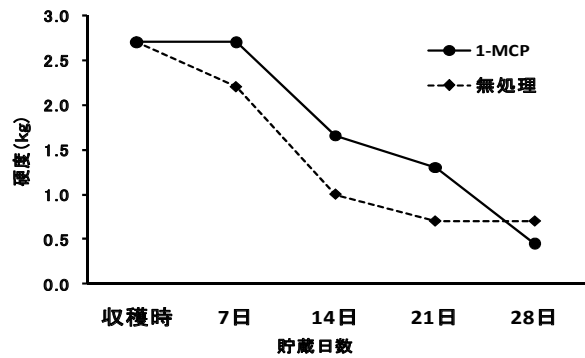


図4 1-MCP処理による幸茜の貯蔵中の硬度推移 (5°C 貯蔵)

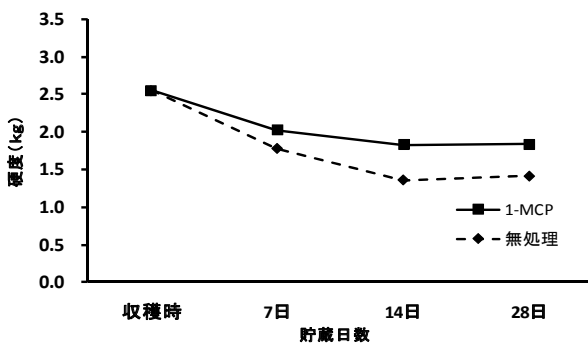


図2 1-MCP処理による白鳳の貯蔵中の硬度推移 (適期収穫区, 5°C 貯蔵)

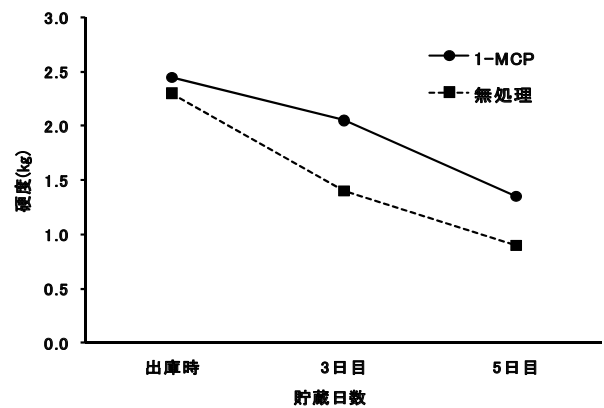


図5 1-MCP処理による幸茜の出庫後の硬度推移 (-1°C 貯蔵21日目出庫)

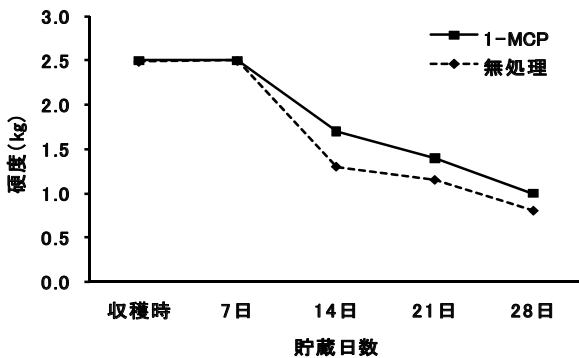


図3 1-MCP処理による浅間白桃の貯蔵中の硬度推移 (5°C 貯蔵)

持ち性を確認するため、「幸茜」は出庫3日後、5日後の果実品質も調査した。

3. 結果

3-1 「白鳳」における低温貯蔵と1-MCP処理効果

果実硬度は、1-MCP処理後5°Cで貯蔵した場合、早期収穫区・適期収穫区ともに処理区は無処理区より硬度を維持する傾向が見られた(図1、図2)。早期収穫区では、貯蔵14日目で無処理区が出荷限界硬度の1.8 kg以下の硬度1.5 kgに低下したのに対し、処理区は硬度2.3 kg程度を維持していた。適期収穫区においても、無処理区が硬度1.3 kgに低下したのに対

し、処理区は出荷限界硬度1.8 kg程度を維持していた。早期収穫区は適期収穫区と比較し、処理区の硬度が高く保たれた。また、1-MCP処理後-1°Cで貯蔵した場合、処理区、無処理区とも貯蔵40日以上経過しても収穫時の果実硬度を維持した(図省略)。

糖度は1-MCP処理の効果はみられなかった。酸度は全試験区とも貯蔵日数が増加するにつれ、やや上昇する傾向が見られたが、1-MCP処理の効果はなかった。食味は5°C貯蔵では、貯蔵14日目で無処理区は食味不良となったが、処理区は食味に問題なく効果が認められた。-1°C貯蔵では処理区、無処理区とも貯蔵30日目まで食味に変化はなかったが、1-MCP処理による差は認められなかった。

3-2 「浅間白桃」、「幸茜」における低温貯蔵と1-MCP処理効果

「浅間白桃」は5°C 14日目貯蔵において無処理区では硬度1.3 kgと軟化し食味も低下したのに対し、1-MCP処理区は硬度1.8 kgで食味も問題なかった(図3)。-1°C貯蔵では、処理区及び無処理区とも貯蔵42日目まで硬度2.3 kg以上の収穫時の硬度を保持し、処理効果は認められなかった(図省略)。

「幸茜」は5°C 14日目貯蔵において無処理区が硬度1.0 kg、処理区が硬度1.5 kgであり、無処理区より効果が認められた。しかし、出荷限界硬度1.8 kgを下回り果肉の軟化や粉質化が

表1 1-MCP処理によるエチレン発生量(幸茜, 貯蔵7日目)

試験区	エチレン発生量 (nmol/g/h)	
	処理時間(1h)	処理時間(2h)
5°C(1-MCP)	0.006 ^b	0.008 ^b
5°C(無処理)	0.011 ^a	0.022 ^a
-1°C(1-MCP)	0.003 ^b	0.002 ^c
-1°C(無処理)	0.005 ^b	0.004 ^c

注) Tukeyの多重検定の結果、同一記号のついた平均値間には5%水準で有意差がない。

みられ貯蔵性はなかった(図4)。

-1°C貯蔵では、処理区及び無処理区とも貯蔵42日目まで硬度2.3 kg以上を保持し、処理効果は認められなかった(図省略)。また、-1°C貯蔵における貯蔵21日目の出庫後の日持ち性は、出庫3日後で無処理区は粉質化していたが、処理区の粉質化はみられず硬度が維持されていたが、5日目は果肉が軟化した(図5)。また、貯蔵7日目のエチレン発生量は、5°C貯蔵において処理区は無処理区と比較して少なく、1-MCP処理により果実中においてエチレンの作用阻害がされたと考えられる(表1)。

4. 考察

モモの鮮度保持向上を目的に、エチレン作用阻害剤(1-MCP)処理による果実の貯蔵試験を行った結果、5°C貯蔵において出荷が可能な硬度(1.8 kg)を保持できる貯蔵日数は、無処理区が10日間程度に対し、処理区は14日間程度であり、鮮度保持に効果があった。また、果実硬度がやや硬い状態で処理効果が高いことから、収穫をやや早めに行い処理することが有効と考えられた。-1°C貯蔵は、処理区と無処理区に差はなかったが、出庫後の硬度の低下は抑えられる傾向があった。これは、-1°Cの低温貯蔵により果実のエチレン発生が減少するため、処理区と無処理区に差はなく硬度が保持され、出庫してからの温度上昇に伴い処理効果が現れたと推察される。このことから、-1°Cで貯蔵する場合、出庫後の軟化抑制としての利用を検討する必要があると考えられた。品種による果実品質の違いについては、「白鳳」、「浅間白桃」は大きな差はなかったが、「幸茜」については貯蔵中に果肉が粉質化し食味の低下がみられた。このことから、品種により処理効果が異なると考えられた。

5. 結言

1-MCPの利用方法としては、5°C貯蔵において14日間程度の鮮度保持効果があるため、輸出など長期輸送時の利用や出荷調整などに期待ができる。しかし、品種による処理効果の違いや、出庫後の品質についても明確になっていないため、今後さらに検討する必要がある。

なお、1-MCP(商品名スマートフレッシュ)は新しい薬剤であり、現在モモへの使用登録はされていない。そのため、試験を

行うことで有効性を実証し、登録への働きかけをする必要がある。

謝辞

試験を実施するにあたり、1-MCP(商品名スマートフレッシュ)の提供等をしていただいたローム・アンド・ハースジャパン株式会社の皆様に御礼申し上げます。

また、試験の遂行にあたりご指導、ご助言をいただきました総合理工学研究機構の市川和規特別研究員に感謝申し上げます。

参考文献

- 1) 羽山裕子, 阪本大輔, 立木美保, 中村ゆり: AVGと1-MCPの併用処理によるモモ果実の日持ち性向上, 2008, 園学研, (Hort.Res.(Japan)) 7(別), 1:302
- 2) 羽山裕子: 1-メチルシクロプロペンの作用機構, 果実日本, P18-21 (2008)
- 3) 羽山裕子, 伊東明子, 榎村芳記: 1-MCPの処理条件がモモの日持ち性に及ぼす影響, 2003, 園学雑, 72別1, 141
- 4) 羽山裕子, 立木美保, 中村ゆり, 榎村芳記: エチレンによるモモ果実の軟化制御機構, 2007, 園学研, (Hort.Res.(Japan)) 6(別), 1:286

資 料

1 平成23年度山梨県総合理工学研究機構の活動

(1) 山梨県総合理工学研究機構運営委員会の開催

(委員名簿は別表1)

- ・平成23年6月30日 第1回運営委員会開催
平成22年度終了研究テーマの事後評価
実施中の研究テーマの取組状況
- ・平成23年10月28日 第2回運営委員会開催
平成22年度開始研究テーマの中間評価
平成24年度新規研究テーマ(案)の事前評価

(2) 山梨県総合理工学研究機構テーマ等調整会議の開催

(構成員名簿は別表2)

- ・平成23年6月2日 第1回会議開催
平成23年度研究体制について
平成23年度研究予算の配分について
平成22年度終了研究テーマの運営委員会における事後評価について
実施中の研究テーマの取組状況について
- ・平成23年10月24日 第2回会議開催
平成22年度開始研究テーマの運営委員会における中間評価について
平成24年度新規研究テーマ(案)の運営委員会における事前評価について
- ・平成24年3月9日 第3回会議開催
平成25年度新規研究テーマの提案状況について

(3) 山梨県総合理工学研究機構研究員研修会の開催

- ・平成23年8月1日 第1回研修会開催 山梨県果樹試験場 参加人数 53名
講演「私たちはどこから来て、どこへ行くのか」 講師 山梨県立大学学長 伊藤 洋
総理研研究の試験概要、試験場視察
- ・平成23年12月2日 第2回研修会開催 山梨県富士工業技術センター 参加人数 40名
甲斐絹ミュージアム紹介、研究紹介、センター視察

(4) 山梨県総合理工学研究機構共同研究テーマ企画会議の開催

- ・平成24年1月27日開催
平成25年度新規研究テーマ提案状況

(5) 試験研究重点化事業に係る評価の実施

- ・平成23年7月5日～7日(3日間)
事後評価(平成22年度終了課題):7機関15課題
- ・平成23年10月13日～20日(6日間)
事前評価(平成24年度新規課題):5機関10課題の提案中8課題を採択
中間評価(平成24年度継続課題):7機関19課題の提案中19課題を採択

(6) 研究報告書の出版

- ・平成23年8月31日 山梨県総合理工学研究機構研究報告書第6号を出版

(7) 研究成果の発表

- ・平成23年9月9日 やまなし産学官連携研究交流事業において研究発表
- ・平成24年2月22日 研究成果発表会開催 山梨県立文学館 参加人数 約160名

(8) その他

- ・特許
登録番号 特許4852727号 登録日 平成23年11月4日
名称 「鳥類卵の孵化抑止方法及びその装置」

別表1 山梨県総合理工学研究機構運営委員会委員名簿

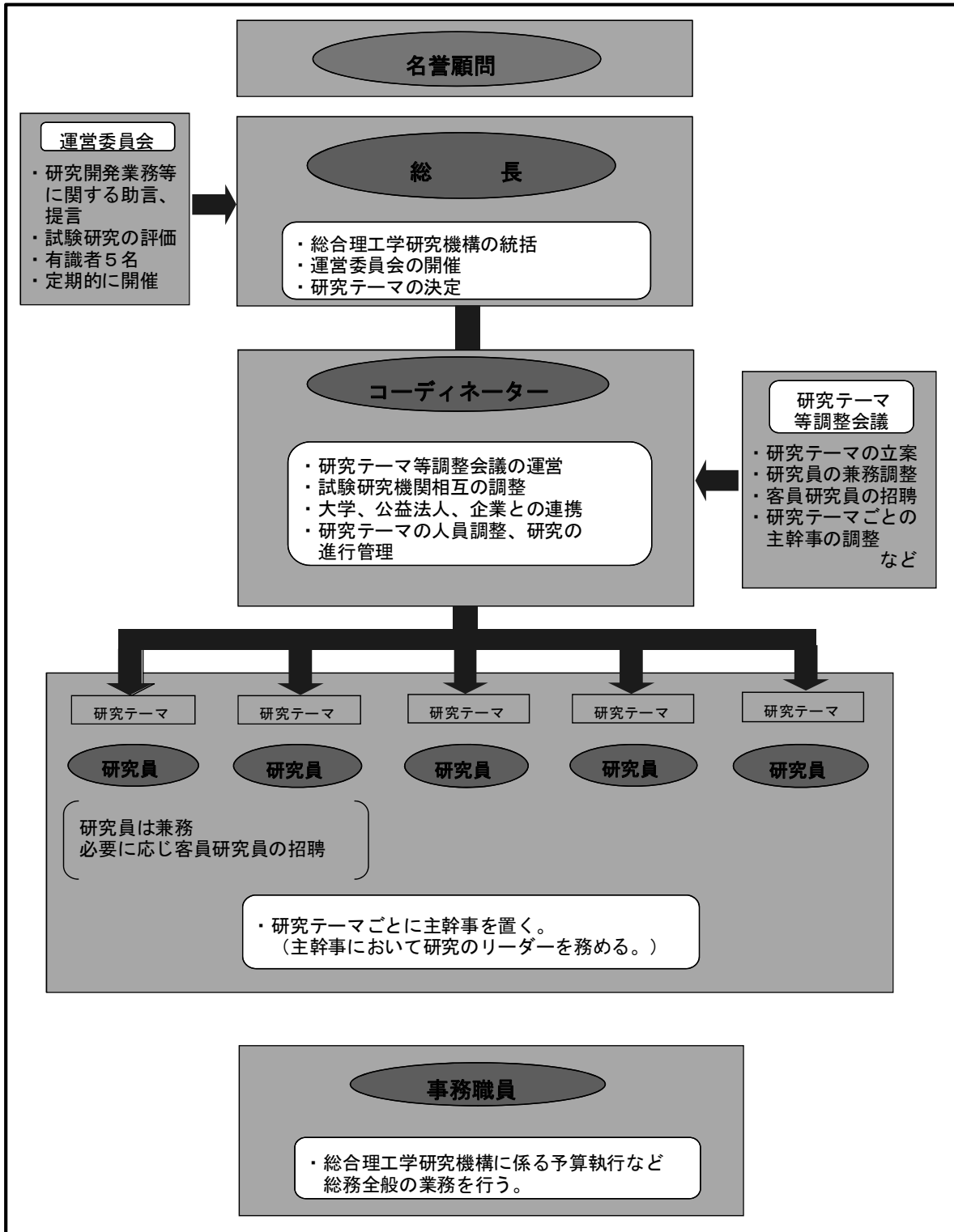
氏 名	役 職 名
◎伊 藤 洋	山梨県立大学学長
○風 間 善 樹	産業活性化研究所所長、山梨県機械電子工業会名誉会長
有 田 順	山梨大学大学院医学工学総合研究部長・医学部長・生理学教授
早 川 正 幸	山梨大学工学部教授
陽 捷 行	北里大学副学長

(五十音順、役職名は平成23年6月現在、◎：委員長、○：副委員長)

別表2 山梨県総合理工学研究機構研究テーマ等調整会議構成員名簿

氏 名	職 名
村 松 克 彦	山梨県衛生環境研究所長
永 井 正 則	山梨県環境科学研究所副所長
佐 野 克 己	山梨県森林総合研究所長
清 水 幹 人	山梨県工業技術センター所長
原 田 育 夫	山梨県富士工業技術センター所長
三 井 潔	山梨県水産技術センター所長
赤 池 栄 夫	山梨県総合農業技術センター所長
中 込 一 憲	山梨県果樹試験場長
條 々 和 実	山梨県畜産試験場長
平 島 勝 教	山梨県酪農試験場長
都 築 敏 雄	山梨県総合理工学研究機構事務局長
中 山 信 一	山梨県総合理工学研究機構コーディネーター
市 川 和 規	山梨県総合理工学研究機構コーディネーター
瀬 子 義 幸	山梨県総合理工学研究機構コーディネーター

2 平成23年度山梨県総合理工学研究機構組織図



3 平成23年度職員名簿

名誉顧問	大村智	主任研究員（兼）	木村英生
総長	小林正彦	主任研究員（兼）	小松利安
事務局長	都築敏雄	主任研究員（兼）	串田賢一
次長（兼）	平山一	主任研究員（兼）	堀内雅人
		主任研究員（兼）	山田博之
		主任研究員（兼）	萩原義人
（総務スタッフ）		主任研究員（兼）	萩原義人
副主幹	古屋登士匡	研究員（兼）	土橋宏司
		研究員（兼）	宮川和博
		研究員（兼）	山崎修平
（コーディネーター）		研究員（兼）	山崎修平
特別研究員	中山信一	研究員（兼）	勝又信行
特別研究員	市川和規	研究員（兼）	石黒輝雄
研究管理幹	瀬子義幸	研究員（兼）	阿部治
		研究員（兼）	宇土幸伸
		研究員（兼）	早川亮
（研究スタッフ）		研究員（兼）	早川亮
研究管理幹（兼）	高橋一孝	研究員（兼）	萩原栄揮
主幹研究員（兼）	本郷哲郎	研究員（兼）	石井利幸
主幹研究員（兼）	北原正彦	研究員（兼）	鈴木文晃
主幹研究員（兼）	吉澤一家	研究員（兼）	長沼孝多
主任研究員（兼）	富田晃	研究員（兼）	斎藤美貴
主任研究員（兼）	小林和司	研究員（兼）	布施嘉裕
主任研究員（兼）	中野隆志	研究員（兼）	橋本卓也
主任研究員（兼）	戸沢一宏	研究員（兼）	飯島勇人
主任研究員（兼）	杉田幹夫	研究員（兼）	佐々木裕也
主任研究員（兼）	吉村千秋	研究員（兼）	芦澤里樹
主任研究員（兼）	長坂克彦	研究員（兼）	古屋雅章
主任研究員（兼）	松下浩一	研究員（兼）	望月陽介
主任研究員（兼）	西川浩己	研究員（兼）	小嶋匡人
主任研究員（兼）	有泉直子	研究員（兼）	加藤治
主任研究員（兼）	手塚誉裕		
主任研究員（兼）	宮川和幸		
主任研究員（兼）	上野直也		
主任研究員（兼）	長池卓男		
主任研究員（兼）	佐野正明		

4 研究課題及び担当コーディネーター一覧

No.	研究テーマ	年 度							
		17	18	19	20	21	22	23	24
17-1	地域農産素材等の機能性解明と高付加価値製品の開発	功刀能文	眞浦正徳	眞浦正徳	眞浦正徳				
17-2	未利用農林産物系バイオマスの利用技術の開発	功刀能文	眞浦正徳	眞浦正徳					
17-3	廃棄プラスチックの熱分解とリサイクル技術の研究開発	鮎沢信家	永井正則						
17-4	無電極放電プラズマ光による次世代水殺菌処理システムの研究開発	鮎沢信家	乙黒親男						
17-5	栽培条件の異なるブドウ「甲州」を用いたワインの個性化醸造技術の確立に関する研究	渡辺和裕	乙黒親男	乙黒親男					
18-1	農林水産物の鳥獣類被害に対する防除対策の研究		永井正則	永井正則					
19-1	ブドウ搾り滓を活用した家畜排せつ物の堆肥化および環境負荷低減化技術の開発			乙黒親男	上條幹人	市川和規			
19-2	人工光利用による施設栽培ブドウの高品質化技術の開発			眞浦正徳	眞浦正徳	市川和規			
19-3	甲府盆地飲用地下水を中心とする水質特性の時系列解析および新規地下水調査			永井正則	永井正則	奥水達司			
20-1	自然公園内における湖沼の水質の向上に関する研究				永井正則	奥水達司	奥水達司		
20-2	自然資源のもたらす保健休養上の効用に関する研究				永井正則	奥水達司			
20-3	野生動物による被害の防除に関する研究				永井正則	奥水達司			
20-4	酸化亜鉛透明導電膜の成膜プロセス開発と有効活用に関する研究				上條幹人	上條幹人			
21-1	化合物半導体多層太陽電池の開発					上條幹人	中山信一		
21-2	酒造米および有色素米の栽培と利用に関する研究					市川和規	市川和規	市川和規	
21-3	醗酵食品残渣の有効利用に関する研究					市川和規	市川和規	市川和規	
21-4	高効率太陽熱吸収技術に関する研究開発					上條幹人	中山信一	中山信一	
22-1	マイクロ金型による微細転写加工技術に関する研究						中山信一	中山信一	中山信一
22-2	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						奥水達司	瀬子義幸	瀬子義幸
23-1	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							瀬子義幸	瀬子義幸
23-2	装身具向け貴金属合金の開発に関する研究							中山信一	中山信一
23-3	果実の収穫適期の把握と専用カラーチャートの開発							市川和規	市川和規
23-4	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							市川和規	市川和規
24-1	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								市川和規
24-2	タケ資源の有効利用に関する研究								中山信一
24-3	クニマスの生態解明及び増養殖に関する研究								市川和規

総合理工学研究機構研究報告書
第 7 号

Y-CROST Research Report No. 7 (2012)

2012年8月発行

編集・発行
山梨県総合理工学研究機構

〒400-0055 甲府市大津町2094
電話 : 055-243-6046
Fax : 055-243-6047
e-mail : s-rikouken@pref.yamanashi.lg.jp

印刷 株式会社ヨネヤ
表紙デザイン : 山梨県工業技術センター デザイン技術部



環境にやさしい植物性大豆インキを
使用しています。