

研究レポート集 2008

Report

第9号



岩手・宮城内陸地震 M7.2 (2008.6.14)

THE YAKUMO FOUNDATION FOR ENVIRONMENTAL SCIENCE

財団法人 八雲環境科学振興財団

設立の趣旨



今日の環境問題は、従来の公害問題とは異なり、日常的な事業活動や生活活動に起因する部分が非常に多く、また、地球環境問題が示すように空間的・時間的広がりをもつ深刻な問題であります。岡山県は、豊かな自然と温暖な気候に恵まれた風土を背景に、古代吉備文化に代表される古い歴史と多彩な文化を持つ住みよい地域であります。しかし、より便利で快適な暮らしへと進展していく中で、現状の自然環境、社会環境、生活環境などは必ずしもバランスのとれた状態とは言い難く、多くの問題を抱えているものと思われます。

株式会社エイトコンサルタントは、昭和30年に八雲測量社として創業し、今日まで「自然との共生」を基本理念に、地域の社会資本整備の要請に応えて参りました。これまでの足跡を振り返りますと、今日の成果を成し遂げることができたのも、社会全般のご指導とご支援によるものと深く感謝するとともに、これまで以上の社会貢献ができないかと日頃配意しておりました。

このような中で、21世紀に向けた「環境」に関するテーマについて、産官学がより一体となった学術研究面での充実および地球環境保全を視野に入れた国際的な意識の醸成を奨励することが必要であると考えました。そして、環境科学に関する調査研究の推進や創造性豊かな研究者の養成を支援することにより、岡山県における学術および技術開発の進展並びに国際研究交流の増進に貢献していくことを目的として、平成10年7月29日、「財団法人 八雲環境科学振興財団」が設立されました。

今後とも当財団の育成につきまして、御協力、御支援を賜りますよう、よろしくお願い申し上げます。

財団法人 八雲環境科学振興財団
理事長 小谷 裕司

目 次

1. 卷頭言	1
2. 財団の概要	2
3. 役員等名簿	3
4. 寄附行為	4
5. 平成19年度事業実施状況	9
6. 年度別助成事業実施状況	12
7. 研究発表会実施状況	17
8. 平成19年度環境研究助成報告	19
9. 平成19年度国際研究交流助成報告	114
10. 平成19年度研究集会助成報告	117
11. 平成19年度その他の助成報告	119
12. 助成実施要項	127
13. ご寄附のお願い	133

1. 卷頭言

私が環境（公害）を身近な問題として意識したのは1960年代の大気汚染問題（当時はスモッグという言葉が流行した）からです。四日市喘息問題は全国的によく知られていますが、水島臨海工業地帯のスモッグも相当なものでした。私の家は連島の山脈を挟んだ北側で、直接的な被害は感じはしませんでしたが、山の頂上から眺めると山の南側と北側では大気がはっきりと異なっているのが確認できました。小学生の頃は家の近くを流れる農業用の幹線用水路でよく遊泳をしましたが、西瓜の皮や菜っ葉やその他家庭から出るごみが沢山流れてきました。

現在は水島のスモッグも用水路のごみも見られず、見た目の身近な環境は法令や地域住民の意識の向上によって改善されてきました。

一方、広域あるいは地球規模の環境問題は時を追うにつれて多様化、深刻化してきています。

日本の人口は最近減少方向に転じましたが、発展途上国の人団人口増加は著しく2050年には世界人口が90億人を超えるとの予測もなされています。

人口が増加し、生活レベルが向上すれば、環境への負荷は益々増大します。地球上の全ての状態は長時間かけて今の状態になり、バランスを保つてきましたが、人間の行為が自然を変え、生態系を変え、種々の災害を誘引しています。

昔の人は自然でも生物でも、利用する一方では神として崇め、知らず知らずのうちに保全、保護してきました。現在を生きる私たちも畏敬の念を持って、良好なままの環境を後世に引き継がなければなりません。

株エイトコンサルタントは「自然を知り大地を活かす」の社詞のもとに環境への配慮を重点課題と位置付けて業務に取り組んでいます。しかし、残念ながら人為的な局部環境破壊に対する代替、復元、軽減の策を講じているという域を脱していません。

幸い八雲環境科学振興財団は平成10年の設立以来、理事、監事、評議員、選考委員として財団事業の育成、運営を支えていただいた諸先生方のお陰をもちまして、又当財団の趣旨をご理解下さった岡山県下の各大学、研究機関の研究者のご努力によって、今回発表の平成20年度までに、環境研究助成113件、国際研究交流助成62件、研究集会助成10件の実績を積むことが出来ました。当財団の関係者の一人として厚く御礼申し上げますとともに、財団の事業が環境科学の発展あるいは研究者の育成の一助となり、あわよくば将来の地球の運命を変えるような大研究につながればと期待する次第でございます。

評議員 谷 本 俊 夫
(株エイトコンサルタント取締役専務執行役員)

2. 財団の概要

名 称 財団法人 八雲環境科学振興財団

所 在 地 岡山県岡山市津島京町三丁目1番21号
(株式会社エイトコンサルタント内)

主務官庁 岡山県教育委員会

設立許可 平成10年7月29日
(平成14年8月26日 特定公益増進法人に認定)

出 捐 者 株式会社エイトコンサルタント他

基本財産 2億5,000万円(平成20年3月末現在)

事業概要 (1) 環境研究助成事業

環境科学に関する研究費用の助成(年間12件程度)

- ①特定研究(テーマ指定) 一件当たり100万円以内
- ②一般研究(テーマ自由) 一件当たり 50万円以内

(2) 国際研究交流助成事業

環境科学に関する海外渡航費用の助成及び海外研究者招聘費用の助成(年間4件程度) 一件当たり 20万円以内

(3) 研究集会助成事業

環境科学に関する研究集会等の開催費用の助成(年間2件程度)
一件当たり 30万円以内

助成対象 岡山県内の大学等の研究機関に所属する研究者又は研究グループ

3. 役員等名簿

役職名	氏 名	現 職 等
理事長	小谷 裕司	(株)エイトコンサルタント代表取締役社長
理 事	河野伊一郎	独立行政法人 国立高等専門学校機構理事長 岡山大学特別顧問（前岡山大学学長）
	目瀬 守男	美作大学名誉学長
	赤木 靖春	学校法人加計学園専務理事
	山北 次郎	岡山県立大学情報工学部教授
	沖 陽子	岡山大学環境理工学部長
	伊丹 文雄	財団法人倉敷スポーツ公園理事長
	小谷 敏幸	(株)エイトコンサルタント相談役
監 事	西田 秀史	弁護士
	大橋 庄平	税理士
	小谷 浩治	(株)エイトコンサルタント管理本部管理部長
評議員	本水 昌二	岡山大学大学院自然科学研究科教授
	杉尾 剛	岡山大学大学院自然科学研究科教授
	波田 善夫	岡山理科大学 学長
	西垣 誠	岡山大学大学院環境学研究科教授
	飯島 祥二	岡山商科大学商学部教授
	阿部 宏史	岡山大学大学院環境学研究科長
	岩田 正晴	ロック地域計画事務所 代表
	谷本 俊夫	(株)エイトコンサルタント取締役
	高橋 尚城	(株)エイトコンサルタント取締役
選考委員	稻井 寛	岡山県立大学情報工学部教授
	坂本 圭児	岡山大学大学院環境学研究科教授
	星野 卓二	岡山理科大学総合情報学部教授
	大久保賢治	岡山大学大学院環境学研究科教授
	熊澤 貴之	岡山県立大学デザイン学部講師
	吉田 庄太	(株)エイトコンサルタント監査役
	永井 泉治	(株)エイトコンサルタント技術本部 部長

4. 寄附行為

第 1 章 総則

(名称)

第1条 この法人は、財団法人八雲環境科学振興財団という。

(事業所)

第2条 この法人は、事務所を岡山県岡山市津島京町三丁目1番21号に置く。

第 2 章 目的及び事業

(目的)

第3条 この法人は、環境科学に関する調査研究の推進や創造性豊かな研究者の養成を支援することによって、岡山県における学術及び技術開発の進展に寄与することを目的とする。

(事業)

第4条 この法人は、前条の目的を達成するため、次の事業を行う。

- (1) 環境科学に関する調査研究の助成及び研究者の養成援助
- (2) 環境科学に関する国際研究集会等への派遣並びに国際研究交流の助成
- (3) その他前条の目的を達成するために必要な事業

第 3 章 資産及び会計

(資産の構成)

第5条 この法人の資産は、次に掲げるものをもって構成する。

- (1) 設立当初の財産目録に記載された財産
- (2) 寄附金品
- (3) 財産から生ずる収入
- (4) その他の収入

(資産の種別)

第6条 この法人の資産は、基本財産と運用財産の2種とする。

2 基本財産は、次に掲げるものをもって構成する。

- (1) 設立当初の財産目録中、基本財産の部に記載された財産
- (2) 基本財産とすることを指定して寄附された財産
- (3) 理事会で基本財産に繰り入れることを議決した財産
- (4) 基本財産とされている株式にもとづく新株の発行により取得した株式

3 運用財産は、基本財産以外の資産とする。

(資産の管理)

第7条 この法人の資産は、理事長が管理し、その方法は、理事会の議決により定める。

2 基本財産のうち、現金は、郵便官署若しくは確実な金融機関に預け入れ、信託会社に信託し、又は国債、公債その他確実な有価証券に換えて、保管しなければならない。

(基本財産の処分の制限)

第8条 基本財産は、譲渡し、交換し、担保に供し、又は運用財産に繰り入れてはならない。ただし、この法人の事業遂行上やむを得ない理由があるときは、評議員会の同意を得た上、理事会において、理事現在数の4分の3以上の議決を経、かつ、岡山県教育委員会の承認を得て、その一部に限りこれを処分し、又は担保に供することができる。

(経費の支弁)

第9条 この法人の業務遂行に要する経費は、運用財産をもって支弁する。

(事業計画及び収支予算)

第10条 この法人の事業計画及びこれに伴う収支予算は、理事長が作成し、毎会計年度開始前に評議員会の同意を得た上、理事会において理事現在数の3分の2以上の議決を得なければならない。これらを変更する場合も同様とする。

2 理事長は、前項の議決があったときは、直ちにその事業計画書及び収支予算書を岡山県教育委員会に届け出なければならない。

(暫定予算)

第11条 前条の規定にかかわらず、やむを得ない理由により予算が成立しないときは、理事長は、理事会の議決を経て、予算成立の日まで前年度の予算に準じて収入支出することができる。

2 前項の収入支出は、新たに成立した予算の収入支出とみなす。

(事業報告及び収支決算)

第12条 この法人の事業報告及び収支決算は、毎会計年度終了後、理事長が事業報告書、収支計算書、正味財産増減計算書、貸借対照表及び財産目録等として作成し、監事の監査を受け、評議員会の同意を得た上、その会計年度終了後3か月以内に理事会において理事現在数の3分の2以上の議決を得なければならない。

2 理事長は、前項の議決があったときは、同項に規定する書類を、その会計年度終了後3か月以内に岡山県教育委員会に報告しなければならない。この場合において、資産の総額に変更があったときは、2週間以内に登記し、登記簿の謄本を添えるものとする。

(長期借入金)

第13条 この法人が資金の借入をしようとするときは、その会計年度の収入をもって償還する短期借入金を除き、理事会において理事現在数の3分の2以上の議決を経、評議員会の議決を得て、かつ岡山県教育委員会の承認を受けなければならない。

(新たな義務の負担等)

第14条 8条ただし書及び前項の規定に該当する場合並びに収支予算で定めるものを除くほか、この法人が新たな義務の負担又は権利の放棄のうち重要なものを行おうとするときは、評議員会の同意を得た上、理事会において理事現在数の3分の2以上の議決を経なければならない。

(会計年度)

第15条 この法人の会計年度は、毎年4月1日に始まり、翌年3月31日に終わる。

第 4 章 役員及び評議員

(役員の種別)

第16条 この法人に、次の役員を置く。

- (1) 理事 6人以上9人以内（うち理事長1人とする。ほかに専務理事1人をおくことができる。）
- (2) 監事 3人

(役員の選任)

第17条 役員は、評議員会において選任する。

- 2 理事は、互選により、理事長及び専務理事をおくときは専務理事を選任する。
- 3 理事のうちには、理事のいずれか1人及びその親族その他特殊の関係のある者の合計数が、理事現在数の3分の1を超えて含まれることになってはならない。
- 4 監事のうちには、監事のいずれか1人及びその親族その他特殊の関係のある者の数、又は、理事のいずれか1人及びその親族その他特殊の関係のある者の数若しくは評議員の1人と親族その他特殊の関係がある者の数の合計数が監事総数（現在数）の3分の1を超えて含まれることになってはならない。又監事には職員が含まれてはならない。
- 5 理事及び監事は、相互に兼ねることができない。
- 6 理事に異動があったときは、2週間以内に登記し、登記簿の謄本を添え、遅滞なくその旨を岡山県教育委員会に届け出なければならない。
- 7 監事に異動があったときは、遅滞なくその旨を岡山県教育委員会に届け出なければならない。

(理事の職務)

第18条 理事長は、この法人を代表し、業務を統括する。

- 2 理事長に事故があるとき又は理事長が欠けたときは、専務理事がその職務を代行する。専務理事なきときはあらかじめ理事長が指名した順序により、他の理事がその職務を代行する。
- 3 理事は、理事会を組織して、この寄附行為に定めるところにより、この法人の業務を議決し、執行する。

(監事の職務)

第19条 監事は、次に掲げる職務を行う。

- (1) この法人の財産及び会計を監査すること。
- (2) 理事の業務執行の状況を監査すること。
- (3) 財産、会計及び業務の執行について、不正の事実を発見したときは、これを理事会及び評議員会並びに岡山県教育委員会に報告すること。
- (4) 前号の報告をするため必要があるときは、理事会及び評議員会の招集を理事長に請求し、又は招集すること。

(役員の任期)

第20条 役員の任期は、2年とする。ただし、補欠又は増員により選任された役員の任期は、それぞれ前任者又は現任者の残任期間とする。

2 役員は、再任されることができる。

3 役員は、辞任した場合又は任期終了の場合においても、後任者が就任するまでは、その職務を行わなければならない。

(役員の解任)

第21条 役員が次のいずれかに該当するときは、理事会及び評議員会において、それぞれ理事現在数及び評議員現在数の3分の2以上の議決により、これを解任することができる。この場合、理事会及び評議員会において議決する前に、その役員に弁明の機会を与えなければならない。

(1) 心身の故障のため、職務の執行に堪ないと認められるとき。

(2) 職務上の義務違反その他役員としてふさわしくない行為があると認められるとき。

(評議員の選出)

第22条 この法人に、評議員7人以上10人以内を置く。評議員現在数は、理事現在数以上であるものとする。

2 評議員は、理事会で選出し、理事長が任命する。

3 評議員及び役員は、相互に兼ねることができない。

4 前2条の規定は評議員にこれを準用する。この場合において、これらの条文中「役員」とあるのは「評議員」と読み替えるものとする。

5 評議員のうちには、役員のいずれか1人と親族その他特殊の関係のある者の数又は、評議員のいずれか1人及びその親族その他特殊の関係のある者の合計数が評議員現在数の3分の1を超えて含まれることになってはならない。

(評議員の職務)

第23条 評議員は、評議員会を組織して、この寄附行為に定める事項のほか、理事会の諮問に応じ、理事長に対し必要と認める事項について審議し、助言する。

(報酬等)

第24条 役員及び評議員は無給とする。

2 役員及び評議員には、費用を支弁することができる。

3 前2項に関し必要な事項は、理事会の議決を経て、理事長が別に定める。

第 5 章 会議

(機能)

第25条 理事会は、この寄附行為に別に規定するもののほか、この法人の運営に関する重要な事項を議決し、執行する。

2 次に掲げる事項については、理事会は、あらかじめ評議員会の同意を得なければならない。

(1) 事業計画及び収支予算の決定

(2) 事業報告及び収支決算の承認

(3) 不動産の買入れ又は基本財産の処分若しくは担保の提供

(4) 長期借入金についての事項

(5) 新たな義務の負担及び権利の放棄についての事項

(6) その他、この法人の業務に関する重要事項で理事会において必要と認めるもの

(7) その他理事長が付議した事項

(招集)

第26条 会議は、理事長が招集する。

2 理事長は、理事現在数の3分の1以上又は第19条4号の規定により監事から招集の請求があったときは、速やかに理事会又は評議員会を招集しなければならない。

3 会議を招集するときは、理事又は評議員に対し、会議の日時、場所、目的及び審議事項を記載した書面をもって、開会の日の7日前までに通知しなければならない。

(議長)

第27条 理事会の議長は、理事長がこれに当たる。

2 評議員会の議長は、その評議員会において、出席した評議員のうちから選出する。

(定足数)

第28条 会議は理事現在数又は評議員現在数の3分の2以上の者が出席しなければその議事を開き議決することができない。

(議決)

第29条 会議の議事は、この寄附行為に別に規定するもののほか、出席理事又は評議員の過半数をもつて決し、可否同数のときは、議長の決するところによる。

(書面表決等)

第30条 やむを得ない理由のために会議に出席できない理事又は評議員は、あらかじめ通知された事項について、書面をもって表決することができる。この場合において、前2条の規定の適用については、出席したものとみなす。

(議事録)

第31条 会議の議事については、次の事項を記載した議事録を作成しなければならない。

- (1) 会議の日時及び場所
- (2) 理事又は評議員の現在数
- (3) 出席者及び出席者氏名（書面表決者及び表決委任者の場合にあっては、その旨を付記すること。）
- (4) 審議事項及び議決事項
- (5) 議事の経過の概要及びその結果
- (6) 議事録署名人の選任に関する事項

2 議事録には、議長及び出席した理事又は評議員の中からその会議において選任された議事録署名人2人以上が、署名押印しなければならない。

第 6 章 選考委員会

(選考委員会)

第32条 この法人には、第4条の事業の対象となるものを選考するため、選考委員会を置く。

(選考委員)

第33条 選考委員会は、6人以上9人以内の選考委員をもって組織する。

2 選考委員は、学識経験者のうちから、理事会で選出し、理事長が委嘱する。

3 選考委員の任期は2年とする。ただし、再任を妨げない。

4 第17条第3項の規定は選考委員について準用する。この場合において「理事」及び「理事現在数」とあるのは、それぞれ「選考委員」及び「選考委員現在数」と読み替えるものとする。

5 委員のうちには、この法人の役員及び評議員が2名を超えて含まれることになってはならない。

第 7 章 寄附行為の変更及び解散

(寄附行為の変更)

第34条 この寄附行為は、理事会及び評議員会において、それぞれ理事現在数及び評議員現在数の4分の3以上の議決を経、かつ、岡山県教育委員会の認可を受けなければ変更することができない。

(解散)

第35条 この法人は、民法第68条第1項第2号から第4号までの規定によるほか、理事会及び評議員会において、それぞれ理事現在数及び評議員現在数の4分の3以上の議決を経、かつ、岡山県教育委員会の承認があったときに解散する。

(残余財産の処分)

第36条 この法人の解散に伴う残余財産は、理事会及び評議員会において、それぞれ理事現在数及び評議員現在数の4分の3以上の議決を経、かつ岡山県教育委員会の許可を得て、地方公共団体又はこの法人と類似する目的を有する公益法人に寄附するものとする。

第 8 章 事務局

(事務局及び職員)

第37条 この法人の事務を処理するために、事務局を設置する。

- 2 事務局には、必要な職員を置く。
- 3 職員は、理事長が任免する。
- 4 職員は有給とすることができます。
- 5 事務局の組織及び運営に關し必要な事項は、理事会の議決を経て、理事長が別に定める。

(書類及び帳簿の備え付け等)

第38条 この法人の事務所に、常に次の書類及び帳簿を備えなければならない。ただし、他の法令によりこれらに代わる書類及び帳簿を備えたときは、この限りではない。

- (1) 寄附行為
- (2) 役員、評議員及びその他の職員の名簿、役員の就任承諾書並びに履歴書
- (3) 過去3年度の各年度末の財産目録および収支決算書
- (4) 資産台帳及び負債台帳
- (5) 収入支出に関する帳簿及び証拠書類
- (6) 寄附行為に定める議決機関の議事録
- (7) 許可、認可等の書類
- (8) 登記に関する書類
- (9) 官公署からの示達文書
- (10) 現年度の事業計画及び収支予算書
- (11) 過去3年度の監事が監査に関して作成した書類
- (12) その他必要な帳簿及び書類

第 9 章 補則

(株式の権利行使の制限)

第39条 この法人が保有する株式について、その株式の発行会社に対して株主としての権利を行使する場合には、下記の事項を除き、あらかじめ理事会において理事現在数の3分の2以上の同意を得なければならない。

- (1) 配当の受領
- (2) 無償新株式の受領
- (3) 株主割当増資への応募
- (4) 株主宛配付書類の受領

(細則)

第40条 この寄附行為の施行について必要な事項は、理事会の議決を経て、理事長が別に定める。

附 則

- 1 この寄附行為は、岡山県教育委員会の設立許可があった日から施行する。
- 2 この法人の設立当初の役員及び評議員並びに選考委員は、第17条及び第22条並びに第33条の規定にかかるらず、別紙役員名簿及び評議員名簿並びに選考委員名簿のとおりとし、その任期は、第20条第1項の規定にかかるらず、平成11年3月31日までとする。
- 3 この法人の設立初年度の事業計画及び収支予算は、第12条の規定にかかるらず、設立者の定めるところによる。
- 4 この法人の設立当初の会計年度は、第15条の規定にかかるらず設立許可のあった日から平成11年3月31日までとする。
- 5 この寄附行為は、平成13年6月18日一部改正。

5. 平成 19 年度事業実施状況

平成 19 年度の助成事業は、環境研究助成、国際研究交流助成、研究集会助成の公募を行い、総額 795 万円の助成を実施した。

当年度における公募の概要は次のとおりである。

I. 環境研究助成

一般研究	特定研究
1. 助成対象研究 テーマは設定しません 自然科学と社会科学の両分野の研究で自然環境の改善に寄与するものとします。	平成19年度募集テーマ A : 生態系の保全技術に関する研究 B : 災害と地域の環境に関する研究 C : 地域未利用資源活用に関する研究
2. 助成金額と件数 総額 ・・・ 500 万円程度 1 件あたり助成額 ・・・ 50 万円以内 助成件数 ・・・ 10 件程度	総額 ・・・ 200 万円程度 1 件あたり助成額 ・・・ 100 万円以内 助成件数 ・・・ 2 件程度
3. 助成対象となる期間 平成 20 年 3 月 31 日まで	平成 20 年 3 月 31 日まで
4. 助成対象となる費用 研究に直接必要な経費を助成します。汎用性のある機器（パソコン、ファクシミリ、コピー機、携帯電話等）の購入費は助成対象外とします。	
5. 助成対象者の義務等 下記の事項について財団所定の「合意書」を締結し、履行していただきます。 ○助成期間終了後 3 ヶ月以内に研究レポート（1 頁 2,000 字、A4 で 6 頁程度）の提出 ○平成 20 年 11 月頃に開催予定の財団主催の研究報告会にて研究成果の発表 ○財団所定の「報告書（経費使用明細書含む）」の提出 ○対外的に研究成果を発表する場合には、当財団の援助を受けたことを明示 ○研究を中止又は延期した場合はその理由書と経費使用明細書の提出及び助成金の精算	
6. 選考基準 ○当財団が助成するにふさわしい研究 ○学術的・社会的要請が高く将来性豊かな研究 ○独創性・先駆性に優れた研究	

II. 国際研究交流助成

1. 助成対象

- 平成 19 年 5 月 1 日から平成 20 年 4 月 30 日までに出発帰着する下記の派遣又は招聘
- 国外で開催される環境科学に関する研究集会への国内研究者の出席。但し国際的に権威のある学会、学術団体又は学術研究機関等が主催するもの。
 - 国内で開催される環境科学に関する研究集会での発表、又は共同研究を目的とした、海外研究者の招聘。

2. 助成金額と件数

- 総額 ・・・・・・ 80 万円程度
- 1 件当たり助成金 ・・ 20 万円以内
- 助成件数 ・・・・・・ 4 件程度

3. 助成対象となる費用

派遣又は招聘に必要な渡航費及び滞在費並びに参加費

4. 助成対象者の義務等

- 公開講演会又は研究発表会にて発表をお願いする場合があります。この場合謝金はお支払できません。
- 派遣又は招聘完了後 1 ヶ月以内に財団所定「報告書」の提出
- 渡航又は招聘を中止若しくは延期した場合、その理由書の提出と助成金の精算

III. 研究集会助成

1. 助成対象

平成 19 年 10 月 1 日から平成 21 年 3 月 31 日までに岡山県内で開催される、環境科学に関する研究集会、学術講演会、シンポジウム等

2. 助成金額と件数

- 総額 ・・・・・・ 60 万円程度
- 1 件当たり助成金 ・・ 30 万円以内
- 助成件数 ・・・・・・ 2 件程度

3. 助成対象となる費用

研究集会等の開催に要する会場費、印刷費、通信運搬費等の費用

4. 助成対象者の義務等

- 研究集会等の開催が、当財団の助成を受けている旨の明示
- 研究集会等終了後 1 ヶ月以内に財団所定「報告書」の提出
- 開催を中止又は延期した場合、その理由書の提出と助成金の精算

応募手続き

1. 応募資格

- 岡山県内の大学等の研究機関に所属する研究者（博士課程（後期）の大学院生を含む）。
- 研究機関の長又は学長若しくは学部長等の推薦を受け、申請書所定欄に記入して下さい。大学院生はそれに加えて、指導教官からの推薦状（様式自由）を添付して下さい。
- 環境研究助成、国際研究交流助成、研究集会助成に重複して応募はできますが、それぞれ1件までとします。また重複して応募された場合でも、助成対象となるのは1人又は1グループにつき最大1件とします。
- 平成18年度に助成対象者となった研究者（共同研究者を含む）は、平成19年度は同一の助成部門（「環境研究助成の特定研究部門」、「環境研究助成の一般研究部門」、「国際研究交流助成部門」、「研究集会助成部門」）に再応募することはできません。
- 国際研究交流助成において、海外研究集会等での発表を目的とする場合、論文採択が予定の段階でも応募できますが、助成金の振込は、正式決定後とします。申請時ににおいて決定している場合は、「論文採択通知」等の写しを申請書に添付して下さい。

2. 募集期間と選考手続

	応募締切	最終決定	結果通知
I. 環境研究助成			
II. 国際研究交流助成	平成19年 4月16日(月) (必着)	平成19年 5月	申請者及び推薦者に採否、 助成金額及び交付期日と 方法を通知いたします
III. 研究集会助成			

3. 申請書類

応募申請書様式は、各大学等の事務室等に配布しています。
または、当財団のホームページからダウンロードして下さい。

<http://www.8con.co.jp/zaidan/>

応募申請書類は下記事務局にご送付下さい。

応募申請書類送付先・問い合わせ先

〒700-8617 岡山市津島京町3丁目1番21号
(株)エイトコンサルタント経営企画部内
(財)八雲環境科学振興財団 事務局(担当:三宅)
TEL:086-252-7670
FAX:086-252-8918
Eメール:yakumo@8con.co.jp

6. 年度別助成事業実施状況

平成 10 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
国際研究交流助成事業	7 件	7 件	1,357 千円
合 計	7 件	7 件	1,357 千円

平成 10 年度は、環境研究助成事業は実施いたしませんでした。

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
国際研究交流助成事業	岡山大学	5 件
	岡山県立大学	1 件
	岡山商科大学	1 件

平成 11 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	24 件	11 件	5,886.3 千円
国際研究交流助成事業	13 件	10 件	1,938.2 千円
合 計	37 件	21 件	7,824.5 千円

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	7 件
	岡山理科大学	2 件
	岡山商科大学	1 件
	津山工業高等専門学校	1 件
国際研究交流助成事業	岡山県工業技術センター	1 件
	岡山大学	5 件
	岡山県立大学	3 件
	岡山理科大学	1 件

平成 12 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	20 件	13 件	6,620 千円
国際研究交流助成事業	9 件	8 件	1,517 千円
合 計	29 件	21 件	8,137 千円

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	5 件
	岡山理科大学	4 件
	岡山商科大学	1 件
	川崎医科大学	1 件
	津山工業高等専門学校	2 件
国際研究交流助成事業	岡山県工業技術センター	1 件
	岡山大学	7 件

平成 13 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	14 件	12 件	6,370 千円
国際研究交流助成事業	16 件	12 件	2,350 千円
合 計	30 件	24 件	8,720 千円

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	7 件
	岡山県立大学	1 件
	川崎医科大学	1 件
	倉敷芸術科学大学	2 件
	津山工業高等専門学校	1 件
国際研究交流助成事業	岡山大学	7 件
	岡山県立大学	2 件
	岡山理科大学	1 件
	津山工業高等専門学校	1 件
	財団法人淳風会	1 件

平成 14 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	27 件	12 件	7,200 千円
国際研究交流助成事業	10 件	7 件	1,400 千円
研究集会助成事業	2 件	1 件	300 千円
合 計	39 件	20 件	8,900 千円

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	7 件
	岡山理科大学	3 件
	岡山商科大学	1 件
	川崎医科大学	1 件
国際研究交流助成事業	岡山県工業技術センター	1 件
	岡山大学	4 件
	岡山理科大学	1 件
	津山工業高等専門学校	1 件
研究集会助成事業	岡山大学	1 件

平成 15 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	28 件	13 件	6,900 千円
国際研究交流助成事業	9 件	3 件	600 千円
研究集会助成事業	2 件	2 件	600 千円
合 計	39 件	18 件	8,100 千円

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	5 件
	岡山理科大学	3 件
	岡山県立大学	1 件
	倉敷技術科学大学	2 件
	吉備国際大学	1 件
	津山工業高等専門学校	1 件
国際研究交流助成事業	岡山大学	3 件
研究集会助成事業	岡山大学	2 件

平成 16 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	42 件	12 件	6,800 千円
国際研究交流助成事業	12 件	4 件	800 千円
研究集会助成事業	4 件	4 件	1,200 千円
合 計	58 件	20 件	8,800 千円

※ 研究集会助成事業は平成 17 年度開催 採択 2 件を含む。

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	7 件
	岡山理科大学	2 件
	岡山商科大学	1 件
	美作大学	1 件
	就実大学	1 件
国際研究交流助成事業	岡山大学	2 件
	岡山県立大学	1 件
	岡山県工業技術センター	1 件
研究集会助成事業	岡山大学	3 件
	岡山理科大学	1 件

平成 17 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	34 件	13 件	6,860 千円
国際研究交流助成事業	10 件	5 件	1,000 千円
研究集会助成事業	1 件	1 件	300 千円
合 計	45 件	19 件	8,160 千円

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	8 件
	岡山理科大学	3 件
	岡山商科大学	1 件
	美作大学	1 件
国際研究交流助成事業	岡山大学	1 件
	岡山理科大学	1 件
	岡山県立大学	1 件
	岡山県工業技術センター	1 件
	津山工業高等専門学校	1 件
研究集会助成事業	川崎医科大学	1 件

平成 18 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	37 件	14 件	8,250 千円
国際研究交流助成事業	8 件	4 件	760 千円
研究集会助成事業	1 件	1 件	300 千円
合 計	46 件	19 件	9,310 千円

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	9 件
	岡山理科大学	2 件
	岡山県立大学	1 件
	吉備国際大学	1 件
	津山工業高等専門学校	1 件
国際研究交流助成事業	岡山大学	3 件
	岡山商科大学	1 件
研究集会助成事業	岡山大学	1 件

平成 19 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	25 件	14 件	7,250 千円
国際研究交流助成事業	3 件	2 件	400 千円
研究集会助成事業	1 件	1 件	300 千円
合 計	29 件	17 件	7,950 千円

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	9 件
	岡山理科大学	3 件
	吉備国際大学	2 件
国際研究交流助成事業	岡山大学	2 件
研究集会助成事業	岡山大学	1 件

累計 (平成 10 年度～平成 19 年度)

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	251 件	113 件	62,136.3 千円
国際研究交流助成事業	97 件	62 件	12,122.2 千円
研究集会助成事業	11 件	10 件	3,000 千円
合 計	359 件	185 件	77,258.5 千円

7. 研究発表会実施状況

平成 12 年度

開催日時	平成 12 年 9 月 29 日 (金) 13 時～
場 所	岡山ロイヤルホテル
発表者数	8 名
協 賛	株式会社エイトコンサルタント
出席者	約 50 名

平成 13 年度

開催日時	平成 13 年 11 月 6 日 (火) 13 時～
場 所	岡山ロイヤルホテル
発表者数	10 名
協 賛	岡山教育委員会 株式会社エイトコンサルタント
出席者	約 60 名

平成 14 年度

開催日時	平成 14 年 11 月 8 日 (金) 13 時～
場 所	リーセントカルチャーホテル
発表者数	12 名
協 賛	岡山教育委員会 株式会社エイトコンサルタント 岡山グリーンライオンズクラブ
出席者	約 60 名

平成 15 年度

開催日時	平成 15 年 11 月 6 日 (木) 13 時～
場 所	リーセントカルチャーホテル
発表者数	12 名
協 賛	岡山教育委員会 株式会社エイトコンサルタント 岡山グリーンライオンズクラブ
出席者	約 60 名

平成 16 年度

開催日時	平成 16 年 11 月 4 日 (木) 13 時～
場 所	岡山大学創立五十周年記念館
発表者数	13 名
協 賛	岡山教育委員会 株式会社エイトコンサルタント 岡山グリーンライオンズクラブ
出席者	約 50 名

平成 17 年度

開催日時	平成 17 年 10 月 26 日 (水) 13 時～
場 所	岡山大学創立五十周年記念館
発表者数	12 名
協 賛	岡山教育委員会 株式会社エイトコンサルタント 岡山グリーンライオンズクラブ
出席者	約 80 名

平成 18 年度

開催日時	平成 18 年 11 月 1 日 (水) 12 時 30 分～
場 所	岡山大学創立五十周年記念館
発表者数	14 名
協 賛	岡山教育委員会 株式会社エイトコンサルタント 岡山グリーンライオンズクラブ 岡山旭ライオンズクラブ 岡山吉備ライオンズクラブ 岡山ブルーライオンズクラブ
出席者	約 100 名

平成 19 年度

開催日時	平成 19 年 11 月 12 日 (月) 12 時 30 分～
場 所	岡山大学創立五十周年記念館
発表者数	14 名
協 賛	岡山教育委員会 株式会社エイトコンサルタント 岡山グリーンライオンズクラブ
出席者	約 80 名

平成 20 年度（予定）

開催日時	平成 20 年 11 月 4 日 (火) 13 時～
場 所	岡山大学創立五十周年記念館
発表者数	12 名
協 賛	岡山教育委員会 株式会社エイトコンサルタント 岡山グリーンライオンズクラブ

平成 19 年度 環境研究助成報告

8. 平成 19 年度 環境研究助成報告

①特定研究

助成対象者	所 属	研究テーマ	ページ
金尾忠芳	岡山大学自然生命科学研究支援センター	石油脱硫余剰硫黄の生物的処理のための硫黄を消化する酵素の解析	20

②一般研究

助成対象者	所 属	研究テーマ	ページ
石原浩二	岡山理科大学 理学部	共生生物由来の酵素複合系を用いたバイオマスの効率的分解と資源再利用への応用	30
村上章	岡山大学大学院 環境学研究科	現場脱水したため池底泥処理土の周辺田畠基礎・表土への再利用	36
堀内史朗	岡山理科大学 総合情報学部	農山村住民がよそ者を受容する条件の民俗学的分析:特に獣害問題に関連して	42
宮川雅充	吉備国際大学 国際環境経営学部	持続可能なライフスタイルの形成要因に関する研究	48
山本伸子	岡山理科大学大学院 総合情報研究科	岡山県西部石灰岩地域(阿哲地域)に特産する絶滅危惧種ナガバヤクシソウ(<i>Paraxixalis yoshinoi</i> (Makino)Nakai)の分布と保全に関する研究	54
鹿嶋小緒里	岡山大学大学院 環境学研究科	国際的災害救援・人道支援活動における人工衛星画像の活用法の研究	61
山田義裕	岡山大学大学院 環境学研究科	モンゴルにおける砂漠防止緑化のための基礎的研究	67
重田祥範	岡山大学大学院 自然科学研究科	気象観測ネットワークの構築によるヒートアイランド現象の発生メカニズムに関する研究	73
松岡崇暢	岡山大学大学院 自然科学研究科	協働で地域資源の維持管理を行う NPO 法人の役割と課題に関する研究	79
大下浩司	吉備国際大学 文化財学部	環境調査活動において強力な武器となる銅(II)イオン機能的濃縮定量システムの開発	85
根岸友恵	岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科	紫外線下でのタバコ副流煙曝露が生体に及ぼす影響	92
廣部宗	岡山大学大学院 環境学研究科	中国地方のブナ林における林床環境の空間的不均質性	98
河合富佐子	岡山大学資源生物科学研究所	堆肥由来高温性放線菌の脂肪族-芳香族ポリエステル分解酵素の特性	108

※所属は、助成申請時

石油脱硫余剰硫黄の生物的処理のための硫黄を消化する酵素の解析

Studies on the enzymes which decompose inorganic sulfur compounds :
for biological treatment of sulfur waste derived from desulfurization process of oil

岡山大学自然生命科学研究支援センター（農学部）

金尾 忠芳

1. 【はじめに】

石油は、現代社会を支えるエネルギー基盤であることは周知の事実である。近年、環境保全への意識の高まりから大気汚染・酸性雨の主要因となる石油中の硫黄成分の除去（脱硫）規制が厳しくなった。石油は、原油から各成分に精油される過程においても、ほとんど不要な成分は無いとされているが、原油中の硫黄化合物（硫黄成分）に関して言えば、唯一除去しなければならない成分である。この点については石油産業界各社の努力と技術革新により、現在厳しい規制を大幅に下回るサルファフリー石油（硫黄分=0 の石油）を市場に供給することを可能にしてきた。その一方で、石油の脱硫に伴って生じる硫黄は、現在年間 200 万トンを超える。硫黄は、戦後の経済発展を遂げる日本において「黄色いダイヤ」と呼ばれ、硫黄鉱脈より採掘され市場に供給されていたが、現在は採掘されることではなく、全てこの脱硫硫黄でその需要が賄われている。しかしながら、石油エネルギーの消費の増大と共に、需要をはるかに上回る脱硫硫黄が生じ、この余剰硫黄の処理に関する新たな問題が浮上している。さしあたっては経済発展の著しい中国に輸出するなどの対応が取られているが持続的な対策は無く、抜本的な問題の解決策が望まれる。

一般的に廃棄物は、その種類・性状などにより、以下の 3 つの方法によって処理がなされる。

- ①物理的処理（廃棄物の物理的な集積と隔離：一般ゴミに例えると埋め立てなど）
- ②化学的処理（廃棄物の化学的変換：一般ゴミに例えると焼却など）
- ③生物的処理（廃棄物の生物による変換：食品廃棄物や生ゴミのコンポスト化など）

生物的処理プロセスは、一般に常温・常圧で行われ、生物親和性（生分解性）も高いため、省エネルギー・低コスト・低環境負荷の技術として注目されている。自然界には、この硫黄もしくは硫黄化合物を好んで食べる微生物（光合成硫黄酸化細菌 *Chlorobium*, *Rhodobacter* · 化学合成硫黄酸化細菌 *Paracoccus*, *Starkeya* · 好酸性好熱性硫黄酸化始原菌 *Sulfolobus*, *Acidianus* · 好酸性硫黄酸化細菌 *Acidithiobacillus*, *Sulfobacillus* 等）が広く環境中に分布しており、硫黄の地球規模での物質循環に大きく関わっている [1]。そして、その菌体内には硫黄化合物を消化（代謝）するための多くの酵素が存在していると考えられる。

硫黄酸化微生物は、硫黄化合物を最終的に硫酸へと酸化するため、生育環境はそれら微生物の働きによって容易に酸性化する [2]。従って、特に酸性環境に生息する好酸性硫黄酸化細菌の硫黄酸化代謝の解明が最も重要となる。しかしながら、我々のこの代謝に関する知見は未だ十分ではなく、未解明な点が多く残されている。同時にこのことは、この重要な代謝に関わる酵素群が未利用の遺伝資源として数多く残されていることも意味している。

2. 【鉄硫黄酸化細菌 *Acidithiobacillus ferrooxidans*】

好酸性の硫黄酸化細菌は自然界に多数存在する。Acidicaldus, Acidiphilum 属細菌(α -proteobacteria)、*Acidithiobacillus* 属細菌(γ -proteobacteria)、Alicyclobacillus, Sulfobacillus 属細菌(Bacilli)などに分類されるものが多数分離・報告されている [3-5]。これらの硫黄酸化細菌の代表的なモデル微生物として *Acidithiobacillus ferrooxidans* が挙げられる。本菌は、二価鉄や還元型無機硫黄化合物を酸化することで、生育のためのエネルギーを獲得し、大気中（生育環境中）の二酸化炭素を唯一の炭素源として取り込み同化することのできる、好酸性の化学合成独立栄養細菌である。また、生育至適 pH が 2~3 と強酸性環境を好む好酸性細菌であること、鉄と硫黄化合物の両方を酸化する能力を併せ持つことから、銅などの有用金属を含有量の低い低品位硫化鉱石から生物的に抽出する技術であるバイオリーチングにおいて、最も有効な細菌であると考えられている [6]。そして *A. ferrooxidans* ATCC23270 株は、*Acidithiobacillus* 属細菌において唯一、全ゲノム配列が決定されており、この情報をデータベースより利用することが可能である [7]。全ゲノム配列情報が利用できるということは、データベースを利用した代謝の推定やバイオインフォマティックな遺伝子の同定が可能であるだけでなく、発現しているタンパク質の一部のアミノ酸配列を決定するだけで、それをコードする遺伝子が特定でき、さらにその周辺の遺伝子情報やプロモーター・オペレーターなどの配列情報を得ることも可能である。このため本菌を研究する場合、他のゲノム情報が利用できない菌株と比較すると、極めて高い優位性を持つ。近年、生物のゲノム情報を蓄積したデータベースは飛躍的に進歩・充実しており、遺伝子情報を用いた解析も強力な研究ツールとして、もはや必要不可欠である。

A. ferrooxidans は、エネルギー源として二価鉄を用いた場合、または硫黄化合物を用いた場合、それぞれの基質に依存して代謝を変換させることが確認されている [8]。本菌の二価鉄をエネルギー源とした代謝に関しては、それに関わるタンパク質はこれらをコードする遺伝子レベルでほぼ解明されている [9-11]。（図 1）しかしながら硫黄化合物をエネルギー基質として用いた場合の代謝は様々な報告がなされ、未だ明らかにされていない [12-17]。そして、この代謝に関わる酵素は「硫黄を消化する酵素」を含んでおり、これらを研究することは硫黄代謝の理解を深めるだけでなく、先に述べた石油脱硫余剰硫黄の生物的な処理・変換・有効利用へつながる可能性が期待できる。

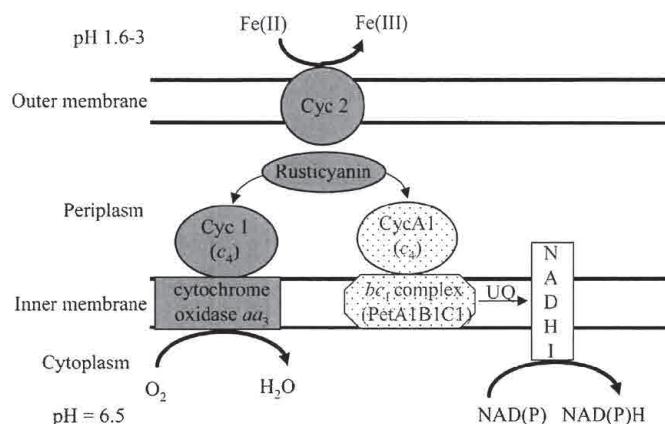


図 1. 提唱された *A. ferrooxidans* の二価鉄酸化経路

2. 1. *A. ferrooxidans* の tetrathionate hydrolase (4THase)

本研究課題を推進するにあたり、鉄硫黄酸化細菌 *A. ferrooxidans* ATCC23270 株を対象として硫黄代謝の研究に取り組んだ。先ずはエネルギー源となる無機硫黄化合物の検討を行った。無機硫黄化合物は、最も還元されたサルファイド (S^{2-} : 硫化水素) から最も酸化された硫酸 (SO_4^{2-}) まで、様々な形態で存在する。本菌は、硫化水素、硫黄、ポリサルファイド、ポリチオン酸、チオ硫酸、亜硫酸を酸化し、硫酸を生成することでエネルギーを獲得できることが確認されている。

テトラチオン酸 ($S_4O_6^{2-}$) は、①水に可溶性 ②熱や酸に対して比較的安定 ③好気条件下でも酸化されにくい ④細胞毒性が比較的低い、という性質を持つ還元型無機硫黄化合物であり、このことは好気性好酸性の本菌のエネルギー基質として適している。事実、本菌をテトラチオン酸をエネルギー源として $30^{\circ}C$ 、12 日間培養した際には、10 リットルの培養液から少なくとも 1g の湿菌体量を得ることができ、良好な生育を示すことが確認された。

菌体の生育に伴い、培養液中のテトラチオン酸の消費が確認されたため、この生育菌体を用いた試験管内 (*in vitro*) でのテトラチオン酸分解活性を測定した。この結果、時間と共に一定量のテトラチオン酸が分解される活性を検出できたため、菌体を超音波で破碎して本活性の本体である酵素の精製を試みた。硫安分画、疎水クロマトグラフィー、ゲルfiltrationクロマトグラフィーなど各種カラムクロマトグラフィーを用いて精製を行い、最終的に SDS-PAGE によって単一のタンパク質バンドを確認できるレベルにまで、その精製度を確認した。本酵素は、SDS-PAGE およびゲルfiltration法を用いた分析結果より、分子質量約 50kDa の同一サブユニットからなるホモダイマー酵素であることが分かった。また無細胞抽出液の超遠心分画によって、活性の大部分は膜画分に局在することから、膜結合性の酵素であることが推定された。反応最適 pH は 3.5, pH 1.0~7.5 まで主に酸性域において幅広く強い安定性を持っていた。特に pH 1.0、氷上で 1 時間曝した後も 95% 以上の残存活性を有し、

強酸性条件下でも極めて安定であることが分かった。この様に、本酵素は酸に対して極めて安定であるという好酸性細菌の細胞質外タンパク質の典型的な特徴を示した。

この 50kDa タンパク質の N-末端アミノ酸配列を決定した(AAVPMDSTGPYR)。前述した様に、本菌は全ゲノム配列が公開されており、この決定された N-末端アミノ酸配列を含む遺伝子の検索を行った。この結果、シグナル配列を含む分子質量約 55kDa のタンパク質をコードした 1500bp の遺伝子を特定した。シグナル配列を除いた遺伝子より推定された N-末端アミノ酸配列は、精製した酵素のそれと完全に一致し、分子量も約 49700 と計算され、これもほぼ完全に一致した。データベースを用いた相同検索 (BLAST) の結果は、本遺伝子が硫黄生育時に発現が誘導される機能未知の外膜タンパク質として登録されていた (locus name AF005208, accession No. AAB93983) [18]。この結果より、機能未知である本遺伝子はテトラチオン酸ハイドロラーゼをコードしていることを強く示唆した。

このことを確認するために、本遺伝子を大腸菌に導入し組換え発現を試みたが、活性を持たない不溶性の封入体を形成した。しかしながらこれを用いてマウスに接種することで、本遺伝子産物特異的な抗体を作成し、Western Blot 解析を行った。この結果、組換え遺伝子産物に特異的に反応する抗体が、明確に元株精製酵素を認識した (図 2. レーン P)。以上のことから、本遺伝子がテトラチオン酸ハイドロラーゼをコードしていることを、分子量と N-末端アミノ酸配列だけでなく、免疫学的にも証明することができた。従って本遺伝子を *Af-tth* (accession No. AB259312) と名付けた。

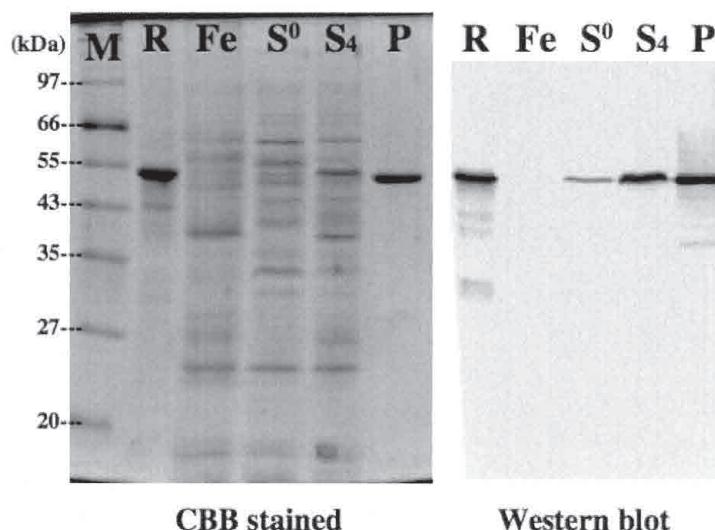


図 2. *Af-Tth* の Western blot 解析

タンパク質の染色(CBB 染色) (左)と抗組換え *Af-Tth* 抗体を用いた Western blot 解析(右)。

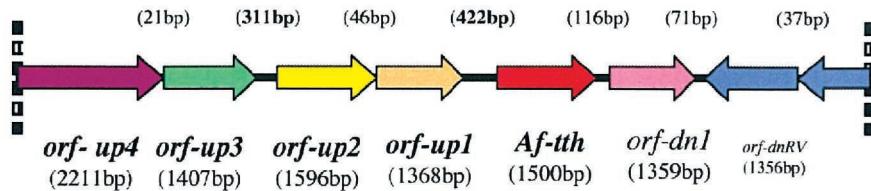
レーン M : 分子質量マーカー、レーン R : 組み換え型 *Af-Tth*、レーン P : *A. ferrooxidans* 由来 4THase、レーン Fe : 二価鉄生育の全菌体タンパク質、レーン S⁰ : 硫黄生育の全菌体タンパク質、レーン S₄ : テトラチオン酸生育の全菌体タンパク質

2. 2. *Af-tth* 遺伝子の発現解析

本酵素活性は、*A. ferrooxidans* がテトラチオン酸で生育した菌体において最も高い活性が検出され、若干の活性が硫黄で生育した菌体からも検出できた。しかしその一方で、二価鉄で生育した菌体からはほとんど検出されなかった。このことは、本酵素遺伝子が生育基質に依存してその発現レベルを調節（制御）されていることを示唆している。すでに *Af-Tth* 組み換えタンパク質を基に、特異的に認識するポリクローナル抗体（anti-*Af-Tth* antibody）を調製しているため、これを用いて生育基質の異なる全菌体タンパク質を用いた Western blot 解析による *Af-Tth* の検出を行った。この結果、二価鉄、硫黄、テトラチオン酸の各基質をエネルギー源として生育した全菌体タンパク質をそれぞれ 50μg SDS-PAGE に供したところ、テトラチオン酸生育菌体に由来するレーンからは *Af-Tth* の強いシグナルが観察され（図 2. レーン S₄）、硫黄生育菌体のレーンでは若干のシグナルが観察された（図 2. レーン S⁰）。一方、二価鉄で生育した菌体タンパク質では、シグナルを検出することはできなかった（図 2. レーン Fe）。このことから、本菌が生育基質に硫黄化合物を用いた場合において、本酵素が発現していることが明らかとなった。さらに各生育菌体から抽出した total RNA を用いて RT-PCR および定量的 RT-PCR 解析を行った。*Af-tth* を特異的に增幅させるプライマーを用いて実験を行ったところ、硫黄およびテトラチオン酸で生育した菌体より抽出した RNA からは *tth* 遺伝子の発現を意味する DNA 断片の増幅が認められたが、二価鉄生育菌体の場合はごく僅かな増幅しか認められなかった。これを踏まえて、各種生育菌体での *tth* 遺伝子の発現量を定量的 RT-PCR による解析を 16S rRNA を internal control として用いて行った。*tth* 遺伝子の発現量は、二価鉄、硫黄、テトラチオン酸生育菌体において、二価鉄生育の発現量を 1 とした場合、それぞれ約 30 倍、約 150 倍であることが明らかとなった。この結果は、各生育菌体における活性の強度、および Western blot 解析の結果とも極めて良く一致した。従って、本酵素遺伝子（*Af-tth*）の発現は、転写レベルで制御されていることが分かった。さらに本遺伝子の発現量に関しても、生育基質となる硫黄化合物の種類あるいはテトラチオン酸の濃度に依存して制御されていると考えられた。

先にも述べたように、*A. ferrooxidans* ATCC23270 株は、既に全ゲノム配列が決定されており、特定の遺伝子周辺の ORF 解析とアノテーションが可能である。そこで *tth* 遺伝子周辺の ORF 解析を行ったところ、上流域に 2 成分制御系と推定される転写制御タンパク質と高い相同意を示す 2 組の遺伝子群が存在した。この解析結果を図 3 に示した。

tth 遺伝子の発現は転写レベルで制御されていることが明らかになったので、これらの転写制御タンパク質が本遺伝子の発現を制御している可能性は極めて高い。これらの制御タンパク質と本遺伝子との関係を明らかにすることは、鉄硫黄酸化細菌のエネルギー代謝の変換システムの理解と、本菌がどの様に生育基質を認識し、それぞれの基質に対してどの様に応答しているのかを理解する研究課題として極めて興味深い。



Af-tth : tetrathionate hydrolase gene

orf-up1 : sigma-54 DNA binding transcriptional regulator protein

orf-up2 : sensor (ATPase like) His kinase

orf-up3 : NtrX, (herix-turn-herix, Fis family)

orf-up4 : NtrY, (ATPase like His kinase)

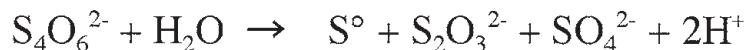
orf-dn1 : hypothetical, Phosphate-selective porin O and P precursor

orf-dnRV : TrmE, tRNA modification GTPase

図 3. *Af-tth* 周辺の ORF 検索とアノテーション結果

2. 3. テトラチオン酸ハイドロラーゼを含む *A. ferrooxidans* における硫黄代謝経路

本菌のテトラチオン酸ハイドロラーゼが触媒する化学反応を求めるため、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による反応生成物の分析を行った。反応が進むと、先ず基質であるテトラチオン酸の減少（分解）に伴って反応液の白濁が観察された。これは元素硫黄の生成によるものであり、 $10,000 \times g$, 1 分間の遠心分離によってこれを除去した後、HPLC に供して可溶性成分の分析を行った。この結果、基質であるテトラチオン酸を示すピークが減少するに従い、チオ硫酸を表すピークの上昇が観察され、これらの比はほぼ 1 : 1 であった。反応液には、NAD(P)H などの電子供与体は一切添加されておらず、テトラチオン酸の加水分解反応であるため、次の反応を触媒すると推定された。



A. ferrooxidans では、硫黄を代謝する際にその代謝中間体としてチオ硫酸を生成すると考えられている。このチオ硫酸を基質としてキノンを還元する酵素 thiosulfate:quinone oxidoreductase (TQO) に相当する遺伝子が全ゲノム配列中に既に確認され、報告されている [12]。またチオ硫酸で生育した本菌より、チオ硫酸を酸化しチトクロームを還元する酵素 thiosulfate dehydrogenase (TSDH) が分離精製された [19]。これらの酵素は、いずれもチオ硫酸 2 分子より 2 電子を奪いテトラチオン酸を生成する。これらの電子は還元力となって、最終的にエネルギー生成や炭酸固定反応に利用されると考えられる。そして生成したテトラチオン酸は、本酵素によって加水分解されることでチオ硫酸を再生し、テトラチオン酸分子内の 4 つの硫黄原子の中から 1 原子ずつ硫酸へと酸化される。これらの経路を図 4 にまとめた。

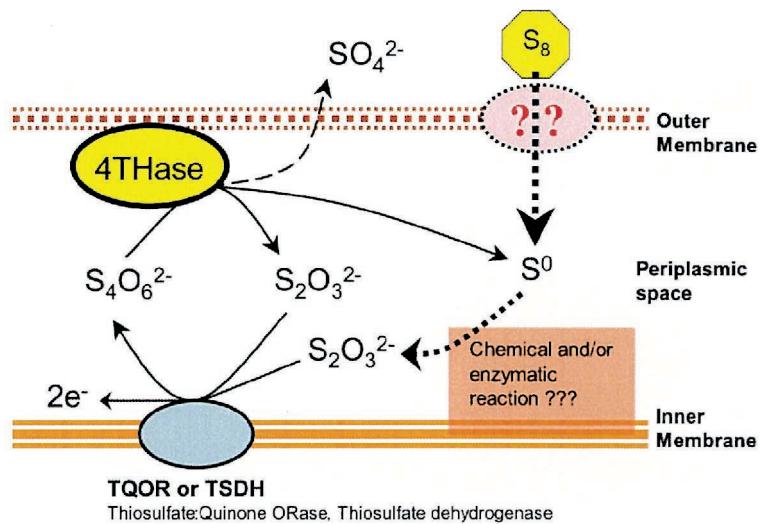


図 4. *A. ferrooxidans* における 4THase を介した硫黄代謝経路

また一方で、杉尾らは硫黄生育菌体においても二価鉄生育菌体同様、チトクローム aa_3 型の鉄酸化酵素系を有していることを報告している [20]。従って、少量の鉄イオンが硫黄生育環境中に存在した場合、本酵素反応で生成したチオ硫酸が非酵素的に三価鉄イオンを還元し、二価鉄イオンを生成することができる。これは本菌に存在する鉄酸化酵素系において、速やかにエネルギー基質として酸化されると考えられる。

3. 【組み換え型テトラチオン酸ハイドロラーゼ】

大腸菌を用いた本酵素 (*Af-Tth*) の組み換え発現は、不溶性の封入体を形成したため、活性型酵素として獲得することができなかった。容易に培養できる大腸菌などから、組み換え型酵素を活性を有する状態で獲得することは、酵素の機能解析を行う上で強力な武器であり、必要不可欠な要素と言っても過言ではない。

組み換え発現で封入体を形成した *Af-Tth* をタンパク質の巻き戻し (refolding) をすることで、活性を有する組み換え型酵素の獲得を試みた。*Af-Tth* を誘導発現した組み換え大腸菌を遠心分離することで回収し、0.1M リン酸カリウム緩衝液 (pH7.0) で洗浄後、超音波破碎した。破碎後の無細胞抽出液を $10000 \times g$ 、5 分間遠心することで、不溶性の封入体を分離・回収した。これを界面活性剤 Triton X-100 で洗浄を行い、宿主大腸菌由来の不溶性タンパク質を除去し、封入体を粗精製した。得られた封入体を 6M グアニジン塩酸塩によって可溶化後、透析によって徐々にこれを除去することで変性した *Af-Tth* の refolding を行った。グアニジン塩酸塩を透析によって完全に除去した後に遠心分離を行い、上清を回収することで不溶性画分を取り除いた。

この結果、10mM β -Alanine buffer (pH3.0) にて透析を行った場合の上清に 4THase 活性が検出された。このことは、*Af-tth* がテトラチオン酸ハイドロラーゼをコードしていることを示す直接的な証

拠となり、この新規な遺伝子の機能を明確に同定することができた。一方、この refolding を通常の多くの酵素で報告されている中性の緩衝液（本実験では 10mM リン酸カリウム緩衝液 pH7.0 を使用）を用いた場合では上清に本酵素活性は検出されず、正しく巻き戻すことができなかつたと考えられた。*Af-Tth* の一次構造を解析すると、開始のメチオニンから 32 アミノ酸は、ロイシン、イソロイシン、フェニルアラニンなど疎水性アミノ酸が連続する領域が存在し、細胞膜を透過するための Sec 型シグナルペプチドと推定される配列が認められた。Sec 型の分泌タンパク質はシグナルペプチドによって細胞膜外へポリペプチドの状態で分泌された後、正しく折りたたまれることで酵素などそれぞれの役割を持って機能する。また、多くの Sec 型タンパク質には、シグナルペプチドの直後に細胞膜結合型のシグナルペプチドペプチダーゼ I によって切断される認識部位 (AXA, *Af-Tth* の場合 30ASA32) が存在する。実際に *A. ferrooxidans* (元株) より精製した 4THase の N-末端アミノ酸配列を決定すると、この切断部位の直後のアミノ酸配列から開始しているため、元株においても本酵素は細胞質外に分泌された後に切断され、ペリプラズム域にて正しく折りたたまれて活性型酵素として機能することが推定された。本菌は好酸性菌であり、その生育環境は強酸性である。従って、細胞質の外側のペリプラズム域も酸性であり、本酵素の正しい折りたたみ (folding) には酸性環境に曝されることは必要不可欠であることは、本酵素が外膜に局在することや生理的役割を考慮すると非常に合理的であると言える。

この refolding における pH の影響を調べた結果、pH4, 30% グリセロール存在下の場合において、比活性 0.99U/mg, 回復効率 7.1% と最も高い活性の回復条件を得た。またごく最近になって *A. ferrooxidans* と同属の近縁種である中等度好熱性の硫黄酸化細菌 *Acidithiobacillus caldus* において同酵素、4THase について報告がなされた[21]。*A. caldus* 由来の 4THase は、キノン系の補酵素を含有しており、これをコードする遺伝子 (*Ac-tth*) から推定される一次構造は、ピリドキノリンキノン (PQQ) 依存性のアルコール脱水素酵素などと比較的高い相同性があった。また、両菌体における 4THase の一次構造を比較すると 71% の相同性があった。*Af-Tth* においては、refolding の際に補酵素を添加しなくても活性型酵素が獲得できており、キノン様化合物を補酵素として要求するのかどうかは不明である。今後、*Af-Tth* においてもキノン様化合物が補酵素として含有されていることの有無を *A. ferrooxidans* 由来の 4THase を精製して調べる必要がある。しかしながら、これに先立って行った *Af-Tth* の一次構造と PQQ 依存性アルコール脱水素酵素 (PQQ-ADH) の一次構造との比較は、既に結晶構造解析が行われた PQQ-ADH において補酵素 PQQ と結合していると推定されたアミノ酸 16 残基 [22] のほとんどが *Af-Tth* には保存されていないことが分かった。さらに、封入体で得られた組み換え型 *Af-Tth* を PQQ の存在下で refolding 実験を行った結果、目立った活性の回復効率の上昇は認められなかった。

4. 【今後の展望】

本研究課題において、好酸性硫黄酸化細菌の一種 *A. ferrooxidans* の硫黄化合物のエネルギー代謝に関する酵素テトラチオン酸ハイドロラーゼが重要な役割を担っていることを明らかにした。本酵素をコードしている遺伝子を世界で初めて同定し、構造的に新規かつ他の生物に類を見ない本菌特有の反応を触媒する酵素であることが分かった。さらに本酵素遺伝子を大腸菌に導入し、組み換え発現から封入体として単離を行い、refolding による活性型酵素の取得にも成功した。これによって新規な酵素である *Af-Tth* の詳細な解析を行うための基礎を築くことができた。

今後は、封入体からの活性回復条件の最適化を行い、より効率良く、また必要十分量の活性型 *Af-Tth* を獲得することで、反応機構の解明、活性化因子・阻害因子などを伴った反応速度論的解析、生化学的な解析を詳細に行うことが可能となる。そして十分に精製した組み換え型 *Af-Tth* を用いて、本酵素の結晶化を試みることで解析に必要十分量の結晶が得られれば、新規な構造と反応機構を持つ本酵素の詳細な反応メカニズムを浮き彫りにすることが可能となるため、新たな知見が得られる。これらは、無機硫黄化合物の酵素化学として、新たな学術分野を我々にもたらすだけでなく、現在大量に廃棄されている石油脱硫に伴う余剰硫黄の高効率・低コストな処理方法を我々に提供することが期待される。さらには、この硫黄廃棄物を物質変換して有効利用する可能性にも期待できるため、環境・エネルギー・物質生産の各分野においても大きな波及効果を生み出すと考えられる。

5. 【謝辞】

本研究を行うにあたり、資金面でご支援を頂きました 財団法人八雲環境科学振興財団 に深く感謝いたします。岡山大学大学院自然科学研究科（農学系）牛島幸一郎 助教には定量的 RT-PCR の実験・解析においてご協力を頂きました。

6. 【参考文献】

1. H. L. Ehrlich, *Geomicrobiology*, Marcel Dekker, New York 2002.
2. D. B. Johnson, 1998. Biodiversity and ecology of acidophilic microorganisms, *FEMS Microbiol. Ecol.*, 27, 301–317.
3. A. Schippers, Microorganisms involved in bioleaching and nucleic acid-based molecular methods for their identification and quantification, in *Microbial Processing of Metal Sulfides* (Ed: E. R. Donati, W. Sand), Springer-Verlag, New York 2007, 3–33.
4. G. I. Karavaiko, G. A. Dubinina, T. F. Kondrat'eva, 2006. Lithotrophic microorganisms of the oxidative cycles of sulfur and iron, *Microbiology* 75, 512–545.
5. D. B. Johnson, K. B. Hallberg, 2003. The microbiology of acidic mine waters, *Res. Microbiol.* 154, 466–473.
6. Rawlings, D.E., 2005. Characteristics and adaptability of iron- and sulfur-oxidizing microorganisms

- used for the recovery of metals from minerals and their concentrates. *Microb. Cell Fact.* 4, 13.
7. http://tigrblast.tigr.org/ufmg/index.cgi?database=a_ferrooxidans&seq
 8. Ramirez, P., Giuliani, N., Valenzuela, L., Beard, S., Jerez, C.A., 2004. Differential protein expression during growth of *Acidithiobacillus ferrooxidans* on ferrous iron, sulfur compounds, or metal sulfides. *Appl. Env. Microbiol.* 70, 4491–4498
 9. Yarzabal, A., Brasseur, G., Bonnefoy, V., 2002. Cytochromes *c* of *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *FEMS Microbiol. Lett.* 209, 189–195.
 10. Yarzabal, A., Brasseur, G., Ratouchniak, J., Lund, K., Lemesle-Meunier, D., DeMoss, J.A., Bonnefoy, V., 2002. The high-molecular-weight cytochrome *c* Cyc2 of *Acidithiobacillus ferrooxidans* is an outer membrane protein. *J. Bacteriol.* 184, 313–317.
 11. Yarzabal, A., Appia-Ayme, C., Ratouchniak, J., Bonnefoy, V., 2004. Regulation of the expression of the *Acidithiobacillus ferrooxidans rus* operon encoding two cytochromes *c*, a cytochrome oxidase and rusticyanin. *Microbiology*, 150, 2113–2123.
 12. Brasseur, G., Levican, G., Bonnefoy, V., Holmes, D., Jedlicki, E., Lemesle-Meunier, D., 2004. Apparent redundancy of electron transfer pathways via *bc1* complexes and terminal oxidases in the extremophilic chemolithoautotrophic *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Biochim. Biophys. Acta* 1656, 114–126.
 13. Harahuc, I., Suzuki, I., 2001. Sulfite oxidation by iron-grown cells of *Thiobacillus ferrooxidans* at pH 3 possibly involves free radicals, iron, and cytochrome oxidase. *Can. J. Microbiol.* 47, 424–430.
 14. Kelly, D.P., Shergill, J.K., Lu, W.-P., Wood, A.P., 1997. Oxidative metabolism of inorganic sulfur compounds by bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek* 71, 95–107.
 15. Rohwerder, T., Sand, W., 2003. The sulfane sulfur of persulfides is the actual substrate of the sulfur-oxidizing enzymes from *Acidithiobacillus* and *Acidiphilium* spp. *Microbiology* 149, 1699–1710.
 16. Sugio,T., Mizunashi,W., Inagaki, K.,Tano,T., 1987. Purification and some properties of sulfur:ferric ion oxidoreductase from *Thiobacillus ferrooxidans*. *J.Bacteriol.* 169, 4916–4922.
 17. Sugio, T., Hirose, T., Ye, L.Z., Tano, T., 1992. Purification and some properties of sulfite:ferric ion oxidoreductase from *Thiobacillus ferrooxidans*. *J. Bacteriol.* 174, 4189–4192.
 18. Buonfiglio, V., Polidoro, M., Soyer, F., Valenti, P., Shively, J., 1999. A novel gene encoding a sulfur-regulated outer membrane protein in *Thiobacillus ferrooxidans*. *J. Biotechnol.* 72, 85–93.
 19. Janiczek, O., Zemanova, J., Mandl, M., 2007. Purification and some properties of thiosulfate dehydrogenase from *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Prep. Biochem. Biotechnol.* 37, 101–111.
 20. Sugio T, Taha TM, Kanao T, Takeuchi F. 2007. Increase in Fe²⁺-producing activity during growth of *Acidithiobacillus ferrooxidans* ATCC23270 on sulfur. *Biosci Biotechnol Biochem.* 71, 2663-2669.
 21. Rzhepishevska OI, Valdés J, Marcinkeviciene L, Gallardo CA, Meskys R, Bonnefoy V, Holmes DS, Dopson M. 2007. Regulation of a novel *Acidithiobacillus caldus* gene cluster involved in metabolism of reduced inorganic sulfur compounds. *Appl Environ Microbiol.* 73, 7367-7372.
 22. Toyama H., Mathews S., Adachi O. Matsushita K., 2004. Quinohemoprotein alchol dehydrogenasea: structure, function, and physiology. *Arch. Biochem. Biophys.* 428, 10-21.

共生生物由来の酵素複合系を用いた バイオマスの効率的分解と資源再利用への応用

岡山理科大学理学部臨床生命科学科 石原 浩二

I. 研究目的

近年、環境ホルモンなどの様々な化学物質が地球環境を汚染し、人類だけでなく多くの野生生物の活動に多大な影響を及ぼしていることは良く知られている。このような低分子系化学物質の微生物および微生物由来酵素による分解に関する研究は急速に展開しつつあるが、最近は、高分子系、特に動植物性タンパクなどを含む産業廃棄物「バイオマス」の処理も深刻な問題となりつつある。しかしながら、成分が複雑なバイオマスの分解は、従来の単一微生物や酵素による分解法ではほとんど成果が見られないのが現状である。

申請者はこれまでに、ミミズや未利用生物資源を「生体触媒」として用いた物質変換反応とその応用について研究を重ね、酵母、カビ、耐熱性細菌に優れた物質変換能力が存在することを明らかにしてきた¹⁻¹³⁾。また、ミミズ無細胞抽出液の生体触媒への利用に関する研究を行い、ミミズには非常に安定なタンパク質分解酵素が存在することを明らかにしてきた¹⁴⁻¹⁸⁾。

そこで本研究では、1) 環形動物の一種である「ミミズ」と、共生する「土壤微生物」を自然界から分離培養し、それら土壤微生物よりタンパク質や糖質分解酵素等を単離し、各種化合物に対する物質変換能力を精査してバイオマス分解へと利用すること、2) 環形動物と共生微生物由来の酵素を組み合わせることで、自然界のミクロエコシステムを模倣した「バイオマス分解のための酵素複合系」を構築し、バイオマス中のセルロースやタンパク質の分解を行う。また、分解と同時に発生するオリゴ糖やアミノ酸を回収することで、バイオマスの効率的な分解と資源の有効活用を同時に行う方法の確立を目指し、真の循環型社会の構築へと貢献することを主目的とした。

本年度は、ミミズと共生関係にある微生物の分離培養、及びそれら微生物が産生する多糖類分解酵素の探索を行ったので報告する。

II. 実験方法

1. 実験材料など

ミミズと共生する微生物を探すにあたり、土壤サンプルはミミズ糞塚（図1）とし、岡山県、京都府、および沖縄県から採取したものを用いた。また、微生物としては、ミミズが不得意とする植物系高分子化合物（多糖類など）や中性脂肪分解が期待できる放線菌をターゲット微生物とし、土壤サンプル（ミミズ糞塚）からの分離培養を行った。



図1. ミミズ糞塚（岡山県総社市窪木、岡山県立大学内にて採取）

2-1. ミミズ糞塚からの放線菌の分離培養

フィルターの通過性と抗生物質を効果的に利用した方法で土壤サンプルから放線菌だけを選別培養した。ミミズ糞塚土壤を室温で4日間乾燥後、乳鉢で細かく碎いて粉末状にした。粉末土壤サンプル1gをYS溶液（組成は表1に記載）10mLに懸濁し、ボルテックスミキサーで30秒間激しく攪拌した。その後、30°Cで30分間インキュベートした。YS溶液で20倍に希釈後、ADVANTEC製0.2μmのセルロース混合エステルフィルターを乗せたBn-2寒天培地（培地組成は表2に記載、添加する抗生物質の種類と量は表3に記載）のフィルター上に土壤抽出液50μLをストリークした。セルロース混合エステルフィルター上、30°Cで1週間培養した後、フィルターを取り去ってから、30°Cで1週間培養した。形成されたシングルコロニーを白金耳でピックアップし、YS溶液で20倍に希釈後、0.2μmのセルロース混合エステルフィルターを乗せたBn-2培地に再びストリークし、30°C、1週間培養、フィルター除去して1週間培養を行い、形成されたコロニーをピックアップし、Bn-2寒天培地にストリークして純粋株とした。単離した菌株はBn-2寒天培地、室温にて保存した。

Table 1. YS Solution

Yeast Extract	60.0 g
SDS	0.5 g
Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O	0.84 g
KH ₂ PO ₄	0.54 g
NaCl	8.5 g
Distilled Water	total 1L
pH	7.0

Table 2. Bn-2 Medium

Glucose	5 g
Soluble Starch	5 g
Meat Extract	1 g
Yeast Extract	1 g
NZ-case	2 g
NaCl	2 g
CaCO ₃	1 g
Agar	15 g
Distilled Water	total 1L
pH	7.2

Table 3. Additional Antibiotics

Amphotericin B	0.05 g/L
Trimethoprim	0.01 g/L
Nalidixic acid	0.002 g/L

2-2. 多糖類分解酵素活性の探索

上で分離した放線菌 18 株についてバイオマス分解活性の調査を行った。バイオマスのモデル化合物として、セルロース、カルボキシメチルセルロース (CMC)、キチン、キシランの 4 種類の多糖類を用いた。また、バイオマスの実用的分解を考えると、安定かつ精製の簡便な酵素が必須であるので、菌体内ではなく、菌体外に分泌される酵素をターゲットとした。

18 種の放線菌株を、それぞれペプトンリッチな P-MIM 培地（表 4 に培地組成を記載）3 mL にて 30°C、3 日間、好気的に培養した（前培養）。これら各多糖類 0.5% を含む 50 mL の P-MIM 培地に移し、30°C、好気的に培養した（本培養）。減圧濾過にて菌体を除去し、得られた培養液を粗酵素溶液とし、還元糖を指標としたソモギ・ネルソン法にて多糖類分解に関する酵素活性を測定した。

Table 4. P-MIM Medium

Bacto Peptone	15 g
Glycerol	2 g
KH ₂ PO ₄	2 g
K ₂ HPO ₄	2 g
Yeast Extract	2 g
Meat Extract	2 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.1 g
Distilled Water	total 1L

pH	7.2

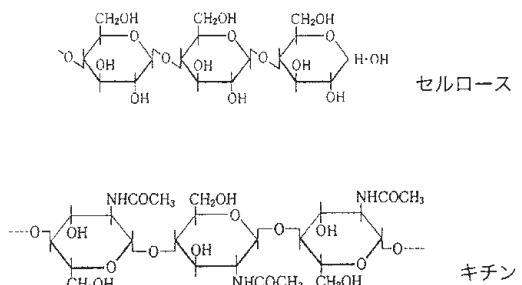


図2. セルロースとキチンの構造

III. 結果と考察

1. ミミズが生息する環境に生息する微生物（放線菌）の分離培養

50 種以上の土壤サンプル（ミミズ糞堆）より放線菌（*Actinomyces strains*）を分離し、18 種の放線菌と思われる微生物株を得ることに成功した（表 5 及び図 3）。

Table 5. 土壤から分離した放線菌株

ACTS No.	由来	ACTS No.	由来
01	沖縄県石垣市川平	10	京都市伏見区藤森神社
02	沖縄県石垣市川平	11	岡山県総社市窪木
03	沖縄県石垣市川平	12	岡山県総社市窪木
04	岡山県総社市窪木	13	京都府宇治市五ヶ庄
05	岡山県総社市窪木	14	京都府宇治市五ヶ庄
06	岡山県総社市窪木	15	岡山県総社市窪木
07	沖縄県国頭村辺戸岬	16	岡山県総社市窪木
08	沖縄県国頭村辺戸岬	17	岡山県総社市窪木
09	沖縄県国頭村辺戸岬	18	岡山県総社市窪木

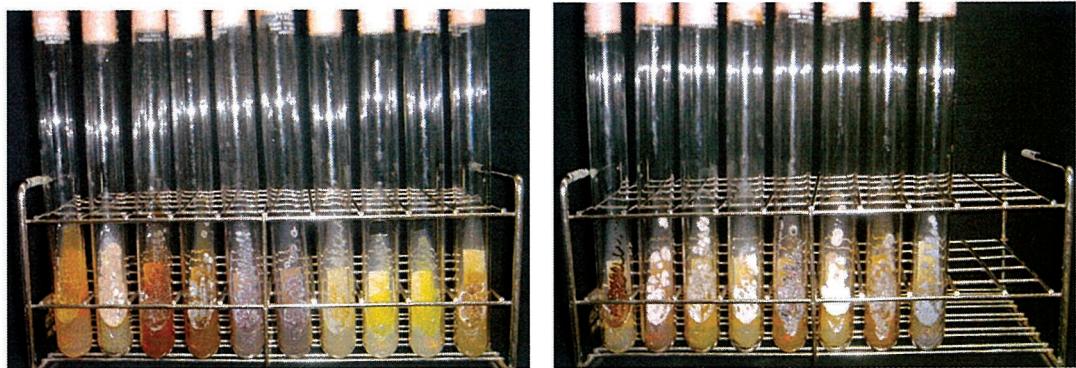


図3. 分離した菌株のスラント寒天培地（左から ACTS-01, -02, …-18）

2. ミミズと共生関係にある放線菌由来多糖類分解酵素活性の探索

放線菌 18 株についてセルロース、カルボキシメチルセルロース (CMC), キチン, キシランに対する加水分解活性を調査した結果を図 4 にまとめた。

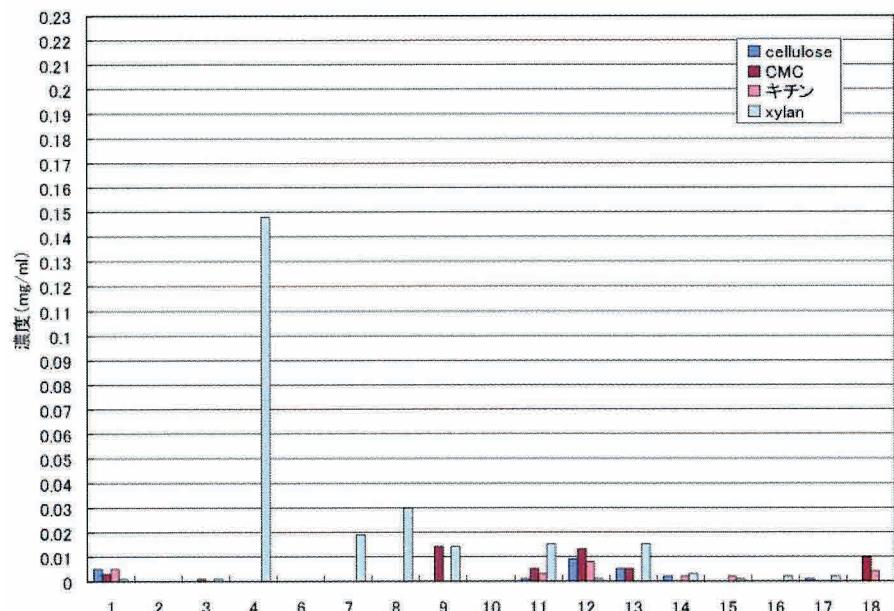


図4. ミミズ糞塚より分離培養した放線菌株の多糖類分解活性

キシラン分解活性については、ACTS-04, -07, -08, -09, -11, -12, -13 株が高い活性を示し、中でも ACTS-04 株がキシランに対して特異的な分解活性を有することがわかった。カルボキシメチルセルロースについては ACTS-09, 12, 18 の活性が高いことがわかった。キチンについては ACTS-11 および-12 株が分解活性を示すことがわかった。

次に、低いながらも多種の多糖類について幅広い活性を示した ACTS-11 株、ACTS-12 株、そしてキシランに対して高い活性を示した ACTS-04 株の 3 種類について、本培養時に糖類を添加した時（誘導）と添加しない時（非誘導）を比較し、多糖類分解酵素が誘導酵素か構成酵素かを調べた（図 5）。

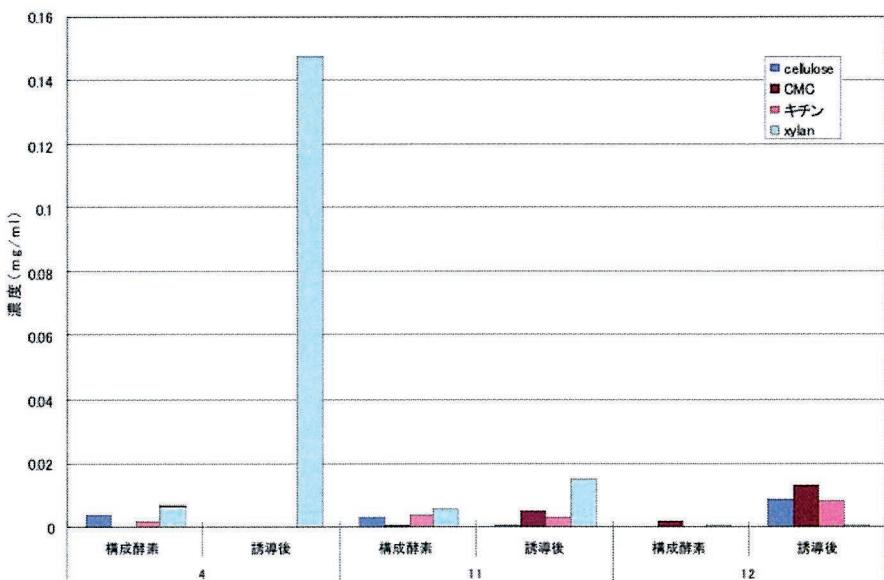


図5. ACTS-04, -11, および-12 株の多糖類分解活性

ACTS-11 および-12 株については、培地中への多糖類の添加して培養した場合と無添加で培養した場合と比較して、培地中に分泌される加水分解酵素の活性に大きな差は認められなかったが、ACTS-04 株については、培養中にキシランを加えることで、キシラン分解活性が大幅に上昇することがわかった。即ち、キシラン添加によって誘導される酵素であることがわかった。

3. 放線菌株の同定

多糖類の分解に有望な微生物株 ACTS-04, -11, および-12 株について、16S rDNA 解析による菌株の同定を行った結果（メルシャンクリンテックに依頼した）、ACTS-04 は *Streptomyces viridochromogenes* と 99% の相同性を、ACTS-11 は *Micromonospora* sp. と 99% の相同性を、ACTS-12 は *Streptomyces parvus* と 100% の相同性を示すことがわかった。電子顕微鏡撮影などの詳細な同定試験を行っていないので、種名までの同定には至っていないが、ACTS-04 と ACTS-12 は *Streptomyces* 属、ACTS-11 は *Micromonospora* 属の微生物であると同定された。

IV. 結 論

自然界の食物連鎖上の分解者であるミミズと強い共生関係にあると考えられる微生物（今回の研究では放線菌に着目した）を、ミミズの糞塚から分離、純粋培養することに成功した。分離した菌株が産生する酵素について調査した結果、*Streptomyces* 属である ACTS-04 に高いキシラン分解活性を見いだすことにも成功した。現在、ACTS-04 の培養液の凍結乾燥粉末と、ミミズ乾燥粉末と組み合わせて用いることで、バイオマスの実用的な分解、および、オリゴ糖などの有用物質の回収実験を検討中である。また、多糖類だけでなく、脂肪分解（リバーゼ）活性なども探索し、成分が複雑なバイオマスの分解へと応用していく予定である。

V. 謝 辞

本研究を行うにあたり、ご支援を賜りました財団法人八雲環境科学振興財団に深く感謝の意を表します。

VI. 参考文献

1. K. Ishihara, K. Iwai, H. Yamaguchi, N. Nakajima, K. Nakamura, and T. Ohshima, Stereoselective Reduction of α - and β -Keto Esters with Aerobic Thermophiles, *Bacillus* Strains. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **60**(11), pp. 1896-1898 (1996).
2. K. Ishihara, M. Nishitani, H. Yamaguchi, N. Nakajima, T. Ohshima, and K. Nakamura, Preparation of Optically Active α -Hydroxy Esters: Stereoselective Reduction of α -Keto Esters Using Thermophilic Actinomycetes. *J. Ferment. Bioeng.*, **84**(3), pp. 268-270 (1997).
3. K. Ishihara, H. Yamaguchi, H. Hamada, N. Nakajima, and K. Nakamura, Stereocontrolled Reduction of α -Keto Esters with Thermophilic Actinomycete, *Streptomyces thermocyaneoviolaceus* IFO 14271. *J. Mol. Catal., B: Enzymatic*, **10**, pp. 429-434 (2000).
4. K. Ishihara, H. Yamaguchi, H. Hamada, K. Nakamura, and N. Nakajima, Asymmetric Reduction of α -Keto Esters with Thermophilic Actinomycete: Purification and Characterization of α -Keto Ester Reductase from *Streptomyces thermocyaneoviolaceus* IFO 14271. *J. Mol. Catal., B: Enzymatic*, **10**, pp. 419-428 (2000).
5. K. Ishihara, H. Yamaguchi, N. Adachi, H. Hamada, and N. Nakajima, Stereocontrolled Reduction of α - and β -Keto Esters with Micro Green Algae, *Chlorella* Strains. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **64**(10), 2099-2103 (2000).
6. K. Ishihara, N. Nakajima, H. Yamaguchi, H. Hamada, and Y. Uchimura, Stereoselective Reduction of Keto Esters with Marine Micro Algae. *J. Mol. Catal., B: Enzymatic*, **15**, pp. 101-104 (2001).
7. H. Yamaguchi, N. Nakajima, and K. Ishihara, Purification and Characterization of Two α -Keto Ester Reductases from *Streptomyces thermocyaneoviolaceus* IFO 14271. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **64**(10), 2099-2103 (2000).
8. N. Nakajima, K. Ishihara, and Y. Matsuura, Dietary-fiber-degrading Enzymes from a Human Intestinal *Clostridium* and their Application to Oligosaccharide Production from Nonstarchy Polysaccharides using Immobilized Cells. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **59**, pp. 182-189 (2002).
9. K. Ishihara, H. Hamada, T. Hirata, and N. Nakajima, Biotransformation using Plant Cultured Cells. *J. Mol. Catal., B: Enzymatic*, **23**, pp. 145-170 (2003).
10. K. Ishihara, H. Yamaguchi, and N. Nakajima, Stereoselective Reduction of Keto Esters: Thermophilic Bacteria and Microalgae as New Biocatalysts. *J. Mol. Catal., B: Enzymatic*, **23**, pp. 171-189 (2003).
11. K. Ishihara, H. Yamaguchi, T. Ohmori, T. Uemura, N. Nakajima, and N. Esaki, A Novel Zinc-containing α -Keto Ester Reductase from Actinomycete: An Approach Based on Protein Chemistry and Bioinformatics. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **68**(10), pp. 2120-2127 (2004).
12. K. Ishihara, H. Yamamoto, K. Mitsuhashi, K. Nishikawa, S. Tsuboi, H. Tsuji, and N. Nakajima, Purification and Characterization of α -Keto Amide Reductase from *Saccharomyces cerevisiae*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **68**(11), pp. 2306-2312 (2004).
13. K. Ishihara and N. Nakajima, Stereoselective Reduction of Carbonyl Compounds Using the Cell-Free Extract of the Earthworm, *Lumbricus rubellus*, as a Novel Source of Biocatalyst. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **70**(12), pp. 3077-3080 (2006).
14. N. Nakajima, M. Sugimoto, K. Ishihara, K. Nakamura, and H. Hamada, Further Characterization of Earthworm Serine Proteases: Cleavage Specificity Against Peptide Substrates and on Autolysis. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **63**(11), pp. 2031-2033 (1999).
15. N. Nakajima, M. Sugimoto, and K. Ishihara, Stable Earthworm Serine Proteases: Application of the Protease Function and Usefulness of the Earthworm Autolysate. *J. Biosci. Bioeng.*, **90**(2), pp. 174-179 (2000).
16. N. Nakajima, M. Sugimoto, and K. Ishihara, Earthworm-serine Protease: Characterization, Molecular Cloning, and Application of the Catalytic Functions. *J. Mol. Catal., B: Enzymatic*, **23**, pp. 191-212 (2003).
17. M. Sugimoto, K. Ishihara, and N. Nakajima, Structure and Function of an Isozyme of Earthworm Proteases as a new biocatalyst. *J. Mol. Catal., B: Enzymatic*, **23**, pp. 405-409 (2003).
18. N. Nakajima, M. Sugimoto, S. Tsuboi, H. Tsuji, and K. Ishihara, An Isozyme of Earthworm Serine Proteases Acts on Hydrolysis of Triacylglycerol. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **69**(10), pp. 2009-2011 (2005).

現場脱水したため池底泥処理土の周辺田畠基盤・表土への再利用

要　旨

本研究では、香川県の2地域のため池より採取した底泥の農地客土としての適性と、底泥の浚渫方法の違いが植生に与える影響についても検討を行った。その結果、1)ため池底泥を10%添加すること出芽に適した保水性となったこと、2)過度な底泥混合によって、排水性が低下して生育が阻害されること、3)脱水処理したものは、無処理のものと比べて凝集剤の影響で生育が向上すること、4)底泥中には、植物の生育に必要な無機成分が過不足なく含まれていること、等を示し、ため池底泥脱水ケーキの10%添加によって土壤の保水性を向上し、農地客土に適した土壤となることが分かった。

キーワード：ため池底泥、農地利用、フィルタープレス、ICP発光分析、全リン、全窒素、客土

1. はじめに

全国に存在する21万箇所以上のため池の多くは、江戸時代以前に作られたものである。水漏れなど老朽化による改修や、堆積土砂による貯水量の減少により浚渫が行われ、大量の浚渫土が発生している。ため池は、非常に数が多く小規模なため、大型の機械によって浚渫できない。浚渫には、水を落とした後にセメント系固化材を添加して浚渫が行われる。処理土は、主に埋立材、盛土材、路盤材などの建設材料として使われている(港湾・空港等リサイクル推進協議会、2004)。しかし、近年の公共事業の減少によって建設材料以外の用途での利用が必要となっている。

建設材料以外の利用方法としては、ブロックやタイルの原材料にヘドロを用いている研究(下垣ら、2002)、焼成処理して緑化基盤として利用している研究(田窪ら、1998)、港湾構造物用のブロックの原材料としての研究(江頭ら、1998)がある。このように、建設材料以外の処理方法では、ため池底泥の処理量が限られ、一般的なものと比べてコストも増加する傾向にある。

そこで著者は、ため池底泥を周辺の田畠に農地客土として還元することを検討した。周辺の農地客土として再利用する場合、トラックなどによる運搬が必要なく、コストも減少する。これによって、土壤の循環を形成することができる。処理土の植生利用への研究としては、セメント系固化材の添加された盛土斜面での発芽特性(社団法人セメント協会、1998)、脱水・固化処理した底泥盛土の生育特性(日高、2007)などが行われている。しかし、これらの研究は、芝などを用いた研究がほとんどである。

本研究では、環境負荷の少ない高分子系凝集材によって脱水処理された、ため池底泥脱水ケーキの添加が、作物の生育特性

に与える影響について検討した。また、脱水処理による影響についてもあわせて検討した。

2. 試験概要

試験には、香川県の2地域(A池、B池)から2006年と2007年の2回採取したため池底泥を用いた。採取方法としては、手作業によるもの(原泥)と、2006年(A池、B池底泥)をバキューム式ポンプによって浚渫し、可搬型フィルタープレス機で脱水したもの(脱水ケーキ)の2種類がある。出芽・生育試験において、空気乾燥した底泥を粉碎し、2mmふるい通過分を試料に用いた。

試験としては、採取したため池底泥の物理・化学特性を知るために、液性・塑性限界試験、強熱減量試験、電気伝導率試験、pH試験、土粒子密度試験、粒度試験、pF試験を行った。また、底泥を添加した培地において、コマツナの出芽試験、生育試験を実施した。最終的に、土壤成分を分析するために、ICP発光分析装置、ケルダール窒素測定、全リン測定を実施して、浚渫土の農地利用特性を明らかにした。

3. 底泥の物理・化学特性

採取した底泥の採取地域による性質の違いと、脱水による基本的性質の変化を調べるために、物理・化学特性の試験を行った。試料の基本的な物性を調べるために、液性限界試験、塑性限界試験、土粒子密度試験を、底泥中の有機物含有量を簡易に判定するために、強熱減量試験を、植物の生育への影響を知る

Table 1 底泥の物理・化学特性
Physical and chemical properties of the sludge

	A(06)	A(cake)	B(06)	B(07)	B(cake)
$W_L(\%)$	175.0	137.0	165.5	177.5	129.5
$W_p(\%)$	44.2	55.6	47.5	77.4	59.8
I_p	130.8	81.4	118.0	100.1	69.7
$L_i (\%)$	12.1	11.3	13.7	15.5	10.9
pH	6.40	6.20	6.40	6.30	6.00
EC (mS/cm)	0.350	0.600	0.260	0.218	0.790
$s (\text{g}/\text{cm}^3)$	2.49	2.52	2.43	2.56	2.51

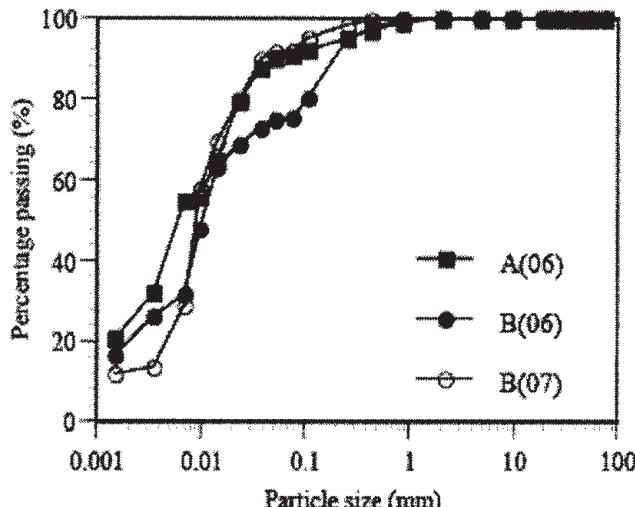


Fig.1 試料の違いによる粒径加積曲線の変化
Particles size distribution of sludge

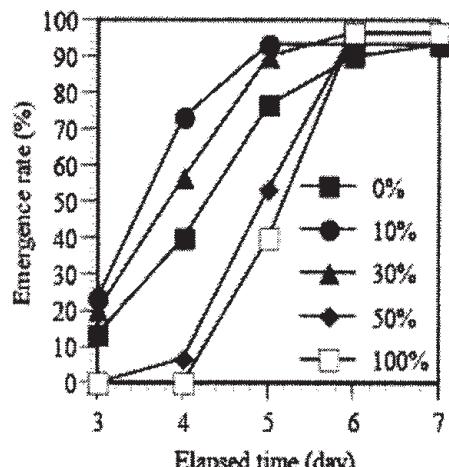


Fig.2 出芽率の経時変化
Emergence rate with duration time

ために、pH試験、電気伝導率試験、粒度試験、pF試験を実施した。結果をTable 1に、粒度試験結果をFig.1に示した。ここで、A(06)とは2006年採取のA池底泥を、B(cake)とは、B池脱水ケーキのことを示している。

ため池底泥は塑性指数・強熱減量が非常に高いことから、粘性が高く有機分が多い試料である(Table 1)。また、底泥には多くの細粒分が含まれている(Fig.1)。EC(0.3ms/cm以下)、pH(6.0-6.5)が植物の生育に適した範囲であり、脱水ケーキ以外のものは範囲内であった。また、脱水ケーキにおいても、まさ土と混合して試験を実施するために影響はあまりなかった。試料の異なるA(06)、B(06)、B(07)では、物理・化学特性に大きな違いはないことがわかる。A(06)とA(cake)を比較すると、脱水ケーキは、液性限界、強熱減量の値が小さく、ECの値が大きいことがわかる。これはB(06)とB(cake)でも同様の傾向が示している。この原因としては、脱水処理時に、細粒分がフィルターから除去されたことと、凝集剤添加によって团粒化したためと考えられる。

4. 出芽試験

ため池底泥を畑に投入し植物を育てる場合、種を畑に撒く直播と、苗を移植する移植栽培がある。本章では、コマツナを用いて、直播に適しているかを検討するため出芽試験を行った。試験

は、まさ土とため池底泥を混合し、合計500mlをポットに入れ、コマツナの種(品種: 楽天)を地表5mmの地点に植え、その出芽にかかる時間と出芽率についてあわせてみたものである。試験日数を5日とし、2mmふるいを通過したA池の底泥とまさ土を試験に用いた。まさ土と底泥の混合率は、0%、10%、30%、50%の4種類とした。Fig.2に出芽率と日数の関係を、Fig.3に出芽試験の4日目の状態を示した。写真左の混合率が大きい試料の方が出芽が悪いことがわかる。底泥の添加量を増加させると、出芽にかかる日数が多くなった。底泥とまさ土の粒径を比較すると、底泥の方が細粒分が多く含んでいるため、出芽が遅延したと考えられる。また、まさ土100%の試験では、混合率10%の試験と比べて、出芽日数がかかっている。これはFig.4の底泥の混合率と土中ポテンシャルの関係より、まさ土だけの試験では、保水性が低く土中が乾燥したため、出芽に遅延が生じたと考えられる。また底泥だけの試験は、出芽後に枯れる個体もあり生育が阻害された。

5. 生育試験

移植栽培を想定して生育試験を実施した。底泥を畑に混合する場合の最適な添加率を調べるために、混合率と生育の関係をFig.6に示した。また、底泥の施肥効果の検証をFig.8で行った。

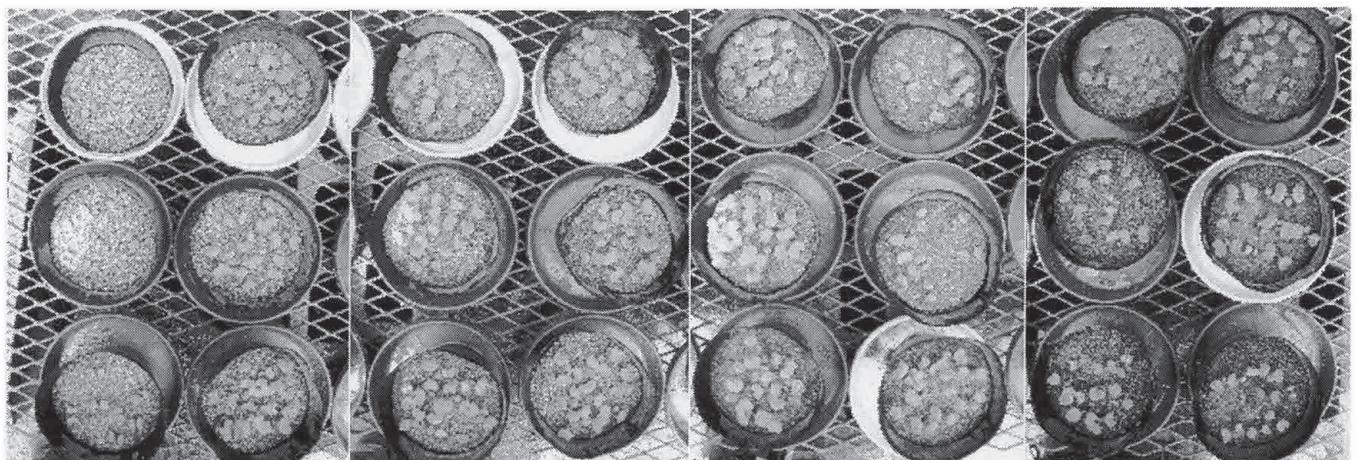


Fig.3 出芽試験結果(4日目)

Results of emergence test

左から、底泥混合率が 0, 10, 20, 30, 40, 50, 70, 100%

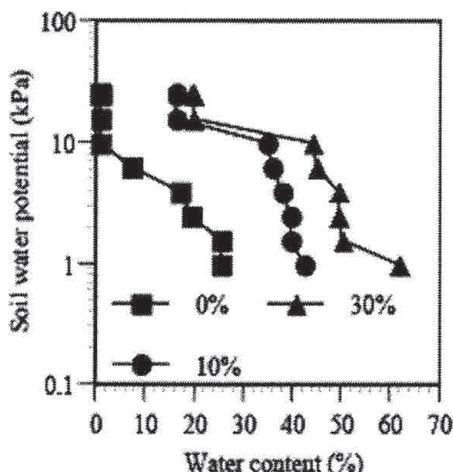


Fig.4 底泥混合率と保水性の関係

Relationship between content rate of sludge and pF

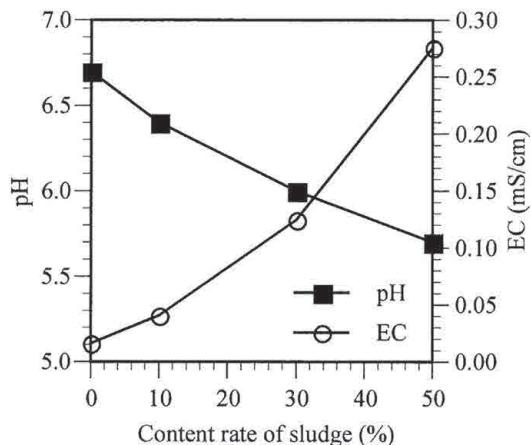


Fig.5 底泥混合率とpH, ECの関係

Relationship between content rate of sludge, pH and EC

最後に底泥の浚渫時の処理方法が生育に及ぼす影響を Fig.9 に示した。試料として、初期成育によるバラツキをおさえるため、出芽 2 週間後のコマツナの苗を用いた。A, B 池底泥(06, 07)を用い、底泥とまさ土を 3 種類の混合率(0, 10, 30)で配合した。試験期間は、コマツナが標準的な出荷サイズの葉茎長 25cm 程度に成長するまでとした。また、濃度の異なる液肥(25%, 50%)を 100ml/day 施肥した。Fig.5 に試験後の底泥混合率と pH, EC の関係を示した。底泥を 50% 混合したもので pH 5.7, EC 0.27mS/cm と比較的高い値を示し、EC については若干生育に影響を与えたと考えられる。これは、試料作成過程において底泥を乾燥・粉碎することによって上昇したと考えられる。その他については、植物の生育に適した範囲であった。Fig.6 には、A(06), B(06, 07)の混合率による生育の違いを示した。葉茎長とは茎から葉先までの長さを、乾物重とは炉乾燥後の重量を表している。A 池底泥の葉数は、底泥の混合量を増加させるほど減少する傾向があった (Fig.7)。B 池底泥では大きな変化を見ることができなかった。ま

た、底泥混合率 0% のものでは、生育が他のものと比べて良好だった。A 池混合率 10% の葉茎長が最も生育がよくなっている、10% 程度の混合では生育が阻害されない。乾物重においても、底泥の混合率が上昇すると減少した。葉数、葉茎長などから 10% 程度の混合がもっとも適しているといえる。これは底泥の混合によって、土壤水分の保水の向上と (Fig.4) 底泥中の有機分のため (Table 1) と考えられる。

Fig.8 には、B 池底泥の肥料成分について検討した。図中 0% とは底泥の混合率 0% のことである。液肥濃度を上昇させるとすべての試料で生育が向上していることが分かる。また、液肥を添加しない場合において、底泥混合率が高いほど生育が向上していることから、肥料効果があると考えられる。しかし、液肥濃度が上昇すると底泥混合による影響がなくなる。このため、底泥の有機成分は肥料として機能するが生育に十分な量ではないということが分かった。

Fig.9 には、脱水処理による生育の違いを示した。試料として、

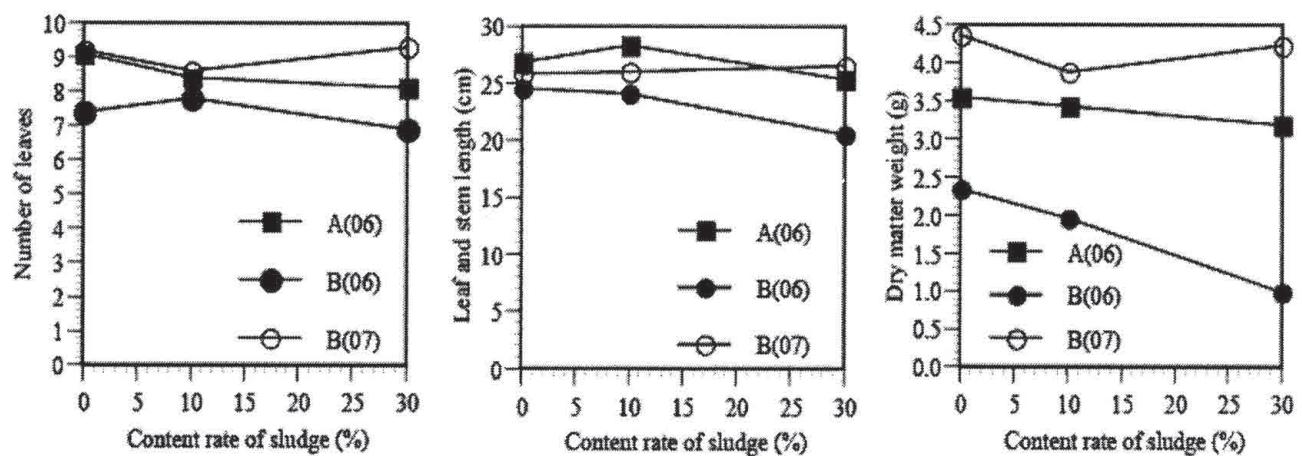


Fig.6 底泥混合率と生育の関係

Relationship between content rate of sludge and growth

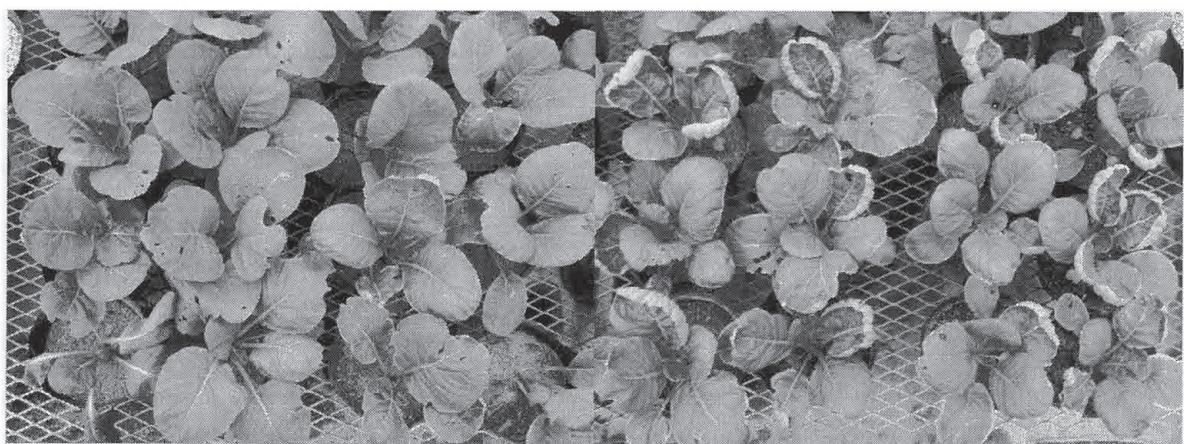


Fig.7 混合率と生育の違い

Result of plant growth and development

左から底泥混合率 0, 10, 30, 50%

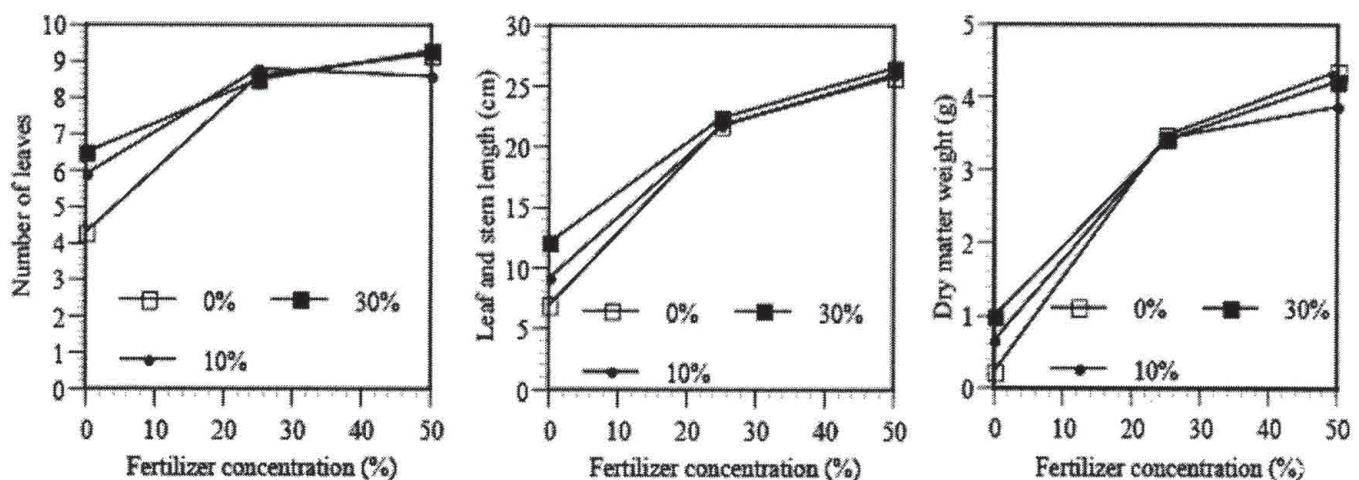


Fig.8 液肥濃度と生育の関係

Relationship between fertilizer concentration and growth

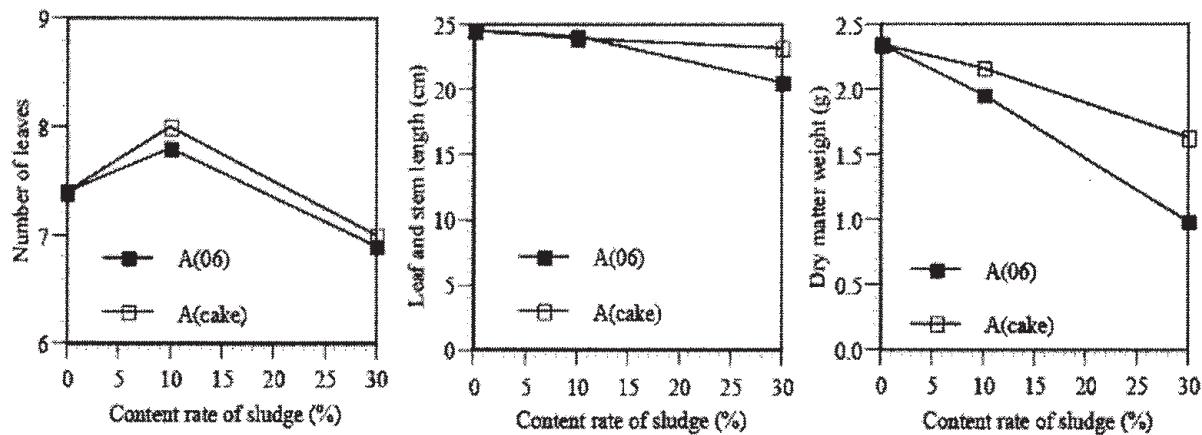


Fig.9 脱水処理と生育の関係
Relationship between dehydrated cake and growth

Table 2 ICP 発光分析試験結果

Results of ICP test

	B	Fe	Cu	Mn	Zn	Ni	K	Ca	Mg	Mo
まさ土	0.02	2.52	0.00	0.08	0.01	0.00	0.29	1.53	0.36	0.00
A(06)	0.01	0.67	0.04	2.28	0.25	0.02	10.06	45.27	11.21	0.00
B(07)	0.18	-0.22	0.01	1.67	0.10	0.00	9.27	44.72	19.74	0.00
B(cake)	0.05	0.29	0.00	8.91	0.79	0.01	9.68	44.51	22.72	0.00
10%B(06)	0.02	13.46	0.01	0.55	0.04	0.01	1.19	5.88	1.46	0.00
30%B(06)	0.02	1.01	0.00	2.85	0.14	0.01	2.91	32.20	4.14	0.00
10%B(07)	0.08	0.73	0.00	0.12	0.02	0.00	0.47	14.80	2.82	0.00
30%B(07)	0.07	-0.14	0.00	1.67	0.08	0.00	1.42	36.10	6.06	0.00

Table 3 脱水処理による窒素とリンの変化
Changes of nitrogen and phosphorus by dehydration

	TKN(mg/kg)	TP(mg/kg)
A(06)	0.4	0.02
A(cake)	0.6	0.02
B(06)	0.3	0.16
B(cake)	4.7	0.05

A(06), A(cake)の2種類を用いた。無処理のものと比較して脱水ケーキの試料のほうが葉数、葉茎長、乾物重が増加した。また、底泥添加率の上昇による生育の抑制を緩和することが分かった。これは、脱水によって細粒分が減少し、有機分が除去され、凝集材によって脱水ケーキの排水性が改良されたためと考えられる。底泥を脱水処理することで、生育抑制を緩和することが分かった。

6. 成分分析

底泥を農地客土として利用する場合、その無機成分を知る必要がある。また、コマツナには、無機成分の欠乏・過多によって多くの生育障害が発生するため(農林水産技術会議事務局, 1977), ICPによる土壤成分分析を実施した。また、あわせてケ

ルダール窒素、全リンを測定して、結果をTable 2, 3に示した。ICP試験の試料には、土壤に純水を加えて溶出させたものを用いた。B(30%)とは、まさ土に30%のB池底泥を混合したものを示している。Table 2のA~Eの条件についてはTable 3に示した。

Table 2では混合率10%のもの比較して、生育が抑制された30%ものでは、Mn, Zn, Ni, K, Ca, Mgなどが増加した。しかし、これらは基準値内であり、障害の原因と特定されなかつた。またA,B池底泥とB池脱水ケーキの間にも若干の増加はみられるが、液肥添加時のまさ土の生育が悪くないことから(Fig.7)無機成分が影響ではないと考えられる。

Table 2は、脱水処理によるケルダール窒素と全リンの関係を示したものである。底泥は、脱水によって窒素が増加し、リンが減少することが分かった。しかし、大きな差ではなく生育の直接の原因ではないと考えられる。

7. まとめ

ため池底泥の農地客土としての適性と、脱水処理が与える影響について検討し、以下の知見を得た。

(1)10%程度の底泥の添加で発芽にとって適度な保水性となつた。

(2)底泥の添加量を増加することで生育が減少した。これは、底泥混合によって排水性が低下して根茎が腐敗したためである。

(3)脱水処理したものは、無処理のものに比べて生育が向上した。これは、凝集剤の添加によって、排水性が改良されたためである。

(4)成分分析の結果では、底泥には無機成分を過不足なく含んでおり、植生に適していることがわかった。

これらより、底泥を少量添加することで保水性が向上し、底泥の処理方法としては、脱水処理が農地利用に適していることがわかった。

引用文献

港湾・空港等リサイクル推進協議会(2004)：港湾・空港等整備におけるリサイクル技術指針, 2-29.

下垣 久(2001)：ブロック・タイル原材料へのヘドロ利用法の開発, 電力中央研究所報告 U01062.

田産祐子、小口深志(1998)：建設工事で発生する脱水ケーキの緑化用土壤への利用に関する研究(その2)－各工種における脱水ケーキとその改質土による植生試験－, 第33回地盤工学研究発表会, 269-270.

江頭和彦、山縣延文、藤井義文、岡田哲一、斎藤 聰、中間哲志(2002)：浚渫土の港湾構造物用ブロックとしての有効利用、粘土地盤における最新の研究と実際－微視的構造の観察から超軟弱埋立て地盤対策技術まで－に関するシンポジウム, 255-262.

社団法人セメント協会 (1998)：セメント系固化材による固化処理土への緑化に関する研究, 社団法人セメント協会, 25-43.

日高 厚、川西順次、小川 孝、永塚典幸(2007)：脱水・固化処理技術による湖沼浚渫土の有効利用に関する検討(その2), 第42回地盤工学研究発表会, 535-536.

農林水産技術会議事務局(1977)：植物の金属元素含有量に関するデータ集録、独立行政法人農業環境技術研究所, 148-168.

よそ者を交えた猿害対策の可能性

岡山理科大学 堀内史朗

1. はじめに

1-1. よそ者を交えた猿害対策

日本各地の中山間地で、野生ニホンザルによる農林業・人的被害（猿害）が深刻な問題となっている。猿害の発生は中山間地の過疎高齢化が進展した1960年代から1980年代にかけて報告されてきた。猿害を撲滅する究極的な対策は、ニホンザル地域個体群の絶滅である。だが自然保護運動の高まり、またニホンザルが森林生態系を維持するために果たす役割などを考えると、そうした対策は実行不可能である。

そこで複数の猿害発生地で、サルの追い上げ、および農地・生息地管理が試みられている。過疎高齢化に伴い里から山への人の圧力が低下したこと、不十分な森林管理・農地管理のために山から里へのサルの圧力が増加したことが、猿害が広がった原因として挙げられている。サルの追い上げは過疎高齢化で人手の減った農地に人力を投入することで里から山への人の圧力を増強することを目的として、生息地・農地管理は山にエサを回復し農地のエサを減らすことによって山から里へのサルの圧力を減少することを目的として試みられている。猿害を克服するだけではなく、過剰な有害駆除を抑制することでニホンザル地域個体群を保全することも期待されている。

これらの対策を実施するにあたって注目されるのが、対策実施のために被害地にやってくる「よそ者」の存在である。彼等はふだん、猿害が発生している地域には住んでいない。猿害あるいはニホンザルの保全に強い関心を持ち、無償のボランティアとして対策に関わる。中山間地の活性化に関わろうとするボランティアは、グリーン・ツーリズムの一環として捉えられることが多い。じっさい、こうしたボランティア参加者の多くが、地域住民との交流や自然に接した体験を求め、こうした体験に満足していることが報告されている（山本 2003）。よそ者を交えた猿害対策は都市農村交流の一環として位置づけられる画期的なものとして期待されている。

1-2. 対策の問題点

よそ者を交えた猿害対策には問題もある。まだ諸事例の蓄積・報告が十分ではないものの、他の猿害対策と共通する問題点として、以下の3点をあげることが可能である。

1. 対策の評価基準

猿害の現状や対策の評価は、農業被害額などの累計値によって評価されることが多い。しかし被害地の多くでは、高齢者による自給・趣味的な農業が行われている。被害額という指標は必ずしも住民の被害感を適切に評価しえるものではない。被害住民の生活観に沿った対策評価を行うことで、対策の効果は評価されるべきである。

2. サルの生息状況

必要な猿害対策の内容はサルの生息状況、換言すれば猿害が発生した原因によって変えるべきである。よそ者が実施すべき対策の内容は、猿害の原因に対応したものでなければならない。しかし各被害地の状況に適した対策が必ずしも採択・実施されていないのが現状である。

3. 地域住民の自然観

ふだん自然に接していないよそ者が、生活の中で自然と関わってきた被害地の住民と友好関係を築けるとは限らない。自然に無知なよそ者の無神経な振る舞いが住民を不快な思いにさせることもありえる。よそ者の振る舞いは、地域住民のサルおよび自然との関わり方に合致したものであるべきである。

1-3. 研究課題

本報告書は、以上にあげた3つの問題点に対応して実施した、各研究課題の概要について報告するものである。

1. 対策の評価基準については、秋田県旧八森町（現八峰町）で実施されたボランティアによるサルの追い上げ対策を、地域住民の生活観に即して分析した評価を紹介する。2. サルの生息状況については、サルの群れの挙動を表した計算機実験の結果を紹介することで、被害地の生態的条件に適した対策を提案する。3. 地域住民の自然観については、日本各地の被害対策および民俗伝承を紹介し、地域の民俗・歴史に適した、よそ者のあるべき振る舞いについて提案する。

2. 方法

各研究課題に対応して、それぞれ以下の研究手法を採用した。

2-1. 秋田県八森町における被害調査の分析

調査地を秋田県山本郡八森町とした。同町は2006年3月に隣接する峰浜村と合併し、現在は八峰町である。混乱を避けるため、この論文では“八森”を、合併以前の旧町の区画を表す名称として使用する。八森は秋田県の最北西部、おおよそ北緯40.3度、東経140度に位置する。日本海と白神山地に囲まれた自然豊かな場所である。1980年代以前の基幹産業は第一次産業だったが、近年は第三次産業従事者が労働者の大半を占める。農業に従事する住民の多くは仕事を定年退職した高齢者である。換金目的というよりは、趣味・自給的な目的で農業に従事している住民が多く、農地の経営規模も小さい。八森の総面積4300haに対して農地面積は387ha（2002年度）にすぎず、とくに畠のほとんどは自家用の小面積のものである。

八森で猿害が問題化したのは1980年代後半からである。ボランティアによるサルの追い上げ事業が3年の準備期間を経て2001年から本格的に実施されている。テレビ、雑誌、インターネット、口コミなどの情報により、全国から参加者が集まってくる。ここ数年は毎年7月1日から9月30日まで募集が行われており、参加者の延べ人数は例年40名程度である。参加者は一日原則8時間以上、各自が任せられた場所でサルの見張りを行う。サルが農地近辺に現れた場合、町から提供されたロケット花火や爆竹、または各自が持参したエアガンを利用してサルを追い払う。農作業中の住民と情報交換をしつつ100m²程度の狭い範囲についてサルを見張る者、草むらに身を隠しつつサルに対してエアガンによる接近戦を試みる者、自動車・バイク等で八森全域の広い範囲をパトロールする者など、追い上げ手法は参加者の経験や装備、交通手段などによって様々である。サル追い上げボランティアは住民からも好評である（詳しくはHoriuchi 2008を参照）。

図1は八森において被害が報告されている農地、およびサルの群れの遊動域を示した概念図である。被害が報告されている農地は、北部・中部・南部の3地区に分けることができる。北から南へ6つのサルの群れが遊動していることが分かっており、図では便宜的にA群～F群として、各群れの遊動域を示した。農地の分布およびサルの群れの遊動域を踏まえ、農地地区ごとに猿害程度の年度間変化について報告する。

2001年度から、ボランティア参加者はサルの出現状況を記録した日誌を残してきた。このボランティア日誌を利用して、日々・地区において、サルが現れたかどうかを調べた。2001年度から2006年度の日誌を用いて合計494（日×地区）のデータを利用する。サルの出現した日数を全調査日数で割った値をサルの出現率と定義し、地区ごとにサルの出現率の年度間変化を調べた（詳細な計算方法やデータの利用基準は省略）。

同町で事業展開をしている白神獣害対策調査研究所によって、2001年度、2005年度、2006年度に農作業中の住民に対する被害調査が行われた。各地区に点在する畠面積を計算して、200m²未満および200m²以上の面積の畠を、それぞれ小、大とした。各畠に栽培されていた主要な作物すべての被害レベルを0から5の段階で住民に報告してもらった。被害レベル0：被害なし、レベル1：作物被害は5%以下、レベル2：作物被害6%～25%，レベル3：作物被害26%～50%，レベル4：作物被害51%～80%，レベル5：作物被害81%～100%，である。全作物被害レベルの中央値を畠の被害レベルとした。レベルが高いほど、その畠の被害は大きい。地区ごとに、畠の被害レベルが年度間でどのように変わったかを、畠の規模（小または大）ごとに調べた。また各作物の被害レベルのデータを栽培されている畠の規模によらず集計し、各年度における各作物の総収穫件数についても調べた。

2-2. 空間構造を踏まえたサルの群内・群間競争の計算機実験

農地近辺を遊動する野生ニホンザルの群れは、農地から離れた奥山を遊動する群れに比べ、密度・サイズ（群れに含まれる個体数）ともに高いことが経験的に指摘されていた（Izumiya et al. 2003）。密度・サイズの違いは食物資源の質・量をもとに考えられていたが、生息地の中心（奥山）あるいは周縁（農地近辺）という空間構造について、十分な考察が行われていなかった。周縁の群れの性質に対応して猿害対策は実施されるべきである。そこで、複数の群れが生息域の中心から周縁まで分布する状況を設定した計算機実験を行った。

図2のような縦6横50の二次元セル上における、群れ間の相互作用を考える（横

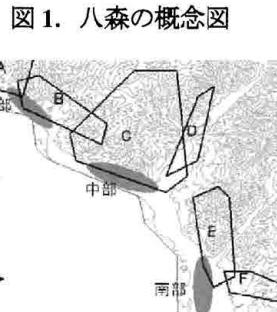


図1. 八森の概念図



図2 計算機実験モデル

は12セルに省略).用意した二次元のセルのうち、上端と下端の行を除く、縦4横50のセルが群れの生息域である。上端と下端の行のセルに群れは移動することはできず、群れにとって生息域の境界外であるが、後述するように採食場としての利用は可能である。左右には50セルが並んでいる。左右の端はトーラス上になっている。それゆえ、左右に移動する分には、群れにとって境界は存在しない。上下にだけ境界を持たせることで、生息域の中心と周縁、つまり真ん中の2行と境界外に接した2行の比較が容易になる。

生息域上に複数の群れが分布する。各群れは特有のサイズをもつ。図2の場合、群れA, B, C, D, E, Fのサイズは、それぞれ40, 35, 30, 10, 50, 25である。各群れの現在のサイズ、および獲得できた食物資源の総量によって、群れサイズは時間が経つごとに変化する。

どの群れも、所在するセルおよび隣接する縦横斜めの8セルの、合計9セルを採食場として利用する。各セルには食物資源が含まれている。資源量は時間が経つごとに同じ量だけ再生する。群れによる食べつくしによってセルの食物資源が利用不可能になる事態は考えない。上端下端の行のセルは移動できる場所ではないが、そのセルを採食場として利用することは可能である。

生息域内セルの食物資源価値をw、境界外セルの食物資源価値をbとする。図2において、群れAと群れBは他群から十分離れており、資源を巡る群れ間の競合がない。群れAが獲得する食物資源量は9w、群れBが獲得する食物資源量は6w+3bである。

群れCと群れDは、それぞれ下側・上側に隣接する3セルを共に食物資源の場として利用する。この場合、各群れが等分の資源を獲得すると仮定する。つまり、群れCが獲得する食物資源量は $3b + 3w + 3w/2 = 3b + 4.5w$ 、群れDが獲得する食物資源量は $6w + 3w/2 = 7.5w$ である。

群れEと群れFのように互いに隣接する群れ間では競争が起こる。サイズの大きな群れほど競争に有利である。群れXとYが競争する場合、それぞれの群れのサイズをx, yとすると、群れXが勝利する確率は $x/(x+y)$ 、群れYが勝利する確率は $y/(x+y)$ である。群れE、群れFのサイズはそれぞれ40, 20であるため、群れEが勝利する確率は $2/3$ 、群れFが勝利する確率は $1/3$ である。勝利した群れは、敗北した群れが所在するセルの食物資源を奪う。仮に群れEが勝利した場合、群れEが獲得する食物資源量は $4w + 4w/2 + w = 7w$ 、群れFが獲得する食物資源量は $3w + 4w/2 = 5w$ である。ある群れがn個($n > 1$)の他群と隣接する場合、各他群との競争で負けた場合には所在セル食物資源の $1/n$ を勝った群れに奪われると仮定した。

獲得した食物資源量 a_i に対応して、群れ*i*の時刻*t*におけるサイズ $S_{i,t}$ は以下の式に従った時間変化をする。式中のδは、分母が0になることを防ぐための微小値である。

$$S_{i,t+1} / S_{i,t} = \max[2 - S_{i,t} / (\delta + a), 0]$$

獲得した食物資源量が現在の群れサイズに比して多いほど群れサイズの増加率は大きく、最大値は2である。獲得した食物資源量が少なければ群れサイズは減少し、増加率の最小値は0。この場合、群れは消滅する。増加式に現在の群れサイズを変数として挿入することで、群れ内の採食競争を考えている。なお群れサイズは少数値を切り下げ、整数値として処理した。

本モデルでは、群れの移動と分裂も考慮に入る。群れ間競争による敗北などのために、獲得できた食物資源量が $2w$ に満たない群れは、隣接する任意のセルに移動する。どの群れも $1/100$ の確率で半分のサイズに分裂する。分裂で出来た新群は、母群に隣接する任意のセルに移動する。移動・分裂どちらの場合も、任意に選ばれた隣接セルが境界外だった場合、あるいは他群が既に占拠していた場合は、その移動・分裂はキャンセルされる。

このような仮定のもとに計算機実験を行った。wとbの値は、それぞれ1から15で用意し、 $15 \times 15 = 225$ パターンの計算機実験を行った。各(w, b)について100ステップ(時間変化)を繰り返した後の、中心および周縁に位置する群れの密度とサイズを比較する。生息地・農地管理は、サル生息域の資源価値wの値を高くし、農地の資源価値bの値を低くする試みとして理解できる。b/wの値を小さくすることで、サルは農地から奥山へ移動するという仮説を、このモデルを分析することで検証する。

また、農地近辺にいる群れを奥山へ追い上げる対策の評価も行う。周縁にいる群れを $1/20$ の確率で、真上または真下に隣接する中心部セルに追い上げると、周縁の群れ密度・サイズがどのように変容するかを確認した。ただし、追い上げ先のセルを他群が占拠していた場合、その追い上げはキャンセルされた。

2-3. サル狩猟・獣害対策の資料収集

ニホンザルは日本列島の各地に古来より生息し、地域住民との様々な交渉が伝えられている。ある地域では、サルは神として崇められる一方、頭骨が漢方薬の原料として珍重され食用に狩猟された地域もある。よそ者を交えての獣害対策を実施するにあたっても、地域の民俗に即した対策が求められよう。地域住民がサルとどのように接しているかを調べるために、現在各地で採用されている獣害対策を調べ、かつ民俗資料を収集し、人々のサル

に対する見方の地域間比較を行った。

1999年に鳥獣保護法が改定されて以来、都道府県が野生動物の保護管理に裁量権を持つようになった。2008年3月現在で16府県がニホンザル保護管理計画を策定し、猿害対策の指針を公開している。この資料を利用し、各府県が実施している猿害対策の中で、追い上げまたは農地・生息地回復について分析を行った。

また日本各地の狩猟伝承に関する膨大な事例を報告した千葉（1969; 1971; 1977; 1985; 1990; 1997）を用い、サル狩猟に関する事例をまとめ、分析した。注目したのは、サル狩猟に関する資料が収集された場所と、サル狩猟に関する禁忌の有無である。

3. 結果

3-1. 八森における猿害程度の変化

サルの出現率の2001年度から2006年度までの変化を表すのが図3である。太い実線、細い実線、破線が、それぞれ北部地区、中部地区、南部地区におけるサルの出現率の年度間変化を表している。北部地区では2001年度から2002年度にかけてサルの出現率が激減したが、それ以降のサルの出現率は横ばいである。中部・南部地区ではサルの出現率に年を追っての一貫した変化は見られなかった。サルが出現した日/出現しなかった日の比率を年度間で比較すると、北部地区のみ年度間で統計的な有意差があった(χ^2 検定、北部、 $n=207$ 、自由度5、 χ^2 値 = 50.2、 $P<0.001$ 。中部、 $n=176$ 、自由度5、 χ^2 値 = 10.2、 $P>0.05$ 。南部、 $n=111$ 、自由度5、 χ^2 値 = 5.1、 $P>0.1$)。

畑の栽培面積区分，“小”“大”ごとに，畑の被害レベルの中央値および上ヒンジ・下ヒンジを，2001・2005・2006年度について示したのが表1である。表の各セルにおけるカッコ外の数字が中央値，カッコ内の左／右の数字がそれぞれ下ヒンジ，上ヒンジを表している。2001年度において，面積小の畑では被害レベルの中央値が3.5，面積大の畑では中央値が5にまで及ぶ激しい被害が確認されていた。2005・2006年度には，面積小・大とも，畑の被害レベルの中央値は0に下がった。畑“小”について被害レベルを年度間で比較したところ，どの地区においても，統計的な有意差があった

(Kruskal-Wallis test. 北部, n=57, 自由度 2, χ^2 値 = 9.5, P < 0.01. 中部, n=88, 自由度 2, χ^2 値 = 36, P < 0.001. 南部, n=37, 自由度 2, χ^2 値 = 20, P < 0.001). 番“大” の被害レベルについても, 北部・中部地区において, 年度間で統計的な有意差があるが, 南部地区においては有意差が無かった(北部, n=59, 自由度 2, χ^2 値 = 41, P < 0.001. 中部, n=49, 自由度 2, χ^2 値 = 28, P < 0.001. 南部, n=19, 自由度 2, χ^2 値 = 5, P > 0.05).

各作物について報告された被害レベルを、畠の栽培面積規模に拠らず集計した作物の総収穫件数順位の年度間変動はどの地区でも似通った傾向を示していた。図4は全地区的総収穫件数データを年度内で合計したものを見ている。総収穫件数が多い順番に上位15品目について紹介し、また被害レベルの内訳を示してある。どの作物についても被害レベルが2001年度から2005年度にかけて減少した。そのいっぽう、2001年度に相対的に被害の低かったジャガイモやダイコンの総収穫件数順位が上昇し、被害の高かったカボチャなどの順位が下降した。2005年度から2006年度にかけて作物ごとの被害レベルに大きな違いは無い。しかし、2001年度には被害がひどく、2005年度には順位の下降していたダイズ・カボチャなどの総収穫件数の順位が2006年度には上昇していた。

3-2. 計算機実験によるサルの群れ密度・サイズの予測.

計算機実験を行い、中心と周縁に分布する群れの密度とサイズを比較したのが図5である。生息域の資源価値 w 、境界外の資源価値 b を、それぞれ1から15まで用意し、合計組み合わせ225パターンについて、中心と周縁

図3 サルの出現率の変化

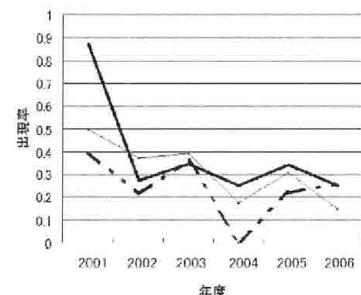


表1 畑の被害レベル

面積	地区	2001 年度	2005 年度	2006 年度
小	北部	3 (0.5 / 5)	0 (0 / 2)	0 (0 / 1)
	中部	3.5 (2 / 5)	0 (0 / 2)	0 (0 / 2)
	南部	3 (2 / 5)	0 (0 / 0)	0 (0 / 0)
大	北部	5 (2 / 5)	0 (0 / 0)	0 (0 / 0)
	中部	5 (2 / 5)	0 (0 / 0)	0 (0 / 0)
	南部	3 (15/45)	0 (0 / 0)	0 (0 / 0.5)

図4 各作物の総収穫件数

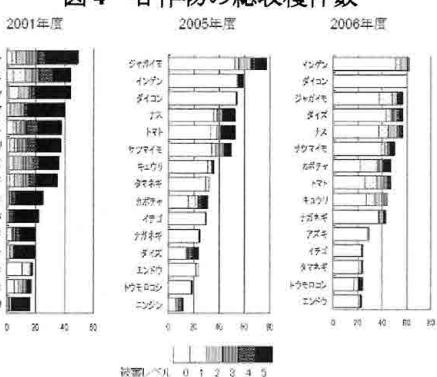
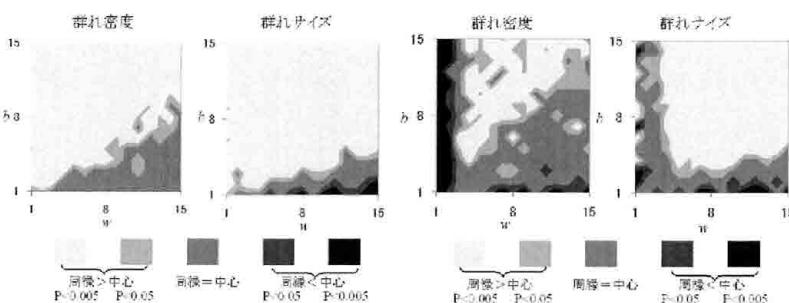


図5. 群れ密度・サイズの比較



が中心の群れサイズより小さくなるのは、 b が相当に小さい場合に限られる。

追い上げの効果をふまえて中心と周縁に分布する群れの密度とサイズを比較したのが図6である。1/20の確率で周縁から中心へ群れを追い上げることの効果は、生息域の資源価値 w の値が小さいとき劇的である。たとえ境界外の資源価値 b が高くても、周縁のほうが中心よりも群れ密度・サイズとも同じまたは低い値を示した。

本研究では、縦6横50の二次元セル上で100ステップ後の計算機実験の結果を示した。確認のため、縦8横50、縦10横50の二次元セル上でも同様な実験を行い、また10ステップおよび300ステップ後の場合についても結果を確認した。どの場合についても、図5、図6と同様な結果が得られた。

3-3. 狩猟伝承・ニホンザル保護管理計画の分析

2008年3月段階で、ニホンザル保護管理計画を発表しているのは青森県、秋田県、宮城県、福島県、山形県、新潟県、富山県、石川県、千葉県、栃木県、神奈川県、山梨県、長野県、愛知県、滋賀県、京都府の16府県である。サルの追い上げ計画は秋田県、宮城県、石川県の3県で実施されていた。柵設置などの農地管理はどの府県でも実施されている。植樹などのサルの生息地回復計画は神奈川県、滋賀県、京都府の3府県で実施されていた。

千葉（1969; 1971; 1977; 1985; 1990; 1997）に記載されたサル狩猟の資料を整理したのが表2である。資料の数に対応して、報告のある府県を4つの地域に分け、各地域におけるサル狩猟に関する禁忌の有無を整理した。サルを撃つことを戒める禁忌がある場合に「禁忌あり」、そうした禁忌がなく現在または過去にサル狩猟が行われていた場合に「禁忌なし」とし、各件数を累計した。群れのサルは撃っても良いがハナレザルは撃ってはいけないなどの、限定的な禁忌についても、「禁忌あり」として累計している。

4. 考察

4-1. 各研究課題の要約

秋田県八森にて実施されるサル追い上げボランティアは、農地近辺におけるサルの出現率を一定程度は減少させ、畑で栽培される作物の食害を減退し、またかつては猿害のために諦められていた作物の栽培を復活させる効果があった。高齢者による自給・趣味的な農業が行われている地域では、サルに威嚇されて怖い思いをする、被害がひどく農業を放棄してしまうことこそが、猿害の本質である。被害額という指標では、そうした生活被害の程度を評価することができない。サルの出現率、畑の被害レベル、作物の総収穫件数順位という指標によって、住民の生活被害の程度が減退した様子が確認できる。八森では、サル追い上げボランティア以外にも、住民主体の農地管理、電気柵の設置、サルの捕獲・奥山放獣などの対策が採られている。こうした一連の対策の一環として、ボランティアによるサルの追い上げは効果を挙げてきたのであろう。

計算機実験を行うことで、生息地・農地管理による猿害減退の効果を確認した。生息地の資源価値 w を高く、農地の資源価値 b を低くすることが、生息地・農地管理の目的である。ところが計算機実験の結果、 b が w に比べて小さくても、農地近辺のほうが奥山よりも、群れ密度・サイズとも大きい。このような意外な結果が出てくる理由は二つある。第一に、群れにとって農地のセルは、たとえ資源価値が低くとも、他の群れとの競合が少ない場所である。生息域のセルは最大で9群が争奪しあうのに対し、農地のセルを争奪しあう群れは最大でも3群である。第二に周縁は、そこから先に群れが移動できない境界に位置するため、競争に負ける小さな群れは、周縁から中心へと移動する効果が働く。この二つの理由のために、 b が w より小さくても、周縁のほうが中心より、

の群れについて比較を行った。比較の際に、群れ密度については χ^2 検定、群れサイズについては Mann-Whitney U 検定を用いた。周縁より中心のほうが群れ密度が低くなることはない。 b と w の値が同じ程度ならば、周縁のほうが中心よりも密度は高くなる。 b が w に比較して十分に小さい場合でも、周縁のほうが中心より群れサイズは大きくなる場合がある。周縁の群れサイズ

群れ密度・サイズ共に大きくなる。いっぽうサルの追い上げは、 w が小さい場所で劇的な効果をあげることが示唆された。サルの追い上げは、隣接する中心セルに他群がないときに成功すると仮定している。 w が大きい場所では、群れの密度が高く、隣接群の存在が追い上げを失敗させるのである。これらの結果は、サルの密度が低い地域では追い上げが効果的である。サルの密度が高い地域では追い上げの効果は低く、 b を小さくする農地管理を徹底して行う必要があることを示唆している。

文書資料を収集することで、人のサルに対する接し方の地域間変異を見出した。16府県が策定しているニホンザル保護管理計画では、追い上げは東北地方中心、生息地回復は近畿地方中心に行われていることが確認された。またサル狩猟に関する禁忌は九州などの西日本ほど強く、東北地方ではほとんどないことも分かった。かつて東北地方を中心にして、各地の獵場を歩き回る旅マタギという伝統的な狩猟者が活躍したと言う。獣害対策のために村に請われ、住み着いた事例もあったらしい。サルの追い上げは、実続でサルを殺傷するものではないものの、サルと戦うために山の中によそ者が入り込んでいく試みである。サル狩猟がマタギによってかつて頻繁に行われた東北地方においてこそ、サルの追い上げは住民に受容されやすいことを、この結果は示唆している。

4-2. 地域の生態・民俗にあわせた猿害対策

日本列島の自然植生は北東から南西にかけて大きく異なる。西日本を中心に広がる常緑広葉樹林では、東北・北陸地方を中心に広がる落葉広葉樹林よりも、サルの密度が10倍ほど高く、群れのサイズも大きい(Takasaki 1981; Horiuchi 2006)。かつてサル狩猟が盛んで、自然植生が開発から多く残されている東北地方においては、相対的にサルの密度が低いと言われている。東北地方のようにサルの群れ密度・サイズが小さい環境では、サルの追い上げが有効になるのであろう。いっぽう西日本以西では、拡大造林および森林管理放棄による自然植生の破壊が指摘されている。そのことが生息地回復への試みにつながっているのかもしれない。自然植生の違いが野生ニホンザルの生態に影響を与え、採用される猿害対策の地域間変異をもたらしていると本研究課題は示唆する。

だが、植生の違いによって影響を受けるのはサルだけではない。人もまた影響を受ける。日本列島に暮らしてきた人々の生活習慣や自然観が、東と西で大きく違うことが、歴史学や人類学などの分野で指摘されてきた(網野1982; 佐々木1997)。マタギなどの、山中で活躍する強いよそ者を受容する文化は、サル狩猟の禁忌などとも関連し、東北地方で強いことが示唆される。いっぽう西日本では、部落差別の問題なども偏在し、山中に正体不明のよそ者が入り込むことは困難なのかもしれない。そのような地域住民のサルや自然、よそ者との接し方の違いも、猿害発生地の間で異なった対策が試みられる原因なのかもしれない。

人とサルが、地域によって異なった自然環境を土台として相互交渉を行ってきた。猿害が広がった原因是、東と西で異なる。また、地域住民のよそ者への接し方も、東と西では異なる。そうしたサルと人それぞれの地域間変異をふまえてこそ、よそ者を交えた猿害対策は策定・実施されるべきであろう。

5. 引用文献

- 網野善彦, [1982]1998, 『東と西の語る日本の歴史』. 講談社.
- Horiuchi Shiro, 2006, "A unimodal curve for primate group size along a gradient of population density". *Population Ecology* 48: 199-202.
- _____, 2008, "Affiliative segregation of outsiders from a community: bonding and bridging social capital in Hachimori-cho, Japan". *International Journal of Japanese Sociology* 18: in press
- Izumiya Shigeyuki, T. Mochizuki, T. Shiraishi, 2003, "Troop size, home range area and seasonal range use of the Japanese macaques in the Northern Japan Alps". *Ecological Research* 18: 465-474.
- 佐々木高明, 1997, 『日本文化の多重構造：アジア的視野から日本文化を再考する』. 小学館.
- Takasaki Hiroyuki, 1981, "Troop size, habitat quality, and home range area in Japanese macaques". *Behavioral Ecology and Sociobiology* 9: 277-281.
- 山本信次(編著), 2003, 『森林ボランティア論』. 日本林業調査会.
- 千葉徳爾, 1969, 『狩猟伝承研究』. 風間書房.
- _____, 1971, 『狩猟伝承研究 続』. 風間書房.
- _____, 1977, 『狩猟伝承研究 後編』. 風間書房.
- _____, 1986, 『狩猟伝承研究 総括編』. 風間書房.
- _____, 1990, 『狩猟伝承研究 補遺編』. 風間書房.
- _____, 1997, 『狩猟伝承研究 再考編』. 風間書房.

持続可能なライフスタイルの形成要因に関する研究 —大学生を対象とした質問紙調査—

宮川雅充, 井勝久喜 (吉備国際大学)

1 はじめに

環境基本法では、基本理念として、「環境への負荷の少ない持続的発展が可能な社会の構築」が掲げられている。この例が示すように、近年では、環境問題の解決を目的として、「持続可能性」というキーワードが注目されており、各人がライフスタイルを見直し、環境配慮行動（環境に対する負荷が相対的に小さい行動）を実践することが求められている。

また、持続可能な開発のための教育（ESD:Education for Sustainable Development）の必要性も指摘されている。2005年から始まった「国連ESDの10年」では、自然との共生や多様な立場を尊重できる価値観を持ち、問題解決能力に富んだ人の存在が重要とされており、そのような人を育てるための教育を推進していく必要があるとされている¹⁾。

以上のような背景から、著者らは、ESD（「環境教育」を含む）のあり方を考えるための基礎的資料とすることを目的として、岡山県内の大学生を対象に、環境問題および持続可能性に関する質問紙調査を行った。調査では、ライフスタイルを尋ねるとともに、子ども（小学生）の頃の家族交流や自然体験、高校生の時の「総合的な学習の時間」についても尋ねた。

本研究では、環境配慮行動や社会活動の実践度が高い者を、持続可能なライフスタイルを実践している者とみなして¹⁾、実践度と子どもの頃

との関連を分析することで、持続可能なライフスタイルの形成要因を明らかにすることを試みた。

2 方 法

2.1 質問紙調査

2007年11～12月に、岡山県内の3大学の学生を対象に、質問紙調査を行った。調査対象者の選定は、有意抽出法により行った。

質問項目は、性別・年齢等の基本属性、家事（炊事・洗濯・掃除）を行う頻度、社会活動、性格、環境配慮行動、環境問題に関する意識、子どもの頃の自然体験・家族交流、高校生の時の総合的な学習の時間、等多岐にわたる。

環境配慮行動については、以下の8行動について、調査時における実施状況を「全くしない」、「めったにしない」、「ときどきする」、「いつもする」という選択肢で回答させた。

- マイバック持参
- 牛乳パック・トレー等のリサイクル
- 使用済みの紙の再利用
- 待機電力節約
- 冷暖房設定温度（冬20℃以下、夏28℃以上）
- 環境に優しい商品の購入
- 無農薬農作物の購入
- 地元産農作物の購入

社会活動については、以下の6活動について、最近2年間の活動状況（大学の授業等での参加は除く）を、「0回」、「1回」、「2回」、「3回以上」という選択肢で回答させた。

- 行政、民間が開催している講座・講演会
- 町内会活動・集会
- スポーツイベント・大会

¹⁾これらの行動の実践が、持続可能な社会の実現にどの程度寄与するのかについては議論の余地がある。また、これらの行動を実践することのみが持続可能な社会の実現に貢献するための方法ではないことを、念のため申し添えておく。

表1 回答者の属性

	性 別		学 年				合 計
	男性	女性	1年	2年	3年	4年	
A 大学	244 (64.0)	137 (36.0)	74 (19.4)	142 (37.3)	155 (40.7)	10 (2.6)	381 (100.0)
B 大学	177 (76.6)	54 (23.4)	30 (13.0)	105 (45.5)	70 (30.3)	26 (11.3)	231 (100.0)
C 大学	44 (23.8)	141 (76.2)	82 (44.3)	21 (11.4)	62 (33.5)	20 (10.8)	185 (100.0)
合 計	465 (58.3)	332 (41.7)	186 (23.3)	268 (33.6)	287 (36.0)	56 (7.0)	797 (100.0)

数値は、度数および比率(%)を示す。

- ボランティア活動
- 大学や短大などで開催されている公開講座・講演会
- 市民団体での活動

子どもの頃の自然体験・家族交流については、以下の12項目について尋ねた。これらは、子どもの頃に注目して環境配慮行動や環境活動の関連要因を分析した研究^{2,3)}を参考に決定した。

- 家の周りの自然で遊んだか
- 動物や虫類を飼っていたか
- 自分の家に田んぼや畑があったか
- 田んぼや畑で作業をしたか
- キャンプに行ったか
- 理科の実験・観察は好きだったか
- 地域のクラブに入っていたか
- 家庭で節分・彼岸・節句などの季節の行事はあったか
- 海外に住んでいたか
- 祖父母と同居していたか
- 家族団らんの時間はどのくらいあったか
- 家族に物を粗末にして「もったいない」と言われたことがどのくらいあったか

2.2 分析方法

環境配慮行動および社会活動に関する回答を単純集計するとともに、実践度が高いと考えられる者の比率と子どもの頃との関連を、ロジスティック回帰分析²により調べた。なお、オッズ

比の算出に用いる基準は、各独立変数において、実践度が高いと考えられる者の比率が最も低いカテゴリとした。分析の詳細は、3節で詳しく述べる。

なお、環境配慮行動(8種類)の中には、炊事を日常的に行っていない者にとっては、回答が困難であるものも含まれていると考えられる。そこで、本研究では、環境配慮行動に関する分析では、炊事を「めったにしない」と回答した者は除外して分析を行った。

すべての統計解析は、SPSS 15.0 Jを使用して行った。

3 結 果

3.1 回収結果

調査の結果、797名から回答を得た。回答者の属性を表1に示す。環境配慮行動に関する分析の対象者(炊事を「ときどきする」あるいは「いつもする」と回答した者)は、584名であった。

3.2 環境配慮行動の実施状況

図1に、環境配慮行動に関する回答結果を示す。肯定的な回答(「ときどきする」あるいは「いつもする」)をした者の比率に注目すると、例えば、「マイバック持参」では約23%、「牛乳パック・トレー等のリサイクル」では約39%、「地元産農作物の購入」では約56%であり、環境配慮行動

なく、得られる結果の信頼性も高いといわれている。

各要因の関連(影響)の程度は、オッズ比で評価することができる。オッズ比は、従属変数と独立変数の関係の強さを表しており、0~∞の値をとる。オッズ比が1の場合、2つの事象に関連はないことを意味する。同様に、1より大きい場合には正の関連、1より小さい場合には負の関連があることを意味する。

²多変量回帰分析の一手法である。ある事象が起こる確率を、複数の要因から予測するための回帰式(ロジスティックモデル)を導出することができる。従属変数は2値データ、独立変数はカテゴリ変数や連続変数を、複数用いることができる。この分析方法は、適用の際の仮定や制限が少

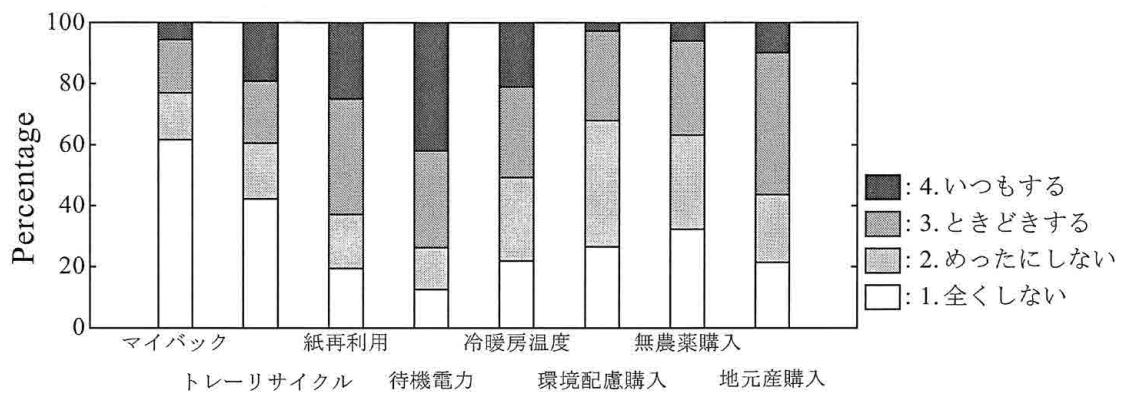


図 1 環境配慮行動に関する回答結果

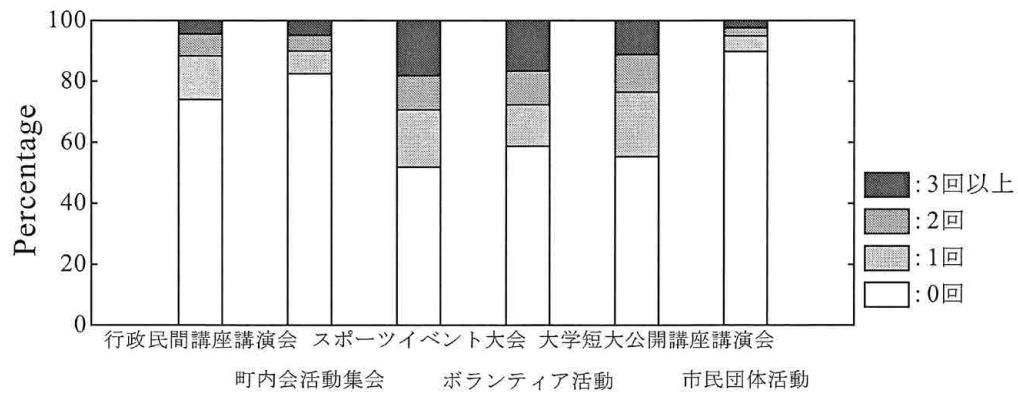


図 2 社会活動に関する回答結果

の種類によって、行動の実践度には、差がみられた。

3.3 社会活動の実施状況

図2に、社会活動に関する回答結果を示す。最近2年間に1回以上参加した者の比率に注目すると、「スポーツイベント・大会」、「ボランティア活動」、「大学や短大などで開催されている公開講座・講演会」では、それぞれ、約48%，約41%，約45%，であった。これらの活動の実施状況は、「行政、民間が開催している講座・講演会」、「町内会活動・集会」、「市民団体での活動」(同じく、それぞれ、約26%，約17%，約10%)よりも高かった。

3.4 環境配慮行動および社会活動に関する主成分分析

環境配慮行動および社会活動と子どもの頃との関連を分析するにあたり、主成分分析を用いて、環境配慮行動および社会活動に関する情報を集約することを試みた。

表2 環境配慮行動に関する主成分分析の結果（因子負荷量）

環境配慮行動＼主成分	1	2
マイバック持参	0.140	<u>0.591</u>
牛乳パック・トレー等のリサイクル	0.251	<u>0.634</u>
使用済みの紙の再利用	0.211	<u>0.646</u>
待機電力節約	-0.033	<u>0.628</u>
冷暖房設定温度	0.193	<u>0.576</u>
環境に優しい商品の購入	<u>0.677</u>	0.212
無農薬農作物の購入	<u>0.842</u>	0.120
地元産農作物の購入	<u>0.822</u>	0.166
固有値	2.01	1.98
寄与率 (%)	25.1	24.8

環境配慮行動8種類に関する回答に基づいて、主成分分析を行った。その結果を表2に示す。分析では、固有値が1以上であった第2主成分までを採用した。第1主成分は、グリーンコンシューマとしての行動(以下、グリコン行動)の実践度を表しており、第2主成分は、ごみ問題およびエネルギー問題に関わる行動(以下、ごみ・エ

表3 グリーンコンシューマとしての行動（グリコン行動）と子どもの頃との関係（N=578）

要因	カテゴリ	N	オッズ比	95%信頼区間	p値
キャンプに行ったか	よく行った	117	2.36	1.35–4.13	0.003
	ときどき行った	260	1.51	0.92–2.47	0.101
	ほとんど行かなかった	201	1		
理科の実験・観察は好きだったか	好きだった	353	1.72	1.06–2.79	0.027
	どちらともいえない	172	1		
	嫌いだった	53	1.10	0.45–2.67	0.834
家庭で節分・彼岸・節句などの季節の行事はあったか	あった	347	2.79	1.67–4.64	<0.001
	ときどきあった	183	1		
	ほとんどなかった	48	1.77	0.72–4.35	0.212

Hosmer-Lemeshow の適合度検定 ($p = 0.584$)

ネ行動) の実践度を表していると解釈された。

社会活動6種類についても、同様の方法で主成分分析を行ったが、1つの主成分のみが抽出される結果となった。

3.5 環境配慮行動と子どもの頃との関連

3.4節(表2)で述べたグリコン行動(3行動)、および、ごみ・エネ行動(5行動)について、「全くしない」、「めったにしない」、「ときどきする」、「いつもする」の各選択肢につき、0, 0, 1, 2点を与え、合計点を算出し、その得点(グリコン行動: 0~6点、ごみ・エネ行動: 0~10点)を利用して実施状況を評価した。

本研究では、グリコン行動については、得点が3点以上であった者を、ごみ・エネ行動については、得点が5点以上であった者を、“実践度が高い者”とみなして³、その比率と子どもの頃との関連を、ロジスティック回帰分析により検討した。

最初に、子どもの頃に関する各質問項目との関連を、性別の影響を調整したロジスティック回帰分析により検討し、 $p < 0.10$ であった項目をリストアップした。次に、リストアップされた項目と性別を独立変数として、変数減少法(ステップワイズ法)によるロジスティック回帰分

析を行った。各ロジスティックモデルの妥当性を、Hosmer-Lemeshowの適合度検定により確認した。なお、以降の分析では、分析に用いる変数に無回答がみられた回答については除いて分析しているため、分析によってサンプル数(N)が若干異なる。

表3に、グリコン行動に関する結果を示す。

グリコン行動については、「キャンプに行ったか(以下、キャンプ)」、「理科の実験・観察は好きだったか(以下、理科実験・観察)」、「家庭で節分・彼岸・節句などの季節の行事はあったか(以下、家庭季節行事)」との間に、有意な関連が認められた。

キャンプについては、「よく行った」と回答した者のオッズ比は、「ほとんど行かなかった」と回答した者を基準とした場合、2.36であり有意に高い値を示していた。このことは、子どもの頃にキャンプによく行った者には、グリコン行動の実践度が高いと考えられる者が多いことを意味する。

理科実験・観察については、「好きだった」と回答した者のオッズ比は、「どちらともいえない」と回答した者を基準とした場合、1.72であり有意に高い値を示していた。「嫌いだった」と回答した者のオッズ比は1.10であり、「どちらともいえない」と回答した者と同程度の値を示していた。以上のことは、子どもの頃に理科の実験や観察が好きだった者には、グリコン行動の実践度が高いと考えられる者が多いことを意味する。

³当然のことながら、二値化する際のしきい値の位置によって、結果が影響を受ける可能性も考えられるが、グリコン行動については、4点以上・未満、ごみ・エネ行動については、6点以上・未満で二値化した分析においても、本研究とほぼ同様の結果が得られている。

表4 ごみ問題およびエネルギー問題に関する行動（ごみ・エネ行動）と子どもの頃との関係（N = 574）

要因	カテゴリ	N	オッズ比	95%信頼区間	p値
性別	男性	301	1		
	女性	273	2.32	1.61–3.35	<0.001
理科の実験・観察は好きだったか	好きだった	347	1.54	1.01–2.35	0.043
	どちらともいえない	174	1		
	嫌いだった	53	1.85	0.95–3.61	0.073
地域のクラブに入っていたか	入っていた	65	1.64	0.95–2.84	0.079
	入っていなかった	509	1		
「もったいない」と言われたことがどのくらいあったか	まったくなかった	28	3.13	1.38–7.11	0.006
	ときどきあった	247	1		
	よくあった	237	1.44	0.96–2.15	0.076
	毎日のようにあった	62	1.96	1.08–3.57	0.028

Hosmer-Lemeshow の適合度検定 (p = 0.726)

家庭季節行事については、「あった」と回答した者のオッズ比は、「ときどきあった」と回答した者を基準とした場合、2.79であり有意に高い値を示していた。このことは、子どもの頃に、家庭で節分・彼岸・節句などの季節の行事が頻繁にあった者には、ときどきあった者と比較して、グリコン行動の実践度が高いと考えられる者が多いことを意味する。

表4に、ごみ・エネ行動に関する結果を、表3と同様の方法で示す。

ごみ・エネ行動については、性別、理科実験・観察、「家族に物を粗末にして『もったいない』と言われたことがどのくらいあったか（以下、もったいないと言われた経験）」との間に、有意な関連が認められた。

性別については、女性のオッズ比は、男性を基準とした場合、2.32であり、有意に高い値を示していた。このことは、女性には、男性よりも、ごみ・エネ行動の実践度が高いと考えられる者が多いことを意味する。

理科実験・観察については、「嫌いだった」と回答した者のオッズ比が1.85 (p = 0.073) であり、有意とは判定されなかつたが、比較的高い値を示していた。すなわち、グリコン行動の場合（表3）とは異なり、理科実験・観察に関する回答と実践度との間に、正の関連は認められなかつた。

もったいないと言われた経験については、「ときどきあった」と回答した者を基準とした場合、「まったくなかった」および「毎日のようにあつた」と回答した者のオッズ比が、それぞれ3.13, 1.96であり有意に高い値を示していた。このことは、子どもの頃に、「もったいない」と言われた経験が、極端に少ない者、あるいは、極端に多い者には、大学生になってからの、ごみ・エネ行動の実践度が高いと考えられる者が多いことを意味する。

3.6 社会活動と子どもの頃との関連

社会活動（6活動）について、「0回」、「1回」、「2回」、「3回以上」の各選択肢につき、0, 1, 1, 1点を与え、合計点を算出し、その得点（0~6点）を利用して活動状況を評価した。

本研究では、社会活動の得点が3点以上であった者を、“実践度が高い者”とみなして⁴、その比率と子どもの頃との関連を、表3および表4と同様の方法によるロジスティック回帰分析により検討した。

社会活動に関する分析結果を表5に示す。「自分の家に田んぼや畑があったか（以下、自宅・田畠）」、キャンプとの間に、有意な関連が認めら

⁴当然のことながら、二値化する際のしきい値の位置によって、結果が影響を受ける可能性も考えられるが、2点以上・未満で二値化した分析においても、本研究とほぼ同様の結果が得られている。

表 5 社会活動と子どもの頃の関係 (N = 733)

要 因	カテゴリ	N	オッズ比	95%信頼区間	p 値
自分の家に田んぼや 畑があったか	あった なかった	433 300	1.55 1	1.11–2.16	0.010
キャンプに行ったか	よく行った ときどき行った ほとんど行かなかった	138 323 272	2.61 1.72 1	1.67–4.07 1.19–2.50	<0.001 0.004

Hosmer-Lemeshow の適合度検定 (p = 0.655)

れた。

自宅・田畠については、「あった」と回答した者のオッズ比は、「なかった」と回答した者を基準とした場合、1.55であり有意に高い値を示していた。このことは、子どもの頃に、自分の家に田んぼや畠があった者には、社会活動の実践度が高いと考えられる者が多いことを意味する。

キャンプについては、グリコン行動の場合(表3)とほぼ同様の結果であり、子どもの頃にキャンプによく行った者には、社会活動の実践度の高い者が多いと考えられた。

4 考察・まとめ

本研究において、大学生の持続可能なライフスタイル（環境配慮行動・社会活動の実践）と子どもの頃との関連を分析した結果、キャンプ、理科実験・観察、自宅・田畠といった、子どもの頃の自然体験や自然への興味・関心と強く関係していることが明らかとなった。一方で、家庭季節行事、もったいないと言われた経験、といった子どもの頃の家族交流・家庭教育とも強く関係していることが示唆された。

環境配慮行動や環境活動の関連要因を分析した従来の研究^{2,3)}においても、本研究と同様の結果が指摘されている。例えば、依藤ら²⁾は、子どもの環境配慮行動には、親の環境配慮行動の影響が強いことを示している。また、降旗ら³⁾は、欧米の環境教育研究で注目されている Significant Life Experiences (SLE) の概念を導入して、ワークショップ調査およびインタビュー調査を行っている。その結果、環境的行動を実践する人々は、その人格形成過程における特定の体験 (SLE) の

影響を受けており、その多くは、野外で家族や少人数の友人と過ごすこと、学校や団体での自然体験活動など、いずれも自然体験に関係するものであったことが報告されている。

依藤らが、子どもと親を同時に調査する方法を採ったのに対し、本研究では、自分自身の子どもの頃を振り返りながら回答する方法を探っている。また、降旗らが、主として質的な調査を行っているのに対し、本研究では、質問紙調査の結果に基づき、量的な分析を行っている。このように、従来の研究とは異なる方法で研究を行った結果からも、子どもの頃の「家庭教育」と「自然体験」が、環境配慮行動や社会活動の実践に影響を及ぼしていることが強く示唆された。

謝 辞

本研究は、財団法人八雲環境科学振興財団の平成19年度環境研究助成により実施できたものである。ここに記して、深く感謝の意を表す。

また、本調査は、岡山大学の青山勲先生、土生真弘先生、廣田陽子先生、くらしき作陽大学の諸岡浩子先生と共同で行ったものである。

参考文献

- 1) NPO 法人 持続可能な開発のための 10 年推進会議編：わかる！ESD テキストブック シリーズ 1 基本編 未来をつくる『人』を育てよう (2006.12)
- 2) 依藤佳世, 広瀬幸雄: 子どものごみ減量行動を規定する要因について, 環境教育, 12(1), 26–36 (2002).
- 3) 降旗信一, 石坂孝喜, 畑山芽生, 櫻本真美代, 伊東静一: Significant Life Experiences (SLE) 調査の可能性と課題, 環境教育, 15(2), 2–13, (2006).

岡山県西部石灰岩地域（阿哲地域）に特産する絶滅危惧種 ナガバヤクシソウ (*Paraixeris yoshinoi* (Makino) Nakai) の 分布と保全に関する研究

岡山理科大学大学院総合情報研究科 山本 伸子

1. はじめに

岡山県西部と広島県東部の石灰岩地域（阿哲地域）には、その地域に固有な種や分布が限られている種、または隔離分布している種など、特徴的な植物が多く知られている。例えば、キビノクロウメモドキ、ヤマトレンギョウ、キビヒトリシズカ、ナガバヤクシソウ、ビッチュウヒカゲスゲなどである。これらの種は、阿哲地域とその周辺地域に分布が限られているものや、隔離分布しているものなどがある。そのため、この地域は植物地理学上「阿哲地域」という独立した植物区系として扱われることがある（前川 1977）。

ナガバヤクシソウ (*Paraixeris yoshinoi* (Makino) Nakai) は、阿哲地域に特産するキク科の多年草である（図1）。ナガバヤクシソウは、環境庁の「改訂・日本の絶滅のおそれのある野生生物レッドデータブック」（2000）では、生育地が限られており、個体数が少なく、道路工事などの大きな土地の改変により絶滅のおそれがあるとして「絶滅危惧 IB類」に指定されている。また、「岡山県版レッドデータブック」（2003）では、「留意種」に指定されている。ナガバヤクシソウは、生育地は阿哲地域に限られ、生育地が破壊されれば、種として永久に絶滅する可能性があるため、早急な保護・保全対策をとる必要があると考えられる。

植物の保護・保全をおこなう際には、個々の植物の生育地、分布、あるいは生活史を明らかにすることが必要である。また、近縁種との類縁関係を明らかにすることは、遺伝子資源の観点からも重要であると考えられる。そこで、今回の研究は、絶滅危惧種ナガバヤクシソウの生育地と分布を明らかにするとともに、近縁種間の系統学的解析をおこなうことを目的とした。

2. 調査地

調査対象地域は、岡山県高梁市成羽町にある、「夫婦岩」周辺約 1.2 km²（北緯 34° 47'12"–34° 47'51"、東経 133° 26'40"–133° 27'19"）の地域である。調査地は吉備高原面の西部に位置し、調査地域内を高梁川の支流の成羽川と、成羽川の支流の詣足川が流れている。標高は、最も低い位置で約 100 m、最も高い位置で約 430 m である。地質は石灰質岩が大部分を占め、露頭も多く見られる。

気候は、調査地に最も近い高梁市で年間平均気温 14.0°C、年間降水量は 1223.9 mm である（気象庁 2003）。降水量が最も多いのは 6 月で、冬に雨が少ないとから、瀬戸内気候に近いと考えられる。

3. 調査方法

(1) 分布と地形、地質・土壤との関係

調査地域を踏査し、ナガバヤクシソウの分布調査をおこなった。分布地点を GPS (全地球測位システム)を用いて緯度経度を記録した。また、分布地点における斜面方位、傾斜角度、露岩率等も同時に記録した。

地質に関しては、5 万分の 1 地質図「井原・油木」（岡山県 1985）をもとに、土壤に関しては、5 万分の 1 土壤図「井原・油木」（岡山県 1985）をもとに調査地の地質図、土壤図を作成し、ナガ

バヤクシソウの分布との関連を調べた。

なお、地形図の作成には STRIPE 法 (Noumi 2003) を用い、10 m メッシュ DEM を作成し利用した。

(2) ナガバヤクシソウとヤクシソウとの雑種形成

調査を進める過程で、ナガバヤクシソウとヤクシソウとの推定雑種が見出された（アテツヤクシソウと仮称）。アテツヤクシソウが実際にナガバヤクシソウとヤクシソウの雑種であるのか確認するため、アテツヤクシソウおよび推定両親種について、外部形態、体細胞中期染色体、減数分裂過程、花粉稔性、核 DNA の塩基配列を比較した。

a. 外部形態の比較

葉の基部の形、葉裏の色、小花の数、花冠の長さ、瘦果の長さを比較した。

b. 体細胞分裂中期染色体の比較

根端を 2mM 8-オキシキノリンで常温で 1 時間、4 °C で 15 時間、前処理をおこない、ニューカマー固定液で固定した。その後、1 規定塩酸に常温で 1 時間、60 °C で 10 分、常温で 30 分、解離をおこない、2 % 乳酸プロピオン酸オルセインで染色し、押しつぶし後に検鏡・観察した。

c. 減数分裂過程と花粉稔性の比較

若いつぼみをニューカマー固定液で固定した。次に 1 規定塩酸に常温で 1 時間、60 °C で 10 分、常温で 30 分、解離をおこない、その後 2 % 乳酸プロピオン酸オルセインで染色し、押しつぶし後、検鏡・観察した。

また、花粉の稔性については、花の乾燥標本から花粉を取り出し、2 % 乳酸プロピオン酸オルセインで染色して花粉の染色性を調べた。

d. 核 DNA の塩基配列の比較

生葉 (0.1g) または乾燥葉 (0.02g) から全 DNA を抽出し、PCR 法を用いて核リボソーム遺伝子の遺伝子間領域 (ITS 領域) を增幅した。電気泳動により增幅を確認した後、精製した。その後、Dye-terminator cycle sequence 法を用いて塩基配列を決定し、比較した。

4. 結果と考察

(1) 分布と地質・土壤の関係

ナガバヤクシソウは、調査地域内 55 地点で見出された。地質と分布の関係からは、分布の 90 % は「石灰質岩」にあったが、一部は「砂質・泥質岩」にも分布がみられた（図 2）。また、土壤と分布との関係からは、ほとんどが「岩石地」に分布が見られた（図 3）。また、ほとんどは 50 度以上の急傾斜地に分布していた。

すなわち、ナガバヤクシソウは、岩がむき出しになった急傾斜地に特徴的に出現することが明らかになった。地質は石灰質岩がほとんどであるが、石灰質岩以外の場所にも生育していることから、ナガバヤクシソウは石灰岩と特異的に結びついているわけではなく、岩礫地が形成する急傾斜の露頭があれば、そこに生育することができ、石灰岩地ではそのような地形が形成されやすいためにナガバヤクシソウが生育しているのではないかと考えられる。寺尾 (1956a, b, c) や藤井 (1988) は、好石灰植物の多くは石灰岩の化学的要因は直接分布には関係していないと述べている。ナガバヤクシソウの場合も、石灰岩の化学的性質ではなく、主に石灰岩が作り出した地形に分布が規定されているものと考えられる。

(2) ナガバヤクシソウとヤクシソウの雑種形成

a. 外部形態の比較。

ナガバヤクシソウは、葉の基部は茎を抱かず、葉柄がある。鋸歯はないかめだたない。葉裏は白緑色。1頭花あたりの小花の数は5個、花冠の長さは9.0–9.3 mm、瘦果の長さは4.5–5.0 mmであった。一方、ヤクシソウは、葉の基部は茎を抱き、歯牙状の鋸歯がある。葉裏は黄緑色。1頭花あたりの小花の数は11–13個、花冠の長さは7.8–8.3 mm、瘦果の長さは3.2–3.8 mmであった。推定雑種（アテツヤクシソウ）は、葉の基部は少し茎を抱き、小さな鋸歯がまばらにある。葉裏は白緑色。1頭花あたりの小花数は、6–8個、花冠の長さは8.5–9.0 mm、瘦果の長さは3.8–4.3 mmであった。このことからアテツヤクシソウは、葉の基部の形、1頭花あたりの小花数、花冠の長さ、瘦果の長さでナガバヤクシソウとヤクシソウの中間型を示した（図4–7、表1）。

b. 体細胞分裂中期染色体の比較

体細胞分裂中期染色体を観察した結果、ナガバヤクシソウ、ヤクシソウ、アテツヤクシソウとともに $2n=10$ であった。核型を比較すると、ナガバヤクシソウは5対の染色体のうち、1対の大型染色体に付随体があり、最小の染色体対は次中部型であった。これに対し、ヤクシソウは5対の染色体のうち、1対の小型染色体に付随体があり、最小の染色体対は端部型であった。またアテツヤクシソウは、付随体をもつ染色体は、大型と小型であり最小の染色体対は次中部型と端部型であった。このように、アテツヤクシソウはナガバヤクシソウとヤクシソウをあわせ持った核型を示した（図8）。

c. 減数分裂と花粉稔性の比較

減数分裂過程を観察したところ、ナガバヤクシソウ、ヤクシソウでは減数分裂はほぼ100%正常に進んでいた。アテツヤクシソウについても、高い割合で正常な減数分裂が確認されたが、一部に減数分裂の異常がみられた（図9、表2）。また、花粉稔性はナガバヤクシソウ、ヤクシソウはほぼ100%が染色液に濃染され、稔性があると考えられる花粉をつくっていたのに対し、アテツヤクシソウは花粉の稔性は約26%と低かった（図10、表3）。つまり、アテツヤクシソウの減数分裂過程はほぼ正常に進むものの、花粉形成過程で何らかの異常が起きているのではないかと考えられた。

d. 核DNAの塩基配列の比較

核リボソーム遺伝子の遺伝子間領域（ITS領域）を比較した結果、ナガバヤクシソウとヤクシソウの間では14塩基の違いがみられた。アテツヤクシソウはナガバヤクシソウとヤクシソウで違いがみられた14塩基うち、挿入・欠失を除いた12塩基について、中間的な状態を示す波形がみられた（表4）。

以上の結果から、アテツヤクシソウはナガバヤクシソウとヤクシソウの雑種であると考えられた。これまでナガバヤクシソウとヤクシソウの雑種は知られておらず、これが最初の報告となる。ヤクシソウは北海道から九州、朝鮮、中国、ベトナムと広く分布するのに対し、ナガバヤクシソウは岡山県と広島県の限られた場所にだけ生育している。両者が雑種を形成することは、両者の遺伝的近縁性を示しており、ナガバヤクシソウが、祖先種から分化する際に、阿哲地域で特殊な種分化を起こしたものと考えられる。また、近年の研究から、ナガバヤクシソウは、ワダンやアゼトウナと同じアゼトウナ属（*Crepidiastrum*）に分類される（Pak & Kawano 1992）。アゼトウナ属に属す種は、多くが海岸に生育する植物であり、内陸に生育するナガバヤクシソウがどのように分化を起こしてきたのかは興味深い。

ナガバヤクシソウは、阿哲地域に分布が限られる。その生態や分類・系統についても興味深い種であり、今後多くの新しい知見をもたらしてくれると考えられる。現在、ナガバヤクシソウは阿哲地域の多くの場所で生育が認められる。ナガバヤクシソウが生育するような急傾斜の露岩地が残される限り、絶滅のおそれはないであろうが、採石や開発によりそのような場所がなくなればナガバヤクシソウも消えていくと考えられる。今後は適切な保護・保全対策が望まれる。

5. 謝辞

本研究を行うに当たり、東京大学総合研究博物館の池田博先生、(株)AURA エンジニアリングの萬野日出人さん、北里大学非常勤講師の矢野興一さんのご協力をいただきました。また、岡山理科大学総合情報学部生物地球システム学科の星野卓二先生、能美洋介先生には数々のご助言をいただきました。本研究は、財団法人環境科学振興財団の助成を得ておこないました。ここに記して謝意を表します。

6. 参考文献

- 藤井茂美 1988. 帝釈峡のイチョウシダの生育地の植生と石灰植物の分布. 帝釈峡の自然. 帝釈峡総合学術調査報告, pp. 127–135. 「帝釈峡の自然」刊行会, 広島.
- 気象庁 2003. 電子閲覧室. URL: <http://www.data.kishou.go.jp/>
- 前川文夫 1977. 日本の植物区系, 178 pp. 玉川大学出版, 東京.
- Pak, J.-H. and Kawano, S. 1992. Biosystematic studies on the genus *Ixeris* and its allied genera (Compositae-Lactucae) IV. Taxonomic treatments and nomenclature. Mem. Fac. Sci. Kyoto Univ. (Ser. Biol.) 15: 29–61.
- 寺尾茂美 1956a. 石灰植物分布についての考察（第一報）－pH 並びに石灰水との関係－. 広島大学教育学部紀要第2部 4: 51–61.
- 寺尾茂美 1956b. 石灰植物分布についての考察（第二報）－pH, 炭酸石灰並びに置換性塩基との関係－. 広島大学教育学部紀要第2部 4: 63–73.
- 寺尾茂美 1956c. 石灰植物分布についての考察（第三報）－pH 炭酸石灰, Ca, Mg 及び置換性石灰の効果－. 広島大学教育学部紀要第2部 4: 75–82.



図1. a: ナガバヤクシソウの生育地. b: ナガバヤクシソウ.

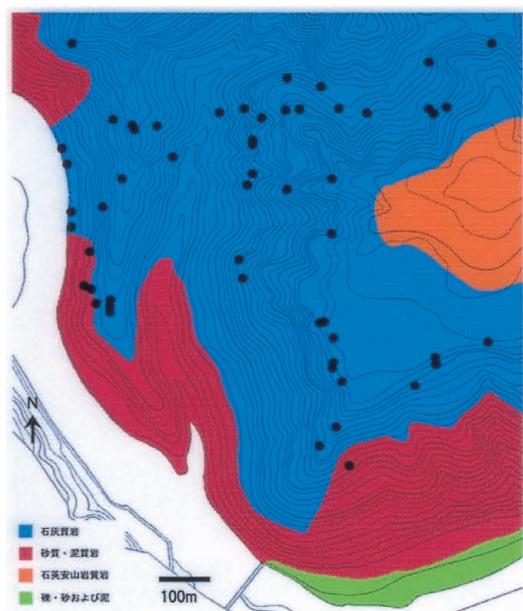


図2. 地質と分布の関係.

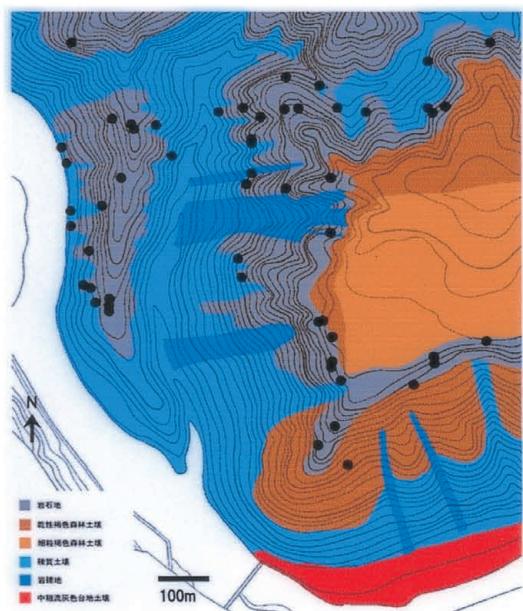


図3. 土壤と分布の関係.

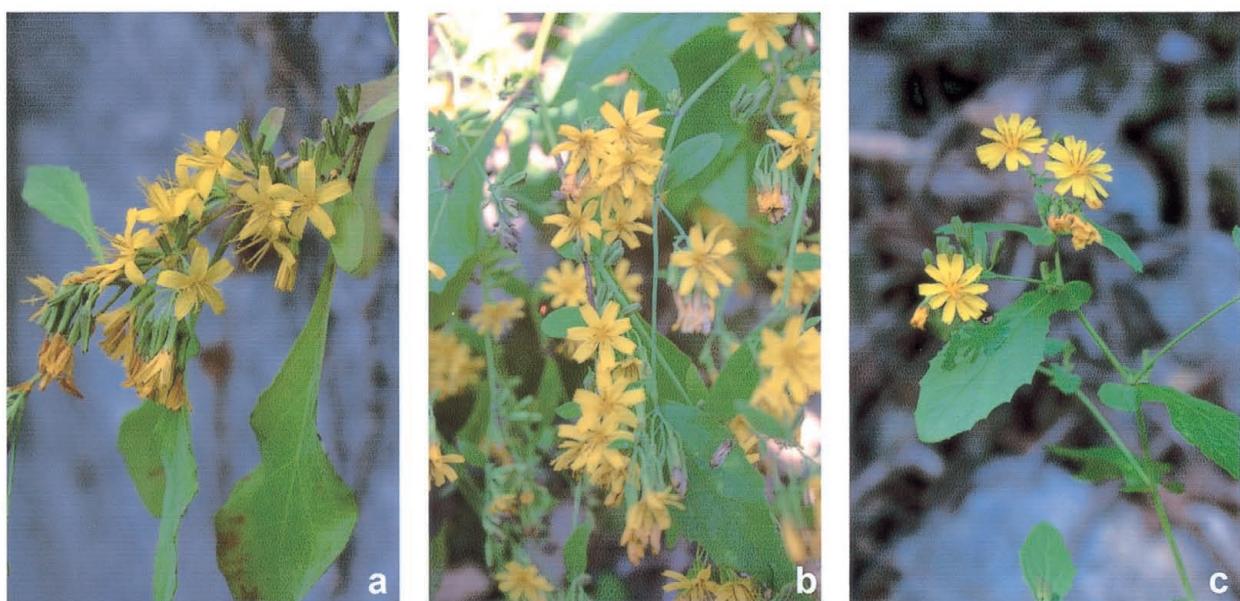


図4. a: ナガバヤクシソウ. b: アテツヤクシソウ. c: ヤクシソウ.

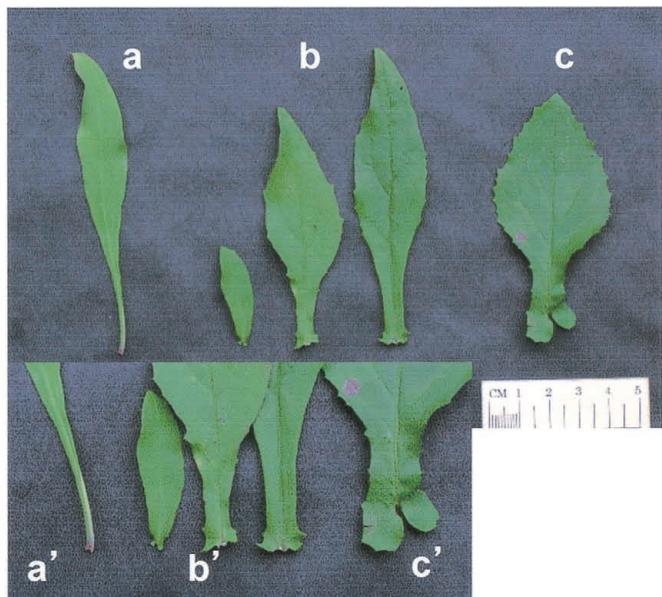


図5. 葉. a: ナガバヤクシソウ. b: アテツヤクシソウ. c: ヤクシソウ. a': ナガバヤクシソウの葉の基部. b': アテツヤクシソウの葉の基部. c': ヤクシソウの葉の基部.

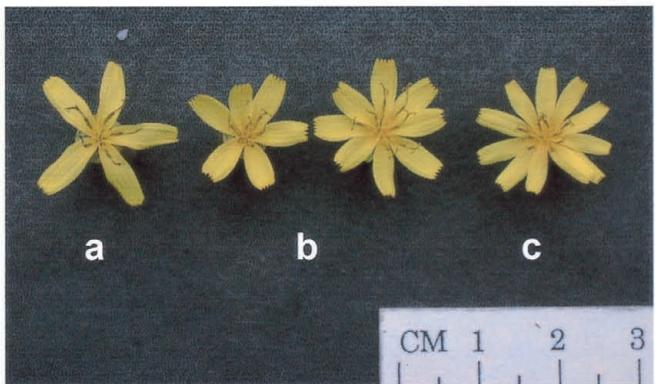


図6. 小花. a: ナガバヤクシソウ. b: アテツヤクシソウ. c: ヤクシソウ.



図7. 瘦果. a: ナガバヤクシソウ. b: アテツヤクシソウ. c: ヤクシソウ.

表1. ナガバヤクシソウ, ヤクシソウおよびアテツヤクシソウの外部形態の比較

	ナガバヤクシソウ	アテツヤクシソウ	ヤクシソウ
葉の基部	葉は茎を抱かず、葉柄がある。鋸歯はないかめだたない	葉は少し茎を抱き、小さな鋸歯がまばらにある	葉は茎を抱き、歯牙状の鋸歯がある
葉裏の色	白緑色	白緑色	黄緑色
1頭花あたりの小花数	5	6–8	11–13
花冠長(mm)	9.14 ± 0.13	8.67 ± 0.17	8.06 ± 0.16
瘦果長(mm)	4.67 ± 0.14	4.05 ± 0.19	3.52 ± 0.23

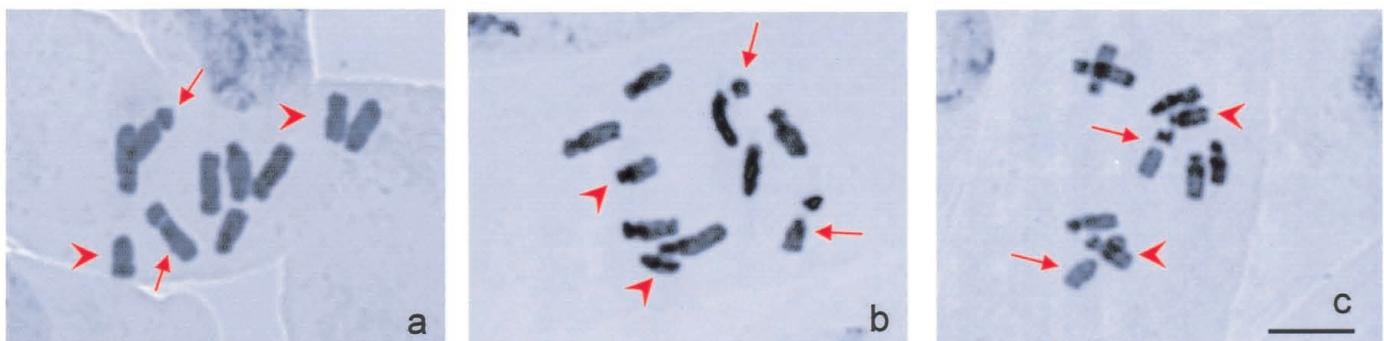


図8. 体細胞分裂中期染色体像. a: ナガバヤクシソウ. b: アテツヤクシソウ. c: ヤクシソウ. スケールは $5 \mu\text{m}$. 長い矢印は付随体を持つ染色体を示す. 短い矢印は最小の染色体を示す.

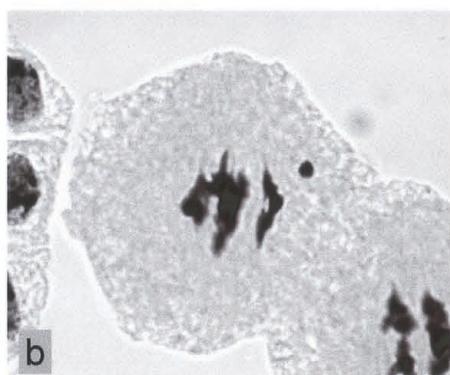
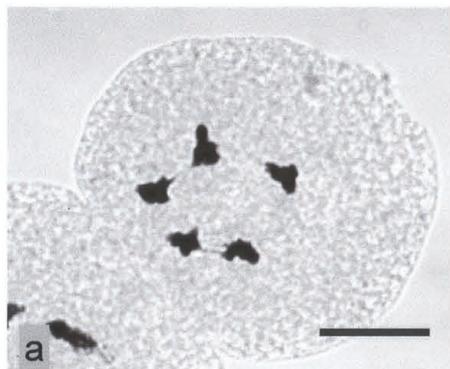


図9. アテツヤクシソウの減数分裂第一分裂中期染色体像. a: $2n=10=5\text{II}$. b: $2n=10=4\text{II}+2\text{I}$. スケールは $10\mu\text{m}$.

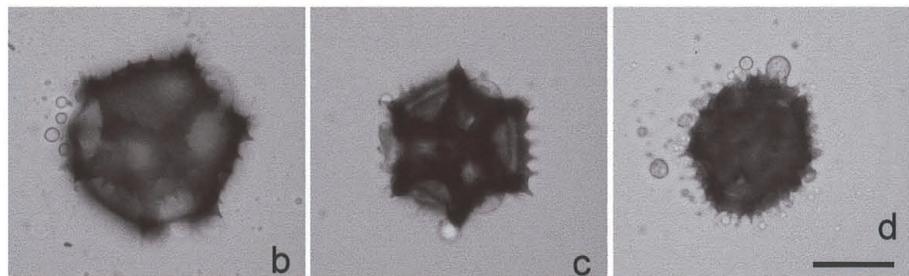
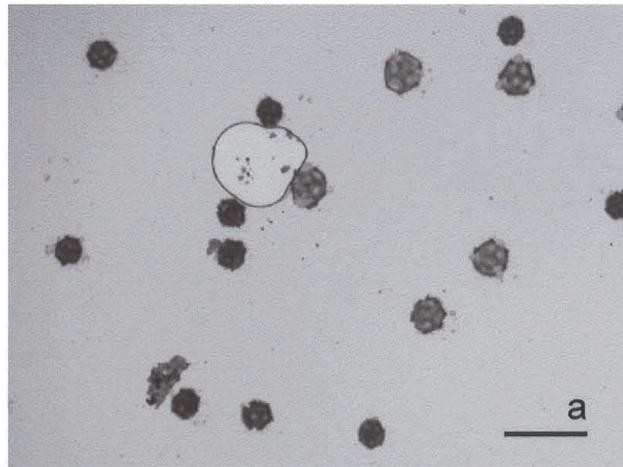


図10. アテツヤクシソウの花粉. a: 花粉粒. b, c, d: 異常花粉. スケールは $100\mu\text{m}$ (a), $20\mu\text{m}$ (b-d).

表2. 減数分裂の対合分析

	5 II	4 II + 2 I	正常な分裂の割合
ナガバヤクシソウ	129	0	100%
アテツヤクシソウ	181	4	97.8%
ヤクシソウ	193	0	100%

表3. 花粉の染色性

	正常花粉	異常花粉	正常花粉の割合
ナガバヤクシソウ	990	5	99.5%
アテツヤクシソウ	220	614	26.4%
ヤクシソウ	1000	3	99.7%

表4. 核リボソームITS領域で見られた変異. K = G or T, M = A or C, R = A or G, Y = C or T

種名	ITS1-5.8S-ITS2 (Locus site; bp)														
	22	26	46	99	103	114	124	216	219	430	440	452	484	512	
ナガバヤクシソウ (広島)	A	T	C	A	G	G	T	C	G	-	A	C	C	C	C
ナガバヤクシソウ (岡山; 夫婦岩-7)	A	T	C	A	G	G	T	C	G	-	A	C	C	C	C
ナガバヤクシソウ (岡山; 夫婦岩-10)	A	T	C	A	G	G	T	C	G	-	A	C	T	C	C
ナガバヤクシソウ (岡山; 用瀬-13)	A	T	C	A	G	G	T	C	G	-	A	C	T	C	C
ナガバヤクシソウ (岡山; 用瀬-14)	A	T	C	A	G	G	T	C	G	-	A	C	T	C	C
アテツヤクシソウ (岡山; 夫婦岩-6)	R	Y	Y	R	R	K	Y	Y	N	N	M	C	Y	S	
アテツヤクシソウ (岡山; 用瀬-4)	R	Y	Y	R	R	K	Y	Y	N	N	M	Y	C	S	
ヤクシソウ (岡山; 用瀬-1)	G	C	T	G	A	T	C	T	-	C	C	C	C	G	
ヤクシソウ (岡山; 用瀬-15)	G	C	T	G	A	T	C	T	-	C	C	C	C	G	
ヤクシソウ (岡山; 笠井山-8)	G	C	T	G	A	T	C	T	-	C	C	C	C	G	
ヤクシソウ (AY876265-275)	G	T	T	G	A	T	C	T	-	C	C	C	C	G	

国際的災害救援・人道支援活動における人工衛星画像の活用法の研究

岡山大学大学院環境学研究科国際保健学分野 鹿嶋小緒里
岡山大学大学院環境学研究科国際保健学分野 山本 秀樹
東亜大学医療工学部 中田 敬司
長崎大学熱帯医学研究所環境医学部門社会環境分野 後藤 健介

1. 背景

近年、大規模地震、津波災害、大雨による洪水など、大規模災害が世界の各地で発生し、多くの人命を奪っている。その発生件数は、増加傾向にあり、2006年の防災白書によると、ベルギーのルーベン・カトリック大学疫学研究所（CRED）の自然災害に関する統計データ（<http://www.emdat.net/>）を用いた分析によると、全世界で毎年約1億6千万人が被災し、約10万人の人命が奪われ、約330億ドル以上の被害額が発生している（1970年～2004年の年平均値）。また、それら災害は多くがアジア諸国で発生しており、1975年から2005年までに発生した災害による死者数の50%以上が、アジアで発生した災害の被害によるものである。これら災害は、国の開発を妨げ、そして貧困の大きな要因になっている。そのため、国連ミレニアム開発目標においても、災害に対する取り組みは重要課題とされており、各国が協力をして、国際的な支援体制つくりが重要であるとともに、急務である。そのような中、ヨーロッパ諸国では、European Space Agency (ESA)をはじめ、多くの機関が連携し、さまざまな防災に対する衛星画像の利用化検討を試みている。またそれら活動は、ヨーロッパの枠組みを超えて、国際的な活動へと広がり、ヨーロッパ及びカナダの主導で国際災害チャーター（International Charter Space and Major Disaster）を提唱し、災害から生じる危機の軽減等のために現在活動を行っている。また、その災害チャーターにより衛星画像を入手し、解析を行う機関として、国連衛星プロジェクト(UNOSAT)があり、スマトラ沖地震災害や、パキスタン地震災害を始め、大規模災害発生時に、多くの衛星画像を提供している。そして、2006年12月に発生したフィリピン土砂崩れ災害においては、災害チャーター経由で提供された、JAXAのALOS画像の解析を行い、土砂災害被害推定エリアとともに、ALOS画像が、イ

ンターネット上に公開されている（図1）。

このように、大規模災害時に多くの衛星が提供され、迅速に衛星画像を提供するシステムがすでに構築されている。しかしその一方で、実際の災害現場で、これら衛星画像が、どのように緊急救援援助隊が活用しているかの具体的評価がまだ行われておらず、衛星画像の提供の現場において、その具体的利用についての報告が必要であることが、われわれの調査でわかった。衛星画像が迅速に提供できるシステムが構築されつつある現在において、それら提供された情報の評価を行う必要がある。また、同時に中解像度衛星が、どのように災害時において利用できるかの検討もまた重要である。

そこで、中解像度衛星画像がどのように、災害時における緊急救援活動で利用できるかの検証を、利用者側から行うべく、日本の国際緊急援助隊（JDR:Japan Disaster Relief Team）医療チーム従事者とともに、災害時に提供される衛星画像の具体的利用と課題について検証を行った。

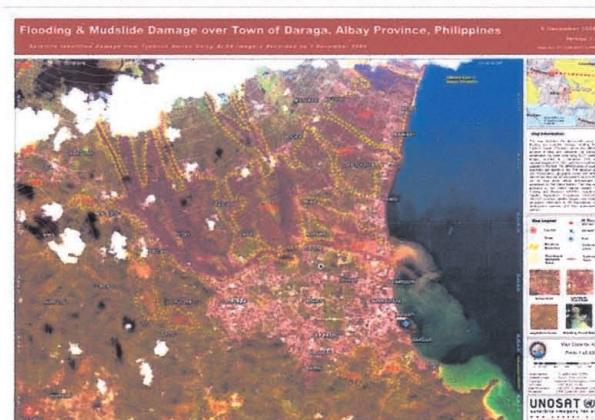


図1. UNOSAT が提供したフィリピン土砂災害のALOS 画像

2. 目的

本研究の目的は、利用者、提供者、そして解析者の 3 点からみた、中解像度衛星画像の災害現場における効果的な利用方法と課題についてまとめることであり、今後の援助活動において、有効に衛星画像が利用できるように、その利用方法や、有用性の情報を、援助隊参加メンバーと共有し、衛星画像の利用促進をはかる。ここでは、2007 年に発生した大規模災害において、衛星画像の利用現状調査と、具体的に被害評価を試みることであり、それら利用状況をふまえ、ALOS の利用効果について、さらに災害被害評価について解析を進め、その具体的利用について、JDR をはじめとする国際緊急救援従事者にフィードバックを行う。そして衛星画像提供者である UNOSAT へも、日本の緊急救援時における ALOS の利用についてその情報を提供する。

3. 研究実施内容

衛星画像の、緊急救援時における利用調査を行うべく、緊急救援活動従事者に対してアンケート調査を行った。また国連機関における、利用現状を調べるために、パキスタン洪水緊急救援活動現場における、衛星画像の利用について調査を行った。そして、同洪水地域において、ALOS 画像より、洪水被害評価を行った。詳細は以下の通りである。

3.1. 研究 1：災害時の衛星画像の利用の現状把握のためのアンケート調査

実際の、緊急救援時において、衛星画像がどのように利用され、またどれくらい用いられているかを調べるため、国際緊急救援医療チームの登録者に対して、衛星画像の利用についてのアンケート調査を実施した。

3.1.1 方法

2007 年 7 月 21 日、22 日に行われた、JICA 国際緊急援助隊（JDR）医療チーム中級研修会場（JICA 横浜）に、参加した講師と受講生にアンケート用紙を配布し、回収。また、同研修参加の講師、受講生の中で特に、JDR の調整員に対して、衛星画像の利用についてヒアリング調査を行った。

3.1.2 調査結果

アンケートは 52 枚を配布し、44 枚回収（回収率 84.6%）。内訳は男性:30 名、女性:14 名、各専門は医師 9 名、看護師:14 名、救命士:4 名、薬剤師:3 名、調整員:12 名、その他:2 名、年代は 40 代が 26 人（59%）と最も多かった。回答者 44 人中、救援活動参加経験者 36 名であり、その中で緊急救援活動における衛星画像の利用経験があると回答した人は 9 名（25%）であった。

具体的な利用方法は、“地図としての利用”が多い回答であった（図 2(a)）。“その他”と回答した中には、災害現場での利用ではなく、報告書作成時においての利用という回答であった。本調査において、衛星画像を具体的に利用した人は、全体の中で 9 名であったが、“衛星画像を今後利用したいですか？”という質問に対しては、全回答中の 42 名（95%）が利用したいと回答しており、おもに、災害状況の把握を行うための利用の希望が最も多かった（図 2(b)）。その他の意見としては、継続変化の確認、交通手段の選定（緊急避難ルートの確認）や、GIS ソフトと連携し、災害情報を随時アップデートを行い、伝染病の発生状況の把握での利用などがあげられていた。また、衛星画像を入手したい時間は、2 時間以内という意見が多く、最大では 48 時間、平均は 8 時間以内という回答であった（図 3）。

そのほか、ヒアリング調査においては、衛星画像のみではなく、他機関の救援場所の位置や、人口などの属性情報が重要であることや、現時点においては被災状況の把握もできればよいが、それ以上に、平時の道路情報の把握を行いたいことなどの意見があった。



図 2(a). “衛星画像をどのように利用しましたか？”の回答結果（複数選択可能）



図 2(b). “衛星画像が利用できるなら、どのように利用したいか？”の回答結果（複数選択可能）

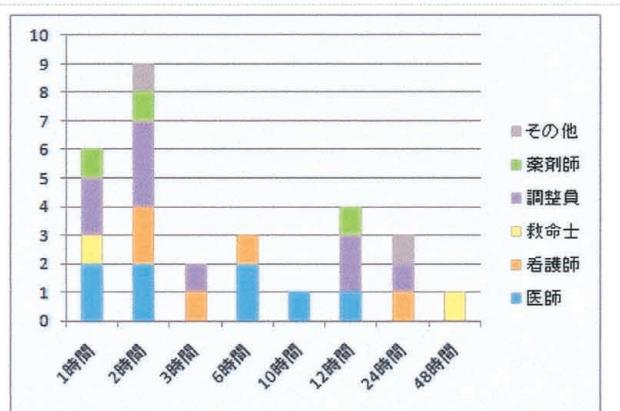


図3. “何時間以内に衛星画像が必要か？”の専門化別回答結果

3.1.3 考察

国際緊急救援医療チームメンバーで、衛星画像が具体的に、どのように利用でき、また何時間で入手できるかについて把握している人の割合は少ない。現状の衛星画像利用は、地図としての利用が多く、被災状況の把握を行い、緊急救援活動医療活動のサイト選定において、災害状況の把握を行うという利用は国際緊急救援医療の現場ではまだされていない。現在における衛星画像の入手可能時間を考慮したうえで、具体的活動において利用できるかを今後、さらに検討を行う必要がある。また、衛星画像の具体的解析結果を踏まえ、それら利用方法を、緊急救援活動医療チームメンバーに紹介を行い、様々な災害現場における情報との統合管理の必要性を伝えると共に、利用研修を行う必要性があると考える。

3.2 研究2：災害現場における衛星画像の利用

2007年6月末から7月初めにかけて、パキスタン南部を巨大なサイクロンが襲い、甚大な被害をもたらした。死者420人、行方不明者109人が報告され、250万人を超える人々が被害を受けた(Data Source : National Disaster Management Authority -Situation Update No.17 and OCHA Situation Report No. 20)。

パキスタン国内には、様々な国際・ローカル機関により、300人を超える人々が、パキスタン入りし、復興支援活動が展開された。その中において、都市化や居住に関する問題に取り組む国連機関である国際連合人間居住計画(UN-HABITAT) パキスタンは、パキスタン政府と協力し、洪水地域における復興支援活動のための地理情報システム

(GIS) データベース構築を取り組んでいた。この活動は、他の国連機関と連携し、人間居住を中心に、さまざまなデータを統合し、それら情報を関係者と共有することにより、復興支援のための援助を行うものである。

現在、パキスタン国内は、国連が取り組む UN Reform と、パキスタン政府が5年計画で取り組もうとしている、「National Disaster Risk Management Framework」の2つの大きな災害に対する取り組みがあり、その中で、UN-HABITAT は、災害時の情報収集と配布管理システムに取り組んでいる。

これら現場において、衛星画像の実際の利用を把握するため、パキスタンにおいて、実際の災害復興支援活動における衛星画像の利用状況把握調査を行った。

3.2.1 方法

国連人間居住計画(UN-HABITAT)パキスタン事務所 (Islamabad, Pakistan) が取り組む、復興支援活動の過程において、現地事務所で、洪水被災情報と、復興活動における衛星画像の利用現状を収集する。集めた被災情報より、調査対象地域を選定(図4.)。

今回の対象地域は、人口、被害報告数が多い Balochistan と Sindh 州の境界に位置する県を選択。

洪水発生前後の衛星画像を比較するため、宇宙航空研究開発機構 (JAXA)より ALOS 衛星データを入手。ALOS は3つのセンサーがあり、Passive センサーの AVNIR-2 (高性能可視近赤外放射計 2型、分解能 10m) と、Active センサーである PARSAR (フェーズドアレイ方式 L バンド合成開口レーダー、分解能約 12m) を用いて洪水被害評価を行う。まず AVNIR-2 画像より水域エリアの抽出を行い、発災後 2カ月経過した地域における洪水状況を確認。次に、サイクロンが直撃直後の、2007年6月26日の PALSAR 画像上で洪水発生状況を確認。AVNIR-2 より抽出した水域エリアにおいて、PALSAR 画像の水域の判別状況と、そのほか道路の判別について検討を行い、緊急救援時の利用について検討を行う。AVNIR-2 センサー画像(分解能 10m)より、災害発生前後の画像を比較。また同画像より水域エリアの抽出を試み、緊急救援時における利用について検討を行う。

また、UNOSAT が、災害チャーターより入手した衛星画像(Terra/Aqua MODIS)より推定した7月3、4日、8日、と20日の洪水被災エリアの GIS データを入手し、洪水被災状況を、ALOS 画像を用いて評価した。

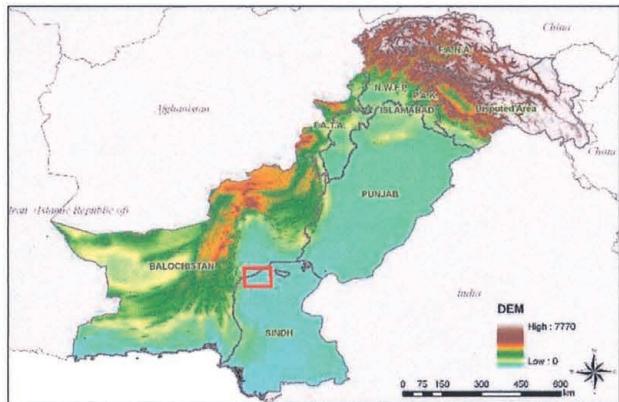


図 4. パキスタン国土。四角に囲まれたエリアが対象地域

3.2.2 結果

1) 衛星画像の利用の現状

パキスタン洪水発生後、災害チャーター経由で、パキスタン洪水地域における、ALOS PALSAR 画像が UNOSAT より主題図として配布された(図 5)。また、同衛星画像は、アジア防災センターのセンチネルアジアプロジェクトよりも、配布された。UN-HABITAT パキスタン事務所においても、UNOSAT から提供された、衛星画像は印刷され、ボードに張られていた(図 6)。しかしながら、これら画像が、災害情報のための、データベース構築の中には、アーカイビングデータとしては、蓄積されてはいない。あくまで、これら提供された画像は、主題図として利用し、洪水現場の状況を把握するために用いられており、具体的に、洪水エリアの抽出などは、災害現場であるパキスタン国内においての解析は、国連機関においては行われてはおらず、UNOSAT から提供されるものを利用していた。

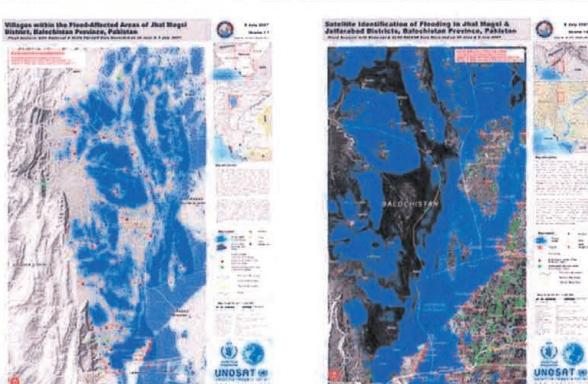


図 5. UNOSAT から提供された洪水被災地域の衛星画像。衛星は Radarsat-1 (05/07/2007); ALOS (26/06/2007); Envisat ASAR (25/04/1999)



図 6. UNHABITAT Pakistan オフィス内での衛星画像写真

今後の災害発生時にそなえて、UN-HABITAT パキスタンでは、災害現場の地理情報を把握するためにパキスタン全土における衛星画像のデータ構築作業が行われていた(図 7)。これは、災害発生直後に、その地域の地形を把握するためのものであり、今回のデータベースは、低解像度の LANDSAT 衛星を用いて行われた。

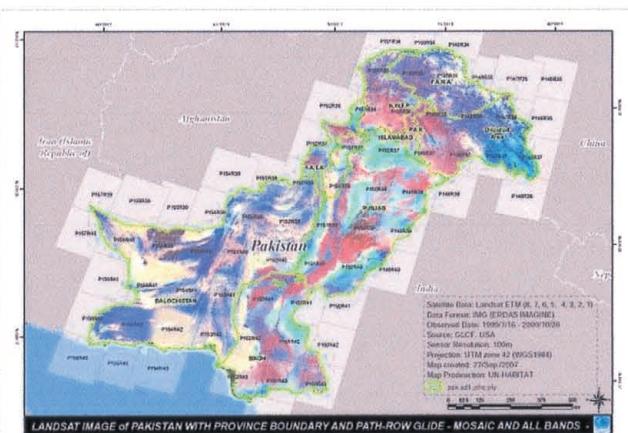


図 7. パキスタン全土の LANDSAT 衛星画像。

2) ALOS 画像解析

UN-HABITAT パキスタンで入手した情報をもとに選定した対象エリアである地域における AVINIR-2 画像は、サイクロン発生から、約 2か月が経過しているものしか入手することができなかったが、その画像であっても洪水による水の浸食を確認することができた。

図 8(b) の画像上は、フォルスカラー表示した ALOS の AVINIR-2 の画像であり、青く水が広がっているのを、図 8(a)と比較することにより確認することができる。また、UNOSAT が推定した、7月 20 日における洪水被災推定エリアの GIS データを重ね合わせることにより、7月 20 日時点から 9

月 3 日までに、どの地域の水が退いたかを、確認することができた。(図 8(b) 参照)。

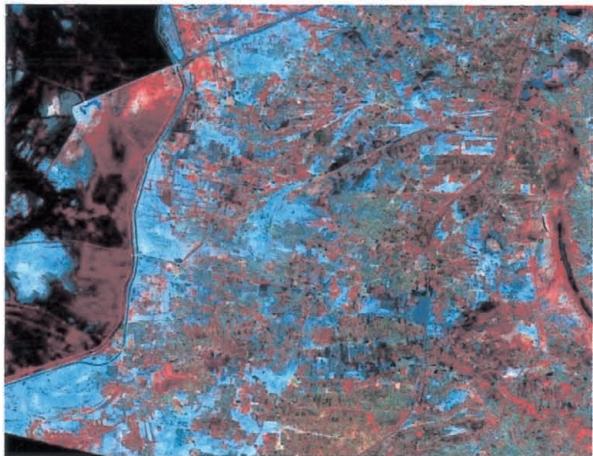


図 8(a)

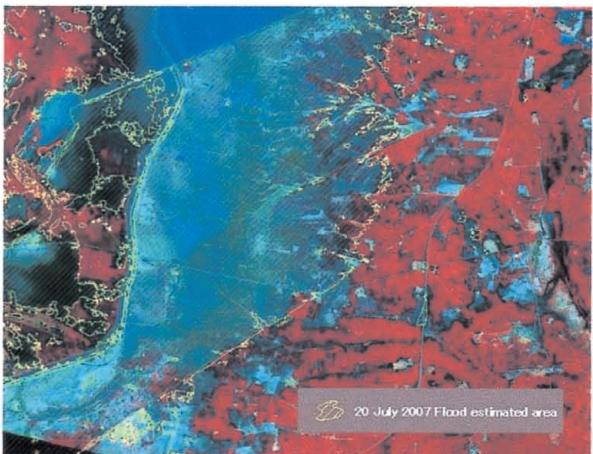


図 8(b)

図 8. 洪水被災エリアの AVINIR-2 画像。

フォルスカラー表示。(a)：洪水被害前 (2006 年 4 月 18 日)。(b)：サイクロン発生後(2007 年 9 月 3 日)。水域が青く判別可能。網掛けのエリアは MODIS 衛星から抽出された UNOSAT の洪水推定地域

また、図 9 は PARSAR 画像を時系列に並べたものである。PARSAR 画像では水域は反射の特性上、黒く映ることが確認でき、その分光特性をもつエリアを抽出し、さらにその水域に、AVINIR-2 から抽出した市街地を重ね合わせることにより、水没している市街地を PARSAR 画像上で確認すると、サイクロン発生、46 日後の時点で、水没した市街地を確認することができた。

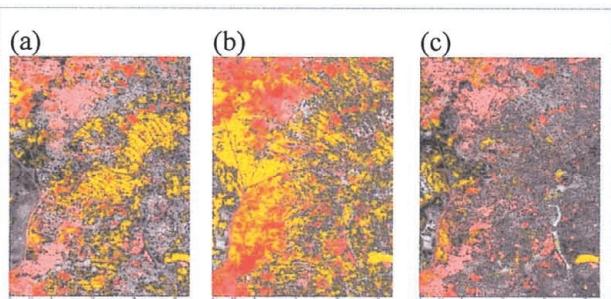


図 9. PARSAR 画像に抽出した市街地を重ね合わせた図。黄色いエリア: 水域。ピンクのエリア: 市街地で、赤いエリア: 水没したと考えられる市街地。(a):サイクロン直撃時 (2007 年 6 月 26 日)、(b):46 日後 (8 月 11 日)、(c):最新の画像 230 日後 (2 月 11 日)。

また、地図としての利用検証において、PARSAR 画像においては、サイクロンが直撃した 6 月 26 日の画像において、鮮明に道路などを識別することできた(図 9. 参照)。PARSAR は、サイクロン直撃後、すぐに提供されていたが、UN-HABITAT パキスタンをはじめ、パキスタン国内における国連機関の中においては、利用されてはいなかった。

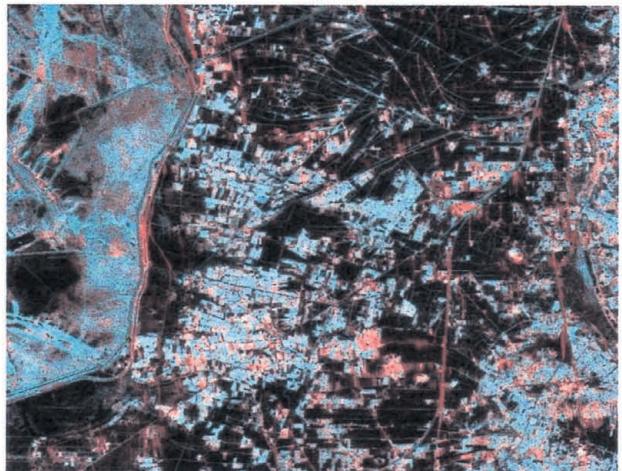


図 10. サイクロン直撃時 (2007 年 6 月 26 日) の PARSAR 画像。

3.2.3 考察

AVINIR-2 は、雲の影響を受けるため、洪水発生直後の洪水エリアの確認は、その時点での被災地の天候に左右される。また、洪水発生直後で、晴天の場合でも、その日に、衛星が被災地の上空を飛んでいるかに左右されるため、緊急時の初動での利用は、画像が入手できない可能性がある。

一方、天候という点においては、PARSAR 画像は、マイクロ波センサーを利用しているため、雲

の影響を受けず、6月26日の画像においても、道路などを確認することができ、地図としての利用の価値は高いと考える。

またパキスタン洪水においても、国際災害チャーターから、JAXAに観測要求があり、比較的早い段階で、PARSARの衛星画像は入手可能であり、アジア太平洋域の自然災害の監視を目的とした国際協力プロジェクトである「センチネル・アジア」でも提供された。このPARSAR画像の、地図としての利用検討を、今後、JDRをはじめとする緊急救援を行う機関と必要な情報が判別できるかなど検討を行う必要がある。

4.まとめ

まず、ALOSの解析においては、AVINIR-2、PARSARのそれぞれで、洪水被災エリアの抽出を行うことが可能であった。AVINIR-2は、雲の影響を受けるため、長雨が続く洪水エリアの撮影は、被災地の天候に大きく左右される。その一方、PARSARは、マイクロ波センサーを利用しているため雲の影響を受けない。本研究でサイクロン直撃時にも道路などを確認することができたことは、迅速な情報収集という側面において、非常に重要なである。PARSARは被害評価として利用ができるとともに、地図としても利用の価値があると考え、今後さらに緊急救援時の利用について検討が必要である。

次に、被災情報収集体制については、Pakistanの現場では、政府の組織である National Disaster Management Authorityから被害報告が定期的に出されていた。しかし、多くの情報は District 単位に集約されており、また情報の質は、地域によって異なっていた。現在、災害対策体制は政府主導で進みつつあるが、治安の問題で被災地入りできる人員が限定されるなど、政治的状況もあり、情報収集の困難さはまだ顕著であった。被災地の詳細な情報がなかなか収集できない現状であっても、救援物資などは迅速に届けなければならない。情報収集システムの構築が急がれる中、現在 UN-HABITAT Pakistanも、そのシステム作りに取り組んでいる。そして、それらシステムを補完するものとして、本研究でも明らかとなったような ALOS PARSARなどの衛星画像が、洪水エリア評価に利用できる。さらにはほかの空間情報を効果的に利用することで、災害被災情報の収集に役立つと考える。

今までの段階では、洪水被災地域において、AVINIR-2とPARSARの画像を表示したが、さら

に水域抽出など洪水地域における特性検証を行う必要があり、今後は、衛星画像と、実際の被災情報を考慮し、さらに ALOS の画像が緊急救援時に、どのように利用できるかの検討を行う。現在パキスタンで収集した被災情報を整理中であり、今後これら情報と ALOS 画像を重ね合わせ、さらに、被災地域における ALOS 画像の利用を検討していく予定である。

これまで、被災者キャンプの GPS ポイント、そしてそのキャンプ別の被災者数の情報、標高データ、水域エリアの作成などを行ったが、今後これら情報と ALOS 画像を GIS 上で重ね合わせ、緊急救援活動における ALOS 画像の利用について、さらに検討をかねる。また、それら検討した結果を、JDR メンバーと協議を行い、それら、具体的議論の結果を、UNOSAT へ提供し、災害チャーターから ALOS が提供された場合にどのように、利用できるかについて、提案を行っていく予定である。

謝辞：本研究を行うにあたり、被災地域の情報と数多くのご助言をいただきました、UN-HABITAT パキスタン事務所と UNOSAT、衛星画像のご提供をいただきました、JAXA「ALOS データ利用公募型研究」、GIS ソフトのご協力をいただきました、ESRI ジャパン株式会社「大学向け GIS 利用支援プログラム」に感謝申し上げます。最後に、本研究に多大なるご支援をいただきました、(財)八雲環境振興財団「環境研究助成」に深く感謝申し上げます。

学会発表等

- [1] 鹿嶋 小緒里、山本 秀樹、Einar Bijorgo：「国連衛星プログラム（UNOSAT）が取り組む大規模災害時における衛星画像の利用と今後の課題について -日本の国際協力活動参加の視点よりー」、第 25 回日本国際保健医療学会西日本地方会、名古屋, Japan, 2007 年 3 月 3 日。
- [2] 鹿嶋 小緒里、中田 敬司、山本 秀樹、後藤 健介、"国際的災害救援における人工衛星画像の利用現状について -第 22 回国際緊急援助隊参加者からのアンケート調査より-", 日本国際保健医療学会、大阪, Japan, 2007 年 10 月 6-8 日
- [3] 鹿嶋小緒里、山本秀樹、中田敬司、"パキスタン洪水における陸地観測技術衛星「だいち(ALOS)」利用の試み-緊急救援活動の視点より-", 平成 19 年度 長崎大学熱帯医学研究所 合同研究会「リモートセンシングおよび GIS を用いた社会環境要因に帰する感染症対策への適用研究」、長崎, Japan, 2008 年 2 月 21, 22 日
- [4] 鹿嶋小緒里、山本秀樹、中田敬司、"パキスタン洪水における陸地観測技術衛星「だいち(ALOS)」利用の試み-緊急救援活動の視点より-", 第 26 回日本国際保健医療学会西日本地方会、岡山, Japan, 2008 年 3 月 1 日

モンゴルにおける砂漠化防止緑化のための基礎的研究

岡山大学大学院環境学研究科 山田義裕

(1)はじめに

1) 背景

モンゴルではほとんどの地域が遊牧に利用されている。近年、遊牧家畜の飼育頭数が増加するとともに、遊牧民の都市近郊や幹線道路沿いへの集中が進んでいる(Neupert, 1999)。これは社会主義体制から市場経済への移行に伴い、遊牧生産物を遊牧民各自が換金するようになり、収入を上げるための増産と、生産物出荷の利便性を目指したためである。遊牧家畜の飼育頭数の増加、特定地域への集中は放牧圧を高めるため、過放牧が懸念されている。

過放牧など人間活動による砂漠化は、土壤侵食によって加速する。植被の減少が土壤の受食性を高め(Li et al., 2003)、土壤侵食が植物の定着を困難にする正のフィードバックが働くからである(Friedel et al., 2003)。そのため、土壤表面を固定する効果が高い灌木を植栽することが地域の砂漠化防止に有効と考えられている。

2) 対象植物

Caragana microphylla Lam. はマメ科の落葉灌木で、中国北部からシベリアにかけて分布し、モンゴル国では北部と東部のステップを中心に分布する。マンダルゴビ近郊は本種のモンゴル国内での分布の南限である(モンゴル国有用植物図鑑ワークグループ 2003)。花期は7月、結実期は8月である。

C. microphylla は飛砂を捕捉して砂を堆積させる作用が強く(Zhang, et al., 2005)、樹冠の周囲に砂とリターなどの有機物が堆積させてマウンドを形成する。また、根粒菌との共生による窒素固定作用により、マウンド内は有機物のほか窒素などの栄養分の含有量が多くなる(Su & Zhao, 2003)。

3) 研究の目的

C. microphylla は飛砂固定作用が強く周囲を肥沃にする効果もあるので、砂漠化防止目的の緑化に有望な樹種である。しかし、厳しい気象条件の下での緑化を成功させるには、定着を阻害する要因を特定し、それを取り除く処理が必要である。

一般に、樹木の定着を阻害する要因は、種子供給の不足、発芽に必要な条件の不足、実生の生存の阻害のいずれかである。また、飛砂固定のような機能を期待する緑化においては、単に定着するだけでなく、期待される機能を発揮できるサイズまで成長することが必要である。*C. microphylla* の定着がどのような要因で阻害されるか特定するには、まず、*C. microphylla* がどのような更新特性を持っているか明らかにしなければならない。

この研究では、乾燥地で植物にもっとも大きな影響を与える水分条件に注目し、発芽可

能な水分条件の特定と、成長に与える降雨の影響を調べた。

(2)調査地と方法

1) 調査地

調査はモンゴル国ドントゴビ県マンダルゴビ市近郊(45° 48' N, 106° 11' E)でおこなった。県の行政の中心地、交通の要衝であり、周辺地域では遊牧世帯の密度が高い。マンダルゴビ市付近はステップとゴビの境界付近に位置し、年平均気温は2°Cで年平均降水量は約150mmである。イネ科を中心とする草原が広がっているが、一部の地域では*C. microphylla*などの灌木が優占している。

調査地は、遊牧民が冬の間生活する冬営地の近くに選んだ。2003年に、冬営地から500m離れた地点に50m×100mの大きさの柵が作られた。

2)環境データ

気象データは、アメリカ合衆国気候データセンター(NCDC: National Climatic Data Center)がインターネットで提供している Global Summary of the Day (<http://cds.ncdc.noaa.gov/CDO/redirector>)を利用した。

3)発芽特性

2006年9月初めに、マンダルゴビ市近郊の*C. microphylla*の優占域で種子を採取した。*C. microphylla*の莢は熟すと乾燥し、すぐに裂開して種子を散布する。そのため、種子は樹上から、乾燥したさやを採取した。目視により虫の侵入痕があるものを除去した後実験室に持ち帰り、実験開始(2007年3月)まで冷蔵庫(5°C以下)で保存した。

実験はインキュベータ(エスペック株式会社 低温度培養器 LNC-121)内で行った。温度は20°Cに保ち、明期と暗期をそれぞれ12時間に設定した。直径90mmのプラスチックシャーレにろ紙を3枚敷き、発芽床とした。種子は0.5%の次亜塩素酸溶液に約1分間つけて表面を殺菌した後、各シャーレに20粒づつ置床した。次いで、蒸留水にポリエチレン glycole(PEG-6000)を添加して水分張力を調整した実験溶液を種子が半分くらいかかるまで注いだ。既往のPEG濃度と水分張力の関係式(Mitchel & Kaufmann, 1973)に基づき、実験溶液は0MPa(PEG添加なし)、-0.25MPa、-0.5MPa、-0.75MPa、-1MPaの5段階に調整した。蒸発や種子による水の吸収によってPEGの濃度が変化するのを防ぐため、2日に1回、溶液とろ紙を交換した。実験期間中は毎日観察し、発芽した種子数を記録した。

また、発芽実験によって明らかになった発芽可能な水ポテンシャルが現地でいつ生じるか明らかにするために、土壤の体積含水率を現地で測定した。成長特性の調査個体(後述)の近傍で、FDR(大起理化工業 シータプローブ ML-2)を用いて約二週間に一度、地表面(深さ0cm)と深さ5cmを行った。

4) 成長特性

C. microphylla の成長特性の調査には、柵内の 8 つのパッチを選んだ(表 1)。各パッチの樹冠の外縁から最先端の枝を 2 本づつ選び(表 2)、展葉前である 5 月 17 日から、当年枝の伸長と展葉が終わった後の 8 月 31 日まで、当年枝長と着葉数を記録した。

パッチ番号	樹冠幅		樹高
	北西—南東	北東—南西	
No.1	135	140	30
No.2	50	85	37
No.3	130	225	41
No.4	60	55	28
No.5	70	75	24
No.6	175	75	31
No.7	125	110	37
No.8	160	55	24

単位:cm

表1 調査パッチの樹冠サイズ

パッチ番号	枝番号	調査枝長 (mm)	最大時の葉 の枚数
No.1	1	59	47
	2	33	58
No.2	1	29	14
	2	39	17
No.3	1	31	26
	2	24	14
No.4	1	29	18
	2	34	30
No.5	1	44	64
	2	40	37
No.6	1	69	24
	2	33	28
No.7	1	30	37
	2	37	27
No.8	1	48	36
	2	36	36

表2 調査枝の長さと最大時の葉の枚数

(3) 結果

1) 環境データ

5 月下旬に最低気温が 0 度を超え、10 月初めに最低気温が 0 度を下回った(図 1)。モンゴルでは例年は 7 月に降水量が最も多いが(van Staalanden&Werger, 2005)、2007 年の 7 月は降水量が少なく、8 月中旬に大雨があった(図 2)。

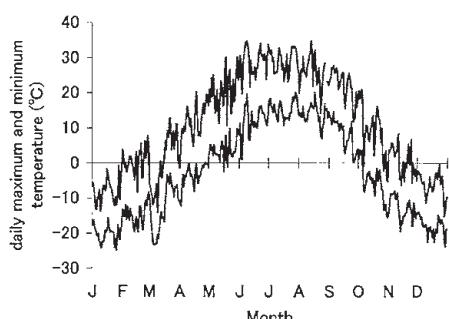


図2 2007年のマンダルゴビの日最高気温と最低気温

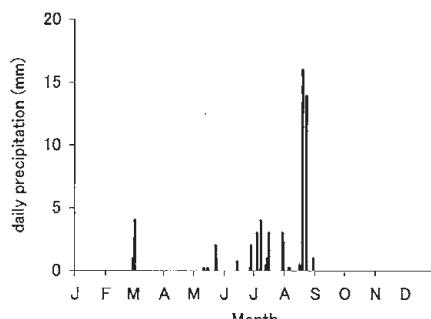


図3 2007年のマンダルゴビの日降水量

2) 発芽特性

発芽は特定の日に集中せず、連続的に起こった。発芽速度は 0 MPa から -0.5 MPa までは顕著な差が見られなかったが、-0.75 MPa ではやや遅い傾向が見られた(図 3)。しかし、最終発芽率は 0 MPa から -0.75 MPa まで有意差はなく、-1 MPa のみ他の全ての条件との差が有意であった(図 4; Turkey's test, p<0.05)。

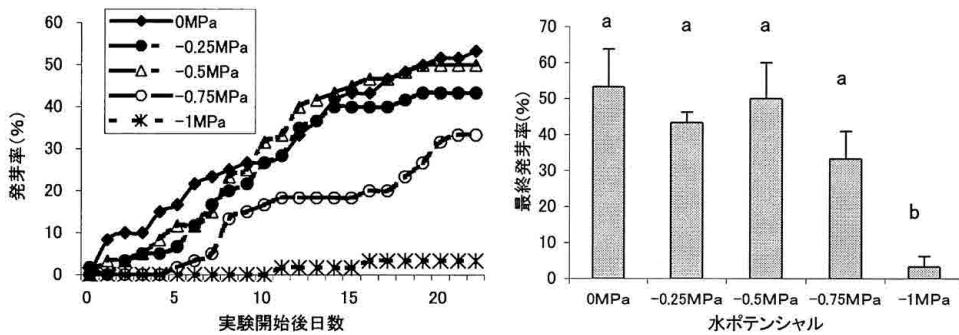


図4 発芽率の日変化
各条件の発芽率(種子数は20)の平均(繰り返しは3)で表す。

図5 最終発芽率
(平均土標準偏差、各条件の繰り返しは3)
図中のアルファベットはTurkey's testの結果を表す。

土壤体積含水率は、7月中旬に小雨が集中して降った時に一度上昇した後8月上旬には低下し、8月中旬の大雨で再び上昇した(図5)。土壤体積含水率と水ポテンシャルの関係を調べた予備実験によると、発芽率も発芽速度も0MPaと差がなかった-0.5MPaは体積含水率では約4.2%であり、発芽率が低かった-1MPaは約4.0%であった。降雨前は体積含水率が4%を下回っており、発芽可能な条件ではないが、降雨後は発芽可能な水ポテンシャルまで上昇した。

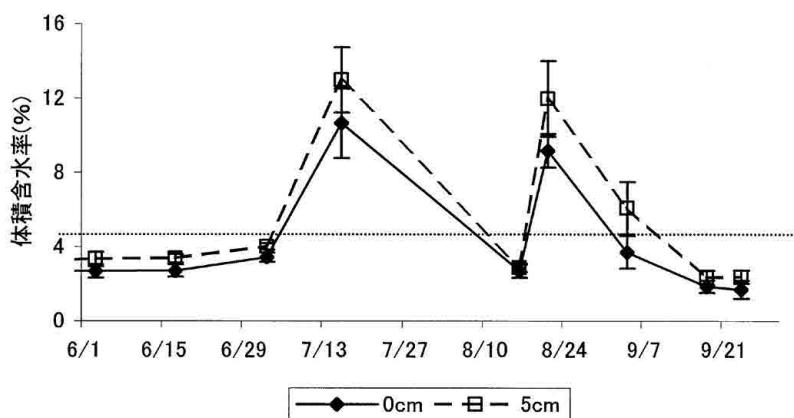


図5 土壤体積含水率の季節変化 (平均土標準偏差、繰り返しは8)
図中の点線は体積含水率4.2%(-0.5MPa)を示す。

3)成長特性

展葉には二回のピークが見られ、1回目は6月上旬、2回目は7月中旬であった(図6)。当年枝は7月中旬に急激に伸長した(図7)。8月以降は当年枝の伸長と新しい展葉はほとんどなかった。

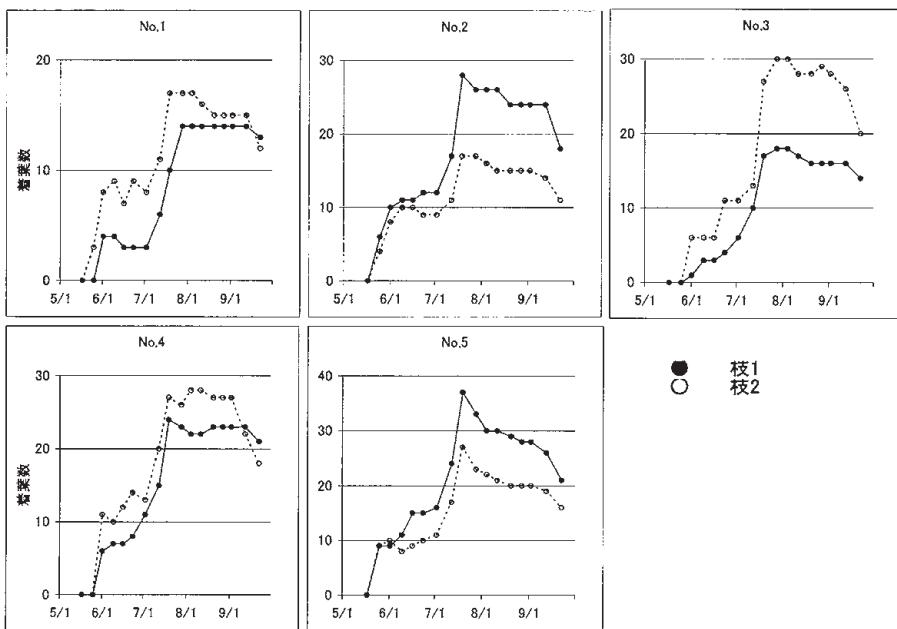


図 6 2007 年の着葉数の季節変化

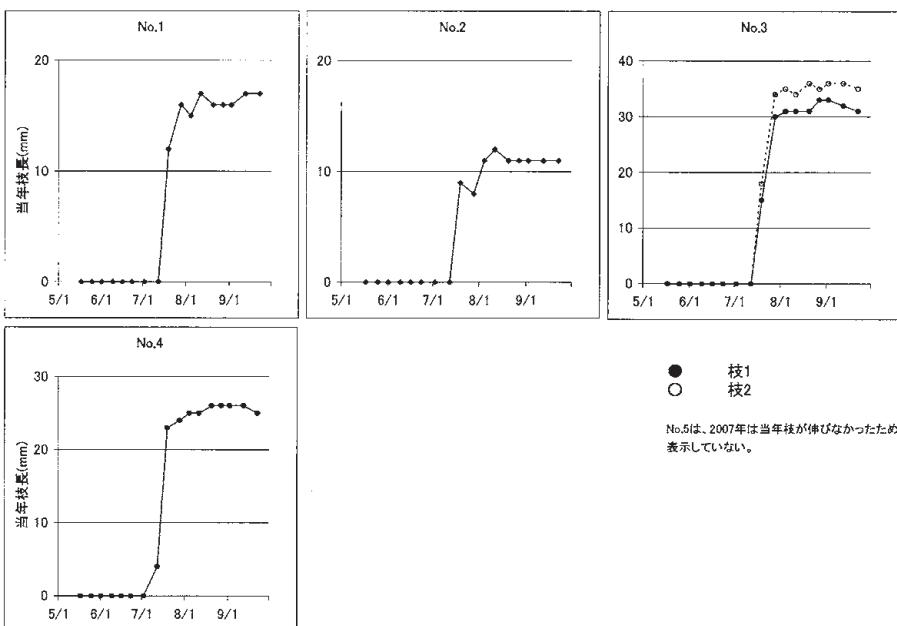


図 7 2007 年の当年枝長の季節変化

一回目のピークである 6 月上旬は最低気温が 0°C を上回るようになった時期と一致しており、二回目のピークである 7 月中旬は、日降水量数 mm の小雨が集中した時期である。展葉と当年枝の伸長がどのように制御されているかは明らかでないが、二回目の展葉と当年枝の伸長には降雨が影響していることが示唆された。二回目のピークは展葉数が多く、当年枝の伸長を伴っており、樹冠成長において重要と考えられる。一方で 8 月中旬の大雨は展葉のピークを引き起こしておらず、樹冠成長には降水量だけでなく降雨の時期が重要な

役割を果たしていると考えられる。

(4) この研究の成果と今後の展望

この研究では、*C. microphylla* の発芽可能な水分張力を特定し、それが現地では降雨後のみ生じていることを明らかにした。また、*C. microphylla* の展葉と当年枝の伸長は降雨に強く影響されているものの、8月中旬の大雨には反応しなかったように、降水量だけでなく時期も重要な役割を果たしていることが明らかになった。

この研究の成果は緑化の実践と技術開発には必要不可欠な知見であり、*C. microphylla* の更新過程についてさらに理解を深めていく必要がある。

引用文献

- Friedel, M. H., Sparrow, A. D., Kinloch, J. E. and Tongway, D. J. (2003) Degradation and recovery processes in arid grazing lands of central Australia. Part 2: vegetation. Journal of Arid Environments 55: 327-348.
- Li, F., Zhang, H., Zhang, T. H., and Shirato, Y. (2003) Variations of sand transportation rates in sandy grasslands along a desertification gradient in northern China. Catena 53: 255-272.
- Mitchel, B. E. and Kaufmann, M. R. (1973) The osmotic potential of Polyethylene Glycol 6000. Plant Physiology 51: 914-916.
- モンゴル国有用植物図鑑ワーキンググループ(2003) モンゴル国有用植物図鑑
National Climatic Data Center (2006) Global Summary of the Day,
<http://cds.ncdc.noaa.gov/CDST/redirector>, USA
- Neupert, R. F. (1999) Population, nomadic pastoralism and the environment in the Mongolian Plateau. Population and Environment 20: 413-441.
- Su, Y. H. and Zhao, H. I. (2003) Soil properties and plant species in an age sequence of *Caragana microphylla* plantations in the Horquin Sandy Land, north China. Ecological Engineering 20: 223-235.
- van Staalanden, M.A., Werger, M.J.A. 2005. The steppes of Mongolia, in: van Staalanden, M.A. (Eds.), The impact of herbivores in a Mongolian forest steppe, pp. 17-48
- Zhang, H., He, H., Li, F. and Zhang, H. (2005) Study on ecological effects of several shrubs on sandy soil in Horquin Sandy Land. Geographical Research 24: 708-716.

1. 溫熱環境測定器の開発

1.1 目的・成果

都市域内で気温データを入手できる場所としては、気象官署や自治体による大気汚染常時監視測定局などの公的機関によって運営されている観測点に限られる。特に、既存の気象観測資料は、観測地点が必ずしもヒートアイランド研究に都合のよい場所にあるとは限らない。また、測定器の設置場所の高さや地覆の状態が不統一であり、データを解析するうえでは無視できない問題となる。ヒートアイランド現象の正確な実態把握や、数値モデルなどを用いてヒートアイランド対策の効果を定量的に予測する場合には、都市内外を包含した多地点での細密な気象観測をおこなうことによって、上述の問題点を解決できる。以上のような課題を踏まえて本レポートでは、都市気象観測に対応できる高精度な温熱環境測定機の開発を報告する。測定器の開発にあたっての長所は以下の通りである。

1. 研究対象に最適な場所に設置が可能
2. データの取得間隔を自由に設定することが可能
3. 安価であるため、多くの地点を確保することが可能。
4. 移動型観測とは違い、データ取得後の時間補正が不要であり、連続かつ長期的なデータの所得が可能。

1.2 ラディエーションシールドの作成

大気中の温湿度を計測する際、測定センサーが太陽からの放射や赤外放射を受けると、大気を正確に測定することはできない。そのため、小数桁までの精度を議論する場合には、放射を完全に遮るラディエーションシールドが必要となる。開発にあたっては、従来から問題視されている測定器自体の日射による加熱をできる限り抑えることが優先課題である。そこで、作製には 18cm×18cm の塩化ビニル板に熱を加えて皿状に型取りし、中心部に 38mm の穴をあけ 5 重にして使用している（外筒長 100mm、塩ビ板厚 1mm、外筒径 110mm、内部筒径 38mm）。

1.3 温度センサー

温度センサー部は、データロガー付で測定精度±0.3°Cのサーミスタ温度計（おんどとり Jr.RTR-52；T&D）を使用した。温度センサーを用いて測定した乾球温度・湿球温度の値から、気温と水蒸気量（比湿）を測定することが可能である。ここで、湿球は綿 100%のガーゼを巻いて、給水ボトル（250mml）から連続的に補水している。

1.4 通風方式

強制通風式用のファンは、ラディエーションシールド内部を強制的に通風させて外気をスムーズに取り込むためのファンである。ファンのモーターには、マブチモーターRE-140（1.5V 5400r/min 550mA 通風速度 3m/s）を使用した。電源は、電池式とソーラー発電式の 2 種類を選択できるようにした。電池式では、単一電池 1 本で約 20 時間連続的に稼動する。そのため、単一電池 2 本を並列回路として 40 時間以上の連続測定を可能とした。また、ソーラー発電式では、ソーラーパネル（250mA·2V）を 2 枚使用し、夜間以外では強制通風式となるようにした。第 1 図に開発した温熱環境測定器の構造図を示す。

1.5 精度検証

測定器の実用性を定量的に確認するため、強制通風式と自然通風式の双方の場合においてアスマン通風乾湿計 SK-RHG（佐藤計量機器製作所；気象庁検定付き）を基準器として検定をおこなった。データの抽出は 15 秒毎におこない、解析時には 10 分間の平均値を用いた。ここでは、開発時におこなった検定結果を紹介する。その結果、自然通風式でも基準器との差が乾球、湿球温度ともに±0.2°C以内であった（第 2 図）。これは温湿度を測定する際に太陽からの放射を完全に遮断することができれば、自然通風式でも十分な精度で測定可能であることを意味している。

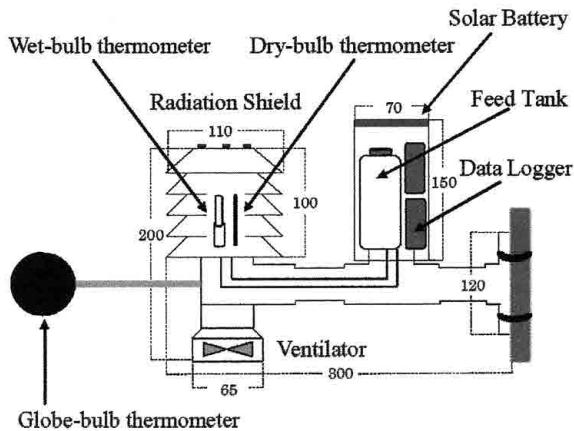


Figure.1 Measurement device
Numerals indicate size of measurement device (mm).

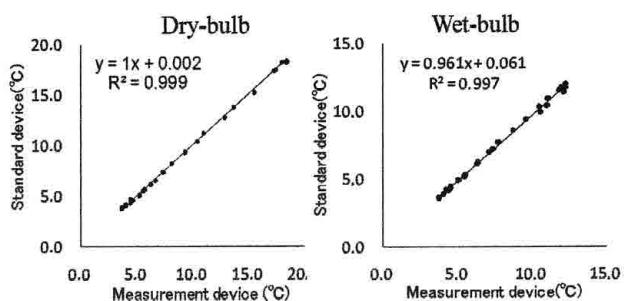


Figure.2 Accuracy of measurement device.

2. 都市構造と人口が異なる3都市での大気熱環境測定

2.1 観測概要

観測対象地域を第3図に示す。解析に使用したデータの期間は以下の通りである。三次市（2007年10月22～11月6日）、岡山市（2007年9月23日～10月7日）、大阪市（2007年7月23～8月16日）。定点型観測に使用した測定器は、前述の温熱環境測定器である。設置には街路樹や三脚などを利用した。測定地点は、樹木や建物等の局地的な影響をできる限り受けないように細心の注意を払い、標高10m以下、天空率が0.4以上の平坦な環境を選択した。また、樹木の南側、地上高1.5mという設置条件にすべて統一をした。測定値のサンプリング間隔は30秒毎で、乾球温度と湿球温度を取得した。この乾球・湿球温度から湿度計方程式で計算された水蒸気圧と現地気圧を用いて比湿を算出した。その後、気温、比湿とともに10分間の平均値を正時毎に求め、この値を以後の解析に用いた。

2.2 ヒートアイランド強度（HII）の算出法

ヒートアイランド出現の指標として、従来のヒートアイランド研究と同様に本研究でも「ヒートアイランド強度（HII）」を用いる。Oke (1973)によると、HII (ΔT_{u-r}) は都市と郊外の最大気温差として定義され、次式で示される。

$$\Delta T_{u-r} = T_u - T_r \quad (1)$$

ここで、 T_u は都市部で最も高い気温、 T_r は郊外で最も低い気温をあらわす。本研究では、測定点の選定には充分な注意を払ってはいるが、道路に近い測定地点では自動車排熱など局所的な影響を受けている可能性もある。このような理由から、測定気温の空間的な代表性を確保するため、都市部と郊外の観測地点からそれぞれ3地点を選択し、その平均値を用いてHIIを計算した（第3図参照）。

2.3 ヒートアイランド強度（HII）の時間変化

3都市におけるHIIの時間変化を、第4図に示す。三次市のHIIは、明け方から正午頃に小さく、16時頃から23時頃にかけて大きくなる傾向をもつ。特に、17～18時頃にかけて約3°Cの明瞭なヒートアイランド現象が出現している（第5図）。岡山市は日中に小さく、日没以降に大きくなり20～21時頃にかけて最大値をとるが、その後HIIは定常状態となっている。大阪市では、岡山市と同様に日中に小さく、日没以降に大きくなる傾向である。しかし、最大値をとる時間帯は5～6時頃であった。また、都市部の気温が郊外の気温よりも低くなる（クールアイランド）時間帯は、三次市においては終日みられなかったが、一方の岡山市と大阪市では、日中を中心に低温となる傾向であった。以上のことから、HIIは都市によって最大になる時刻や継続時間も異なっており、大変興味深い特徴が確認された。

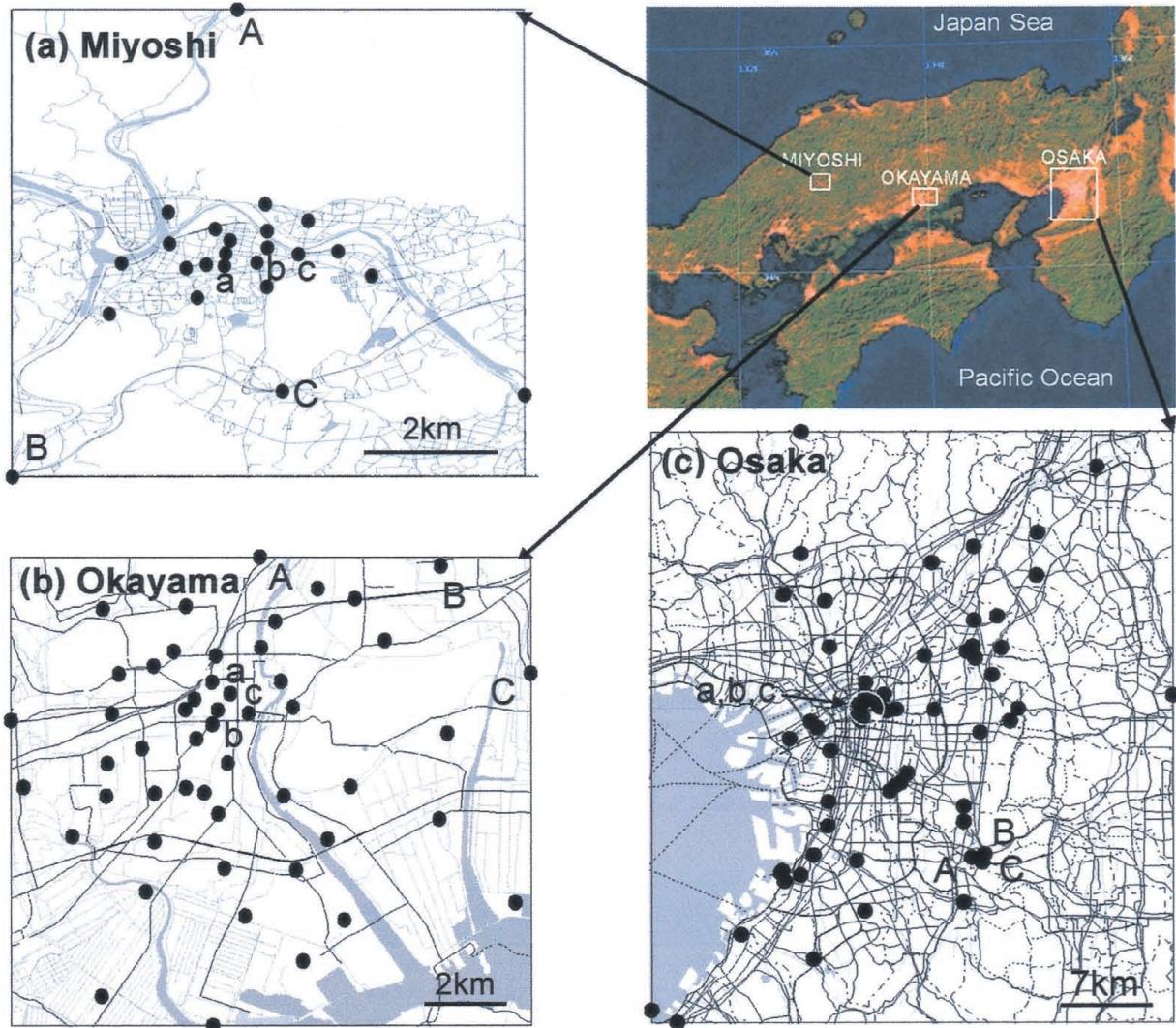


Fig.3 Area of temperature observation. ●: observation points.

Urban area points (a-c) and rural area points (A-C) are used for the estimation of the heat island intensity.

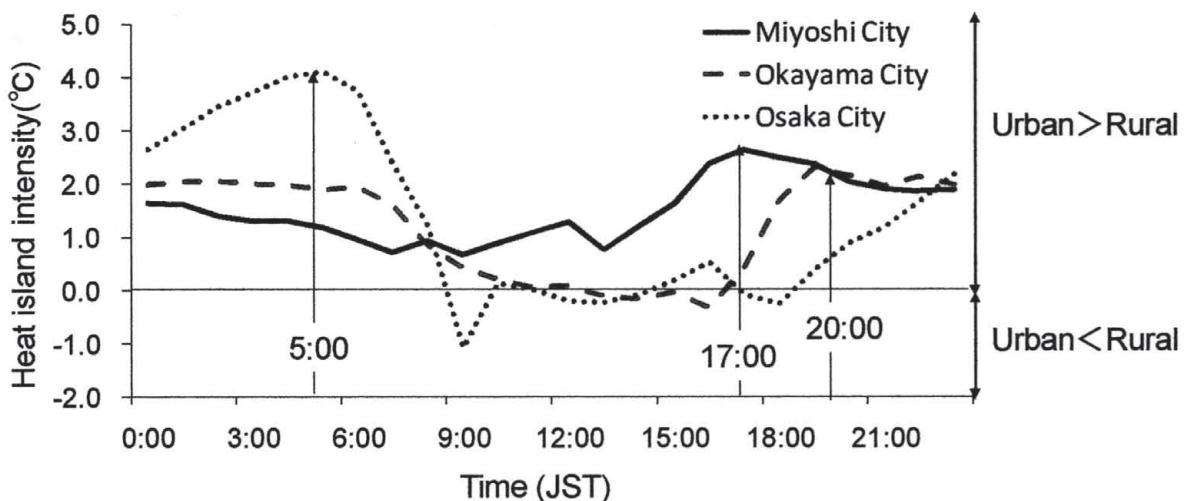


Fig.4 Temporal change of heat island intensity.

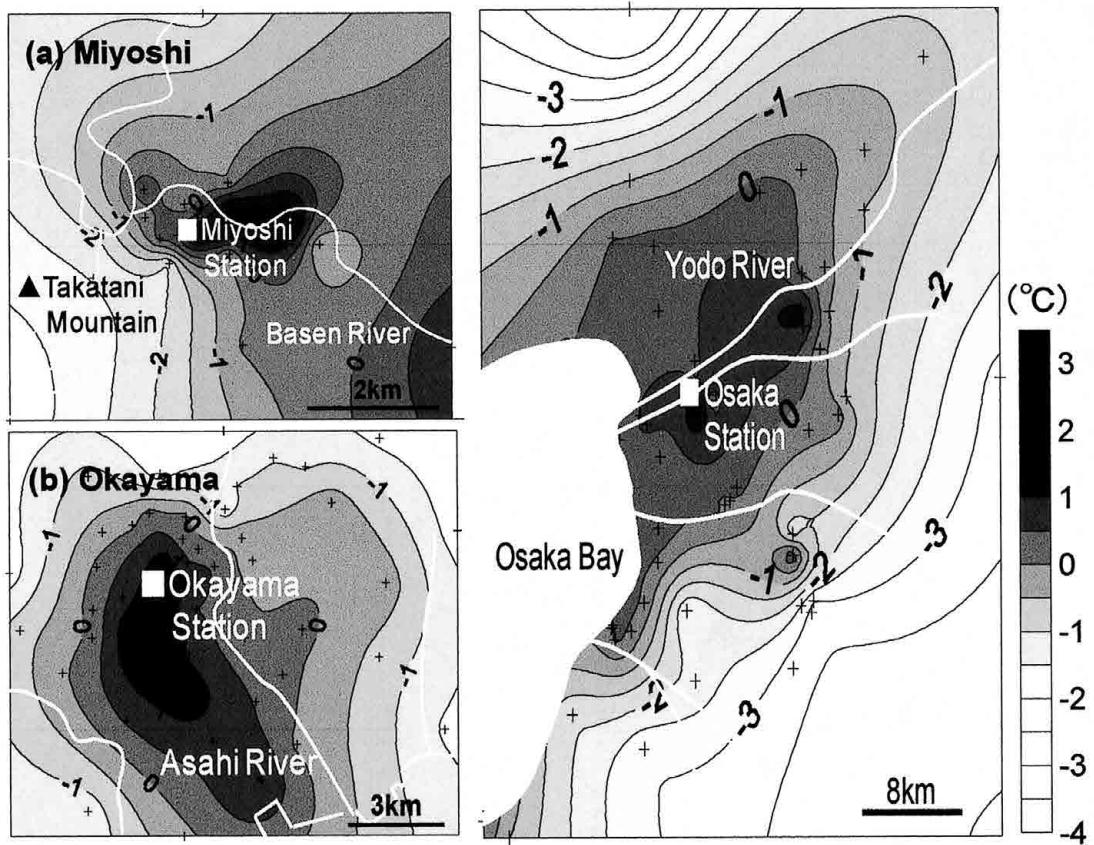


Fig.5 Temperature distribution (spatial deviation). (a) Miyoshi City, 1700 JST, Oct. 24, (b) Okayama City, 2000 JST, Oct. 6, (c) Osaka City, 0400 JST, Aug. 8, in 2007.
Numerals indicate temperature deviation ($^{\circ}\text{C}$). Crosses indicate observation points.

2.4 天空率と気温の関係

これまでの研究では、多くの都市の平均的な天空率と地上気温には負の相関関係があり、天空率が大きいほど低温になることが明らかにされている（たとえば、朴惠淑, 1987）。そこで、本研究では、過去に研究をおこなった大阪市、岡山市、三次市を対象として都市規模の違いにより天空率と気温の相関関係について差異が見られるのか報告する。天空率と地上気温の分布パターンはよく類似しており、天空率の分布は、都市の内部で小さく、郊外で大きい、一方、地上気温の分布はその逆となった。天空率と地上気温との関係は、夜間ににおいて負の高い相関を示す（大阪市： $r=-0.76$ 、岡山市： $r=-0.60$ ）。天空率と地上気温の負の相関が最も高くなる時間帯は、大阪市と岡山市で早朝の午前4～6時頃であった。一方の三次市は、正午頃に負の相関が高くなり（三次市： $r=-0.54$ ）、早朝ではむしろ相関関係は見られなかった。

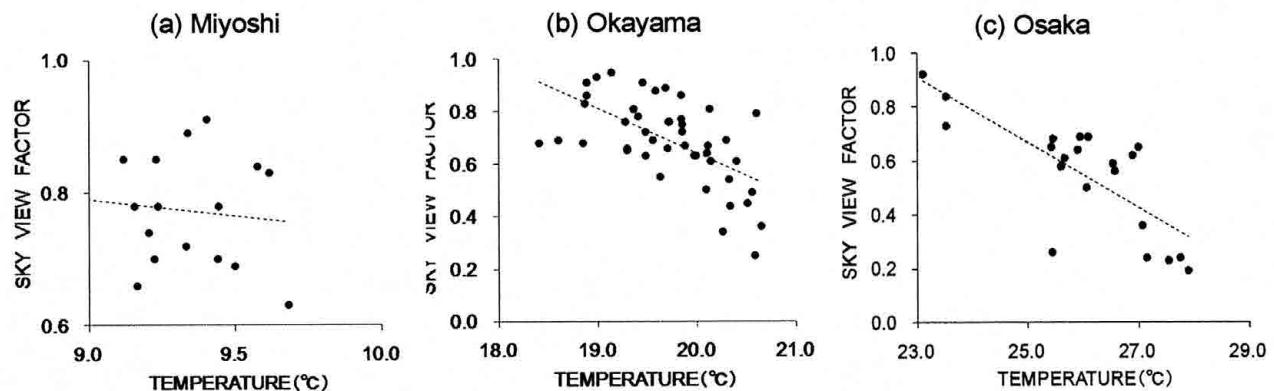


Fig.6 Scatter diagram of the minimum temperature to the sky view factor. The value of r means the correlation coefficients.

3. 様々な街区での熱中症発生リスクの比較

3.1 目的

ここ数年、地球温暖化やヒートアイランド現象の影響による気温上昇が深刻化している。その為、夏季に熱中症で病院に搬送される患者も多く、重症の場合には死に至るケースが相次いでいる。従来、熱中症は高温環境下での労働や運動で多く発生していたが、現在では日常生活においても発生することが珍しくない(環境省、2007)。特に2007年は、国立環境研究所の調査によると、8月23日の段階で、熱中症になり救急車で運ばれた患者数が全国で3000人を超えていた。これは同研究所が調査を始めた2000年以降で最多となつた。大阪市において2006年に救急車で搬送された熱中症患者は、同研究所によると、5月1日～9月30日の期間で240名であった。これは東京特別区、福岡市に次ぐ患者数となっている。

1920年代より、人間生活における温熱環境を評価する指標として、不快指数など多くの温熱指標が提案されている。その中でも、環境省をはじめとする公的機関や日本体育協会などが、熱中症を予防する目的として使用している温熱指標にWBGT (Wet-bulb Globe Temperature)がある。

本研究では、人が日々生活する様々な空間の違いによって熱中症の発生リスクに差異がみられるか、大阪市を対象としてWBGTの連続観測を試みた。WBGTの測定には、オフィス街・繁華街・住宅街・公園の4つの街区を選択し、それぞれで乾球温度・湿球温度・黒球温度を測定した。

本来、黒球温度の正式な測定は、銅製で直径約15cmのISO基準ベルノン式黒球温度計を用いることになっている。しかし、ベルノン式黒球温度計は特異な外観をしており、これを屋外に長期間放置しておくと、不審物と間違われる可能性があるため、多地点での長期観測にはあまり適していない。そこで、本研究では、独自に黒球温度計を作製して観測に使用した。

3.2 黒球温度計の製作

黒球温度は全方位から放射を受けることが必要である。その為、黒球温度計の形は球体であることが望ましい。そこで、黒球の材料として、安価に購入できるボールを使用した。実際に観測で使用するものを選択するにあたり、数種類の球体を試した。製作に使ったボールの直径は約6cmであり、材質はポリエチレンである。中は空洞となっているが、軽く握ってもへこまない硬さである。ボールの表面をより球体にする為、紙やすり(サンドペーパー)で凸凹を研磨した。その後塗装がしやすいように、ボール全体に#100の粗目の紙やすりをかけた。削りカスをきれいに落とし、一般に市販されているツヤ消しの黒色ラッカースプレーで全体を塗装した。十分に乾いた後、温度計のセンサーを入れるための穴をあけて、ボールの中心にセンサーの先端部分が位置するように固定した。

自作の黒球温度計で測定された値を、WBGT値の計算に使用できるようにする為、ISO基準ベルノン式黒球温度計を基準器とした検定をおこなった。検定日は2007年8月18日0時から20日18時までである。三日間ともに検定に適した晴天日であった。検定場所は岡山市内にあるグラウンドであり、日射などの放射環境が同一になるように黒球温度計を設置した。データのサンプリング間隔は15秒毎とし、各時刻の00分・15分・30分・45分の時間において、前15分の平均値をとって比較した。

その結果、基準器よりも自作の黒球温度計は、日中で1～3℃程度低い値になり、朝方に最大で約4℃の差が見られた。夜間は基準器よりも0.2～0.3℃程度であるが高い傾向を示した。温度の変動はほぼ同一であり、単相関係数は0.99となった。このことから、補正をかけば自作の黒球温度計でも十分信頼できる値として使用することができるといえる。

3.3 測定概要

2007年7月24日から8月15日にかけて大阪市内でWBGTを連続観測するために、乾球温度・湿球温度・黒球温度の測定をおこなった。観測場所は、オフィス街内に3地点、繁華街内に4地点、公園内3地点、住宅街内に3地点を選択した。それぞれの地点での測定項目は、乾球温度・湿球温度・黒球温度である。黒球温度は前述の自作黒球温度計を使用した。温度センサーにはサーミスタ温度計(おんどとり Jr. RTR-52; T&D)を使用した。測定のサンプリング間隔は30秒である。

3.4 結果と考察

観測期間の一部である8月11日から8月15日の間に、測定された乾球・湿球・黒球温度を街区別に平均し、その値からWBGT値を算出した（第7図）。また、を表1に示す。この期間における日中の時間帯のほとんどが日本体育協会による運動時の熱中症予防指針WBGT値の評価基準のうち”警戒”にあてはまっている。12日ではどの地点も、WBGT値が30°Cを超えることはなかったが、13日にはオフィス街・住宅街・公園で31°Cを超える時間帯があり、引き続き14日も住宅街と公園で31°Cを超えている。この場合「運動は原則中止」のランクに相当するので、熱中症に疾患する可能性が極めて高い日が住宅街と公園で2日続いたことになる。またこの期間中、夜間でも常に21°C以上あるため、「ほぼ安全」の行動基準になることはなかった。さらに13日と14日の夜は常に「警戒」の行動基準にあり、夜間であっても熱中症になる危険性が高くなっていることを意味している。12日～14日の朝方における住宅街と公園のWBGT値が、オフィス街と繁華街に比べて高い。オフィス街と繁華街は、この期間中ほとんど同じ値を示している。住宅街は日中にオフィス街と繁華街よりも高いWBGT値を示すが、夜間は低くなる傾向がある。

熱中症の発生リスクは夜間を含めたほとんどの時間帯で「警戒」になっており、熱中症を疾患する危険が高い状態が長時間にわたって続いていることになる。特に日中は「厳重警戒」もしくは「運動は原則中止」に相当し、熱中症で死亡する危険性も高くなるので、発症の兆候に対する十分な注意と予防が必要である。

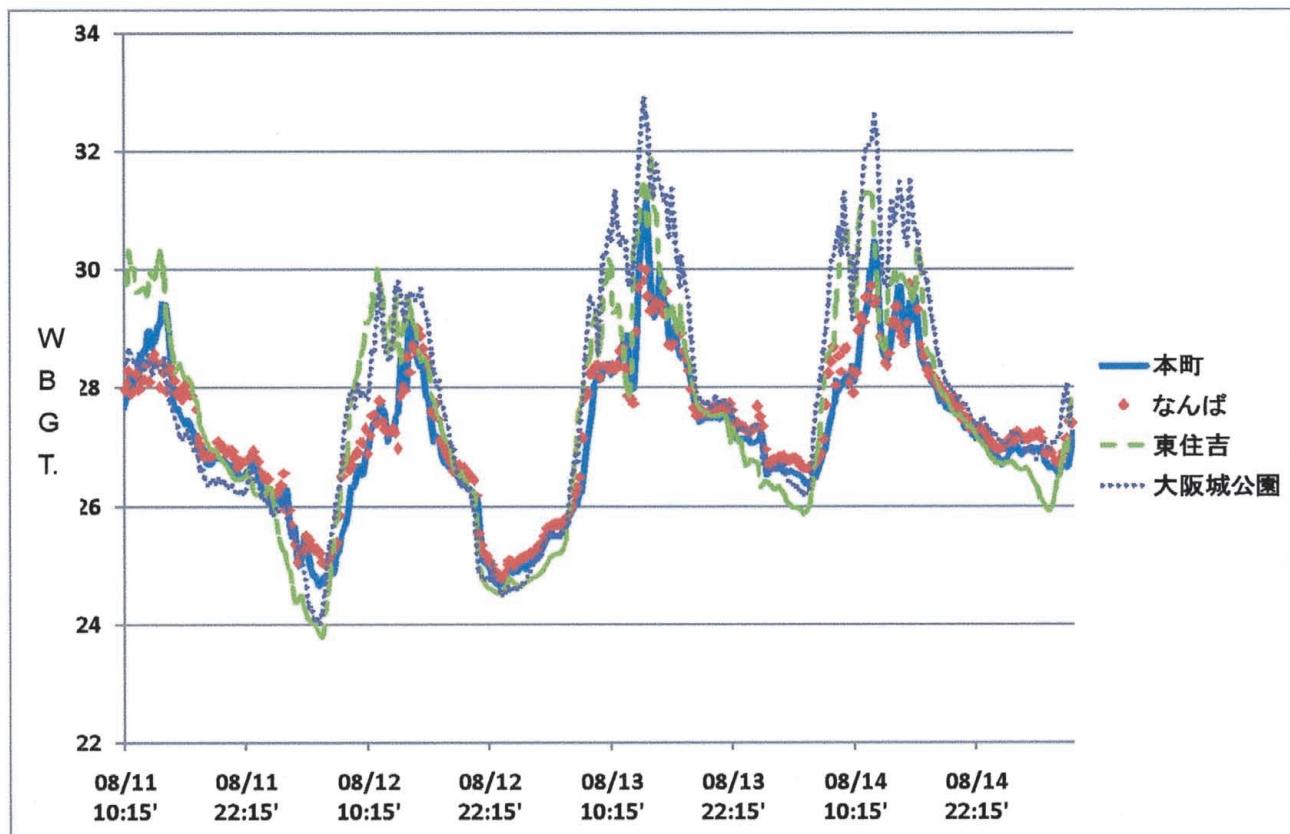


Fig.7. Temporal change of WBGT.

協働で地域資源の維持管理を行う NPO 法人の役割と課題に関する研究

岡山大学大学院自然科学研究科 松岡崇暢

I はじめに

農業や農村を取り巻く社会情勢は過疎化、兼業農家の増加、農家の高齢化などの影響を受け、集落機能の低下により地域資源の適切な維持管理が粗放化し、多面的機能が低下している地域もある。集落機能の低下を補う手段の一つとして、維持管理を省力化するために改修工事を実施し、農村景観の崩壊や生物の生息地の減少を引き起こした地域もある。

農林水産省（2005）が実施した、農村の地域資源の維持管理に関する農家の意向調査結果では、「将来にわたる農村資源の維持に関する意識」をどのように思うか質問しているが 81.2% が「難しくなる」と回答している。また、「農村資源を維持・管理するため、農業者以外の者との連携・協力に関する意向」では、89.3%が「農業者以外の者と連携・協力したい」と回答している。農家は非農家や都市住民と協働することで解決できるのではないかと期待を抱いている。現状では、地域内の農家だけでは適切な維持管理は難しくなりつつある。

しかし、その一方で、環境問題に関心を持つ国民も増え、都市農村交流に代表されるグリーンツーリズム、棚田のオーナー制度、援農ボランティア、などに取り組む人々もいる。最近では、NPO や非農家がグループを立ち上げ、耕作放棄地で非営利な農業活動に取り組む事例も見られ、新しい協働の形態による動きが始まっている。

細田（2004）は、棚田保全に着目し都市農村交流に参加する農家の意向から交流事業の可能性を検討している。慢性的な労働力不足を補う手段として、棚田ボランティアの有効性を指摘しているが、農家の都市住民に対する不信感やニーズを考慮し地域で保全するために棚田米の販売に力を入れることを提案している。仲家（2005）は、地域資源が保有する多面的機能の便益享受と負担関係の不整合の存在を指摘し、地域の非農家や多様な主体が維持管理に参加することのできる仕組みの構築を提言している。農村集落の地域コミュニティは、維持管理を通じて発展し、地元住民の生業や生活とも深く関わるものである。そのため、協働の継続性や活動の安定化は課題として常につきまとう。

そこで本稿では、現在 NPO と地元農家が協働で農業用水路を維持管理している岡山市高松地区を事例対象として取り上げ、協働の継続性要因を明らかにする。その他に、愛知県犬山市で活動に取り組んでいる NPO を取り上げ、新規就農や援農が可能な人材育成の講座に着目する。この NPO では、毎年度講座を開講し、修了生のステップアップとしてグループの立ち上げ、活動、農地の斡旋などの支援を行っている。耕作放棄地を農地として活用することで、地域内の耕作放棄地を解消していく取り組みである。

2 事例から非農家や NPO などと協働することで、適切な地域資源の維持管理が可能かどうか、地域コミュニティへの影響を含めて考察する。NPO の支援状況と有志の修了生グループから、継続的に地域資源の維持管理が可能かどうか明らかにする。

II 本稿の問題意識

高松地区の事例は、農家の高齢化という地域事情により農業用水路の維持管理を省力化するために改修工事を進める地元農家と絶滅危惧種の生息環境まで含めた保全に取り組む NPO と

いう、目的の異なる2つの主体による協働の取り組みである。特色はNPOの会員は居住地と異なる地域に、協働のパートナーとして維持管理に関わり地域環境保全に貢献することである。

犬山市の事例では、農家の高齢化や担い手不足などにより県下でも耕作放棄地が多い地域で、多面的機能の低下による環境問題が指摘されている。地域内の耕作放棄地を解消する目的でNPOを立ち上げるのではなく開講講座修了生の有志がグループを立ち上げ、それに支援をすることによって地域内の耕作放棄地を解消していく取り組みである。最終的に複数のグループがNPOと協働関係を構築し、グループ同士も連携、相互補完をしながら耕作放棄地の解消を目指している。

2事例の共通点は、地元農家と地域環境問題に対する意識の高い人々が中心となり、協働で地域資源を活用し維持管理することである。しかし、協働においてNPOや都市住民が主体になるのではなく、あくまでも集落機能の低下を補う支援として位置付けるべきである。地域資源の維持管理を通じて地域コミュニティが形成されてきた経緯や水田においては水利施設の管理や賦役も含まれてくる。地域コミュニティの構成員では無いNPOや都市住民には、継続性の問題や維持管理の簡素化による多面的機能の低下が危惧されている。これらを本稿の問題意識に含めて考察をしていく。

III 研究対象と研究方法

1. 研究対象地域

研究対象地域は、岡山県岡山市高松地区と愛知県犬山市今井地区である。高松地区は、水田が広がり農業用水路が網目状に流れている田園地帯で、昔は有機農業に取り組んでいた地域として有名であった。犬山市は、愛知県の北西部に位置し岐阜県と隣接している都市近郊の農村地域である。中でも今井地区は、良質なお米が収穫できる地区で料亭や寿司屋などと個別に取引を行う農家もいるが、農家の高齢化が進行し耕作放棄地が増えている。

2. 研究対象のNPO

高松地区の研究対象であるNPO法人岡山淡水魚研究会は、1974年に岡山市にて設立され淡水魚類の生態調査や保全活動を実施している。5人から活動を始め、現在では個人会員は90人に、10程度の団体会員が所属し、2007年2月に法人格を取得している。調査対象地域である高松地区には、農業用水路の改修工法の変更提案、絶滅危惧種の保全活動、絶滅危惧種の密漁防止パトロール、農業用水路の維持管理作業などに参加している。

犬山市の研究対象であるNPO法人犬山里山学研究所は、市内の里山に対して保全や観察会を通じて、自然の重要性を発信する目的で設立され、2006年7月に法人格を取得した。現在個人会員は50人程度で団体会員は2団体が所属している。設立して日が浅いため環境教育の啓蒙啓発、農業塾講座、外来種の調査駆除程度の実績しか無い。

2007年度農業塾修了生の有志6人が立ち上げたグループである百組みは、2008年度から市内の耕作放棄地を開墾し水田の作付けを行っている。

3. 高松地区事例の研究方法

改修工法の変更提案から協働で維持管理する事に至った経緯を、岡山市、地区内の町内会長、NPO関係者からの聞き取り調査と行政から提供された公的資料から整理した。NPOが継続的

に協働で維持管理を行うことができるのか明らかにするために、聞き取り調査を補完するアンケート調査を実施した。アンケート調査の対象は、NPO 法人岡山淡水魚研究会に所属している個人会員である。配布は定期的に発行している広報に同封し、郵送で回収した。配布数は 86 部で 29 部回収できた。

4. 犬山市事例の研究方法

NPO 法人犬山里山学研究所が実施している、農業塾講座による地域資源の維持管理に向けた取り組み計画や状況を農業塾担当理事、事務局、百組メンバー（2007 年度農業塾講座修了生）からの聞き取り調査と提供資料の整理を行った。非農家の地域住民と NPO が連携、協働することで継続的に耕作放棄地の解消に向け取り組むことが実現可能なのか考察していく。

IV 結果と考察

1. 継続的な協働の可能性

NPO 法人岡山淡水魚研究会に実施したアンケート調査の結果から分析を行う。活動で大事にしていることを表 1 で示す。回答の多い順に「自然や環境を保全する」28.9%、「地域の特色ある自然や生物や文化を尊重する」27.6%、「自然や生物に対する知識を深める」26.3% であった。

所属会員の多くは、幼少期より自然や生物に接する機会を多く持ったので親しみを持ちやすいのであろう。そのため、生物の生息環境の悪化に対して危機感を持ち、保全活動に関心を持った。岡山県下には河川、用水路、ため池などの水辺環境は数多く存在する。多様な淡水魚種は、人の生活と関わり深い 2 次的自然と共生しながら、このような水辺環境で生息してきた。脈々と受け継がれてきた生き物の命や生息環境を尊重し、保全する意欲が高い会員が多い。

NPO が地域環境保全活動に取り組む上で、活動地域の住民に活動内容を理解してもらうことは重要なことである。会員が理解を得るために重視している方法を表 2 にて示す。

表 1 活動で大事にしていること (%)

自らの問題意識を大事にする	6.6
自然や生物に対する知識を深める	26.3
自然や環境を保全する	28.9
地元住民や地域コミュニティと一緒に活動する	7.9
地域の特色ある自然や生物や文化を尊重する	27.6
地元住民の生業や生活を配慮する	2.6

アンケート調査より作成

表 2 理解に向けた取り組み (%)

団体のパンフレットを読んでもらう	4.2
地元住民の要望に耳を傾ける	14.1
地元住民を対象にした勉強会やワークショップの開催	12.7
地元住民と一緒に行動や活動を行う	31.0
地元のリーダーの協力を得る	15.5
行政の協力を得る	22.5

アンケート調査より作成

重視していることは、「地元住民と一緒に行動や活動を行う」31.0%、「行政の協力を得る」22.5%、「地元のリーダーの協力を得る」15.5% であった。このアンケート調査は、高松地区で維持管理を協働で実施してから行ったものである。地元農家と共に汗をかき働きぶりや貢献度を評価され、活動に対する理解や信頼を得られた実感から「地元住民と一緒に行動や活動を行う」に多くの回答が集まつたのであろう。

改修工法の変更や絶滅危惧種を保全する提案は、地元農家と NPO が直接話し合いの場をも

ったのではなく、市が仲介し調整をしている。そのことが両者の軋轢緩和と協働促進につながったと感じ「行政の協力を得る」に多く回答がされたのであろう。

所属会員が活動を行う際に、個人の様々な負担や障害があるのではないかと推測できる。会員が活動上、気を配っていることを示したものが表3である。「大変気を配っている」と回答した割合は、「過失や事故」と「地元住民との軋轢」46.2%、「フィールドの確保」29.6%であった。「少し気を配っている」を合わせると「地元住民との軋轢」80.8%、「過失や事故」77.0%、「活動時間の確保」55.5%となった。

表3 活動上気を配っていること (%)

	大変気を配っている	少し気を配っている	特に無い
職場の理解	3.8	11.5	84.6
家族の理解	11.1	18.5	70.4
経済面（活動費）	3.6	25.0	71.4
市民活動に対する誤解や偏見	22.2	22.2	55.6
活動時間の確保	14.8	40.7	44.4
フィールドの確保	29.6	22.2	48.1
過失や事故	46.2	30.8	23.1
地元住民との軋轢	46.2	34.6	19.2

アンケート調査より作成

NPO の会員は、居住地域以外で地域環境保全活動を実施する際には、地元住民と一緒に活動を行うことをほとんどしていなかった。習慣や価値観の相違があるので、極力地元住民と会員が関わることを避け行政を通じて提案を行う、公的な場で意見を述べる程度の関わり方であった。地元住民側としても会員が環境保全活動を行うと、水田の畦を歩いて壊す、農閑期でも農業用水路の水量確保を強いる、自然環境に近い状態を保つため草が伸び放題等々、農作業に支障が出るとしてなかなか好意的に受け入れられなかつた。

最近では、地域の環境問題に关心を持つ協力的な地元住民も増えてきたので、相互理解や歩み寄りにより「軋轢緩和」、「フィールドの確保」が見られるようになり前進している。

「過失や事故」については、河川やため池などの水辺がフィールドであること、小学校や公民館が主催する講座の講師を引き受ける会員もいることから、配慮し回答が多くなったのだろう。

「職場の理解」、「家族の理解」、「経済面（活動費）」などの会員個人の都合や問題は特に配慮されておらず、活動の阻害要因にはなっていない。

NPO の多くは、一般的に運営基盤が脆弱で充実した活動を行うことが難しく、行政や協力団体に支援や協力を求めることが多い。会員が望む支援内容を把握することで、組織の弱点や不十分な事を見ていく。

表4にて活動充実に必要な支援を示す。回答の多い順に「活動資金の助成」19.6%、「行政や他団体との橋渡し」14.4%、「情報提供」と「マスコミに向けた広報や情報発信」13.4%であった。回答の少なかったものは、「トラブル処理や仲裁」3.1%、「研修機会の提供」と「事務的手

手続きなどの支援」5.2%であった。

行政からの委託事業はほとんど無く、事業性が弱い組織である。活動資金面は苦しいはずだが、アンケートの回答においては「活動資金の助成」19.6%で2割を下回る回答しかない。設立当初から会員の手弁当で運営してきた組織なので、資金は無いなりに工夫している姿勢が見られる。

表4 活動充実に必要な支援 (%)

活動資金の助成	19.6
機材の貸し出し	8.2
情報提供	13.4
交流機会の提供	6.2
マスコミに向けた広報や情報発信	13.4
研修機会の提供	5.2
事務的手続きなどの支援	5.2
行政や他団体との橋渡し	14.4
トラブル処理や仲裁	3.1
地元住民向けの説明会や勉強会のセッティング	11.3

アンケート調査より作成

2. 人材育成による活動の発展

NPO 法人大山里山学研究所に実施した聞き取り調査と提供資料から分析を行う。犬山市は都市近郊に農村地帯が広がっている。都市部への通勤圏に位置し、非農家や兼業農家の増加や農家の高齢化などにより、地域内の耕作放棄地が増えていることが問題視されてきた。

農業塾講座を担当している理事は、食の安全安心という観点から環境問題に興味関心を持ち、市民活動として有機無農薬でお米づくりの活動をしていた。活動を通じて地域内の耕作放棄地の増加や農薬の大量投下による環境破壊に危機感を持ち、就農や援農のニーズに着目して人材を育成することで環境保全に寄与できると考え企画した。特色としては、ただ単に農業の技術支援を行うのではなく、地域内の農家を巻き込み水の管理や地域コミュニティとの関わり合いを作りながら、活動を社会に発信し展開していくものである。また、単年度の事業として人材育成だけに留まらず、毎年度講座修了生の有志によるグループの立ち上げや活動の支援を行い、連携しながら地域内の耕作放棄地を蘇らせる意図がある。多様な人材を巻き込みグループ化し連携することで、相互補完関係による協働の継続性を試みている。

百組は、講座修了生6名と友人1名を加えた計7名で立ち上げたグループである。メンバーのうち3名は定年退職後の活動で、4名も定年を迎える準備として活動に参加している。メンバーの多くは、実家が農家で土に親しみを持っていた。農業を通じて退職後の生き甲斐や地域貢献をしたいという問題意識の高い人々である。

資金確保のための書類作成、助成金情報の提供、農地確保の交渉窓口などの支援を受けており、農業だけに専念できる支援状況を好意的に考えている。農業塾講座は毎年度実施されるので、OBとして関わりを持つことで1年間の講座では習得できなかった技術を再度学び直して

いる。受講生との交流も深め、新たに立ち上がったグループと連携しやすい関係づくりにも意欲的である。

3. 協働による地域資源の維持管理

本稿は高松地区の事例と犬山市の事例から、協働による地域資源の維持管理の継続性を考察する。一般的に市民活動は、長期間活動をしていくとメンバーが固定化し活動内容もマンネリ化する傾向がある。NPO 法人岡山淡水魚研究会では、会員個人の自主性、責任、裁量に任せ個別の活動にも慣用である。そのため、組織全体で継続に向けて対応するのではなく、会員個人の意欲によって大きく左右されていた。法人格も取得しているが、専従職員の配置も行わず事業性の追及も行われていない。従来と変わらない組織運営を行っており、運営費確保のために委託事業の大量受託は行われていない。そのため、委託事業に追われ自主事業が疎かになることも無く、組織運営も従来通り穏やかなままなので会員個人の裁量に任せられている。活動の継続性にとってプラスの要因だといえる。

そもそも、維持管理に参加するようになった経緯は、改修工事によって絶滅危惧種の生息環境が悪化することに危機感を抱いた、会員数人の取り組みが組織内に広がったものである。会員を見てみると、活動を続ける上で個人的な問題が支障にならず配慮もしていないことも継続に向けてプラスの要因になっている。しかし、「過失や事故」、「地域住民との軋轢」を配慮している。これらの改善に向けて会員や組織での直接的な対応は難しく、行政の仲介やワークショップの開催など地元住民との交流や話し合う場を持つことで、活動の継続性につながるのではないか。

NPO 法人犬山里山学研究所では、新規就農や援農といった農業に興味関心を持つ退職者や退職が近い人々を対象とした講座を開講している。人材を育成し有志の修了生が立ち上げたグループを人材を育成し有志の修了生が立ち上げたグループをネットワーク化し、相互補完できる協働の形態を作り上げて耕作放棄地の解消を図る取り組みである。

一つの組織体によって地域資源の維持管理を行う場合、活動の継続性は重要なテーマになる。小さなグループが連携し相互補完することで協働関係の安定化を図る取り組みは、仮に一つのグループが活動を停止した場合でも他のグループが協力、支援を行うことで協働の継続性は揺るがないといえる。

まだまだ、取り組みが開始したばかりなので調査を行い、実証的に分析を行うことが今後の課題である。

参考文献

- 農林水産省（2005）食料・農林水産業・農山漁村に関する意向調査 農村の地域資源（農地、農業用水等）の維持管理に関する農家の意向調査結果.農林水産省.
- 細田洋志,松本康夫,三宅康成（2004）伝統的棚田地域における都市農村交流の可能性.農業土木学会誌 72 (11) ,2004 年,pp.949-953
- 仲家修一,村岡宏（2005）農地・農業用水等の資源保全施策の構築に向けて.農業土木学会誌 73 (5) ,2005 年,pp.367-370

環境調査活動において強力な武器となる銅(II)イオン機能的濃縮定量システムの開発

大下 浩司

吉備国際大学 文化財学部

〒716-8508 岡山県高梁市伊賀町8

E-mail: oshita@kiui.ac.jp

環境水中に溶存している有害金属イオンを簡易かつ高感度に測定するために、有害金属イオンを選択的に捕集・濃縮することができるキレート樹脂の新規合成と、キレート樹脂を測定前処理に活用した環境水中有害金属イオンの機能的濃縮定量システムを開発した。親水性バイオマスであるキトサンを基材として活用し、水溶液内の Cu(II)を選択的に捕集・濃縮するために、Cu(II)と比較的安定な錯体を形成すると見込めるフェニルアルソノ酸あるいはセリンをキレート官能基として基材に導入した3種類のキレート樹脂を新規に合成した。合成したキレート樹脂の水溶液内金属イオンの吸着性能はバッチ式カラム法により詳細に評価し、数十種類の金属イオンについて吸着性能を比較したところ、水溶液内 Cu(II)を選択的に捕集・濃縮できることを見出した。さらに合成したキレート樹脂は Cu(II)以上に、水溶液内の微量な U(VI)に対して優れた選択吸着性能を有することも新たにみつけた。また多種類の金属イオンの吸着性能を系統的に検討、評価することによって水溶液内の微量金属イオンがキレート樹脂に捕集される際の吸着メカニズムも解明することができた。合成したキレート樹脂は実際の環境水中の微量な有害金属イオンの定量の際のバッチ式カラム前処理に活用することが可能で、簡易かつ高感度な測定を指向したオンライン式カラム法に基づく機能的濃縮定量システムの開発にも成功し、当初予定していた以上の研究成果を得ることができた。

1. 緒言

我々を取り巻く地球環境は人々の暮らしが豊かになるにつれて悪化の一途を辿っており、環境問題に携わる研究者や技術者等の専門家ののみならず一般の人々も環境に対する意識はますます高揚している。環境問題に対峙するためには、環境中有害物質およびそれに関連した化学物質の濃度調査や動態調査が重要であり、適切な科学分析を実施することが肝要である。例えば海水や河川水、湖沼水などの環境水中に溶存する Cu(II)や他重金属イオン等の有害金属イオンは ppt (1兆分の1グラム) ~ ppb (10億分の1グラム) 程度の低い濃度レベルで存在する。しかしながら有害金属イオンは、そのように低濃度であっても生体や環境に対して甚大な悪影響を与え、生物を介した食物連鎖やそれに伴う生体濃縮、あるいは周辺環境への拡散等の懸念がある。そのため有害物質を検出、測定できないから存在しないと考えるのではなく、生体や環境に悪影響を与える極微量な濃度を正確かつ確実に把握することのできる適切な分析手法の確立と、環境調査活動の実施が大切である。

環境水中の有害金属イオンを測定するためには、専門的な知識や技術を要しない市販の試験紙や分析キットを利用した簡易な測定方法から、原子吸光分析法 (AAS)、誘導結合プラズマ発光分析法 (ICP-AES)、誘導結合プラズマ質量分析法 (ICP-MS) 等による高度な分析方法まで様々な計測手段があり、測定値の活用方法に応じて適切な測定手段を選択することが望ましい。簡易な測定方法は誰でも、何処でも、簡単に水試料中金属イオンを測定できる一方で、測定感度が十分でないため環境基準値レベルの濃度を正確に測定するのは難しい。しかしながら AAS、ICP-AES、ICP-MS を利用した測定にも幾つかの問題点がある。実試料中にはしばしば微量な目的成分とともに、アルカリ金属イオンやアルカリ土類金属イオンのような無機物、フミン酸や界面活性剤のような有機物等が比較的高濃度で共存しており、そのような共存成分 (マトリックス) は高感度な測定を妨害することがあるため、マトリックスの分離が必要である。また試料中に目的成分が定量限界以下の極微量しか含まれない場合には高倍率に濃縮した後、測定しなければならない。そのため測定前に、目的成分の濃縮とマトリックスの分離のために適切な前処理を試料に施すことが大切である。

本研究では、環境調査・分析の際に威力を発揮する前処理と計測のシステムの確立を視野にいれ、有害金属イオンを選択的に捕集・濃縮することのできるキレート樹脂の開発と、それを活用した有害金属イオンの機能的濃縮定量システムを構築することを目指した。環境への負荷低減を考えグリーンケミストリーの概念を踏襲しながら、バイオマスの一つであるキトサンをキレート樹脂の原料に利用した。親水性の高いキトサンは水溶液内の金属イオンを素早く吸着することが可能で、その化学構造の2位

に一級のアミノ基 ($-NH_2$) と 6 位に一級の水酸基 ($-OH$) を有しており化学修飾が容易であるため、キレート樹脂の合成原料として最適であった。環境水中の有害金属イオンの一つである Cu(II)を選択的に捕集・濃縮するために、Cu(II)と比較的安定な錯体を形成すると予測されるフェニルアルソン酸あるいはセリンを架橋キトサン基材に導入した 3 種類のキレート樹脂（フェニルアルソン酸型キトサン樹脂、セリン型キトサン樹脂：type 1 と type 2 の 2 種類）を新規に合成した。開発したキレート樹脂への Cu(II) およびほか数十種類の金属イオンの捕集挙動を、バッチ式カラム法を併用した ICP-MS 測定により詳細に検討、評価することによって、水溶液内金属イオンに対するキレート樹脂の吸着性能と吸着メカニズムを解明した。合成した 3 種類のキレート樹脂は当初の予測通り Cu(II) の捕集・濃縮に優れていた。特にフェニルアルソン酸型キトサン樹脂およびセリン型キトサン樹脂 (type 1) は意外なことに、U(VI) の選択吸着性に極めて優れた点を見出すことができ、学術的にも大変有意義な発見をし、予想以上の成果を得ることができた。U(VI) の選択吸着性に優れたフェニルアルソン酸型キトサン樹脂およびセリン型キトサン樹脂 (type 1) を活用して、実試料中の微量 U(VI) 高感度定量の際のバッチ式カラム前処理に実用することが可能で、さらには環境水中の微量な U(VI) を簡易かつ高感度に測定するための機能的濃縮定量システムの開発にも活用し、本研究目的を達成した。

2. 実験

2.1 新規なキレート樹脂の合成方法

2.1.1 架橋キトサン基材の合成

フェニルアルソン酸型キトサン樹脂、セリン型キトサン樹脂 (type 1) およびセリン型キトサン樹脂 (type 2) を開発するための基材として架橋キトサンを合成した。架橋キトサンの化学構造を Fig. 1 (1) に示す。架橋キトサン基材はキトサンを原料にしてキトサンの 2 位の一級のアミノ基をベンズアルデヒドで保護した後、6 位の一級の水酸基をエチレングリコールジグリシジルエーテル (EGDE) を用いて架橋を施し、最後に塩酸を用いてそのアミノ基を脱保護することにより合成した。

2.1.2 フェニルアルソン酸型キトサン樹脂の合成

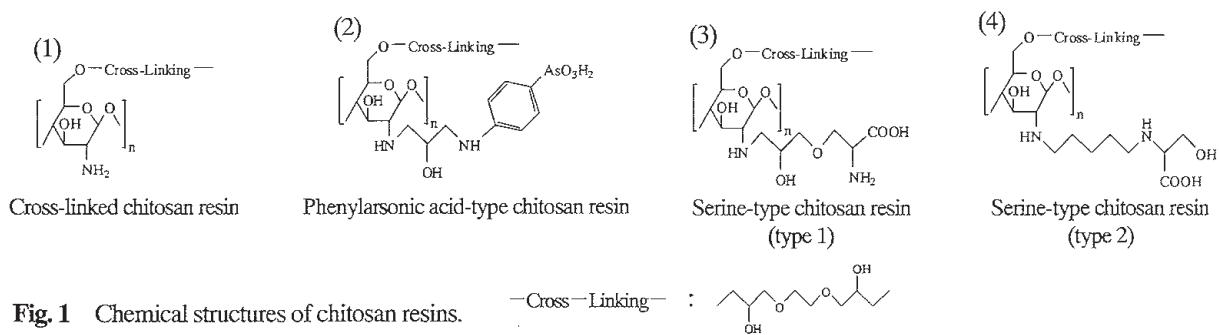
合成した架橋キトサンをベースにして、フェニルアルソン酸により化学修飾をしたフェニルアルソン酸型キトサン樹脂を新規に合成した。その化学構造を Fig. 1 (2) に示す。架橋キトサン基材の 2 位の一級アミノ基に、スペーサーアームとしてクロロメチルオキシランを導入し、その末端の Cl 位 ($-CH_2-Cl$) に 4 アミノフェニルアルソン酸のアミノ基の位置で導入することにより新規に合成した。

2.1.3 セリン型キトサン樹脂 (type 1) の合成

架橋キトサン基材の 2 位の一級アミノ基にクロロメチルオキシランをスペーサーアームとして導入し、アミノ基をベンズアルデヒドで保護したセリンの一級の水酸基の位置で、スペーサーアーム末端の Cl 位 ($-CH_2-Cl$) に導入した。反応後、基材に導入したセリンのアミノ基を塩酸により脱保護することによりセリン型キトサン樹脂 (type 1) を新規に合成した。その化学構造を Fig. 1 (3) に示す。

2.1.4 セリン型キトサン樹脂 (type 2) の合成

架橋キトサンをベースにしてその 2 位の一級アミノ基にスペーサーアームとしてグルタルアルデヒドをシップ塩基生成反応により基材に結合した後、導入したグルタルアルデヒドの末端の未反応のアルデヒド基に、セリンをその一級アミノ基の位置で基材に結合した。反応後、水素化ホウ素ナトリウムを用いて、架橋キトサンとベンズアルデヒド、セリンとベンズアルデヒドの結合部分のシップ塩基部を還元した。その化学構造を Fig. 1 (4) に示す。



2.2 水溶液内金属イオンの捕集挙動の評価方法

合成したキレート樹脂の金属イオンの捕集挙動はバッチ式カラム法によるICP-MS測定により詳細に評価した。2M硝酸と超純水により十分に洗浄したキレート樹脂をミニカラム(体積:1ml)に充填し、2M硝酸(10ml)を通液した後、超純水(10ml)で洗浄した。カラムのpHを調整するためにpH1~7の溶液(pH1:0.1M HNO₃, pH2:0.01M HNO₃, pH3~7:0.5M CH₃COOH-NH₃)をカラムに通液し、カラムと同じpHに調整した金属試料溶液(10ppb, 10ml)をカラムに通して金属イオンをキレート樹脂に吸着させた。その後pH1~7の溶液5ml(pH1:0.1M HNO₃, pH2:0.01M HNO₃, pH3~7:0.2M CH₃COOH-NH₃)をカラムに流し、超純水(5ml)をカラムに通した。最後に1M硝酸(10ml)をカラムに通し、キレート樹脂に吸着した金属イオンを完全に溶出し、その回収した溶離液中の金属イオン濃度をICP-MS測定してキレート樹脂への金属イオンの回収率を求め、各樹脂の吸着性能を評価した。合成したキレート樹脂の体積はpH条件変化に伴う膨潤や収縮はなく、カラム法における各溶液の流量は1ml min⁻¹に保った。

2.3 機能的濃縮定量システムの開発とその操作手順

環境水中の微量な有害金属イオン、特にU(VI)を簡易かつ高感度に測定するための前処理-測定システムとして、Fig.4に示す機能的濃縮定量システムを開発した。本システムはミニカラム(5.0×50mm), ペリスタポンプ, 六方バルブ, サンプルインジェクタ, ICP-MS装置から構成し、それぞれをPTFEチューブ(内径:0.5mm)で接続した。キャリア溶液, サンプル(試料溶液), 超純水, 硝酸はペリスタポンプによりキレート樹脂を充填したミニカラムに送液する。Fig.4はペリスタポンプ(流量:1ml min⁻¹)により硝酸をICP-MSに送液し、その一方でキャリア溶液(0.5M酢酸アンモニウム水溶液, pH3)がミニカラムを通過して排出している状態を示している。サンプルの前処理と本システムの測定手順は次の通りである。六方バルブを切替えキャリア溶液をミニカラムに通液した状態で、サンプルをキャリア溶液の流れに注入し2分間送液して、サンプル中の目的金属イオンをミニカラムに濃縮する。その後、六方バルブを切替え1M硝酸をミニカラムに送液することでキレート樹脂に吸着した金属イオンを溶離し、そのままICP-MSに導入して測定を行う。ICP-MS測定によって得られるイオンカウントを時間によって積分し、その面積を計算する。その積分面積から検量線を作成する。その後1M硝酸をミニカラムに送液し、カラムに充填したキレート樹脂の洗浄の後、次の前処理-測定を行う。以上を9分以内に行うことができる。

3. 結果と考察

3.1 新規なキレート樹脂の開発

環境水中の微量な金属イオンを精度、確度、感度よく測定するためには、アルカリ金属イオンやアルカリ土類金属イオンのような高濃度の塩成分や重金属イオン等の無機物、フミン酸や界面活性剤等の有機物などのマトリックスの分離除去や、必要に応じて水試料中の極微量な金属イオンを濃縮することも必要である。

前処理の際に目的の金属イオンを濃縮する手段として、蒸発濃縮法や溶媒抽出法、固相濃縮法などがある。蒸発濃縮法は試料を加熱し溶媒を蒸発することによって目的成分を濃縮するため、目的成分と同時にマトリックス成分も濃縮され、マトリックス濃度の高い場合には析出する恐れもあり取り扱いが不便である。溶媒抽出法では目的の金属イオンにキレート試薬やイオン会合試薬を反応させ、その生成物の水相-有機相間の平衡反応を利用して有機相あるいは水相の一方に目的成分を濃縮する方法で、有機溶媒廃液の処理に困る。その一方でイオン交換樹脂やキレート樹脂を利用する固相抽出法は、水相中の金属イオンを固相に捕集・濃縮することができる。陽イオン交換樹脂では単純な静電的相互作用により水溶液内の金属イオンを吸着するため、目的の金属イオンと同時に他の陽イオン化学種も樹脂に吸着され、効果的な濃縮が望めない。キレート樹脂の場合、目的の金属イオンと選択的に錯形成する官能基を有するキレート樹脂を利用すれば、目的としている金属イオンのみを選択的に濃縮することができる。マトリックスを効率良く分離することができる。以上のことをふまえて本研究では、環境水中の有害金属イオン、特に微量なCu(II)を選択的に捕集・濃縮することが可能で、高濃度なマトリックス成分を効果的に分離することのできるキレート樹脂の新規合成を行った。

イミノ二酢酸基(IDA基)と有するキレート樹脂は多元素同時捕集用樹脂として幅広く利用されている。IDA基をもつキレート樹脂は水溶液内の金属イオン、例えば重金属元素やランタノイドの捕集・濃縮に有効である。しかしながら目的の金属イオンのみを高倍率に濃縮し、マトリックスを効果的に分離するためには高選択性のキレート樹脂の方が便利である。本研究では環境

水中の微量な Cu(II)を前濃縮するために、Cu(II)に対して選択的な錯形成能を有する試薬を官能基として導入したキレート樹脂の新規合成に取り組んだ。フェニルアルソノン酸とセリンが、Cu(II)と高選択的に錯形成すると考え、導入する試薬として候補にあげた。フェニルアルソノン酸はアルセナゾ I やアルセナゾ III の化学構造の一部であり、アルセナゾ系試薬はその化学構造内にあるアゾ基 ($-N=N-$) や水酸基 ($-OH$) なども錯形成に関与しており多座配位により多数の金属イオンとキレートを生成する。そこでそのような多数の金属イオンと錯形成する原因になるアゾ基や水酸基をもたないフェニルアルソノン酸であれば、単座配位により Cu(II)と選択的な錯形成が望めると予測した。また Cu(II)は他の金属イオンと比べて錯形成しやすい金属イオンであるために、錯形成能の弱いフェニルアルソノン酸を官能基として有するキレート樹脂であれば、選択的に水溶液内の Cu(II)を捕集・濃縮することが可能であると考えた。その一方で Cu(II)の選択的錯形成をねらってアミノ酸の一種であるセリンの化学構造に着目した。セリン是一級のアミノ基 ($-NH_2$) と水酸基 ($-OH$)、およびカルボキシル基 ($-COOH$) を有しており、そのアミノ基あるいは水酸基の位置でキレート樹脂基材（ここでは架橋キトサン基材）に容易に導入することが可能で、カルボキシル基と一級のアミノ基、あるいはカルボキシル基と二級のアミノ基 ($-NH-$) の Cu(II)への N, O 配位によって選択的に Cu(II)を吸着することができると推測した。一般にそのような配位は金属イオンに対して弱い錯形成能しかないので Cu(II)以外の金属イオンは樹脂に吸着されず、比較的錯生成しやすい Cu(II)のみが吸着できると考えた。以上のことから、フェニルアルソノン酸を架橋キトサン基材に導入したキレート樹脂（フェニルアルソノン酸型キトサン樹脂）と、セリンを導入した二種類のキレート樹脂（セリン型キトサン樹脂 (type 1) およびセリン型キトサン樹脂 (type 2)）を新規に合成した。

3.2 水溶液内金属イオンの捕集挙動と吸着メカニズム

開発した三種類のキトサン基材キレート樹脂の水溶液内金属イオンの捕集挙動を、バッチ式カラム法による ICP-MS 測定により詳細に評価した。本法による多元素捕集挙動を比較することによって、Cu(II)に対する選択吸着性能と他金属イオン吸着に関する新しい知見を得ることができた。

まずフェニルアルソノン酸型キトサン樹脂の水溶液内微量元素の捕集挙動評価の結果を Fig. 2 に示す。各元素を周期表の順に配置し、各グラフは横軸に検討した pH 条件、縦軸に回収率を表している。本キレート樹脂は弱酸性領域 (pH 5–6) において Cu(II) を定量的に樹脂に吸着することができた。他の重金属元素やランタノイドはほとんど捕集されず、水溶液内の微量 Cu(II)を効果

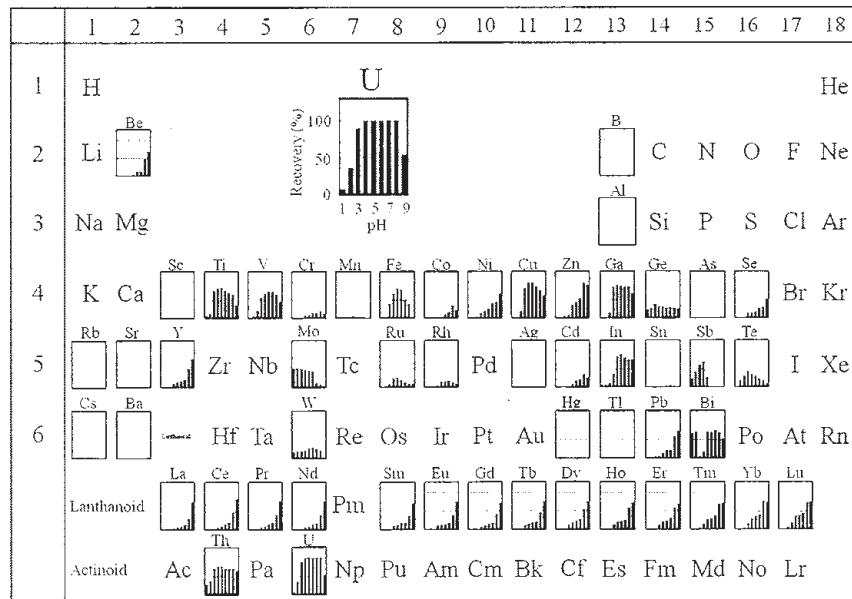


Fig. 2 Adsorption behavior of trace elements at pH 1–9 on phenylarsonic acid-type chitosan resin.

Sample, 10 ml; concentration of each element in the samples, 10 ng ml⁻¹; column, 1 ml of the resin (wet volume). Oxidation numbers of some specific elements in a sample solution are as follows; Be(II), B(III), Al(III), Sc(III), Ti(IV), V(V), Cr(VI), Mn(II), Fe(III), Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II), Ga(III), Ge(IV), As(III), Se(IV), Y(III), Mo(VI), Ru(III), Rh(III), Ag(I), Cd(II), In(III), Sn(II), Sb(III), Te(IV), W(VI), Hg(II), Tl(I), Pb(II), Bi(III), Ln(III), Th(IV), U(VI). Elements with small Fig.s were tested ones and each small Fig.s scale was represented by the upper example of uranium.

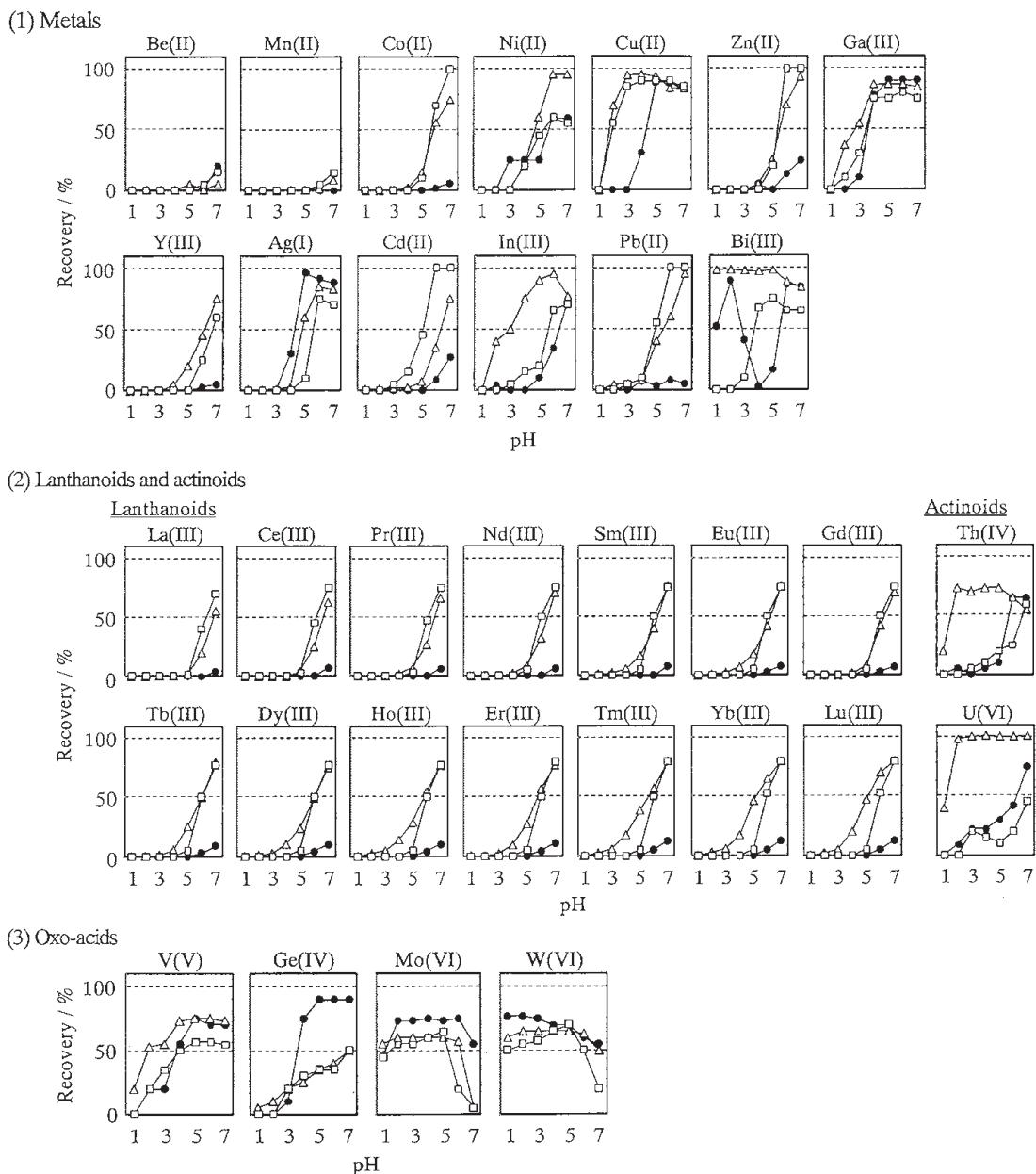


Fig. 3 Adsorption behavior of trace elements at pH 1–7 on chitosan resins.
Sample, 10 ml; concentration of each element, 10 ng ml⁻¹; column, 1 ml; eluent, 10 ml of 3 M nitric acid for Bi(III), 1 M nitric acid for other elements.

●, Cross-linked chitosan resin; △, serine-type chitosan resin (type 1); □, serine-type chitosan resin (type 2).

的に捕集することに成功した。ほかに注目すべきは、U(VI)が幅広いpH範囲(pH 4–8)で、Cu(II)よりも選択性的かつ定量的にフェニルアルソノ酸型キトサン樹脂に捕集・濃縮可能な点である。本樹脂の水溶液内微量元素U(VI)の濃縮性能はpH 5の条件下で最も効果的で、高濃度の塩成分や無機物、有機物などのマトリックスを含む実際の海水中のU(VI)を捕集することも可能で、その吸着容量は83 mg g⁻¹と大きく、合成したフェニルアルソノ酸型キトサン樹脂が実用性能の高いU(VI)捕集剤であることを実証した。また、そのようにCu(II)あるいはU(VI)に対して高い選択性吸着性能を有する根拠として、キトサン基材に導入したフェニルアルソノ酸基によるCu(II)あるいはU(VI)への単座配位と、キトサン自身の有するアミノ基の金属イオンへの配位によって、効果的な選択性吸着性能を付加することができたと考察する。

次に合成した二種類のセリン型キトサン樹脂と、基材である架橋キトサンの水溶液内微量元素の捕集挙動比較評価の結果をFig. 3に示す。金属イオン、ランタノイドとアクチノイド、オキソ酸のグループ毎にわけ、各グラフは横軸にpH、縦軸に回収率を示している。イミノ二酢酸基(IDA基)を有するキレート樹脂は、キレート官能基として-N(-CH₂-COOH)₂を有しており、

水溶液内の金属イオンと N, O の三座配位による五員環形成によって Cu(II)のみならず他金属イオンと非常に安定なキレートを生成し、多元素同時捕集・濃縮に効果的であることが知られている。キレート生成しやすい Cu(II)に対する吸着性能を維持し、キレート生成力の弱い他金属イオンに対する吸着力を低下させるためには、IDA 基のような三座配位ではなく、N, O 配位の二座配位（セリン型キトサン樹脂 (type 1) : $-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{COOH}$ あるいはセリン型キトサン樹脂 (type 2) : $-\text{NH}-\text{CHR}-\text{COOH}$ ）により Cu(II)以外の金属イオンに対するキレート生成能を低下させた化学構造を有するキレート官能基をもったキレート樹脂は Cu(II)の選択吸着性能発現に有効であると推測した。以上のことから、セリン型キトサン樹脂 (type 1) およびセリン型キトサン樹脂 (type 2) を新規に合成した。基材である架橋キトサンはそれほど金属イオンの捕集に優れていない。しかしその一方で、どちらのセリン型キトサン樹脂 (type 1 および type 2) も弱酸性領域において Cu(II)を捕集することができ、他の金属イオンはほとんど捕集されず、Cu(II)に対する高い選択吸着性能を見出した。アミノ酸であるセリンをキレート官能基として活用した例はこれまでになく、新しい発見であった。他に注目すべきは、セリン型キトサン樹脂 (type 1) の Bi(III)と U(VI)に対する捕集性能である。本樹脂は pH 1–5 で Bi(III)を、pH 2–7 において U(VI)を定量的に捕集可能である。特に U(VI)の捕集・濃縮性能は極めて優れていた。架橋キトサン基材に導入したセリンの一級のアミノ基とカルボキシル基による金属イオンへの N, O 配位による安定な五員環キレートの生成と、キトサン自身のアミノ基の金属イオンへの配位により、そのような優れた捕集性能を発現できたと考えられ、インパクトのある学術的成果を得ることができた。

3.3 機能的濃縮定量システムの開発と応用

環境水中微量元素を分析するためには、適切な前処理を施して測定し、データを解析することが肝要である。その前処理方法は大きく二分するとバッチ法とオンライン法の二種類の手法がある。バッチ式前処理法は人の手操作により試料を前処理する方法で、同時に多数の試料を扱うことができる反面、前処理操作の際に周囲からのコンタミネーションや煩雑な操作を伴い、人的なミスをする可能性もある。その一方でオンライン式前処理法は、試料の前処理を閉鎖系で行うため試料の汚染に伴う測定エラーの心配はほとんどなく、測定者の技術レベルに左右されにくい便利な手法である。本研究では、環境調査活動における水試料中の微量元素、特に有害な金属イオンを簡易に分析することのできるオンライン前処理を組み込んだ機能的濃縮定量システムの開発に取り組んだ。

前述の通り開発した 3 種類のキレート樹脂のうち、セリン型キトサン樹脂 (type 1) は幅広い pH 範囲で水溶液内の微量な U(VI)を選択的に捕集・濃縮することができることに着目し、本システムの前処理剤として活用した。Cu(II)に比べて U(VI)は、生体や環境に対して極めて高い有害性を有し、その環境水中の溶存量の把握や動態を解明することは学術的にも社会的にも重要である。開発した機能的濃縮定量システムの概略図を Fig. 4 に示す。バッチ式カラム法で行う前処理操作の各過程（樹脂の洗浄、pH 条件の調整、金属イオンの樹脂への吸着、マトリックスの分離、金属イオンの溶離・回収）を、ペリスタルポンプにより各溶液（洗浄溶液、pH 調整溶液、試料溶液、溶離液）をキレート樹脂充填ミニカラムに送液し、各溶液の送液切換えを六方バルブで行い、目的金属イオンの濃縮された溶離液をそのまま分析装置に送り込み測定することによって、測定のバラツキとコンタミネーションを抑制することに成功した。本システムを用いて実際の海水試料中に溶存している微量な U(VI)を高感度定量することにも成功しており、実用化に向けた成果も得ることができた。

本機能的濃縮定量システムは、装着しているミニカラムに充填する固相抽出剤（ここではキレート樹脂）を取り替えることで、他の金属イオンの前濃縮に活用することも可能で、その適用範囲は大きい。あるいは本システムのポンプ制御や、バルブ切替え等をコンピュータ接続によってプログラム制御できるとも考えられ、前処理と測定の自動化が可能である。また

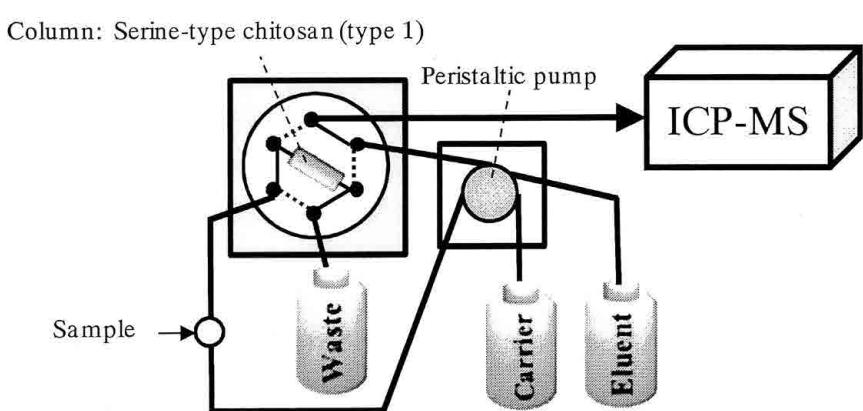


Fig. 4 Schematic diagram of flow injection (FI) system coupled with ICP-MS.

環境調査や環境分析の現場では、一度に多数の試料を扱うこともしばしばで、例えば本システムのポンプをシリニジポンプに換え、複数のバルブとカラムをシステムに組み込みシーケンシャルインジェクションの原理に基づいて前処理するシステムを新たに構築すれば、試料の連続測定によって分析のスループットを飛躍的に向上させることも可能で、今後の発展性を秘めており、その波及効果は非常に大きい。以上の通り高性能な機能的濃縮定量システムの開発に成功した。

4. 結言

本研究は、(1) 水溶液内の微量な Cu(II)および他有害金属イオンを選択的に捕集・濃縮するための新規なキレート樹脂の開発、(2) 水溶液内金属イオン捕集挙動の詳細評価とその吸着メカニズムの解明、(3) 環境調査活動のための機能的濃縮定量システムの開発に成功し、さらに環境負荷の少ないバイオマスを学術的研究分野において活用し、その有用性を実証することができた。

本研究で解明した水溶液内金属イオンの吸着メカニズムの解明結果をもとに、別の金属イオンを対象とした選択吸着性能を有するキレート樹脂を開発することも可能であり、キレート樹脂開発や微量元素分析の研究分野に与える波及効果は大きい。また開発した機能性濃縮定量システムは、測定前処理の自動化とハイスループットなシステム構築も可能であり、その更なる発展と実用化が期待できる。

以上の通り、キレート樹脂の新規合成と、その活用による魅力的な機能的濃縮定量システムの開発に成功した。

研究成果

学術論文

1. Synthesis of Chitosan Resin Possessing A Phenylarsonic Acid Moiety for Collection/Concentration of Uranium and Its Determination

by ICP-AES

K. Oshita, K. Seo, A. Sabarudin, M. Oshima, T. Takayanagi, S. Motomizu

Anal. Bioanal. Chem., 390, p.1927-1932 (2008)

2. Synthesis of Chitosan-Based Resins Functionalized with Serine Moiety and Its Application to Determination of Trace Amounts of Uranium by FI/ICP-MS System

K. Oshita, T. Takayanagi, M. Oshima, S. Motomizu

J. Flow Injection Anal., in press

学会発表

1. フェニルアルソン酸化学修飾キトサン樹脂の合成と環境水中の微量ウランの定量

大下浩司, 高柳俊夫, 大島光子, 本水昌二

日本分析化学会第 56 年会, p. 135, 2007 年 9 月, 徳島

2. Synthesis of Chitosan-Based Resins Functionalized with Serine Moiety and Its Application to Development of FI/ICP-MS System for Trace Metal Analysis

K. Oshita, T. Takayanagi, M. Oshima, S. Motomizu

International Symposium on Flow-Based Analysis VII (ISFBA-2007), December 2007, Chiang Mai

謝辞

本研究の一部は八雲環境科学振興財団より補助を頂き実施しました。心より感謝申し上げます。

紫外線下でのタバコ副流煙曝露が生体に及ぼす影響

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科（薬学系）

根岸友恵

1. はじめに

我々の環境中には生体に傷害を与える多くの化学物質や物理的な因子が存在する。紫外線への曝露は地球上に生存する生物にとって避けられない環境である。一方大気中に存在する多くの物質も紫外線に曝されており、その反応生成物が生体に影響を及ぼしている可能性も高い。光化学スモッグはこの例である。太陽光紫外線のうち、短波長紫外線（UVC や UVB）については研究が進んでいるが、地上に届いている紫外線の 9 割を占める長波長紫外線（UVA）の傷害は未解明の部分も多い。また、これまででは紫外線単独での生物に対する作用について研究されてきたが、紫外線と大気成分との反応生成物、特に UVA と大気汚染物質との反応生成物が我々の環境中には多く存在すると考えられる。そのような環境、あるいは生成物が生物にどのような影響を及ぼしているかについて報告されている例はほとんどない。我々もこれまで、UVA 単独照射での細胞毒性や遺伝毒性について研究を行い、体細胞突然変異が誘導されること、酸化傷害が引き起こされている可能性があることなどを明らかにしてきた（1, 2）。一方、大気汚染のモニタリングにショウジョウバエを用いることを検討する目的でタバコ副流煙（Environmental cigarette smoke: ECS）の生物影響を調べ、副流煙曝露は活性酸素の発生をもたらしていることを示唆する結果を得ている（3）。本研究では、これまでの研究をさらに展開すると同時に、大気汚染物質の中でも身近な汚染物質である ECS に注目して、紫外線、特に長波長紫外線（UVA）との共同作用が生物にどのような影響を及ぼしているかを明らかにすることを目的として実験を行った。まず、タバコ副流煙単独での生物影響を次世代への影響も含めて明らかにし、紫外線存在下でその影響がどのように修飾されるかを調べる足がかりとした。

2. 方法と材料

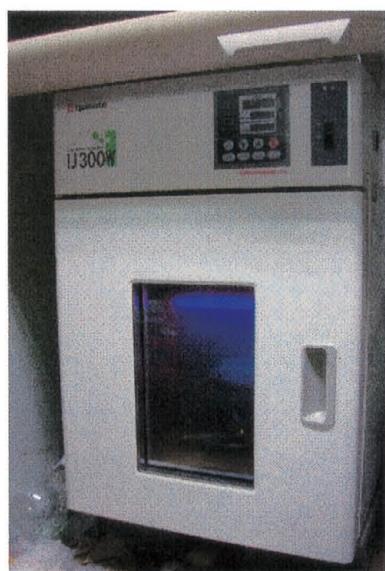
2・1 使用したショウジョウバエ

野生株：Oregon-R

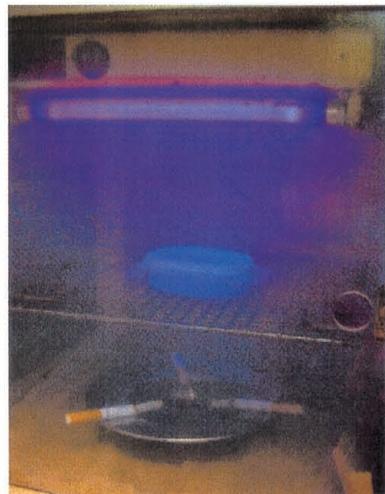
尿酸欠損株：*y v ma-l*（尿酸合成経路に障害を持ち、尿酸が生成できないために酸化的傷害に感受性が高い）

2・2 曝露方法

ナイロンメッシュでふたをしたプラスチックボックス中に、各ショウジョウバエ株の3齢幼虫約500匹を、乾燥を防ぐために適量の0.25Mスクロースを入れた。これを図1に示すように、25°Cに保持したインキュベーター中で、常時3本のタバコが燃えているように20分毎に新しいタバコを入れ替えながら、3時間あるいは6時間の曝露を行った。紫外線照射する場合は、天井に取り付けた6Wのライトを点灯した。UVAの場合はブラックライト（ピーク波長：365nm）を3本用い、UVBの場合はUVBライト（ピーク波長：312nm）を1本用いた。曝露後の幼虫は流水でよく洗った後、インスタント培地（Formula 4-24）に移し25°Cで成虫になるまで飼育した。一部の幼虫は8-hydroxydeoxyguanosine(8-OHdG)ならびに尿酸、グルタチオン、脂質過酸化（ヘキサノイルリジン）の定量のために、曝露直後に液体窒素で凍結して-75°Cで保存した。図1にはブラックライトを点灯した場合のインキュベーターの外観と内部を示している。



ドラフト内のインキュベーター



インキュベーター内部
(ブラックライトを点灯した状態)

図1. タバコ煙への曝露

2・3 各種酸化損傷の指標物質の定量

2・3・1 8-Hydroxydeoxyguanosine

凍結保存した幼虫約 0.5 g から DNA Extractor WB Kit(和光純薬)を用いて DNA を抽出し、ヌクレオシドに酵素分解した後 HPLC で分離し、deoxyguanosine (dG) を UV 検出器 (290 nm) で、8-OHdG を電気化学検出器で検出して dG あたりの 8-OHdG で示した。HPLC 条件は以下のとおりである。

Column: Shiseido CAPCELL PAK C18, 4.6 mm x 150 mm (Shiseido), 32°C

Solvent: 10 mM NaH₂PO₄-8% MeOH, 50 mg EDTA · 2Na

Flow rate: 1.0 ml/min

Detector: dG; Tosho UV-8000, 8-OHdG; EICOM-300

2-3-2 尿酸

凍結保存した幼虫 30 匹を 0.1 M リン酸緩衝液 (pH7.0、20%グリセロール) 中でホモジナイズし、14,000 rpm, 4°C, 10 min で遠心した上清を pore size 0.2 μm のフィルター (DISMIC-13 cp) でろ過したろ液を HPLC サンプルとした。サンプルは測定まで-75°Cで保存した。尿酸標準液の 300 nm のピークから尿酸量を測定した。サンプル中のタンパク質含量を Lowry 法で測定し、タンパク質 1 mg あたりの尿酸量を求めた。HPLC の条件は以下に示す通りである。

Column: Inertsil ODS-3 octadecylsilane column of 4.6 x 250 mm (GL Science), 40°C

Solvent: 20 mM ammonium acetate buffer (pH 5.9)

Flow rate: 1.0 ml/min

Detector: Shimadzu SPD-M10Avp UV-vis photodiode-array detector

2-3-4 ヘキサノイルリジン

凍結保存した幼虫約 100 匹を 0.1% BHT 存在下 PBS 中でホモジナイズし、14,000 rpm の遠心上清に α-キモトリプシンを加えて 37°Cで一晩タンパク質を分解した。限外ろ過フィルター (VIVASpin 500 ザルトリウス) を用いて遠心ろ過したろ液を、ヘキサノイルリジン測定 ELISA キット (日研ザイル) を用いて測定した。

2-3-5 グルタチオン

凍結保存した幼虫約 100 匹を 5%スルホサリチル酸溶液中でホモジナイズし、8000 x g の遠心上清をサンプルとして、総グルタチオン測定キット (同仁化学) のプロトコールにしたがって総グルタチオン量を測定した。

3. 結果

最初にタバコ副流煙単独曝露の影響にを明らかにする実験を行い、曝露の影響が現れる条件を確立した。副流煙には活性酸素やラジカルが多量に含まれていることが明らかにされているので、酸化傷害の可能性を考慮して、酸化傷害に感受性である尿酸欠損株 (*y v ma-l*) と野生株を用いて、曝露個体の生存率を調べた。用いた幼虫の尿酸含量は野生株: 11 ± 3 nmol urate/mg protein, *y v ma-l*: 0.3 ± 0.1 nmol urate/mg protein であった。非曝露のショウジョウバエの羽化率を 100% として、曝露幼虫の羽化率と比較すると、6 時間曝露で野生株では有意な差は見られなかったが、尿酸欠損株 (*y v ma-l*) では 30% にまで低下した。また、野生株と尿酸欠損株の差は、3 時間曝露においても観察され、その差は 6 時間曝露で大きくなつた。(図 2)。

このとき、本研究で調べたいずれの酸化傷害の指標も曝露前後で顕著な変化は見られなかつた。なお、脂質過酸化の初期段階の指標としたヘキサノイルリジンは検出限界以下であった。

野生株の尿酸量については 6 時間曝露後の濃度が 17.8 ± 2.5 nmol urate/mg protein と増加している結果が得られた。

副流煙の生殖毒性について調べるため、曝露した幼虫から羽化してきたハエを採取し、曝露雌×曝露雄、曝露雌×非曝露雄、非曝露雌×曝露雄、非曝露雌×非曝露雄、の 4 種類の交配を行つた。各交配において 1 週間の合計産卵数には有意な違いは見られなかつた (Oregon-R: 約 500 個, *y v ma-l*: 約 1000 個) が、孵化した幼虫の羽化率には大きな差が見られた。

図 3 に示すように、*y v ma-l* 株における副流煙曝露同士の卵の羽化率は $55.2 \pm 3.9\%$ となり、非曝露同士の羽化率 $81.5 \pm 3.6\%$ に比べて 30% の減少が観察された。さらにいづれの株でも曝露雌を使用した交配の卵の羽化率に有意な低下が見られ、副流煙曝露が特に雌の生殖細胞に対してより大きな影響を与えている

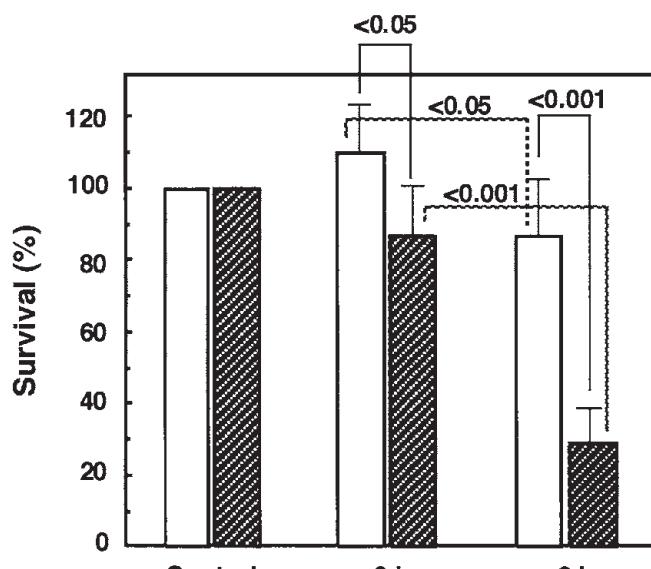


図 2 タバコ副流煙曝露の生存率する影響
(3 h は 6 回の実験、6 h は 15 回の実験)

可能性が示唆された。

紫外線ランプの照射条件を検討する目的で、図1のようにインキュベーターの天井にランプを点灯して3齢幼虫の生存率への影響を調べた。UVB (312 nm ピークランプ、プラスチックカバーで300 nm 以上の光を透過する用に設定)では1本のランプで約1.8 W/m²の照射を行い、UVA (365 nm ピークブラックライト)では3本のランプを用いて約4W/m²の条件で照射した。UVBでは2時間後で幼虫はすべて死んでおり、条件の再検討が必要である。UVAでは6時間後でも致死効果は見られなかったので、この条件でタバコ副流煙との同時曝露を行うことが出来ると考えられる。現在までのところ、UVAとの共同作用について確定的な結果は得られていないが、野生株においても尿酸欠損株と同程度の致死作用が見られる可能性が示唆されている。

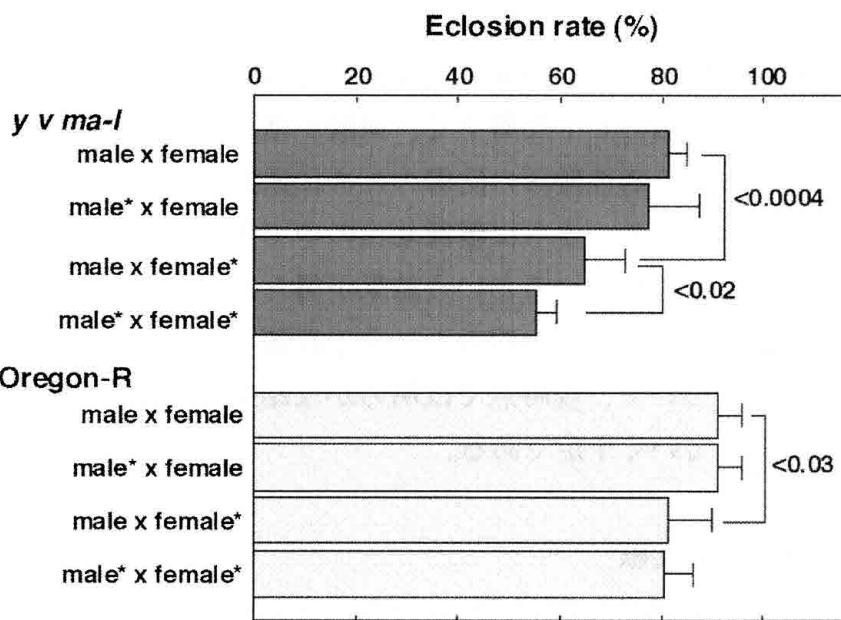


図3 副流煙曝露が次世代の羽化率に与える影響

*は曝露した幼虫から羽化した成虫、曝露、非曝露同士は6回の実験、片方曝露は3回の実験

4. 考察

尿酸欠損株は活性酸素を発生するパラコートやX線に感受性であることは我々の実験でも明らかであり(2)、尿酸が抗酸化剤であることは既に多くの報告がある。副流煙曝露によって尿酸欠損株において致死作用が高かったことから、副流煙による生存率低下には酸化傷害が関与していると考えられた。しかしながら、DNAの酸化損傷である8-OHdG量に変化が見られなかつたので、6時間の副流煙単独曝露では遺伝毒性は誘起されないと考える。従って致死作用には細胞膜等の細胞成分の酸化傷害による可能性が示唆されるが、どのような

反応が起きているかを明らかにすることが今後の課題である。今回行った予備実験では、野生株の尿酸値は副流煙曝露後に増加している結果が得られた。紫外線照射後のヒト皮膚中で、尿酸が増加しているという報告（4）を考慮すると、これは活性酸素の防御のために尿酸合成が活発になり、結果的に増加すると考えられる。さらに曝露幼虫の中で生殖細胞も損傷を受け、子孫の正常な発生が妨害されているという結果が得られており、体細胞と同じ変化が引き起こされているかどうか明らかにする課題も残されている。紫外線と副流煙の共同作用について、現時点では明らかな結果が未だ得られていないので、引き続き検討していく予定である。

5. 参考文献

- (1) Oxidative DNA Damage Induced by 364-nm UVA Laser in Yeast Cells (2006)
Negishi, K., Higashi, S., Nakamura, T., Otsuka, C., Watanabe, M., Negishi, T.,
Genes & Environment, 28, 74-76.
- (2) Levels of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine increase in Drosophila larval DNA after
irradiation with 364 nm laser-light but not X-ray (2007) Negishi, T., Kawai, K.,
Arakawa, R., Higashi, H., Nakamura, T., Watanabe, M., Kasai, H., Fujikawa, K., ,
Photochem. Photobiol., 83, 658-663.
- (3) Lethal effects of exposure to environmental cigarette smoke on Drosophila larvae
and its damage transmitted to the next generation (submitted) Hamatake, Y.,
Morita, A., Yuma, Y., Okamoto, K., Arimoto, S., Suzuki, T., Kasai, H., Kawai, K.,
Negishi, T..
- (4) Effect of sunlight exposure and aging on skin surface lipids and urate (2003)
Hayashi, N., Togawa, K., Yanagisawa, et al., *Exp. Dermatol.*, 12, 13-17.

中国地方のブナ林における林床環境の空間的不均質性
廣部 宗¹・野澤正行²・川上悠助²・近藤順治¹・坂本圭児¹・山中典和³
1:岡山大学大学院環境学研究科
2:岡山大学農学部
3:鳥取大学乾燥地研究センター

はじめに

森林動態において、更新過程の一部である実生の発生や稚樹の成長は、今後の森林の構造を決定する重要な要因である。実生および稚樹の生存や成長は、林床環境と密接に関係しているが(Nicotra et al. 1999)、林床環境は時空的に大きな変動を示し、非常に不均質であるため(Brady and Weil 1999)、空間的な不均質性(局所的な性質の違い)を考慮することが重要である。本研究では、大山のブナ・ミズナラが優占する冷温帶性落葉広葉樹二次林における林床の光環境および土壤環境の空間依存性を解析し、空間的不均質性を定量化することを目的とする。空間的不均質性の定量化には空間統計学的手法の一つにセミバリオグラムを用いる(Rossi et al. 1992; Goovaerts 1998)。

方法

調査地

調査地は鳥取県西伯郡大山町内(大山の南斜面)の大山国有林である。大山国有林内の冷温帶落葉広葉樹二次林(N35° 21' E133° 32')を調査林分とした。

調査林分の標高は約 970m、傾斜の方向は南南西で斜度 11~12 度の緩傾斜である。調査林分内に 40m×240m のベルトランセクトを斜面横断方向に設置した。ランセクトを 96 個の 10m×10m の格子に区切り、合計 125 地点の格子点を調査地点とした。

林床環境

調査区における林床の光環境を明らかにするため、全天空写真を撮影、解析した。撮影は 125 の調査地点の高さ 70cm と 130cm で行った。全天空写真は落葉性樹木の展葉が終了し、落葉期に至るまでの葉量が最大と思われる夏期(2007 年 9 月 11 日)に撮影した。解析項目は開空率と 2007 年 6 月 1 日～9 月 30 日までの推定積算 PAR(光合成有効放射)から算出される相対光量子束密度(rPPFD:relative Photosynthetic photon Flux Density)である。撮影した全天空写真は画像解析ソフト(LIA32 for Win32)を用いて解析した。

次に、土壤環境を明らかにするため、125 調査地点で 2007 年 9 月 10 日に土壤を採取した。各地点で鉱物質土壤表層 0-10cm 深を移植ごとにより採取し、ビニール袋に入れ、4°C 以下に保ちつつ、実験室に持ち帰った。

土壤試料は 2mm のふるいにより篩別し、根や粗大有機物を取り除き供試試料とした。未乾燥の供試試料の一部を用いて、含水比、無機態窒素濃度、及び見かけの窒素形態変化特性を分析した。また残りの供試試料を風乾し、40°C に設定した対流式乾燥機で 48 時間以上乾燥させた後、全炭素・全窒素濃度、有効態リン酸濃度、交換性塩基濃度、土壤 pH を分析した。

統計解析

林床の光環境及び土壤環境の空間的不均質性を定量化するため空間統計手法を用いた(Robertson et al. 1988)。セミバリアンスの算出とセミバリオグラムへのモデルの適合は GS⁺を用いて行った。セミバリアンス $\gamma(h)$ はそれぞれのラグクラス h について以下の式により算出した:

$$\gamma(h) = \frac{1}{2N} \sum_{i=1}^{N(h)} (Z_i - Z_{i+h})^2$$

ここで $N(h)$ は距離 h だけ離れた全ての組み合わせの数を、 $z(x_i)$ は地点 x_i で測定された分析値を、また $z(x_i+h)$ は地点 x_i から h だけ離れた地点で測定された分析値を示す。

得られたセミバリアンスデータに対するセミバリオグラムモデルの当てはめは、残差平方和をモデル適合の指標として、球形モデル、指数モデル、直線モデル、ガウシアンモデルのいずれかに当てはめられた。ラグ間隔が大きくなるに従って、組み合わせの数が減少し、セミバリアンス値の信頼性が低下するため、全てのセミバリオグラムは 10m のラグ間隔で 120m まで計算した(最大ラグの 50%)。この結果、セミバリアンスを算出するための測定地点ペア数は、最小で 0-10m の 220 ペア、最大で 40-50m の 704 ペアであった。セミバリオグラムモデルのパラメーターは林床の光環境および土壤環境特性の空間依存性の大きさと、空間的自己相関のスケールを評価した(Jackson and Caldwell, 1993; Robertson, 1987; Robertson et al., 1988)。ナゲット(C_0)は空間依存性がない変動であり、解析した最小の距離より小さなスケールでの空間依存性を持つ可能性もあるが、説明不能の可能性もあり、誤差を示している可能性もある(Isaaks and Srivastava, 1989)。空間的自己相関のスケールはレンジ(m)で示される。構造バリアンス(C)と総サンプル変動(シル: $C+C_0$)との比($C/C+C_0$)は空間依存性の大きさを評価するために算出した。

また各測定項目間の相関関係を明らかにするためピアソンの積率相関を算出された(STATISTICA)。

結果

林床の光環境と土壤環境

高さ 70cm および 130cm における林冠開空率は、それぞれ 6.53-18.1、8.41-21.2 の範囲であり、平均は 11.8% および 13.0%、変動係数は 20.3% および 18.4% となり、変動係数を除いて高さ 130cm のほうが高い値を示した(表1)。TSF は、それぞれ 8.70-36.0、9.70-40.0 の範囲であり、平均は 20.8% および 22.4%、変動係数は 27.1% および 24.7% となり、変動係数を除いて高さ 130cm のほうが高い値を示した。DSF は、それぞれ 8.20-38.3、8.90-42.5 の範囲であり、平均は 21.2% および 22.9%、変動係数は 28.7% および 26.0% となり、変動係数を除いて高さ 130cm のほうが高い値を示した。ISF は、それぞれ 9.40-29.0、11.6-32.3 の範囲であり、平均は 18.2% および 19.6%、変動係数は 20.9% および 19.3% となり、変動係数を除いて高さ 130cm のほうが高い値を示した。

鉱物質土壤層 0-10cm 深の含水比は 0.21-3.91 の範囲であり、平均値は 1.05g-water·g-soil⁻¹、変動係数は 59.6% であった(表2)。硝酸態窒素濃度、アンモニア態窒素濃度および全無機態窒素濃度はそれぞれ 0-52.9、0.58-43.8、0.86-57.7 の範囲となり、平均値は 1.98mg-N·kg-soil⁻¹、5.91 mg-N·kg-soil⁻¹ および 7.89 mg-N·kg-soil⁻¹、変動係数は 321%、87.1% および 108% となった。見かけの窒素無機化速度および硝化速度は、それぞれ 0.38-13.8、-0.02-9.70 の範囲となり、平均値は 3.42 mg-N·kg-soil⁻¹·day⁻¹ および 1.11mg-N·kg-soil⁻¹·day⁻¹、変動係数は 65.5% および 157% であった。全炭素濃度、全窒素濃度および C/N 比は、それぞれ 26.8-450、2.96-21.3、8.94-25.1 の範囲となり、平均値は 147g-C·kg-soil⁻¹、9.22g-N·kg-soil⁻¹ および 15.1、変動係数は 64.8%、51.0% および 19.0% であった。鉱物質土壤層 0-10cm 深の有効態リン酸濃度は 10.2-110 の範囲となり、平均値は 26.1mg-P·kg-soil⁻¹、変動係数は 55.9% であった。カルシウム・マグネシウム・ナトリウムおよびカリウム濃度は、それぞれ 40.7-4830、52.9-489、7.72-56.0、37.5-369、平均値は 390 mg-Ca·kg-soil⁻¹、151 mg-Mg·kg-soil⁻¹、22.6 mg-Na·kg-soil⁻¹ および 135 mg-K·kg-soil⁻¹、変動係数は 160%、64.7%、46.7% および 53.6% であった。土壤 pH は 3.72-5.40 の範囲で酸性土壤であることを示した。また平均値は 4.58、変動係数は 9.00% であった。

林床環境の空間的不均質性

表3にセミバリオグラムモデルの型とモデルパラメーターを示す。直線モデルが当てはめられた測定項目のモデルパラメーターについては、解析した空間規模での参考値としてカッコ付きで示した。林床の光環境に関する測定項目については、高さ 70cm の開空率セミバリアンスには指数モデル、130cm の開空率のセミバリアンスには球形モデルが当てはめられた。空間依存性の程度を表わす $C/(C+ C_0)$ はそれぞれ 0.59、0.50 となり空間的自己相関の規模はどちらも最長の解析規模を上回った ($> 120m$)。高さ 70cm と 130cm の TSF のセミバリアンスには球形モデル、および直線モデルが当てはめられ、 $C/(C+ C_0)$ の値はそれぞれ 0.50、0.20 であった。空間的自己相関の規模はどちらも最長の解析規模を上回った ($> 120m$)。高さ 70cm と 130cm の DSF のセミバリアンスには指数モデル、および直線モデルが当てはめられた。空間的自己相関の規模はどちらも最長の解析規模を上回った ($> 120m$)。高さ 70cm と 130cm の ISF のセミバリアンスには球形モデル、および直線モデルが当てはめられ、 $C/(C+ C_0)$ の値はそれぞれ 0.57、0.37 であった。空間的自己相関の規模はどちらも最長の解析規模を上回った ($> 120m$)。

土壤環境に関する測定項目については、土壤含水比のセミバリアンスには指数モデルが当てはめられた。空間依存性の程度を示す $C/(C+ C_0)$ の値は 0.90 であった。空間的自己相関の規模は 19.5m を示した。

アンモニア態窒素濃度および無機態窒素濃度のセミバリアンスには指数モデル、硝酸態窒素濃度には直線モデルが当てはめられた。空間的自己相関の規模は、それぞれで最長の解析規模を上回った ($> 120m$)。 $C/(C+ C_0)$ の値について、アンモニア態窒素濃度および無機態窒素濃度はそれぞれ 0.50、0.65 となり、解析規模内での硝酸態窒素濃度は 0.40 であった。

窒素無機化速度のセミバリアンスには指数モデル、硝化速度のセミバリアンスには、ガウシアンモデルが当てはめられた。 $C/(C+ C_0)$ の値は、それぞれ 0.94、0.70 であった。空間的自己相関の規模について、窒素無機化速度は 21.6m、硝化速度は最長の解析規模を上回った ($> 120m$)。

全炭素濃度、全窒素濃度及び C/N 比のセミバリアンスには、指数モデルが当てはめられた。 $C/(C+ C_0)$ の値は、それぞれ 0.91、0.91、0.68 であった。空間的自己相関の規模について、全炭素濃度は 22.8m、全窒素濃度は 19.5m、C/N 比は最長の解析規模を上回った ($> 120m$)。

有効態リン酸濃度のセミバリアンスには直線モデルが当てはめられた。空間的自己相関の規模は最長の解析規模を上回った ($> 120m$)。解析範囲内での $C/(C+ C_0)$ の値は、0.12 であった。

交換性カルシウム・マグネシウム・ナトリウムおよびカリウム濃度のセミバリアンスには直線モデルが当てはめられ、空間的自己相関の規模は最長の解析規模を上回った ($> 120m$)。解析範囲内での $C/(C+ C_0)$ の値は、それぞれ 0.40、0.16、0.17、0.22 であった。

土壤 pH のセミバリアンスにはガウシアンモデルが当てはめられた。 $C/(C+ C_0)$ は 0.88 となり、空間的自己相関の規模は 13.9m であった。

林床の光環境、土壤環境として分析測定した各特性値間の相関係数を表4に示す。林床の光環境に関しては、各特性値間で有意な正の相関関係が見られ、特に 70cm の林冠開空率と ISF、および TSF と DSF、130cm の林冠開空率と ISF、および TSF と DSF で 0.938～0.998 と高い相関係数であった。その他の林床の光環境の特性値間は 0.257～0.777 と弱い正の相関であった。

土壤環境に関しては、特に土壤含水比は全炭素・全窒素濃度、交換性マグネシウム濃度および交換性カリウム濃度間で 0.802～0.942、無機態窒素濃度と硝酸態窒素濃度は 0.797、全炭素濃度は全窒素濃度、交換性マグネシウム濃度および交換性カリウム濃度間で 0.800～0.970、全窒素濃度は交換性マグネシウム濃度および交換性カリウム濃度間でそれぞれ 0.807、0.872 の強い正の相関関係を示した。土壤 pH は土壤含水比、全炭素濃度および全窒素濃度との間に -0.728～-0.750 と強い負の相

関関係を示した。その他の土壤環境の特性値間に関しては、土壤含水比は窒素無機化速度、C/N 比、および交換性ナトリウム濃度間で 0.598～0.640、アンモニア態窒素濃度は無機態窒素濃度、交換性カルシウム濃度、および交換性マグネシウム濃度間で 0.504～0.668、硝酸態窒素濃度と硝化速度は 0.733、無機態窒素濃度は窒素無機化速度、硝化速度、交換性カルシウム濃度、および交換性マグネシウム濃度間で 0.569～0.730、窒素無機化速度は硝化速度、全炭素・全窒素濃度、交換性マグネシウム濃度、および交換性カリウム濃度間で 0.519～0.629、硝化速度と交換性カルシウム濃度は 0.636、全炭素濃度は C/N 比と交換性ナトリウム濃度間で、それぞれ 0.747、0.699、全窒素は C/N 比と交換性ナトリウム間でそれぞれ 0.609、0.658、C/N 比は交換性マグネシウム、ナトリウムおよびカリウム間で 0.516～0.553、有効態リン酸濃度と交換性マグネシウム濃度は 0.551、交換性カルシウムと交換性マグネシウム濃度は 0.608、交換性マグネシウムと交換性ナトリウム濃度は 0.574、交換性ナトリウムと交換性カリウム濃度は 0.729 となり弱い正の相関関係であった。さらに土壤 pH は窒素無機化速度、硝化速度、C/N 比、交換性マグネシウム、ナトリウム、およびカリウム濃度間で -0.526～-0.652 と弱い負の相関関係であった。

林床の光環境と土壤環境の特性値間の相関関係に関しては、有意な相関係数を示している組み合わせはあるが、どれも 0.500 以下もしくは -0.500 以上であるため正負の相関関係は見られなかった。

考察

本研究では、ブナ、ミズナラが優占する冷温帶落葉広葉樹二次林において、林床の光環境および土壤環境を調査し(表1、2)、それらの空間的不均質性を定量化した(表3)。プロットレベルの平均的な林床の光環境はこれまでの研究例と比較してやや明るい光環境であることが示唆された(Tateno and Takeda 2003)。また、土壤環境は一般的な火山灰性黒色土の特徴を有していると示唆された(河原・堤 1968, 河田 1977, 片桐 1983, 河田 1989)。

次に林床の光環境および土壤環境の空間的不均質性に注目すると(表1、2)、変動係数から林床の光環境は空間変動が比較的小さく(18.4–28.7%)、土壤環境は C/N 比と pH 以外は空間変動が比較的大きいことが分かった(46.7–321%)。特に硝酸態窒素濃度が 321%、アンモニア態窒素濃度が 87.1%、無機態窒素濃度が 108%、硝化速度が 157%、交換性カルシウム濃度が 160%と 100%を超える変動係数であり、特性値の範囲も 1 オーダー以上の広い範囲であった。C/N 比と pH の変動係数はそれぞれ 19.0%、9.00%と低かったが、C/N 比は全炭素濃度と全窒素濃度の比、pH は水素イオン濃度の対数を基にした特性値のため、空間変動があったとしても変動係数の値の範囲は限られている。

このような林床の光環境および土壤環境特性の空間変動に空間依存性があるか、また空間依存性があった際には空間的自己相関の規模はどの程度かをセミバリオグラムにより解析した(表3)。加えて林床の光環境と土壤環境の各特性値間の相関関係を明らかにすることによって(表4)、本調査区内における林床の光環境および土壤環境の空間的不均質性には、以下の四つのグループがあることが分かった。

- (1) 空間依存性の程度が中程度以下で、空間的自己相関の規模が 120m 以上であり土壤環境特性と相関関係がない林床の光環境特性のグループ。
- (2) 土壤環境のうち、空間依存性が高く空間的自己相関の規模が 20m 前後のグループ：土壤含水比、窒素無機化速度、全炭素・全窒素濃度、土壤 pH
- (3) 土壤環境のうち、空間依存性が中程度で空間的自己相関の規模が 120m 以上のグループ：アンモニア態・硝酸態窒素濃度、無機態窒素濃度、硝化速度、C/N 比、交換性カルシウム濃度
- (4) 土壤環境のうち、空間依存性が低く空間的自己相関の規模が 120m 以上のグループ：有効態リン酸濃度、交換性マグネシウム濃度、交換性ナトリウム濃度、交換性カリウム濃度

本研究における土壤環境の空間不均質性は、林床の光環境とほとんど相関関係がないことから、地上部の物理構造以外の要因により生じたと考えられた。また、上述のこれまでの研究から、土壤特性の空間不均質性には様々な生物的過程および物理的過程が作用しており、ある土壤特性に対する生物的過程および物理的過程の相対的重要性は、対象とする特性が何であるか(Schlesinger et al. 1996)と対象とする空間規模がどの程度か(Burke 1989)によって変化すると考えられる。本研究では土壤環境の空間的不均質性には三つのグループがあり、グループ(2)の土壤含水比、窒素無機化速度、全窒素・全炭素濃度、および pH については、空間的自己相関の規模が 13.9~22.8m と Wang et al. (2007) と異なった結果であった。これらの特性が同一のグループとなった要因として、一般に寒冷多湿な気候条件下における有機物質含量が高い土壤では、土壤微生物や土壤動物による有機物の分解が不良となること、また有機物の不完全な分解のため生じた有機酸によって土壤が酸性となる(河田 1989)ことが考えられた。グループ(2)の特性は生物的過程に関係する特性が多いが、空間的自己相関の規模が 20m 前後と生物的過程が影響を考えるには大きいため、本調査区内の起伏(微地形)などの物理的過程により生じた可能性が推察された。ところで、Wang et al. (2007) の解析結果によると、窒素無機化速度と硝化速度は高い空間依存性の空間構造を示したが、最短のラグクラスのセミバリアンスが大きいため 5m 以下のスケールで空間変動を調査する可能性があると報告している。本研究でも(2)のグループは Wang et al. (2007) と同様な傾向が見られたことから、最短の解析規模よりさらに小さなスケールで今後解析する必要があると考えられた。

グループ(3)のアンモニア態・硝酸態・無機態窒素濃度、硝化速度、C/N 比および交換性カルシウム濃度については、空間依存性の程度が中程度で、空間的自己相関の規模が 120m 以上であり、先行研究に比べると大きかった。窒素に関連した土壤特性の空間パターンは、生物的過程の影響を受けやすいとされている(Schlesinger et al. 1996)。調査区内で 120m を超える空間的自己相関の規模に影響を及ぼし得る生物的過程としてチマキザサの被覆に注目した。チマキザサの被覆率を 10m 四方ごとに目視判定した値をセミバリオグラムにより解析した結果、ガウシアンモデルがあてはまり、レンジが 286m で、 $C/(C+C_0)$ が 0.833 であった。グループ(3)の空間的不均質性にはチマキザサの分布の影響によるものであるかもしれない。また、 $C/(C+C_0)$ に対する C_0 の大きな割合は、最短の解析規模以下のスケールで空間依存性がある可能性を示しており、今後さらに小さなスケールで解析する必要があると考えられた。

グループ(4)の有効態リン酸濃度、交換性マグネシウム・ナトリウム・カリウム濃度については、直線モデルを示し、 $C/(C+C_0)$ が 0.12~0.22 と低い空間依存性を示していることから、グループ(4)の特性の空間変動はランダムに近いパターンであることが示唆され、Gallardo(2003)、Palmer(1990) および Lechowicz and Bell(1991) とは異なった結果を示した。しかし、Gallardo(2003)、Palmer(1990) および Lechowicz and Bell(1991) は 10m 以下のラグ間隔で空間依存性を解析しているため、本研究においても最短の解析規模以下のスケールで空間依存性があるかもしれない。今回の解析間隔と規模で見られたグループ(4)の空間的不均質性は局所的に散在する炭焼き窓跡の影響による可能性もあるが、密接に関係する要因を明らかにすることはできなかった。

本研究とこれまでの研究から、以上のことが明らかになったが、林床環境の空間的不均質性について 10m 以下の空間規模での空間構造が 120m の解析範囲においても重要である可能性も示唆された。10m 以下のスケールでセミバリオグラムを用いた研究はこれまでに数多く行われており、例えば Bruckner(1999) は冷温帯トウヒ同齡林における土壤水分、pH、微生物バイオマス、窒素無機化速度をラグ間隔 10cm で解析し、1.0m 未満の空間的自己相関の規模を検出した。Görres et al. (1998) は、アメリカ北東部の森林土壤における炭素の無機化、線虫密度、土壤有機物質含量、土壤含水量の空間的不均質性をラグ間隔 1.0m で解析した結果、10m 未満の空間的自己相関の規模を報告している。また、乾燥地および半乾燥地の草原地帯や灌木地帯においても、土壤特性に関する 10m 以下の空間

的自己相関の規模が報告されており、例えば Jackson and Caldwell(1993)は、土壤特性の空間的自己相関の規模の多くが 1m 未満であったと報告している。Schlesinger et al. (1996)の結果では、無機態窒素やリンなどの養分濃度は 1~2m の空間的自己相関の規模を示していた。以上から、本調査地においても今後 10m 以下の空間構造について検討が必要と思われた。

本研究では、土壤特性の空間的不均質性は遷移に伴う変化を示し(Gross et al. 1995; Robertson et al. 1988)、さらに無機態窒素濃度や土壤水分のような特性には季節的な空間的不均質性の変動があることも知られている(Cain et al. 1991; Ryel et al. 1996; Todd et al. 2000)。そのため、林床環境の空間的不均質性を評価する際には、このような時間に伴う変化も考慮する必要があると考えられた。

引用文献

- Brady N.C., Weil R.R. (1999) The components of nitrogen availability assessments in forest soils. *Adv Soil Sci* 10:57-112
- Bruckner A., Kandeler E., Kampichler C. (1999) Plot-scale spatial patterns of soil water content, pH, substrate-induced respiration and N mineralization in a temperate coniferous forest. *Geoderma* 93: 207-223.
- Burke I.C. (1989) Control of nitrogen mineralization in a sagebrush steppe landscape. *Ecology* 70:1115-1126
- Cain M.L., Subler S., Evans J.P., Fortin M.J. (1999) Sampling spatial and temporal variation in soil nitrogen losses due to prescription fire. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 66:262-267
- Gallardo A. (2003) Spatial variation of soil properties in a floodplain forest in northwest Spain. *Ecosystems* 6:564-576
- Goovaerts P. (1998) Geostatistical tools for characterizing the spatial variability of microbiological and physico-chemical soil properties. *Biology and Fertility of Soils* 27:315-334
- Görres J.H., Dichiara M.J., Lyons J.B., Amador J.A. (1998) Spatial and temporal patterns of soil biological activity in a forest and an old field. *Soil Biol. Biochem.* 30: 219-230.
- Gross K.L., Pregitzer K.S., Burton A.J. (1995). Spatial Variation in Nitrogen Availability in Three Successional Plant Community. *Journal of Ecology* 83:357-367
- Jackson R.B., Caldwell M.M. (1993b) Geostatistical patterns of soil heterogeneity around individual perennial plants. *Journal of Ecology* 81:683-692
- 片桐成夫・石井 弘・三宅 登・喜多村雅夫 (1983) 三瓶演習林内の落葉広葉樹林における物質循環に関する研究(X) 島根大学農学部研究報告 第 17 号:53-59
- 河田 弘 (1977) 森林土壤の窒素の形態について. 林試研報 297:105-131
- 河田 弘 (1989) 森林土壤学概論 博友社
- 河原輝彦・堤 利夫 (1968) 森林土壤中の無機態チツソ量に関する研究. (1)その季節変化について 京大演報 40:157-168
- Lechowicz MJ, Bell G. (1991) The ecology and genetics of fitness in forest plants. II . Microspatial heterogeneity of the edaphic environment. *Journal of Ecology* 79:687-696
- Nicotra A.B., Chazdon R.L., Iriarte V.B. (1999) Spatial heterogeneity of light and woody seedling regeneration in tropical wet forests. *Ecology* 80:1908-1926
- Palmer MW. (1990) Spatial scale and patterns of species-environment relationships in hardwood forest of the north Carolina piedmont. *Coenoses* 5:79-87
- Robertson G.P. (1987) Geostatistics in ecology: interpolating with known variance. *Ecology* 68:744-748
- Robertson G.P., Huston M.A., Evans F.C., Tiedje J.M.. (1988). Spatial Variability in a Successional Plant Community: Patterns of Nitrogen Availability. *Ecology* 69:1517-1524
- Rossi R.E., Mulla D.J., Journel A.G., Franz E.H.(1992). Geostatistical tools for modeling and interpreting ecological spatial dependence. *Ecological Monographs* 62: 277-314.
- Ryel R.J., Caldwell M.M., Manwaring J.H. (1996) Temporal dynamics of soil spatial heterogeneity in sagebrush-wheatgrass steppe during a growing season. *Plant Soil* 184:299-309

- Schlesinger W.H., Raikes J.A., Hartley A.E., Cross A.F. (1996) On the spatial pattern of soil nutrients in desert ecosystems. *Ecology* 77:364-374
- Tateno R., Takeda H. (2003) Forest structure and species distribution in relation to topography-mediated heterogeneity of soil nitrogen and light at the forest floor. *Ecological Research* 18:559-571
- Todd M.C.L., Grierson P.F., Adams M.A. (2000) Litter cover as an index of nitrogen availability in rehabilitated mine sites. *Aust.J.Soil Res.* 38:423-433
- Wang L., Mou P.P., Huang J., Wang J. (2007) Spatial heterogeneity of soil nitrogen in a subtropical forest in China *Plant Soil* 295:137-150

表1. 調査区内の125地点で測定した光環境の特性値。

測定項目	単位	最大値	最小値	平均値	標準偏差	変動係数(%)
林冠開空率70cm	%	18.1	6.53	11.8	2.40	20.3
林冠開空率130cm	%	21.2	8.41	13.0	2.38	18.4
TSF 70cm	%	36.0	8.70	20.8	5.62	27.1
TSF 130cm	%	40.0	9.70	22.4	5.54	24.7
DSF 70cm	%	38.3	8.20	21.2	6.08	28.7
DSF 130cm	%	42.5	8.90	22.9	5.94	26.0
ISF 70cm	%	29.0	9.40	18.2	3.82	20.9
ISF 130cm	%	32.3	11.60	19.6	3.77	19.3

表2. 調査区内の125地点で鉱物質土壤表層(0~10cm)から採取した土壤の特性値。

測定項目	単位	最大値	最小値	平均値	標準偏差	変動係数(%)
土壤含水比	g-water·g-soil ⁻¹	3.91	0.21	1.05	0.62	60
硝酸態窒素濃度	mg-N·kg-soil ⁻¹	52.9	0.00	1.98	6.34	321
アンモニア態窒素濃度	mg-N·kg-soil ⁻¹	43.8	0.58	5.91	5.15	87
無機態窒素濃度	mg-N·kg-soil ⁻¹	57.7	0.86	7.89	8.49	108
窒素無機化速度	mg-N·kgsoil ⁻¹ ·day ⁻¹	13.8	0.38	3.42	2.24	65
硝化速度	mg-N·kgsoil ⁻¹ ·day ⁻¹	9.70	-0.02	1.11	1.75	157
全炭素濃度	g-C·kg-soil ⁻¹	4.50×10^2	26.80	1.47×10^2	95.33	65
全窒素濃度	g-N·kg-soil ⁻¹	21.3	2.96	9.22	4.70	51
C/N比	-	25.1	8.94	15.05	2.85	19
有効態リン酸濃度	mg-P·kg-soil ⁻¹	110	10.18	26.06	14.57	56
交換性カルシウム濃度	mg-Ca·kg-soil ⁻¹	4.83×10^3	40.72	3.90×10^2	6.25×10^2	160
交換性マグネシウム濃度	mg-Mg·kg-soil ⁻¹	4.89×10^2	52.90	151.27	97.90	65
交換性ナトリウム濃度	mg-Na·kg-soil ⁻¹	56.0	7.72	22.58	10.54	47
交換性カリウム濃度	mg-K·kg-soil ⁻¹	369	37.46	1.35×10^2	72.24	54
土壤pH	-	5.40	3.72	4.58	0.41	9

表3. 林床の光環境および土壤環境の各項目のセミバリアンスに当てはめたセミバリオグラムモデルに関する各種パラメーター。

測定項目	モデル	r^2	ナゲット(C_0)	シル($C+C_0$)	レンジ(m)	$C/(C+C_0)$
林冠開空率70cm	指數	0.93	2.87	6.98	120< (230.0)	0.59
林冠開空率130cm	球形	0.94	3.23	6.46	120< (179.0)	0.50
TSF 70cm	球形	0.96	21.14	42.3	120< (287.0)	0.50
TSF 130cm	直線	0.69	24.64	(30.7)	(120<)	(0.20)
DSF 70cm	指數	0.96	24.35	50.6	120< (448.0)	0.52
DSF 130cm	直線	0.64	28.88	(35.2)	(120<)	(0.18)
ISF 70cm	球形	0.94	7.72	18.0	120< (217.0)	0.57
ISF 130cm	直線	0.94	9.29	(14.71)	(120<)	(0.37)
含水比	指數	0.49	0.04	0.39	19.5	0.90
アンモニア態窒素濃度	指數	0.86	18.5	36.95	120< (135.0)	0.50
硝酸態窒素濃度	直線	0.75	21.17	(35.4)	(120<)	0.40
無機態窒素濃度	指數	0.89	48.10	137	120< (763.0)	0.65
窒素無機化速度	指數	0.45	0.28	4.78	21.6	0.94
硝化速度	ガウシアン	0.96	1.49	4.99	120< (234.0)	0.70
全炭素	指數	0.44	8.50×10^2	8.94×10^3	22.8	0.91
全窒素	指數	0.36	2.05	21.72	19.5	0.91
C/N比	指數	0.81	4.56	14.13	120< (671.0)	0.68
有効態リン酸	直線	0.40	1.89×10^2 (2.15×10^2)	(120<)	(0.12)	
交換性カルシウム	直線	0.91	2.91×10^5 (4.85×10^5)	(120<)	(0.40)	
交換性マグネシウム	直線	0.62	8.44×10^3 (10.0×10^3)	(120<)	(0.16)	
交換性ナトリウム	直線	0.55	95.30	(115)	(120<)	(0.17)
交換性カリウム	直線	0.74	4.52×10^3 (5.81×10^3)	(120<)	(0.22)	
土壤pH	ガウシアン	0.47	0.02	0.17	13.9	0.88

球形モデル: $0 < h \leq \text{レンジ}$, $\gamma(h) = C_0 + C \cdot \{1.5 \cdot (h/\text{レンジ}) - 0.5 \cdot (h/\text{レンジ})^3\}$; $h > \text{レンジ}$, $\gamma(h) = C_0 + C$

指數モデル: $\gamma(h) = C_0 + C \cdot \{1 - \exp \cdot (-3h/\text{レンジ})\}$

直線モデル: $\gamma(h) = C_0 + Ch/\text{レンジ}$

ガウシアンモデル: $\gamma(h) = C_0 + C \cdot \{1 - \exp \cdot (-h^2/(\text{レンジ}/3^{0.5})^2)\}$

表4. 光環境および土壤環境の各項目間の相関係数。

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	
1. 林冠開度(70cm)	1.000																							
2. 林冠開度(30cm)	0.604 ***	1.000																						
3. TSF(70cm)	0.556 ***	0.561 ***	1.000																					
4. TSF(30cm)	0.283 **	0.700 ***	0.648 ***	1.000																				
5. DSF(70cm)	0.619 ***	0.540 ***	0.595 ***	0.652 ***	1.000																			
6. DSF(30cm)	0.257 *	0.662 ***	0.642 ***	0.598 ***	0.648 ***	1.000																		
7. ISF(70cm)	0.942 ***	0.629 ***	0.727 ***	0.367 ***	0.689 ***	0.338 ***	1.000																	
8. ISF(30cm)	0.956 ***	0.938 ***	0.561 ***	0.777 ***	0.542 ***	0.738 ***	0.590 ***	1.000																
9. 含水比	0.200 *	0.208 *	0.119 NS	0.162 NS	0.115 NS	0.154 NS	0.179 *	0.209 *	1.000															
10. アンモニア溶素濃度	0.012 NS	-0.080 NS	-0.129 NS	-0.063 NS	-0.141 NS	-0.061 NS	-0.005 NS	-0.079 NS	0.416 ***	1.000														
11. 強酸性溶素濃度	-0.156 NS	-0.051 NS	-0.243 **	0.071 NS	-0.240 **	0.081 NS	-0.222 *	-0.033 NS	0.261 **	0.083 NS	1.000													
12. 無機態窒素濃度	-0.109 NS	-0.086 NS	-0.259 **	0.014 NS	-0.265 **	0.024 NS	-0.173 NS	-0.005 NS	0.447 ***	0.668 ***	0.797 ***	1.000												
13. 硝素無効化速度	0.038 NS	0.049 NS	-0.025 NS	0.131 NS	-0.030 NS	0.136 NS	-0.001 NS	0.051 NS	0.938 ***	0.477 ***	0.436 ***	0.615 ***	1.000											
14. 水化速度	-0.238 **	-0.181 *	-0.289 **	-0.023 NS	-0.286 **	-0.006 NS	-0.292 ***	-0.194 *	0.218 *	0.302 ***	0.733 ***	0.730 ***	0.629 ***	1.000										
15. 全炭素濃度	0.293 ***	0.276 **	0.195 *	0.195 *	0.188 *	0.183 *	0.269 **	0.273 **	0.942 ***	0.402 ***	0.164 NS	0.366 ***	0.519 ***	0.687 NS	1.000									
16. 全窒素濃度	0.245 **	0.253 **	0.146 NS	0.192 *	0.139 NS	0.182 *	0.215 *	0.242 **	0.924 ***	0.429 ***	0.313 ***	0.493 ***	0.614 ***	0.212 *	0.970 ***	1.000								
17. C/N比	0.417 ***	0.314 ***	0.230 **	0.187 *	0.232 **	0.170 NS	0.407 ***	0.320 ***	0.540 ***	0.247 **	-0.133 NS	0.651 NS	0.225 *	0.212 *	0.747 ***	0.669 ***	1.000							
18. 有効少機濃度	-0.118 NS	-0.127 NS	-0.031 NS	0.031 NS	-0.030 NS	0.039 NS	-0.002 NS	-0.005 NS	0.481 ***	0.217 *	0.313 ***	0.365 ***	0.290 **	0.365 ***	0.379 ***	0.336 ***	0.098 NS	1.000						
19. 支援性力シカルム濃度	0.019 NS	-0.023 NS	-0.108 NS	0.006 NS	-0.114 NS	0.002 NS	-0.027 NS	-0.043 NS	0.005 ***	0.547 ***	0.568 ***	0.673 ***	0.407 ***	0.636 ***	0.357 ***	0.355 ***	0.221 *	0.361 ***	1.000					
20. 支援性マグネシカルム濃度	0.137 NS	0.069 NS	0.032 NS	0.055 NS	0.021 NS	0.052 NS	0.068 NS	0.072 NS	0.002 ***	0.504 ***	0.354 ***	0.569 ***	0.578 ***	0.375 ***	0.380 ***	0.367 ***	0.516 ***	0.551 ***	0.608 ***	1.000				
21. 支援性カリカルム濃度	0.223 *	0.153 NS	0.134 NS	0.085 NS	0.122 NS	0.045 NS	0.234 **	0.154 NS	0.068 ***	0.239 **	-0.033 NS	0.120 NS	0.362 ***	-0.082 NS	0.659 ***	0.658 ***	0.652 ***	0.237 **	0.032 NS	0.574 ***	1.000			
22. 支援性カルバム濃度	0.252 **	0.162 NS	0.156 NS	0.121 NS	0.146 NS	0.116 NS	0.231 **	0.138 NS	0.069 ***	0.419 ***	0.243 **	0.435 ***	0.553 ***	0.872 ***	0.832 ***	0.832 ***	0.435 ***	0.296 ***	0.322 ***	0.729 ***	1.000			
23. 土壌pH	-0.184 *	-0.227 *	-0.227 *	-0.092 NS	-0.130 NS	-0.000 NS	-0.118 NS	-0.165 NS	-0.222 *	-0.228 ***	-0.251 **	-0.281 **	-0.526 ***	-0.056 NS	-0.745 ***	-0.750 ***	-0.056 NS	-0.745 ***	-0.331 NS	-0.338 NS	-0.553 **	-0.582 ***	-0.652 ***	

*, P < 0.05; **, P < 0.01; ***, P < 0.001

堆肥由来高温性放線菌の脂肪族-芳香族ポリエステル分解酵素の特性

岡山大学資源生物科学研究所

河合 富佐子

1. はじめに

コンポスト(堆肥)は書物によると、奈良時代に起源を発するといわれる。現在でも、依然として堆肥は人間生活の必須技術として活用されている。特に畜産農家にとって、堆肥処理は不可欠の技術である。実際に家畜糞尿は年間約8000万t弱が排出されているのに対し、生ゴミは2000万t程度である。それでも、ゴミの増加は地方自治体にとって大きな問題・負担となっている。そのため、家庭用の生ゴミ処理機が電気製品メーカーから各種販売されている。

生分解性高分子という言葉はほぼ20年前から登場し、日本ではグリーンプラという愛称が付けられている。また、カーボンニュートラルという考えに基づき、バイオマスプラスチックが登場した。植物原料を発酵させて乳酸を作り、これから化学合成されるポリ乳酸(PLA)は代表的なものである。PLAは常温ではほとんど生分解されないので、グリーンプラの定義に当てはまらないが、ゴミとして燃やして発生するCO₂と植物が吸収するCO₂を差し引きするとゼロになる(カーボンニュートラル)ので、環境に負荷をかけないという考え方である。これらを世の中にいかに定着させるかが緊急の課題となっている。PLAは確かに常温ではほとんど分解できないが、これを堆肥に埋設すると速やかに分解する。実際、PLAの分解菌として耐熱性の放線菌などが分離されている。もし、堆肥を分解システムとして社会的循環システムを構築することができれば、PLAも間違いなく、生分解性プラスチックである。2003年にドイツのカッセル市で実施された町ぐるみの循環型社会のモデルプロジェクトである『カッセルプロジェクト』は堆肥(コンポスト)を循環系の中で鍵となる分解システムと位置づけている。

すでにPLAが存在するので、これまでの石油由来プラスチックを全てこれに置き換えるかというと、そうではない。PLAの欠点は耐熱性が低いことである。従って、熱湯を使うような製品やアイロンがけの必要な繊維製品には利用できない。最近、技術的には耐熱性が200°Cを越えるPLAが開発されたが、実用化には達していない。他方、実用的な生分解性プラスチックはポリエステルである。脂肪族ポリエステルは生分解性が高く、耐熱性が低い。芳香族ポリエステル、例えばポリエチレンテレフタレート(PET)は生分解性がないが、耐熱性は非常に高く、化学処理や熱分解によるリサイクルが可能である。生分解性と耐熱性その他の物性を兼ね備えたものとして、脂肪族芳香族ポリエステルが考案されている。これらは現在は石油を原料として作られているが、成分である有機酸とグリコールをバイオマスから発酵生産可能であるので、バイオマスプラスチックとなる可能性を持っている。その中で、PETに近い構造を有し、かつ堆肥中では生分解性を示すものを対象として選び、分解菌を堆肥から取得し、分解酵素の有無を確認した。本研究は本版カッセルプロジェクトやリサイクルへの応用のための基盤研究である。

2. 実験方法

2. 1. 使用した脂肪族芳香族ポリエステル

デュポン社のBiomax®を使用した。本ポリエステルは現在、Apexa®という商標で販売されている。本ポリエステルのフィルム(40μm厚)および粉末(250μm孔径篩通過標品)はデュポン(株)先端科学科学研究所にご提供頂いた。

2. 2. 堆肥埋設

岡山県総合畜産センターおよびタマタイ産業(株)の堆肥を主に使用した。フィルムは

7cm 角に切り、洗濯用の目の細かいメッシュ袋にいれて、これらをプラスチック鎖に結びつけ、堆肥上部から 70–100cm の深さ（ほぼ 55–60°C）に 2–4 週間程度埋設した。2. 3. 蛍光顕微鏡

取り出したフィルムを 5µM の SYT016 (Molecular Probes, Eugene, OR, USA) を含むリン酸緩衝液-生理食塩水 (PBS) に 5 分間浸漬し、PBS で良く漱いだ後、スライドグラス上におき、カバーグラスをかけて顕微鏡観察（オリンパス BX50, 400 倍）に供した。蛍光は SYT016 を 470–490nm で励起させ、放出される蛍光を 510–550nm で測定した。

2. 4. DGGE 分析

プラスチックフィルムに付着した微生物の DNA を PowerSoil™DNA 抽出キット (Mo Bio Labs, CA, USA) を使用して抽出した。これを鋸型に 16S rDNA 増幅用のプライマー（16S-338-f-GC 及び 16S-517-r）(1) を用いて PCR を行い、得られた産物を DGGE 分析に供した。DGGE 分析は DCode universal mutation detection system (Bio-Rad Laboratories, CA, USA) で行った。ポリアクリルアミドゲル (8%) を 35–65% 変性剤（7M 尿素+40% formamide）濃度勾配で 1×TAE (40mM Tris-acetate+1mM EDTA, pH 8.0) を使用して 75V, 12.5 h 泳動した。泳動後のゲルを SYBR GREEN I (Invitrogen, CA, USA) で染色し、各 DNA バンドを切り取り、TE buffer (10mM Tris-HCl+1mM EDTA, pH 8.0) で抽出した。これを鋸型として、再び上記のプライマーで PCR を行った後、同一条件で DGGE 分析にかけ、単一バンドを示したもののが塩基配列をシーケンスした。塩基配列結果に基づいて FASTA program (2) により GenBank/EMBL/DDBJ の塩基配列データベースから最も近縁種を判定した。

2. 5. 菌の分離と同定

堆肥に埋設し、断片化したフィルムを TE buffer に懸濁し、十分に攪拌した上で、上清液を 0.1% 水解 polymer (粉末ポリマーの水懸濁液を 4h オートクレーブし、易沈降粒子を除去した懸濁液の乾燥重量から濃度を求めた。) を含む Luria-Bertani (LB) 寒天培地に塗布し、50°C で培養した。出現したコロニーを純化して、フィルム分解能を調べて、良好な分解能を示したもののが 16S rDNA 配列を Lane の方法 (1991) (3) により増幅し、得られた塩基配列から BLAST program (<http://blast.genome.jp/>) を用いて最も相同意の高い種を求める (4)。

2. 6. 分解試験

分解は次の 3 通りの方法で確認した。（1）7cm 角のフィルムに LB 培地で生育させた洗浄菌体の PBS 懸濁液を塗布し、流れない程度に乾燥させてから、堆肥埋設試験で記載した方法で堆肥に埋設し、2 及び 4 週間後の分解の程度を目視で確認した。（2）水解ポリマー 0.1% を含む無機塩培地での生育と濁度の減少を 610nm の吸収で測定した。（3）水解ポリマー 0.1% を含む LB 培地で生育させた時に生成するテレフタル酸を 260nm の吸収で測定した。無機塩培地の組成は次の通りである：水解ポリマー, 0.1%; KH₂PO₄, 0.45%; Na₂HP0₄, 0.47%; NH₄Cl, 0.1%; MgSO₄·7H₂O, 0.05%; ferric ammonium citrate, 50 mg/L; CaCl₂·2H₂O, 5 mg/L; yeast extract, 0.05%; casein hydrolyzate, 0.01%。

2. 7. 分解酵素のクローニング

ゲノム DNA は Marmur の方法 (1961) (5) で抽出し、DNA の精製、形質転換、電気泳動などは Sambrook & Russel (2001) の方法 (6) に従った。PCR 産物は pGEM-T vector (Promega, Madison, WI, USA) に挿入して、両鎖をシーケンスした。ORF を含む全長 1,302bp は InversePCR (7) により得た。得られた塩基配列の解析とアッセンブリーは GENETYX version 8.2.1 を用いた。

3. 結果と考察

3. 1. 堆肥埋設フィルムの分解

非埋設コントロールは 60°C、4 週間後で表面が若干白化したが、フィルムの柔軟性や滑らかさなどはほとんど変化がなかった。これに対して、堆肥に埋設したフィルムは 2 週間では

ほぼ全体の形が残っていたが、4週間後では断片化した。直接堆肥に埋設したものは、2週間でもほとんど形をとどめなかった。この結果から、単に熱だけでは変化しないことが確認された。断片化の進行から考えて、堆肥中の菌が分解に関与していると推定した。

3. 2. 堆肥埋設フィルムの蛍光顕微鏡観察およびDGGE分析

図1に示すように埋設2週間後及び4週間後のフィルム表面はSYTO16（核染色性）で染まった細菌らしきものの付着が多数観察されたが、埋設前のフィルムは全く染色されない。物質の分解では、まず分解菌が表面に付着する多くの例で報告されていることから、これらは分解菌であろうと推測した。付着程度は特に変化がなかったが、断片化から考えて、2週間でほぼ全面的に菌で覆われ、それ以後分解が進行して、断片化に至ったと考えた。そこで、細菌とその種類を知るためにDGGE解析を行った。結果は図2に示す。

出現したバンドは2週間よりむしろ4週間で減少した。フィルム表面で菌叢の変化が生じても不思議はない。出現したバンドの16S rDNA解析結果から、ほとんどが*Bacillus*属またはその近縁菌であったが、2番目には放線菌の存在が確認された。一部、嫌気性菌も存在した。堆肥の1次発酵では*Bacillus*などの細菌が、2次発酵過程では放線菌が主要細菌であることが知られているので、DGGE解析は堆肥中の菌の構成を反映すると同時に、これらのなかに分解菌が存在すると予測した。

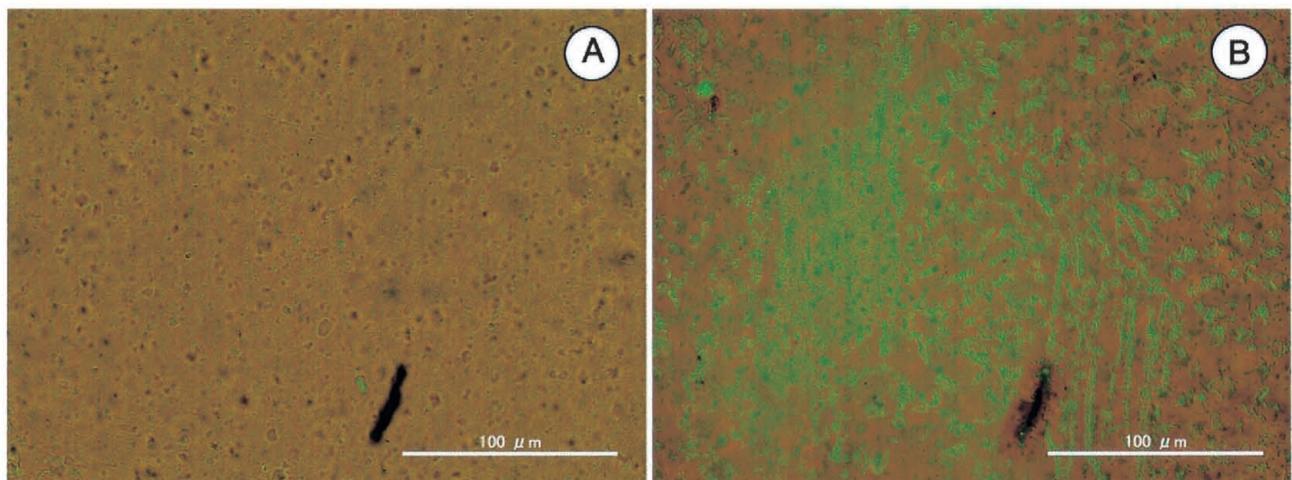


Fig. 1. Observation of microbes attached to a film surface by fluorescent microscopy before and after composting. A, after composting; B, before composting.

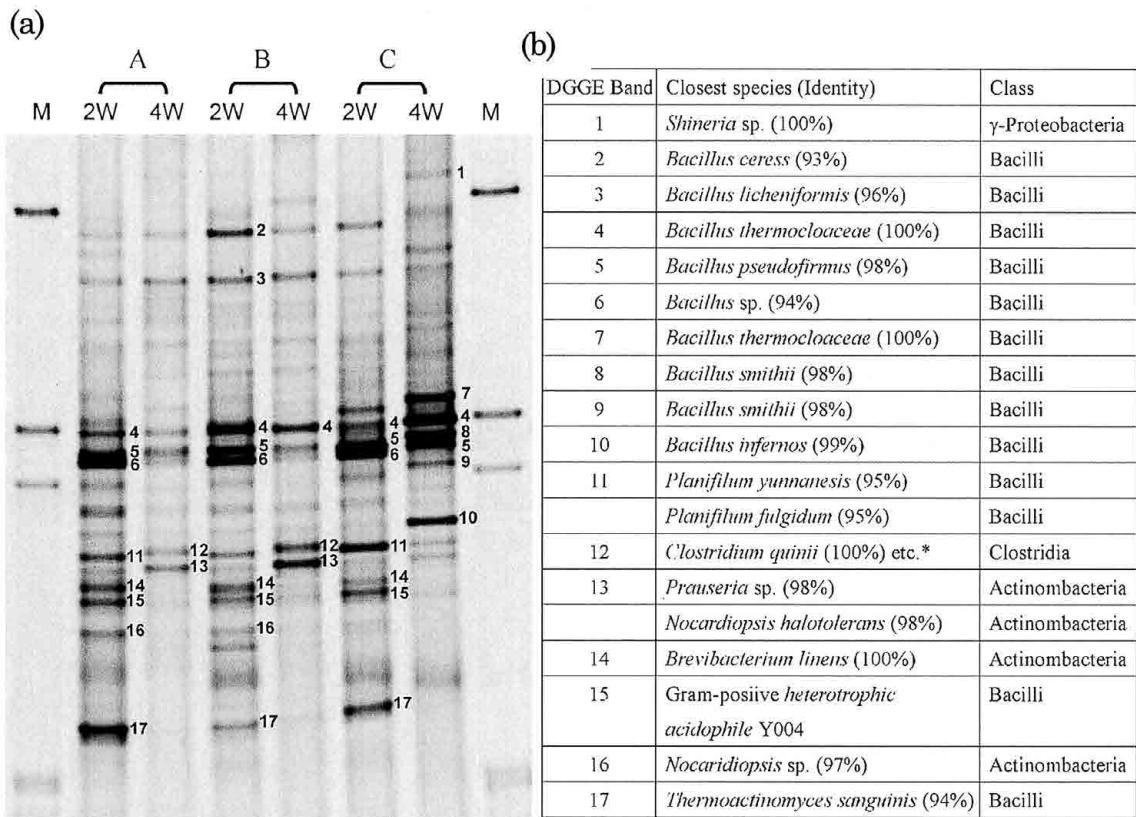


Fig. 2 DGGE analysis fo microbial floras attached to composted films. (a) DGGE profile, M, molecular markers; W, weeks. A, B and C denote different Biomax films. (b) Idenification of bands corresponding to numbers in A, based on 16S rDNA analysis.

3. 3. 分解菌の単離、同定及び単離菌による分解確認

常法通り、寒天平板培地でフィルム付着菌を単離した。フィルムを水または適当な緩衝液に懸濁して、十分 vortex mixer で攪拌する。その上清の一部を寒天培地に塗布して、50°C で培養した。その結果、まず *Bacillus* が出現し、遅れて放線菌の出現が観察されることが多かった。この結果はDGGE の結果ともよく合致し、両者ともに堆肥常在菌として知られているので、納得できる。そこで、分離された菌について、フィルムの分解能を確認した。フィルムの断片化の程度に応じて、(++++)から(-)までにランクを分け、最も良いと考えられるもの3株（放線菌2株、*Bacillus* 1株）選び出して同定した。分解結果は Fig.3 に示す。また、これらの3株の菌学的分類および特徴を表1に示す。

Kleeberg ら(2005)は *Thermobifida fusca* と同定された分離菌の菌体外分泌酵素がテレフタール酸、1,4-ブタンジオール、アジピン酸からなる脂肪族芳香族ポリエステル (Ecoflex®) を分解することを報告している(8)。*T. fusca* は放線菌の一種で、堆肥中からよく分離される典型的な堆肥常在菌である。この結果から *Thermobifida* はこの種の酵素を生産する可能性が高いと考えられる。Fig.3 に示したように、50-60°C でもフィルムはわずかに白化（結晶化）するが、物性などはほとんど変化しない。堆肥に埋設するとフィルムは柔軟性を失うが、形は保っていた。しかし、菌を塗布して埋設した場合にはいろいろな変化が見られた。変化は堆肥の内部温度と相関性があり、50°C 以下ではほとんど変化がなかった。これらのことから、単なる物理的な要因による変化ではなく、菌の分泌する酵素による生化学的な変化であると結論づけた。これらの成果は参考文献(9)により、公表した。



Fig. 3. Composting test of Biomax® films inoculated with isolates.

A, Each film was put in each mesh bag and buried in compost, as shown in Materials and methods: B, control (film kept at 50 °C for the same period as test films); C, control (film without inoculum); D, film inoculated with AHK 109; E, film inoculated with AHK119; F, film inoculated with BHK25. Films C ~ F were buried in compost, recovered from each mesh bag and shown without any treatment.

Table 1. Characterization of isolated degraders

Stain	Identification based on 16S rDNA analysis (Identity, sequence coverage and accession number)	Film degradation test in compost*	Growth on the powdered Biomax and formation of TA**	Growth temperature***
AHK 109	<i>Streptomyces thermogriseus</i> (99%; 1507 bp; AB300432)	+++	+	28-65 °C
AHK 119	<i>Thermobifida alba</i> (99%; 1359 bp; AB298783)	+++	+	37-65 °C (no growth at 28 °C)
BHK 25	<i>Ureibacillus thermosphaericus</i> (100%; 1510 bp; AB300774)	+++	+	28-65 °C

*Visible fragmentation and decrease of Mn and Mw, compared with a control (no inoculum).

++, excellent. **TA: terephthalic acid. +, positive. *** lower and upper boundaries for viability of each bacterium

3. 4. AHK119 由来のポリエステルデポリメラーゼのクローニング

選択した 3 株の中で、AHK119 を選んで、分解酵素のクローニングを行った。ポリエス テルを分解できるデポリメラーゼは基本的にはエステラーゼであると考え、エステラーゼで知ら れている保存領域の情報に基づいて、プライマーを作成し、AHK119 の全ゲノム DNA を鋳型に PCR で増幅断片をえた。この増幅断片は既知のエステラーゼと高い相同性を示したので、この塩基配 列に基づいてプライマーを作成し、inversePCR で塩基配列を読み進めて、ORF を含む全長 1302bp の配列をえたので、これを DDBJ に登録した (AB445476)。また、これを pCold-I vector (Takara Bio, Japan) の BamHI-SalI site にクローニングしてタンパク発現を確認した。

今後は本酵素の活性、反応機構を解析するとともに、耐熱性に関わると考えられるタン パク質構造の解析を進める。また、部位特異的変異あるいはランダム変異の導入により、高活性、 高耐熱性酵素への改変を試みる。

4. 参考文献

1. Muyzer G, de Waal EC, Uitterlinden AG (1993) Appl Environ Microbiol 59: 695-700
2. Pearson WR, Lipman DJ (1988) Proc Natl Acad Sci USA, 85: 2444-2448
3. Lane DJ (1991) In: Stackebrandt E, Goodfellow M (eds) Nucleic acid techniques in bacterial systematics, John Wiley & Sons, Chichester, pp. 371-375
4. Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ (1994) Nucleic Acids Res 22: 4673-4680
5. Marmur JA (1961) J Mol Biol 3; 208-218
6. Sambrook J, Russel DW (2001) Molecular Cloning: a Laboratory Manual, 3rd edn, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY
7. Ochman H, Gerber AS, Hart DL (1988) Genetics 120: 621-623
8. Kleeberg I et al (2005) Biomacromolecules 6: 262-270
9. Hu X et al (2008) J Polym Environ online first (<http://www.springerlink.com/content/105771>)

5. 謝辞

本研究の遂行にあたり、ご支援頂きました (財) 八雲環境科学振興財団に深謝いたします。 また、共同研究者の皆様にご協力を感謝致します。

平成 19 年度 国際研究交流助成報告

9. 平成 19 年度 国際研究交流助成報告

①派遣

助成対象者	所 属	参加会議	ページ
石黒宗秀	岡山大学大学院 環境学研究科	第 9 回国際吸着学会議	115
李 ちよん	岡山大学大学院 自然科学研究科	第 14 回フローインジェクション 分析国際会議	116

石 黒 宗 秀

岡山大学大学院環境学研究科

参加会議名	第9回国際吸着学会議
主催団体名	国際吸着学会
開催期間	平成19年5月20日～平成19年5月25日
開催地	チャルディニ・ナクソス（イタリア）

表題 Surfactant adsorption and movement in a high-humic soil
多腐植質土壤中における界面活性剤の吸着と移動

＜内容＞

界面活性剤は、物質表面の物理化学的性質を改変する作用を持つため、洗剤・シャンプー・化学肥料・農薬・塗料・土壤改良など、多方面に利用されている。また、汚染土壤の浄化剤として有望視されている。その一方で、細胞を破壊する作用もあるため、その環境中への放出は、生命体に悪影響を及ぼす。しかし、土壤中におけるその吸着移動現象は明らかにされていない。本研究では、土壤中におけるアニオン性界面活性剤の吸着移動現象を実験的に明らかにすることを目的とした。

土壤試料は、厚層多腐植質非アロフェン質火山灰土（鳥取県大山放牧場）を用いた。アニオン性界面活性剤であるドデシル硫酸ナトリウム（SDS）の吸着実験と飽和浸透実験を行った。比較のため、カチオン性界面活性剤である塩化ドデシルピリジニウム（DPC）の吸着実験も行った。

飽和浸透実験では、SDS 溶液濃度が臨界ミセル濃度（CMC）以下の低濃度の場合、初期に SDS が若干流出した後は、流出しなくなった。CMC を越える高濃度溶液の場合は、吸着量から予測されるよりも初期に SDS が流出し、流出液濃度は、流入液濃度と等しくなるまで増加した。DPC は速やかに吸着平衡状態に達したのに対し、SDS は 20 時間経過しても吸着平衡に至らなかった。SDS の浸透流出の遅速はこのためと考えられる。吸着平衡が遅くなるのは、土壤腐植の負荷電が SDS に電気的反発力を及ぼすためと考えられる。

李 ちよん

岡山大学大学院自然科学研究科

参加会議名 第14回フローインジェクション分析国際会議

主催団体名 第14回 I C F I A 実行委員会

開催期間 平成19年9月3日～平成19年9月7日

開催地 ベルリン、ドイツ

表題

- (1) Determination of Formaldehyde in Environmental Waters by Flow Injection Spectrophotometry and Fluorometry
- (2) Development of a Highly Sensitive Detection Method for Ammonia and Its Application to Ammonia Determination in Natural Waters

<内容>

(1) Formaldehyde (HCHO) is the most common aldehyde in the environment. In this work, a flow injection analysis method for the spectrophotometric and fluorometric determination of formaldehyde in environmental waters, which is based on the reaction between formaldehyde and methyl acetoacetate (MA) in the presence of an excess ammonia, is proposed. The analytical use of the proposed method was examined with a linear calibration range from $0.25 - 20.0 \times 10^{-6}$ M: the limit of detection (LOD) of 5×10^{-8} M (1.5 ppb) is possible. The effect of various substances concurrently present in the atmosphere or environmental waters, especially other carbonyl compounds and the products of their oxidation, on the determination of formaldehyde by the proposed method was investigated. Most cations and anions, as well as organic compounds, do not interfere with the determination of formaldehyde in environmental water samples. The proposed method was successfully applied to the determination of formaldehyde in environmental water samples.

(2) Ammonia exists at relatively low concentrations in natural environment, such as rain, tap, mineral, sea waters and soils. In this work, a novel reagent, methyl acetoacetate (MA), was introduced to the determination of ammonia based on Hantzsch reaction. The aim of this work is to develop a novel, simple and highly sensitive method, using the modified Hantzsch reaction, based on the derivatization between ammonia, methyl acetoacetate and formaldehyde for the determination of ammonia in natural waters. In the proposed reaction, two moles of methyl acetoacetate are involved in this transformation, one reacting with an HCHO, and the other with ammonia to form an enamine-type intermediate, followed by a cyclodehydration to afford the colorless product, 2,6-dimethyl-1,4-dihydropyridine-3,5-dimethylcarboxylate. The maximum absorption wavelength of the product in the presence of ammonia is 375 nm. The product was also detected fluorimetrically at an excitation wavelength of 380 nm and an emission wavelength of 460 nm. The optimal conditions were examined with respect of improving the sensitivity of ammonia determination by a batchwise method under the moderate conditions. The proposed method was successfully applied to the determination of micro amounts of ammonia in natural waters.

平成 19 年度 研究集会助成報告

10. 平成 19 度 研究集会助成報告

助成対象者	所 属	集会名	ページ
山本秀樹	岡山大学大学院 環境学研究科	Kominkan サミット in Okayama	118

山 本 秀 樹

岡山大学大学院環境学研究科

研究集会名称	Kominkan サミット in Okayama
主 催 機 関 名	岡山大学
共催者・後援者等	国連教育科学文化機関アジア太平洋地域教育局、岡山 ESD 推進協議会、岡山県国際団体協議会 他
開 催 期 間	平成 19 年 10 月 26 日～平成 19 年 11 月 3 日
開 催 地	岡山

＜内容＞

平成 19 年 10 月 27 日から 11 月 3 日まで、UNESCO アジア太平洋地域教育局から 2 人、UNESCO がアジア諸国において推進するコミュニティ学習センターから 6 人、アジアの NGO から 10 人を招聘して Kominkan サミットを開催した。岡山市立京山公民館と笠岡市白石公民館の活動を視察し、持続可能な社会づくりにおける公民館とコミュニティ学習センターの役割について議論した。この役割について岡山宣言を探査した。一般公開された初日の開会式には 121 人、最終日のシンポジウムには 74 人の出席があった。その他は、上記の招聘者のほか、岡山大学、NGO、(財) ユネスコ・アジア文化センター、国立教育政策研究所の専門家による専門家会議が開催され、それぞれ約 30 人が参加した。

＜日程＞

- 10 月 26 日：岡山県庁などを表敬訪問
- 10 月 27 日：開会式、及び京山公民館等の視察（31 日まで専門家会議）
- 10 月 28 日：コミュニティ学習センター及び公民館の現状と課題について議論
- 10 月 29 日～30 日：笠岡市白石島を訪問し、公民館活動の視察
- 10 月 31 日：専門家会議のまとめ、及び岡山宣言の作成
- 11 月 1 日：岡山宣言の発表
- 11 月 2 日：第 19 回全国生涯学習フェスティバルの視察
- 11 月 3 日：公開シンポジウムの開催（専門家会議の成果報告など）

平成 19 年度 その他の助成報告

八雲環境科学振興財団

子供の興味・関心・創意に寄り添う

岡山市少年少女発明クラブ

八雲科学環境振興財団からご支援をいただき、当クラブではそれなりの手応えを感じつつ活動を続けている。昨年度まで、その様子を活動レベルで発表する機会を与えていただいた。

発明クラブは、クラブ員たちの「自由な発想によるものづくり活動そのもの」を目標に、指導者の「科学的な興味・関心・創造体験を培う」、「科学・技術を媒体にして子供との交流を楽しむ」などの願いや参加くださった親子の期待に応えてきた。

平成18年、岡山大学同窓会館で活動を報告したとき、岡山大学の学生さんから、興味・関心の「性差」について、話題の提供があった。明確な記憶ではないが、科学とか技術とかに関して、「性差」はなぜ起ころうか、というような内容だったと思う。一般的で体験的な傾向としてわかつても、その原因を追求するのは、至難の業のように感じていた。

発明クラブの目標は、「活動そのもの」ではあるけれど、指導者の願いからみて、子供の「科学的な創造活動」を支える、励ます、培う指導や環境があるはずである。「性差」までは無理にしても興味・関心・創造体験を培う活動(要素)があるはずである。そういう観点で活動の記録写真をみなおし、説明を加える方法で、まとめてみた。

なお、やむを得ず写真の胸の名鑑等に手を加えたものがあることをあらかじめお断りする。

↓開講式（岡山市教育振興会長）



↑主催関係者 自己紹介



1 子供と保護者

開講式には、一人のクラブ員に保護者以外の随伴者がいて、指導者は椅子席からはみ出した。公民館に会場を移したことと相まって、期待感の大きさがうかがえる。



開講式で、新クラブ員にクラブのワッペンを贈呈した。写真から伺える和やかさの中に、創意、工夫、粘りを支える意欲を感じる。



開講式後、昨年度から続いて入会したクラブ員が、昨年度の自作作品を紹介している。左の写真は、事故現場に急行する救急車からリモコンで前方の信号を全方向「赤」にする。100円店のTVリモコンを使って実現した。



電力を節約して、洗濯ものをできる限り早く乾かす仕組み。観光漁港で「イカの一夜干し」を作る仕組みに似る。ハンドドリルで100円店の「物干し」を回している。右は、減速したモーターを乾電池で回す。自然乾燥と比較したデーターがある。



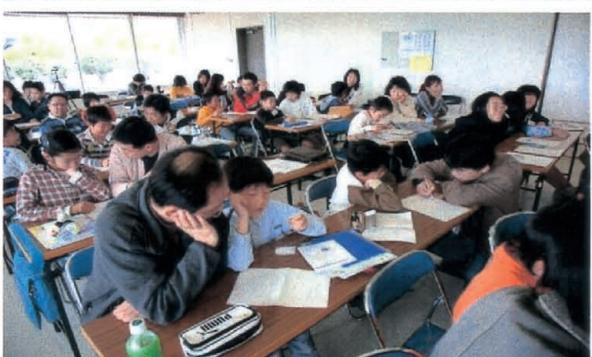
蜂など危ない害虫に離れてた所から殺虫剤を噴霧する仕組み。
以上3葉とも、子供の発想と指導者との出会いに保護者の支えがあって生まれた作品である。小学校までに濃密に体験しておきたい心のよりどころ。



旧作品の発表を聞いた後、「作りたいものを絵で書く」「ことば」ではなく「絵」は、より具体的なイメージを求められる。一日の生活を思い浮かべながら、暮らしに即した「作りたいもの」「あるといいなと思うもの」を考えるよう、助言している。



「町内のイベントで使う明かり」「ドライブ中の会話」「おばあちゃんのこと」などから出てくる「発想」は、保護者と子供が対等な立場で話すのが特徴である。しかも、採用するかしないかは、子供に決定権がある。「片付けなさい」などの、親の命令がない会話は貴重である。



上の写真と同じ場面。「おねだり」や「宿題」は、親子の間で多少とも意識のずれが生じ、「対等の立場」にはなれない。この場面の「作りたいもの探し」は、それが無く、話し合いが深まる。写真の姿勢や表情から信頼関係もうかがえる。



2 ものつくりへの導入

指導者主導で素材や工作方法を伝えようとしたときの記録である。このときの、子供たちの行動の中に興味・関心・創造体験を推し進める環境のあり方と「子供力」との関係が見える。



指導者が準備した「心」は、・動くもの・形を変えやすい(加工しやすい)素材・構造の単純化・加工を補助する工具(治具)・完成品の提示・十分な量の工作材料・工作用具の自由選択と助言・必要最低限の手引き書(上欄)などである。



親子で指導者の話を聞く

子供には、保護者の背中を見て、友達やその保護者の視線も感じながら、知らず知らずのうちに、態度化が生じているにちがいない。



完成品を動かして見せる。

飛び出してきたのは男子、あとに女子、性差か勢力差か。保護者の首の長さからも提示物の効果が伺える。

「作れそうだ」……作る意欲を後押し。



親子共同作業。船のサイズは、エンジンから「あてがい採寸」。ものさしは、なかなか使えない。

カッターは安全上刃の丈夫なものを使わせたい。



向かって左の子供は、クラブ2年目。この程度の加工なら、補助は不要。左の子供からどんな情報を得ているのだろうか。加工上のヒントがあるのかもしれない。異年齢集団の長所。



パイプを固定する場所の確認。工作は子供。

こういう補助ができるのは、小学校時代が最後。



動いたね。おめでとう。先生(大学・物理)が物理現象を観る目で、目の前の現象をじっくり観察。

お嬢さん、しばらく走らせたままにしておいてね。

子供は、どんな「不思議や感動」をもつただろうか。



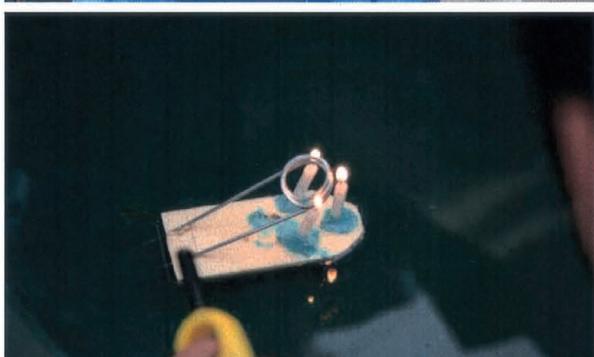
子供が二人出会えば、ゲームが始まる。船の周りの波紋は、力が伯仲していることを示している。

ここから、新しい展開が……



大人のやむにやまれぬ「悪戯心」が子供を刺激する。

ここにも、新しい展開の種が……



U字パイプより、コイルのほうが温まりやすいだろう。

実は、パイプの加工が格段に難しく、指導者が提示しなかった形である。



こちらは、共同制作。個々で作った「エンジン」を取り外して一隻にまとめた。また、長時間走らせようとして、長いろうそくを使ったことから、「エンジン」の力の方向に気づくきっかけを含んでいる。



ろうそくが多いと、お互いの熱でろうそくが倒れる。ライターの炎で加熱しても、スピードはあまり変化しない。次々と新手を加えている。この時点では、噴出する水流の方向に気付いているのだろうか。



走らせるときに工夫したことを言葉にする。具体から抽象化への歩みである。自分の言葉で友達に話すのは、感動の強化、体験の再確認、決まりに気付くなどの効果があるようである。



友達の発表にはなかった(話さなかった)自分の体験は、発表したくなるものようである。発表しながら自分の考えを再構築することもある。

こどもの発表は、操作したことと観察できたこととを関連付けるものが多い。



なぜそうなるのかと、掘り下げる追求するのは、時として、子供を苦境に押しやることになる。発表を受容しながら「エンジンの向き」を変えてみるだけの時間がなかったのかな」程度で留めておくのが、異年齢集団でできる方向付けではないかと考えている。



一生懸命知恵をしぼり、集中して活動したあとには、軽い疲労感と充実感に包まれるようである。この、成功しなかったことも含めた活動体験全体が次の活動のエネルギーになる。こんな繰り返しが興味・关心・創造体験をはぐくむと考えている。

3 治具と素材

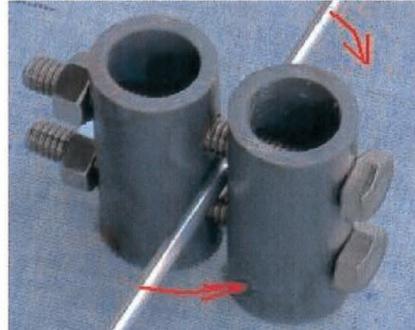
このポンポン船は、突沸を利用しておもちゃの船を、走るわけを探求できるような教材にするため、指導者が単純な構造に作り変えようと、工夫していたものである。当時、銅パイプで成功していた。

このポンポン船は、最近簡単かつ安価で入手できるようになったアルミパイプに変えられないかと工夫したものである。

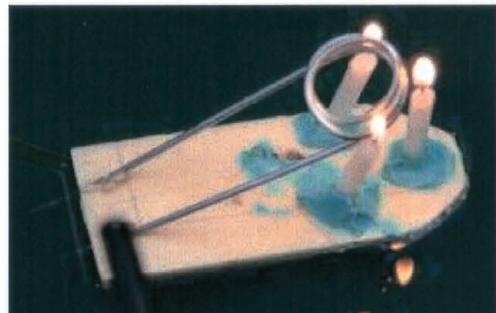
指導者があらかじめパイプを曲げておくことはできるが、これでは、子供は、組み立てたら、あとは、遊ぶだけ。

指導者の「心」の中の、・形を変えやすい素材・単純な構造・十分な工作材料 というのは、動くものに「より高い性能を求めて作り直す」ことをいとわない子供の行動パターンに添うものである。《安価なアルミパイプをつぶすことなく、子供の手で曲げる》これを解決すると、船体はこれも簡単に入手できるようになった発泡した軽くて水を吸わない「レジャーマット」の類で解決する。

下右の子供が使っている「治具」は、大げさな言い方になるが、発明クラブ流ポンポン船つくりの屋台骨である。下左は、下右写真を基にパイプの太さが変わっても対応できるようにしたものである。



ポンポン船の製作で、もし、加工しにくい素材が、一人一艘分だけであったとしたら、また、アルミパイプを曲げる治具がなかったら、右写真のような発想は生まれなかつたに違いない。



4 指導者・保護者

これと同じ原理で走るおもちゃ一ポンポン船が今でも販売されていることを知らない指導者や保護者もあり、保護者の作りたい意欲にも後押しされた。その一例が「悪戯心」おじさんであろう。

もつとも、保護者の既存の体験であっても、「悪戯心」をさりげなく発揮するおじさんがあり、結構子供の操作意欲や製作意欲を刺激してくださる。

指導者は、好奇心では負けないが、子供の質問をすべて解決するほど、物知りではない。10人十色で得意分野が異なるのが幸いして、保護者・時どき子供も加わって、岡山弁丸出しのアイディアを出し合う姿は、探求の“無形文化財”だと自負している。

水槽で、作ったものを動かすときが子供を次のステップに進ませる「元気付け」「新しい工夫」が生まれやすい場面である。船の動きを注視するおじいさんと出会ったり、船同士で力比べを始めたりするのがそれである。子供の遊びの中に発見があるとはこのことだろう。

興味・関心・創造体験を呼び起こし持続させるのに、与える活動のテーマ、テーマに即した考え方、工作素材の量と質、したことや見つけたことを発表させることが、効果を発揮している。加えて、指導者との出会いや活動を共にする保護者の存在が大きい。保護者は子供の送迎にとどまらず、子供から見て対等な話し相手として、価値を発揮しているのである。

ポンポン船のように、同じ物を作るときには、材料から工具まで事前に検討・準備できるが、個別に作りたい物を作る「宝箱」活動では、材料と工具、活動のテーマで興味・関心・創造体験を持続させるのでは、物足りない。子供自身が持つ興味・関心・意欲と、それを強力に支える保護者の力がどのように生きるのか。個性あふれる指導員たちと子供たちとの出会いをより有効に広げる方法があるかもしれない。

今後は、「宝箱」活動で、保護者の力や指導員との出会いをもう少しうまく生かす工夫が必要だと思う。遠距離や保護者の仕事が変化して、クラブに通いにくくなる子供のためにも。

*「宝箱」活動：作りたいものの発想は、作らなければやがて消えることが多い。指導者やクラブ員のこのようなアイディアを書き溜めた「外部秘」のノートがある。作りたいものを探すとき、子供はこのノートを参考にする。このことから、個別の物づくりを宝箱活動と呼んでいる。

文責・水田 写真・上田ほか

助成実施要項

12. 助成実施要項

財団法人八雲環境科学振興財団 研究助成制度実施要項

(趣旨)

第1 この要項は、財団法人八雲環境科学振興財団寄附行為（以下「寄附行為」という。）第4条第1号に基づき、財団法人八雲環境科学振興財団（以下「財団」という。）が行う、環境科学に関する研究助成の実施について定めるものとする。

(研究助成の対象)

第2 財団が行う研究助成は、次に掲げる学術研究に助成するものとする。

- 一 自然科学又は社会科学若しくは人文科学の分野における環境問題に係わる基礎並びに応用研究で、研究者が1人で行うもの、又は研究者が2人以上のグループで同一の研究課題について共同で行うもの。
- 二 国の内外で、環境科学の学術的調査研究活動を行うもの。

(研究助成対象機関)

第3 財団の行う研究助成の対象者が所属する研究機関（以下「研究機関」という。）は、次に掲げるものをいう。

- 一 大学及び高等専門学校
- 二 県及び県の附属研究機関
- 三 民法第34条の規定により設立された学術的研究を行う法人
- 四 前号に掲げるもののほか、学術的研究を行う機関で、財団において適當と認めるもの。

(推薦者)

第4 研究助成金の交付の申請には次の各号による研究機関代表者の推薦を受けなければならない。

- 一 研究機関に所属する研究者が1人で研究を行う場合は、当該研究機関の代表者又は学部長
- 二 同一の大学で異なる学部の研究者2人以上が、同一の研究課題について共同して研究を行う場合は学長
- 三 前号に掲げる場合を除くほか、異なる研究機関に所属する研究者2人以上が同一の研究課題について共同して研究を行う場合は、各研究機関の代表者

(研究助成の種別)

第5 研究助成は、その助成対象により、次のとおり区分する。

- 一 一般研究
財団が例示する先駆的又は独創的で将来性のある研究課題を対象とする。

二 特定研究

財団が毎年提示する基本テーマに関する研究課題を対象とする。

三 学術調査研究

国内外で行われる環境科学に関する学術調査研究で、当財団において適当と認めたものを対象とする。

(研究助成の期間)

第6 前項に規定する研究助成の期間は、原則として1年とする。

(助成研究の募集)

第7 研究助成金の交付を申請しようとする者は、別に定める様式の研究助成申請書を、財団に提出するものとする。

(助成研究の選考)

第8 研究助成金の交付は、寄附行為第32条に定める選考委員会において選考し、理事会の議を経て決定する。

(選考基準)

第9 助成の対象となる研究は、次の基準により審査する。

- 一 研究目的に対する学術的・社会的要請が大きいこと
- 二 研究計画が十分に検討され研究目的の達成可能性が高いこと
- 三 独創性に優れ、新たな研究分野として広がる可能性が高いこと
- 四 政府及び企業等の補助、助成が得難い等、当財団が助成する必要性が高いこと

(助成経費)

第10 助成研究者には、別に定める助成経費を支給する。なお、研究助成金は、申請課題の研究以外の目的に使用することはできない。

(報告書の提出)

第11 研究助成金の交付を受けた者は、助成期間終了後6ヶ月以内に、別に定める様式の研究成果報告書を、財団に提出しなければならない。

(雑則)

第12 研究助成金の交付を受けた者が、国立学校設置法第2条第1項に規定する国立学校に勤務するときは、助成金の受入れは、奨学寄附金委任経理事務取扱規則（文部省令第14号、昭和39年4月23日）に基づき、処理するものとする。

附 則

この要項は、平成10年9月1日から施行する。

財団法人八雲環境科学振興財団 国際研究交流助成制度実施要項

(趣旨)

- 第1 この要項は、財団法人八雲環境科学振興財団寄附行為（以下「寄附行為」という。）第4条第2号に基づき、財団法人八雲環境科学振興財団（以下「財団」という。）が選出する国内外の研究者等を、国内外で開催される国際研究集会等に派遣又は招聘することを助成すること並びに国内外の研究者（又はグループ）が共同で研究を行うことを助成することの実施について定めるものとする。

(国際研究交流助成の対象)

- 第2 この要項で対象とする国際研究交流助成は、次の条件を満たすものとする。
- 一 下記に示す国際研究集会への国内研究者の派遣
 - イ 外国で開催される研究集会であること。
 - ロ 国際的に権威のある学会、学術団体又は学術研究機関等が主催するものであること。
 - 二 下記に示す国内研究集会への海外研究者の招聘
 - イ 国内で開催される国際研究集会であること。
 - ロ 国際的に権威のある学会、学術団体又は学術研究機関等が主催するものであること。
 - 三 下記に示す国際共同研究のための派遣及び招聘
 - イ 協定等に基づき、国内外の研究機関で一定期間組織的に研究（研究機関の代表者が認めたもの）することを目的とした、国内研究者の派遣又は国外研究者の招聘であること。
 - ロ 国際的な共同研究を目的とした、研究者の交流や情報資料交換のための一時的な国内研究者の派遣又は国外研究者の招聘であり、財団において適当と認めるもの。

(研究助成対象機関)

- 第3 財団の行う助成の対象者が所属する研究機関（以下「研究機関」という。）は、次に掲げるものをいう。
- 一 大学及び高等専門学校
 - 二 県及び県の附属研究機関
 - 三 民法第34条の規定により設立された学術的研究を行う法人
 - 四 前号に掲げるもののほか、学術的研究を行う機関で、財団において適当と認めるもの。

(推薦者)

第4 助成金の交付の申請には所属する研究機関代表者又は学部長の推薦を受けなければならない。

(助成対象研究者の募集)

第5 派遣又は招聘研究者の助成を希望する者は、別に定める助成申請書を所属機関の長を経て財団に提出するものとする。

(助成対象研究者の選考)

第6 派遣又は招聘研究者の助成選考は、寄附行為第32条に定める選考委員会の議を経て理事会で決定する。

(選考基準)

第7 派遣又は招聘の助成は、対象研究者の以下の基準の充足状況により選考する。

- 一 優れた研究活動の実績があること。
- 二 国際研究集会においては、講演若しくは研究発表を行うこと又は座長になること等重要な役割を果たすこと。
- 三 国際研究交流における活動に必要な語学力を有すること。
- 四 国際研究集会への参加あるいは国際共同研究により、研究の著しい向上が期待されること。

(助成経費)

第8 派遣又は招聘研究者には、別に定める助成経費を支給する。

(報告書の提出)

第9 派遣研究者は又は招聘助成を受けた研究者は研究集会等終了後1ヶ月以内に、別に定める報告書を財団に提出しなければならない。

(雑則)

第10 助成金の交付を受けた者が、国立学校設置法第2条第1項に規定する国立学校に勤務するときは、助成金の受入れは、奨学寄附金委任経理事務取扱規則（文部省令第14号、昭和39年4月23日）に基づき、処理するものとする。

附 則

この要項は、平成10年9月1日から施行する。

財団法人八雲環境科学振興財団 研究集会助成制度実施要項

(趣旨)

第1 この要項は、財団法人八雲環境科学振興財団寄附行為（以下「寄附行為」という。）第4条第1号に基づき、岡山県内で開催される環境科学に関する研究集会、学術講演会、シンポジウム等（以下「研究集会」という。）に対し、財団法人八雲環境科学振興財団（以下「財団」という。）が行う助成の実施について定めるものとする。

(助成対象研究集会)

第2 財団が助成する研究集会は次のとおりとする。

- 一 学協会及びその支部が主催するもの
- 二 公知された懇話会、研究会等が主催するもの
- 三 財団が認める組織が主催するもの

(助成条件)

第3 研究集会への助成は、岡山県下の研究機関に常勤する研究者が世話人として申請するものでなければならない。

2 前項の研究機関は、次に掲げるものをいう。

- 一 大学及び高等専門学校
- 二 県及び県の附属研究機関
- 三 民法第34条の規定により設立された学術的研究を行う法人
- 四 前号に掲げるもののほか、学術的研究を行う機関で、財団において適當と認めるもの。

(推薦者)

第4 助成金の交付の申請には、所属する研究機関の代表者又は学部長等の推薦を受けなければならない。

(助成研究集会の募集)

第5 助成金の交付を申請しようとする者は、別に定める様式の研究集会助成申請書を財団に提出するものとする。

(助成の選考)

第6 研究集会助成の決定は、寄附行為第32条に定める選考委員会において選考のうえ、理事会の議を経て決定する。

(選考基準)

- 第7 助成の対象となる研究集会は、次の基準により審査する。
- 一 明確に限定された研究主題であり、新しい知識又は概念の展開の可能性が大きいこと
 - 二 研究法などの点で学術的価値が高いこと
 - 三 岡山県において開催する意義が明らかであること
 - 四 研究集会を開催するための組織と運営が明確であること

(財団名表示の義務)

- 第8 採択された研究集会は、刊行する印刷物等に共催、協賛、賛助等の冠を付し、財団名を記載しなければならない。

(助成額の基準)

- 第9 研究集会への助成額の交付基準は別に定める。

(報告書の提出)

- 第10 助成金の交付を受けた者は、研究集会が終了した後、1ヶ月以内に別に定める様式の報告書を財団に提出しなければならない。

(雑則)

- 第11 助成金の交付を受けた者が、国立学校設置法第2条第1項に規定する国立学校に勤務するときは、助成金の受入れは、奨学寄附金委任経理事務取扱規則（文部省令第14号、昭和39年4月23日）に基づき、処理するものとする。

(実施細則)

- 第12 この要項に定めるもののほか、必要な事項は別に定める。

附 則

この要項は、平成14年2月21日から施行する。

13. ご寄附のお願い

財団法人八雲環境科学振興財団は、平成 10 年 7 月に設立され、これまでに、省資源・リサイクル、環境計測、生態系保全をはじめ環境科学に関する多くの助成事業を行ってまいりました。

今後、当財団の事業をより実りあるものにするため、広い分野の多くの方々に当財団設立の主旨をご理解いただくとともに、ご指導・ご支援をいただくことが必要と考えております。

なお、この寄附金は、事業目的の達成のために運用財産として使用させていただきます。

会員の種類及び特典

- * 募集期間： 随時
- * 対象： 個人・法人
- * 寄付金： 個人 1 口 5,000 円、法人 1 口 30,000 円
- * 特典：
 - ・財団の発行する研究レポート集、財団ニュースの配布
 - ・財団が主催する研究発表会、その他事業企画等のご案内
 - ・その他理事長が必要と認める資料の配布

《 税制上の優遇措置について 》

本財団は、平成 14 年 8 月に岡山県教育委員会より「特定公益増進法人」として認定されており、このご寄附については、下記のとおり税法上の優遇措置を受けることができます。

法人様の場合（法人税法第 37 条・施行令第 77 条）

- ・・・ 特定公益増進法人に寄附をした法人は、確定申告によって法人税法上の損金算入限度額に損金算入限度額と 同額が別枠で認められます。

個人様の場合（所得税法第 78 条・施行令第 217 条）

- ・・・ 所得の 25% を上限として、ご寄附金額から 1 万円を差し引いた金額が所得控除の対象となります。

《 寄付金申込み手続き 》

【事務局】 ご不明な点は事務局までお問い合わせください。

住所：岡山市津島京町 3-1-21 (株)エイトコンサルタント内)

TEL : 086-252-7670 FAX : 086-252-8918 E-mail : yakumo@8con.co.jp

【申込書】

URL : <http://www.8con.co.jp/zaidan/> ダウンロード願います。

【お振込先】

銀行名 三井住友銀行岡山支店

口座番号 No. 6497055

口座名義 財団法人 八雲環境科学振興財団

財団法人 八雲環境科学振興財団は、その年の自然環境の状況を残していきたいという思いから、毎年、発行する研究レポート集の表紙にその年の自然環境のイメージを画像で現しております。

今年は、東北地域において大地震が発生するとともに、例年より早い梅雨明けとなり、猛暑が続き、四国においては長期の渇水状態が続く中で、ゲリラ豪雨と言われる局所的な集中豪雨が各地で発生し、都市部を中心に事故や災害が多発いたしました。

世界的には、四川大地震が発生し、多くの被災者が生じ、オリンピックの開催も心配されました。無事終了するとともに大気汚染が再度問題視されています。

また、アメリカにおいては竜巻ハリケーン等の発生により、多くの被害が生じ、自然災害の恐ろしさを改めて実感した年でもありました。

財団法人 八雲環境科学振興財団
研究レポート集 第9号

平成 20 年 10 月発行

発行 財団法人八雲環境科学振興財団
岡山市津島京町 3 丁目 1-21
(株)エイトコンサルタント内)
TEL (086) 252-7670

印刷 吉備サプライ有限会社
岡山市野田 4 丁目 2-20
TEL (086) 805-2111

THE YAKUMO FOUNDATION FOR ENVIRONMENTAL SCIENCE

telephone: 086-252-7670

facsimile: 086-252-8918

URL: <http://www.8con.co.jp/zaidan/>

財団法人 八雲環境科学振興財団

〒700-8617 岡山市津島京町三丁目1番21号(株)エイトコンサルタント内