

ISSN 0918-113X

研 究 報 告

第 5 号

1998. 3

秋田県林業技術センター

目 次

1. 優良木からの種苗増殖技術の開発.....佐々木揚 ... 1～ 64
 －カスミザクラの組織培養による増殖－
2. ヤマビルの生態に関する研究.....長岐昭彦 ... 65～107

優良木からの種苗増殖技術の開発

— カスミザクラの組織培養による増殖 —

佐々木 揚

Study of *in vitro* propagation of *Prunus verecunda*

Yoh Sasaki

要 旨

I. 試験管内増殖技術の検討

MS 培地を基本にして、カスミザクラのシュート増殖・伸長・発根培養技術を確立した。継代培養では、シュートの挿しつけ本数を2本/100mlコニカルビーカーとして2カ月間の培養、さらに新しい培地が入ったものに移植して1カ月間の培養が増殖には最適と考えられた。シュート増殖率はコニカルビーカーあたりに換算すると、培養シュート長1cm以上の場合；12.8倍、1.5cm以上の場合；8.6倍、2cm以上の場合；4.8倍であった。

II. ダイレクトルーティング法の検討

ジフィーポットを用いたダイレクトルーティングの検討は、発根培地をコルクボーラーで打ち抜き、培養シュートに挿しつけ、培養土（ピートモス、パーライト、バーミキュライト等量混合）に移植したところ、2カ月後に発根し、順化苗を得ることができた。発根した培養苗をさらに温室内で育成し、苗高26～65cmの幼苗を得ることができた。これらの培養ポット苗を屋外へ搬出した後、翌春に苗畑植栽を行なったところ、当年の秋には苗高119～175cmの苗木を育成することができた。

プラグ苗化によるダイレクトルーティングの検討は、ピートモス成型品ジフィー9と透明プラスチック容器（アグリポット）を用いて、効率かつ容易に行えるダイレクトルーティング法を開発した。このプラグ苗をポットに移植したところ、80%以上の効率で平均苗長30cmの植物を得ることができた。また、ビニール温室でも同じ方法によりプラグ苗の作出が可能であることを明らかにした。

効率的なプラグ苗化の検討については、培養シュートを発根培地で短期間培養し、発根初期の段階でジフィー9に移植して発泡スチロール箱内に納めてプラグ苗を作出した。通気性のないビニールシートを17日間被覆した後、3日間実験室内で外気に順化させたところ、得苗率85%、平均苗高33～40mmのプラグ苗を育成することができた。

プラグ苗の室温保存の検討については、23℃、16時間照明、白色蛍光灯による照度2,600ルクスの実験室内で水道水を適宜給水して保存した。その後、ポットに移植して育成栽培した結果、シュートが再伸長した。ポットを発泡スチロール箱に入れて、ビニールシートで被覆することにより、シュ

ト再伸長がさらに促進された。なお、少なくとも102日間を越えなければ、移植後のシュート伸長に室温保存の影響はないと考えられた。

Ⅲ. 苗畑植栽技術の検討

カスミザクラ培養苗の苗畑植栽方法と適期について検討を行った。ダイレクトルーティングにより調整した苗高およそ3cmのプラグ苗による苗畑植栽は、寒冷紗とベルツークを被覆して6月上旬に行なったところ、当年10月には苗高130cm、根元径7.2mmに達した。また、プラグ苗から育成した苗高およそ10cmのポット苗を試験した。その結果、5月下旬に植栽した寒冷紗とベルツークを被覆した試験区が、当年10月に苗高145cm、根元径10.8mmに達し、最も良好だった。ポット苗とプラグ苗による成長を統計処理して比較したところ、ポット苗の方が良好だった。

Ⅳ. 培養プラグ苗生産コスト式の確立とシミュレーションによる低コスト化の検討

カスミザクラの培養苗生産（年間100,000本生産まで可能）の生産コスト式の確立を行い、培養プラグ苗生産の低コスト化をコストシミュレーションによって解析した。現時点で10,000本の培養プラグ苗を生産する最も安価なトータルコストは培地作製室、順化室、培養室と無菌操作室を一つにした3部屋構造の培養施設として1年間に1回出荷した場合で306円/本と試算された。培養作業に関わるパラメーター（シュート増殖率や得苗率など）を変動させたシミュレーションによって、培養苗の低コスト化には温室内で自然光を利用した順化技術が最も効果的であることがわかった。

本研究報告は、林野庁の国庫補助課題「優良木からの種苗増殖技術の開発」（H. 3～H. 7）を受け、以下の論文をまとめた。

1. 佐々木 揚：カスミザクラの組織培養による増殖（Ⅰ）（1992）東北林学会誌 44：235～236
 2. 佐々木 揚：カスミザクラの組織培養による増殖（Ⅱ）（1993）東北林学会誌 45：181～182
 3. 佐々木 揚：樺細工に適したサクラについて（1994）櫻の科学 4：1～11
 4. 佐々木 揚：カスミザクラの組織培養による増殖の研究（Ⅰ）ダイレクトルーティングによる培養苗木の作出（1995）櫻の科学 5：1～12
 5. 佐々木 揚：カスミザクラの組織培養による増殖の研究（Ⅱ）（1993）ジフィー9とアグリポットを用いた効率的なダイレクトルーティング（1995）櫻の科学 5：13～20
 6. 佐々木 揚：カスミザクラのシュート増殖とプラグ苗化（1995）日林論 106：425～426
 7. 佐々木 揚：カスミザクラ培養苗の苗畑植栽と植栽時期について（1996）日林誌 78：10～14
 8. 佐々木 揚：カスミザクラ組織培養プラグ苗の生産コスト試算式の検討（1996）植物工場学会誌 7：244～252
 9. 佐々木 揚：カスミザクラ培養プラグ苗の生産コストシミュレーションによる低コスト化の検討（1997）植物工場学会誌 9：20～28
 10. 佐々木 揚：培養シュートから作出したカスミザクラプラグ苗の室温保存（1997）植物工場学会誌 印刷中
- [本研究で用いた植物生長物質の略語一覧]
- ・サイトカイニン類 BAP：ベンジルアミノプリン、6-benzylaminopurine
 - ・オーキシシン類 NAA：ナフタレン酢酸、Indole-3-acetic acid
IBA：インドール酪酸、Indole-3-butyric acid

序 論

秋田県の伝統工芸である樺細工は、桜の樹皮を茶筒、盆、小引き出しなどに張り付ける県独自の伝統工芸である。しかし、近年、その需要拡大と大量生産によって原材料であるサクラ樺の不足が心配されている。樺細工に用いるサクラ樺には様々な系統が知られているが、樺細工師が用いている分類法であり、サクラの種を分類しているものではない。樺細工に適したサクラについては現在まで育種・育林に関する研究が行われておらず、植生・優良木などの情報は、その大部分が明らかになっていない。そこで、収集には伝統工芸家の情報、樺の産地に関する伝承、サクラが残されていると思われる公園、以前は山奥と考えられる道路沿いについて、開花時期に調査を行い、多数の優良木を見いだすことができた（佐々木 1994）。また、従来の定説でいわれるベニヤマザクラのみならず、カスミザクラも樺細工に適用できることを明らかにした（佐々木 1994）。

ベニヤマザクラとカスミザクラは共にヤマザクラ群に属し、国内において九州と沖縄を除く地域に分布する（奥田ら 1993）。また、後者は前者と比較すると、より標高の低い位置にその植生が認められる。これらのサクラ樺を形成する要因が環境要因、遺伝的要因、あるいはそれらの複合要因によるものかは現時点では不明である。そこで、固体差を生じやすい実生苗よりむしろ、優良木のクローン苗による植栽試験を行うことが当面の課題と考えられる。

林木のクローン増殖技術として、挿し木は一般的であるが、品種や個体間による効率差が知られている。また、サクラの接ぎ木に関しては、多くの品種で接ぎ穂の花色は台木の影響を受けることが経験的に知られており、必ずしも植栽試験苗木の作出法として、最適とは考えにくい。このようなことから、国内では様々なサクラの種、品種、あるいは天然記念物の個体について組織培養による増殖研究が多く研究者によって報告されている（Katano 1987、Katano and Ryoji 1991、原口 1990、茂木と川尻 1992、小野と石井 1994、酒谷と天野 1989、佐藤 1992, 1993、佐藤 1990、千木 1989）。

組織培養は、植物組織の一部を無菌的に培養して増殖・発根させることにより、もとの親個体と同じクローンを増殖する技術である。この技術の長所は、自根を有するクローンを大量に作出できる点である。千木と染郷（1990）はサクラ亜属について組織培養と取り木の比較を行なったところ、増殖の難易で類似性は見いだせなかったとしている。そこで、取り木、あるいは挿し木などの無性繁殖技術と組織培養が補完しあうことにより、今までに増殖が困難であった様々な品種や個体が増殖可能になると考えられる。本研究では、樺細工に適したサクラ育種の一つの方向として、カスミザクラの組織培養による山地植栽用苗木の効率的な作出法の確立を目的とした。

また、山地植栽の苗木生産をこのような組織培養によって行うとすれば、設備や労力を必要とし、苗木単価が高くなるため、低コスト化の検討が必要である。本研究では、組織培養による苗木生産の実用化の可能性についても検討を行った。

I 試験管内増殖技術の検討

a. BW 培地によるシュートの増殖と発根

1. はじめに

序論で述べたように、樺細工に適したサクラの探索、収集した優良クローンにはカスミザクラが多く含まれていた。従って、この樹種についての増殖技術が必要となる。秋田県内で必要とされる樺細工用のサクラ苗木は年間10,000本程度であり、10クローンによって培養苗の生産を行うと仮定すると、単純計算では1,000本／クローンの増殖が必要となる。一般に組織培養における大量増殖技術は、カルス、あるいは不定胚を経由する場合と、定芽や不定芽を増殖する方法とに大別できる。このような1,000本程度の増殖であれば組織培養による増殖系はカルスや不定胚形成の複雑な系よりむしろ、定芽のシュート増殖が望ましいと考えられる。定芽の増殖を利用した組織培養のプロセスは次の五つに分けることができる。まず、植物の一部を無菌状態にし、そこから芽を伸長させる過程の初代培養では冬芽や萌芽枝の腋芽等の組織を利用して行なう。次に伸長した芽を増殖させる過程である。さらにその増殖した小さい芽を伸長させ（伸長過程）、発根培地に移植し（発根過程）、発根させた幼植物体を外環境にならす（順化過程）。なお、この増殖、伸長過程でそれらのシュートをループさせて無限に増殖させる継代培養を行い、計画的に種苗を大量生産できる点が組織培養の特徴である。

国内では様々なサクラの種、品種、あるいは天然記念物の個体について組織培養による増殖研究が多く、研究者によって報告されている（Katano 1987、Katano and Ryoji 1991、原口 1990、茂木と川尻 1992、小野と石井 1994、酒谷と天野 1989、佐藤 1992, 1993、佐藤 1990、千木 1989）。酒谷と天野（1989）は、カスミザクラについてもナラノヤエザクラと同様に培養できるとしているが、具体的なデータは示されていない。そこで、当センターに自生しているカスミザクラ成木1個体を試験材料として、試験管内で定芽を増殖する技術について検討を行った。

2. 材料と方法

1) 初代培養

材料は、当センター構内に自生しているカスミザクラ1クローンを使用した。初代培養は1990年11月初旬に採取した枝を水挿しして、12月中旬に伸長したシュートから腋芽を含む2～3 cmのY字形に切り出したものを外植体とした。外植体は新梢の腋芽を含むY字形に切り取り、200～500倍希釈の中性洗剤で2～3分洗浄、水洗した後に70％エタノールで1分処理し、1％次亜塩素酸で滅菌した後、滅菌蒸留水で各5分、3回洗浄してから培地に挿しつけた。培地はBAP 4.4 μ M、ショ糖3％、寒天を1％添加してpH5.8に調整したLS（Linsmaier and Skoog 1965）を直径25mm×長さ120mmの培養試験管におよそ10ml分注し、1.2気圧121℃のオートクレーブで10分間加圧滅菌して用いた。なお、培養条件は温度を26℃、16時間照明（照度5,000luxの白色蛍光灯）で行なった。

2) シュートの増殖

まず、初代培養と同様にシュートの増殖を行った。そして、100mlコルベンに培地25ml分注した窒素源を規定濃度の半量にした MS (Murashige and Skoog 1962) に継代培養で増殖したシュートを1本挿しつけて、シュートの増殖・伸長試験を行った。添加する植物ホルモンは BAP 1、10 μ M と BAP 3.16 μ M と NAA 3.16 μ M の3試験区、供試本数は10~17本とした。

また、BW (佐藤 1990) でも同様にシュートの増殖・伸長試験を行った。添加する植物ホルモンは BAP 1、3.16、10 μ M と NAA 0、0.316 μ M の組み合わせ計6試験区、各供試本数は21本とした。なお、試験結果はどちらの場合も培養1カ月後に肉眼で観察できるシュート (1 mm以上) を調べた。培養条件は¹⁾と同様に行った。

3) シュートの発根

つぎに長さ2~3 cmに伸長したシュート (培養後およそ2カ月) を用いて発根試験を行なった。発根培地は BW 培地の無機成分とショ糖を規定濃度の半量にし、有機成分はチアミンとニコチン酸のみとした。培地は100mlコルベンに培地を25ml分注し、NAA 0.316 μ Mを含む IBA 1 μ M と3.16 μ M を添加した2試験区 (各供試本数はそれぞれ17本、19本) とした。結果については、培養開始50日後に発根率と根の平均生重量を測定した。培養条件は¹⁾と同様に行った。

3. 結果と考察

1) シュートの増殖

当センターで採取したカスミザクラは、LS 培地で継代培養しているとシュートの節間が縮まり、シュート長が短くなる傾向が認められた。そこで、ナラノヤエザクラの培養で報告されている窒素源を規定濃度の半量にした MS 培地 (酒谷と天野 1989) が、カスミザクラについて有効かどうか試験を行った。この培地に BAP 1 μ M を添加した試験区では平均0.3本、BAP 3.16 μ M と NAA 0.316 μ M を添加した試験区と BAP 10 μ M を添加した試験区では平均1.2本の増殖シュートが認められた。なお、この窒素源を規定濃度の半量にした MS 培地で継代培養を続けると、LS 培地と同様にシュート長が短いものばかりになる傾向が認められた。

そこで、シナミザクラの培養で報告されている BW 培地 (佐藤 1990) が、カスミザクラについて有効かどうか試験した。BW 培地によるシュートの増殖結果は、BAP が3.16 μ M、あるいは10 μ M あれば1カ月間の培養で、平均1.2本増殖することがわかった (図-1、表-2)。つぎにこの BW 培地で増殖したシュートの伸長について調べたところ、7 mm以上のシュートの数は BAP 3.16 μ M、NAA 0.316 μ M の試験区が最も良好であった (表-3)。また、Duncan の New multiple range test の結果、NAA 0.316 μ M 添加区と無添加区において有意差が認められた。従って、NAA 0.316 μ M 添加は、シュートの増殖には効果が認められないものの伸長には効果的であると考えられた。また、増

殖シュートの最大平均生重量では、BAP $3.16 \mu\text{M}$ 、NAA $0 \mu\text{M}$ の試験区が88mgと一番高かった（表4）。

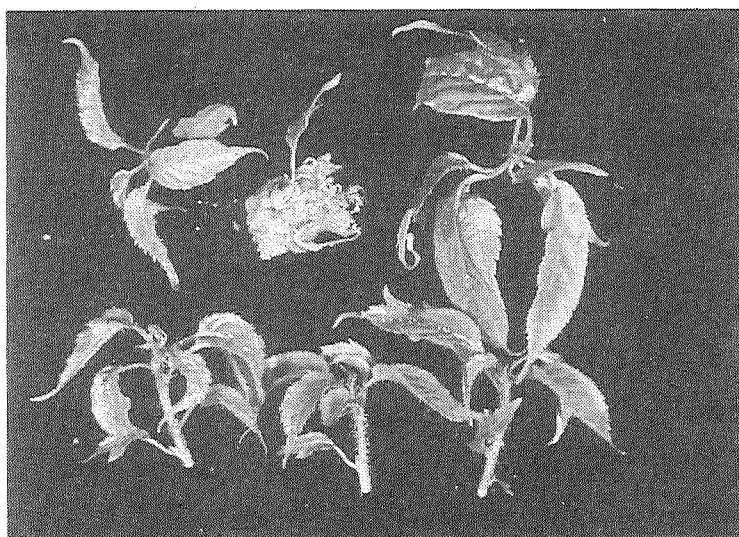
表—1 培養1カ月後のシュート平均増殖本数

基本培地	1/2(N)MS		
	BAP (μM)		
	1	3.16	10
NAA (μM) 0	^b 0.3 $\pm$ 0.5	—	^a 1.2 $\pm$ 0.8
0.316	—	^a 1.2 $\pm$ 1.4	—

本表のシュート平均増殖本数は挿しつけたシュートを含まない。単位は本数 $\pm$ S.D.

小文字のアルファベットは、DuncanのNew multiple range testの5%水準における結果を示す。

図—1 BW 培地（BAP $3.16 \mu\text{M}$ ）で増殖したシュート



表—2 BW 培地による培養1カ月後のシュート平均増殖本数

基本培地	BW		
	BAP (μM)		
	1	3.16	10
NAA (μM) 0	^{cd} 0.5 $\pm$ 0.6	^a 1.2 $\pm$ 1.2	^{abc} 1.1 $\pm$ 0.8
0.316	^d 0.5 $\pm$ 0.5	^{ab} 1.1 $\pm$ 1.3	^{cd} 0.5 $\pm$ 0.8

本表のシュート平均増殖本数は挿しつけたシュートを含まない。単位は本数 $\pm$ S.D.

小文字のアルファベットは、DuncanのNew multiple range testの5%水準における結果を示す。

表一 3 7 mm以上のシュートが認められた割合 (%)

		BAP (μ M)		
		1	3.16	10
NAA (μ M)	0	5 ^a	24 ^b	14 ^c
	0.316	5 ^a	38 ^a	14 ^c

本表の7 mm以上のシュートは、挿しつけたシュートを含まない。

小文字のアルファベットは、DuncanのNew multiple range testの1%水準における結果を示す。

データは、Mosteller and Youtz の変換により変数変換した。

表一 4 増殖シュートの最大平均生重量

		BAP (μ M)		
		1	3.16	10
NAA (μ M)	0	(83)	88 ^a $\pm$ 25	58 ^b $\pm$ 16
	0.316	(74)	73 ^b $\pm$ 25	55 ^b $\pm$ 16

単位はmg $\pm$ S.D. 小文字のアルファベットは、DuncanのNew multiple range testの

5%水準における結果を示す。データは、対数変換により変数変換した。なお、

BAP 1 μ Mの試験区 () は、増殖したシュートがそれぞれ1本なので割愛した。

以上の結果を総合すると、シュートの増殖・伸長を1種類の植物ホルモン組成の培地で行なう場合、BW 培地では BAP 3.16 μ M、NAA 0.316 μ Mのホルモン条件が最適と考えられる。なお、この BW 培地で継代培養していると節間は縮まらないが、葉が黄色くなるクロロシスが観察された。クロロシスは鉄分の不足、試験管内での高濃度のサイトカイニン量などによって生じると考えられている (Skirvin 1984)。今後、安定的なシュート増殖を行うためにクロロシスを解消する培地検討の必要性が示された。

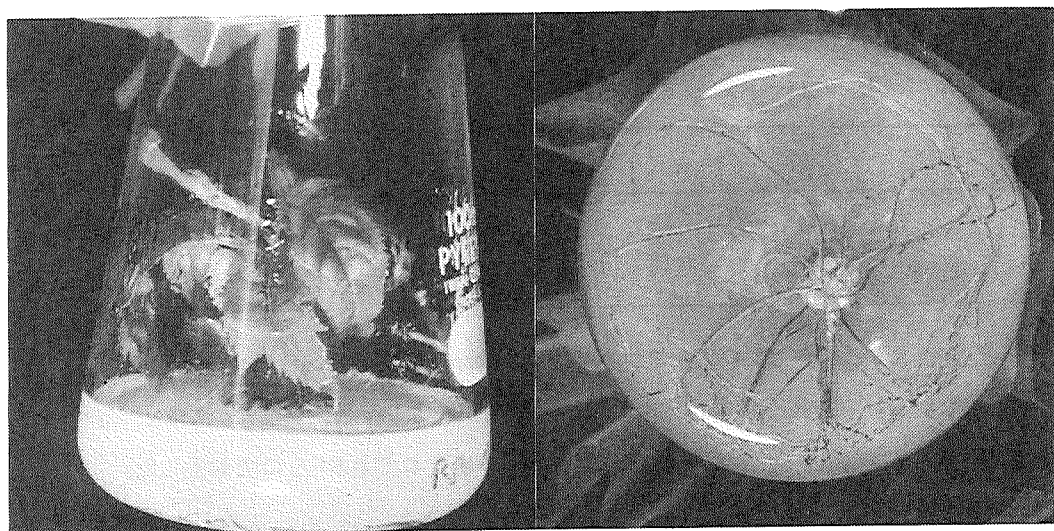
2) シュートの発根

増殖したシュートを発根培地に植え換えたところ、培養開始50日後に図-2のような発根が認められた。発根率については、IBA 1、3.16 μ Mそれぞれ65、68%であり、分散分析の結果、有意差は認められなかった。また、根の生重量についての分散分析の結果からも有意差は認められなかった。しかし、根の平均生重量は IBA 1、3.16 μ Mそれぞれ78mgと104mgであり、若干、3.16 μ Mの方が1 μ Mより良い結果が得られた (表-5)。

本試験結果から、カスミザクラの組織培養による増殖は可能であることが明らかになった。LS 培地を用いてカスミザクラの継代培養を行うと形態的にシュートの節間が縮まり、葉がカールする問題

が生じた。このように増殖したシュートの大部分は短いため、次の発根培養試験に用いることが困難である。この傾向は窒素源を規定濃度の半量にした MS 培地（酒谷と天野 1989）でも同様であった。酒谷と天野（1989）の処方では増殖培地にジベレリンを用いているが、本試験では添加していないことが原因の一つかもしれない。しかし、BW 培地（佐藤 1990）を用いることにより一部生理障害（クロロシス）の問題点が認められるものの、このような LS 培地や窒素源を規定濃度の半量にした MS 培地を用いて増殖したシュートで生じる問題点は解消できた。

図一 2 無機塩類とショ糖を規定濃度の 1/2 量にした BW 培地（IBA 3.16 μ M）での発根



表一 5 発根率と伸長根の平均生重量

	IBA (μ M)		分散分析結果
	1	3.16	1 μ M vs. 3.16 μ M
発根率 (%)	65	68	ND
平均生重量 (mg $\pm$ S.D.)	78 $\pm$ 40	104 $\pm$ 43	ND

NDは分散分析の結果、有意差がないことを示す。

発根率のデータはMosteller and Youtz の変換により、また、根の生重量のデータは対数変換により変数変換した。

4. まとめ

BW 培地を基本とし、BAP 3.16 μ M、NAA 0.316 μ Mを添加することにより、一部生理障害（クロロシス）が認められるものの、十分なカスミザクラのシュート増殖・伸長が可能になった。また、無機塩類を規定濃度の半量にした BW 培地で IBA 3.16 μ Mを添加することにより、発根技術を確立することもできた。

b. MS 培地によるシュートの増殖と発根

1. はじめに

前節 a. でカスミザクラの組織培養による増殖において、BW 培地は LS 培地、窒素源を規定濃度の半量にした MS 培地より形態的に良好な増殖結果が得られるが、シュートの葉に生理障害（クロロシス）が生じている可能性について述べた。従って、安定的なシュート増殖を行うためにはこのクロロシスを解消する培地検討が必要である。MS 培地は培地の無機塩類と有機成分が市販されており、ストック溶液作製に要する試薬の定量、調合に要する労力を省き、再現性を高められるなどの点から培養苗生産の実用化には有効と考えられる。そこで、本節で MS 培地を基本として添加する植物ホルモン類などでクロロシスを回避することができないか検討を行った。

2. 材料と方法

1) シュートの増殖

材料は、当センター構内に植栽されているカスミザクラ 1 クローンから誘導された継代培養物を用いた。シュートの増殖・伸長試験の試験区は、BAP 1、3.16、5.62、10、17.48 μ M と NAA 0.316 μ M を含む BAP 3.16、5.62、10 μ M の 8 区とした。培地はジフェニルウレア 4.71 μ M、ショ糖 3%、寒天を 1% 添加した MS (Murasige and Skoog 1962) を基本とし、上述の BAP を添加して pH5.8 に調整した。BAP 3.16 μ M、NAA 0.316 μ M を添加した BW 培地 (佐藤 1990) で培養されているシュートを上述の BAP 3.16、NAA 0.316 μ M を添加した MS 培地で 2 カ月間培養後、シュートの増殖・伸長試験を行った。試験結果は培養 2 カ月後に調べた。

2) シュートの発根

発根試験はおよそ 2 cm に伸長した増殖培養後 2 カ月のシュートを用いて行なった。発根培地は MS の無機成分とショ糖を規定の半量にし、有機成分はチアミンとニコチン酸のみとした。試験区は IBA 0、1、3.16、10 μ M 添加の 4 区とした。結果は、培養 2 カ月後、発根率と根の平均生重量を測定した。増殖・伸長試験、発根試験ともに各 10 ml の培地を直径 25 mm × 長さ 120 mm の培養試験官に分注し、供試本数を各 10 本とし、培養条件は 1. a と同様とした。

3. 結果と考察

1) シュートの増殖

MS 培地にジフェニルウレア 4.71 μ M を添加することにより、葉が黄色くなるクロロシスを解消でき、生理障害のない継代培養が可能となった。健全なシュートを増殖できることがわかった (図-3)。シュートの平均増殖本数が最も高かった BAP 5.62 μ M と NAA を添加しない場合で 4.7 本、つぎに NAA 0.316 μ M を添加した場合で 4.5 本だった (表-6)。なお、この試験区間において、Duncan の

New Multiple Range Test を行ったところ、5 %水準で有意差は認められなかったことから、NAA の添加効果はシュートの増殖に対して影響は認められないと考えられる。

つぎに増殖したシュートの中で、発根培養に使用できると考えられる 1 cm 以上のものについて、その本数を調べた（表－7）。増殖したシュートのなかで、1 cm 以上の平均増殖本数は BAP 5.62 μ M の試験区が3.3本と最も良好であった。NAA 0.316 μ M の添加は、シュートの増殖に対する若干の抑制を示した。しかし、Duncan の New Multiple Range Test の結果、5 %水準で有意差は認められなかった。また、NAA 0.316 μ M の添加効果については、増殖・伸長した平均シュート長は BAP 5.62 μ M ではどちらも15mmであり、分散分析で有意差は認められなかった。サクラの継代培養には、低濃度のオーキシンを用いることが報告されている（酒谷と天野 1987、佐藤 1990）。前節において培地でのシュート増殖・伸長において、NAA 0.316 μ M 添加によってシュートの増殖効果は認められないものの、伸長に効果的だった。従って、カスミザクラの増殖伸長培地としては、BAP 5.62 μ M、NAA 0.316 μ M の濃度が最適条件と考えられる。

表－6 培養 2 カ月後のシュート平均増殖本数

		BAP (μ M)				
		1	3.16	5.62	10	17.48
NAA (μ M)	0	1.6 ^c $\pm$ 1.1	1.4 ^c $\pm$ 1.0	4.7 ^a $\pm$ 4.3	2.9 ^{abc} $\pm$ 1.6	2.5 ^c $\pm$ 1.9
	0.316	-	1.5 ^c $\pm$ 0.7	4.5 ^{ab} $\pm$ 3.6	2.6 ^{abc} $\pm$ 1.3	-

本表のシュート平均増殖本数は挿しつけたシュートを含まない。

小文字のアルファベットは、DuncanのNew multiple range testの5%水準における結果を示す。

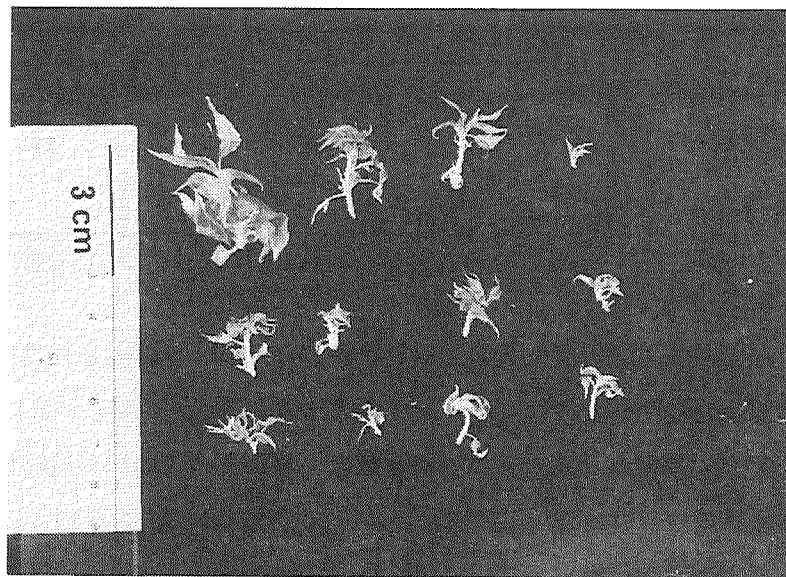
表－7 培養 2 カ月後の 1 cm 以上のシュート平均増殖本数

		BAP (μ M)				
		1	3.16	5.62	10	17.48
NAA (μ M)	0	0.4 ^c $\pm$ 0.5	0.1 ^c $\pm$ 0.3	3.3 ^a $\pm$ 3.2	1.3 ^b $\pm$ 1.2	0.9 ^{bc} $\pm$ 1.0
	0.316	-	0.2 ^c $\pm$ 0.4	2.4 ^{ab} $\pm$ 2.3	1.1 ^{bc} $\pm$ 1.2	-

本表のシュート平均増殖本数は挿しつけたシュートを含まない。

小文字のアルファベットは、DuncanのNew multiple range testの5%水準における結果を示す。

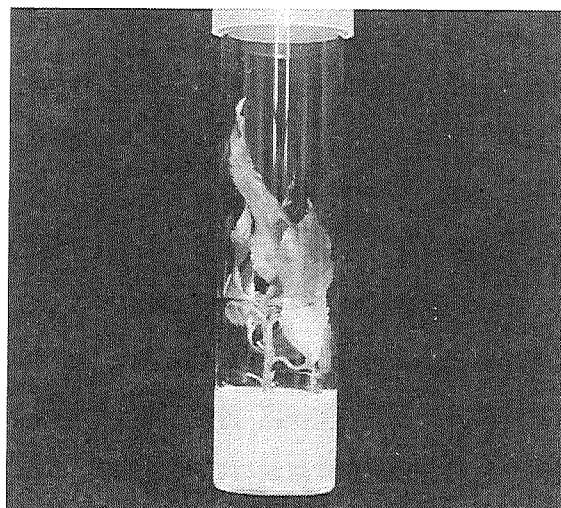
図一3 MS 培地 (BAP $5.62\mu\text{M}$) にジフェニルウレア $4.71\mu\text{M}$ を添加して培養したシュート



2) シュート

このような BAP $5.62\mu\text{M}$ 、NAA $0.316\mu\text{M}$ を添加した MS 培地で増殖したシュートが発根するかどうかについて調べたところ、ホルモンフリー区、IBA 添加区の全てで発根が認められた (図一4)。

図一4 無機塩類とショ糖を規定の $1/2$ 量にした MS 培地 (IBA $3.16\mu\text{M}$) での発根



発根率は、IBA $0\mu\text{M}$ から $3.16\mu\text{M}$ の濃度範囲において顕著な差は認められなかったが、 $10\mu\text{M}$ で若干減少する傾向がみられた (表一8)。一方、根の平均生重量は IBA の濃度が高くなることともに増加することがわかった。また、カスミザクラのシュートはホルモンフリー培地でも発根することが明らかとなった。従って、カスミザクラに対する IBA の効果は発根促進ではなく、根の伸長成長作用であると考えられる。

表一 8 培養 2 カ月後の発根率と伸長根の平均生重量

	IBA (μ M)			
	0	1	3.16	10
発根率 (%)	90 ^{ab}	100 ^a	90 ^{ab}	80 ^b
平均生重量 (mg $\pm$ S.D.)	18 ^b $\pm$ 7	20 ^{ab} $\pm$ 12	28 ^{ab} $\pm$ 9	37 ^a $\pm$ 19

小文字のアルファベットは、DuncanのNew multiple range testの1%水準における結果を示す。

本試験結果から、シュートの増殖にはジフェニルウレア4.71 μ Mを添加した MS 培地を用いることにより、BW 培地で生じる生理障害のクロロシスを解消できることが明らかになった。従って、市販されている MS 培地成分を利用することにより、培地作製に要する時間が短縮化できるようになった。また、培地ストック溶液作製に要する試薬の定量、調合に要する労力を省くことができることから、パートタイマーによる培地作製でも高い再現性を得られる点からも培養苗生産の実用化に有効であると考えられる。

4. まとめ

MS 培地を基本とし、BAP 5.62 μ M、NAA 0.316 μ Mとジフェニルウレア4.71 μ Mを添加することにより、健全なカスミザクラのシュート増殖・伸長培養が可能になった。また、無機塩類を規定濃度の半量にした MS 培地でシュートを培養することにより、発根させる技術も確立できた。

c. MS 培地による効率的なシュート増殖

1. はじめに

前節 b. で MS 培地にジフェニルウレア4.71 μ Mを添加することにより、健全なカスミザクラのシュート増殖・伸長を図れるようになった。しかし、シュート平均増殖本数は 2 カ月間で最大3.3倍（長さ 1 cm以上で挿しつけたシュートは含まない）であり、増殖するシュートからは多数の増殖シュートが認められ、そうでないものからは、全くというほど認められなかった。継代培養を安定して行えるようにするためには、より効率的なシュート増殖が必要と考えられる。予備試験的に調べたところ、培養に用いる容器は培養試験管よりも100mlのコニカルビーカーの方がシュート増殖に良好であった。そこで、本節では培養器（100mlのコニカルビーカー）に挿しつけるシュートの密度により効率的なシュート増殖が図れないか検討した。

2. 材料と方法

材料は、当センター構内に植栽されているカスミザクラ 1 クローンから誘導された継代培養株を用いた。シュートの増殖は、MS (Murashige and Skoog 1962) にショ糖 3 %、寒天 1 %、BAP

5.62 μ M、NAA 0.316 μ M、ジフェニルウレア 4.71 μ Mを添加した培地で行った。培地は100mlのコニカルビーカーに20～30mlを分注した。シュートの植えつけ本数は1～3本/コニカルビーカーとして2カ月間培養を行い、さらに新しい培地が入ったものに移植して1カ月間培養を行った。供試本数は各試験区でコニカルビーカー数を12とし、培養条件は1. aと同様に行った。試験結果は、挿しつけたシュートを含めた1 cm以上のシュート本数と長さを調べ、増殖率として算出した。

3. 結果と考察

培養苗の低コスト化にシュートの増殖率を向上させることは重要と考えられる。そこで、シュートの挿しつけ密度による増殖効果について調べた（図-12）。各試験区でのマルチプルシュート形成率は、それぞれ1本試験区で58%、2本試験区で71%、3本試験区で75%で3本試験区が最も良好だった Duncan の New Multiple Range Test の結果、1本試験区のみマルチプルシュート形成率が劣ることがわかった。なお、コニカルビーカーに培養シュートを4本植えつけた場合、増殖シートのほとんどがガラス化した。

増殖したシュートのうち、1 cm以上のものについて、シュート1本当たりの平均増殖本数でみると、それぞれ1本試験区で7.4本、2本試験区で9.0本、3本試験区で7.5本と2本試験区が最も良好だった。また、1 cm以上に伸長したシュートの平均長はそれぞれ1本で1.7cm、2本試験区と3本試験区で1.8 cmだった（表-12）。これらの1 cm以上に伸長したシュートの増殖数や平均シュート長について、Duncan の New Multiple Range Test を行った結果、どちらもすべての試験区間に有為な差は認められなかった。

表-9 シュート挿しつけ密度による増殖効果

	1本試験区	2本試験区	3本試験区
マルチプルシュート形成率(%)	58 ^b	71 ^a	75 ^a
平均シュート数 $\pm$ S.D.	7.4 ^a $\pm$ 6.0	9.0 ^a $\pm$ 6.5	7.5 ^a $\pm$ 7.0
平均シュート長 (mm $\pm$ S.D.)	17.3 ^a $\pm$ 5.4	17.7 ^a $\pm$ 5.5	17.6 ^a $\pm$ 6.0
単位シュートあたりの増殖本数	4.3	6.4	5.6

本表の平均シュート数、シュート長、単位あたりの増殖本数は挿しつけたシュートを含む。

小文字のアルファベットは、DuncanのNew multiple range testの5%水準における結果を示す。

図ー5 シュートの挿しつけ密度によるシュートの増殖
(左から1本試験区、2本試験区、3本試験区)



増殖シュート数にマルチプルシュート形成率を乗じて、単位シュートあたりの増殖率は1本試験区で4.3倍、2本試験区で6.4倍、3本試験区で5.6倍となり、2本試験区が最も良好であった(表ー9)。また、2 cm以上のシュートについても2本試験区が2.4倍と最も良好であった。これらのことから、一つのコニカルビーカーにシュートを2本植えつけて増殖を行うのがよいと考えられた。

前章の試験からは、培養試験管にシュートを挿しつけてから2カ月間培養を行うと、シュート長1 cm以上についての平均増殖本数は最大3.3本という結果が得られた(挿しつけ本数/培養器1本)。従って、増殖率は挿しつけたシュートを加算して最大4.3倍になる。一方、本試験ではコニカルビーカー内にシュートを挿し付けてから2カ月間培養を行い、さらに新しい培地が入ったものに移植して1カ月間培養を行っているため、培養方法は前章の方法とは若干、異なる。しかし、本試験結果からはシュート長1 cm以上についての増殖率は少なくとも7.4倍(挿しつけ本数/培養器1本)であり、単に増殖率について考慮すれば、培養試験よりもコニカルビーカーの方が効果的と考えられる。また、培養器に挿しつけるシュートの密度により効果的なシュート増殖が図れることも明らかになった。従って、この培養方法によって、カスミザクラの安定的な継代培養が可能になった。

4. まとめ

継代培養では、シュートの挿しつけ本数を2本/100mlコニカルビーカーとして2カ月間の培養、さらに新しい培地が入ったものに移植して1カ月間の培養が増殖に最適と考えられた。この場合、シュート増殖率はコニカルビーカーあたりに換算するとシュート長1 cm以上の場合： $6.4 \times 2 = 12.8$ 倍、1.5 cm以上の場合： $4.3 \times 2 = 8.6$ 倍、2 cm以上の場合： $2.4 \times 2 = 4.8$ 倍であった。

II. ダイレクトルーティング法の検討

a. ジフィーポットを用いたダイレクトルーティング

1. はじめに

定芽の増殖を利用した組織培養のプロセスは、初代培養、シュートの増殖、シュートの伸長、シュートの発根、発根幼植物体の順化である。第I章では、MS培地を基本とし、カスミザクラの試験管内増殖技術を確立した。試験管内で大量にシュートが増殖でき、発根シュートを得ることができても、一定温度制御、高湿度の環境条件で培養された培養物は、苗畑などの外環境にすぐには順応しない。このため、ある一定の期間、苗畑などの外環境に順応させる順化を行う必要がある。

in vitro で形成された根は、その後の鉢あげで活着しない例が知られており (Preece and Sutter 1991) カスミザクラの場合も寒天培地で発根させた幼苗をピートモス、パーライト、バーミキュライトの等量混合土を用いて順化させる予備試験結果では、順化効率は5割に満たなかった。ダイレクトルーティング (Chalupa 1987、岡田 1993)、あるいは *ex vitro* 法 (Bennet and Davies Jr 1986、Preece and Sutter 1991) は、発根と順化を同時に行うことによって、この問題を解決する技術である。また、組織培養による苗木生産への実用化にはステップの簡素化が必要と考えられ、この技術は、最も有効な手法ともいえる。いま、仮に移植したシュートの80%が発根し、次の順化率が80%だったとすると得られる順化苗は64%になる。シュートの増殖過程と伸長過程1ステップで行えば、工程を減らすと同時にそのロス分を省くことができる。Preece と Sutter (1991) は発根を *in vitro* で行なうと全コストの35~70%に及ぶとしており、実用化という点からダイレクトルーティングとこれに準ずる研究は最も重要性が高いと考えられる。

また、農林水産省では昭和62年度から平成4年度の4年間にわたり「バイオナーサリーシステムの開発に関する研究」で培養の大型化と自動化などのハード面を中心に取り組んだ。そして、その報告書では、培養系の簡素化の重要性が指摘されている (西村 1992)。このようなことから、ここではシュートの発根過程と順化過程を1ステップで行なうダイレクトルーティング法を検討した。

2. 材料と方法

1) シュートの増殖

材料は、当センター構内に植栽されているカスミザクラ1クローンから誘導された継代培養株を用いた。シュートの増殖・伸長は、MS (Murashige and Skoog 1962) にショ糖3%、寒天1%、BAP $5.62 \mu\text{M}$ 、NAA $0.316 \mu\text{M}$ 、ジフェニルウレア $4.71 \mu\text{M}$ を添加した培地で行った。培養条件は1. aと同様に行った。

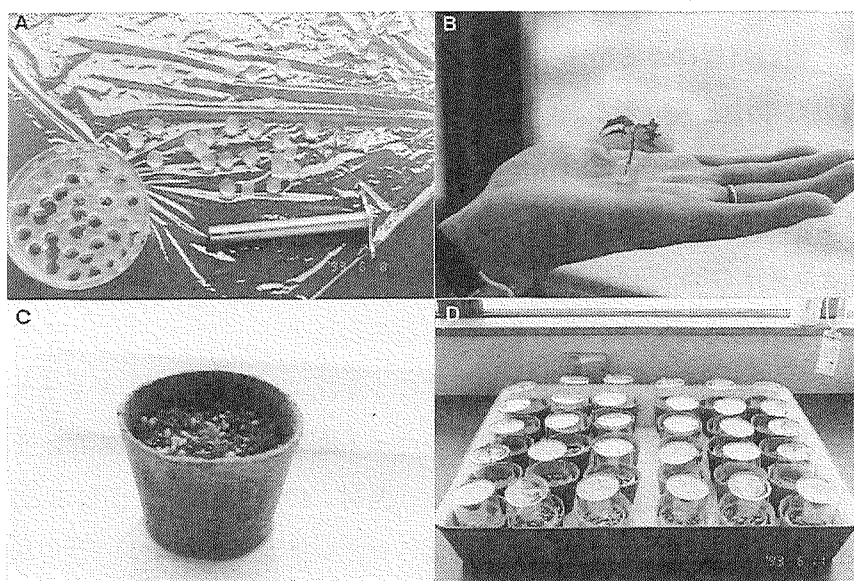
2) ジフィーポットを用いたダイレクトルーティング

発根と順化を一段階にしたダイレクトルーティング試験は、直径1cmのコルクボーラーで発根培地

を打ち抜き（高さも約1 cm）、長さ2～3 cmのシュートを植えつけてピートモス、パーライト、バーミキュライトの等量混合の培養土を入れた直径10 cm、高さ8 cmのポット（Jiffy products international LTD.、ジフィーポット）に移植した。発根培地はMSの無機塩とショ糖を規定の半量とし、有機成分としてはチアミンとニコチン酸のみにしたものを基本とした。試験区は、IBA 0、3.16 μ Mの発根培地と発根培地を使用しない直挿しの3とおりで、各15本のシュートを使用した。移植した培養シュートには通気孔を開けた外径6 cm、高さ12 cmの透明プラスチック容器（キリンビール、アグリポット）を被せて、水道水で希釈したハイポネックス（N-10, P-10, K-10）の2,000培養液を与え、16時間照明（照度4,300 lux）で温度24℃の条件下で発根・順化試験を行なった（図－6）。

図－6 本試験で行ったダイレクトルーティング

- A；発根培地をコルクボーラーで打ち抜く。B；マイクロシュート発根培地に挿しつける。
C；Bをジフィーポットのピートモス、パーライト、バーミキュライトの混合培養土に移植する。
D；アグリポットの上蓋を覆う。



試験結果は、育成後およそ50日に挿し付けた培養シュートからの発根率、根の伸長度とシュートの伸長度について調べた。根の伸長度は0 cm；0、0～2 cm；1、2～5 cm；2、5 cm以上；3と4段階で評価を行なった。また、伸長したシュートについては、伸長度を0 cm；0、0～1 cm；1、1～4 cm；2、4～7 cm；3、7 cm以上；4と5段階で評価を行なった。

3) 順化苗の屋外搬出と苗畑での生長

得られた発根個体は鉢底10 cm、高さ12 cmのポリビニールポットに中粒の赤玉土を鉢底に置き、ピートモスを主体とした培養土（サカタ種苗、スーパーミックスタイプA）にN-6, P-40, K-6, Mg-15の中粒状化成肥料（ZIPP Industries、マグアンプK）を2 g添加した培養土に移植して24℃、16時間

照明（照度4,300lux）の実験室で育成した。

育成した培養ポット苗は1993年8月20日から引き続き、上限温度25℃設定のガラス温室内で栽培を行って落葉後、1993年12月16日にポットごと屋外に搬出した（供試数；13）。また、実験室で育成を続け、緑葉を有する培養ポット苗を1994年2月7日、ポットごと屋外に搬出した（供試数；7）。そして、それらの培養ポット苗は1994年4月11日に苗畑植栽し、苗木の苗高、地際から5 cmの根元径を1994年4月27日と1994年7月27日から10月24日まで1カ月おきに測定調査した。また、苗畑移植前における培養ポット苗の根元径は培養土から3 cmのものを計測した。なお、苗畑は1994年4月上旬に耕起し、元肥として10 aあたりバーク堆肥2 t、コンポスト1 tを使用した。育成管理は追肥、殺虫剤散布は行わず、除草、下枝の剪定や側芽の芽かき、害虫の捕殺を適宜行なった。

3. 結果と考察

1) ジフィーポットを用いたダイレクトルーティング

本法のダイレクトルーティング50日後には、図-7のように発根・順化した幼苗をえることができた。発根率、根の平均伸長度とコンタミネーション頻度の結果について表-10のとおりである。雑菌汚染頻度はIBA フリーの発根培地、直挿しは20%でIBA 3.16 μ M添加した場合は0%であり、分散分析を行った結果、1%水準で有意差が認められた。よって、IBA 3.16 μ Mの添加は雑菌汚染の防除に効果的と考えられた。発根率はIBA 3.16 μ Mの発根培地を使用した場合93%、直挿しの場合83%、IBA 0 μ Mの発根培地を使用した場合67%であった。Duncan の New Multiple Range Test の結果、発根培地にIBA 3.16 μ M添加区が最も効果的であった。

表-10 ダイレクトルーティング50日後の結果

	発根培地		+	+	—
	IBA	3.16 μ M	—	—	—
雑菌汚染頻度 (%)		0	20	20	
発根率 (%)		a	c	b	
		93	67	83	
シュートの伸長度		a	a	a	
		1.6	2.1	1.6	
発根度数		a	a	a	
		2.5	2.6	2.1	

小文字のアルファベットは、DuncanのNew multiple range testの5%水準における結果を示す。

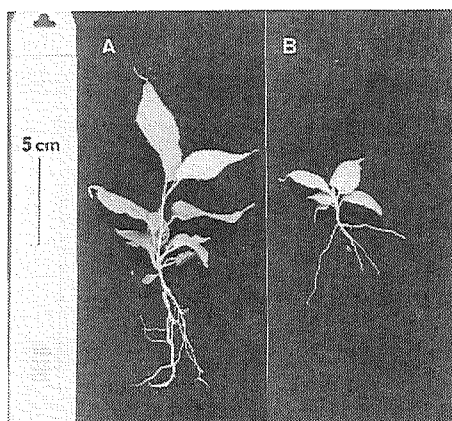
雑菌汚染頻度と発根率分のデータは、Mosteller and Youtz の変換により変数変換した。

このダイレクトルーティング法により、カスミザクラ培養シュートから直接、幼苗をつくることが可能となった。発根率はIBA 3.16 μ Mの発根培地を使用した場合、IBA フリーの発根培地と比べるとおよそ20%高かった。しかし、伸長したシュートをみるとその伸長度はIBA を添加しない場合の

ほうが良好な傾向が認められた。千木（1989）はサクラ亜属の組織培養で、品種によりオーキシン類を添加した培地でシュートの落葉が見られることを報告している。よって高濃度のオーキシン類が、カスミザクラ培養シュートを伸長抑制したと考えられる。

図一七 発根・順化したカスミザクラの培養苗

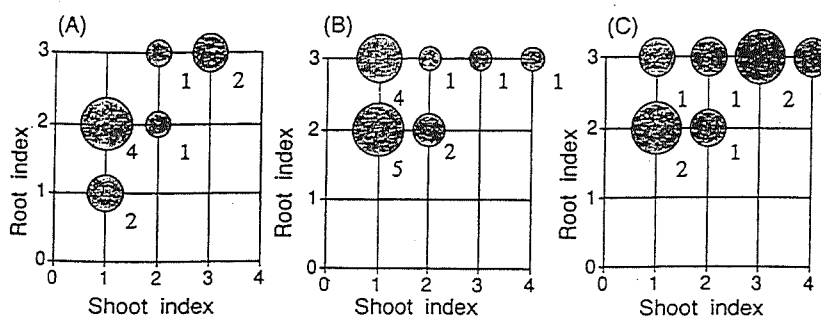
A ; シュートの伸長度－4、発根度－3、B ; シュートの伸長度－2、発根度－2



寒天を培地支持体として、IBA の濃度を $0 \sim 10 \mu\text{M}$ で発根試験を行ったところ、IBA の濃度が高まるにつれて根の平均生重量は増加した（佐々木 1993）。しかし、同時に発根率がわずかに減少する傾向が認められたので、 $3.16 \mu\text{M}$ を IBM の最適濃度とした。だが、今回の試験結果からは、IBA $3.16 \mu\text{M}$ の濃度が高いためシュートの伸長が抑制されたと考えられる。本法のダイレクトルーティングでの最適 IBA 濃度については、再度検討する必要があると示唆された。また、実験室内で育成できた培養ポット苗は苗高 $30 \sim 50 \text{cm}$ のものが 13 本、 $10 \sim 20 \text{cm}$ が 2 本だった。なお、得苗率は順化・発根後の場合について 65% であり、今後、実用化には用いる培養土の資材検討などが必要である。

また、平均発根度は IBA $3.16 \mu\text{M}$ の発根培地を使用した場合が 2.5、IBA $0 \mu\text{M}$ の発根培地を使用した場合が 2.6 と直挿しの場合が 2.1 であった。直挿しでは若干劣る結果が得られた。また、各試験区の幼苗について個々の根の伸長度とシュートの伸長度をそれぞれ縦軸、横軸にプロットしたのが図一八である。どの試験区も発根度 2、シュートの伸長度 2 の幼苗が多かった。しかし、伸長したシュートをみると IBA $3.16 \mu\text{M}$ 発根培地を使用した場合、シュートの伸長が抑制される傾向がみられ、IBA を添加しない発根培地のほうが良好であった。また、新たにシュートが伸長したものは、すべて発根していた。よってシュートの伸長から発根度を推測はできないものの、発根自体は推定できることがわかった。

図一 8 発根・順化したカスミザクラ培養苗のシュート伸長度と発根度



(A) 直挿し (B) IBA 3.16 μM の発根培地 (C) IBA フリーの発根培地
縦軸；発根度、横軸；シュートの伸長度、各球右下の数字は苗の本数を表す。

2) 順化苗の苗畑での生長

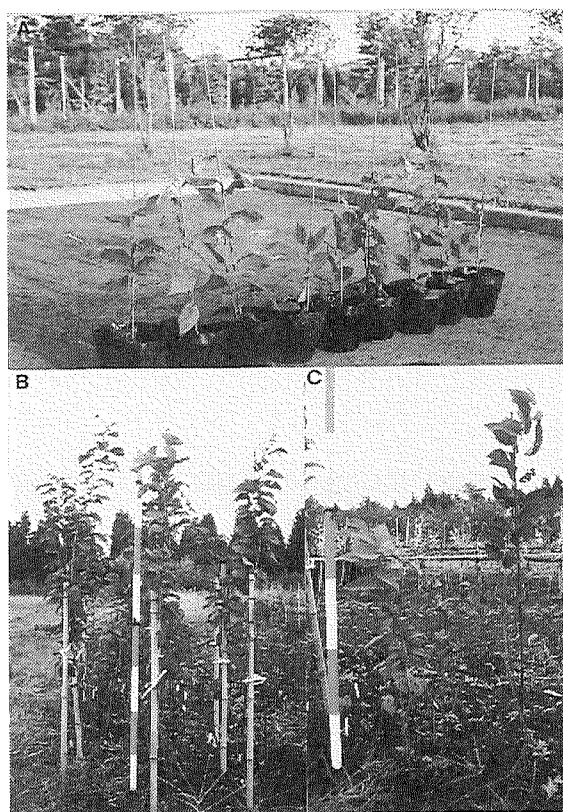
このように発根した幼苗のうち成育の良い23本の幼苗について培養室内でさらに育成を行なったところ、およそ2カ月後に苗高30~50cmの培養ポット苗が得られた(図-9 A)。なお、このようにして育成できたポット苗は苗高30~50cmのものが13本、10~20cmのものが2本だった。さらに25℃設定のガラス温室内で栽培を行なったところ、苗高26~65cm(平均苗高41cm、平均根元径3.3mm)の培養ポット苗を得ることができ、温室内で落葉させた後の1993年12月16日に屋外へ搬出した。また、緑葉の状態にある苗高19~44.5cm(平均苗高32cm、平均根元径2.7mm)のポット苗は直接1994年2月7日に屋外へ搬出した。そして翌春の1994年の4月23日に苗畑に植栽し、それら培養ポット苗の成長を測定した。その結果、1994年10月24日には1993年12月16日に屋外へ搬出したポット苗は、苗高119~175cm(平均苗高144cm、平均根元径11.2mm)、1994年2月7日に屋外へ搬出したポット苗は、苗高32~110cm(平均苗高66cm、平均根元径5.8mm)に達した(図-9 B, C、表-11)。

このように1993年12月16日に屋外へ搬出したポット苗の方が、次年度に良好な成長を示した。また、苗高、根元径の成長は1994年7月27日から10月24日より4月27日から7月27日の間に顕著な増加を示した(表-10)。培養ポット苗の苗畑育成において、苗高50cm以上の苗木を基に得苗率を算出すると、1993年12月16日に屋外へ搬出した場合が100%、1994年2月7日に搬出した場合は71.4%だった。

このような培養ポット苗を1994年4月11日に苗畑植栽した結果、1993年12月16日に屋外へ搬出した方が、1994年2月7日に屋外へ搬出したものよりも良好な成長を示した。両者間について1994年10月24日に測定した苗高、苗径をもとに分散分析を行なったところ、1%水準で有意差が認められた。なお、1994年4月27日に測定した苗高、苗径をもとに検定したところ、有意差は見いだせなかった。このことから、培養ポット苗の搬出方法の違いにより苗畑での育成過程に苗高、苗径の有意差が生じたと結論できる。このような差が生じた理由にはポット苗の搬出時期、あるいは何らかの生理的影響による2つが考えられる。1993年12月中旬のポット苗搬出後10日間の最高気温は8.7℃、最低気温は

図－9 順化苗の育苗

A ; 鉢上げ60日後のカスミザクラ培養苗（支柱の高さは約70cm）、B ; 1993年12月16日に屋外へ搬出した培養ポット苗による苗木、C ; 1994年2月7日に屋外へ搬出した培養ポット苗による苗木（B、Cは1994年10月24日撮影、支柱の赤、白色はそれぞれ20cm）



表－11 順化苗の屋外搬出日と苗畑での生長

計測年月日	平均苗高 (cm±S.D.)		平均根元径 (mm±S.D.)	
	搬出年月日		搬出年月日	
	1993年12月16日	1994年2月7日	1993年12月16日	1994年2月7日
1994年4月27日	41±14	32±8.2	3.3±0.66	2.7±0.45
1994年7月27日	113±12	50±14	8.9±1.1	4.5±1.3
1994年8月25日	132±12	56±20	9.6±1.3	4.9±1.0
1994年9月27日	144±20	66±28	11.2±1.2	5.8±1.3
1994年10月24日	144±20	75±23	11.4±1.2	5.8±1.2

－6.2℃、平均気温は－0.08℃であり、1994年2月上旬のポット苗搬出後10日間の最高気温は5.0℃、最低気温は－5.0℃、平均気温は－0.68℃であった。このことから、屋外に搬出した時期の影響よりもむしろポット苗が落葉しているか否かの、あるいは低温処理期間の長短による生理的な影響が大きいと推察される。

なお、枯死したポット苗は1994年2月7日に屋外へ搬出した苗高、根元径が32cm-2.3mmと35cm-2.2mmの2本で、1993年12月16日に屋外へ搬出したものは全て活着し、枯死したものは全くなかった。1994年2月7日に屋外へ搬出した場合、苗畑移植前の苗高、根元径が19cm-2.2mm、24cm-2.8mm、31cm-3mmのポット苗は活着した。また、1993年12月16日に屋外へ搬出した場合、26cm-2.5mm、26.5cm-2.7mm、28cm-3.3mm、29cm-2.6mm、30cm-2.8mmのポット苗は全て活着した。このことから必ずしも苗高の高さに依存するものではないが、根元径の太さによる影響は少なくないと考えられる。

本試験結果から、カスミザクラ培養苗のダイレクトルーティングが可能であることがわかった。同時に鉢上げ率の向上も認められ、その有効性も示すことができたといえる。また、このダイレクトルーティングにより作出した幼苗は、その後の苗畑育成により苗木養成できることも明かになり、培養シュートからの苗木作出技術を確立できた。

4. まとめ

発根と順化を1ステップにするダイレクトルーティングを試みた。発根培地をコルクボーラーで打ち抜き、培養シュートに挿しつけ、培養土（ピートモス、パーライト、バーミキュライト等量混合）に移植した。その結果、2カ月後に発根して順化苗を得ることができた。なお、発根培地に IBA 3.16 μ M を添加するとコンタミネーションが抑制され、発根には効果的であった。

発根した培養苗をさらに温室内で育成し、苗高26~65cm（平均苗高41cm、平均根元径3.3mm）の幼苗を得ることができた。これらの培養ポット苗を屋外へ搬出した後、翌春に苗畑植栽を行なったところ、当年の秋には苗高119~175cm（平均苗高144cm、平均根元径11.4mm）の苗木を育成することができた。

b. プラグ苗化によるダイレクトルーティング

1. はじめに

プラグ苗は定植作業の利便性が高く、野菜種苗では広く実用化されているものである。林木の培養苗においてプラグ苗化に関する研究例として、Bennet と Davies (1986) はピートモス成型品ジフィー7を使用し、ナラ実生苗腋芽由来の増殖シュートを IBA (0.5 g/ℓ) のクイックディップ処理することにより、発根・順化できると報告している。また、ユーカリで Rajbhandry (1992) はマイクロシュートを温室内で砂に挿しつけて、光の強度、昼夜の温度を管理して行なったと報告している。第II章 a. で述べたダイレクトルーティング法は寒天培地をコルクボーラーで打ち抜き、培養シュートを挿し付けて培養土で育成する方法である。しかし、3~4日おきに水をえなければならず、管理上煩わしいという問題があった。そこで、本節ではピートモスを主体とした成型培養土ジフィー9と透明プラスチック容器（アグリポット）により培養苗をプラグ苗として扱うことができないかどうか検討した。

2. 材料と方法

1) シュートの増殖

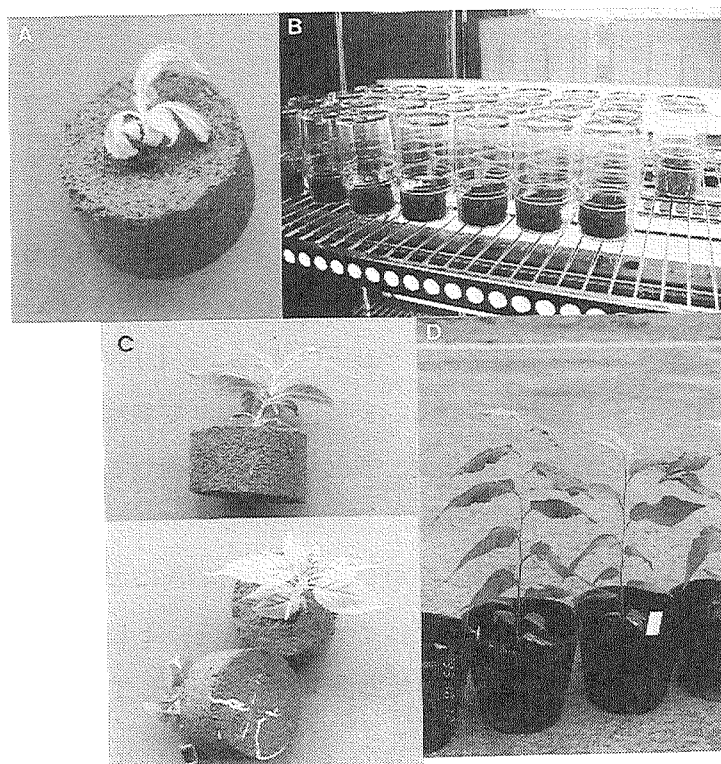
材料は、当センター構内に植栽されているカスミザクラ 1 クローンから誘導された継代培養株を用いた。シュートの増殖は、MS (Murashige and Skoog 1962) にショ糖 3 %、寒天 1 %、BAP 5.62 μ M、NAA 0.316 μ M、ジフェニルウレア 4.71 μ M を添加した培地で行った。培養条件は 1. a と同様に行った。

2) ジフィー 9 とアグリポットによるダイレクトルーティング

ダイレクトルーティングは、水道水で 1 ~ 2 日、膨潤させた直径 5 cm のピートモス成型品 (Jiffy products international LTD.、ジフィー 9) の穴に発根培地を 0.2 ~ 0.4 g を加え、長さ 1.5 cm 前後のシュートを移植した (図-10A)。発根培地は MS 培地の無機塩とショ糖を半量とし、有機成分としてはチアミンとニコチン酸のみにしたものを基本培地とした。試験区は、IBA 0、1、3.16 μ M の発根培地と培地を使用しない直挿しの 4 とおりで、各 12 ~ 14 本のシュートを使用した。移植したシュートは通気孔を開けた外径 6 cm、高さ 12 cm の透明プラスチック容器 (キリンビール、アグリポット) の中に入れて 16 時間照明 (照度 4,300 lux)、温度 24 $^{\circ}$ C の条件下で 40 日間育成した (図-10B)。なお、こ

図-10 本試験で行ったダイレクトルーティング

A ; 培養シュートをジフィー 9 に挿しつけた状態。B ; アグリポットでのプラグ苗育成。
C ; プラグ育成 40 日後。D ; プラグ育成 70 日後 (鉢上げ 30 日後)



の期間には内部の水適が容器の底に落下して循環するため、外部から水を与える必要はなかった。発根率については育成40日後に、ジフィー 9 の外側に根が出てきたものは、そのまま発根個体と数え、さらにこの状態では根が認められないものについては、ジフィー 9 をほぐして調べた (図-10C)。また、新しく展開したシュートについてはそれらの長さを測定した。

得られた発根固体は市販のピートモスを主体とした培養土 (サカタ種苗、スーパーミックスタイプ A) に N-6, P-40, K-6, Mg-15 の中粒状化成肥料 (ZIP Industries、マグアンプ K) を添加して鉢底 10cm、高さ 12cm のポリビニールポットに移殖して温度を 24 度、16 時間照明 (照度 4,300 lux) で 30 日間栽培した (図-10D)。伸長したシュート長を測定するとともに、得苗率は苗高 10cm 以上の苗木数をもとに算出した。

3) ビニール温室内でのダイレクトルーティング

遮光率 52% の寒冷紗 (テイジン、T-600) を 2 枚被覆したビニール温室内に発泡スチロールケースにアグリポットを納め、上部に 4 重にした寒冷紗を覆って行なった (図-11A)。なお、直径 3.5cm と 5cm のジフィー 9 を用いて、供試本数は各 22 本とした。試験は 1994 年 5 月 31 日からダイレクトルーティングを開始し、同年 7 月 8 日に発根率、枯死率、平均シュート長を測定した。

3. 結果と考察

1) ジフィー 9 とアグリポットによるダイレクトルーティング

予備試験から、新しいシュートが展開してからプラスチック容器をとりはずさないとシュートは枯れてしまうことがわかっている。およそ、40 日後にはすべての試験区で新しいシュートが展開した (図-10C)。この 40 日後の発根状況について調べたところ、発根率はそれぞれ、IBA 1 μ M で 100%、3.16 μ M で 92%、0 μ M で 79%、直挿しで 64% であった。Duncan の New Multiple Range Test の

表-12 ダイレクトルーティング 40 日後と 70 日後の平均シュート長と得苗率

試験区	40 日後		70 日後	
	シュート長 (cm $\pm$ S.D.)	得苗率 (%)	シュート長 (cm $\pm$ S.D.)	得苗率 (%)
直挿し	3.5 ^a $\pm$ 0.8	64 ^d	29.3 ^a $\pm$ 4.4	64 ^b
IBA 0 μ M	2.0 ^b $\pm$ 1.2	79 ^c	26.6 ^a $\pm$ 12.7	64 ^b
IBA 1 μ M	2.1 ^b $\pm$ 0.5	100 ^a	29.9 ^a $\pm$ 12.8	77 ^a
IBA 3.16 μ M	2.2 ^b $\pm$ 0.7	92 ^b	22.5 ^a $\pm$ 8.5	75 ^a

小文字のアルファベットは、Duncan の New multiple range test の 5% 水準における結果を示す。

得苗率のデータは、Mosteller and Youtz の変換により変数変換した。

結果、全ての試験区間に有意差が認められた（表-12）。また、この時期の平均シュート長は統計上、直挿しと他の試験区間で有意差が認められた。

このように発根した幼苗をさらに30日間、実験室内で栽培して行なったところ、健全なサクラ苗木が得られた（図-10D）。得苗率は、IBA 1 μ M、3.16 μ M、0 μ M、直挿しの試験区でそれぞれ77%、75%、64%、64%であった。Duncan の New Multiple Range Test の結果、IBA 1 μ Mと3.16 μ Mには有意差が認められないものの、0 μ Mと直挿し区で有意差が認められた。寒天を培地支持体として用いた発根試験では、IBA の濃度の増加とともに根の平均生重量は増加するが、IBA フリーでも9割という高頻度で発根したため、発根率自体にポジティブな効果は認められなかった。だが、先のダイレクトルーティング試験と同様、IBA を添加するとシュートの枯死率が下がり、発根個体が増加することが今回も示された。

平均シュート長はそれぞれ、IBA 1 μ Mで29.9cm、直挿しで29.3cm、IBA 0 μ Mで26.6cm、IBA 3.16 μ Mで22.5cmであった（表-12）。この平均シュート長について Duncan の New Multiple Range Test を行った結果、有為な差は認められなかったが、IBA 1 μ Mの試験区が最も良好であった。

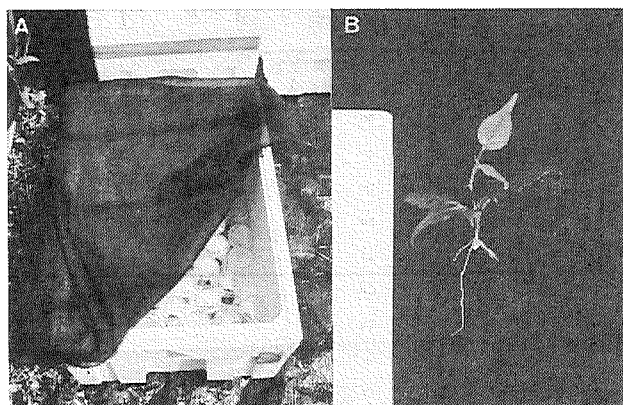
このようにジフィー9を利用したダイレクトルーティングでは、発根率の高さ、プラグ苗を鉢上げした後のシュートの伸長、さらに最終的な得苗率から IBA 1 μ Mの発根培地で行なった試験区が最適と結論づけられる。なお、このダイレクトルーティング中に枯死した培養シュートはコンタミネーションが生じてシュートが枯死するのか、シュートが枯死してコンタミネーションが生じるのか定かではない。しかし、発根しなかったものは全て枯死した。

2) ビニール温室内でのダイレクトルーティング

ビニール温室内でのダイレクトルーティングの結果、発根プラグ苗を得ることができた（図-11B）。ジフィー9のサイズによるシュート長の影響は統計上、有意差のない値を示した（表-13）。なお、

図-11 ビニール温室内でのダイレクトルーティング

A ; プラグを発砲スチロールケースに納めた状態。B ; 育成38日後の幼苗。スケールは5 cm。



表一13 ビニール温室内でのダイレクトルーティング

	ジフィー9の直径		分散分析結果
	3.5 cm	5 cm	3.5cm vs. 5 cm
平均シュート長 (cm±S.D.)	2.1±1.0	2.0±0.6	ND
発根率 (%)	45	73	*
枯死率 (%)	23	5	**

分散分析の結果、NDは有意差がないことを、**は1%、*は5%水準で有意差があることを示す。

発根率と枯死率のデータは、Mosteller and Youtz の変換により変数変換した。

発根率は直径3.5cmのジフィー9の場合が45%、直径5cmのジフィー9では73%であり、分散分析の結果、5cmの方が発根率が高くなることがわかった。また、枯死率は直径3.5cmのジフィー9の場合が23%、直径5cmのジフィー9では5%であり、分散分析の結果、3.5cmの方が枯死しやすいことがわかった。

現在の培養システムでバイテク苗が高価という問題点は、国内においては鶴見ら（1993）によってグイマツ苗1本あたり847円と報告されている。その培養苗のランニングコストの費目を調べると、苗1本あたり人件費が67%、つぎに、電氣量が32%を占めている。このため、作業工程を減らし、労力削減とロスによる労力の無駄を省くことのできるダイレクトルーティングは、低コスト化を図るため、その重要性が指摘されている。培養苗のコストにおいて、発根と順化部分に大きな比重を占めるため（Preece and Sutter 1991）、この部分を検討していくことは実用化において重要である。鶴見らによってグイマツ培養苗のランニングコストのうち、電氣量は32%を占める。そのため、発根・順化の過程において電氣を用いない方法がより実用的である。本試験から、ビニール温室内でのダイレクトルーティングが可能であることが明らかになったことから、培養苗の低コスト化について一つの可能性が示唆できたと考えられる。

4. まとめ

ピートモス成型品ジフィー9と透明プラスチック容器（アグリポット）を用いて、効率かつ容易に行えるダイレクトルーティング法を開発した。育成40日後、IBA 1 μ Mの発根培地を少量、添加した試験区が最も良好な結果を示した。最終的に育成70日後、80%以上の効率で、平均苗長30cmの植物を得ることができた。また、ビニール温室でもこのダイレクトルーティングによりプラグ苗の作出が可能であることを明らかにした。

c. 効率的なプラグ苗化

1. はじめに

培養系の簡素化として、ピートモス成型品のジフィー9と透明プラスチック容器（アグリポット）を用いて発根と順化を一段階で行なうダイレクトルーティングにより、カスミザクラ培養苗のプラグ苗化が可能になった。しかし、発根培地をジフィー9の小孔に挿入し、培養シュートを挿しつける方法は1時間あたりの作業量はおよそ30本であり、必ずしも効率的とは考えにくい。また、アグリポットの単価が450円／個であるため、この方法ではコスト高になり必ずしも実用的ではないと考えられる。そこで、本節ではより簡便にかつ大量に培養苗を生産できないかどうか検討した。

2. 材料と方法

1) シュート増殖

材料は、当センター構内に植栽されているカスミザクラ1クローンから誘導された継代培養株を用いた。シュートの増殖は、MS (Murashige and Skoog 1962) にショ糖3%、寒天1%、BAP 5.62 μ M、NAA 0.316 μ M、ジフェニルウレア4.71 μ Mを添加した培地で行った。培地は100mlのコニカルビーカーに20~30mlを分注した。シュートの植えつけ本数は2本／コニカルビーカーとして2カ月間培養を行い、さらに新しい培地が入ったものに移植して1カ月間培養を行った。培養条件は1. aと同様に行った。

2) 発根処理した培養シュートからのプラグ苗化

発根処理した培養シュートからのプラグ苗化20~30mlの発根培地を分注した100mlのコニカルビーカーに長さ4~29mmの培養シュートを11~17本挿し付け、発根処理を10日間行った。発根処理はMS培地の無機成分とショ糖を半減し、有機成分はチアミンとニコチン酸のみ、1 μ M IBAを添加したものをを用いた。1. aと同様に行い、供試シュート数を92本とした。発根処理を10日間行なった後、発根の有無に関わらずすべてのシュートを水道水で一昼夜膨潤させた直径3.5cmのプラグ（Jiffy products international LTD.、ジフィー9）に挿しつけた。そして、それらを通気性のない厚さ0.1mmの塩化ビニルフィルム（高藤化成、タフニール）をかけた発泡スチロールケース（外型W：75cm×D：48cm×H：28cm）の中に置床し、実験室（温度24、湿動50%、16時間照明、照度2,600lux）で17日間育成した（図-12）。なお、ビニルフィルムはその後2日間かけて少しずつ開き、外気に慣らして3日目（発根処理後30日目）にはすべて取り外した。

3. 結果と考察

1) 発根処理した培養シュートからのプラグ苗化

組織培養による種苗増殖では、発根をin vitroで行なうと全コストの35~70%に及ぶとPreeceと

Sutter (1991) は算出していることから、特に発根順化過程を同時に行なうダイレクトルーティングとこれに準ずる技術は有効である (Bennet and Davies Jr. 1986、Rajbhandary 1992)。前節では発根培地を添加した直径 5 cm のジフィー 9 に培養シュートを挿し芽し、通気孔を開けた透明プラスチック容器内で育成し、培養苗のプラグ化を図った。しかし、この方法では増殖したシュートのごく一部しか利用でしなかったため、効率的な発根・順化方法の検討が必要である。Zimmerman と Fordham (1985) は組織培養で増殖したリンゴのシュートを液体発根培地で発根させ、プラグに移植して幼苗を作出した。カスミザクラの発根試験では、MS 培地の無機塩類とショ糖を規定濃度の半量とし、有機成分はニコチン酸とチアミンのみにして IBA 1 μ M 添加した寒天培地でおよそ 10 日間培養すると平均 5 ～ 7 割が発根を開始する (図-13)。そこで、コニカルビーカー内で増殖したシュートを 10 日間、発根処理した後、発根の有無に関わらず発根初期の段階でジフィー 9 に移植してビニールフィルムを被覆した発砲スチロール内で順化促進を行なった。

育成開始後、17 日目にビニールフィルムの一部を開き、20 日目に完全に取り外した。発根した培養

図-12 発砲スチロールケース内でのプラグ苗育成

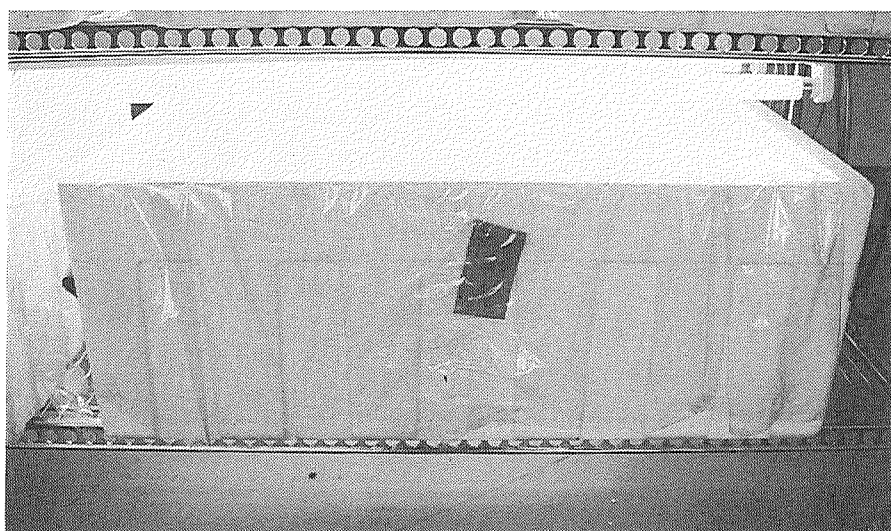
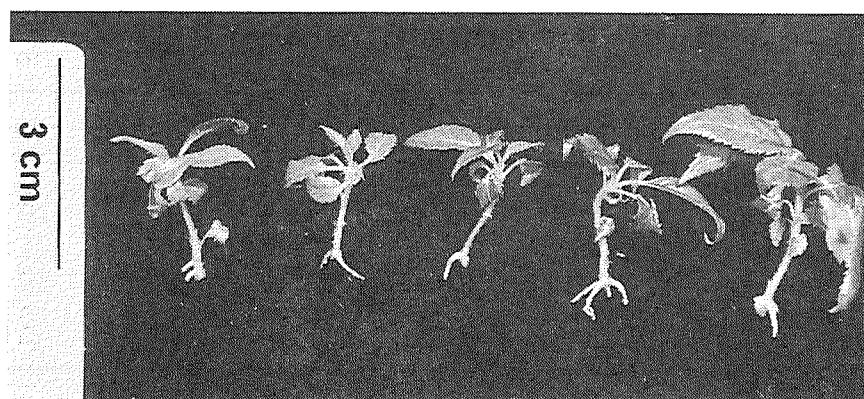


図-13 移植適期の発根初期段階のシュート



表—14 プラグ移植後の平均苗高と生存率

プラグ移植後	平均苗高(mm $\pm$ S.D.)	生存率 (%)
0日	14 $\pm$ 4.7	100
20日	21 $\pm$ 9.8	90
30日	33 $\pm$ 2.2	85
40日	40 $\pm$ 2.7	85
50日	43 $\pm$ 3.0	85

シュートをジフィー 9 のプラグに移植し、発泡スチロール内で順化促進を終えた20日後、つまり発根培地に移植してから30日後から10日おきに幼苗の成長について調べたのが表—14である。幼苗のシュートはプラグ移植後20日後から30日後にかけて最も伸長し、その後、ゆるやかに推移した。

なお、幼苗の枯死は少なく、50日後の生存率は85%であった。また、培養シュートの81%をシュート長20mm以上のプラグ苗に育成することができた（図—14、表—15）。

図—14 発砲スチロールケース内で育成したプラグ苗



表—15 プラグ移植後のシュート長分布 (%)

苗高 (mm)	プラグ移植後				
	0日	20日	30日	40日	50日
4～9	14	4	0	0	0
10～19	75	58	25	21	19
20～29	11	26	32	24	21
30～59	0	12	32	38	39
60～99	0	0	10	12	15
100～149	0	0	1	5	6

本試験結果から短期間の発根培養により、発根初期段階のシュートをプラグ苗化する方法が確立できた。発根培地をジフィー9の小孔に挿入し、培養シュートを挿しつける方法では1時間あたりの作業量はおおよそ30本であるのに対し、今回の方法ではおおよそ50本である。今回の方法では、発根培養の工程が付加されることになるが、作業量が1.5倍以上であり、大量生産には効率化と考えられる。また、発泡スチロールケースを利用したこのダイレクトルーティング法は、コスト高の原因となるアグリポットを用いずに、プラグ苗化できるので実用的と考えられる。

4. まとめ

培養シュートを10日間、IBA 1 μ Mを含む発根培地で処理した後、発根初期の段階でジフィー9に移植して発泡スチロール箱内に納めた。通気性のないビニールフィルムを17日間被覆した後、3日間実験室内で外気に順化させ、効率的なプラグ苗作出について検討した。通気性のないビニールフィルムを17日間被覆した後、3日間実験室内で外気に順化させたところ、得苗率85%、平均苗高33~44 mmのプラグ苗を育成することができた。なお、プラグ苗の苗高は発根処理から数えて育成後30日から40日にかけて最も伸長した。

d. プラグ苗の室温保存

1. はじめに

プラグ苗の保存法は出荷調整・定植適期の拡大という実用面では重要な課題であると考えられる。吉岡（1996）は路地野菜の成型苗貯蔵の意義を定植適期の拡大としており、これは実生プラグ苗の保存法に関する研究のみならず、カスミザクラ培養シュートからのプラグ苗についてもその重要性は同様である。近年、ハインズら（1995）は花卉類について世界の標準的な苗生産方式であるセル成型苗（プラグ苗）の実生系が低温弱光下で貯蔵できることを明らかにした。しかし、一般的に貯蔵温度は高いほうが経済的といわれており、長期間の保存では貯蔵温度は高い方が望ましいとしている。そこで、このプラグ苗の室温保存の可能性について検討を行った。

2. 材料および方法

1) シュートの増殖

材料は、当センター構内に植栽されているカスミザクラ1クローンから誘導された継代培養株を用いた。シュートの増殖と培養条件は、c. 効率的なプラグ苗化と同様に行った。

2) プラグ苗の作出

非滅菌の水道水で膨潤させた直径5 cmのプラグ（Jiffy products international LTD.、ジフィー9）の小孔に、0.2~0.4 gの発根培地を添加し、おおよそ2 cmのカスミザクラ培養シュートを挿し芽し

た。発根培地は MS 培地の無機成分とショ糖を規定量の 1 / 2、有機成分はチアミンとニコチン酸としたものに IBA 3.16 μ M を添加し、前述と同様に滅菌した。プラグ苗の育成は、通気孔を開けた外径 6 cm、高さ 12cm の透明プラスチック容器（キリンビール、アグリポット）にプラグを納め、23℃、16 時間照明、照度 2,600lux で行なった。なお、この育成期間中には容器内部の水滴が底面に落下して循環するため、給水を必要としなかった。このようにして作出、育成したプラグ苗を以下の保存実験に使用した。

3) プラグ苗の保存とシュートの再伸長

プラグ苗の保存には通気孔を開けたアグリポットを使用し、これにプラグ苗を 1 本入れ、23℃、16 時間照明、照度 2,600lux の実験室内でそれぞれ 72 日、102 日、120 日間保存した。なお、この育成期間中にプラグが乾燥しないように、非滅菌の水道水を適宜灌水した。保存期間経過後、プラグ苗を取り出し、N-6, P-40, K-6, Mg-15 の中粒状の化成肥料（ZIPP Industries、マグアンプ K）を 1 g 添加した市販のピートモスを主体とした培養土（サカタ種苗、スーパーミックスタイプ A）を入れた鉢底の直径 10cm、高さ 12cm のポリビニールポットに移植して栽培育成し、シュートの再伸長を調査した。

ポットに移植したプラグ苗の育成は、発泡スチロール箱（縦 35cm × 横 61.5cm × 高さ 25cm）を使用し、通気性のない厚さ 0.1mm の塩化ビニールシート（高藤化成、タフニール）を一定期間被覆した後、2 ～ 3 日かけて徐々にビニールシートを取り外して外気に慣らした。これをビニールシート被覆区とした。なお、ビニールシートで覆う期間は、シュートの一部がビニールシートに接触するまで（72 日間保存：30 日間、102 日間保存：20 日間、120 日間保存：40 日間）とした。また、ポット移植したプラグ苗を発泡スチロール箱に入れ、ビニールシートで被覆しないで育成栽培したものを対照区とした。なお、対照区の内、72 および 102 日間保存したプラグ苗は、シュートの急激な乾燥を防ぐために、ポットに移植したプラグ苗を、通気孔を開けた状態のアグリポット上蓋で覆った。上蓋で覆う期間は、シュートの一部が容器の上部に接触するまで（72 日間保存：10 日間、102 日間保存：20 日間）とした。

120 日間保存したプラグ苗は、葉が十分に硬化しており、乾燥に耐えられると判断されたので、アグリポットの上蓋で被覆しなかった。実験区の詳細は図-15 と表-16 に示した。いずれの区も育成期間は 60 日間とし、ポット移植後のシュートの伸長を測定した。

4) ポット移植を行わない場合について

80 日間保存したプラグ苗をプラスチック箱（縦 23cm × 横 35cm × 高さ 16cm）に納めて、ビニールシートで被覆し、前述と同様に 23℃、16 時間照明、照度 2,600lux（白色蛍光灯）の実験室内で、非滅菌の水道水を適宜灌水しながら育成して、シュートの再伸長を調査した。

図-15 保存プラグ苗のシュート再伸長試験方法

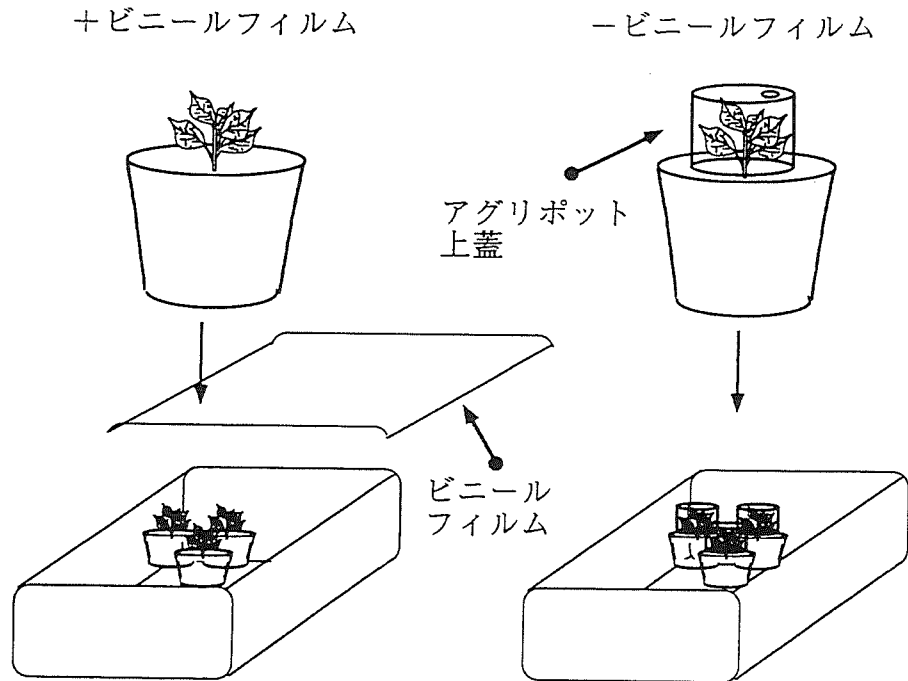


表-16 プラグ苗保存とシュート再伸長試験の方法

プラグ 保存期間 (日)	ポット育成方法			
	+ビニールシート		-ビニールシート	
	被覆期間 (日)	除去期間 (日)	被覆期間 (日)	除去期間 (日)
72	30	30	10	50
102	20	40	20	40
120	40	20	0	60

3. 結果および考察

1) プラグ苗のポット育成時におけるビニールシートの被覆効果について

カスミザクラ培養シュートから作出したプラグ苗をポットに移植して、発砲スチロール箱内で育成する際、ビニールシートで覆うことにより、苗高を均一化できないかを検討した。その結果、プラグ苗をアグリポット内で120日以上室温保存すると、苗高4～5 cmでシュートの伸長が停止した。そこで、アグリポット内で室温保存したプラグ苗をポットに移植して育成し、再伸長したシュートの長さを調査した。

72日間保存したプラグ苗の場合、平均苗高3 cmのプラグ苗は、ポット移植後60日間の育成により、育成初期にアグリポットの上蓋で10日間覆った対照試験区で23.2cm、ビニールシート被覆区で39.5cmとなり（表-17）、分散分析の結果、5%水準で有意な差が認められた。また、102日間、120日間保

存したプラグ苗についても、同様な試験を行ったが、分散分析の結果、ポット移植後60日後の平均苗高には有意差が認められなかった。しかし、ビニールシート被覆区の方がシュートの再伸長は良好であり（図-16 A, B）、苗高が10cm以下のものもなく、標準偏差も小さかった（表-17 A, B）。

72日間保存したプラグ苗をポットで育成した後にシュートが再伸長し、ビニールシート被覆による生育（シュート再伸長）促進効果が明らかになった（表-17）。120日間保存したプラグ苗に対するビニールシートの被覆についても、分散分析で有意な差は認められなかったものの、苗高がすべて10cm以上になり、標準偏差も小さかったので、ビニールシート被覆によるシュート再伸長促進効果があると考えられる。なお、72日間保存したプラグ苗の場合は十分に順化されておらず、再伸長が顕著であったと考えられる。ビニールシートによる被覆は、シュートの再伸長時に十分な湿度を確保できるため、乾燥による生長抑制を生じさせない効果を有し、その結果、生長が促進され、結果的に苗高を均一化することができたと推察される。

図-16 120日間保存したプラグのポット移植後のシュート再伸長（ポット育成1カ月後）

A ; ビニールシートを被覆した場合 B ; ビニールシートを被覆しなかった場合



表一17 保存プラグ苗のシュート再伸長におけるビニールシートの被覆効果

プラグ 保存期間 (日)	シュート長 (cm $\pm$ S.D.)					
	＋ビニールフィルム			－ビニールフィルム		
	試験開始前	ポット移植	シュート長	試験開始前	ポット移植	シュート長
		2ヵ月後	10 cm以下の 本数/試験数		2ヵ月後	10 cm以下の 本数/試験数
72	2.9 $\pm$ 7.4	39.5 ^a $\pm$ 6.4	0/12	3.1 $\pm$ 8.1	23.2 ^b $\pm$ 19.4	6/12
102	2.3 $\pm$ 4.8	47.0 ^a $\pm$ 13.5	0/7	2.3 $\pm$ 3.0	35.1 ^a $\pm$ 15.2	1/7
120	4.6 $\pm$ 6.9	25.6 ^b $\pm$ 12.7	0/12	4.7 $\pm$ 5.4	19.4 ^b $\pm$ 16.9	5/12

小文字のアルファベットは、DuncanのNew multiple range testの1%水準における結果を示す。

2) プラグ苗の保存期間について

ビニールシートを覆わなかった場合、72、102、120日間保存したプラグ苗は平均苗高がそれぞれ3.1、2.3、4.7cmのものが、移植60日後にはそれぞれ23.2、35.1、19.4cmになった（表一17）。この3試験区について Duncan の New Multiple Range Test を行なったところ、72日間と120日間保存したプラグ苗を用いた場合には有意な差が認められず、72日間、120日間保存と102日間保存にはそれぞれ1%水準で有意な差が認められた。

一方、ビニールシートで覆った場合、72、102、120日間保存したプラグ苗は平均苗高がそれぞれ2.9、2.3、4.6cmのものが、移植60日後にはそれぞれ39.5、47、25.6cmになった（表一17）。この3試験区について Duncan の New Multiple Range Test を行なったところ、72日間保存と120日間保存したプラグ苗を用いた場合には有意な差が認められず、72日間保存と120日間保存、102日間保存と120日間保存にはそれぞれ5%水準、1%水準で有意な差が認められた。

ビニールシートを覆った場合、ならびに覆わなかった場合の検定結果（表一17）から、少なくとも102日間を越えなければシュートの再伸長に影響しないことが明らかになった。これは、72日間または、102日間保存したプラグ苗と120日間保存したものでは質的には異なり、120日間保存したプラグ苗の場合は、保存期間が長すぎてシュートの再伸長が抑制されたと考えられる。なお、ビニールシートを覆わなかった場合の検定結果（表一17）から、アグリポット上蓋で覆う期間が0～10日間では差を生じないが（72、120日間保存したプラグ苗の場合）、20日間覆う場合（102日間保存したプラグ苗の場合）は、再伸長したシュートが空調による乾燥から保護されたため差を生じたと推察される。

なお、プラグ苗のポット移植の必要性について検討した結果、ポット移植を行わずに、保存したプラグ苗にビニールシートを覆って育成してもシュートの再伸長が認められないことから、ポット移植が確かに必要だった。

苗の貯蔵温度については、近年、ハインズら（1995）は花卉類について世界の標準的な苗生産方式

であるセル成型苗（プラグ苗）の実生系が低温弱光下で貯蔵できることを明らかにした。その中で、短期間の保存（0～6週間）では予冷により輸送過程での温度上昇による葉柄伸長を防ぐメリットをあげている。しかし、一般的に貯蔵温度は高いほうが経済的といわれており、長期間の保存では貯蔵温度は高い方が望ましいとしている。同様な吉岡（1995）も同一の貯蔵期間であれば、低温の方が苗の消耗はおさえられるが貯蔵コストは高くなるとしている。これらのことから、本実験のプラグ苗の常温保存技術は保存に要するコストの面からも有利な技術であるといえよう。

4. まとめ

23℃、16時間照明、白色蛍光灯による照度2,600luxの実験室内で水道水を適宜給水し、保存した後、ポットに移植して育成栽培した結果、シュートが再伸長した。ポットを発泡スチロール箱に入れて、ビニールシートで被覆することにより、シュート再伸長がさらに促進されることも明らかになった。今回の方法でプラグ苗を保存する場合、少なくとも102日間を越えなければ、移植後のシュート伸長に室温保存の影響はないと考えられた。

Ⅲ. 苗畑植栽技術の検討

1. はじめに

組織培養は試験管内で短期間に大量のシュートを増殖することができるが、多くの作業工程に労力を投資するという条件が必要である。特に順化が実用化する上でネックになっており、容易にかつ短期間に大量の培養苗を生産することは困難を要する。林木組織培養について、今まで国内で報告されている従来の順化方法は、必ずしも省力的な技術にはなっていない。そこで、第Ⅱ章では培養系の簡素化として、ピートモス成形品のジフィー 9 を用いて発根と順化を一段階で行なうダイレクトルーティングによる培養苗のプラグ苗化について検討を行った。この方法により、従来法と比較すればより簡便にかつ大量に培養苗を生産できるようになった。

しかし、組織培養による苗木生産の実用化には、外環境に順応させる順化处理を経た幼植物が、実際に苗畑で苗木として育成できるかについて研究を行う必要がある。また、この技術に関する研究は、今後、細胞融合や遺伝子導入などのバイオテクノロジーによって作出されるであろう林木種苗の最終出口として、重要な部分と位置づけることができる。

諸外国の林木に関する研究事例から、カンバ類、ダグラスファー、ユーカリなどさまざまな樹種について組織培養苗の野外植栽が報告されている (Thorpe ら 1991)。そこで、本節ではカスミザクラについて第Ⅱ章で述べたプラグ苗とさらに育成したポット苗が苗畑で育成可能かどうかについて検討を行なった。

2. 材料と方法

1) シュートの増殖

材料は、当センター構内に植栽されているカスミザクラ 1 クローンから誘導された継代培養株を用いた。シュートの増殖と培養条件は、c. 効率的なプラグ苗化と同様に行なった。

2) 培養シュートのプラグ苗化

プラグ苗作出は、水道水で膨潤させた直径 5 cm のプラグ (Jiffy products international LTD.、ジフィー 9) の小孔に発根培地 (IBA 1 μ M) を 0.2~0.4 g 入れて培養シュートを透明プラスチック容器 (キリンビール、アグリポット) 内に挿し芽して、c. 効率的なプラグ苗化と同様に行なった。

3) プラグ苗による苗畑植栽試験

プラグ苗の調整は植栽 7~10 日前にアグリポットから取りだし、プラスチック製の水きり箱 (外型 W: 36cm $\times$ D: 24cm $\times$ H: 16cm) 内に納め、通気性のない透明ビニールシート (高藤化成、タフニール) をかけて上述の実験室で育成した。なお、ビニールシートは 2 日間かけて少しずつ開き、外気に慣らして 3 日目にはすべて取り外した。

植栽日は1994年6月9日と6月23日の2回とし、遮光率52%の寒冷紗（テイジン、T-600）2枚がけのみとさらに通気性を有する透光率90%のビニールシート（カネボウ、ベルツーク900N）を被覆した2通りで行なった。培養プラグ苗はこのトンネル内におよそ25cm間隔、2列に植栽した。そして、ベルツークは7月8日に、寒冷紗は7月12日に取り除いた。なお、6月9日分では直径3.5cmのジフィー9プラグ苗を寒冷紗2枚がけのみに7本、さらにベルツークをかけたものに6本、そして直径5cmのジフィー9プラグ苗を同様にそれぞれ6本、8本使用してサイズによる影響についても試験した。また、6月23日分は直径5cmのジフィー9プラグ苗を各10本ずつ使用した。植栽時のプラグ苗の平均苗高は6月9日分、6月23日分ともに2.6～3.5cmであった。

4) ポット苗による苗畑植栽試験

苗畑植栽試験用のポット苗作出には上記のプラグ苗を鉢底8cm、高さ10cmのポリビニールポットに市販のピートモスを主体とした培養土（サカタ種苗、スーパーミックスタイプA）を入れてN-6、P-40、K-6、Mg-15の中粒化成肥料（ZIP Industries、マグアンプK）を1g添加し、タフニールを覆った発砲スチロール内で育成した。育成は上述の実験室でおよそ20日間行い、平均苗高9.4～11.5cmの幼苗を作出した。ポット苗はプラグ苗に比較して植栽時の苗高が高く、このような違いが苗畑での育成に影響があるかどうか比較することを目的として試験を行なった。

当センター近辺の1991年から1993年の3年間の気温を調べると、5月上旬の平均最低気温が5.4℃であったのに対して5月中旬の平均最低気温は9.1℃であった。また、平均気温も10.0℃から13.5℃、平均最高気温も14.9℃から18.4℃と上昇した。例年、樹木の新芽が展開するのもこの5月中旬頃からであるため、植栽日は1994年5月20日、6月6日と6月20日とした。5月20日分は寒冷紗なしと寒冷紗1枚にベルツークを被覆したものの2通りで行なった。また、6月6日、6月20日分については寒冷紗2枚がけのみとその上にベルツークを被覆したものの2通りで行なった。培養ポット苗はプラグ苗と同様にトンネル内におよそ25cm間隔、2列に植栽した。なお、1994年5月20日に植栽したものは6月1日にベルツークを、6月20日に寒冷紗を取り除いた。そして、6月6日、6月20日の植栽試験では7月8日にベルツークを、7月12日に寒冷紗を取り除いた。

5) 調査年月日および育成管理

成長結果についてはポット苗、プラグ苗による苗畑植栽試験とも1994年7月27日、8月25日、9月27日と10月24日の計4回、苗高と地際から5cmの根元径について測定した。また、得苗率は苗高60cm以上の苗で算出した。なお、苗畑は前年度に10aあたり牛堆肥を10tプラウ耕起時にすき込み、1994年4月上旬に元肥として10aあたりバーク堆肥2t、コンポスト1t、鶏糞200kg、油カス100kg、炭酸カルシウム150kg、硫酸90kg、熔リン70kg、塩化カリウム20kgを添加した土壌で試験を行なった。育成管理は追肥、殺虫剤散布は行なわず、除草、下枝の剪定や側芽の芽かき、害虫の捕殺を適宜行なっ

た。

3. 結果と考察

1) プラグ苗による苗畑植栽試験について

プラグ苗の苗畑での成長はどの試験区においても7月から9月にかけて最も旺盛だった(図-17A, B)。得苗率は6月23日植栽よりも6月9日植栽の方が良好だった(表-18)。

図-17 プラグ苗の苗畑での生長 (A ; 苗高、B ; 根元径)

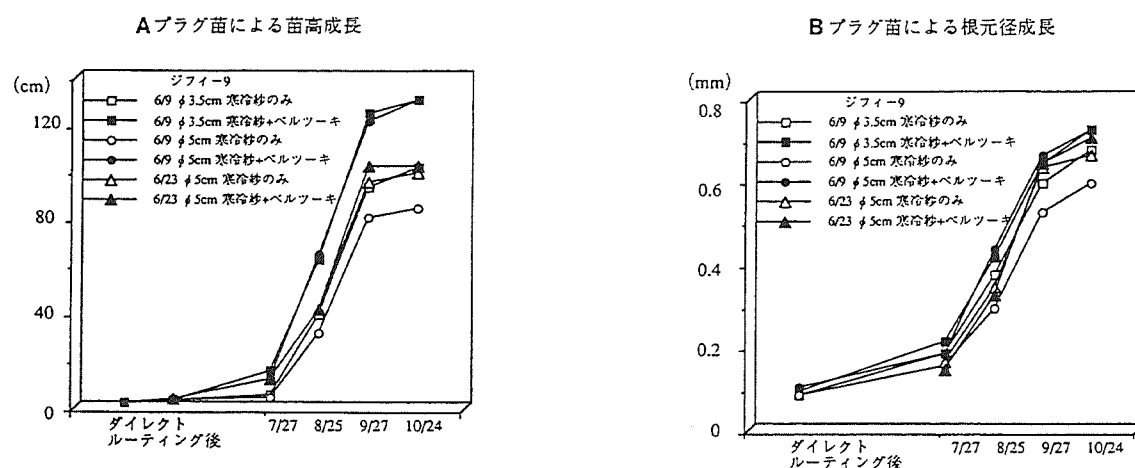


表-18 ポット苗とプラグ苗の生長結果

植栽日	苗の種類	ベルツーク	平均苗高 (cm±S.D.)	平均根元径 (mm±S.D.)	得苗率 (%)
5月20日	ポット	+	145±23.6	10.8±1.6	80
5月20日	ポット	-	96±24.4	7.5±1.3	60
6月6日	ポット	+	132±25.2	9.2±1.6	100
6月6日	ポット	-	98±16.6	7.2±1.3	85
6月20日	ポット	+	126±24.9	7.4±1.1	23
6月20日	ポット	-	159±17.1	9.2±0.8	62
6月9日	プラグ	+	130±7.2	7.2±0.7	100
6月9日	プラグ	-	93±26.2	6.4±1.2	85
6月23日	プラグ	+	102±23.0	7.0±0.8	30
6月23日	プラグ	-	99±16.7	6.6±0.8	60

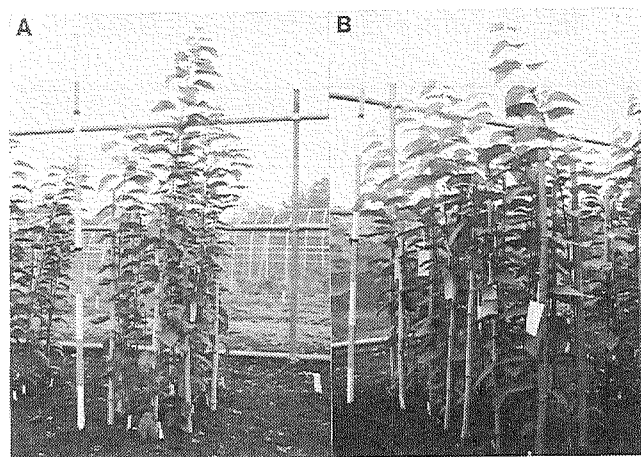
なお、プラグ苗による苗畑植栽試験で頂芽が伸長停止して側芽が伸長する例は、寒冷紗のみ区、ベルツキ被覆区ともすべての苗木でみられなかった。これは植栽を6月に入ってから行なったため、成長を抑制する低温などのマイナス要因がなくなったことによるためと考えられる。このプラグ苗による苗畑植栽で最も良好な成長を示したのは、6月9日に植栽したベルツキ被覆区である。植栽直前、プラグ苗の苗高は2.6～3.3cmだったものが、10月24日には苗高130cm、根元径7.2mmの苗木に成長した。よって、プラグ苗による苗畑植栽は、当センターでは6月上旬に行なうと十分に苗木養成できることがわかった（図-18A）。なお、6月9日に植栽した試験区で、直径3.5cmと5cmのジフィー9のサイズによるプラグ苗の成長に対する影響を苗高と根元径について分散分析を行なった結果、苗高と根元径ともに有意な差は認められなかった。また、得苗率を逆正弦変換後、ジフィー9のサイズによる差異について分散分析を行なった場合も両者間に有意な差は認められなかった。

2) ポット苗による苗畑植栽試験について

ポット苗の苗畑での成長はプラグ苗同様にどの試験区においても7月から9月にかけて最も旺盛だった（図-19A, B）。平均苗高は6月20日に植栽した寒冷紗のみ区が、平均根元径は5月20日に植栽したベルツキ被覆区が、得苗率は6月6日に植栽したベルツキ被覆区が、最も良かった（表-14）。

図-18 A ; 6月9日に植栽したプラグ苗、B ; 5月20日に植栽したポット苗

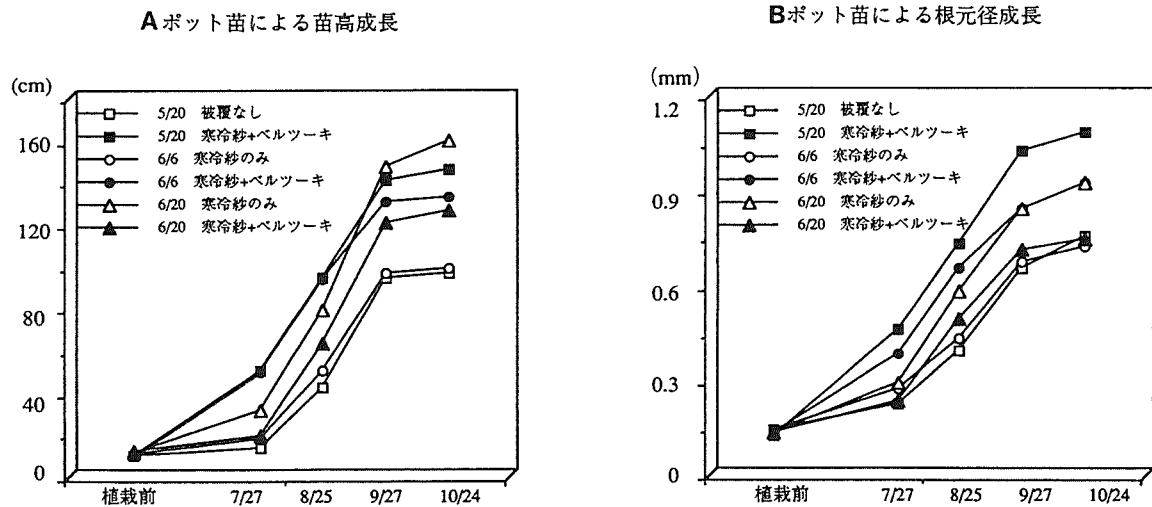
* 1994年10月24日撮影、支柱の白、赤色はそれぞれ20cm



なお、ポット苗による苗畑植栽試験で頂芽が伸長停止して側芽が伸長する例は、5月20日植栽についてのみ何も被覆しなかった試験区で5割、ベルツキ被覆区でも3割に達した。しかし、ほぼ成長の停止した10月24日に伸長停止した部分を切り落とせば通常の苗木とみなせた（図-18B）。これは植栽の翌日5月21日に過去3年間にはみられない最低気温（4.9℃）が観測され、低温などの成長を抑制する何らかのマイナス要因が生じたためと考えられる。

10月24日にはシュートの伸長が停止し、その後、休眠芽が形成された。11月16日に根元径について

図一19 ポット苗の苗畑での生長（A；苗高、B；根元径）



測定したところ、各試験区で平均値が最大0.1mm程度の増加しかみられなかった。このため、10月24日の苗高、根元径の計測結果を用いて分散分析を行ない、結果を表一15にまとめた。

表一19 分散分析による比較結果

検定項目	苗高	根元径	得苗率
苗の形態（ポット vs. プラグ）	*	**	ND
ジフィー9サイズ（3.5 cm vs. 5 cm）	ND	ND	ND
ベルツキー（5月下旬）	***	***	ND
（6月上旬）	***	***	***
（6月下旬）	ND	ND	—*
植栽時期（5月下旬 vs. 6月上旬）	ND	*	ND
（6月上旬 vs. 6月下旬）	ND	ND	**
（5月下旬 vs. 6月下旬）	ND	**	ND

＊、**はそれぞれ5%、1%水準で＋は正、－は負に有意水準が認められたものを、また、NDは有意な差が認められなかったものを表す。苗の形態による検定；植栽したすべてのプラグ、ポット苗データを用いた。ジフィー9のサイズによる検定；6月9日に植栽したデータを用いた。ベルツキーの検定；5月下旬は何も被覆しなかった試験区と寒冷紗＋ベルツキー被覆区のデータを、6月上旬と下旬は寒冷紗のみ区と寒冷紗＋ベルツキー被覆区のものを用いた。植栽時期の検定；5月下旬と6月上旬、5月下旬と6月下旬は5月下旬の何も被覆しなかった試験区と寒冷紗＋ベルツキー被覆区、6月上旬と下旬は植栽したすべてのデータを用いた。

3) ポット苗とプラグ苗の成長比較について

ポット苗（6月6日分と6月20日分）とプラグ苗（6月9日分と6月23日分）の成長比較を10月24日の苗高、根元径の測定結果を基に分散分析によって行なった（表-19）。その結果、苗高については5%水準で、根元径については1%水準で有意な差が認められた、よって、ポット苗の方がプラグ苗に比較して良好な成育を示すと結論された。なお、得苗率を逆正弦変換後、ポット苗とプラグ苗による差異について6月上旬と下旬のデータに基づいて分散分析を行なったところ、両者間に有意な差は認められなかった。

4) ベルツーカーの効果について

ベルツーカーの効果を調べるために、6月上旬（6月6日のポット苗と6月9日のプラグ苗）と下旬（6月20日のポット苗と6月23日のプラグ苗）に植栽した苗の成長（10月24日に測定した苗高、根元径）を基に分散分析を行なった。その結果、6月下旬植栽の苗高と根元径ともに有意な差は認められなかった。しかし、5月下旬植栽と6月上旬植栽の苗高、根元径については1%水準で有意な差が認められることから、ベルツーカーの正の効果があると結論される。ベルツーカーの有効性は推論の域をでないが、被覆しない場合と比較して防風効果、トンネル内部の温度や湿度の保持がなされるためと考えられる。

一方、得苗率を逆正弦変換後、ベルツーカーの効果についてポット苗とプラグ苗のデータに基づいて分散分析を行なったところ、6月上旬では1%水準で正の効果が認められた。なお、5月下旬については植栽した列について解析を行なったところ、有意な差は認められなかった。しかし、6月の下旬にベルツーカーを被覆した試験区では、5%水準で負の効果が認められた。これは、トンネル内の温度・湿度を測定していないことから明らかではないが、温度上昇や高湿度により、蒸れた可能性が考えられる。よって、当センターで培養苗を植栽する場合、5月下旬から6月上旬には寒冷紗とベルツーカーを被覆するとよいことが推察される。

5) 植栽時期の影響について

6月上旬（6月6日のポット苗と6月9日のプラグ苗）と下旬（6月20日のポット苗と6月23日のプラグ苗）に植栽した苗の成長（10月24日に測定した苗高、根元径）を基に分散分析を行なった。その結果、苗高と根元径ともに有意な差は認められなかった。5月下旬と6月上旬については、ともに寒冷紗とベルツーカーを被覆した試験区のデータを基に分散分析を行なった。その結果、苗高に有意な差は認められなかったが、根元径については5%水準で有意差が認められた。同様に5月下旬と6月下旬については、苗高に有意な差は認められなかったが、根元径については1%水準で有意差が認められた。このことから、苗高については5月下旬から6月までの間に植栽時期の影響はなく、根元径については6月よりも5月下旬に植栽した方がよいと結論された。

得苗率を逆正弦変換後、植栽時期の影響について分散分析を行なったところ、6月上旬と下旬では1%水準で有意な差が認められ、他では有意差が認められなかった。なお、5月下旬と6月上旬については5月下旬のデータ（寒冷紗を被覆しなかった試験区）も含めたにもかかわらず、有意な差が認められなかった。つまり、寒冷紗を被覆して得苗率が上がったとしても、統計上は5月下旬と6月上旬に有意な差が認められないことを意味する。

本試験結果から、当センターでカスミザクラ培養苗を植栽する場合、5月下旬にポット苗仕立て寒冷紗とベルツークを被覆することが最も良いと推論された。また、ピートモス成型品のジフィー9を用いて作出したカスミザクラ培養プラグ苗をおよそ10日間の短期間順化处理した後、苗畑に直接植栽して被覆資材を検討した結果、苗木として育成できることも明らかになった。組織培養は試験管内で大量のシュートを増殖できるが、作業工程が下流に進むにしたがって作業量は増加していく。このようなプラグ苗による順化は、容易にかつ短期間に大量の培養苗を生産する技術として有効と考えられる。

4. まとめ

ダイレクトルーティングにより調整した苗高およそ3cmのプラグ苗による苗畑植栽は、寒冷紗とベルツークを被覆して1994年6月9日におこなったところ、1994年10月24日には苗高130cm、根元径7.2mmに達した。また、ダイレクトルーティングで調整したプラグ苗から育成した苗高およそ10cmのポット苗を試験した。この場合、1994年5月20日に植栽した寒冷紗と通気性を有するビニールシートのベルツークを被覆した試験区では、1994年10月24日に苗高145cm、根元径10.8mmに達し、最も良好だった。なお、ポット苗とプラグ苗による成長を比較したところ、ポット苗による方が良好な成育を示した。

IV. 培養プラグ苗生産の低コスト化

a. 培養プラグ苗の生産コスト式の確立

1. はじめに

培養苗の苗木生産を実用化するためには生産コストを下げる必要があり、そのためにはコストシミュレーションによって大きなウェイトを占める部分を探し、改善していく必要があると考えられる。それには培養苗の生産コスト計算方法を検討しなければならない。培養苗の生産コスト計算法については Standaert-de Metsenaere (1991) の概論的な成著が知られているものの、培養作業について点が置かれており、培養器具や施設などを加味してはいない。林木培養苗のコスト試算例で、Hasnain ら (1986) は培養苗が実生苗と比較して、育成した材の平均収量増加や伐期の短縮化が期待されるならメリットがあると試算結果より導いている。

Smith (1986) はラジアータパインを30セント／本と試算しているが、国内において林木培養苗のコストを具体的に論じるには至っていない (鶴見ら 1983)。ここではカスミザクラについてこれまでに確立した定芽増殖の培養系、プラグ苗化、苗畑植栽技術のデータを基に年間100,000本生産まで試算可能な培養プラグ苗の生産コスト式の確立を行った。

2. 試算方法

培養プラグ苗1本あたりの労務費と消耗品費は生産本数如何に関わらず、一定になるものとして培養プラグ苗1本あたりの生産コストを労務費 C_L + 消耗品費 C_C + 減価償却資産費 C_F + 機械設備費 C_E + 培養容器代 C_I + 光熱費 C_{HL} + 上水・下水道費 C_W で表わすこととし、その積算値の小数点第一位を切り上げて整数とした。なお、試算には表計算ソフト“エクセル”(マイクロソフト社)を用いた。

a. 培養プラグ苗1本あたりの労務費 C_L (Labor cost) と消耗品費 C_C (Consumables cost) は以下のように表わせる。

$$C_L = (C_{LS} + C_{LR} + C_{LM} + C_{LP} + C_{LT} + C_{LW}) / N_T$$

$$C_C = (C_{MS} + C_{MR} + C_{EP} + C_{EK} + C_{EW}) / N_T$$

培養シュートの増殖にかかる労務費 C_{LS} (Cost of labor for shoot propagation、 C_{LR} ; Cost of labor for rooting)、発根培養にかかる労務費 C_{LM} (Cost of labor for medium preparation)、プラグ苗化作業にかかる労務費 C_{LP} (Cost of labor for plug transfer)、搬出作業にかかる労務費 C_{LT} (Cost of labor for transplant transfer)、器具洗浄作業にかかる労務費 C_{LW} (Cost of labor under washing)、シュートの増殖培地にかかる消耗品費 C_{MS} (Expendable cost of shoot propagation medium)、シュートの発根培地にかかる消耗品費 C_{MR} (Expendable cost of rooting medium)、プラグ苗化にかかる消耗品費 C_{EP} (Expendable cost of plug)、培養作業にかかる消耗品費 C_{EK} (Expendable cost of knives)、器具洗浄にかかる消耗品費 C_{EW} (Expendable cost of washing)、

培養シュートの生産総数 N_T (Total number of transplant)

ここでは初代培養が完了し、シュートの挿しつけ本数を 2 本/100ml コニカルビーカーとして 2 カ月間のシュート増殖、さらに新しい培地が入ったものに移植して 1 カ月間のシュート伸長を 2 セット行い (トータル 6 カ月)、目的とする本数に達するものとした。シュート増殖率はビーカーあたり培養シュート長 1 cm 以上の場合 ; $6.4 \times 2 = 12.8$ 倍、1.5 cm 以上の場合 ; $4.3 \times 2 = 8.6$ 倍、2 cm 以上の場合 ; $2.4 \times 2 = 4.8$ 倍であった。ここでは 12.8 倍を試算に用いた。つぎに発根培地の分注した 100 ml のコニカルビーカーに長さ 4 ~ 29 mm の培養シュートを 11 ~ 17 本挿し付け、10 日間培養を行った後、培養室で 30 日間プラグ苗化を行なうことにより 85 % が平均苗高 43 mm に生長した (II c. 効率的なプラグ苗化)。経験的にこのプラグ苗化で枯死するシュートは少なくとも 5 ~ 6 mm 以上のものについては長さで枯死率に相関はみられない。培養条件は温度を 26°C、白色蛍光灯 16 時間照明とした。

1) 培養シュートの増殖 : シュートの増殖・伸長を 1 セットとし、2 セットで最終出荷数に達すると仮定すれば、2 セット目の培養器数は $2(N_s/R_{SP})$ 、1 セット目の培養器数は $2(N_s/R_{SP}^2)$ と表わせる。なお、 N_s/R_{SP} 、 N_s/R_{SP}^2 の小数点第一位は切り上げを行ない、整数化した。

増殖培養の一時間あたりの移植作業率 (Transfer rate for shoot propagation) ; T_{R1}

伸長培養の一時間あたりの移植作業率 (Transfer rate for shoot elongation) ; T_{R2}

培養容器あたりのシュート増殖率 ; R_{SP} (Shoot propagation ratio per culture vessel)

時給 (Cost of labor per hour) ; $C_{L/h}$

培養シュートの生産総数 (Total number of shoots) N_s = 最終出荷数 N_T / 得苗率 R_P (Ratio of plug production efficiency)

培養器数 N_{VS} (Vessel number of shoot propagation) = $2(N_s/R_{SP}) + 2(N_s/R_{SP}^2)$

培養作業時間 T_s (Time of shoot propagation) = $(N_s/R_{SP}) + (N_s/R_{SP}^2) \cdot (1/T_{R1} + 1/T_{R2})$
 $T_{R2}) = N_{VS} / 2 \cdot (1/T_{R1} + 1/T_{R2})$

労務費 $C_{LS} = C_{L/h} T_s$

2) 発根培養 : 作業効率 T_{R3} で 1 つの培養容器に培養シュートを a 本移植するものとした。

発根培養の一時間あたりの移植作業効率 (Transfer rate for rooting) ; T_{R3}

培養器数 N_{VR} (Vessel number for rooting) = N_s / a

培養作業時間 T_R (Time for rooting) = N_s / T_{R3}

労務費 $C_{LR} = C_{L/h} T_R$

3) 培地作製 : マルチプルシュートの形成とシュート伸長に同組成の培地を用い、培養器はすべて 100 ml コニカルビーカーとし、20 ml の培地を分注する。培地調合、pH 調整、寒天融解、分注、殺菌操作を 2 時間で 4 ℓ 行くと仮定した。培地消耗品は MS 培地 (1962) の無機塩類 (日本製薬) の有機成分 (岩城硝子) を利用し、発根培地では MS 培地の無機塩類とショ糖は半量、寒天濃度は 1 %、

シュート増殖には $4.71 \mu\text{M}$ のジフェニルウレア、 $5.62 \mu\text{M}$ BAP と $0.316 \mu\text{M}$ NAA、発根には $1 \mu\text{M}$ IBA を添加する。培地の消耗品費を試算するとシュート増殖用が726円/ℓ、発根用が527円/ℓとなった。シュート増殖用培地量 M_{VS} (Medium volume of shoot propagation) $= (20/1,000) \cdot N_{VS} = N_{VS}/50$

発根用培地量 M_{VR} (Medium volume of rooting) $= (20/1,000) \cdot N_{VR} = N_{VR}/50$

全培地量 M_V (Total medium volume) $= M_{VS} + M_{VR}$

培地作製時間 T_M (Time for medium preparation) $= 2 \cdot (M_{VS} + M_{VR})/4 = M_V/2$

労務費 C_{LM} (Cost of labor for medium preparation) $= C_{L/h} T_M$

シュート増殖培地消耗品 C_{MS} (Expendable cost of shoot propagation medium) $= 726 M_{VS}$

発根培地消耗品 C_{MR} (Expendable cost of rooting medium) $= 527 M_{VR}$

4) プラグ苗化作業：培養シュートをジフィー9に植え込む作業の効率は50本/時間とした。

プラグ苗化作業時間 T_P (Time for plug transfer) $= N_s/50$

労務費 C_{LP} (Cost of labor for plug transfer) $= C_{L/h} T_P$

消耗品費 C_{EP} (Expendable cost of plug) $= 3.5 N_s$

5) 搬出作業：順化を完了した培養苗は4時間で1,000本を搬出するものとした。

搬出作業時間 T_T (Time for transplant transfer) $= 4 \cdot N_s/1,000 = N_s/250$

労務費 C_{LT} (Cost of labor for transplant transfer) $= C_{L/h} T_T$

6) 器具洗浄作業：1時間で50本のビーカーを洗浄できると仮定した。使用した培地を含むビーカーはオートクレープで融解後に廃棄し、ウォッシャー洗浄後、蒸溜水をかけるものとした。

器具洗浄作業時間 T_W (Time for washing) $= (N_{VS} + N_{VR})/50$

労務費 C_{LW} (Cost of labor under washing) $= C_{L/h} T_W$

7) その他：最終出荷数 $N_T=1,000$ 本の培養苗作出につき、培養作業用ナイフなどの消耗品費 C_{EK} が500円、また、洗剤などの消耗品 C_{EW} が100円かかるものとした。

$C_{EK} = 500 N_T/1,000 = N_T/2$ $C_{EW} = 100 N_T/1,000 = N_T/10$

よって、培養プラグ苗作出に要する時間 T (Total time for operation) $= T_s + T_R + T_M + T_P + T_T + T_W$ と表わせる。

b. 培養プラグ苗1本あたりの建造物減価償却資産費 C_F (Facility cost) $= 250,000 S_{BF}/33 N_T$

培養施設は培地作製室、無菌操作室、培養室、順化室の4部屋構成とし、培地作製室は18㎡、無菌操作室はクリーンベンチ1台まで18㎡、2台目から1台につき9㎡加算し、培養室と順化室は培養シュートの生産総数 N_s から計算した培養棚の台数をもとにして、棚1台あたりに2.16㎡とした。クリーンベンチの台数を N_c (Number of the cleanbench)、建物の床面積 S_{BF} (Square of the building floor) は培養室と順化室についてはスペースを考慮して1.2倍して積算し、減価償却資産費は坪25万

円の10年償却と仮定した。なお、地代については考慮しないことにした。

$$S_{BF} = 18 + 18 + 9 \cdot (N_C - 1) + 1.2 \cdot (2.16 (N_{SS} + N_{SP})) = 27 + 9 N_C + 2.592 (N_{SS} + N_{SP})$$

$$C_F = 250,000 S_{BF} / 3.3 / 10 / N_T = 250,000 S_{BF} / 33 N_T$$

c. 培養プラグ苗1本あたりの機械設備費 C_E (Equipment cost) $= (2,557,000 + C_{SH} + C_{CL} + C_A) / 6 N_T$

構成備品は出荷本数、あるいは1年間に培養プラグ苗を出荷する回数 T_c によってその台数が変動するものとし、ないものがある。なお、耐用年数は蛍光管以外はすべて6年とし、毎年、1年分を償還するものとした。

1) 培養プラグ苗出荷本数100,000本まで台数に影響のない構成備品のコスト：純水製造装置 (290,000円)、乾熱滅菌器 (90,000円)、オートクレープ (765,000円)、攪拌器 (32,000円)、pHメーター (25,000円)、上皿天秤 (56,000円)、冷蔵ケース (160,000円)、作業台 (168,000円)、硫酸槽 (11,000円)、自動洗浄器 (830,000円)、試薬棚 (130,000円) を構成備品とした (合計2,557,000円)。

2) クリーンベンチ他のコスト C_{CL} ：クリーンベンチ (360,000円)、ラボベンチ (22,000円) は培養プラグ苗出荷本数10,000本につき一台、椅子 (40,000円) は最初の一脚に培養プラグ苗出荷本数10,000本につきもう一脚を加算した。

$$C_{CL} \text{ (Cost of the cleanbench, etc.)} = (360,000 + 22,000) \cdot N_T / 10,000 + 40,000 (1 + N_T / 10,000) = 40,000 + 42.2 N_T$$

3) 空調器のコスト C_A (Cost of the air-conditioners)：空調器は培地作製室に12.60~18.00 m² 用の200,000円のもの1台。無菌操作室、培養室と順化室のものについては、培養シュートの生産総数 N_s により計算される床面積に応じて必要な機種と台数をできる限り低コストになる組み合わせで選定した (10.80~14.40 m²；160,000円、12.60~18.00 m²；200,000円、14.40~21.60 m²；220,000円、19.80~30.60 m²；300,000円)。

4) 培養・順化棚のコスト C_{SH} ：棚はどちらも1台、130,000円とした。シュートの増殖・伸長用の棚は1段に150本の培養器、培養棚1台につき4段で計600本が載るものとした。 N_{SS} のシュート伸長分の台数 ($N_s / 600 T_c R_{SP}$) のみでは年2回の生産が上限となるため、年3~4回生産の場合にはシュート増殖分の台数 ($N_s / 600 T_c R_{SP}^2$) を加えた。なお、どちらの項も整数化した。プラグ苗化用の棚は1段に192個の直径3.5cmジフィー9のプラグ苗、培養棚1台につき3段で計576個が載り、シュートの発根培養用の棚はプラグ苗化のものを使用するものとし、 N_{SP} は整数化した。

$$\text{培養棚のコスト } C_{SH} \text{ (Cost of the shelf)} = 130,000 N_{SH}$$

$$\text{培養棚の台数 } N_{SH} \text{ (Number of the shelf)} = N_{SS} + N_{SP}$$

$$\text{シュートの増殖・伸長用培養棚の台数 } N_{SS} \text{ (Number of the shelf under shoot propagation)} = N_s / 600 T_c R_{SP}^2 + N_s / 600 T_c R_{SP}$$

1 年間に培養プラグ苗を出荷する回数 (Time of the production cycle) = T_c

プラグ苗化用培養棚数 N_{SP} (Number of the shelf under prug culture) = $N_s / 576 T_c$

5) 照明器具コスト C_{LF} と蛍光管コスト C_{FT} ; 照明器具本数 N_{LF} (Number of the lighting fittings) は $2(N_s / 150 T_c R_{SP}^2 + N_s / 150 T_c R_{SP} + N_s / 192 T_c)$ で表せる (各項は整数化)。蛍光管は棚 1 段について 2 本 (消費電力 37W、500 円/本、耐用年数は 1 年として 6 年間分を購入)、蛍光管の照明器具 (消費電力 46.5W、3,000 円/個/本) とした。

照明器具コスト C_{LF} (Cost of the lighting fittings) = $3,000 N_{LF}$

蛍光管コスト C_{FT} (Cost of the fluorescent tubes) = $500 \cdot 6 = 3,000 N_{LF}$

d. 培養プラグ苗 1 本あたりの培養容器代 C_I (Instruments cost) = $C_{IV} / 6 N_T$

培養容器代 C_{IV} (Cost of the culture vessel, etc.; C_{IV}) は基本的にコニカルビーカーは植えつけられているものと新しい培地の入ったものの 2 倍量必要になる。しかし、伸長分の 2 倍量と 1 回のシュート増殖分でもう 1 回のシュート増殖分も補うこともできるし、年 4 回培養プラグ苗の搬出を行なうこともできる。ビーカー上部に被覆するテトロンフィルムは 10,000 本の培養苗出荷の 200,000 円とし、コニカルビーカーの単価は 1 個 360 円で 1 年に 2.5% 程度破損し、6 年間分を購入すると仮定した。なお、 (N_s / R_{SP}) 、 (N_s / R_{SP}^2) 、 $((N_s / R_{SP}) + (N_s / R_{SP}^2)) / T_c$ の項は整数化し、合計金額は 3. の機械設備費 C_E と同様に 6 と培養プラグ苗の最終出荷数 N_T で除した。

$$\begin{aligned} C_{IV} &= 360 \cdot ((N_s / R_{SP}) + (N_s / R_{SP}^2)) (1 + 2.5 \times 6 / 100) / T_c + 20,000 \cdot N_T / 10,000 \\ &= 414 \cdot (N_s / R_{SP} + N_s / R_{SP}^2) / T_c + 20 N_T \end{aligned}$$

e. 培養プラグ苗 1 本あたりの光熱費 C_{HL} (Heat and light cost) = $(C_{EA} + C_{EL} + C_{ES} + C_{EC}) / N_T$

1) 空調費 C_{EA} (Cost of the electricity with air-conditioner)

空調費は、カタログに掲載されている 1 時間あたりの消費電気料を用いた (10.80~14.40 m^2 ; 27.8 円/h、12.60~18.00 m^2 ; 31.1 円/h、14.40~21.60 m^2 ; 35.6 円/h、19.80~30.60 m^2 ; 52.6 円/h)。シュート増殖・伸長は搬出回数が 1 回の場合には 6 カ月間、2 回以上は 12 カ月、発根培養は搬出回数 1 回につき 10 日間、プラグ苗化搬出回数 1 回につき 30 日間かかるものとした。培養作業に要する空調費はそれに要する時間 $T_S + T_R$ に消費電力 κ_3 を乗して表わせる。培地作製室 (18 m^2) で培地作製、プラグ苗化作業と器具洗浄作業を行うと仮定し、その空調費は $T_M + T_P + T_W$ に消費電力 31.1 円/h を乗して表わせる。

$$\begin{aligned} C_{EA} &= (6 \text{ or } 12) \cdot 30 \cdot 24 \cdot \kappa_1 + 10 \cdot 24 \cdot \kappa_2 \cdot N_A \cdot T_c + 30 \cdot 24 \cdot \kappa_2 \cdot N_A \cdot T_c + (T_S + T_R) \cdot \kappa_3 \\ &\quad + (T_M + T_P + T_W) \cdot 31.1 \\ &= (4,320 \text{ or } 190,944) \kappa_1 + 960 \kappa_2 \cdot N_A \cdot T_c + (T_S + T_R) \kappa_3 + 31.1 (T_M + T_P + T_W) \end{aligned}$$

κ_1 = シュート増殖・伸長培養にかかる培養室用のエアコンディショナー消費電気量

κ_2 = 発根培養、プラグ苗化にかかる順化室用のエアコンディショナー消費電気量

κ_3 = 培養作業にかかる無菌操作室用のエアコンディショナー消費電気量

2) 照明費 C_{EL} (Cost of electricity with lighting)

シュート増殖・伸長培養用のビーカーは培養棚1段に150個、発根培養では150個、プラグ苗育成では192個乗せるものとした。なお、蛍光管(2本/棚1段)は1日16時間点灯、電気量は東北電力の22.1円/kWを用い、 $N_{VR}/150$ 、 $N_S/192$ ともに切り上げを行なって整数とした。

$$\begin{aligned} C_{EL} &= 2 \cdot 0.0465 \cdot 16 \cdot 22.1 (2 \cdot 2 \cdot 30 \cdot (N_S/150 R_{SP}^2) + 2 \cdot 30 \cdot (N_S/150 R_{SP}) + 10 \cdot (N_{VR}/150) + 30 (N_S/192)) \\ &= 3946.176 (N_S/150 R_{SP}^2) + 1973.088 (N_S/150 R_{SP}) + 328.848 (N_{VR}/150) + 986.544 (N_S/192) \end{aligned}$$

3) オートクレープの電気代 C_{ES} (Cost of electricity with sterilizer)

120℃、1分間のオートクレープで培地を溶解し、同様に10分間で滅菌を行う。行う回数は全培地量 $M_V/4$ ℓで表わせる(切り上げを行なって整数とした)。オートクレープ(3kW)の電気代は1回の培地作製に2時間かかるものとした。

$$C_{ES} = 3 \times 2 \times 22.1 \times M_V/4 \ell = 132.6 M_V/4 \ell$$

4) クリーンベンチ他の電気代 C_{EC} (Cost of electricity with cleanbench, etc.) ; クリーンベンチ(0.1kW)の使用時間は培養作業時間、すなわちシュートの増殖・伸長培養と発根培養に要する時間 $T_S + T_R$ になる。なお、その他予備費を培養プラグ苗10,000本出荷に500円とした。

$$C_{EC} = 0.1 \cdot (T_S + T_R) \cdot 22.1 + 5,000 \cdot N_T/10,000 = 2.21 (T_S + T_R) + N_T/2$$

f. 培養プラグ苗1本あたりの上水・下水道費 C_W (Water cost) : 培養プラグ苗10,000本出荷に必要な培養器のビーカー数は、培養器数 $N_{VS} = 2(N_S/R_{SP}) + 2(N_S/R_{SP}^2)$ より増殖率6倍、得苗率85%で年間10,000本出荷では $N_{VS} = 2 \cdot (10,000 \cdot 100/85/6) + 2 \cdot (10,000 \cdot 100/85/6^2) \approx 3922 + 654 = 4,576$ 本である。培地作製や器具洗浄などの水道量は1ℓ/ビーカー1本とすれば4,576ℓとなる(およそ5 m^3)。秋田市内の水道代(下水道を含む)は2,509円/ m^3 /月で年間12 m^3 (30,108円)供給できるから、年間10,000本生産では培養プラグ苗1本あたり $C_W = 30,108 \div 10,000 \approx 3.01$ 円と算出できる。同様に年間30,000、50,000本生産では2,552円/2 m^3 /月で年間24 m^3 、年間100,000本生産では2,552円/4 m^3 /月で年間48 m^3 供給できるため、それぞれ、1.02、0.61、0.32円と算出された。

3. 結果と考察

カスミザクラ培養プラグ苗コストに関するパラメーターと久島ら(1995)のクキタチナに関するも

のについてまとめたのが表-16である。筆者の試算式に用いたパラメーターの方が迅速性という点では、若干、クキタチナよりも劣っているが、植物種・培養系・生産者などによって左右されるものと考えられる。

表-20 組織培養に関する変数

	本研究	久島ら
順化日数 (日)	30	7
培養器の単価 (円/個)	360	100
培地容量 (ml)	20	40
40の培地作製時間 (hr)	2	1
プラグ苗化率あるいは発根率 (%)	85	90
発根期間 (日)	10	14
培養器あたりのシュート増殖率 (倍)	12.75/3ヵ月	12/2ヵ月
発根培養器あたりのシュート本数 (a)	11	16
シュート増殖培養作業の効率TR1 (本/hr)	30	60
シュート伸長培養作業の効率TR2 (本/hr)	50	60
発根培養作業の効率TR3 (本/hr)	50	60
プラグ苗化作業の効率 (本/hr)	50	-
プラグ苗搬出作業の効率 (本/hr)	250	-
労務費 (円/hr)	700	800
洗浄作業の効率 (本/hr)	50	30

まず最初に、今回の筆者が設定したカスミザクラ培養プラグ苗に関する試算式の妥当性について認識を行うことにした。表-20のように植物種によってシュート増殖率や培養期間が異なる。そこで、クキタチナに関する久島ら (1995) の培養条件・データを用いることにした (培養施設を1室構成、建造物の減価償却資産を省く)。機械設備費は筆者が基本的に年割計算に対して久島らは日割計算で行っているため、ここでは筆者の当初試算式のエアコンディショナー、培養・順化棚、蛍光灯、照明器具を4ヵ月間使用し、残りの機械設備については1ヵ月間使用するコスト分について試算を行った。その結果、1,000~10,000本の培養プラグ苗作出に関して、価格差は25.4~3.6円とほぼ同様な数値と培養苗の生産本数が増加すると低コスト化を、逆に減少すれば高コストになる傾向を得ることができた (表-21)。

費目についてみると、機械設備費は筆者の試算の方が久島ら (1995) のと比較して低く、光熱費は逆であった。これ機械設備の機種選定などが影響していると考えられる。光熱費については筆者は室内で補光・加温をコストに考慮しているが、久島ら (1995) は順化を明るい窓際の室内で行うとして、これに関するコストは省いているためと考えられる。なお、消耗品費が筆者の方が高いのは市販の培

地成分を利用することを考慮しているからである。これは培地のストック溶液作製に要する試薬の定量、調合やストック溶液を調合する労力、パートタイマーの労働者の教育を省くことができ、再現性を高める上で重要と考えられるからである。

表-21 久島らの変数による本研究と久島らの試算式による培養苗コストシミュレーション (円)

費目	培養プラグ苗あるいは培養苗生産本数			
	1,000	3,000	5,000	10,000
人件費	68.0 / 124.5	36.8 / 61.9	30.4 / 48.1	26.5 / 38.9
光熱費	132.7 / 57.2	45.4 / 23.2	28.3 / 15.3	15.1 / 9.6
労務費	47.6 / 51.9	47.6 / 51.1	47.5 / 50.9	47.5 / 50.8
消耗品費	12.7 / 2.0	12.7 / 2.0	12.7 / 2.0	12.7 / 2.0
トータルコスト	261.0 / 235.6	142.5 / 138.2	118.8 / 116.3	101.7 / 101.3

表-22 培養プラグ苗10,000本生産、年間出荷回数を1回とし、発根培養器に挿しつけるシュート数を変えた場合の施設・設備条件とコストシミュレーション (円)

培地作製室 (m ²)	18.00	
無菌操作室 (m ²)	18.00	
培養室 (m ²)	5.18	
順化室 (m ²)	54.43	
エアコン台数		
10.80 - 14.40 m ² 用	1	
12.60 - 18.00 m ² 用	2	
19.80 - 30.60 m ² 用	2	
シュート本数/発根培養器 (a)	11	17
／プラグ (円)		
建造物減価償却資産費	72.4	
機械設備費	133.3	
培養容器代	16.6	
電気代	32.5	32.3
水道代	3.0	
労務費	46.4	45.6
消耗品費	8.7	8.3
トータルコスト	312.9	311.5

以上のように試算式本体に大きなミスはないと考えられた。そこで、カスミザクラ培養プラグ苗コストについて培養施設を4室構造に設定し、機械設備費を使用していない時間は経費に反映されにく

いと考えられる日割計算から当初の年割計算に戻し、建造物減価償却資産費も含めた筆者の試算式を用いて表-20の筆者の基本条件（Base case）で最終出荷数10,000本、発根培地に挿しつけるシュート数を11本、17本／コニカルビーカーとした場合について試算を行った（表-22）。その結果、挿しつけるシュート数が11本と17本のコストは小数点切り上げ後では313円、312円となり、発根培地に挿しつけるシュート数の培養プラグ苗に対する生産コストの影響は大きくないと考えられた。また、表-21の最終出荷数10,000本では102円であるのに対し、表-22では313円になった理由は試算式の設定が扱う植物種の違いによることからだけではない。特に久島ら（1995）の場合では筆者の培養苗生産条件・試算式と異なり、順化を明るい窓際の室内で行うとし、これに関するコスト建造物減価償却資産費を全て省いている。また、機械設備費を日割計算で求めているために本論のように年割計算で試算を行う場合と比較して、培養苗コストは過小評価されてしまうからである。

4. まとめ

培養系、プラグ苗化、苗畑植栽技術が確立されたカスミザクラについて、培養苗生産を前提とした生産コストを推測するために、年間100,000本生産まで試算可能な培養プラグ苗の生産コスト式の確立を行った。10,000本の培養プラグ苗を生産する場合、発根培養において1つのビーカーに挿しつけるシュート数による生産コストの影響は大きくないことが示唆された。

b. シミュレーションによる低コスト化の検討

1. はじめに

組織培養苗によるクローン増殖技術の開発が多くの林木についてなされてきたが、苗木生産事業として実用化の域に達しているものは、ニュージーランドの Tasmen Forestry 社のラジアータパインについて実施されているものが唯一である (Ritchie ら 1994)。これは、培養苗が実生や挿し木と比較して苗木単価が高価であることが大きな要因と考えられる。培養苗の苗木生産を実用化するためには生産コストを下げる必要があり、そのためにはコスト試算式の作成、コストシミュレーションによって大きなウェイトを占める部分を探し、改善していく必要があると考えられ、久島ら (1995) も同様な指摘を行なっている、培養苗の低コスト化について、Standaert-de Metsenaere (1991)、Hasnain ら (1986) の報告などに具体的な議論はない。ここではカスミザクラについて確立した培養プラグ苗コスト試算式を基に、培養作業に関わるパラメーター (シュート増殖率や得苗率など) や培養施設の改良を前提にしたシミュレーションによって、苗木生産の低コスト化に必要な技術改良を明らかにするための解析を行なった。

2. シミュレーション方法

第5章第I節のコスト試算式を基に、以下について関連するパラメーターを変動させ、残りは固定する方法でシミュレーションを行なった。

1) シュート増殖率の影響については R_{sp} を変動させた。

2) 培養作業の移植効率について“人による移植作業”では、シュートの増殖・伸長培養、発根培養、プラグ苗化の作業効率全てを変動させ、“機械による移植作業”では、基本条件のシュートの増殖・伸長培養、発根培養、プラグ苗化の作業が全てオートメーション化されたとして (培養作業、プラグ苗化の労務費を0として)、前述の作業効率を変動させた。なお、オートメーション機械の減価償却費・運転経費は考慮せずに行った。

3) 培養プラグ苗の得苗率について“発根培養ありのプラグ苗化”では、得苗率のみを変動させ、“発根培養なしのプラグ苗化”では基本条件の発根培地の消耗品費、発根培地作成時の労務費とオートクレーブ光熱費、発根培養作業に係る労務費と空調費とクリーンベンチ光熱費、培養に要する空調費・照明費を省き、得苗率 R_p を変動させた。

4) 労務費については時給 $C_{L/h}$ を変動させた。

5) 1年間に培養プラグ苗を出荷する回数については T_c を変動させた。

6) 温室内順化については発根培養、プラグ苗化を温室内で行うと仮定し、発根・順化に関わる電気量、順化室スペースと空調器、発根・順化用の蛍光灯と順化棚を省いて T_c を変動させた。なお、温室に要するコストは考慮せずに行った。

7) 培養施設については培養室と無菌作業室を一つにすると仮定し、培養室分の建造物減価償却資

産費と無菌操作室の空調器とそれにかかる電気代を省いて T_c を変動させた。

8) ディスポーザブル製品の利用については、器具洗浄の労務費、ビーカー類と自動洗浄器を省き、ディスポーザブル製品のコストは考慮しないで T_c を変動させた。

9) 出荷本数については基本条件下で、最終出荷数 N_T を10,000、30,000、50,000、100,000本と変動させた。上水・下水道費 C_w については培養シュートの最終出荷数 N_T に応じた値とした。

3. 結果と考察

1) シュート増殖率

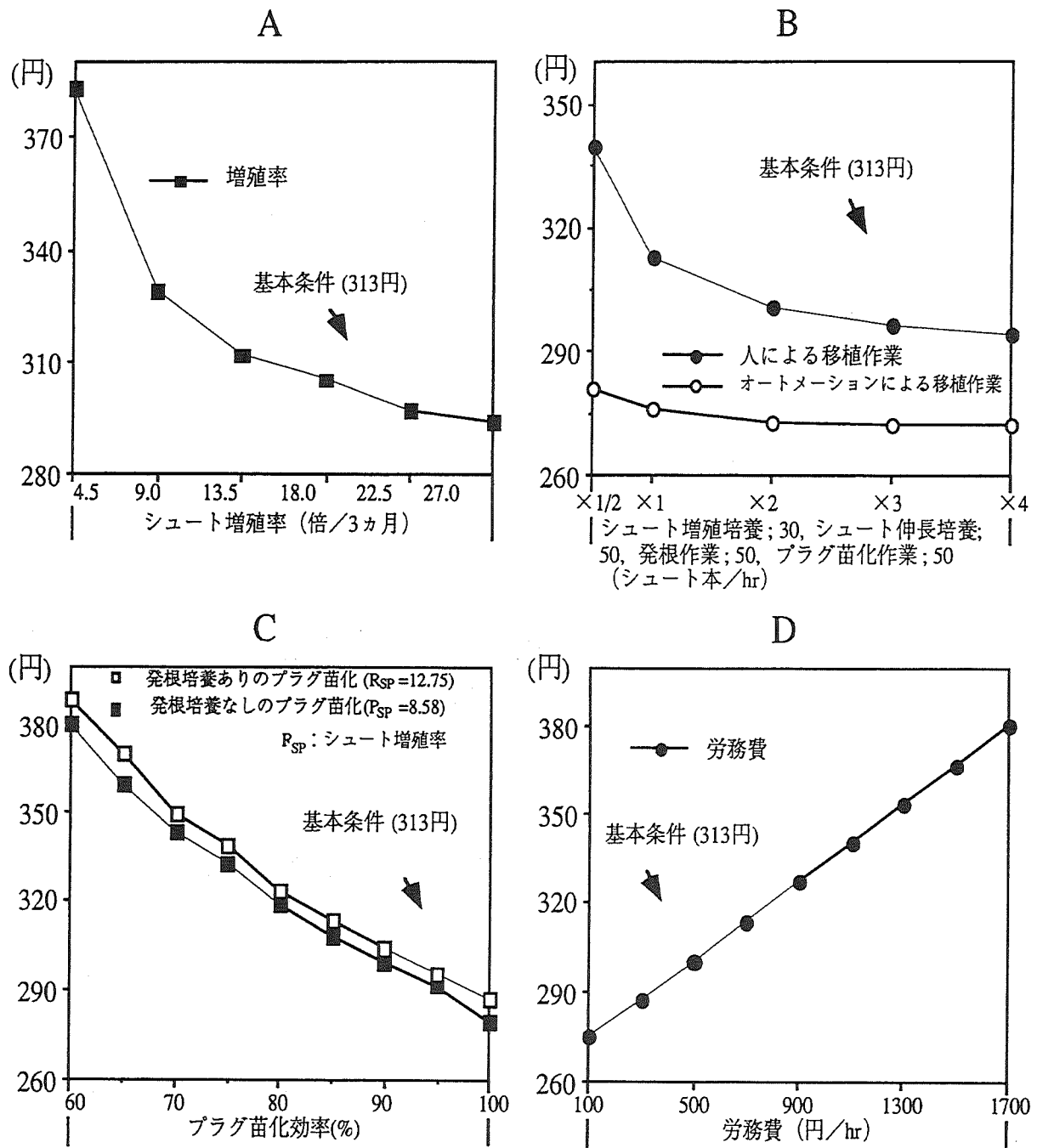
3 カ月間で増殖するシュートは一つの培養容器あたり培養シュート長 1 cm 以上の場合；12.75 倍、1.5 cm 以上の場合；8.58 倍、2 cm 以上の場合；4.75 倍である。経験的にこのプラグ苗化で枯死するシュートは、少なくとも 5 ～ 6 mm 以上のものについては長さで枯死率に相関はみられないことから、5 mm 以上のシュートは計測していないものの、それらを含めればシュートの増殖率は 12.75 倍以上と考えられる。そこで、シュート増殖率；4.5 ～ 27.0 倍について培養プラグ苗のコストシミュレーションを行ってみた（図-20A）。その結果、4.5 倍で 383 円、9.0 倍で 329 円、13.5 倍で 312 円、18.0 倍で 305 円、22.5 倍で 297 円、27.0 倍で 294 円となった。シュート増殖率が 9.0 倍以上／3 カ月間であれば、コストに対する影響はさほど大きくないが、例えば培養作業が未熟なためにシュートの増殖率が 4.5 倍／3 カ月間に落ち込むとなれば基本条件（313 円）より 69 円高となり、その負の影響は大きいことがわかった。

2) 移植作業効率

シュートの増殖・発根、プラグ苗化の移植作業効率が、全て現状の 2 倍になると、培養プラグ苗の生産コストは 301 円、3 倍で 296 円、4 倍で 294 円、逆に 1／2 倍になると 339 円と基本条件（313 円）より 26 円高になった（図-20B）。基本条件の 1.5 倍の効率（シュートの増殖培養 45 本、シュートの増殖培養、発根培養、プラグ苗化 75 本／時間）が現実的には上限と考えられ、この条件での培養プラグ苗生産コストは 305 円、8 円安となる。このため、移植作業の熟練は培養プラグ苗生産の低コスト化に重要なポイントと考えられる。

近年、定芽の増殖培養作業のオートメーションかが報告されつつある（Miwa ら 1994）ので、シュートの増殖培養、発根培養やプラグ苗化などの移植作業が全てオートメーション化された場合についても想定した。その結果、移植作業効率が基本条件の 2 倍でほぼ平衡に達することがわかった。よって、オートメーションの作業効率は基本条件でも十分であると推察できる。基本条件とその 1／2 の移植作業効率による培養プラグ苗生産コストは 276、281 円となり、オートメーションシステムの減価償却資産費・運転経費が培養プラグ苗 1 本あたり $313 - 276 = 37$ 、 $313 - 281 = 32$ 円となれば採算が合うことが示唆された。

図-20 培養プラグ苗10,000本生産、年間出荷回数を1回とし、組織培養に関する変数を変えた場合のコストシミュレーション (円)



3) 培養プラグ苗の得苗率

得苗率を60%から100%まで設定して計算を行なった結果、得苗率と逆比例の関係であることが示唆された (図-20 C)。Preece と Sutter (1991) は、発根を *in vitro* で行なうと全コストの35~70%に及ぶと算出しており、低コスト化には重要な部分としている。カスミザクラの場合、発根培養な

して1.5cm以上の培養シュートのプラグ苗化を図ったところ、得苗率は64.3%だったため、培養プラグ苗生産コストは369円、基本条件の56円高となった。よって、カスミザクラの場合、発根培養の行程を省かずに培養プラグ苗生産することが低コスト化には必要と考えられた。

4) 労務費

培養プラグ苗生産コストは労務費により直線的に増加することがわかった（図-20D）。よって、高学歴者による生産事業を行うなど労働者に高賃金を支給すると、その生産コストは上昇する。

5) 1年間に培養プラグ苗を出荷する回数

培養プラグ苗出荷数10,000本とし、基本条件で1年間に培養プラグ苗を出荷する回数を変動させて、培養プラグ苗生産コストに占める建造物減価償却資産費、機械設備費、光熱費、上水・下水道費、労務費と消耗品費を調べたのが表-23である。

表-23 培養プラグ苗10,000本生産とし、年間出荷回数を変動させた場合の施設・設備条件とコストシミュレーション

	年間培養プラグ苗出荷回数			
	1	2	3	4
培地作製室 (m ²)			18.00	
無菌操作室 (m ²)			18.00	
培養室 (m ²)	5.18	2.59	5.18	5.18
順化室 (m ²)	54.43	28.51	18.14	15.55
エアコン台数				
10.80 - 14.40 m ² 用			1	
12.60 - 18.00 m ² 用	2	2	2	3
14.40 - 21.60 m ² 用	-	-	1	-
19.80 - 30.60 m ² 用	2	1	-	-
／プラグ (円)				
建造物減価償却資産費	72.4	50.8	45.0	43.0
機械設備費	133.3	97.7	87.8	84.1
培養容器代	16.6	10.0	7.8	6.7
電気代	32.5	44.5	44.7	46.4
水道代			3.0	
労務費			46.4	
消耗品費			8.7	
トータルコスト	313	262	244	239

1年間に培養プラグ苗を出荷する回数を変動させた場合、1回で313円、2回で262円、3回で244円、4回で239円となった。1年間に培養プラグ苗を出荷する回数に伴い、光熱費は上昇するが他の建造物減価償却資産費や培養容器代などのコストが減じてトータルとして低コスト化につながる事が示唆された。

Ⅲ 苗畑植栽技術の検討の試験データから、プラグ苗の植栽適期は当センターで年1回であるが、Ⅱ d. プラグ苗の室温保存の技術を利用すると年2回生産が可能になる。プラグ苗出荷数10,000本とした場合、年2回生産で必要となるアグリポットの個数は得苗率を85%とすると $10,000 \times 100 / 85 / 2 = 5,883$ 個である。アグリポットの単価は480円/個だから6年で償却すると仮定すれば、プラグ苗1本あたりについて、その容器代の年間償却費は $5,883 \times 480 / 6 / 10,000 = 47$ 円になる。

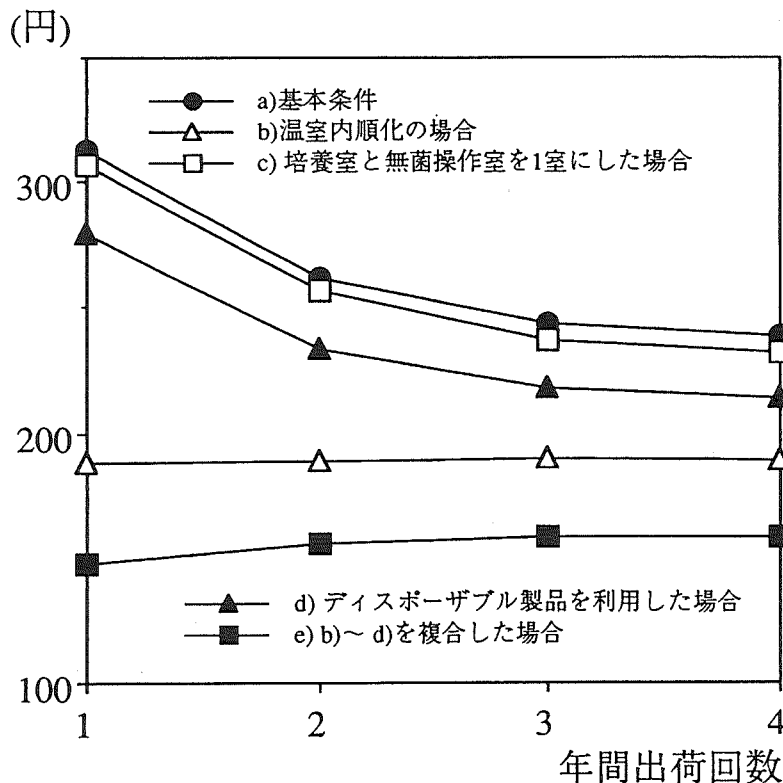
このアグリポットを用いたプラグ苗保存方法を考慮した場合、年2回生産でもストックされるプラグ苗は年1回生産と同様になり、 $10,000 \times 100 / 85 = 11,765$ 本分が培養施設内にプールされる計算になる。従って、単純に試算すれば、建造物減価償却費については年1回生産、年2回生産でも同じにする必要がある。建造物減価償却費は年2回生産で50.8円なので（表-23）、アグリポットを用いたプラグ苗保存方法では年1回生産の72.4円へと補正される（プラグ苗1本あたり $72.4 - 50.8 = 21.6$ 円高となる）。本試算式では、発泡スチロール箱内でプラグ苗の順化を行うことを前提にしているため、アグリポットの容器代を計算してはいない。従って、アグリポットを用いたプラグ苗保存方法で年2回生産を行うとすれば、47円（容器代の年間償却費）+ 21.6円（建造物減価償却費の補正費）= 68.6円高となり、年1回生産する場合の313円から2回生産の場合262円の差である51円を越えることになる。今後、実用化に向けて、アグリポットを用いないプラグ苗の保存方法を検討していくことが重要である。

6) 温室内順化

一般的に組織培養苗の生産コストに占める光熱費は7～8%と低いとされる（古在 1992）。現在の筆者の培養系で、培養プラグ苗出荷数10,000本を年間1回で生産するとおよそ10%である。各作業工程に占める電気代の割合はシュートの増殖・伸長に42%、発根に9%、プラグ苗化に42%、その他7%である。発根培地をジフィー9に添加し、培養シュートのプラグ苗化をビニール温室内で5月下旬から7月上旬にかけて行なった試験結果では、70%程度の発根が確認できた（佐々木 1995）。よって、発根培養を行なった後のシュートをプラグ苗化する方法では、温室内で寒冷紗を被覆して順化を行なうことは十分可能と考えられる。そこで、発根培養、プラグ苗化を温室内で行ない、温室に要するコストは考慮しないでシミュレーションを行なった。培養プラグ苗出荷数10,000本とし、基本条件で1年間に培養プラグ苗を出荷する回数を1回として、培養プラグ苗生産コストに占める建造物減価償却資産費、機械設備費、光熱費、上水・下水道費、労務費と消耗品費を調べたのが図-19である。このような順化に関するパラメーターを0とした場合では、基本条件と比較して建造物減価償却

資産費、機械設備費、光熱費の経費が減少する。1年間に培養プラグ苗を出荷する回数を変動させた場合、1回で188円、2回で189円、3回で190円、4回で189円となり、50～125円のコストが下がる試算結果になった（図-21）。

図-21 培養プラグ苗10,000本生産、年間出荷回数を1回とし、技術・設備改良した場合のコストシミュレーション



したがって、温室に要するコストがこの金額を越えないようにすると低コスト化に大きな効果があるといえる。また、この方法が適用されると1年間に培養プラグ苗を出荷する回数の影響はほとんどなくなることがわかった。なお、搬出回数が2回以上で1回よりも培養プラグ苗の生産コストが上昇するのは表-22のように光熱費が上昇し、建造物減価償却資産費など他の積算コストが光熱費より小さくならなかったり、搬出回数が3回以上では必要な培養棚数の増加とそれに伴う建造物原価償却資産費が増加したためである。

7) 培養施設

最終出荷数10,000本生産の場合、1年間に培養プラグ苗を出荷する回数を変動させたところ、培養室は最大5.18㎡を越えないことがわかった（表-22）。そこで、培養室を無菌作業室に入れられると仮定し、培養プラグ苗出荷数10,000本、基本条件で1年間に培養プラグ苗を出荷する回数を1回とし

た場合では、基本条件と比較して建造物減価償却資産費と機械設備費のエアコンディショナーの経費が減少した（表－24）。なお、無菌作業に係る電気代の影響はほとんどなく、光熱費は変化しなかった。1年間に培養プラグ苗を出荷する回数を変動させた場合、1回で306円、2回で256円、3回で236円、4回で231円となった。このことから6～8円のコスト削減が可能と考えられ、上述の2つ程大きな効果はなかったものの施設設計による低コスト化を示唆した。また、この306円／培養プラグ苗本が、現時点での培養試験データに基づいて生産される培養プラグ苗の最も安価な場合であることもわかった。なお、この試算結果から生産施設の稼働率が低いほど培養プラグ苗生産コストは上昇することが推測された。

表－24 培養プラグ苗10,000本生産とし、年間出荷回数1回とし、技術・設備改良した場合の施設・設備条件とコストシミュレーション

	a) 基本条件	b) 温室内順化 の場合	c) 培養室と無菌操作 室を1室にした場合	d) ディスポーザブル 製品を利用した場合	e) b)～d)を 複合した場合
培地作製室 (m ²)			18.00		
無菌操作室 (m ²)			18.00		
培養室 (m ²)	5.18	5.18	-	5.18	-
順化室 (m ²)	54.33	-	54.33	54.33	-
エアコン台数					
10.80 - 14.40 m ² 用	1	1	-	1	-
12.60 - 18.00 m ² 用	2	2	2	2	2
19.80 - 30.60 m ² 用	2	-	2	2	-
／プラグ (円)					
建造物減価償却資産費	72.4	31.2	68.5	72.4	31.2
機械設備費	133.3	65.4	130.6	119.5	54.6
培養容器代	16.6	16.6	16.6	-	-
電気代	32.5	16.0	31.7	32.5	18.2
水道代			3.0		
労務費	46.4	46.4	46.4	42.0	42.0
消耗品費			8.7		
トータルコスト	313	188	306	279	158

8) ディスポーザブル製品の利用

ガラス製の培養容器をディスポーザブル製品に変更できると仮定し、培養プラグ苗出荷数10,000本、基本条件で1年間に培養プラグ苗を出荷する回数を1回とした場合では、基本条件と比較して機械設備費の培養容器代、労務費の器具洗浄作業に関する経費が減少した（表－24）。1年間に培養プラグ

苗を出荷する回数を変動させた場合、1回で279円、2回で234円、3回で218円、4回で214円となり、ディスポーザブル製品が培養プラグ苗1本あたりに換算して25～34円を越えなければ、培養プラグ苗のコスト削減は可能であることが示唆された（図-19）。Chu（1994）は2千万本の培養苗生産ではディスポーザブル製品の利用は必ずしも低コスト化にはつながらないとしているが、このような1万本生産では低コスト化には効果的と考えられる。

6）の温室内順化、7）の培養施設と8）のディスポーザブル製品の利用をすべて複合した場合、すべての費目でコストが減少した（表-24）。1年間に培養プラグ苗を出荷する回数を変動させた場合、1回で146円、2回で155円、3回、4回で157円となり、82～167円のコスト削減になることが示唆された（図-19）。搬出回数が2～3回で1回よりも培養プラグ苗の生産コストが上昇するのは6）の温室内順化で述べたことと同様なことが生じたからである。

9）出荷本数

1年間に培養プラグ苗を出荷する回数を1回と仮定した場合について出荷本数（10,000～100,000本）による培養プラグ苗の生産コストについて調べたのが（表-25）である。

表-25 年間出荷回数を1回とし、生産本数を変動させた場合の施設・設備条件とコストシミュレーション

	年間培養プラグ生産本数			
	10,000	30,000	50,000	100,000
培地作製室 (m ²)			18.00	
無菌操作室 (m ²)	18.00	36.00	54.00	99.00
培養室 (m ²)	5.18	12.96	20.74	41.47
順化室 (m ²)	54.33	160.70	266.98	531.36
エアコン台数				
10.80 - 14.40 m ² 用	1	3	-	1
12.60 - 18.00 m ² 用	3	1	6	2
14.40 - 21.60 m ² 用	-	1	1	1
19.80 - 30.60 m ² 用	-	4	1	7
／プラグ (円)				
建造物減価償却資産費	72.4	57.5	54.5	52.3
機械設備費	133.3	94.8	87.8	82.4
培養容器代			16.6	
電気代	32.5	22.6	22.0	24.1
水道代	3.0	1.0	0.6	0.3
労務費			46.4	
消耗品費			8.7	
トータルコスト	313	248	237	231

この結果、10,000本で313円、30,000本で248円、50,000本で237円、100,000本で231円となった。このように最終出荷数が大きくなればなるほど建造物減価償却資産費、機械設備費などの設備投資のコストは小さくなり、培養プラグ苗の生産コストは減少する。また、この試算結果より逆に培養プラグ苗の年間生産本数が1万本を割る場合、培養プラグ苗の生産コストは上昇すると推測できる。小規模生産で実用化を進めていくとすれば建造物減価償却資産費や機械設備費をできる限り、抑制する必要がある。このためには従来の培養準備室、無菌室、培養室と順化室をセパレートしたタイプから1室で行なえるユニット化された施設設計が重要と考えられる。また、培養容器もビーカーではなく安価なガラス容器を利用したり、家庭用のミネラルウォーター製造器や水道水も使用可能な市販培地の利用により、純水製造装置や pH メーターなどを削減できると考えられる。

本試算およびコストシミュレーションによって、カスミザクラについて確立した培養プラグ苗による苗木生産の低コスト化に必要な技術改良を明らかにできた。コストシミュレーションによって大きなウェイトを占める部分を探した結果、培養苗の低コスト化には温室内で自然光を利用した順化技術が最も効果的であることがわかった。従って、今後、第Ⅱ章 b. で行ったビニール温室内でのダイレクターティングの効率化を図ることが最も重要と考えられる。

また、現在の技術で培養苗実用化を行なう一つの方向として中核的な培養センターで発根シュートを生産して苗木業者に供給する方法も考えられる。発根シュートとプラグ苗育成を切り離すことができるので、供給された発根シュートを苗木業者がプラグ苗育成に取り組めばよい。組織培養にかかるコストのうち、建造物減価償却資産費や機械設備費などの影響は大きいものの大量生産した場合は軽減化されるためである。

4. まとめ

カスミザクラ培養プラグ苗生産の低コスト化をコストシミュレーションによって解析を行なった。現時点で10,000本の培養プラグ苗を生産する最も安価なトータルコストは培地作製室、順化室、培養室と無菌操作室を一つにした3部屋構造の培養施設として1年間に1回出荷した場合で306円／本と試算された。また、培養作業に関わるパラメーター（シュート増殖率や得苗率など）を変動させたシミュレーションによって、培養苗の低コスト化には温室内で自然光を利用した順化技術が最も効果的であることがわかった。

おわりに

本研究では、MS 培地を基本とし、樺細工に適したサクラの 1 種であるカスミザクラの試験管内増殖技術の確立を図った（第 I 章）。試験管内で大量にシュートが増殖でき、発根シュートを得ることができても、in vitro で形成された根は、その後の鉢上げで活着しない例が知られている（Preece and Sutter 1991）。ダイレクトルーティングは、発根と順化を同時に行うことによって、この問題を解消すると同時にステップの簡素化にもつながる。そこで、ピートモス成型品のジフィー 9 を用いたダイレクトルーティング法を開発し、培養苗のプラグ苗化を可能にした（第 II 章）。この方法により、従来法と比較すればより効率的、簡便かつ大量に培養苗を生産できるようになった。また、このようなプラグ苗からも苗畑で育成することにより、苗木養成できることも明らかになった（第 III 章）。なお、この方法は培養室で行えば、温室がなくとも順化が可能である。また、ビニール温室でも、このダイレクトルーティング法は可能であることを示すことができた。

組織培養は試験管内で短期間に大量のシュートを増殖することができるが、多くの作業工程に労力を投資するという条件が必要である。シュートの増殖、発根、順化と下流に進むにつれて容積は増えていき、育成管理作業も増えていく。このような面から多くの樹種についてもプラグ苗による順化技術の検討は今後、重要になっていくと考えられる。

このような培養苗の実用化には、低コスト化が求められる。培養シュート外国の林木組織培養苗コスト試算例では実生系苗に比べておよそ 2 倍程度としている（Ahuja 1987）。また、1989 年の米国の種苗業者の価格表によると、野菜の実生種子系のプラグ苗は 0.12～0.64 ドル、観葉植物の培養系苗を 0.37～0.55 ドル、切り花用植物の培養系苗を 0.37～1.20 ドルである（古在 1992）。同一植物種ではないため、単純に比較はできないが培養苗のほうが 2～5 倍は高い計算になる。サクラの一般的な苗木（苗高 1.2 m 以上）は接ぎ木、実生苗であるが、その生産価格については日本花の会結城農場ではラフにどちらも 250 円前後、そのうち 1 年間で栽培に要する経費を 150 円、接ぎ穂や実生を 100 円かかるとしている。本研究の試算により、現時点での培養試験データに基づいて生産されるカスミザクラ培養プラグ苗の最も安価な場合は 306 円だが、温室内で順化を行えるようになれば 190 円前後になることがわかった（第 IV 章）。

本研究によって、カスミザクラ培養系とその苗木育成方法を確立することができた。今後、探索・収集した優良木から、様々なクローンについて増殖を行いたい。また、樺細工に適したベニヤマザクラについても培養系の確立・苗木養成を行い、山地植栽することによって樺細工に適したサクラ樺の遺伝的、および環境要因についての解析を急ぎたい。

また、今後の育種展望として樺細工に適したサクラの交雑育種が考えられる。優良クローンによる交雑育種は、野菜や花卉のみならず、林木育種においても有効とされる。サクラは自家不和合性であるため、交配の組み合わせは $n(n-1)$ で表せる。樺細工に適したサクラの占有率は雑木林で 1～3 割程度であるため、100～300 本/ha 必要である。秋田県内で現在、年間 3 ha ほど植林されているの

で、300～900本の苗木が必要となる。

カスミザクラとベニヤマザクラの優良木を各5クローンの苗木各4本では、組み合わせは単純計算で $2 \times 5 \times 4 = 40$ とおりになる。900本の実生苗を得るには、各組み合わせ（母樹1本）あたり $900 \text{本} \div 40 = 23$ 個の種子が必要となる。サクラは一つの花芽から3つ開花するので、各組み合わせ（母樹1本）あたり $23 \text{個} \div 3 = 8$ 個の花芽がつくような採種園でよい。この試算結果から、大規模な採種園造成は必ずしも必要でないことがわかる。

交雑育種を行うためには採種園の整備・維持管理が必要である。しかし、サクラと同じバラ科のオウトウについては、大容量の鉢（40L程度、不織布製）で根域を制限し、直植えより早く開花・結実させるコンテナ（ボックス）栽培技術が知られている。この方法によれば、採種園造成は小規模で済み、また、その後の管理も小面積であるため、集約的に行うことができる。さらに、コンテナを移動することにより優良クローン同志の交雑も容易と考えられる。そこで、組織培養により増殖したサクラの苗を苗畑で根域制限した採種園で造成し、種子生産できるかについても研究していきたい。

謝 辞

サクラの探索調査には小柳金太郎氏と角館町観光課の佐々木佐年氏、黒坂登氏と弘前市公園緑地課の小林範士氏に協力していただきました。組織培養に関する統計処理については、佐藤亨先生から、サクラの種同定には川崎哲也先生から、投稿論文作成には岩崎文雄先生、森林総合研究所機能開発部の石井克明室長から、英文校閲は筑波大学生物科学系の Darryl Macer 先生から有益な助言を賜りました。また、青森県林業試験場の田中功二技師、三本木営林署の田村 賢経営課長には青森県の気象データや植生調査資料を提供していただきました。ここに厚くお礼を申し上げます。

引用文献

1. Ahuja, M.R. : In vitro propagation of poplar and aspen. In Cell and Tissue Culture in Forestry vol. 3. (Bonga, J.M. and Durzan, D.J., (eds.)) Martinus Nijhoff Publishers, 207~223, 1987
2. Bennet, L.K. and F.T. Davies Jr. : In vitro propagation of *Quercus shumardii* seedlings. Hort Sci. 21 : 1045~1047, 1986
3. Chalupa, V. : European hardwoods. In Cell and tissue culture in forestry vol. 3. (Bonga, J.M. and Durzan, D.J., (eds.)) Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, 224~246, 1987
4. Chu, I. : Economic analysis of automated micropropagation. In Automation and environmental control in plant tissue culture (Aitken-Christie, J., Kozai, T. and Smith, M.A.L.H., (eds.)) Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 19~27, 1994
5. Duncan, D.B. : Multiple range and multiple F tests. Biometrics. 11 : 1~42, 1955
6. 原口 雅人 : カバザクラ850年生老木の冬芽および腋芽の増殖. 日林論 101 : 481~482, 1990
7. Hasnain, S., Pigeon, R. and R. Overland : Economic analysis of the use of tissue culture for rapid forest improvement. The Forestry Chronicle. 63 : 240~245, 1986
8. 九島 繁、奥野耕太郎、石坂皓造 : クキタチナ (*Brassica Campestris*) の試験管内大量迅速育苗と生産費シュミレーションによる生産方法の改良の方向付け. 植物工場学会誌 7 : 191~203, 1995
9. Katano, M. : Propagation of japanese cherry (*Prunus lamazakura* SIEB ex KOIDZ) by shoot tip culture. Proc. Fac. Agric. Kyushu. Univ. 6 : 1~4, 1987
10. Katano, M. and Ryoji, I. : Shoot-tip culture of japanese flowering cherry (*Prunus yedoensis* MATSUM) and possible cryopreservation of shoot-tip in liquid nitrogen. Proc. Fac. Agric. Kyushu. Univ. 10 : 17~27, 1991
11. 古在豊樹 : グリニーンハウスシステム. (橋本康編著) “グリニーンハウス・オートメーション”, 養賢堂, 東京, 10~25, 1992
12. Linsmaier, E.M. and F. Skoog : Organic growth factor requirements of tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 18 : 100~127, 1965
13. Miwa, Y., Kushihashi, Y. and Kozai, T. : Economic analysis of automated micropropagation. In Automation and environmental control in plant tissue culture. (Aitken-Christie, J., Kozai, T. and Smith, M.A.L.H., (eds.)) Kluwer Academic Publishers., Dordrecht, 125~143, 1994
14. 茂木 靖和、川尻 秀樹 : ソメイヨシノの組織培養—テング果病罹病個体の増殖率差について—. 日林中支論 40 : 109~110, 1992
15. Murashige, T. and F. Skoog : A revised medium for rapid growth and bioassays with

- tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15 : 437~497, 1962
16. 西村 繁夫 : 効率の個体再分化技術の開発、研究ジャーナル 15 : 6~12, 1992
 17. 岡田益巳 : 組織培養苗 direct rooting による簡易順化、植物組織培養における環境調節とその効果 122~123, 1993
 18. 奥田實、木原浩、川崎哲也 : 日本の桜. 山と溪谷社, 東京, 1993
 19. 小野 武彦、石井 克明 : モニワザクラの組織培養に関する研究—Vitrification の防止について—. 日林東北支誌 46 : 139~140, 1994
 20. Preece, J.E. and Sutter, E.G. : Acclimatization of micropropagated plants to the greenhouse and field. In *Micropropagation Technology and Application*. (Debergh, P.C. and Zimmerman, R.H., (eds.)) Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 71~93, 1991
 21. Rajbhandary, S.B. : New technique for habituation and field performance of tissue culture trees. *Bio-refore : Proc. of Tsukuba-workshop. IUFRO/SPDC*, 122~125, 1992
 22. Ritchie, G.A. : Commercial application of adventitious rooting in forestry. In *Biology of adventitious root formation*. (Davis, T. D. and Haissig, B. E., (eds.)) Plenum Publishing Corporations, New York, 37~52, 1994
 23. ロイヤル ハイネズら : 花きセル成型苗の弱光下低温保存. (ロイヤル ハイネズ他著) “セル成型苗の貯蔵技術”, 農山漁村文化協会, 東京, 34~80, 1995
 24. 酒谷 昌孝・天野 孝之 : 林木の種苗増殖の実際 11. サクラ. “木本植物の増殖と育種”, 農業図書, 東京, 145~151, 1989
 25. 佐々木 揚 : カスミザクラの組織培養による増殖 (I). 日林東北支誌 44 : 235~236, 1992
 26. 佐々木 揚 : カスミザクラの組織培養による増殖 (II). 日林東北支誌 45 : 181~182, 1993
 27. 佐々木 揚 : 樺細工に適したサクラについて. 櫻ノ科学 4 : 1~11, 1994
 28. 佐々木 揚 : カスミザクラの組織培養による増殖の研究 (I) ダイレクトルーティングによる培養苗木の作出. 櫻の科学 5 : 1~12, 1995
 29. 佐々木 揚 : カスミザクラの組織培養による増殖の研究 (II) ジフィー 9 とアグリポットを用いた効率的なダイレクトルーティング. 櫻の科学 5 : 13~20, 1995
 30. 佐々木 揚 : カスミザクラのシュート増殖とプラグ苗化. 日林論 106 : 425~426, 1995
 31. 佐々木 揚 : カスミザクラ培養苗の苗畑植栽と植栽時期について. 日林誌 78 : 10~14, 1996
 32. 佐々木 揚 : カスミザクラ組織培養プラグ苗の生産コスト試算式の検討. 植物工場学会誌 7 : 244~252, 1996
 33. 佐々木 揚 : カスミザクラ培養プラグ苗の生産コストシュミレーションによる定コスト化の検討. 植物工場学会誌 9 : 20~28, 1997
 34. 佐々木 揚 : 培養シュートから作出したカスミザクラプラグ苗の室温保存. 植物工場学会誌 9 :

263～270, 1997

35. 佐藤 孝夫：茎頂培養によるチシマザクラ成木からの植物体再生. 日林北支論 40 : 113～115, 1992
36. 佐藤 孝夫：エゾヤマザクラの茎頂培養法における増殖率の母樹間の差異. 日林論 104 : 603～604, 1993
37. 佐藤 亨：シナミザクラおよびクヌギ成木組織からの器官分化—樹木の器官・カルス培養の基礎的研究—. 森林総研研報 360 : 65～68, 1990
38. 千木 容：組織培養によるサクラ亜属の幼植物体再生の効率化（Ⅰ）. 日林中支論 37 : 31～34, 1989
39. 千木 容、染郷 正孝：組織培養によるサクラ亜属の幼植物体再生の効率化（Ⅲ）—組織培養と取り木の比較—. 101回日林論 : 487～488, 1990
40. Skirvin, R.M. : Stone Fruits. In Handbook of Plant Cell Culture vol 3. (Ammilator P.V. et al., (eds.)) Macmillan Publishing Company, New York, 425, 1984
41. Smith, D.R. : Radiata Pine. In Biotechnology of tree improvement. (Bajaj, Y.P.S., (eds.)) Springer-Verlag, New York, 274～291, 1986
42. Standaert-de Metsenaere, R.E.A. : Economic consideration. In Micropropagation Technology and Application. (Debergh, P.C. and Zimmerman, R.H., (eds.)) Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 123～140, 1991
43. Thorpe, T.A., Harry, I.S. and Kumar, P.P. : Application of micropropagation to forestry. In Micropropagation Technology and Application. (Debergh, P.C. and Zimmaerman, R.H., (eds.)) Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 311～336, 1991
44. 鶴見 和垣、幸田 秀穂：木本性植物におけるバイオテクノロジー応用の現況. 林木の育種 166 : 15～18, 1993
45. 吉岡 宏：セル成型苗生産と機械定植技術の開発. 研究ジャーナル 19 : 10～15, 1996
46. Zimmerman, R.H. and I. Fordham : Simplified method for rooting apple cultivars in vitro. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 110 : 34～38, 1985

ヤマビルの生態に関する研究

長 岐 昭 彦

Studies on ecology of the land leech, *Haemadipsa zeylanica japonica* (Gnathobdellida : Haemadipsidae)

Akihiko Nagaki

要 旨

秋田県内に生息するニホンヤマビル（以下「ヤマビル」という）の生態を明らかにするため、井川町・五城目町地域において生息域、生息環境、室内飼育による生活史について調査研究を行った。

生息域調査では、1992（H 4）年の生息域と比較し、秋田市、五城目町、井川町、昭和町の一部で生息域が拡大しているのを確認した。特に秋田市の南下が顕著であった。

また、生息環境調査では、水分の多い沢筋や吸血対象動物の通る頻度の高い歩道・獣道で、ヤマビルの出現頻度が高いことや、雑食性の中型哺乳類のキツネやタヌキ、鳥類のキジやヤマドリ、草食性大型哺乳類のカモシカなどの生息密度が高いと推測される里山（人間の居住地付近）で出現頻度が高いことが明らかとなった。また、車両への付着等でヒトにより生息地以外へヤマビルを運び込む事例が見られた。

さらに、室内飼育により、ふ化個体は何回か吸血しなければ産卵可能な成熟個体にならないことや、1度産卵後、再吸血すると再び産卵が可能なが判明した。1回の産卵卵のう数は1～9個、ふ化子ビルは1卵のう当たり1～8個体、吸血から初産卵までは約20日、産卵後ふ化までは約1ヵ月、吸血から産卵ふ化までは約2ヵ月の期間であった。

はじめに

日本のヤマビルの生息地は約30地域であるが、近年、生息域が拡大し吸血被害が急増している箇所は本県も含め3箇所である（10）。拡大生息地域の1つ千葉房総半島を中心に生態解明の研究が行われているが、生活史、生息環境状況、生息域の拡大要因など、ヤマビルの生態は不明な点が多い。

秋田県内のヤマビルは、井川町や上小阿仁村のごく限られた地域で生息していた（11）が、1982（S 57）年までには井川町、五城目町内の広い範囲に拡がり（4）、林業従事者を中心に吸血被害が続出した。さらに、1992（H 4）年の調査では、秋田市、井川町、五城目町、昭和町、上小阿仁村（以下「井川・五城目地域」という）で生息が確認され、生息分布が広範囲に及んでいることが明らかとなった（6）。

このため秋田県では、生態の解明および防除方法の確立をめざし、平成6年度から平成8年度までヤマビル被害防止総合対策事業を実施し、学識経験者の助言を得ながら、各県試験研究機関がそれぞれ調査テーマを分担し、試験研究に取り組んだ。本調査は、この事業の一環として「ヤマビルの生態解明」をテーマに、主に生息域、生息環境、室内飼育による生活史について調査研究を行ったものである。また、本調査の内、「樹上からの来襲の可能性」、「室内飼育による吸血方法と吸血状況」については、「ヤマビルの生態解明」を共に担当した秋田県中央家畜保健衛生所（当時）、高橋幸男氏が行った試験結果も併せて提示した。

なお、本論は1997（H9）年3月に印刷された前記事業の報告書「秋田のヤマビル—生態と防除—」の内、筆者が担当した調査研究を一部加筆訂正したものである。

1. 生息域

(1) 県内の生息状況

秋田県内で井川・五城目地域外でヤマビル生息地があるか調査し、それらの地域と井川・五城目地域とでヤマビルの生息状況、生息域の変遷、動物相などを比較し、生息域の拡大要因を探ることとした。

【調査方法】

県内の各市町村、森林組合、営林署、東北電力㈱に管内における1994（H6）年までのヤマビルの目撃の有無、地域、個体数などについてアンケート調査を行い、井川・五城目地域以外でヤマビル生息の有無を調査した。アンケート対象数は市町村64、森林組合28、営林署20、東北電力㈱3の計115団体である。なお、アンケートは1995（H7）年1月に発送し、2月上旬までに回収、あるいは電話で回答を得た。東北電力㈱の大館技術センターと大曲技術センターは、同年4月に電話で聞き取り調査を行った。

これらの結果から、目撃情報を得た箇所で1995（H7）年6月に現地調査と付近住民からの聞き取りを行った。

【結果と考察】

アンケート調査の回収率は100%で、うちヤマビルを目撃したという情報を寄せたのは院内森林組合の1団体である。情報は2、3年前に作業員が雄勝町松根字中ノ沢の山林で、下刈中ヤマビルらしきもの2個体を目撃したというものであった。また、今回のアンケート調査とは別に、昭和20年代に大館市花岡字二井山と田代町萱刈山の市町境で目撃したとの情報を得たので、両箇所について現地調査を行った。

しかし、両地域とも現地調査、現地入山者（雄勝町は山菜採り、大館市は営林署の作業員）からの聞き取り、付近住民（雄勝町は松根地区、大館市は二井山・田代町蛭沢地区）からの情報収集等を行ったが、いずれも過去・現在において生息していたという情報は得られなかった。

また、1982（S57）年のアンケート調査において、田沢湖町で吸血被害の報告があった（5）ので当時のアンケート対象者に電話にて聞き取りを行ったが、生息していたという情報を得ることはできなかった。

これらの結果から、直ちに井川・五城目地域以外で県内のヤマビルの生息地はないとは断言できないが、少なくとも吸血被害が続出するような個体数激増地域は井川・五城目地域以外にはないと推定できる。

（2）井川・五城目地域の生息域

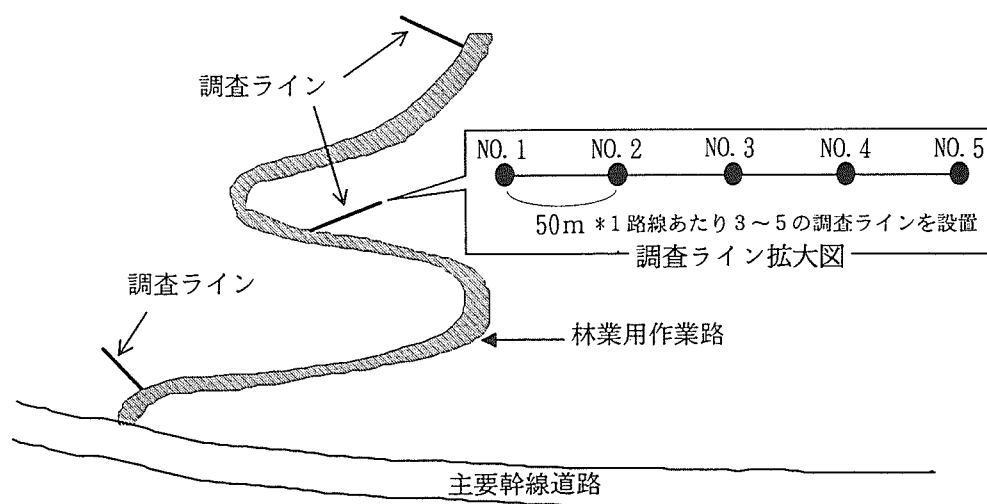
昭和50年代に急速に生息域が拡大したこの地域において、現在も拡大し続けているのか、生息域の最外郭を調査した。

【調査方法】

1996（H8）年6月秋田市、井川町、五城目町、昭和町、上小阿仁村の各市町村、森林組合、営林署、東北電力㈱に、個別アンケート用紙を送付し、現在のヤマビルの生息域を図示して返送してもらった。それらの情報を基に、生息域の最外郭と思われる地域を中心に同年9月5～27日に現地調査を行った。

現地調査は国土地理院発行の25000分の1の地図に図示している作業路を主に対象とし、図一1調査概況のように1路線当たり、始点と終点付近にそれぞれ1調査ライン、その間に1～3調査ライン、計3～5の調査ラインを、ヤマビルが出現しやすい沢筋、歩道・獣道に設定した。さらに、1調査ラインは原則的に線長200mとし、ライン上に50m間隔に計5ポイントの調査点を設けた。

調査を始めるにあたり、調査点の1m四方を足音を立て、地面に息を吹きかけながら一週り歩行した。その後、調査点に3分間立ち、長靴にはい上がってきたヤマビルの個体数を記録した（以下「時間制限法」という）。また、調査点から調査点へ歩行移動する際に付着するヤマビルもカウントした。



図一1 生息分布最外郭調査概況

ただし、調査線がブッシュ等で歩行困難な場合は調査点間を約20mとした。また作業路の他には、住宅地付近の山林・田畑にも調査ラインを設け、同時に付近住民からの聞き取りも併せて行った。調査ライン数は秋田市61、井川町19、五城目町83、昭和町17、上小阿仁村23、計203ラインである。

【結果と考察】

1992（H4）年の生息域（6）との比較を図－2に示す。出現数は1ライン当たり0、1～9、10以上の3段階で表し、聞き取り結果は目撃箇所が特定できる情報を表示した。これらの結果より、最外郭ラインは次の点に留意して、1992（H4）年より明らかに生息域が拡大していると推定できる箇所について決定し、その他の地域は1992（H4）年の生息域の最外郭とした。

- ・現地調査の結果、ヤマビルを確認した箇所、あるいは目撃情報を得た箇所などの点と点を直線で結ぶようにした。
- ・ヤマビルを目撃した人がごく少人数にとどまり、同じ地区の多くの人が付近でヤマビルを見たことがなかった場合、ヤマビルがその箇所に未定着と判断し除外した。
- ・秋田市仁別地区の北西側はデータ数が少ないため、秋田営林局のアンケート結果を基に作成した。
- ・秋田市砥沢上流～五城目町松倉森～中ノ又山～馬場目岳～上小阿仁村萩形沢にかけては、現地調査や聞き取りを全く行わなかったので1992（H4）年の生息域のままとした。

図－2より、1992（H4）年より生息域が拡大したと推定できる箇所は、秋田市で仁別上流仁別沢、上新城白山から上流の小又川、金足黒川の五秋林道東側、昭和町では上蛇川山岸近辺、井川町では寺沢大麦近辺、五城目町では馬場目寺庭・中村周辺、蓬内台地区の住宅地内であった。特に秋田市の南下が顕著となっている。

2. 生息環境

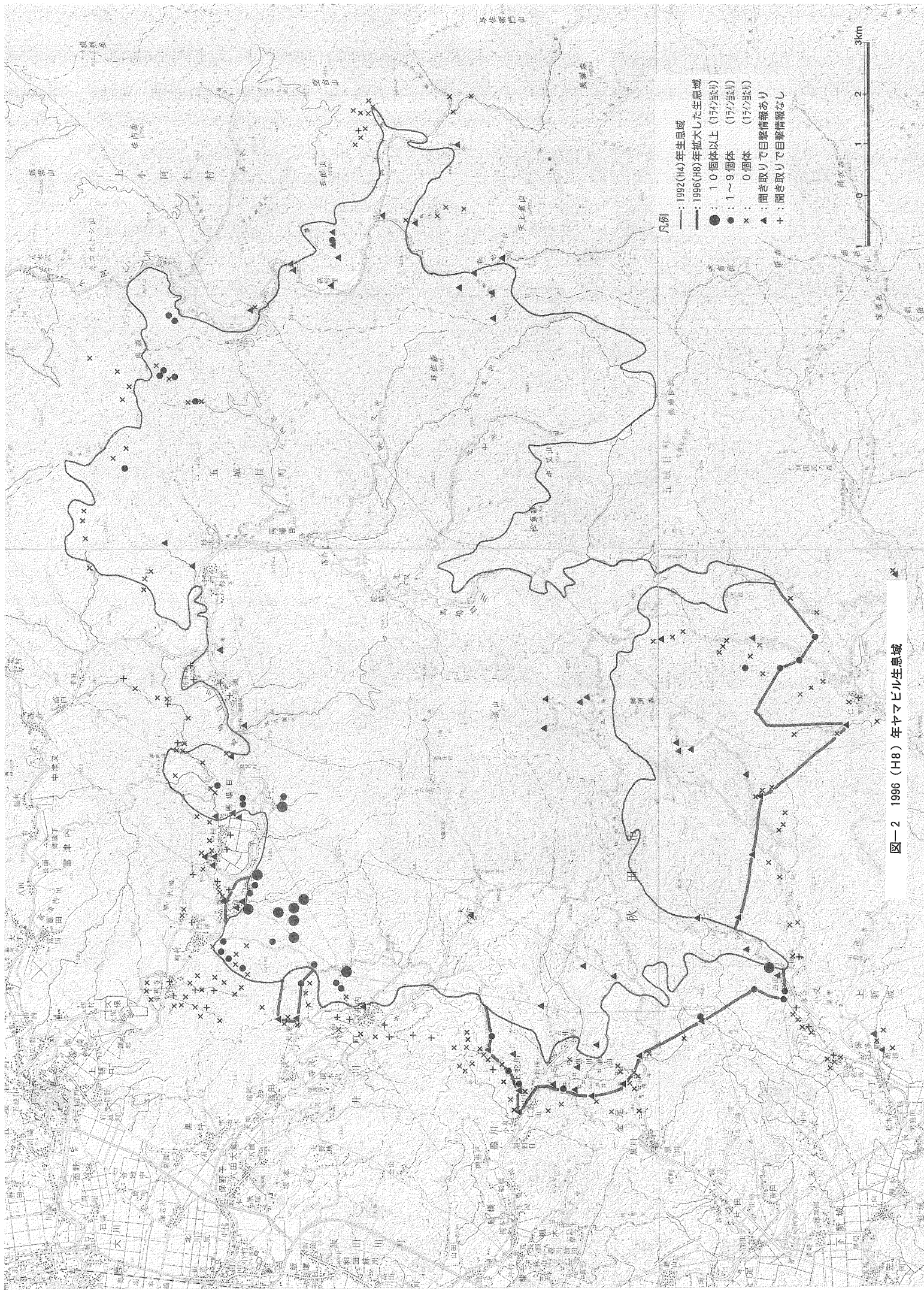
前述したようにヤマビルの生息域は、1980（S55）年頃より急激に拡大したとされ、1992（H4）年には、生息域の最外郭の面積は約1万haにも及んでいる（6）。しかし、生息域内においてヤマビルの生息密度の相違などは明らかではない。

そこで、生息密度と深い関わりがあると思われる出現数を環境の異なる箇所で調査することにより、ヤマビルの生息の好適環境因子を探った。

（1）定点による林相別出現数変動

【調査方法】

秋田市の北方約23kmの五城目町馬場目字蓬内台猿沢の調査地において、林相別に次の4調査区を設け、1調査区毎に尾根、中腹、沢筋、歩道あるいは獣道（車両通行可能な作業路等は含まず。以下「歩道等」という）、対照点として歩道等から2m林分内に入った点の計5点を設けた。沢筋の定点は水流より約1m離れた箇所に設定した。なお、1994（H6）年は対照点を設定せず1調査区毎に4点



- 凡例
- : 1992(H4) 年生息域
 - : 1996(H8) 年拡大した生息域
 - : 10 個体以上 (17ヶ所)
 - ◐: 1～9 個体 (17ヶ所)
 - ×: 0 個体 (17ヶ所)
 - ▲: 聞き取りで目撃情報あり
 - +: 聞き取りで目撃情報なし

図一2 1996 (H8) 年ヤマビル生息域

とした。

林相別調査区

- a) スギ幼齢林（人工林2年生、0.7ha、樹高約0.5m）
- b) スギ壮齢林（人工林30～35年生、2.32ha、樹高約20m）
- c) コナラ幼齢林（コナラ他広葉樹、二次林約15年生、4.02ha、樹高約4.5m）
- d) コナラ壮齢林（コナラ他広葉樹、二次林約33年生、1.60ha、樹高約14m）

* 林齢は調査開始時の1994（H6）年時のものである。また、幼齢林、壮齢林の区分は、林齢や成長量、伐期等、どの要素を主とするかで異なるが、ここでは上記のように定めた。

図-3 に調査区の位置と概況図を示す。調査区はいずれも蓬内台地区の住宅地から約1.5km離れた林分で、標高は約50～120mに位置する。

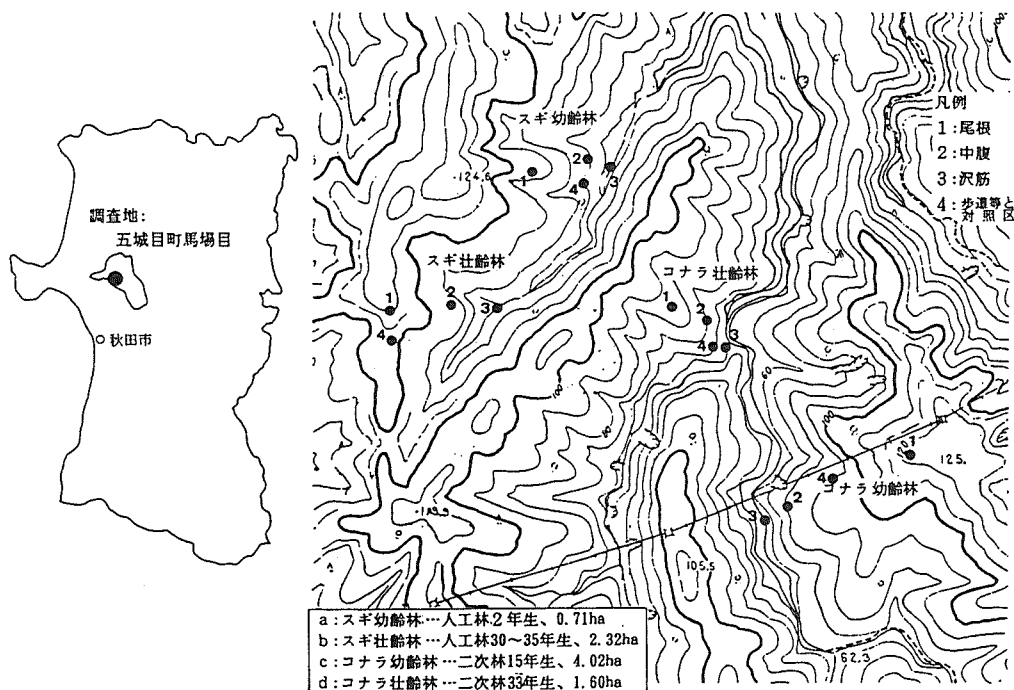


図-3 調査位置図

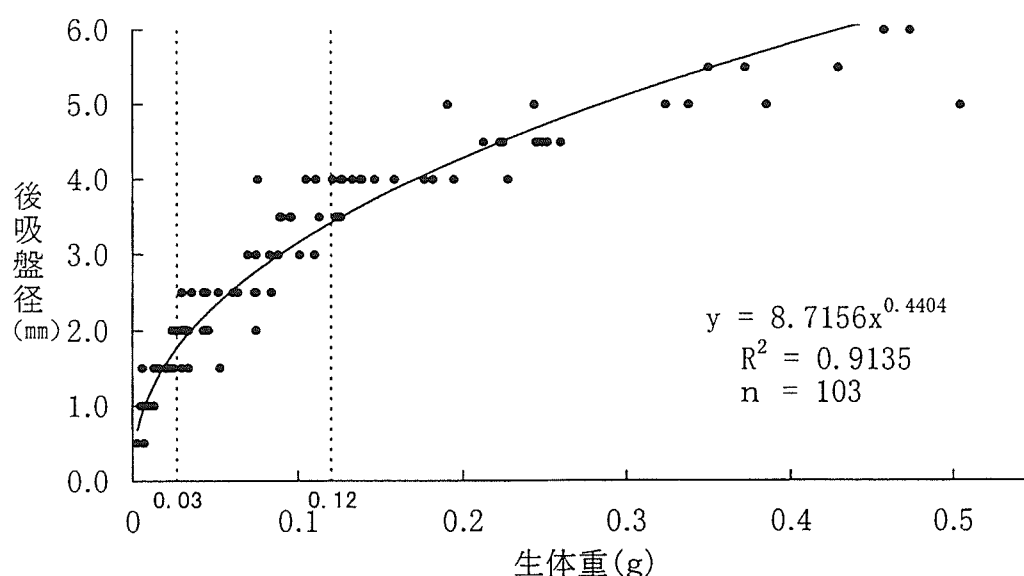
期間は、ヤマビルが出現しなくなった冬期間を除いて、1994（H6）年6月～11月、1995（H7）年と1996（H8）年は4月～11月の3年間にわたり、約10日毎に計61回行った。木川（6）によると夏季の晴天日の出現数は、気温の上昇に伴い11時～15時に減少するため、気温の高い時期（6月上旬～10月上旬）は午前7時から10時半までの間に、気温が低い時期（10月中旬～11月下旬）は日中に行った。また、定点は毎年、前年箇所から10m以上離れた異なる箇所に設定した。

調査方法は前述した時間制限法で行い、時間を5分とした。また、出現したヤマビルはPP製サンプル管（長さ70mm、内径38mm）で採取し、大きさに別にカウントした。

大きさの区分は、山中ら（15）の生体重が0.12g以上を大、0.03g以下を小、その中間を中のサイ

ズすると方法に従い、さらに調査地で容易に判定できるよう後吸盤径で区分するようにした。その方法は、本調査以前に102個体のヤマビルを採取し、生体重と後吸盤径を比較した結果、図一4に示すように正の相関が認められたので、後吸盤径が3.5mm以上を大、1.5mm以下を小、その中間を中とし、現地にてサンプル管に付着している時に目測で判定し行った。判定が困難な個体は定規を用いて測定した。

また、調査にあたって、定点へ向かう途中、ヤマビルを付着させて定点付近へ移動しないよう留意し、計測したヤマビルは元の場所へ戻した。ただし、1996（H8）年は繁殖期間の推定上、小ビルのみ補殺した。



図一4 生体重と後吸盤径

【結果と考察】

1) 経時的出現数変動

総出現数変動を図一5に、地形別の出現数変動を図一6に示す。

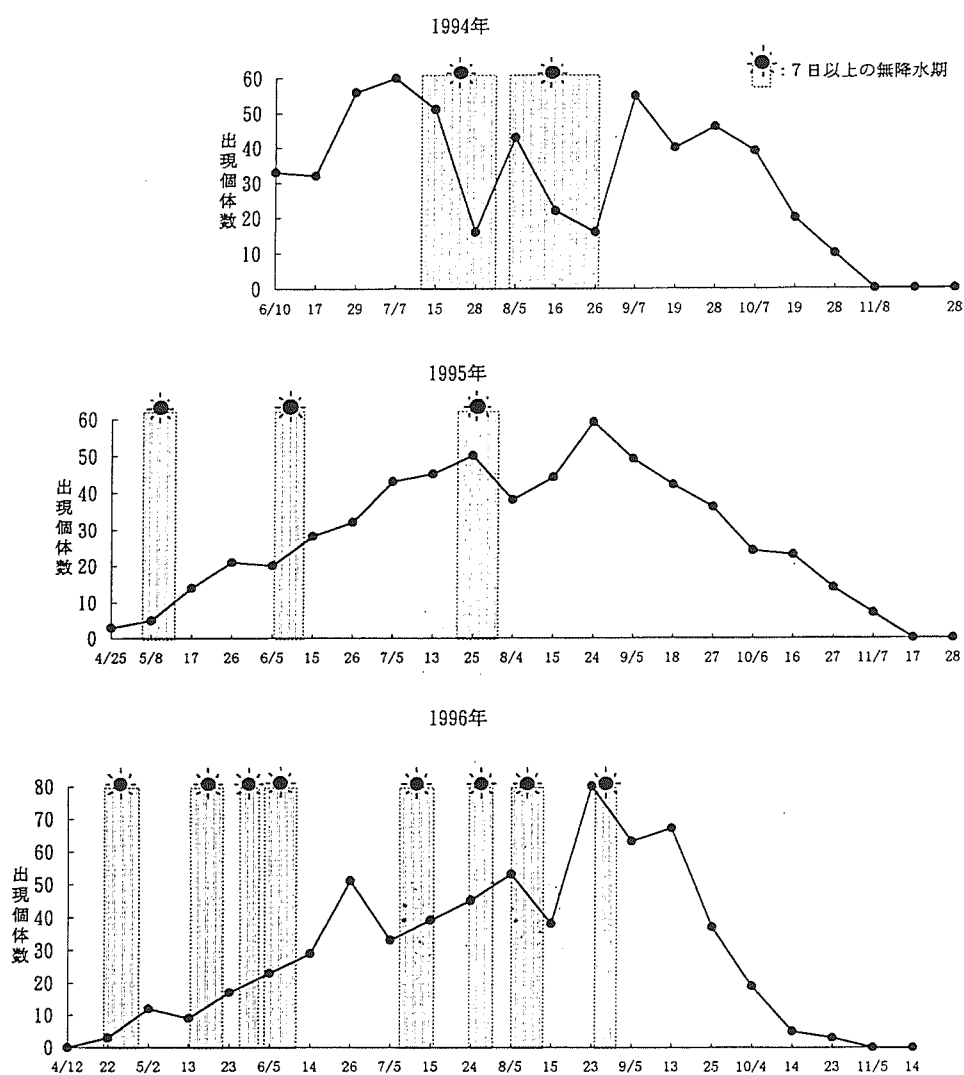
一日の最大出現数は1994（H6）年は60個体、1995（H7）年は59個体、1996（H8）年は80個体で1994（H6）年は7月上旬、1995（H7）年、1996（H8）年は8月下旬に現れた。また、この地区のヤマビルの活動期は雪解けの4月下旬から11月上旬までであった。

降雨時にヤマビルの出現数が増えることは、吉葉ら（20）の調査で確認されている。本調査のヤマビルの出現数と降雨を比較するため、調査地に最も近い五城目気象観測所の気象データを参考にし、図一5、6に7日以上は無降雨期間を表した。

1994（H6）年の夏は猛暑で、7月12日～8月27日まで降雨日は3日のみであり、この期間中ヤマ

ビル出現数は減少が著しい。8月5日に出現数が多くなったのは、8月2～3日に計15mmの降雨があったためと思われる。7日以上は無降雨期間が終わった8月28日から、再び多数のヤマビルが出現している。1995（H7）年は7日以上は無降雨期間は3回しかなく、夏季の出現数の減少も前年より緩やかであった。1996（H8）年は4月から11月まで7日以上は無降雨期間は8回を数えた。しかし、無降雨期間中、出現数が低下したのは8月中旬と9月上旬のみであった。

以上のことから、気温がまだ高くない6月までは、7日から10日程度の無降雨期間は出現数にあまり影響せず、気温の高い時期の7月下旬から9月上旬までは、7日以上は無降雨期間は出現を減少させる。しかし、1994（H6）年のように20日間を越えるような無降雨期間であっても、一時期出現数を減少させるだけであり、再び降雨があれば出現数も増加することから、生息数を減少させるには至らないと考えられる。また、図一6より一年を通じて沢筋、歩道等の出現数が多いことがわかる。



図一5 総出現個体数変動

2) 林相・地形別出現割合

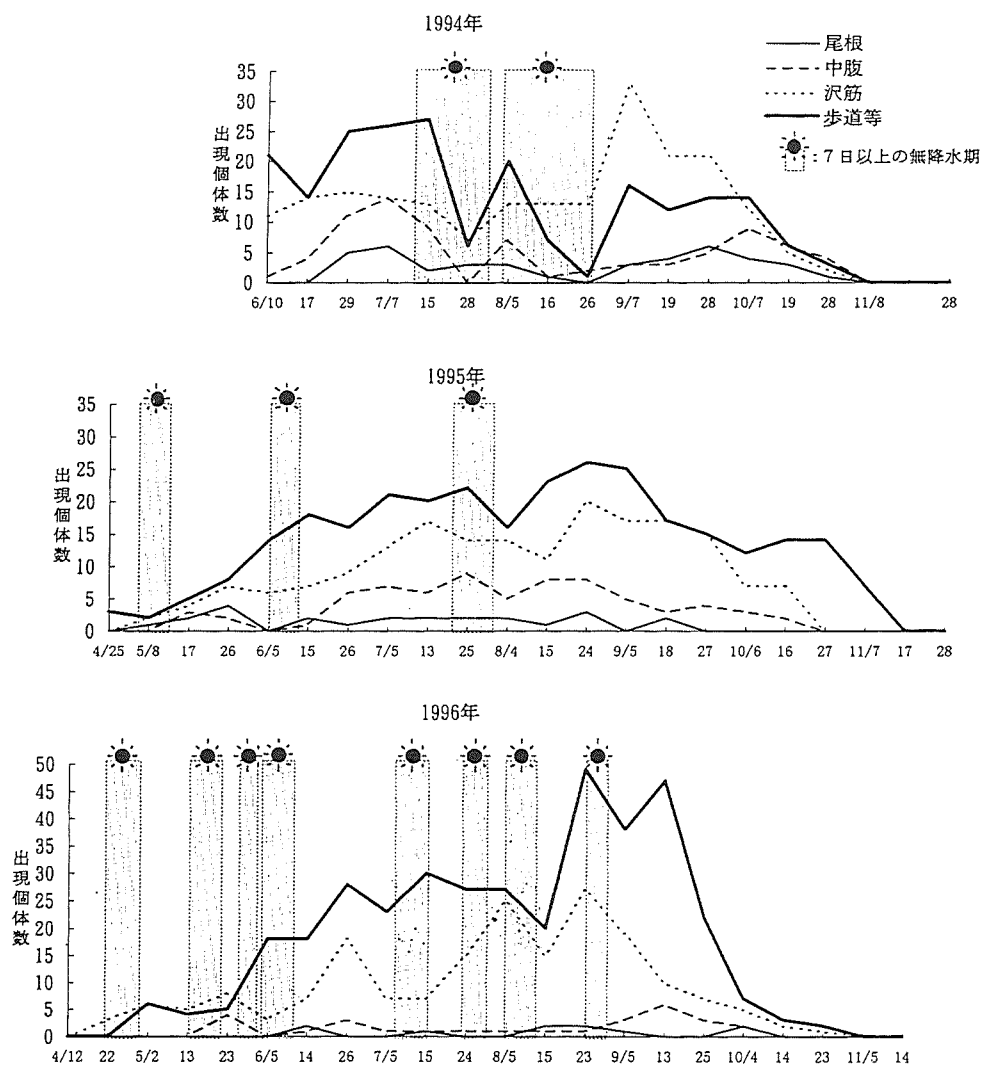
図一7に尾根・中腹・沢筋の各出現割合を示した。3ヵ年とも沢筋・中腹・尾根の順で出現数が多くなっている。3ヵ年計では沢筋の出現割合は70%に達した。

図一8のスギ・コナラ林別出現割合では、いずれもスギ林が高く63~78%、3ヵ年計68%を占めた。

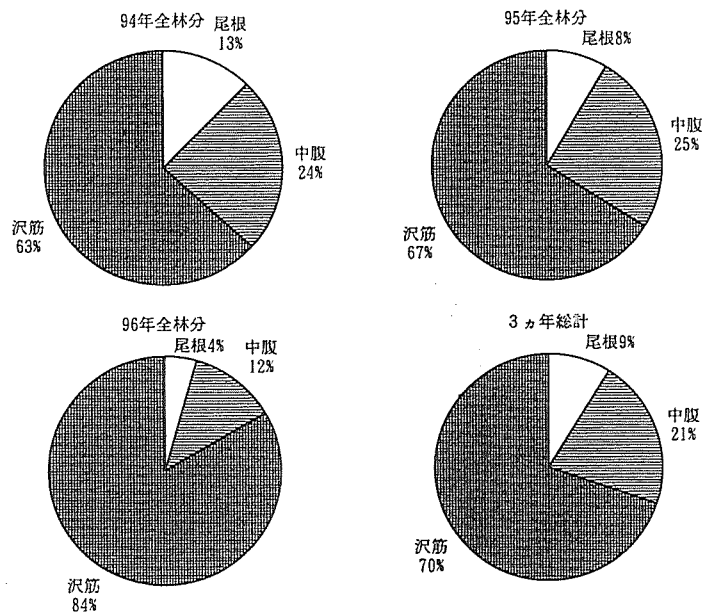
1995（H7）年と1996（H8）年の歩道等と対照点の出現割合を図一9に示す。2ヵ年とも歩道等が約95%を占め、歩道等から2m離れた箇所ではほとんど出現しないことが示された。

図一10に各定点の出現割合を表す。3ヵ年とも歩道等、沢筋の出現が多かった。両定点の出現数割合は3ヵ年計で86%を占めた。

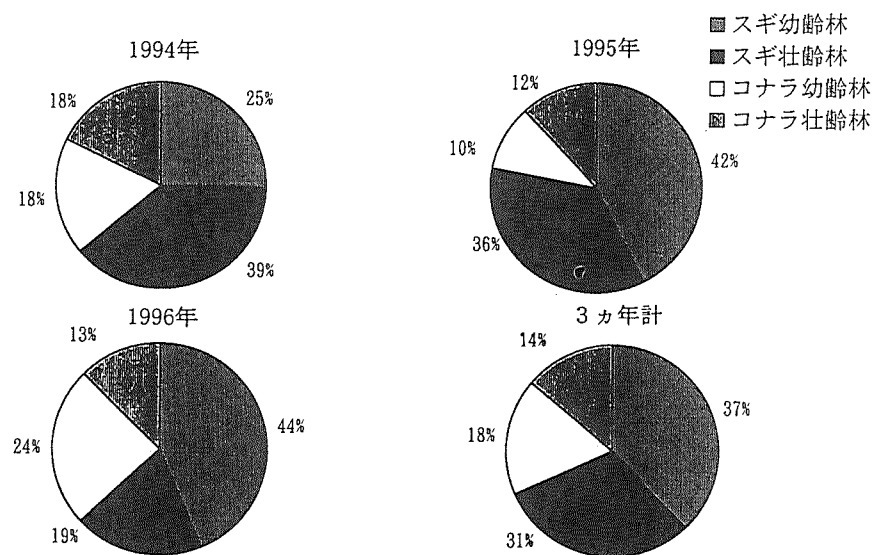
以上のことから、ヤマビルは水分の多い沢筋や吸血対象動物が通る頻度の高い歩道等で多く出現することが裏付けられた。



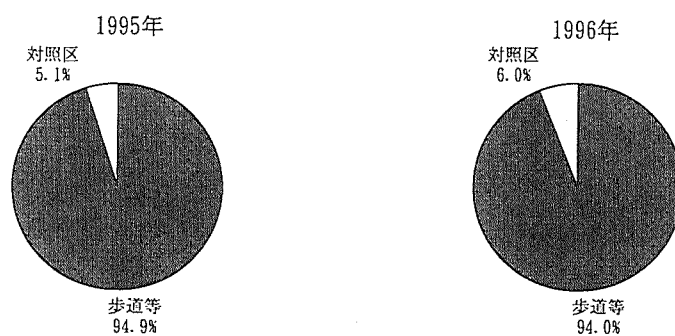
図一6 地形別個体数変動



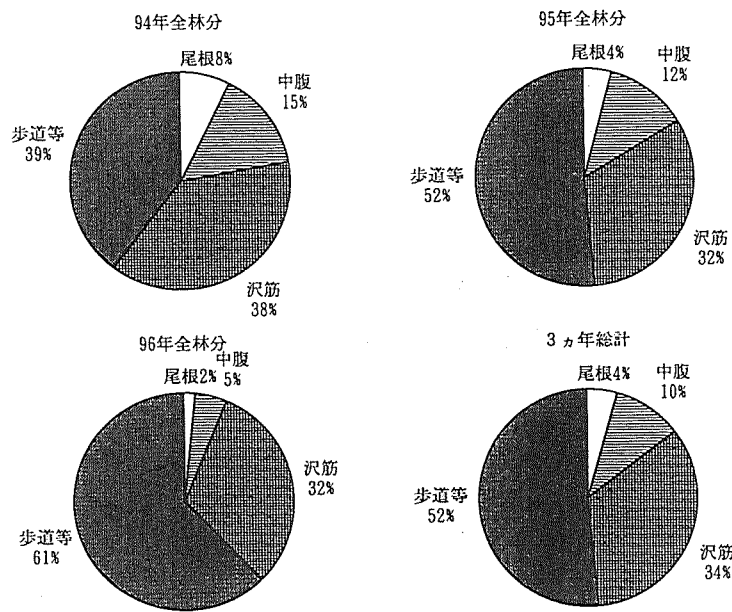
図一 7 尾根・中腹・沢筋の出現割合



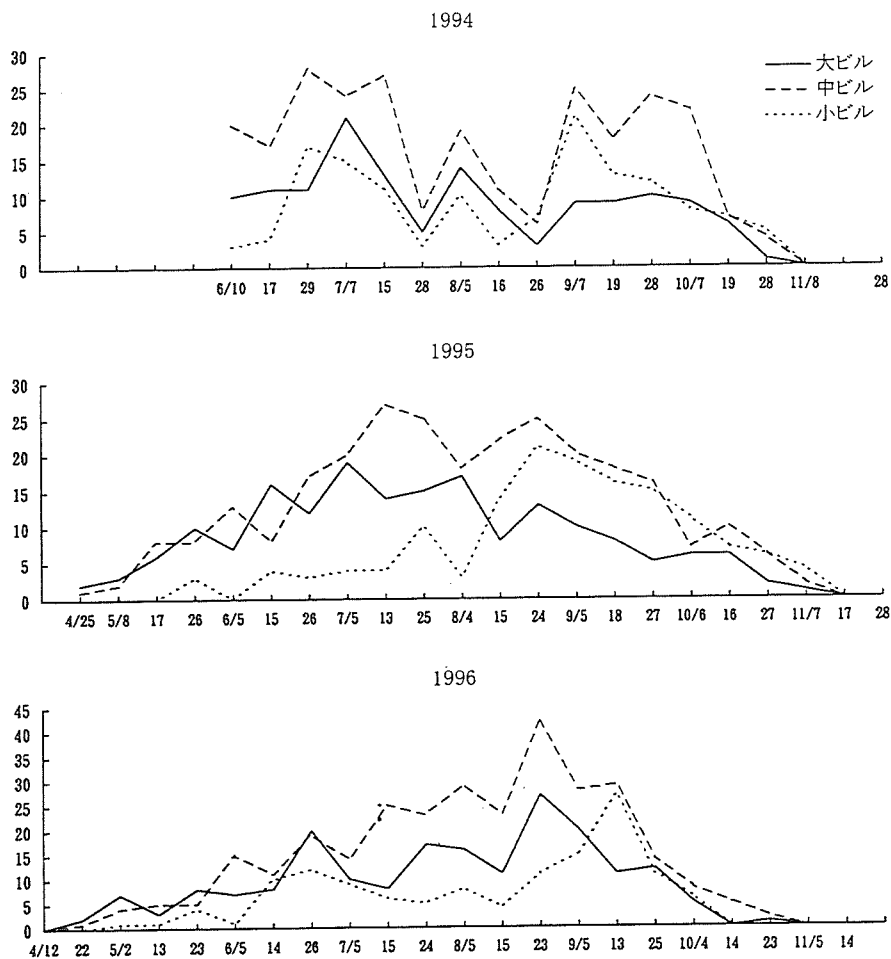
図一 8 スギ・コナラ別出現割合



図一 9 歩道等と対照区の出現割合



図一10 各定点の出現割合



図一11 大中小別出現変動

3) 小ビルの経時的出現数変動

小ビルの出現割合変動から繁殖活動の時期を特定しようとする試みが行われている(15)。大中小サイズ別の出現数変動と出現割合をそれぞれ図-11、12に示す。1994(H6)年、1995(H7)年は個体数を計測したヤマビルを元の箇所に戻しているため、ふ化した子ビルが継続して定点に出現する可能性がある。そこで、両年は小ビルの出現変動ピーク時と出現割合の増加している時期に、1996(H8)年は小ビルを毎回、調査終了時に捕殺しているため、出現変動ピーク時と出現割合の高い時期にそれぞれ着目した。

図-11、12より1994(H6)年は6月下旬、8月下旬～9月上旬、1995(H7)年は8月中旬～下旬、1996(H8)年は6月中旬～下旬、9月中旬がその時期にあたる。これらから、小ビルの出現ピークは6月中旬～下旬と8月の中旬～9月の中旬の年2回程と推測できる。

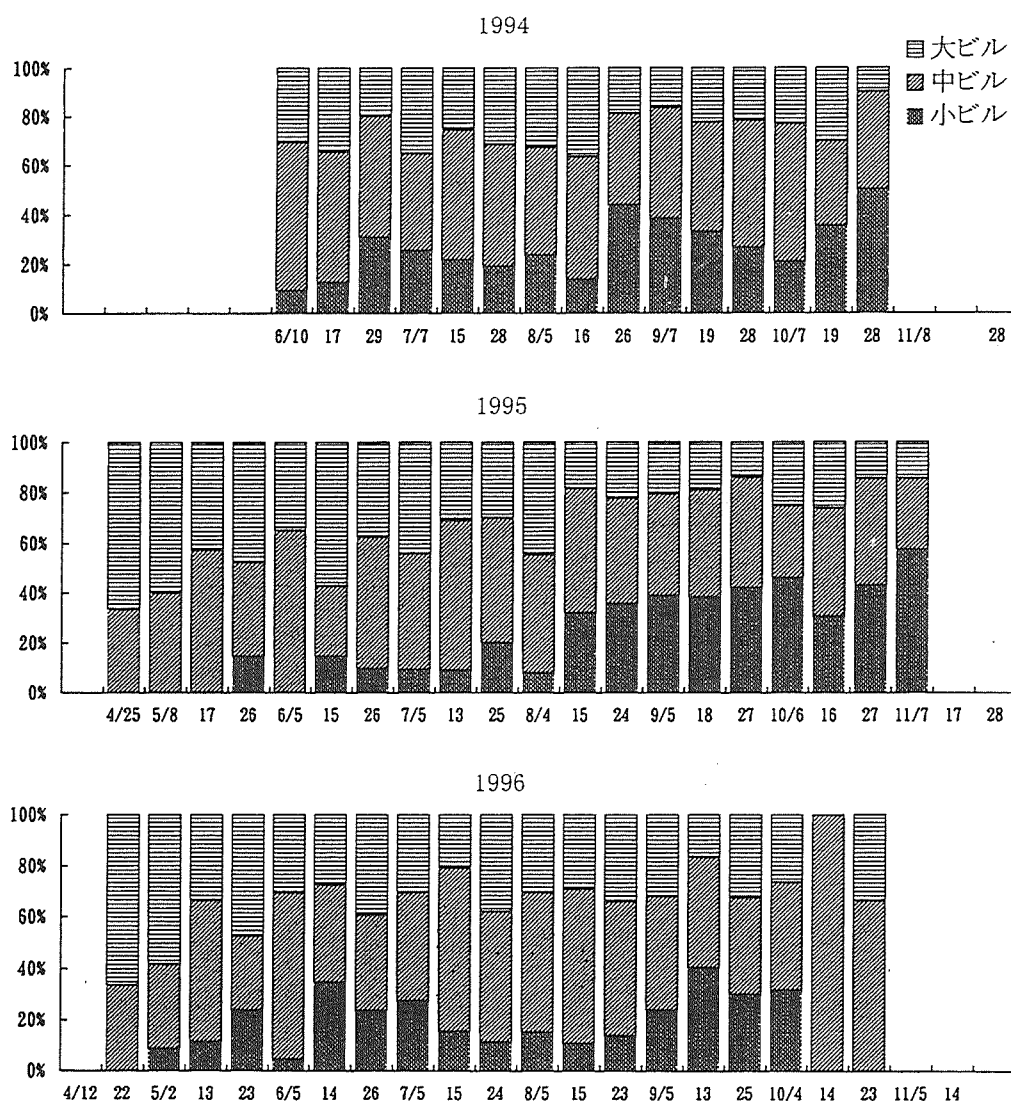


図-12 大中小別個体数変動割合

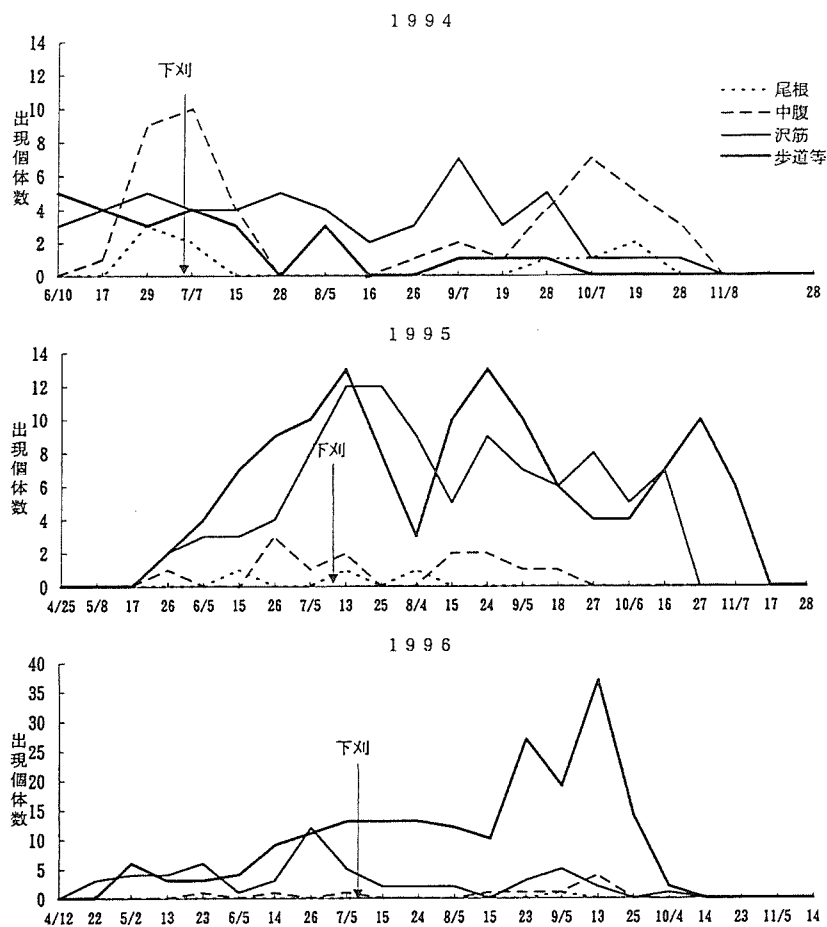
山中ら(14)は産卵からふ化までの期間は初夏の時期で約4週間とし、筆者が行ったヤマビル室内飼育では、吸血から産卵・ふ化まで42~81日、平均60日であった(後述)ことから以下のことが考えられる。

気温、湿度が高い梅雨時期の6月頃から7月にかけてヤマビルの活動が活発になり、吸血済み個体が増えて、約1ヵ月後に産卵、さらに約1ヵ月後にふ化し、8月中旬から9月の中旬に小ビルの出現ピークとなって現れる。

さらに、先の山中ら(16)の調査によれば前年に吸血対象動物への探索行動(体温や呼気、振動等に反応し、吸血するために頭部を揺らしながら対象動物を探す行動。以下「探索行動」という)をしない吸血済みのヤマビル(何らかの動物を吸血したヤマビル。以下「吸血済ヒル」という)を採取したところ、翌年5月に産卵した個体があったことから、今回6月中旬~下旬に小ビルの出現割合が高くなったのは、前年に吸血し翌年になってから産卵した個体が少なからずいるためと推察される。

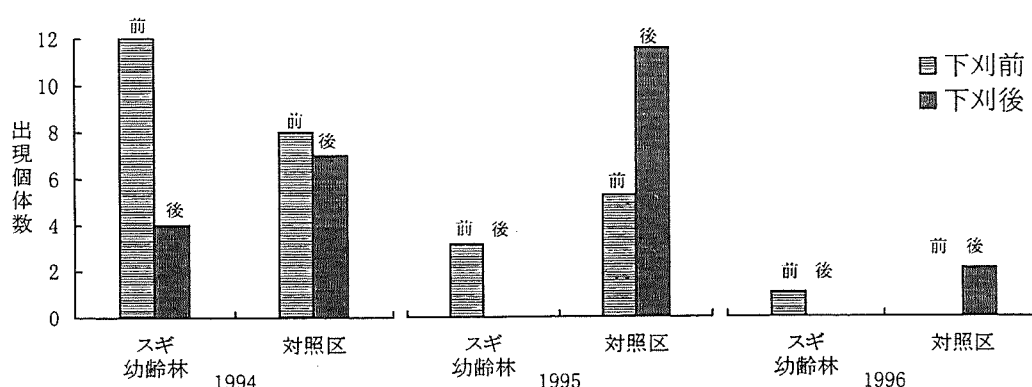
4) 下刈の効果

スギ幼齢林において1994(H6)年7月7日、1995(H7)年7月13日、1996(H8)年7月13日に下刈が実施された。なお、1994(H6)年と1995(H7)年は調査日と同日であったが、下刈は調査終了後に行われた。



図一13 スギ若齢林の出現変化

図一13に各年のスギ幼齢林の各定点の出現数変動を示す。3ヵ年とも下刈後、沢筋や歩道等の定点を除く尾根、中腹の定点で出現数が減少している。また、図一14にスギ幼齢林の尾根・中腹と他の調査区（スギ壮齢林、コナラ幼齢林、コナラ壮齢林）の尾根、中腹を対照区として、下刈前後の出現数の計（尾根+中腹）を比較してみた。1996（H8）年は出現数が少ないが、1994（H6）年、1995（H7）年ともに対照区よりスギ幼齢林の方が下刈後の減少が大きいことから、下刈によるヤマビル出現数の抑制効果はあったと思われる。ただし、1994（H6）年は9月以降、尾根・中腹で再び出現数が増加していることから生息数の減少に及んでいるかは不明である。



図一14 下刈後の出現数の変化

(2) 環境因子と出現数

【調査方法】

前述「(1)定点による林相別出現数変動」で設定した定点毎に土壌水分、土壌pH、Ao層、植生を調査した。

1) 土壌水分

簡易土壌水分計（竹村電気製作所）を用い、深さ約5cmまでの土壌の水分を、1996（H8）年4月12日～8月15日の前述の定点調査時に計測した。

2) 土壌pH

1994（H6）年12月9日（雨天）にA層の土壌を約1～2kg（生重量）採取し、室内で自然乾燥させた後、ふるいにかけて土壌粒子を均一にした中から10gとり蒸留水25gと混ぜ、1時間に数回攪拌し、pHを測定した。

3) Ao層の堆積量

1994（H6）年12月9日（雨天）に土壌pH測定用の土壌を採取した際に、各定点の50cm×50cmの範囲でAo層のL層（落葉落枝層）、F層（腐朽、分解しているが、植物組織が肉眼で識別できる層）を採取し80℃で48時間乾燥させた後、重量を測定した。

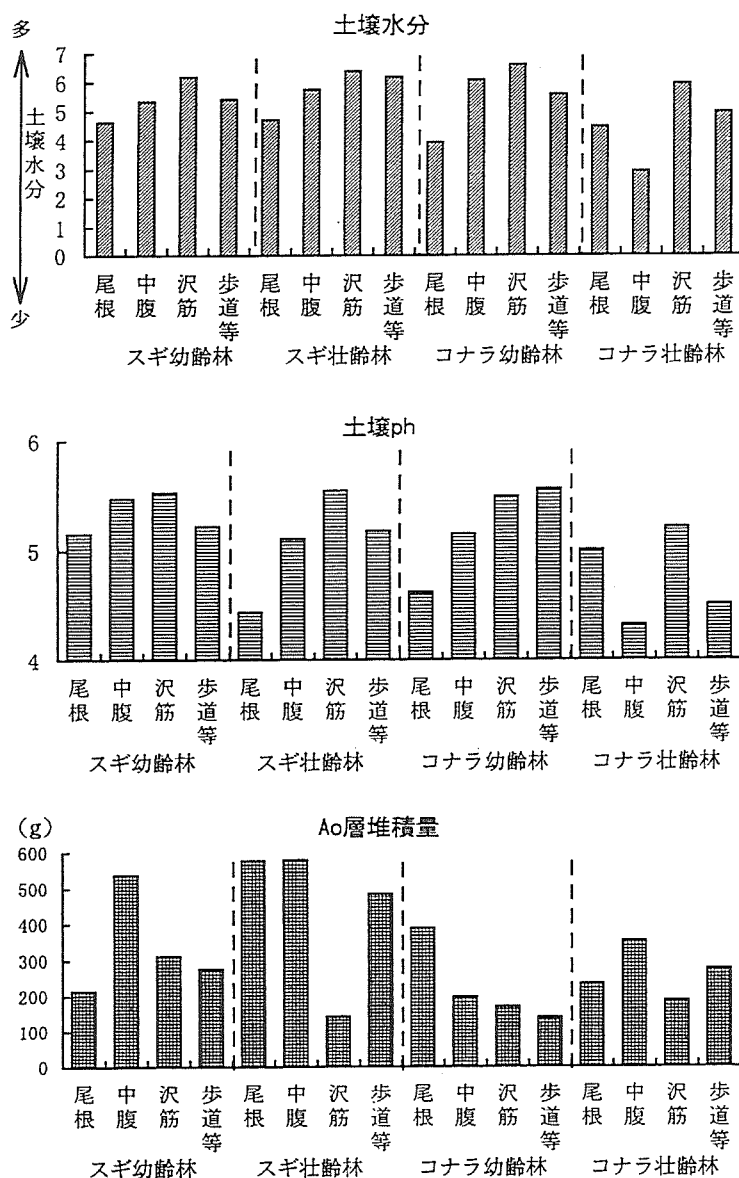
4) 植 生

調査日は1994（H 6）年10月7、17、19、20日の計4日間である。各定点毎の植生を樹高2 m以上を上木層、2 m未満を下層草木層とし、上木層は10m×10mの範囲1箇所を、下層草木層は1 m×1 mの範囲2箇所を標準地として設置した。

調査は範囲内の植生を種別に、植生被度を上木層は3段階に、下層草木層は6段階に、また1つの種で一番高い個体の高さをそれぞれ記録して行った。

【結果と考察】

各定点別の土壌水分、土壌pH、Ao層の堆積量について図一15に、各林相別の平均土壌水分と計測期間中のヤマビルの出現数を表一1に、土壌pH、Ao層の堆積量の各平均値と1994（H 6）年の出現数を表一2に示した。また、植生については表一3に結果を表した。



図一15 各定点の環境因子

1) 土壌水分

図一15の各定点の土壌水分は、計測期間中の平均値を示し、数値の高い方が土壌水分が多いことを表す。各調査区の歩道等を除くと、スギ幼齢林、スギ壮齢林、コナラ幼齢林で沢筋、中腹、尾根の順に水分が多く、コナラ壮齢林では沢筋、尾根、中腹の順となっている。

また、表一1より、土壌水分計測期間中の各定点のヤマビル出現数をみると、歩道等を除き、各調査区とも水分の多い定点ほど出現数も多くなっている。また、図一6 地形別出現数変動より、1994（H6）年の無降雨期間が長期に渡った8月の下旬には、尾根・中腹・歩道等の出現数が激減したのにもかかわらず、沢筋の出現数は減少することがなかった点からも、土壌水分とヤマビルの出現個体数には関係があると推測できる。

表一1 平均土壌水分と出現個体数

林相 区分	定点	土壌 水分	1996(H8) 出現数
スギ 幼齢林	尾根	4.6	2
	中腹	5.4	10
	沢筋	6.2	55
	歩道等	5.4	196
スギ 壮齢林	尾根	4.7	3
	中腹	5.8	9
	沢筋	6.4	23
	歩道等	6.2	84
コナラ 幼齢林	尾根	3.9	0
	中腹	6.1	7
	沢筋	6.6	85
	歩道等	5.6	50
コナラ 壮齢林	尾根	4.5	5
	中腹	2.9	2
	沢筋	5.9	27
	歩道等	4.9	44

表一2 林相別環境因子と総個体数

調査年 調査区	1994		
	土壌ph	Ao層 堆積量(g)	年 間 個体数
スギ幼齢林	5.34	335	136
スギ壮齢林	5.07	445	208
コナラ幼齢林	5.21	224	99
コナラ壮齢林	4.76	262	96

2) 土壌pH

図一15の定点別土壌pH値より、最高値はコナラ幼齢林一歩道等の5.56で、最低値はコナラ壮齢林一中腹の4.32であった。

コナラ壮齢林を除く3林分では尾根、中腹、沢筋の順でpH値が低く、酸性の度合いが強くなっている。

3) Ao層の堆積量

図一15の定点別Ao層堆積量より、最大値はスギ壮齢林一中腹の579 gで最小値はコナラ幼齢林一歩道等の139 gであった。表一2より各林相別のAo層堆積量の平均値ではスギ壮齢林が445 gと最も多く、以下スギ幼齢林、コナラ壮齢林、コナラ幼齢林の順となる。一方、1994（H6）年の出現数の平均値もスギ壮齢林が52.0と最も多く、次いでスギ幼齢林、コナラ幼齢林、コナラ壮齢林の順となっている。この結果だけからは、Ao層の堆積量とヤマビル出現数とに相関があるとは言えないが、調査

時や飼育時に次のような事例を目撃している。

乾燥状態での調査時に、落葉落枝の下からヤマビルがはい出してくるのを数多く目撃している。また、室内飼育において丸カップ内が乾燥してくると、ヤマビルがほとんど枯れ葉の下に潜んでいることや、産卵時、卵のうはほとんど枯葉の下に産出したこと、また山中ら（14）は吸血済ヒルを石の下などから採取していることなどから、乾燥からの避難場所、または産卵場所として落葉落枝あるいは石などを利用していると考えられる。

4) 植 生

表一3に定点別の下層植生の種数・全体被度とヤマビルの年間出現数を示した。詳細なデータについては文末の資料一1～4に掲げる。種数が最も多かったのはスギ幼齢林一歩道等の31種、最も少なかったのはスギ壮齢林一中腹の8種であった。種数が9種、全体被度が1～10%のスギ壮齢林一歩道等のような下層植生が少ない箇所でも、多くのヤマビルが出現していることから、下層植生の多少が直接個体数の増減に影響を与えることは少ないと思われる。ただ、下層植生が豊富な箇所は草食性の

表一3 ポイント別下層植生の種数と全体被度

		種数	全体被度(%)	個体数
スギ 幼齢林	尾根	28 (40)	75～100	9
	中腹	25 (28)	75～100	50
	沢筋	24 (28)	75～100	52
	歩道等	31 (40)	75～100	25
スギ 壮齢林	尾根	14	1～10	28
	中腹	8	10～25	29
	沢筋	19	75～100	74
	歩道等	9	1～10	77
コナラ 幼齢林	尾根	12	25～50	1
	中腹	16	50～75	0
	沢筋	24	50～75	19
	歩道等	30	75～100	79
コナラ 壮齢林	尾根	30	1～10	3
	中腹	20	1～10	0
	沢筋	18	75～100	62
	歩道等	19	1～10	31

* 種数の()は、調査抽出地には存在しなかったが、他箇所での出現頻度が高かった種を含めた数値。

哺乳類や鳥類の好適環境となり、これらの動物の生息密度が高くなりやすく、間接的にヤマビルの生息数を左右することも十分考えられる。

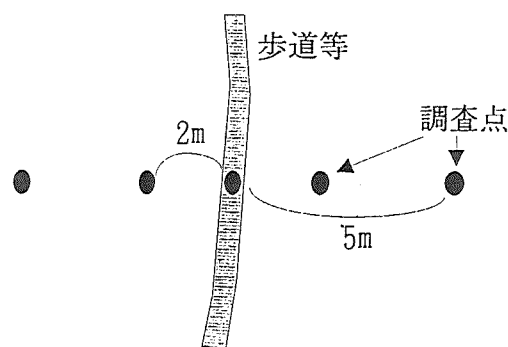
以上の事からヤマビルの生息地の環境因子として土壌水分、Ao層（特に落葉落枝のL層）の有無が生息数に影響を及ぼすと推測される。

(3) 歩道・獣道の出現割合

前述の「(1)定点による林相別出現数変動」調査の結果、歩道等の出現が多くなったが、他の林分においてもその傾向にあるのか、歩道等の出現調査を行った。

【調査方法】

五城目町蓬内台地区付近、小野田地区付近、水沢地区付近、保呂瀬川上流、井川町務沢の各スギ林、コナラ林、送電線下の刈り払い箇所などで1995（H7）年6月22、26日、7月5、25日、8月4日、9月14、18日の計7日間に、図一16調査概況図のように任意の点を歩道等上を選び、また対照区として歩道等の両側それぞれ2 m、5 m離れた箇所に各1点ずつ、1プロットあたり計5点を設定し、5分の時間制限法を行い出現したヤマビルの数を計測した。総プロット数は54、晴天日は6月26日のみで、その日以外は曇りまたは雨の天候であった。

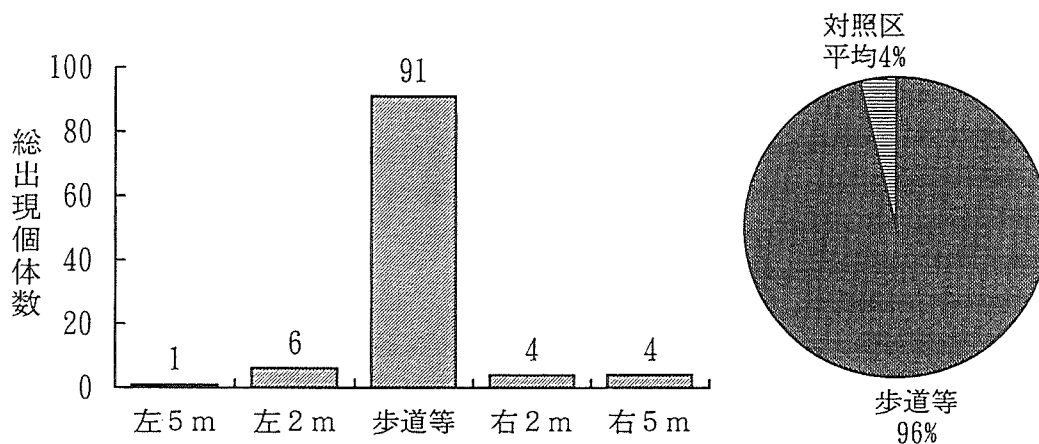


図一16 歩道出現率調査概況図

【結果と考察】

ヤマビルがプロット内のどの点にも出現しなかったのが21プロットあり、歩道等上の点で出現しなかったが、両脇いずれかの点で出現したのは1プロットあった。

歩道等と両側対照区の出現数と割合を図一17に示す。歩道等上の出現数91個体に比べ、歩道等の両



図一17 歩道等と両側対照区の出現個体数と割合

側の出現数は5個体前後あり、歩道等から離れれば出現数が減少する傾向にあった。また、1点あたりの出現数で歩道等上の点と対照区の点の出現割合をみると、歩道等の出現は96%になった。この結果と前述した「(1)定点による林相別出現数変動」調査において2カ年のヤマビルの総出現数が歩道等から2 m離れた対照点と比較し、歩道等の出現割合は約95%になったことにより、歩道等付近では、歩道等上にヤマビルのほとんどが集中しており、2 m以上離れた箇所には少ないことが明らかになった。ただし、次の「(4)林相別出現状況」の結果から、歩道等からより離れればヤマビルが出現しなくなるということではない。

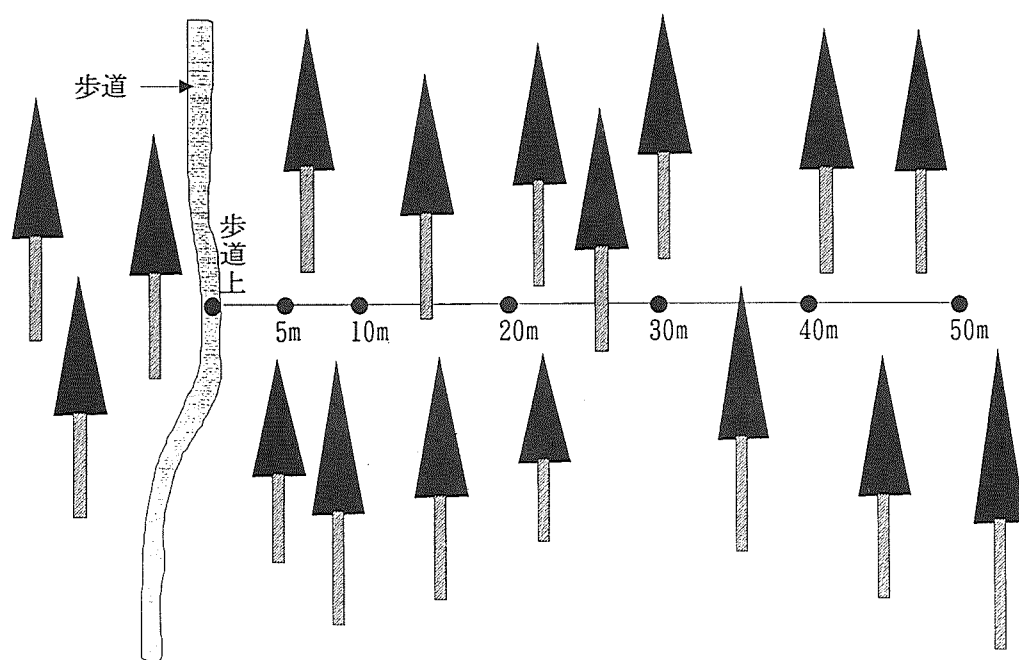
(4) 林相別出現状況

前述した「(1)定点による林相別出現数変動」調査ではコナラ林よりスギ林で出現割合が高くなったが、調査点が各林分4～5点のみであったので、同じ林分で調査点を増加して調査した。また、他の地域の林相別出現状況や、10年以上前、ヤマビルの高密度生息地域と呼ばれた箇所の現在の出現状況などを把握するため、時間制限法により出現数調査を行った。

1) 蓬内台猿沢の林相別出現状況

【調査方法】

「(1)定点による林相別出現数変動」調査と同じ林分の、スギ幼齢林、スギ壮齢林、コナラ幼齢林、コナラ壮齢林の4調査区において、図一18調査地概況図のように各調査区毎に歩道上（獣道は除く）に任意の点を設け、林内に50mのラインを歩道と垂直になるよう2本設けた。さらにライン上に歩道上の点を起点とし、5、10、20、30、40、50mの点を設け、5分間の時間制限法によりヤマビルの出現数を計測し、調査終了後、ヤマビルは元の箇所に戻した。



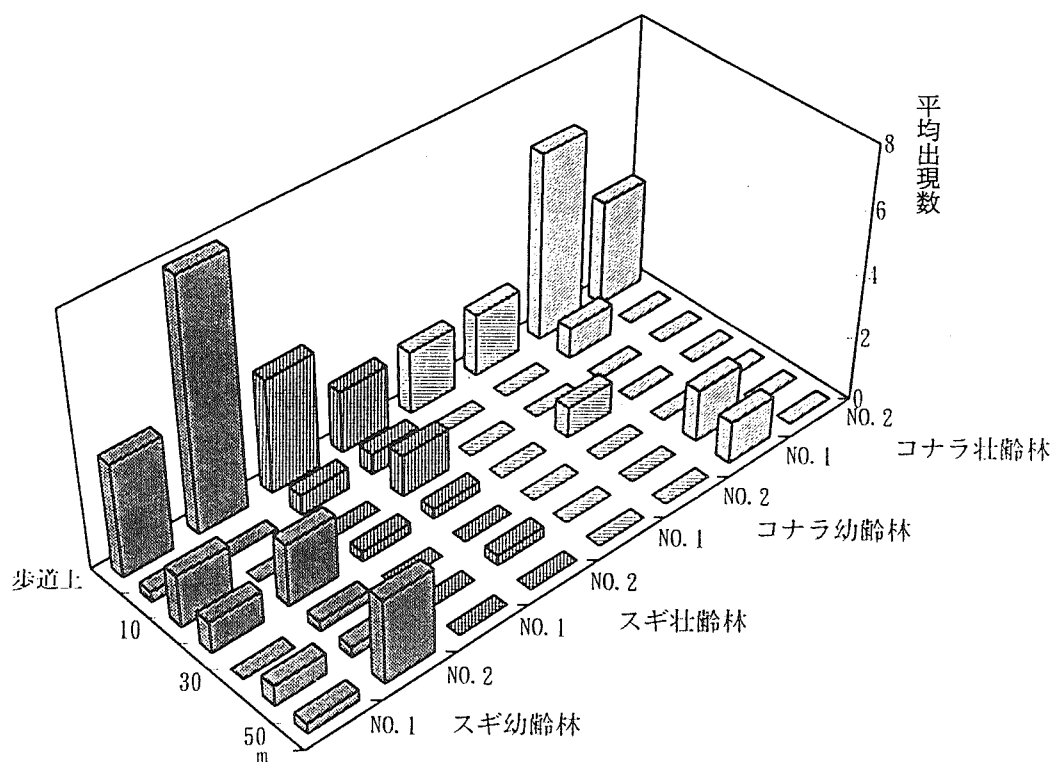
図一18 林相別分布状況試験地概況図

調査は1995（H7）年6月13日から8月4日にかけて、曇天日、雨天日を選び各調査区毎に、ライン設定日を除き3日ずつ行った。

【結果と考察】

図一19に林相別出現状況を表す。出現数は1回あたりの平均である。どの調査区のラインも歩道上での出現が高い。また、歩道上以外の点で3回の調査の内1回でもヤマビルが出現したのは、スギ幼齢林で9点、スギ壮齢林で6点、コナラ幼齢林で1点、コナラ壮齢林3点であり、スギ林がコナラ林

よりヤマビルが広く出現する。



図一19 林相別分布状況

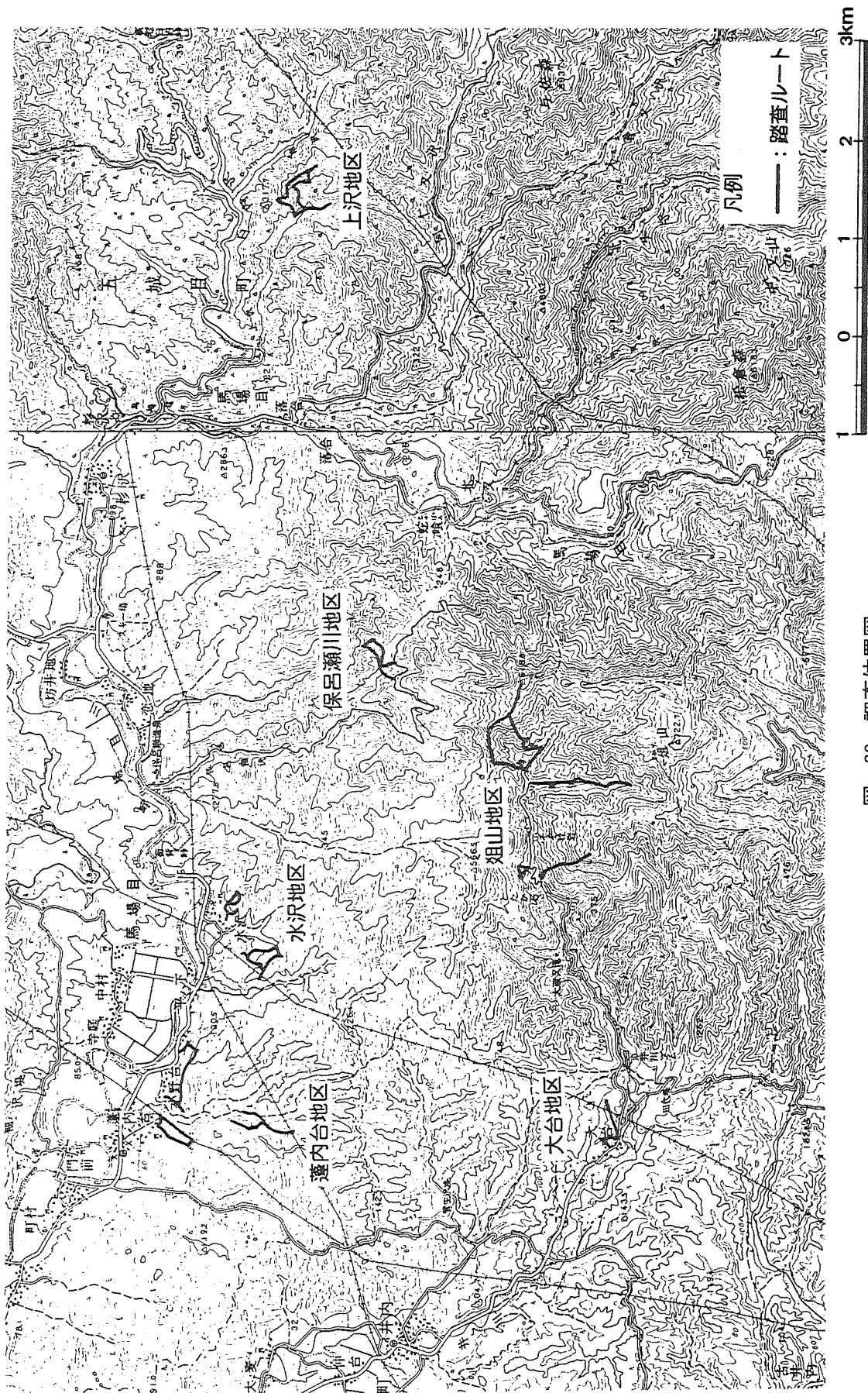
2) 里山・奥山の出現状況の相違

【調査方法】

図一20の調査位置図のように、蓬内台地区、水沢地区、大台地区（以下「里山地区」という）の住宅地に近い場所と、10年以上前にヤマビル高密度生息地域といわれた保呂瀬川地区、上沢地区、俎山地区（以下「奥山地区」という）の住宅地から離れた場所の計6地区にある多種の林分内において、沢筋、歩道等、それ以外（尾根や斜面）の任意のポイントを定め、5分の時間制限法により出現するヤマビルの個体数と林況、地況も併せて記録した。調査は1995（H7）年6月22日から9月29日までのうち、曇天日、雨天日の計12日間行った。

【結果と考察】

調査した林分を次のように区分した。



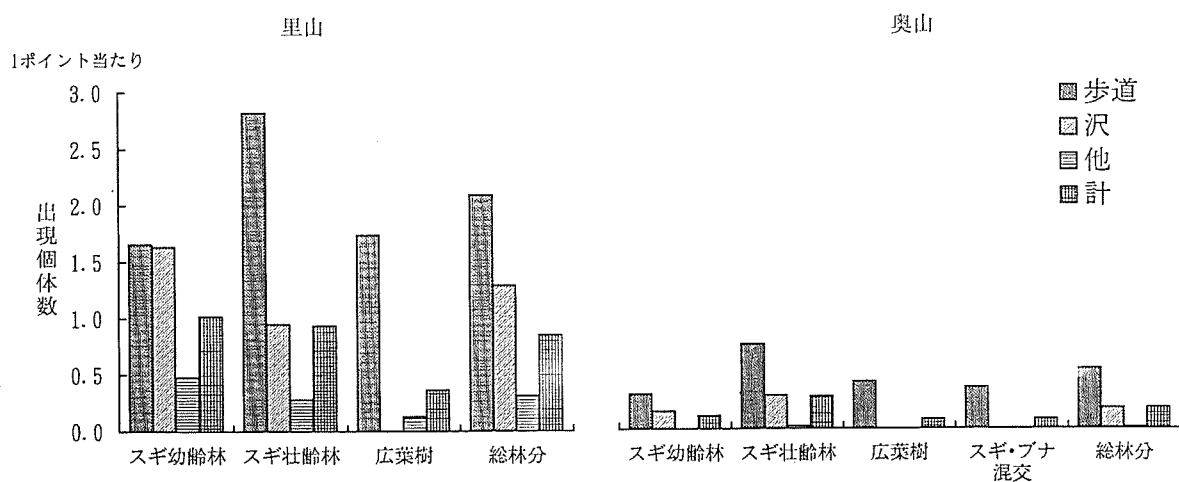
図—20 調査位置図

- a) スギ幼齢林（樹高約 5 m 未満）
- b) スギ壮齢林（樹高約 5 m 以上）
- c) 広葉樹（二次林、マツが混在した広葉樹、ブナ林など）
- d) スギ・ブナ混交林（スギ・ブナ混交壮齢林、国有地のみ存在）

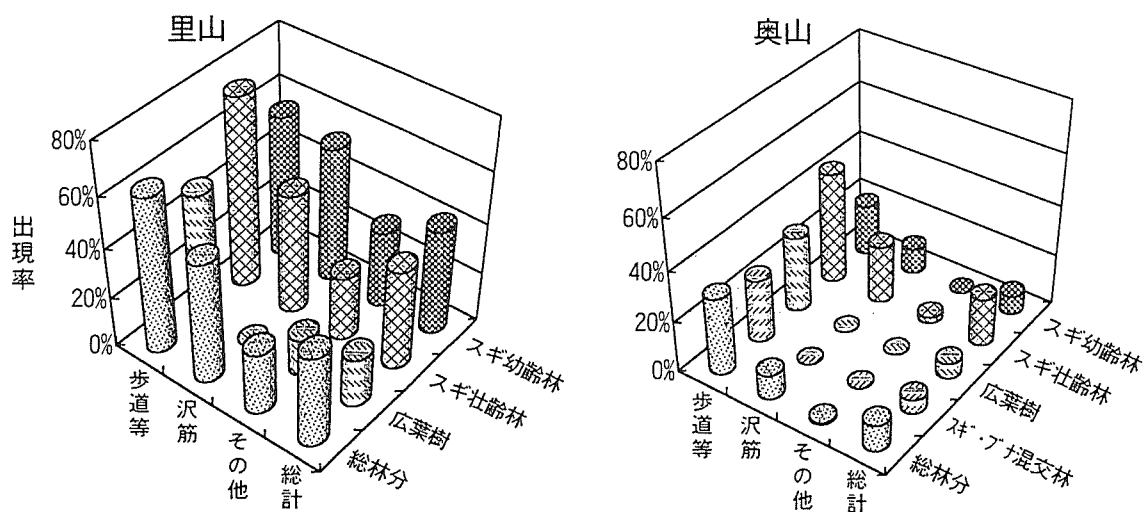
調査ポイント数を表—4 に示す。里山 3 地区の計が 314 ポイント、奥山 3 地区の計が 315 ポイントであった。

表—4 里山・奥山各 3 地区の林相別調査ポイント数

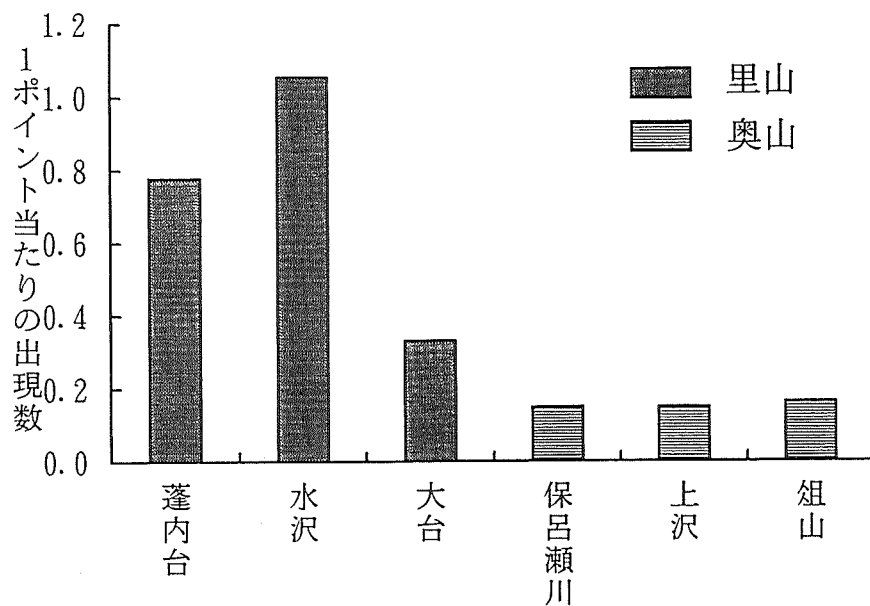
	里山の 3 地区計				奥山の 3 地区計			
	沢筋	歩道等	その他	計	沢筋	歩道等	その他	計
スギ幼齢林	33	35	92	160	20	20	40	80
スギ壮齢林	19	24	70	113	35	25	45	105
天然林	0	7	34	41	20	10	20	50
スギ・ブナ混交	—	—	—	—	20	20	40	80
計	52	66	196	314	95	75	145	315



図—21 里山・奥山の林相別出現数



図—22 里山・奥山の林相別出現率



図一23 地区別の出現数

図一21に林相別の1ポイント当たりの出現数を、図一22に調査ポイントに対し出現したポイントの割合（出現率）を、さらに図一23に地区別の1ポイント当たりの出現数を示す。図一21、図一22より、どの林分区分においても歩道等の出現が最も高くなり、次に沢筋が高い傾向にある。また、歩道等および沢筋以外の出現率は、里山・奥山地区ともスギ林の方が広葉樹より高く、前述の「1）蓬内台猿沢の林相別出現状況」の結果同様、スギ林においてはヤマビルが集中して出現する歩道等や沢筋以外の箇所でもより面的に出現する傾向にあった。これは、スギ幼齢林は下層植生が豊富なため、カモシカ等草食動物の定着・利用・個体数の増加原因となることや、スギ壮齢林は表一1より土壌水分が高いこと、スギ林は施業等森林管理のためヒトが定期的に林分内に入り、林分を攪乱することなどのため、ヤマビルが面的拡散・増殖をしていると考えられる。

また、里山と奥山の出現状況を比較すると、図一21、23よりどの林分区分でも里山の出現数が多く、さらに、図一22より里山の方がより面的に出現し、奥山では歩道等・沢筋以外の箇所ではほとんど出現していない。これらのことから、ヤマビルの生息域が里山付近に拡大したのに伴い高密度地域が奥山から里山へ移行し、里山付近ではより広い箇所で出現することがうかがえる。

これは、雑食性の中型哺乳類のキツネは人為食物を多く摂取し(8)、林縁部や森林と田畑が入り組んだ環境が好適であること(9、12)や、同じく中型哺乳類のタヌキも雑食性で残飯に多く集まること(3)、また雑食性の鳥類であるキジやヤマドリも、里山付近の灌木の多い林分や田畑が入り組んでいる箇所に多く生息すること(7)、さらに草食性の大型哺乳類のカモシカも積雪の関係から標高の低い場所の方が、生息密度が高いこと(1、2、13)などから、里山にはヒトを含めた吸血対象動物が種類・個体数ともに多いことの結果と推察される。このことは、秋田県衛生科学研究所が行った居住地付近の林分で採取した吸血済ヒルの吸血対象動物の同定結果と符号する。

(5) その他

1) 越冬状況

ヤマビルは落葉落枝や石の下、あるいは土の中で越冬するといわれている。そこで、どの箇所でもく越冬しているのか調査を行った。

【調査方法】

縦30cm×横25cm×高さ8cmの容器（タッパー）の底を抜き、前述の「(1)定点による林相別出現数変動」の調査区のスギ壮齢林とコナラ壮齢林内中腹付近の傾斜が緩やかな箇所に、周囲の土壌構造をできる限り崩壊させないように、それぞれ2個ずつの容器を半分程、土の中に埋め込んだ。

スギ壮齢林は、1つの容器の中半分を落葉落枝を取り除き裸地に、半分をスギの落葉落枝を残した状態にし、もう1つの容器は、中半分をスギの落葉落枝を除去したあとにコナラ壮齢林内から採取したコナラ、ホオノキ、サクラ、モミジ類などの落葉落枝を入れ、残りの半分はそのままスギの落葉落枝のある状態にした。

同様に、コナラ壮齢林も、1つの容器を、中半分は落葉落枝を除いた裸地、半分は広葉樹の落葉落枝のある状態とし、もう1つを、中半分をスギの落葉落枝、半分を広葉樹の落葉落枝の状態にして、1995（H7）年10月13日、調査地付近で採取した探索行動をするヤマビル10個体ずつをそれぞれの容器の中に入れ、外に逃げないように蓋をした。

同年11月28日に、気温が低く、中のヤマビルがはい出してこないことを確認してから、蓋をとりはずした。そして、翌1996（H8）年4月12日、融雪した現地にて落葉落枝の上あるいは裸地の上、落葉落枝の下、土の中のヤマビルの確認を行った。

土の中はAo層、A層を対象とした。調査時の気温はスギ壮齢林で3.1℃、コナラ壮齢林で6.1℃で、息を吹きかけても僅かに動く程度から、まだ越冬中と確認した。また、調査は1枚ずつ落葉落枝を取り除き、目で確認しながら行ったが、見逃しを考え、確認済みの落葉落枝およびAo層・A層は調査区分が判別できるようビニール袋に入れ持ち帰り、温めてから再度ヤマビルの存在の確認を行った。

【結果と考察】

結果を表一5に示す。調査対象40個体の内、死亡確認は5個体、行方不明は6個体であった。生存

表一5 越冬状況

林相	区分	設置 個体数	越冬箇所							死亡	行方 不明		
			裸地	葉上		葉下		土中					
				スギ	広葉	スギ	広葉						
スギ壮齢林	針葉と裸地	10	0	0	—	8	—	0	1	1			
	スギ葉と広葉	10	—	0	0	2	4	0	1	3			
コナラ壮齢林	広葉と裸地	10	0	—	0	—	9	0	1	0			
	広葉とスギ葉	10	—	0	0	3	3	0	2	2			
設置日：1995/10/13													
蓋の取り外し：1995/11/28													
調査日：1996/4/12													

個体のうち総てが落葉落枝の下で確認され、裸地の土上又は土中には確認されなかった。4箇所でのみの調査なので断定はできないが、土中より落葉落枝の下で越冬するケースが多いと思われる。また、スギと広葉樹の枝葉の嗜好性については今回の調査からは認められなかった。

越冬による生存率は、行方不明を除けば85%、行方不明を総て死亡と捉えれば73%となり、高い割合で越冬生存することがうかがえた。

2) 樹上からの来襲の可能性

ヤマビルは樹上からも来襲するといわれ、外国産のヤマビルはその生態を持つことが確認されている。しかし、吉葉ら(20)はヤマビルが樹上にいる目撃例がほとんどないことや、ヤマビルの活動が活発な時期は1~2分でヒトの足元から頭部まではい上がってくる事実から、日本に生息するヤマビルの樹上の生息は否定している。

そこで、樹上における生息の可能性をさぐるため次のような試験をした。

【調査方法】

1994(H6)年7月5日、14日井川町大台地区付近のスギ壮齡林と、1996(H8)年8月23日「(1) 定点による林相別出現数変動」調査区のコナラ壮齡林において、付近で採取した探索行動をするヤマビルをスギ立木又はコナラ立木の約1.5mの高さ付近の樹幹に付着させ、その後の行動を観察した。付着数はスギ林が林木延べ2本に各5個体、コナラ林は林木1本に10個体で、天候は1994(H6)年7月5日は霧雨、同年7月14日は晴れ、1996(H8)年8月23日は雨であった。

なお、1994(H6)年の調査は秋田県中央家畜保健衛生所が、1996(H8)年の調査は秋田県林業技術センターがそれぞれ行った。

【結果と考察】

いずれの場合も、樹幹への付着当初は付近をはい回っていたが、スギの場合は総て下方に向かい、途中体を丸めて落下し、コナラの場合は側枝を見つけ先端の葉まではい、その先に付着できるものがないと下方に体を伸ばし、落下したのが6個体、スギ同様樹幹から落下したのが4個体であった。

コナラ林の場合は1日中降雨で林地がかなり湿った状態であったが、樹幹はそれほど濡れていなかった。

また、ヤマビルは乾燥に非常に弱い点や、多量の降雨時は別として、立木の樹幹がほとんど濡れないこと、今回この事業でヤマビルの各試験研究に携わった全研究員が、野外での調査中、頭上からの来襲を目撃していないことなどから、次の主観的な推論を考えた。

「吸血対象動物に付着するには、いつ来るかわからない動物を乾燥しやすい樹上で待つよりは、下からはい上がって行った方が、高温多湿の熱帯林と異なる日本の風土に生息するうえで効率がいいのではないか。」

ただ、林業従事者の中は、確かに樹上で見たと情報を寄せる人も幾人かいる点を踏まえれば、何らかの方法で樹上にいる個体の可能性は否定できないが、ほとんどは足元から来襲するものと思われる。

3) ヒトが運搬した事例

1994（H 6）年～1996（H 8）年にヤマビル生息地以外の箇所でヤマビルが発見された事例を次に記す。

- ①1994（H 6）年6月、秋田市在住のヤマビル研究員の自宅庭から、探索行動をするヤマビル2個体が発見される。生息地より採取した山菜に付着していたと推測された。
- ②1995（H 7）年7月、秋田県庁4階の廊下にて吸血済みのヤマビルが発見された。数時間前、五城目町のヤマビル生息地内の工事関係者が来庁していた。
- ③1995（H 7）年8月、雨天時、定点による出現数調査終了後、林道に止めていた車両に5～6個体のヤマビルが付着しているのを発見した。すぐに総て捕殺し、河辺町の秋田県林業技術センターに戻った。翌日、一人の職員が、センター構内車庫付近で作業中、ヤマビルの吸血被害に遭い、吸血済ヒルを採取した。
- ④1996（H 8）年9月、生息調査を終えた調査員が秋田市上新城の自宅に帰宅後、地下足袋の親指股部に付着しているヤマビルを発見した。

以上4例は、状況からヒトが運搬したとしか考えられなかった。特に③の例は車両の底部など外から見えない箇所に付着したまま持ち込んだ可能性が高く、調査地から約50kmも離れた箇所へ運搬したことになる。また、この他にも調査終了時、体中をヤマビルが付着しているか丹念に見て、付着個体はすべて捕殺したつもりでも、調査からの帰路、車の運転中に体をはい上がってくるヤマビルや、ハンドル上部で探索行動をしているヤマビルを発見することがしばしばあった。

なお、上記4例はその後新たな個体は発見されておらず、繁殖の心配は全くない。

これらのことから、ヒトがヤマビル生息地から人里付近へ付着運搬している可能性は高いと推測される。ただし、ほかの動物と比較し、その頻度・割合等は不明である。

3. 室内飼育による生活史

ヤマビルの吸血・生殖行動・産卵・ふ化のサイクルを明らかにするため、室内飼育を行った。

(1) 吸血方法と吸血状況

室内飼育をする上で吸血させる事が必要となるが、吸血の際、吸血対象動物の状態により、吸血の量に差が出てくるのか、適した吸血方法があるのか調べるため次の試験を行った。

【調査方法】

1994（H 6）年5月～9月の10日間に、五城目町馬場目字蓬内台沢、五秋林道沿い、井川町大台地区内で、探索行動をしていたヤマビルを採取した。吸血は次の5通りの方法で行った。

①：体を固定し耳袋をかぶせたウサギ

1994（H 6）年7月6日、2歳、3kgのウサギの前後各々の脚をテープで縛り移動できない状態にし、両耳の毛を剃りヤマビル5個体を付着させた。その後耳袋をかぶせ、両耳をテープで1つに

縛り、耳を動かさないようにして飼育箱に入れ、2時間後に耳袋を取り外した。

②：体を固定し耳袋をかぶせないウサギ

1994（H6）年9月2日、5カ月齢、2kgのウサギを①同様前後の脚と両耳をロープで固定して飼育箱に入れ、耳の毛を剃った箇所にヤマビル6個体を付着させた。この時、耳袋は取り付けなかった。

③：体を固定しないウサギ

1994（H6）年9月9日、2カ月齢、1kgのウサギを縦15cm×横25cm×高さ15cmの箱に入れ、耳の内側にヤマビル4個体を付着させた。この際、脚や耳は固定しなかった。

④：体を固定したニワトリ

1994（H6）年7月6日、3カ月齢、1.8kgのニワトリの両足と両翼をそれぞれテープでしばり、寝かせた状態で胸部の羽毛を抜き、ヤマビル2匹を付着させた。

⑤：体を固定しないチャボ

1994（H6）年6月24日、10日齢、0.3kgのチャボ5羽を直径15cm×高さ10cmの丸タッパーの中に1羽ずつ入れ、1個体ずつ計5個体のヤマビルをタッパーの中に入れた。

【結果と考察】

各吸血方法とヤマビルの吸血前後の生体重比を表一6に示す。④に使用したヤマビルが2個体だったこと、③と⑤に用いたヤマビルが①・②・④と比べ吸血前の生体重が大きい個体だったことから、単純には比較できないが、吸血対象動物を固定した①・②・④の方法が、固定しなかった③・⑤より吸血前後の体重比が大きくなった。

また、全身を固定し吸血箇所に袋をかぶせた①の方法が、かぶせない②の方法より体重比が大きくなり、吸血前後の体重比は最大27倍、平均22.6倍になった。吉葉ら（20）の吸血試験の吸血後の体重比が最大13倍、平均約9倍という結果よりかなり大きくなった。これは吸血状態が極めて良ければ一度の吸血で25倍を越える生体重になる可能性があることを示している。しかし、実際の野外の吸血においてこのような吸血状態があるのかは不明である。

全身を固定しなかった③・⑤の方法では、吸血が進みヤマビルの体が大きくなると、ウサギの場合後ろ足で払ったり、耳を激しく揺らすなどして、チャボの場合、嘴でつついたり、羽を振るわせるなどしてヤマビルを離脱させた。

表一6 対象動物の吸血状態と吸血前後の体重比

吸血対象動物	固定状態	吸血 個体数	平均吸血 時間	平均生体重		吸血前後 生体重比
				吸血前	吸血後	
① ウサギ	全脚、両耳、耳袋	5		0.048	1.086	22.6
② ウサギ	全脚、両耳	6	40	0.028	0.402	14.2
③ ウサギ	なし	4	22	0.161	0.538	3.3
④ ニワトリ	両脚、両翼	2	35	0.035	0.525	15.0
⑤ チャボ	なし	5	32	0.113	0.426	3.8

また、⑤のチャボの吸血箇所は足の無毛箇所、嘴、口の中（後吸盤を嘴に付着させ頭を口の中に入れる）、首の後ろ、胸部であった。この試験とは別に2カ月半後、同じ方法でチャボに吸血させたところ、背中で吸血中のヤマビルを嘴でつつき食べたことを加筆しておく。

これらの結果より、産卵・ふ化を短期間で行うには、吸血前後の体重比がより大きくなる①・②・④のように対象動物を固定する方法が適していると思われる。しかし、今回は産卵・ふ化の様態究明のほかに、ふ化した子ビルが成熟個体（産卵可能個体）になるまでの吸血回数や期間を明らかにするため、より自然状態に近い方法を選択した。

(2) 吸血・産卵・ふ化

【調査方法】

1) 採取日及び箇所

ヤマビルは前述の「(1)吸血方法と吸血状況」の際に採取したものと、新たに1995（H7）年6月5、6日に五城目町蓬内台地区付近で採取したものを合わせ計85個体を飼育した。

2) 飼育期間

1994（H6）年5月から1996（H8）年12月までである。

3) 飼育方法

飼育は山中ら（14）にならい、直径14cm×高さ7cmの丸カップの底に4mm程の穴を9～10個開け、濾紙を2枚敷き、その上にヤマビルが生息していた場所の土壌を採取し、充分湿らせた後2～3cm入れた。さらに、広葉樹の枯れ葉（サクラ、ホオノキ、モミジ類、など）を2～3枚置き、若干、温度に日較差、年較差の出る廊下で飼育を行った。蓋には当初0.2mm程の多数の穴を開けておいたが、後に穴を開けないものを使用した。そして、中の土壌が乾かないように半月に1度霧吹きで水を与えた。1個の丸カップには、吸血前は4～5個体の、吸血後は1～3個体のヤマビルを入れ、容器は土壌を含めて1カ月に1回は新しいものに交換した。また、1995（H7）年4月からは土壌のかわりに園芸用のバーミュキュライトを使用した。

吸血後、産卵・ふ化した場合、卵のうと子ビルの一部は1個体ずつ、容器中の環境条件は前記同様とした直径8.5cm×高さ4.5cmの丸タッパーに移しかえ、親ビル、卵のう、子ビルの一部を個体識別できるようにした。

観察は吸血後、産卵、ふ化にいたるまでは3～4日置きに、それ以外は約2週間置きとした。

4) 吸血方法

吸血は飼育していた個体の内、1994（H6）年6月、8月、9月、10月、12月に計9日間、1995（H7）年5月、6月、10月、11月に計5日間、1996（H8）年2月、3月、6月、11月計4日間において探索行動をするヤマビルを1～3個体ずつ、チャボ5羽に延べ13個体、イエウサギ1頭に延べ4個体、ミニウサギ14頭に延べ80個体、実数46個体（内野外採取24個体、ふ化した子ビル22個体）を吸血させた。さらに吸血後しばらくして探索行動をとり始めた個体に再吸血させることを繰り返した。

吸血対象動物の状態は、「(1)吸血方法と吸血状況」で述べたように完全な固定ではなく、小さい箱に入れるかネットで全身を緩やかに覆う程度にとどめた。吸血させた個体は冬季も越冬させず建物内において飼育を続けた。

また、吸血対象動物はヤマビルに吸血される回数が増すたび、ヤマビルに対する抗体を形成し、抗体ができた動物を吸血したヤマビルが数日後死亡したという報告(20)があるので、吸血対象動物1個体につき、吸血の回数は5～6回とした。

【結果と考察】

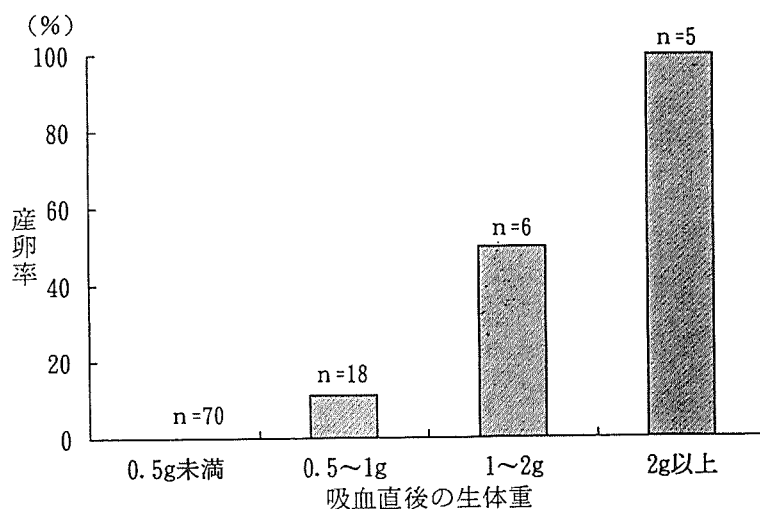
野外で採取し吸血させた24個体のうち1回のみの吸血は15個体、2回は4個体、3回は2個体、4回は3個体となり、内8個体が計55の卵のうを産卵した。また、このうち16卵のうから65個体の子ビルがふ化した。さらにふ化子ビルの内、22個体に吸血させ、吸血後乾燥死、溶解死、探索行動が起こらず吸血不可などの個体を除き、7個体を計4回吸血させた。

1) 産 卵

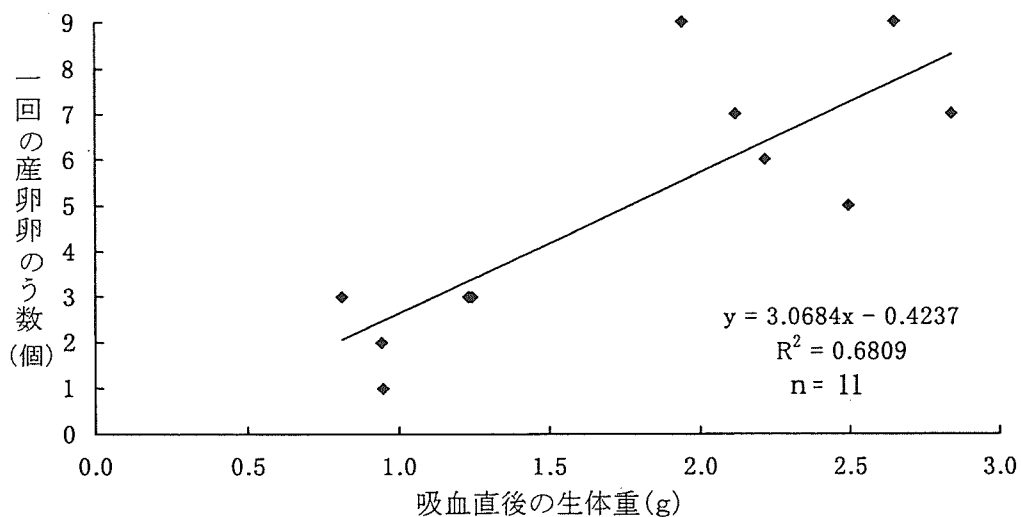
産卵した8個体の総括を表一7に表す。採取直後の生体重は0.1～0.5g、吸血後の最大の生体重は

表一7 産卵個体の概況

NO	採取月日	採取直後		吸血回数	吸血後のMAX		産卵回数	産卵卵のう数
		後吸盤径	生体重		後吸盤径	生体重		
1	1994. 7. 7	5.0	0.3854	2	6.5	0.9481	2	3
2	1994. 8. 14	5.0	0.2313	3	7.5	2.8400	1	7
3	1994. 6. 17	6.0	0.4727	4	6.8	1.9426	1	9
4	1994. 10. 20	3.0	0.1103	4	6.0	2.1186	1	7
5	1994. 10. 20	4.0	0.1816	4	7.5	2.2169	2	9
6	1995. 6. 5	4.25	0.2978	2	7.3	2.4958	1	5
7	1995. 6. 6	5.5	0.2951	2	6.8	2.6502	2	12
8	1995. 9. 1	4.5	0.2052	1	4.0	0.8121	1	3



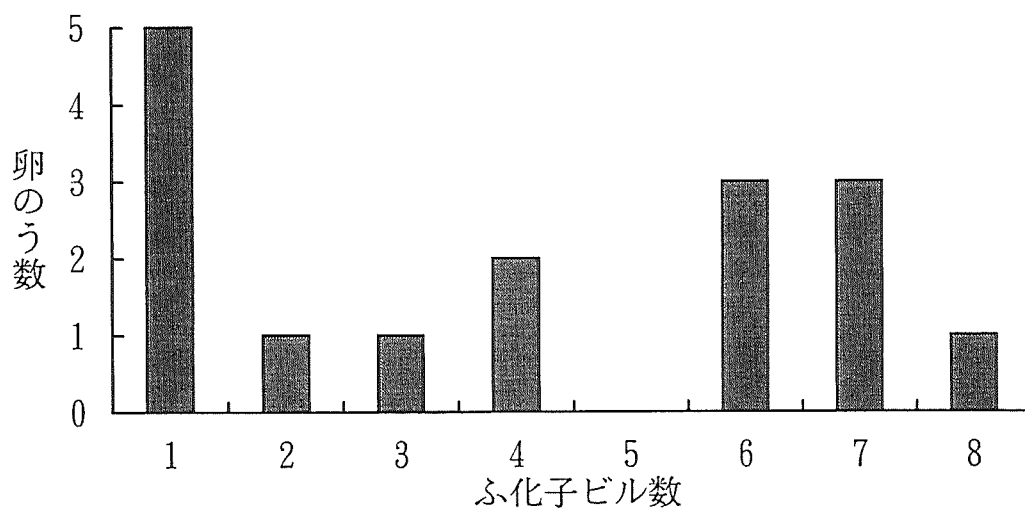
図一24 吸血直後の生体重と産卵率



図—25 吸血直後の生体重と卵のう数

表—8 ふ化率

NO	1回目の産卵		2回目の産卵		計	
	卵のう数	化卵数(%)	卵のう数	ふ化卵数(%)	卵のう数	ふ化卵数(%)
1	2	(0.0%)	1	(0.0%)	3	0 (0.0%)
2	7	(0.0%)			7	0 (0.0%)
3	9	(0.0%)			9	0 (0.0%)
4	7	(0.0%)			7	0 (0.0%)
5	6	4 (66.7%)	3	1 (33.3%)	9	5 (55.6%)
6	5	1 (20.0%)			5	1 (20.0%)
7	9	7 (77.8%)	3	1 (33.3%)	12	8 (66.7%)
8	3	2 (66.7%)			3	2 (66.7%)
計	48	14 (29.2%)	7	2 (28.6%)	55	16 (29.1%)



図—26 1卵のう当たりのふ化子ビル数と卵のう数

0.8～2.8 g で、1 回の産卵の卵のう数は 1～9 個であった。また、8 個体の内、産卵後、再吸血させると再び産卵した個体が 3 個体あった。これは、吸血を繰り返せば、2 回以上の産卵が可能であるということを示す。

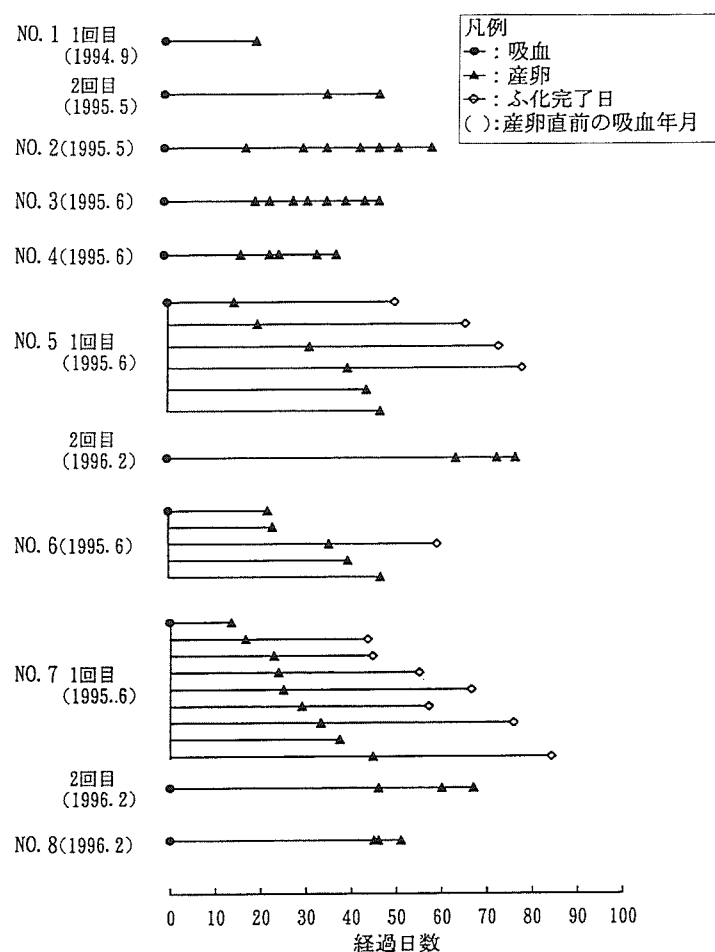
図一24に吸血直後の生体重と産卵率を示す。産卵率は0.5 g 未満の個体は 0 %、0.5～1 g は11%、1～2 g は50%、2 g 以上は100%となった。山中ら (14) の採取時の生体重と産卵率の結果、「0.5 g 未満は 0 %、0.5～1 g は41%、1 g 以上は100%」を、吸血日よりやや日数が経過してからの採取と推測すれば、本試験は同様の結果を示したといえる。

また、図一25に吸血直後の生体重と一回の産卵の卵のう数を表す。双方には正の相関がみられた。

2) ふ 化

ふ化率を表一 8 に、1 卵のう当たりのふ化子ビル数を図一26に表す。産卵卵のう数55個のうちふ化したのは16個で、ふ化率は 0～78%、平均29%であった。また、1 卵のうからふ化した子ビルは 1～8 個体であった。これは山中ら (14) の結果、「ふ化率33%、1 卵のう当たり子ビル数 1～9」と類似する。

図一27に吸血・産卵・ふ化までの経過日数を表す。吸血から産卵開始までの日数は、1 回目の産卵



図一27 吸血から産卵・ふ化までの経過日数

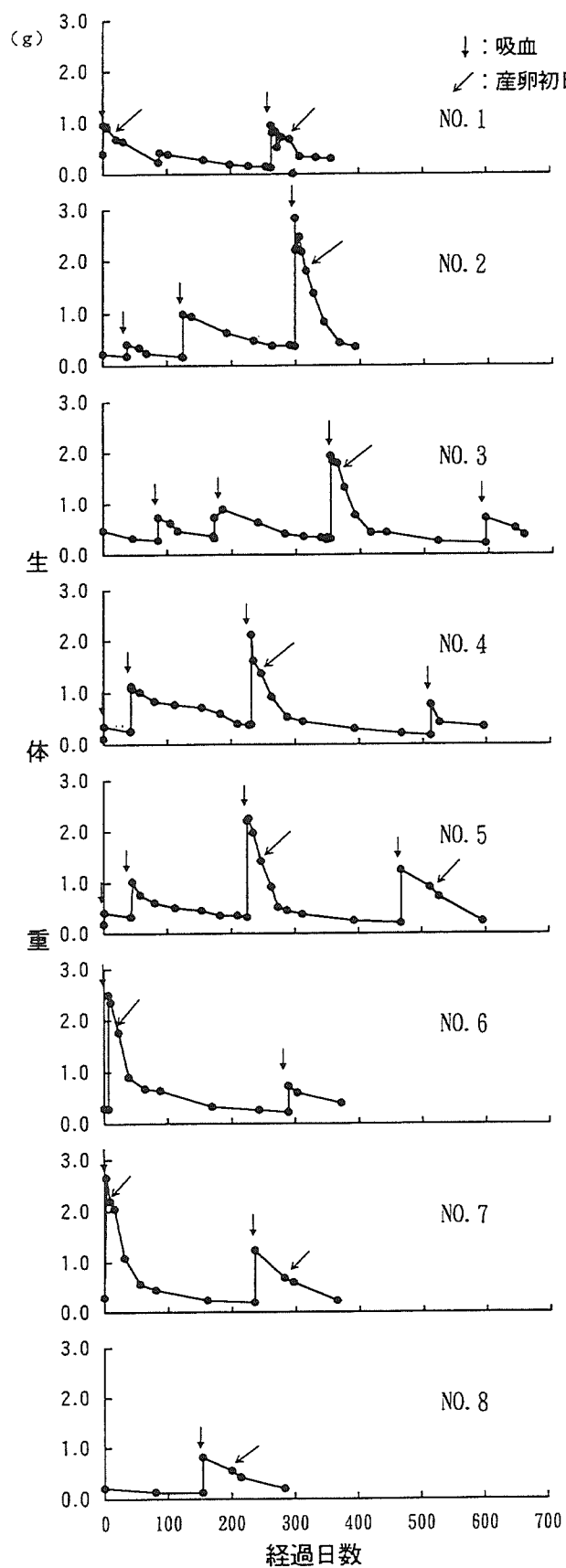
では14～45日、平均20.5日で、2回目の産卵では34～63日、平均47.7日で1回目より長い日数であった。また、複数の卵のうを産卵した場合の産卵期間は、No. 2 で7個の卵のうを産卵した期間39日間が最大であった。さらに、産卵後ふ化するまでの経過日数は21～44日、平均33.4日で、吸血から産卵・ふ化までは、42～81日、平均60.3日であった。

3) 吸血と体重変動

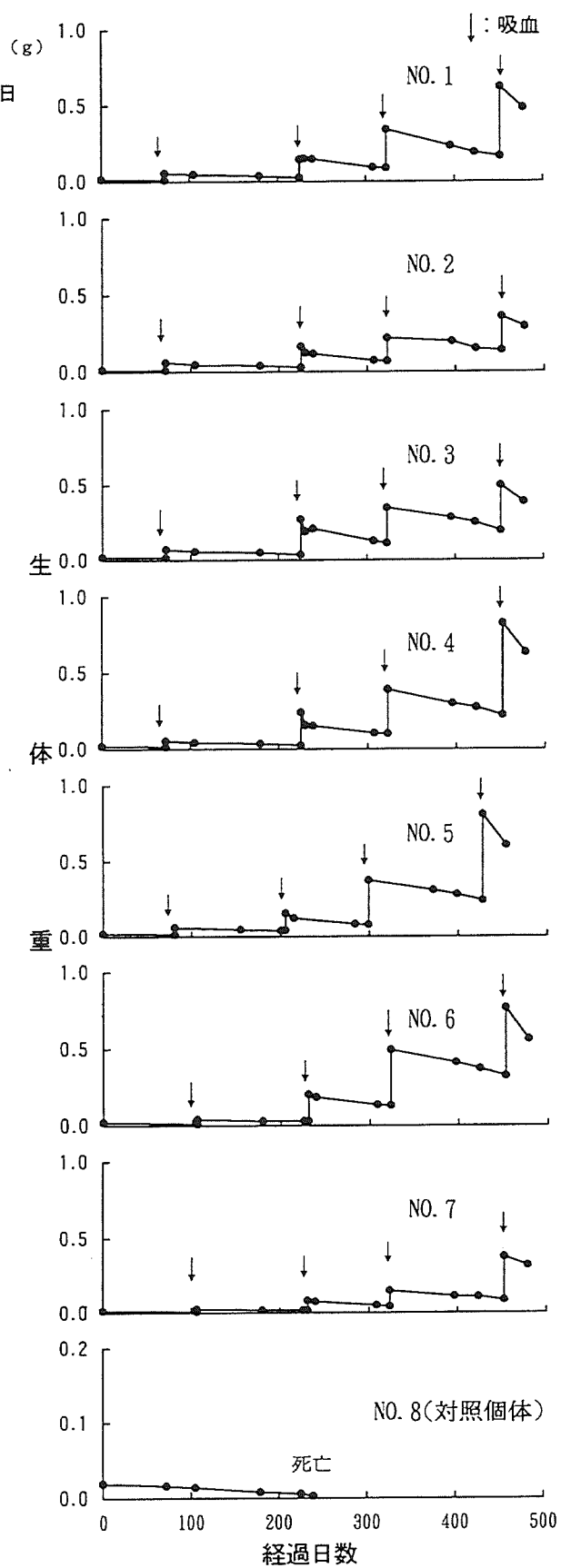
産卵した8個体の生体重変動を図一28に、ふ化し4回吸血させた7個体の子ビルと、対照として吸血させなかった1個体の子ビルの生体重変動を図一29に示す。図一28、29により、産卵するまで吸血のたびに生体重が増えていくのがわかる。一方吸血させなかった子ビルNo. 8のように、採取後、吸血なしの61個体やふ化後、吸血なしの子ビル43個体は、生体重が増加することなく死亡した。これは吉葉ら(19)の結果と同様となった。また、山中ら(16)の結果によると吸血済みと思われる個体を採取した場合、無吸血生存期間は最大で20ヵ月を越え、多くは12ヵ月以上生存する。今回、吸血したヤマビルの中では図一28のNo. 3の個体が計4回吸血し採取時から710日生存している。これらの結果から、ヤマビルは吸血を繰り返すことにより少なくとも2年以上は生存可能と思われる。

図一30に子ビルと親ビルの吸血回数と平均の生体重変化を、同様に図一31に後吸盤径の変化を、図一32に吸血前後の生体重比を表した。なお、親ビルの図は初めての産卵直前吸血を基準にし、それより前の吸血を1回前、2回前として、産卵後の再吸血を産卵後として示した。これらの図から吸血後の生体重、後吸盤径および吸血前後の生体重比がともに初産卵直前の吸血時に最大になることが示された。また、今回、ふ化した子ビルから産卵までにはいたらなかったが、図一30、31より子ビルの4回目の吸血後の生体重および後吸盤径と、親ビルの2回前の吸血後の生体重および後吸盤径の値が近似していることから、本試験のように固定しない小型動物に吸血させた場合、ふ化子ビルは6～7回の吸血で産卵したと推定できる。

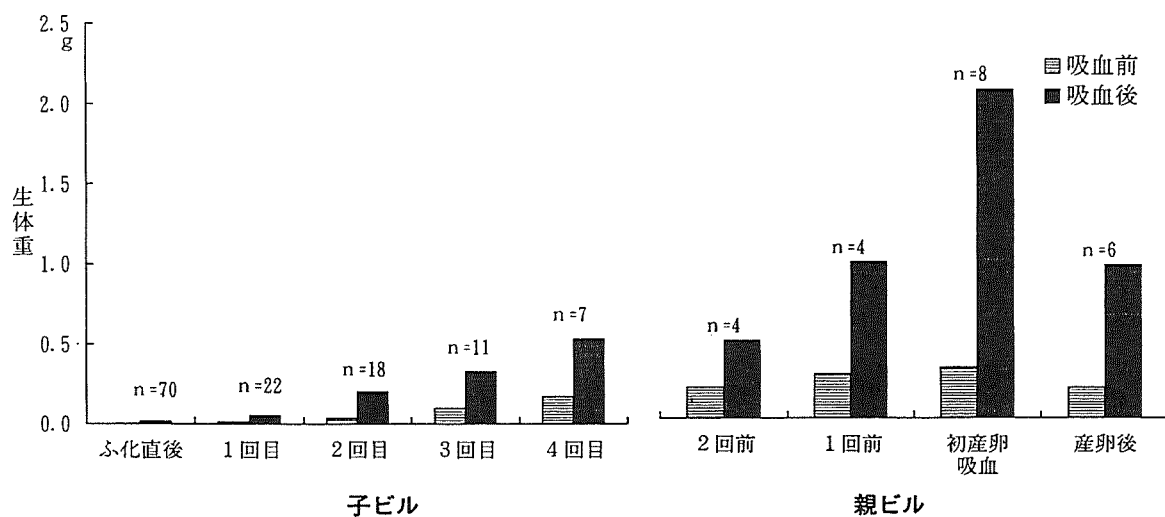
野外においてこの回数の吸血をする機会があるのか不明であり、野外のヤマビルの吸血状態を明らかにしなければ、ふ化子ビルが何回吸血すれば産卵可能な個体になるのか正確にはわからないが、前述した「(1)吸血方法と吸血状況」の試験において完全に固定した動物に対し1回の吸血で生体重比が20倍、生体重が1gを越えた個体が未産卵であったことや、同事業の一環として行った斉藤ら(1997)の、吸血済ヒルに対する吸血対象動物の同定結果、複数の動物を吸血していた個体が3～6割いたことから、ふ化子ビルが産卵可能な成熟個体になるためには、少なくとも数回以上の吸血が必要であろうと推察される。



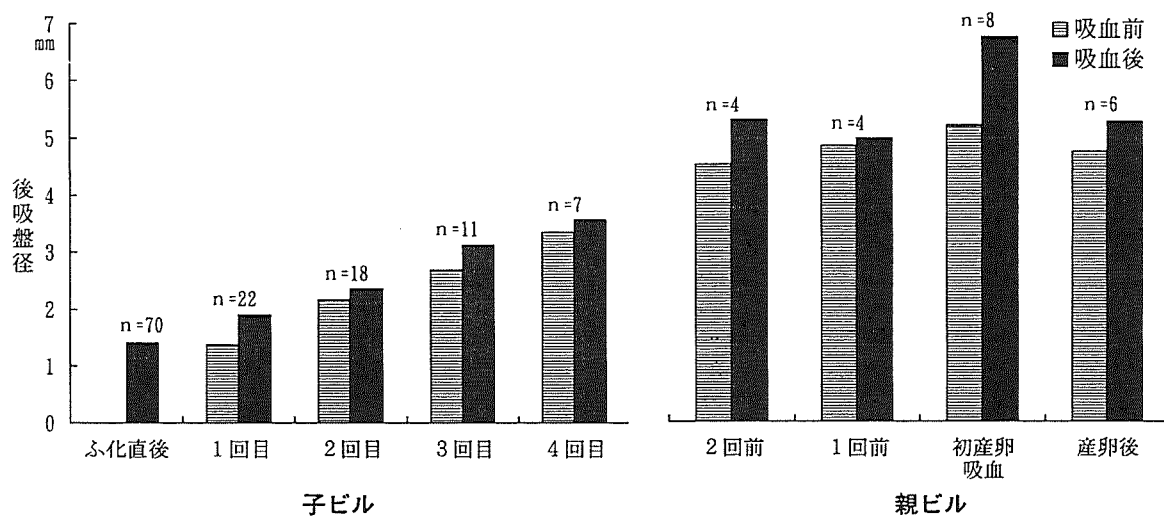
図一28 産卵個体の生体重変動



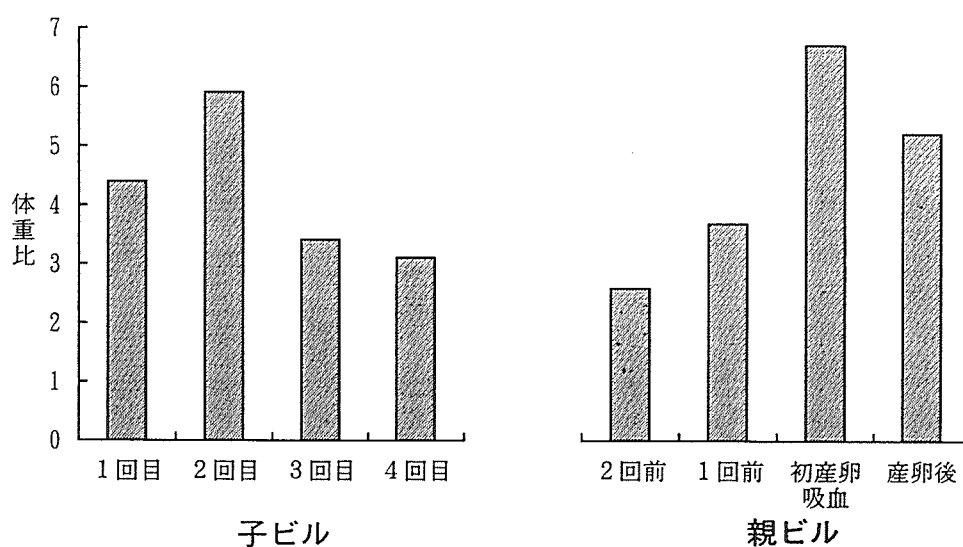
図一29 子ビルの生体重変動



図一30 子ビルと親ビルの吸血回数と生体重変化



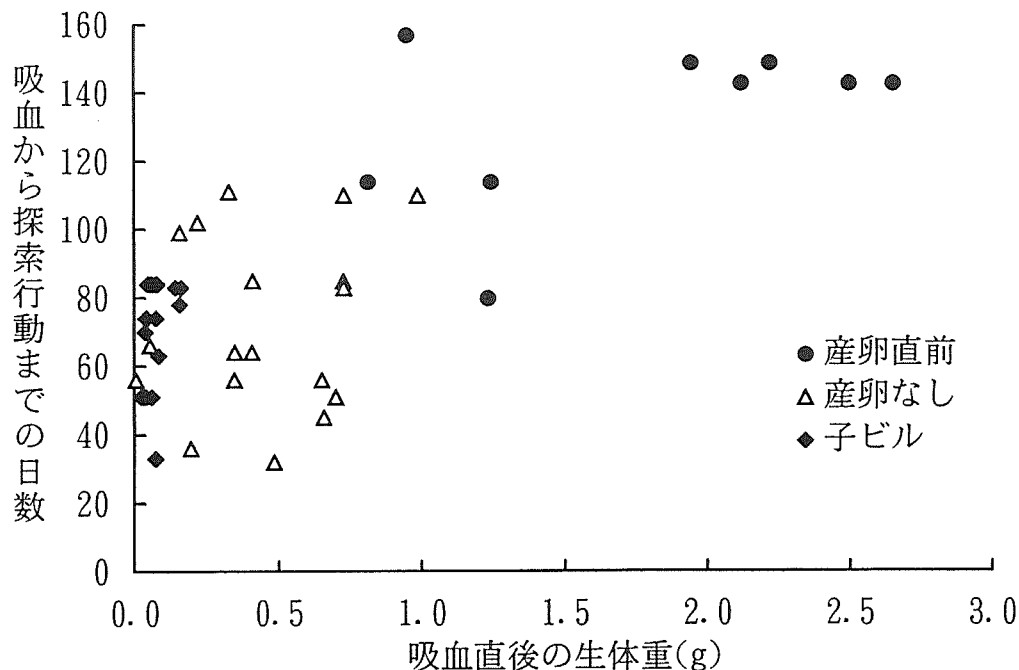
図一31 子ビルと親ビルの吸血回数と後吸盤径の変化



図一32 子ビルと親ビルの吸血前後の生体重比

4) 吸血対象動物への探索行動

吸血後に探索行動をおこした個体は延べ49体であった。図一33に吸血後の生体重と探索行動までの日数を、ふ化直後子ビルの吸血、産卵直前の吸血、産卵を伴わない吸血の3区分に示した。探索行動までの日数は、ふ化子ビルの吸血で1ヵ月から3ヵ月、産卵直前吸血で2か月半から5ヵ月、産卵を伴わない吸血で1ヵ月から4ヵ月であった。山中ら(18)の結果と同様に、産卵直前の吸血は、産卵後に探索行動を起こしたため、産卵に要する期間の分だけ産卵を伴わない吸血より探索行動を起こすまでの日数も長くなったと思われる。



図一33 吸血後生体重と索餌行動までの日数

5) 交接の時期

飼育期間中に吸血前、あるいは吸血後しばらくたち探索行動をする個体の内、互いに生殖器のある部分を絡ませ擦り合う様子が観察できた。吸血後112日経過した個体と、吸血後69日経過したNo. 4は1995(H7)年2月13日に、互いに絡ませた生殖器の付近に泡状の液体が多数付着しているのを観察した。これ以降も数回絡ませ合う同じ行動を目撃したり、ほかの個体で吸血前に同じ様な行動をたびたび目撃した。これらの行為は交接と思われるが、その後この行為を目撃したいずれの個体とも直後には産卵しておらず、次の吸血後に産卵した個体が4体あった。また、この行為は、観察事例より吸血済みの状態より探索行動をする状態で行う回数が多かった。

さらに、No. 7は採取時からほか3個体と一緒に容器で飼育していたが、1回目の吸血後産卵したため、1体だけ別の容器に写し、しばらくして2回目の吸血を行い、吸血後も一体だけの飼育を行った。2回目の吸血後、46日目に再び産卵を開始し、内1卵のうがふ化した。この事例は明らかに、吸血前

に交接していたことを示している。

これらのことから、交接は主に吸血前、対象動物を求めて集まり、ほかの個体と接触したとき行うに推察される。

4. おわりに

今回の調査では、ヤマビルの生息域は依然として拡大し続けており、生息域の最前線であるヒトの居住地付近にて面的に多く出現することが明らかとなった。また、室内飼育では一度産卵した後も再吸血すれば再び産卵することや、吸血を繰り返せば数年以上生息することが判明した。しかし、今回の生態調査からは、拡大要因としてヒト以外の動物は不明であった。

ただし、生息域の拡大要因を推測するにあたり、手がかりとなる吸血済みヒルの吸血対象動物の同定を、前述したヤマビル被害防止総合対策事業の中で実施した調査研究の一環として、秋田県衛生科学研究所が行った。それによると同定対象動物としてテン、アカネズミ、タヌキ、カモシカ、ノウサギ、ヤマドリ、キジ、クマ、ヒト、キツネの10種を選定し、野外にて満腹状態のヤマビルを採取し、DNA 鑑定により同定を行ったところ、10種類の中ではカモシカの頻度が最も高かった。また、ヒトの検出は数例にとどまったが、前述のとおりヒトがヤマビルを生息地以外に運び出すことは明らかであり、これらのことから拡大要因として、カモシカやヒトが関与している可能性は大きい。

しかし、吸血対象動物の同定試験では検出したヤマビルの約3～6割が複数の動物を吸血していたことや、キジかヤマドリの類似鳥類を吸血した個体も数例あったこと、さらに選定した10種類以外に反応した吸血個体がカモシカ以上にあったこと（ただし、このケースは、選定動物を吸血した場合でも、吸血後時間の経過に伴いヤマビルの体内で選定動物の血が消化されつつあり、別の動物の血として結果が出たことも考えられる）からも、他の要因も充分考えられる。

また、カモシカとヒトが要因ならば、他のヤマビル生息地で分布の拡大の起こる地域がもっとあってもおかしくはない。しかし、前記したように、全国のヤマビル生息地約30カ所の内、拡大が確認されているのは3カ所にとどまっている。

さらに、大発生した千葉房総半島南東部の拡大要因は、シカの個体数の増加および生息域の拡大による可能性が大きいことを山中・山根らが発表しているが、地域内にはシカの生息密度が高いにもかかわらずヤマビルが生息していない箇所もあり、他の要因の可能性も指摘している(17)。

これらのことから、ヤマビルの拡大は複数の要素が積み重なり起きたことと推測される。

最後に、今回のヤマビルの生態調査にあたっては(財)林業技術振興所藤岡浩氏、林政課伊藤幸喜氏をはじめ、ヤマビル被害防止総合対策事業と一緒に研究させていただいた各研究機関の皆様や多くの方々に御協力いただいた。この場を借りて厚くお礼を申し上げる。

5. 引用文献

- (1) 秋田県教育委員会(1996) 北奥羽山系カモシカ保護地域特別調査報告書：41—49.
- (2) 藤岡浩(1991) 秋田県内におけるニホンカモシカの生息状況(Ⅳ) —南奥羽山系カモシカ保護地域における生息調査—. 森林野性動物研究会誌 18：32—34.
- (3) 池田啓共著(1992) イヌの原始的な姿(週刊朝日百科「動物たちの地球」45号、8—280pp—8—283pp、朝日新聞、東京).
- (4) 神谷晴夫・谷重和・石田和人・石郷岡清基・山下恵子・岡睦夫(1981) ヤマビルの生息動向の解明とその防除対策に関する報告書Ⅰ(秋田営林局資料).
- (5) 神谷晴夫・谷重和・石田和人・石郷岡清基・山下恵子・岡睦夫(1982) ヤマビルの生息動向の解明とその防除対策に関する報告書Ⅱ(秋田営林局資料).
- (6) 木川弘(1992) ニホンヤマビルの生息分布及び生息調査事業にかかわる結果報告書(秋田県林政課資料).
- (7) 清棲幸保(1978) 日本鳥類大図鑑Ⅱ. 745pp—748pp & 752pp—756pp、講談社、東京.
- (8) 三沢栄一(1979) 生息環境の相違によるキタキツネ (*Vulpes vulpes schrencki* KISHIDA) の食性の変化について、哺乳動物学会誌 7—5 6：311—320.
- (9) 中園敏之共著(1975) 旺盛な生命力をもつキツネ(週刊朝日百科「動物たちの地球」45号、8—274pp—8—276pp、朝日新聞、東京).
- (10) 財団法人日本野生生物研究センター(1991) 千葉県ヤマビル生息状況実態調査報告書：10—12&43—45.
- (11) 岡睦夫(1981) ヒルと高校生物. 秋田県立秋田高校研究実施記録.
- (12) ROGER BURROWS／高島幸男訳(1975) 野ギツネ. 260pp—264pp、思索社、東京.
- (13) 山形県教育委員会・福島県教育委員会・新潟県教育委員会(1996) 朝日・飯豊山系カモシカ保護地域特別調査報告書：50—58.
- (14) 山中柁夫・山根明臣(1991) ヤマビルの生態(Ⅰ) —産卵、回数、卵のう重量、ふ化数—. 日本林学会論文集 102：305—306.
- (15) 山中柁夫・山根明臣(1991) ヤマビルの生態(Ⅱ) —高密度地域におけるサイズ別個体数、密度の季節変化—. 日本林学会論文集 102：307—308.
- (16) 山中柁夫・山根明臣(1992) ヤマビルの生態(Ⅲ) —吸血個体の生存経過、体重変動および産卵時期、ふ化個体の未吸血生存期間—. 日本林学会論文集 103：549—552.
- (17) 山中柁夫・山根明臣・浅田正彦(1993) ヤマビルの生態(Ⅳ) —個体数増加および分布地域拡大の要因—. 日本林学会論文集 104：687—690.
- (18) 山中柁夫・山根明臣(1994) ヤマビルの生態(Ⅴ) —索餌行動におよぼす気温・湿度の影響と索餌行動の間隔—. 日本林学会論文集 105：555—556.

- (19) 吉葉繁雄 (1989) 千葉県小湊に発生したニホンヤマビル の生理、生態および駆除野外実験.
千葉県大学理学部海洋生物環境解析施設年報 9 : 52—62.
- (20) 吉葉繁雄ほか (1992) 外房南部に蔓延中の山蛭バイオハザードの環境医学ならびに衛生動物学的追求. 平成 2・3 年度科学研究費補助金一般研究 (C) 研究成果報告書 : 18—43.

資料— 1

植生調査表

被度凡例：上層・中層：Ⅲ：+++，Ⅱ：++，Ⅰ：+

下層：Ⅵ：75～100%，Ⅴ：50～75%，Ⅳ：25～50%，Ⅲ：10～25%，Ⅱ：1～10%，Ⅰ：1%未満

調査年月日：'94.10.19

調査区名(林相)：スギ幼齢林

定点名：尾根

定点名：中腹

下層			下層		
NO. 1	全体被度	80%	NO. 2	全体被度	70%
種名	高さ(cm)	被度	種名	高さ(cm)	被度
クマイザサ	40	Ⅳ	ウラジロイチゴ	46	Ⅲ
ガマズミ	53	Ⅲ	クマイザサ	32	Ⅲ
モミジイチゴ	40	Ⅲ	モミジイチゴ	30	Ⅲ
チヂミザサ	50	Ⅱ	オクノカンスゲ	18	Ⅲ
スギ	46	Ⅱ	チヂミザサ	40	Ⅱ
ヤマジノホトギス	38	Ⅱ	ノコンギク	38	Ⅱ
タガネソウ	35	Ⅱ	スギ	35	Ⅱ
ミツバアケビ	32	Ⅱ	ヌスビトハギ	25	Ⅱ
ヒメアオキ	22	Ⅱ	リョウメンシダ	23	Ⅱ
オクノカンスゲ	18	Ⅱ	アカネ	12	Ⅱ
チゴユリ	7	Ⅱ	ウマノミツバ	10	Ⅱ
タチツボスミレ	3	Ⅱ	チゴユリ	9	Ⅱ
エゴノキ	83	Ⅰ	ミツバアケビ	3	Ⅱ
アキノキリンソウ	36	Ⅰ	タチツボスミレ	3	Ⅱ
サンショウ	30	Ⅰ	フジ	50	Ⅰ
ヌルデ	27	Ⅰ	ガマズミ	32	Ⅰ
ヒヨドリバナ	20	Ⅰ	ニワトコ	24	Ⅰ
シダ類	15	Ⅰ	ハリギリ	19	Ⅰ
シダ類	5	Ⅰ	ナワシロイチゴ	11	Ⅰ
			フキ	5	Ⅰ

下層			下層		
NO. 1	全体被度	90%	NO. 2	全体被度	70%
種名	高さ(cm)	被度	種名	高さ(cm)	被度
クサギ	85	Ⅲ	モミジイチゴ	74	Ⅳ
モミジイチゴ	65	Ⅲ	ドクダミ	26	Ⅳ
ワラビ	55	Ⅲ	キンミズヒキ	40	Ⅲ
ノブドウ	30	Ⅲ	シダ類	25	Ⅲ
ドクダミ	28	Ⅲ	スゲsp	19	Ⅲ
スギ	40	Ⅱ	スギ	65	Ⅱ
クマイザサ	37	Ⅱ	チヂミザサ	42	Ⅱ
ノリウツギ	28	Ⅱ	クマイザサ	35	Ⅱ
トリアシショウマ	24	Ⅱ	フジ	34	Ⅱ
オカトラノオ	21	Ⅱ	カマツカ	28	Ⅱ
フジ	20	Ⅱ	タケシマラン	25	Ⅱ
トコロ	18	Ⅱ	ヒヨドリバナ	31	Ⅰ
アカネ	5	Ⅰ	ガマズミ	26	Ⅰ
			ヒメアオキ	13	Ⅰ
			コナスビ	5	Ⅰ
			ミツバアケビ	5	Ⅰ
			シオデ	3	Ⅰ

上記以外で目につく植物

ノリウツギ、ムラキシキブ、カスミザクラ

上記以外で目につく植物

ホオノキ、ハイイヌツゲ、ムラサキシキブ、エゴノキ、タラノキ、カスミザクラ

サンショウ、ツルアジサイ、サルトリイバラ、クリ、コナラ、ノリウツギ

定点名：沢筋

資料— 2

植生調査表

被度凡例：上層・中層；Ⅲ：+++，Ⅱ：++，Ⅰ：+

下層；Ⅵ：75～100%，Ⅴ：50～75%，Ⅳ：25～50%，Ⅲ：10～25%，Ⅱ：1～10%，Ⅰ：1%未満

調査年月日：'94. 10. 19

調査区名(林相)：スギ壮齡林

定点名：尾根

上中層

上層	種名	高さ(m)	被度	中層	種名	高さ(m)	被度
	スギ	17～20	Ⅲ		オオバクロモジ	2	Ⅲ
	アカマツ	22～23	Ⅲ		コシアブラ	5	Ⅱ
					ノリウツギ	2	Ⅱ
					ムラサキシキブ	2	Ⅰ
					エゴノキ	2	Ⅰ
					ガマズミ	2	Ⅰ
					フジ	2	Ⅰ
					ハリギリ	2	Ⅰ
					コシアブラ	2	Ⅰ
					ミツバアケビ	2	Ⅰ

下層

NO. 1	全体被度：90%	種名	高さ(cm)	被度	NO. 2	全体被度：80%	種名	高さ(cm)	被度
		オオバクロモジ	150	Ⅳ			オオバクロモジ	46	Ⅲ
		クマイザサ	49	Ⅳ			クマイザサ	32	Ⅲ
		ウミズザクラ	180	Ⅲ			フジ	30	Ⅲ
		フジ	43	Ⅱ			カマツカ	18	Ⅲ
		ヒメアオキ	15	Ⅱ			カサスゲ	40	Ⅱ
		ハイイヌツゲ	12	Ⅱ			スゲsp	38	Ⅱ
		アオダモ	45	Ⅰ			チヂミザサ	35	Ⅱ
		カサスゲ	34	Ⅰ			ナルコユリ	25	Ⅱ
							シオデ	23	Ⅱ
							ワラビ	12	Ⅱ

定点名：中腹

上中層

上層	種名	高さ(m)	被度	中層	種名	高さ(m)	被度
	スギ	17～20	Ⅲ		オオバクロモジ	2	Ⅲ
					エゴノキ	2	Ⅱ
					ガマズミ	2	Ⅱ
					サンショウ	2	Ⅰ
					サルトリイバラ	2	Ⅰ
					ホオノキ	2	Ⅰ
					フジ	2	Ⅰ
					エノアジサイ	2	Ⅰ
					ツルアジサイ	2	Ⅰ
					ウミズザクラ	2	Ⅰ

下層

NO. 1	全体被度：20%	種名	高さ(cm)	被度	NO. 2	全体被度：40%	種名	高さ(cm)	被度
		チヂミザサ	48	Ⅲ			チヂミザサ	56	Ⅲ
		モミジイチゴ	56	Ⅱ			モミジイチゴ	50	Ⅱ
		ヒメアオキ	18	Ⅱ			イノコヅチ	44	Ⅱ
		タチツボスミレ	2	Ⅱ			アキノキリンソウ	12	Ⅱ
		ヒヨドリバナ							

資料— 3

植生調査表

被度凡例：上層・中層：Ⅲ：+++，Ⅱ：++，Ⅰ：+
 下層：Ⅵ：75～100%，Ⅴ：50～75%，Ⅳ：25～50%，Ⅲ：10～25%，Ⅱ：1～10%，Ⅰ：1%未満
 調査年月日：'94.10.7

調査区名(林相)：コナラ幼齢林

定点名：尾根

上中層

種名	高さ(m)	被度	種名	高さ(m)	被度
コナラ	3	Ⅲ	タニウツギ	2	Ⅲ
クリ	6	Ⅱ	フジ	2	Ⅲ
カスミザクラ	5	Ⅱ	オオバクロモジ	2	Ⅱ
ホオノキ	4	Ⅰ	ガマズミ	2	Ⅱ
			ススキ	2	Ⅱ
			ミツバアケビ	2	Ⅱ
			ヤマハギ	2	Ⅰ
			エゴノキ	2	Ⅰ
			ノブドウ	2	Ⅰ

下層

NO. 1	全体被度：30%	NO. 2	全体被度：40%
種名	高さ(cm) 被度	種名	高さ(cm) 被度
フジ	38 Ⅳ	フジ	56 Ⅴ
マツブサ	160 Ⅱ	チゴユリ	10 Ⅲ
ススキ	150 Ⅱ	ススキ	80 Ⅱ
ワラビ	130 Ⅱ	ミツバアケビ	60 Ⅱ
モミジイチゴ	45 Ⅰ	オオバクロモジ	54 Ⅱ
ガマズミ	10 Ⅰ	ワラビ	38 Ⅱ
チゴユリ	8 Ⅰ	アオダモ	33 Ⅰ
		ウルシ	30 Ⅰ
		エゴノキ	20 Ⅰ

定点名：中腹

上中層

種名	高さ(m)	被度	種名	高さ(m)	被度
コナラ	5	Ⅲ	オオバクロモジ	2	Ⅲ
カスミザクラ	6	Ⅲ	ウルシ	2	Ⅲ
クリ	4	Ⅳ	タニウツギ	2	Ⅰ
			ガマズミ	2	Ⅰ
			ヤマツツジ	2	Ⅰ
			クズ	2	Ⅰ
			フジ	2	Ⅰ
			ミツバアケビ	2	Ⅰ

下層

NO. 1	全体被度：80%	NO. 2	全体被度：60%
種名	高さ(cm) 被度	種名	高さ(cm) 被度
チシマザサ	95 Ⅳ	チシマザサ	89 Ⅲ
トリアシショウマ	41 Ⅲ	ススキ	48 Ⅲ
ミツバアケビ	110 Ⅱ	モミジイチゴ	71 Ⅱ
マルバアオダモ	75 Ⅱ	チゴユリ	12 Ⅱ
フジ	50 Ⅱ	ミチノクホンモンジスゲ	5 Ⅱ
モミジイチゴ	41 Ⅱ	オオバクロモジ	36 Ⅰ
ハイイヌツゲ	14 Ⅱ	トリアシショウマ	20 Ⅰ
チゴユリ	12 Ⅱ	アオダモ	12 Ⅰ
コマユミ	10 Ⅱ	アキノキリンソウ	8 Ⅰ
シラヤマギク	16 Ⅰ	ガマズミ	5 Ⅰ
トコロ	7 Ⅰ		

定点名：沢筋

上中層

種名	高さ(m)	被度	種名	高さ(m)	被度
コナラ	5	Ⅲ	ヤマツツジ	2	Ⅱ
クリ	6	Ⅰ	キブシ	2	Ⅰ
ホオノキ	6	Ⅰ	ウツギ	2	Ⅰ
ヤマグワ	4	Ⅰ	オオバクロモジ	2	

資料— 4

植生調査表

被度凡例：上層・中層：Ⅲ：+++，Ⅱ：++，Ⅰ：+

下層：Ⅵ：75～100%，Ⅴ：50～75%，Ⅳ：25～50%，Ⅲ：10～25%，Ⅱ：1～10%，Ⅰ：1%未満

調査年月日：'94.10.17

調査区名(林相)：コナラ壮齢林

定点名：尾根

上層			中層		
種名	高さ(m)	被度	種名	高さ(m)	被度
コナラ	13	Ⅲ	ガマズミ	2	Ⅲ
カスミザクラ	11	Ⅱ	ヤマツツジ	2	Ⅲ
アカマツ	12	Ⅰ	オオバクロモジ	2	Ⅲ
スギ	11	Ⅰ	サルトリイバラ	2	Ⅰ
フジ	11	Ⅰ	ヤマモミジ	2	Ⅰ
クリ	8	Ⅰ	スギ	2	Ⅰ
アオダモ	7	Ⅰ	クリ	2	Ⅰ
ハリギリ	5	Ⅰ	カマツカ	2	Ⅰ
			タニウツギ	1	Ⅰ

下層			下層		
NO. 1 全体被度：80%			NO. 2 全体被度：80%		
種名	高さ(cm)	被度	種名	高さ(cm)	被度
クマイザサ	74	Ⅲ	ヤマツツジ	105	Ⅴ
ワラビ	47	Ⅲ	クマイザサ	30	Ⅲ
ヤマツツジ	22	Ⅲ	チゴユリ	13	Ⅲ
オオバクロモジ	70	Ⅲ	ヤマウルシ	39	Ⅲ
アキノキリンソウ	39	Ⅲ	シラヤマギク	29	Ⅲ
チゴユリ	15	Ⅲ	アオダモ	20	Ⅲ
スゲsp	6	Ⅲ	ウゴツクバネウツギ	14	Ⅲ
タムシバ	26	Ⅰ	コシアブラ	12	Ⅲ
シラヤマギク	16	Ⅰ	スゲsp	8	Ⅲ
スギ	13	Ⅰ	アキノキリンソウ	7	Ⅲ
キタコブシ	13	Ⅰ	イワウチワ	3	Ⅲ
ミツバアケビ	12	Ⅰ	クリ	18	Ⅰ
サルトリイバラ	10	Ⅰ	サルトリイバラ	17	Ⅰ
ハイイヌツゲ	7	Ⅰ	アケシバ	15	Ⅰ
モミジイチゴ	6	Ⅰ	コナラ	15	Ⅰ
ガマズミ	5	Ⅰ	オオバクロモジ	12	Ⅰ
タチツボスミレ	5	Ⅰ	ハイイヌツゲ	9	Ⅰ
			ナツハゼ	9	Ⅰ
			チヂミザサ	8	Ⅰ
			ガマズミ	6	Ⅰ
			カスミザクラ	5	Ⅰ
			コマユミ	5	Ⅰ
			ヤマニガナ	3	Ⅰ
			タチツボスミレ	2	Ⅰ

定点名：中腹

上層			中層		
種名	高さ(m)	被度	種名	高さ(m)	被度
コナラ	13	Ⅲ	ガマズミ	3	Ⅲ
クリ	13	Ⅲ	カスミザクラ	4	Ⅲ
カスミザクラ	13	Ⅲ	オオバクロモジ	2	Ⅲ
アカマツ	15	Ⅲ	ヤマツツジ	2	Ⅲ
ホ					

研究報告（第5号）

印 刷 平成10年3月25日

発 行 平成10年3月25日

編集発行 秋田県河辺郡河辺町戸島字井戸尻台47-2

秋 田 県 林 業 技 術 セ ン タ ー

郵便番号 019-2611 電 話 0188-82-4511

FAX 0188-82-4443

印 刷 株式会社 三 戸 印 刷 所

BULLETIN
OF THE
AKITA PREFECTURE FOREST
TECHNICAL CENTER

No. 5 1998. 3

contents

- Study of *in vitro* propagation of *Prunus verecunda*Yoh Sasaki..... 1
- Studies on ecology of the land leach, *Haemadipsa*
zeylanica japonica (Gnathobdellida : Haemadipsidae)Akihiko Nagaki..... 65