

第 28 卷

ISSN 1348-5261  
Vol. 28

帯 広 畜 産 大 学  
学 術 研 究 報 告

RESEARCH BULLETIN  
OF  
OBIHIRO UNIVERSITY

平成 19 年 10 月

October 2007

国立大学法人 帯 広 畜 産 大 学

NATIONAL UNIVERSITY CORPORATION  
OBIHIRO UNIVERSITY  
OF AGRICULTURE AND VETERINARY MEDICINE  
OBIHIRO, HOKKAIDO, JAPAN

# 帯広畜産大学学術研究報告 第28巻

## 目 次

### 自然科学分野

#### 畜産学

- 乳牛の移行期における新規乳房内感染の予防に対する外部型ティートシールの効果  
古村圭子・手島祐樹 . . . . . 1

#### 農学

- 土壌pHがトマトの生育と食味に及ぼす影響, およびこれらに対する有機物施用の効果に関する研究  
高橋伸彰・山本紳朗 . . . . . 13

- 磁性微粒子による遺伝子の導入と細胞の磁力選抜  
角田英男・堀川 洋 . . . . . 23

#### 農芸化学

- ワイルドライス (*Zizania palustris*) に含まれる脂質とポリフェノールの特性  
相沢 修・齋藤優介・西 繁典・小疇 浩・弘中和憲・小嶋道之 . . . . . 30

- 北海道で栽培されたブルーベリー果実に含まれるアントシアニン含量の年次変動  
宮下淳一・西 繁典・齋藤優介・小疇 浩・弘中和憲・小嶋道之 . . . . . 35

#### 環境科学

- 農耕地残存林とその周辺における森林性多年草本オオアマドコロの結果率  
原田 潤・佐藤雅俊・紺野康夫 . . . . . 41

### 人文・社会科学分野

#### 文学

- 江馬修『山の民』研究序説〔四〕—改稿過程の検討(四)—初稿から学会版へ(後の下)—  
柴口順一 . . . . . 47

#### 産学官連携

- 日本における産学官連携の構図(英文)  
渡邊晴美 . . . . . 66

- ドイツにおける産学官連携と十勝地域の潜在的可能性について(英文)  
渡邊晴美 . . . . . 74

#### 新領域法学

- 「著作権の機関帰属とその法的課題及び管理可能性について」—H18年度教育研究改革・改善プロジェクト研究—  
渡邊晴美 . . . . . 82

- 平成18年度帯広畜産大学研究業績 . . . . . 92  
平成18年度帯広畜産大学大学院畜産学研究科修士学位論文題目 . . . . . 102  
平成18年度岐阜大学大学院連合獣医学研究科博士学位論文題目 . . . . . 106  
平成18年度岩手大学大学院連合農学研究科博士学位論文題目 . . . . . 106

# 乳牛の移行期における新規乳房内感染の予防に対する 外部型ティートシールの効果

古村圭子<sup>1</sup>・手島祐樹

(受付: 2007年4月27日, 受理: 2007年6月22日)

Effect of external Teat Sealant on prevention of new intramammary infection at transient period of dairy cows

Keiko Furumura and Yuuki Teshima

## 摘要

環境性細菌による乳房内感染 (IMI) を予防するために、分娩予定9日前 (分娩直前期) から外部型ティートシールを使用し、乳頭口をふさぐことで、細菌の侵入を防御する試験を行った。経産牛13頭52乳区と、妊娠している未経産牛13頭52乳区を用い、各牛の対角の2乳区にティートシール処置を行い、残り2乳区を無処置のコントロール区とした。ティートシール処置乳区には、分娩予定日の9日前に乳頭への1回目のシール装着を行い、シールが乳頭からはずれた場合は1度だけシールのつけなおし (2回目装着) を行った。処置乳区でシールがはずれた後分娩まで、乳頭の汚れ度の観察もおこなった。細菌検査のために乳サンプルを2回 (未経産牛) あるいは3回 (経産牛) 採集し、この乳サンプル中の細菌の有無により、分娩直後のIMIの状態と分娩後1週間のIMIの状態を判定した。その結果からシール処置によるIMI予防効果について検討した。また、シールの乳頭への付着の持続日数や、2回目に装着したシールがはずれてから分娩までの日数 (保護なし日数) の長さ、および乳頭の汚れなど他の要因が予防効果に影響を及ぼすかどうかについても検討した。

分娩直後のIMIについて経産牛では、ティートシール処置乳区とコントロール乳区との間に有意な差が無く、ティートシール処置によるIMI予防効果はみられなかった。しかし未経産牛では、処置乳区でIMIなしがIMIありに比べて有意に多い ( $P < 0.05$ ) ことから、予防効果がみられた。また、分娩後1週間のIMIについては、経産牛と未経産牛の両方において、予防効果はみられなかった。乳頭へのシール付着の持続日数は2~4日が最も多かった。分娩までシールが乳頭に付着していた乳区ではIMIなしが多く、3日以上前にはずれていた乳区ではIMIありが多かった。また未経産牛では実際の分娩が分娩予定日より早く起こったか、予定日どおり分娩した牛が多く、これらの乳区では分娩までシールが乳頭に付着していた。一方、経産牛では実際の分娩が分娩予定日より遅く起こった牛が多く、これらの乳区では分娩前にシールが乳頭からはずれている日数が長い傾向があった。

これらの結果から、経産牛では分娩が遅れる牛が多かったために、分娩前に乳頭からシールがはがれている保護なし日数が長い乳区が多くなり、IMIが増えた。また、このシールがはがれている期間の乳頭の汚れ度が高いため、さらにIMIが起りやすかった。未経産牛では分娩が早い予定どおりの牛が多かったために、分娩までシールが乳頭に付着している乳区が多くなり、IMI予防効果が現れた。また、保護なし日数が長かった乳区でも、この期間の乳頭の汚れ度が低いため、IMIが起りにくかった。今回のシールを用いた試験では、シールが分娩まで乳頭に付着していた乳区では分娩直前期のIMI予防効果がみられた。そのため、分娩までシールが付着するようにつけ方を工夫して使用すれば、外部型ティートシールは分娩直前期のIMI予防法として効果的な方法であると考えられる。

**キーワード:** 新規乳房内感染 (NIMI)、移行期、IMI 予防、外部型ティートシール、未経産牛

---

帯広畜産大学 畜産科学科 食料生産科学講座 泌乳生理学 (帯広市稲田町西2線 11 〒080-8555)

Laboratory of Lactation Physiology, Department of Food Production Science, School of Agriculture, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine  
(Obihiro, Hokkaido, 080-8555) Japan

## 緒言

搾乳が機械によって行われるようになったことで、搾乳牛において乳房炎が職業病となった。近年、酪農家に対する搾乳方法の指導や衛生概念の普及により、伝染性乳房炎は減少傾向にある。しかし乳牛の環境に由来する環境性乳房炎はむしろ増加傾向にある (Blowey et al 1999)。

乳房炎を引き起こす乳房内感染 (IMI) は泌乳期以外の時期に起こる割合が多く、特に乾乳初期と分娩直前期に起こる確率が15~20倍も高い (Blowey et al 1999)。その理由として、乳房内への乳の蓄積により乳房内圧が高くなり、乳頭管が緩んで細菌を侵入させやすくなること、搾乳による細菌の流出がなくなること、白血球による防除機能が低下すること、ラクトフェリンによる抗菌機能が低いことなどが考えられる (Philpot et al 2001)。

乾乳初期に起こる IMI に対しては、乾乳期治療が有効であることが知られている。乾乳期治療と外部型ティートシール (シール) とを併用することにより、さらに高い IMI 予防効果が期待できるという報告がある (Lim et al 2000)。しかし分娩直前から直後 (移行期) に起こる IMI に対しては、残留リスクもあり抗生物質の使用が控えられ、予防に対する具体的対策が行われていない。したがってこの時期の乳房炎、つまり IMI を予防することが、酪農家にとって多額な乳房炎による経済的損失を減らすために重要である。

IMI は細菌が乳頭口から乳頭管を通過し、乳頭内に侵入することによって起こる。そのため、IMI を予防するためには、細菌の乳頭内への侵入を防ぐことが必要である。そこで乳頭口を物理的にふさぐことにより、完全に乳頭口から細菌が侵入しないようにすることが考えられる。本試験では、乳頭表面に薄い膜を張ることにより乳頭口をふさぐように開発された製剤で、日本でも市販されている、乾乳牛用外部型ティートシールを分娩直前期に使用するという試験を行い検討した。

分娩予定日の9日前に1回目のシールの装着を行い、分娩までにこのシールがはずれた場合は、1度だけつけ直し (2回目の装着) を行った。そして、分娩直後の IMI と分娩後1週間の IMI において、シール処置乳区と無処置のコントロール乳区を比較し、シール処置による分娩直後期と分娩後1週間における IMI 予防効果の有無を調べた。また、シールの乳頭への付着が持続した日数、2回目装着したシールがはずれてから分娩までの日数 (保護なし日数) の長さによる IMI 予防効果、処置期間の長さ (日数)、経産牛と未経産牛との違い、乳房炎起

因菌の種類への影響について検討した。

## 実験方法

### 1. 試験牛

帯広畜産大学畜産フィールド科学センターで飼養されているホルスタイン種経産牛13頭52乳区、および未経産牛13頭52乳区を用いた。ティートシール処置乳区とコントロール乳区の数、経産牛では、処置乳区が26、コントロール乳区が26であり、未経産牛では、処置乳区が26、コントロール乳区が26であった。経産牛はすべての牛で4乳区とも使用できたが、未経産牛では、4乳区のうち1乳区が無乳症であることが、分娩後に判明した牛が2頭いた。そのため未経産牛では、IMIの判定ができなかった乳区が、処置乳区で1乳区、コントロール乳区で1乳区存在した。

経産の搾乳牛はフリーストール牛舎で飼育し、併設してあるミルクパーラーで1日2回、朝と夕方に搾乳した。経産牛は、乾乳予定日の3、4日前から朝の搾乳のみにし、乾乳予定日にすべての乳頭に対して乾乳期治療を行った。乾乳期治療にはセファメジンをを用いた。乾乳後の経産牛は、それまでの搾乳牛群から、乾乳期の経産牛と分娩予定の未経産牛から成る牛群へ移った。この牛群は、放牧地を開放したパドックで飼育していた。また乾乳期間が長い牛の中には、昼夜放牧されている別の牛群に移った牛もいた。分娩予定日の15~9日前に、経産牛と未経産牛のどちらの分娩予定牛も、放牧地のない別のパドックへと移動した。分娩の兆候がみられた牛は、つなぎ牛舎内の分娩房へと移動させた。分娩後の牛は、つなぎ牛舎で3日間バケットミルクを用いて搾乳し、その後フリーストール牛舎の搾乳牛群へ移した。

### 2. ティートシール

使用したティートシールは、抗生物質非添加の乾乳牛用外部型ティートシール剤 (ドライカウ、日本全薬工業株式会社) を使用した。

### 3. ティートシールの処置方法

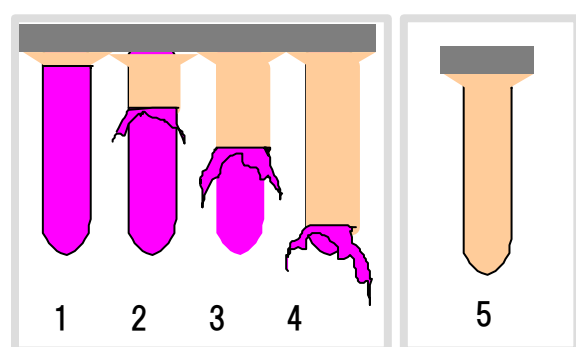
各牛において、対角の2乳区をティートシール処置乳区、残り2乳区を何もしない無処置のコントロール乳区とした。どの対角を処置乳区とするかは、産次、季節で偏りが出ないように注意してランダムに決めた。処置期間は分娩予定日の9日前から分娩までとし、処置開始日 (予定日の9日前) に1回目のシールの装着を行った。その後、分娩までの間にシールが完全にはがれた場合、

一度だけつけ直し（2回目の装着）を行った。2回目以降、再びシールが完全にはがれた場合でも、つけ直しは行わなかった。また、この同一期間にコントロール乳区には何も行わなかった。

シールの装着は、午後3時から5時の間に行った。処置乳区の乳頭を、塩素系殺菌剤を含ませたタオルで清拭した。その後、70%アルコールに浸した脱脂綿で乳頭全体をよく拭いた。特に、乳頭先端はよく拭いた。拭いた乳頭をそのまま少し静置して乾燥させ、乾燥後専用のアプリケーションカップに入れた液体状のシール液に、乳頭基部まで浸した。乳頭についたシール液が完全に乾くまで（約10分間）牛を立たせておき、乾いてから牛を群へと放した。

#### 4. シールの乳頭付着スコア

シールは、つけてから日がたつにつれて上からはがれてきた。そのはがれ具合と乳頭への付着状態を段階的に分類したスコアを作成し、乳頭付着スコアと呼んだ（Fig. 1）。このスコア作成には、Leslie et al（1999）によるシールのはがれ具合についての分類方法を参考にした。乳頭付着スコアは5段階に分かれており、数値が上がるほどシールのはがれて付着状態は悪くなっている。そして、スコア1～4ではシールが乳頭先端についており、乳頭口は保護されて細菌が侵入できない状態になっている。一方、スコア5ではシールは完全にはがれており、乳頭口は保護されず細菌が侵入する可能性のある状態になっている。スコアの観察は、処置期間の間毎日、午後3時から5時の間に行った。それまでにシールのつけ直しをしていない乳区で乳頭付着スコアが5になった場合に、シールのつけ直し（2回目の装着）を行った。



Seal adhered to the tip of a teat (with seal protection)

No seal adhered to teat (non seal protection)

Fig. 1. Adherence score of Teat Sealant

#### 5. 保護なし日数

今回の試験では、ティートシールのつけ直しは1度だけと決めたため、2回目につけたシールが分娩までもたなかった乳区では、分娩前にシールのはがれて乳頭口が保護されていない露出期間ができた。この期間を保護なし期間と呼び、その日数を保護なし日数とした。

#### 6. 保護なし期間における処置乳区の汚れ具合

処置期間のうち、シールがついていない期間（保護なし期間）のティートシール処置乳区の汚れ具合によって、乳頭汚れ度スコアを観察した。そして結果分析には、このスコアによって、各乳区を汚れ具合の異なる3つのグループに分け、汚れ度グループを作成した。スコアの観察はシールがついていない保護なし期間の間しか行っていないため、保護なし期間におけるスコアの平均を求め、グループ分けに使用した。また、先端と側面には有意な正の相関があったため（ $P < 0.001$ ）、グループ分けには乳頭汚れ度スコアの2つの項目のうち乳頭先端のみを使用した。そのグループの分類方法を下に記す。

1) 各乳区においてシールがついていない期間の、先端の汚れ度スコアの平均を求めた。

平均スコア

$$= \frac{\text{各スコアの度数} \times \text{そのスコア}}{\text{処置日数} - \text{シールが付着していた日数}} \times 100$$

2) その平均値により各乳区を次のようにグループ分けをした。

グループG : 1以上2未満。最もきれいな傾向があったグループ。

グループM : 2以上3未満。GとBの中間の傾向があったグループ。

グループB : 3以上4以下。最も汚い傾向があったグループ。

#### 7. 乳のサンプリング

(1) 乳のサンプリングを行った時期

経産牛では計3回の時期に乳のサンプリングを行い、それぞれをサンプリング0、1、2と呼んだ。また、未經産牛では乾乳期がないため、サンプリング1と2のみ、計2回のサンプリングを行った。各サンプリングの時期は下記のとおりである。

サンプリング0：乾乳予定日の4日前。ただし、不可能な場合は、8~4日前。

サンプリング1：分娩後1日以内。

サンプリング2：分娩後7日目。ただし、不可能な場合は6~8日目。

## (2) 採集した乳サンプル

サンプリング時には、すべての乳区から無菌的乳サンプルと非無菌的乳サンプルの2種類を採集した。無菌的乳サンプルは細菌培養に使用し、非無菌的乳サンプルはPLテストの測定に使用した。

## 8. 乳サンプルの細菌検査

細菌の分離と菌種の同定のために、5%牛血液寒天培地、およびマンニット食塩培地の2種類の培地を作成し、無菌的乳サンプルを採取日に塗布し37℃で培養した。細菌の同定は、安里(1989)による細菌同定手順に従って行った。

## 9. IMIの判定

### (1) 乳房炎の判定と乳房炎起因菌

培養で細菌が検出された乳区はPLテストの結果にかかわらず、すべて乳房炎とみなし、その菌を乳房炎起因菌とした。検出された乳房炎起因菌は伝染性と環境性へと分類し、検出された菌名を次に示した。

#### 1) 伝染性乳房炎起因菌

*Staphylococcus aureus* (黄色ブドウ球菌) と *Corynebacterium bovis* (コリネバクテリウム・ボビス) が検出された。

#### 2) 環境性乳房炎起因菌

Coagulase Negative *Staphylococci* (表皮ブドウ球菌群; CNS)、*Streptococci* (連鎖球菌群)、*Echerichia coli* (大腸菌; *E. coli*)、*Enterococci*、*Micrococci* が検出された。

### (2) 畜産フィールド科学センターでの細菌検査およびPL検査の結果の乳房炎判定への利用

畜産フィールド科学センターでは日常の業務として、牛に臨床症状が出た場合は当該牛(または当該乳区)の乳サンプルの採集と、細菌検査およびPL検査を行っている。今回の実験における乳房炎の判定では、その結果を考慮し、採用した。

1) 前産次泌乳期：畜産フィールド科学センターでの乳房炎検査結果をそのまま利用した。

2) サンプリング0：畜産フィールド科学センターで乾乳日の8~1日前にサンプリングされていた時

3) サンプリング1：畜産フィールド科学センターで分娩日とその1日後までにサンプリングされていた時

4) サンプリング2：畜産フィールド科学センターで分娩日の2日後~8日後までにサンプリングされていた時

2) から4) の検査結果と、本実験の細菌検査およびPL検査の結果とを比較して、悪い結果のほうを採用し、乳房炎の判定に使用した。

### (3) IMI状態

#### 1) 分娩後1日以内のIMI状態

経産牛では、乾乳時にすべての乳区に対して乾乳期治療を行ったため、乾乳初期のIMIはないと考えた。また、未経産牛では、分娩直前期より前にはIMIはないと考えた。したがって、分娩後1日以内の時点でのIMI状態は、分娩直前期以後のIMIの有無を表しているとみなした。

分娩後1日以内の時点での各乳区のIMI状態を、IMIなしとIMIありへと分類した。

IMIなし：分娩直前期にIMIが起こらなかった状態。

IMIあり：分娩直前期にIMIが起こった状態。

分類は、経産牛では前産次泌乳期(前泌乳期)およびサンプリング0と、サンプリング1の乳房炎状態によって行った。また、未経産牛では、サンプリング1の乳房炎状態のみによって行った。分類方法の詳細はTable1に示した。

#### 2) 分娩後1週間のIMI状態

分娩後1週間の間に、臨床的乳房炎を起こさなかった乳区では、分娩後1週間目にサンプリング2を行った。また、分娩後1週間の間に臨床的乳房炎を起こした乳区では、畜産フィールド科学センターで実施した臨床型乳房炎の検査結果をサンプリング2の結果とした。よって、分娩後1週間は、分娩後1週間以内または1週間目を表す。

分娩後1週間では、分娩直後と同様に、分娩後1週間の時点での各乳区のIMI状態を4項目に分類した。各項目は以下に示す意味を表す。

分娩直前期の外部型ティートシールによる新規乳房内感染予防

IMI なし：分娩後1週間以内に IMI が起こらなかった状態。

IMI あり：分娩後1週間以内に IMI が起こった状態。

サンプリング1とサンプリング2の乳房炎状態によって行った。分類方法の詳細はTable1に示した。

各項目の分類は、経産牛と未経産牛の両方において、

Table 1. IMI criteria immediately after calving and 1 week after calving.

Stage	Parity	IMI criteria	Previous lactation and Sampling 0	Sampling 1
Just after calving	Multiparous cows	IMI -	-	-
		IMI +	-	+
	Nulliparous cows	IMI -	N	-
		IMI +	N	+
1 week after calving	Multiparous and nulliparous cows	IMI -	-	-
		IMI +	-	+
			+ (A)	+ (B)

Sampling 0 : sampled 4 days before dry off.

Sampling 1 : sampled within 1 day after calving.

Sampling 2 : sampled within 1 week or at 1 week after calving.

+ (A) , + (B) : different bacteria were diagnosed between sample A and B.

N : no samples available.

10. 分娩予定日と実際の分娩日とのずれ

分娩予定日と実際の分娩日とにずれがみられた。このずれの日数を、ずれ日数とした。処置日数とずれ日数との対応をTable2に示した。

結果の分析には、このずれ日数を用いて、実際の分娩日が分娩予定日より早いか遅いかによって、乳区を2つのグループに分けた。グループの分類方法を下に記す。

Eグループ:実際の分娩日が分娩予定日より早かった乳区、および分娩日どおりであった乳区。つまりずれ日数が-4以上0以下の乳区を指す。

Lグループ;実際の分娩日が分娩予定日より遅かった乳区。つまりずれ日数が1以上の乳区を指す。

Table 2. Correspondence of the gap between the treatment days of Teat Sealant and the actual date of calving

Treatment days	Gap days
5	-4
6	-3
7	-2
8	-1
9	0
10	1
11	2
12	3
13	4
14	5
15	6
16	7
17	8
18	9
19	10
20	11

Treatment days : days between the seal start (9 days before the scheduled calving date) and the actual calving date

Gap days : gap days from the actual calving date

11. 統計分析

ティートシール処置乳区とコントロール乳区の分布の比較、経産牛と未経産牛の分布の比較において、SAS (1994) のFREQおよびCATMODプロシジャの $\chi^2$ 検定を使用した。これらの分析を行った項目は、シールの付着

日数、保護なし日数、ずれグループ、IMI 状態、乳頭汚れ度グループ、乳房炎起因菌であった。シールの付着日数においては、1 回目の装着と 2 回目の装着の比較にもこれらの分析法を使用した。また、乳頭汚れ度スコアにおける乳頭先端の平均と側面との平均の相関分析において、SAS の CORR プロシジャを用いた。また、IMI 率における汚れ度グループ間の検定にも、SAS の CATMOD プロシジャを用いた。

## 結果

### 1. シールの付着日数

シールの付着日数は、経産牛と未経産牛との間で、および1 回目の装着後と 2 回目の装着後との間で有意な差はみられなかった。そこで、全頭の 1 回目と 2 回目の装着とを合計した結果 (Fig. 2) をみると、付着日数の長さは 2~4 日が多かった。また、付着日数の平均は 3.0 ± 1.5 日 (平均±標準偏差) であった。

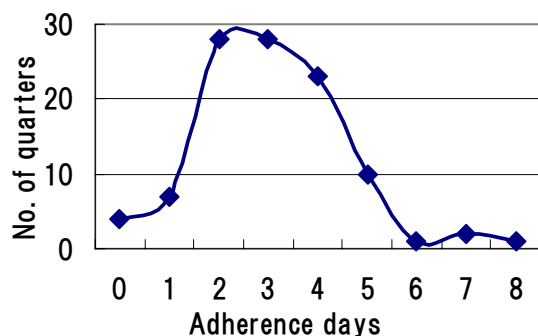


Fig. 2. Adherence days of Teat Sealant to the tip of teat

### 2. ティートシールによる保護なし日数の影響

#### (1) 保護なし日数と IMI との関係 (Fig. 3-1)

分娩直後の IMI ありと IMI なしとの間に保護なし日数による有意な差はみられなかった ( $P=0.069$ )。しかし、保護なし 0 日、つまり分娩までティートシールが付いていた乳区では IMI ありはみられず、シールがはがれて 3 日目以降は IMI ありの乳区がみられる傾向があった。

#### (2) 保護なし日数と経産牛および未経産牛の IMI ありとの分布比較 (Fig. 3-2)

経産牛と未経産牛とに分けて、保護なし日数と IMI ありとの関係を見ると、経産牛では保護なし 3 日目以降に IMI ありがみられる傾向があった。一方、未経産牛では IMI ありは 3 日目に 1 乳区あるだけで、他はどの保護なし日数にも IMI ありはみられなかった。

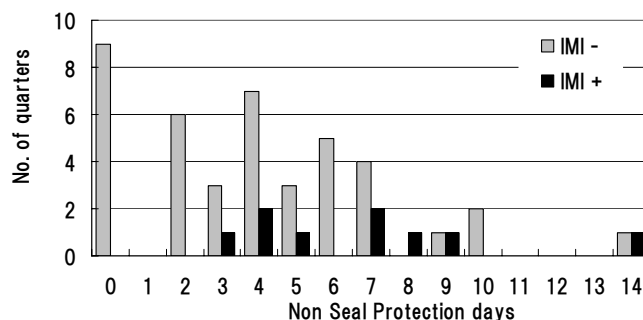


Fig. 3-1. Distribution of quarters with IMI (IMI+) or without IMI (IMI-) immediately after calving for each non seal protection days.

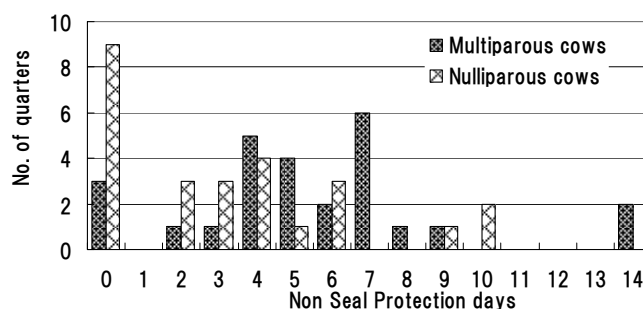


Fig. 3-2. Distribution of quarters of multiparous cows or nulliparous cows immediately after calving for each non seal protection days.

### 3. ずれグループ

(1) ずれグループの分布における経産牛と未経産牛との比較 (Fig. 4)

経産牛と未経産牛の間では、ずれグループの分布に有意な差がみられた ( $P<0.05$ )。経産牛では、E が 31%、L が 69%であったため、実際の分娩が予定より遅れ、分娩予定日の 9 日目の処置開始から分娩までの日数が長くなる傾向がみられた。一方、未経産牛では、E が 60%、L が 40%であったため、実際の分娩が予定より早いか予定どおりに起こり、処置開始から分娩までの日数が経産牛に比べて短い傾向がみられた。

### 4. ティートシールによる IMI 予防効果

#### (1) 分娩直後の IMI (Fig. 5)

経産牛では、IMI なしと IMI ありの両方で、ティートシール処置乳区とコントロール乳区との間に有意な差はなく、処置による IMI 予防効果はみられなかった。一方、未経産牛では、コントロール乳区に比べて処置乳区では、IMI なしが有意に高く、IMI ありが有意に低い ( $P<0.05$ ) という結果となり IMI 予防効果がみられた。

#### (2) 分娩 1 週間後の IMI

経産牛と未経産牛の両方で、IMI なしと IMI あり共に、



処置乳区とコントロール乳区との間に有意な差はなく、処置による IMI 予防効果はみられなかった。

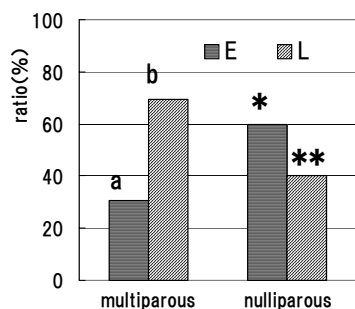


Fig.4. The ratio of the cows for the gap with scheduled day in multiparous and nulliparous cows.

E : Cows calved earlier than an estimated date or as the scheduled day.

Gap day was between -4 day and 0 day (Table 2).

L : Cows calved later than an estimated date. Gap day was more than 1 day.

a,b and \*,\*\* : There was a significant difference between different superscript (P<0.05).

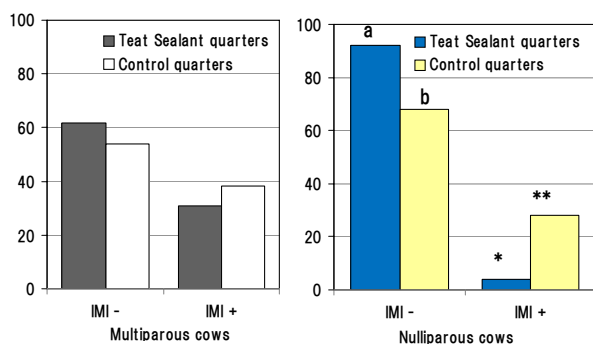


Fig.5. Distribution of IMI immediately after calving in multiparous and nulliparous cows.

a,b and \*,\*\* : There was a significant difference between different superscript (P<0.05).

## 5. 保護なし期間における処置乳区の汚れ度合い

(1) 汚れ度グループにおける経産牛と未経産牛の比較 (Fig. 6)

経産牛と未経産牛では、汚れ度グループの分布に有意な差があった (P<0.05)。経産牛では M が 18 乳区 (69%) で最も多かった。B は 6 乳区 (23%) で未経産牛に比べて多く、G は 2 乳区 (8%) で最も少なかった。一方、未経産牛では G>M>B の順に減り、G が 16 乳区 (62%) で最も多かった。M は 8 乳区 (31%) であり、B は 2 乳区 (8%) で最も少なかった。また、汚れ度スコアの平均は、経産牛が  $2.5 \pm 0.5$  であり、未経産牛が  $1.7 \pm 0.7$  であった。

(2) 汚れ度グループと IMI 状態 (Fig. 7)

1) 分娩直後

IMI なしと IMI ありの両方において、汚れ度グループ間による有意な差はみられなかった (P>0.05; G と B との間では P=0.06)。しかし IMI なしの割合は G>M>B の順に減っており、IMI ありの割合は G<M<B の順に増えていた。

2) 分娩後 1 週間

IMI なしと IMI ありの両方において、汚れ度グループによる有意な差はみられなかった。

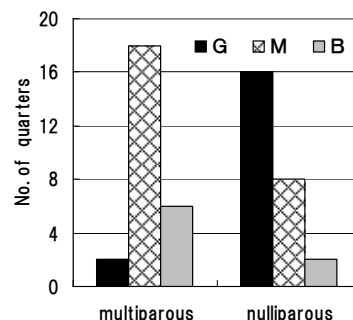


Fig.6. The number of Teat Sealant quarters for each contamination score (CS) group in multiparous and nulliparous cows. The contamination score group : Teat was categorized by the degree of contamination with manure during the Teat Sealant treatment period.

G:  $1 \leq CS < 2$  (Good), M:  $2 \leq CS < 3$  (Moderately),

B:  $3 \leq CS < 4$  (Bad)

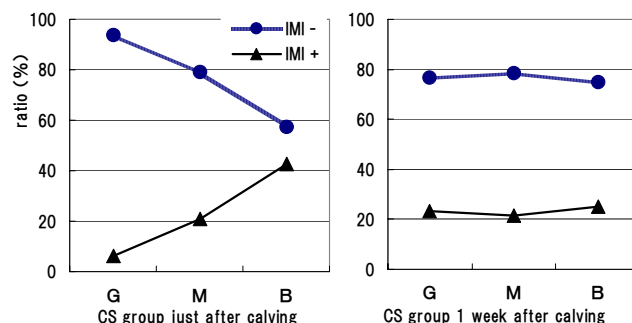


Fig.7. The ratio of the seal treated teat with IMI (IMI+) and without IMI (IMI-) for each contamination score (CS) group.

## 6. ティートシール試験における乳房炎起因菌

乳房炎起因菌の出現割合において、ティートシール処置乳区とコントロール乳区、および経産牛と未経産牛による有意な差はみられなかった。CNS 乳房炎が最も多く発症し、分娩直後で 58%、分娩後 1 週間で 55% を占めた。次いで連鎖球菌による乳房炎が 2 番目に多く、35% (分娩直後) と 45% (分娩後 1 週間) であった。

## 考察

### 1. ティートシールの付着日数

シールの付着日数は2~4日が多かった。Hemling et al (2000)の報告によると、分娩直前期の乳牛で乳頭への付着日数を調査した結果、70%の乳区で付着が持続した日数は3.1日であった。今回の試験では、70%の乳区で付着が持続した日数は1.6日であったため、この報告よりもかなり短いといえる。

今回の試験でシールの付着日数が短かった理由として、1) シール剤の組成の違い、2) シールのつけ方(装着する前の手順)の不備、3) 装着時のシールの温度などが考えられた。1)については、前述のHemling et al (2000)が実験に使用したものと同じ市販のシール剤を本試験では使用しているため、用いた剤による影響はないであろう。2)については、本試験では剤の手引書に忠実に従った手順で装着した。したがって、1)および2)の要因によって、付着日数が短くなったとは考えられない。

3)については、本試験では剤を常温で保管して使用した。Hemling (1998)の報告によると、約4.5°Cで保管して冷却して、より粘性の高い状態でシール剤を使用したほうが、常温の暖かいシール剤を使用するよりも付着日数が長かった。したがって、今回の試験で付着日数が短かった原因として、3)の装着時のシール剤の温度が関係している可能性が否定できない。しかし、製品の手引書には、冷やして使用するという記述はないため、今回ほどの差が出るのかどうかについては疑問が残る。また、Hemling (2000)の実験はアメリカで実施されているため、本試験の日本との気候や湿度の差によって付着日数に差が出た可能性も考えられる。

### 2. 保護なし日数およびずれ日数

予定分娩日と実際の分娩日との日数のずれグループと、ティートシールの保護なし日数との関係については、保護なし日数の平均をずれグループ間で比較すると、ずれグループがEの乳区(予定日通りか早く分娩した牛)のほうがL(予定日より遅い牛)の乳区よりも、保護なし日数の平均は短かった(0.9±1.5日対5.7±3.1日; 平均±標準偏差)。よって、ずれグループがEの乳区では保護なし日数が短い傾向があり、Lの乳区では保護なし日数が長い傾向があると考えられた。

一方、保護なし日数とIMIとの関係については、保護なし日数が0日の乳区、つまり分娩までシールが装着されていた乳区ではIMIなしが多く、保護なし日数が3

日以上になるとIMIが多い傾向がみられた。したがって、分娩までシールが乳頭に付着していた乳区ではIMI予防効果がみられたが、シールのついていない保護なし期間ができることによって予防効果がみられなくなったと考えられた。

そこで、ずれグループと保護なし日数との関係、および保護なし日数とIMIとの関係から、ずれグループがEの乳区では、保護なし日数が短くなり、IMI予防効果が現れたが、ずれグループがLの乳区では、保護なし日数が長くなり、IMI予防効果が薄れたと考えられる。

しかし、ずれグループとIMIとの間に有意な関係はみられなかった。これは前述した仮説と矛盾するようだが、ずれグループとIMIとは直接的関係ではなく間接的関係にあるため、例数の少ない今回の実験では有意な関係がみられなかったのではないかと考えられる。

### 3. 保護なし期間における処置乳区の汚れ度合い

汚れ度グループの分布における、経産牛と未経産牛との比較から、経産牛は未経産牛に比べてMとBが多く(69%対31%; 23%対8%)、乳頭が汚れている傾向があった。未経産牛は経産牛に比べてGが多く(62%対8%)、乳頭がきれいな傾向があったといえる。

また、汚れ度グループとIMIについては、有意な差はなかったもののG<M<Bの順でIMIありの割合が増えたことから、汚い乳区ほどIMIが起りやすい傾向がみられた。これは乳頭の汚れがひどくなるほど、細菌が乳頭口に付着し乳頭内に侵入する機会が増えたためだと考えられる。

### 4. ティートシール実験におけるIMI状態

分娩直後において、未経産牛では予防効果がみられたが、経産牛ではIMI予防効果がみられなかった。分娩直前にシールを使用して、分娩直後のIMIが減少したTimms (2001)の報告と、本試験結果とは異なる結果となった。

そこで今回の試験において、経産牛ではIMI予防効果がみられなかった理由について考えられる理由は、1) 経産牛では分娩が遅れる傾向があったため、保護なし日数が長くなり、予防効果がでなかった、2) 経産牛では保護なし期間の間、乳頭が汚れている傾向があったため、この期間の間、細菌が乳頭に侵入しやすい状態であった。よって経産牛では、保護なし期間が長く保護のない乳区の割合が多かった上に、この期間の間、乳頭が汚れた状態の乳区が多かったためにIMIが起りやすく、IMI予

防効果がみられなかったのではないかと考えられた。

経産牛とは逆に、未経産牛では IMI 予防効果がみられた。その理由として考えられることは、1) 未経産牛では分娩が早いか予定通りの牛が多く、保護なし日数が 0 日、すなわち分娩までシールが付着していた乳区が多かった、2) 未経産牛では、保護なし期間の間、乳房や乳頭が小さいため汚れにくく、きれいなままである傾向があり、細菌が乳頭に侵入しにくい状態であった。そこで未経産牛では、保護なし日数が短くシール保護のある乳区の割合が多かったこと、この日数が長い乳区でもきれいな状態の乳頭が多かったために IMI が起こりにくく、IMI 予防効果が出たのではないかと考えられた。

また、分娩後 1 週間においては、経産牛と未経産牛の両方で、IMI 予防効果はみられなかった。Corbellini et al (2002) の報告では分娩直前期のシールの使用により、分娩後 45 日間の臨床的乳房炎の発生率が減少している。本試験で分娩後一週間の IMI に対して予防効果がみられなかった理由として、Corbellini et al (2002) の試験とは、分娩後の飼養条件および搾乳環境が異なることが推測される。

## 5. ティートシール試験における乳房炎起因菌

乳房炎起因菌の出現率は、経産牛と未経産牛の両方において、分娩直後と分娩後 1 週間共に、ティートシール処置乳区とコントロール乳区との間に有意な差はなかった。Timms (2001) の報告によると、分娩直前期にシール剤を使用する実験を行った結果、シール処置を行った乳区では、主要病原菌で 52%、環境性連鎖球菌群で 68%、CNS で 63% の IMI が減少した。Corbellini et al (2001) によると、同様の試験を行った結果、環境性連鎖球菌群で 63%、大腸菌群で 100% の IMI が減少した。これらの報告の結果は、今回の試験結果とは矛盾した。その理由として、今回は試験例数が少なかったために、菌種による差が出なかったことが考えられる。

## 6. 外部型ティートシールの使用法についての改善方法

以上の結果をまとめると、分娩までシールが乳頭に付着していた乳区では、分娩直前期の IMI に対する予防効果がみられた。しかし、分娩後 1 週間での IMI に対する予防効果はみられなかった。また、シールの付着日数は 2~4 日と比較的短いことが判明した。

そこで、今後シールを使用する場合には、シールの付け方を改善し、シールが分娩まで乳頭に付着している

ようにする必要がある。その改善例としては、1) 乳房が大きくなって来た分娩直前期にシールをつけるようにし、シールのつけ始めを遅くする、2) つけ直しを 2 回以上にする、3) 1 回の装着時、乳頭にシール液を 2 度漬けるなどが考えられる。また、実際に酪農家が使う場合は、シールの装着や付着状態の観察に関する手間を可能な限り省く必要がある。そのため、分娩予定日の 10~7 日程度前にシールを装着し、その後は 3、4 日ごとにシールのつけ直しを行う、という方法が適していると思われる。

このように使用方法の改善や工夫を行い、シールが分娩まで乳頭に付着しているように注意して使用すれば、外部型ティートシールは分娩直前期の IMI 予防には効果的な方法であるといえる。

## 7. 将来的な内部型ティートシールへの展望

外部型ティートシールにはいくつかの欠点も存在する。その欠点とは、シールの付着日数が短く、何度も装着を行う必要があり、装着のたびに清拭や殺菌を確実にを行う必要があることである。このため外部型ティートシールは使用の際に手間がかかるため、最近では、外部型よりも持続性の長い内部型のティートシールが注目を集めている。

内部型ティートシールはパラフィンをベースとしたビスマス亜硝酸塩からできたジェル状の製剤である。この内部型ティートシールは、乾乳時に乳頭管から乳頭内部に注入すると、乳頭管と乳頭槽下部に貯溜して乳頭管をふさぐ。その後、少なくとも数週間は乳頭内部に貯溜したままであり、乾乳中に乳頭管から漏れ出す、乳に溶解する、固体化して外に出なくなるなどの恐れはないと報告されている。そして、分娩時に手で搾ることにより乳頭外に取り除くことができる (Williamson, 2002)。つまり内部型ティートシールは、乾乳時に一度注入するだけで、乾乳期間の IMI を予防でき、外部型のように、シールがはがれて乳頭口に対する保護が無くなるリスクが少ない。つまり、内部型ティートシールは外部型と比べて、持続性が長いのが特徴といえる。

また、これまでに行われた内部型ティートシールを使用した実験において、IMI 予防効果があつたと報告されている。Hexley et al (2002) および Berry et al (2002) によると、内部型ティートシールの使用によって、乾乳期間の間の IMI に対する予防効果がみられた。また、Hexley et al (2001) によると、内部型ティートシール

の使用によって、分娩後 100 日間での IMI の発生率が減少した。

内部型ティートシールは、抗生物質と一緒に使用するタイプのもので、アイルランドで 1978 年から利用されている。これは、二つの注入器に分かれた、液体状のクロサシリンとティートシールを乳頭内部に注入すると、乳房内でこれらが反応し結合するという製剤である。また、抗生物質が入っていない改良型の製剤が、ニュージーランドで 1997 年から販売されている。この改良型の製剤は、アイルランドの製剤よりも乳頭管をふさぐ期間がさらに長いという報告もある (Williamson 2002)。しかし現在のところ、内部型ティートシールは日本で認可されておらず、日本では使用できない。

現在、乾乳初期の IMI 予防においては、乾乳するすべての牛の全乳区に乾乳期治療を行うという方法がとられている。しかし、この方法については、細菌が抗生物質にさらされる機会が増えることによって、抗生物質耐性菌が出現する危険があるという可能性も指摘されている。また、食品の安全性に対する関心が高まるなかで、抗生物質を病気の予防に使うことに対する批判が起こっている。そのため、内部型ティートシールでは、抗生物質以外の乳房炎起因菌抑制物質を添加した製剤の実験も行われている。このような製剤が実用化され市販されるようになれば、乾乳期間の IMI 予防法において、抗生物質の使用を減らすことができる可能性もある。

また、内部型ティートシールは乾乳期間持続して、乳頭管をふさぐ。そのため、自然のケラチンプラグの形成が起こらない乳頭における乾乳中の IMI を防ぐためにも有効である。乾乳後の乳頭管では、乳頭管内の上皮組織であるケラチン層が肥厚し、ケラチンプラグを形成して乳頭管をふさぐ。乳頭管がケラチンプラグによってふさがれた状態は、乳頭管が閉じていると呼ばれ、ふさがれていない状態は乳頭管が開いていると呼ばれる。Williamson et al (1995) によると、乾乳期間の間 2 週間ごとに乳頭管が閉じているかどうかを調査したところ、乾乳の 7 日後には全乳頭のうち 50% が閉じていた。その後の 50 日間でさらに 45% の乳頭が閉じ、全乳頭の 95% が閉じた状態になった。しかし、乾乳後 90 日がたった時点でも、開いたままである乳頭が全乳頭のうちの 5% 存在した。そして、乾乳中に起こった臨床型乳房炎のうち、97% が開いたままの乳頭で起きていた。したがって、このような乳頭では、天然のケラチンプラグの代わりに人工的プラグを形成することで、乳頭管をふさぐ必要があり、内部型ティートシールの使用が有効で

あると考えられる。

これらの点から、分娩直前期の IMI 予防において、内部型ティートシールは外部型ティートシールよりも、さらに有効な方法であるといえるかもしれない。しかしながら、内部型ティートシールにも欠点がある。それは、1) 抗生物質が添加されていないタイプでは、乳房炎を治療する効果はないため、乾乳時にすでに乳房炎にかかっている乳頭では使用できない、2) 未経産牛の分娩直前期における IMI 予防には応用できないということである。1) については、乳房炎牛には使用しないだけでなく、体細胞数が 20 万/ml 以下と低い牛群で使用するよう推奨されている。

内部型ティートシールは、現在、日本では使用できないが、将来的には、日本でも認可され、一般の酪農家が使用できるようになる可能性はある。内部型ティートシールの欠点を考慮すると、次のような方法が、乾乳牛および分娩を控えた未経産牛の IMI を予防するために、最もよい方法であると考えられる。その方法とは、1) 体細胞数が低い牛群で、乾乳時に乳房炎にかかっていない経産牛では、乾乳時に内部型ティートシールを使用する、2) 体細胞数が高い牛群の経産牛や、乾乳時に乳房炎にかかっている経産牛では、乾乳時に乾乳期治療を行う、3) 乾乳期治療を行った経産牛および分娩前の未経産牛では、分娩直前期に外部型ティートシールを使用することである。内部型ティートシールが日本でも認可されて使用できるようになるために、内部型ティートシールの研究が必要である。そして内部型ティートシールと外部型ティートシールとを組み合わせる使用することによって、乾乳期および分娩直前期の IMI 予防に有効な選択肢が増えるであろう。

## 引用文献

- 安里 章. 1989. 第Ⅲ章 乳房炎と微生物, 乳質改善ハンドブック第 2 号, 116. ホクレン農協協同組合連合会・北海道乳質改善協議会, 札幌.
- Berry EA, Hillerton JE. 2002. The effect of an intramammary teat seal on new intramammary infections. *Journal of Dairy Science*, 85:212-2520
- Blowey R, Edmondson P. 1999. 酪農家と獣医師による牛の乳房炎コントロール, 一カラーFig.版を多用した実用ガイド, 浜名克己 訳, pp.3, pp.93-102, pp.157-163. チクサン出版社, 東京.
- Corbellini CN, Dupry J, Micheo CR, Garbarino E. 2001. La etiología de las mastitis de un rodeo determina la

estrategia de control. *Tesis de Graduacion Facultad de Ciencias Veterinarias*, 42. Universidad Nacional del Centro de la Pcia. De. Bs. As. Trandil, Argentina, Mayo

Corbellini CN, Benzaquen M, Weinmaier M, Introzzi CA, Janowicz P. 2002. Efficacy of a Teat Sealant with no germicide, applied on pre-calving cows in grassing system. National Mastitis Council Annual Meeting Proceedings, 194-195

Hemling CT, Henderson M, Britten A, Hanson N. 1998. Effect of teat prep procedures on adherence of a dry cow teat sealant. National Mastitis Council Annual Meeting Proceedings, 265-266

Hemling T, Henderson M, Leslie K, Lim G, Timms L. 2000. Experimental models for the evaluation of the adherence dry cow teat sealants. National Mastitis Council Annual Meeting Proceedings, 248-249

Hexley JN, Green MJ, Green LE, Bradley AJ. 2001. An assessment of the ability of a non antibiotic internal teat sealant to prevent new intramammary infections during the dry period under UK field conditions. Proceedings of the 2<sup>nd</sup> international symposium on mastitis and milk quality, 316-320

Hexley JN, Green MJ, Green LE, Bradley AJ. 2002. Evaluation of the efficacy of an internal teat sealer during the dry Period. *Journal of Dairy Science*, 85:551-561

Leslie KE, Day K, TenHag J, Kelton DF, Duffield TF, Kerbler TL. 1999. Factors affecting the adherence of a dry cow teat sealant. National Mastitis Council Annual Meeting Proceedings, 136-137

Lim GH, Leslie KE, Morgan J, Dow B, Kelton D, Duffield TF, TenHag J. 2000. An evaluation of the factors affecting the efficacy of a dry cow teat sealant. National Mastitis Council Annual Meeting Proceedings, 245-246

Philpot WN, Nickerson SC. 2001. 乳房炎との闘いに打ち勝つために —Winning the fight against Mastitis—, 竹村香里 訳, p p.10-13, p p.62-63, p p.108-113, デーリィ・ジャパン社. 東京.

SAS カテゴリカルデータ解析コース, 1994, SAS インストラクタージャパン, 東京.

Timms L. 2001. Field trial evaluations of a persistent barrier teat dip for preventing mastitis during the dry period as a potential alternative to dry cow therapy. Proceedings of the 2<sup>nd</sup> international symposium on mastitis and milk quality,

536-537

Williamson J. 2002. Dry period and heifer mastitis —Role of internal and external seal—. Proceedings of DeLaval Hygiene Symposium, Kansas, Missouri, USA, 91-99.

Williamson J, Woolford MW, Day AM. 1995. The prophylactic effect of a dry - cow antibiotic against *Streptococcus Uberis*. *New Zealand Veterinary Journal*, 43 ; 228 - 234

## ABSTRACT

In order to prevent the intramammary infections (IMI) in the udder by the environmental bacteria, the external Teat Sealant was applied in nine days before calving (period immediately before calving), and the examination which defends a bacterial invasion was done by closing the teat orifice. Using 13 multiparous cows 52 quarters and pregnant 131 cows 52 quarters which was expected from calving, Teat Sealant was applied to 2 quarters of the diagonal of the udder within a cow, and the remainder 2 quarters was made into the non-applied control. First immersion of Teat Sealant solution to teat was performed nine days before the estimated date of calving, and when the seal was torn off from teat, it carried out to Teat Sealant quarter that a seal re-attaches (2nd immersion) only once. After the seal was torn off at Teat Sealant quarters, the observations of the degree of contamination on those teats were also performed until calving. The milk sample was collected 2 or 3 times (nulliparous or multiparous cows, respectively) for the bacteriological examination, and the state of IMI immediately after calving and the state of IMI for one week after calving, was judged by the existence of the bacteria in these milk samples. The IMI preventive effect by Teat Sealant treatment was examined from the result. Moreover, it was also examined whether the self-sustaining days of adhesion in teat of the seal, the length of the days (non-protection days) to a delivery without the seal which attached the 2nd time, and other factors, such as contamination with manure, affect the IMI preventive effect.

About IMI immediately after calving, multiparous cows show no significant difference between Teat Sealant quarters and control quarters, and the IMI preventive effect by Teat Sealant treatment was not found. However, as nulliparous cows, those without IMI by Sealant quarters compared with

those with IMI, show significantly high percentage ( $P<0.05$ ), there was the IMI preventive effect. Moreover, about IMI for one week after calving, the preventive effect was not found in both multiparous and nulliparous cows. The continuance days of seal adhesion to a teat had most 2-4 days. At quarters by which the seal had adhered to teat to the calving, there were many those teats without IMI. At the quarter which Teat Sealant was torn off more than 3 days before calving, there were many with IMI. In nulliparous cows the calving actually took place earlier than an estimated date of calving, and there were many cows which calved as the scheduled day, and the Teat Sealant had adhered to teats until the calving in these quarters. On the other hand, in multiparous cows, there were many cows to which the actual calving took place later than an estimated date of calving, the days when Teat Sealant was torn off teat before calving tended to be long in those cows.

From these results, there were many multiparous cows actually calved later than an estimated date of calving, quarters with long non-protection days, i.e., the days in which the seal was torn off from teat before calving, increased, and IMI also increased. In addition, the teats became heavily contaminated with manure of this period when the Teat Sealant was torn off, furthermore IMI was easy to happen. In nulliparous cows, since the calving was early, or many cows calved as planned, quarters in which the seal has adhered to teats until the calving increased, and the IMI preventive effect showed up. Moreover, by teat whose non-protection days were long, since the teats of nulliparous cows became less contaminated with manure of this period, IMI did not happen easily. In quarters by which Teat Sealant had adhered to teats to the calving in this seal examination, the IMI preventive effect of immediately before calving was obvious. Therefore, if how to attach so that a seal may adhere to a calving is devised and used, it will be thought that an external Teat Sealant is an effective tool as an IMI prevention immediately before calving.

Keywords : Intramammary Infection (IMI), Peripartum period, IMI Prevention, External Teat Sealant, Nulliparous cows

# 土壌 pH がトマトの生育と食味に及ぼす影響, およびこれらに対する有機物施用の効果に関する研究

高橋伸彰<sup>1,2</sup>・山本紳朗<sup>1\*</sup>

(受付 : 2007 年 4 月 27 日, 受理 : 2007 年 6 月 22 日)

Effect of soil pH on the growth and taste of tomato, and efficacy of  
organic fertilizer in improvement of the tomato growth

Nobuaki Takahashi<sup>1,2</sup> and Shinrô Yamamoto<sup>1</sup>

## 摘要

土壌 pH と有機物施用が土壌有効態ミネラル濃度, トマトの生育, ミネラル濃度, 食味に及ぼす影響について調べた。硫酸および水酸化カルシウムにより土壌 pH を 4~10 に調整し, 化成肥料によりトマトを栽培した。また, これらの pH の土壌に堆肥とボカシ肥を合わせて施用し, トマトを栽培した。

土壌の有効態ミネラル濃度は, 酸性土壌においてはカリウム, カルシウム, マグネシウムは低下し, 鉄, マンガンは高まった。また, アルカリ性土壌においてはマグネシウム, 鉄, 亜鉛, マンガンは低下した。トマトの地上部および地下部乾物重は, 酸性およびアルカリ性土壌において大きく低下した。

トマト体内のミネラル濃度は, 酸性土壌ではカリウム, カルシウム, マグネシウムは低下し, マンガンは高まった。アルカリ性土壌では亜鉛, マンガンは低下した。トマトのミネラル吸収量は, 酸性およびアルカリ性土壌においてこれら全てのミネラルが大きく低下した。果実の酸度および食味は酸性土壌では低く, pH の増加にともない高まった。

有機物施用は, アルカリ性土壌において, トマトの乾物重とカリウム, カルシウム, マグネシウム, 亜鉛吸収を改善した。しかし, 土壌においてこれらのミネラルの有効態化は認められなかった。これより, 有機物施用によるアルカリ性土壌でのトマトの生育改善は, 土壌化学性への直接的な作用によるものではないと考えられる。

キーワード : 土壌 pH, 土壌有効態ミネラル, トマト, 植物ミネラル濃度, 有機質肥料。

## 緒言

酸性土壌やアルカリ性土壌ではミネラルの溶解性が変化し, 作物の生育不良が生じることが報告されている (Lucas and Davis 1961; Tyker and Olsson 2001; 松中 2003)。酸性土壌においてはアルミニウムやマンガンが溶

解し, 作物はこれらを過剰に吸収して生育不良を起こす (橋本 1982)。他方, アルカリ性土壌では亜鉛, 鉄, マンガンなどが不溶化し, 欠乏を生じる影響についての研究は少ない。

土壌 pH による作物の生育不良に対し, 有機物の施用が有効であることが報告されている。

1 帯広畜産大学畜産学部 生態系保護学講座 環境植物学研究室 〒080-8555 北海道帯広市稲田町西 2 線

1 Laboratory of Environmental Botany, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, Obihiro, Hokkaido 080-8555, Japan \* Corresponding author (e-mail: shyamam@obihiro.ac.jp)

2 現所属: ホクレン北見支所

2 present belonging: Kitami-branch, Hokuren

例えば、酸性土壌への有機物の施用は、マンガンやアルミニウムの毒性を低下させ、作物の生育を改善することが報告されている (Hoyt and Turner 1975; Jones and Kochian 1996; Andrade et al. 2002; Mokolobate and Haynes 2002)。また、有機質肥料は土壌物理性の改善、陽イオン交換容量の増大、リン酸の固定化防止と有効化、微量元素の供給源などの機能を持っており、作物の生育に影響をもたらすことが報告されている (Haynes and Naidu 1998; 原田・中井 2004)。こうした有機物の多様な機能は、土壌 pH にも影響し、ミネラル溶解度の調節や作物生育の改善をもたらすことが考えられる。しかし、酸性からアルカリ性までの土壌に対し有機物を施用し、どの酸度の土壌において作物生育に影響を及ぼすかについては研究が少ない。

本研究では、酸性からアルカリ性までの一連の土壌 pH について、トマトの生育、ミネラル濃度、食味に及ぼす影響を明らかにし、さらにこれらの影響に対する有機物施用による改善効果について調べた。

## 材料および方法

### 植物の育成

トマト (*Lycopersicon esculentum*, 品種ココ) の種子を 2006 年 4 月 1 日に育苗箱 (縦 30 cm, 横 60 cm, 深さ 4 cm) に 2 cm × 2 cm 間隔で播種し、昼夜 25/15℃ の人工気象室で育苗した。4 月 29 日に園芸用育苗土を満したポット (直径 10 cm, 深さ 9 cm) に移植した。6 月 15 日に草丈約 50 cm に育った苗を大型植木鉢 (直径 46 cm, 深さ 30 cm) に定植した。植木鉢には、以下に述べる方法により施肥、pH 調整した黒ボク土 32 kg (帯広畜産大学精密圃場) を予め入れておいた。これを野外で生育させ、脇芽を摘んで 1 本仕立てとした。8 月 20 日に第 5 花房の上方に 3 葉を残して摘心した。各 pH の土壌につき、2 植物体を実験に供した。

### 施肥方法

化学肥料あるいは有機質肥料を用いて基肥と 2 回の追肥を施用した (表 1)。化学肥料として 15-15-15 の化

表 1 有機質肥料の組成 (%)

	N	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	CaO	MgO	C	水分
牛糞堆肥	0.81	0.97	0.8	1.2	0.47	14.6	66.1
ボカシ肥	3.2	2.5	3.2	0.16	1.7	45.7	19.3

成肥料を用い、有機質肥料として牛糞堆肥とボカシ肥を

併用した。牛糞堆肥は 3 年間に 12 回切り返しを行い完熟したものを用いた。ボカシ肥は米ヌカとオカラを 7:3 で混合し、これに発酵菌 (コーラン) を 0.1 添加して調製した (重量比)。化学肥料区と有機質肥料区の施肥成分量を表 2 に示した。

表 2 化成肥料区と有機質肥料区の施用量

試験区	基肥			追肥						合計		
	N	P	K	1回目			2回目			N	P	K
				N	P	K	N	P	K			
化成肥料	3.3	3.3	3.3	3.3	3.3	3.3	3.3	3.3	3.3	10.0	10.0	10.0
有機質肥料	25.0	29.9	24.7	-	-	-	-	-	-	25.0	29.9	24.7
ボカシ肥	3.3	2.6	3.3	3.3	2.6	3.3	3.3	2.6	3.3	10.0	7.8	10.0

ポット当たり成分 g

両区の施肥量は、有効化される窒素量が等しくなるよう設定した。すなわち、化学肥料区は植物当たり基肥、追肥合計で窒素 10 g を施用した。有機質肥料区は、牛糞堆肥とボカシ肥の窒素がそれぞれ 20 および 50% 有効化されるものとして施用した。有機質肥料区は、基肥に牛糞堆肥とボカシ肥を、追肥にボカシ肥のみを施用した。両区とも基肥は 5 月 20 日-23 日に 32 kg の黒ボク土と混和した。1 回目および 2 回目の追肥はそれぞれ 7 月 30 日および 8 月 27 日に植木鉢の表面に施用した。

### 土壌 pH の調整

両基肥を加えた黒ボク土 (32 kg) を、硫酸あるいは消石灰により pH 調整した (表 3)。

表 3 土壌 pH の調整

	無施肥区		化成肥料区		有機肥料区			
	添加量 (g)	土壌 pH	添加量 (g)	土壌 pH	添加量 (g)	土壌 pH		
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	13.97	3.86	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	13.97	3.91	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	15.37	3.84
"	8.38	4.46	"	8.38	4.46	"	7.68	4.24
"	2.62	4.91	"	2.62	5.10	"	2.79	5.01
無添加	0	5.60	無添加	0	5.60	無添加	0	5.60
CaOH	1.56	6.46	CaOH	1.56	6.07	CaOH	2.56	6.27
"	6.25	7.15	"	6.25	6.87	"	7.28	7.20
"	10.15	7.94	"	10.15	7.46	"	12.03	7.83
"	18.43	8.53	"	23.12	8.49	"	24.68	8.61
"	29.68	9.25	"	32.81	9.22	"	34.37	9.23
"	45.62	10.31	"	48.75	10.07	"	48.75	9.91

土壌 1 kg に対する添加量

pH 調整は、動力ミキサーを用いて土壌を十分攪拌した。土壌 pH の測定は、土壌 20 g に蒸留水 50 ml を加えて攪拌し、上澄みを用いて行った。

### 果実の食味の測定

第 1-第 5 花房について、果実の食味を測定した。各花房について、最初に成熟した 3 果実を用いて糖度と酸度を測定した。果実は、水道水により洗浄後、ティッシュにより水分を拭き取った。果実表面を小さなナイフで突



き刺すことにより、少量の果汁を得た。果汁を用いて糖度を測定した。果実の残りの部分を、80℃の通風下において3日間乾燥した。乾物重を測定後、乳鉢で粉碎し、酸度およびミネラル濃度の測定に供した。また、各花房について、次に成熟した3果実を用いて味覚検査を行った。

糖度は、ブリックス屈折計 (Atago) により測定した。

酸度は、中和滴定法により測定した。粉末試料 0.1 g に蒸留水 10 ml を加え、30℃で20分間振盪した。ろ過後のろ液について (5 ml)、チモールブルーを指示薬として 0.01 M NaOH により中和滴定した。

味覚は人が食べて、評価した。10段階に分けて、良い味覚を高得点で表した。

### 植物体地上部および地下部重の測定

トマトの地上部および地下部を10月11日に採取した。地際で切断後、地下部は水道水により洗浄し、土壌を除いた。地上部および地下部を、80℃の通風下において3日間乾燥し、乾物重を測定した。その後、ワイヤー粉碎機により1.8 mmの篩を通るまで粉碎し、ミネラル濃度の測定に供した。

### 土壌および植物のミネラル濃度の測定

10月15日に土壌を採取し、風乾した。風乾土壌について、交換性カリウム、カルシウム、マグネシウム、可給態鉄、亜鉛、および易還元性マンガン濃度を測定した。交換性カリウム、カルシウム、マグネシウム、および易還元性マンガンは中性1M酢酸アンモニウムにより抽出した。可給態鉄および亜鉛はそれぞれ1M塩化カリウムおよび0.1M塩酸により抽出した。

トマト植物体からのミネラルの抽出は、粉末試料に1M塩酸を加え、24時間随時攪拌することにより行った。ろ紙によりろ過して、分析に供した。

ミネラル濃度の測定は原子吸光度法によった。共存ミネラルによる干渉は、塩化ストロンチウム (1000 ppm) を添加することにより抑制した。

## 結果

### 実験期間における土壌 pH の変化

トマトの生育前 (6月5日) および生育終期 (10月15日) における土壌 pH を表4に示した。施肥の種類にかかわらず生育前に pH 3.8~7.9 であった区は、生育終期に大きな変化は認められなかった。生育前に pH 8 以上

表4 生育前および終期における土壌 pH.

無施肥区		化成肥料区		有機肥料区	
初期	終期	初期	終期	初期	終期
3.86	3.96	3.91	4.05	3.84	4.04
4.46	4.31	4.46	4.37	4.24	4.36
4.91	5.12	5.10	4.77	5.01	5.07
6.46	5.93	6.07	6.24	6.27	6.23
7.15	6.96	6.87	6.89	7.20	7.06
7.94	7.69	7.46	7.64	7.83	7.71
8.53	7.90	8.49	7.93	8.61	7.97
9.25	8.47	9.22	8.43	9.23	8.38
10.31	8.84	10.07	8.88	9.91	8.80

生育前および終期としてそれぞれ6月5日と10月15日に測定した。

の区は、終期におよそ pH 0.5~1 低下した。以降は、実験区の土壌 pH は生育終期の値で表すことにする。

### 土壌 pH が地上部および地下部乾物重に及ぼす影響

土壌 pH がトマトの生育終期における地上部および地下部乾物重に及ぼす影響を図1に示した。無施肥区では、地上部および地下部重ともに土壌 pH 4 において低く、

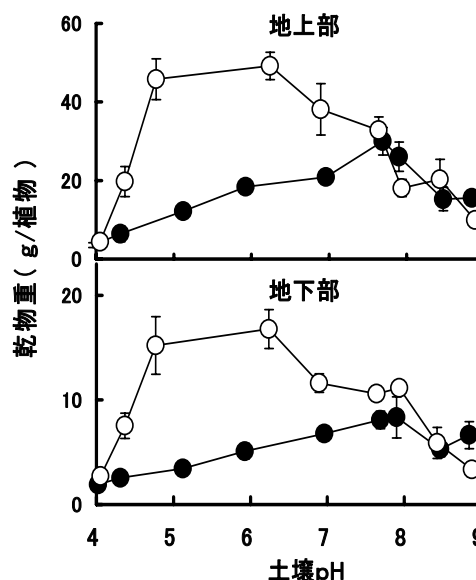


図1 土壌 pH がトマトの生育終期における地上部および地下部乾物重に及ぼす影響。  
○, 化成肥料; ●, 無施肥  
バーは標準偏差を示す (n=3)

pH の増加にともない増加した。pH 8 において地上部および地下部重ともに最大値を示し、それ以上の pH では減少した。化成肥料区では、土壌 pH 4 において地上部および地下部重ともに最も低く、pH 5~6.5 で最も高かった。pH 6.5 以上では急激に減少した。

### 土壌 pH が土壌有効態ミネラル濃度に及ぼす影響

土壌 pH が土壌の有効態ミネラル濃度に及ぼす影響を図2に示した。交換性カリウム濃度は無施肥区および化成肥料区ともに、pH 4 で低く、pH 5 まで増加し、それ

以上では大きな変化は認められなかった。交換性カルシウム濃度は無施肥区および化成肥料区ともに、pH 4 で低く、pH の増加にともない増加した。交換性マグネシウム濃度は無施肥区では、pH 4 で低く、pH 6 まで増加し、それ以上で漸減した。化成肥料区では pH 7 まで増加し、それ以上で減少した。可給態鉄濃度は無施肥区および化成肥料区ともに、pH 4 で最も高く、pH の増加にともない急激に減少した。可給態亜鉛濃度は無施肥区および化成肥料区ともに、pH 6 まで高く、それ以上では急激に減少した。易還元性マンガン濃度は無施肥区および化成肥料

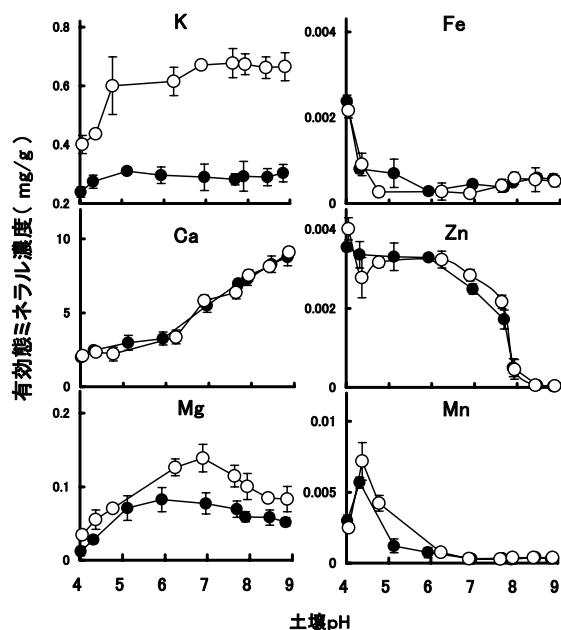


図2 土壌pHが土壌の有効態ミネラル濃度に及ぼす影響。  
○, 化成肥料; ●, 無施肥  
バーは標準偏差を示す (n=3)

料区ともに、pH 4.5 でもっとも高く、pH の増加にともない急激に減少した。

### 土壌 pH がトマトの地上部, 地下部ミネラル濃度に及ぼす影響

土壌 pH がトマトの生育後期における地上部および地下部ミネラル濃度に及ぼす影響を図 3 および図 4 に示した。地上部では、カリウム濃度は無施肥区および化成肥料区ともに土壌 pH 4 で低く、pH の増加にともない増加した。無施肥区では pH 5~7.5 で最大になり、それ以上では急激に低下した。化成肥料区では、pH 6~8 で最大になり、それ以上では少し低下した。カルシウムおよびマグネシウム濃度は無施肥区および化成肥料区ともに

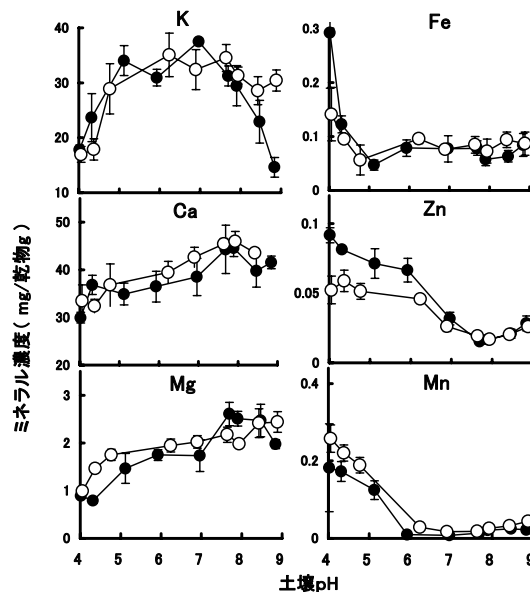


図3 土壌pHがトマト地上部のミネラル濃度に及ぼす影響。  
○, 化成肥料; ●, 無施肥  
バーは標準偏差を示す (n=3)

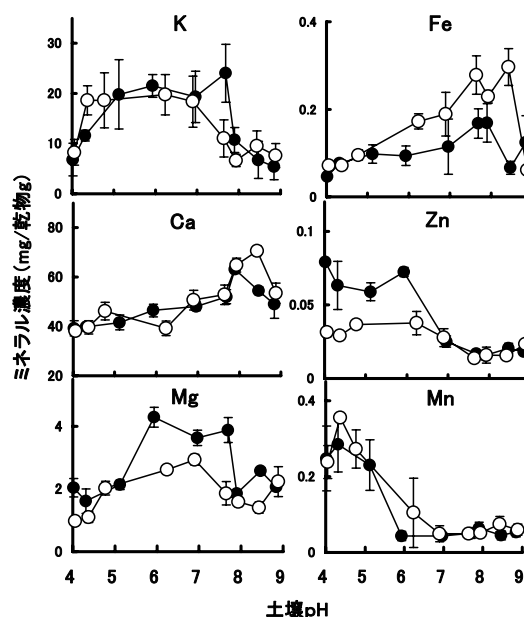


図4 土壌pHがトマト地下部のミネラル濃度に及ぼす影響。  
○, 化成肥料; ●, 無施肥  
バーは標準偏差を示す (n=3)

pH 4 で低く、pH の増加にともない高まった。この中、カルシウムは pH 8 以上で少し低下した。鉄濃度は無施肥区および化成肥料区ともに pH 4 で最も高く、pH 5 まで急激に低下し、それ以上では変化は認められなかった。亜鉛濃度は、無施肥区では pH 4 で最も高く、pH 8 まで低下し、それ以上で少し増加した。化成肥料区では pH 4 ~6 まで大きな変化はなく、pH 8 まで低下し、それ以上では少し増加した。マンガン濃度は無施肥区および化成肥料区ともに pH 4 で最も高く、pH 6 まで低下し、それ

以上では変化は認められなかった。

他方、地下部では、カリウム、カルシウム、亜鉛、マンガン濃度は地上部と同様の变化を示した。マグネシウム濃度は、無施肥区では pH 6~8 で最も高く、pH 8~9 で低下した。化成肥料区では pH 7 で最も高かった。他方、鉄濃度は地上部と全く異なり、無施肥区および化成肥料区ともに pH 4 で最も低く、pH 8 まで増加し、それ以上で低下した。

### 土壌 pH がトマト果実のミネラル濃度に及ぼす影響

土壌 pH がトマト果実のミネラル濃度に及ぼす影響を図 5 に示した。カリウム濃度は、無施肥区では pH 4 で低く、pH 5~7 で高まり、それ以上で低下した。化成肥料区では pH による顕著な変化は認められなかった。カルシウム濃度は無施肥区および化成肥料区ともに、pH 4 で低く、pH の増加にともない増加した。マグネシウム

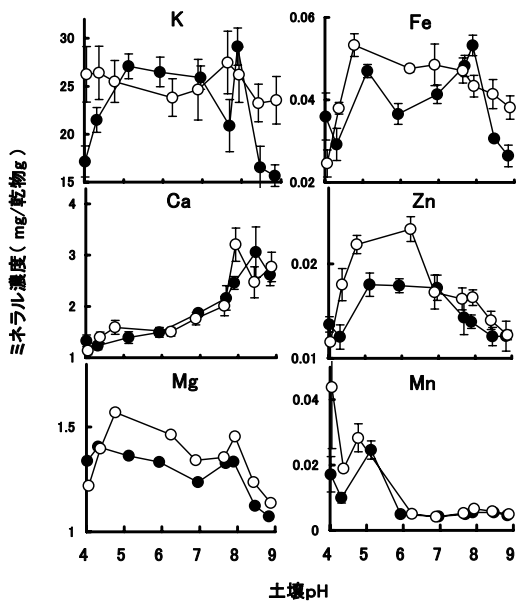


図5 土壌pHがトマト果実のミネラル濃度に及ぼす影響。  
○, 化成肥料; ●, 無施肥  
バーは標準偏差を示す(n=3)

濃度は、無施肥区および化成肥料区ともに pH 4 で低く、pH 4.5~5 で最も高く、pH 7 まで低下し、pH 8 で高まり、それ以上で急激に低下した。鉄濃度は無施肥区および化成肥料区ともに pH 4 で低く、pH 5 で高まった。化成肥料区ではそれ以上の pH で低下した。無施肥区では pH 6 で低下し、pH 8 で高まり、それ以上で急激に低下した。亜鉛濃度は無施肥区および化成肥料区ともに pH 4 で低く、pH 5~7 で高く、それ以上で低下した。マンガン濃度は無施肥区および化成肥料区ともに pH 4~5 で高く、pH 6 まで低下し、それ以上では低かった。

### 土壌 pH がトマト植物体のミネラル吸収量に及ぼす影響

土壌 pH がトマトのミネラル吸収量に及ぼす影響を図 6 に示した。カリウム、カルシウム、マグネシウム、

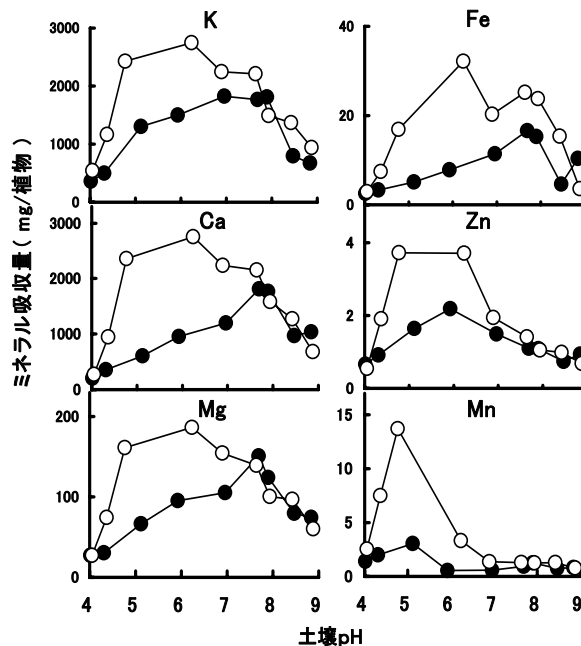


図6 土壌pHがトマトのミネラル吸収量に及ぼす影響。  
○, 化成肥料; ●, 無施肥

鉄の吸収量は無施肥区および化成肥料区ともに、pH 4 で低く、pH の増加にともない増加した。無施肥区では pH 7~8 で最も高く、それ以上では低下した。化成肥料区では pH 6 で最も高く、それ以上では低下した。亜鉛吸収量は無施肥区および化成肥料区ともに pH 4 で低く、pH の増加にともない増加した。無施肥区では pH 6 で最も高く、それ以上で低下した。化成肥料区は pH 5~6 で最も高く、それ以上で低下した。マンガン吸収量は無施肥区および化成肥料区ともに pH 5 で最も高く、それ以上で低下した。

### 土壌 pH がトマト果実の食味に及ぼす影響

土壌 pH がトマト果実の食味に及ぼす影響を図 7 に示した。果実の糖度は無施肥区では pH 4 で最も高く、pH の増加にともない低下し、pH 5~9 では顕著な変化は認められなかった。化成肥料区では pH 4~6 で高く、pH 7 で低下し、pH 7.5~9 で高かった。果実の酸度は無施肥区および化成肥料区ともに pH 4 で最も低く、pH の増加にともない pH 8 まで増加した。それ以上の pH では無施肥区は低下し、化成肥料区は顕著に変化しなかった。果実の人による味覚は無施肥区および化成肥料区ともに pH 4 で最も低く、pH 5 まで高まり、それ以上では著しい変化は認められなかった。

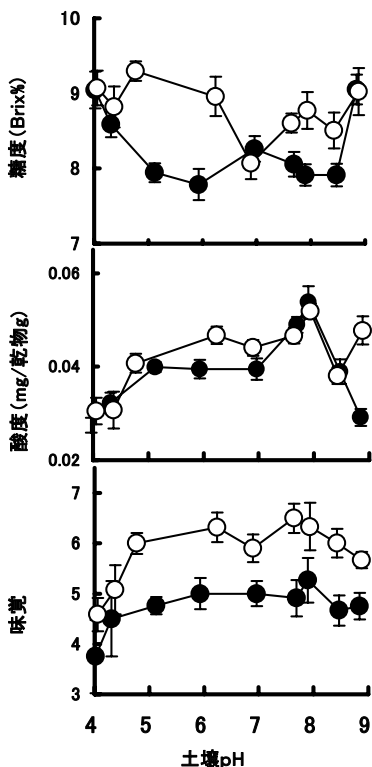


図7 土壌pHがトマト果実の食味に及ぼす影響。  
○, 化成肥料; ●, 無施肥  
バーは標準偏差を示す(n=3)

**有機物の施用が地上部および地下部乾物重に及ぼす影響**

有機物の施用が異なる pH の土壌におけるトマトの地上部および地下部乾物重に及ぼす影響を図8に示した。

地上部および地下部重ともに、有機質肥料区は化成肥料区に比べ pH 5~6 で低く、pH 8 以上で高かった。

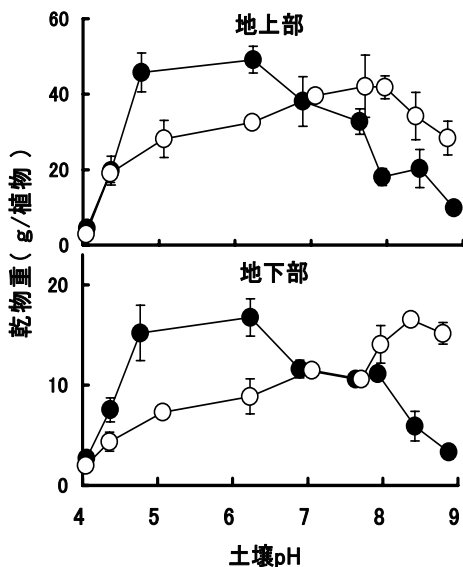


図8 有機物の施用が異なるpHの土壌における  
トマトの地上部および地下部乾物重に及ぼす影響。  
○, 有機質肥料; ●, 化成肥料  
バーは標準偏差を示す(n=3)

**有機物の施用が土壌有効態ミネラル濃度に及ぼす影響**

有機物の施用が異なる pH の土壌の有効態ミネラル濃度に及ぼす影響を図9に示した。交換性カリウム、カルシウム、可給態鉄、易還元性マンガン濃度は、土壌 pH 4~9 において有機質肥料区および化成肥料区間で差異は認められなかった。交換性マグネシウム濃度は pH 4.5~9 において有機質肥料区が化成肥料区より高かった。可給態亜鉛濃度は pH 4~7 において有機質肥料区が高かった。

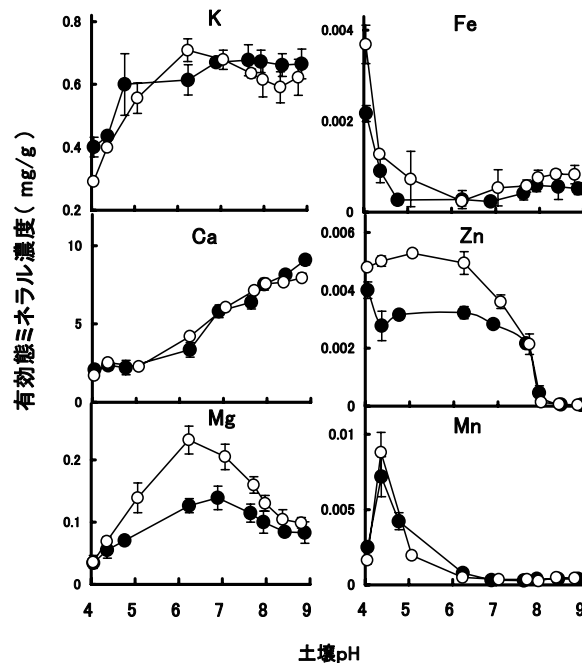


図9 有機物の施用が異なるpHの土壌における有効態ミネラル濃度に及ぼす影響。  
○, 有機質肥料; ●, 化成肥料  
バーは標準偏差を示す(n=3)

**有機物の施用が地上部のミネラル濃度に及ぼす影響**

有機物の施用が異なる pH の土壌におけるトマト地上部のミネラル濃度に及ぼす影響を図10に示した。カリウム、鉄、マンガン濃度は、土壌 pH4~9 において有機質肥料区および化成肥料区間で差異は認められなかった。カルシウム濃度は、pH5~8 において有機質肥料区が化成肥料区より低かった。マグネシウム、亜鉛濃度は、それぞれ pH5~8.5, pH4~7 において有機質肥料区が高かった。

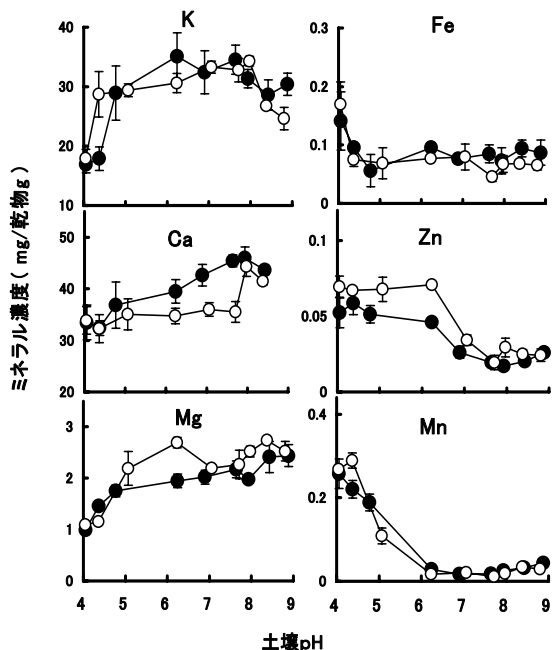


図10 有機物の施用が異なるpHの土壌におけるトマト地上部のミネラル濃度に及ぼす影響。  
○, 有機質肥料; ●, 化成肥料  
バーは標準偏差を示す(n=3)

#### 有機物の施用が地下部のミネラル濃度に及ぼす影響

有機物の施用が異なる pH の土壌におけるトマト地下部のミネラル濃度に及ぼす影響を図 11 に示した。カリウム、マグネシウム濃度は、土壌 pH 4.5~9 において有機質肥料区が化成肥料区より高かった。亜鉛濃度は、土壌 pH 4~8 において有機質肥料区が化成肥料区より高かった。カルシウム濃度は、pH 4~9 において有機質肥料区および化成肥料区間で差異は認められなかった。鉄、マンガン濃度は、それぞれ pH 7~9 および 5~6 において有機質肥料区が低かった。

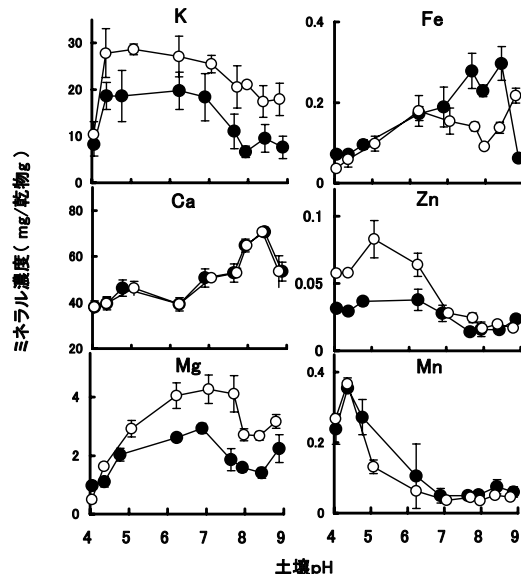


図11 有機物の施用が異なるpHの土壌におけるトマト地下部のミネラル濃度に及ぼす影響。  
○, 有機質肥料; ●, 化成肥料  
バーは標準偏差を示す(n=3)

#### 有機物の施用が果実ミネラル濃度に及ぼす影響

有機物の施用が異なる pH の土壌における果実のミネラル濃度に及ぼす影響を図 12 に示した。カリウム、カル

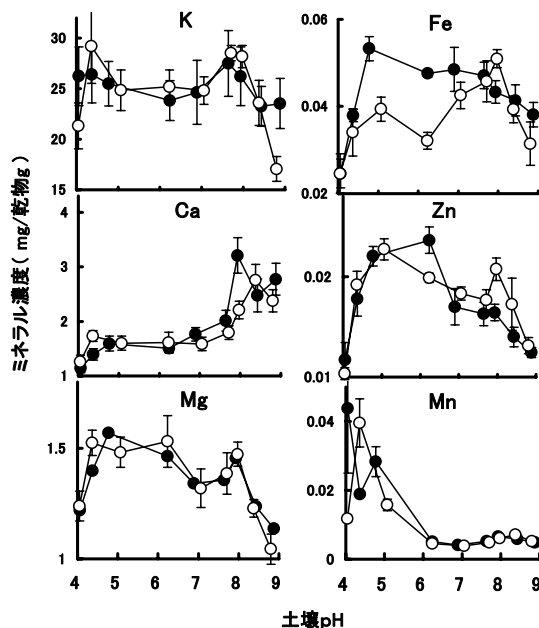


図12 有機物の施用が異なるpHの土壌におけるトマト果実のミネラル濃度に及ぼす影響。  
○, 有機質肥料; ●, 化成肥料  
バーは標準偏差を示す(n=3)

シウム、マグネシウム、マンガン濃度は、土壌 pH 4~9 において有機質肥料区および化成肥料区間で顕著な差異は認められなかった。鉄濃度は、pH 5~7 において有機質肥料区は化成肥料区より低かった。亜鉛濃度は pH 7~8.5 まで有機質肥料区が高かった。

### 有機物の施用がトマト植物体のミネラル吸収量に及ぼす影響

有機物の施用が異なる pH の土壌におけるトマト植物体のミネラル吸収量に及ぼす影響を図 13 に示した。カリウム、カルシウム、マグネシウム、亜鉛吸収量は、酸性

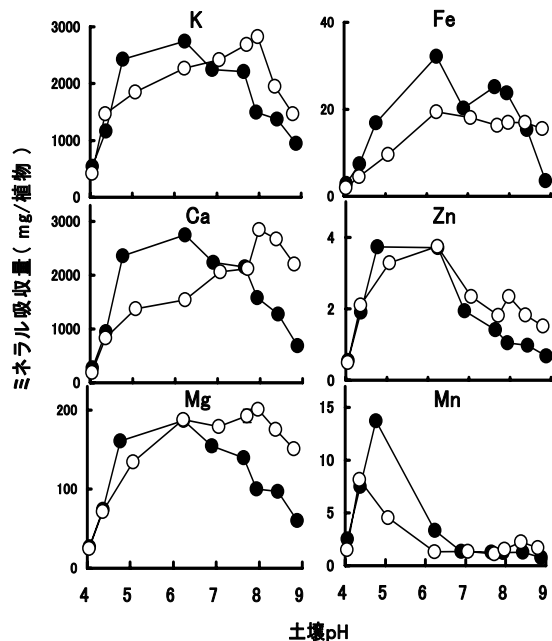


図13 有機物の施用が異なるpHの土壌におけるトマトのミネラル吸収量に及ぼす影響。  
○, 有機質肥料; ●, 化成肥料

土壌においては有機質肥料区が化成肥料区より低く、アルカリ性土壌においては有機質肥料区が高かった。鉄、マンガン吸収量は、それぞれ土壌 pH 5~8, 5~6 において有機肥料区が低かった。

### 有機物の施用がトマト果実の食味に及ぼす影響

有機物の施用が異なる pH の土壌におけるトマト果実の食味に及ぼす影響を図 14 に示した。果実糖度は、土壌 pH 4.5~6 において有機質肥料区は化成肥料区より低かった。果実酸度は、有機質肥料区が土壌 pH 6~7 で低く、pH 8~9 で高かった。果実の味覚は、有機質肥料区が pH 6~8 で低く、pH 8.5 で高かった。

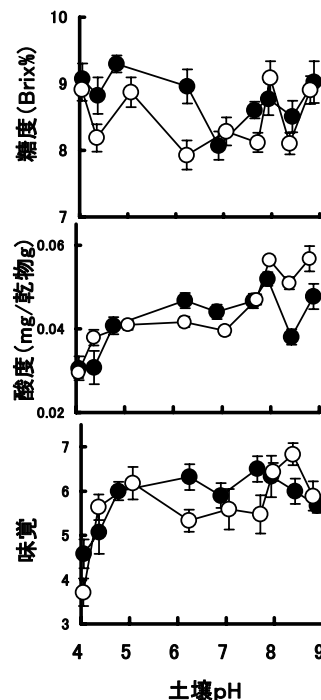


図14 有機物の施用が異なるpHの土壌におけるトマト果実の食味に及ぼす影響。  
○, 有機質肥料; ●, 化成肥料  
バーは標準偏差を示す(n=3)

### 考 察

土壌酸度はミネラルの溶解性に影響し、過度な場合には作物に過剰害や欠乏症を引き起こすことが報告されている (Lucas and Davis 1961, Tyker and Olsson 2001, 松中 2003)。本研究のトマトの栽培では、酸性土壌においては交換性カリウム、カルシウム、マグネシウム濃度は低下し、植物体内のこれらのミネラル濃度も低下した (図 2~4)。また反対に可給態鉄、易還元性マンガン濃度は高まり、植物体内のマンガン濃度も高まった。他方、アルカリ性土壌においては、交換性マグネシウム、可給態鉄、可給態亜鉛、易還元性マンガン濃度は低下し、植物体内の亜鉛、マンガン濃度が低下した。以上のことから、トマト体内のミネラル濃度は、土壌 pH によるミネラル溶解性の変化に符合して変動するものと考えられる。

トマトの地上部および地下部乾物重は、酸性およびアルカリ性土壌において大きく低下した (図 1)。これらの低下には、上記のトマト体内のミネラル濃度の変動が関与していることが考えられる。カリウム、カルシウム、マグネシウムの欠乏は炭水化物の代謝異常、細胞壁や原形質生成の異常、クロロフィルの合成低下を、亜鉛、マンガンの欠乏は光合成やタンパク質合成の低下、伸長成

長の抑制をそれぞれ引き起こすことが報告されている (深見ら 2001)。また、鉄、マンガンの過剰は光合成能力の低下、根の伸長抑制、根からの各種ミネラルの吸収阻害を引き起こすことが報告されている (Vlamiš and Williams 1973, Kinder and Parker 1987, Bot et al. 1990, Dučić and Polle 2005)。本研究におけるトマトの生育低下に、どのようなミネラルの過不足が関与しているかは、今後の研究課題である。

土壌 pH とトマトのミネラル吸収量の関係を見ると、酸性およびアルカリ性土壌においては、測定した全てのミネラルの吸収量は低下した (図 6)。他方、土壌ミネラルの溶解性は前述のように、酸性土壌ではカリウム、カルシウム、マグネシウムが低く、アルカリ性土壌ではマグネシウム、鉄、亜鉛、マンガンが低かった。したがって、これらのミネラルについては、溶解性の低下により低吸収が生じていることが考えられる。なお、酸性土壌における鉄、亜鉛、マンガンおよびアルカリ性土壌におけるカリウム、カルシウムの低吸収の解明は今後の研究課題である。

果実の食味に対する影響では、酸性土壌において酸度と味覚は低下した (図 7)。トマトの果実の酸味は、主にクエン酸によることが知られている (長谷川ら 2005)。クエン酸は植物体内においてキレートを形成し、味覚への間接的な影響が予想される (Brown and Chaney 1971; White 1981)。酸性土壌における果実酸度と味覚の低下の関連については、今後の研究課題である。

有機物の施用により、アルカリ性土壌においてトマトの地上部および地下部重が大きく改善された (図 8)。また、カリウム、カルシウム、マグネシウム、亜鉛の吸収も改善された (図 13)。しかし、土壌の可給態ミネラル濃度は、マグネシウムと鉄のみが僅かに高まったのみであった (図 9)。Wang et al. (2005) および Kemmit et al. (2006) は、土壌 pH の増加にともない微生物活性が高まることを報告している。また、郡司掛 (1999) は、高 pH において微生物による有機質の無機化が高まることを報告している。したがって、有機物施用によるアルカリ性土壌でのトマトの生育改善は、土壌化学性への直接的な作用によるものではなく、微生物作用による間接的な効果によることが考えられる。有機物による微生物をはじめとする土壌生態系への効果は、今後の研究課題である。

世界においては、アルカリ性土壌が乾燥地帯を中心に広く分布している。本研究で明らかになった有機物による施用効果は、そうしたアルカリ性土壌における作物生産の改善に有用と考えられる。本研究は、有機質肥料の

単年施用により調べたものである。一般に、有機物の施用効果は 3~5 年間の連用によりはじめて明確に現れる。今後は、長期の施用に基づいた調査、研究が必要と考えられる。

## 謝 辞

原子吸光法によるミネラル測定で、筒木潔教授、谷昌幸助教授にお世話になった。記して御礼申し上げます。

## 引用文献

- Andrade E, Miyazawa M, Pavan MA, de-Oliveira EL 2002. Effect of organic matter on manganese solubility. *Brazil Arch Biol Technol* 45:17-20
- Bot JL, Goss MJ, Carvalho MJ, Van-Beusichem MJGPR, Kirkby EA. 1990. The significance of the magnesium to manganese ratio in plant tissues for growth and alleviation of manganese toxicity in tomato (*Lycopersicon esculentum*) and wheat (*Triticum aestivum*) plants. *Plant Soil* 124: 205–210
- Brown JC, Chaney RL. 1971. Effect of iron on the transport of citrate into the xylem of soybeans and tomatoes. *Plant Physiol* 47: 836-840
- Dučić T, Polle A. 2005. Transport and detoxification of manganese and copper in plants. *Braz J Plant Physiol* 17: 103-112
- 深見元弘, 森裕敏, 前忠彦, 米山忠克. 2001. 植物栄養学, 文永堂出版, 東京. pp.166-170
- 郡司掛則昭. 1999. 農業技術大系 土壌施肥編 7-1, 農村漁村文化協会, 東京. pp.256-256
- 原田靖夫, 中井祐. 2004. 微生物を活用した堆肥化大全, 肉牛新報社, 東京. pp.54-61,
- 長谷川和久, 森敏, 吉田企世子. 2005. 野菜の成分とその変動, 学文社, 東京. pp.36-63
- 橋本武. 1982. 酸性土壌と作物生育, 養賢堂, 東京. pp.40-51
- Haynes RJ, Naidu R. 1998. Influence of lime, fertilizer and manure application on soil organic matter content and soil physical condition. *Nutr Cycl Agro-ecosyst* 51:123-137
- Hoyt PB, Turner RC. 1975. Effects of organic materials added to very acid soils on pH, aluminium, exchangeable  $\text{NH}_4$  and crop yields. *Soil Science* 119: 227-237
- Jones DL, Kochian LV. 1996. Aluminium organic acid interactions in acid soils. *Plant Soil* 182: 221-228

- Kemmit SJ, Wright D, Goulding KWT, Jones DL 2006. pH regulation of carbon and nitrogen dynamics in two agricultural soils. *Soil Biol Biochem* 38: 898-911
- Kinder TB, Parker DR. 1987. Cation amelioration of aluminium toxicity in wheat. *Plant Physiol* 83: 546-551
- 久馬一剛, 佐久間敏夫, 庄子貞雄, 鈴木皓, 服部勉, 三土正則, 和田光史. 1993. 土壌の辞典, 朝倉書店, 東京. pp.268-460
- Lucas RE and Davis JF. 1961. Relationships between pH values of organic soils and availabilities of 12 plant nutrients. *Soil Science* 92: 177-182
- 松中照夫. 2003. 土壌学の基礎, 農山漁村文化協会, 東京. pp.134-159
- Mokolobate MS, Haynes RJ. 2002. Increases in pH and soluble salts influence the effect that additions of organic residues have on concentrations of exchangeable and soil solution aluminium. *Europ J Soil Sci* 53: 481-489
- Tyker G, Olsson T. 2001. Concentration of 60 elements in the soil solution as related to the soil acidity. *Europ J Soil Sci* 52: 151-165
- Vlams J, Williams DE . 1973. Manganese toxicity and marginal chlorosis of lettuce. *Plant Soil* 39: 245-251
- Wang AS, Angle JS, Chaney RL, Delorme TA, McIntosh M. 2005. Change in soil biological activities under reduced soil pH during *Thlaspi caerulescens* phytoextraction. *Soil Biol Bioch* 38: 1-11
- White CM. 1981. Metal complexation in xylem fluid. Chemical composition of tomato and soybean stem exudates. *Plant Physiol* 67: 292-300
- soil pH, while those of Mn and Fe increased. Concentrations of Zn and Mn in the plant decreased at high soil pH. Amounts of K, Ca, Mg, Fe and Zn absorbed into the plant decreased extensively at low and high soil pHs. Concentration of acid and deliciousness of the fruit decreased at low soil pH. Application of organic fertilizer improved dry weights of shoot and root, and mineral absorption of the plant at high soil pH, while the concentration of available forms of minerals in the soil scarcely changed, implying that some element other than chemical effect functions in the promotion.

**Key words:** organic fertilizer, plant mineral, soil mineral of available form, soil pH, tomato.

## Summary

Effects of soil pH on the growth and taste of tomato, and application of organic fertilizer on improvement of the tomato growth were investigated. Tomato was cultivated in andosol adjusted to pH 4-9 with H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> or Ca(OH)<sub>2</sub> with application of compound fertilizer or organic fertilizer (compost + bokashi) at the same available N level.

Concentrations of available K, Ca and Mg in the soil decreased at low soil pH, while those of available Fe and Mn increased. Concentrations of available Zn, Mn and Fe decreased in the soil of high pH. Dry weights of shoot and root of tomato decreased extensively at the low and high soil pHs. Concentrations of K, Ca and Mg in the plant decreased at low



# 磁性微粒子による遺伝子の導入と細胞の磁力選抜

角田英男<sup>1</sup>, 堀川 洋<sup>2</sup>

(受付: 2007年4月27日, 受理: 2007年6月22日)

## Magnetic particle-mediated gene transfer and magnetic selection of cells

Hideo Kakuta<sup>1</sup>, Yoh Horikawa<sup>2</sup>

### 摘 要

微粒子銃装置 (パーティクルガン) を用いて, 磁性微粒子に遺伝子を担持させてタバコ (*Nicotiana rustica*) 培養細胞やトウモロコシ (*Zea mays* L.), アスパラガス (*Asparagus officinalis* L.) およびカボチャ (*Cucurbita pepo* L.) の花粉に遺伝子を導入し磁力選抜を行った。磁性微粒子として, 酸化鉄 (マグネタイト, フェライト), 鉄, ニッケル, 鉄酸化物・金複合微粒子および金微粒子を用いた。一過的遺伝子の導入発現効率, CaMV 35S プロモーターと NOS ターミネーターを組み込んだ GUS 遺伝子を含むプラスミド pBI221 を用いて評価した。金微粒子を用いて遺伝子導入した時の一過的発現効率は低かったが, 磁性微粒子を用いて磁気による細胞濃縮と磁力選抜を行うことによって遺伝子発現効率は顕著に増加した。例えば, トウモロコシ花粉へ磁性を有する酸化鉄微粒子 (マグネタイト) を用いて撃ちこんだ時, GUS 遺伝子発現効率は  $8.5 \times 10^{-4}$  から  $2.1 \times 10^{-2}$  へと 25 倍の向上があった。また, 同様にカボチャ花粉の場合は  $6 \times 10^{-4}$  から  $2.3 \times 10^{-2}$  へと約 38 倍の効果があったが, アスパラガス花粉についてはあまり大きな効果は認められなかった。これらの結果をもとに, 除草剤 biaraphos に抵抗性を有する *bar* 遺伝子を含むプラスミド pARK22 を磁性微粒子を用いてトウモロコシ, およびカボチャ花粉に撃ちこんだ。磁力選抜した花粉を受粉し, 結実した種子を獲得した。その結果, トウモロコシの場合は  $5.3 \times 10^3$  あるいは  $7.5 \times 10^2$  の形質転換体作出効率が達成され, カボチャの場合は  $2.3 \times 10^2$  の形質転換体作出効率が得られた。

磁性微粒子を用いた新しいパーティクルガンプロセスは, 磁力選抜により遺伝子導入細胞を高い効率で回収でき, また遺伝子導入花粉を受粉して簡便に形質転換体を作出する手法の発展に非常に有効であることが認められた。

**キーワード:** パーティクルガン, 磁性微粒子, 磁力選抜, 花粉, 形質転換

### 緒 言

植物細胞への遺伝子導入方法には, アグロバクテリウムの Ti プラスミドを遺伝子導入ベクターとして利用する方法や, プロトプラストを対象にした化学的なポリエチレングリコー

ル法, あるいは電氣的に細胞壁に穴を開けて遺伝子を導入するエレクトロポレーション法などが知られている。その他マイクロインジェクションやレーザーパルスによる細胞穿孔法などもある。

1 植物情報物質研究センター (北海道恵庭市)

Plant Eco-chemicals Research Center (Eniwa, HOKKAIDO)

2 帯広畜産大学食料生産科学講座

Department of Food Production Science, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine.

一方、1987年以降に Klein *et al.* (1987), Christou *et al.* (1988)により外来遺伝子の一過的発現や新しいトランスジェニック植物の作出法としてパーティクルガン(微粒子銃)法が報告された。この手法は、例えば金などの金属微粒子(マイクロプロジェクトイル)を担体として遺伝子を吸着固定し、弾丸(マイクロプロジェクトイル)の先端から高速で細胞に打ちこむ方法である。この手法の特徴は、細胞壁を持つ植物細胞の種や形態を問わずに物理的に遺伝子を導入できることである。Kakuta *et al.* (1986)は、超微粒子と称されるナノ・マイクロサイズの磁性微粒子に酵素、抗体および遺伝子などの微粒子表面への吸着固定や相互作用について報告した。その後、微粒子をDNAの他にウイルス由来RNAや植物由来の低分子化学物質の細胞導入用担体として用いることができること、さらに磁性微粒子を用いた遺伝子導入と磁気的な細胞選抜が可能なることを報告した(Kakuta *et al.*, 1992, 1993, 1997)。

このような微粒子を用いた遺伝子導入法は、労力と時間を要する細胞壁の除去プロセスを省略することができるのでプロトプラストの作成が困難な植物種にとって有効な手法と考えられ、Morikawa *et al.* (1989)や Hiruki *et al.* (1993)の報告が行われた。一方、形質転換植物を作出するためには、従来では、遺伝子導入処理後に体細胞を培養する煩雑な操作が必要であった。しかしながら Hess (1987)によって、遺伝子導入花粉を直接受粉するだけで、培養なしに簡便に形質転換種子を作出できる新たな手法の開発が検討されていた。そのためにパーティクルガン法を用いてタバコ(Twell *et al.*, 1989)、ユリやトウモロコシ(Nishimura *et al.*, 1993)の花粉を対象とした遺伝子の導入が試みられた。その後、Horikawa *et al.* (1997)は、磁性を有する酸化鉄微粒子(マグネタイト)を用いてトウモロコシ花粉への遺伝子導入後に、磁力選抜した花粉を直接受粉させることによって、高い効率で形質転換体を得ることに成功した。

最近になり、ナノ・マイクロ領域の微粒子評価技術や合成技術が進展し、微粒子を用いた生体分子の検出や診断およびDNAの分離などが盛んに研究され実用化が進んでいる。一方、微粒子銃法による遺伝子導入技術については、その担体となる微粒子の改良と効率の改善に関する報告例は少ない。そこで本研究は、磁力選抜が可能なる微粒子銃法において、磁性微粒子やその複合化微粒子などを用いたときの遺伝子導入・発現や形質転換への影響について明らかにすることを目

的とした。

## 実験方法

### 1. 植物材料

微粒子による一過的な遺伝子の打ち込みと発現を評価するために、所定の方法で培養した培養4日目のタバコ(*Nicotiana rustica*)培養細胞(BY-2)を用いた。花粉試料は、春から秋にかけて温室内で生育させたトウモロコシ(*Zea mays* L.)およびアスパラガス(*Asparagus officinalis* L.)花粉を採取して用いた。トウモロコシ花粉はショ糖 30g/lのMS培地に、アスパラガス花粉はショ糖 300g/lに調製し H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>200mg/lを含むMS培地(Murashige *et al.*, 1962)に懸濁させた。これらの花粉はおおよそ 10<sup>4</sup>/ml程度の粒子濃度になるように調節し、その適量を真空吸引によりフィルター(0.45 μm 孔径)に吸着固定後、1%の寒天培地上に置床して微粒子銃による打ち込みを行った。また同様の方法で開葯直前のカボチャ(*Cucurbita pepo* L.)花粉を用い微粒子銃による打ち込みを行った。

### 2. 微粒子材料

微粒子は、湿式法で合成された市販の金微粒子(直径 1 μm)、酸化鉄微粒子(マグネタイト、直径 0.3 μm と 0.6 μm; フェライト、直径 0.3 μm)、鉄微粒子(直径 1.2 μm)、ニッケル微粒子(直径 1 μm)および低真空下のガス中蒸発法で生成された鎖状の鉄超微粒子(鉄ナノ粒子、短径 0.03 × 長径 0.5 μm)などを用いた。また、金微粒子(直径 0.9 μm)を芯物質のシート粒子として、金属アルコキシドのトリブトキシ鉄(Fe [O<sub>4</sub>(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>]<sub>3</sub>)をオクタノール/アセトニトリル水溶液中で還流加水分解し、微粒子表面を酸化鉄で被覆した金-鉄複合微粒子(直径 1 μm)も用いた。

### 3. 微粒子材料と微粒子撃ち出し速度の評価

微粒子の平均粒径は、微粒子を界面活性剤を添加した水溶液に懸濁し、レーザー回折式粒度分布測定装置 SALD - 300V(島津製作所)を用いて測定した。また、超微粒子(ナノ粒子)は、透過型電子顕微鏡 JEM2000EX(日本電子)を用いて直接試料観察と写真撮影により平均粒径を測定した。また、一部の微粒子は走査型電子顕微鏡 JSM-T220(日本電子)により微粒子の形態や大きさを観察計測した。微粒子銃から高速で撃ち出される微粒子の速度は、PCS 粒子計測システム(日本レーザー)を用い大気圧下で計測した。

#### 4. プラスミド

導入するプラスミド DNA には、CAMV35S プロモーターと NOS ターミネーターを有する  $\beta$ -グルクロニダーゼ遺伝子が組み込まれた GUS (pBI221)、およびオワンクラゲ由来の緑色蛍光蛋白遺伝子が組み込まれた sGFPS65T (pARK22) を用いた。また、形質転換体を得る場合には *bar* 遺伝子を含む pARK22 を用いた。

#### 5. 微粒子銃装置と微粒子の撃ち込み

微粒子銃装置は独自に工夫したステンレス製真空容器に、ステンレス製シリンダー (銃身、内径 5mm×外径 15mm×標準長さ 250mm) を下向きに真空用ゲージポートを通して取り付け、容器内部に上下可動の試料積載ステージが取り付けられている構造のものを用いた。遺伝子と微粒子の混合懸濁液を先端にコーティングしたポリアセタール製弾丸は、圧力を 10~30kg/cm<sup>2</sup> に調節された窒素ガスにより駆動され、電磁弁を短時間開閉することにより、植物試料にむけて撃ちこまれる。なお弾丸の減速を避けるため、容器内は 1.3 - 13Kpa (10~100mmHg) に真空ポンプにより減圧される。試料までの距離は銃身先端のストッパーから 2.5~10cm 程度とし、風圧や試料の性状によりその距離を変えて撃ち込みを実施した。遺伝子を担持させた微粒子は、一試料について 3 回撃ちこまれた。この微粒子銃装置を改良し、同一の寸法の銃身を備えクリーンベンチ内で無菌的取り扱いが可能な、分解・可搬型のアクリル製小型微粒子銃装置も試作して実験に用いた。

微粒子へのプラスミド DNA の固定 (コーティング) は、ボルテックスミキサーで攪拌後に、超音波を照射して分散させた微粒子のエタノール懸濁液 (5wt%) とプラスミド DNA を含むリン酸緩衝液を等量 (各 10  $\mu$ l) 混和し、その 2  $\mu$ l を弾丸の先端部分 (直径 2mm) に滴下し自然風乾することにより行われた。微粒子の直径や表面性状により固定するプラスミド DNA 量は変化させたが、1  $\mu$ g の微粒子あたり約 1~10ng が固定されるように調製した。微粒子銃による撃ち込みは、DNA を固定後約 3 分以内に行われた。一部の実験には、同様の原理で作動する改良型微粒子発射装置を用いた。

#### 6. 磁力選抜

磁性微粒子撃ち込み後のタバコ培養細胞の磁力選抜は、細胞懸濁液を 1.5ml のマイクロチューブに移し、市販の棒磁石をマイクロチューブ側面に付着させ、磁気的に固着していない細胞を洗浄除去して行った。花粉細胞の磁力選抜は、ガラス製のサンプル瓶に細胞を移し、ネオジウム磁石 (直径 14mm

×厚さ 5mm) をサンプル瓶外壁の中部に固定し、底面に沈降した磁気的に濃縮できない花粉細胞を洗浄除去することにより行った。

#### 7. 組織化学的 GUS 解析および GFP 解析

撃ち込み後と磁力選抜後の培養細胞と花粉の GUS 遺伝子の一過的発現解析は、Jefferson (1987) および Kosugi *et al.* (1990) の方法を参考にして行った。タバコ培養細胞は、ペトリ皿内のろ紙上に濃縮し、微粒子を 3 回撃ち込み処理後 24~48 時間培養し、20%メタノールを含む X-Gluc (1mM)・リン酸緩衝液 (50mM, pH7.0) を添加し、37°C 恒温槽中で一晩インキュベートした。70%メタノールを加え反応を停止後に実体顕微鏡で観察し、青色スポットを発現している細胞数をヘマチトメーターにより計数した。トウモロコシ花粉については同様の手順でショ糖 (30g/l)、アスパラガス花粉についてはショ糖 (100g/l) と H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> (200mg/l)、カボチャ花粉についてはショ糖 (100g/l) を含む寒天培地に置床し花粉生存率 (Broglia *et al.*, 1994) が低下しないよう迅速に撃ち込み、GUS 解析を行った。GFP 遺伝子導入カボチャ花粉の発光は、撃ち込み後 4 時間程度経過した花粉粒子をスライドグラスに移し、蛍光顕微鏡 BX60 (オリンパス) により観察した。sGFP (S65T) 遺伝子は、丹羽 (静岡大学) のご好意により提供頂いたものを使用した。

#### 8. *bar* 遺伝子を撃ち込んだトウモロコシ成熟花粉の受粉

*bar* 遺伝子を付着固定した磁性微粒子 (マグネタイト, 0.6  $\mu$ m) を、30kg/cm<sup>2</sup> の加速圧で微粒子銃を用いてトウモロコシ成熟花粉に撃ちこんだ。約  $1.1 \times 10^8$  の花粉を磁力選抜により回収し、1ml の MS 培地に懸濁した。その後、発生 3 日後の絹糸にピペットを用いて受粉を行った。対照として DNA を担持しない磁性微粒子による撃ち込み操作を行った花粉による受粉を実施した。

#### 9. トウモロコシ形質転換体の作出と DNA 解析

受粉後に結実したトウモロコシ種子を回収し、培土を詰めたポットに播種し、発芽後 5 日目に 30ppm の bialaphos を散布した。同処理後、7 日間観察を実施し、葉の黄変や枯れ具合により除草剤耐性をもつ苗の選抜を行った。除草剤による選抜を行った苗切片から DNA を抽出し、PCR 解析を行った。

## 実験結果および考察

### 1. 磁性微粒子による遺伝子の導入と一過的発現

微粒子銃による微粒子撃ち込みは、散弾銃による散弾撃ち込みのプロセスに類似している。銃弾の代わりにプラスチック製（ポリアセタール樹脂など）の弾丸（直径 5mm×長さ 10mm）を用いる。その先端部分（直径 2mm）には DNA を吸着固定した微粒子がコーティングされている。このプラスチック製弾丸は、短時間開閉（約 0.2 秒間）する電磁弁により供給される圧縮窒素ガスにより、低真空に減圧されたアクリル製容器中で音速程度の速度で植物細胞へ発射される。発射後、弾丸は銃身先端部分のストッパーで停止され、先端部分の微粒子が高速で試料に撃ちこまれる。高速の微粒子は植物細胞壁を貫通し、DNA を細胞質および核質部分へ導入する。この小型微粒子銃装置の一例を Fig. 1 に示す。

DNA の導入効率は微粒子の加速速度に依存すると考えられる。そこで①窒素ガスの圧力、②銃身の長さなどの物理的条件を変化させ、微粒子の最適加速条件を求めた。PCS 粒子計測システム (Fig.2) を用い、加速圧力を 30kg/cm<sup>2</sup> とし、銃身長さを 20cm, 25cm, 30cm と三段階に変化させた時の平均微粒子速度を 3 回計測しその平均速度を求めた。その結果、それぞれ平均 213m/s, 303m/s, 255m/s となり、銃身長さは 25cm が最適であることが示され、以後その長さを 25cm に固定して実験を行った。実際の実験では低真空下で打ち込まれるが、計測装置の構造や測定上の制約から計測は大気圧下で実施された。本実験結果が示すように、実際に微粒子銃から撃ち出された微粒子そのものの速度を計測した例は殆どなく、音速程度の速度で微粒子が発射されていることが初めて実験的に確認された。次に、窒素ガス圧力を 20kg/cm<sup>2</sup>, 25 kg/cm<sup>2</sup>, 30 kg/cm<sup>2</sup> の三段階に変化させ、その速度を計測した。その結果、それぞれ平均 194m/s, 237m/s, 280m/s となり、加速圧力は 30kg/cm<sup>2</sup> が最適であることが示された。これらの結果から、微粒子銃による撃ち込みの物理的な加速条件は、銃身長さ 25cm, 加速ガス圧力 30kg/cm<sup>2</sup> が適当であることが示され、以後原則的にこの条件で撃ち込みを行った。なお、撃ち込みの時には、噴出ガスによる試料の損傷や試料が飛び散る現象もあり、撃ち込み対象試料の性状によっては、加速圧力を調整して実験を行った。

次に、一過的な遺伝子の導入発現において、撃ちこむ微粒子の種類と磁気的な性質による影響について検討した。微粒子には金微粒子、磁性を有する酸化鉄微粒子（マグネタイト、フェライト）、鎖状の鉄超微粒子および金 - 酸化鉄複合微粒子など (Fig.3) を用いた。小型微粒子銃装置を用い、ろ紙上に

濃縮したタバコ培養細胞（射撃対照面積約 2cm<sup>2</sup>, 細胞総数 2 × 10<sup>4</sup> cells）に、これらの微粒子を 3 回撃ち込み、青色に変化した細胞数を血球計算盤により計数しその割合を求め、一過的発現効率について検討した。対照実験として、GUS 遺伝子をコーティングしない微粒子のみの場合についても同じ条件で撃ち込み実験を実施した。その結果、金微粒子を用いた時の GUS 遺伝子の一過的発現効率は約 2.3 × 10<sup>-2</sup>, 酸化鉄微粒子（マグネタイト、フェライト）は 1 ~ 1.2 × 10<sup>-2</sup>, 鎖状の鉄超微粒子は 5 × 10<sup>-3</sup>, 金 - 鉄複合微粒子は 1.6 × 10<sup>-2</sup> であった。それぞれの微粒子材料の密度は、金微粒子が 19.1, 鎖状の鉄超微粒子が 8, 酸化鉄微粒子（マグネタイト、フェライト）が 5 ~ 5.2, 金 - 鉄複合微粒子が 14 程度（二重構造を仮定したときの推定値）であり、用いる微粒子材料の密度が大きいほど発現効率が高いことが明らかになった。一般的には、撃ちこまれる微粒子の衝撃エネルギーは速度および同一容積を仮定したときの微粒子密度の積に依存すると考えられる。従って、プラスミド DNA を担持する微粒子は、高密度の金属材料が望ましいと考えられる。密度の高い金属材料にはタンングステンや銀などがあるが、これらは生物活性を阻害する可能性が高いと考えられる。



Fig.1. The particle gun device for the delivery into plant cells of plasmid DNA coated on particles driven by gas pressure



Fig.2. The PCS particle analyzer system used to measure the velocity for bombarded particles.

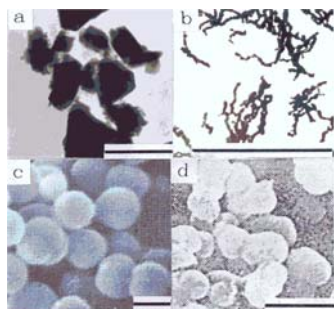


Fig.3. Photographs (TEM) of magnetite particles (a), iron ultra-fine particles (b) and photographs (SEM) of gold particles (c), and iron-oxide coated gold particles (d). All the calibration line is equal to 1  $\mu$ m.

さらに、遺伝子導入効率を改善することを目的とし、遺伝子を導入した細胞のみを選択的に濃縮・分離することが可能な、磁気による細胞選抜について検討した。上記の条件で撃ち込みを行ったタバコ培養細胞を、マイクロチューブに移し側面に付着した磁石による磁氣的濃縮と選抜を行い (Fig.4), その細胞数を同様に計数して磁力選抜前後の効率を求めた。その結果、酸化鉄微粒子 (マグネタイト, フェライト) は  $5 \sim 6 \times 10^{-2}$ , 鎖状の鉄超微粒子は  $1 \times 10^{-2}$ , 金-鉄複合微粒子は  $6 \times 10^{-2}$  となった。金微粒子は磁氣的選抜が不可能であり効率は変わらなかった。このように酸化鉄微粒子は効率が約 5 倍に、鎖状の鉄超微粒子は約 2 倍に、金-鉄複合微粒子は約 4 倍となった。このように何れの磁性微粒子の場合も、遺伝子導入発現効率の大きな改善効果が示された。鎖状の鉄超微粒子は、磁性が強く凝集しやすい傾向がある。この理由により、DNA の均質な吸着固定や微粒子が分散した状態で撃ち込みが難しく、他の磁性微粒子と比べて遺伝子導入効率が低いことが示された。本実験結果では、適度な分散凝集特性を持つ鉄酸化物微粒子が最も磁気選抜による効果が高かった。複合微粒子の場合は平均密度が高いと予想されるが、必ずしも均質な構造の微粒子だけで構成されていないと考えられ、密度の高い構造化微粒子の均質な合成手法の改善が必要であり、今後の課題と考えられる。

## 2. 花粉への遺伝子導入と、遺伝子導入花粉の受粉による形質転換体の作出

磁性微粒子を DNA 担体として用い、トウモロコシ (*Zea mays* L.), アスパラガス (*Asparagus officinalis* L.) およびカボチャ (*Cucurbita pepo* L.) 花粉に撃ち込みを行ったとき

の、GUS 遺伝子および s GFP 遺伝子の一過的発現を解析した。Fig.5 に、花粉の磁氣的濃縮と磁気選抜および GUS 遺伝子が発現したトウモロコシ花粉の一例を示す。トウモロコシ花粉を用いた時、金微粒子による GUS 遺伝子発現効率は  $5.1 \times 10^{-3}$  であった。それに対し磁性微粒子 (マグネタイト, 直径  $0.6 \mu$ m) を用いた時は、磁力選抜前で  $8.5 \times 10^{-4}$ , 磁力選抜後は  $2.1 \times 10^{-2}$  であり発現効率が約 25 倍増加した。カボチャ花粉に磁性微粒子 (鉄微粒子, 直径  $1.2 \mu$ m) を用いて GUS 遺伝子の打ち込みを行った時は、その発現効率は磁力選抜前で  $6.0 \times 10^{-4}$ , 磁力選抜後は  $2.3 \times 10^{-2}$  であり (横谷垣内, 2000)、この場合の発現効率は約 38 倍増加した。これら磁力選抜後の値は、非磁性の微粒子を用いたユリ花粉の 0.16% (Nishimura *et al.*, 1993) やタバコ花粉の 0.03% および 0.12% (Twell *et al.*, 1989) と比較すると非常に大きく、磁力選抜の顕著な効果が認められた。また、s GFP 遺伝子の導入実験では、アスパラガス花粉の遺伝子発現効率は  $1.2 \times 10^{-5}$  であり、前者に比べると発現効率が低かった。これは主にアスパラガス花粉の生存性によるものと考えられた。遺伝子発現効率を上げるためには、鮮度が低下しない発芽能力が高い状態の花粉を用いる必要があると考えられる。青山 (2006) は、より花粉発芽率が高い花粉採取時期の選抜や磁力選抜処理時間の短縮と選抜効率の改善によって、遺伝子発現効率の大幅な向上に成功した。トウモロコシ花粉を用いた GFP 遺伝子導入実験の結果では、発現効率が磁力選抜後に 3.5% へ改善され、また実際に受粉操作の対象となる撃ち込み後に発芽能力のある花粉を基準とした時の遺伝子発現効率は 30.2% であった。これは、Horikawa ら (1997) の報告した値と比較すると、約 14 倍に発現効率が大きく改善されている。

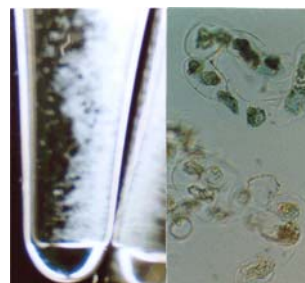


Fig.4. Selection by magnet for tobacco culture cells after bombardment (left) and photograph of the GUS expressing cells (right).





Fig.5. Selection by magnet for pollen grains of *Zea mays* L. after bombardment (left), and photograph of the GUS expressing pollen (right).

Table1. Frequency of transformants through pollination with transformed pollen of maize (*Zea mays* L.) and pumpkin (*Cucurbita pepo* L.)

Species	Pollen Stage	Particle	No. of seedlings carrying <i>bar</i> gene/		Efficiency
			No. of seedlings tested		
<i>Z.mays</i> <sup>a)</sup>	Mature	Magnetite (0.6µm)	3/570		$5.3 \times 10^{-3}$
<i>C.pepo</i> <sup>b)</sup>	Immature	Iron (1.2µm)	8/345		$2.3 \times 10^{-2}$
<i>Z.mays</i> <sup>c)</sup>	Mature	Nickel (1µm)	36/2454		$7.5 \times 10^{-2}$

<sup>a)</sup>Horikawa Y., et al. (1997), <sup>b)</sup>Yokoyagaito A. (2000), <sup>c)</sup>Aoyama F. (2006)

遺伝子導入花粉を用いた新たな組換え植物作出法を進展させるために Horikawa *et al.* (1997) は、除草剤抵抗性 *bar* 遺伝子をトウモロコシ成熟花粉に撃ち込み後に磁力選抜を行い、絹糸に受粉後に種子を獲得した。除草剤処理により 570 個体の幼苗から 14 個体を選抜し、それらの DNA 抽出物の PCR 分析を行った結果、3 個体に *bar* 遺伝子の存在が確認された。この場合の組換え体作出効率は 0.53% であった。同様な方法で青山 (2006) は、トウモロコシ花粉に s GFP (S65T) 遺伝子を撃ち込み、発芽能力のある遺伝子導入花粉を受粉させて 120 個体の組み換え体を得た。PCR 分析の結果、9 個体に導入遺伝子の存在が確認された。この場合の組み換え体作出効率は 7.5% となり、上記の報告より約 14 倍の効率向上が確認された (Table 1)。このように遺伝子導入花粉の受粉による組換え植物作出効率の大幅な改善が実現したのは、改良パーティクルガン装置を用いたり、遺伝子を導入する花粉の処理プロセスの改善によるものと考えられる。

今後は、遺伝子の担体となる微粒子材料の高密度複合化や、その合成法の改善による均質な微粒子生成などが課題と考えられる。また、生物学的要因として発芽能力の高い花粉を用いることや、磁力選抜効率の改善などが必要である。近い将来、遺伝子導入花粉を用いた新たな組換え植物作出法が発展し、実用技術として普及されることが期待される。

謝辞：この研究は、科学技術振興機構、(財)北海道科学技術総合振興センターおよび(財)日本板硝子材料工学助成会などの研究助成により行われた。また、遺伝子、微粒子や培養細胞等をご提供頂いた各位に深謝いたします。

## 引用文献

- 青山文弥. 2006. 遺伝子導入花粉の受粉による組換えトウモロコシの作出, 帯広畜産大学修士論文
- Brogia M, Burunori A. 1994. Synergistic effect of low temperature and high sucrose concentration on maize pollen viability in aqueous medium. *Crop Sci.*, 4: 528-529.
- Christou P, D. E. McCabe, W. F. Swain. 1988. Stable transformation of soybean callus by DNA-coated gold particles. *Plant Physiol.*, 87: 671-674.
- Hess D. 1987. Pollen-based techniques in genetic manipulation. *Int. Review of Cytology* 107: 367-395.
- Hiruki C, Kakuta H, Zhongming GE, Figueiredo G Hashidoko Y, Mizutani J. 1992. Viral genome delivery into detached and intact leaf tissues of *Vigna unguiculata* by RNA-coated gold particles using the improved particle gun. *Proc. Japan Acad.*, 68B: 183-186.
- Hiruki C, Kakuta H, Hashidoko Y, Zhongming GE, Figueiredo G, Mizutani J. 1993. Biolistic delivery of foreign DNA or genomic transcripts of plant virus full-length cDNA clones into monocotyledonous and dicotyledonous plant tissues, *Proc. Japan Acad.*, 69B: 244-247.
- Horikawa Y, Yoshizumi T, Kakuta H. 1997. Transformants through pollination of mature maize (*Zea mays* L.) pollen delivered *bar* gene by particle gun. *Grassland Sci.*, 43(2): 117-123.
- Jefferson R.A. 1987. Assaying chimeric gene in plants: The GUS gene fusion system. *Plant Mol. Biol. Rep.*, 5: 387-405.
- Kakuta H. 1986. Microencapsulation of magnetic ultra-fine particles for immobilization of enzymes, *Intern. Symposium on Immobilized Enzymes and Cells*, Waterloo, abstracts, session IV.
- Kakuta H, Seki T, Matsui M, Anai T, Hasegawa K, Mizutani J. 1992. *In situ* transient expression of GUS-gene in plant cells by the particle gun driven by the compressed nitrogen gas, *Proc. 1992 Miami Bio/Technol. Winter Symposium*, 21.
- Kakuta H. 1993. Biomolecule transfer into plant cells by the particle gun. *Chemical Regulation of Plants* 28: 98-104.

- Kakuta H. 1997. Encapsulation of magnetic ultra-fine particles and immobilization of antibodies and enzymes. Noyes Publications, New Jersey, 3.4: 293-299.
- Klein T.K., E.D.Wolf, R.W.Wu, J.C.Sanford. 1987. High-velocity microprojectiles for delivering nucleic acids into living cells., *Nature*, 327: 70-73.
- Kosugi S, Ohshima Y, Nakamura K, Arai Y. 1990. An improved assay for  $\beta$ -glucuronidase in transformed cells : methanol almost completely suppresses a putative endogenous  $\beta$ -glucuronidase activity. *Plant Sci.*, 70: 133-140.
- Morikawa H, Iida A, Yamada Y. 1989. Transient expression of foreign genes in plant cells and tissues obtained by a simple biolistic device (particle-gun), *Applied Microbiol. Biotechnol.*, 31: 320-322.
- Murashige T, F. Schoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473-497.
- Twell D, T.M.Klein. 1989. M.E.Fromm and S.Macormic, Transient expression of chimeric gene delivered into pollen by microprojectile bombardment. *Plant Physiol.*, 91: 1270-1274.
- Nishimura M, Ito M, Tanaka I, Kyo M, Ono K, Irifune K, Morikawa H. 1993. Expression of the  $\beta$ -glucuronidase gene in pollen of lily (*Lilium longiflorum*), tobacco (*Nicotiana tabacum*), *Nicotiana rustica* and peony (*Paeonia lactiflora*) by particle bombardment. *Plant Physiol.*, 102: 357-361.
- Twell D, T.M.Klein, M.E.Fromm, S.McCormick. 1989. Transient expression of chimeric gene delivered into pollen by microprojectile bombardment. *Plant Physiol.*, 91: 1270-1274
- 横屋垣内明彦. 2000. 花粉へのパーティクルガン法によるカボチャ形質転換植物体の作出, 帯広畜産大学修士論文

## ABSTRACT

The delivery of foreign genes to the tobacco culture cells and the pollen of maize, asparagus and pumpkin were achieved using the particle gun device, and the magnetic selection of culture cells and the pollen bombarded with magnetic particles was carried out. The particle gun improved by Kakuta *et al.* and either magnetite particles, iron particles, nickel or iron oxide coated gold particles and gold particles were used. Plasmid pBI221 containing the GUS-gene under the control of the CaMV 35S promoter and NOS polyadenylation signal and sGFP(S65T) plasmid were used to investigate transient

gene expression in maize, asparagus and pumpkin pollen. Initially the bombardment with magnetite resulted in a low frequency of gene expression. However, magnetic separation and concentration of the bombarded pollen increased the frequency compared with that obtained using gold particles. The efficiency of GUS-expression were  $2.1 \times 10^{-2}$  in maize pollen and  $2.3 \times 10^{-2}$  in pumpkin pollen much greater (25 times fold in maize, and 38 times fold in pumpkin) than for nonmagnetic gold particles. Following the delivery of the sGFP (S65T) in asparagus, the efficiency of sGFP expression was poor after magnetic separation. From these results, plasmid pARK22 encoding the *bar* gene resistance to the herbicide biaraphos was bombarded into mature pollen of maize and pumpkin. The pollen introduced *bar* gene were selected magnetically, and then they were pollinated artificially. The frequency of transgenic seeds produced in maize was  $5.3 \times 10^{-3}$  to  $7.5 \times 10^{-2}$ , and  $2.3 \times 10^{-2}$  in pumpkin. Thus the particle gun process using magnetic particles and magnetic selection are useful for pollen-mediated transformation and production of transgenic seeds through pollination.

**Keywords :** particle gun, magnetic particles, magnetic selection, pollen, transformation

# ワイルドライス (*Zizania palustris*) に含まれる脂質と ポリフェノールの特徴

相沢修<sup>§</sup>、齋藤優介、西繁典、小疇浩\*、弘中和憲\*、小嶋道之  
(受付: 2007年4月27日, 受理: 2007年6月22日)

Properties of the Lipids and Polyphenols in Wild Rice (*Zizania palustris*) Seeds

Osamu Aizawa<sup>§</sup>, Yusuke Saito, Shigenori Nishi, Hiroshi Koaze\*,  
Kazunori Hironaka\* and Michiyuki Kojima

## 摘要

ワイルドライス (*Zizania palustris* L.、K<sub>2</sub> 品種) は、炭水化物 (68%) が主要成分のデンプン性種子で、他にタンパク質 14%、灰分 2%、脂質 1.4%などを含有していた。また、種実に含まれる脂質は、中性脂質が 75%で、リン脂質 15%と糖脂質 10%から成り、中性脂質の主要クラスはトリアシルグリセロール (TG) で、全脂質の 68%を占めていた。品種間における脂質成分と組成割合には、ほとんど差異は認められなかった。TG の主要分子種は、パルミトイルジリノレン (PLL)、パルミトイルリノレオイルリノレン (PLLn)、ジリノレオイルリノレン (LLLn)、トリリノレン (LLL)、オレオイルリノレオイルリノレン (OLLn) などで 60%を占め、他に少なくとも 11 種類の分子種が認められた。また、TG の構成脂肪酸位置分析により、sn-1、3 位には 16:0、18:2 および 18:3 が、sn-2 位には 18:2、18:3、18:1 および 16:0 が認められた。また、4 種類のステロール脂質; 遊離ステロール (FS)、ステロールエステル (SE)、ステリルグリコシド (SG)、アシルステリルグリコシド (ASG) の構成デスマチルステロール (DeMS) は、全てシトステロール>カンペステロール>スチグマステロールの順であったが、SE の構成デスマチルステロールであるスチグマステロールの割合は、他クラスのそれに比べて約 10%程度低い値を示した。また、種実のポリフェノール含量は 0.04%-0.06%、種皮のそれは 0.18%-0.28%であり、品種により含量が顕著に異なっていた。しかし、種実ポリフェノール組成は、品種間では同様に、分子量が 534 及び 564 の 2 種類の構造未知のポリフェノールであった。

キーワード: 脂質、トリアシルグリセロール、分子種、ポリフェノール、ワイルドライス

## I 緒言

ワイルドライス (*Zizania palustris* L.) は、アメリカ  
東部メイン州からウィスコンシン州とカナダ東部から

南のフロリダ州までの河畔湿地帯や沼地などの淡水と  
汽水の双方に自生している大型の野草である。収穫量は  
少量であるが、古くはアメリカン・インディアンの採集

帯広畜産大学畜産科学科食料生産科学講座、食品栄養科学研究室 (<sup>§</sup>現、昭和商事(株)研究開発室)、\*食品工学研究室  
(Laboratory of Food Nutritional Science, \*Laboratory of Food engineering, Department of Food Production Science, School of  
Agriculture, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, 080-8555, 11, nishi-2-sen, inada-cho, obihiro, Hokkaido,  
Japan <sup>§</sup>The research and development section, Showa Shoji Co., 862-8014, 23-gou, 12-ban, Ishihara-1-choume, Kumamoto,  
Japan



食糧として、また現在は、商業栽培が行われ、風味と歯切れの良さが好まれる高価なデリカシーとして利用されている(Oelke et al. 1982; Hayes et al. 1989)。ワイルドライスは耐冷性が強く、イネの生えない寒冷湿地にも生育しやすい点で、将来の有用な穀物遺伝資源として注目されている(小山 1984)。また、ワイルドライスの蛋白質含量は約 14%で、玄米の 2 倍程度含まれ、ビタミン B 群もイネより多いことが報告されている(Terrell et al. 1975; Oekle 1976; Wang et al. 1978)。しかし、熟果が落ちやすく、果実が同時には熟さないなどの利用上の欠点があり、栽培品種としてさらなる改良が必要である。また湿地や沼地に生えているために機械化が困難で、収穫方法の検討も必要である。今回は、ワイルドライスの栄養機能性を解明する一環として、北海道で試験的に栽培された 2 品種のワイルドライス種実に含まれる主要な脂質の特徴と、ポリフェノール含量および抗酸化活性について明らかにした。

## II 実験方法

北海道音更町で試験栽培されたワイルドライスの K<sub>2</sub> 品種と Netum 品種は、手作業で種皮を除き、種実のみを脂質成分の分析に用いた。また、一般成分の分析、全脂質の抽出、各脂質クラスの分画および構成脂肪酸分析等は既報に従った(Kojima et al. 2006; 小嶋ら 1991; 間野ら 1989)。トリアシルグリセロール (TG) の構成脂肪酸位置分析は、パンクレアチンリパーゼを用いて検討した(間野ら 1989)。ステロールエステル (SE) 画分は、1N-エタノール性水酸化カリウムを加えて 100°C で 2 時間加熱分解後、また極性ステロール脂質はメタノリシス後、それぞれ薄層クロマトグラフィー (TLC) で構成 DeMS を分取して、内部標準として 5 $\alpha$ -コレステレンを用い、ガスクロマトグラフィー (GC) により組成分析を行った(小嶋ら 1991)。TG 分子種分析は、ODS カラムを接続した Shimadzu LC-6A 高速液体クロマトグラフィー (HPLC、島津製作所) を用い、流速 1ml/min、RI 検出器 (ERC-7520 型) を用いて行った(間野ら 1989)。また、粉碎した種実及び種皮の 75%エタノール抽出液は、濃縮乾固後に蒸留水で 1 mg/ml に溶解して HP-20 カ

ラムに供し、吸着画分のエタノール溶出液をワイルドライスのポリフェノールとした。ポリフェノール含量と成分分析および抗酸化活性の測定は前報に従った(小嶋ら 2006)。また、LC-MS 分析は島津製作所分析センターに依頼した。

## III 結果および考察

### 1. 脂質成分の特性

ワイルドライス ; K<sub>2</sub> 品種の主要成分は、約 68%が炭水化物であり、タンパク質は約 14%、無機質は約 2%、脂質は約 1.4%であった。ワイルドライスの脂質含量は、穀物の代表である玄米 (*Oryza sativa* L.) のそれと比較すると若干低かったが、タンパク質含量はそれの約 2 倍高い値を示した(小山 1984)。

K<sub>2</sub> 品種の全脂質に含まれる主要な構成脂肪酸は、パルミチン酸 (16:0, P)、オレイン酸 (18:1, O)、リノール酸 (18:2, L) およびリノレン酸 (18:3, Ln) で、4 者で全体の約 98%以上を占めていた。また、全脂質の C16 酸/C18 酸値は 0.29 で玄米のそれと類似した値であったが、全脂質の不飽和化の程度; 18:1 に対する 18:2 と 18:3 の和の値は 0.25 で、玄米全脂質の不飽和化の程度(Nakamura et al. 1995) よりも顕著に大きな値であった。この理由として、玄米全脂質に比べワイルドライス全脂質の 18:1 の割合が低く、18:3 の割合が高いことに起因していると判断した(データ省略)。

種実に含まれる中性脂質、糖脂質およびリン脂質の割合は 75:11:17 であり、中性脂質クラスは TG が最も主要で約 61%を占めていた(Table 1)。また、主要なリン脂質クラスは 4 種類で、ホスファチジルコリン(PC) はリン脂質中約 27%と主要で、次いでホスファチジルエタノールアミン(PE)、ホスファチジルイノシトール(PI) およびホスファチジルグリセロール(PG) が 4:2:1 の割合で認められた。また、糖脂質画分の主要成分は、ASG とジガラクトシルジアシルグリセロール(DGDG)で、それらの相対割合は糖脂質中で各々約 20%、SG およびセラムドモノヘキリシド(CMH)は各々約 10%含まれていて、モノガラクトシルジアシルグリセロール(MGDG)は微量(全脂質中 1%)であった。

Table 1 Fatty acid composition of wild rice K2 variety

	TG	MGDG	DGDG	ASG	PE	PC	PI	PG
16:0	20	12	11	42	25	28	42	34
18:0	1	3	3	6	3	2	4	8
18:1	16	10	9	16	14	22	10	16
18:2	41	25	25	17	38	35	26	18
18:3	22	50	52	19	19	13	18	22
Others	<1	<1	<1	<1	1	<1	<1	2
Ratio in TL	68	1	2	3	4	7	2	1
U.I.*	1.74	2.10	2.15	1.07	1.47	1.31	1.16	1.20

\*Unsaturation index = (%18:1+%18:2+2+%18:3×3)/(100)

各脂質クラスの脂肪酸組成は、TG、PE および PC のグループ、DGDG および MGDG のグループ、ASG、PI および PG のグループでそれぞれに特徴が認められた (Table 1)。主要な脂質クラスである TG の脂肪酸組成は、全脂質のそれをよく反映していて、TG の 18:1 に対する 18:2 と 18:3 の和は、玄米のそれとは著しく異なっていた (Nakamura et al. 1995)。また、PE と PC の C16 酸/C18 酸値は、PI と PG のそれとは若干違いが認められ、後者の方が前者よりも 16:0 の割合が高く、18:1 及び 18:2 の割合が低いことに由来することが推察された。また、ワイルドライスリン脂質の不飽和の程度は、玄米リン脂質のそれらよりも顕著に高かったが、ワイルドライスの各リン脂質クラスに 18:3 含量が高いことに由来することが推察された。また、主要なグリセロ糖脂質である MGDG と DGDG の構成脂肪酸組成は、両者とも 18:3 が主要で、約 50%以上を占めていたが、玄米グリセロ糖脂質の組成とは顕著に異なっていた (Nakamura et al. 1995)。また、ここでは詳細を示していないが、K<sub>2</sub> 品種と Netum 品種の各脂質クラスの脂肪酸組成には注目すべき違いはほとんど認められなかった。

種実から調製した TG を逆相 HPLC に供して TG 分子種分析を行ったところ、少なくとも 16 種の分子種ピークが検出された (Table 2)。前報 (間野ら 1989) と同様にして分子種同定を行ったところ、主要 TG 分子種は、PLL、PLLn、LLLn、LLL、OLLn、POL 等であり、18:2 や 18:3 を含む分子種が多く、米糠のそれとは顕著に異なっていた (間野ら 1989)。特に、米糠 TG には 18:3 を含有する PLLn や LLLn 分子種は 2%未満しか含まれてい

なかったが、ワイルドライスでは各々 10%以上含有されていた (Table 2)。また、パンクレアチンリパーゼを用いたワイルドライス TG の sn-2 位の主要な構成脂肪酸を検討したところ、18:2、18:3、18:1 および 16:0 が認められ、Table 2 で示したワイルドライスの TG 分子種組成が多様であること、sn-2 位にも若干ではあるが 16:0 を構成成分とする TG 分子種が存在することを支持した。また、ワイルドライス 2 品種の TG 分子種には顕著な差は認められなかった (Table 2)。

Table 2 Molecular species of TG in wild rice (%)

TG species	K2	Netum
LnLnLn	0.9	1.4
LLnLn	3.4	3.0
LLLn	10.5	11.8
PLnLn	6.3	4.9
LLL	9.9	9.5
OLLn	9.8	9.5
PLLn	12.3	12.1
OLL	5.5	5.1
PLL	17.3	18.2
PPLn	2.7	2.8
OOL	2.9	2.4
POL	8.2	7.8
PPL	4.9	5.6
OOO	1.0	1.2
POO	2.9	2.9
PPO	1.5	1.7

Abbreviation: Ln: linolenic acid, L: linoleic acid, O: oleic acid, P: palmitic acid

植物のステロール脂質として 4 クラス: SE、FS、SG および ASG が存在するが、その 4 クラスのステロール脂質を構成している主要な DeMS 組成を Table 3 に示した。いずれのステロール脂質でも、シトステロールが最も多い構成ステロールであり、次いでカンペステロール、ス

Table 3 Sterol composition in wild rice

Variety	DeMS	FS	SE	SG	ASG
K2	Campesterol	19.6	25.6	18.0	17.0
	Stigmasterol	16.9	4.1	12.4	15.5
	Sitosterol	63.6	70.3	69.6	67.5
Netum	Campesterol	21.5	27.5	18.9	20.4
	Stigmasterol	15.1	5.7	13.0	14.4
	Sitosterol	63.4	66.8	68.1	65.2
Ratio in TL(%)		4	1	2	3

Abbreviation; FS: free sterol, SE: sterol ester, SG: sterylglycoside, ASG: acylsterylglycoside

チグマステロールであった。しかし、SE の構成ステロールは他のクラスのそれとは構成割合が異なり、スチグマステロールが 4-6%程度で他のクラスに比べ 1/2 - 1/4 を占めていた。

## 2. ポリフェノール含量と特性

ワイルドライスの種実に含まれるポリフェノール含量は、K<sub>2</sub> 品種が 572.2 μg/g、Netum 品種が 405.7 μg/g であったが、両品種ともに種皮のポリフェノール含量は種実のそれよりも高い値を示した (Table 4)。品種により、ポリフェノール含量は多少異なり、Netum 品種の種皮に含まれるポリフェノール含量は、K<sub>2</sub> 品種のそれよりも約 1.5 倍程度高い値を示し、品種により差異のあることが推察された。しかし、種実のポリフェノール含量は、逆に K<sub>2</sub> 品種の方が高い値を示した。また、ワイルドライスに含まれるポリフェノール含量と DPPH 法による抗酸化活性との間には、正の相関関係が認められた (データ省略)。また、両品種の種実ポリフェノールを逆相 HPLC に供して成分分析を行ったところ、両品種共に 2本のピークが認められた。LC-MS 分析により、それぞれのピークの分子量は、m/z534 及び m/z 564 であった。また、種皮に含まれるポリフェノール成分は、種実のそれとは顕著に異なり、少なくとも 10 ピークが認められ、LC-MS 分析の結果、各ピークの分子量は m/z380、m/z410、m/z440 等であったことから、溶出時間の異なるピークの間で分子量が同じであったことから、複数の異性体の存在を推定している。今後、成分単離後に、抗酸化活性本体の構造を解明したいと考えている。

Table 4 Polyphenol content of seed and husk in wild rice

Variety		Polyphenol (μg/g)
K2	Seed	572.2±20.0
	Husk	1783.6±39.8
Netum	Seed	405.7±11.4
	Husk	2758.9±46.1

このように、品種や部位の違いにより含まれるポリフェノール含量および組成に違いのあることが示唆されたことから、今後、品種の特性を考慮したワイルドライス素材の探索、品種改良、その利用等が期待される。

**謝辞:** この研究は帯広畜産大学 21 世紀 COE プログラム研究の一環として行った。

## 参考文献

- Hayes PM, Stucker RE, Wandrey GG. 1989. The domestication of American wildrice (*Zizania palustris* Poaceae). *Economic Botany* 43:203-214
- 小嶋道之, 長澤丈志, 古川直樹, 毛利英孝, 大西正男, 伊藤精亮. 1991. マメ科種子中のグリセロ脂質、ステロール脂質およびスフィンゴ脂質の化学的特性. *日本食品科学工学会誌* 38:1076-1085
- Kojima M, Shimizu H, Ohba K. 2006. Dietary fiber quantity and particle morphology of an (bean paste) prepared from starchy pulses. *Journal of Applied Glycoscience* 53:85-89
- 小嶋道之, 山下慎司, 西繁典, 齋藤優介, 前田龍一郎. 2006. 小豆ポリフェノールの生体内抗酸化活性と肝臓保護作用. *日本食品科学工学会誌* 53:386-392

- 小山鐵夫. 1984. 資源植物学, pp. 145-147, 170-171, 講談社, 東京
- 間野康男, 大西正男, 佐々木茂文, 小嶋道之, 伊藤精亮, 藤野康彦. 1989. 米糠および数種の油糧種子中のトリアシルグリセロールの分子種. 日本栄養・食糧学会誌 42:251-258
- Nakamura T, Ohnishi M, Kojima M, Mano Y, Inazu O, Ito S. 1995. Comparative analyses of fatty acid compositions in rice grain glycerolipids among three cultivars with different chilling susceptibilities. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 59:2309-2311
- Oelke EA. 1976. Amino acid content in wild rice (*Zizania aquatica* L.) grain. *Agronomy Journal* 68:146-148
- Oelke EA, Grava J, Noetzel D, Barron D, Percich J, Schertz C, Strait J, Strucker R. 1982. Wild rice production in Minnesota, pp1-38, University of Minnesota, Agricultural Extension Service, St. Paul
- Terrell EE, Wisner WJ. 1975. Protein and lysine contents in grains of three species of wild rice (*Zizania*: Gramineae). *Botanical Gazette* 136:312-316
- Wang HL, Swain EW, Hesseltine CW, 1987. Gumbwann MR. Protein quality of wild rice. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 26:309-316

(OLLn), but at least 11 other molecular species were found. A position analysis of TG fatty acids showed 16:0, 18:2, and 18:3 at positions sn-1 and -3, and 18:2, 18:3, 18:1, and 16:0 at position sn-2. Desmethyl sterols, constituting the free sterols (FS), sterol esters (SE), steryl glycosides (SG), and acylsteryl glycosides (ASG) were in the order of sitosterol > campesterol > stigmasterol. However, the ratio of the desmethyl sterol stigmasterol to the other sterol lipids was about 10% lower in SE than in other classes. Polyphenol content was 0.04-0.06% in seed and 0.18-0.28% in seed coat, but varied markedly among cultivars. However, seed contained the same two unknown polyphenols, with molecular weights of 534 and 564, regardless of cultivar.

**Keyword** : lipids, triacylglycerol, molecular species, polyphenol, wild-rice

## Abstract

The seeds of wild rice (*Zizania latifolia* L., K2 cultivar) are starch-rich and contain carbohydrate (68%), as the main component. Besides carbohydrate, the seed contains 4% protein, 2% the non-combustible residue and 1.4% lipid. The lipids are about 75% neutral lipid, 15% phospholipid, and 10% glycolipid. The major class of the neutral lipids are the triacylglycerols (TG), which make up about 68% of total lipids. Lipid components and their composition vary little among cultivars. The main molecular species that make up 60% of TG, were palmitoyl dilinolein (PLL), palmitoyllinoleoyl linolenin (PLLn), dilinoleoyl linolein (LLLn), trilinolein (LLL), and oleoyllinoleoyl linolein

# 北海道で栽培されたブルーベリー果実に含まれる アントシアニン含量の年次変動

宮下淳一、西繁典、齋藤優介、小疇浩\*、弘中和憲\*、小嶋道之  
(受付 : 2007 年 4 月 27 日, 受理 : 2007 年 6 月 22 日)

Annual Variations in the Anthocyanin Contents of Blueberry Fruit Grown in Hokkaido

Junichi Miyashita, Shigenori Nishi, Yusuke Saito, Hiroshi Koaze\*,  
Kazunori Hironaka\* and Michiyuki Kojima

## 摘要

アントシアニンを多く含有する果物は、健康機能性や色素作用により、非常に高く評価されている。2003 年の冷害年を含む 2002~2004 年の摘期に収穫された 6 品種の粒大の異なるブルーベリー果実を用いて、それらに含まれるアントシアニン含量を比較検討した。収穫年度により、果実重量あたりのアントシアニン含量は顕著に異なっていた。また、小~中粒果実 (ウェイマウス、ノースランド、ジューン、パトリオット) のアントシアニン含量は、栽培環境に影響を受けにくい、大粒果実 (ハーバート、ブルーレイ) のそれは栽培環境に影響を受け易いことが示唆された。特に冷害年である 2003 年のノースランド果実のアントシアニンおよびポリフェノール含量は、他年度のそれらよりも顕著に高く、低温環境においてアントシアニン合成が増加する特徴を持っていると推定された。また、2004 年、5 月と 6 月の平均気温が長沼町よりも若干低い砂原町で生育したブルーベリー果実の粒大は小さかったが、果実 100g 当りのアントシアニン量は高かった。今後、粒大が大きく、アントシアニン含量の高い品種の選抜・育成が期待される。

**キーワード :** ブルーベリー、品種選抜、アントシアニン、ポリフェノール、抗酸化活性

食料自給率の向上を目標に、土地の有効利用や地域に適した農産物の特産化などを目指して、いろいろな取り組みが行われている。ブルーベリーは、ツツジ科スノキ属の低木で、耐冷性が高く、アントシアニンを豊富に含む人気の高い小果樹である。しかし、北海道におけるブルーベリー栽培の実績および試験研究は少なく、北海道に適した優良品種の選定を行うための基礎資料が必要である (宮下ら 2005)。また、ブルーベリー果実には高い抗酸化活性を示

す多種類の機能性アントシアニンが多量に含まれている (宮下ら 2005; Prior et al. 1998; 伊藤 2006) ので、機能性成分に注目した品種評価も必要である (津志田 1996; 田中ら 2004)。ブルーベリー果実に含まれるアントシアニンには、眼精疲労の軽減や夜盲症患者の視力改善効果 (Matsumoto et al. 2003; Tominaga et al. 1999)、抗がん作用 (Hou 2003; Katsube et al. 2003) など生理調節作用のあることが報告されているが、これらの機能性

---

帯広畜産大学食料生産科学講座、食品栄養科学研究室、\*食品工学研究室

(Laboratory of Food Nutritional Science, \*Laboratory of Food engineering, Department of Food Production Science, School of Agriculture, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, 080-8555, 11, nishi-2-sen, inada-cho, obihiro, Hokkaido, Japan

成分は、栽培時の気象や土壌条件等によっても影響を受ける (Gordon et al. 1993; Saure 1990)。しかし、それらの条件を考慮した品種選定の報告はこれまでに行われていない。本研究では、2002～2004 年の 3 年間に北海道で栽培された 6 品種のブルーベリー果実に含まれる機能性成分、アントシアニンやポリフェノール含量及び抗酸化活性を比較して、北海道に適したブルーベリーの品種評価することを目的とした。

## 実験方法

### 1. 材料とポリフェノール類 (アントシアニンを含む) の調製

2002～2004 年度に北海道長沼町にある道立中央農業試験場の実験圃場で栽培されたブルーベリー 6 品種: ウエイマウス、ノースランド、ジューン、パトリオット、ブルーレイ、ハーバートは、摘期に摘果後、直ちに冷蔵輸送して使用した。各果実重量及び長さを測定して、平均重量に近い果実約 70g をミキサーでホモジナイズした。ピューレー試料 12.5g に約 3 倍容の 5% ギ酸メタノールを加えてポリフェノール (アントシアニン類を含む) を抽出した (宮下ら 2005; 菅原ら 2000)。残渣を用いて、同様の操作を 3 回以上繰り返し、溶液量は最終的に 250ml に定容後、冷凍保存した。また、2004 年に長沼町と砂原町の試験圃場で栽培したブルーベリー果実: ランコカス、パトリオット、ブルーレイ、ダロー、パークレイの 5 品種を比較材料として使用した。

### 2. 機能性パラメーターの測定

総ポリフェノール量は、0.1ml の試料、1.9ml の蒸留水、2ml の Folin 試薬を加えて混和 3 分後に 2ml の 10% 炭酸ナトリウムを加え攪拌後、吸光度 760nm の値を求め (Folin-Chiocalteau 法 (宮下ら 2005)、新鮮重量 100g 当りの没食子酸当量として算出した。

総アントシアニン量は、pH-differential 法 (Subramani et al. 2002) に従い、新鮮重量 100g 当りのシアニジン 3-グルコシド量として算出した。抗酸化活性は、0.2ml の試料、1.8ml の Tris-HCl バッファー (pH7.4)、2ml の DPPH 反応液を加えて攪拌後、暗黒下で 15 分間静置して吸光度

520nm の値を測定して Trolox 当量として表した (DPPH ラジカル消去法 (Brand et al 1995))。

アントシアニンの成分は、カラム温度 40℃、逆相カラム; Phenomenex C18 (4.6mm×250mm) を用い、流速 1ml/min、溶出溶媒に 0.1% トリフルオロ酢酸を含む蒸留水 (溶離液 A) と 0.1% トリフルオロ酢酸を含むアセトニトリル (溶離液 B) を溶離液 B が 8% から 30% まで 30 分間で上昇するグラジエント条件で行い、SPD-10ADvp 検出器 (島津、530nm) を接続した HPLC により求めた (宮下ら 2005)。また、市販のシアニジン 3-グルコシドを内部標準物質として用いた。

気象データは、果実採取に最も近い地点の気象情報を用いた。また、それぞれのデータは平均±標準偏差で表した。データ間の有意差検定は Duncan の多重検定、もしくは Scheffé の検定を用いて p<0.05 を有意とした。

## 結果及び考察

### 1. ブルーベリー果実に含まれる機能性成分の収穫年次による相違

2002～2004 年に収穫した 6 品種のブルーベリーに含まれるアントシアニン含量とポリフェノール含量は、収穫年次により顕著に異なっていた (Table 1)。これらの結果は、ブルーベリー果実のアントシアニン量やポリフェノール量は、その年の気象条件に顕著に影響を受けることを示唆している。そこで、3 年間の果実収穫地である長沼町の 2002～2004 年気象データから、2003 年 6～7 月の平均気温、日照時間、降雨量は、2002 年や 2004 年のそれに比べて顕著に小さな値で、逆に風速は大きな値であることが判った (Table 2)。要するに、2003 年は後に冷害年として位置付けられたが、長沼町においても他年に比べ異常気象であり、果実の成長に影響を与えた。

長沼町で 2003 年度に収穫したブルーベリー 6 品種の個体重量は、2002 年と 2004 年のそれらに比べて低かった。果実粒の違いで区別した小～中粒果実品種 (ウェイマウス、ノースランド、ジューン、パトリオット) は、収穫年による個体重の変動が大粒果実品種 (ハーバート、ブルーレイ) に比べて小さい傾向にあった。果実の大きなハーバートやブルーレイ品種は、収穫年により果実の粒大に顕著な違い

Table 1 The anthocyanin and polyphenol contents of blueberry harvested during 2002-2004.

Varieties	Anthocyanin (mg/100g fr.wt.)			Polyphenol (mg/100g fr.wt.)		
	2002	2003	2004	2002	2003	2004
Herbert	137.2±2.8 <sup>a</sup>	210.9±0.7 <sup>a</sup>	135.1±1.5 <sup>b</sup>	263.2±6.3 <sup>c</sup>	417.1±3.5 <sup>a</sup>	323.2±13.5 <sup>b</sup>
Blueray	136.0±3.2 <sup>b</sup>	179.8±1.5 <sup>a</sup>	87.9±4.5 <sup>c</sup>	257.3±6.4 <sup>b</sup>	389.6±5.3 <sup>a</sup>	237.0±13.0 <sup>b</sup>
Patriot	146.0±0.8 <sup>a</sup>	150.9±3.6 <sup>a</sup>	125.6±1.8 <sup>b</sup>	231.7±7.8 <sup>c</sup>	336.4±4.8 <sup>a</sup>	284.0±3.0 <sup>b</sup>
June	138.0±0.4 <sup>b</sup>	159.6±2.8 <sup>a</sup>	168.1±5.8 <sup>a</sup>	237.7±18.2 <sup>b</sup>	368.3±2.7 <sup>a</sup>	352.2±9.9 <sup>a</sup>
Northland	142.8±0.4 <sup>c</sup>	238.4±4.7 <sup>a</sup>	193.1±2.4 <sup>b</sup>	253.6±2.6 <sup>c</sup>	450.0±15.2 <sup>a</sup>	425.0±9.2 <sup>b</sup>
Weymouth	139.6±0.4 <sup>b</sup>	153.2±3.8 <sup>a</sup>	157.8±2.7 <sup>a</sup>	261.4±1.2 <sup>b</sup>	333.7±4.4 <sup>a</sup>	331.4±7.7 <sup>a</sup>

Means within anthocyanin or polyphenol of the same rows bearing different superscripts show significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan method.

Table 2 The climate conditions of Naganuma 2002- 2004

Year	Temperature <sup>1</sup>	Daylight hours <sup>2</sup>	Precipitation <sup>3</sup>	Wind velocity <sup>4</sup>
	Average (°C)	sum (h)	sum (mm)	Average (m/s)
2002	15.4±3.4	448.2	270.0	2.6±0.3
2003	14.3±2.9	423.8	161.0	2.8±0.3
2004	16.5±4.1	429.9	284.0	2.5±0.2

Data was determined from the Meteorological Agency. 1 and 4; is an average on May-July (2002-2004) in Naganuma. 2 and 3; is sum on May-July (2002-2004) in Naganuma.

が認められ、2003年の冷害年に収穫された果実は、果実が全体的に小さかった。すなわち、3年間の個体重を比較すると、小～中粒果実の重さは冷害年による影響を受けにくく、大粒果実のそれは栽培環境に影響を受けやすいことが示された。果実100gに占める粒数が多くなることにより占める種皮割合は高くなり、2003年度のアントシアニンやポリフェノール含量は、他年度よりも高くなったと判断した。また、果粒の小さいジューンやウェイマウス等の品種は、収穫年による果実重の変動が小さく、果実100g当りのアントシアニン含量やポリフェノール含量の年次変動も少なかった。

今回使用した大部分のブルーベリー品種は、種皮周辺にアントシアニンが多く含まれていた。また、小玉品種であるノースランド品種は、2002～2004年を通して果粒重に大きな変動は見られないものの、冷害年である2003年に収穫した果実のアントシアニン含量は、他年度のそれよりも高かった。低温条件下で生育させたリンゴなどは、表皮のアントシアニン合成が増加することが報告されている(Creasy 1968; Nozzolillo et al. 1990; Lancaster 1992)。低温環境などのストレスにより、アントシアニン合成が活性化される代謝機構の解析は今後の課題であるが、ノースラ

ンド品種は、果実の成長期に低温等の環境ストレスを受けると、アントシアニン合成が活性化するのかもしれない。

ブルーベリー果実のポリフェノール含量と抗酸化活性の相関関係を調べたところ、Subramani et al. (2002)の報告と同様に、両者の間には高い正の相関関係が認められた (Fig. 1A)。また、ブルーベリー果実のポリフェノールはアントシアニンが大部分であり、アントシアニン含量と抗酸化活性との間に正の相関関係が認められた (Fig. 1B)。また、2004年度に収穫されたブルーベリー果実のポリフェノール成分をHPLCで分析したところ、パークレイ品種以外は、共に19種類のアントシアニンとクロロゲン酸の存在が確認された (宮下ら 2005)。今回分析したブルーベリー6品種に共通して、マルビジン系アントシアニンの含量が最も多く、パークレイ品種以外の果実には、量の違いはあるが、アシル化アントシアニンの存在も確認された (データ非掲載、宮下ら 2005)。ブルーベリーアントシアニンは、成分の種類数が多く、それらの含量は品種の違いにより成分割合が多少異なっていたが、アントシアニン含量と抗酸化活性との間には正の相関関係がみられた。この結果は、ブルーベリーの抗酸化活性の程度は、アントシアニン成分の違いよりも総量が重要な因子となっている

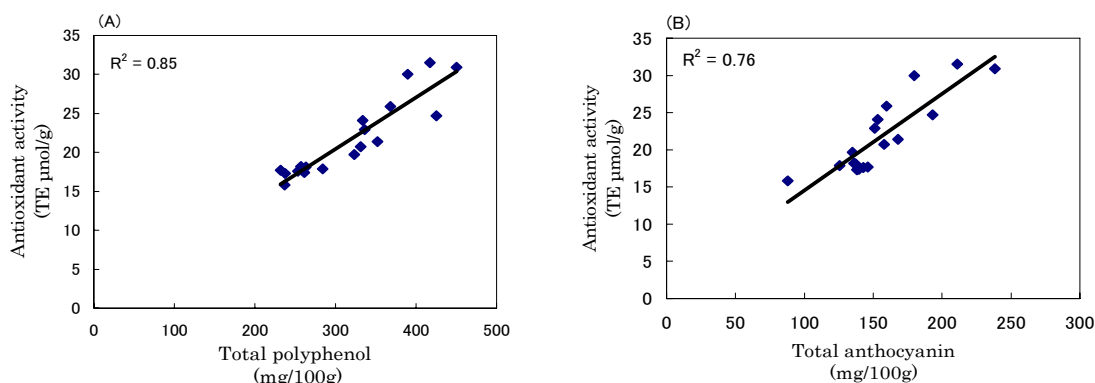


Fig. 1 Correlation between antioxidant activity and total polyphenol (A) and correlation between antioxidant activity and total anthocyanin (B).

と判断した。しかし、ブルーベリーには、アントシアニン  
ントシアニンなども報告されている (Kalt 2001) ので、  
それらの含量との関係については、今後の検討課題である。

## 2. 異なる栽培地で生育したブルーベリー果実成分の特徴

2004 年に長沼町と砂原町で栽培された 5 品種のブルー  
ベリー果実は、摘期に採取したところ、砂原町産の方が長  
沼町産のそれよりもすべて小さく、1 個当たりの平均重が  
気象データを解析したところ、2004 年 5 月の砂原町に  
おける日照時間と降水量は、長沼町のそれらよりも大きな  
値であったが、6 月のそれらの値は逆転していた。また、  
長沼町の 5 月と 6 月の平均気温や最高・最低気温 (データ省  
略) は、砂原町のそれらよりも若干 (平均して約 1°C 程度)  
高かった。また、長沼町の風速は、砂原町のそれよりも約  
10~15% 低い値だったので、砂原町の風力が気温に影響し  
ているのかもしれない (Table 4)。これまでに、気象条件  
の異なる 3 地域で収穫されたローブッシュブルーベリー

以外のポリフェノールとして、クロロゲン酸やプロア  
軽かった (Table 3)。また、砂原町産ブルーベリー果実  
100g に含まれるアントシアニン含量は、長沼町産のそれ  
よりも高かった (Table 3)。その理由として、砂原町産ブ  
ルーベリー果実は小さく、100g に占める果実粒数が多く  
なり、その結果として種皮周辺割合が高くなることにより  
アントシアニン含量が高くなったと推察した。

の抗酸化活性は、寒冷地で栽培されたものの値が最も高か  
ったと報告されており (Gordon et al. 1993)、今回の結果  
は、それを支持するデータであった。しかし、平均気温の  
他にも、栽培地の土壌条件や樹齢などの影響も考えられる  
ので、今後さらに要因に関する詳細な検討が必要であろう。  
また、今回用いたブルーベリーは、大部分のアントシアニ  
ンが果皮部に存在し、果肉部にはほとんど含まれていなか  
った。今後は、果肉部にもアントシアニンが含まれる品種  
の選抜・育種が期待される。

Table 3 Comparison of weight, anthocyanin and polyphenol in Sawara and Naganuma at 2004<sup>a</sup>

Cultivar	Weight (g/piece)		Anthocyanin (mg/100g) <sup>b</sup>		Polyphenol (mg/100g) <sup>c</sup>	
	Sawara	Naganuma	Sawara	Naganuma	Sawara	Naganuma
Rancocas	1.12±0.1	1.44±0.1*	189.6±2.1*	177.9±7.0	382.3±7.3*	362.9±5.4
Patriot	1.52±0.1	1.52±0.1	146.3±0.9*	125.6±1.8	317.9±10.2*	284.0±3.0
Blueray	1.38±0.1	1.81±0.2*	131.6±2.5*	87.9±4.5	284.5±9.9*	237.0±13.0
Darrow	1.37±0.2	2.25±0.1*	111.6±0.9*	105.9±1.3	290.2±8.9*	273.6±6.7
Berkeley	1.45±0.1	2.25±0.1*	118.7±3.8*	108.1±7.3	318.9±12.1*	261.9±5.9
Average	1.37±0.2	1.85±0.4*	139.6±30.9*	121.1±34.5	318.8±38.8*	283.9±47.5

<sup>a</sup>Data expressed as mean±SD.

<sup>b</sup>Data expressed as milligram of cyanidin 3-glucoside equivalents per 100g of fresh weight.

<sup>c</sup>Data expressed as milligrams of gallic acid equivalents per 100g of fresh weight.

\* p>0.05



Table 4 The climate conditions of May-July in Naganuma and Sawara at 2004

Month	Temperature Average (°C)		Daylight hours sum (h)		Precipitation sum (mm)		Wind velocity Average (m/s)	
	Sawara	Naganuma	Sawara	Naganuma	Sawara	Naganuma	Sawara	Naganuma
May	11.3±2.9	12.1±2.7	149.9	136.5	134.0	100.0	3.0±1.4	2.7±1.0
June	16.6±2.1	17.1±2.1	148.7	151.5	94.0	70.0	2.7±1.0	2.3±0.5
July	19.9±3.3	20.3±3.3	140.2	141.9	87.0	114.0	2.3±0.8	2.5±0.9
May-June averag	15.9±4.3	16.5±4.1	—	—	—	—	2.7±0.4	2.5±0.2
May-June sum	—	—	438.8	429.9	315.0	284.0	—	—

Data was determined from the Japan Meteorological Agency.

以上の結果より、調査した品種の中では、小粒果実であるノースランドが3年間を通してアントシアニン及びポリフェノール含量が高く、特に低温環境下において含量が顕著に増加していたので、機能性成分に注目した場合に北海道で栽培する有望な品種と評価した。

**謝辞：** 試料果実を摘期に採取して冷蔵輸送していただいた北海道立中央農業試験場果樹科の稲川裕氏および村松裕司氏に感謝いたします。この研究は北海道重点領域特別研究事業（平成14～16年度）および帯広畜産大学21世紀COEプログラム研究の一環として行った。

## 参考文献

Brand WW, Cuvelier ME, Berset C., 1995. Use of radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Technology* 28:25-30

Creasy LL., 1968. The role of low temperature in anthocyanin synthesis in McIntosh apples. *Proceeding of American Society Horticultural Science* 93:716-724

Gordon R, Bootsma A, 1993. Analyses of growing degree-days for agriculture in Atlantic Canada. *Climate Research* 3:169-176

伊藤三郎. 2006. ブルーベリーの持つ最新の健康機能性. *食品工業* 1. 30 : 20-25

Hou DX, 2003. Anthocyanidins induce apoptosis in human promyelocytic leukemia cells, structure-activity relationship and mechanisms involved. *International Journal of Oncology* 23:705-712

Kalt W, 2001. Health functional phytochemicals of fruit. *Horticultural Review* 27:269-315

Katsube N, Iwashita K, Tsushida T, Yamaki K, Kobori M. 2003. Induction of apoptosis in cancer cells by bilberry (*Vaccinium myrtillus*) and the anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51:68-75

Lancaster JE. 1992. Regulation of skin color in apples. *Critical Review of Plant Science* 10:487-502

Matsumoto H, Nakamura Y, Tachibanaki S, Kawamura S, Hirayama M. 2003. Stimulatory effect of cyanidin 3-glycosides on the regeneration of rhodopsin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51:3560-3563

宮下淳一, 小嶋道之. 2005. プラムとブルーベリーに含まれるポリフェノール量と抗酸化性との相関. *帯広畜産大学研究報告* 26 : 13-19

Nozzolillo, C., Isabelle, P., Das, G., 1990. Seasonal changes in the phenolic constituents of jack pine seedlings (*Pinus banksiana*) in relation to the purpling phenomenon. *Canadian Journal of Botany* 68:2010-2017

Prior R.L, Cao G, Martin A, Sofic E, McEwen J, Obrien C, Lischner N, Ehlenfeldt M, Kalt W, Krewer G, Mainland CM. 1998. Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity, and variety of *Vaccinium* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46:2686-2693

Saure MC. 1990. External control of anthocyanin formation in apple. *Scientia Horticulture* 42:181-218

Subramani S, Casimir CA, Gerard K. 2002. Phenolic compounds and antioxidant capacity of georgia-grown blueberries and blackberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50:2432-2438

菅原龍幸, 前川昭男. 2000. 新食品ハンドブック 建帛社

pp. 1-14

田中一平, 佐々木務. 2004. ブルーベリーの新たな可能性  
について. 食品工業 2. 29 : 20-25

津志田藤二. 1996. ブルーベリーの生理的機能性. 食品と  
開発 31. 3 : 5-8

Tominaga S, Matsumoto H, Tokunaga T, Hirayama M. 1999.  
Effects of blackcurrant anthocyanosides on visual function.  
Proceeding of the 2nd ICOFF, 2nd ICOFF Secretariat. Kyoto,  
Japan, p143

## **Abstract**

High anthocyanin content fruit varieties are highly valued for their health benefits and attractive pigmentation. The fruit of six blueberry cultivars that produce different fruit sizes were compared for anthocyanin concentration. Fruit was collected during the three harvest seasons of 2002-2004, which included a year of cold summer damage. Anthocyanin concentrations varied significantly ( $p < 0.05$ ) from year to year. Environmental conditions did not appreciably affect the anthocyanin contents of small to medium-sized fruit cultivars (Weymouth, Northland, June, Patriot), but large fruit cultivars (Herbert, Blueray) were susceptible to temperature variations. The anthocyanin and polyphenol contents of Northland fruit were much higher in 2003, when cold summer damage occurred, than in the other years. The small-fruit Northland cultivar may thus possess a trait that increases anthocyanin synthesis in response to low temperatures. Blueberries grown in the town of Sunahara were smaller but contained higher concentrations of anthocyanin than fruit grown in the town of Naganuma. Mean temperatures in Sunahara were somewhat lower in May and June 2004 than in Naganuma. Blueberry cultivars bearing large fruit with high anthocyanin concentrations could thus be selected and bred in the future.

**Keyword** : blueberry, variety selection, anthocyanin,  
polyphenol, antioxidant activity

# 農耕地残存林とその周辺における森林性多年草本

## オオアマドコロの結果率

原田潤<sup>1,2</sup>・佐藤雅俊<sup>1</sup>・紺野康夫<sup>1\*</sup>

(受付: 2007年4月27日, 受理: 2007年6月22日)

### Fruit set ratio of *Polygonatum odoratum* (Liliaceae) in a remnant forest and its vicinity under a cultivated landscape

Jun Harada<sup>1,2</sup>, Masatoshi Sato<sup>1</sup> and Yasuo Konno<sup>1\*</sup>

#### 摘要

オオアマドコロ (*Polygonatum odoratum* var. *maximowiczii*) は森林性のユリ科多年生草本であり、自家不和合性を持つ。このオオアマドコロについて、芽室町にある農地残存林とその周辺で結果率を比較した。残存林では林内と林縁、残存林の周辺では耕地防風林と畑の畔の、四つの生育地を選んだ。オオアマドコロの結果率は、四つの調査地とも 65%以上あり、林内や林縁の方が残存林の周辺にある生育地である耕地防風林や畑の畔よりも結果率が高いということはなかった。それぞれの生育地で人工他家受粉を施すと結果率が 5.0–12.8%上昇したので花粉制限はあるが、その程度は小さかった。訪花昆虫は在来種であるエゾトラマルハナバチ (*Bombus diversus tersatus*)、ニセハイイロマルハナバチ (*B. pseudobaicalensis*)、アカマルハナバチ (*B. hypnorum koropokkrus*) の女王バチであった。これらの結果は、農耕地景観下において残存林以外の場所でも結果が可能なオオアマドコロ個体群が存在すること、残存林以外の場所においても、森林性植物が在来マルハナバチ類に餌の提供をしていることを示す。

キーワード: 農耕地景観、分断個体群、マルハナバチ、結果率、花粉制限

#### 緒言

植物は主に花粉制限と資源制限の二つにより結果率が制限される。他殖を必須とする植物では花粉を何者かによって運んでもらわなければ花は結実することが出来ない。そのため、花粉を運ぶ送粉者の訪花が減少すると結果率は低下する。これが花粉制限である。また、結実に十分な他家花粉が柱頭にもたらされても、結実に必要な資源が足りないと胚珠は成長できない。これが資源

制限である。したがって、植物が種子繁殖を行うには送粉者と資源の両方が満たされることが必要である。

近年の農業開発や住宅地開発によって世界の多くの地域で森林が孤立、分断化され、各々の林分面積も縮小し続けている。植物個体群の分断化により送粉昆虫との相利共生的な関係が損なわれることについて多くの報告がある (Sih et al. 1987; Jennersten 1988; 富松ら 2005)。森林においてもその分断化は送粉昆虫の減少

<sup>1</sup>Department of Agro-environment Science

<sup>2</sup>Zukasha Co. Ltd

\*Corresponding to Yasuo Konno (e-mail: konno@obihiro.ac.jp)

により林内に生育する植物の結実率を低下させる (Aizen et al. 1994)。マルハナバチは作物を含む様々な植物の重要な花粉媒介者であり、森林性植物の送粉にも重要な役割を担っている (Goulson 2003)。社会性昆虫であるマルハナバチは、幼虫を育てるのに必要な餌資源の確保のため、活動期間を通じて常に開花植物を必要とする (鷲谷 1998)。しかし分断化された小さな残存林は、植物種の減少によりある特定の時期に咲く植物を失ってしまい、活動期間を通じて十分な餌資源をマルハナバチに供給できないことがある (紺野ら 1999 ; 丹羽ら 2002)。しかしマルハナバチは農耕地景観においては林内だけでなく、農地開拓以前には存在しなかった防風林や畔でも訪花を行っている (岡田 2004)。このため、残存林だけではなく、その周囲の人工環境における花資源量が農耕地景観におけるマルハナバチの個体群サイズを決める重要な要因となりうる。実際、周囲の花資源が少ないと考えられる住宅地の残存林では周辺に花資源が多いと考えられる農耕地の残存林にくらべて、春先に花粉送粉者が少なく、この時期に咲くエゾエンゴサク (*Corydalis ambigua*) の結果率が低いことが報告されている (八坂ら 1994)。

農耕地景観下には幅の狭い耕地防風林や畑の畔に取り残されたマルハナバチ媒花の森林性草本が存在することがある。林外の生育地でもマルハナバチ媒花森林性植物の結果率が高ければ、マルハナバチにとって森林外に生育する森林性草本からも餌をえられていることを示す。一方、森林性草本にとっては、本来の生育地ではない所でも新個体の加入により個体群を維持していける可能性を示す。

オオアマドコロ (*Polygonatum odoratum* Druce var. *maximowiczii* koidz) は本来林内に生育する森林性草本である。しかしまれに林外でも生育していることがある。オオアマドコロは自家不和合性であるため、種子生産には訪花昆虫による他殖が必須であり (紺野ら 1999)、主な訪花昆虫はマルハナバチといわれている (Gutián et al. 2001 ; 河野ら 2004)。そこで本研究ではオオアマドコロを用いて、結果率が残存林内と林外の

生育地である耕地防風林や畔とで異なるのかを確かめた。

## 材料と方法

### 対象種と調査地

オオアマドコロ *Polygonatum odoratum* var. *maximowiczii* は北部ユーラシアに広く分布する *Polygonatum odoratum* の変種であり、サハリン、南千島、ウスリー地方、北海道、本州北部に分布する多回繁殖型の森林性草本である。根茎を持ち、時に無性繁殖を行う (Gutián et al. 2001 ; 河野ら 2004)。花には雄花と両性花があり、1つの地上茎には雄花のみ、両性花のみ、あるいはその両方がつく。雄花は子房と花柱が萎縮しているか全く欠如している。果実は球形の黒い漿果で8月頃から熟してくる。自家不和合性で主にマルハナバチによって訪花される (Gutián et al. 2001 ; 河野ら 2004)。異なる地上茎であっても栄養生殖による同じジェネットである可能性がある。

調査は北海道十勝管内の芽室町北伏古にある畑に囲まれた残存林とその周辺の耕地防風林および畔で行った。残存林はその環境を林内と林縁に分け、林外を含めて全体として生育地を四つに区分した。残存林はおよそ 0.95ha ある落葉広葉樹林で優占樹種はヤチダモ (*Fraxinus mandshurica* Pupr. var. *japonica* Maxim) である。調査した林縁はこの林の林内南側部分に位置する。防風林は林の西側にあり、林からは 50 m 離れている。南北におよそ 250m あり、主にヤチダモとハルニレ (*Ulmus davidiana* Planch. var. *japonica* Nakai) によって構成されている。畔は林の西側に畑を挟んであり、調査林からは 370 m 離れている。南北におよそ 500m の長さで伸びており、一部にカラマツ (*Larix leptolepis* Gordon) が植えられている他は散生する低木しか木本はなく、夏期にはクサヨシ (*Phalaris arundinacea* L.) やイタドリ (*Reynoutria japonica* Houtt) など背の高い草本に覆われる。

## 結果率と花粉制限

オオアマドコロの結果しなかった花は開花後まもなく落花するが、花柄は花がなくなった後も残る。この特徴を利用して、果実期に花柄の数と果実の数から結果率を推定した。結果率の計算には雌花のみを対象とした。開花直前の2005年6月4日から6月9日にかけて番号を書いた標識テープをつけて地上茎を識別した。林内で54地上茎(343花)、林縁で57地上茎(420花)、防風林で39地上茎(124花)、畔で54地上茎(353花)を選んだ。花数や個体サイズが結果率に影響を与える可能性(Guitián 2001)考慮して、地上茎を選ぶ際には地上茎あたりの花数の分布がそれぞれの生育地でなるべく広くかつ一様になるように選んだ。ただし防風林では生育する個体が小さかったため、地上茎あたりの花数の平均値も他の調査地に比べ有意に低かった(防風林以外:  $7.30 \pm 4.53$  花(平均  $\pm$  標準偏差、165 個体)、防風林:  $3.56 \pm 2.37$  花(39 個体),  $t$  検定,  $p < 0.001$ )。標識テープをつけた全ての地上茎で花数を記録し、全ての花を自然受粉させた。雄花を分析から除くため、開花期に各花の性を調べた。性の判断は柱頭が見えるか、花被の上から触ってみて、子房のふくらみが確認できるかで決定した。柱頭と子房のどちらも確認できなかった花を雄花とした。8月1日に、標識テープをつけた地上茎の果実数を記録した。観察された花数と果実数から調査地ごとに結果率を求めた。ただし結果率は、結果した花数/雌花数である。また生育地による花粉制限の違いを確かめるために、各生育地で人工授粉を行った。林内で8個体(18花)、林縁で8個体(29花)、防風林で8個体(19花)、畔で9個体(50花)を選び人工授粉を行った。花粉は10m以上離れた地上茎のものをを用いた。自然受粉の花と同様に8月1日に各花が結果したかどうかを記録した。生育地ごとに自然受粉の結果率と人工授粉の結果率から花粉制限率を自然受粉による結果率/人工授粉による結果率として評価した。各果実内の種子数や種子が発芽能力を持つかについては調べなかった。

## 訪花昆虫

生育地を歩きオオアマドコロを訪花しているマルハナバチの種類とカーストを記録した。ただしエゾオオマルハナバチとエゾコマルハナバチとを、またニセハイイロマルハナバチとハイイロマルハナバチとを区分しておらず、それぞれこの地域で優占しているエゾオオマルハナバチ、ニセハイイロマルハナバチとした。

## 分析

生育地の違いが自然受粉による結果率に与える影響を $\chi^2$ 検定で評価した。人工授粉による結果率は期待度数5未満のセルが25%以上あったのでFisherの正確確率検定を行った。また人工授粉と自然受粉の結果率の違いを生育地ごとにFisherの正確確率検定で検定した。また四つの調査地をまとめて、自然受粉と人工授粉で結果率が異なるかをMantel-Haenszel検定で評価した。さらに、生育地間で花粉制限率、すなわち自然受粉の結果率/人工授粉の結果率、が異なるかを知るために $\chi^2$ 検定を行った。ただし、この検定における実測値は各生育地の自然受粉による結果数であり、期待値は4つの生育地にわたる花粉制限率の平均値に各生育地の調査花数(ただし雄花を除く)をかけたものである。分析にはSPSS ver 14.0 (SPSS 2006)を用いた。

## 結果

### 生育地の違いと結果率

結果率は生育地によって有意に異なっており( $\chi^2$ 検定,  $p < 0.001$ )、畔で79.0%と高く、林縁で65.2%と低かった(表1)。しかし、人工授粉をすると、結果率はすべての生育地で上昇し、生育地間の有意な違いが見られなくなった(Fisherの正確確率検定,  $p = 0.657$ )。ただし、人工授粉しても結果率の相対的な値は畔で高く林縁で低いという自然受粉と似た傾向を示した(表1)。人工授粉による結果率の上昇は平均8.3%(レンジ5.0-12.8%)であったが、自然受粉と比べて人工授粉の結果率が有意に高い生育地はなかった( $\chi^2$ 検定,  $p >$

0.05)。この違いは全ての生育地をまとめても有意とはならなかった (Mantel-Haenszel 検定,  $p=0.116$ )。また自然受粉による結果率は人工授粉による結果率の

表 1. 自然受粉と人工授粉による結果率 (%)。括弧内は花数で、雌花のみを対象とした。

	生育地				$P^*$
	林内	林縁	防風林	畔	
自然受粉	69.7 (343)	65.2 (420)	66.5 (121)	79.0 (353)	<0.001
人工授粉	77.8 (18)	72.4 (29)	78.9 (19)	84.0 (50)	0.657
自然受粉/人工授粉	89.6	90.1	84.2	94.0	0.738
人工授粉-自然受粉	8.1	7.2	12.8	5.0	

\*: 自然受粉と自然受粉/人工授粉は $\chi^2$ 検定、人工授粉は Fisher の正確確率による

84.2% (防風林) から 94.0% (畔) の範囲にあり、この割合に生育地間での有意な差はなかった ( $\chi^2$  検定,  $p>0.738$ )。

### 訪花昆虫の種類

オオアマドコロへの訪花が観察されたのはエゾトラマルハナバチ (*Bombus diversus tersatus* Smith)、ニセハイイロマルハナバチ (*Bombus pseudobaicalensis* Vogt)、アカマルハナバチ (*Bombus hypnorum koropokkrus* Sakagami et Ishikawa) であった。これらはすべて在来のマルハナバチ類である。エゾトラマルハナバチの訪花が観察された全訪花の 74% を占めた (表 2)。エゾトラマルハナバチは全ての生育地で訪花が確認された。ニセハイイロマルハナバチは林縁、防風林、畔の 3 生育地で訪花が確認され、アカマルハナバチは林縁と畔の 2 生育地で訪花が確認された。調査地内で訪花が確認されたマルハナバチは全て女王バチであつ

表 2. オオアマドコロに訪花していたマルハナバチの種類と生育地別の観察数

	林内	林縁	防風林	畔	合計
エゾトラマルハナバチ	2	11	3	1	17
ニセハイイロマルハナバチ	0	1	2	1	4
アカマルハナバチ	0	1	0	1	2

た。ただし、調査地外の農家の庭に植えられていたオオアマドコロにアカマルハナバチの働きバチの訪花が 1 例あった。マルハナバチ以外の訪花昆虫にはアリ類、コハナバチ類、ヒラタアブ類が観察された。

### 考察

自然受粉により結果率には生育地間で差があったが、残存林の生育地が林外の生育地よりも値が高いということはなかった (表 1)。人工授粉による結果率に対して自然受粉による結果率が 84% 以上あったことから、いずれの生育地においても大きな花粉制限は起きていなかった。訪花昆虫はほとんどがマルハナバチ類であり (表 2)、高い結果率をもたらすぐらゐにオオアマドコロを訪花していたことになる。

訪花昆虫を農耕地景観下で保全するという観点からこの結果を評価するならば、オオアマドコロは林外でも訪花昆虫に餌資源を提供して貢献しているといえる。またオオアマドコロの個体群維持の観点から評価すれば、本来の生育地が減少してしまった現在、これらの場所も地域の個体群維持のために貴重な生育地となっている可能性があることを示す。しかし個体群が維持されるには種子生産が行われているだけでなく、生産された種子が繁殖個体まで成長できなくてはならない。同じ森林性草本であるオオバナノエンレイソウでは分断された小さな生育地でも種子生産は行われているが、林縁効果により実生の加入が少ないことが報告されている (富松ら 2005)。林外では光の量や土壌中の水分量などが林縁と似ているため、オオアマドコロでも実生の加入が難しく、さらにその後の生存も難しいかもしれない。したがって、林外の生育地としての可能性を考えるうえで、これらの場所での個体群構造や実生の死亡率を調査し、それを林と比較することにより林外での個体群動態の特徴を知る必要があるだろう。また個体群の孤立化によってもたらされる遺伝的多様性の低下を林外の生育地が防ぐかという点からの評価も必要である。コリドーによりつながれたパッチ間では花粉の移動が増加することがわか

っており (Townsend et al 2005)、防風林や畔は孤立した残存林間をつないでいるコリドーとなりうるので、これらの生育場所は残存林間の花粉の移動を助ける可能性がある。林地と林外で花粉のやりとりが行われるためには同一個体が送粉者として両者を行き来しなければならない。今回の調査では林地と林外のどちらでも同じ種類のマルハナバチが観察された (表 2)。今後、防風林や畔が花粉の移動を通じて残存林个体群の遺伝的多様性に貢献するかどうかを知るためには、同一個体のマルハナバチが両方の景観を行き来するかどうかを確かめる必要がある。

## 引用文献

- Aizen MA, Feinsinger P. 1994. Habitat fragmentation, native insect pollinators, and feral honey bees in Argentine 'Chacco Serrano'. *Ecological Application* 4:378-392
- Goulson D. *Bumblebees: their behaviour and ecology*, 2003, Oxford University Press Inc, New York
- Guitián J, Guitián P, Medarno M. 2001. Causes of fruit set variation in *Polygonatum odoratum* (Liliaceae). *Plant Biology* 3:637-641
- Jennersten O. 1988. Pollination in *Dianthus deltoides* (Caryophyllaceae): effects of habitat fragmentation on visitation and seed set. *Conservation Biology* 2:359-366
- 河野昭一, 大原雅, 田村実, 広瀬智之. 2004. アマドコロ. 河野昭一監修, 植物生活史図鑑Ⅱ: 春の植物 No.2, pp.57-64, 北海道大学図書刊行会, 札幌
- 紺野康夫, 瀬島恵, 八坂通泰, 西脇有紀, 岡山恵美, 田部和子. 1991. 帯広市近郊に生育する植物 60 種の袋掛け処理下における結実率. *野生生物保護* 4:49-58
- 丹羽真一, 渡辺修, 渡辺展之. 2002. 都市緑地におけるマルハナバチ類の生息可能性: 開花種の多様性に基づく予測. *野幌研究* 1:3-12
- 岡田梨江. 2004. 残存林とそれを囲む農耕地における

マルハナバチの植物利用. 帯広畜産大学畜産環境科学科平成 15 年度卒業論文. 1-33

- Sih A, Baltus M-S. 1987. Patch size, pollinator behavior, and pollinator limitation in catnip. *Ecology* 68:1679-1690
- 富松裕・大原雅. 2005, 林床植物个体群の存続を脅かす要因—オオバナノエンレイソウの保全生物学—. 種生物学会編, 草木を見つめる科学: 植物の生活史研究, pp. 163-182, 文一総合出版, 東京
- Townsend PA & Levey DJ. 2005. An experimental test of whether habitat corridors affect pollen transfer. *Ecology* 86:466-475
- 鷲谷いづみ, サクラソウの目—保全生態学とは何か—, 第 1 版, 1998, 地人書館, 東京
- 八坂通泰, 須山由紀, 川崎文主, 紺野康夫. 森林の孤立化が 3 種の多年草の結果率に与える影響. *日本生態学会誌* 44:1-7 (1994)

## Summary

Fruit set ratios of a forest understory, self-incompatible perennial plant, *Polygonatum odoratum* (Liliaceae), were surveyed in a remnant forest and its vicinity under a cultivated landscape in Memuro-cho, Hokkaido. The survey was carried out in 4 habitats, which were interior of a forest, an edge of it, a windbreak and a field boundary. The former two were those in the remnant forest and the latter two were those in the vicinity of the forest. Fruit set ratios in open pollination were higher than 65% for the 4 habitats. It was not higher for the forest habitats than for the habitats out of the forest. Addition of xenogamous pollens on the stigma of flowers raised the fruit set ratio by 5.0 to 12.8%. As a result, the ratio of open pollination to artificial xenogamous pollination was higher than 84% in the fruit set ratio, not showing severe pollen limitation

for *Polygonatum odoratum*. Observed pollinators were *Bombus diversus tersatus*, *B. pseudobaicalensis* and *B. hypnorum koropokkrus*, which were all native bumblebees to this area



# 江馬修 『山の民』 研究序説 [四]

## ——改稿過程の検討(四)・初稿から学会版へ(後の下)——

柴 口 順 一

(帯広畜産大学文学研究室)  
二〇〇七年四月二十七日受付  
二〇〇七年六月二十二日受理

An introductory study on Shu Ema "Yama no Tami"[4]:

A research on the process of rewriting(4)・From original version to Gakkai version (C-y)

Junichi SHIBAGUCHI

### はじめに

前稿にひき続き、本稿では江馬修『山の民』の初稿(雑誌『ひだびと』掲載)から学会版(飛騨考古土俗学会発行)への改稿に関する補足を行なう。主として行なうのは、いわゆる単位内における変更についての検討である。改めて確認しておけば、各本文の章分けに加えて、各章中に行なわれる一行あけによる区分を併用して分けたものが各单位である。前稿では、初稿第一編から学会版第一部への変更を検討した。本稿では初稿第二編から学会版第二部への変更を検討する。加えて、全編にわたる伏せ字について、また誤植や誤記等についても検討する。

前稿と同様、第一稿において作成した各单位の内容をごく簡単に要約した一覧に、単位内の変更を書き加えることで、まずはおおよそその変更を整理しておくこ

とからはじめる。変更はおおよそ、構成の変更、新たに加えられた部分、省かれた部分の三つに分け、それぞれ△、⊕、⊖の記号を付し、⊕と⊖、すなわち新たに加えられた部分と省かれた部分についてはその内容の簡単な要約を行なう。構成の変更についてはそれを簡潔に記すことは困難なため、△のみを記すにとどめざるを得ない。それについてはのちに行なう検討の際に説明する。追加部分にはページ並びに行数、省略部分には行数のみを記す。追加部分に記すページ並びに行数は「」をはさんでその順に記す。⊕、⊖、及び△にはそれぞれ番号を付しておく。

### 第二部 奔流

#### 一 梅村速水

- 1 京都の旅館で郡中会所総代ら、郡上藩退去・天朝直支配を喜び祝宴。  
 △ 1  
 ⊕ 1 総代の一人、宿に三味線を要求し弾く。(3〜4/19)  
 ⊕ 2 歌。(5〜6/5)  
 ⊕ 3 総代らの会話(の一部)。(6〜8/17)  
 ⊕ 4 総代らの会話と彼らに対する評。(11〜13/35)  
 曰 1 歌。(4)
- 2 慶応二年、桜井誠一を名のり飛驒を訪れたときの梅村速水。  
 ⊕ 5 水野弥太郎との親交について。(15/4)  
 ⊕ 6 平松雪枝と城山に登ったときのこと。(16〜19/52)  
 ⊕ 7 奥田金馬太郎と誠一との会話。(20/5)  
 (三月一日)梅村飛驒高山に入り、翌日竹沢と会見。  
 曰 2 郡中会所の策動について。(9)
- 3 梅村・竹沢の様子と会話(の一部)。(23〜25/29)  
 ⊕ 8 梅村と竹沢の会話(の一部)。(27〜30/41)  
 曰 3 郡中会所と地役人の動き。(20)
- 4 梅村、脇田より事情を聞き、竹沢、山王祭を直前にした飛驒を去る。  
 ⊕ 10 梅村と脇田の会談。(30〜33/34)  
 ⊕ 11 梅村・竹沢交替の挨拶と人々の反応。(35〜41/82)  
 (三月十四日)梅村就任を宣言し、地役人二十ヶ条の伺書を提出し、返答と同時に叱責を受ける。
- 5 山王祭前日の様子。(41/7)  
 ⊕ 12 梅村の地役人に対する叱責。(44〜46/27)  
 (三月十七日)郡中会所総代、梅村に願書を提出するが怒りを買って居を命じられる。
- 6 郡中会所での寄合いの会話。(47〜48/7)  
 ⊕ 14 梅村の考えについて。(51/9)  
 竹沢捕縛の知らせに動揺する人々。
- 7 竹沢逮捕を知らせる信書。(53〜54/10)  
 ⊕ 16 竹沢の家来をかくまった川上屋善右衛門が謹慎、手鎖。(55/12)  
 ⊕ 17 竹沢の家来をかくまった川上屋善右衛門が謹慎、手鎖。(55/12)  
 二 おつる  
 維新が抱える様々な困難と梅村の政策。  
 梅村、役人たちと妻帯のことを話し合う。  
 梅村、笠松の役所に出張する途中、番所の役人の屋敷でおつるに出会う。  
 梅村、おつるを陣屋に連れて帰り、結婚を決意。  
 三 労働と諦念  
 石灰焼場の親子と通りがかりのぼっか、世を語り合う。  
 ⊕ 18 歌。(81/4)  
 ⊕ 19 あたりの様子。(83〜84/12)  
 ⊕ 20 親子とぼっかの会話(の一部)。(87〜90/19)  
 ⊕ 21 歌。(94/4)
- 8 東本願寺の連枝靈樹院勝縁、飛驒来訪の知らせ。  
 ⊕ 22 浄土真宗の信仰について。(95/5)  
 連枝、飛驒を巡行。
- 9 人々の会話。(102/7)  
 四 小さい一人  
 捨て児発見に苦悩する梅村とおつる。  
 ⊕ 24 梅村とおつるの様子。(105/7)  
 曰 4 おつると梅村の会話。(9)  
 ⊕ 25 梅村と吉住礼助の会話(の一部)。(106〜107/22)  
 ⊕ 26 梅村とおつるの会話。(108〜110/31)
- 10 狩りに出た梅村、雨宿りに入った一軒の百姓家に一人泣く赤ん坊を発見。  
 助右エ門の田圃の田植え。  
 △ 2  
 ⊕ 27 早乙女たちの様子。(120/5)  
 △ 3

- 18 田植えの最中弥助の嬢、梅村に呼び出され、田植衆、梅村の悪口をいう。  
 ⊕ 28 歌。(121 / 4)  
 ⊕ 29 おさよ婆、弥助の嬢を呼びに来る。(123 / 124 / 21)  
 △ 4  
 ⊖ 5 歌と、田植えの様子。(8)  
 △ 5  
 ⊕ 30 田植衆たちの梅村についての会話。(126 / 128 / 34)  
 19 田植えの宴会でまた梅村の悪口。  
 五 旧弊一新  
 20 梅村、高山県知事に任命され、(七月一日) 布告を發表、その第一。  
 ⊖ 6 梅村の鎮撫使総督府に宛てた十二ヶ条の伺書。(71)  
 21 布告の第二・第三において、人倫の大道と民衆の教化を説く。  
 ⊖ 7 梅村の改革に対する評。(6)  
 22 布告の第四において、勸農を説く。  
 ⊖ 8 梅村の改革に対する評。(4)  
 23 最後の布告第五において、富国を説く。  
 梅村が行なったその他の政策。  
 ⊕ 31 梅村の考えとそれに対する評。(149 / 150 / 12)  
 24 梅村とおつる、花売りの少女から花を買い、みずから建てた捨て児の墓に詣でる。  
 △ 6  
 △ 7  
 ⊕ 32 花売りの少女から花を買う。(150 / 154 / 56)  
 ⊕ 33 墓付近の様子。(154 / 155 / 10)  
 ⊕ 34 梅村とおつるの会話。(156 / 157 / 15)  
 ⊖ 9 百姓たちの会話。(16)  
 六 弥平と徳兵衛  
 26 百姓七兵衛と勸農方五郎左衛門のいい争いに、勸農方徳兵衛が来て仲裁。  
 27 江馬弥平、徳兵衛の家を訪れ、みずからの印籠と刀を自慢する。  
 弥平の生いたち。  
 ⊖ 10 商法局の設置について。(6)  
 ⊕ 35 野天風呂につかる弥平の様子。(180 / 182 / 21)  
 ⊕ 36 弥平の父親のことば。(182 / 183 / 7)  
 ⊕ 37 風呂につかりながらこれまでのことを想う。(184 / 186 / 23)  
 ⊖ 11 梅村の商法局設置に対する評。(22)  
 29 これからの飛驒についておおいに語る弥平と徳兵衛。  
 七 下々の下国  
 30 飛驒に特別な年貢・買請米制度とそれに対する梅村の考え。  
 ⊖ 12 飛驒の国の貧困について。(11)  
 ⊕ 38 安石代、人別米、山方米について。(201 / 209 / 111)  
 ⊖ 13 新田開発について。(34)  
 31 梅村の行なった様々な救恤政策。  
 ⊕ 39 梅村の『低声竊語』中のことば。(209 / 210 / 9)  
 ⊕ 40 梅村の『低声竊語』中のことば。(211 / 3)  
 ⊖ 14 梅村とおつるの会話。(34)  
 ⊖ 15 梅村の救民政策に対する評。(7)  
 ⊕ 41 張札。(212 / 2)  
 32 天保大飢饉死者のための大法要。  
 ⊕ 42 郷倉について。(213 / 214 / 10)  
 ⊕ 43 法要での鳥羽良映の説教とそのあとの梅村の行動。(215 / 219 / 62)  
 33 法要から帰る途中の百姓たち。  
 ⊖ 16 梅村の百姓批判。(12)  
 ⊕ 44 法要から帰りの百姓たちの様子。(219 / 220 / 8)  
 ⊕ 45 突然、猪が出現。(221 / 222 / 16)  
 八 神を瀆するもの

- 34 (九月八日) 明治改元と(十月) 東京行幸。  
秋祭り準備のなか、梅村への不満を語る百姓たち。
- 35 ④6 質素を条件として祭りが許される。(223～224／8)  
④17 百姓たちの不満。(12)  
④18 梅村の灌漑、堤防築造計画について。(14)  
④47 百姓たちの会話(の一部)。(224～225／9)  
④48 百姓たちの会話(の一部)。(226～228／12)  
36 祭りの準備中、役人がお社の御神体を調べに来て没収、祭りは中止になる。  
④49 仁右衛門の様子。(231／8)  
④19 祭りばやしの練習をする人々。(17)  
④20 役人と五郎作の会話。(17)  
④50 仁右衛門と長作の会話。(232～233／16)  
④51 役人と仁右衛門らの会話。(234～235／20)  
④21 役人たちの来意の説明。(7)  
④22 百姓たち、役人たちに取りすがる。(13)  
37 他の村々でも御神体調べが行なわれ、多くの村々で祭りが中止となる。  
郷兵の組織について。  
38 ④52 僧兵組織について。(242～243／12)  
④23 兵士たちの不満と傲慢ぶり。(7)  
39 梅村、不平分子を捕縛し、太政官に新たな進言。  
④53 梅村、『低声竊語』『斐太の墨繩』を著す。(245／9)  
九 堤防工事  
40 梅村、洪水対策のために堤防工事に着手。  
④24 飛驒山々の自然と人々の生活。(9)  
④54 灌漑事業について。(248／9)  
④55 梅村と組頭の会話。(249～250／7)  
④56 堤防工事の様子。(251～252／11)  
41 梅村、堤防工事の現場を訪れ工事の遅れに対処。  
42 ④57 梅村の、刑罰に関する政策。(254～255／8)  
堤防が完成し、祝宴が催される。  
△8  
△9  
④58 あたりの様子。(260～261／6)  
43 祝宴に梅村・おつるが参加。  
④59 祝宴の様子。(261～262／17)  
④60 人々の会話(の一部)。(264～266／13)  
④61 祝宴での梅村の様子。(267～268／8)  
44 梅村・おつる退席後も祝宴は続く。  
④62 人々の会話。(268／7)  
④63 宮の八兵衛にまつわる人々の会話。(269～275／82)  
④25 人々の会話。(13)  
十 合羽屋おらく  
45 梅村、密通を厳しく禁止するとともに、遊女屋を設置。  
④26 梅村と吉田文助の会話。(10)  
④64 密通厳禁の布告とその徹底。(277～279／29)  
46 六人の女を密通の疑いで取り調べる。  
47 村山三郎、おらくと吉住弘之進を発見し、おらくをおどす。  
48 おらくと下女おかねを尋問。  
49 おらく・おえいと、吉住弘之進・礼助に対する処罰の言い渡し。  
④65 はじめておらくを見る梅村の様子。(303～304／17)  
④66 手鎖をかけられたおらくと周囲の様子。(305～307／29)  
④27 吉住親子に対する言い渡し。(20)  
④67 梅村、村上に会う。梅村とおつるの会話。(308～311／53)  
(十二月二日) おらく、制札場で晒しの刑に処せられる。  
④68 刑の延期嘆願を一蹴する梅村。(312～314／31)  
④69 刑を見に来た人々の会話(の一部)。(316／8)

□28 人々のうわさ。(10)  
 梅村のおらくへの意趣返しをうわさし、戦々恐々とするひとびと。

□29 梅村とおつるについて。(6)

⊕70 もうひとつの密通事件で連行される娘。(318/6)

52 藤兵衛・五郎作ら百姓、居酒屋でおらく・梅村について語り合う。

一

まずは構成の変更から検討する。初稿第一編から学会版第一部への変更と比べ、第二編から第二部への変更は全体的にその程度がはなはだしい。構成の変更もその例外ではないが、他の二つに比べれば著しく少ないことは以前と同様である。

△1は第二部の冒頭部分である。飛驒の人々の念願であった郡上藩退去、天朝直支配がついに許されることになり、そのことを喜ぶ郡中会所総代らが京都の旅宿で祝宴をあげるといのが、最初の1の主な内容である。総代らは当然ながらたいそうな上機嫌で、飲めや歌えの大騒ぎをしている場面のだが、ここでは三味線に合わせて歌われる歌の一節が記されていた。一行あけ、分ち書きで記されていたその歌は引用と見ることができ、学会版ではそれが記された部分は1の「ごく最初におかれていた。そのあとに、「こゝは京都の、三条の橋に近い、あまり上等で無い旅人宿の裏二階である。」云々という説明がはじめられていたのである。初稿ではそれらが逆になっており、「京都三条通のあたり、あまり上等でない旅人宿の裏二階で、……」というほぼ同じことばではじまっていた。

要するに、学会版において前後を入れ替えたのである。まずは歌の場面をいきなり持つてきて、そのあとから状況の説明を加えるという意図があったとはいえないであろうが、いずれが構成としてすぐれているかにはかに判断することはできないであろう。ただ、学会版ではそれらの記述の前に新たに加えられた部分があった。⊕1の部分であるが、総代の一人が宿の女中に三味線を要求し、それを受け取るとやがて巧妙な手つきで三味線をかかなではじめるという記述である。歌の場面をはじめに持つてきたのはそのためであり、いわばその流れで記されていた

といえるであろう。しかし、新たに加えられた部分を含めてそれらをはじめに持つてくる必然があったかどうかは、やはり疑問が残るであろう。

△2と△3は、いずれも17の部分にある。助右エ門という百姓家での田植えの場面であるが、△2は先と同様な田植え歌の移動である。初稿では冒頭におかれていたものが、学会版ではなかばに移っている。単純な前後の入れ替えではないが、先の場合と反対のケースともいえる。いずれが構成としてすぐれているか判断しがたいのは先と同様である。

△3は前後の入れ替えである。田植えは夕立によって一時中断される。やがて夕立はあがり作業は再開されるが、初稿ではそのはじまりが、「さア、早乙女衆、やらまいかよ。元気良うやつてくれ。お前たちの大好きな事じや」という鍬頭の老爺のかけ声であり、それに促されて働き出す早乙女たちの記述であった。そのあとに、田を踏み均して歩く「大足踏」の男たちや、苗束を田のなかに放って歩く「苗打ち」の男たちの記述が続いていた。学会版ではそれが逆になっており、男たちの記述がはじめてきていたのである。順序からいえば学会版の方が自然であり、たぶん変更したのもそのためである。初稿が特に問題があるとはいえないであろう。むしろ、鍬頭の勢いよい声からはじまることで、あわただしく作業が再開される様子がよく描かれているともいえるであろう。ちなみにいえば、先の田植え歌は早乙女たちが働き出す記述の直後に記されていた。

△4と△5も、同じく18の部分に存在する。前の17に続き、18も田植えの場面が中心になっている。△4は、△1や△2と同様、歌の移動である。田植え歌というよりは、一般に労働歌というべきものであるが、早乙女たちや男たちの歌う歌がはじめに記されていた。学会版ではそれが最後の部分に移されているのである。ただし、男たちの歌は八行に分ち書きされていたうちのうしろ半分のみが略されている。なぜ半分を省略したのかはよくわからないが、歌を最後の部分に移動したのは、おそらく新たに加えられた記述と関わっており、のちにその部分を検討する際に考える。

△5は鍬頭の老爺が三味線を弾き、田植えの景気づけをするという記述であるが、これもなかばにあったものが最後の部分に移されている。その三味線に合わ

せて先の早乙女たちや男たちが歌うのであり、△4の変更もむろんそれと関わっている。だが、そのことも含めてそれらが最後の部分に移動したのは、やはり新たに加えられた記述と関わっている。これもまた、△4と合わせてのちにその部分を検討する際に考える。

△6と△7もまた、同じ25の部分にある。ここは梅村速水がおつるをとまなみ、みずから建てた捨て児の墓に詣でる場面である。「七月の初め、愈々棄て子の墓が出来上つたといふ報告のあつた次の朝早く、梅村は一挺の駕籠を仕立てさせ、お鶴を伴ふて、人目を避けるやうに北ヶ洞の墓地へ行つた。」という記述が、初稿ではかなりうしろの方にある。学会版ではそれを最初に持つてきているが、それが△6である。また、その記述にすぐ続けて、墓とその付近の様子記されている記述があるが、学会版ではそれがなかに移されている。それが△7である。△7の方はひとまずおくとして、△6は学会版の方が当然のあり方であり、初稿の方が奇異に見えるであろう。だが、初稿が特に変だというわけでは実はないのである。それはやはり新たに加えられた記述、そして省略された記述と関わっている。したがって、そのことも含めてそれらもまたのちに検討する。

最後になるが、△8と△9もまたどちらも42の部分にある。梅村速水は洪水対策のための堤防工事に着手するが、その工事が完成し多くの人々が集まる完成記念の祝宴が描かれているのが42である。梅村は村々に対して祝宴の招待状を送るが、初稿では冒頭にそのことが記されており、そのあとに、「長さ千間に渡る大堤防は、千四百両余の大金と人民の賦役によつてつひに完成した。」云々という記述があった。学会版ではそれが逆になっている。それが△8である。△2の、冒頭におかれていた歌詞の移動と同様なやり方といえるが、いずれが構成としてすぐれているか判断しがたいのも同様である。また、初稿ではその記述のあとに、組頭を中心として宴席を準備する様子の記述があり、続けて風景描写が記されていた。学会版ではそれらが逆になり、風景描写が先にきており、それが△9である。これまた、いずれがすぐれているかはにわかには判断しがたいであろう。次に新たに加えられた部分を検討する。新たに加えられた部分はかなりの箇所

しく効率性に欠けるので、前稿と同様まずは大雑把に分類する形で見ていき、特に問題となると考えられる部分のみをのちに検討することにする。ただし、これもまた前稿と同様省かれた部分をも見たあとにである。新たに加えられた部分と省かれた部分は互いに関連性を持つている場合が少なくないからである。

新たに加えられた部分でまず目立つのはやはり会話の記述である。第一編から第一部への変更においては全体の三分の一を占めていたが、ここでも全体の三割を占めている。⊕3、⊕7、⊕9、⊕14、⊕20、⊕23、⊕25、⊕26、⊕30、⊕34、⊕36、⊕47、⊕48、⊕50、⊕51、⊕55、⊕60、⊕62、⊕63、⊕67、⊕69の二十一箇所である。⊕36は一人の発言であり、発話というべきかもしれないが、一応会話として扱う。以前には、会話の記述におけるひとつの特徴として、新たな会話場面を創出するのではなく、もともとあった会話をいわばふくらませるような形で加えられたものであったことを指摘したが、ここでは創出されているものも少なくない。ただし、初稿には存在しない場面を創出したり、あるいは既存場面に新たな人物を登場させたりした上での創出ではない。すなわち、初稿では場面としては存在しまた人物も存在していた、ないしは当然存在していたと思われる人物による会話である。もともとあった会話をふくらませるような以前のやり方には、会話場面をより豊かにしようという意図があつたであろうと述べたが、ここでの新たな会話場面の創出も、作品全体として会話場面を増やし、より豊かにしようという意図があつたといつてよいであろう。ただし、学会版において省かれた会話もあり、それらについてはのちに述べる。ひとつ断わっておけば、会話の記述としてあげたこれらの記述にはむろん、一部地の文が含まれている。とりわけ、新たに創出された会話の記述にはその部分が少なくないが、いずれも会話を中心とした記述であることはいうまでもない。

次は種々の場面におけるあたりの様子の記述、あるいは人々の様子の記述である。あたりの様子と人々の様子の記述はむろん性質は異なるが、しばしばそれらは一体化して記されているのでまとめて取りあげることにする。⊕8、⊕12、⊕19、⊕24、⊕27、⊕33、⊕35、⊕44、⊕49、⊕56、⊕58、⊕59、⊕61、⊕65、⊕66の十五箇所である。これらのなかには一部会話の記述を含んでいる

ものがあるが、会話以外の記述を多く含み、内容としてはこちらの範疇に入れるべきと考え、先にあげた会話の記述からは一応除外した。これらの記述はおおむね一定の効果をあげていたといつてよいであろう。

次に見るのは、いくつかのことがらに関する説明とでもいべき記述である。第一編から第一部への追加でいえば、飛驒の地役人について、藁づかい小屋と夜ばいについて、そしてうどん屋を装う密淫売についての説明といった記述である。すなわち、飛驒地方固有のというわけではないが、いずれもが飛驒における制度、慣習、風俗等に関する説明である。小説を読み進める上ではやはり理解を助ける説明として有効であり、ここでもそのような記述が⊕22、⊕38、⊕42、⊕52と四つある。⊕22は浄土真宗の信仰について、⊕38は安石代、人別米、山方米の制度について、⊕42は郷倉について、⊕52は僧兵組織についての説明である。これらのなかにも一部会話（発話）の記述を含むものがあるが、先の会話の記述からは除外すべきものであることは付け加えるまでもない。

次にあげるのは引用の記述である。前稿ではその他としたなかにそのような記述があることを指摘し、二例だけなので一項としては設けなかった。いずれもがいわゆる韻文であり、一つは落首、もうひとつは歌の一節であった。それと同様なものが、⊕2、⊕18、⊕21、⊕28である。ただし、いずれもが歌の一節である。さらに別の引用として、⊕16、⊕39、⊕40、⊕41をあげることができる。韻文に対して散文といつてもよいが、要するに文書である。⊕16が信書、⊕39及び⊕40が手記、そして⊕41は張札である。初稿でも歌の引用は少なくなく、また文書の引用も少なくなかったが、学会版ではさらにそれらが加わった形である。ただし、引用の記述も省かれた部分がないわけではない。

大雑把に分ければ以上の四種になり、残りはその他というほかはない。その数は二十二箇所、全体の三割を占めるほど多いのだが、いたしかたがない。ただ、そのなかであえて一項をたてるとすれば、梅村速水の考えや政策とそれに対する評といべき記述をあげられないこともない。だが、それは特定の人物に関する記述であり、他とはやはり同列には扱うべきではないと考え、その他とした。そのような記述もまた省かれた部分が少なくなく、その点を含めのに検討するこ

とになる。

ところで、以上見てきた分類のなかには以前にあったものがひとつだけ欠けている。風景の記述である。『江馬修論』（おうふう、00・2）において永平和雄は、初稿から学会版への改稿において新たに加えられた重要なもののひとつとして、風景描写をあげていた。だが、新たに加えられた風景の記述は意外と少なく、永平がいうほど多かつたわけではないことを前稿では指摘した。会話の記述に比べれば、むしろ少ないといつてもよいほどだったのである。それは、第二編から第二部への改稿においてもいえることであることも述べておいたが、むろんまったくないというわけではなかった。ここで風景の記述として一項をたてなかつたのは、それらの記述はすべて他の記述に付随する形で記されていたからである。すなわち、風景の記述だけがいわば単独で追加されるような記述はなかつたということであり、他の記述に含める形で差しつかえないような記述でしなかつたということである。風景の記述は、永平が主張していたほど大きなものではやはりなかつたのである。

次は省かれた部分である。前稿では、数も少なくまたあまり意味はないと考えられたので、分類という形を取らなかつたが、ここでは先と同様、まずは大雑把に分類する形で見たいと思う。ただあらかじめ断わっておけば、省かれた部分の多くは新たに加えられた部分と深く関わっている。もつといえ、省かれた部分の多くは新たに加えられた部分と深く関わっている。あるいは新たな部分に加わることによつて省かれる部分がでてくるという場合が少なくないことである。であるならば、それはすなわち差し替えと呼ぶべきものであろうが、とりあえずは新たに加えられた部分と省かれた部分の二つで処理しておくことにした。省かれた部分の分類もほぼ新たに加えられた部分と同様である。

まずは会話の記述である。⊕4、⊕9、⊕14、⊕20、⊕25、⊕26の六つがそれにあたる。新たに加えられた部分としては会話の記述が相当数を占め、作品全体として会話の記述及び会話場面を増し、より豊かにしようという意図があつたであろうと述べたが、省かれた部分もわずかではなかつた。だが、そのほとんどは差し替えと見なすべきものであつた。その意味で、会話の記述をことさらに

削ろうという意図は認め難く、全体として会話の記述をより豊かにしようという意図はやはり顕著であるといえる。

次はいわゆることさらに関する説明の記述であるが、日12、日13、日24がそれである。これらもまた、差し替えと見るべきものといってよいが、詳しくはのちに見る。

引用の記述としては、日1、日5の二つで、いずれも歌の引用である。日1は先に構成の変更のところで見えた1の部分である。初稿、学会版いずれもいくつかの歌が引用されていたが、初稿では最後の部分におかれていた歌四行が学会版では省かれていた。日5はすでに述べたように、田植えで働く男たちの歌八行のうち四行が省略されている部分である。いずれもなぜことさらに省く必要があったのかは不明である。

それ以外の残りは、先と同様その他というほかはない。その数は十八箇所、その占める割合は先よりもまたはるかに大きい、これまたいたしかたがない。ただ、そのなかであえて一項をたてるとすれば、やはり梅村の考えや政策とそれに対する評の記述をあげることができ、それらも差し替えと見るべきものが多く、他の部分もまた同様である。

あたりの様子の記述あるいは人々の様子の記述、そして風景の記述で省かれた部分はなかった。少なくとも、その部分だけが切り取られるような記述はなく、他の記述に含める形で差しつかえないような記述でしかなかった。

以上、単位内における変更を大雑把に見てきた。次に、特に問題となると考えられる部分を検討する。

## 二

まずは構成の変更のところ、保留しておいたものから検討する。18の部分にある、早乙女たちや男たちの歌う歌の移動と、罫頭の老爺が三味線を弾き田植えの景気づけをする記述の移動についてである。前の17からはじまり、19まで続く一連の田植えの場面の前には、初稿にはない新たな単位が加えられている。単位

番号の16である。それについては単位レヴェルの変更を検討したときに詳しく述べたが、その追加がこの部分の変更に大きく影響を与えていると考えられる。16は、狩りに出た梅村が、雨宿りに立ち寄った一軒の百姓家に一人泣く赤ん坊を発見し、家のものを呼びにやるといふ記述である。そこから場面は切りかわり、次の17から田植えの場面ははじまるのだが、18では赤ん坊の親を呼びに来る老婆が描かれていた。「弥助の嬢をらぬかよウ。」という老婆のことばではじまるその部分は、18の冒頭におかれていた。単位冒頭に、17をはさんでその前の16と対応する形の記述をいきなり持つてくるという工夫であったといえるであろう。もちろん、この部分の記述は初稿にはなく、学会版で新たに加えられたものである。その他として分類した日29がそれである。老婆が呼びに来る記述のあとには、田植えをしていた人々のあいだで当然そのことが話題となるであろう。それが、会話の記述としてあげた日30の追加である。そして、それがひとしきり続いたあと、それを切りあげるかのように罫頭の三味線が鳴り出し、田植えは再開されるのである。それに合わせて、早乙女たちや男たちが歌うという形で18は終わっていた。初稿では冒頭にあった歌の記述や、作品なかばにあった罫頭の三味線の記述が、そのような形で最後にまわされたのは極めて適切かつ有効な変更であったといえるであろう。そのような変更のもととの原因が、16の追加であったといえるのである。

構成の変更の部分で保留しておいたものはもうひとつある。梅村がおつるをともない、みずから建てた捨て児の墓に詣でる25の部分である。朝早く墓詣でに出発したことを記す記述、及び墓とその付近の様子が記された記述が、それぞれ冒頭及びなかばに移されている。初稿では、それらは並んで最後の方にあった。後者はともかく、前者の墓詣でに出発したことを記す記述があとにあるのは奇異に見える。だが、先にも述べたように、初稿が特に変わったというわけでは実はないのである。初稿では、冒頭にいきなり捨て児の墓を建てたことが記され、続けて梅村自身が草した墓碑銘が引用されていた。そのあとにはそのことをうわさし合う百姓たちの会話が記され、それに続けて先の二つの記述が並んでいた。そのあとに、墓を詣でる二人の様子がごく簡単に記され25は終わっていたのである。やや



拙速な感じは否めないが、作者もやはりその拙速さが気になったのであろう。学会版では墓を詣でる際の記述を大きく加えた。花売りの少女から花を買う場面や、梅村とおつるの会話の場面を付け加えたのである。前者が③2、後者が③4のそれぞれの追加である。そのような記述を入れるからには、墓詣への出発の記述ははじめに持つてこざるを得ないであろう。さらには、墓と付近の様子記述も墓詣での場面へと移されることになるのである。ちなみにいえば、墓や付近の様子については③3の新たな記述も加わり、よりいっそう詳しく記され、そのあとに初稿にもあつた墓碑銘が引用されていた。そのかわり、うわさをし合う百姓たちの会話は省かれていた。それが③9である。墓詣でを中心に描くことにしたため、それらは不要と考えたのであろう。全体として、学会版の方がよりよい記述になっていったといえることはいうまでもない。

はじめに掲げた一覽を見ればわかるように、各单位のなかには変更箇所が比較的集中しているところがある。構成の変更のところでも触れた1や17、そして今先に見た18や25もそうである。そこで、次に変更箇所が比較的集中している部分を中心にみていきたいと思う。

まずは3の部分である。ここは、梅村速水が新たな飛騨取締役として高山に入り、前任者の竹沢寛三郎と会見をする場面である。ここで、梅村と竹沢の様子が主として記されている③8や、一人の会話の記述③9がかなり大きく加えられている。初稿ではそれらはごくあつさりとした記述で済まされているが、ことは前任者と新任者の会見の場面である。しかも、その交替はさまざまなきさつのうちに急転回で決定されたことであつた。さらには、これは学会版で新たに加えられる部分だが、その会見における竹沢の発言をのちに梅村が問題にし、いわばその言質を取るといふ場面が出てくるのである。③11がそれだが、それらのことを考えるならば、前任者と新任者のいわば心理劇を中心とした会話の場面を詳しく描く必要があるであろう。作者もおそらくはそう考えたのであろう。大幅にそれらを加えられていることがそのことを示しているといつてよいであろう。だが、ここでは省かれた部分もある。③2と③3の二箇所だが、いずれも郡中会所の行動について記されている部分である。これらが省かれたのはおそらく、時間的

にさかのぼる形の、しかもくりかえしといつてよい記述であつたからであろう。すなわち、そこで記されていたのは主として竹沢時代のことであり、それまでの郡中会所の行動がいわば総括的に記されていたのである。無駄とはいえないが、少々くどい感じは否めないであろう。

次は12の部分である。石灰焼場で働く親子と、そこに通りかかったぼっかが世を語り合う場面である。ぼっかとは、徒歩で荷物を運ぶ家業の人のことである。ここでは、石灰焼場のある山奥の様子がかなり詳細に描かれていたが、③19でさらあたりの様子が加えられている。ただ、それは初稿にはない焼畑作業を行なう百姓たちの様子であつた。山間部に生きる人々の生活をより広く描こうとしたのであろう。ぼっかを登場させていたのも同じ意図であつたといつてよい。そして、その記述の追加はもうひとつの追加と関わっている。③21の歌の一節である。以前にも見たのと同様な、分ち書き四行の歌が最後に記されており、それで12は終わるのである。これは焼畑作業をしていた百姓の歌であつた。そして、実は冒頭にも同じく四行の歌が記されていた。それが③18である。要するに、歌ではじまり、歌で終わるという形に学会版は改められていたのだが、最初の歌は誰が歌つたものかは記されていなかった。だが、その書き方からすれば百姓たちの歌であつたと見るべきであろう。これらの追加によつて、よりすぐれた記述になっていたとい切ることは少々ためらわれないでもないが、山間にこだます百姓の声を喚起する記述であつたことはまちがいない。またその余韻が残る終わり方であつたといえるであろう。もうひとつの追加は、③20の親子とぼっかの会話であるが、これは例の会話場面をより豊かにする記述のひとつであつたといつてよいであろう。

15は、捨て児が発見されたことを聞き苦悩する梅村とおつるが描かれている部分である。初稿では、この部分に相当する記述はごく短かいものにすぎない。単位レヴェルの変更を検討したときに述べたが、初稿のその記述を含む単位は二つに分断され、一方は他の部分と合わり学会版の他の単位を形成し、もう一方が15としていわば独立した形になっていたのである。おそらくはそのためであろう、この部分もかなり大幅に書き加えられている。だが、省かれた部分もあり、むしろ

る全体をほぼ差し替えたといった方がよいかもしれない。⊕24は梅村とおつるの様子の記述であり、⊕25は梅村と吉住礼助の会話を中心とした記述である。吉住は元地役人で、梅村の側近として仕えていた人物であるが、その吉住が捨て児が発見されたことを報告しに来たのである。初稿ではそのような設定にはなっておらず、おつるがうわさを聞き梅村に話すという形になっていた。したがって、その部分である⊕4が省かれたのである。そのかわりに、吉住が引きさがったあとにそのことを話題にする梅村とおつるの会話⊕26が加えられていた。ただ、初稿ではおつるから話しを聞いた梅村が、やはり側近の村上俊介を呼び事情を聞いたのだすという記述がある。その部分もむろん省かれていたわけだが、そこでの簡単なやりとりは、吉住と梅村の会話の部分に生かされた形になっており、あえて省略された部分とはしなかった。

28は、江馬弥平の生いたちについて記されている部分である。ここも、初稿の単位が二つに分断され、この部分に相当する記述が独立した形で28になったものである。大幅に書き加えられていたこと、そして省かれた部分も少なくないこと、その結果むしろ差し替えといってもよいものであったことも同じである。初稿では、弥平の生いたちについてはごく簡単な記述で済まされていた。だが、学会版では弥平に大きくスポットをあてた記述に改められている。実は二つ前の単位26からはじまり次の29に続く一連の記述が、弥平を中心とした記述になっており、26、27、29は学会版で新たに加えられた単位だったのである。26から29までの四つが、「六 弥平と徳兵衛」という一章を形づくっており、その意味ではここはほぼ章レベルの追加であったといってもよいのである。件の28は当然、26、27からの流れで記されているが詳しくは追わない。弥平が旧知の友人である徳兵衛の家を訪れ、野天風呂で一風呂あびる場面から28ははじまる。その風呂につかる弥平の様子が記されているのが⊕35である。やがて弥平は、風呂につかりながら来し方を回想する。百姓家の末っ子に生まれた弥平は十三のときに家を出るが、そのときに父親にいわれたことが強い思い出として残っていた。その父親のことばが⊕36である。その後弥平はさまざま苦勞を重ね、やがて苗字帯刀を許される身となったのだが、その来し方を想いつつ現在の心境が記されているのが⊕37

であった。だが、先にも述べたように、省かれた部分も存在する。弥平が局長を務めていた商法局について記された⊕10と、その商法局設置の政策に対するいわば評とでもいえるべき⊕11である。それが省かれたのは、弥平の生いたちに関する記述に集中させようとしたためでもあろうが、実は学会版第三部において商法局に関するまとまった記述がなされ、それをめぐってさまざまな出来事が記されることになるからであろう。弥平もまたその際に登場していたことはいうまでもない。第三部に相当する第三編とでもいえるべきものが初稿には存在しなかったことは改めて確認するまでもない。

31は、梅村の行なったさまざまな救恤政策が記されている部分である。⊕39と⊕40は、先にも触れた梅村の手記『低声竊語』からの引用である。初稿においても、梅村の考えや政策については記され、また『低声竊語』からの引用もあった。学会版においてはその引用を増やすことによつて、梅村の考えをより直接的に示そうとしたのであろう。⊕41の張札の引用もまた同様といつてよいであろう。一方、省かれたのは梅村とおつるの会話⊕14である。先に15のところ述べたが、ここは初稿の単位が二つに分断され、その一方の部分と他の単位が合わさってきた部分である。もう一方が、捨て児発見に苦悩する梅村とおつるが描かれた記述だったわけだが、初稿では⊕14の記述はそのすぐ前におかれていた。学会版では大幅に変わってしまったが、捨て児発見に関する初稿の記述は梅村とおつるの会話からはじまっていた。したがって、会話の場面としてはそれらは連動していたといつてよいのである。だが、それらが分断され新たな別々の記述部分に分けられる形になったことで、⊕14はいわば不要になったのである。つまり、⊕14は分断された新たな記述のいずれにも属し得ない、ないしは属しがたいようなものだったのである。⊕14は、一言でいえば夜ばいについての梅村とおつるの会話であった。それが、梅村の救恤政策が記されている31の部分に不要なことは明らかであろう。また、捨て児発見に関する記述とも直接関係はないであろう。ただ、夜ばいの習慣と捨て児の件はまったくの無関係とはいえない。初稿では、梅村とおつるの会話としてそれらの話しが連続していたのもそのためであるが、学会版ではあくまでも捨て児に関する記述に集中させていたために、それらは不要と見

なされたのであろう。ひとつ断わっておけば、以上述べたことから曰14の省略は、捨て児に関する記述の15における省略とすることもできるが、一応31における省略としておいた。省かれた部分はおもひひとつある。曰15の梅村の救恤政策に対するいわば評とすべき記述である。この部分がなぜことさらに省かれる必要があったのかはよくわからない。前にも述べたように、このような記述は新たに加えられたものも少なくなく、またこのように省かれたものもあつた。それらを総合して勘案するにいっそう、ここで省かれなければならない必然は見出しがたいのである。

次に、35と36の部分を合わせて検討する。これらはむろん内容としても連続しており、35は秋祭りの準備のなか梅村への不満を語る百姓たちが描かれ、36はそこに役人がお社の御神体を調べにやつて来、それを没収し祭りが中止になると記されていた。いずれも追加、省略の箇所がかなり多いが、これも単位レヴェルの変更が大きく関わっている。単位レヴェルの変更はやや錯綜しているが、ごく簡単にいえば、祭りの準備中の記述部分に、初稿にあつた百姓たちの不満が記されている部分を、いわばあちこちから集めて持つてきたという形になつていった。それら不満を語る百姓たちの会話を少々ふくらませる形で加えられたのが、④47と④48である。加えられたものはもうひとつ、④46であるが、この部分は質素を条件として祭りが許可されたことが記されていた。その年は凶作で飢饉の一步手前という状況で祭りどころではなかつた。だが、御一新最初の祭礼ということで質素を条件として許されたのである。初稿ではいきなり祭りの前夜であると記されるだけであり、学会版での説明は適切な追加であつたといつてよいであろう。省かれた部分の曰17は百姓たちの不満が記されているが、この部分はあちこちから百姓たちの不満が記された部分を持つてきた結果、いわば重複した部分を省いたものである。曰18は梅村の堤防築造計画について記されている。これに対して例のごとく百姓たちの不満が描かれているわけだが、堤防築造に関してはややあとに一章を設けてまとまつた記述がなされるのでここでは省いたのであろう。以上が35の部分における変更である。続けて36の部分である。百姓たちが祭りの準備をしながらさまざまに不満を語つているところに役人がやつて来る。初

稿では、五郎作という百姓が女房からその旨を告げられ、土間に出てみるとそこに役人がいたという形になつてゐる。五郎作が呼ばれたのはお社の鍵を管理していたからで、五郎作はその後役人を案内してお社へと向う。だが、学会版ではそれが少々変わつてゐる。鍵を管理するのも五郎作から仁右衛門という人物が変わつてゐるのだが、それはともかく、その仁右衛門のところに長作という百姓が呼びに来る。役人がお社に来て御神体を調べるといふので鍵を貸してくれというのである。それを聞いて仁右衛門は長作といつしよにお社に向かい、そこで役人と会うことになるのである。その部分が④49と④50である。④49では仁右衛門の様子が記され、④50ではお社に向う途中の長作との会話が記されている。そして、役人と仁右衛門らの会話を少々ふくらませる形で加えられたのが④51である。このような形に変えた以上、省かれる部分は当然出てくるであらう。曰20と曰21がそうで、曰20は役人と五郎作との会話、曰21は役人たちの来意の説明である。曰20は、学会版における役人と仁右衛門らの会話の一部と差し替えられた、あるいはその会話に生かされたということもできるであらう。また、曰21は、長作がやつてきてそれを仁右衛門に説明するという形に変形されたともいえるであらうが、一応省かれた部分としておいた。他に省かれたものとしては曰19と曰22がある。曰19は祭りばやしの練習をする人々が描かれている。学会版ではそれがすべて省かれてゐるわけではない。だが、祭りばやしの歌を記しながら描かれる後半部分が省かれてゐるのである。特に省く理由は考えづらく、人々の生き生きした練習風景が省かれたのは惜しい気がする。もうひとつの曰22は、百姓たちが役人に御神体を持ち去らないよう取りすがる部分である。これも特に不要とは思われないが、少々くどいと考えられたためであらうか。

40は、梅村が洪水対策のための堤防工事に着手することが描かれている部分である。④54は灌漑事業について記されている。堤防工事と同様の治水事業のひとつとして、ここで書き加えたのであらう。④55は会話の記述である。視察に訪れた梅村と、事情を説明する組頭の会話である。これは初稿にはないいわば創出された会話であるが、視察の状況を具体的な形で記したものとして適当な追加であつたといつてよいであらう。④56は堤防工事の様子が記されている。初稿でもそ

のような記述はむろんあったが、より詳しく記す形で書き加えたのである。一方、省かれたのは曰24の、飛驒の山々の自然と人々の生活が記されている部分である。それらについてはしばしば記されるところであり重複を避けた、というよりはおそらく少々くどいと考えたのであろう。

49は、おらくと母親のおえい、吉住弘之進と父親の礼助に対する密通容疑の処罰言い渡しの場面である。⊕65は、はじめておらくを目にする梅村の様子が描かれていた。初稿にはそのような記述はまったくなかった。詳しくは単位レヴェルの変更を検討した際に述べたが、初稿に比べて学会版では、おらくという娘に大きくスポットがあてられていた。おらくは高山小町と呼ばれる評判の美女であったわけだが、ここでおらくをはじめ見た梅村の様子を記すことは、梅村を描くことであると同時にまたおらくを描くことでもあったといつてよいであろう。梅村もまた、学会版においては全体としてかなり書き込まれていたといつてよい。この部分はそのような学会版の全体的な記述変更のいわば一環であったといつてよいであろう。⊕66は、処罰を言い渡され手鎖をかけられたおらくと、周囲の様子を描かれていた。初稿では、実はおらくに対する処罰言い渡しの場面はなく、いきなり晒しの刑に処せられるおらくが描かれ、その場に言い渡しの木札が立てられその文面が記されていた。これもまた、おらくによりスポットをあてるための追加であったといつてよいであろう。その際には、初稿にあった木札に記された言い渡しはその場で読みあげられる形に変更され、その文面が記されていた。加えて、母親のおえいに対する処罰の言い渡しも同様な形で加えられていた。それに対して、吉住弘之進と父親の礼助に対する処罰言い渡しの部分は初稿よりも簡略化されている。初稿では弘之進と礼助に対して処罰の言い渡しが読みあげられ、その文面も記されていた。また、その際の二人の様子も記されていたが、学会版ではそれらが省かれているのである。それが曰27である。これもまた、おそらくよりスポットをあてるためであったと見ることができるが、ことさらにそのような部分を省き簡略化する必要がはたしてあったかどうかは疑問がないわけではない。49にはもうひとつ加えられた部分がある。その日の夕方近く、梅村が村上俊介に会う記述と、そのあとの梅村とおつるの会話を中心とした記述である。

二つは別の内容ともいえるが、続いているので一応⊕67とひとつにしておいた。村上は、おらくの減刑を求める嘆願書が提出されたことを報告しにやってくるのだが、梅村はそれを一蹴し、村上はすぐさま引き下がるのである。そのあとに、夕食の膳を前にした梅村とおつるが明日の猪狩りについて話す場面が描かれている。初稿では処罰言い渡しの場面だけであり、その後の梅村については何も描かれてはいなかった。ここは、先に見たおらくを目にしたときの様子が描かれている部分と同様、梅村という人物をより描くための追加であったといつてよいであろう。おらくに厳しい処罰を命じた梅村にも思うところがなくなかった。追加部分には梅村のそのような部分も描かれているのだが、そこに嘆願書を持って村上がやってくる。梅村は一蹴するのだが、やはり何かひっかかるものがあつたのである。そのような梅村を見ておつるは猪狩りの話しを切り出すのである。それによつて梅村も少しは気をまぎらわすことができたのである。

以上、変更箇所が比較的集中している部分を見てきたが、特に問題となると考えられる部分もそれでおおよそは見えたことになる。あとは補足的にいくつかの変更を検討したい。

『山の民』の改稿に関する唯一の研究である『江馬修論』で永平和雄は、2において新たに加えられた記述を問題にしていた。⊕6としてあげた、梅村が平松雪枝と城山に登つたときのことを記した部分である。ここは、時間的にさかのぼること二年前、梅村が桜井誠一と名のつていたときのことと記されている。慶応二年の春、桜井誠一こと梅村速水は詩人の平松雪枝と連れだつて飛驒に遊んだ。そこまでは初稿にもごく簡単に記されているのだが、その際に二人で城山に登つたことが学会版では加えられたのである。高山盆地を見渡すことのできる城山に登つた二人は、眼下の景色を見ながら語り合うのである。このような記述が加えられたことについて永平は次のように述べていた。

城山の早春の風景の中での彼の感懐をかなり丁寧に描くのは、たんなる無頼浪人ではない、人間としての内面を補って、雄大な長篇にふさわしい主役へと肉付けするためだったのではないか。初稿から自家版へ、大きな改作の重点は、

主人公梅村速水の人間像の深化、成長にあり、その小さな、最初の徴候が、初稿にはまったく存在しなかった城山逍遙の美しい場面に示されていたのである。

永平がいう「自家版」とは学会版のことだが、ここでいわれていることはおよそ首肯してよいように思う。すなわち、初稿から学会版への改作の「重点」、少なくともそのひとつは梅村の描き方にあったこと、そしてその「最初の徴候」といべきものが今見てきた部分であったといえることである。永平がいうように、それがはたして「梅村速水の人間像の深化」、あるいは「成長」といえるようなものとして描かれていたかはひとまずおくとし、学会版では全体として、梅村について明らかに「肉付け」がされ、「人間としての内面」にもより踏み込んで描かれていたことはまちがいない。そして、見てきた部分の追加もそのような主旨であったこともまちがいないであろう。ただ、この部分はのちのためのいわば伏線として加えられた記述でもあった。城山に登った梅村は、将来このような土地を支配してみたいといった願望を平松に語っていた。山ばかりで未開拓な荒れた土地であるがゆえに、かえってそれを立派に切り開いて理想の土地を建設してみたいと考えたからである。それから二年後、梅村は飛驒取締役としてやって来て、やがて高山県知事となるのである。なお、この部分にはさらに⑤と⑦の追加があるが、ごく短かいものであり特に取りあげるべき記述ではないであろう。

次に補足しておきたいのは、32と33部分のである。ここは、天保大飢饉での死者のために行なわれた大法要について記されている。④2の郷倉についての説明や、④44の法要から帰る百姓たちの様子などが書き加えられているが、そのほかに、初稿にはなかったいわば新たな場面が加えられている。④43の、法要での鳥羽良映による説教とそのあとの梅村の行動についての記述である。常蓮寺の住職鳥羽良映は、飢饉の恐ろしさを切々と説き、それに備えるために郷倉を建て、困窮をしておくことの必要性を強調する。人々は涙を流し感動して聞き入っていたが、その場にいた梅村もその説教にはいたく感心した。良映は、郡中教諭方の役職もつとめていた、梅村の側近中の一人であったわけだが、帰途梅村は良映を呼びつけ一振りの短刀を与える。その短刀は父親から譲られたもので、良映は感

激にふるえながらそれをおしただくのである。ここも、梅村を描くための新たな場面設定であったともいえるが、鳥羽良映という新たな人物を登場させるための追加でもあったといえるであろう。この部分には、実はもうひとつの新たな要素といべき記述が加えられている。法要から帰る途中の百姓たちが描かれている部分に、突然猪の群れが出現するという④45の記述である。猪はむろん百姓たちにとってはやっかいものであり、その猪の群れの出現はこれからの百姓たちの行く末を暗示しているといえないことはないが、はたしてどれだけの効果を持っていたといえるかは疑問が残るであろう。

最後は43と44の部分である。ここは、堤防完成を記念して行なわれた祝宴の場面である。⑥0や⑥2の会話の記述や、⑤9や⑥1の人々の様子の記述が加えられているが、それらについてはもはや取り上げる必要はないであろう。⑥25の会話の記述の省略についても同様である。ちなみにいっておけば、⑥25との差し替えといってもよいであろう。取りあげるのは⑥3の、宮の八兵衛にまつわる人々の会話の記述である。ここは六頁あまりにわたるかなり大部の追加である。無礼講を許すとのことで踊りや歌をまじえた大宴会となるのだが、やがて梅村とおつるは退席する。人々はそれを機に大騒ぎとなる。そんななかで、おしやべりに興じていた一団のなかの一人の老人が次のような一節を口にする。

宮の八兵衛は

酒すぎて

酒三ばいに

嬢かえた

昔、美人で評判の妻を持った八兵衛という男がいた。あるとき、郡代がその妻を見初めて八兵衛をお役所に呼ぶ。郡代は、その方の妹は実に美しいのう、ついでには拙者の妾にもらえまいかと持ちかけた。気の弱い八兵衛は、あんな妹でよろしければ差し上げますと承諾する。郡代は大満足で、八兵衛に対しじきじきに大盃三杯の酒を下されたというのである。一団の人々の会話によって、老人の口に

したことばの意味がのように明かされるのだが、やがて話しは梅村へと移っていく。すなわち、油断していると自分たちの嬢も梅村に取られるぞという話しになっていくのである。その日の宴会は梅村の招待によるもので、人々はいわば大盃三杯の酒をすでに飲んでしまっていたことになる。八兵衛と郡代の話しは、自分たちと梅村の関係のよくできたアナロジーになっていたといつてよいであろう。この部分の最後は、一節の続きと思われる次のようなことばで終わっていた。

嬢アを

かえたはよけれども

酔がさめたら

くやしかりう

### 三

以上で、初稿第二編から学会版第二部への単位内における変更を検討した。最後に伏せ字について、そして誤植や誤記等について検討し、初稿から学会版への変更については終了としたい。

まずは伏せ字についてである。初稿における伏せ字はごく少なく、二箇所しか存在しない。

「(略)さア、こんな所ア早う引あげて、みんな夜××にでも行かまいかよ。(略)」

(第二編(九)、57)

「或る晩、梅村はおらくを陣屋へ呼んで、色々とくどいたがどうしても応ぜないので、柱に縛りつけて……したとよ。」(第二編(十)、57)

前者の「××」にはいうまでもなく、「ばひ」が入り、「夜ばひ」であろう。他の部分では伏せ字になっておらず、「夜ばひ」あるいは「よばひ」と記されていた

ことを考えれば、なぜこの部分のみが伏せ字になっていたのか不明である。後者の「……」には、「征服」ないしは「手籠に」といったことばが入るであろう。学会版における該当部分には「征服」ということばが出てくるが、この文脈では少々違和感がないでもない。「手籠に」といったあたりが適当ではなからうか。

学会版では一転して伏せ字が多く、特に第三部においてそれははなはだしい。学会版第三部に相当する初稿第三編というべきものは存在せず、したがって描かれている内容の問題とといったこともあるであろうが、むろん出版の時期とも関係がある。初稿が雑誌『ひだびと』に掲載されたのは一九三五年から翌三六年にかけてであり、学会版第三部はそれぞれ一九三八、三九、四〇年の出版である。学会版の伏せ字については以下列挙し、伏せ字部分に入ると考えられる言葉を「」内に補う。第一部と第二部に関しては初稿が存在し、そこからほぼ完全な復元が可能である。だが、第三部には初稿が存在せず、また類推の極めて困難な部分が少なくない。そこで、第三部については次に改稿される冬芽書房版を参照する。冬芽書房版でもむろんさまざまな変更がなされているので、そのような方法に問題がないわけではない。しかし、明らかに復元可能な部分もあり、またほぼ確からしい類推が可能である部分も存在する。それ以外はむろん不明というほかはなく、伏せ字のみを記すにとどめざるを得ない。なお、伏せ字の数と補う字数が若干異なっている部分があるが、一、二字程度のちがいは無視した。表記の仕方や送りかな等のちがいによっても差が生じるからということもあるが、もともと伏せ字の数を正確に記してあるという保証もないからである。

#### 第一部

・ それを理解するためには、私たちはまづ当時から百年ばかり前に起つた大農×××〔民一揆〕、いはゆる安永大原××〔騒動〕の歴史まで溯つて、その際郡上藩が飛驒の総百姓に対してどんな役目をしたかを知らねばならぬ。

(49)

・ そして七月の末には、つひに江戸で、松平右近将監の××××〔行列を遮〕して××××〔駕籠訴が〕成された。(50、51)











ふ連中と云ふのは、地役人の輩、郡中会所の重立つた者共、それから商法局  
に怨みを抱く奸商どもで、それらが××××、愚昧の人民××××××××  
「もを煽動した」ものでござります。(略) (277)

「拙者がお預かりしてをる人民共では無いか。それを拙者が自ら出向いて×  
××××「取り鎮める」と云ふのに何の差支へがあるか。」(282)

そこで梅村は揖斐藩と郡上藩へ使者を送つて、××××「暴動鎮圧」のた  
めに××××「兵隊を」懇請した。(282)

(略) 今日因循致し候ては、××「賊徒」の有に相成り候条必然に付、既に  
××「兵隊」用意致し、速に帰県、必ず××××「鎮定」の見込御座候間、例  
へ××「動揺」致し候とも、更に苦しからざる儀に存じ候。(285)

二三町も行つて振返つてみると、戸谷の大きな構へから××××××××××  
××××××××見えた。(286)

それから五六町も来たと思ふ頃、不意に間近の木立の中××××××××××××  
××××「鉄砲の音が一発響き渡つた」。(286)

しかも、××はなか／＼執念深く×××××××××××××××××××××××××××××××××××  
少くはなつたが、一向に××××悠めやうとしなかつた。(289)

梅村擁護のため、百姓総代と自称して上京してゐた勸農方名張村五郎左衛  
門が、帰国の途中益田街道筋××××××××××××××××××××××××××××××××××××

×、万人講河原で××  
ひそかに村の家へ戻つてきた××

××  
若し不心得の人有之候は、××××同様に致し候事。(300)

おつる可愛や  
ヤッコラセ

白歯でみもち  
末は××「騒動」の

泣きわかれ  
ハア、ヨイト／＼ (312、313)

・ 「××「梅村」を仕留めたのはこの「己じや」(337)

次は誤植、誤記等についてである。いうまでもなく、誤植は単純な植字のミス  
であるが、なかにはもともとの字やいいまわしがまちがいでないかと思われる  
ものがある。誤記とはその意だが、むろん明確にはそれらは区別しがたい。そこ  
で、以下分けずに列挙することにする。

初稿第一編

・ 辞退した位である ↓ 辞退した位である (五、43)

・ 運上もおほから御免に ↓ 運上もおほかた御免に (七、15)

・ 狭い路次へ踏みこむと ↓ 狭い路地へ踏みこむと (八、37)

・ 蓋田街道筋 ↓ 益田街道筋 (十、41)

初稿第二編

・ 棚橋衝平 ↓ 棚橋衝平 (一、7)

・ 慶応四年戊辰七月 ↓ 慶応四年戊辰七月 (一、57)

・ でも、殿様方のやうな ↓ 「でも、殿様方のやうな」(六、56)

・ 食を立てやうと ↓ 倉を立てやうと (七、54)

・ 五郎作は拍手して ↓ 五郎作は拍手して (八、53)

学会版第一部

・ 生活低度の水準下の低さ ↓ 生活程度の水準下の低さ (121)

・ 大急いでそれも調達して ↓ 大急ぎでそれも調達して (125)

・ 非常に腰が低く ↓ 非常に腰が低く (150)

・ 練督府 ↓ 総督府 (234)

・ 忙がしく往來する ↓ 忙がしく往來する (240)

・ 小さい商人宿 ↓ 小さい商人宿 (251)

学会版第二部

・ 漆垣内村三郎右衛門 ↓ 漆垣内村三郎右衛門 (50、51)

- ・ 爺さが杖いつて ↓ 爺さが杖ついで (122)
- ・ 慶応四年戊辰七月 ↓ 慶応四年戊辰七月 (156)
- ・ 埒明かん ↓ 埒明かん (182)
- ・ 人夫も殖しやたりして ↓ 人夫も殖したりして (193)
- ・ 八万千七百六十八人 ↓ 八万千七百六十八人 (200、201)
- ・ 年貢半減 ↓ 年貢半減 (204)
- ・ 梅村が、まじろぎもしないで見上げてゐた ↓ 梅村を、まじろぎもしないで見上げてゐた (214)
- ・ 坂の間いつばいに ↓ 坂の間いつばいに (230)
- ・ さらしものにならないのが ↓ さらしものにするのが (309)
- ・ 寝雪 ↓ 根雪 (312)

## 学会版第三部

- ・ 戦々胸々 ↓ 戦々恐々 (62)
- ・ 綱の目のやうに ↓ 綱の目のやうに (113)
- ・ これも役徳といふもの ↓ これも役徳といふもの (146)
- ・ 越させねばならかつた ↓ 越させねばならかつた (181)
- ・ 大いさを指定され ↓ 大きさを指定され (205)
- ・ 聞いたゞけだつた ↓ 聞いたゞけだつた (210、211)
- ・ 待共は ↓ 待共は (218)
- ・ 紹介してやつた ↓ 照会してやつた (238)
- ・ 余祐も無かつた ↓ 余裕も無かつた (288)
- ・ 高々の町々 ↓ 高山の町々 (294)
- ・ 粉骨細身 ↓ 粉骨碎身 (316)
- ・ 椽側 ↓ 縁側 (327 三箇所)
- ・ 高間善八 ↓ 高間源八 (332)

# Mechanisms of cooperation among industry, academia, and government in Japan

Harumi WATANABE

(Received:27 April,2007) (Accepted:22 June,2007)

日本における産学官連携の構図  
渡邊晴美

## 1 Introduction

This paper is prepared in advance of the survey on the framework of industrial-academic-governmental cooperation in Germany. The purpose of this paper is to show a bird's-eye view of the relationship between the councils and the regulations related to industrial-academic-governmental cooperation in Japan and to put the process of such national policy making in chronological order. One of the important things to clarify is that the national policy is made by certain people through various processes, and where and how the concrete measures and programs to realize the national policy are conducted. Such work is similar to identifying one's location on a map, so a bird's-eye view of that map helps to put things in perspective when involved in cooperative industrial-academic-governmental activities.

## 2 Outset of current industry-academia-government cooperation in Japan

The current industrial-academic-governmental cooperation in Japan is economic and industrial

policy led by the Cabinet in order to recover the power of economic competition of Japan in the industrial world. The economic gap between the USA and Japan is regarded as a result of the social structure between the two countries. The Japanese policy makers recognized that a series of economic policies in the USA led to its success in 1990s. The following two policies are considered to be the main causes. One is the "Patent and Trademark Act Amendment of 1980", the so-called Bayh-Dole Act, which enabled industries to own intellectual property rights, such as patent rights produced through trust fund with the government funds. The other was the establishment of the Technology Licensing Organization (TLO). Under such recognition, the Japanese version, pro-patent patent policy, has been adopted. In 1997, the Council for Intellectual Property in the 21<sup>st</sup> Century, which is a private advisory group of the Director General of the Patent Office, showed the national economic and industrial policy of Japan changed from a "scientific and technological nation" into a "nation built on intellectual property". This means that the policy was changed from "introduction of advanced

---

帯広畜産大学 地域共同研究センター

Cooperative Research Center, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine

technology” to “creation of technology”. Shortly after that two laws were established—in 1998, the Law for Promotion of University-Industry Technology Transfer (Law No.52, 1998 , also called TLO Law in Japan) and in 1999 the Law on Special Measures for Industrial Revitalization (Law No.52,1998, article 30 of which is referred to as the provision of the Japanese Bayh·Dole Act): On the other hand, six regulations related to incorporating universities, the core of which is the Law of National University Corporations (Law No.112, 2003), were made and national universities were incorporated in April 2004 with an expectation that national universities would be treasure houses full of intellectual seeds, namely, what industries wanted.

### **3 Establishment of two “Councils on important policy” and the change in the role of the Ministries**

By the “Law for the Establishment of the Cabinet Office” (Law No. 89, 1999), two Councils on important policy were set up in the Cabinet office. We should pay enough attention to the fact that the Prime Minister’s office before reorganization of government ministries and agencies was coordinate in status (position) with other ministries under the National Government Organization Act, but the Cabinet office is ranked above the other ministries (Article 4 and Article 12, paragraph (4) of Cabinet Law ; Article 2 of Law for the establishment of the Cabinet Office ; Article 2 of National Government Organization act). The two “Councils on important policy” are the “Council on Economic and Fiscal Policy” and “Council for Science and Technology Policy”. The latter is referred to in item 4, so here I describe the personnel structure and the power and

authority of the former.

The basis of the establishment of the “Council on Economic and Fiscal Policy” is in the provision of Article 18 of the Law for the Establishment of the Cabinet Office, and the matters the Council takes charge of are provided in the provision of Article 19, paragraph (1), of the Law as follows: to examine and discuss the management principles (keynotes) of general economy, the principles of financial management, the principle of budget compilation and other important matters on economy and financial policies in response to consultation with the Prime Minister. The Council is composed of the Prime Minister who is the chairperson (in Article 21, paragraph (1)), some ministers appointed by the Prime Minister and persons with knowledge and experience in economic and financial matters (in the provision of Article 22, paragraph (1), item (vii)). The total number of members is provided as the chairperson and ten or fewer others (in the provision of Article 20). Four of the members at present are businessmen and economists. Naturally, this includes the president of the Japan Business Federation (JBF), which was created through the integration of Japan’s two major business lobbies: Japan Federation of Economic Organizations and Japan Federation of Employers’ Association. He is also the chairperson of the Industrial Structure Council of the Ministry of Economy Trade and Industry. The Outline of Basic Policies for Macroeconomic Management and Structural Reform of the Japanese Economy, which is the structurally solid reform policy framework, was made by the Council on Economic and Fiscal Policy in 1999. The outline has a strong influence the completion of budget draft with the approval of the Cabinet. This means the Council on Economic and Fiscal Policy

participates largely in the process of completing a budget draft by making the directions and policy concerning such a process. It can be said that the Council on Economic and Fiscal Policy makes the Ministries function as an organization to execute concrete programs and projects within the given framework instead of planning and designing the framework of basic national policies.

It is said that a substantial adjustment on national policy was made in the meeting of vice-ministers. This actual meaning is that pulling strings at an administrator's level played an important role before the meeting. The authority of making a budget draft belonged completely to the Ministry of Finance before the establishment of the Council on Economic and Fiscal Policy, and it was exerted in a manner such as setting the deadline for the budget draft from each Ministry in August and followed by drawing up the budget request guidelines (ceiling), then the completed budget draft of the Ministry basically became the budget draft of the government for the Diet's approval.

(It is also notable that "seven-point structural reform" (i.e., structural reform without sanctuary) shown by the Council on Economic and Fiscal Policy includes the introduction of "elements of competition" into education. In this respect, we should understand the difference between elements of competition and principles of market mechanism or economic principles.)

#### **4 Correlation between the laws and councils related to Intellectual Property and Science and Technology**

The other council on important policy is also

provided in the provision of Article 18 —the Council for Science and Technology Policy. The matters the Council for Science and Technology Policy takes charge of are described as follows: to examine and discuss the fundamental policy for promoting science and technology in a comprehensive and systematic manner per the provision of Article 26, paragraph (1); and to examine and discuss the policy on the budget of science and technology, related to distribution of human resources and other necessary resources for the promotion of science and technology per the provision of the same article, paragraph (1), item (ii) . The Council consists of the Prime Minister, who occupies the chairperson's seat in the Council, some ministers appointed by the Prime Minister and some persons with knowledge and experience. The total number is the Prime Minister and fourteen or fewer others (per the provision of Article 27). The Council for Science and Technology Policy generally plans, designs and adjusts the fundamental and total policy on science and technology from a higher standpoint than the other Ministries. As of 30 January 2007, seven experts are included, and four of them have been members since the establishment of the General Science and Technology Council. There were also two experts who had been original members until 25 December 2006, and one of them occupies a member seat not only in the Council for Science and Technology Policy but also in the Intellectual Property Strategy Council and the Intellectual Property Strategic Headquarters, which are described below.

Before describing the relationship between the Council for Science and Technology Policy and the related laws as well as the councils, we need to recall the other scheme along the lines of "scientific and technological powerhouse" policy prior to a "nation

built on intellectual property” policy.

The Science and Technology Council (S & T Council) was established in 1958 by the then Agency for Science and Technology, which is an integral part of the present Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology (MEXT). The S & T Council, which still exists, was based on the Law for the Establishment of Science and Technology Council (Law No.4 of 1959) with the purpose of promoting general governmental science and technology policy. In 1995, the Basic Law on Science and Technology (Law No.130 of 1995, revised in 1999 as Law No.160) was established with the purpose of making the framework of science and technology policy as the backbone to promoting science and technology and to creating a scientific and technological powerhouse in the 21<sup>st</sup> century. This law was proposed cooperatively with the Liberal-Democratic Party (LDP), the Social Democratic Party of Japan (SDPJ), the New Party Sakigake, and the New Frontier Party (NFP) at that time in the Diet. This Basic Law lays down the responsibilities of the central and local governments regarding the promotion of science and technology and issuing the Basic Program for Science and Technology every 5 years through discussion within the S & T Council. The first Basic Program covered 1996 to 2000, the second Basic Program between 2001 and 2005, and the present is under the third Basic Program from 2006 to 2010. If we describe the relationship between the Basic Program for Science and Technology and the Intellectual Property Strategic Program (to be described later), we can have a bird’s-eye view of the industry-academia-government cooperation mechanism in Japan.

Let us look at the relationship between the Council for Science and Technology Policy and

related laws as well as councils. In order to design and examine the intellectual property strategy, the Intellectual Property Strategy Council was established in 2002 with the approval of the Prime Minister. The general affairs of the Intellectual Property Strategy Council are handled by related administrative authorities such as the Cabinet Office, MEXT and the Ministry of Economy, Trade and Industry (METI). The Council decided the Fundamental Principles on Intellectual Property Strategy as a basic framework to establish the nation on intellectual property and decided to submit the bill of the Basic Law on Intellectual Property at the ordinary session of the Diet of 2003. The Basic Law on Intellectual Property (Law No. 122, 2002) was enacted and laid down. In accordance with the provision of Article 24 of the Basic Law on Intellectual Property, the Intellectual Property Strategy Headquarters was set in the Cabinet Office in 2003 to make the Intellectual Property Strategic Program, which makes intellectual property policy every year. At present, Intellectual Property Strategic Program 2006 is in operation. This program reflects the national policy on intellectual property strategies of the Council for Science Technology Policy. The unity between these three councils (the Council for Science and Technology Policy, the Intellectual Property Strategy Council and the Intellectual Property Strategic Headquarters) is secured by the personnel structure of these councils as well as by the legal system, which is already mentioned in the first paragraph of item 4. Thus, the elements of the framework for a nation built on intellectual property are interrelated.

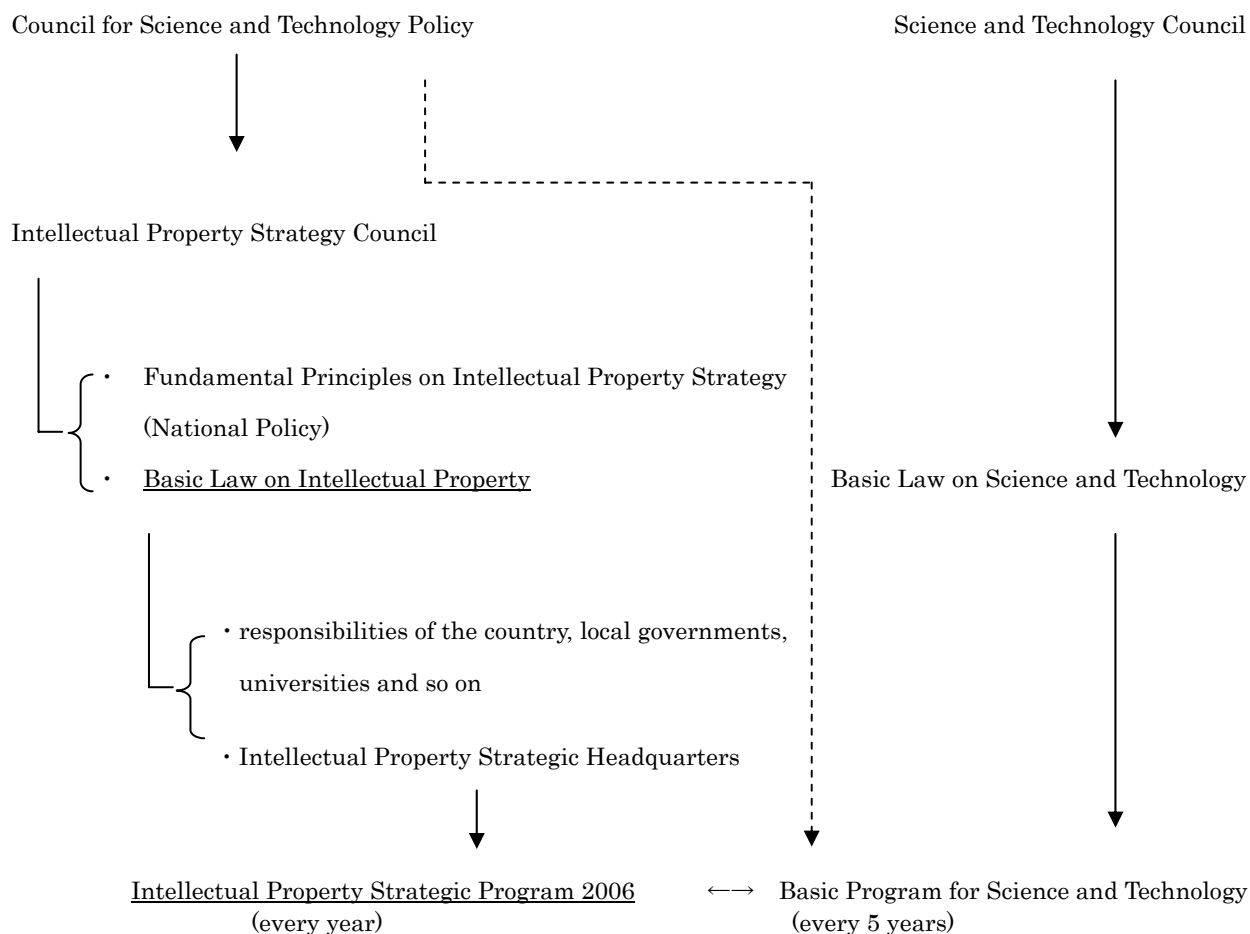
If we understand the relationship between the Basic Program for Science and Technology and the Council for Science and Technology Policy, it is easy

to understand the relationship between the Intellectual Property Strategic Program (showing the direction of the scientific and technological nation) and the Basic Program for Science and Technology. The relationship is described in the third Basic Program for Science and Technology as follows:

“in accordance with the Basic Law on Science and Technology in order to promote generally and

deliberately the measures concerning the promotion of science and technology, in the light of the Council for Science and Technology Policy’s report of 27 December 2005 titled ‘Concerning basic policies on science and technology’ to the consultation No.5 from the Prime minister, the Cabinet decided the Basic Program for Science and Technology on 28 March 2006.”

**This correlation is shown in the table below.**



(OUAVM/CRC : H. Watanabe)



## 5 Measures on industry-academia cooperation by each Ministry

Finally, let us take a look at the typical programs of each Ministry under the above mechanism. Such programs are generally divided into the following categories.

### 1) Personnel (human) support

The typical examples of this support are to provide universities with coordinators for the promotion of industry-academia-government cooperation activities by MEXT and advisors for intellectual property management by METI.

### 2) Financial support for the construction of the systems promoting industry-academia-government cooperation

There are promotion programs on industry-academia-government cooperation in metropolitan areas with the purpose of constructing groups consisting of industries, universities, industry support institutions and experts, which share business interests and which are the same geographic region. Members of these groups are attracted by the lure of the technological potential in that location. The program for the establishment of Intellectual Property Headquarters in universities started in 2003, the termination of which is 2007, but its successor is not yet decided. These promotion programs are conducted under MEXT. METI conducts the Industrial Cluster Program with the purpose of establishing the clusters to realize self-help type economic policies and the establishment of technology transfer organization (TLO).

It is often pointed out that some universities

which have both Intellectual Property Headquarters and TLO have been preoccupied with the clarification of the division of the roles these two bodies play. This might be a typical example of poor coordination between administrative branches of the government.

### 3) Financial support for applied research subjects

This support is offered by each Ministry as competitive funds. For example, Grant-in-Aid for Science Research for Health, Labor and Welfare by the Ministry of Health, Labor and Welfare, and Technology Development Project mobilizes the private sector for the creation of agribusiness by the Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries. Universities in Japan have keen competition with each other to receive these governmental funds. In the case of Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine (OUAVM), the total amount of external funds was 608 million yen in 2005. One of the funds (39 million yen) came from joint research with private sectors, another was donations (71 million yen), and a third was a research fund (497 million yen) and which was about 82% of the total external funds. Most of these research funds, including Grant-in-Aid for Science Research for basic research by MEXT, came from the government funds mentioned above.

The current situation of the universities, as a whole, in Japan is as follows. The amount of joint research with private sectors is steadily increasing. Such programs in all the national university corporations number over 10,000 and if we put national university corporations, prefectural universities and private universities together, the number exceeded 13,000 in 2005. But, the average amount for a joint research project remained the same (2.42 million yen in 2005), and the ratio of the

research funds from private sectors to the amount of external funds in the universities was still low (around 2%). While more than twice this amount was doled out from domestic private sectors to oversea institutions, only 0.39% of the whole joint research amount in Japanese universities came from foreign industries in 2005.

## 6 Conclusion

It is said that the Japanese economy is enjoying its recovery; the trend has lasted more than 5 years. We need to further consider the causality between the economic recovery and the national policy on industry-academia-government cooperation, but this is irrelevant to the main topics of this paper. As mentioned earlier in the introduction, the purpose of this paper is to identify our position as an executive organization by showing ourselves a bird's-eye view of the national policy for industry-academia-government cooperation. This was pointed out in item 4.

Finally, it can be said that for the above mechanism to function sufficiently, the invisible consciousness of people is an important factor. Statesmen occasionally need to show what kind of country we should build with money accumulated through means of intellectual property and science and technology. Business people and industry executives not only affirm that industry-university cooperation is not for universities on the basis of their mind of benefit pursuit as motivation for their business activities and their social status of corporation taxpayer, but also should know their social accountability (responsibility). Besides, they should be aware that the incentive of university researchers in joint research with industries is the

reward for participating in the intellectual creative cycle that applied research affords business. Through such a process, new (fresh) academic ideas (subjects or themes) can be born and then promoted into their basic research or further applied research in their field. University researchers should be aware that they must change to maintain their identity of university or to exist as a university in the future, which means that a university should maintain its position in society by implementing more direct social contribution on the basis of its academic specialties. One of universities' advantages is that they are one of a very few organizations that can pursue the goal of their activities without the pangs of conscience. It is ironic for national university researchers that before university incorporation, they were considered public servants but not expected to act as such. However after incorporation, they are not public servants, but they are requested to provide direct social contributions like public servants. The administrative officers of universities need to acquire new skills to support such independent organizations. If we act in such a way, we can realize the revitalization of Japan as a country beyond more than economic revitalization.

## 7 Acknowledgement

I thank Ms. Erika Takayama of Cooperative Research Center, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, for assisting me in confirming the whereabouts of related reference materials on the internet.

## 8 References

- 1) Fujiwara, M. 2007. "Corruption of the State"  
BUNGEISHUNNJU 2007.1:94-107
- 2) Cabinet Office : <http://www.cao.go.jp/>
- 3) Ministry of Education, Culture, Sports, Science  
and Technology :  
<http://www.mext.go.jp/>
- 4) Ministry of Economy, Trade and Industry :  
<http://www.meti.go.jp/>
- 5) Council for Science and Technology Policy :  
<http://www8.cao.go.jp/cstp/>
- 6) Science and Technology Council :  
<http://www.mext.go.jp/b-menu/shing/kagaku/gaiyou.htm>
- 7) Summary Minutes of the Council for Science and  
Technology Policy :  
<http://www8.cao.go.jp/cstp/kakojiyoho2.html>
- 8) Basic Law on Intellectual Property :  
[http://www.kantei.go.jp/foreign/policy/titeki/hourei/021204kihon\\_e.html](http://www.kantei.go.jp/foreign/policy/titeki/hourei/021204kihon_e.html) (in English)  
<http://www.kantei.go.jp/jp/singi/titeki2/hourei/kihon.html> (in Japanese)
- 9) Property Strategic Headquarters "Intellectual  
Property Strategic Program 2006" :  
[http://www.kantei.go.jp/singi/titeki2/keikaku2006\\_e.pdf](http://www.kantei.go.jp/singi/titeki2/keikaku2006_e.pdf) (in English)  
<http://www.kantei.go.jp/singi/titeki2/kettei/060609keikaku.pdf> (in Japanese)
- 10) Science and Technology Council "3<sup>rd</sup> Basic  
Programs for Science and Technology (2006-2010)" :  
[http://www.mext.go.jp/a\\_menu/kagaku/kihon/06032816/001/001.htm](http://www.mext.go.jp/a_menu/kagaku/kihon/06032816/001/001.htm)
- 11) Ministry of Education, Culture, Sports, Science  
and Technology "White Paper on Science and  
Technology 2005"
- 12) Cabinet Office "Reform of Competitive Funds  
System"
- 13) Research Environment and Industrial  
Cooperation Division, Research Promotion Division,  
Ministry Education, Culture, Sports, Science and  
Technology "Current Condition and Issues and  
Industrial-Academic- Government Cooperation and  
Intellectual Property Activities" (material for the 17<sup>th</sup>  
meeting of the directors of the research cooperative  
centers of the national cooperation universities)
- 14) Research Environment and Industrial  
Cooperation Division, Research Promotion Division,  
Ministry Education, Culture, Sports, Science and  
Technology "Outline of Budget Request 2007 related  
to Industrial-Academic-Government Cooperation and  
Intellectual Property Strategy" (material for the 18<sup>th</sup>  
meeting of the directors of the research cooperative  
centers of the national cooperation universities)
- 15) Outline of Obihiro University of Agriculture and  
Veterinary Medicine

# A study on industrial/academic/governmental cooperation in Germany and potential for Tokachi area

Harumi WATANABE

(received: April 27, 2007) (accepted: June 22, 2007)

ドイツにおける産学官連携と十勝地域の潜在的可能性について

渡邊晴美

## 1 Introduction

In choosing its future course on industrial/academic/governmental cooperation in Japan, the government studied the situations of several countries and ultimately decided to follow the policy of the United States of America. In Germany - which has a similar situation to Japan - most universities were state universities, and until recently, intellectual property rights belonged to individual university researchers.

The first purpose of this paper is to look at the present mechanism of industrial/academic/governmental cooperation in Germany mainly based on a discussion at the Ludwig-Maximilians-Universität (LMU). The second purpose is to make clear the potential of industrial/academic/governmental cooperation in Tokachi area, as well as the role of Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine (OUAVM) in the area, by making a comparison between the successful conditions in the state of Bavaria with the present conditions of Tokachi area.

A clear understanding of the whole mechanism of

Germany is important for us to possess as common knowledge before analyzing the potential in Tokachi area in comparison with the factors of success in Bavaria.

## 2 Mechanism of industrial/academic /governmental cooperation in Germany

The flow of funds related to industrial/academic /governmental cooperation in Germany consists of 2 categories. One comes from the European Union (EU), and the other comes from the Federal Government of Germany. The latter is mainly divided into 2 types, a fund from the Federal Ministry of Education and Research (BMBK) and a fund from the Federal Ministry of Economy, Trade and Industry (BMWi). The source of the EU fund is the contribution from member countries and the EU council makes a Research Frame Work Plan (FP) every 7 years, which is modified every year and shows project topics, research projects and research grants to be covered with the EU fund. It has, therefore, great influence on the industrial/academic /governmental cooperation policies of EU member

---

帯広畜産大学地域共同研究センター

Cooperative Research Center, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine

countries. Now, the 7<sup>th</sup> FP (2007-2013) is underway and it is, in this sense, equivalent to the “Basic Program for Science and Technology (5 years)” and “Intellectual Property Strategic Program 2006” in Japan. Five-ten% of the whole EU budget is for the EU project of FP and 90% of the research activities conducted in the EU region are implemented by the EU member countries’ own budget. The application for the EU projects are not made through the governments of the EU member countries, but are directly made to the EU by universities, research institutions etc. This application is principally requested to be made by a consortium which is composed of universities, research institutions, industries between the deferent member countries in the EU. Take FP6, for instance. It is said that universities, research institutions and industries in Germany participated in 80% of the FP projects and obtained 20% of the FP grants. The nature of the FP grants is a matching fund that makes up 50-100% of the necessary research costs. 100% of the necessary research costs can be subsidized to the universities. It is also possible for universities to apply themselves to the European Research Council with the aim of conducting basic research.

Concerning FP, the German Federal Government makes its own policy on what it will focus its resources on. In accordance with this national policy, the national funds are distributed. As I mentioned earlier, one of the funds comes from BMKB through the German Research Council to promote basic research mainly conducted in universities. BMKB is making national policies such as the Nano-initiative Implementation Plan. The Charter of Intellectual Property Rights has been enacted and University Law has been revised under its initiative. In Germany, where the state governments have strong power, BMBK and the

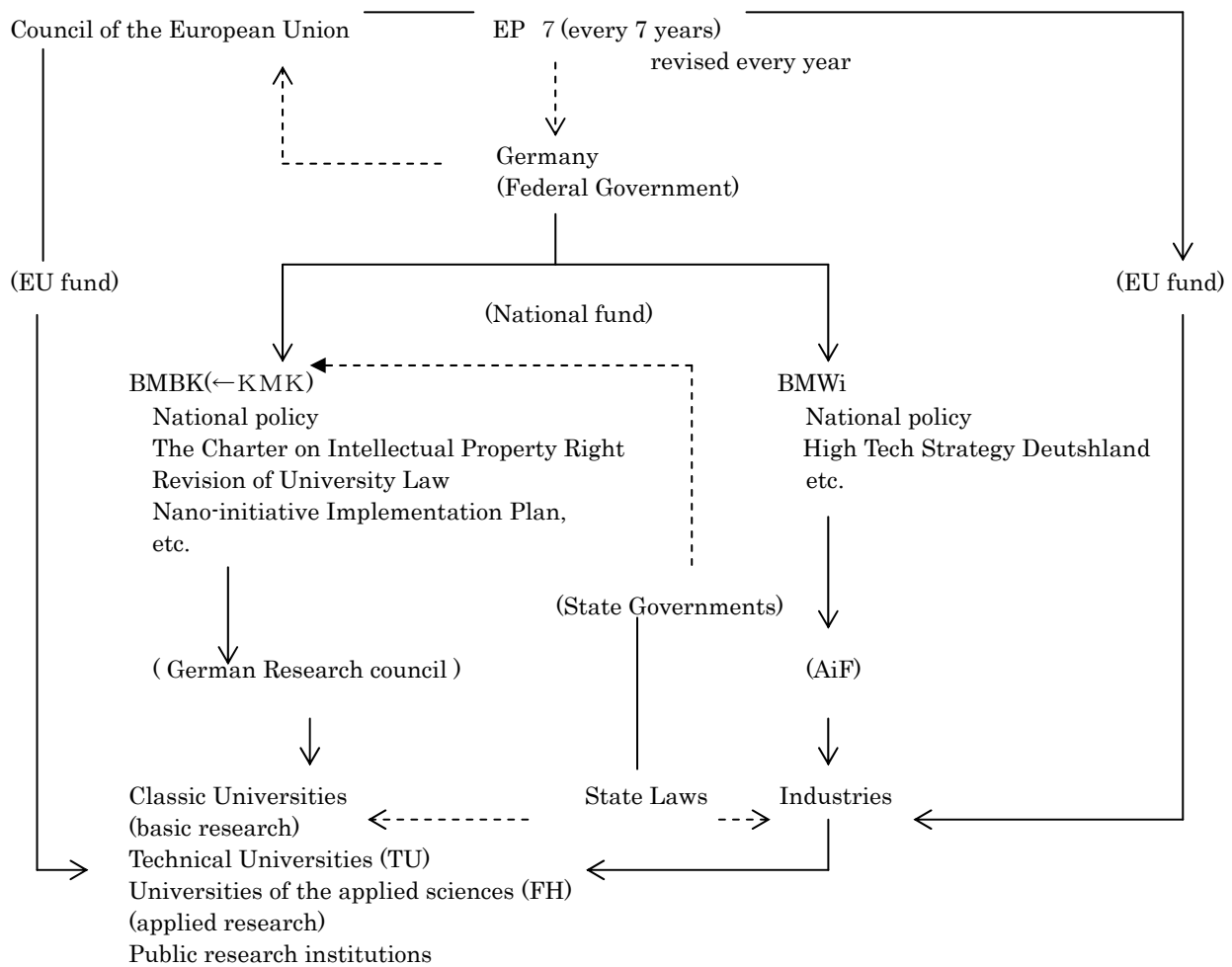
Council of State Ministers of Education (KMK) mediate, in cooperation with each other, differences of opinion in education between the federal government and the state governments.

The other fund is BMWi through Arbeitsgemeinschaft induatrieller Foschungsvereinigunger “Otto von Guerivke” (AiF) to promote applied research in industries and private research institutions. Ninety percent of this fund is offered to industries and 10% is passed to industry partners such as universities conducting joint research with the industries which receive the fund. Although BMWi also makes national policy such as High Teck Strategic Deutsch, the policies of these two ministries are carried out individually. What actually regulates industrial-academic cooperation between universities and industries is State Laws, which seem to function like the “Basic Law on Intellectual Property Rights” does in Japan.

### **3 Industrial/academic/governmental cooperation in the Ludwig-Maximilians-Universität (LMU)**

There are currently 372 institutes of higher education in Germany. These institutions are classified into 3 categories: the classic university, the technical university (TU), the university of applied sciences (FH). The classic university is dedicated to pure science and scholarship and covers the entire spectrum of subjects from ancient studies to economics. The TU focuses on engineering and natural sciences, and the FH is a special institution with 3-year FH degree course. The number of FH is around 170 and 97% of all universities are established by the states. LMU, which has an academic exchange agreement with OUAVM, is a classic university, the nature of which is different

The relationship described above is presented in the following table



(OUAVM/CRC : H. Watanabe)

from the other 2 groups mentioned above.

BMKB established specific programs in order to support research activities in the above universities. The total budget for such programs is 4-6 billion euros per annum. The programs include a wide range of objectives, such as the improvement of post graduate fellowships, reformation of research, special financial support to some specific universities including LMU. The budget of BMKB showed a decreasing tendency after the reunification in 1989, but at present is stable. The functions of the technology licensing organization in LMU are carried out by the technology transfer station (KFT) mainly through means of contracts with industry.

Intellectual property rights (patent rights) once belonged to university researchers, but since 2002 has belonged to the universities employing the researchers. Copyright, however, still belongs to individual researchers. There is "an-institute" as research institute peculiar to Germany. Although its legal status differs case by case, each has tangible advantages in avoiding the restriction of universities. One example of restrictions is that salaries at state universities are the same. An-institute motivates researchers with performance-based incentives. While it also promotes academic /industry cooperation, there is still the fact that if someone goes out of university, it is difficult for him or her to go back to university. The fund of the

establishment of it comes from the state and the university in the proportion of 50% to 50% and so on.

One of the big problems with which the universities are confronted today is that although the number of students is increasing, the number of academic staff is decreasing. As a part of university reform the tuition of universities, which was zero until last year, is to be collected every semester from this year. The fee this year is 300 euros per semester and will become 500 euros next year. This means the introduction of competition into universities, and, in turn, the abandonment of homogeneity among universities.

The reason for success in industrial/academic /governmental cooperation in the state of Bavaria mainly results from the procurement of official funds. For example, if the EU decided to pick up life sciences as one of the important subjects, we could imagine that the following situation appears. The first competition takes place among industries, private institutions and universities to get the EU fund prepared for it. Then the fund of the federal government, which corresponds to the EU fund, is distributed, most of which first flows into industries. At this point, the competition to become an industry partner is brought about among not only private institutions and universities but also between universities. Under this condition, the research results of joint research are expected to be transferred to industries. At the same time, LMU designs and conducts research projects in life sciences which build on the funds of the state. LMU functions as the core institute of such projects by forming a complex of medium and small companies on its campus. Thus a closed relationship for industrial/academic/governmental cooperation is

established in the region.

#### **4 Industrial/academic/governmental cooperation in Texas A&M University**

Let us look at the current situation in the USA.

It is said that the universities of the USA underwent drastic change through the establishment of the so-called "Law of Commercialization". The pioneers for industrial/academic/governmental cooperation in the USA are private universities such as Harvard University, Stanford University, MIT, and so on. Compared with state universities, these universities have adopted a unique system of giving their faculty members the title of professor and a laboratory instead of paying their salary and making them earn money for themselves. Such universities have, therefore, kept traditionally close relationships with industry to raise external funds. On the other hand, state universities have shouldered hundred percent of salaries for their staff from the states and have an obligation to make a contribution toward the state with the historical background of their establishment. The current situation in Texas A&M is as follows.

Industry takes a risk concerning the results from joint research including expenses in filing a patent application. The adjustment or coordination with industries is done by a technology commercialization center (TLO). If there is industry revenue, 46% goes to the inventor and 54% for the university etc. The following system was developed by the State of Texas, and it is often referred to as a successful case. Texas State Government prepares 1 billion dollars every year in an emerging technology fund. Universities and industries in the state make joint applications and file the applications for the fund to a state government regional office located in several

regions. Ultimately 5 proposals are adopted every 6 months in competition at the state government level, for a total of ten a year. Like in Japan, personnel exchange between universities and industries was difficult until 5 years ago, but at the present such personnel exchange has become easier. The window (contact point) of universities for industrial/academic /governmental cooperation is a person called an investigator. An investigator is not a specialist in science, so science people advise them, and they are engaged in offering information on academic activities in the university consulting with science people. On the other hand, there are business people in private industry and markets, who are familiar with the capability of industry and what markets want, so they produce venture businesses through contact with the investigators or direct contact with university researchers.

In these two countries, long-term basic research and short-term applied research are conducted in individual universities categorized by education system or reform based on historical and cultural background. This means that culture is very significant and influential in putting ideas into action.

From examples of Germany and the USA one point becomes very clear: these countries have some type of university, which means universities are under severe competition and make up the deficit each other by stressing their characteristics. It would be better to say that if the universities of one category fail in conducting industrial/academic /governmental cooperation, the other universities of another category will be able to survive the global competition as well as the domestic one. In other words, they have two or three sets of military power for decisive battle. Now, what is expected to the

universities from the standpoint of Japanese policy of incorporating university is to determine for themselves the ideal figure of university and measures for industrial/academic/governmental cooperation fitting for the university size after reflection of local characteristics and to activate themselves by ensuring the diversity among themselves. The real meaning of saying that incorporating is the chance for universities exists only in the said attitude.

## **5 Factors in causing the success in München area and possibility in Tokachi area**

The following points are considered to be the factors in the success in München Area.

These factors are picked up from the papers described in references.

### 1) Advantages of the area

The following institutions are located in a small area.

LMU and Technische Universität München (TMU) which are highly evaluated internationally, the headquarters of Fraunhofer-Gesellschaft (FhG) which is the most advanced society engaged in applied research in Europe, the headquarters of the Max Planck Society which undertakes basic research, German Patent office (DPA), European Patent Office (EPO) etc.

### 2) Characteristics of academic staff

Most of the university researchers of FH, especially in the field of engineering, have experience working for industry.

### 3) TLO

TLO is composed of various experts such as



patent attorneys and accountants, and functions as a window for one-stop service.

- 4) Medium and small companies  
99.7% of all industries are medium and small companies, which are characterized by their specialties and internationalization orientation. These companies have no department for research development, so they entrust external institutions with R&D.
- 5) An-institute (Institute an der Universität)  
An-institute offers a quality labor force in the region.
- 6) Culture to support industry among researchers
- 7) Positive action for governmental funds  
The beginning of a typical success case was the win of the BioRegio program (national cluster policy for 5 years) in 1997, which has been followed by winning of successor programs.
- 8) Closed network in the region  
There are closed network between universities, research institutions, business sector including industry and finance companies, politics or local governments.

Let us compare the characteristics of Tokachi area with the above features in München area to study the capability of Tokachi area.

- 1) Advantages of the area  
It is clear that Tokachi area is not so rich in infrastructure for promoting cluster policy as München area. However, I would like to point out two advantages. There are some public research institutions established by the Hokkaido Prefecture or the Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries. The academic specialty of OUAVM matches with local industry such as stockbreeding and agriculture etc. Whether they make the most of

these two advantages depends on OUAVM. The National Research Center for Protozoan Diseases of OUAVM was designated as a “21<sup>st</sup> Century Center of Excellence (COE)” in the field of life science by the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology in 2002 and the university implemented its doctoral program in the field of animal production and food hygiene in April 2006. These two facts show the decision of the university to promote world-class research. OUAVM as the only university in the region conducts basic research as well as applied research. In order to exist as a university which contributes to the region, OUAVM should devise an appropriate internal fund cycle within itself in due consideration of the balance between basic research and applied research.

- 2) Characteristics of academic staff  
19 of 139 academic staff have experienced business world.
- 3) TLO  
It is impossible for the Cooperative Research Center to fulfill this function due to its small personnel size. We should make use of outside organizations instead of the establishment of TLO in the university. Information service is done on homepage, but we should consider posting persons like the investigator of Texas A&M university from the standpoint of interactive information exchange, connection among related people, construction and the keeping of reliable relationships.
- 4) Medium and small companies  
Most industries in Tokachi area are small traditional local businesses rather than medium and small companies. 80% of technical consultations are on behalf of such small

businesses. This means that it needs considerable efforts to combine the contents of consultation with research results.

5) An-institute (Institute an der Universität)

More than 40% of the graduates find employment in Hokkaido Prefecture. OUAVM makes a great contribution to this matter. The establishment of incubation facility is under the consideration as the space for joint research, which fulfill alternative part of the role of an-institute in Germany.

6) Culture to support industries among researchers

We have had custom for academic staff to guide companies voluntarily, but it has not reached the stage to get external fund.

7) Positive action for governmental funds

More than 10 % of total income (5,692 million yen) comes from external funds (608 million yen) including joint research with private sector (40million yen) and research fund (497million yen). Since around 80 % of research fund comes from the competitive funds offered by the government, an important problem with which OUAVM is confronted is how we can get continually the huge amount of the funds distributed by the central government.

8) Closed network in the region

Currently 2 projects based on regional consortiums have been operated. Besides, OUAVM has some agreements to promote cooperative activities between public research institutions, the local government, monetary facilities in the region. An urgent issue is to develop concrete projects based on these agreements.

As mentioned above, Tokachi area meets in part some conditions which led München area to success. Some part of the conditions which have not been satisfied might be completed by the influential efforts

of OUAVM.

## 6 Conclusion

The main purpose of this paper is shown as the table. Current situations in Germany and the USA are described in items 3 and 4, and their flexibility and toughness are mentioned in the last paragraph of item 4. In addition, the comparison on the factors of success between München area and Tokachi area and the issues with which OUAVM should cope are mentioned in item 5.

Only universities are not always responsible for the so-called lost ten years. Since they were incorporated in 2004, they have had the chance to exploit such incorporation and to be able to define themselves under such situation. If diversity makes a substantial contribution to the prosperity of organizations, the present is the chance for them to get out of the so-called convoy system in order to activate universities. If there are some people who say industrial/academic/governmental cooperation is not for universities, it would be the wisdom of universities for them to make use of the cooperation for universities. Now, it can be said that university is requested to exercise its own intelligence, that is, what kind of universities they should build for themselves on the basis of the balance between academic management and financial management.

## 7 Acknowledgements

I would like to thank Professor Erwin P. Märtbauer for kindly providing his comments and advice during my visit to LMU with my colleague, Dr. Yuji Toukura of OUAVM/CRC. I also wish to thank Professor Suresh D. Pillai of Texas A&M University,

who dropped in my office at OUAVM for discussion and providing valuable information.

## 8 References

- 1) The Embassy of Germany in Tokyo “Facts about Germany (style of binding)” :  
<http://www.tatsachen-under-deutschland.de/index.php?L=1>
- 2) Kansai Economic Federation (2003) “Proposal for industry-academia-government cooperation” :  
<http://www.kankeiren.or.jp/work/pdf/1A0A1077621758.pdf>
- 3) DBJ (Development Bank of Japan) Furankfurt Regional Office (2006) “Research report on regional innovation strategy of Bio-cluster in Germany” :  
[http://www.dbj.go.jp/japanese/download/br\\_report/frankfurt/f97.pdf](http://www.dbj.go.jp/japanese/download/br_report/frankfurt/f97.pdf)

「著作権の機関帰属とその法的課題及び管理可能性について」  
- H18 年度教育研究改革・改善プロジェクト研究 -

渡邊 晴美

(受付 : 2007 年 4 月 27 日, 受理 : 2007 年 6 月 22 日)

A study on the legal issues and management possibilities  
in relegating copyright to universities  
— A research project 2006 to reform and improve educational and  
research functions of Obihiro University —

Harumi WATANABE

## 1 はじめに

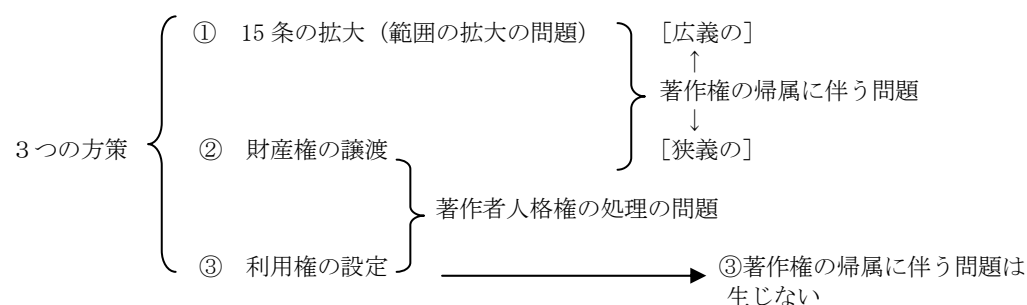
知的財産戦略本部による知的財産推進計画では一貫して、『知的財産権とそれ以外の価値とのバランスに留意すること』<sup>1</sup>及び『競争政策の重要性と表現の自由の重視』<sup>2</sup>が指摘されている。国立大学法人においては、収入を確保するためには、特許権より有体物と財産権としての著作権に期待する政策意見もあろう。さらに、なぜ文系の教員が大学の研究室で作成した論文のような伝統的な著作物の著作権は本人帰属、理系教員のプログラムの著作物やデータベースの著作物は機関帰属なのかという感覚も自然な感情と言える。

本稿の目的は、上記のような視点を踏まえつつ、『技術フロンティアが急速に拡大し、コンピュータグラフィックを用いた映像のように技術と芸術の融合が進み、特許権や著作権のそれぞれの範囲とお互いの重なり合いが拡大している』<sup>3</sup>状況において、著作権を機関帰属にした場合の法的課題と管理可能性の視点から、特許権と並び知的財産権の大きな柱である著作権の特質を明らかにするとともに、国立大学法人の知的財産戦略の中で著作権がどの様に扱われるべきかを考察することにある。

## 2 問題の所在

著作物の財産としての価値が増大している<sup>4</sup>状況で、国立大学法人が著作物の利用をフリーハンドで行うためには、著作権法第 15 条の要件を満たし法人著作とされる場合、即ち法人が原始的に著作者となるのが最も確実である。このため、特許法第 35 条を国立大学法人に適用するにあたって、国立大学法人が学内規定により「職務発明」を再定義したと同様に、著作権法第 15 条の「法人の発意」や「職務」の範囲を再定義することで、機関に帰属させる著作物の範囲の拡大と著作者人格権（特に同一性保持権）の不行使の問題を回避しようする場合を想定し、最初にその適否、次に管理可能性を論じてみたい。換言すれば、著作権法第 15 条を特許法第 35 条の拡大と同様の手法により拡大することの適否と、そのような手法によらなければ機関に帰属する著作物の拡大と著作者人格権（特に同一性保持権）の行使を回避できないのかという点を大学の特質とともに明らかにし、最後に管理可能性の存否と現実的な選択肢を示してみたい。このため、論点を下図のように整理し検討を進めたい。なお、下図③の利用権の設定については、著作権の機関帰属との関係を論ずる本稿の目的から必要

な範囲の言及に止める。



### 3 特許法第 35 条拡大の考え方

各国立大学は法人化により、特許法第 35 条による職務発明の帰属主体となるに際し、職務発明取扱規程等で職務発明の再定義をしている<sup>5</sup>。再定義することの意義は、『従前よりも職務発明の成立する範囲を拡大してとらえ』<sup>6</sup>ることにある。裁量労働制の採用と企業のように業務発明、職務発明、自由発明という区分に必ずしも馴染まない大学の研究の特性<sup>7</sup>と国立大学法人化という要請の背景にある研究成果の活用、即ち出来るだけ広範に大学に帰属させ管理・活用することで研究者個人によるあるいは企業の防衛特許による死蔵の回避と対価収入への期待<sup>8</sup>等との調和を図ろうとした結果と言えよう。なお、人的範囲も「雇用関係」にある者に限らず「契約関係の導入」により拡大されていることにも留意する必要がある。

### 4 著作権法第 15 条拡大の適否

現在、我が国では個人による特許出願件数より法人による出願件数が遙かに多く、2004 (H16) 年の特許出願総数 423, 081 件のうち法人による出願が 409, 992 件を占めている<sup>9</sup>。このことは、産業政策上の制度趣旨<sup>10</sup>に沿って職務発明が特許出願の中心となっていることを示している。

一方、権利の発生に何らの方式を必要としない著作権にはこの様な統計はない。法人著作 (著作者となるのは法人<sup>11</sup>等であるが、職務発明との差異を明確に意識す

るため本稿では職務著作という呼称ではなく「法人著作」で統一する。) 制度 (著作権法第 15 条) の存在理由は、一定の要件を充足した著作物について著作者人格権と財産権としての著作権の帰属主体の分離を回避することにある。この点については、平明に『本条で、著作者は法人等とすると書いておりますのは、法定主義の考え方でありますから、本条にいう著作物の著作者が法人等であることは自動的に定まっており、契約によって個人の著作物を法人の著作物としたり、法人の著作物を個人の著作物にするということは不可能であり、先程申した作成時 (アンダーラインは筆者) の勤務規則等で定める場合は別として、著作者の地位を当事者間の意思によって動かすことは出来ません。契約によって著作者が動くことはあり得ないということです。』<sup>12</sup>との説明がある。このことから、「その作成時における契約、勤務規則その他に別段の定め (著作権第 15 条第 1 項)」があれば、自然人たる個人が著作者となる原則 (建前) に帰ることが出来ることから、著作権法第 15 条は政策的に拡大された意味で例外であるとも考えられる<sup>13</sup>。

次に、充足されるべき 5 つの要件 (著作権法第 15 条第 1 項) のうち、拡大の対象となる 2 つの要件について検討する。

まず、「職務上」とは、『自分に与えられた仕事として著作物を作成すること』<sup>14</sup>とされ、法人は原始的に著作者の地位を占めることから、自然人のみを発明人とする特許法第 35 条のように「特許を受ける権利の承継」と言った概念の入り込む余地はない。このため、法人著作となる著作物を創作した従業者は、特許法第 35 条第

3項と異なり、使用者に対して相当な対価の支払いを受ける権利を有さないことも当然の帰結となる。更に、「職務上」には「職務の過程」<sup>15</sup>で作成されるものは含まれず、大学教員が講義案を作成すること自体も職務ではなく、講義そのものは職務である点では職務上の著作物とされるが、教員個人の名義で公表されることから「法人等が自己の著作の名義の下に公表するもの」（著作権法第15条第1項）との要件を欠くことから、法人著作とはならないとされている<sup>16</sup>。この様に狭く解釈することを伝統的に大学の不作為による放置ととらえる感情と教員の既得権意識の対立は、「経済的自由」と「表現の自由」を中心とする「精神的自由」のバランスの問題（財産的利益と人格的利益）として捉え直すことができる。著作物の財産としての価値がクローズアップされている状況にあっても、新たな使命とともに企業とは異なる役割・使命を持つ大学において、直ちに「職務上」を拡大して「経済的自由」を確保することは安易に過ぎるといえよう。

次に、「法人等の発意に基づき」の意義である。この点については『著作物の作成の意思が直接又は間接に使用者の判断にかかっているかどうかが決め手』<sup>17</sup>、『著作物の作成につき、（略）最終的には法人等が具体的な判断を下していなければならない。』<sup>18</sup>、『使用者が一定の意図の下に著作物の作成を構想し、その具体的な作成を被用者に命ずることをいう。』<sup>19</sup>とされ、具体性や作成の意思決定が使用者の判断によることとされている点については争いがない。「研究の自由」として示される諸点<sup>20</sup>は、国立大学法人においても妥当すると考えられるが故に、国立大学法人において、上記のような法人等の発意が機能する場面は大学概要の原稿作成など大学が具体的職務として要請するなど極めて限られた場合であろう。著作権法の保護の客体であり著作者等の権利を発生させる著作物の定義が「思想又は感情を創作的に表現したもの（略）」（著作権法第2条第1項第1号）とされていること、即ち思想・感情そのものではなく「表現」とされている点に注目すれば、大学の組織としての秀逸性を「研究の自由」と重ね合わせるとき、「発意」

に要求される具体性・判断は、憲法第21条の「表現の自由」や同第23条の「学問の自由」を著作権法において裏から担保する重要な意義を有すると言える。以上2つの要件に係る事情は法人著作の端的な例として商業新聞の記者が使用者の手足（従業員）として記事を書く場合を想定してみれば容易に理解できよう。

特許法第35条に関連し大学の職務発明規程等において、職務発明の成立する範囲を拡大することは、「産業の発達に寄与する」（特許法第1条）という特許法の究極の制度趣旨に合致するところである。しかし、解釈論で著作権法第15条の「職務上」を拡大して「職務の過程において」を入れたり、あるいは「発意」の範囲を拡大し、著作権法第15条の法人著作の概念を拡大していくことは、「文化の発展に寄与」することを究極の目的とし、そのためには「公正な利用に留意」せよという保護の仕方についての規制をおきながらも「著作者等の権利の保護を図る」（著作権法第1条）ことを第一にしている著作権制度の趣旨に必ずしも合致するとはいえない。

このように考えると著作権法第15条の拡大は国立大学法人化に際し各法人が職務発明規程などの中で職務発明を再定義したことによる特許法第35条の拡大が特許制度の趣旨に添った特許制度拡大の延長線上にあるのは明らかに違いがあると言えよう。

著作権法の制度趣旨からの検討は以上の通りであるが、財産権としての著作権は法律によってあたえられたものであり、憲法の財産権の不可侵とともに公共の福祉に適合すべく制約を受ける（憲法第29条第1項、第2項）こと<sup>21</sup>、また公共財としての情報でもあることから、理性的な経済人とのみ規定できない国立大学法人において、両者（経済的自由と精神的自由）の価値のバランス（調和）をとる可能性を次に検討する。

なお、法人著作となった著作物の取り扱い、管理可能性の問題とともに「7 管理可能性について」において後述する。

## 5 財産権としての著作権の譲渡と譲渡に

## 伴う留意点

ここでは、著作権法第 15 条を拡大せずに、同じような財産的効果を生む方策として財産権の譲渡を検討してみる。

特許を受ける権利の性格については、私権説、公権説、折衷説があるとされるが、著作権は私権であることに争いはなく、このため基本的には民法の一般原則（契約自由の原則）に従う。即ち、『著作権の移転問題は、本条（著作権法第 15 条：筆者注）の関知するところではありませんから、著作者が法人であるという場合にはもちろん著作者は法人ですけれども、そうでない職務上作成した個人の著作物の著作権を会社に帰属させることは、契約の問題として、自由にできる』<sup>22</sup>とされる。ここでは、その契約の態様が民法第 90 条（公序良俗）に反しないことが要請されることになる。法人等の「発意」や「職務上」の拡大に代わるものとして考えられる例は、研究資金別による財産権としての著作権譲渡の義務化である。例えば、本学基盤研究費による場合は個人著作とし、学内の特定の研究費による場合は応募要項記載条件により個別の財産権としての著作権譲渡契約を結ぶことが考えられる。この場合には、少なくとも、民法第 90 条の要請として譲渡時の適切な対価の保証及びライセンス収入があった場合の分配、法人の公表義務などについての定めは必要とされよう。外部の研究費による場合についても、同様の枠組で外部の応募要項記載条件又は共同研究契約書により、個別の譲渡契約を結ぶことになろう。無論基盤研究費による財産権としての著作権の任意の譲渡を受けることもその義務化も民法第 90 条に反しない限り自由である。ここでどのような政策を採るかは academic management と financial management の問題、即ち大学の個性の問題といえる。

この様に財産権譲渡の問題として捉えた場合には、著作権法第 61 条第 2 項により「著作権法第 27 条（翻訳権、翻案権等）及び第 28 条（二次的著作物の利用に関する現著作者の権利）の権利を含む全ての著作権」と特掲しない場合はこれら 2 つの条項の権利は譲渡したも

のに保留されたものと推定されることに留意する必要がある。財産権の譲渡に伴って譲渡することのできない一身専属権である著作者人格権（著作権法第 59 条）の取り扱いが最後に残る。

## 6 著作者人格権（同一性保持権を中心にして）の取り扱い

著作者人格権については、民法の一般人格権に包摂される、即ち民法の一般人格権を著作者人格権の上位概念として捉える見方と両者別個のものとする見方がある。前者の立場からは、立法論としては、著作者人格権の内容は民法の一般人格権と財産権である支分権で実現可能とする考え方もありえようが、ここでも現行著作権法の構成に従い検討する。

なお、人格権の検討は本稿の目的とするところではないので、『人格権について裁判所は、いわゆる一般的人格権は認めませんが、個別的に各種の人格を認めています。（略）条文に明文がなくても認められるということならば、（略）人間の人格の価値に基づいて、いろいろな人格的利益をお互いに主張できるし、国家に対しても主張できるということになるはずです。つまり、人権は憲法にだけ認められており、それが私人間にも適用される（かつてはこの視点から議論されていた：筆者注）というよりは、基本的な法律の原理があつて、それが憲法においては国に対する権利として、民法においては私人に対する権利として存在する』<sup>23</sup>という考え方を指摘するに止める。

ここでの問題は、「5 財産権としての著作権の譲渡と譲渡に伴う留意点」において既述したように、著作者から著作権法第 27 条（翻訳権、翻案権等）及び第 28 条（二次的著作物の利用に関する現著作者の権利）の権利を含む著作権（著作財産権）の譲渡を受けても、一身専属権で譲渡不能の著作者人格権（特に「同一性保持権」）は、著作者に帰属したままなので譲受人による改変に対して著作者が同一性保持権を行使すると著作権（著作財産権）を譲り受けたことが意味を持たない事態

も起こりうることである。

解釈論としては、譲渡に際して特掲された場合は、映画の著作物の中で録音・録画された実演におけるワンチャンス主義と同じで熟慮の機会が与えられたということ根拠にして、『翻案権を譲渡する際に翻案に必然的に伴う改変の限度で同一性保持権を行使しない旨の著作者の意思を推認・認定することで、改変は適法である』<sup>24</sup>としたり、『著作物の性質並びにその利用の目的及び様態に照らし翻案に必要な改編の程度を柔軟に解釈』し、『20条2項4号を利用することが穏当と考えられる』<sup>25</sup>として改変者の立場を尊重すると共に現著作者に対しては『翻案に通常伴う改変の範囲をはるかに超えた改変は、著作者の同意の範囲を越え、あるいは翻案に必要な限度での改変の範囲を超えることから、同一性保持権の侵害となる』<sup>26</sup>とする。

一方、解釈によらずにこの様な事態を回避する方法としては、従来から「著作権の譲渡契約」（「2 問題の所在」の図表「3つの方策」の②）や「著作物の利用許諾契約」（「2 問題の所在」の図表「3つの方策」の③）において『「人格権を行使しない」という内容の不行使特約を行うことは可能』<sup>27</sup>されている。この様な不行使特約の適否を検討する前に、著作権において「同一性」が重要視される理由を明らかにしておきたい。

著作者人格権において同一性が重要視されるのは、著作物が著作者の「人格の発露」であることに求められているが、著作権（著作財産権）においても同一性が重要なことは、複製が著作物等の最も基本的な利用形態とされることから推察さよう。再述すれば、著作権制度は著作物に関する著作者の権利を保護するものであり、その制度を支える基本概念の著作物とは「思想又は感情を創作的に表現したもの（略）」（著作権法第2条第1項第1号）と定義され、思想又は感情そのものではなく「表現」とされている。同一性、翻案、改変との関係で「著作物の本質」を論じるに当たっては、更に内面的表現形式と外面的表現形式との区別を行うのが通例である<sup>28</sup>が、この様な表現形式の区別は著作物の定義のなかった旧著作権法時代においても指摘されている<sup>29</sup>。著作権制

度では、直接「思想・感情」を保護するのではなく、著作権の本質を「表現」とし「表現」を保護することで著作物の受け手に「表現」がそのまま感得されることを保障し、受け手がどう感じるかという評価は受け手自身の問題、受け手次第とされる。それ故、受け手の手元までは同じ表現で到達することが期待されているといえよう。このことは、著作物における表現の同一性は、著作権の基本的な目的即ち使用のための保護の中心であると同時に利用に際しての不可欠の前提要素・条件であるが故に、重要とされているといえよう。

次に、財産権の譲渡と同一性保持権の及ぶ範囲については著作権法第20条第2項第4号で「著作物の性質並びにその利用の目的及び態様に照らしてやむを得ないと認められる改変」には同一性保持権が適用されないとされ、『権利制限規定による場合は、その公益等の制定趣旨に照らし、また、そもそも他者の著作権行使の安定性にも配慮すべきものであるということにかんがみ、著作権侵害者の利用の場合と比べて、ある程度は著作者人格権の及ぶ範囲が制約されることは受忍すべきである』<sup>30</sup>とする見解を至当とする。しかし、これは事後的に司法府によって紛争を解決する解釈論としては有効であるが、事前に著作権（著作財産権）の利用を十全にしかつ予め紛争の回避を確実にする方法とはいえない。このため、既述のように『著作物の利用許諾契約や著作権の譲渡契約等において、「人格権を行使しない」という内容の不行使契約を行うことは可能』<sup>31</sup>とする所謂著作者人格権不行使特約を結ぶ方法が取られることがある。この様に解釈によらない態度は支持できるが、人格権不行使特約は積極的に支持しがたい。というのも、この特約は財産権と人格権の調和を当事者の合意に求める点で一見合理的に見えるが、実質的に見れば放棄できない著作者人格権（著作権法第59条）の放棄といえる。そして、不行使特約をグレーゾーンと解し紛争となった場合には改変の範囲は、再び同じく解釈論を待つという消極的な処理にたよる循環論になってしまう。

それ故、ここで必要なのは「改変についての同意」であり、かつその同意の中で「その意に反して（著作権



法第 20 条第 1 項) いない「改変の範囲」を明確にしておくことである。「意に反して」はかなり主観的であるが故に、解釈においては「作者の主観そのものというよりも法的安定性の見地から」<sup>32</sup>判断されるが、ここで積極的に「改変についての同意」を求め、その中で「可能な改変の範囲」を、作者から見れば同一性の範囲また譲受人から見れば改変の範囲を、合意のない場合の著作権法上の解釈に委ねるのではなく、契約当事者の合意に係わらせることが重要である。即ち、「改変についての同意」は「著作物の本質」において言及した「外面的表現形式」と「内面的表現形式」というある意味で幅を持った主観的境界を契約によって客観化することを意味する。それ故、個々の著作物の態様と利用の形態に応じ改変の範囲につき個別的かつ明確に表明されるべきである。

以上財産権の譲渡の伴う著作者人格権の処理について「同一性保持権」を中心に論じてきたが、譲渡に当たっては公表が前提にされてきたが故に、問題にされていないが、「学問の自由」・「表現の自由」との関連で譲渡契約においては、なお次の 3 つの権利についても留意する必要がある。

1 つは、公表権である。著作者人格権の公表権は『第三者に対して自分の未発表著作物を公表するよう積極的に請求し得る権利ではなく、公表を禁止し、又は公表をしようとする者に公表を許可したり、公表条件を付けたりすることができるにとどまる』<sup>33</sup>消極的権利とされる。このため、財産権の譲渡に際しては、出版権者は「(略) 六月以内に当該著作物を出版する義務」を負う(第 81 条第 2 項) とされるが、譲渡に際してはこれに相当する公表までの期間について「請求権」を確保しておく必要がある。「六日の菖蒲、十日の菊」の諺のごとく、表現の自由においてはその発表のタイミングは重要な意味を持つからである。

次に、同様に出版権設定契約に関連するが、『著作者の同一性保持権と表裏の関係にある積極的内容変更権』<sup>34</sup>である修正増減権「著作権法第 82 条第 1 項」への配慮と、最後に、『著作者の公表権と表裏の関係にあ

る一種の人格的利益を担保する観点から設けられた』<sup>35</sup>、『著作者の人格的利益を保護する機能を持つ』<sup>36</sup>、『出版権消滅請求権はその性質上、著作者人格権の一種と解せられる』<sup>37</sup>所謂「撤回権」(出版権の消滅の請求：著作権法第 84 条第 3 項) がある。この撤回権は出版権者と「複製権者である著作者」(著作権法第 84 条第 3 項) の間にのみ認められているため複製権を譲渡した著作者は行使し得ないことになる。この点については『撤回権につき、その主体を複製権者に限定することなく、広く著作者一般とし撤回の範囲も出版権に限らず、他の著作物利用全般に及ぶ旨定めるほうが妥当』<sup>38</sup>とする立法論を支持するが、現行法の枠組みでは、(独占的)複製許諾としての債権的権利や支分権としての印刷・複製権の利用許諾により、複製権の譲渡を著作者が回避していない限り行使できないことになる。利用権の設定契約による著作者側の利点の 1 つはこの様な点にもある。

## 7 管理可能性について

大学に帰属した著作権自体の管理の問題としては、まず権利の発生に係わる問題がある。無方式主義(著作権法第 17 条第 2 項)により、著作権は著作物が創作されたときに直ちに発生し、完成されていることも、固定(映画の著作物を除く)されていることも必要ではなく、『完成品に至るまでの段階で、著作者の思想・感情が外部的に認識できる形で表現されていさえすれば、そこに著作物が存在する』<sup>39</sup>。このため、多様な表現手段で、刻々創出される様々な著作物と著作権の存在を認識・確認すること自体が極めて困難である。このことは、同時に『著作物の要件としての創作性は極めて単純に著作者の個性、独自性』<sup>40</sup>とされ、技術的思想(≠科学的思想)即ち発明・アイデアを保護対象とする特許とは異なり、評価・解釈の専門家が介在しない著作物では、管理する著作物の範囲を限定したり、権利侵害に対する執行といった管理の具体的場面での評価・解釈等に一層の困難を伴うことを意味する。

次に、法人著作を拡大することで支分権という権利

の束である著作権（財産権）と著作者人格権の両方を大学に帰属させ、あるいは著作権（財産権）のみを帰属させて、集中して管理を行う能力が大学にあるかという問題がある。

これはまた可能な限り広く著作権を大学に帰属させることが適切かという問題として捉えることが出来る。例えば、法人著作の場合には、法人が著作者としての地位を原始的に取得することから、当然著作物の瑕疵、例えば研究者の立論の過失、場合によっては故意の捏造、非論理性、不確実性も継承し、その結果他人の権利を侵害した場合の責任を負うことになる。法人著作の範囲を拡大し、伝統的学術論文を法人著作とした場合、研究者が「研究の自由」の対極にあるものとして自ら負うべきものであると考えられるこれら研究の内容に係るリスク、一貫性や永久責任<sup>41</sup>を大学が負うことは不可能であろう。また、伝統的な著作物である学術論文が大学の法人著作となった場合、理論的には同じ大学の同僚専門家による改変あるいは訂正は自由に行われ得る。さらに、研究者が法人著作となった著作物を自ら順次改編していく場合にも、二次的著作物としての処理が要請されようし、研究者の流動化に伴う転出後の処理は今後益々増えることが予想される。さらに「6 著作者人格権の取り扱い」で述べたように、これらを回避し得ても、権利の執行をいかに確保するか、利用権設定による場合は、第三者の侵害排除は著作者によらざるを得ない（この点は、利用許諾を受けた側からは欠点の1つ）など、大学の管理可能性は低いといわざるを得ない。

## 8 結び

既述したように著作者人格権を別にすれば、財産権としての著作権は法律により創設されたもの故に様々な立法論が可能である。著作者人格権についても、大陸法系では一元論・二元論の別はあっても著作者人格権を積極的に認め、英米法系では否定的である。

本稿では、著作権を大学に帰属させるとの視点からの著作権法第15条の拡大の適否、次に財産権の譲渡と

それに伴う著作者人格権の処理という構図で検討を進めてきたが、現行法の枠内での検討をまとめれば次のようになる。

現行著作権法第15条の法人著作の成立する範囲を、特許法第35条の職務発明の成立する範囲を拡大した手法によって拡大することは、その基本となる制度趣旨が異なることから支持しがたい。大学の機関としての秀逸性（学問の自由・研究の自由、表現の自由）への配慮と適切な利益の分配によって自然な感情論<sup>42</sup>を止揚させ、研究資金に着目し（資金と著作物の関係は、著作物の公表の時期によるのも1つの方法であろう。例えば、資金受領から研究終了後半年間以内の著作物に限定するなど）、財産権としての著作権譲渡契約（場合により利用許諾契約）の締結で対応することは可能である。譲渡に際しては、著作権法第27条と第28条を含むものとし、対価請求権、ライセンス収入の分配、特に「改変の同意」と「その同意において改編の範囲の明確化」、請求権として公表期限（例えば6月以内）の要請、修正増減権を盛り込むことが重要である。しかし、このような対応を一律に行うことは、大学による管理可能性の低い状況では相当の困難と労力を伴うといえよう。

このため、著作物の態様に応じた財産権の譲渡契約や利用権の設定契約による個別の対応が積み重ねられることで、それらの内容が一般の法感情にまで高められ類型化される過程を通じて、知的財産権とそれ以外の価値のバランスが適切に図られることを期待したい。

なお、今後の研究展開としては、筆者の研究の及んでいないドイツ一元論による「利用許諾契約」「独占的利用権」の設定による処理の実体を検証すること及び同一性保持権のように我が国において著作者人格権で保護されていると同様な権利内容が米国においてはどのように保護されているかを調査し、前者の知見を踏まえ今回テーマの再検討と後者の調査により著作権保護の2つの法思潮の実質的な差異と接点を明らかにしていきたい。

引用文献

- 1 「知的財産推進計画 2006」: p7 総論 3. 第 2 期世界最先端の知的財産立国を目指す iv)
- 2 「知的財産推進計画 2005」: p13 総論 2. 「知的財産立国」実現に向けた取り組み方針《5つの配慮事項(5)
- 3 「知的財産推進計画 2006」: p2 総論 1. 今なぜ知的財産戦略か《知識社会の到来》
- 4 「知的財産推進計画 2006」: p88 以下 本編 - 第 4 章コンテンツをいかした文化創造国家づくり
- 5 大学の対応状況の例

国立大学法人北海道大学職務発明規程（平成 16 年 4 月 1 日海大達第 108 号）第 2 条（2）  
『職務発明等 公的機関若しくは民間企業等からの研究資金を得て行った研究若しくは本学が資金の提供その他の支援をして行った研究又は本学が管理する施設及び設備を利用して行った研究に基づき、職員等が行った発明等をいう。』  
（ [http://www.hokudai.ac.jp/jimuk/reiki/reiki\\_honbun/u0100470001.html/](http://www.hokudai.ac.jp/jimuk/reiki/reiki_honbun/u0100470001.html/)）

国立大学法人東北大学発明等規程（平成 14 年 4 月 1 日改正平成 17 年 4 月 1 日規第 81 号）第 2 条六『職務発明 知的財産の創出行為がその性質上本学の業務範囲に属し、かつ、その創出をするに至った行為が本学における教員等の現在又は過去の職務に属する教員等が創出した知的財産及び知的財産権をいう。』  
（<http://www.tohoku.ac.jp/japanese/sangaku/doc/hatu-kitei1704.pdf>。）

国立大学法人東京工業大学発明規則（平成 16 年 4 月 1 日規則第 21 号）第 2 条 2 『この規則で「職務発明」とは、次の各号の一に基づく発明及び考案をいう。一 大学の管理する研究資金又は研究設備を用いて行った研究の結果生じたもの 二 前号に掲げる研究資金又は

研究設備を用いない場合であっても、その性質上大学の業務範囲に属し、かつ、その発明をするに至った行為がその大学における役職員等の現在又は過去の職務に属する発明と認められるもの』（<http://www.somuka.titech.ac.jp/Kisoku/contents8/16K21.pdf>）

早稲田大学職務発明規程（2004 年 11 月 19 日規約第 04-29 号）『第 2 条 二 「職務発明等」とは、大学の教職員等として学外から獲得した研究資金若しくは大学の予算を使用し、または大学からの支援を受けもしくは大学の設備施設などを利用してなされた成果であると大学が認定した発明等をいう。』  
（[http://tlo.wul.waseda.ac.jp/APPLICATION/inventor\\_rule.pdf](http://tlo.wul.waseda.ac.jp/APPLICATION/inventor_rule.pdf)）

- 6 高林龍『標準特許法第 2 版』（2005 年・有斐閣）p77
- 7 「研究の自由」に関連し「研究が孤独な空間で行われることは研究が何者の干渉も受けずに研究者自身の意志のみによって推進することが原因である。（略）」と前置きして、次の 5 点が指摘されている。

- 1) 夢を抱くことの自由
- 2) 信念の道を選ぶ自由あるいは学説を立てる自由
- 3) 研究計画の自由
- 4) 研究実施の自由
- 5) 発表の自由

（吉川弘之、『研究の病理』を考える [前編]，産総研 TODAY 2007-04，p8-9）

また、研究発表における「明解な行動規範」として、次の 5 点が上げられている。

- 1) 論理性
- 2) 実証性
- 3) 一貫性
- 4) 永久責任
- 5) 所属責任

（吉川弘之，同上，p10）

- 8 『大学は、ロイヤリティという形での収入を自らの研究成果から引き出し、それにより研究活動を促進し、また、研究に不可欠な人材教育に必要な資金を得られる体制を整えた』  
荒井寿光, カミール・イドリス共著, (株) エアクレーレン訳, 『世界知財戦略』(2006年・B&T ブックス, 日刊工業新聞社) p124
- 9 特許庁行政年次報告書 2005 年  
(<http://www.jpo.go.jp/shiryou/toushin/nenpou2005/pdf/toukei/02-06.pdf>)
- 10 『発明の奨励は国家の重大な任務の 1 つである。(略)したがって、現代において発明を奨励するには、従業者とその使用者(法人、個人、官庁等のあらゆる使用者を含む)との双方に、発明への、あるいは発明に対する投資へのインセンティブを与える必要がある。』  
中山信弘 『工業所有権法上特許法第二版増補版』(2004年・弘文堂) p65
- 11 著作者とは、著作物を創作する者をいう(著作権法第 2 条第 1 項第 2 号)。『ここでいう「者」とは、自然人を指すのが建前でございますが、著作権法におきましては、法人を含んで概念いたしております。』  
加戸守行 『著作権法逐条講義四訂新版』(2003年・社団法人著作権情報センター) p23
- 12 加戸・前掲 p147
- 13 法人実在説と法人擬制説との関係においては半田正夫 『著作権法概説第 12 版』(2005年・法学書院) p62-64
- 14 加戸・前掲 p145
- 15 「職務上の」作成を「雇用の過程での」作成とし、『その作成が被用者の職務に照らし、その義務の範囲内に無ければならない。それは時空の問題ではない。』  
斉藤博 『著作権法第 2 版』(2004年・有斐閣) p125-126
- 16 加戸・前掲 p145-146
- 17 加戸・前掲 p144
- 18 斉藤・前掲 p123
- 19 半田・前掲 p65
- 20 引用文献 7 参照
- 21 加戸・前掲 p11-12
- 22 加戸・前掲 p147
- 23 星野英一 『民法のもう一つの学び方補訂版』(2006年・有斐閣) p27
- 24 三省堂知的財産権辞典, p558
- 25 同上
- 26 同上
- 27 加戸・前掲 p356
- 28 加戸・前掲 p171-172, p208 他
- 29 末川博「著作権の本質」『法学論叢第 6 巻第 2 号』(1935年)
- 30 作花文雄 『詳解著作権法第 3 版』(2005年・ぎょうせい) p242
- 31 加戸・前掲 p356
- 32 作花・前掲 p241
- 33 加戸・前掲 p160
- 34 加戸・前掲 p447
- 35 加戸・前掲 p452
- 36 斉藤・前掲 p152
- 37 半田・前掲 p218-219
- 38 斉藤・前掲 p152
- 39 加戸・前掲 p154
- 40 斉藤・前掲 p74・なお、(イ) 創造性と新規性 (ロ) 創造性と進歩性 (ハ) 表現の独自性 (ニ) 創造性の高低 (ホ) については、斉藤・前掲 p74-77
- 41 引用文献 7 参照
- 42 なぜコンピュータのプログラムやデータベースの著作権のみが規程上機関帰属とされているのかという感情論に対しては「プログラムは、作成者の学術的思想の創作であることは従来の著作物と相違ないが、プログラム言語による表現その物がデジタル化されコンピュータを機能させるものであり、別の観点から言えば表現そのものが財産財になっているという特性」(作花・前掲 p677)と「著作権法と特許法との

重疊的適用が認められる現段階での枠組みにおいて」(作花・前掲 p677)「一般に特許権によって保護される範囲の方が具体的表現に限定されていない点で著作権の保護範囲よりも広い」(杉光一成『理系のための法学入門改訂第5版』(2006年・法学書院))ことから産業政策的配慮として一応の説明ができればよい。

この点に関連して、多くの大学における規程上の法的構成は概ね次のとおりである。コンピュータプログラムの著作物については、契約自由の原則から(「財産権」としての)「著作権」を規程上機関帰属とする。この場合、公序良俗に反しない形であること、またこれを法人著作とするために著作権第15条第2項のプログラムについて法人著作の成立する範囲(プログラムの著作物の特性である「プログラムの作成あるいは利用における特殊性に鑑み」(加戸・前掲 148)著作権法第15条第2項は同1項の5つの要件のうちの1つ「法人等の名義の下に公表」されなければならないことを欠くことで著作権法上は既に拡大されている。)を学内規程で拡大することに無理があることは本文で指摘したとおりである。そして、特許法(2002(平成14)年改正特許法第2条第3項第1号カッコ書きで「物」にプログラム等が含まれるとされていることから、発明要件が充足されれば職務発明該当性の判断の場面において規程上拡大された職務発明の再定義を機能させ、その特許権(専用実施権)を法人に予約継承させる。

現行法の枠組みによる法秩序を考えた対応としては上記のように構成するのが現実的手法であろうが、これに関連して生起する課題を論じることは本稿が扱う問題の範囲を超えているので、ここでは、まさにこのような構成を取らなければならないことが「著作権と特許法との重疊適用が認められる現段階での枠組みにおいて、著作権法と特許法との交差領域に係る諸課題、つまりいわゆる相対的独占権と絶対的独占権との違いにより生起される問題や、両制度の

権利の様態の相違による問題について具体的な検討が求められている」(作花・前掲 p677) ところであり、また「技術的な著作物の場合には、両法での権利の帰属などが全く異なることには違和感がある」(高林・前掲 p84) とされる現象点であることを指摘するに止める。

☆ 原著論文

獣医学

- Cruzana B C, Sasaki M, Kitamura N, Yamada J. 2006. Distribution pattern of cytoskeleton protein in the testis of swamp-type water buffalo (*Bubalus bubalis*). *Philippine Journal of Veterinary Medicine*. 43:55-62
- Devkota B, Sasaki M, Takahashi K, Matsuzaki S, Matsui M, Haneda S, Takahashi M, Osawa T, Miyake Y. 2006. Postnatal development changes in immunohistochemical localization of  $\alpha$ -smooth muscle actin (SMA) and vimentin in bovine testes. *Journal of Reproduction and Development* 52:43-49
- Devkota B, Sasaki M, Matsui M, Montoya C A, Miyake Y. 2006. Alteration in the immunohistochemical localization pattern of  $\alpha$ -smooth muscle actin (SMA) and vimentin in the postnatally developing bovine cryptorchid testis. *Journal of Reproduction and Development* 52:329-334
- Kimura J, Budipitojo T, Sasaki M, Kitamura N, Yamada J, Endo H, Fukuta K. 2006. Immunolocalization of gastrin-releasing peptide (GRP) in the uteroplacenta of the mouse deer. *Anatomia Histrogia Embryologia* 35:217-220
- Endo H, Yonezawa T, Rakotondraparany F, Sasaki M, Hasegawa M. 2006. The adaptational strategies of the hindlimb muscles in the Tenrecidae species including the aquatic web-footed tenrec (*Limnogale mergulus*). *Annals of Anatomy* 188:383-390
- Endo H, Sasaki M, Kimura J, Fukuta K. 2006. Functional strategies of hindlimb muscles in the mouse deer. *Mammal Study* 31:73-78
- Hayashida A, Endo H, Sasaki M, Oshida T, Kimura J, Waengsothorn S, Kitamura N, Yamada J. 2007. Geographical variation in skull morphology of gray-bellied squirrel *callosciurus caniceps*. *Journal of Veterinary Medical Science* 69:149-157
- Fukuta K, Kudo H, Sasaki M, Kimura J, Ismail D B, Endo H. 2007. Absence of carotid rete mirabile in small tropical ruminants: implications for the evolution of the arterial system in artiodactyls. *Journal of Anatomy* 210:112-116
- Muroi Y, Ishii T, Komori S, Nishimura M. 2006. A competitive effect of androgen signaling on male mouse attraction to volatile female mouse odors. *Physiology Behavior*. 87:199-205.
- Ishii T, Nishimura K, Nishimura M. 2006. Administration of xenobiotics with anti-estrogenic effects results in mRNA induction of adult male-specific cytochrome P450 (CYP) isozymes in the livers of adult female rats. *Journal of Pharmacological Sciences* 101:250-255.
- Muroi Y, Ishii T, Komori S, Kitamura N, Nishimura M. 2006. Volatile female odors activate the accessory olfactory system of male mice without physical contact. *Neuroscience* 141:551-558.
- Ishii T, Furuoka H, Kitamura N, Muroi Y, Nishimura M. 2006. The mesencephalic trigeminal sensory nucleus is involved in acquisition of active exploratory behavior induced by changing from a diet of exclusively milk formula to food pellets in mice. *Brain Research* 1111:153-161.
- Ishii T, Muranaka R, Tashiro O, Nishimura M. 2007. Chronic intracerebroventricular administration of anti-neuropeptide Y antibody stimulates starvation-induced feeding via compensatory responses in the hypothalamus. *Brain Research* 1144:91-100.
- Sassa Y, Fukui D, Takeshi K, Miyazawa T. 2006. Neutralization antibodies against feline Parvoviruses in nondomestic felids inoculated with commercial inactivated polyvalent vaccines. *The journal of veterinary medical science* 68:1195-1198
- Derar RI, Haramaki S, Hoque MD, Hashizume T, Osawa T, Taya K, Watanabe G, Y-I Miyake. 2006. Immunoreactive insulin-like growth factor in plasma during pre- and post-partum periods of thoroughbred mares from which the newborn were removed: its pattern, physiological function and relation to other hormones. *Journal Equine Science* 17:75-79

- Hirano Y, Kimura J, Nambo Y, Yokota H, Nakamura S, Takemoto S, Himeno R, Mishima T, Matsui M, Y-I Miyake. 2006. Observation of ovarian internal structures during the estrous cycle of mares. *Animal reproduction science* 94:210-214
- Kawashima C, Kaneko E, Amaya Montoya C, Matsui M, Yamagishi N, Matsunaga N, Ishii M, Kida K, Miyake Y-I, Miyamoto A. 2006. Relationship between the First Ovulation within Three Weeks Postpartum and Subsequent Ovarian Cycles and Fertility in High Producing Dairy Cows. *Journal of Reproduction and Development*. 52:479-486
- Amaya Montoya C, Matsui M, Kawashima C, Matsuda G, Ono M, Devkota B, Kida K, Miyamoto A, Miyake Y-I. 2006. Starting a GnRH-PGF2 $\alpha$  based estrus synchronization protocol by day 21 postpartum can induce normal ovarian activity within a 60-d voluntary waiting period. *Society of Reproduction and Fertility* 64:520
- Devkota B, Sasaki M, Matsui M, Takahashi K-I, Matsuzaki S, Amaya Montoya C, Miyake Y-I. 2006. Expression patterns of alpha-smooth muscle actin and vimentin in the bovine testes alter by spontaneous cryptorchidism, scrotal insulation and mixed atrophy. *Society of Reproduction and Fertility* 64:555
- 三宅陽一, 大澤健司, 大津信一, 鈴木一教, 園中 篤, 田高 恵, 森田 靖, 太田大作, 高橋正弘. 2006. 血中プロジェステロン (P4)濃度からみた牛の卵胞嚢腫および卵巣静止における診断精度の評価. *家畜臨床誌* 29:43-46
- 安永千秋, 豊坂加奈, 辻本恒徳, 斉藤靖史, 大澤健司, 三宅陽一. 2006. 動物園鳥類および野生鳥類における PCR 法による雌雄判別法の検討. *野生動物医学会誌* 11:43-48
- トプタルカン タリヤン, 松井基純, 松田 剛, アマヤ モントーヤ カルロス サンティアゴ, 三宅陽一. 2006. 卵胞嚢腫から黄体嚢腫へ移行した1頭のホルスタイン種乳牛における治療試験. *繁殖技術* 26:52-55
- 猪熊道仁, 大澤健司, 原 茂雄, 懸田和子, 渥美孝雄, 渡辺 元, 田谷一善, 三宅陽一. 2006. 顆粒膜細胞腫に罹患した黒毛和種牛 2 例の内分泌学的検索. *日本獣医師会雑誌* 59:746-749
- Kawashima C, Kida K, Hayashi K-G, Amaya Montoya C, Kaneko E, Matsunaga N, Shimizu T, Matsui M, Miyake Y-I, Schams D, Miyamoto A. 2007. Changes in plasma metabolic hormone concentrations during the ovarian cycles of Japanese black and Holstein cattle. *Journal of Reproduction and Development* 53:247-254
- Kawashima C, Fukihara S, Maeda M, Kaneko E, Amaya Montoya C, Matsui M, Shimizu T, Matsunaga N, Kida K, Miyake Y-I, Schams D, Miyamoto A. 2007. Relationship between metabolic hormones and ovulation of dominant follicle during the first follicular wave post-partum in high-producing dairy cows. *Reproduction* 133:155-163
- Kawashima C, Amaya Montoya C, Masuda Y, Kaneko E, Matsui M, Shimizu T, Matsunaga N, Kida K, Miyake Y-I, Suzuki M, Miyamoto A. 2007. A positive relationship between the first ovulation postpartum and the increasing ratio of milk yield in the first part of lactation in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 90:2279-2282
- 杉村 肇, 坂口真也, 今村圭太, 見山孝子, 島田洋二郎, 坂田義美, 板本和仁, 奥田 優, 猪熊 壽. 2006. 犬糸状虫感染症予防に来院した犬のバベシア, ヘモバルトネラおよびエールリツヒア感染状況調査. *日本獣医師会雑誌* 59: 267-270
- 船津 格, 見山孝子, 平岡博子, 金子直樹, 板本和仁, 水野拓也, 奥田 優, 山本芳美, 猪熊 壽. 2006. 山口県における犬の紅斑熱群リケッチア抗体保有状況調査. *山口獣医学雑誌*. 33: 31-34
- 見山孝子, 板本和仁, 奥田 優, Rodolfo A. Verdida, 玄 学南, 猪熊 壽. 2006. 山口県における犬 *Babesia gibsoni* 感染状況調査. *山口獣医学雑誌* 33: 39-44
- Oikawa T, Okuda M, Kaneko N, Watanabe M, Hiraoka H, Itamoto K, Nakaichi M, Mizuno T, Inokuma H. 2006. Cloning of the feline *GADD45* cDNA and analysis of its mutation in feline lymphoma cell lines. *Journal of Veterinary Medical Science* 68:297-301
- Inokuma H, Oyamada M, Davoust B, Boni M, Dereure J, Bucheton B, Hammad A, Itamoto K, Okuda M, Brouqui P. 2006. Epidemiological survey of *Ehrlichia canis* and related species infection in dogs in Sudan. *Annal New York Academy of Science* 1078:461-463
- Miyama T, Inokuma H, Itamoto K, Okuda M, Verdida R.A., Xuan X. 2006. Clinical usefulness of antibodies against *Babesia gibsoni* detected by ELISA with recombinant P50. *Journal of Veterinary Medical Science* 68:1371-1373

- Chahan B, Jian Z, Jilintai Tanabe S, Miyahara K, Xuan X, Sato Y, Moritomo T, Nogami S, Mikami T, Maruyama S, Inokuma H. 2007. Detection of rickettsial DNA from ticks recovered from domestic cattle in Xinjiang Uygur autonomous region area, China. *Veterinary Parasitology* 144:184-187
- Hiraoka H, Shimada Y, Sakata Y, Watanabe M, Itamoto K, Okuda M, Masuzawa T, Inokuma H. 2007. Detection of *Borrelia garinii*, *Borrelia tanukii* and *Borrelia* sp. closely related to *Borrelia valaisiana* in *Ixodes* ticks removed from dogs and cats in Japan. *Veterinary Parasitology* 144:188-192
- Marumoto K, Joncour G, Lamanda P, Caro B, Le Dret A, Inokuma H, Brouqui P. 2007. Detection of *Anaplasma phagocytophilum* and *Ehrlichia* sp. HF strains in *Ixodes ricinus* from Brittany, France. *Clinical Microbiology and Infection* 13:338-341
- Inokuma H, Makino T, Kabeya H, Nogami S, Fujita H, Asano M, Inoue S, Maruyama S. 2007. Serological survey for *Ehrlichia* and *Anaplasma* infection of feral racoons (*Procyon lotor*) in Kanagawa Prefecture, Japan. *Veterinary Parasitology* 145:186-189
- Thekisoe O M M, Kuboki N, Nambota A, Fujisaki K, Igarashi I, Sugimoto C, Yasuda J, Inoue N. 2007. Species-specific loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for diagnosis of trypanosomiasis. *Acta Tropica* (In Press)
- Thekisoe O M M, Omolo J D, Swai E S, Hayashida K, Zhang J, Sugimoto C, Inoue N. 2007. Preliminary application and evaluation of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for detection of bovine theileriosis and trypanosomiasis in Tanzania. Onderstepoort. *Journal of Veterinary Research* (In Press).
- Namangala B, Inoue N, Sugimoto C. 2007. Effects of exogenous transforming growth factor-beta on *Trypanosoma congolense* infection in mice. *Infection and Immunity* 75:1878-1885.
- Thekisoe O M M, Fujita H, Battsetseg B, Hatta T, Fujisaki K, Sugimoto C, Inoue N. 2007. A new trypanosome species isolated from naturally infected *Haemaphysalis hystricis* ticks in Kagoshima Prefecture, Japan. *Parasitology* 19:1-8.
- Umemiya R, Hatta T, Liao M, Tanaka M, Zhou J, Inoue N, Fujisaki K. 2007. *Haemaphysalis longicornis*: Molecular characterization of a homologue of the macrophage migration inhibitory factor from the partially fed ticks. *Experimental Parasitology* 115:135-142.
- Namangala B, Inoue N, Kohara J, Kuboki N, Sakurai T, Hayashida K, Sugimoto C. 2006. Evidence for the immunostimulatory effects of low-dose orally-delivered human interferon alpha in cattle. *Journal of Interferon and Cytokine Research*. 26:675-681.
- Hatta T, Kazama K, Miyoshi T, Umemiya R, Liao M, Inoue N, Xuan X, Tsuji N, Fujisaki K. 2006. Identification and characterisation of a leucine aminopeptidase from the hard tick *Haemaphysalis longicornis*. *International Journal of Parasitology* 36:1123-1132.
- Satoh E, Edamatsu H, Omata Y. 2006. Acute restraint stress enhances calcium mobilization and proliferative response in splenic lymphocytes from mice. *Stress* 9:223-230
- Satoh E, Satoh K. 2007. Monensin causes transient calcium ion influx into mouse splenic lymphocytes in a sodium ion-independent fashion. *European Journal of Pharmacology* 561:39-45

## 医学

- Chang H-H, Asano N, Ishii S, Ichikawa Y, Fan J-Q. 2006. Hydrophilic iminosugar active-site-specific chaperones increase residual glucocerebrosidase activity in fibroblasts from Gaucher patients. *FEBS Journal* 273:4082-4092.
- Naoshima-Ishibashi Y, Iwagami M, Kawazu S, Looreesuwan S, Kano S. 2007. Analyses of cytochrome *b* mutation in *Plasmodium falciparum* isolates in Thai-Myanmar border. *Travel Medicine and Infectious Disease* 5:132-134
- Kobayashi T, Sato S, Takamiya S, Komaki-Yasuda K, Yano K, Hirata A, Onitsuka I, Hata M, Mi-ichi F, Tanaka T, Hase T, Miyajima A, Kawazu S, Watanabe Y, Kita K. 2007. Mitochondria and apicoplast of *Plasmodium*



- falciparum*: Behaviour on subcellular fractionation and the implication. *Mitochondrion* 7:125-132
- Waki K, Dutta S, Ray D, Kolli BK, Akman L, Kawazu S, Lin CP, Chang KP. 2007. Transmembrane molecules for phylogenetic analyses of pathogenic protists: *Leishmania*-specific informative sites in hydrophilic loops of trans-endoplasmic reticulum N-acetylglucosamine-1-phosphate transferase. *Eukaryotic Cell* 6:198-210
- Yano K, Komaki-Yasuda K, Tsuboi T, Torii M, Kano S, Kawazu S. 2006. 2-Cys Peroxiredoxin TPx-1 is involved in gametocyte development in *Plasmodium berghei*. *Molecular and Biochemical Parasitology* 148:44-51
- Susomboon P, Maneerat Y, Dekumyoy P, Kalambaheti T, Iwagami M, Komaki-Yasuda K, Kawazu S, Tangpukdee N, Looareesuwan S, Kano S. 2006. Down-regulation of tight junction mRNAs in human endothelial cells co-cultured with *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes. *Parasitology International* 55:107-112
- Kuranaga E, Kanuka H, Tonoki A, Takemoto K, Tomioka T, Kobayashi M, Hayashi S, Miura M. 2006. Drosophila IKK-related kinase controls caspase activity through IAP degradation. *Cell* 126:583-596
- Ogawa H, Galili U. 2006. Profiling terminal N-acetylglucosamines of glycans on mammalian cells by an immuno-enzymatic assay. *Glycoconjugate Journal* 23:663-674
- Kobayashi T, Liu DG, Ogawa H, Miwa Y, Nagasaka T, Maruyama S, Li YT, Onishi A, Kuzuya T, Kadomatsu K, Uchida K, Nakao A. 2007. Alternative strategy for overcoming ABO incompatibility. *Transplantation* (accepted)
- Saito. A, Yoneda. M, Yokohama. Y, Haneda. M, Nakamura. K. 2006. Fucoidan prevents concanavalin A-induced liver injury through induction of endogenous IL-10 in mice. *Hepatology Research* 35:190-198.
- Tamaki Y, Yoneda M, Yokohama S, Haneda M, Nakamura K. 2006. Repeated administrations of concanavalin A induce Th1 to Th2 cytokine shift and tolerance against liver injury in mice. *Hepatology Research* 35:242-249
- Yokohama S, Tokusashi Y, Nakamura K, Tamaki Y, Okamoto S, Okada Aso K, Hasegawa T, 2006. Aoshima. M, Miyokaw. N, Haneda. M, Yoneda. M. Inhibitory effect of angiotensin II receptor antagonist on hepatic stellate cell activation in non-alcoholic steatohepatitis. *W J Gastroenterol* 12:322-326

## 畜産学

- ThidarMyint N, Yoshida H, Ito T, Kuwayama, H. 2006. Dose-dependent response of plasma ghrelin and growth hormone concentrations to bovine ghrelin in Holstein heifers. *Journal of Endocrinology* 189:655-664
- Ito T, ThidarMyint N, Murata T, Inoue H, Neyra R M, Kuwayama H.. 2006. Effects of peripheral administration of PYY<sub>3-36</sub> on feed intake and plasma acyl-ghrelin levels in pigs. *Journal of Endocrinology* 191:113-119
- He M L, Hnin T M, Kuwayama H, Mir P S, Okine E K, Hidari H. 2006. Effect of conjugated linoleic acid type, treatment period, and dosage on differentiation of 3T3 cells. *Lipids* 41:937-949
- Kawai M, Tomiyama T, Matsuoka S. 2006. Effect of different proportion of roughage and concentrate on the energy intake of riding horses in winter season. *Proceedings of the 12th Animal Science Congress of the Asian-Australasian Association of Animal Production Societies* 595
- Toukura Y, Devee E, Hongo A. 2006. Uprooting and shearing resistances in seedlings of four weedy species. *Weed Biology and Management*. 6:35-43.
- Onishi I, Hongo A, Sasakuma T, Kawahara T, Kato K, Miura H. 2006. Variation and segregation for rachis fragility in spelt wheat, *Triticum spelta* L. *Genetic Resources and Crop Evolution* 53:985-992.
- Hongo A, Enkhee D. 2006. Tensile and shearing properties of leaves in festulolium and perennial ryegrass. *Research Bulletin of Obihiro University* 27:1-7.
- Hongo A, Ishii Y, Suzuta H, Enkhee D, Toukura Y, Hanada M, Hidaka S, Miyoshi S. 2006. Position and rate of intestinal fermentation in adult ostrich evaluated by volatile fatty acid. *Research Bulletin of Obihiro University* 27:9-13.
- 伊東捷夫, 藤倉雄司, 本江昭夫. 2006. 帯広市稲田地区の自生・植栽植物と雑草のリスト. *雑草研究* 51: 185-201.
- Hongo A, Toukura Y, Choque J.L, Aro J.A, Yamamoto N. 2007. The role of a cleft upper lip of alpacas in foraging extremely short grasses evaluated by grazing impulse. *Small Ruminant Research* 69:108-114.

平田昌弘, 門平睦代, 水谷文美, 松本葉, 小疇浩, 佐藤雅俊. 2006. 大規模牧場が野生動植物の保全に果たす役割についての予備調査—ケニア高原の事例から—. 帯広畜産大学学術研究報告 27:69-75

Tani M, Sakamoto N, Kishimoto T, Umetsu K. 2006. Utilization of anaerobically digested dairy slurry combined with other wastes following application to agricultural land. International Congress Series 1293:331-334

Sakamoto N, Tani M, Umetsu K. 2006. Effect of novel covering digested dairy slurry store on ammonia and methane emissions during subsequent storage. International Congress Series 1293:319-322

## 農学

Tanaka Y, Miura H, Fukushima M, Ito M, Nishio Z, Kim S-J, Hashimoto N, Noda T, Takigawa S, Matsuura-Endo C, Yamauchi H. 2006. Physical properties of yellow alkaline noodles from near-isogenic wheat lines with different Wx protein deficiency. Starch/Starke 58:186-195.

Kottarachchi N.S, Uchino N, Kato K, Miura H. 2006. Increased grain dormancy in white-grained wheat by introgression of preharvest sprouting tolerance QTLs. Euphytica 152:421-428.

Noda T, Fujikami S, Miura H, Fukushima M, Takigawa S, Matsuura-Endo C, Kim S-J, Hashimoto N, Yamauchi H. 2006. Effect of potato starch characteristics on the textural properties of Korean-style cold noodles made from wheat flour and potato starch blends. Food Science and Technology Research 12:278-283.

Yasuno N, Yasui Y, Takamura I, Kato K. 2007 Genetic interaction between two tillering genes, reduced culm number 1 and tillering dwarf gene d3, in rice. Journal of Heredity 98:169-172

Tani M, Koike M, Kuramochi K, Higashi T. 2006. Low-molecular-weight aliphatic carboxylic acids in soils incubated with decomposing forest litter. Research Bulletin of Obihiro University 27:59-67

鳥田宏行, 武田一夫. 2007. 雨氷害を受けたカラマツ人工林における林分構造と被害率との関係. 日本林学会誌(日林誌) 89: 39-44

## 農芸化学

Nakamura T, Sato K, Akiba M, Ohnishi M. 2006. Urobilinogen, as a bile pigment metabolite, has an antioxidant function. Journal of Oleo Science 55:191-197.

Koga J, Kubota H, Gomi S, Umemura K, Ohnishi M, Kono T. 2006. Cholic acid, a bile acid elicitor of Hypersensitive cell death, pathogenesis-related protein synthesis, and phytoalexin accumulation in rice. Plant Physiology 140:1475-1483.

Tamura M, Kimura K, Yunoki K, Matsumoto O, Takakuwa N, Oda Y, Ohnishi M. 2006. Simultaneous production of sphingolipids and ethanol by *Kluyveromyces thermotolerans*. Folia Microbiologica, 51:191-195.

Saito K, Takakuwa N, Ohnishi M, Oda Y. 2006. Presence of glucosylceramide in yeast and its relation to alkali tolerance of yeast. Applied Microbiology and Biotechnology 71:515-521.

Kawashima, H. and Ohnishi, M. 2006. Occurrence of novel nonmethylene-interrupted C<sub>24</sub> polyenoic fatty acids in female gonad lipids of the limpet *Cellana grata*. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry 70:2575-2578.

Hasa Y, Tazaki H, Ohnishi M, Oda Y. 2006. Preparation of anti-sticking substance for cooked noodles by fungal hydrolysis of potato pulp. Food Biotechnology 20:263-274.

Kimura K, Kinoshita M, Takakuwa N, Tamura M, Oda Y, Ohnishi M. 2006. Content and constituent properties of sphingolipid classes in *Saccharomyces kluyveri*. Journal of Oleo Science 55:623-627.

Sato M, Saito N, Seki K, Nishikoori M, Tokuji Y, Ohnishi M. 2007. Effects of exogenous mevalonic acid on sterol lipid classes in *Larix kaempferi* callus. Journal of Oleo Science 56:25-28.

Takakuwa N, Tamura M, Ohnishi M, Oda Y. 2007. Sequence analysis of the  $\alpha$ -galactosidase *MEL* gene governing the efficient production of ethanol from raffinose-rich molasses in the yeast *Lachancea thermotolerans*. World Journal of Microbiology and Biotechnology 23:587-591

- Terabayashi T, Motita M, Ueno M, Nakamura T, Urashima T. 2006. Inhibition of influenza-virus-induced cytopathy by sialylglycoconjugates. *Carbohydrate Research*. 341:2246-2253 .
- Uemura Y, Asakuma S, Yon L, Saito T, Fukuda K, Arai I, Urashima T. 2006. Structural determination of the oligosaccharides in the milk of an asian elephant (*Elephas maximus*). *Comparative Biochemistry Physiology. Part A. Physiology*, A145:468-478
- Urashima T, Kobayashi M, Asakuma S, Uemura Y, Arai I, Fukuda K, Saito T, Mogoe T, Ishikawa H, Fukui Y. 2007. Chemical characterization of the oligosaccharides in Bryde's whale (*Balaenoptera edeni*) and Sei whale (*Balaenoptera borealis lesson*) milk. *Comparative Biochemistry Physiology. Part B. comparative biochemistry*, B146:153-159
- Sugai M, Takakuwa N, Ohnishi M, Arai I, Urashima T, Oda Y. Selection of lactic yeast producing glucosylceramide from cheese whey. *Bioresource Technology*, in press.
- Sakai F, Ikeuchi Y, Urashima T, Fujihara M, Ohtsuki K, Yanahira S. 2006. Effects of feeding sialyllactose and galactosylated N-acetylneuraminic acid on swimming learning ability and brain lipid composition in adult rats. *Journal of Applied Glycoscience*, 53:249-254
- Uchida K, Urashima T, Chanishvili N, Arai I, Motoshima H. 2007. Major microbiota of lactic acid bacteria from Matsoni, a traditional Georgian fermented milk. *Animal Science Journal* 78:85-91
- Asakuma S, Urashima T, Akahori M, Obayashi H, Nakamura T, Kimura K, Watanabe Y, Sanai S. Variation of major neutral oligosaccharides levels in human colostrum., *European Journal of Clinical Nutrition*. In press.
- Asakuma S, Akahori M, Kimura K, Watanabe Y, Nakamura T, Tuneni M, Arai I, Sanai Y, Urashima T. Sialyl oligosaccharides of human colostrum: Changes in concentration during the first three days of lactation. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*. In press

## 農業工学

- Takeda K, Tsuji O, Torita H. 2006. Extension of Larch Forest and its Meteorological Conditions at the Continuous Region of Permafrost in the Northern part of Mongolia. *Proceedings of the 2006 International Workshop on Terrestrial Change in Mongolia*, pp.18-21, JAMSTEC, Tokyo.

## 理学

- Oshida T, Lee J-K, Lin L-K, Y-J Chen. 2006. Phylogeography of the Pallas's squirrel (*Callosciurus erythraeus*) in Taiwan: geographical isolation in arboreal small mammals. *Journal of Mammalogy* 87:247-254.
- Yuan S-L, Lin L-K, Oshida T. 2006. Phylogeography of the mole-shrew (*Anourosorex yamashinae*) in Taiwan: implication of interglacial refugia in a high-elevation small mammal. *Molecular Ecology* 15:2119-2130.
- Oshida T. 2006. Is there an evolutionary relict of the Japanese giant flying squirrel *Petaurista leucogenys* on the Asian Continent? *Mammal Study* 31:69-72.
- Ohdachi S, Hasegawa M, Iwasa MA, Vogel P, Oshida T, Lin L-K, Abe H. 2006. Molecular phylogenetics of soricid shrews (Mammalia) based on mitochondrial cytochrome *b* sequences: with special reference to the Soricinae. *Journal of Zoology* 270:177-191.
- Shafique CM, Barkati S, Oshida T, Ando M. 2006. Comparison of diets between two sympatric flying squirrel species (*Petaurista petaurista albiventer* and *Eoglaucomys fimbriatus*) in northern Pakistan. *Journal of Mammalogy* 87:784-789.

## 生殖科学

- Shirasuna K, Shimizu T, Hayashi KG, Nagai K, Matsui M and Miyamoto A. 2007. Positive association, in local release, of luteal oxytocin with endothelin 1 and prostaglandin F<sub>2</sub>α during spontaneous luteolysis in the cow: A

- possible intermediary role for luteolytic cascade within the corpus luteum. *Biology Reproduction*. 76:965-970.
- Shimizu T, Jayawardana BC, Tetsuka M, and Miyamoto A. 2007. Differential effect of follicle-stimulating hormone (FSH) and estradiol on expressions of vascular endothelial growth factor (VEGF) 120, VEGF164 and their receptors in bovine granulosa cells. *Journal of Reproduction and Development*. 53:105-112.
- Sudo N, Shimizu T, Kaneko E, Kawashima C, Tetsuka M and Miyamoto A. 2007. Insulin-like growth factor-I (IGF-I) system during follicle development in the bovine ovary: relationship among IGF-I, type1 IGF receptor (IGFR-1) and pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A). *Molecular Cellular Endocrinology*. 264:197-203.
- Berisha B, Welter H, Shimizu T, Miyamoto A, Meyer HHD and Schams D. 2006. Expression of fibroblast growth factor 1 (FGF1) and FGF7 in mature follicles during the periovulatory period after GnRH in the cow. *Journal of Reproduction and Development*. 52:307-313.
- Shimizu T, Akiyama H, Abe Y, Sasada H, Sato E, Miyamoto A and Uchida T. 2006. Expression of Pin1, a peptidyl-prolyl isomerase, in the ovary of eCG/hCG-treated immature female mice. *Journal of Reproduction and Development*. 52:287-291.
- Shimizu, T., Jayawardana, BC., Nishimoto, H., Kaneko, E., Tetsuka, M., and Miyamoto, A. 2006. Involvement of bone morphogenetic protein/receptor system during follicle development in bovine ovary: hormonal regulation of bone morphogenetic protein 7 (BMP-7) and its receptors (ActRII and ALK-2) expression. *Molecular Cellular Endocrinology*. 249:78-83
- Iijima, K., Tawara, Y., Shimizu, T., Yogo, K., Sasada, H., and Sato, E. 2006. Thecal vascular formation during ovarian follicle development in neonatal female rats. *Animal Science Journal*. 77:574-581
- Kawashima C, Sakaguchi M, Suzuki T, Sasamoto Y, Takahashi Y, Matsui M, Miyamoto A. 2007. Metabolic profiles in ovulatory and anovulatory primiparous dairy cows during the first follicular wave postpartum. *Journal of Reproduction and Development* . 53:113-120.
- Kawashima C, Fukihara S, Maeda M, Kaneko E, Montoya CA, Matsui M, Shimizu T, Matsunaga N, Kida K, Miyake YI, Schams D, Miyamoto A. 2007. Relationship between metabolic hormones and ovulation of dominant follicle during the first follicular wave postpartum in high-producing dairy cows. *Reproduction* 133:155-163.
- Kawashima C, Montoya CA, Masuda Y, Kaneko E, Matsui M, Shimizu T, Matsunaga N, Kida K, Miyake YI, Suzuki M, Miyamoto A. 2007. A positive relationship between the first ovulation postpartum and the increasing rate of milk yield in the first part of lactation in high-producing dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 90:2279-2282.
- Kawashima C, Kaneko E, Carlos AM, Matsui M, Yamagishi N, Matsunaga N, Ishii M, Kida K, Miyake Y and Miyamoto A. 2006. Relationship between the first ovulation within three weeks postpartum and subsequent ovarian cycles and fertility in high producing dairy cows. *Journal of Reproduction and Development*. 52:479-486.

## 生物有機化学

- Nakashima H, Hashimoto M, Sadakane Y, Tomohiro T, Hatanaka Y. 2006. Simple and Versatile Method for Tagging Phenyl diazirine Photophores. *Journal of American Chemical Society* 128:15092-15093
- Hashimoto M, Hatanaka Y. 2006. Positively coded photoaffinity label for altering isoelectric points of proteins. *Bioorganic Medicinal Chemistry Letters* 16:5998-6000
- Hashimoto M, Kato Y, Hatanaka Y. 2006. Simple method for the introduction of iodo-label on (3-trifluoromethyl) phenyl diazirine for photoaffinity labeling. *Tetrahedron Letters* 47:3391-3394
- Hashimoto M, Hatanaka Y. 2006. Practical conditions for photoaffinity labeling with 3-trifluoromethyl-3-phenyl diazirine photophore. *Analytical Biochemistry*. 348:154-156

## 農業教育

- 門平睦代, 林 義明. 2006. 中等農業教育分野における青年海外協力隊員の派遣実績に関する調査—平成3年度1次隊より平成13年度2次隊まで—, 帯広畜産大学学術研究報告 27:15-22.

## 情報科学

- Kyo K. 2007. Prior-free Inference for objective Bayesian analysis and model selection. *Nonlinear Dynamics and Systems Theory* 7:1-21
- Kyo K., Noda H. 2006. Constrained coefficient component regression analysis and its application. *Journal of Japan Industrial Management Association* 56:447-459
- Kong J, Ren X, Kyo K. 2006. Comparison of input devices in pointing tasks through the observation of the human effects: An application of the SH-model. *The Transactions of Human Interface Society* 8:311-320
- Kyo K, Noda H. 2006. Bayesian analysis of cross-prefectural production function with time varying structure in Japan. Mohammad-Djafari A (ed), *Bayesian Inference and Maximum Entropy Methods in Science and Engineering*, pp. 503-510, American Institute of Physics, New York.
- 姜 興起. 2006. 係数成分制約のアプローチに基づく回帰分析法の提案. *Information* 9:219-232

## 文学

- 柴口順. 2006. 「江馬修『山の民』研究序説〔三〕—改稿過程の検討(三)・初稿から学会版へ(後の上)—」『帯広畜産大学学術研究報告』27:77-103
- 柴口順一. 2007. 「継続と停止—『塚事件』論争を読み直す」『文学』隔月刊. 8:167-176

## 独文学

- 松村広美. 2006. ドロステ=ヒュルスホフの『ユダヤ人のブナの木』、『影』48:77-100

## 文化人類学

- 平田昌弘, Aibibula Yimamu. 2007. 中国新疆ウイグル自治区中央部における乳加工体系. *北海道民族学* 3:1-9.
- 平田昌弘, 門平睦代, 水谷文美, 松本葉, 小疇浩, 内田健治, 元島英雄. 2006. アフリカ大陸東部の乳加工体系. *帯広畜産大学研究報告*. 27:69-75

## ☆ 総説

### 獣医学

- 佐々木基樹. 2006. ほねのかたち, 第3回, 哺乳類の骨格, 脊柱. *The Bone* 20:355-369
- 佐々木基樹. 2006. ほねのかたち, 第4回, 哺乳類の骨格, 前肢骨. *The Bone* 20:527-539
- 佐々木基樹. 2006. ほねのかたち, 第5回, 哺乳類の骨格, 後肢骨. *The Bone* 20:709-725
- 佐々木基樹. 2006. ほねのかたち, 第6回, 哺乳類の骨格, 特徴のある骨. *The Bone* 20:883-892
- 佐々木基樹. 2007. ほねのかたち, 第1回, 哺乳類の骨格2, 奇蹄目. *The Bone* 21:133-141
- 佐々木基樹. 2007. ほねのかたち, 第2回, 哺乳類の骨格2, 偶蹄類(前編). *The Bone* 21:253-260
- 佐々木基樹. 2007. 動物遺体をいかに解剖するか. *Japanese Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 12:1-13
- 三宅陽一. 2005. 雌牛の繁殖管理に有用な膈内留置型黄体ホルモン製剤(PRID)の特性と応用. *家畜診療* 52:409-428
- 三宅陽一. 2005. 繁殖技術の向上と分娩期の管理. *ホース・メイト* 46:31-34
- 三宅陽一. 2006. 「臨床獣医師の繁殖診療」新連載にあたって. *臨床獣医* 24:35-38
- 三宅陽一. 2007. 今後期待される、受胎率向上に寄与する研究課題. *人工授精通信* 318:7-11
- 三宅陽一. 2007. わが国における家畜疾病の発生状況と生産獣医療現場のホルモン製剤使用の実態. *ホルモンと臨床* 55:7-13
- 猪熊 壽. 2006. 駆虫薬の特集を企画するにあたって. *Small Animal Medicine*. 8:3
- 猪熊 壽. 2006. 犬の皮膚疾患-外部寄生虫病による犬の皮膚病. *LABIO* 21. No.25:19-24
- 猪熊 壽. 2006. マダニ媒介性疾患. *Avant*. No.4:24-26

- 板本和仁, 猪熊 壽. 2006. 原虫病シリーズ(1)ネオスポラ感染症. Small Animal Clinic. No.145:11-15
- 猪熊 壽. 2006. 原虫病シリーズ(2)ヘパトブーン感染症. Small Animal Clinic. No.146:4-10
- 猪熊 壽. 2007. 食肉のリスクマネジメント. 特集/食の安全から見た畜産とホルモン. ホルモンと臨床. 55:221-228

## 医学

- 駒木-安田加奈子, 河津信一郎. 2006. 分子寄生虫学入門:第10回 寄生性原虫の転写制御:“七変化早替わり”を支える分子メカニズム. 細胞工学 25:806-810
- 嘉糠洋陸. 2006. マラリア非媒介蚊は”盛者必衰”への切り札となるか. 細胞工学 25:528-532
- 新澤直明, 嘉糠洋陸. 2006. 宿主-病原体相互作用解明に向けたショウジョウバエ感染症モデル. 薬学雑誌 126:1219-1226
- 中村公英. 2006. 検査値の読み方 胆道系酵素. 臨床と研究; 83:167-170
- 横浜吏郎, 中村公英, 羽田勝計. 2006. アンジオテンシン II 受容体拮抗薬の臨床応用. 日本臨床; 64:1152-1156

## 生殖科学

- 富岡郁夫, 松本阿佐子, 清水隆, 佐藤英明. 2007. 近年のラット発生工学の進歩 東北畜産学会誌 56:1-7

## ☆ 著書

### 獣医学

- 武士甲一, 木村浩一, 小熊恵二. 2006. ボツリヌス症. 山口恵三ら監修, 日本臨床臨時増刊号-新感染症下巻一, 第15巻3号, pp.184-187, (株)日本臨床, 東京
- 三宅陽一. 2006. 乳牛管理の基礎と応用. 柏村・増子・古村 編, デーリィ・ジャパン, 2006年改訂版, pp. 262-281, 東京
- 三宅陽一. 2007. 獣医繁殖学マニュアル. 獣医繁殖学教育協議会 編, 文永堂出版, 第2版, pp. 104-106, 165-199, 東京
- 三宅陽一. 2006. 獣医繁殖学. 浜名・中尾・津曲 編, 文永堂出版, 第3版, pp. 109134-106, 444-469, 東京
- 猪熊 壽. 2006. チョーク病、ノゼマ病、パロア病、アカリダニ症、犬ヘパトブーン症、サイトークブーン症. 小沼操、明石博臣、菊池直哉、澤田拓土、杉本千尋、宝達 勉編集, 動物の感染症 第2版, pp.271, pp.258, pp.258, 近代出版, 東京
- 猪熊 壽. 2006. 獣医学からみたダニ起因性疾患. 柳原保武監修、高田伸弘・馬原文彦・吉田・岸本寿男・藤田博巳編集, ダニと新興再興感染症, pp.257-266, YUKI 書房, 福井

### 畜産学

- 河合正人. 2006. 第7章. 乳牛管理の応用技術. 第3節. 乳牛の飼養標準. 乳牛管理の基礎と応用 (2006年改訂版). 柏村文郎・増子孝義・古村圭子編著, pp.322-333, (株)デーリィ・ジャパン社, 東京
- 藤倉雄司, 本江昭夫, 山本紀夫. 2007. 知られざるアンデス高地の雑穀-キヌアとカニワ. 山本紀夫編, アンデス高地, pp. 155-181, 京都大学学術出版会, 京都
- 本江昭夫, 藤倉雄司. 2007. アンデス高地でラクダ科動物が生き残った理由. 山本紀夫編, アンデス高地, pp. 311-333, 京都大学学術出版会, 京都
- アロアロ, J.M., 藤倉雄司, 本江昭夫, 鳥居恵美子. 2007. アイマラ族の信仰と生活. 山本紀夫編, アンデス高地, pp. 503-525, 京都大学学術出版会, 京都
- 谷 昌幸. 2007. 北海道の知力と地力を結ぶ「糞尿」の取り扱い, (社)北海道総合研究調査会編, しやりばり, 300号, pp. 39-41, (社)北海道総合研究調査会, 札幌

### 農学

- 三浦秀穂. 2006. 穂発芽耐性と種子休眠性の遺伝. 穂発芽研究会編 穂発芽-国産小麦の品質向上をめざして- p110-128

## 地盤工学

- 武田一夫, 赤川 敏. 2007. 寒冷地の構造物と凍上害. 太田秀樹監, 地盤調査技術総覧, pp.488-494, (株)産業技術サービスセンター, 東京
- 鈴木輝之, 赤川 敏, 武田一夫. 2007. 地盤凍結のエンジニアリング. 太田秀樹監, 地盤調査技術総覧, pp.499-505, (株)産業技術サービスセンター, 東京

## 生殖科学

- 清水 隆. 2006. 第2章 育種・繁殖とアニマルテクノロジー(分担) 2.8 生殖ホルモン「新編畜産ハンドブック」講談社

## 国際協力

- 門平睦代. 2007. ライフストーリーでつづる国際ボランティアの歩き方. 久保田賢一・浅野英一編著, pp.67-77, 国際協力出版会, 東京.

## ☆ その他

### 獣医学

- Kadohira M, Horikita T, and Furuya H. 2006. Participatory epidemiological research for food safety at the farm level in Japan. In: Proceedings of the 11th International Symposium on Veterinary Epidemiology and Economics. Cairns, August 6-11, 2006 (full paper is available in CD).
- 梅宮梨可, 八田岳士, リャオ ミン, 田中みほ, 周金林, 井上昇, 藤崎幸蔵. 2007. フタトゲチマダニ *Haemaphysalis longicornis* 由来マクロファージ遊走阻止因子様タンパクの遺伝子クローニングとその分子性状解析. 獣医寄生虫学会誌, 5: 63
- Namangala B, Sugimoto C, Inoue N. 2006. Lower-dose transforming growth factor-beta-1 induces pro-inflammatory responses early in the course of *Trypanosoma congolense* infection in mice. Proceedings of the 11th International Congress of Parasitology (ICOPA XI) 11:47-52
- 林田京子, Kim J-Y, 井上昇, Nene V, Bishop R, 杉本千尋. 2006. *Theileria parva* シゾントステージにおける ToMRP ホモログ蛋白質の発現. 獣医寄生虫学会誌 4:26
- 櫻井達也, 井上昇, 杉本千尋. 2006. 昆虫型アフリカトリパノソーマ由来細胞接着分子の同定. 獣医寄生虫学会誌 4:23

### 農芸化学

- 佐山晃司, 大西正男. 2006. 十勝エリアにおける都市エリア産官学連携促進事業について(Ⅰ)～機能性を重視した十勝農畜産物の高付加価値化に関する技術開発～. グリーンテクノ情報, 1:1-3.
- 得字圭彦, 大西正男. 2006. 十勝エリアにおける都市エリア産官学連携促進事業について(Ⅱ) 十勝産の農畜産物の機能性を DNA マイクロアレイで評価する. グリーンテクノ情報, 1:5-6.

### 文化人類学

- 平田昌弘. 2006. 「池谷和信著, 2006. 『現代の牧畜民—乾燥地域の暮らし—』古今書院」. 沙漠研究 16-3:175-176.
- 平田昌弘. 2006. 「京都大学大学院アジア・アフリカ地域研究研究科 東南アジア研究所編『京大式フィールドワーク入門』NTT 出版」. 北海道民族学 3:61-63.

平成18年度  
帯広畜産大学大学院畜産学研究科  
修士学位論文題目

The 2006 Academic Year  
Index of Master's Theses for  
the Graduate School of Obihiro  
University of Agriculture and  
Veterinary Medicine

畜産管理学専攻

Master's Course of Animal Production  
and Agricultural Economics

1. 乳用牛の305日記録を用いた変量回帰モデルによる成熟性に関する分析  
(大橋真吾, 家畜種増殖学)
2. 乳用牛における2産次体型審査記録の利用に関する研究  
(岡 太郎, 家畜種増殖学)
3. 繊維消化性の異なる粗飼料を給与したウマにおける消化管内滞留時間と糞の粒度分布  
(小倉雄大, 家畜生産機能学)

1. Analysis of Maturity on Milk Production by Random Regression Model using 305-d yield in Japanese Holsteins  
(Shingo OHASHI, Animal Genetics and Reproduction)
2. The Utilization of Type Records in Second Lactation on Japanese Holsteins  
(Taro OKA, Animal Genetics and Reproduction)
3. Mean Retention Time of Digesta and Particle Size Distribution of Feces in Horses Fed Forage with Different Fiber Digestibility  
(Yudai OGURA, Animal Metabolism and Physiology)

畜産環境科学専攻

Master's Course of Agro-Environmental Science

1. エンドリデュプリケーションを制御する遺伝子 *Increased Level of Poliploidy 2* の解析  
(赤木千佳, 作物科学)
2. *Verticillium lecanii* の種内変異の解析とクチクラ分解酵素との関係  
(荒木聡子, 作物科学)
3. 病害抵抗性遺伝子キチナーゼを導入したコチョウランの発現解析  
(梅村史佳, 作物科学)
4. コムギ農林61号 *Wx* 準同質遺伝子系統の開発およびそれらの小麦粉とデンプンの特性  
(羽田崇伸, 作物科学)
5. イネの少分けつ遺伝子 *rcn4* の遺伝子マッピング  
(ウーラッコディゲ モジット ティロン ペレラ アリヤラトナ, 作物科学)
6. 帯広市稲田地区の自生または植栽された植物と雑草に関する研究  
(伊東捷夫, 草地学)
7. 牧草主体飼養時における牛乳中の脂肪酸組成ならびに共役リノール酸含量に関する研究  
(買買江・祖農, 草地学)
8. 牛糞に生息する昆虫類とそれらの糞分解への関与  
(上田美幸, 生態系保護学)
9. 孤立景観下におけるカシワ・ミズナラ実生の発生一長距離分散の可能性とギャップ下における更新一  
(卜部幸太郎, 生態系保護学)

1. Analysis of Gene *Increased Level of Poliploidy 2* Regulating Endoreduplication  
(Chika Akagi, Crop Science)
2. Genetic Analysis of Intraspecific Variation in *Verticillium lecanii* (*Lecanicillium* spp.) and These Relationships to Cuticle Degradation Enzymes  
(Satoko ARAKI, Crop Science)
3. Expression Analysis of *Phalaenopsis* Orchid Introduced Disease Resistant Gene *Chitinase*  
(Fumika UMEMURA, Crop Science)
4. Development of Near-isogenic Lines of Wheat Norin 61 Carrying Different Null *Wx* Alleles and Their Flour and Starch Properties  
(Takanobu HANEDA, Crop Science)
5. Genetic Mapping of *Reduce culm number 4 (Rcn4)* Gene in Rice  
(Weerakkodige Mojith Tyrone Perera ARIYARATNA, Crop Science)
6. Study on Spontaneous, Cultivated and Weedy Species in Inada Area of Obihiro City  
(Katsuo ITOH, Grassland Science)
7. Studies on Fatty Acid Composition and Conjugated Linoleic Acid Content In Milk of Cows Fed Pasture and Silage-based Diets  
(Zunong MAIMAIJIANG, Grassland Science)
8. Insects Inhabiting Cow Dung Pats and Their Contributions on Dung Degradation Focusing on Physical Changes  
(Miyuki UEDA, Preservation and Management of Ecosystems)
9. Occurrence of *Quercus* Seedlings in a Undergoing Urbanization Landscape -Possibility of long distance dispersal and possibility of regeneration under gaps-  
(Kotaro URABE, Preservation and Management of Ecosystems)



- |  |   |
|--|---|
| 10. ブタの死骸上における昆虫遷移および死後経過時間推定への応用<br>(亀井雄二, 生態系保護学)  | 10. Insect Succession on Pig Carcasses and Application to Estimation of Postmortem Interval (PMI)<br>(Yuji KAMEI, Preservation and Management of Ecosystems)  |
| 11. 紫外線 (UV) 耐性リズムの普遍性について - 繊毛虫テトラヒメナの場合 -<br>(塩原 真, 生態系保護学)                                    | 11. Is the UV Resistance Controlled by a Circadian Clock? -The case of ciliate <i>Tetrahymena pyriformis</i> W-<br>(Makoto SHIOHARA, Preservation and Management of Ecosystems)                             |
| 12. 土壌pHがトマトの生育と食味に及ぼす影響およびこれらに対する有機物施肥の効果<br>(高橋伸彰, 生態系保護学)                                     | 12. Effects of Soil pH and Application of Organic Fertilizer on the Growth and Taste of Tomato<br>(Nobuaki TAKAHASHI, Preservation and Management of Ecosystems)  |
| 13. エゾモモンガが利用する樹洞の特徴, 特に冬期とそれ以外の時期との比較<br>(名嘉真咲菜, 生態系保護学)  | 13. Characteristics of Nest Cavities Used by Siberian Flying Squirrels, with Special Reference to Comparison between Winter and Other Seasons<br>(Sakina NAKAMA, Preservation and Management of Ecosystems) |
| 14. エゾモモンガにおける冬期の採食物とその選択性<br>(南部 朗, 生態系保護学)   | 14. Food Items and Their Selection of Siberian Flying Squirrel, <i>Pteromys volans orii</i> in Winter<br>(Akira NAMBU, Preservation and Management of Ecosystems)   |
| 15. ウシへの配合飼料の投与量の違いが糞分解性昆虫類の定着, 繁殖および羽化に及ぼす影響<br>(丸尾 岳, 生態系保護学)                                  | 15. Influence of Commercial Bovine Concentrate Ration on the Colonization, Reproduction and Emergence of Dung-breeding Insects<br>(Takashi MARUO, Preservation and Management of Ecosystems)                |
| 16. ハードフェスク ( <i>Festuca longifolia</i> Thuill.) の耐乾性に及ぼす光強度の影響に関する研究<br>(ベネガマ チャリダ コシタ, 生態系保護学) | 16. Effect of Light Intensity on Drought Tolerance of Hard Fescue ( <i>Festuca longifolia</i> Thuill.)<br>(Chalinada Koshitha BENERAGAMA, Preservation and Management of Ecosystems)                        |
| 17. 透水性舗装の屋外試験における凍上・凍結の経時変化<br>(山田千晶, 土地資源利用学)  | 17. Annual Fluctuation of Frost Heaving and Frost Action of Porous Pavement in The Field Experiments<br>(Chiaki YAMADA, Land Resource Science and Engineering)  |
| 18. 広域農林地流域における土地利用と平水時河川の水質環境評価<br>(若生沙智代, 土地資源利用学)   | 18. The Evaluation of River Water Quality under Normal Flow Condition in the Large-Scale Watersheds with Agricultural and Forest Land<br>(Sachiyo WAKOU, Land Resource Science and Engineering)             |
| 19. フィリピンレイテ島の劣化土壌における土地利用によってもたらされた土壌養分状態および土壌有機物組成の変化<br>(アイアン アウサ ナバレッテ, 土地資源利用学)             | 19. Nutrient Status and Organic Matter Composition as Influenced by Land Use Change in Degraded Soils in Leyte, Philippines<br>(Ian Auza NAVARRETE, Land Resource Science and Engineering)                  |
| 20. レーザ光透過型センサによる噴霧ノズルの散布パターン自動計測装置に関する基礎的研究<br>(照井健二, 生物生産システム工学)                               | 20. Studies on Automatic Equipment of Deposit Spectrum of Spray Nozzles using Laser Beam Transmission Sensor<br>(Kenji TERUI, Engineering in Agricultural and Biological Systems)                           |
| 21. 十勝におけるバイオエタノール混合燃料の適応性<br>(富田美希, 生物生産システム工学)   | 21. Study On The Adaptability Of Bio Ethanol Fuel In Tokachi Areas<br>(Miki TOMITA, Engineering in Agricultural and Biological Systems)   |
| 22. ミルキングパーラ排水の磁化活性汚泥法による処理特性<br>(迎 春, 生物生産システム工学)   | 22. Characteristics of Milking Parlour Wastewater Treatment by Magnetic Activated Sludge Process<br>(Ying CHUN, Engineering in Agricultural and Biological Systems)   |

#### 生物資源科学専攻

#### Master's Course of Bioresource Science

- |  |  |
|--|--|
| 1. 北海道産小果樹の機能性成分に関する研究<br>(宮下淳一, 応用生命科学) | 1. Study on Functional Components of Small Fruits Grown in Hokkaido<br>(Junichi MIYASHITA, Applied Life Science) |
|--|--|

- |   |  |
|---|--|
| <p>2. 日本人の摂取する食事に含まれるスフィンゴ脂質の含量と組成<br/>(小川拓哉, 応用生命科学)</p> <p>3. 豆類種子に含まれる機能性成分の特徴<br/>(齋藤優介, 応用生命科学)</p> <p>4. パミス抽出物の成分特性とDNAマイクロアレイによる食品機能性評価<br/>(佐々木 岳, 応用生命科学)</p> <p>5. 小豆種子およびシーベリー葉ポリフェノールの生理調節機能に関する研究<br/>(西 繁典, 応用生命科学)</p> <p>6. 馬鈴薯加工品および副産物に含まれる健康機能性成分の薬物誘発急性肝障害に対する効果の検索<br/>(楡井 慈, 応用生命科学)</p> <p>7. 光親和性標識を指向したフェニルジアジリン化合物の効率的誘導体化反応の検討<br/>(加藤悠飛, 応用分子生物学)</p> <p>8. 各種検査法による生乳中の残留農薬および動物用医薬品の検出感度に関する研究<br/>(高祖邦昭, 生物資源利用学)</p> <p>9. ロシアの伝統的発酵クリーム「スメタナ」中の乳酸菌, 酵母の分離・同定および分離酵母の機能性に関する研究<br/>(常深 慎, 生物資源利用学)</p> | <p>2. Contents and Composition Property of Sphingolipids Contained in Japanese Meals<br/>(Takuya OGAWA, Applied Life Science)</p> <p>3. Characterization of Functional Component in Edible Bean Seeds<br/>(Yusuke SAITOH, Applied Life Science)</p> <p>4. Chemical composition of pomace extracts and evaluation of food functionality by DNA microarray analysis<br/>(Gaku SASAKI, Applied Life Science)</p> <p>5. Study on Physiology Function of Adzuki Bean and Seaberry Leaf Polyphenol<br/>(Shigenori NISHI, Applied Life Science)</p> <p>6. The Effect of Health Functional Ingredients in Potato Processed Goods and Secondary Product Preventing Medicinal-induced Damage in Rats<br/>(Megumi NIREI, Applied Life Science)</p> <p>7. Efficient derivatization of phenyldiazirine compounds for photoaffinity labeling<br/>(Yuhi KATO, Applied Molecular Biology)</p> <p>8. A Study about the Sensitivity of Various Laboratory Procedures to detect the Pesticide and Veterinary Medicinal Products in Raw Milk<br/>(Kuniaki KOUSO, Food Science and Technology)</p> <p>9. Identification of the Dominant Microorganisms Isolated from 'Smetana' (the Russian Traditional Fermented Cream) and Screening of Probiotic Yeast Strains<br/>(Makoto TSUNEMI, Food Science and Technology)</p> |
|---|--|

### 畜産衛生学専攻

### Master's Course of Animal and Food Hygiene

- |  |   |
|--|---|
| <p>1. ポテトパルプ投与によるラット血中脂質への影響について<br/>(松田慶子, 食肉乳衛生学)</p> <p>2. 乳酸菌<i>Lactobacillus fermentum</i>の生産する多糖の性質の解析<br/>(フィアメ レオ, 食肉乳衛生学)</p> <p>3. 発酵ソーセージのアミノ酸成分に対するスターターカルチャーの影響<br/>(アロ アロ フォン マルコス, 食肉乳衛生学)</p> <p>4. 牛肉と豚肉におけるユビキチンタンパクの発現<br/>(プレブドルジ ニヤマ オソル, 食肉乳衛生学)</p> <p>5. 乳牛における分娩後の濃厚飼料増給率と栄養代謝因子および繁殖性の関係<br/>(石原美紀, 家畜生産衛生学)</p> <p>6. ウシ黄体におけるapelinとそのレセプターAPJの発現<br/>(佐山浩平, 家畜生産衛生学)</p> <p>7. ウシ黄体退行における細胞接着による細胞間クロストークの重要性に関する研究<br/>(渡辺 翔, 家畜生産衛生学)</p> | <p>1. Effects of Potato Pulp on Blood Lipids in Rats<br/>(Keiko MATSUDA, Meat and Milk Hygiene)</p> <p>2. Chemical and Immunological Properties of Exopolysaccharide Produced by <i>Lactobacillus fermentum</i> Strain<br/>(Leo FIAME, Meat and Milk Hygiene)</p> <p>3. The Effect of Starter Cultures on Amino Acid Content in Fermented Sausages<br/>(Juan Marcos ARO ARO, Meat and Milk Hygiene)</p> <p>4. Expression of Ubiquitinated Proteins in Beef and Pork<br/>(Nyam-Osor PUREVDORJ, Meat and Milk Hygiene)</p> <p>5. Effects of Increasing Rate of Dietary Concentrate During the Early Lactation on Metabolic Status and Reproductive Performance in Postpartum Dairy Cows<br/>(Miki ISHIHARA, Animal Production Hygiene)</p> <p>6. The Expression of Apelin and its Receptor APJ in the Bovine Corpus Luteum<br/>(Kohei SAYAMA, Animal Production Hygiene)</p> <p>7. Study on the Impact of Cell-to-Cell Cross-Talk by Cell Adhesion during Luteolysis in the Cow<br/>(Sho WATANABE, Animal Production Hygiene)</p> |
|--|---|

8. ポジティブリスト制度下での農家のドリフト対策による収益性比較と意思決定  
(本田智来, 食品衛生経済学)
9. 十勝の養豚農家における人工授精導入の意義と課題に関する研究  
(見谷朋之, 食品衛生経済学)
10. Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP)法による牛乳中黄色ブドウ球菌 *Staphylococcus aureus* の迅速・簡易検出法  
(斉藤ゆり, 食品有害微生物学)
11. *Haemaphysalis longicornis* の抗菌ペプチド defensin の特性解明  
(植田真美, 人畜共通感染症学)
8. Farmer's Profitability Comparison and Decision Making by Drift Measures under Positive List System  
(Tomoki HONDA, Food Safety Economics)
9. Study of Meaning and Problem of AI Introduction in hog farm in Tokachi  
(Tomoyuki MITANI, Food Safety Economics)
10. A Rapid and Simple Detection of *Staphylococcus aureus* from Milk by Loop-Mediated Isothermal Amplification  
(Yuri SAITO, Food Microbiology and Animal Hygiene)
11. Characterization of Two Defensin-Like Antimicrobial Peptides From the Hard Tick, *Haemaphysalis longicornis*  
(Mami UEDA, Zoonotic Infections)

## 平成18年度岐阜大学大学院連合獣医学研究科

### 博士学位論文題目

1. Studies on Vaccine Development and Establishment of Diagnosis against African Trypanosomiasis ..... 久保木 基高
2. Studies on the Geographical Variations in Skull Morphology of Squirrels in Southeast Asia ..... 林田 明子
3. Studies on the Stage Specific Gene Expression Associated with Implantation in Mice ..... 李 東洙
4. Molecular Characterization of a Novel Leusine Aminopeptidase from the Hard Tick *Haemaphysalis longicornis* and Its Role in Tick Blood-feeding Physiology ..... 八田 岳士
5. Studies on Identification of Cross-reactive Antigens between *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* and Development of Immunodiagnostic Test for *N. caninum* Infection ..... 廖 敏
- 6 雄性生殖行動に関わる神経機構に関する研究 ..... 室井 喜景
7. Studies on the Reproductive Functions in the Bull ..... Bhuminand Devkota
8. Studies on Diagnostic Imaging for the Caudal Vena Cava in Dairy Cattle ..... 吉 林台

## 平成18年度岩手大学大学院連合農学研究科

### 博士学位論文題目

1. IMPROVING THE PRESERVATION QUALITY OF HIGH MOISTURE BY-PRODUCT FEEDSTUFFS BY ENSILAGE AND USE OF ADDITIVES ..... OKINE, Abdul Razak Addy
2. Relationships between local vascularity and endocrinological environment in follicular development and ovulation in cattle ..... 林 憲 悟
3. STUDIES ON MANIPULATION OF RUMINAL FERMENTATION AND METHANOGENESIS BY NATURAL PRODUCTS ..... Bunthoeun PEN
4. MARKET RESPONSE OF TRADITIONAL PIG FARMING AREAS IN VIETNAM: A CASE STUDY OF NGHE AN PROVINCE ..... NGUYEN, THI MINH HOA
5. ユーグレナの概日リズムと環境適応 ..... 敖恩 宝力格
6. Study on the physiological role of glycosphingolipid globotriaosylceramide in mammalian cells ..... 申 仁 先
7. Map-based cloning of the *Reduced culm number 1 (Rcn1)* gene controlling the outgrowth of tiller buds in rice ..... 安 野 奈緒子
8. 農業用トラクタ用水平方向サスペンションに関する研究 ..... 箕 浦 邦 雄
9. 農畜産副産物中に含まれる機能性脂質に関する食品化学的研究 ..... 木 沙 熱娜古麗

RESEARCH BULLETIN OF OBIHIRO UNIVERSITY

CONTENTS

**Natural Science**

**Animal Science**

- Effect of external Teat Sealant on prevention of new intramammary infection at transient period of dairy cows  
Keiko FURUMURA and Yuuki TESHIMA . . . . . 1

**Agronomy**

- Effect of soil pH on the growth and taste of tomato, and efficacy of organic fertilizer in improvement of the tomato growth  
Nobuaki TAKAHASHI and Shinro YAMAMOTO . . . . . 13
- Magnetic particle-mediated gene transfer and magnetic selection of the cells  
Hideo KAKUTA and Yoh HORIKAWA . . . . . 23

**Agricultural Chemistry**

- Properties of the lipids and polyphenols in wild rice (*Zizania palustris*) seeds  
Osamu AIZAWA, Yusuke SAITO, Shigenori NISHI, Hiroshi KOAZE, Kazunori HIRONAKA and Michiyuki KOJIMA . . . . . 30
- Annual Variations in the Anthocyanin Contents of Blueberry Fruit Grown in Hokkaido  
Junichi MIYASHITA, Shigenori NISHI, Yusuke SAITO, Hiroshi KOAZE, Kazunori HIRONAKA and Michiyuki KOJIMA . . . . . 35

**Environmental Science**

- Fruit set ratio of *Polygonatum odoratum* (Liliaceae) in a remnant forest and its vicinity under a cultivated landscape  
Jun HARADA, Masatoshi SATO and Yasuo KONNO . . . . . 41

**Humanities**

**Literature**

- An introductory study on Shu Ema "Yama no Tami"[4]: A research on the process of rewriting(4) · From original version to Gakkai version(C-y)  
Jun'ichi SHIBAGUCHI . . . . . 47

**Industry-Academia-Government Cooperation**

- Mechanism of cooperation among industry, academia, and government in Japan  
Harumi WATANABE . . . . . 66
- A study on industrial/academic/governmental cooperation in Germany and potential for Tokachi area  
Harumi WATANABE . . . . . 74

**New types of Jurisprudence**

- A study on the legal issues and management possibilities in relegating copyright to universities -A research project 2006 to reform and improve educational and research functions of Obihiro University-  
Harumi WATANABE . . . . . 82

A List of Academic Contribution In 2006 . . . . . 92

The 2006 Academic Year, Index of Master's Theses for the Graduate School of Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine . . . . . 102

The 2006 Academic Year, Index of Dissertation for the United Graduate School of Veterinary Science, Gifu University . . . . . 106

The 2006 Academic Year, Index of Dissertation for the United Graduate School of Agricultural Science, Iwate University . . . . . 106

帯 大 研 報  
RES. BULL. OBIHIRO UNIV.

編 集 委 員 (\*委員長)

秋 本 正 博 押 田 龍 夫 \*北 村 延 夫  
木 下 幹 朗 楠 田 尚 史 木 挽 輝 男  
時 岡 裕 純 弘 中 和 憲 度 会 雅 久  
(五十音順)

---

平成19年10月 発行

編 集  
発 行

国立大学法人 帯広畜産大学

北海道帯広市稲田町西2線11番地

---