

[ISSN—0915—115X]

日本大学国際関係学部 生活科学研究所報告

第 35 号

REPORT
OF
THE RESEARCH INSTITUTE OF SCIENCES FOR LIVING
COLLEGE OF INTERNATIONAL RELATIONS
NIHON UNIVERSITY

No.35

2012

日本大学国際関係学部生活科学研究所
RESEARCH INSTITUTE OF SCIENCES FOR LIVING
COLLEGE OF INTERNATIONAL RELATIONS
NIHON UNIVERSITY

[ISSN—0915—115X]

日本大学国際関係学部 生活科学研究所報告

第 35 号

REPORT
OF
THE RESEARCH INSTITUTE OF SCIENCES FOR LIVING
COLLEGE OF INTERNATIONAL RELATIONS
NIHON UNIVERSITY

No.35

2012

日本大学国際関係学部生活科学研究所
RESEARCH INSTITUTE OF SCIENCES FOR LIVING
COLLEGE OF INTERNATIONAL RELATIONS
NIHON UNIVERSITY

REPORT OF THE RESEARCH INSTITUTE OF SCIENCES FOR LIVING
COLLEGE OF INTERNATIONAL RELATIONS
NIHON UNIVERSITY No.35 2012

CONTENTS

Tomiko MITSUHASHI, Madoka MORISHITA, and Erika KOJIMA	
The Effects of Wine on the Tenderness and Histological Structure of Cooked Meat.....	1
Makoto MUROFUSHI, and Ayu YAMASHITA	
Karyological Investigation on 8 <i>Aulonocara</i> Species of Cichlid Fish from	
Malawi Lake, Africa	11
Motoyasu ISHIKAWA	
Study on Growth Points Environment of the <i>Prasiola japonica</i> YATABE	23

日本大学国際関係学部生活科学研究所報告 第35号

平成25年3月

目 次

牛肉の軟化に及ぼすワインの影響	三橋富子・森下 円・小嶋絵梨花 1
アフリカマラウイ湖産シクリッド科魚類アウロノカラ属8種の染色体比較	室伏 誠・山下あゆ 11
カワノリ生育地の環境に関する考察	石川元康 23

論文

牛肉の軟化に及ぼすワインの影響

三橋 富子^{※1}・森下 円^{※2}・小嶋絵梨花^{※2}

The Effects of Wine on the Tenderness and Histological Structure of Cooked Meat

Tomiko MITSUHASHI^{※1}, Madoka MORISHITA^{※2}, and Erika KOJIMA^{※2}

ABSTRACT

Marinating in wine has been used as a mean of reducing toughness of cooked meat. So, the effects of wine on the tenderness and histological structure of cooked beef was examined using white and red wines compared with distilled water.

Physical properties measured by rheometer and penetrometer, suggested that cooked beef marinating in white wine was the most tender, and the next in red wine followed by in distilled water. The structures of endomysium and perimysium of cooked beef muscle marinating in white and red wine were looked thinner and more fragile compared with those in distilled water. The low pH values in marinating in white and red wines (pH 4.65 and 4.71 respectively) caused higher water holding capacity and solubilization ratio of collagen than in distilled water (pH 5.79). So, it is thought that these two factors have contributed to reducing toughness of cooked beef. And, the SDS-PAGE bands' patterns did not differ among three kinds of beef muscle so that hydrolysis of myofibrillar proteins could not be considered.

1. 目 的

牛肉は加熱して食されることが多いが、肉タンパク質の熱変性により、生肉に比べ加熱肉のほうが硬くなる。食肉の硬さを決めているのは、筋線維とそれらを包んでいる各種の膜である結合組織ならびにそれらの膜中に存在する脂肪組織である。脂質は加熱すると溶け、また筋上膜は調理する前に除去されるので、実質的には筋線維を構成している筋原線維タンパク質および筋周膜と筋内膜を作っている肉基質タンパク質の量と質が硬さに影響する。肉タンパク質は加熱によりいずれも硬化するが、筋漿タンパク質は球状の水溶性タンパク質であるため影響は少なく、40~60℃加熱時の硬化は筋原線維タンパク質の熱変性によるものである。70~80℃のさらなる硬化は肉基質タンパク質の熱変性によるもので、筋肉の収縮と脱水を伴うため影響が大きいことが知られ

ている。80℃以上での湿式長時間加熱では肉の軟化が見られるが、これは肉基質タンパク質のコラーゲン線維は60℃前後から変性が始まり、強い収縮を起こすが、収縮と同時にコラーゲン線維の可溶化（低分子化）が起きるため、筋線維を束ねている筋周膜や筋内膜の一部が溶け肉がほぐれやすくなるためであると考えられている。

肉を柔らかく調理する一番身近な方法は、筋線維を切断するように薄く切り分けたり、筋切りをしたり、あるいはひき肉にするなどの物理的（機械的）軟化方法である。肉を柔らかく調理できるとして近年広く行われるようになった真空調理は、1970年代後半にフランスでフォアグラのテリーヌのクッキンググロスを少なくするために開発された調理法であるが、肉類においては水分の損失が多くなる70℃より低い温度で長時間加熱が行われるため、やわらかく

※1 日本大学短期大学部（三島校舎）教授 Junior College (Mishima Campus), Nihon University, Professor

※2 日本大学短期大学部専攻科食物栄養専攻・卒業生 Advanced Course of Food and Nutrition, Junior College (Mishima Campus), Nihon University, Former Student

ジューシーに仕上がることが知られている。このほか肉の軟化に与える調味料の影響については、酢油に浸漬するマリネ肉の軟化機構が詳細に検討されているが、酢につけることによる酸性条件下で起こる保水性の回復、コラーゲンの溶解および筋肉内プロテアーゼの関与などがその要因と考えられている¹⁾²⁾。フランス料理のcock・オーヴァンやブッフ・ブルギニョンは、鶏肉や牛肉を赤ワインに一晩漬け込んでから煮込むことで、柔らかく風味豊かに仕上がるのであるが、このワインによる軟化も前述の酢油によるマリネとほぼ同様の機構と考えられている。しかしながら、赤ワインと白ワインの効果に関して相反する報告もなされている。Okudaら³⁾は、牛肉を用いてワインの調理効果を調べたところ、白ワインよりも赤ワインの方が肉の軟化に効果的に働いたことを報告している。これは、赤ワイン中のポリフェノールおそらくタンニンの効果であろうと報告している。また、Megaら⁴⁾は、Okudaらとは異なり、赤ワインのタンニンが筋線維を収縮しているため、赤ワインに比べ、白ワインの方が肉の軟化作用が大きいのではないかと報告している。

そこで、本研究ではワインの牛肉の軟化に及ぼす影響について赤、白ワインを用いてその効果について検討することを目的とした。

2. 方 法

2.1 加熱肉の調製法

牛もも肉（乳用牛・国産）を試料肉とし、肉の筋線維の方向を確認して、3 cm×3 cm×3 cmの立方体に切り分け、各肉片の重量（ W_0 ）を測定した。肉片5個をパックに入れ、蒸留水100mlを加えて脱気、密封し、4℃で20時間保持した。その後95℃の湯浴中で1時間加熱し、加熱後は密封パック中の浸漬液の体積と、各加熱肉の重量（ W_1 ）を測定した。浸漬液は20分間冷却遠心分離（15000×g）して得た上澄みを凍結保存した。蒸留水と同様に赤ワイン（SUNTORY Delica Maison）および、白ワイン（SUNTORY Delica Maison）も各100mlを、各5個の肉片に加えて漬けこみおよび加熱を実施した。

2.2 pHの測定

加熱前後の浸漬液のpHはガラス電極pHメーター（（株）堀場製作所 カスタニーLAB）にて測定した。

2.3 加熱肉の物性の測定

2.3.1 レオメーターによる硬さの測定

加熱肉の上下を筋線維に平行に薄く切りとって形を整えてから、径2 cmの円筒型になるように切断し、レオメーター（FUDOH NRM-2010J-CW）の破断試験を用いて測定した。測定条件は、プランジャー：進入弾性丸棒φ5を用い、レンジ：10kg、テスト速度：6 cm/minで、筋線維の方向に対して直角に圧縮して測定を行った。サンプルは各溶液につき5個ずつ測定し、平均値を求めた。

2.3.2 針入度計による硬さの測定

針入度計（針入管重量=50.036g）で、加熱肉の筋線維に直角に針を落として測定した。肉表面の筋でないとところを選定して、その直上に針をおき、5秒間の針入度を測定した。1個体につき5ヶ所測定し平均値を求めた。

2.4 保水性の測定

浸漬前の肉重量を W_0 、加熱後の肉重量を W_1 とし、下記の計算式より加熱後の肉重量の変化率を算出して保水性の指標とした。加熱後の肉重量が多いほど放水が少なく、保水性が高いものと考えた。

$$\text{保水性} = W_1 / W_0 \times 100 (\%)$$

2.5 可溶化したコラーゲンの定量

冷却遠心分離（15000×g）して不溶物を除去した加熱終了後の浸漬液中のヒドロキシプロリン量をWossener法⁵⁾を用いて測定した。検量線は、L-ヒドロキシプロリン溶液0～0.5μg/mlを用いた。定量したヒドロキシプロリン量は下記の式にて、肉1gから浸漬液に溶出したコラーゲン量とした。

$$\text{コラーゲン} (\mu\text{g/g}) = \text{ヒドロキシプロリン量} (\mu\text{g/ml}) \times 10\text{ml} / 0.5\text{ml} (\text{希釈倍率}) \times \text{浸漬液} (\text{ml}) \times 8.72$$

なお、8.72はOkuyamaらの報文⁶⁾の牛肉のヒドロキシプロリン含量からコラーゲン量への換算係数である。

2.6 SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法

2.6.1 泳動サンプルの調製法

加熱肉0.2gをホモジナイザーカップに入れ、可溶化液（5%SDS, 0.1%-2-メルカプトエタノール, 20mM-リン酸buffer-pH7.0）を5.8ml加えホモジズした。ビーカーに移し変え一晩室温で攪拌を続け、可溶化した。遠心分離して不溶物を除き、上澄み液0.4mlに蒸留水0.6ml加えて希釈したサンプル溶液に、トラッキ

ングダイ (30mM Tris-HCl-pH8.0、0.3mM EDTA、3% SDS、30%グリセロール、0.001%ピロニンY) を0.5ml、2-メトキシエタノール0.1mlを加え、60°Cで20分加熱した。サンプルは使用時まで凍結保存(-85°C)した。使用時に60°Cで20分間加熱して用いた。

2.6.2 電気泳動方法

電気泳動はMini-PROTEANcell (日本バイオラッドラボラトリー株) を用い12.5%分離ゲルで行った。サンプルロード量は20 μ lで、ミニスラブゲル1枚当たり10mAで5時間行った。染色液 (0.1%コマジープリリアントブルー、40%エタノール、7%酢酸) で一昼夜染色し、脱色液 (40%エタノール、7%酢酸) で脱色した。

2.7 組織観察

生および加熱肉片を10%中性ホルマリンで固定し、パラフィン包埋した後薄切した。スライド標本は、脱パラフィン後にシリウスレッドを用いたエラスチカワンギーソン染色法⁷⁾で染色を行った。

2.8 実験結果の検定方法

実験結果の差の検定はt検定および、一元配置の分散分析で行い、多重比較はTukey HSD検定 (統計用ソフト SPSS使用) で行った。

3. 実験結果および考察

3.1 pHの変化

赤ワインと白ワインは図1に示したように、ほぼpHの等しいワインを選定したため、浸漬前のpHは各々3.21、3.1であった。各浸漬液は加熱前の100mlに比べ、40ml前後の増加を示しており、加熱肉からの肉汁の放出による増加と考えられた。20時間の浸漬、およびそれに続く95°Cで1時間加熱後のpHは、赤ワイン4.71、白ワイン4.65で両者とも1.5程度の上昇を示した。肉汁の放出によりpHが上昇したのと考えられる。蒸留水はもとのpHが5.6とほぼ肉の極限pHと同程度であったものが、pH5.79とわずかに上昇した。加熱肉は熟成後の牛肉であるため、肉汁のpHは極限pHにより少し回復し、上昇しているものと考えられた。

3.2 保水性

重量変化率を図2に示した。浸漬加熱後の肉重量は加熱前の蒸留水58.9%、赤ワイン63.2%、白ワイン63.9%であった。標準偏差が大きいため有意差は認められなかったが、蒸留水の重量変化率が一番大

きく、ついで赤ワイン、白ワインであることを示していた。つまり放出肉汁量がこの順に多いことを意味している。このことは図1の浸漬液の変化からも示唆されている。pHの変化において、もし仮に浸漬加熱後の浸漬液のpHが肉中のpHと平衡に達していると考えれば、赤ワイン、白ワインの4.65~4.71に比べ、蒸留水は5.79と筋原線維タンパク質の半量以上を占めるミオシンの等電点5.4に近いので保水性が低いと考えられる。このことから、ワインで漬け込んだ方が保水性が高い傾向にあることがわかった。

3.3 物性の測定

3.3.1 レオメーターによる破断強度の測定

蒸留水に浸漬した加熱肉は、明確な破断曲線のパターンを示すものが多かったが、ワイン浸漬加熱肉は明瞭な破断点が判別しにくかった。そのため破断曲線の変形と応力が比例関係にある最大の変形の時 (10mm) の応力で比較してみた。その結果を図3に示した。肉の個体差が大きかったので、有意差は認められなかったが、蒸留水2055g、赤ワイン1737g、ついで白ワイン1593gの順に軟らかい傾向にあることがわかった。また、典型的な破断曲線のパターンを図4 (横軸はプランジャーの侵入距離cm、縦軸は応力g) で示しておいたが、この図からわかるように、蒸留水は明瞭な破断パターンを示し、もろさもはっきりとでていたが、赤ワイン、白ワインはブスブス…とプランジャーがガタガタしながら圧縮しており、明らかに物性が異なっていることが示唆されていた。

3.3.2 針入度

針入度についても有意差は示されなかったが、蒸留水4.5mm、赤ワイン5.2mm、白ワイン5.6mmの順に針入度が大きくなっており、この順に軟らかくなる傾向にあることがわかった。(図5)

3.4 コラーゲンの可溶化

結果を図6に示した。可溶化したコラーゲン量は、肉1g当たり蒸留水2195 μ g、赤ワイン3107 μ g、白ワイン3410 μ gであった。標準偏差が大きいため有意差は認められなかったが、蒸留水、赤ワイン、白ワインの順にコラーゲンの可溶化が多い傾向にあることがわかった。筋線維を包み束ねているコラーゲンが可溶化されたため、この順で肉がほぐれやすく、軟らかくなっていることが示唆された。

3.5 加熱肉の電気泳動

加熱肉を可溶化した全筋のタンパク質パターンを図7に示した。図から明らかなように三者のタンパク質泳動パターンに差はみられず、すべてのタンパク質が同一であることがわかった。つまり、各タンパク質の加水分解等による差異は認められなかった。マリネ肉においては妻鹿らの報告¹⁾にあるように、低pH域(pH4.0程度)におくことで筋肉内カテプシン群(プロテアーゼ)の活性化により、筋原線維タンパク質のミオシン主鎖の分解がおこり150,000dalton成分が生じていることも肉の軟化につながっていることが明らかにされている。しかしながら、ワイン浸漬による低pH下、つまりpH4.6~4.7程度では、筋原線維タンパク質の分解は生じていないことがわかった。

3.6 組織観察

組織観察で得られた結果を表1、写真を写真1~写真8に示した。未加熱肉(写真1、2)の筋内膜および筋周膜(赤く染色された部分)は細く、ネット状にはりめぐらされていた。筋内膜と細胞実質部の間や、筋周膜のまわりに明瞭な空間がみられた。蒸留水浸漬加熱肉(写真3、4)は、筋周膜が膨潤して膨らんでおり、はっきりと染色されていた。また筋内膜も未加熱肉に比べて膨潤して太く明瞭に染色されていた。赤ワイン浸漬加熱肉(写真5、6)は、筋周膜は一部剥離が生じており、蒸留水浸漬加熱肉に比べて細くもろい印象を与えていた。また、筋細胞はところどころに亀裂が生じていた。白ワイン浸漬加熱肉(写真7、8)は、赤ワインよりもさらに筋周膜の剥離と消失が多く認められ、矢印部(→)のような筋周膜の染まり部位の減少がみられた。しかしながら、筋細胞の亀裂は赤ワインに比べて少なかった。

これらのことから組織観察からも蒸留水、赤ワイン、白ワインの順に組織が脆弱にほどけている様子が推察された。また、筋細胞の亀裂が白ワインより赤ワインの方が多くみられたのは、Megaら⁴⁾の報告にある赤ワインの成分(タンニン)による筋線維の収縮と関連があるのではないかと考えられた。

以上の結果から有意差は認められなかったものの、保水性、レオメーターによる物性測定、針入度測定、コラーゲンの可溶化において、蒸留水、赤ワイン、白ワイン浸漬加熱肉の順に肉の軟化が大きいことが示唆されており、組織観察からもそのことが裏付け

られていると考えられる。その軟化の要因としては、電気泳動結果より筋原線維タンパク質の加水分解は考えられず、低pH域での保水性の増大と肉基質タンパク質、コラーゲンの可溶化の寄与が大きいものと考えられた。

4. まとめ

牛肉は加熱して食されることが多いが、生肉と比べ加熱肉のほうが硬くなるので、軟らかく調理する方法が工夫されている。牛肉を加熱するときワインを添加すると、肉が柔らかくなったり風味が向上したりするといわれている。そこで、ワインの牛肉の軟化に及ぼす影響について赤、白ワインを用いてその効果を検討した。

浸漬前のpHは赤ワイン3.21、白ワイン3.1であった。加熱後のpHは、赤ワイン4.71、白ワイン4.65で両者とも1.5程度の上昇を示した。蒸留水はもとのpHが5.6とほぼ肉の極限pHと同程度であったものが、加熱肉は熟成後の牛肉であるため、肉汁の放出によりpH5.79とわずかに上昇したものと思われる。

保水性は浸漬加熱後の肉重量は加熱前の蒸留水58.9%、赤ワイン63.2%、白ワイン63.9%となり、ワインで漬け込んだ方が保水性が高い傾向にあることがわかった。

レオメーターの破断応力は、蒸留水2055g、赤ワイン1737g、ついで白ワイン1593gの順に軟らかい傾向にあることがわかった。また、蒸留水は明瞭な破断パターンを示し、もろさもはっきりとでていたが、赤ワイン、白ワインはプランジャーがガタガタしながら圧縮しており、明らかに物性が異なっていることが示唆されていた。針入度についても蒸留水4.5mm、赤ワイン5.2mm、白ワイン5.6mmの順に軟らかくなる傾向にあることがわかった。

可溶化したコラーゲン量は、肉1g当たり蒸留水2195 μ g、赤ワイン3107 μ g、白ワイン3410 μ gであった。筋線維を包み束ねているコラーゲンが可溶化されたため、この順で肉がほぐれやすく、軟らかくなっていることが示唆された。

電気泳動については、三者の泳動パターンに差はみられず、ワイン浸漬による低pH域程度では、筋原線維タンパク質の分解が生じていないことがわかった。

組織観察では、未加熱肉の筋内膜および、筋周膜は細かった。蒸留水浸漬加熱肉は、筋周膜、筋内膜とも膨潤して膨らんでおり、赤ワイン、白ワイン浸漬加熱肉は、筋周膜は一部剥離しており、蒸留水に

比べて細くもろい印象を与えていた。

以上の結果から蒸留水、赤ワイン、白ワイン浸漬加熱肉の順に肉の軟化が大きいことが示唆されており、その軟化の要因としては、電気泳動結果より筋原線維タンパク質の加水分解は考えられず、低pH域での保水性の増大と肉基質タンパク質、コラーゲンの可溶化の寄与が大きいものと考えられた。

5. 参考文献

- 1) 妻鹿 絢子、藤木 澄子、細見 博子：食肉のマリネに関する研究－筋原線維蛋白質の分解を中心として－調理科学13（3） pp.197-202 (1980)
- 2) 妻鹿 絢子：食肉コラーゲンに及ぼすマリネ処理の影響 山梨大学教育学部研究報告 33 pp.161-164 (1982)
- 3) Kazuko Okuda, Ryuzo Ueda : Comparison of the Effects of White and Red Wines on Beef Round Texture J.Home Econ.Jpn.Vol.44 No.12 pp.1007-1020 (1993)
- 4) Ayako Mega, Tomiko Mitsuhashi, Mariko Tajima : The Influence of Wine components on the tenderness and histological Structure of cooked meat 50th ICoMST proceeding p.208 (2004)
- 5) Woessner J. F., Jr.: The Determination of Hydroxyproline in Tissue and Protein Samples Containing Small Proportions of This Imino Acid ARCHIVES of BIOCHEMISTRY and BIOPHYSICS 93, pp.400-447 (1961)
- 6) Okuyama N., Akabori S., Kaneko T., and Narita K.: Measurement method of each amino acid in chemistry of protein 1. Amino acid and peptide 共立出版Tokyo, pp.310-313 (1969)
- 7) 佐野 豊：組織学研究法 理論と術式 南山堂 pp.161-206 (1965)

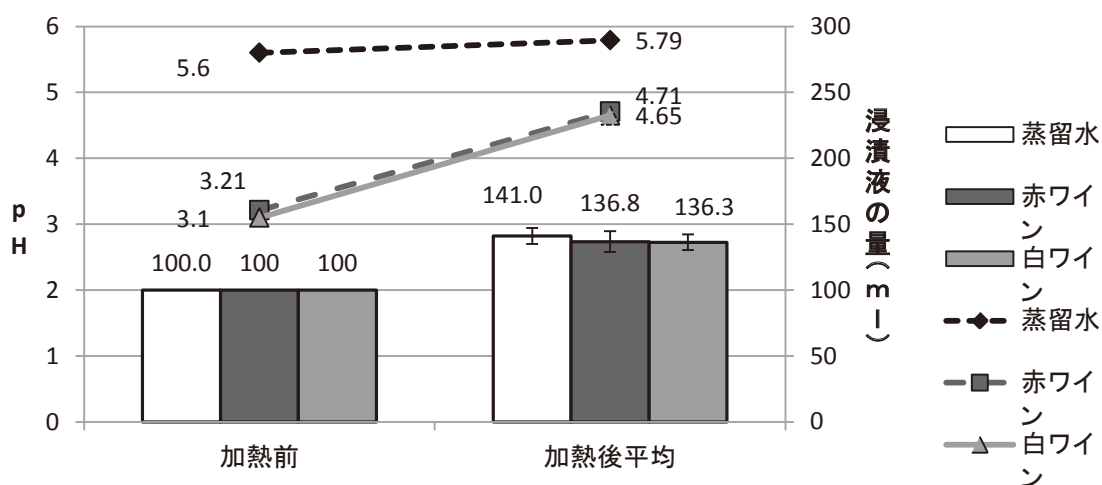


図1 phと浸漬液の変化

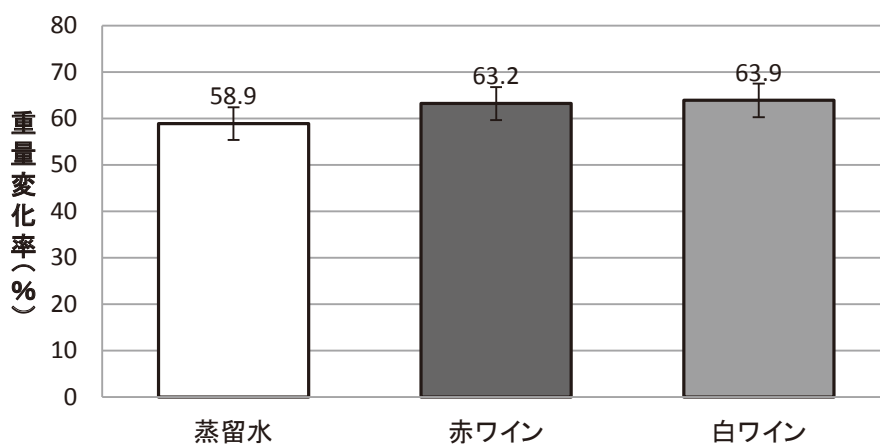


図2 重量変化率

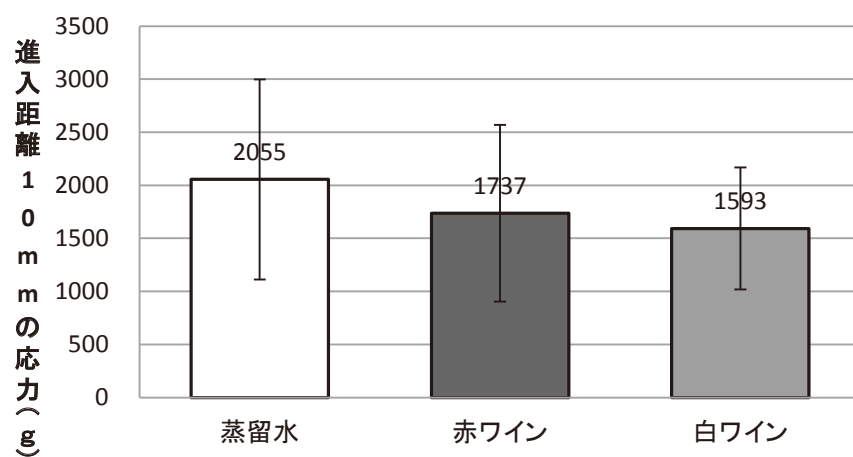


図3 レオメーターによる破断強度

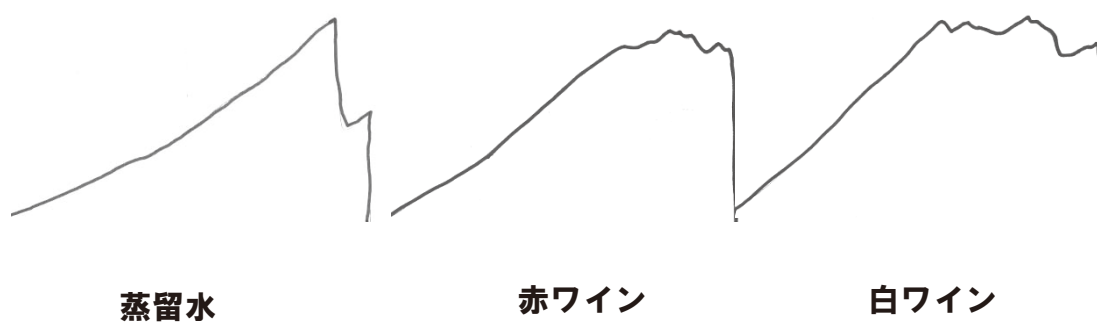


図4 レオメーターによる破断強度の曲線パターン

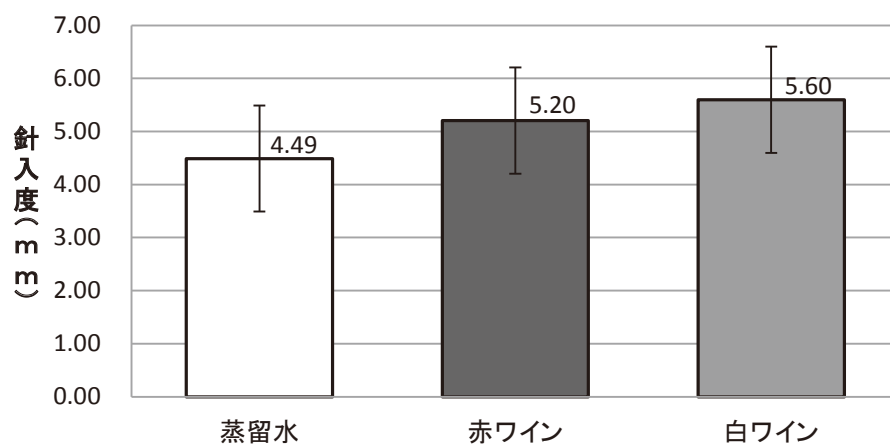


図5 針入度

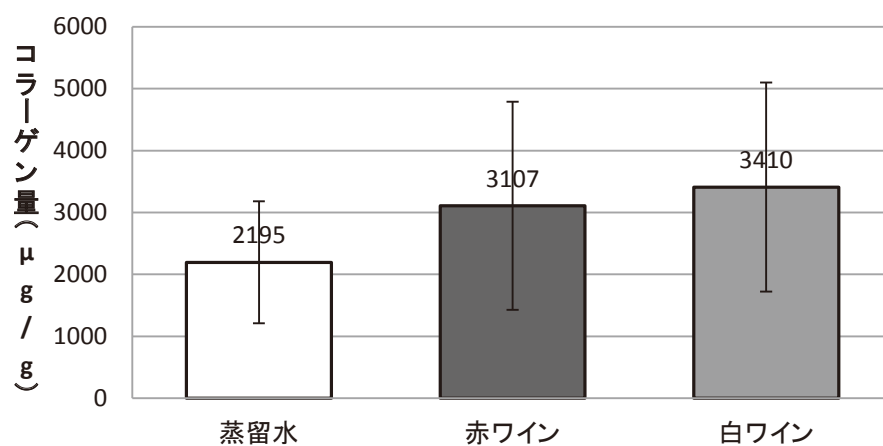


図6 可溶化したコラーゲン量

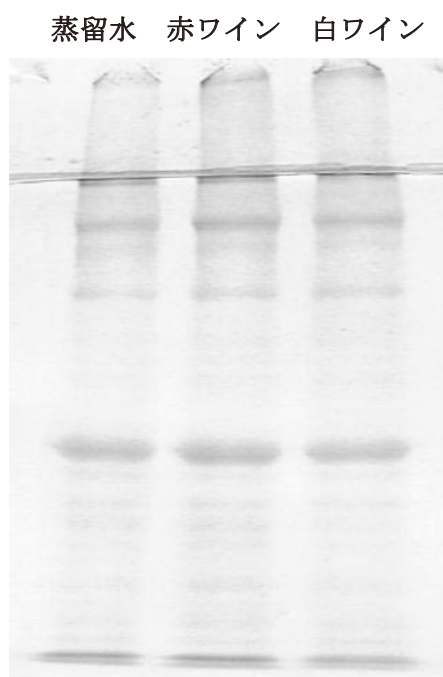


図7 SDS-ポリアクリルアミドによる電気泳動パターン

表1 組織観察について

筋内膜			筋周膜		
蒸留水	赤ワイン	白ワイン	蒸留水	赤ワイン	白ワイン
一部分離	一部剥離	一部剥離	一部分離	一部剥離	一部剥離

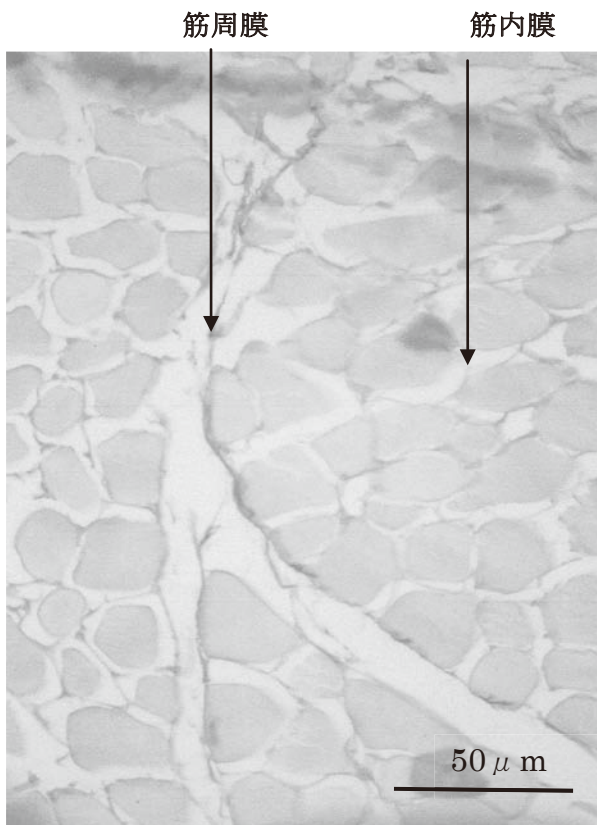


写真1 未加熱肉 (1)

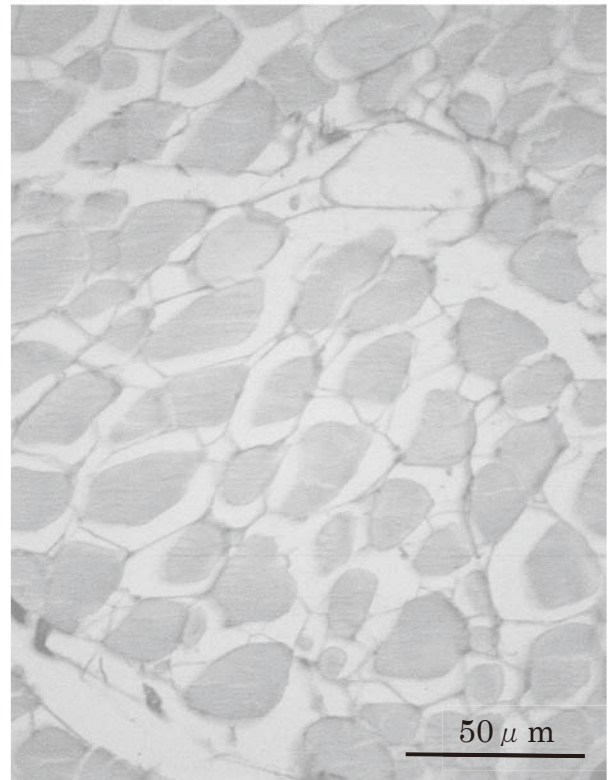


写真2 未加熱肉 (2)

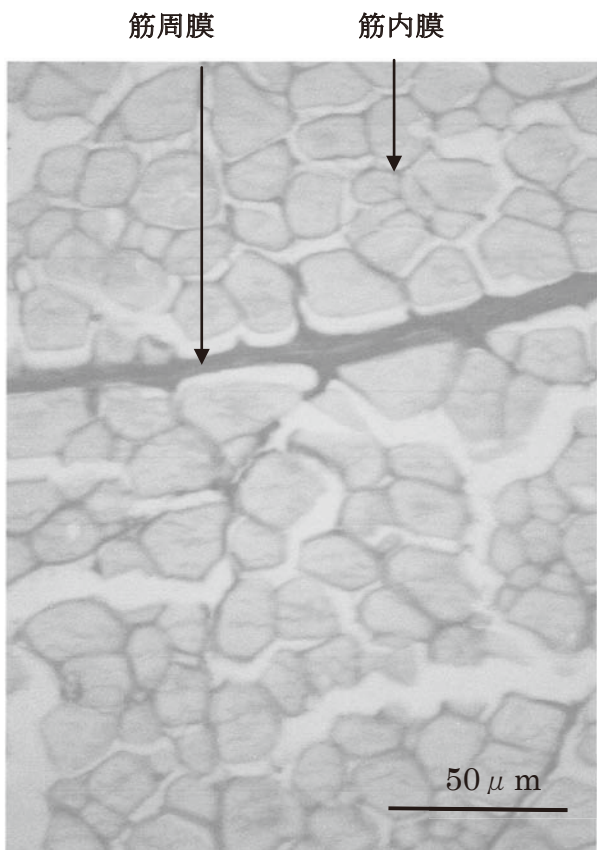


写真3 蒸留水 (1)

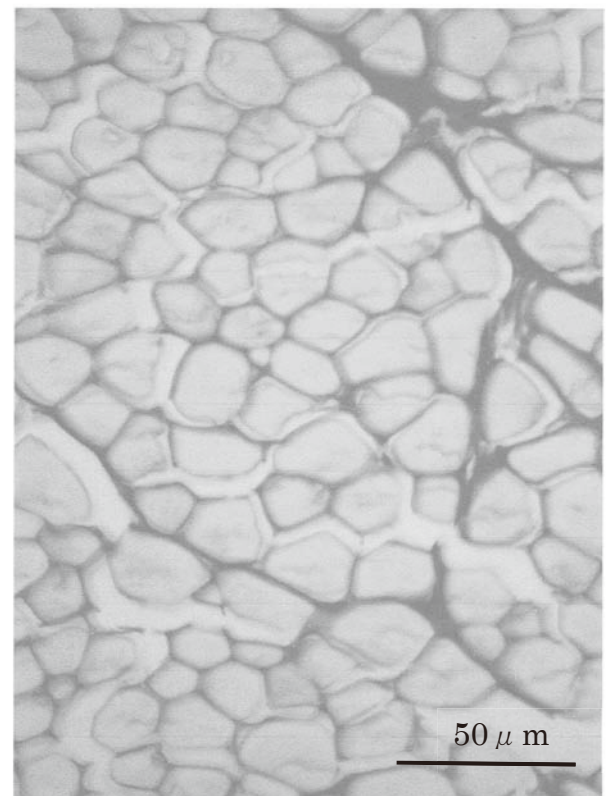


写真4 蒸留水 (2)

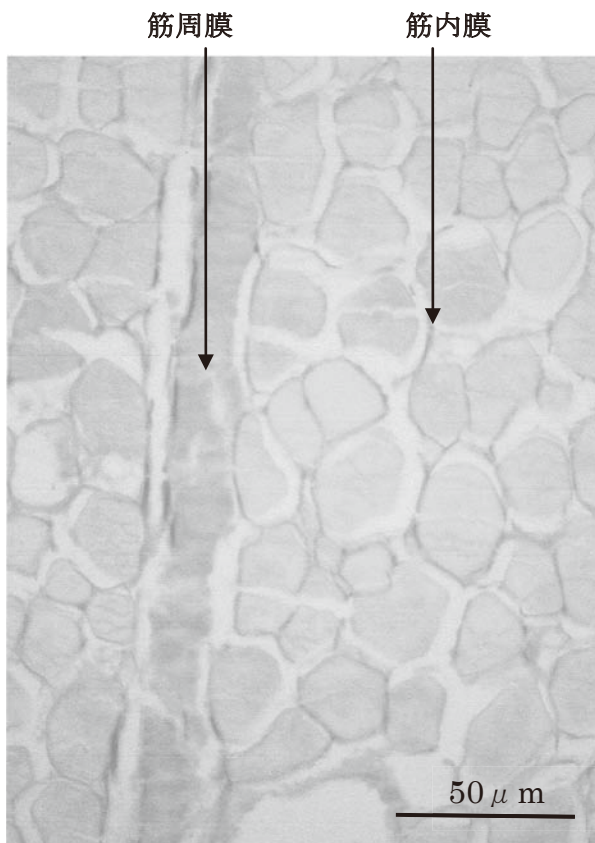


写真5 赤ワイン (1)

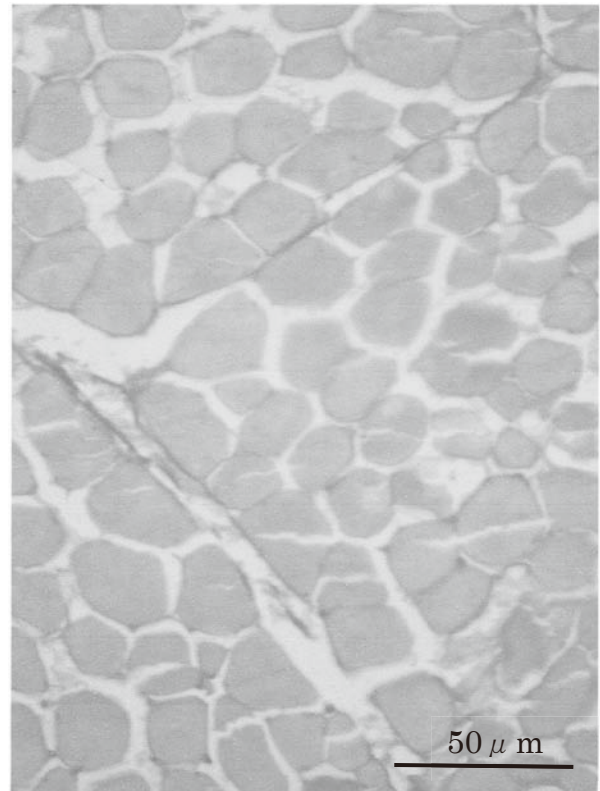


写真6 赤ワイン (2)

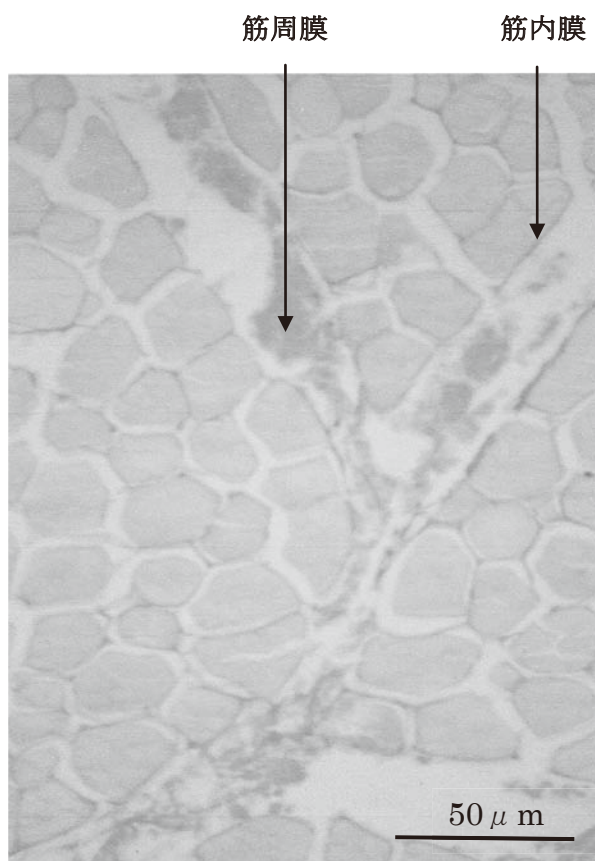


写真7 白ワイン (1)

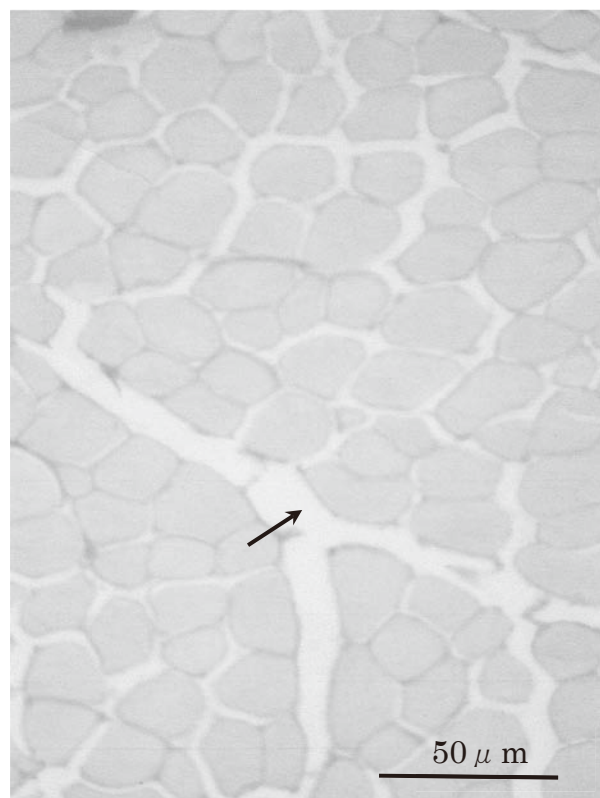


写真8 白ワイン (2)

論文

アフリカマラウイ湖産シクリッド科魚類アウロノカラ属 8種の染色体比較

室伏 ^{※1} 誠・山下 ^{※2} あゆ

Karyological Investigation on 8 *Aulonocara* Species of Cichlid Fish from Malawi Lake, Africa

Makoto MUROFUSHI^{※1}, and Ayu YAMASHITA^{※2}

ABSTRACT

Karyological analysis of 8 species of genus *Aulonocara* Cichlid fish from Malawi Lake, Africa were performed. All metaphases were obtained from primary cell culture of fin epithelium. Eight species of *Aulonocara*: *A. baenschi* (Male & Female), *A. guentheri* (Female), *A. hansbaenschi* (Male), *A. hueseri* (Male & Female), *A. jacobrebergi* (Male & Female), *A. korneloe* (Male & Female), *A. saulosi* (Male & Female), and *Aulonocara* sp. (Chitande) (Male & Female) were collected at Malawi Lake of Africa. The diploid chromosome number of these species were all $2n=44$, and the karyotypes of these species were also the same as $6M+14SM+24ST\cdot A$. The number of arms (AN) are 64 in all 8 species.

1. はじめに

マラウイ湖 (Malawi Lake) はアフリカ東南部にある湖で、地理的にはアフリカ東部を縦断する大地溝帯 (グレート・リフト・バレー) の南端部に位置する。マラウイ湖は、淡水湖としてアフリカで3番目、世界では8番目の大きさで、マラウイ国の国土のおよそ20%を占める。湖の南北の長さは560km、幅は最大で75kmに達し、面積は2万9600平方メートル、日本の四国の1.5倍ほどになる (Fig. 1)。湖の南端部0.3%がマラウイ湖国立公園に指定されており、ユネスコの世界遺産にも登録されている。マラウイ湖は魚類が豊富で、マラウイ国民の重要な食料資源となっている。これら魚類の生息数は、乱獲や水質汚染、さらに観賞用として珍重され採集・輸出され、急速に減少していると言われている。

魚種は、シクリッド (カワスズメ) 科魚類が最も多く、特に大型のシクリッドやカパンゴ (Kampango) と呼ばれる大型のナマズは重要な食用水産資源である。大小さまざまなシクリッド科魚類は、固有種を

含め800種以上が生息しており、観賞魚として珍重されているカラフルな魚種も多い。種類数では、同じ大地溝帯のさらに面積の大きなタンガニーカ湖やヴィクトリア湖よりも多い。多様に分化した“マラウイシクリッド”は、学術的にも分類学や形態学的、さらに生態学的な研究が行われている¹⁾⁻³⁾。

本研究は、生物進化の一つのモデルとして注目されているマラウイ湖産シクリッドであるカワスズメ科魚類のうち、生息地であるマラウイ湖から直接入手することのできたハプロクロミス亜科アウロノカラ (*Aulonocara*) 属8種の細胞遺伝学的手法に基づく染色体調査を行った。

2. 材料及び方法

本研究で核型分析を行ったアフリカマラウイ湖産シクリッド、カワスズメ科ハプロクロミス (*Haplochromis*) 亜科、アウロノカラ (*Aulonocara*) 属魚類8種は、*A. baenschi* (Yellow regal) の雌雄、*A. guentheri* の雌、*A. hansbaenschi* (Red frash) の雄、*A.*

※1 日本大学短期大学部 (三島校舎) 教授 Junior College (Mishima Campus), Nihon University, Professor

※2 日本大学短期大学部専攻科食物栄養専攻助手 Advanced Course of Food and Nutrition, Junior College (Mishima Campus), Nihon University, Assistant

hueseri (White top Likoma)の雌雄、*A. jacobreibergeri*の雌雄、*A. korneloe* (Chizumulu)の雌雄、*A. saulosi* (Metaric green)の雌雄、さらに*Aulonocara*.sp.(Chitande)の雌雄である (Fig. 2)。これら供試魚は平成3年から8年、および平成22年から23年にかけて入手した。

上記魚類の染色体標本は、常法としている鰭組織を用いた細胞培養法により得た培養細胞を用いて染色体標本を作製し、明瞭な分裂中期像を核型解析に用いた⁴⁾。染色体の分類は、その解析として、次の4型である端部着糸型-A型、次端部着糸型-ST型、次中部着糸型-SM型、および中部着糸型-M型に長腕と短腕の比(腕比)により分類した⁵⁾。

3. 結果および考察

分析を行った8種のアウロノカラ属魚類の染色体数は、明瞭な分裂中期像の計数からすべて $2n=44$ であった (Fig. 2 (a~h)、Table 1)。また、各魚種の分裂中期像を用いて核型解析を行ったの結果、分析を行ったすべての種の雌雄において、3対のM型染色体、7対の6SM型染色体、12対のST・A型染色体から構成されていた (Fig. 3 (a~h)、Table 1)。このうち大型の染色体は、8種すべての種において、最も大きい染色体が第4対のSM型染色体、次いで大きい染色体が第11対のST型染色体であった。その他の染色体は、第4対の最も大きい染色体の約半分程度ないしはそれ以下の大きさであった。魚類の形態的な知見に基づく進化過程を示す大きな区分として、高位群、中位群、低位群がある⁶⁾。カワスズメ科は高位群に含まれている。これまで報告のある高位群の染色体数は圧倒的に $2n=48$ を示す種が多い⁷⁾。分析を行った8種のアウロノカラ属魚類は、すべて $2n=44$ の染色体数を示し、かつ大型のSM型染色体とST型染色体を含んでいた。これらの染色体の大きさおよび染色体数から、これらアウロノカラ属8種の起源種において、染色体進化で2対の染色体が染色体数を減少させ大型の染色体に融合する染色体構造変異、すなわち動原体融合により染色体構成を変化させた可能性が高いと推測した。なお、既に報告した同じアウロノカラ属の*A. stuartgranti*の地域変種3タイプの核型構成⁸⁾と一致しており、アウロノカラ属特有の染色体数、核型であると考ええる。また、魚類においても、性染色体の存在が知られている⁹⁾。魚類において知られている性染色体構成のほとんどは、染色体の構成的雌雄差異により確認されたものである¹⁰⁾。本研究により明らかになったアウロノカラ属魚類8種の核型には、明瞭に雌雄差異を示す染

色体対は認められなかった。一方、アウロノカラ属魚類では、水温等により性決定がなされるとの報告^{11),12)}がある。他の動物種でも温度などの物理的な影響により性が決定されることはよく知られている。これら8種の雌雄も受精後に水温等で決まるとすれば、性染色体が存在していても性決定との連携は低いものと思われる。

一方、染色体核型が酷似するこれら8種および既報⁸⁾の*A. stuartgranti*を含め、マラウイ湖は淡水湖として広大ではあるが、同じ湖に生息するこれらアウロノカラ属魚類は、主として形態的特徴(色彩も含む)から種が判別されている^{1),2)}。生息地域に違いがあるものもいるが、地域的に隔離された状態ではない。染色体構成の類似性、およびこれら魚種の交雑が観賞魚として飼育された水槽内で誕生した、との話をブリーダーから聞くこともある。自然界において、このような交雑種が形成され種の分化が混乱することはないのだろうか。この点については、Seehausenらの報告¹³⁾が興味深い示唆をしている。すなわち、彼らが調査を行ったビクトリア湖のシクリッドに見られる体表模様関連遺伝子の多様化と錐体視物質のオプシンタンパク質遺伝子による波長感受性に関する色覚の種間での多様化に関する研究である。オプシンタンパク質そのものの機能の違いではなく、その発現が種間により異なることで色覚調節がなされている可能性を示唆している。種分化のモデルとして注目されるマラウイ湖のシクリッドの起源は、湖の起源が大地溝帯の形成と深いことが関係しており、ビクトリア湖の魚類の移住がマラウイ湖の魚類相形成に深くかかわっているといわれている。ビクトリア湖の魚類がもつ体色変異による多様化と色覚調節による種分化と同様の機構が、マラウイ湖におけるシクリッドの種分化と種の固定化にかかわっていると考えても不思議ではない。マラウイ湖に移住した魚類の様々な体色の認識能力によって、種分化はより短い時間的経過の中で、進んだものと考えられる。

4. 謝 辞

本研究の一部は、文部科学省科学研究費補助金、日本大学学術研究助成金および平成22、23年度日本大学国際関係学部生活科学研究所研究費による。記して謝意を表す。また、本研究を行うに当たり、日本大学短期大学部専攻科食物栄養専攻佐藤沢子氏には、染色体標本の核型解析において協力を得た。記して、謝意を表す。

5. 文 献

- 1) Axelrod, Herbert R.: The most complete colored lexicon of cichlids every known cichlid illustrated in color. T.F.H. Publications, Inc. p.864 (1993)
- 2) Konings, Ad: Cichlids and all the other fishes of Lake Malawi, T.F.H. Publications, INC., p495 (1996)
- 3) Sweeney, Mary: The proper care of Malawi cichlids, T.F.H. Publications, INC., p256 (1993)
- 4) Murofushi, Makoto, Kenji Okutsu and Yoshiaki Deguchi: Karyological comparison of Gourami fish species imported from south-east Asia to Japan, Proc. Third Asian Fisheries Forum, Asia Fisheries Society, pp568-571 (1994)
- 5) Murofushi, Makoto and Tosihide H. Yosida: Cytogenetical studies on fishes I. Karyotypes of four filefishes *Stephanolepis cirrhifer*. Jap. J. of Genetics 54 (3), 191-195 (1979)
- 6) Gosline, W. A.: Functional morphology and classification of teleostean fishes, Univ. Press Hawaii, Honolulu, 1-208 (1971)
- 7) 室伏誠: 海産硬骨魚類の核型分類並びに核型進化に関する研究、日大生活科学研究、9、pp95-157 (1986)
- 8) 室伏誠、吉田優花里、山下あゆ: アフリカマラウイ湖産シクリッドの体色の異なる *Aulonocara stuartgranti* 3 タイプの核型比較、日大生活科学研究、34:13~21 (2011)
- 9) Murofushi, Makoto, Shin Oikawa, Shohei Nishikawa and Tosihide H. Yosida: Cytogenetical studies on fishes-III, Multiple sex chromosome mechanism in the filefish *Stephanolepis cirrhifer*, Japan. J. Genetics, 55 (2), pp127-132 (1980)
- 10) 室伏誠: 魚類の染色体における雌雄差異、水産育種、27~30 (1980)
- 11) Dybas, Cheryl: East Africa cichlid fish offer new understanding of genetic basis of sex determination, EurekaAlert, Oct., p2 (2009)
- 12) 岡田典弘: 発生システムの多様化と進化の研究、科学研究費補助金研究実績報告書2000-2004、文部科学省、pp103-113 (2005)
- 13) Seehausen, Ole, Yohey Terai, Isabel S. Magalhaes, Karen L. Carleton, Hillary D. J. Mrosso, Ryutaro Miyagi, Inke van der Sluijs, Maria V. Schneider, Martine E. Maan, Hidenori Tachida, Hiroo Imai & Norihiro Okada: Speciation through sensory drive in cichlid fish, Nature 455, pp620-626 (2008)

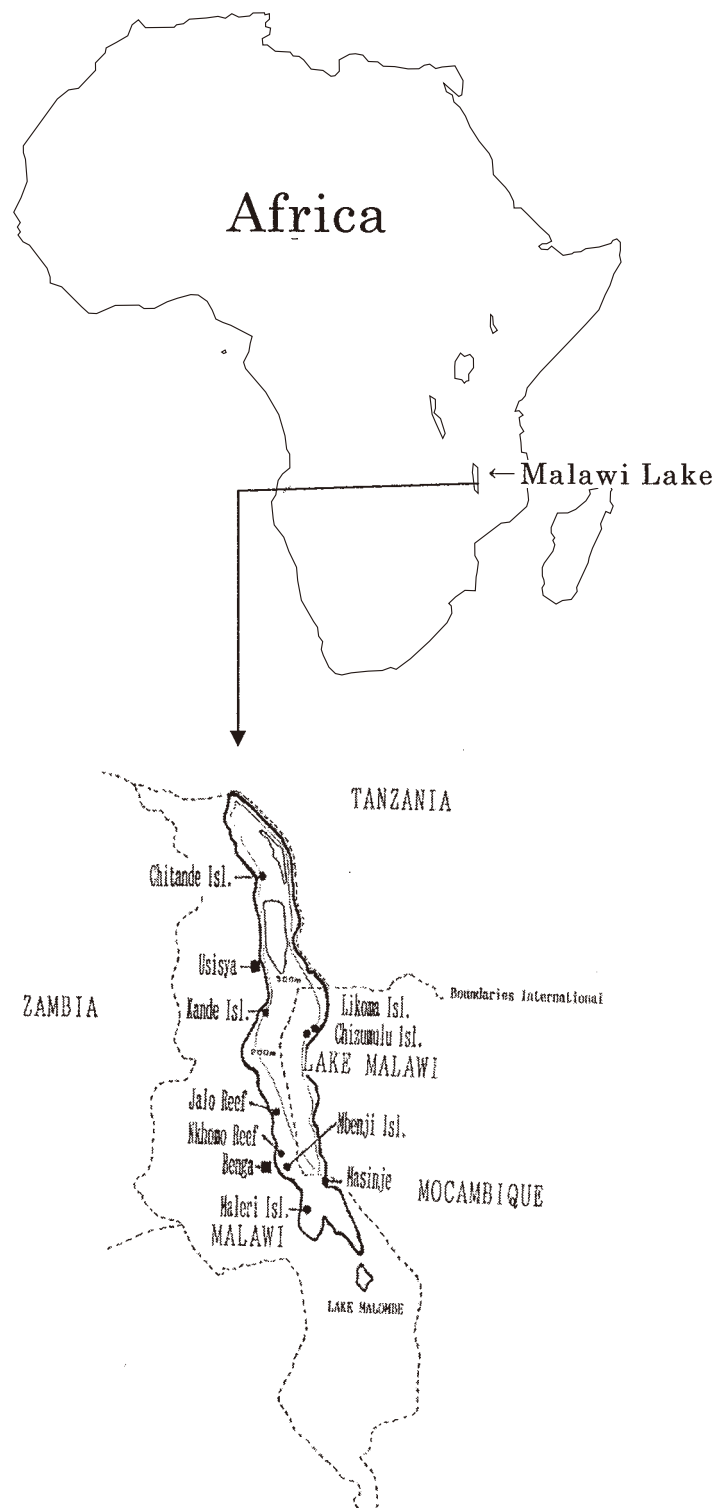


Fig. 1 Malawi Lake of Africa

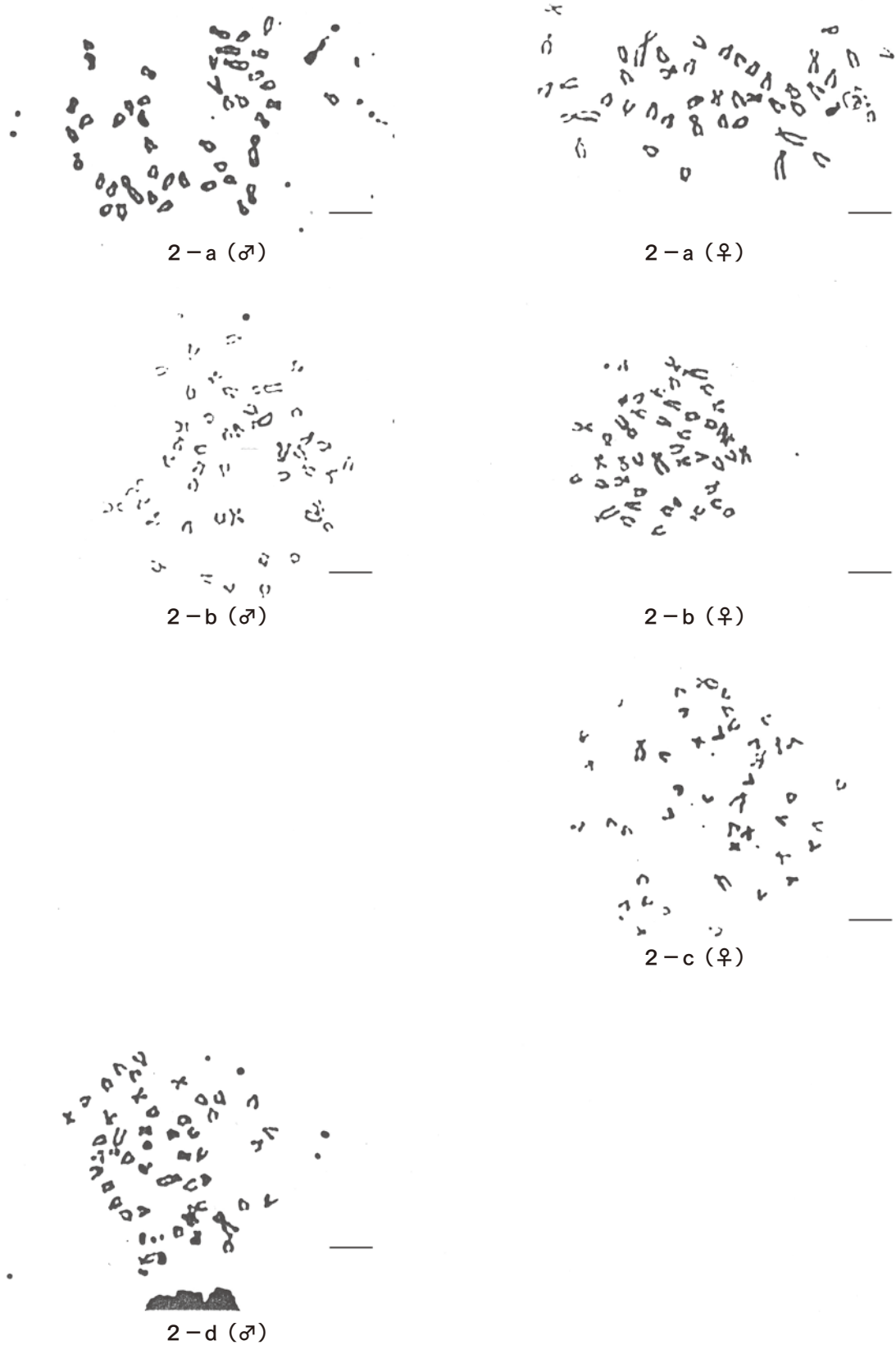


Fig. 2 Mitotic metaphase chromosomes of *Aulonocara baenschi* (a : ♂, ♀), *Aulonocara* sp. (Chitande) (b : ♂, ♀), *A. guentheri* (c : ♀), *A. hansbaenschi* (d : ♂), *A. hueseri* (e : ♂, ♀), *A. jacobfreibergi* (f : ♂, ♀), *A. koneliae* (g : ♂, ♀), *A. saulosi* (h : ♂, ♀). Scales indicate 5 μ m.

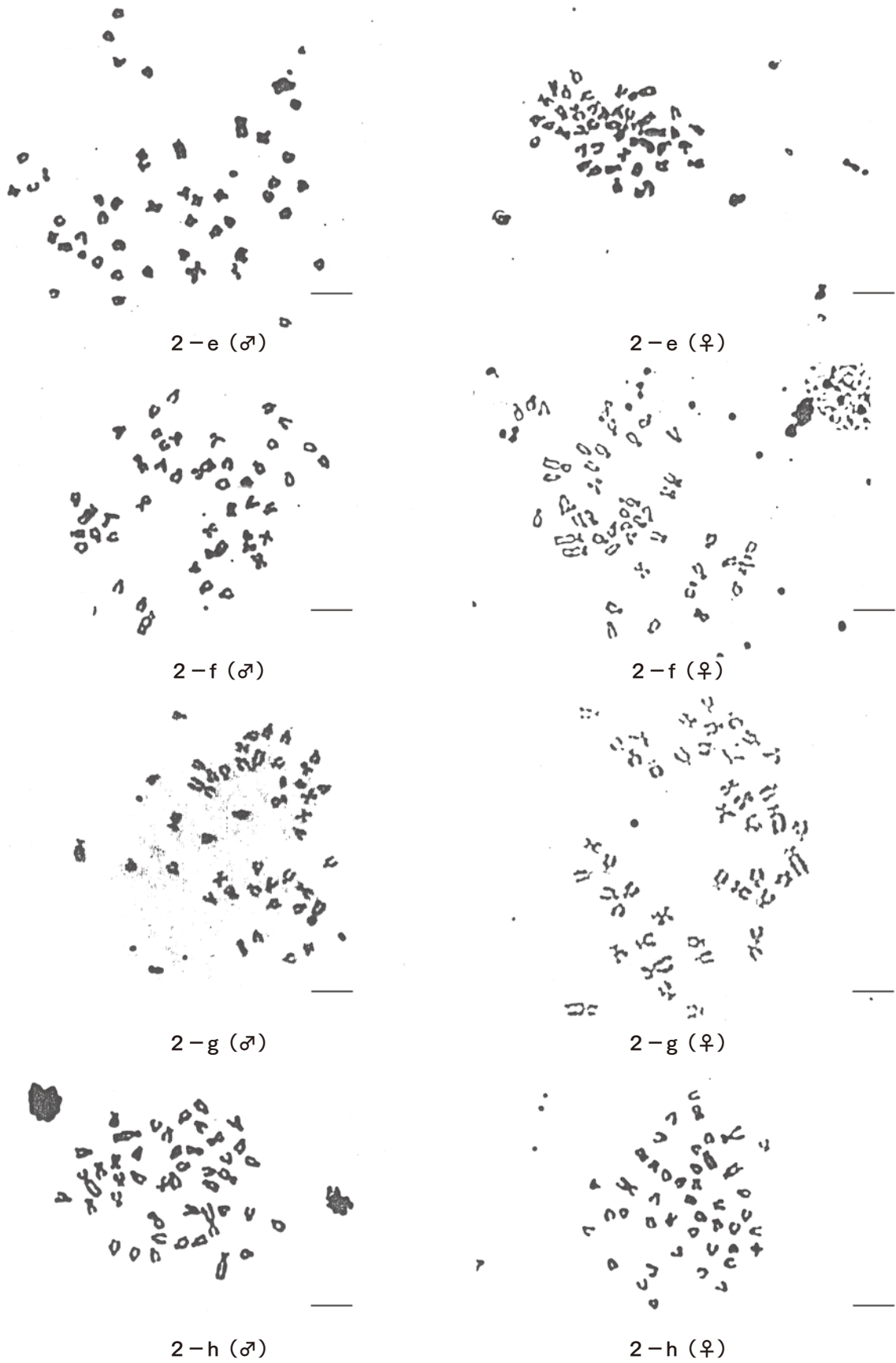


Fig. 2 Mitotic metaphase chromosomes of *Aulonocara baenschi* (a : ♂, ♀), *Aulonocara* sp. (Chitande) (b : ♂, ♀), *A. guentheri* (c : ♀), *A. hansbaenschi* (d : ♂), *A. hueseri* (e ♂, ♀), *A. jacobfreibergi* (f : ♂, ♀), *A. konelae* (g : ♂, ♀), *A. saulosi* (h : ♂, ♀). Scales indicate 5 μ m.

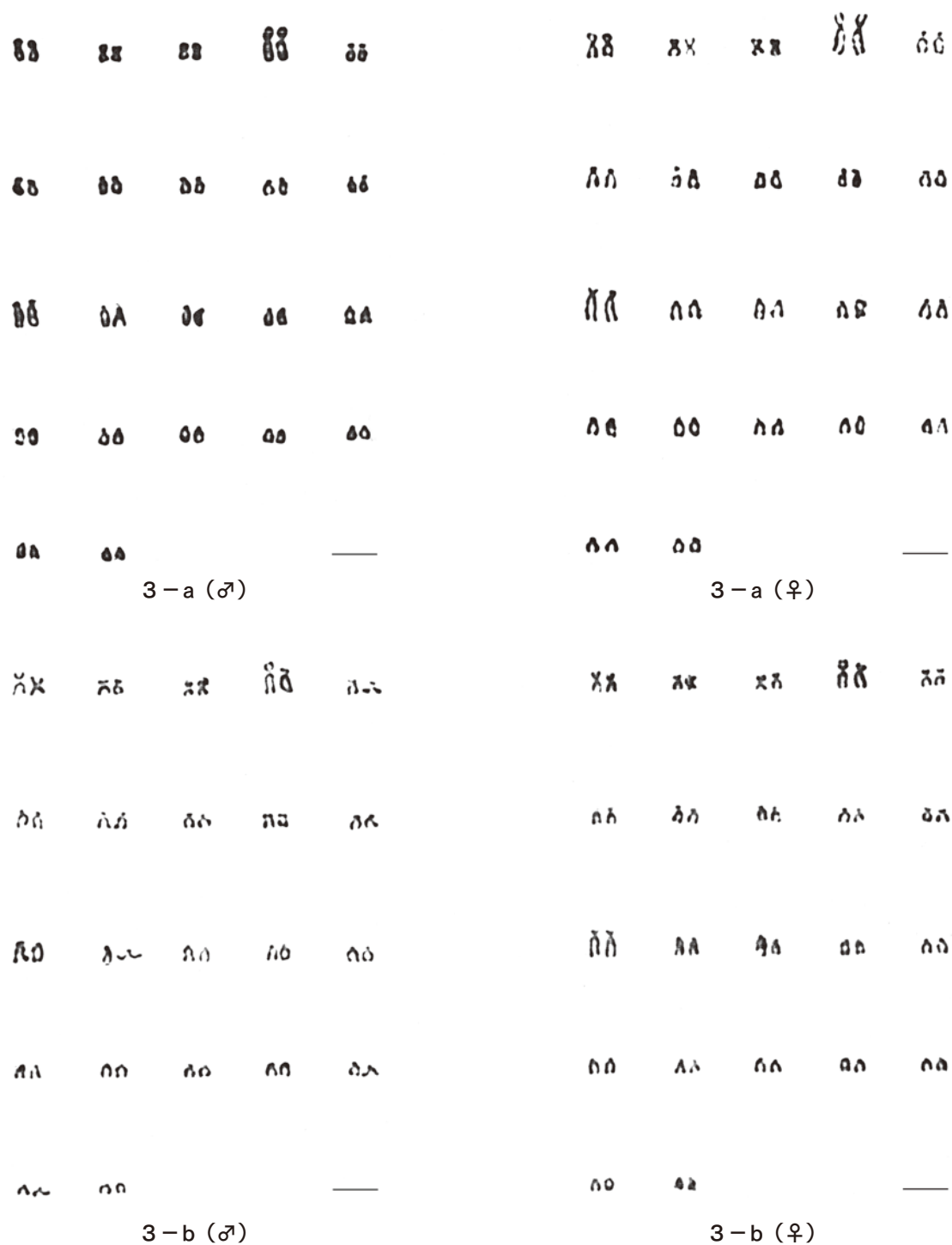


Fig. 3 Karyotypes of *Aulonocara Baenschi* (a : ♂, ♀), *Aulonocara* sp. (Chitande) (b : ♂, ♀), *A. guentheri* (c : ♀), *A. hansbaenschi* (d : ♂), *A. hueseri* (e : ♂, ♀), *A. jacobfreibergi* (f : ♂, ♀), *A. koneliae* (g : ♂, ♀), *A. saulosi* (h : ♂, ♀). Scales indicate 5 μm.

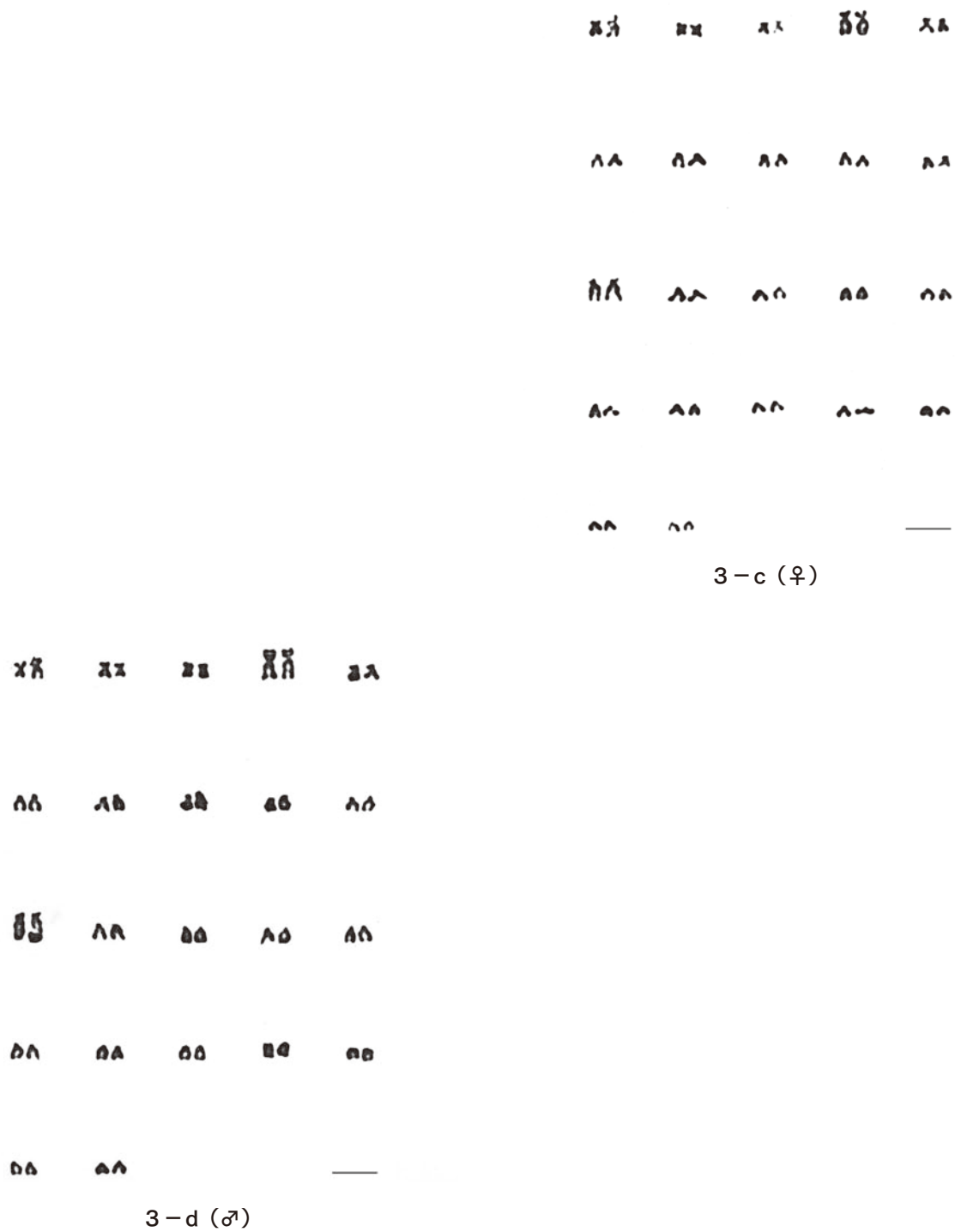


Fig. 3 Karyotypes of *Aulonocara Baenschi* (a : ♂, ♀), *Aulonocara* sp. (Chitande) (b : ♂, ♀), *A. guentheri* (c : ♀), *A. hansbaenschi* (d : ♂), *A. hueseri* (e : ♂, ♀), *A. jacobfreibergi* (f : ♂, ♀), *A. koneliae* (g : ♂, ♀), *A. saulosi* (h : ♂, ♀). Scales indicate 5 μ m.

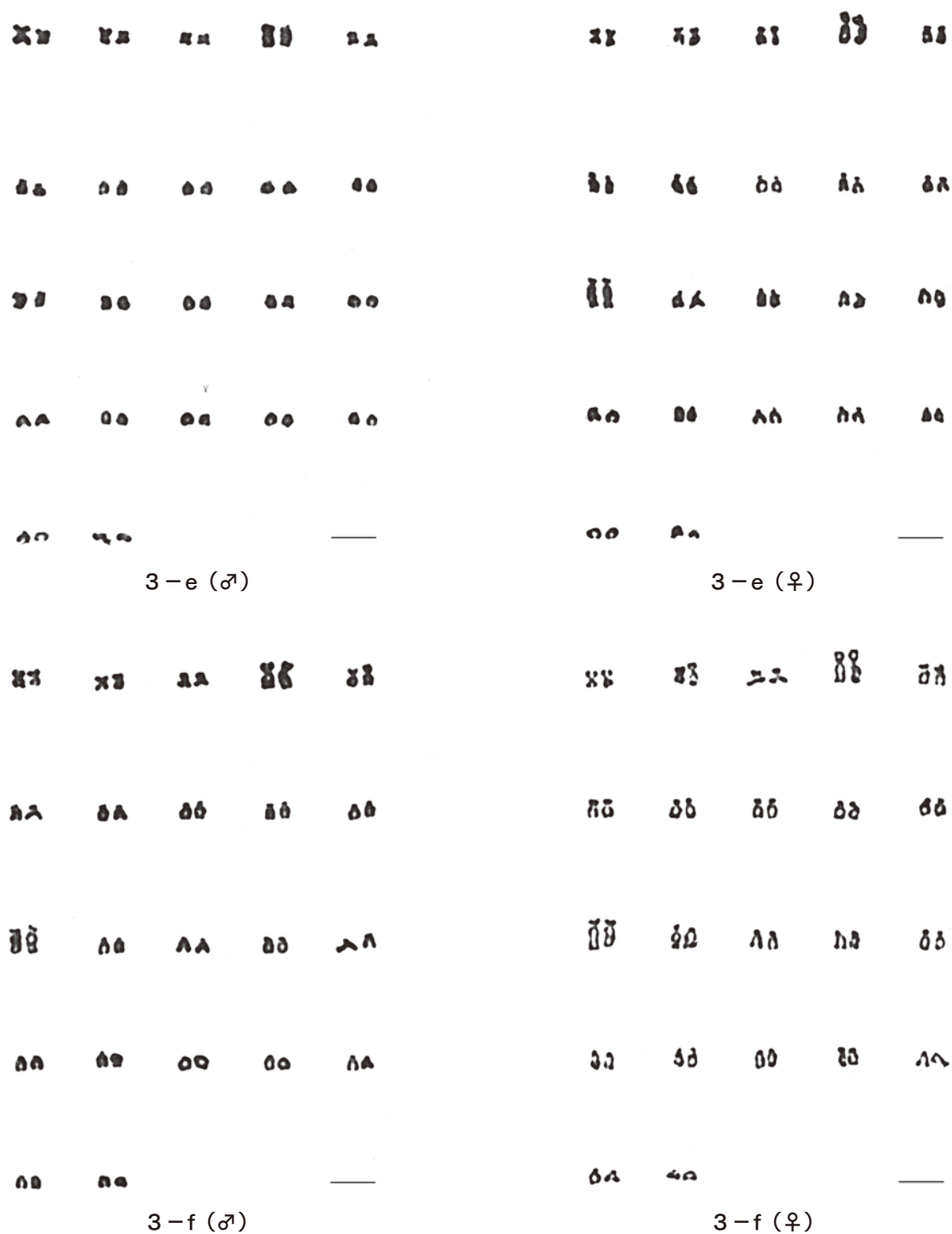


Fig. 3 Karyotypes of *Aulonocara Baenschi* (a : ♂, ♀), *Aulonocara* sp. (Chitande) (b : ♂, ♀), *A. guentheri* (c : ♀), *A. hansbaenschi* (d : ♂), *A. hueseri* (e : ♂, ♀), *A. jacobfreibergi* (f : ♂, ♀), *A. koneliae* (g : ♂, ♀), *A. saulosi* (h : ♂, ♀). Scales indicate 5 μ m.

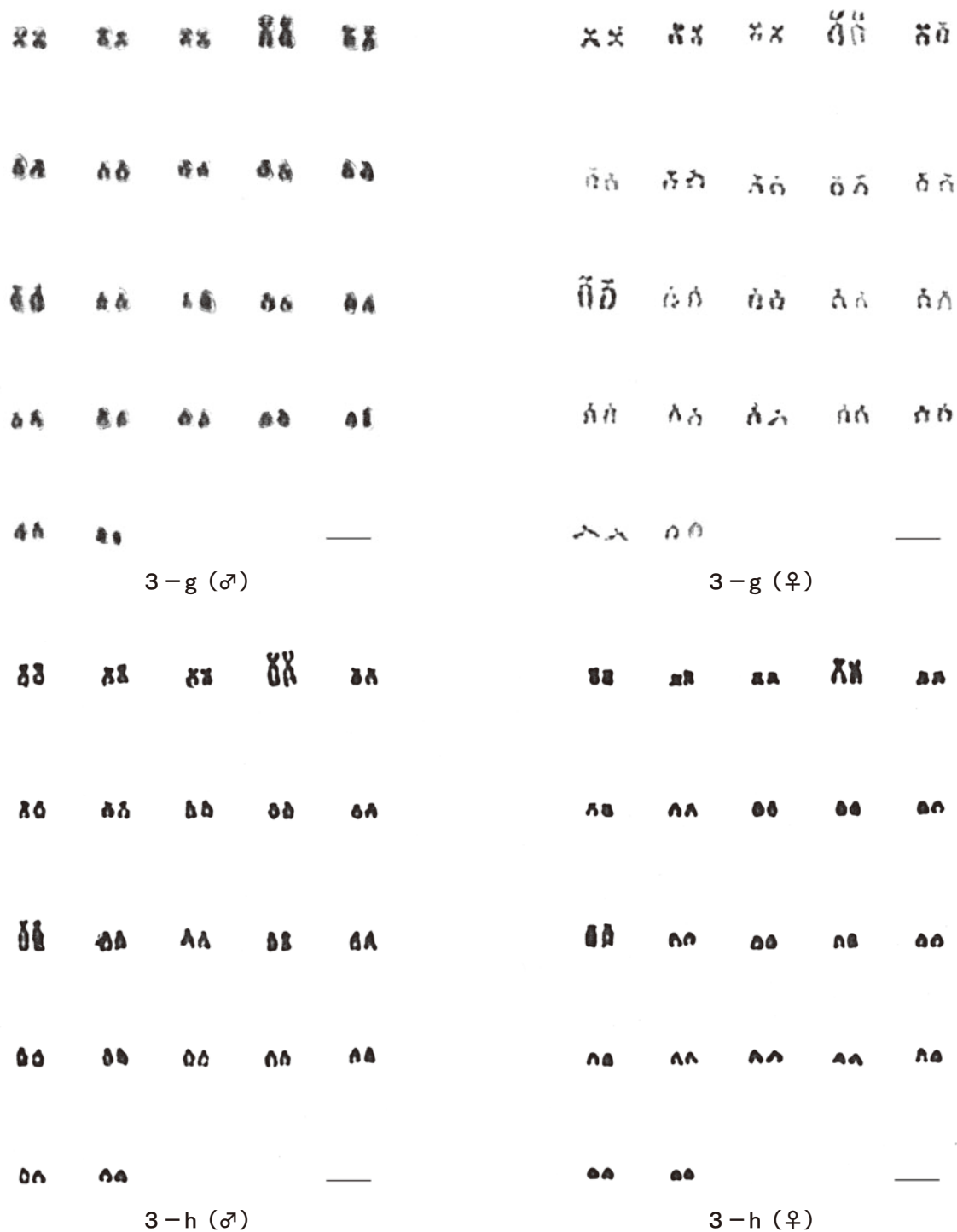


Fig. 3 Karyotypes of *Aulonocara Baenschi* (a : ♂, ♀), *Aulonocara* sp. (Chitande) (b : ♂, ♀), *A. guentheri* (c : ♀), *A. hansbaenschi* (d : ♂), *A. hueseri* (e : ♂, ♀), *A. jacobfreibergi* (f : ♂, ♀), *A. koneliae* (g : ♂, ♀), *A. saulosi* (h : ♂, ♀). Scales indicate 5 μ m.

Table 1 Karyotypes of 8 *Aulonocara* species and *A. stuartgranti*⁸⁾

Species	Sex	Karyotypes			2n	AN
		M	SM	ST•A		
<i>Aulonocara baenschi</i>	M,F	6	14	24	44	64
<i>Aulonocara</i> sp. (Chitande)	M,F	6	14	24	44	64
<i>A. guentheri</i>	F	6	14	24	44	64
<i>A. hansbaenschi</i>	M	6	14	24	44	64
<i>A. hueseri</i>	M,F	6	14	24	44	64
<i>A. jacobfreibergi</i>	M,F	6	14	24	44	64
<i>A. koneliae</i>	M,F	6	14	24	44	64
<i>A. saulosi</i>	M,F	6	14	24	44	64
<i>A. stuartgranti</i> *	M,F	6	14	24	44	64

*Murofushi *et al.* (2011)⁸⁾

論文

カワノリ生育地の環境に関する考察

石川 元康^{※1}Study on Growth Points Environment of the *Prasiola japonica* YATABEMotoyasu ISHIKAWA^{※1}

ABSTRACT

Prasiola japonica YATABE (“*Kawanori*” in Japanese) is freshwater algae which grow on the rocks and the concrete open channels in restricted mountain streams. The existence of *Kawanori* is being on the decrease, so that specified a threatened species (category Vulnerable: VU) in Japan. Many field surveys and collections of information on *Kawanori* have been performed to obtain its exact geographical distribution in Japan. However, the existence of present conditions is uncertain.

This paper describes the present existing condition of *Kawanori* in Japan. The habitats of that alga are located at an altitude of 200m or more. Water environment conditions of *Kawanori* growth points are as follows; water temperature is around 13 °C, pH is around 7.6, DO is around 10(mg/l), and water velocities is 0.5(m/s) or more. As a reason why the growth regions of *Kawanori* in Japan decreased, reduction of the flow fluctuation of a river, reduction of a stream bed disturbance, and woods of the ridge of a river became high can be considered.

Key words : *Prasiola japonica* YATABE, *Kawanori*, freshwater algae, threatened species

1 はじめに

山間部の河川源流域や河川上流の水路において、絶滅危惧Ⅱ類（VU）に指定されている淡水緑藻類のカワノリ（*Prasiola japonica* YATABE）が生育している。これは、古くから食用とされており、現在では生育地、生産量が減少して入手することが困難なものである。日本におけるカワノリの分布は、岩本¹⁾や伊藤ら²⁾が検討しているが、現在の生育状況は不明である。そこで、著者はカワノリ生育地点の調査を実施し、近年のカワノリの分布状況について報告した（石川³⁾⁴⁾）。また、カワノリは河川上流の急流部の岩、河川から取水した農業・発電用水路のコンクリートU字溝、コンクリート堰堤の堤頂部などに付着しており、光合成を行うために適度な日照が当たる所に付着していることが確かめられている（石川⁵⁾）。しかし、これらの研究は、一部のカワノリ生

育地点での結果であることから、カワノリがどのような環境で生育しているかを把握するために、全国的な規模でカワノリ生育地の現状把握と生育環境調査が必要である。

本研究では、絶滅危惧種であるカワノリ生育地域の保全や希少食材の持続的な供給のための基礎資料を得ることを目的として、石川³⁾⁴⁾に加えてカワノリ分布域の現状を把握して、カワノリの生育環境の測定結果を示し、カワノリが生育するための環境条件について考察した。

2 現地調査地点および調査方法

2.1 現地調査地点の概要

現地調査によるカワノリの生育状況確認と水質調査、生育地点周辺住民へのヒアリング、役場へのヒアリングを行った。現地調査は、栃木県、群馬県、

※1 日本大学短期大学部（三島校舎）食物栄養学科・准教授 Department of Food and Nutrition, Junior College (Mishima Campus), Nihon University, Associate Professor

埼玉県，東京都，神奈川県，山梨県，長野県，岐阜県，静岡県，三重県，滋賀県，奈良県，徳島県，高知県，熊本県，大分県，宮崎県で実施した。石川³⁾⁴⁾に加えて実施した調査地点の概要を表1，図1から図5に示す。

2.2 調査方法

カワノリの生育分布調査では，生育場所の付着基盤，水温，pH，DO，電気伝導度を測定した。流速は（株）KENNEK VE10電磁流速計，pHはハンナインスツルメンツ・ジャパン（株）PICCOLO-2，溶存酸素は扶桑理化製品（株）DO-5509，電気伝導度は（株）堀場製作所ES-14をそれぞれ使用した。

3 結 果

3.1 カワノリの生育地の標高

カワノリの生育域は，特定の河川の上流部であり，生育地点の標高は図6に示すように標高200m以上である。全てのカワノリ生育地点の平均標高は，約500mである。河川によって源流の標高はそれぞれ異なるが，カワノリ生育地点は河川源流部に近く，河床勾配が大きく，流れが速い場所である。なお，静岡県富士宮市の馬見塚用水大石寺下と青木発電所山根堀下は標高が低い場所であるが，ここは河川上流部から取水した水が流れている農業用水路であるため，標高が低いにもかかわらず周辺の自然河川よりも水温が低いためにカワノリが生育したものと考えられる。また，これらの標高の低い地点は，用水路の下流部にあたるため，生活排水などが流入して上流部よりも水質が悪く考えられるが，カワノリが生育していた特徴的な場所である。

3.2 カワノリの生育地の水温

カワノリ生育地の水温を整理したものを図7に示す。この結果，調査時期は様々であるが，カワノリ生育地点の平均水温は，約13℃である。水温は季節，天候，一昼夜間の時間帯などによって変動するが，周年調査を行っている静岡県富士宮市周辺では9℃から15℃で変動している（石川⁵⁾⁶⁾）。カワノリ生育地である河川源流域は，湧水などが水源であることから，水温の変動は下流部に比べて小さい。そのため，夏季でも水温は低く水温変動が小さい場所が多く，カワノリの生育には水温が13℃前後が好ましく，高水温には弱いことが考えられる。

3.3 カワノリの生育地のpH

カワノリ生育地のpHを整理したものを図8に示す。この結果，河川の水質としては中性であるpH7.6前後でカワノリが生育していることが分かる。

3.4 カワノリの生育地のDO

カワノリ生育地のDO（溶存酸素濃度）を整理したものを図9に示す。DOは，清浄な河川では高い値を示すもので，全てのカワノリ生育地点の平均DOは，約10（mg/l）である。この結果，カワノリが生育するためには，水中の溶存酸素濃度が高く，水質が良好であることが必要である。

3.5 カワノリの生育地の流速

カワノリ生育地の流速を整理したものを図10に示す。全てのカワノリ生育地点の平均流速は，約1.5（m/s）である。この結果，カワノリが生育する地点の流速は0.5（m/s）以上の急流であり，流れが速いことで他の付着藻類との競合を避けて生育していると考えられる。

3.6 カワノリの生育地の電気伝導度

カワノリ生育地の電気伝導度を整理したものを図11に示す。全てのカワノリ生育地点の平均電気伝導度は，約95（ $\mu\text{S}/\text{cm}$ ）である。一般に電気伝導度が低いと水質は良好であるが，水に含まれるミネラルが多い場合，高い値を示す。電気伝導度が高い群馬県下仁田町青倉，中之条町屋敷川，岐阜県山県市円原，三重県藤原町山口，滋賀県多賀町向之倉，徳島県上勝町旭八重地，宮崎県高千穂町秋元では，源流部に石灰岩質の地質を有していることから，流水中にカルシウム成分が多く含まれているため，電気伝導度が高いと考えられる。カワノリ生育地の電気伝導度は，大きな変動があり，電気伝導度の変化に対してカワノリの生育環境は大きく左右されないと考えられる。

4 考 察

カワノリの生育場所は，特定の河川の上流部の急流で，適度に日照の当たる場所である。水質は良好である必要があるが，今回測定した環境条件では，水温が13℃前後，pH7.6前後，DO10（mg/l）前後，流速0.5（m/s）以上であることが分かった。しかしながら，同じ生育地点で環境条件が一緒であってもカワノリが付着している岩と付着していない岩がある。カワノリが着生している基盤である岩石やコン

クリートの詳細な検討を行っている研究はないが、同一地点でカワノリが特定の岩のみに付着する理由については不明である。

多くの地域でカワノリの生育地を観察した結果、カワノリ生育地点が減少した理由について以下のことが考察される。まず、河川の流量が少なくなったことが挙げられる。静岡県芝川の水源である猪之頭養鱒試験場での湧水量の変化は1955年に約50万t/dayであったが、1985年以降は約10万t/day前後で推移している⁵⁾。他のカワノリ生育地点でも同様に、地域住民は流量が減少したことを指摘している。流量の減少により、カワノリ生育地点の流速が遅くなり、カワノリが減少していったものと考えられる。つまり、冬季の河川流量が減少（水位が低下）する時期に岩やコンクリートに着生したカワノリ胞子が、カワノリ成長期の春季以降に河川流量の増加（水位が上昇）する量が少なく、適切な流速が得られなくて成長できなくなったものと考えられる。

次に、洪水などの河床攪乱の減少が挙げられる。カワノリを食用としている地域では、カワノリの生長を促進させるために、付着基盤の岩やコンクリートをワイヤブラシなどで洗浄している。これは、他の付着藻類（珪藻、藍藻、蘚苔類）との競合を避ける意味もあるが、自然河川では台風や豪雨による河床攪乱と同じ意味を持つものと考えられる。

さらに、カワノリ生育地点と絶滅した地点との比較から、緑藻類の光合成に関わる日照条件の変化が挙げられる。河川源流の山村では、森林資源の活用が減少し、人工林が伐採されずに高層化していることが原因として考えられる。河畔林が高くなると、日射不足でカワノリの生育が困難になってしまう。

5 おわりに

全国に分布しているカワノリ生育地を広く現地調査した結果、カワノリ生育環境について以下の知見が得られた。

- 1) 全国的なカワノリの生育環境調査によって、カワノリ生育地は河川源流部の標高200m以上の地域である。
- 2) カワノリ生育地点の水環境として、水温13℃前後、pH7.6前後、DO10 (mg/l) 前後、流速0.5 (m/s) 以上であることが示された。
- 3) カワノリ生育地が減少した理由として、河川の流量変動の減少、河床攪乱の減少、河畔林の高層化が考えられる。

謝 辞

本研究を行うにあたり、株式会社やまめの里 秋本治氏には、現地調査で大変お世話になりましたことを心より感謝申し上げます。なお、本研究の一部は、日本大学国際関係学部生活科学研究所研究費、富士宮市フードバレー推進協議会の援助を頂きました。ここに記して謝意を表します。

参考文献

- 1) 岩本康三 (1984)：日本におけるカワノリの分布，藻類，32，pp.167-185.
- 2) 伊藤市郎 (1986)：カワノリ，日本の生物，Vol. 3 (1)，pp.45-53.
- 3) 石川元康 (2010)：日本におけるカワノリの生育地－II，日本大学国際関係学部生活科学研究所報告，第33号，pp.47-56.
- 4) 石川元康 (2009)：日本におけるカワノリの生育地，日本大学国際関係学部生活科学研究所報告，第32号，pp.39-48.
- 5) 石川元康・山中康資・安原健允 (2005)：芝川におけるカワノリの生育環境，日本大学国際関係学部生活科学研究所報告，第28号，pp.19-28.
- 6) 石川元康・山中康資・安原健允 (2007)：静岡県東部地域におけるカワノリの分布，日本大学国際関係学部生活科学研究所報告，第30号，pp.75-86.

表1 調査地点の概要

都県 Districts	調査地点 Locations		流域 Courses of streams (River names)				標高 Altitude	生育 Existence
栃木県	1	塩原町大綱			箒川	那珂川	450	
群馬県	2	桐生市梅田町石鴨, 津久原	上藤生沢	桐生川	渡良瀬川	利根川	450	○
	3	下仁田町青倉, 桑本		青倉川	鎭川		510	○
	4	千沢川		千沢川			520	
	5	栗山川		栗山川			300	
	6	桧沢川		桧沢川			380	
	7	屋敷川	屋敷川	市野萱川	吾妻川		587	○
	8	吾妻郡中之条町		滑沢川			630	○
	9	渋川市小野上		関口沢			400	
	10	上野村野栗沢		所ノ沢	神流川		660	
埼玉県	11	飯能市上名栗		名栗川	入間川	荒川	400	
東京都	12	奥多摩町大丹波			大丹波川	多摩川	300	
	13	奥多摩町日原, 川苔谷			日原川		540	○
	14	奥多摩町奥沢			峰谷川		540	
神奈川県	15	伊勢原市大山二重滝		大山川	鈴川	金目川	680	
	16	相模原市伊勢沢		早戸川	中津川	相模川	530	
山梨県	17	南部町内船				富士川	250	
長野県	18	南佐久郡佐久穂町大日向		抜井川	千曲川	信濃川	1100	○
岐阜県	19	山県市神崎		神崎川	武儀川	長良川	250	
	20	山県市円原		円原川			260	○
	21	本巣市根尾水鳥		水鳥川	根尾川	揖斐川	300	
	22	揖斐郡揖斐川町小津		小津川			330	
静岡県	23	富士宮市精進川より猪之頭			芝川	富士川	123-718	○
	24	大倉川		大倉川			267	○
	25	河津町七滝				河津川	205-666	○
	26	伊豆市湯ヶ島				狩野川	563-760	○
	27	御殿場市上柴怒田		佐野川	鮎沢川	酒匂川	440-732	
	28	静岡市葵区有東木				安倍川	280	○
三重県	29	いなべ市藤原町山口		河内谷川	員弁川	町屋川	320	○
滋賀県	30	米原市上丹生		宗谷川	天野川	琵琶湖	250	
	31	犬上郡多賀町向之倉			芹川	琵琶湖	310	○
奈良県	32	吉野郡川上村入之波		本沢川	吉野川	紀ノ川	860	○
徳島県	33	勝浦郡上勝町旭八重地			旭川	勝浦川	600	○
	34	那賀郡那賀町与沢, 高野, 小泉		泉谷川	坂州木頭川	那賀川	540	
	35	那賀郡那賀町出羽, 棚平		大美女川			380	
	36	那賀郡那賀町大用知					450	
	37	那賀郡那賀町岩倉					480	
	38	那賀町木頭蟬谷					420	
高知県	39	香美市物部町別府溪谷			横山川	物部川	550	
	40	津野町船戸				四万十川	450	△
	41	仁淀川町岩屋			岩屋川	仁淀川	530	○
熊本県	42	菊池市菊池水源				菊池川	550-600	○
	43	南小国町馬場		馬場川	杖立川	筑後川	750	
	44	阿蘇市一の宮町手野		宮川	黒川	白川	550	
	45	山都町下名連石			五老ヶ滝川	緑川	650	○
	46	山都町菅			鴨猪川		680	
	47	山都町目丸			内大臣川		840	
	48	泉町樺木, 久連子		久連子川	川辺川	球磨川	600-650	
	49	泉町樺木西の内容谷		西の内容谷川			800	○
	50	五木村竹ノ川		梶原川			300	○
	51	五木村入鴨	入鴨谷				547	
	52	山江村白岳			万江川		380	○
大分県	53	玖珠町山浦		山浦川	玖珠川	筑後川	480	○
	54	九重町野上, 滝上		野上川			590	
	55	竹田市九重野円形分水			大谷川	大野川	529	○
	56	竹田市荻町陽目					460	○
宮崎県	57	高千穂町秋元			秋元川	五ヶ瀬川	370	○
	58	五ヶ瀬町鞍岡			波婦川		750	○
	59	椎葉村奥村		奥村川	十根川	耳川	690	○
	60	椎葉村内の八重		内の八重川			550	
	61	椎葉村滝			滝川		750	△
	62	椎葉村尾前			水無川		500	○

生育凡例 ○：生育確認, △：現地周辺住民より生育確認, 空欄：生育確認できない

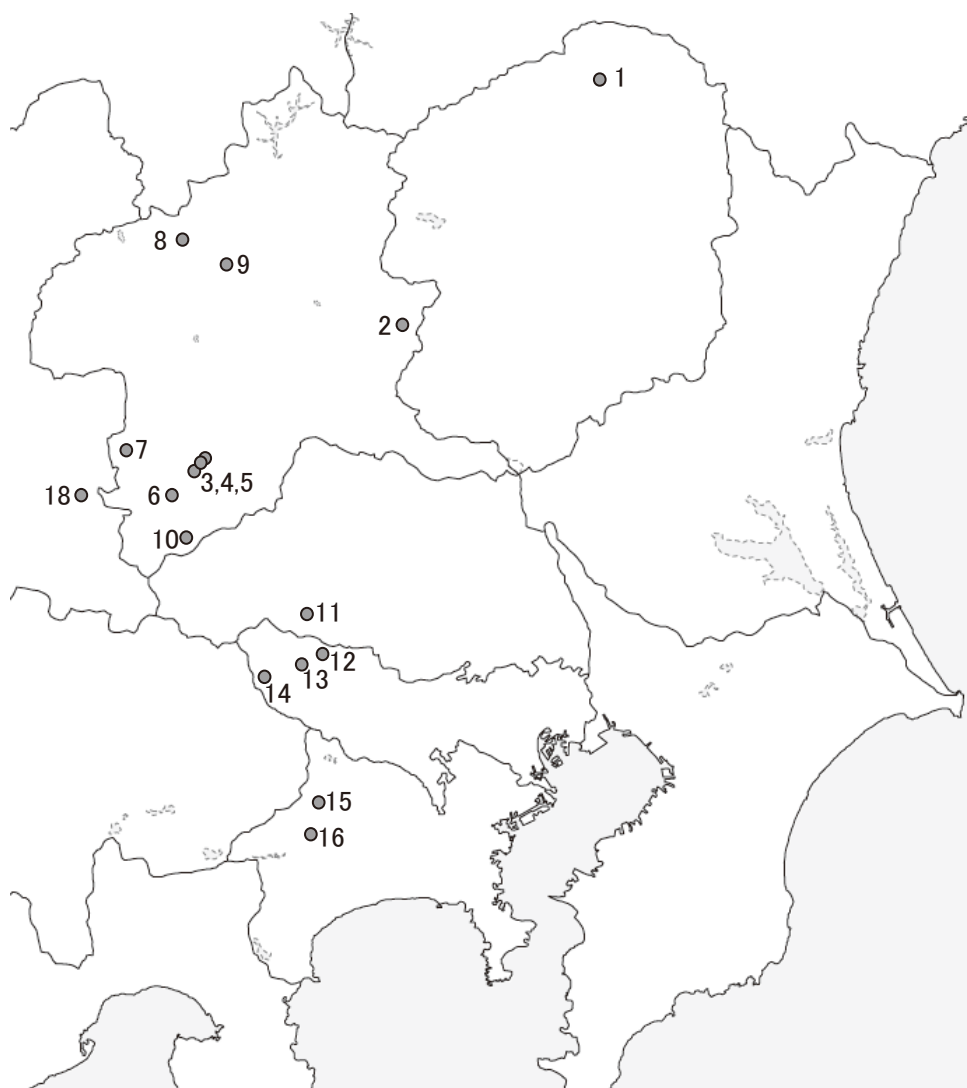


図1 調査地点（関東地方）

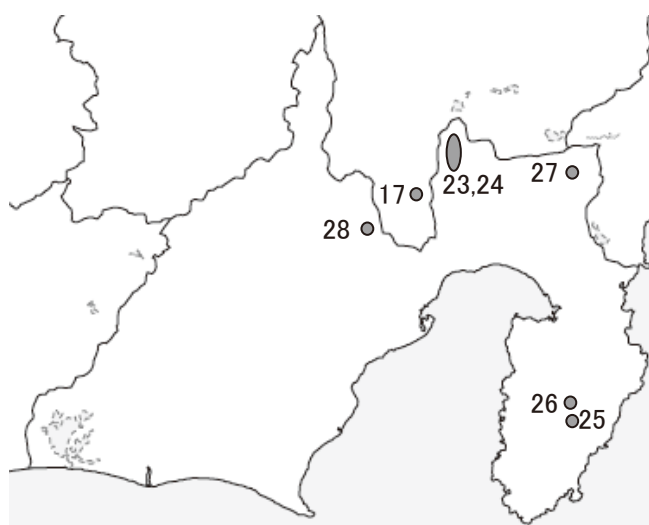


図2 調査地点（静岡県，山梨県）

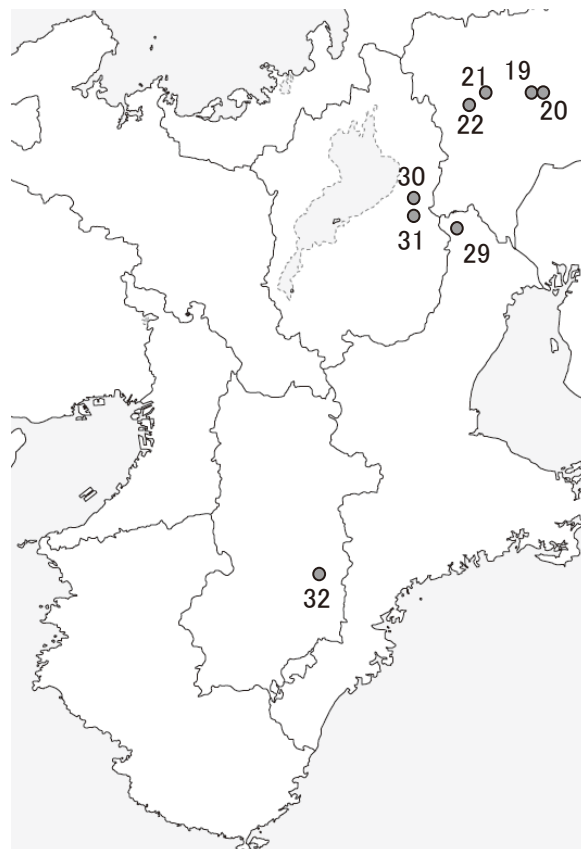


図3 調査地点（中部・近畿地方）

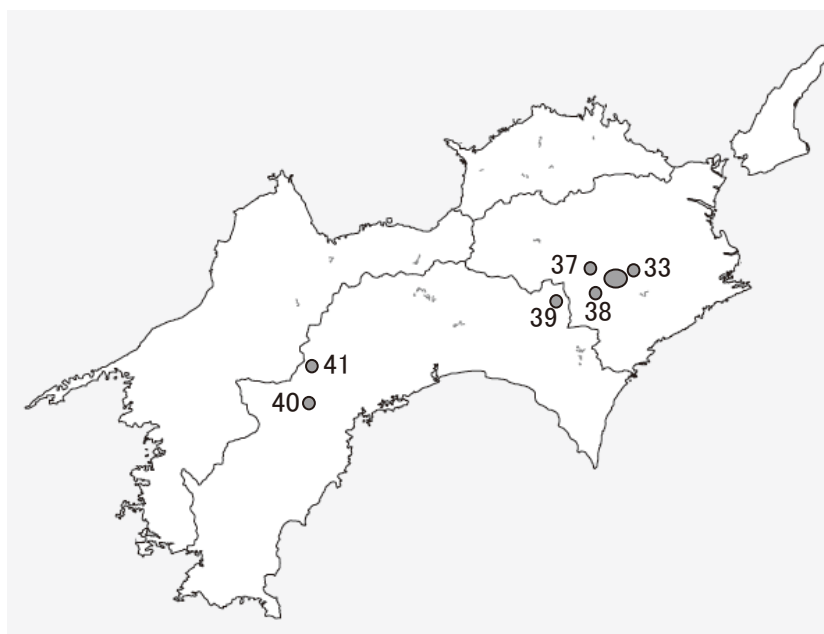


図4 調査地点（四国地方）

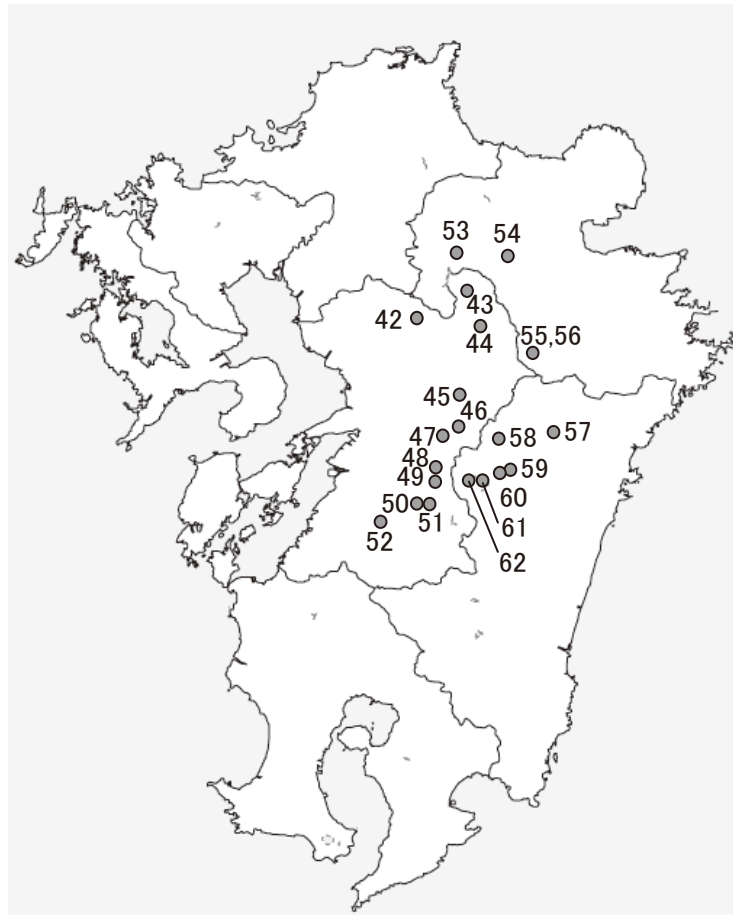


図5 調査地点（九州地方）

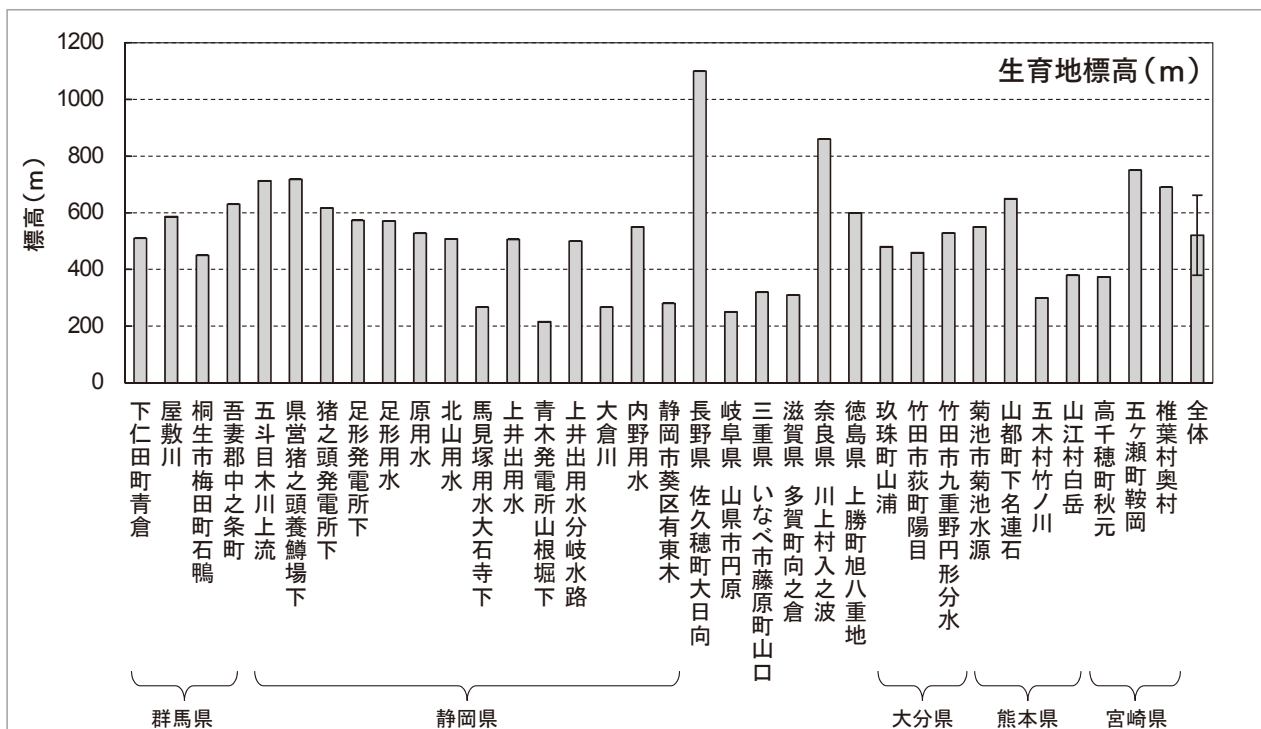


図6 カワノリ生育地の標高

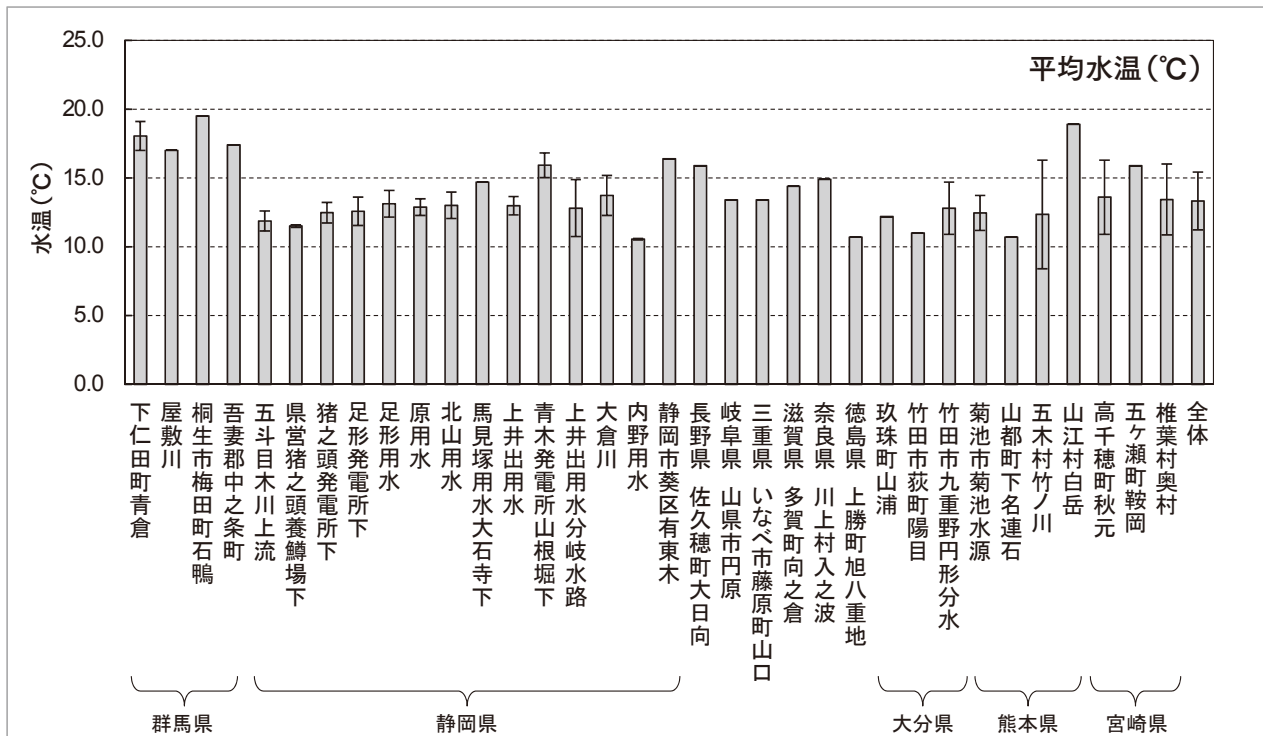


図7 カワノリ生育地の水温

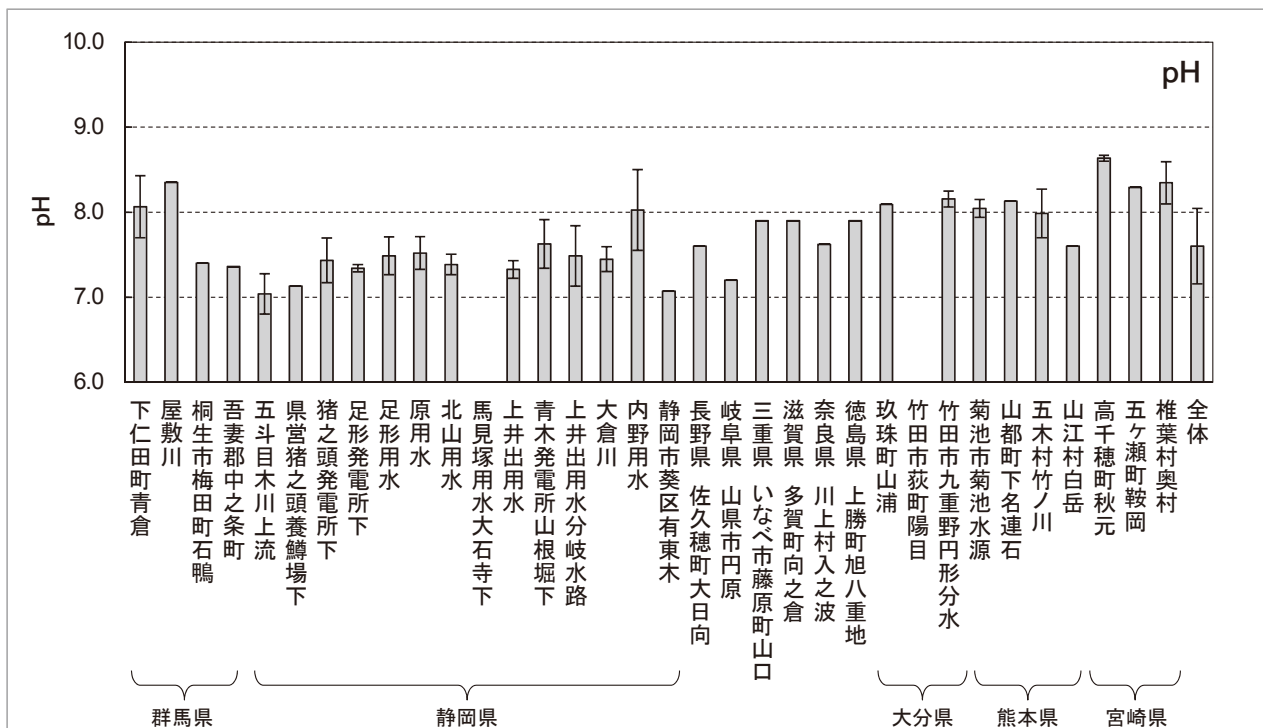


図8 カワノリ生育地のpH

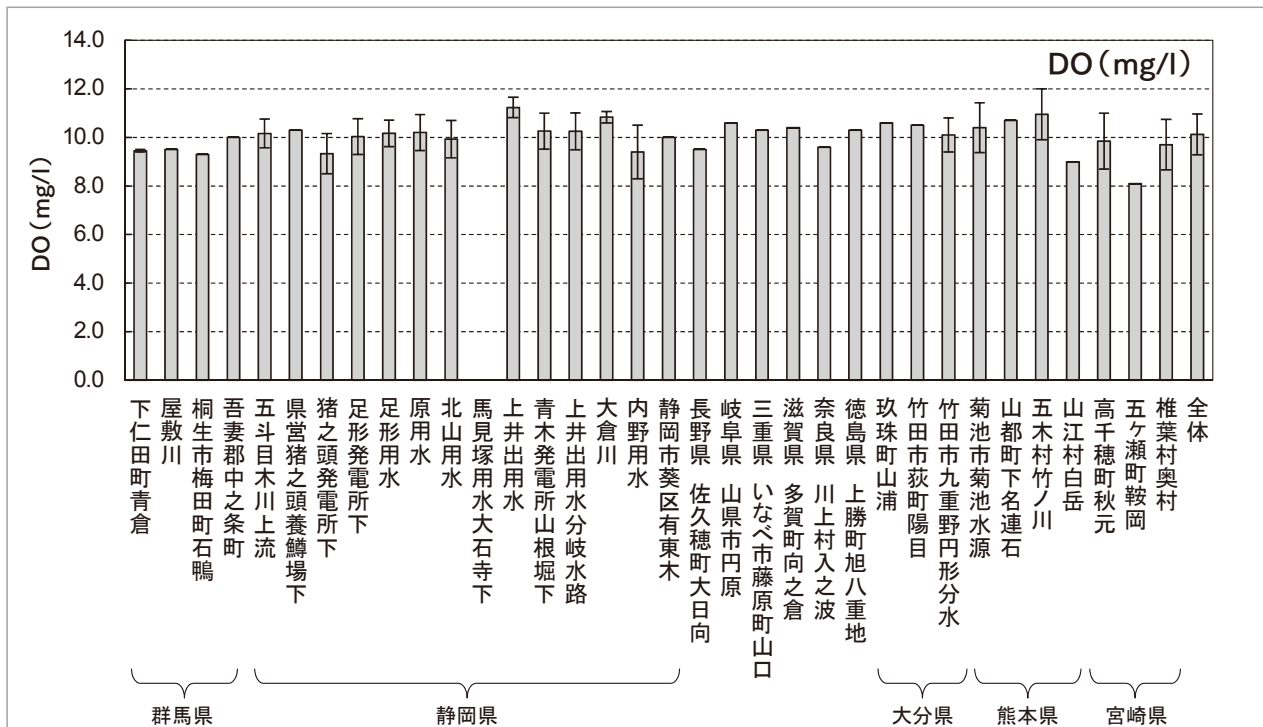


図9 カワノリ生育地のDO（溶存酸素濃度）

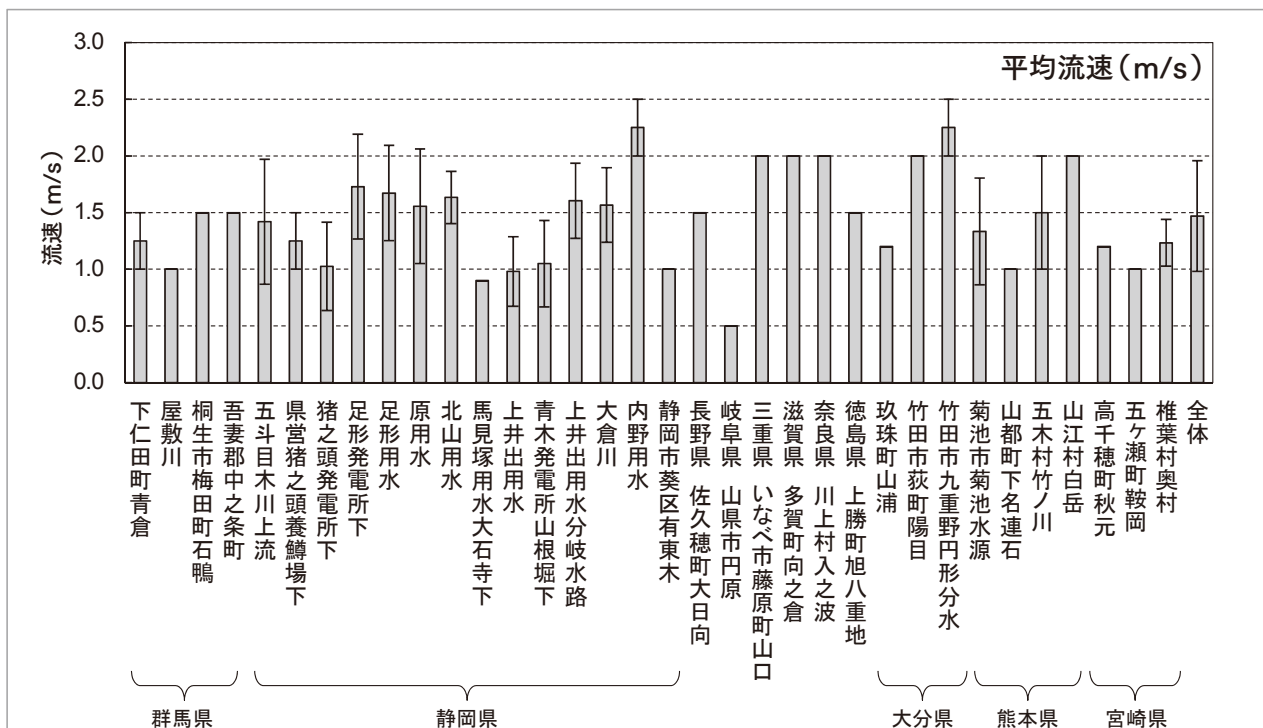


図10 カワノリ生育地の流速

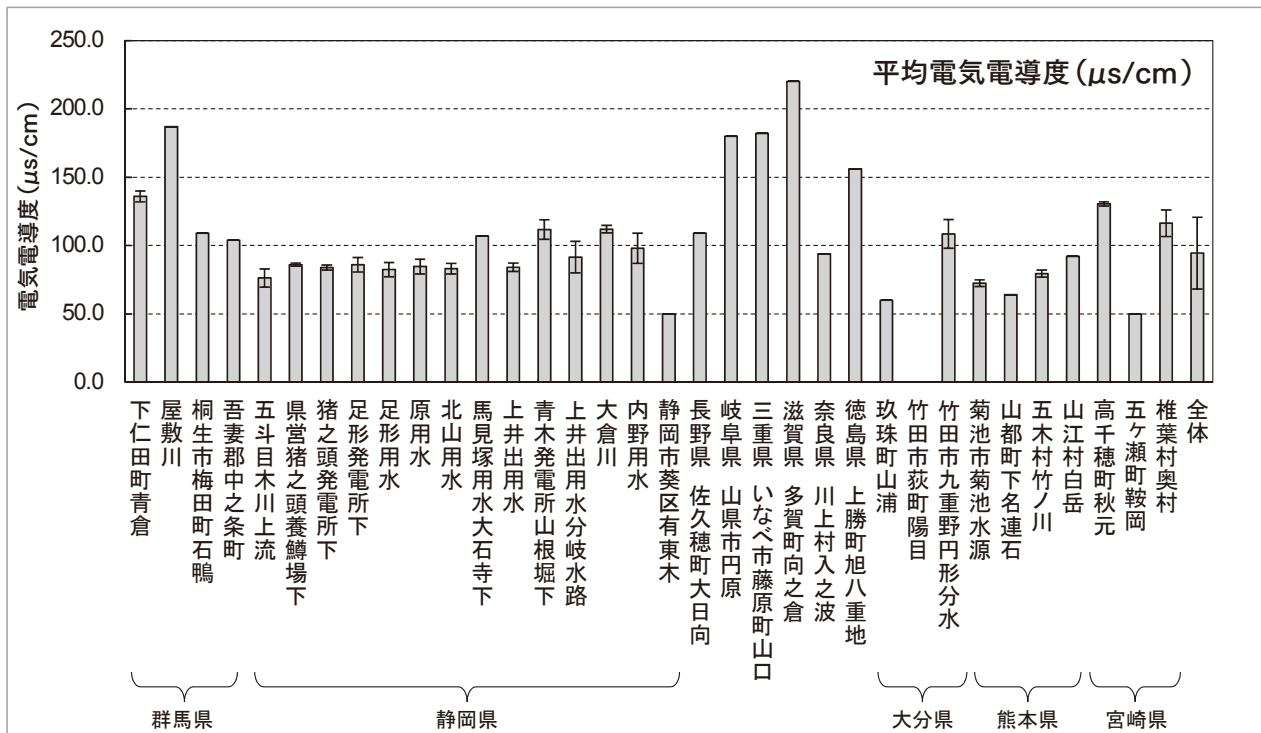


図11 カワノリ生育地の電気伝導度

日本大学国際関係学部生活科学研究所報告に関する内規

平成21年3月18日制定

平成21年4月1日施行

平成24年3月7日改正

平成24年4月1日施行

(趣 旨)

第1条 この内規は、日本大学国際関係学部生活科学研究所（以下研究所という）が発行する生活科学研究所報告（以下研究所報告という）に関する必要事項を定める。

(発 行)

第2条 研究所報告の発行者は、生活科学研究所長とする。

- 2 研究所報告は、毎年3月に発行するものとする。ただし、生活科学研究所運営委員会（以下委員会という）が必要と認めたときは、この限りでない。

(編集委員会)

第3条 日本大学国際関係学部生活科学研究所規程第14条に基づき、研究所に編集委員会を置く。

- 2 編集委員会は、研究所報告の編集・発行業務を行う。
- 3 編集委員会は、生活科学研究所運営委員会をもって構成する。
- 4 編集委員会委員長は、生活科学研究所運営委員会委員長とし、編集委員会副委員長は、生活科学研究所運営委員会副委員長とする。

(投稿資格)

第4条 研究所報告に投稿することのできる者は、国際関係学部及び短期大学部（三島校舎）の専任教職員とする。

- 2 共同執筆の場合、主たる執筆者は専任教職員とする。ただし、共著者には他機関の者を含むことができる。

(原稿の種別)

第5条 研究所報告に掲載する原稿は、生活科学に関する研究成果等とし、原稿の種別は、論文、研究ノート、資料、学会動向、その他編集委員会が認めたものとする。

(投稿数)

第6条 投稿は原則として1号につき1人1編とする。ただし、共著者の場合で代表者以外であればこの限りでない。

(使用言語)

第7条 使用言語は次のとおりとする。

- ① 日本語
- ② 英語
- ③ 英語以外の外国語で編集委員会が認めたもの

(字数の制限)

第8条 原稿は字数16,000字以内（A4で10頁程度）とする。

- 2 前項の制限を超える原稿は、編集委員会が認めた場合に限り採択する。

(原稿の作成)

第9条 原稿の作成は、別に定める「研究所報告執筆要項」による。

2 原稿はパソコンで作成したものとする。

(禁止事項)

第10条 原稿は未発表のものとし、他誌への二重投稿をしてはならない。

(原稿の提出)

第11条 投稿者は、印字原稿(図表、写真を含む)と当該原稿のデジタルデータ(原則として図表、写真を含む)を保存した電子媒体及び所定の「研究所報告掲載論文提出票」を添付し、研究事務課に提出する。

(提出期限)

第12条 原稿の提出期限は、毎年10月10日とする。

2 前項の提出日が祝日又は日曜日に当たる場合は、その翌日に繰り下げる。

(審 査)

第13条 投稿原稿は、別に定める審査要項に基づき編集委員会において審査するものとする。

2 論文の審査は、受理した原稿1本につき、学部外者1名、学部内者1名の論文審査員を編集委員会が選任し、審査を委託する。

3 研究ノート、資料、学会動向、その他の審査は、編集委員会委員のうちから選任された審査員1名が、審査する。ただし、投稿原稿の専門領域に応じて、編集委員会委員以外の審査員1名を選任し、審査を委託することができる。

4 審査員は、自ら投稿した論文等について審査することができない。

5 審査員は、当該審査結果について、所定の「審査結果報告書」を作成し、編集委員会に報告する。

6 編集委員会は、前項の報告に基づき、投稿原稿掲載の可否について審議し、決定するものとする。

(校 正)

第14条 掲載が決定した投稿原稿の執筆者校正は、原則として二校までとし、内容、文章の訂正はできない。

(別刷の贈呈)

第15条 研究所報告の別刷は、1原稿につき30部を投稿者に贈呈する。

2 前項の部数を超えて別刷を希望する場合の経費は、投稿者の負担とする。

(著作権)

第16条 研究所報告に掲載された論文等の著作権は、各執筆者に帰属する。

2 ただし、論文等を出版又は転載するときは、編集委員長に届け出るとともに、日本大学国際関係学部生活科学研究所報告からの転載であることを付記しなければならない。

(電子化及び公開)

第17条 生活科学研究所報告に掲載された論文等は原則として電子化(PDF化)し、本学部のホームページを通じてWEB上で公開する。

附 則

1 この内規は、平成24年4月1日から施行する。

2 昭和51年3月31日制定の『生活科学研究所報告』投稿規程は廃止する。

生活科学研究所報告執筆要項

平成21年 3 月18日制定
平成21年 4 月 1 日施行
平成24年 3 月 7 日改正
平成24年 4 月 1 日施行

- 1 原稿は完全原稿とし、締切日を厳守してください。また、翻訳原稿については、必ず原著者の許可を得てください。
- 2 原稿の形式は次のとおりとします。以下に示すように整理してください。
 - ① 表紙
 - (1) 原稿の種別
 - (2) 原稿の表題（原稿が和文の場合は英文表現，原稿が他の言語の場合は和文表現も並記してください）
 - (3) 著者名（全著者）
 - (4) 所属・資格（国際関係学部国際○○学科・資格，短期大学部（三島校舎）○○学科・資格，英文も記入してください）
 - ② 英文要旨（原稿が和文以外の言語である場合は和文要旨）
 - ③ 本文（本文には下段中央にページを記入してください）
 - ④ 引用文献
 - ⑤ 図・表，写真
- 3 投稿原稿の種別は次のとおりとします。
 - ① (1)論文 (2)研究ノート (3)資料 (4)学会動向
 - ② (1)～(4)以外のもので編集委員会が認めたもの
- 4 本文は常用漢字，現代かなづかいとし，学術上で必要な場合においては，その分野で標準とされている漢字を用いてください。数字はアラビア数字を用い，外来語はカタカナ書きとしてください。
- 5 要旨，和文要旨は400字程度，英文要旨は200語程度とし，目的，方法，結論などを明確に要領よく記述してください。
- 6 原則として横書きで，字数16,000字以内（A 4 で10頁程度）で次の書式で作成してください。
 - (1) 日本文 22字×42行× 2 段
 - (2) 英文 50字×42行× 1 段
- 7 単位はSI単位系を原則とします。補助単位系を使用する場合はSI単位を（ ）に並記してください。
- 8 数式：以下の様式に従ってください。
 - ① 数式は通常に用いられる常識的な表現としてください。数式に用いる記号は最初に使用するところで明確に定義してください。本文の途中で定義を変えることは避けてください。
 - ② 数式には本文で通し番号を付けて，（ ）内に表示してください。文中での数式の引用は，式（ ），としてください。
 - ③ 数式中の上付・下付は明確に示してください。場合によっては赤鉛筆で∨∧を記入してください。
 - ④ 数式が分数表示の場合は 2 行と考えてください。

9 本文中の見出しは、原則として以下のとおりとしてください。

- ① 章 1 2 3……
- ② 節 1.1 1.2 1.3……
- ③ 項 1.1.1 1.1.2 1.1.3……
- ④ 見出しの後は改行し、1文字空けて文章を書き始めてください。
- ⑤ 章の見出しはボールドタイプ（太字）としてください。

10 箇条書きは

- 1) 2) 3) ……としてください。

11 図、表、写真は、パソコンを使用して作成し、デジタル原稿に含めて提出してください。

- ① 図、表、写真は著者がオリジナルに作成したものを使用してください。
- ② 図、表、写真は本文中の該当箇所に挿入・添付してください。
- ③ 図、表、写真にはそれぞれ、図－1、表－1、写真－1などのように通し番号をつけ、タイトルをつけてください。
- ④ タイトルは、表の場合は表の上に、図・写真の場合は下につけてください。
- ⑤ 図、表、写真は原則として1色とします。カラーページが必要であれば使用できるものとしませんが、費用は著者の実費負担とします。

12 引用文献は、本文中に番号を当該個所の右肩につけ、本文の終りの引用文献の項に番号順に、以下の形式に従って記述してください。ただし、特別の専門分野によっては、その専門誌の記述方法に従ってください。

① 原著論文を雑誌から引用する場合

番号、著書名、論文表題、掲載雑誌名、巻数、号数（号数は括弧に入れる）、頁数（始頁、終頁）、発行年（西暦）の順に記述してください。

② 単行本から引用する場合

番号、著書または編者名、書名、版次、章名、引用頁、発行所、その他所在地、発行年（西暦）の順に記述してください。

③ 文章を他の文献から引用する場合

原典とそれを引用した文献および引用頁を明らかにして〔 〕に入れ〔・・・より引用〕と明記してください。

13 参考文献は文末にまとめてください。表記については、8の引用文献の表記を参照してください。

具体的な引用方法については、それぞれの国や学問分野によって違いもありますが、以下の例示をひとつの基準として参考にしてください。

(1) 日本語文献引用の例示

四宮和夫『民法総則』(昭和61年) 125頁

末弘巖太郎「物権的請求権の理論の再検討」法律時報〔または法時〕11巻5号(昭和14年1頁)

すでに引用した文献を再び引用する場合には、

四宮・前掲書123頁または四宮・前掲『総則』123頁

末弘・前掲論文15頁または末弘・前掲「再検討」15頁

(2) 英語等文献引用の例示

Charles Alan Wright, *Law of Federal Courts*, 306 (2d ed. 1970)

Dieter Medicus, *Bürgerliches Recht*, 15. Aufl., 1991

Georges Vedel, *Droit administratif*, 5e ed., 1969

Harlan Morse Brake, "Conglomerate Mergers and the Antitrust Laws", 73 *Columbia Law Review*〔または *Colum. L. Rev.*〕555 (1973)

Alexander Hollerbach, "Zu Leben und Werk Heinrich Triepels.", *Archiv des öffentlichen Rechts*〔または *AoR*〕91 (1966), S.537 ff.

Michel Villey, "Préface historique à l'étude des notions de contrat", *Archives de Philosophie du Droit*〔または *APD*〕13 (1968), p.10.

すでに引用した文献を再び引用する場合には、

Wright, *op. cit.*, pp. 226-228.

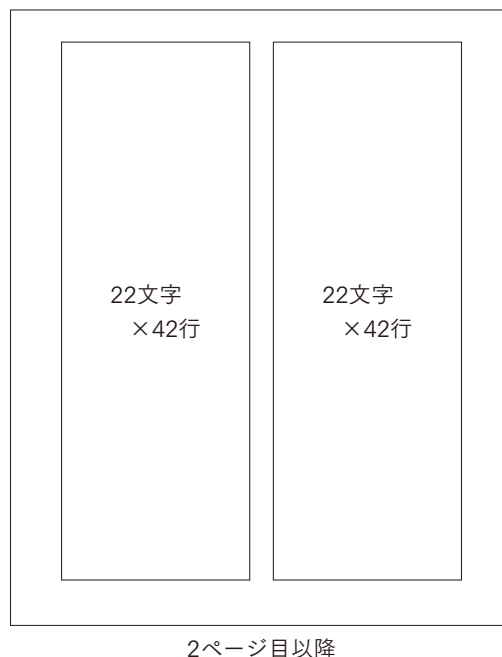
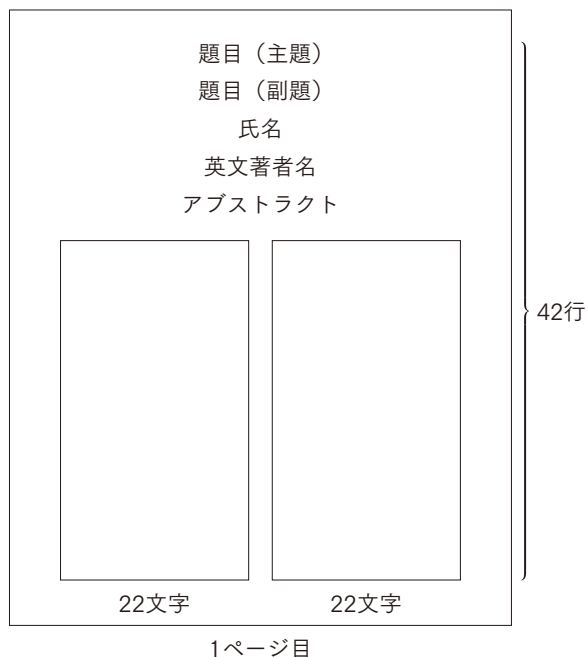
Medicus, a. a. O., a. 150.

Vedel, *op. cit.*, p.202.

ただし、直前の中に掲げた文献の同一箇所を引用するときは、*Ibid.*

他の頁を引用するときは、*Ibid.*, p.36

日本文 刷り上り後のイメージ



以 上

平成24年度 日本大学国際関係学部生活科学研究所報告編集委員会

委員長・研究所長	井	上	健
副委員長・研究所次長	梅	本	順子
委	加	藤	雅功
員	葉	山	明
	井	上	桂子
	蓼	沼	智行
	熊	野	留理子
	長	嶺	宏作
	佐	藤	聡彦
	池	田	裕美
	堀	内	和秀
長	長	澤	裕子（幹事）

日本大学国際関係学部生活科学研究所報告 第35号

平成25年3月1日 発行

発行 日本大学国際関係学部生活科学研究所
三島市文教町2丁目31番145号（〒411-8555）
電話 055(980)0808（研究事務課）
印刷 みどり美術印刷株式会社
沼津市沼北町2-16-19（〒410-0058）