

## 解説

守田益宗<sup>1</sup>: 花粉分析と顕微鏡—作業の効率化をめざして  
Yoshimune Morita<sup>1</sup>: A guide to pollen analysis and microscopy,  
with an aim to improve its working efficiency

## 緒言

花粉は、植物によって粒径・表面模様などが様々であり、たいへん特徴的である。このような形態的特徴をみれば、花粉を作り出した親植物を同定することができる。堆積物中に残された花粉を調べることにより、過去のさまざまな情報を得ることができる花粉分析は、今日の古生態学分野では欠くことのできない研究手段となっている。

堆積物中に含まれる化石花粉・胞子の分離法はいろいろ考案されており、なかでも苛性カリ (KOH) 法、アセトリス (Acetolysis) 法、沸化水素酸 (HF) 法、比重分離法、シュルツェ (Schulze) 氏分離液法、傾斜法、篩い法などがよく用いられる方法である。これらの方法にも一長一短があるので、現在では堆積物の状態に応じて、いくつかの方法を組合せて処理するのが普通であるが、作業面から処理方法を見た場合、以下のように大きく2つの戦略が成り立つだろう。

A) 作業効率は多少犠牲にしても堆積物中の化石花粉をできるだけ逃さないよう回収する。

B) 堆積物中の化石花粉を逃す可能性は多少増加しても作業効率を優先して処理する。

もちろん、高い作業効率と化石花粉回収の両立がはかれればそれにこしたことはないが、堆積物の状態や研究目的にあわせ (A) (B) の選択が必要となってくる。

ところで、現在の花粉分析では、年代測定技術の向上や年縞堆積物の発見により高精度の年代決定が可能となったことや掘削技術の進歩によるロングコアの採取などにより、以前とは比べものにならないほど実行すべき花粉分析の試料数が増大している。以前であれば500年間で1個当たりの試料採取間隔が、現在では50年間隔も稀ではない。必要な花粉分析試料数の増加は、研究の長期化をまねいたり、共同研究では花粉分析研究者の奪い合いなどの原因にもなっている。また、コンサルタント会社では分析単価の低下圧力増大にとともに、花粉分析研究の生産性向上が重要となっている。

ここでは、研究の生産性向上を目標に、作業効率優先の花粉分析方法について紹介する。なお、作業効率向上には、花粉の分離処理から検鏡に至るまで一貫した構想に基づいた作業手順編成やそれに適した機器の使用が重要であることから、後半では光学顕微鏡の選択と使い方についても説明する。そのため、上記 (A) が目的の読者には本文前半部分は読み飛ばしていただいても構わない。

本解説は、これまで数回にわたっておこなってきた日本植生史学会談話会「植生史解明のため室内実験法」および岡山理科大学自然観察会の配布テキストに加筆訂正を行ったものである。そのため、ややくどい表現や説明口調の表現が多いことをあらかじめお断りしておく。

## 花粉の分離処理とプレパラート作製

次の考え方に基づいた花粉分離処理方法である。

1) 作業工程をできるだけ少なく単純化することにより、処理時間の短縮と事故率の低減をはかる。

2) 花粉分離処理では、堆積物中の化石花粉をできるだけ逃さないよう回収する努力するのが普通である。しかし、ある工程では回収率100%としても、分離作業には様々な工程を経ることから、実際には全てを分離回収することは不可能であろう。そのように化石花粉を逃がしているならば、堆積物中の化石花粉は、多かれ少なかれ選択的な流入、堆積、分解を経ているので、花粉分離処理過程で多少化石花粉を逃したとしても、一部選択化がおきたことと同じではなかろうか。化石花粉を逃して、粒径が極端に大きい、あるいは、小さいなど特定の種類の花粉出現率が低下する可能性を否定はしないが、その花粉が全くゼロになるわけではない。そもそも花粉分析では上下の花粉の変動をみることから、一連の試料で処理方法が統一されていれば問題は少ないと思われる。

3) 処理過程中に花粉の一部はゴミとともに逃がす可能性はあるものの、検鏡時のゴミの低減化により、隠れた花粉の見逃しが少なくなるので、検鏡時の作業効率と同定精度の向上につながる。特に位相差検鏡時には小さなゴミが多いとハロー (halo) のため検鏡不能となる。

実際の処理手順は以下のとおりであり、一般的によく用いられる KOH 法、ZnCl<sub>2</sub> 法、Acetolysis 法を上記の考えに基づき、手順、処理時間、重液の比重を工夫したものである。基本的には中期更新世以降の湖沼や湿地などの陸成堆積物に広く適用できると思う。なお、化学実験ではないので、薬品などの量はおおよその値であり、水は花粉さえ含まれていなければ蒸留水を使う必要はなく水道水でも十分である。心配であれば、水道水をカートリッジ式フィルターで濾過して使用すればよい。

a. 試料の表面部分は現世の花粉で汚染されている可能性があるので中心部分を適量とり、遠心管またはピーカー

にを入れる。泥炭層表面のミズゴケの生体層ならば 100 ml、未分解泥炭なら 25 ml、分解した泥炭なら 5 ml、良く分解した泥炭や黒泥なら 1 ml もあれば十分であろう。有機物の少ない堆積物の場合は 5～25 ml ほどだが、次の工程(b)の KOH 溶液の色づき具合で判断でき、濃いめの紅茶色以上に色づかない場合は、試料を増やす必要がある。ただし、もともと花粉や有機物が少ない試料を増量する場合は、二次混入花粉の危険性も大きくなるので、過度の増量は無意味である。

b. 腐植酸などを除去するため試料の 5 倍量程度の 10% KOH を加え、ガラス棒でよく攪拌しながら 5～10 分間湯煎器の中で加熱する。なお、前日に、試料と 10% KOH をセットし、放置しておけば加熱時間をさらに短縮できる

c. 植物破片など検鏡時のゴミを除去するため、水を少し加えながら、この懸濁液を 80 メッシュ（孔の大きさ 0.2

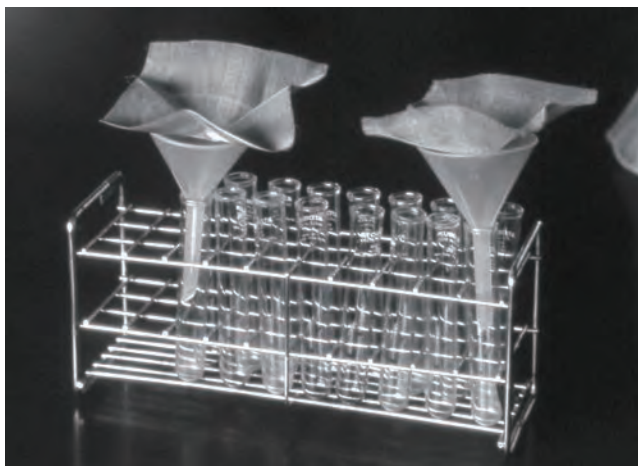


図1 ステンレス製網と濾過用具の例。

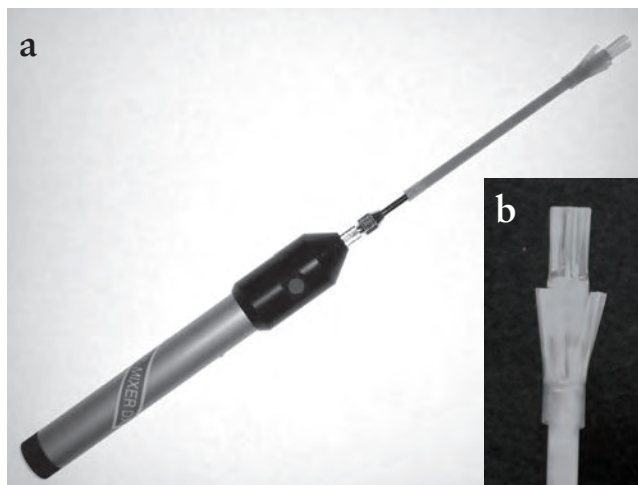


図2 先端部を改造したペンシルミキサー (a) と先端部の拡大図（点滴用チューブをタコ足状に切断して装着）(b)。

mm 程度) のステンレス製網で別の 15 ml 遠心管に濾過した後、遠心分離する (図 1)。

d. 遠心分離した残渣は、水で洗浄して遠心分離する。

e. 2 ml の 10% HCl を加え、ガラス棒またはマイクロ spatula でよく攪拌しながら数分間湯煎器の中で加熱する。この工程は懸濁液をアルカリ性から酸性に変えるとともに、残渣中に Ca や Fe などが含まれているかを気泡の発生や色の変化で検査するために行う。気泡などの発生がないことを確認のうえ遠心分離する。貝殻片など Ca を多く含む堆積物では、10% HCl 処理を数回繰り返し、Ca 分を完全に除去しておく必要がある。Ca 分などが残存していると次の重液分離処理時に気泡が発生し、処理に支障が生ずる。

f. 比重を 1.7 に調整した塩化亜鉛 ( $ZnCl_2$ ) 溶液を 5 ml 加え、小型攪拌器または超音波分散器なども併用してよく混和し、 $ZnCl_2$  溶液を遠心管の上端 15 mm 程度になるまでさらに加えて、毎分 2500 回転ほどで 40 分間遠心分離する。花粉や植物破片など有機物は上層に浮上し、粘土や砂など鉱物質の多くは沈殿する。 $ZnCl_2$  溶液の調製は使用薬品中最も注意が必要で、比重が低いと花粉を逃がし、高いとゴミも多くなる。その作成時には比重計をつかって正確に合わせておくこと。攪拌時、タッチ式の振動攪拌機は、粘土堆積物では用をなさず不適である。専用の攪拌器を作っておくと便利である (図 2a, b)。また、遠心分離時間も重要である。短かすぎると粒径の小さな粘土鉱物などが十分に沈降しなかったり、逆に、化石花粉が十分に浮き上がってこなかったりする原因となる。その都度攪拌をして、20 分 2 回とか、15 分 3 回などのような方法をとる場合をみかけるが、上記の理由からお勧めできない (図 3)。

g. 花粉や植物破片などを含む上澄み部分をピペットを使い、別の遠心管に移し、数滴の 10% HCl を加え、さらに水を加えてから、よく攪拌し、遠心分離する。攪拌時、



図3 重液分離後の様子（溶液最上部の黒い部分が浮遊している化石花粉）。



遠心管は指で蓋をし、上下に反転攪拌すること。遠心分離後、花粉は沈殿しているため、上澄みはすてる。

h. 残渣に3～4 mlの水酢酸を加えて攪拌し、遠心分離する。

i. 残渣に2 mlのAcetolysis液(無水酢酸9に対し濃硫酸1の混合液)を加えて、よく攪拌しながら湯煎器で5～10分間加熱する。Acetolysis液はセルロースの除去のために使われるが、作り置きできないので、その都度調製する。作製するときには必ず無水酢酸に濃硫酸を入れること、また40 ml以上を一度に作らないこと。まちがえると、突沸して危険である。

j. 加熱終了後、3 mlの水酢酸を加え、遠心分離後、上澄みをすてる。

k. 残渣に水を加えて洗浄し、遠心分離後、上澄みをすてる。

l. 残渣に10% KOHを2 ml加え、10秒間程度湯煎後、水を加えて洗浄し、遠心分離後、上澄みをすてる。

m. 残渣に水を加えた後、2～3滴のサフラニンや塩基性フクシンなどの塩基性色素の染色液を滴下して攪拌する。遠心分離後、上澄みはすてる。通常の検鏡であれば染色は省略できるが、顕微鏡写真撮影をする場合、染色は必須であろう。染色時の攪拌は、指で蓋をして上下に反転するように行い、染色ムラがないようにする。また、染色具合は、予め何度も練習して加える染色液の量を体得しておくこと。塩基性色素では溶液をアルカリ性に、酸性色素では溶液を酸性にしておかないと、正常に発色しない。塩基性フクシンの方が扱いやすいが、サフラニンよりも退色しやすいようである。なお、酸性フクシンなどの酸性色素使用時は(l)の工程は省略できる。染色しない場合は、(k)の工程を2回繰り返した後、(n)の工程に移ればよい。

n. 最後に残った残渣を封入してプレパラートを作製する。検鏡を効率的に行なうには、適切な花粉濃度と、できるだけ薄く封入した見やすいプレパラートを作ることが重要である。薄く封入したプレパラートは焦点調節の移動範囲が小さくなり、検鏡効率が上がる。特に、写真撮影をする場合、薄く封入しないと良い仕上がりは得られない。封入剤の選択については、後に述べる。

作製のコツは、まず一枚目のプレパラートを作製して化石花粉の多少を調べ、2枚目のプレパラートで残渣の量を調整して適切な花粉濃度のものを作製することである。1枚のプレパラート中に500～1000個前後の化石花粉が入っているのが理想的であるが、調整にはある程度の経験が必要なので、経験を重ね感覚をつかんでおくことが重要である。実際の同定作業時に気付いて、後からプレパラートを封入しなおすのは、たいへんな時間と労力の損失となるので、化石花粉分離処理の段階で必要量のプレパラートを作るようにしておくことが、結局、時間短縮となる。

グリセリンジェリーを用いて薄く封入するには少々工夫が必要である。まず、グリセリンジェリー調製の際、自身の通常の調合法に比べ、グリセリンは少なめ、水はかなり多めに加え、溶融時の粘性を小さくしておくことである。料理レシピのように分量を示すことは難しいが、グリセリンジェリーをつけたガラス棒を立てると、直ちにしずくが垂れ落ちる程度の粘度が目安となろう。グリセリンが多いと封入後、短期間に花粉が膨潤してコントラストがなくなり、検鏡に苦勞することとなる。そして、封入したプレパラートを60°Cのホットプレート上で1時間ほど放置して、水分を十分にとばせばよい。封入時の気泡も、長時間加熱することで、自然に端に移動し、やがてカバーガラス外に出て消滅することが多い。マツ属単維管束亜属 *Pinus subgen. Haploxyylon* やトウヒ属 *Picea* の同定時重要となる発芽口域のいぼ状紋も、大型花粉ではほとんどが長軸方向に向きを変えていてくれるので容易に観察できる。また、グリセリンが少なく水分をほとんど含まないことから、花粉の保存性も極めて良好となる。カバーガラスの周囲をマニキュアで封じなくてもサフラニン染色した花粉では10年経過後も観察に支障はない。なお、グリセリンジェリーは、繰返し使っていると水分が蒸発し粘性が高くなってくるので、時々、水を加えて粘性を調整してやる必要がある。

当研究室の予備実験や経験からは、全工程中最も化石花粉の取りこぼしの危険性が高いのは、第一に(c)の網による濾過時、第二に(f)と(g)の比重分離時であることがわかっている。濾過時、泥炭など植物破片が多いときは特に注意して行う必要がある、また、比重分離では、重液の比重が極端に低い場合をのぞき、比重差は化石花粉の分離にはあまり影響せず、むしろ化石花粉以外のゴミの多寡に影響するようである。(g)の上澄み部分の回収は、なるべく吸い上げる液量は少なくする一方、化石花粉は全てを回収するという、一見矛盾する行為であるから、習熟していないと化石花粉の取りこぼしの原因となる。文章で表現するには難しく、百聞は一見に如かずであるが、ピペット先端がある位置に固定し、遠心管を回転するようにしながら吸い上げるのがコツである。

上記の手順で花粉の分離およびプレパラートの作製を行なった場合、習熟してくると16試料であれば処理開始から、洗い物などの後かたづけ、翌日の処理のセッティングまで含め、6時間のみで十分である。このうち、(f)の遠心分離時は、全工程中最も長く空き時間がとれるので、この間を他の作業や食事時間にあてることが可能となる。10時ごろにウォーターバスの加熱を始めて(a)の作業を開始すれば、お昼ごろにはその空き時間となるであろう。

### 検鏡について

花粉分析でも、得られた結果をどのように解釈するかは、他の手法と同様に最も頭を悩ます事柄であるが、それも正確な化石花粉の同定と豊富なデータがあつてこそ信頼のおける解釈となる。花粉の観察・同定には顕微鏡が使われるが、深い焦点深度と高い倍率を誇る走査型電子顕微鏡 (SEM) を使えば種の段階まで区別できる花粉も多い。しかし、SEM で区別すれば全てが済むというものではない。例えば、SEM ではクリ属 *Castanea* とシイ属 *Castanopsis* の区別は容易でも、クマシデ属 *Carpinus* とカバノキ属 *Betula* の区別は容易ではない。一方、光学顕微鏡 (LM) では、*Carpinus* と *Betula* の区別は簡単であるが、*Castanea* と *Castanopsis* の区別はかなり難しい。これは、SEM は高倍率であっても表面しか観察できないのに対し、LM は低倍率でも断面が観察できるからである。このように、花粉の同定では、発芽孔の位置や数、表面模様の違いだけでなく、花粉の断面構造などの観察も重要である。目的にあわせて各顕微鏡を使い分ける必要はあるが、花粉分析の日常作業では、将来もその汎用性と検鏡準備の手軽さから光学顕微鏡が主役であることに変わりはないだろう。そこで、照明法や対物レンズの開口数とコンデンサー絞りの開口数は一致させるといった基本的なことから等は入門書 (田中, 1968 ; Bradbury, 1984 など) にゆずり、花粉分析の日常作業からみた同定精度および作業効率向上のための光学顕微鏡の使い方について述べてみよう。

#### 1. 日常作業の視点から常用倍率と接眼・対物レンズを決定する

日常作業の検鏡では、ある特定の倍率で検鏡を行ない、精密検鏡や写真撮影などが必要になった時、倍率を切替えるのが普通である。この特定の倍率 (日常作業の常用倍率: 以下、常用倍率とよぶ) は、人によって使用する機種が違ふことや見やすい倍率が異なることから様々である。作業効率を考えた場合、低倍率では一度にたくさんの花粉を観察できるものの、頻繁に倍率を変えねばならず、高倍率では視野が狭くなることから、通常は総合倍率が200倍～400倍程度で行なうのが一般的であろう。この常用倍率を設定する際の要点は、対物レンズは開口数の大きいものを使用し、総合倍率や視野の広さは接眼レンズで対応することである。総合倍率が同じであれば対物レンズの開口数の大きいものの方が解像度は高い。高い解像度から同定が容易となることで、倍率切替えが減少し作業効率は上昇するであろう。ただし、精密検鏡時には倍率を切替える必要があることや、低倍率の接眼レンズと高倍率の対物レンズの組合せでは実視野 (実際に接眼部で観察されている物体面の直径 = 接眼レンズの視野数 ÷ 対物レンズの倍率) が小

さくなることから、あまりに低倍率の接眼レンズでは作業に不便を生じる場合もある。また、視野数が大きい接眼レンズでは、周辺部の像質低下や画像コントラストの低下がおきやすい。一般的には8～12.5×、視野数16～20程度の接眼レンズが使いやすい。通常の作業では視野の中を次々と花粉を流すようにしながら同定を行なうので、適正な常用倍率と視野の選択は重要である。選択を誤ると目の疲れやめまいの原因となる。なお、接眼レンズは一度装着すると検鏡中はほとんど変えないのが普通であるが、Zeiss の Optovar などの中間変倍装置があれば、組合せの選択肢がひろがり便利ではある。ただし、けて安価な装置ではない。

筆者の研究室では、対物レンズは20～25×、対物レンズは10～12.5×、総合倍率250～300倍程度の組合せを用いている (図4, 5)。ホルトノキ属 *Elaeocarpus* など粒径の小さな花粉が多くなければ、対物レンズを切替える回数もそれほどはならず、なれてくれば500個程度の花粉同定に1時間もみておけば十分であろう。

#### 2. 顕微鏡とその他周辺機器の配置について

検鏡・同定時には計数器を使う場合も多いが、その配置も作業効率に影響する。通常、計数器の数は多くても30前後であり、これでは出現する花粉の種類数すべてを記録できない。そこで、記録用紙も併用することになり、顕微鏡を挟んで記録紙と計数器を配置するのが普通である。当然、記録紙は筆記具を持つ手の側に置かれるが、この時、メカニカルステージのハンドル位置が重要であり、計数器と反対側にメカニカルステージのハンドルが位置しなくてはならない (図6)。つまり、一方の手でメカニカルステージを操作して視野を移動したり、微動装置で焦点を変える



図4 対物レンズ。— 1: Lomo 25×/0.50, 2: Leitz NPL Fluotar 25×/0.55.



図5 接眼レンズ。— 1: Leitz W 6.3×/28 (φ30.0 mm), 2: Motic N-WF 12.5×/18 (φ30.0 mm), 3: Leitz GF 12.5×/20 (φ23.2 mm), 4: Zeiss kpl W 12.5/18 (φ23.2 mm), 5: Nikon CFW 12.5×/16 (φ23.2 mm),

ことにより同定作業を進行しながら、他方の手で計数器をブラインドタッチすることになる。一方、記録紙に筆記する時は、視線は記録紙を見ているので、同定作業は停止しているはずである。計数器側にメカニカルステージのハンドルがある場合には、視野移動や焦点移動のときには計数が停止することになる。その時間差を僅かと侮ってはいけない。実際の検鏡では500個以上の花粉を同定することは珍しくはないので、「塵も積もれば山となる」の諺のごとく、最終的には大きな時間差となる。

日本では顕微鏡購入時に指定をしないとメカニカルステージは左ハンドルで納入されることが多い。しかし、右利きの人々が、筆記具を左手に持つことは少ないはずである。もう一度、無駄な動作をしていないかチェックしてみる必要がある。

#### 花粉分析に必要な顕微鏡の条件

一般的な購入手引きでは、結論として予算のゆるすかぎり高倍率対物レンズに予算を割くことを勧めている。花粉の分類・形態研究では顕微鏡選択に妥協の余地が少なく、高倍率レンズの性能第一で選択することになるが、日常の

花粉分析に使用する場合、対物レンズ購入決定前に考慮すべき事柄がいくつかある。近年では顕微鏡の製品サイクルも短くなっており、機械規格そのものが変更になる場合もあって、一昔前のように年数をかけて部品を買い足し顕微鏡システムを組上げていくのが難しくなっている。どのような使い方をするかによって顕微鏡本体の選択も異なってくるので、使い方をよく考え、できるだけ短期間に必要なシステムを揃えることが後悔しない買い方である。まず、レボルバー、メカニカルステージ、焦点調整用粗微動装置など駆動部分は酷使されるので、これらの動きが滑らかで機械的強度や信頼性が十分な製品を選ぶことが肝要である。メカニカルステージのハンドル位置も後から変更可能な製品は少ないので、自分の作業スタイルをよく考え右か左かを選択する。光源は光量に十分余裕のあるものを選択しておくこと。写真撮影を行わないならクリティカル照明の機種でもよいが、行うならケラー照明をそなえた機種が必須である。顕微鏡本体の予算をあまりに抑えると、結局は高い買い物につくことを忘れてはならない。なお、花粉分析では位相差法による検鏡も稀ではないが、位相差対物レンズのように明視野法と共用できる周辺機器も多いので予めよく検討しておくこと。また、微分干渉装置はほとんど必要としない。



図6 右利きの場合の顕微鏡、計数機、記録紙の配置例 (●はステージ送りハンドルの位置)。

#### 1. 対物レンズの選択

対物レンズには、色収差の補正程度によって Achromat, Fluorite, Apochromat の3種類がある。このほか球面収差を補正し像の平坦性に優れた Plan 系の対物レンズがあり、それらの組合せにより様々なグレードの対物レンズが作られている。当然、収差が良く補正されたハイグレードの対物レンズほど高価である。これらのレンズを網羅



している顕微鏡メーカーは数えるほどしかなく、現在では Leica (Leitz), Lomo, Motic, Nikon, Olympus, Zeiss が主な会社である。対物レンズには、鏡筒設計に対応して有限系と無限系のものがあり、有限系の鏡筒には有限系対物レンズ、無限系の鏡筒には無限系対物レンズの組合せでないと使用できない。さらに有限系のものには短頸 (RMS 規格) レンズと長頸 (DIN 規格) レンズがあつて、それぞれに器械的筒長が 160 mm, 170 mm, 210 mm などがあり、鏡筒と対物レンズの組合せには、この器械的筒長が同じものを使用するのが原則である。現在では主要メーカーの製品は無限光学系になっているので、ネジ規格が合致していれば A 社の鏡筒に B 社の対物レンズを使用することは可能である。ただし、メーカーによって同焦点距離には違いがあるので、異なるメーカーの対物レンズの混用は避けたほうが賢明である。なお、160 mm DIN 規格の対物レンズでは Nikon と Leitz の間、Olympus と Lomo の間には同焦点性がある。

### 1) 干渉フィルター (Interference filter)

花粉分析では、Acetolysis 処理によって赤褐色に色づいた花粉または染色した花粉を観察することになる。同じ処理をしても花粉の種類によって色づきの良いものと悪いものはあるが、肉眼観察でも写真撮影でもこのような色情報はそれほど重要ではない。目の疲労やレンズ収差を考慮すると、常用フィルターとして顕微鏡に標準付属の昼光色フィルターではなく、波長 550 nm の緑色干渉フィルター (特定の波長だけを選択的に透過するフィルター) の使用を前提として対物レンズを選択すべきである。メーカーにより IF550 とか Interference green filter 546 nm などの名で販売されている。対物レンズのうち色収差が最も補正された Apochromat は、カラー撮影時には色ズレもなくシャープな像を観察できる。しかし、人間の目が最も感じる光の波長域は 550 nm 付近といわれており、この波長域の光だけをつかうことにより、Achromat でも事実上色収差は無視でき、結果としてシャープな像が得られる。赤褐色に色づいた花粉をこの干渉フィルターをとおしてみると、補色の関係でコントラストのついたモノトーンの花像となる。高価格な Apochromat を使わずとも十分シャープな像を観察できることになる。最新の対物レンズでは設計・製造技術の進歩により、Plan 系でなくとも像の平坦性はかなり良好である。上記の理由から、以下の記述ではこの干渉フィルターの使用が前提となる。

### 2) 液浸系対物レンズ

精密検鏡など高解像度が必要な時には、液浸系の対物レンズを使用することになる。液浸系には油浸系と水浸系が

ある。水浸系は厚く封入してしまったプレパラートでも油浸系に比べ像質劣化が少なく、掃除も簡単であるが、花粉分析につかえるレンズは種類も少なく、たいへん高価である。また、後述する理由から、薄く封入したプレパラートであれば水浸系は不要である。

油浸系レンズを使用する場合、開口数 (対物レンズの胴横に NA 0.65 などと記載されている数値) の小さい対物レンズでは対物レンズとプレパラート間だけの油浸で事足りる場合が多いが、開口数 1.0 を超える対物レンズの性能を十分に引き出すには、対物レンズとプレパラート間だけでなくコンデンサーとプレパラート間も油浸オイルで充たす必要がある。

日常の検鏡では、使用後の油浸液の掃除が問題となる。メーカー指定の油浸液では粘性が高く除去が面倒なことから、同定作業中の精密検鏡や写真撮影は不可能に近い。油浸オイルとしてアニソール (Methoxybenzene) を使えば、粘性が低く揮発性があることから、掃除の問題が解決できる。キシレンを含ませたペーパーで軽くぬぐえば、直ちに、次の検鏡に移ることが可能である。かつてはよく使われていたが、最近ではレンズの接着剤を傷めるということでメーカーも使用を勧めてはいない。しかし、過去 20 年以上にわたって使用しているが、いまのところそのような問題は生じていない。ただし、最近の下級機クラス顕微鏡ではコストダウンのため、レンズ本体そのものに合成樹脂を使うものがでてきた。レンズ先玉がそのような材質の場合、アニソールによる溶解などの恐れがあるのでメーカーなどに確認すること。同倍率の乾燥系対物レンズと液浸系対物レンズならば、操作性や性能からアニソールと油浸系対物レンズの使用をすすめる。

### 3) 倍率ごとの選択

花粉分析で使用される対物レンズを倍率で区分すると 10× クラス、20× クラス、40× クラス、60× クラス、100× クラスの 5 つに大略区別される。同倍率の対物レンズでは、色収差がよく補正されたものの方が開口数も大きいので解像力が優れている。限られた予算では、この 5 つの倍率クラスから、それぞれどのようなグレードの対物レンズを選択するかがポイントとなる。使用頻度の高い倍率のものに優先して投資するのもよいであろう。なお、20 ~ 40× クラスではグレードが上がると NA 値も大きくアップするが、60 ~ 100× クラスではそれほどでもない。このあたりの性能差と価格差をよく吟味することも重要である。

#### ・10× クラス

花粉分析では、目標物の発見や高倍率対物レンズ使用時の照準に使うだけであるが、無いと不便なレンズである。

Achromat で十分であろう。

#### ・20× クラス

40× クラスの対物レンズとならんで花粉の同定作業時に最もよく使われるレンズである。この程度の倍率だと開口数、平坦性にすぐれた Plan-Apochromat でもそれほど高価ではないので、できれば他のレンズのグレードを落とし、第一に選択すべきレンズといえる。Plan-Apochromat が予算的に無理な場合でも、せめて Plan 系は選択しておきたい。視野周縁でもピントのズレがないことから焦点調節の煩わしさが減少し、作業効率の悪化を避けられる。

#### ・40× クラス

最近の顕微鏡では広視野で観察できることから、常用レンズとすることも多い。この倍率になると花粉の全体像をとらえるにはピントを上下に移動しなければならないので、必ずしも Plan 系である必要はなく、開口数優先で選択するとよい。なお、開口数が 0.85 以上の乾燥系対物レンズではカバーガラスの厚さからくる収差を補正する補正環をもつものが多い。ただし、補正環を十分に使いこなすにはかなりの訓練が必要である。また、日常的な観察だけならば液浸系は不要である。

#### ・60× クラス

花粉の顕微鏡写真撮影では最もよく使用されるクラスである。液浸系対物レンズを予算にあわせて選択すれば良い。乾燥系対物レンズもあるが推奨しない。液浸系に比べ開口数に劣ることと、この倍率になると補正環をもつことになり操作が難しいからである。なお、写真撮影をしないのであれば購入しなくとも不便はない。

#### ・100× クラス

精密検鏡では最もよく使用されるクラスであり、事実上、液浸系対物レンズだけからの選択となる。開口数の高いレンズの性能を引き出すには、前述のようにその使用方法にもそれなりの注意が必要であることから、自身の観察方法と予算にあわせて選択すれば良い。コンデンサーとプレパラート間を油浸しないなら Achromat で十分である。なお、位相差検鏡で使用する対物レンズはほぼこのクラスの倍率に限られる。

## 2. コンデンサーの選択

コンデンサーの開口数は、使用する対物レンズの開口数と同等以上の製品であることが前提である。対物レンズがよくてもコンデンサーが悪くても、対物レンズの能力を発揮できない。収差補正の程度により Achromat, Aplanat,

Achromatic-Aplanat の各種類がある。これらの価格差は対物レンズのグレード差に比べれば小さい。干渉フィルターを使用すれば色収差は無視できるので、できれば球面収差を補正した Aplanat コンデンサー以上のものを選択したい。なお、位相差観察には専用コンデンサーが必要であるが、このコンデンサーは通常の明視野観察にも使用できるので、明視野用コンデンサーを別途購入する必要はない。

## 3. 接眼レンズの選択

顕微鏡の有効拡大倍率は対物レンズの開口数によって支配されており、その目安は開口数の約 1000 倍である。そのため、対物 60× (NA1.0) と接眼 15× の組合せは問題ないが、対物 100× (NA1.25) と接眼 15× の組合せではシャープな像は期待できない。接眼レンズには構造上いろいろなタイプがあるが、平坦性のよい Periplan タイプのものが望ましい。現在の主要メーカー製品は、ほとんどがこのタイプであるが確認すること。視野の広さやハイアイポイント（眼を離しても全視野を見渡せ、眼鏡のまま覗けるもの）であるかどうか重要な点であろう。また、前述した「日常作業の常用倍率」の観点からも接眼レンズの倍率を選択する必要がある。ただし、最近は各メーカーとも倍率の品揃えを絞ってきており、以前ほど選択肢は広くない。なお、旧型顕微鏡の接眼レンズのスリーブ径（装着部の直径）は  $\phi 23.2$  mm であるが、最近の顕微鏡の多くは  $\phi 30$  mm となっていて、双眼実体顕微鏡の接眼レンズと互換性がある。

## 4. 撮影装置の選択

顕微鏡に関連する装置のなかで最も選択に迷うもののひとつであろう。記録する像質を優先して選ぶならば Microflex など専用のフィルム写真撮影装置（一眼レフを使用するものではなく、リーフシャッターが組込まれた専用機）以外にないが、残念ながら現在は各メーカーとも生産を中止している。

プリントまでの手順が簡単なデジタル撮影装置では、ネガからの引伸ばしに相当する電子ズーム拡大はあまり期待できない。このため、フィルムでは当たり前であった低倍率、高解像度のネガから 5～10 倍程度引伸ばして得られるような解像度も高く焦点深度もそれなりに深い像は、Helicon Focus などのフォーカス合成ソフトを使用しないかぎり期待できない。しかし、合成に要する手間や時間は馬鹿にならない。像質は、撮像素子 (CCD や CMOS) の大きさと画素数によりほぼ決まるので、大きな撮像素子にこしたことはないが、花粉撮影では視野の広い範囲を撮影することは稀なので、こだわる必要はない。ピクトロなど熱現像転写プリンター等でサービスサイズの写真を得る場

合 (120×90 μm 程度のものを撮影しプリント上で 1000 倍で観察するのに相当)、少なくとも 2 メガピクセル以上の機種を選ぶべきであるが、現行機種では画素数が問題となることはほとんど無いであろう。撮影はモノクロモードで行なう。ただし、専用のデジタル撮影装置は、花粉撮影やその計測には使わない機能も多く含まれており、像質とコストパフォーマンスからみれば高価と言わざるを得ない。予算を抑えたいのであれば、市販のデジタル一眼やコンパクトデジカメなどの使用を考慮してもよいであろう (図 7)。この場合、1) 専用撮影装置に比べ操作性に劣り、2) デジタル一眼ではミラーやフォーカルブレンシャッターの動作ショック対策が必要で、3) コリメート法による撮影 (顕微鏡の接眼レンズにカメラレンズを押し当て両方の光軸を一致させて撮影する方法) となることから、カメラのもつ撮影レンズの収差が像質に影響することは覚悟する必要がある。特にコンパクトデジカメでは低コストのズームレンズを装着するものが多いため収差補正が十分でなく、機種に

よっては拡大撮影時に画像周辺部が同心円上に流れたりすることもある。ただし、必ずしも画質は専用のデジタル撮影装置がよく、コンパクトデジカメが劣るというものでもない。撮影装置の画像処理エンジンの影響の方が大きいようである。なお、デジタル写真では、多くの場合、撮影後に画像ソフトで補正が必要となるので、別途ソフトウェア費用が必要である。

#### 顕微鏡写真撮影

顕微鏡の機能・性能面の改善や、専用デジタル撮影装置の普及で誰もが容易に顕微鏡写真を撮れる時代になってきた。しかし、とりえず撮影し、画像ソフトで補正した安易な写真が多くなっているようである。素晴らしい写真は「顕微鏡の正しい知識の応用」と「わずかの工夫」で撮ることが可能である。とくに花粉の写真は、カラー撮影の必要がないことから、工夫次第で、高価な機材を使わなくとも、それに匹敵する写真の撮影も不可能ではない。一般に花粉の写真では

- ・高い解像度
- ・適切なフォーカスの合焦範囲
- ・適度なコントラスト

が満たされてれば「素晴らしい像」といえる。

顕微鏡写真の基本はあくまで「目的にあった素晴らしい像」を得ることである。撮影後の補正処理が可能なデジタル撮影であっても元の画像がよければ、後処理も容易であるだけでなく仕上がりも違ってくることはフィルム撮影と同様である。フィルムによる撮影法とデジタル撮影では、撮影時に考えておくことに違いはあるが、基本的な撮影法などは共通するので、ここではモノクロフィルムによる顕微鏡写真撮影法を中心に解説する。

もちろん、撮影時には照明法やゴミ・汚れなどの問題のほか、カラー写真では機材や色温度などの問題もあるが、これらは他の解説書 (Thomson & Bradbury, 1987: 伊東, 1999 など) などを参照してほしい。なお、以下の解説では、ケラー照明法による顕微鏡の使用を前提としている。

#### 1. フィルムと現像法の決定

「素晴らしい像」を得ることは、すなわち「素晴らしいネガ」を得ることである。これは撮影はもちろんであるが、フィルムの選択と現像にも大きく左右される。フィルムは仕上がりのコントラストと粒状性から選ぶことになる。一般的には粒状性のよいものはコントラストも高いので、これを選べばよいが、最近では各種フィルムの生産中止により、選択余地が少なくなっている。

白黒フィルムでは同じフィルムであっても現像液の種類と現像時間によって撮影感度はかなりの範囲で変更が可能



図 7 コンパクトデジカメ (Canon A620) を利用した撮影装置の例。



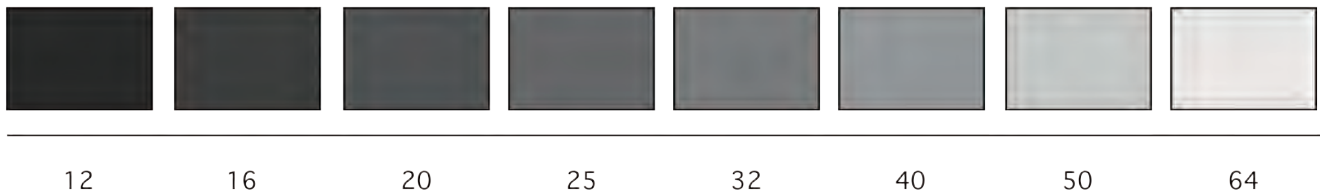


図8 オート露出時のISO感度設定とフィルム濃度変化の関係模式図。

である。また、これにより粒状性も変化する。硬調（ネガのコントラストが高い状態をさす）現像液は現像時間が短く、微粒子現像液では現像時間が長くて軟調となる傾向がある。どの現像法でも、適正の現像時間を超過するとネガは急速に硬調となり、粒状性も悪化する。しかし、一般に花粉標本の持つコントラストは想像以上に低く、フィルム箱に記載してある感度での撮影とその指定現像法では満足な結果は得られない。「素晴らしいネガ」を得るためには、現像条件までもひとつのシステムとして決定しておき、それを忠実に遵守することが大切である。現像液は、フィルムを一本現像するごとに疲労し現像能力が低下するので、理想的には常に新液を使用して、結果を一定にするべきである。現像をいいかげんに行なっては、それまでの撮影が台無しになってしまう。

そこで、以下のように現像法を先に決め、後で撮影感度を決定する方法を提案する。

例えば使用フィルムは、ILFORD PAN F plus または FUJI Neopan 100 ACROS を選んだとしてみよう。ILFORD PAN F plus はきわめて硬調になりやすく、FUJI Neopan 100 ACROS はそうでもないフィルムである（フィルムのデータシートやWEBを参照すること）。そこで、ILFORD PAN F plus では超微粒子現像液のD-23を、PAN-Fには硬調現像液のD-11を使うという具合に、最終的なネガの仕上がりを想定してフィルムと現像液を決定すればよい。もちろん一般的なD-76でもよい。なお、それぞれの現像液の調製法は写真専門誌を参照のこと。そして、これらの現像液を原液で使うのではなく、希釈して使用するのである。希釈使用して使い捨てにすることにより、現像液の疲労を無視でき、結果を一定にすることが期待できる。また、原液使用に比較し現像時間は長めとなることで、作業時間にゆとりが生まれ、現像時間超過によるネガの過度の硬調化を予防できる。現像時間の延長はD-76では原液：水＝1：1希釈の場合20℃で2分、原液：水＝1：2希釈で5分が一応の目安であるがフィルムにより変化する。

一例として、KODAK Technical Pan（販売終了製品）を使用し、D-23原液：水＝2：3希釈で20℃、13分現像

で処理を行なうことにした場合、以下のような手順で適正露出を導き出すことになる。このフィルムは複写用として知られ、コピー目的では通常ISO100相当で用いられることが多い。

顕微鏡に花粉のプレパラートをセットし、撮影装置のフィルム感度を、ISO6～80程度まで1/3ステップ毎に1枚ずつ変化させながら露光時間をAUTOにして撮影し、その時の設定感度を記録しておく。なお、ISO感度は数値が倍になると露光量（EV）が2倍になるようになっており、その間を1/3EVずつ増加するように区切ってある（例：ISO12-16-20-25-32-40-50-64-80-100-125-160-200）。これをテストフィルムとして、先の現像法で現像を行ない、ネガの調子を見る。ネガのコマ中もっとも適切なものの撮影感度が、「そのフィルムのその現像法における撮影感度」となる（図8）。この時、ネガの全体の調子をみれば、現像法の設定のミスかテスト露光の感度設定範囲のミスか判断できるので、調子が悪ければ、再度、設定を見直す。2、3回の繰り返して満足のいく組合せが見つけ出せるだろう。以後の顕微鏡撮影では、このように見つけ出したフィルムの感度設定と現像法を忠実に遵守すればよい。また、テスト撮影時、大きな花粉と小さな花粉、花粉表面と花粉断面のそれぞれについて同じように段階露光しておく、実際の写真撮影のときに露出補正の参考となる。一般に印画を作製する場合、花粉表面と花粉断面の撮影では適正露出が異なり、前者では露光時間をさらに長くする必要がある。また、撮影装置の測光範囲により大きな花粉と小さな花粉では適正露出が異なってくる。

## 2. 実際の撮影にあたって

### 1) レンズと最終拡大倍率

顕微鏡の解像力は対物レンズの開口数で決定される。一方、焦点深度もこの開口数と倍率により支配される。このことから、解像力が高く焦点深度も深い写真を撮影するためには、できるだけ倍率に比べて大きなNA値をもつ対物レンズ（同じNA値の対物レンズならば倍率の小さいもの）と倍率の低い投影レンズ（接眼レンズに相当）を組合せる

ことである。なお、対物レンズと投影レンズの間に中間変倍装置を入れている場合もあるが、撮影時には途中のレンズ枚数が増加するとかえって像質の悪化をまねきやすいので、倍率変換はしないほうがよい。

忘れてならないのは、ネガからの引伸ばしを含めた最終拡大倍率も開口数によって支配されており、その目安は NA 値の 1000 倍である（有効拡大倍率：既述）。すなわち、NA1.25 の対物レンズでは 1250 倍までの拡大が限度であり、それ以上引伸ばしてもぼやけた像になるだけである。また、コンデンサー絞りの NA 値は対物レンズの NA 値に優先して有効拡大倍率に影響することも忘れてはならない。なお、ネガの引伸ばし倍率が大きい場合には、フィルムの解像力も関係してくる。そのような場合には、染色をすこし強めにして標本コントラストを上げるとともに、超微粒子のフィルムを使用しないと良い結果は望めない。一般的には NA 値が高いものでも、モミ属 *Abies* などの大きな花粉は 40 倍、ブナ属 *Fagus* 程度のものなら 60 倍前後、クリ属などの小さな花粉は 100 倍の対物レンズを使用することになる。

### 2) コンデンサー絞りと視野（照野）絞りの使い方

対物レンズの開口数とコンデンサー絞りの開口数は一致させる必要のあることは常識であるが、実際には、像のコントラストを勘案して、コンデンサー絞りの開口数を対物レンズの開口数の 100～70% の間で調節することになる。一般的にはコントラストが強い標本では 100% 近くに、弱い標本ではやや絞りがみに使用することになるだろう。デジタル撮影では、後処理でコントラストを調整できるので、両者の開口数を一致させて撮影したほうがよい。

余分な光の入射を遮断してレンズ面や鏡筒内の乱反射を防止するため、視野絞りも、後のトリミングを考慮して、目的物の周辺部ギリギリまで絞込むこと。これによりフレアが減少し、像のコントラストがさらに増加する。

### 3) 油浸について

最終倍率が低い場合でも、油浸系レンズを使用した方がよいことは言うまでもない。油浸系レンズを使用する場合、対物レンズとプレパラート間だけでなくコンデンサーとプレパラート間も油浸オイルで充たさなければその性能を十分に引き出すことはできない。ただし、最終倍率が 1000 倍程度までの拡大では対物レンズとプレパラート間だけの油浸で事足りる。開口数の高いコンデンサーを使用しても、コンデンサーとプレパラート間を油浸オイルで充たさなければ開口数は 1.0 より大きくはならない。また、油浸操作時には、Achromatic-Aplanat タイプの使用を勧める。コンデンサーとプレパラート間の距離が他タイプのコンデン

サーにくらべ小さく、油浸オイルが垂れる心配が少なく操作しやすい。

### 4) 干渉フィルターの使用と染色

花粉の顕微鏡写真撮影では、染色処理は必須といっても過言ではない。花粉は赤色系に染色し、既述した緑色の干渉フィルターを使うことでコントラストの高い花粉像が撮影できる。もちろん、Apochromat でも干渉フィルターを使用すべきである。また、干渉フィルターは、なるべく透過する波長巾の狭いものがよい。また、フウロソウ属 *Geranium* やマツムシソウ属 *Scabiosa* など Acetolysis 処理で色づきすぎた花粉では赤色干渉フィルターと赤外線フィルムを使用することにより、写真のコントラストを低下させたりすることも可能である。

### 5) カバーガラスとスライドグラスおよび封入剤

これらの項目も像のコントラストに影響をあたえるので、光学系の一部と考え適切なものを選ぶ必要がある。カバーガラスは No. 1 規格のものより厚さのバラツキのすくない No. 1-S 規格を使用すべきである。また、高解像度の乾燥系対物レンズや水浸系レンズではカバーガラスの厚さや屈折率の差からくる収差を補正する補正環を正しく調整する必要がある。スライドグラスも No. 1 規格よりも薄手の No. 0 規格のものの方が良い結果を得られる。特に、位相差像の観察・撮影には No. 0 規格の使用を強く勧める。

封入剤もその屈折率が花粉外壁の屈折率 (1.48～1.60) と大きく異なるものを選択すると、像のコントラストが強くなる。花粉では、珪藻の場合とは逆に、外壁の屈折率よりも低い封入剤の方が良い結果がえられる。グリセリンやシリコンオイルなど固化しない封入剤は、撮影中、花粉が移動してしまう可能性があり不適である。なお、花粉の永久プレパラート作成にしばしば使用される EUKITT (屈折率: 1.53) は花粉外壁の屈折率に近いので、撮影をしない場合でも染色をしたほうがよい。厚く封入したプレパラートや薄く封入してもゴミが多くては、屈折率の違いに基づく球面収差やフレアなどの影響で像質の低下をまねく。油浸対物レンズの場合、グリセリンジェリーで厚く封入したプレパラートではレンズ性能を発揮できない。また、位相差像撮影では、通常撮影以上に封入時の厚さやゴミに注意が必要である。

### 6) 焦点合わせ

走査型電子顕微鏡と異なり、焦点深度の極端に浅い光学顕微鏡写真では焦点を合わせる位置が大切である。すなわち、なるべく少ない枚数（可能ならば 1 枚）でその花粉を示す必要から、撮影に当たっては、花粉の特徴が最も示さ

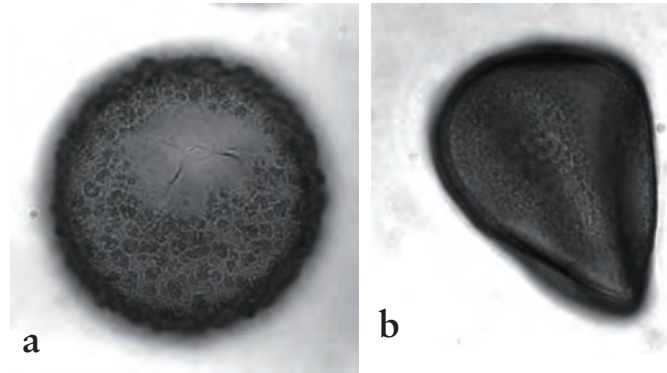


図9 光学顕微鏡写真の作例 (a: コウヤマキ *Sciadopitys verticillata*, b: ヤマトヌキラン *Carex angustisquama*). 両者ともに Nikon S-ke 顕微鏡にて, Abbe コンデンサー, 位相差用短頸対物レンズ DM 100×/1.25, 接眼投影レンズ HK 5× を使用し, KODAK Technical Pan フィルムを ISO25 に設定して Nikon Microflex AFM で撮影し, D-23 原液: 水 = 2:3 希釈で 20°C, 13 分で現像.

れている部分に焦点を合わせる必要がある。できれば, そのようなポイントが 1 枚中に複数あることが望ましい。そのため, 各花粉の特徴や区別点が十分理解できていなければ良い写真撮影はできない (図 9a, b)。

#### 7) 振動の防止

顕微鏡写真では拡大率の高いことや, 低感度フィルムを使うことによる長時間露光のため, 案外, 振動の影響を受けるものである。人が頻繁に出入りする室内や通路近くの部屋では特に注意が必要である。白黒フィルムでは色温度を気にしなくてもよいので, 光源電圧に余裕がある場合には, ランプを超輝して露光時間を短くしてやるとよい。また, 予算的に可能ならば, 専用防振台の上に顕微鏡を設置する

ことも考慮すべきである (図 10)。

なお, 化石花粉の撮影は同定作業時に平行して行なうのが原則である。撮影に適した状態の花粉かどうかは, 撮影作業の焦点合わせの時に初めてわかることが多い。同定作業終了後の撮影では, 目標を探す労力や焦点合わせをして撮影に不向きとわかった時のことを思うと大いなる時間と労力の無駄である。

最後に, 本解説を参考に, それぞれの目的にあった効率的な作業手順の構築や機器の選択・使用法をさらに工夫してもらえば幸いである。

#### 参考文献等

- 化石花粉の分離方法としては以下の書籍が参考となる  
Bennett, K. D. & Willis, K. J. 2001. Pollen. "Tracking Environmental Change Using Lake Sediments. Volume 3: Terrestrial, Algal, and Siliceous Indicators" (Smol, J. P., Birks, H. J. B. & William, M. L., eds.), 5–32. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.  
Brown, C. A. 1960. *Palynological Techniques*. 188 pp. Baton Rouge,  
Gray, J. 1965. Extraction techniques. "Handbook of Paleontological Techniques" (Kummel, B. & Raup, D., eds.), 530–587. W. H. Freeman and Company, San Francisco  
中村 純. 1967. 花粉分析. 232 pp. 古今書院. 東京.
- 光学顕微鏡全般の情報源としては以下の書籍や WEB サイトがたいへん有益である  
Bradbury, S. 1984. *An Introduction to the Optical Microscope*. 85 pp. Royal Microscopy Society Microscopy Handbook, No. 1. Oxford University Press, Oxford.

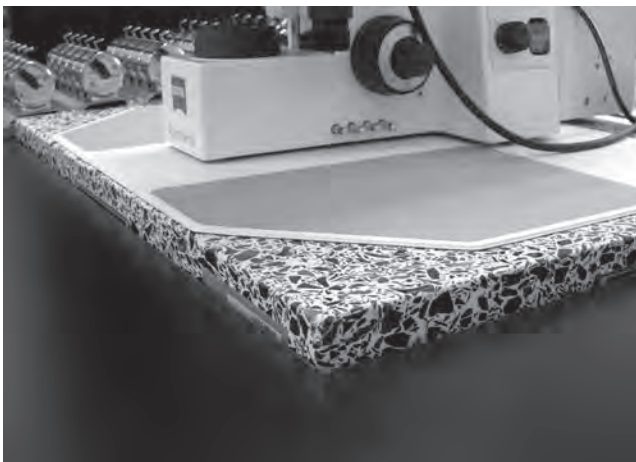


図 10 防振台上の顕微鏡システム.



伊東丈夫. 1999. 光学顕微鏡写真撮影法—基礎と効果的な観察・記録法の実例 改訂版. 195 pp. 学際企画. 東京.

Needham, G. H. 1958. *The Practical Use of the Microscope including Photomicrography*. 493 pp. Charles C Thomas Pub, Springfield.

田中克己. 1968. 顕微鏡の使い方 増訂版. 280 pp. 裳華房, 東京.

Thomson, D. J. & Bradbury, S. 1987. *An Introduction to Photomicrography*. 74 pp. Royal Microscopy Society Microscopy Handbook, No. 13. Oxford University Press, Oxford.

Molecular Expressions, <http://micro.magnet.fsu.edu/> (2011.4.10 参照).

Microscopy-UK, <http://www.microscopy-uk.org.uk/> (2011.4.10 参照).

### 3. 顕微鏡および周辺機材のメーカーおよび入手先について

Leica (Leitz), Nikon, Olympus, Zeiss といった現在の世界4大顕微鏡メーカーでも、近年の下位機種は中国、シンガポール、インド、メキシコなどで生産されている。これらメーカーの下位機種が選択対象となる場合は、以下のメーカー製品も考慮すべきであろう。

・Meiji Techno (日本), <http://www.meijitechno.com/>  
国内では教育用や工業用顕微鏡メーカーとして知られるが、欧米では大学や病院などの検査機関において日本の2大メーカーに次ぐ会社として知名度が高い。直販も行っている。

・Motic (中国), <http://www.motic.com/>  
島津理化がいくつかの機種を扱っている。欧米では病院や研究機関の検査用として知名度が高い。比較的安価な専用デジタル撮影装置もそろえている。

・Lomo (ロシア), <http://www.lomo.ru/site/english/index.html>

旧ソビエトの光学製品を支えた会社。旧 Zeiss Jena の系統をひく製品をそろえており、塗装など製品表面の仕上げはともかく、その光学性能には定評がある。<http://www.eastsci.com/> より購入できる。

汎用デジタルカメラの顕微鏡用アダプターは、いくつかの顕微鏡メーカーのほかサードパーティからも提供されている。以下のWEBサイトが参考になろう。

マイクロネット株式会社, <http://www.microscope-net.com/> (2011.4.10 参照)

Microscope World, <http://www.microscopeworld.com/> (2011.4.10 参照)

Zarf Enterprises, <http://www.zarfenterprises.com/> (2011.4.10 参照)

Brunel Microscopes Ltd., <http://www.microscopyimaging.co.uk/> (2011.4.10 参照)

### 4. 顕微鏡写真に適した白黒フィルム製品について

現在生産中の超微粒子フィルムには、ILFORD PAN F plus, Fotokemika efke KB25, MACO Rollei ORTHO 25, MACO Rollei Advanced Technical Pan, ADOX CMS 20 などがあるが、国内で比較的安定して入手できるのは ILFORD 社および MACO 社の製品であり、都市部のカメラ量販店やプロラボなどで販売されている。

(<sup>1</sup> 〒700-0005 岡山市理大町1-1 岡山理科大学理学部基礎理学科)

<sup>1</sup>Department of Applied Science, Faculty of Science, Okayama University of Science, Ridai-cho 1-1, Okayama 700-0005, Japan)

(2012年5月7日受理)