

## 魚礁と魚類の関係 千葉県における人工魚礁の魚類と位置

佐藤 寿

### Relationship between the Artificial Reefs and Fishes Fishes and their location around the Artificial Reefs in Chiba prefecture

Hisashi SATO

#### はじめに

毎年県内各地先海面に各種の人工魚礁が設置されているが、本研究は設置後において、各種魚礁にどのような魚類が蟄集しているか、平成2年度および平成3年度(2カ年間)において、魚礁調査研究事業の一環として実施したものである。

人工魚礁が魚類の生息環境に及ぼす影響について庄司<sup>1)</sup>は、魚礁設置後の魚類の種類、量、生態を明らかにし、魚礁に分布している魚類を正確に把握することができれば、魚礁が魚類に与える影響範囲を明らかにすることが出来るとしている。

そこで、魚礁付近の漁獲調査、魚群分布調査、環境調査、潜水調査を実施した。魚礁および魚礁周辺に蟄集する魚類の状況について得られた結果から、魚礁と魚類の関係について若干の知見を得たので報告する。

本文に先立ち、漁獲試験調査に協力くださった当場の第二ふさみ丸の船長山口昭夫、秋原安行、他乗組員の方々に感謝の意を表します。

#### 材料と方法

漁獲調査および魚群分布調査は、図1に示す銚子人工礁・九十九里人工礁・九十九里中央礁・東安房人工礁および内房南部海域礁。潜水調査は、銚子黒生沖並型魚礁・飯岡沖並型魚礁・銚子人工礁・九十九里中央礁・大原沖大型魚礁・相浜沖並型魚礁・白浜沖並型魚礁で実施した。なお、本調査は平成2年度から平成3年度の2カ年に実施した。

漁獲調査は、底刺網・底延縄および中層延縄の3種類の漁法のうち調査毎に、3種類全部または一部を使

用して実施した。また、漁獲された主要魚種の胃内容物をも調べた。調査に使用した漁具は、底刺網(ナイロンフィラメント4号、目合13.5cm, 20掛, 仕立て上がり長さ55m/反), 底延縄および中層延縄(クレモナ3.0mm, 釣針50本, 仕立て上がり長さ156m/鉢)で、調査毎で底刺網は15~50反/回, 底延縄および中層延縄では4~8鉢/回をそれぞれ使用し、延べにして底刺網は166反, 底延縄および中層延縄は23鉢で実施した。

これらの漁具の投網は午後行い、揚網は翌日の早朝で、投網と揚網は午前とした。また、投網と投網の方法は、なるべく礁に並行に直線的に、しかも礁から約100m以内の間隔でそれぞれ実施した。潜水調査は、スキューバ潜水により、写真撮影および目視観察を(株)スガ・マリンメカニクに委託して実施した。調査にあたっては、あらかじめ目標地点に電波測位機等により調査船を誘導し、魚群探知機で魚礁を照合の上ブイを投入して潜水の目標位置とした。1回の潜水時間は約20~30分、潜水行動範囲は調査点から半径約25~30mの範囲内であった。魚群分布調査は、漁獲試験調査時に調査船の魚群探知機(KF-42AK-23:海上電気社製)を使用した。この魚群探知機の記録紙には1分毎に時間を記録し、これらの走査範囲は、礁域から外側へ200m以内とし測線間隔は、東西方向に約100~200mで航走した、なお、調査は日中に限った。

これら調査には、千葉県水産試験場沿岸調査船第二ふさみ丸(33.0トン, ディーゼル320馬力, 5人乗組員)を充当した。それぞれの位置確認には、精密電波測位機(トリスポンダー:アメリカのデルノーテ社製)と電波航法装置(G.P.S:日本無線社製)をそれぞれ使用した。

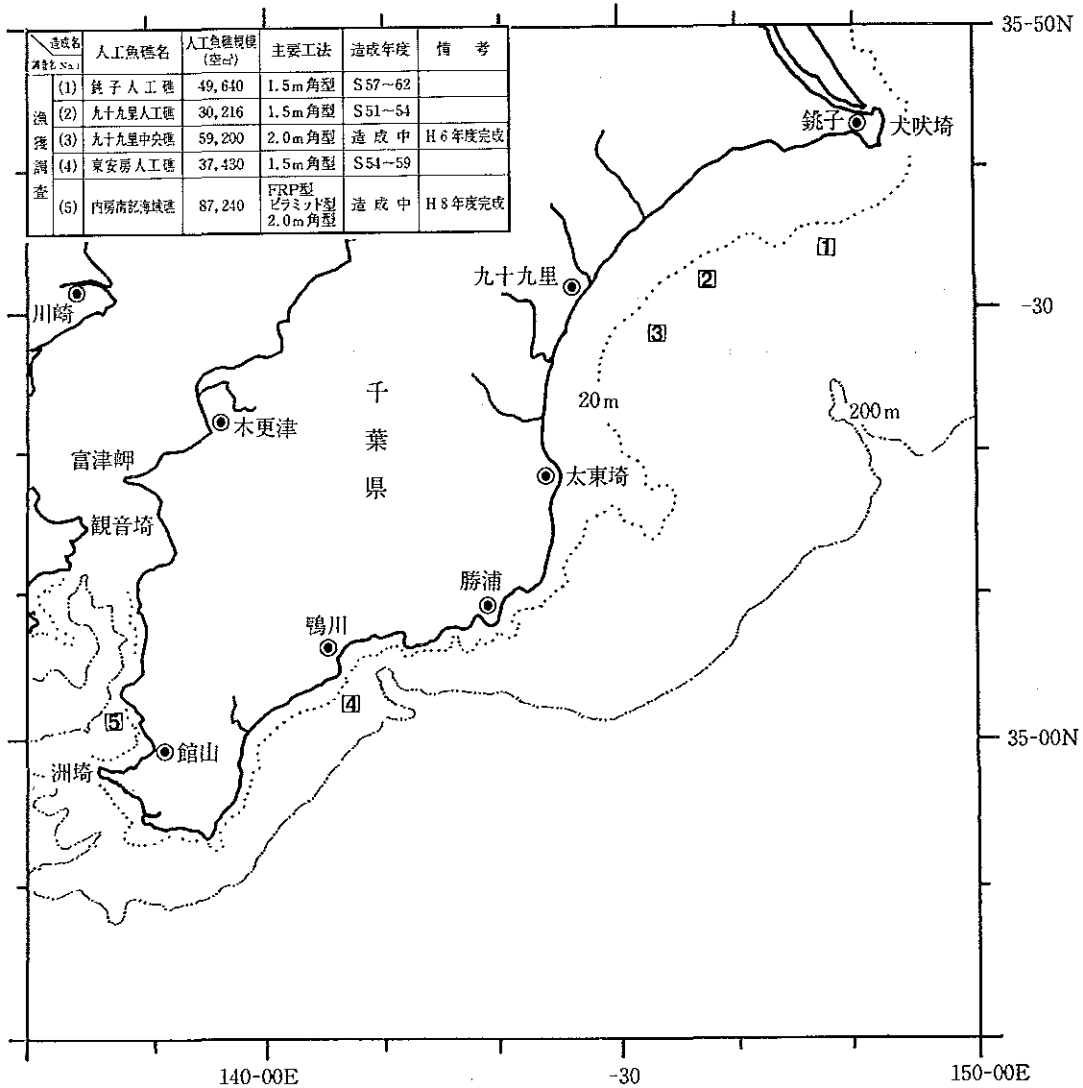


図1 漁獲および魚群分布調査海域

## 結果

### 1. 漁獲調査

#### a) 魚種

全調査期間中に漁獲された魚種は49種で、その他水産動物が4種で合計53種であった(表1)。

このうち、固体数の多かった魚種は、メイトガレイ、マコガレイ、エイ類などであり、漁獲回数の多かった魚種は、ヒラメ、チダイ、メイトガレイ等であった。また、この他に漁獲された水産動物は、マダコ、ガザミ、シャコ、イセエビであった。これらの漁獲調査は、底刺網と底延縄の違いはあるが、調査日毎1反および1鉢当たりの羅網と釣獲個体数は全般的に少ない。漁具別での底刺網は、カナドの1.42尾が最高であったほか、次いでマコガレイの1.25尾、マトウダイの0.70尾、

エゾイソアイナメの0.58尾、エイ類の0.57尾、メイトガレイの0.50尾で、最も少ないのはマダコの0.02尾であった。また、一方の底延縄での最高はヒメの2.13尾のほか、次いでカナド・ニセフサカサゴ・アナゴの各0.33尾、マサバの0.25尾、アカアマダイ・ヒメコダイの各0.13尾で、最も少ないのはナメタガレイ・エイ類の各0.11尾であった(表2)。主要魚類の体長モード(平均)は、ヒラメが32~49cm(32cm)、マトウダイが29~44cm(35cm)、アイナメが25~41cm(35cm)、マコガレイが20~39cm(27cm)、エゾイソアイナメが15~35cm(26cm)、メイトガレイが19~29cm(24cm)であった(図2)。

これら魚類のうち最大個体は、平成2年度(九十九里中央礁)の6月で底刺網によるヒラメの49cm、また、最小個体は平成3年度(東安房人工礁)の5月による底

表1 刺網および延縄調査における漁獲物の種類別個体数

調査年月日	(平成2年度)				(平成3年度)						計 (166反) (23鉢)	
	6/1	7/20	12/18	3/6	5/21	5/22	7/19	9/25	11/27	2/14		
1	ヒラメ	5		3	8		2	2				20
2	マダイ	1										1
3	チダイ	2			2		2	4		1		11
4	イシダイ	1		1								2
5	アカアマダイ		1				2		1			4
6	マトウダイ								7	5		12
7	ヒメコダイ		1						1			2
8	タカノハダイ			1								1
9	ナメタガレイ										1	1
10	メイタガレイ	7			25			3	1			36
11	マコガレイ	1			3					25		29
12	ムシガレイ						1					1
13	ガンゾウビラメ				1			2				3
14	クロウシノシタ				1							1
15	カサゴ	1		1					1			3
16	コクチフサカサゴ			1								1
17	ニセフサカサゴ					2	4					6
18	アヤメカサゴ								1			1
19	アイナメ			4	4							8
20	カナガシラ								5			5
21	メバル							1				1
22	ウスメバル							1				1
23	カナド		1			2	17					20
24	エゾイソアイナメ				2		7		2			11
25	カワハギ			2	1			1		1		5
26	ウマジラハギ			7	2							9
27	イシナギ								1			1
28	オオクチイシナギ						1					1
29	アカメフグ				1							1
30	ヨリトフグ					1						1
31	マサバ		2						1			3
32	アンコウ類								4			4
33	ヨロイタチウオ								1			1
34	アナゴ					2						2
35	クロアナゴ			2								2
36	コチ							1				1
37	アカグツ						1					1
38	ミシマオコゼ								2			2
39	トラギス	2			2				1			5
40	メゴチ	6						4		2		12
41	エイ類			17	6					7	1	31
42	マダコ	1		1	1							3
43	マイワシ	3										3
44	ヒメ		17									17
45	アカカマス			1								1
46	イセエビ			4								4
47	ホシザメ			2								2
48	シログチ							1				1
49	マツカサウオ								1			1
50	ダイナンウミヘビ								2			2
51	シヤコ								2			2
52	ベラ									1		1
53	ガザミ									3		3
計	種類	11	5	14	14	4	9	10	17	8	2	53
	数量	30	22	47	59	7	37	20	34	45	2	303



刺網でのエゾイソアイナメの15cmと7月(内房南部海域礁)の底延縄によるヒメの15cmであった。底生性魚類のヒラメ・カレイ類(メイタガレイ・マコガレイ)等およびマダイは、銚子・九十九里海域に多く、アカアマダイ・マトウダイ・アンコウ類は東安房海域以南で多く見られた。

**b) 漁獲物重量**

漁獲種類の重量を調査日毎に整理して表3に示した。

この2カ年間の総漁獲重量は122.1kgにおよんでいるが、このなかにはホシザメとガザミおよび一部のエイ類は含まれていない。これらのなかで最も多かったのは、ヒラメの15.7kgであり、次いでクロアナゴの13.5kg, マトウダイの8.9kg, メイタガレイの8.6kg, マコガレイの7.3kg, マダコの6.3kg等であった。これら漁獲種類の一反および一鉢当たりの重量を表4に示した。

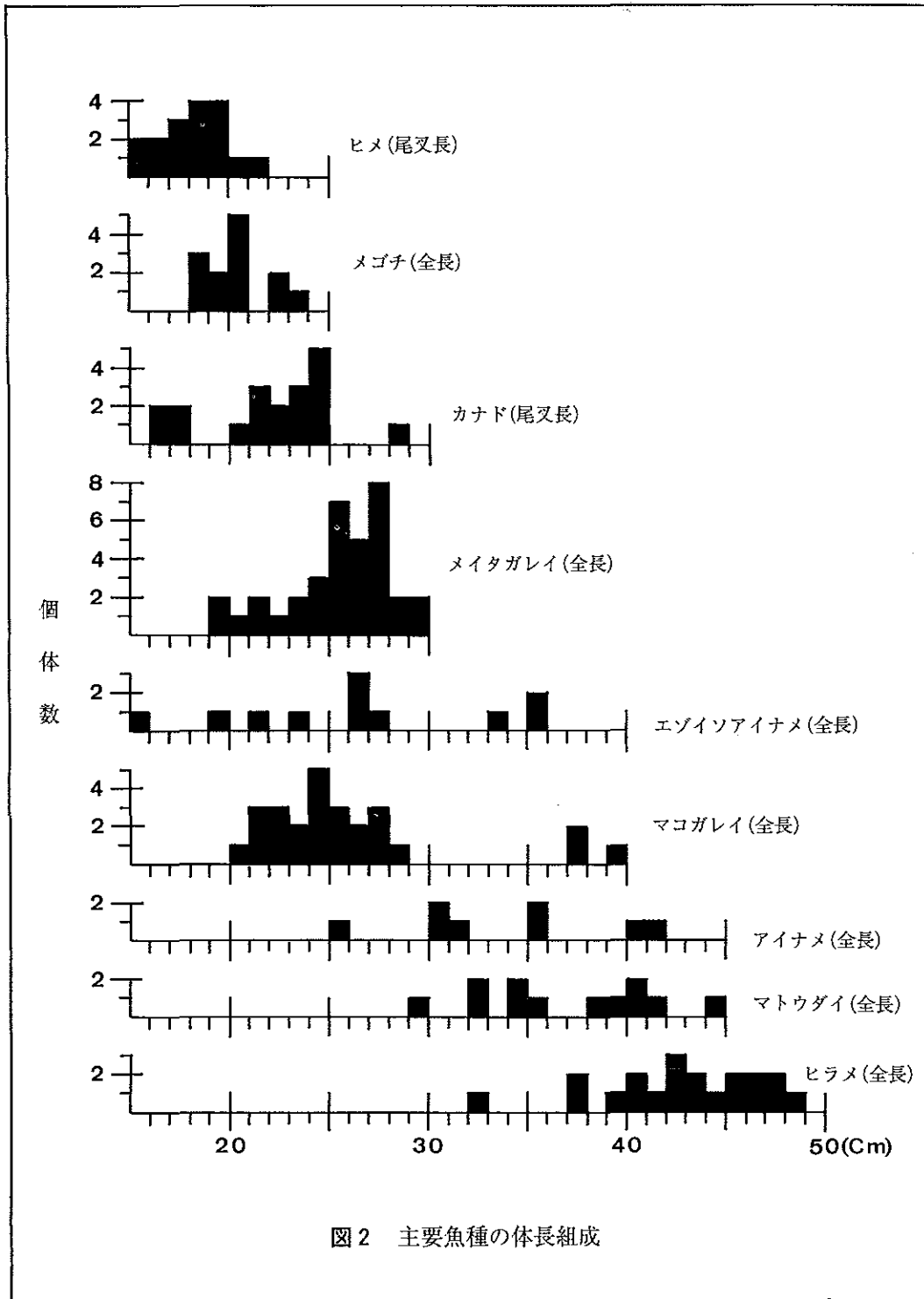


図2 主要魚種の体長組成

表3 漁獲種類の重量(g)

調査年月日	(平成2年度)				(平成3年度)						計 (166反) (23鉢)	
	6/1 24反	7/20 8鉢	12/18 30反	3/6 50反	5/21 6鉢	5/22 12反	7/19 20反	9/25 10反	11/27 20反	2/14 9鉢		
1	ヒラメ	4,943.4		2,600.0	5,720.0		1,240.0	1,200.0			15,703.4	
2	マダイ	1,471.0									1,471.0	
3	チダイ	564.0			770.0		510.0	1,870.0	610.0		4,324.0	
4	イシダイ	857.4		180.0							1,037.4	
5	アカアマダイ		292.0			2,480.0		1,150.0			3,922.0	
6	マトウダイ							5,780.0	3,180.0		8,960.0	
7	ヒメコダイ		95.0					105.0			200.0	
8	タカノハダイ			620.0							620.0	
9	ナメタガレイ									570.0	570.0	
10	メイタガレイ	1,871.9			5,835.0		800.0	140.0			8,646.9	
11	マコガレイ	612.7			1,340.0				5,350.0		7,302.7	
12	ムシガレイ					180.0					180.0	
13	ガンゾウビラメ				20.0		220.0				240.0	
14	クロウシノシタ				150.0						150.0	
15	カサゴ	402.3		560.0				370.0			1,322.3	
16	コクチフサカサゴ			140.0							140.0	
17	ニセフサカサゴ					890.0	1,420.0				2,310.0	
18	アヤメカサゴ							250.0			250.0	
19	アイナメ			2,290.0	2,165.0						4,455.0	
20	カナガシラ							630.0			630.0	
21	メバル						180.0				180.0	
22	ウスメバル						350.0				350.0	
23	カナド		103.0			160.0	2,175.0				2,438.0	
24	エゾイソアイナメ				521.0	2,250.0		200.0			2,971.0	
25	カワハギ			530.0	120.0		320.0		360.0		1,330.0	
26	ウマジラハギ			2,370.0	1,070.0						3,440.0	
27	イシナギ							2,410.0			2,410.0	
28	オオクチイシナギ						1,820.0				1,820.0	
29	アカメフグ				1,670.0						1,670.0	
30	ヨリトフグ					490.0					490.0	
31	マサバ		1,210.0					620.0			1,830.0	
32	アンコウ類							3,410.0			3,410.0	
33	ヨロイタチウオ							2,300.0			2,300.0	
34	アナゴ					220.0					220.0	
35	クロアナゴ			13,500.0							13,500.0	
36	コチ							340.0			340.0	
37	アカグツ					90.0					90.0	
38	ミシマオコゼ							440.0			440.0	
39	トラギス	228.3			150.0			120.0			498.3	
40	メゴチ	212.0					130.0		120.0		462.0	
41	エイ類			(17尾)	(6尾)				6,700.0	720.0	7,400.0(23)	
42	マダコ	2,200.0		2,600.0	1,500.0						6,300.0	
43	マイワシ	353.8									353.8	
44	ヒメ		1,639.0								1,639.0	
45	アカカマス			80.0							80.0	
46	イセエビ			2,200.0							2,200.0	
47	ホシザメ			(2尾)							(2)	
48	シログチ							360.0			360.0	
49	マツカサウオ							180.0			180.0	
50	ダイナンウミヘビ							600.0			600.0	
51	シヤコ							35.0			35.0	
52	ベラ								180.0		180.0	
53	ガザミ								(4匹)		(4)	
計		13,716.8	3,339.0	27,670.0(19尾)	21,031.0(6尾)	1,760.0	12,165.0	5,770.0	18,740.0	16,570.0(4匹)	1,290.0	122,651.8(29)

表4 漁獲種類別1反および1鉢当たりの重量(g)

調査年月日	(平成2年度)				(平成3年度)						平均 (166反) (23鉢)	
	6/1 24反	7/20 8鉢	12/18 30反	3/6 50反	5/21 6鉢	5/22 12反	7/19 20反	9/25 10反	11/27 20反	2/14 9鉢		
1	ヒラメ	206.0		86.7	114.4		103.3	60.0			94.6	
2	マダイ	61.3									8.9	
3	チダイ	23.5			15.4		42.5	93.5		30.5	26.0	
4	イシダイ	37.5		6.0							6.3	
5	アカアマダイ		36.5				206.7		115.0		20.8	
6	マトウダイ							578.0	159.0		54.0	
7	ヒメコダイ		11.9					10.5			1.1	
8	タカノハダイ			20.7							3.7	
9	ナメタガレイ									63.3	3.0	
10	メイタガレイ	78.0			116.7			40.0	14.0		52.1	
11	マコガレイ	25.2			26.8					267.5	44.0	
12	ムシガレイ						15.0				1.1	
13	ガンゾウピラメ				0.4			-11.0			1.5	
14	クロウシノシタ				3.0						0.9	
15	カサゴ	16.8		18.7					37.0		8.0	
16	コクチフサカサゴ			4.7							0.8	
17	ニセフサカサゴ					148.3	118.3				12.2	
18	アヤメカサゴ								25.0		1.5	
19	アイナメ			76.3	43.3						26.8	
20	カナガシラ								63.0		3.8	
21	メバル							9.0			1.1	
22	ウスメバル							17.5			2.1	
23	カナド		12.9			26.7	181.3				12.9	
24	エゾイソアイナメ				10.4		187.5		20.0		17.9	
25	カワハギ			17.7	2.4			16.0		18.0	8.0	
26	ウマジラハギ			79.0	21.4						20.7	
27	イシナギ								241.0		14.5	
28	オオクチイシナギ						151.7				11.0	
29	アカメフグ				33.4						10.1	
30	ヨリトフグ					81.7					21.3	
31	マサバ		151.3						62.0		9.7	
32	アンコウ類								341.0		20.5	
33	ヨロイタチウオ								230.0		13.9	
34	アナゴ					36.7					9.6	
35	クロアナゴ			450.0							81.3	
36	コチ							17.0			2.1	
37	アカグツ						7.5				0.5	
38	ミシマオコゼ								44.0		2.7	
39	トラギス	9.5			3.0				12.0		3.0	
40	メゴチ	8.8						6.5		6.0	2.8	
41	エイ類			(0.6)	(0.1)					338.5	39.6(0.1)	
42	マダコ	91.7		86.7	30.0						38.0	
43	マイワシ	14.7									2.1	
44	ヒメ		204.9								71.3	
45	アカカマス			2.7							0.5	
46	イセエビ			73.3							13.3	
47	ホシザメ			(0.1)							(0.01)	
48	シログチ							18.0			2.2	
49	マツカサウオ								18.0		1.1	
50	ダイナンウミヘビ								60.0		3.6	
51	シヤコ								3.5		0.2	
52	ベラ									9.0	1.1	
53	ガザミ									(0.2)	(0.02)	
	計	573.0	417.5	922.5(0.7)	420.6(0.1)	293.4	1,013.8	288.5	1,874.0	828.5(0.2)	143.3	899.8(0.13)

c) 漁獲位置

各調査日毎の羅網位置および釣獲位置を図3-1~9に示した。

平成2年度の底刺網と底延縄での漁獲位置は、礁真上から210mの範囲であった。これら4回の調査のうち3回は底刺網での銚子・九十九里海域で、礁真上の魚類はカワハギ・メイトガレイ・エイ類の3魚種のみで、礁側近よりの主魚類はメイトガレイ・ヒラメ・チダイ等であった。また、内房南部海域礁の底延縄とサビキ釣りは、礁真上での魚類はヒメのみで、その他はマサバ・ヒメ・ヒメコダイなどであった。

平成3年度の底延縄での漁獲位置は、礁側より20~360mの範囲内で、漁獲魚類は東安房人工礁で礁側近よりやや離れた場所でカナガシラ・カサゴで、礁側近もやはりカサゴ・カナガシラ・サメ類であった。また、銚子人工礁では、全調査期間を通じてナメタガレイが1尾だけ礁より140m離れた位置で漁獲があった。

底刺網による東安房人工礁での漁獲は、礁側近より200mの範囲内で、サメ類・カナガシラ・カサゴ・エゾイソアイナメ・ダイナンウミヘビ等で、礁より離れ

た位置はサメ類が主であった。九十九里中央礁での2度の底刺網による漁獲は、礁真上より360mの範囲で、マトウダイ・マコガレイで、礁から離れた魚類もマトウダイ・マコガレイ・チダイ・ヒラメなどであった。

d) 主要魚種の胃内容物

漁獲魚類を測定した171尾の胃内容物を表5に示した。

漁獲された主要魚類には、空胃状態の個体が非常に多く、カサゴ・ニセフサカサゴ・メバル類で100%、ヒラメで81.8%、マトウダイとアンコウ類で75.0%、カナガシラで66.7%、マコガレイで65.5%の順であった。これらの魚のうち、魚類を捕食していたのはネズミコチ・イシダイで、主にイワシ類の捕食が多かった。エビ類およびカニ類の捕食は、アイナメ・カナドに多く、タコ類・イカ類・ゴカイ類などの捕食はガンゾウビラメ・アイナメで、環形動物のユムシ類はカナガシラ・メイトガレイ・マコガレイ・チダイ等が主であった。また、多種類を捕食していた魚類は、アイナメ・カナド・チダイなどであった。一種類のみを捕食していた魚類は、イシダイ・アンコウ類であった。なお、

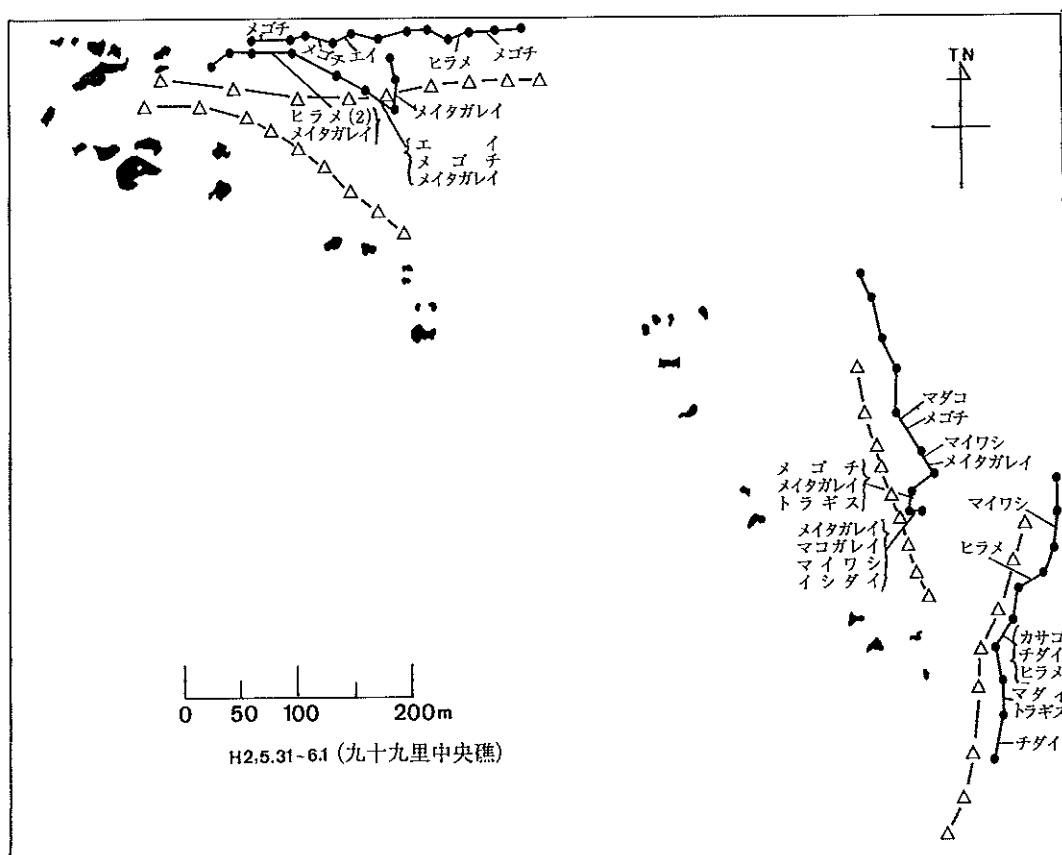


図3-1 漁獲魚種の羅網位置

△-△ 投網 ●-● 揚網



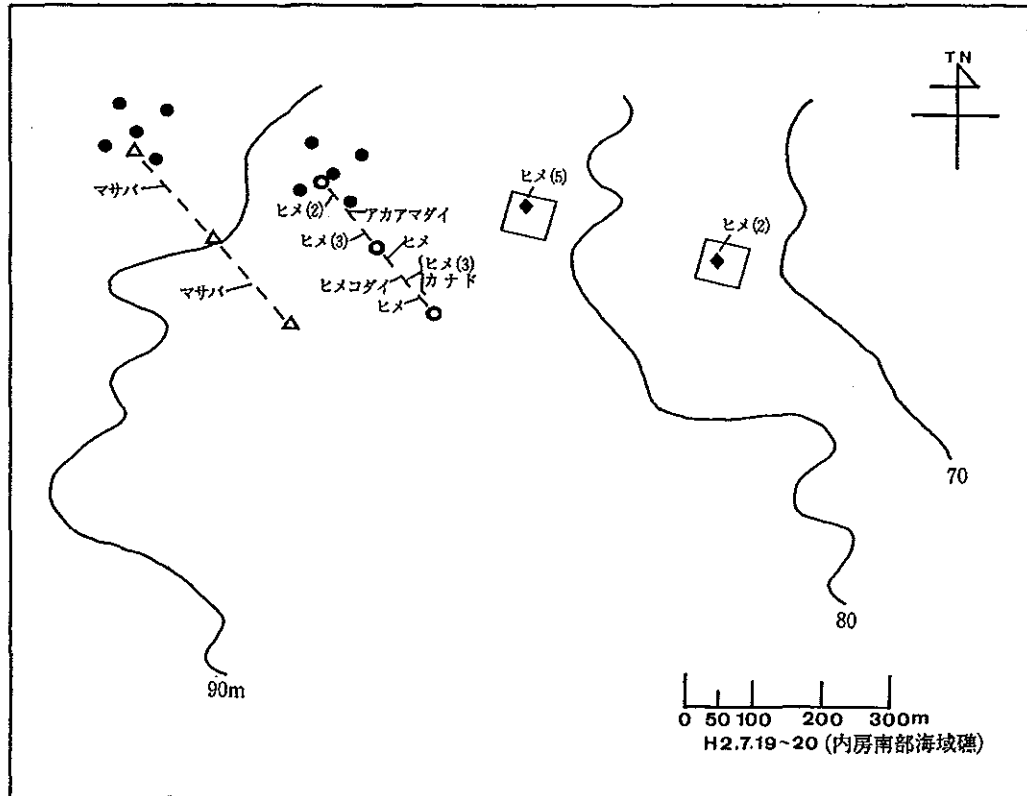


図3-2 漁獲魚種の釣獲位置

△—△ 中層延縄 ○—○ 底延縄 ◆ サビキ釣り  
 □ 2.0m角型 △:ピラミッド型

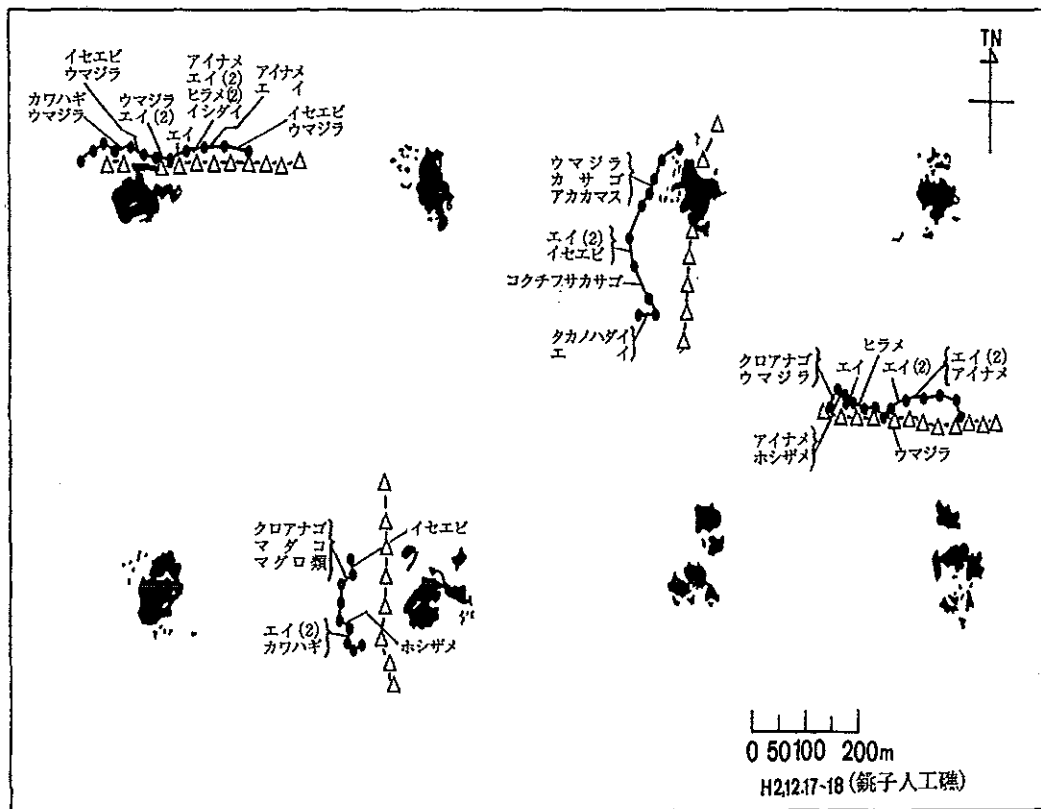


図3-3 漁獲魚種の罾網位置

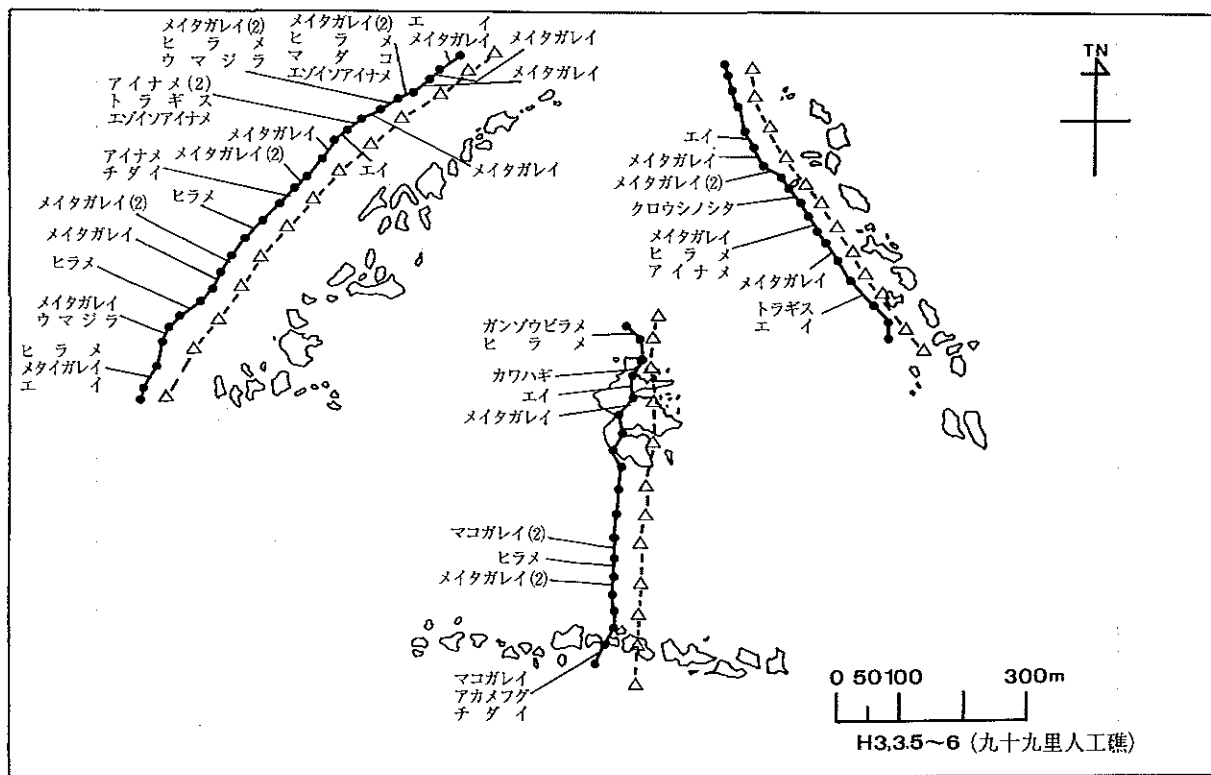


図3-4 漁獲魚種の罹網位置

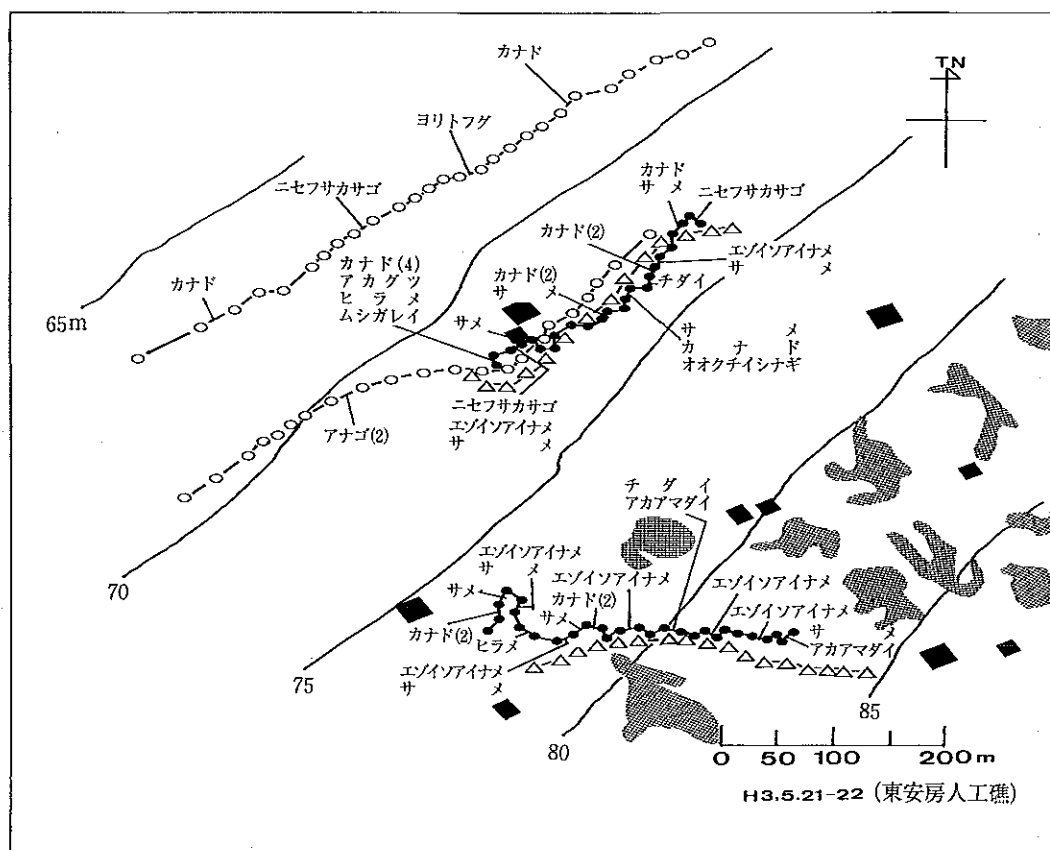


図3-5 漁獲魚種の罹網・釣獲位置

■ 人工礁    ◻ 天然礁    ○—○ 揚縄    ●—● 揚網

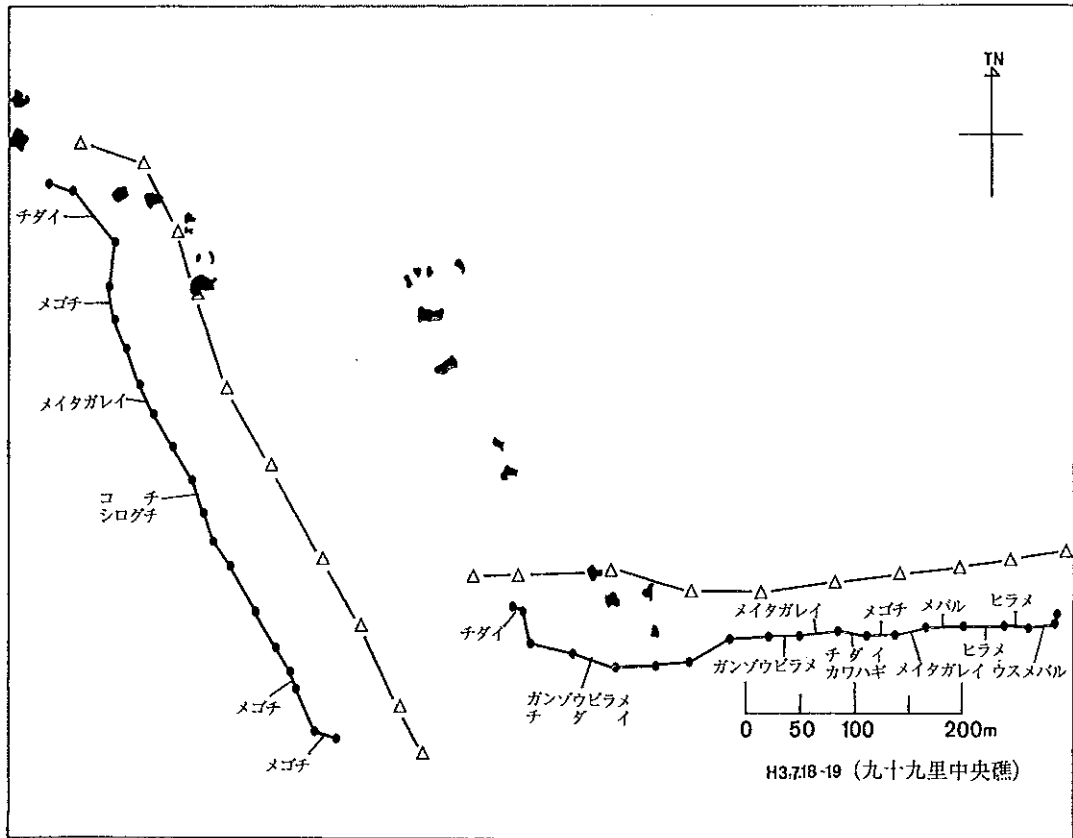


図3-6 漁獲魚種の罹網位置

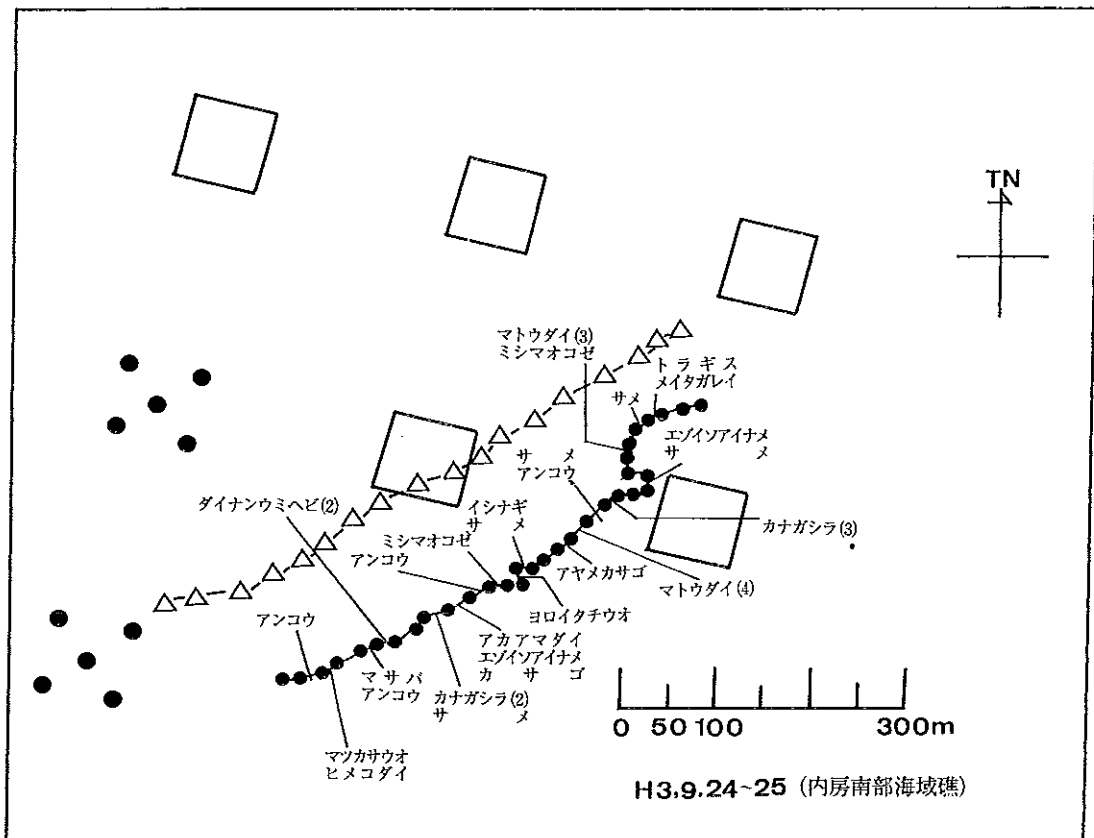


図3-7 漁獲魚種の罹網位置

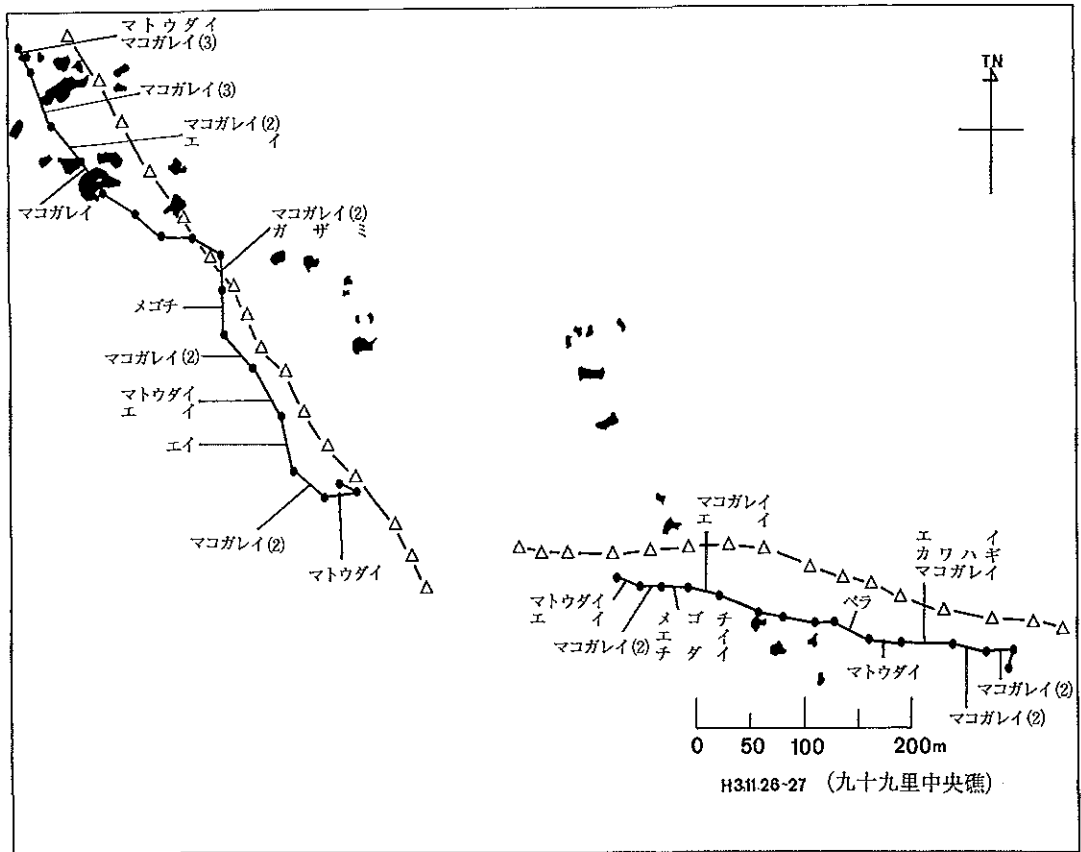


図 3-8 漁獲魚種の罹網位置

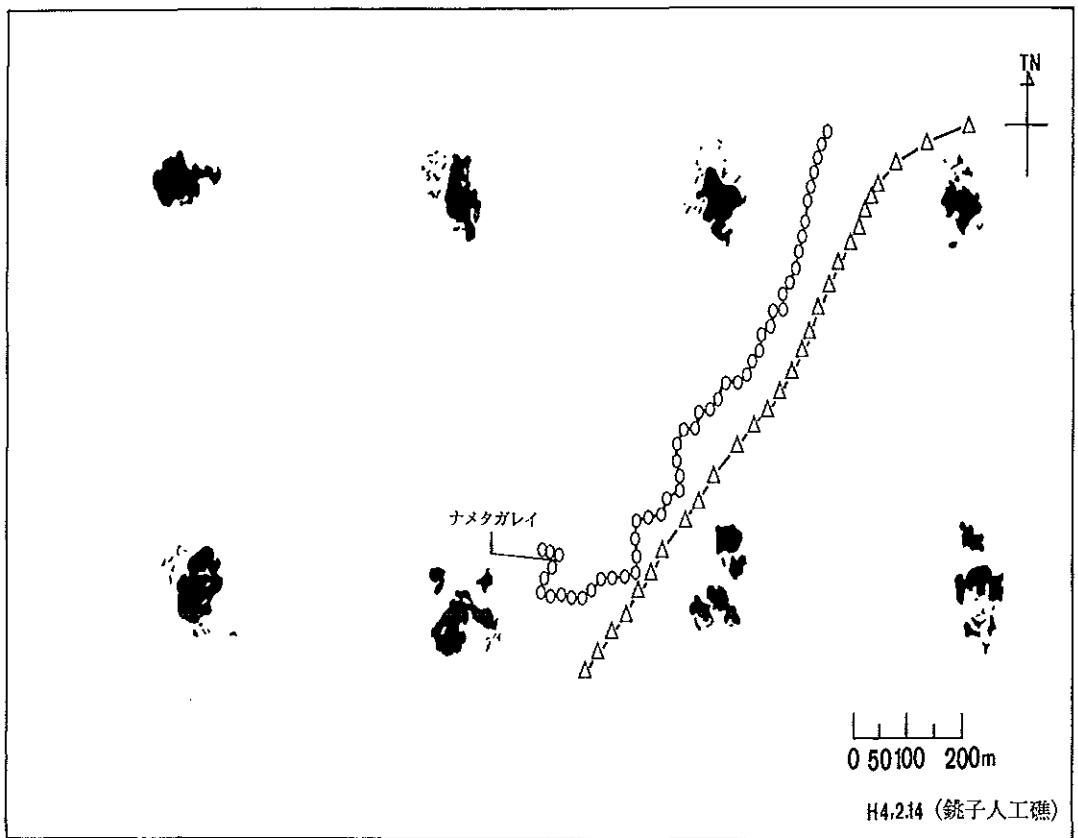


図 3-9 漁獲魚種の釣獲位置

表5 主要魚類の胃内容物 (%)

魚種	空胃	胃中の種類								調査尾数
		魚類	エビ類	カニ類	軟体動物	環形動物	貝類	消化物	その他	
ヒラメ	81.8	18.2								11
チダイ	22.2	22.2				22.2		22.2	クモヒトデ	9
イシダイ	50.0	50.0								2
マトウダイ	75.0	16.7						8.3		12
メイタガレイ	52.8		2.8			25.0		19.4		36
マコガレイ	65.5	3.4				17.2		13.8		29
ガンゾウビラメ	50.0				50.0					2
カサゴ	100									3
ニセフサカサゴ	100									4
アイナメ		25.0		37.5	12.5			25.0		8
カナガシラ	66.7					33.3				3
メバル類	100									2
カナド	58.8	5.9	17.6			11.8	5.9			17
エゾイソアイナメ	45.5			9.1	9.1			27.3		11
カワハギ	60.0							20.0	クモヒトデ	5
ウマヅラハギ	55.5	11.1				11.1		22.2		9
ネズミコチ		75.0						25.0		4
アンコウ類	75.0	25.0								4

アイナメとネズミコチは空胃個体がなく、特にアイナメは多種多様に捕食する魚種であることが伺われる。

## 2. 潜水調査

この調査は、平成2年度に3ヶ所6回(銚子黒生沖並型魚礁2回・九十九里中央礁2回・大原沖大型魚礁2回)と平成3年度に6ヶ所6回(飯岡沖並型魚礁1回・銚子人工礁1回・九十九里中央礁1回・大原沖大型魚礁1回・相浜沖並型魚礁1回・白浜沖並型魚礁1回)で、計9ヶ所をそれぞれ実施した(図4)。潜水調査によって目視観察と写真撮影で確認された魚種と数量を表6に示した。確認されたのは、魚類41種とイセエビ・メカイアワビ・サザエであった。

海域別で観察された主な魚種は、銚子・九十九里海域ではイシダイ・メバル・マダイ・アイナメ、夷隅海域ではイシダイ・メバル・ウマヅラハギ・イサキ・カワハギ、南安房海域ではイシダイ・キタマクラ・イサキ・カゴガキダイ・コスジイシモチ・ネンブツダイ・ニザダイ等であった。なお、どの海域でも共通して見

られた魚種はイシダイ・ウマヅラハギ・ササノハベラ・スズメダイであった。

これら目視による確認魚類の大きさ(推定全長)と分布域を表7に示した。その主な魚種は、マダイの20~50cm、イシダイの10~80cm、ウマヅラハギの20~30cm、イサキの20~25cm、メバルの15~20cm、アイナメの25~40cm、ヒラマサの100cm等であった。

魚礁域での分布は、礁の上層部ではウマヅラハギ・イサキが、礁の上部ではカゴガキダイが、礁の内部ではヒゲダイ・イシダイ・カワハギ・コスジイシモチ・ウミタナゴが、礁の底部ではカサゴ・ハゼ等がそれぞれ観察された。

礁域の周辺ではヒメジ科sp・ニベ・ニザダイ・カンダイが、礁域の内部ではクエ・スズメダイ・ハコフグ・キタマクラが、礁域の内部周辺ではカワハギ・カゴガキダイ・ネンブツダイ・イサキ・イシダイ・キュウセン・ツバメウオ・ハタタテダイが、礁と礁域ではイセエビ・メカイアワビ・サザエなどが観察された。この

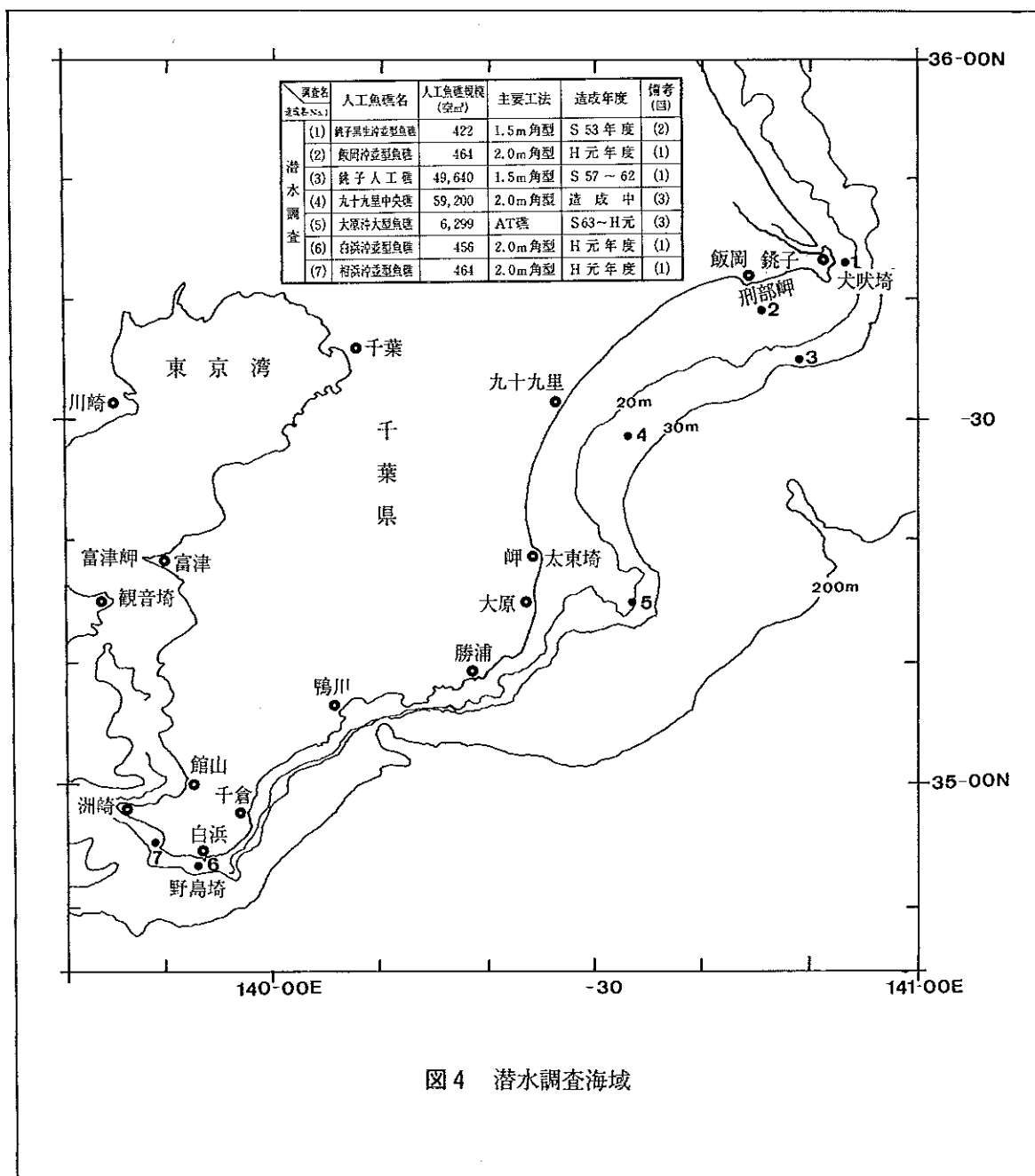


図4 潜水調査海域

ほかに数種の魚類が、魚礁域の上部や内部、また周辺域に見られ、特に目立ったのはマダイが礁の上層部から数mの範囲内に多数の群れが確認された。

3. 魚群分布調査

各調査毎に、人工魚礁域とその付近で魚群探知機に記録される魚群反応が少ない場合が多いが、東安房人工礁の平成3年度の5月および九十九里中央礁の7月

は濃密な反応が見られた(図5-1~2)。その反応は、いづれも上~下層の全範囲で見られた。また、内房南部海域礁の9月は、礁の真上の中層に濃密な反応が見られた。なお、7月には潜水調査を平行して行ったので、この群れがマダイであったことは確認できた。その他の調査での魚群反応については、魚種の判定まですることは出来なかった。



表7-1 潜水調査で目視観察による魚種と分布域および推定全長

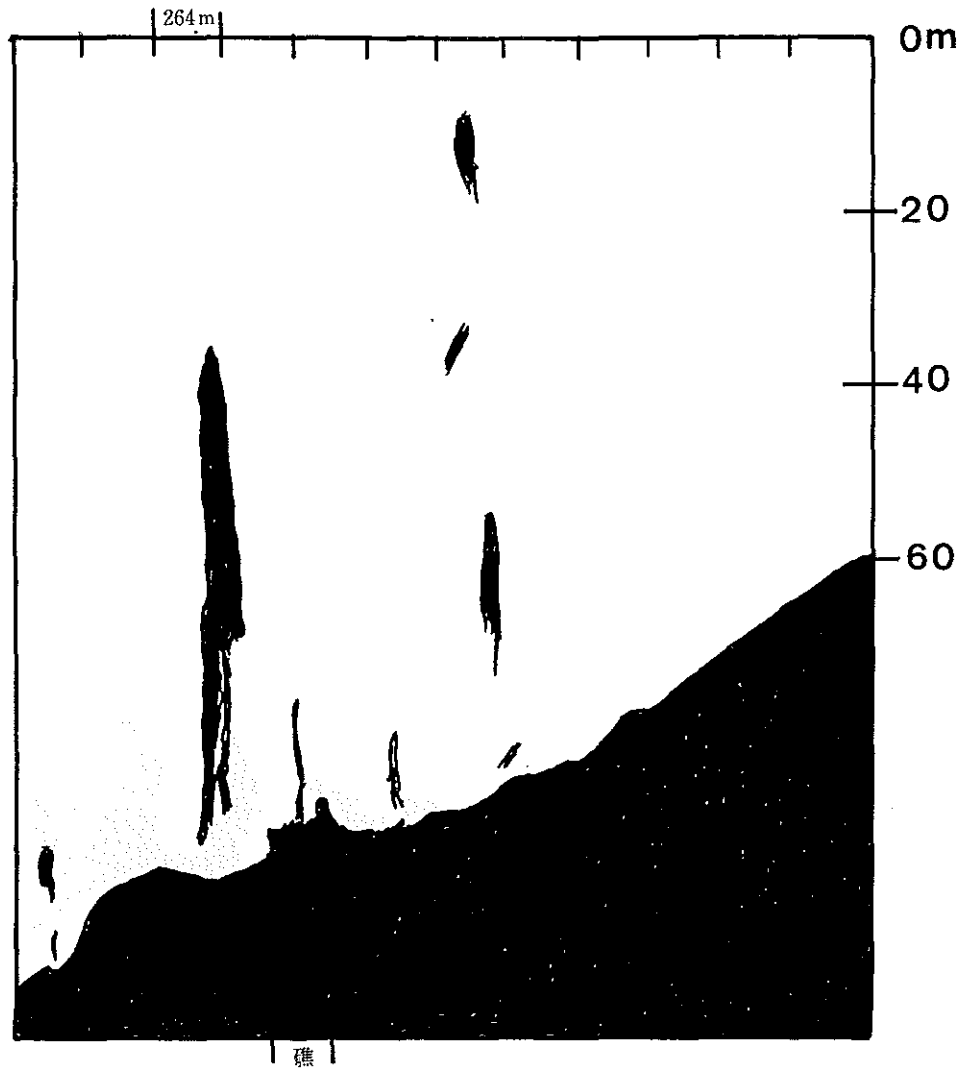
平成2年度 調査日 (月日)	大原沖大型魚礁			
	魚種	全長(cm)	尾数	行動および主な娯集場所
(11/15) 12:07 ↓ 12:30	イシダイ	30~40	10	礁間水域と礁上層部を遊泳。
	イシダイ	20~25	30	〃
	メバル	15~20	30	礁間水域を遊泳。
	ウミタナゴ	12~15	10	〃
	ウマジラハギ	25~30	100	礁上層を遊泳。
	ササノハベラ	12~15	10	礁底層を遊泳。
	タカノハダイ	25~30	1	〃
	キタマクラ	5	3	礁間水域を遊泳。
	イセエビ	20~25(体長)	1	投石隙間。
メカイアワビ	3~15(殻長)	1	投石隙間幅30cm位の奥と投石側面。	
計	9		196	
調査日 (月日)	大原沖大型魚礁			
	魚種	全長(cm)	尾数	行動および主な娯集場所
(11/15) 14:30 ↓ 14:52	イサキ	20~25	200~	礁上層を遊泳。
	イシダイ	25~30	30~	礁上中底層を遊泳。
	イシダイ	20~25	50~	〃
	ササノハベラ	20	20~	礁底層を遊泳。
	スズメダイ	10~12	多数	礁中底層を遊泳。
	キタマクラ	8~12	30~	〃
	イセエビ	20~25(体長)	1	転石底部隙間。
	メカイアワビ	15(殻長)	1	転石側面。
サザエ	10~20(殻長)	30~	天然礁中底部。	
計	8		362~	
調査日 (月日)	九十九里中央礁			
	魚種	全長(cm)	尾数	行動および主な娯集場所
(11/16) 09:49 ↓ 10:11	イシダイ	25~30	10	礁最上段内部と周辺を遊泳。
	イシダイ	15~20	20	〃
	イシダイ	10	10	〃
	ウマジラハギ	25	30~40	〃
	タカノハダイ	25	1	礁側近を遊泳。
	イシガキフグ	25	1	〃
	シラコダイ	15	2	礁内部と側近を遊泳。
ハタタテダイ	10~12	15~20	〃	
計	6		89~104	
調査日 (月日)	九十九里中央礁			
	魚種	全長(cm)	尾数	行動および主な娯集場所
(11/16) 11:15 ↓ 11:44	イシダイ	15~20	5	礁最上段内部と周辺を遊泳。
計	1		5	
調査日 (月日)	銚子黒生沖並型魚礁			
	魚種	全長(cm)	尾数	行動および主な娯集場所
(2/7) 11:08 ↓ 11:25	イシダイ	15~20	3~	礁最上段内部と直上部および側近周辺を単独遊泳。
	トゴットメバル	20	5~	礁最上段内部と側近周辺を単独遊泳。
	ベラ sp	10	10	礁内部下段と側近周辺底部を遊泳。
計	3		18~	
調査日 (月日)	銚子黒生沖並型魚礁			
	魚種	全長(cm)	尾数	行動および主な娯集場所
(2/7) 13:10 ↓ 13:33	イシダイ	15~20	5~	礁最上段内部と直上部および側近周辺を単独遊泳。
	トゴットメバル	20	5~	礁最上段内部と側近周辺を単独遊泳。
	ベラ sp	15	5~	礁内部下段と側近周辺底部を遊泳。
計	3		15~	



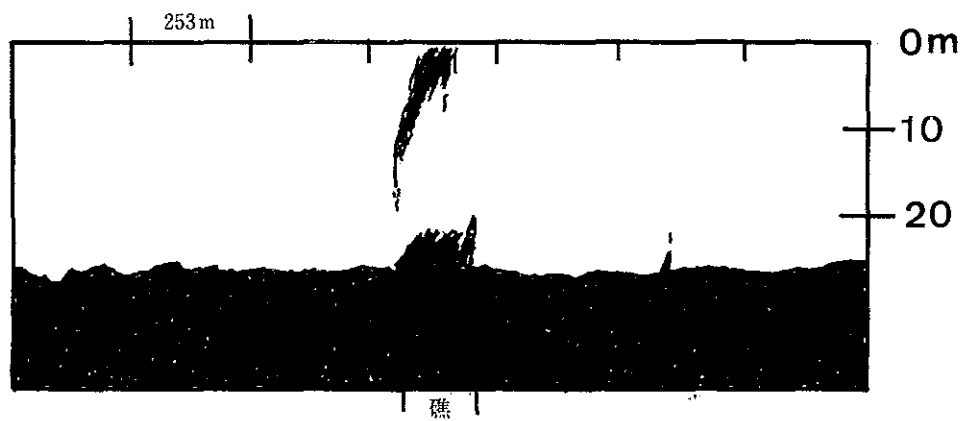
表7-2 潜水調査で目視観察による魚種と分布域および推定全長

平成3年度 調査日 (月日)	相 浜 沖 並 型 魚 礁			
	魚 種	全長 (cm)	尾 数	行 動 お よ び 主 な 蛸 集 場 所
(10/4) 10:52 ↓ 11:12	ヒラマサ	100	3	礁側近に来遊。
	イサキ	15~20	200~	礁周辺と天然礁の水域空間を遊泳。
	クエ	60~70	1	礁内部と周辺を遊泳。
	ハタ科	25	1	礁内部を遊泳。
	ヒゲダイ	20~25	4	〃
	イシダイ	10~12	20	〃
	カサゴ科	15	3	礁内部に定座。
	イラ	25	1	礁内部を遊泳。
	ニセクロボシフエダイ	15~20	1	〃
	ニセクロボシフエダイ	20~25	1	〃
	ヒメジ科	30	1	礁周辺を遊泳。
	カワハギ	20	1	礁内部を遊泳。
	カワハギ	10~15	3	〃
	ウマシラハギ	20~25	1	〃
	ベラ	30	1	礁周辺を遊泳。
	ベラ	10	3	礁内部を遊泳。
	キュウセン	15~20	5	〃
	ハゼ	15	1	礁内底部に定座。
	カゴガキダイ	10	50	礁内部を遊泳。
	マツカサウオ	10	2	礁底部の間隙に蛸集。
	スズメダイ	12	50	礁内部と周辺を遊泳。
	コスジイシモチ	5~8	30~40	礁内部を遊泳。
	ネンブツダイ	5~8	300~	礁内部と周辺に蛸集。
ニザダイ	25	100~	礁周辺に来遊。	
シラコダイ	10	10	礁底層を遊泳。	
キンチャクダイ(幼)	2	1	礁底部を遊泳。	
ハコフグ	5	2	礁内部を遊泳。	
ホンソメワケベラ	5	2	礁底部を遊泳。	
キタマクラ	5~7	30	礁内部と周辺を遊泳。	
イセエビ(体長)	15~20	4	礁底部段差箇所と礁北側天然礁の間隙。	
計	27		832~842	
調 査 日 (月日)	白 浜 沖 並 型 魚 礁			
	魚 種	全長 (cm)	尾 数	行 動 お よ び 主 な 蛸 集 場 所
(11/16) 11:15 ↓ 11:44	ヒラマサ?	60	3	礁側近に来遊。
	イサキ	25	70~	礁内部と側近を遊泳。
	イシダイ	20	1	礁内部を遊泳。
	イシダイ	8~10	3	礁底層を遊泳。
	クエ	60	1	礁側近に来遊。
	カンダイト	60	1	礁周辺に来遊。
	マハタ	10	1	〃
	カサゴ	10	2	礁底部を底座。
	ウミタナゴ	12	2	礁側近に遊泳。
	カワハギ	20	1	礁底層を遊泳。
	カワハギ	8	1	礁側近を遊泳。
	キュウセン	15	5	〃
	キュウセン	8	1	礁底層を遊泳。
	ササノハベラ	12	3	礁側近を遊泳。
	ベラ	10	1	礁底層を遊泳。
	ハゼ	8	1	〃
	スズメダイ	8~12	50	礁側近を遊泳。
	ニザダイ	25	3	〃
	ミギマキ	10	1	礁底層を遊泳。
シラコダイ	8	20	礁底層と側近を遊泳。	
コスジイシモチ	5	10	礁底層を遊泳。	
キタマクラ	5	20	礁側近を遊泳。	
計	19		201~	
調 査 日 (月日)	大 原 沖 大 型 魚 礁			
	魚 種	全長 (cm)	尾 数	行 動 お よ び 主 な 蛸 集 場 所
(11/26) 13:10 ↓ 13:33	イシダイ	25	2	礁内部と周辺を遊泳。
	イシダイ	20	1	〃
	イシダイ	15	6	〃
	イマハタ(幼)	15	1	礁内部を遊泳。
	ウマシラハギ	20	6	礁内部と周辺を遊泳。
	ウマシラハギ	15	5	〃
	カワハギ	25	1	礁内部を遊泳。
	キュウセン	15	10	礁内部と周辺を遊泳。
キタマクラ	8	8	礁内部を遊泳。	
ツバメウオ	30	2	〃	
計	7		42	

平成3年度 調査日 (月日)		九 十 九 里 中 央 礁			
		魚 種	全 長 (cm)	尾 数	行 動 お よ び 主 な 蟷 集 場 所
(11/26)	15:25 ↓ 15:55	マダイ	40~50	10~	礁最上段直上部と側近周辺を遊泳。
		マダイ	30~40	多数	〃
		マダイ	20~30	多数	礁側近に来遊。
		イシダイ	50	10~	礁上段内部と周辺を遊泳。
		イシダイ	40	10~	〃
		イシダイ	30	20~	〃
		イシダイ	20	多数	〃
		イシダイ	15	多数	〃
		アイナメ	40	5~	礁底部に底座。
		アイナメ	25~30	5~	〃
		メバル	15~20	8	礁内部と低層遊泳。
		メジナ	20	8~	礁側近に遊泳。
		ウミタナゴ科sp	15	10~	〃
		ウマシラハギ	20~25	多数	礁上段内部と周辺を遊泳。
		キユウセン	15	10	礁内部下段と側近周辺底部を遊泳。
		タカノハダイ	20	1	礁側近に遊泳。
スズメダイ	8	10	礁底層を遊泳。		
シラコダイ	8	5	礁内部と側近を遊泳。		
ハタタテダイ	8~12	4	礁側近に遊泳。		
キタマクラ	5	10	〃		
カゴガキダイ	10	6	〃		
計		14		132~	
調 査 日 (月日)		銃 子 人 工 礁			
		魚 種	全 長 (cm)	尾 数	行 動 お よ び 主 な 蟷 集 場 所
(2/13)	10:30 ↓ 10:55	イシダイ	70~80	1	礁内部を遊泳。
		イシダイ	50	3	〃
		イシダイ	20~25	10	〃
		イシダイ	15	5	〃
		メバル	25	50	〃
		トゴットメバル	15	2	〃
		アイナメ	35~40	2	〃
		ウマシラハギ	35	10	礁内部および周辺を遊泳。
		ウマシラハギ	20~30	50	〃
		カワハギ	20	1	礁内部を遊泳。
		ウミタナゴ	15	10	〃
		ササノハベラ	10~15	20	礁内部および周辺を遊泳。
		タカノハダイ	20~25	1	礁内部に定座。
クロアナゴ	150~	1	礁内底部を遊泳。		
イセエビ	30(体長)	1	礁と礁の間。		
計		11		167	
調 査 日 (月日)		飯 岡 沖 並 型 魚 礁			
		魚 種	全 長 (cm)	尾 数	行 動 お よ び 主 な 蟷 集 場 所
(2/13)	14:10 ↓ 14:30	イシダイ	40	5	礁上段内部と周辺を遊泳。
		イシダイ	30	20~	〃
		イシダイ	20	多数	〃
		アイナメ	25~30	5	礁底部に定座。
		メバル	15~20	8	礁内部と底層を遊泳。
		メジナ	20	2~	礁側近を遊泳。
		ウマシラハギ	20~25	多数	礁最上段内部と周辺を遊泳。
		キユウセン	15	5	礁内部下段と側近周辺底部を遊泳。
スズメダイ	8	10	礁底層を遊泳。		
カゴガキダイ	8	2	礁上部を遊泳。		
計		8		57~	



H3, 5. 12(東安房人工礁)



H3, 7. 18(九十九里中央礁)

図5-1 平成2年度魚探反応

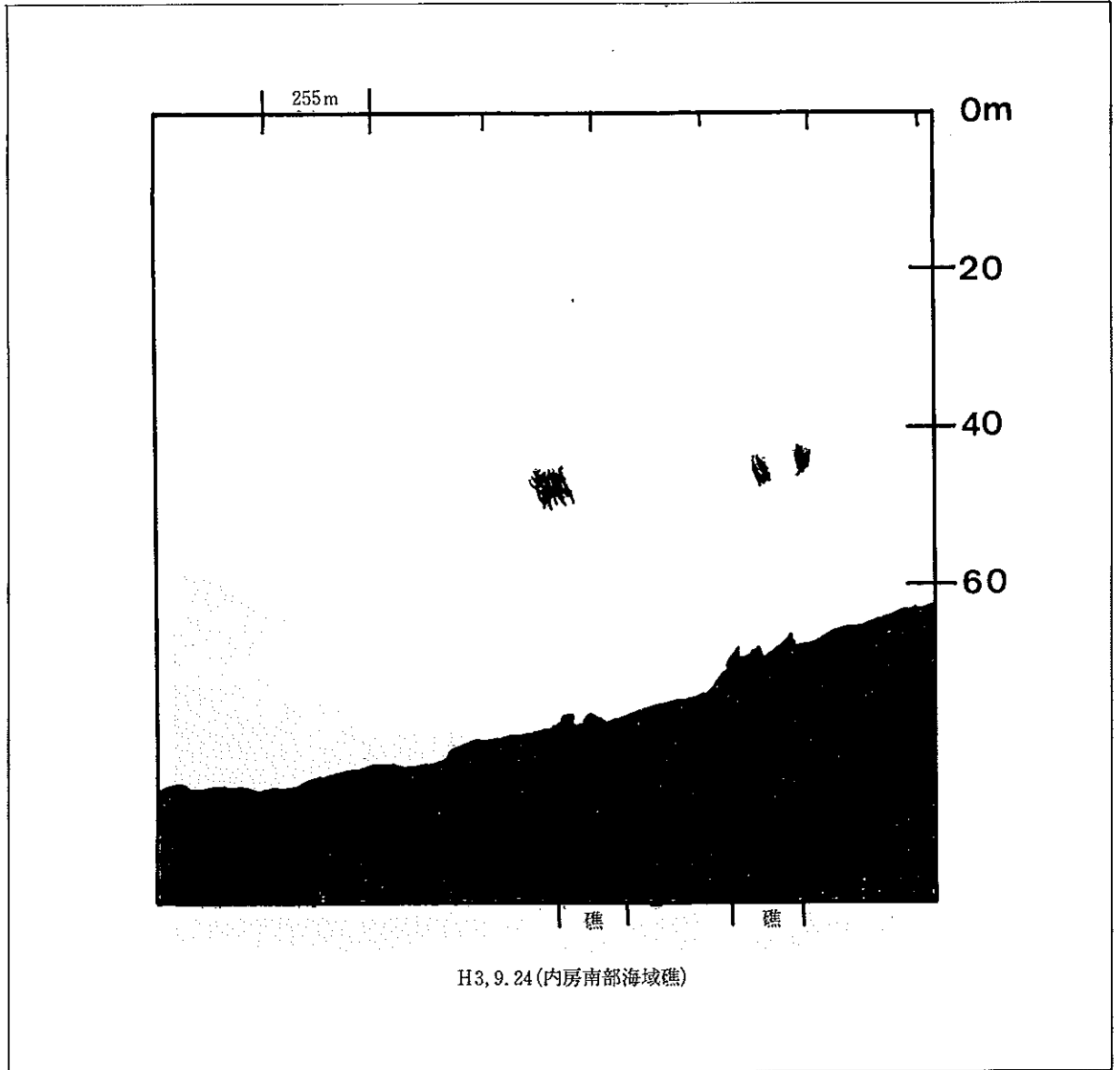


图 5 - 2 平成 3 年度魚探反応

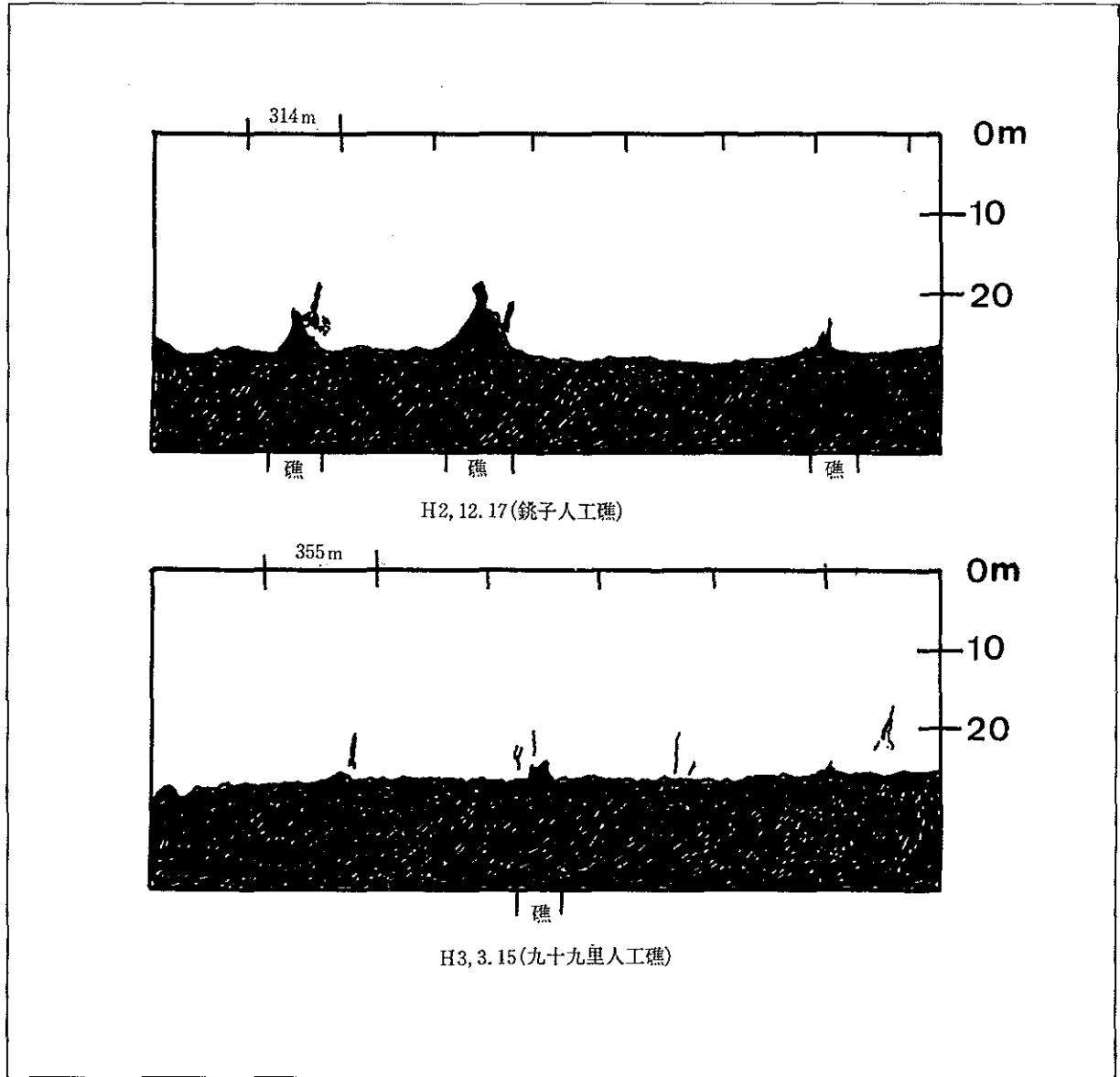


図5-2 平成3年度魚探反応(続き)

考 察

今調査の漁獲魚類の魚礁性(魚が魚礁に付く度合)は、魚礁度大の区域を礁域から50m以内に、魚礁度中の区域を150m以内、魚礁度小の区域を250m以内とし、それぞれの区域を魚礁度として表した。また、庄司は、九十九里人工礁での漁獲魚類を魚礁度として、独自に

漁獲位置と漁獲尾数で表現している。この場合の判断基準を礁域のみと、礁域から10m以内だけで漁獲されている種類を魚礁度大に、礁域と内側域で多く漁獲されている種類を魚礁度中に、礁域や内側域で少なく、側礁から200m以内の外側域で多く漁獲されている種類を魚礁度小として述べている。これら調査海域の違いはあっても、魚類が魚礁に娯集する度合いには、差

がないと考え、基本的には庄司<sup>1)</sup>の方法で区分することが妥当であるが、庄司<sup>1)</sup>の方法は、単体礁を基準にしており、今調査は、単体礁の集合体である人工礁漁場を対象にしたことから度合の区域を拡大した。したがって、今回の漁獲魚類をこの基準にあてはめると、魚礁度大にはアカアマダイ・カサゴ・メイトガレイ・マコガレイ・カナガシラが、魚礁度中にはヒラメ・アイナメ・チダイ・エゾイソアイナメ・ナイトガレイが、魚礁度小にはトラギス等が含まれそれぞれが該当する魚種であると推察される。魚礁の効果として柿本<sup>2)</sup>によれば、新潟県沖の人工魚礁調査から、魚礁の効果範囲を200mまでとし、特に採算の取れる羅網尾数が期待される範囲を100m未満としている。また、秋元<sup>3)</sup>は、福島県沖の大型魚礁調査で、魚礁により漁獲尾数の多い範囲は異なるものの、魚礁効果のおよぶ範囲を魚礁の端から200~300mまでとしてそれぞれ報告している。これらを考え見れば、今調査で漁獲された魚類は魚礁の効果範囲内に蟄集したものと考えられる。潜水調査の有効性は、潜水者の接近により、魚類が移動、逃避したという利渉<sup>4)</sup>、岡本<sup>5)</sup>が報告しているように、極く限られた時間と観察範囲が狭いためにマイナスとなる要因が多いものと言われてもいる。しかし、水中観察によって漁獲調査で確認された以外のウミタナゴ、ササノハベラ、メジナ、ハゼ等々の29種が魚礁に蟄集していることが確認された。また、魚群分布調査の際、平行して行った潜水調査により、濃い魚探反応がマダイの群であることが確認されたことを考えると、定性的な調査には有効であると考えられる。

魚礁と魚類の関係から、アイナメとネズミコチは空胃固体がなく、特にアイナメは水中観察において、日中は魚礁内で遊泳しているか、また、礁内底部に静止して定位しているが、胃内容物の消化程度も進んでいないことから考えると、夜間から朝方にかけて摂餌行動が活発となり餌料生物を捕食する魚種と考えられ、魚礁域を良い餌場および生息場としているとも推察される。

魚群分布調査から、平成3年度の7月にマダイの群れだけは確認され、マダイと魚礁との密接な関係が伺われる。それ以外の魚種でも、魚礁に蟄集する魚類は多いことは知られているが、魚探反応を見て即判断することは相当の経験と熟知していなければ非常に難しいことであろう。特に、底生性魚類のカレイ類等は、その反応すら見極めるのがなかなかできない。このらの

反応がありしだい多種多様の調査手法により魚種の確認を試みる必要も今後の課題であろう。

## 要 約

- 1) 人工魚礁に蟄集する魚類とその位置を明らかにする目的で、漁獲調査および魚群分布調査(銚子、九十九里、九十九里中央および東安房各人工礁；内房南部海域礁)並びに潜水調査(黒生沖、飯岡沖、相浜沖および白浜沖各並型魚礁；銚子および九十九里中央各人工礁；大原沖大型魚礁)を実施した。
- 2) 底刺網、底延縄および中層延縄を使った漁獲調査では、ヒラメ・メイトガレイなど魚類49種とマダコ・カニ類等の水産動物を含め計53種を漁獲した。
- 3) 総漁獲量は約122kgであり、主な内訳は、ヒラメの15.7kg、メイトガレイの8.6kg、マコガレイの7.3kg、マダイの6.3kg等であった。
- 4) 魚類の漁獲位置から、魚礁度大はアカアマダイ・カサゴ・メイトガレイ・マコガレイ・カナガシラが、魚礁度中にはヒラメ・アイナメ・チダイ・エゾイソアイナメ・ナメタガレイが、魚礁度小にはトラギスなどが含まれる。
- 5) アイナメとネズミコチには、空胃個体がないことと消化程度は進んでいないことから、魚礁域が良い餌場になっている。
- 6) 漁獲調査で確認された動物以外に潜水調査によりウミタナゴ・ササノハベラ・イサキ・ヒラマサ・マハタ等29種が確認された。今調査海域において78種類の魚類が分布していた。

## 文 献

- 1) 庄司泰雅(1985)：魚礁と魚類の関係(1)．九十九里人工魚礁の魚類とその位置．千葉水試研報，44，13~47．
- 2) 柿本 皓(1967)：人工魚礁の効果範囲について．水産増殖4(4)，181~189．
- 3) 秋元義正(1975)：福島県の人工魚礁について．福島水試調査研究資料No132．
- 4) 利渉義宣・渡辺福松・瀬戸口明弘・田中夏積・平本紀久雄・渡辺寅次郎(1966)：魚礁比較試験報告．千葉水試試験調査報告，3，18~34．
- 5) 岡本峰雄・佐藤 修・黒木敏郎・村井 徹(1981)：ダイバーが魚群行動に与える影響．日水誌，47(12)，1567~1573．

## ノリのフリーリビング糸状体の凍結保存について—Ⅲ 液体窒素による凍結保存について

土屋 仁

### Cryopreservation of free-living Conchocelis of *Poriphyra yezoensis*—Ⅲ Cryopreservation by liquid nitrogen

Hitoshi TSUCHIYA

#### はじめに

前報<sup>1)</sup>で筆者は、ノリのフリーリビング糸状体に凍害防御剤を添加して、 $-85^{\circ}\text{C}$ で凍結・保存したところ、7日目に最高46%の生存率が得られたが、長期間保存すると生存率が低下することを報告した。

そこで、凍結時の生存率の向上と保存期間中の生存率の低下防止を目的に、前報で生存率が高かった凍害防御剤を用いて予備凍結を行い、その後液体窒素中での保存について試験を実施した。

また、陸上植物では直接液体窒素中で凍結しても細胞が生存することから液体窒素による超急速冷却についての試験を実施し、若干の知見を得たので報告する。

#### 材料と方法

##### 材料

供試したフリーリビング糸状体(以下、糸状体と言う)は、ナラワスサビノリ(品種名KN)を用いた。

##### 方法

糸状体の調整方法、融解方法、凍害防御剤の除去方法および糸状体細胞の生死の判定は、前報<sup>1)</sup>と同様に行った。

凍害防御剤は、前報で最も生存率が高かったDMSOとグルコースおよびPEGを組み合わせ、添加後の濃度が各々10%、8%、10%となるような混合液(以下、DGPと言う)を作製し、糸状体懸濁液に添加するまで $5^{\circ}\text{C}$ で保存した。

糸状体懸濁液へのDGPの添加操作は、 $5^{\circ}\text{C}$ に冷却した薬品保冷庫中で行った。DGPの添加は、250ml容

ビーカーに糸状体懸濁液を40ml入れ、マグネチックスターラで緩く攪拌しながら、25ml容自動ピュレットで約25分間かけてDGP60mlを滴下した。

DGPを添加した糸状体懸濁液(以下、DGP糸状体液と言う)は、直ちに2ml容のクライオチューブに1mlづつ分注し凍結操作を行った。

#### 凍結と保存試験

試験区は、下記により3区を設け、保存開始後17日目と400日目に融解して生存率を調べた。

1区：DGP糸状体液を $-40^{\circ}\text{C}$ まで予備凍結し、その後液体窒素中で保存。

2区：DGP糸状体液を $-40^{\circ}\text{C}$ まで予備凍結し、その後 $-85^{\circ}\text{C}$ で保存。

3区：DGP糸状体液を $-85^{\circ}\text{C}$ で凍結保存。

予備凍結は、 $-40^{\circ}\text{C}$ まで低下するプログラムフリーザー(東京理化学MPF-40)を用い、メチルアルコール中で緩速冷却法で凍結した。温度降下の設定は、 $0^{\circ}\text{C}$ ～ $-10^{\circ}\text{C}$ の間は $1^{\circ}\text{C}/\text{分}$ とし、 $-10^{\circ}\text{C}$ ～ $-20^{\circ}\text{C}$ は、DGP糸状体液が凍結する温度帯と考えられることから $0.4^{\circ}\text{C}/\text{分}$ とし、 $-20^{\circ}\text{C}$ ～ $-40^{\circ}\text{C}$ は、 $0.5^{\circ}\text{C}/\text{分}$ に設定した。

緩速冷却中のDGP糸状体液の凍結温度を調べるため、DGP糸状体液の温度変化の計測と凍結の有無を観察した。温度変化の計測は、クライオチューブのキャップに孔を開け自記温度記録計(チノー製ALハイブリッド記録計)の感温部をDGP糸状体液中に差し込み温度降下を記録した。

予備凍結後は、直ちに液体窒素を入れた $-196^{\circ}\text{C}$ の保存容器(MVE社製SC20/20)中と $-85^{\circ}\text{C}$ に設定したディープフリーザー中に保存した。

3区は、予備凍結操作を行わずクライオチューブを

-85℃のディープフリーザー中に直接入れて凍結し、そのまま保存した。

予備凍結後に液体窒素中で凍結保存したときの生存率の変化を調べるため、予備凍結終了時にその一部を融解して生存率を調べた。

液体窒素は、約6ヵ月毎に補充し-196℃の温度を保持した。

**超急速冷却と液体窒素中での保存試験**

超急速冷却法による糸状体細胞の生存の有無と凍害防御剤の効果を調べるため、DGP糸状体液の区と凍害防御剤を添加しない区を設けた。その方法は、それぞれの溶液1mlを5℃下でクライオチューブに分注して、そのクライオチューブを液体窒素を入れた保存容器中に直接入れて凍結・保存し、保存開始後17日目と400日目に融解して生存率を調べた。

**結 果**

**予備凍結と液体窒素中での保存試験**

表1に予備凍結後と凍結保存中の各区の生存率を示

した。

予備凍結終了時の生存率は60%であった。17日目の生存率は、-40℃まで予備凍結後に液体窒素中で保存した1区が57%と最も高く、予備凍結後-85℃で保存した2区は38%であった。また、直接-85℃で凍結と保存をした3区は19%と最も低い生存率となった。

保存開始後400日目の生存率は、1区では17日目とほぼ同じ60%の生存率を示すが、2区と3区では生存率の低下が認められ、特に3区では9%に低下した。

緩速冷却時の温度降下は、-17℃までは設定通りの降下を示したが、-17℃で凝固が始まり、それと同時に温度が-10℃まで急速に上昇し、その後再び温度が降下し約70分後に-40℃となった(図1)。

**超急速冷却と液体窒素中での保存試験**

DGP糸状体液を直接-196℃で凍結保存した1区の生存率は、17日目では14%を示し、400日目では17日後とほぼ同じ15%であった。DGPを添加しなかった2区は、17日目と400日目とも生存細胞は認められなかった(表2)。

表1 予備凍結と液体窒素での保存試験結果

	凍結温度	予備凍結時の生存率(%)	保存温度	生存率(%)	
				17日目	400日目
1区	-40℃	60	-196℃	57	60
2区	-40℃	60	-85℃	38	31
3区	-85℃	-	-85℃	19	9

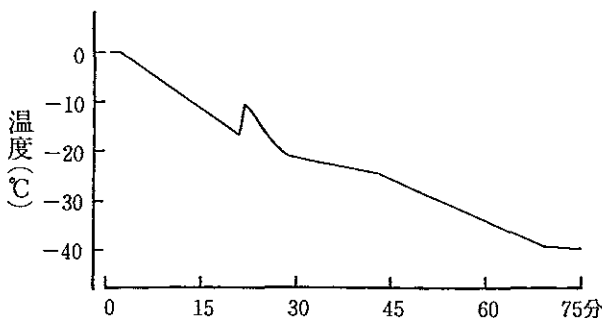


図1 プログラムフリーザーによる緩速冷却時のDGP糸状体液の温度降下

表2 液体窒素による超急速冷却試験結果

	凍害防御剤	凍結・保存温度	生存率(%)	
			17日目	400日目
1区	DGP	-196℃	14	15
2区	なし	-196℃	0	0

**考 察**

**予備凍結と液体窒素中での保存試験**

藤吉<sup>3)</sup>らは、ナラワスサビノリ糸状体にDMSOとソルビトールの混合液を凍害防御剤として用いた試験で、

予備凍結時の冷却速度は、0.5℃/分と1.0℃/分ともに50%以上の生存率が得られ、予備凍結温度については<sup>2)</sup>-40~-50℃で生存率が高いとしている。また酒井は、陸上植物の培養細胞の予備凍結は、通常-35~-40℃まで0.5~1.0℃/分で緩速冷却する方法が取ら



れているとし、 $-50\sim-60^{\circ}\text{C}$ まで冷却すると凍結脱水がさらに進み生存率が低下する場合が多く、また $-20\sim-30^{\circ}\text{C}$ まででは、液体窒素中で急冷すると凍結水が細胞内に残っているため細胞内凍結を起こし生存率が低下するとしている。今回の試験では、凍害防御剤の組成や濃度が相違するが、冷却速度の設定はほぼ同様であり、DGPを用いたこれまでの試験で最も高い生存率が得られた。また予備凍結温度は、予備凍結後の生存率と液体窒素で急冷後の生存率に差が認められなかったことから、 $-40^{\circ}\text{C}$ まで予備凍結すると脱水過多や細胞内凍結は起こらないと考えられた。

凍結温度については、水澤<sup>4)</sup>がDMSOを5%添加した液の予備凍結時の温度変化を調べた結果、 $-5^{\circ}\text{C}$ で凝固熱と考えられる昇温が認められている。今回の試験では $-17^{\circ}\text{C}$ で結氷するのが観察され、同時に凝固熱によると考えられる昇温現象が起こり、 $-10^{\circ}\text{C}$ まで上昇した。凍害防御剤の組成や濃度で凍結温度に相違が見られ、DGP糸状体液の凍結温度が低いことから緩速冷却の開始温度は、凍結が始まる温度に近い $-15^{\circ}\text{C}$ 前後から良いと思われる。

液体窒素を用いた超低温保存中の生存率の変化について、酒井<sup>5)</sup>は $-150^{\circ}\text{C}$ 以下の温度では、生化学反応はほとんど休止状態におかれるとしており、藤吉<sup>6)</sup>らはナラワスサビノリ糸状体にDMSO10%とソルビトール12%の混合液を添加し緩速冷却後に液体窒素中で12か月間保存して45%の生存率が得られ、保存期間中の生存率はほとんど低下しなかったとしている。今回の試験も同様に、予備凍結後に液体窒素中で保存した区の生存率は、400日後でも60%を示し保存期間中の生存率の低下は認められなかったことから、長期間の凍結保存には液体窒素温度が必要と考えられた。

著者は、フリーリビング糸状体の凍結保存について、I報<sup>7)</sup>でDMSOを10%添加した糸状体を $-85^{\circ}\text{C}$ で凍結保存し、保存20日目で生存する細胞が得られたことを報告した。II報<sup>1)</sup>では、凍害防御剤と凍結方法について試験を行い、最高で46%の生存率が得られたが、 $-85^{\circ}\text{C}$ の保存温度では保存中に生存率が低下することを報告した。今回の報告では、液体窒素で保存すると保存中の生存率低下は認められないことを報告した。

これら試験結果から、予備凍結法による凍結保存で高い生存率を得るには、最終濃度でDMSO10%、グルコース8%、PEG10%となる凍害防御剤を用い、 $5^{\circ}\text{C}$ 前後の低温下で糸状体懸濁液に30分前後かけて添加し、添加後速やかにクライオチューブに分注する。これをプログラムフリーザーで $-15^{\circ}\text{C}$ から $-40^{\circ}\text{C}$ まで

は $0.5^{\circ}\text{C}/\text{分}$ で特に緩速冷却し、液体窒素中で保存する。また融解は、液体窒素から取り出したクライオチューブを $30^{\circ}\text{C}$ の湯浴中で結晶がなくなるまで振とうして急速融解し、融解後にフィルターで凍害防御剤を濾別する方法が良いと考えられた。

#### 超急速冷却と液体窒素中での保存試験

超急速冷却による凍結保存については、酒井<sup>5)</sup>がDMSOで処理したカーネーションの茎頂を直接液体窒素で凍結した結果では、生存率は20%以下であったとし、また酒井<sup>2)</sup>は近年はグリセリン、DMSO、エチレングライコールから構成するPVS液で処理後プラスチックストローに詰めて液体窒素中で超急速冷却する方法で、オレンジの培養細胞で80%の生存率が得られたとしている。今回のDGP糸状体液をクライオチューブに入れ、液体窒素で直接凍結・保存した1区では、保存後400日目に15%の生存率を示し、カーネーションの茎頂と同様に20%以下となった。さらに生存率を向上させるには、細胞内への透過性が高い高張な凍害防御剤を用いて浸透的に脱水し、冷却速度を早めるために少容量のストローに収容して液体窒素中に入れ、超急速冷却により細胞内の残存水と媒液をガラス化させる方法の検討が必要と考える。

この超急速冷却法は、緩速冷却装置の整備やその操作が省けるため、生存率を向上できれば凍結・保存方法としては簡便で有用な方法と思われる。

#### 要 約

- 1) ミキサーで切断したノリのフリーリビング糸状体を用いて、プログラムフリーザーによる予備凍結と液体窒素での保存試験を行い、高い生存率を得るための凍結保存方法について検討した。
- 2) 緩速冷却は、降下速度を $1.0^{\circ}\text{C}\sim 0.4^{\circ}\text{C}/\text{分}$ に設定して $-40^{\circ}\text{C}$ まで予備凍結を行い、60%の生存率が得られた。
- 3) 予備凍結後に液体窒素で保存した結果、400日後でも60%を示し、生存率の低下は認められず長期間の保存が可能であった。
- 4) 予備凍結法による凍結保存で高い生存率を得るには、最終濃度がDMSO10%、グルコース8%、PEG10%となる混合液を $5^{\circ}\text{C}$ 下で糸状体懸濁液に30分前後かけて添加し、添加後速やかにクライオチューブに分注する。これをプログラムフリーザーで $-15^{\circ}\text{C}$ から $-40^{\circ}\text{C}$ まで $0.5^{\circ}\text{C}/\text{分}$ で緩速冷却し、液体窒素中で保存する。融解は、液体窒素から取り出し $30^{\circ}\text{C}$ の湯浴中で急速融解し、融解後にフィル

- ターで凍害防御剤を濾別する方法が考えられた。
- 5) 凍害防御剤を添加後に直接液体窒素中で凍結する超急速冷却法では、15%の生存率が得られた。さらに生存率を向上させるには、細胞内への浸透性が高い凍害防御剤の検討などが必要と考えられた。

## 文 献

- 1) 土屋 仁 (1992) : ノリのフリーリビング糸状体の凍結保存について-Ⅱ. 千葉県水産試験場研究報告, 50, 37~43.
- 2) 酒井 昭 (1990) : 植物細胞の液体窒素温度における生存の機序と保存法の問題点. 月刊海洋, 22 (3), 113~120.
- 3) 藤吉栄次・山崎誠・鬼頭鈞 (1993) : ナラワスサビノリ糸状体の超低温保存における予備凍結条件の検討. 水産増殖, 41(4), 547~551.
- 4) 水澤 博 (1987) : 凍結保存. 酒井 昭編, 朝倉書院, 東京, 74~76.
- 5) 酒井 昭 (1987) : 凍結保存. 酒井 昭編, 朝倉書院, 東京, 159~165, 200~206.
- 6) 藤吉栄次・山崎誠・鬼頭鈞 (1993) : ナラワスサビノリ糸状体の超低温保存. 水産増殖, 41(1), 85~87.
- 7) 土屋 仁 (1989) : ノリのフリーリビング糸状体の凍結保存について. 千葉県水産試験場研究報告, 47, 35~36.