

特集 海生動物行動実験装置

総説：海生動物の選好忌避行動反応に関わる実験水槽

土田修二^{*§}

Review of Apparatus of the Preference and Avoidance Studies of Marine Animals

Shuji Tsuchida^{*§}

要約：温度など環境要因に対する魚類の選好や忌避などの行動反応を把握することは、環境影響を評価する上で重要な知見である。近年、多くの行動実験が行われ、実験水槽についても様々な形状のものが報告されている。そこで本報告では、温度に対する魚類の選好・忌避実験に関する装置を中心に、①二者択一型水槽、②水平温度勾配水槽、③輪状型温度勾配水槽、④垂直温度勾配水槽、⑤オペラント式・条件付け法、⑥野外実験水槽に分類して、各装置の特徴を整理した。いずれの装置もそれぞれ長所短所があり、魚類等の選好・忌避実験においては、対象となる魚種の行動生態を十分に考慮して、かつ得ようとする反応行動にあわせた装置の選択並びに方法の設定を行う必要がある。

キーワード：温度勾配、実験装置、選好、忌避、行動、魚類

まえがき

魚類の温度や他の環境要因に対する選好や忌避などの行動反応を把握することは、環境影響を評価する上で重要な知見となる。これまでに、温度や化学物質等の環境影響を評価する実験的手法として、魚介類の行動研究に関するレビューがいくつか報告されている (McCauley, 1977; 田端, 1980; Cherry and Cairns, 1982; 日高・立川, 1985a, 1985b, 1985c, 1985d; Kramer, 1987; Beiting, 1990)。

このうち McCauley (1977) は、魚類の選好温度を測定するために実験室で使用方法を、使用する装置を中心に整理し10通りに分類した。この分類はその後、Cherry and Cairns (1982) によって一覧表にまとめられている。何れの装置も温度勾配を形成できるシステムを備えている。温度勾配という場合、一般的に空間的温度勾配を考

えるが、時間的に温度が徐々に変化し時系列的な温度勾配を作り出す装置もあり、前者は空間的勾配、後者は時間的勾配と呼ばれている。空間的勾配はさらに、水平温度勾配と垂直温度勾配に分けられる。これらは、いずれも温度勾配を作り供試魚に至適温度を選択させる方法、いわゆる至適環境選択法により観察するものである (堀, 1981)。McCauley (1977) の分類のうち、2室装置、放射型装置、水平的勾配装置、横軸勾配装置、十字型装置、垂直的勾配装置などは至適環境選択法が用いられている。時間的温度勾配を活用した装置もかなり使用され、電子式シャトルボックスやドーナツ型時間的勾配装置などがある。これら時間的温度勾配装置は、オペラント行動観察法による研究を基礎にしている。オペラント行動観察法は、陸上動物で良く使用されており、実験動物にバー押しなどのスイッチ操作をさせ、その報酬を与えるものである (堀, 1981)。報酬として温熱また

(2013年12月25日受付, 2014年2月19日受理)

* 公益財団法人海洋生物環境研究所 中央研究所 (〒299-5105 千葉県夷隅郡御宿町岩和田300番地)

§ E-mail: tsuchida@kaiseiken.or.jp

は冷却を与える場合、それぞれを温熱強化行動、冷却強化行動と呼び、これとは逆に加えられた温熱または冷却負荷をスイッチ操作で取り除く行動はそれぞれ温熱逃避行動、冷却逃避行動と呼ばれている。

いずれの装置もそれぞれ長短があり、魚の行動あるいは生態的特性に合わせて用いる必要がある。本報告ではMcCauley (1977) の温度に対する実験装置の分類を中心に、その後新たに製作された装置を加えて、①二者択一型水槽、②水平温度勾配水槽、③輪状型温度勾配水槽、④垂直温度勾配水槽、⑤オペラント式・条件付け法、⑥野外実験水槽に分類して、各装置の特徴を整理した（第1表）。

なお、本報告では温度に対する行動反応装置を中心に整理したが、これらの装置は化学物質やその他環境要因に対する忌避実験装置としても十分利用できるものである。

実験水槽の概要

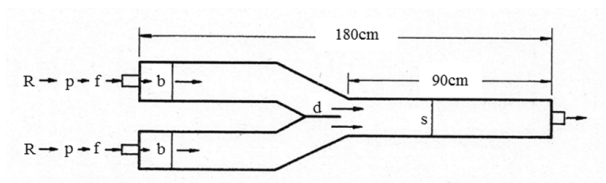
二者択一型水槽 二者択一型水槽は、日高・立川 (1985a,b) が魚類の化学物質の忌避試験法としてとりまとめている。この二者択一型水槽は魚類の行動反応実験装置としては最も簡単な構造のものであり、最も古くから使用されてきた装置で、迷路型と非迷路型に分けられている。

迷路型水槽 迷路型水槽にはY字型水槽やU字型水槽などがある。本田 (1984) はY字型水槽を用いて濁りに対するサケ科魚類の忌避行動実験を

行った（第1図）。この実験では、Y字水路の上流側の2本の水路の1方を実験区として濁水を、他方を対照区として清水を注入して、下流側に収容した供試魚22～40個体が実験開始から10分後に上流側のどちらの水路に移動したかを計測し、それぞれ捕獲された個体数と実験区の濁度との関係から忌避行動を明らかにした。

U字型水槽はY字型水槽に類似しており、Y字型の2つの水路が平行に並んだ形的水槽である。両水路からの混合域から供試魚はどちらかの水路に移動したかを計測する。当研究所実証試験場にある温排水展示水槽は、温排水と通常海水を流して魚がどちらを選好するかをみるものである（佐藤・岸田，2002）。このU字型水槽は化学物質に対する忌避実験で多く利用されている水槽である（日高・立川，1985a）。

非迷路型水槽 迷路型水槽は2つの境界に一部壁が存在するが、非迷路型水槽には壁がないといった違いがある。非迷路型水槽のうち向流型水槽は、水槽の両端から温度の異なった水を注入し、

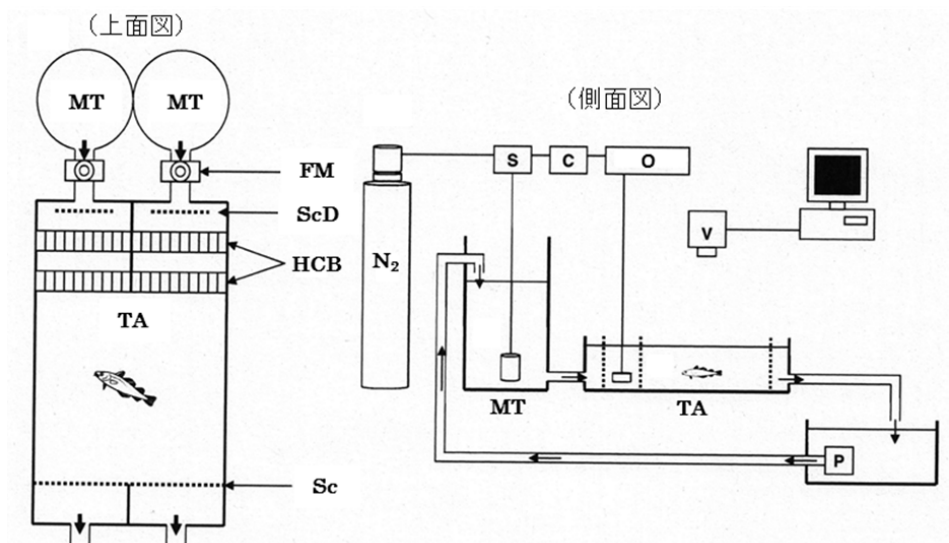


第1図 二者択一型水槽のY字型水槽（本田，1984を一部改変）。

R: 150L貯水槽，p: ポンプ，f: 流量計，b: 整流板，d: デバイダー，s: 仕切網，幅：15cm，深さ：15cm。

第1表 海生動物の選好忌避行動反応に関わる実験水槽の一覧

選好忌避実験水槽			主な文献
①二者択一型水槽	迷路型水槽	Y字型水槽	本田, 1984
		U字型水槽	佐藤・岸田, 2002
	非迷路型水槽	向流型水槽	Meldrim <i>et al.</i> , 1974; ほか
		並流型水槽	日高ら, 1983; 伊藤ら, 2004, 2014; ほか
		平行流型水槽	島ら, 2014a
		垂直流型水槽	島ら, 2014b
②水平温度勾配水槽			Kita <i>et al.</i> , 1996; 土田・瀬戸熊, 1997; 土田, 2014a; 島ら, 2014c; ほか
③輪状型温度勾配水槽			Myrick <i>et al.</i> , 2004; Klimley <i>et al.</i> , 2011; ほか
④垂直温度勾配水槽			Brett, 1952; 土田・深滝, 1991; 土田, 2014b; ほか
⑤オペラント・条件付け法	バー押し		Rozin & Mayer, 1961
	シャトルボックス		Neill <i>et al.</i> , 2004; ほか
	自発摂餌装置		島ら, 2014d
⑥野外実験水槽			Birtwell, 1977; 三浦ら, 2014



第2図 二者択一型水槽の並流型水槽 (Herbert *et al.*, 2011を一部改変)。

MT：混合タワー，FM：流量計，ScD：拡散スクリーン，HCB：ハニカム板，TA：試験区，Sc：スクリーン，側面図．N₂：窒素ボンベ，S：電磁弁，C：O₂制御装置，O：酸素メーター，V：ビデオカメラ。

水槽の中央から排水する。水槽は異なった水温の2つに区分され、これに魚を収容すると2つの内のいずれかを占有する。注水の温度を変化させることにより、その魚の選好温度あるいは忌避温度を求める方法である (Meldrim *et al.*, 1974; Cherry *et al.*, 1975, 1976, 1977; 立川・日高, 1978)。

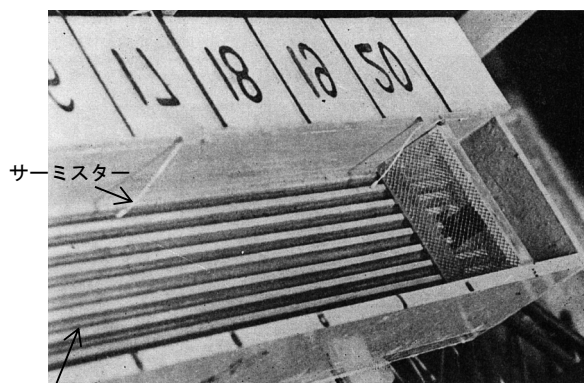
また、並流型水槽は2つの試験水の流れの方向が同じであり境界に壁がないため、温度や塩分など密度の異なる試験水を用いる場合は混合しないような工夫が必要になる (第2図)。このため温度に関する選好・忌避実験で用いられることは少なく、もっぱら化学物質や低酸素の忌避実験を中心に使用されている (日高ら, 1983; 日高ら, 1984; Petersen and Petersen, 1990; 伊藤ら, 2001; Herbert *et al.*, 2011; Cook *et al.*, 2011; Cook *et al.*, 2013; 伊藤ら, 2014)。

島ら (2014a) は底生生物の貧酸素に対する忌避等の反応行動を把握する目的で、低酸素反応行動実験システムを開発した。この装置は勾配軸に直交する水流で5区画の酸素濃度を制御できる平行流型実験水槽で、実験方法としては飽和区と低酸素区の二者択一型実験方法を採用している。底生生物は基本的に遊泳性が低く、中層に留まることができないため、貧酸素から逃れる場合は海底を二次元的に移動するものと考えられる。そこで実験装置は酸素濃度の異なる区画を水平的にかつ独立に設定し、さらに、それぞれの区画の酸素濃度を速やかに変化させることが出来るようにした。

また、島ら (2014b) は底生生物の塩分、水温に対する選好・忌避等の反応行動を検討する目的で、垂直流を作り実験水槽内に生物の動きを妨げる障害が存在しない垂直流型の水平的勾配水槽を考案した。この水平塩分・温度反応行動実験水槽は浸漬槽内に設置され、水槽上部より実験チャンバー内 (150mm×10mm×10mm) に試験水を流入し、底面より浸漬槽内に排出される。実験チャンバー内には各注水口に対応した4区画が設定される。垂直流の利用により試験水の密度差による広がりや混合を極めて小さくし、精度の高い安定した塩分あるいは温度を形成することができた。実験では3区画を低塩分あるいは高水温に設定し、端の1区画のみを基準海水に設定して、この基準海水区を移動させて忌避反応を把握した。

さらに、島ら (2014b) は海底からの湧水を再現するためにドーナツ型水槽 (外形500mm×内径300mm×深さ150mm) の湧昇流塩分・温度反応行動実験水槽を製作した。この水槽は4区画に区切られており、定量ポンプにより試験水が底に敷き詰められた砂面より湧出する。この装置を用いてチョウセンハマグリ *Meretrix lamarckii* の塩分・温度反応行動とヒラメ *Paralichthys olivaceus* の高水温下での低水温淡水選好について検討した。水槽は4区画に区切られているが、濃度あるいは温度の選好忌避は二者択一型の実験方法であることからここに分類した。

水平温度勾配水槽 水平温度勾配水槽には、基本的に水槽内部に設置された加熱あるいは冷却源によって淡水あるいは海水の温度調節を行う方式と、外部に設置された熱源によって水槽を段階的に加熱して、その熱伝導によって水槽内に温度勾配を形成する方式とがある。Javaid and Anderson (1967) が製作した装置では、冷水を実験水槽の一端から注入して緩やかな流れを作り、金属製の水槽底部を加熱することによって温度を徐々に上げて水平的温度勾配を形成した。実験水槽の大きさは長さ1,524mm、幅76mm、深さ40mm（水深約2cm）であった。水槽壁面は厚さ6mmのプラスチック板、底は厚さ12mmの銅板で500Wヒーター6個が均等に設置されている。水槽底面と直上の温度差を最小限にするため、底面に幅5mm×高さ4mmの銅製細棒10本を5mm間隔に設置している。水槽端から注入された冷水は約0.5mm/sの速さで流れる（第3図）。



銅製細棒による熱交換器

第3図 水平温度勾配水槽（Javaid and Anderson, 1967 を一部改変）。頭上の鏡（図には描かれていない）から魚の行動を観察するために、各区画の番号は逆になっている。

このように、実験水槽の一端から冷水を注入し、実験水槽底部を加熱することで水平温度勾配を形成する方式は、多くの研究者によって採用されており、主に、加熱源に赤外線ランプを使用する装置（Vlaming, 1971 ; Peterson and Schutsky, 1976 ; Hall *et al.*, 1978）と、電気ヒーターを使用する装置（Sullivan and Fisher, 1953 ; McCauley and Pond, 1971 ; Barans and Tubb, 1973 ; Richards and Ibara, 1978 ; Kilambi and Galloway, 1985 ; Heath *et al.*, 1993）、および実験水槽底部から温水を注入する装置（Hesthagen, 1979）とに分けられる。逆に、

実験水槽の一端から温水を注入して、その温水を実験水槽底部に設置した冷却プレートによって徐々に冷却して水平的温度勾配を形成する装置もある（Kellogg and Gift, 1983）。また、Ehrlich *et al.* (1979) は、水槽両端に冷却槽と加熱槽を作り、そこに設置された加熱用ヒーターと冷却コイルによって温度制御を行うとともに、水槽両端から中央までに2つの熱交換器を底面に設置して水平的温度勾配を形成した。垂直的成層を防ぐために通気を行うとともに、表層と底層に12対の干渉板を取り付け、11温度区画に分けた。実験水槽の大きさは長さ3,600mm、幅60mm、深さ60mm（水深約2cm）であった。Doudoroff (1938) および Wallace (1977) は、実験水槽を魚が通過可能な8～10室に区分して、各室に冷水あるいは温水を注入・排水することによって水平的温度勾配を形成する方式の装置を製作した。

これら水平温度勾配水槽は、各区画を供試魚が通過できるような仕切り板を取り付け、隣り合う区画間での対流を防ぐとともに、実験水槽内に曝気を行い垂直方向の温度成層を防いでいる。また、水槽底部あるいは下方に加熱あるいは冷却源を設置しており、これら熱源に直接供試魚が触れないようにするため、ナイロンスクリーンの設置や砂を敷きつめている。このため実験水槽内は複雑化すると共に、それら設置物が供試魚の行動に影響を与える可能性が考えられる。

筆者らは以下に示す2種類の水平温度勾配装置を設計・製作した。2基の水平温度勾配水槽の温度勾配形成方法は基本的に同じで、安定した温度勾配条件を確保するために、水槽の長軸（水平勾配方向）に直交する循環回路方式を採用した複数流の並流型実験水槽である。循環回路が5系統の旧型水平温度勾配水槽は、5基の熱交換器で水槽内に20℃幅の温度を形成することから、温度勾配の形成に熟練を要した。この旧型水平温度勾配水槽ではクロソイ *Sebastes zonatus* *schlegeli* など8種類の魚類について実験を行った（土田・瀬戸熊, 1997; 土田, 2002）。一方、新型水平温度勾配水槽では循環回路を11系統として、回路毎に熱交換器を設置して水平温度勾配を形成させ、カサゴ *Sebastes marmoratus* やホシギス *Sillago aeolus* など10種類の魚類について実験を行った（Kita *et al.*, 1996; 土田, 2002; 土田, 2014a）。この新型水平温度勾配水槽では水槽の幅を供試魚のサイズに合わせて可動できるように設計しており、実験水

槽の幅を狭くすることで温度調節された海水が注入されたのち直ちに排出され、再び温度調節されることから、各循環回路で極めて安定した温度を形成することが可能となった。また、熱交換器を実験水槽の外に設置したことで、水槽内の構造が極めて単純化され、曝気や仕切り板による供試魚の遊泳行動への複雑な影響を解消することができた。

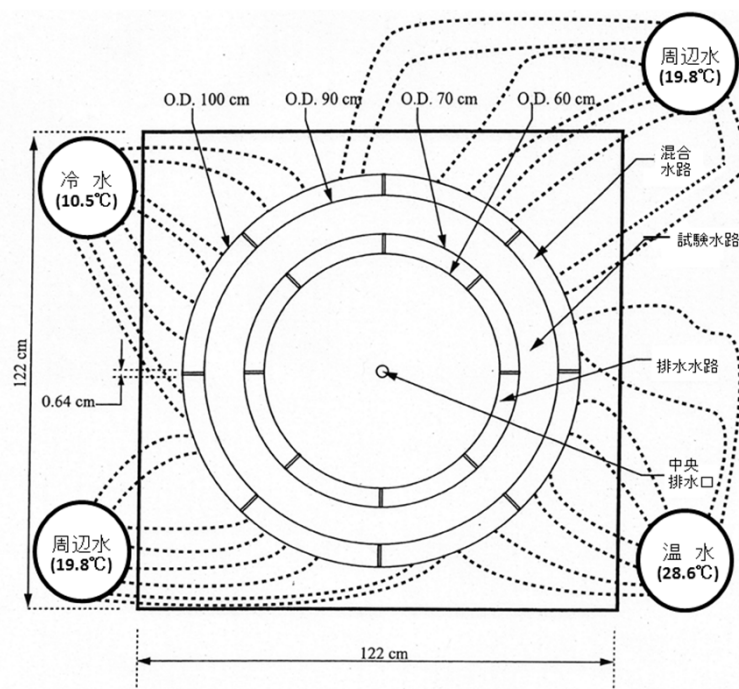
島ら (2014c) は温度・塩分勾配が水流に対して左右に形成され、かつ水槽内に生物の動きを妨げる障害が存在しない実験水槽の開発を行い、遡上期のアユ *Plecoglossus altivelis altivelis* の温度・塩分選好について検討した。実験水槽上部に2本の穴が開けられた給水管が設置され、10段階の温度あるいは塩分の試験水がスロープを通過して水槽内に供給されることにより、温度あるいは塩分勾配が形成される。本実験水槽は比重差のある試験水を平行に流して水平勾配を設定しているため、下流側ほど垂直方向の勾配が顕著となり、水流方向の長さの設定に制限が生じる。そのため、本実験水槽は大型の生物を対象とした実験には不向きであるが、生活史初期に海から河川上流に向かって遡上するステージを持つアユなどの水温と塩分反応を検討する際に、水流に対して左右に水平勾配を設定できる本実験水槽が有効であると報

告している。

輪状型(ドーナツ型)温度勾配水槽 この装置には同心円状に水路が設けられており、温度調節された水は外側の放射状に置かれた各注水室より測定室に注入され、中央の排水口から排水される。試験水は外側から中心部に向かって流れ、測定室は区切りのない水路となっている。

Kivivuori (1994) はドーナツ型水槽でヨーロッパザリガニ *Astacus astacus* の温度選好行動を明らかにした。この水槽は等しいサイズの8室に分けられ、ザリガニは水槽の隅に寄ることなく、ドーナツ型プールを周りながら移動して、温度選好が可能となっている。

Myrick *et al.* (2004) は、垂直型水槽の水深や光、水平型水槽のコーナーなど温度選好に及ぼす影響と考えられる要因を除去するために、ドーナツ状の輪状型水槽を製作しニジマス *Oncorhynchus mykiss* で実験した。この水槽の外側の水路は放射状に8分割され温度調節した水の混合域とした。内側の水路は排水用水路で、混合域との間を実験水路とした。温度調節された水は、外側から中心部に向かって流れる。水槽外側の直径は100cmであった。温度調節された水は4カ所の貯水槽より注水された(第4図)。



第4図 輪状型温度勾配水槽 (Myrick *et al.*, 2004を一部改変)。温度調節槽4基からそれぞれ8つのチューブ(点線)が外側の混合水路に設置されている。試験水は外側水路から中心部の排水口に向かって流れる。

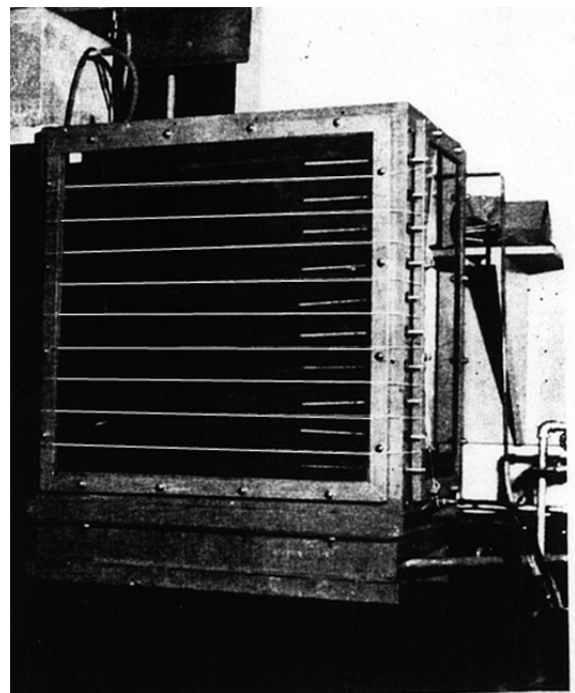
その後この輪状型水槽を改良しながら、ニジマス、カッスロートトラウト *Oncorhynchus clarki*, トビハゼ類 *Boleophthalmus pectinirostris*, シロチョウザメ *Acipenser transmontanus*, 大西洋タラ *Gadus morhua*, ブラウンエビ *Crangon crangon* などで実験が行われた (McMahon *et al.*, 2008; Chen *et al.*, 2008; Gräns *et al.*, 2010; Behrens *et al.*, 2012; Reiser *et al.*, 2013)。また, Klimley *et al.* (2011) は実験水槽のベース台の大きさが3.05m×3.05mで, 実験区水路幅が30cm, 水深15.2cmと大型の水槽を製作し, ニジマス類で実験を行った。

この実験水槽はドーナツ状水路のため, 水平温度勾配水槽などの箱形水槽の問題点とされているコーナーがないことで, 物体等に対する正の接触行動を示す走触性生物の温度選好行動への影響を避けることができる。さらに, 垂直温度勾配水槽の水深や照度の差による影響を除くことができる利点がある。

垂直温度勾配水槽 Brett (1952) は, 垂直的な温度勾配を形成させた実験水槽内において, 太平洋産サケ属5種の稚魚を対象にして, それらの最頻遊泳層を通じて各魚種の選好温度を把握する実験を行った。Brett (1952) が用いた実験水槽はガラス板と鉄枠で構成された箱型のもので, その大きさは高さ914mm, 長さ914mm, 幅508mmであった。この水槽の底層部から冷水を注入し, 表層部からオーバーフローさせるとともに, 水槽内壁の近くに熱交換用の銅管製の細い螺旋状コイルを設けて, その管内に表層部から底層部方向へ温水を通し, これらの槽内注入冷水と細管内通過温水の温度と流量を適宜調整することによって, 所定の温度勾配を得るといった方式を採用している (第5図)。

Brett (1952) の用いたものとほぼ同形同大の実験装置が, 原型を部分的に改良した程度のみで, カナダの研究者によって, イエローパーチ *Perca flavescens*, ニジマス *Salmo gairdneri*, レイクトラウト *Salvelinus namaycush*, カワマス *Salvelinus fontinalis*, イトヨ *Gasterosteus aculeatus*, マミチヨグ *Fundulus heteroclitus*などを対象にした実験に使用された (Ferguson, 1958; Garside and Tait, 1958; McCauley and Pond, 1971; McCauley and Tait, 1970; McCauley and Read, 1973; Peterson, 1973; Garside and Morrison, 1977; Garside *et al.*, 1977; Kwain and McCauley, 1978)。

一方, 米国では円筒型の実験水槽内に垂直的な温度勾配を形成させた装置によって, 大西洋産の海産魚など13種, ニシン科の1種, ボラ属の1種, スズキ目やコイ科の魚3種についての実験が行われた (Otto *et al.*, 1976; Wyllie *et al.*, 1976; Major, 1978; Kellogg and Gift, 1983)。また, Purcell and Shrode (1983) は幼稚魚用の小型実験装置について報告した。これらの装置もまた水槽内に熱交換用コイルを設置したものであった。一方, Vollset *et al.* (2009) は直径15cm, 長さ2m (水深1m) の透明プラスチック製の円筒水槽中に温度躍層を形成させて, 大西洋タラ仔魚の行動分布を計測した。実験室は8°Cに保たれ, 円筒水槽の下半分 (50cm) をガラス水槽に浸して4~8°Cの温度躍層を形成させた。



第5図 垂直温度勾配水槽 (Brett, 1952を一部改変)。低照明下で魚の位置を記録するために白色コードによって10区画に分けられ, 水槽に向かって右側に水温計が区画毎に設置されている。

土田・深滝 (1991) は11段階の異なる温度に調節した海水を層状に実験水槽内に注入し, 垂直方向の垂直温度勾配装置を設計・製作した。装置の構造と機能上の特徴として, 安定した温度勾配条件を確保する目的で, それぞれ独立した11系統の温度自動制御用循環回路を採用し, これらの回路は全て実験水槽の外部に設置されている。その結

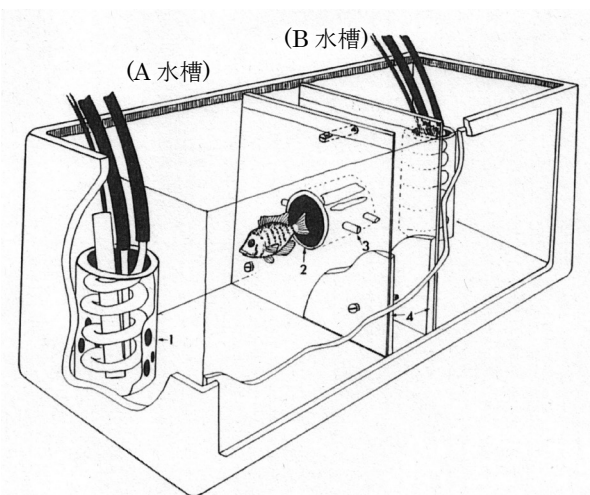
果、実験区内の構造は極めて単純化され、供試魚の遊泳行動に対するコイルなど構造物の影響を解消した。また、供試魚観察の障害となるものがなくなったため、水槽前面に設置したテレビカメラによる遠隔観察も容易であった。さらに多くの既往装置のように、垂直方向に流れが発生することも回避され、水平方向にのみ微弱な層流が継続して流れるという、表・中層性の実験対象魚種にとってより望ましいと考えられる実験条件を確保することが可能となった。この装置を用いてウマヅラハギ *Thamnaconus modestus* のほか魚類28種について温度選好実験を行った (Tsuchida, 1995; 土田, 2002; 土田, 2014b)。

垂直温度勾配水槽を用いた実験のうち、温度勾配や塩分勾配など密度差の大きな勾配を形成させる場合、垂直型の勾配水槽の方が勾配を形成しやすい利点がある。Birtwell and Kruzynski (1987) は河口域の環境条件をシミュレーションできる装置を設計製作しサケ・マス幼魚の行動を検討した。アクリル製実験水槽 (2.4m×2.4m×0.8m) は3つの水深帯に分かれており、温度、塩分、溶存酸素の制御を可能にし、成層化の安定度についての実例として、貧酸素に対する魚の行動を研究するための応用例を示した。また、Breitburg (1994) は、ハゼ類 *Gobiosoma bosc* やカタクチイワシ類 *Anchoa mitchilli* について上記のBirtwell and Kruzynski (1987) に類似する実験水槽で温度、溶存酸素、塩分の変化に対する行動反応を調べた。

オペラント・条件付け法 Rozin and Mayer (1961) は二重の容器からなる装置の中に条件付けたキンギョ *Carassius auratus* を収容し、オペラント・条件付け法による実験を行った。容器の隅にレバーがありキンギョはある温度以上になるとレバーを押す。この信号により、容器の上にある管から所定量 (2~3mL) の冷水が1秒間注入される。その結果、容器内の水温は低下する。外側容器はウォーターバスで、ヒーターで所定の温度まで昇温することができる。外側容器によって徐々に内側容器が加温され、やがて魚は温度負荷をレバー操作によって取り除く行動、すなわち温熱逃避行動を実行する。強化時間は1秒間であり、冷水が注入される間は、小型電球が点灯されるようになっている。

こうした方法は改良を経てシャトルボックスとなった (第6図)。前述までの空間的温度勾配利用

型とは全く異なり、シャトルボックス装置は時間的勾配利用型であり、オペラント・条件付け法を基礎としたものである。空間的温度勾配利用型の各水槽は、供試生物が自己の占める位置によって温度を選好するが、この時間的温度勾配利用型では、装置に置かれた魚がある行為をすることによって水温の上昇あるいは下降といった管理 (温度調節) を行うものである。

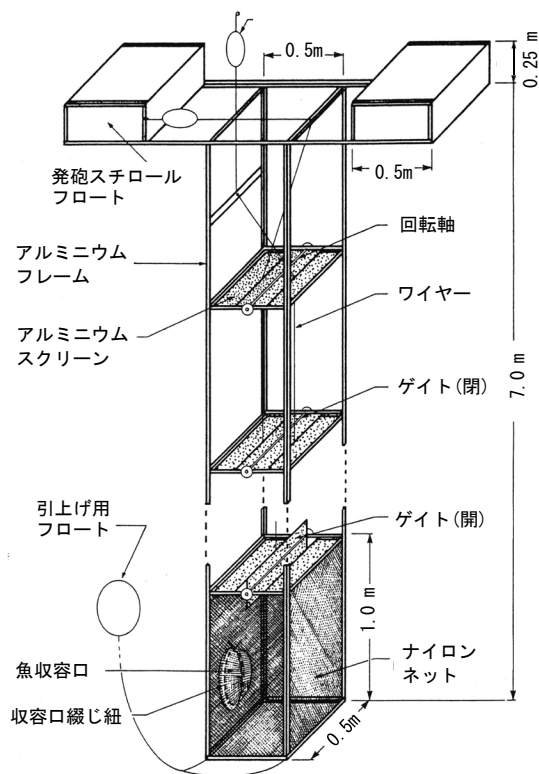


第6図 オペラント・条件付け法によるシャトルボックス装置 (Noakes and Baylis, 1990を一部改変)。1: 加熱冷却ユニット, 2: A水槽とB水槽を繋ぐ通路, 3: 通路の移動を感知するフォトセンサー, 4: 中心は2水槽を分割している。

具体的には、A、B 2水槽を通路により連結し、A、B 水槽温度を所定の差 (例えば3℃) に保ちながら、A、B 両水槽を同時に昇温、又は降温することができるようにしている。例えば、魚がA水槽 (高温側) に滞留するときは両水槽とも昇温し、B水槽 (低温側) に移り滞留すると降温するように設計されている (Neill *et al.*, 1972; Reynolds and Casterlin, 1979; 海生研, 1981; Noakes and Baylis, 1990)。こうして供試魚は高温側水槽と低温側水槽を行き来して行動的温度調節を行うことになる。

島ら (2014d) は条件付け法を利用したシステムとしての自発摂餌装置を使用して、サクラマス *Oncorhynchus masou* およびシロギス *Sillago japonica* の摂餌行動に及ぼす水温上昇および低酸素の影響をそれぞれ検討した。その結果、摂餌行動には生残率、忌避行動を指標とした場合よりも小さな負荷で顕著な影響が認められることから、自発摂餌装置で得られる摂餌に関するデータは環境変化が魚類に及ぼす影響を評価する際に有用な手段となり得ることを報告している。

野外実験水槽 Birtwell (1977) は、河口域における水環境に対するサケ・マス類への行動を把握する目的で野外での垂直型の選好実験水槽を製作した。実験水槽は、0.5m×0.5m×6.0mのアルミフレーム枠にナイロンネットが取り付けられている(第7図)。上部には浮揚ユニットがあり実験水槽を海水中に垂直的に浸すことができる。実験水槽は1.0m間隔の6区画に分けられており、隣り合う上下の区画はアルミ製の開閉式ゲートが設置されて、魚が行き来できるようになっている。水槽を水平にした状態で各区画に10尾の供試魚を各区画に収容した後、垂直に実験水槽を沈めて各区画のゲートを開いて実験を開始している。実験終了時には全ての区画間にあるゲートを閉めて各区画の個体数を計測し、温度、塩分、溶存酸素等の環境条件に対する反応行動を解析した。



第7図 野外実験水槽 (Birtwell, 1977を一部改変)。

三浦ら (2014) は、漁獲サイズの大型魚類の温排水に対する反応行動を把握するための実験として、大型生け簀を用いた野外実験手法を考案した。生け簀は直径12mの強化スチール製枠を使用した円筒形で、網は目合い4.5cmのポリエチレン製とし、底網までの深さは9mとしている。この実験生け簀は、発電所前面の温排水拡散域内と温排水拡散域外(対照海域)に設置され、ブリ

Seriola quinqueradiata など数魚種の温排水に対する行動を明らかにするために使用された。

まとめ

魚類等の水生生物の選好・忌避実験は、これまで数多く行われてきた。温度に対する実験は1930年代からはじまり、Fry (1947) によって体系づけられた。その後、発電所の温排水に伴う生物影響に関連して1970年代に論文数は増加したが、1980年代になるとその数は減少した。1990年代以降は地球温暖化による水温の上昇に伴う生息域への影響予測に関する論文が増してきた。こうした流れの中、装置についても様々な形状や方法が開発されてきた。

当初は、研究者の関心は装置や手法の違いによる反応行動への影響であった。垂直温度勾配水槽を用いた温度選好実験の場合、水平温度勾配水槽との外的条件の違いとして水深に伴う水圧や照度勾配の存在があり、選好温度への影響の可能性が指摘されている (Brett, 1952; McCauley, 1977)。また、水平温度勾配装置など箱形の実験水槽は隅が存在することから、正の走触性による行動影響の可能性が指摘されている (Myrick *et al.*, 2004; Reiser *et al.*, 2013)。

一方、McCauley and Pond (1971) はニジマス稚魚の選好温度について、垂直温度勾配水槽と水平温度勾配水槽で比較検討した。その結果、2つの異なる勾配下であっても、供試魚の遊泳頻度分布は同じであり、選好温度に統計学的に有意差は認められなかったと報告している。土田 (2002) は、6種の海産魚で垂直温度勾配水槽と水平温度勾配水槽で比較検討した結果、イシダイ *Oplegnathus fasciatus* の短期選好温度 (勾配完成から2時間以内) は15, 20℃馴致群では有意差が認められたが、15~28℃馴致群の長期選好温度 (温度勾配完成から24時間以降) では異なる勾配による差は認められなかった。また、キチヌ *Acanthopagrus latus*、ミナミクロダイ *Acanthopagrus siviculus* およびアオギス *Sillago parvisquamis* の短期選好温度では実験を行った範囲の馴致群において有意差は認められなかった。さらに、シロギスおよびクロソイでは1つの温度馴致群のみの実験であるが、異なる勾配による短期選好温度の差は認められなかった。これらの魚種においては垂直温度勾配下での選好温度に及ぼす水圧や照度勾配などの影響は、

無視しうる程度である可能性が示唆されている (McCauley, 1977; 土田, 2002)。

また、土田 (2002) は水平温度勾配水槽を用いて、ヒラメ *Paralichthys olivaceus*, マコガレイ *Pleuronectes yokohamae*, オニオコゼ *Lnimicus japonicus*, アイナメ *Hexagrammos otakii* など底生魚種の実験を行い、温度勾配形成に伴う温度変化に対して、位置の移動や魚体の向きの反転などの忌避的応答を示すが、その後潜砂的行動や実験水槽の端に隠れるように集まるなどの行動が現れ、特定の温度域に対する選好行動は認められなかったことを報告している。同様にクルマエビ *Marsupenaeus japonicus* やガザミ *Portunus trituberculatus* の水平温度勾配下での温度選好実験においても特定の温度域に集中的に移動する行動は認められていない (土田, 未発表)。このような底生性の魚類および甲殻類の反応行動は、温度変化に対して特定の温度域に移動する行動というよりも、特定の場所での潜砂や狭い場所への逃避など、おそらく走触性に基づく行動特性が優先的に発現したものと考えられる。さらに、カサゴについて水平温度勾配を段階的に形成した場合と急激に形成した場合とを比較したところ、温度勾配を段階的に形成した場合には明確な温度選好を示したが、急激に形成した場合には温度選好を明確に示さず、温度上昇に行動的対応ができずに死亡する個体なども認められている (土田, 2002)。

以上のことから、魚類等の選好・忌避実験においては、対象となる生物の行動生態を十分に考慮して、かつ得ようとする反応行動にあわせ、適切な実験水槽の選好並びに実験方法の設定を行う必要があると考えられる。

謝 辞

本稿とりまとめに際し有益なご助言を賜った (公財) 海洋生物環境研究所の木下秀明博士、道津光生博士および藤井誠二研究参事に厚く御礼申し上げます。

引用文献

- Barans, C.A. and Tubb, R.A. (1973). Temperatures selected seasonally by four fishes from western Lake Erie. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **30**, 1697–1703.
- Behrens, J.W., Gräns, A., Therkildsen, N.O., Neuenfeldt, S. and Axelsson, M. (2012). Correlations between hemoglobin type and temperature preference of juvenile Atlantic cod *Gadus morhua*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **413**, 71–77.
- Beitinger, T.L. (1990). Behavioral reactions for the assessment of stress in fishes. *J. Great Lakes Res.*, **16**, 495–528.
- Birtwell, I.K. (1977). A field technique for studying the avoidance of fish to pollutants. In “Proc. 3rd Aquatic Toxicity Workshop” Environ. Protect. Serv. Tech. Rep. No. EPS-5-AR-77-1, Halifax, N. S., 69–86.
- Birtwell, I.K. and Kruzynski, G.M. (1987). Laboratory apparatus for studying the behavior of organisms in vertically stratified waters. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **44**, 1343–1350.
- Breitbart, D.L. (1994). Behavioral response of fish larvae to low dissolved oxygen concentrations in a stratified water column. *Mar. Biol.*, **120**, 615–625.
- Brett, J.R. (1952). Temperature tolerance in young Pacific salmon genus *Oncorhynchus*. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **9**, 265–323.
- Chen, S.X., Hong, W.S., Su, Y.Q. and Zhang, Q.Y. (2008). Microhabitat selection in the early juvenile mudskipper *Boleophthalmus pectinirostris* (L.). *J. Fish Biol.*, **72**, 585–593.
- Cherry, D.S. and Cairns, J.Jr. (1982). Biological monitoring. Part V –Preference and avoidance studies. *Water Res.*, **16**, 263–301.
- Cherry, D.S., Dickson, K.L. and Cairns, J.Jr. (1975). Temperatures selected and avoided by fish at various acclimation temperatures. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **32**, 485–491.
- Cherry, D.S., Guthrie, R.K., Rodgers, J.H.Jr., Cairns, J.Jr. and Dickson, K.L. (1976). Responses of mosquitofish (*Gambusia affinis*) to ash effluent and thermal stress. *Trans. Am. Fish. Soc.*, **105**, 686–694.
- Cherry, D.S., Dickson, K.L., Cairns, J.Jr. and Stauffer, J.R.Jr. (1977). Preferred, avoided and lethal temperatures of fish during rising temperature conditions. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **34**, 239–246.
- Cook, D.G., Wells, R.M.G. and Herbert, N.A. (2011). Anaemia adjusts the aerobic physiology of

- snapper (*Pagrus auratus*) and modulates hypoxia avoidance behavior during oxygen choice presentations. *J. Exp. Biol.*, **214**, 2927–2934.
- Cook, D.G., Iftikar, F.I., Baker, D.W., Hickey A.J.R. and Herbert, N.A. (2013). Low-O₂ acclimation shifts the hypoxia avoidance behaviour of snapper (*Pagrus auratus*) with only subtle changes in aerobic and anaerobic function. *J. Exp. Biol.*, **216**, 369–378.
- Doudoroff, P. (1938). Reactions of marine fishes to temperature gradients. *Biol. Bull.*, **75**, 494–509.
- Ehrlich, K.F., Hood, J.M., Muszynski, G. and McGowen, G.E. (1979). Thermal behavioral responses of selected California littoral fishes. *Fish. Bull.*, **76**, 837–849.
- Ferguson, R.G. (1958). The preferred temperature of fish and their midsummer distribution in temperate lakes and streams. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **15**, 607–624.
- Fry, F.E.J. (1947). Effects of the environment on animal activity. *Univ. Toronto Stud. Biol. Ser.*, **No. 55**, *Pub. Ont. Fish. Res. Lab.*, **No.68**, 62pp.
- Garside, E. T. and Morrison, G. C. (1977). Thermal preferences of mummichog, *Fundulus heteroclitus* L., and banded killifish, *F. diaphanus* (LeSueur), (Cyprinodontidae) in relation to thermal acclimation and salinity. *Can. J. Zool.*, **55**, 1190–1194.
- Garside, E.T. and Tait, J.S. (1958). Preferred temperature of rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) and its unusual relationship to acclimation temperature. *Can. J. Zool.*, **36**, 563–567.
- Garside, E.T., Heinze, D.G. and Barbour, S.E. (1977). Thermal preference in relation to salinity in the threespine stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L., with an interpretation of its significance. *Can. J. Zool.*, **55**, 590–594.
- Gräns, A., Olsson, C., Pitsillides, K., Nelson, H.E., Cech, J.J. and Axelsson, M. (2010). Effects of feeding on thermoregulatory behaviours and gut blood flow in white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) using biotelemetry in combination with standard techniques. *J. Exp. Biol.*, **213**, 3198–3206.
- Hall, L.W.Jr., Cincotta, D.A., Stauffer, J.R.Jr. and Hocutt, C.H. (1978). Temperature preference of the Crayfish *Orconectes obscurus*. *Arch. Env. Contam. Toxicol.*, **7**, 379–383.
- Heath, A.G., Turnerand, B.J. and Davis, W.P. (1993). Temperature preferences and tolerances of three fish species inhabiting hyperthermal ponds on mangrove islands. *Hydrobiologia*, **259**, 47–55.
- Herbert N.A., Skjaeraasen J.E., Nilsen, T., Salvanes A.G.V. and Steffensen, J.F. (2011). The hypoxia avoidance behaviour of juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) depends on the provision and pressure level of an O₂ refuge. *Mar. Biol.*, **158**, 737–746.
- Hesthagen, I.H. (1979). Temperature selection and avoidance in the sand goby, *Pomatoschistus minutus* (Pallas), collected at different seasons. *Env. Biol. Fish.*, **4**, 369–377.
- 日高秀夫・立川 涼 (1985a). 魚類による化学物質の忌避試験法(1). 生態化学, **7**(4), 17–25.
- 日高秀夫・立川 涼 (1985b). 魚類による化学物質の忌避試験法(2). 生態化学, **8**(1), 17–27.
- 日高秀夫・立川 涼 (1985c). 魚類による化学物質の忌避試験法(3). 生態化学, **8**(2), 31–40.
- 日高秀夫・立川 涼 (1985d). 魚類による化学物質の忌避試験法(4). 生態化学, **8**(3) 31–38.
- 日高秀夫・菅麻也子・立川 涼 (1983). メダカによる化学薬剤の忌避試験法. 農化, **57**, 571–579.
- 日高秀夫・菅麻也子・立川 涼 (1984). メダカによる陰イオン系界面活性剤の忌避. 農化, **58**, 1–7.
- 本田晴朗 (1984). サケ科魚類稚魚の濁りに対する行動. 電中研研報, **No.483024**, 1–12.
- 堀 哲郎(1981). 行動性体温調節. 「温熱生理学」(中山昭雄編), 理工学社, 東京, 313–339.
- 伊藤康男・劉 海金・高久 浩・土田修二 (2001). オリマルジョンに対するサケ稚魚の忌避行動. 海生研研報, **No.3**, 27–38.
- 伊藤康男・劉 海金・高久 浩・土田修二 (2014). 並流型実験水槽 —化学物質に対するサケ稚魚の忌避行動の解析—. 海生研研報, **No.18**, 15–19.
- Javald, M.Y. and Anderson, J.M. (1967). Thermal acclimation and temperature selection in Atlantic salmon, *Salmo salar*, and rainbow trout, *S. gairdneri*. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **24**, 1507–1513.

- 海洋生物環境研究所 (1981). 大型実験装置第1号—シャトルボックス完成. 海生研ニュース, **No.8**, 1-2.
- Kellogg, R.L. and Gift, J.J. (1983). Relationship between optimum temperatures for growth and preferred temperatures for the young of four fish species. *Trans. Am. Fish. Soc.*, **112**, 424-430.
- Kilambi, R.V. and Galloway, M.L. (1985). Temperature preference and tolerance of hybrid carp (female grass carp, *Ctenopharyngodon idella* × male bighead, *Aristichthys nobilis*). *Env. Biol. Fish.*, **12**, 309-314.
- Kita, J., Tsuchida, S. and Setoguma, T. (1996). Temperature preference and tolerance, and oxygen consumption of the marble rockfish, *Sebastes marmoratus*. *Mar. Biol.*, **125**, 467-471.
- Kivivuori, L.A. (1994). Temperature selection behaviour of cold- and warm-acclimated crayfish [*Astacus astacus* (L.)]. *J. Therm. Biol.*, **19**, 291-297.
- Klimley, A.P., Cech, J.J.Jr., Thomspson, L.C., Hamilton, S.A. and Cochrell, D.E. (2010). Experimental and field studies to assess pulsed water flow impacts on the behavior and distribution of fishes in the South Fork of the American River: Second year. California Energy Commission, PIER Energy-Related Environmental Research Program, CEC-500-2009-067, 31-39.
- Kramer, D.L. (1987). Dissolved oxygen and fish behavior. *Envir. Biol. Fish.*, **18**, 81-92.
- Kwain, W. and McCauley, R.W. (1978). Effects of age and overhead illumination on temperatures preferred by underyearling rainbow trout, *Salmo gairdneri* in a vertical temperature gradient. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **35**, 1430-1433.
- Major, P.F. (1978). Aspects of estuarine intertidal ecology of juvenile striped mullet, *Mugil cephalus*, in Hawaii. *Fish. Bull.*, **76**, 299-314.
- McCauley, R.W. (1977). Laboratory methods for determining temperature preference. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **34**, 749-752.
- McCauley, R.W. and Pond, W.L. (1971). Temperature selection of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fingerlings in vertical and horizontal gradients. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **28**, 1801-1804.
- McCauley, R.W. and Read, L.A.A. (1973). Temperature selection by juvenile and adult yellow perch (*Perca flavescens*) acclimated to 24°C. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **30**, 1253-1255.
- McCauley, R. W. and Tait, J. S. (1970). Preferred temperature of yearling lake trout, *Salvelinus namaycush*. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **27**, 1729-1733.
- McMahon, T.E., Bear, E.A. and Zale, A.V. (2008). Use of an annular chamber for testing thermal preference of westslope cutthroat trout and rainbow trout. *J. Freshwater Ecol.*, **23**, 55-63.
- Meldrim, J.W., Gift, J.J. and Petrosky, B.R., (1974). The effect of temperature and chemical pollutants on the behavior of several estuarine organisms. *Ichthyol. Ass. Bull.*, **11**, 1-129.
- 三浦雅大・藤澤俊郎・山田 裕・原 猛也 (2014). 生け簀による野外実験—大型ブリの温度反応の解明—. 海生研研報, **No.18**, 47-50.
- Myrick, C.A., Folgner, D.K. and Cech, J.J. (2004). An annular chamber for aquatic animal preference studies. *Trans. Am. Fish. Soc.*, **133**, 427-433.
- Neill, W.H., Magnuson, J.J. and Chipman, G.G. (1972). Behavioral thermoregulation by fishes, a new experimental approach. *Science*, **176**, 1443-1445.
- Noakes, D.L.G. and Baylis, J.R. (1990). Preference Test. In "Methods for Fish Biology" (eds. Schreck, C. B. and Moyle P. B.), Am. Fish. Soc., Maryland, 563-568.
- Otto, R.G., Kitchel, M.A. and Rice, J.O. (1976). Lethal and preferred temperature of the alewife (*Alosa pseudoharengus*) in Lake Michigan. *Trans. Am. Fish. Soc.*, **105**, 96-106.
- Petersen, J.K. and Petersen, G.I. (1990). Tolerance, behavior and oxygen consumption in the sand goby, *Pomatoschistus minutus* (Pallas), exposed to hypoxia. *J. Fish. Biol.*, **37**, 921-933.
- Peterson, R.H. (1973). Temperature selection of Atlantic salmon (*Salmo salar*) and brook trout (*Salvelinus fontinalis*) as influenced by various chlorinated hydrocarbons. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **30**, 1091-1097.
- Peterson, S.E. and Schutsky, R.M. (1976). Some relationships of upper thermal tolerances to

- preference and avoidance responses of the bluegill. In "Thermal ecology II" (eds. Esch, G. W. and McFarlane, R. W.), CONF-750425, Nat. Tech. Inf. Serv., Springfield, VA, 148-153.
- Purcell, L.J. and Shrode, J.B. (1983). Vertical temperature preference tank for larval and juvenile fish. *Prog. Fish-Cult.*, **45**, 27-29.
- Reiser, S., Temming, A., Eckhardt, A. and Herrmann, J.P. (2013). Automation and critical evaluation of an annular chamber for aquatic ectotherm temperature preference experiments. *Meth. Ecol. Evolution*, **4**, 531-541.
- Reynolds, W.W. and Casterlin, M.E. (1979). Behavioral thermoregulation and the final preferendum paradigm. *Am. Zool.*, **19**, 211-224.
- Richards, F.P. and Ibara, R.M. (1978). The preferred temperatures of the brown bullhead, *Ictalurus nebulosus* with reference to its orientation to the discharge canal of a nuclear power plant. *Trans. Am. Fish. Soc.*, **107**, 288-294.
- Rozin, P.N. and Mayer, J. (1961). Thermal reinforcement and thermoregulatory behavior in the goldfish, *Carassius auratus*. *Science*, **134**, 942-943.
- 佐藤祐介・岸田智穂 (2002). 実証試験場屋外展示水槽の紹介. 海生研ニュース, **No.76**, 7-8.
- 島 隆夫・恩地啓実・横田瑞郎(2014a). 平行流型低酸素反応行動実験水槽ー低酸素に対するマハゼ, シロギス, クルマエビの反応行動の解析ー. 海生研研報, **No.18**, 21-24.
- 島 隆夫・恩地啓実・横田瑞郎(2014b). 垂直流を利用する水温・塩分勾配水槽ーシキシマフクロアミ, チョウセンハマグリおよびヒラメが選好する水温・塩分についてー. 海生研研報, **No.18**, 41-46.
- 島 隆夫・伊藤康男・土田修二 (2014c). 傾斜流を利用する水温・塩分勾配水槽ーアユ稚魚が選好する水温・塩分についてー. 海生研研報, **No.18**, 37-40.
- 島 隆夫・三浦雅大・恩地啓実・横田瑞郎 (2014d). 自発摂餌装置ーサクラマスおよびシロギスの摂餌行動の解析ー. 海生研研報, **No.18**, 67-70.
- Sullivan, C. M. and Fisher, K. C. (1953). Seasonal fluctuations in the selected temperature of speckled trout, *Salvelinus fontinalis* (Mitchill). *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **10**, 187-195.
- 田端健二 (1980). 魚類の忌避行動. 「新編水質汚濁調査指針」(日本水産資源保護協会編), 恒星社厚生閣, 東京, 408-411.
- 立川 涼・日高秀夫 (1978). 魚類による化学薬剤の忌避試験法ーアユによる洗剤の忌避ー. 農化, **52**, 263-270.
- Tsuchida, S. (1995). The relationship between upper temperature tolerance and final preferendum of Japanese marine fish. *J. Therm. biol.*, **20**, 35-41.
- 土田修二 (2002). 沿岸性魚類の温度選好に関する実験的研究. 海生研研報, **No.4**, 11-66.
- 土田修二 (2014a). 水平温度勾配水槽ーホシギスの温度選好の解明ー. 海生研研報, **No.18**, 25-29.
- 土田修二 (2014b). 垂直温度勾配水槽ーウマズラハギの温度選好の解明ー. 海生研研報, **No.18**, 31-35.
- 土田修二・深滝 弘 (1991). 新型垂直温度勾配反応試験装置の構造と性能. 海生研報告, **No.91201**, 1-20.
- 土田修二・瀬戸熊卓見 (1997). クロソイ幼魚の温度反応. 日水誌, **63**, 64-69.
- Vlaming, V.L. (1971). Thermal selection behaviour in the estuarine goby *Gillichthys mirabilis* Cooper. *J. Fish. Biol.*, **3**, 277-286.
- Vollset, K.W., Fiksen, Ø. and Folkvord, A. (2009). Vertical distribution of larval cod (*Gadus morhua*) in experimental temperature. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **37**, 16-22.
- Wallace, R.K.Jr. (1977). Thermal acclimation, upper temperature tolerance, and preferred temperature of juvenile yellowtail snappers, *Ocyurus chrysurus* (Bloch) (Pisces: Lutjanidae). *Bull. Mar. Sci.*, **27**, 292-298.
- Wyllie, M.C., Holmstrom, E.R. and Wallace, R.K. (1976). Temperature preference, avoidance, shock, and swim speed studies with marine and estuarine organisms from New Jersey. *Ichthyol. Associ.*, **No.15**, 1-76.