

特集 海生動物行動実験装置

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－

伊藤康男^{*1 §}・劉 海金^{*2}・高久 浩^{*3}・土田修二^{*3}

Parallel Currents Type Experimental Tank
－ Evaluation of Avoidance Response of Juvenile Chum Salmon
(*Oncorhynchus keta*) to Chemicals －

Yasuo Itoh^{*1 §}・Haijin Liu^{*2}・Hiroshi Takaku^{*3} and Shuji Tsuchida^{*3}

要約：2つの実験区を有する並流型の忌避実験水槽を製作し、サケ稚魚（平均尾叉長45.6mm，平均体重0.66g）のオリマルジョン懸濁海水に対する忌避反応を調べた。1回の供試尾数は1尾，実験時間は30分とし，1濃度段階の実験回数は原則として10回とした。実験期間中の水温は3.0～5.9℃の範囲であった。オリマルジョンの濃度段階を0(対照区)，10ppm，100ppm，178ppm，316ppm，562ppmの6段階に設定した。忌避反応の判定は，実験開始後20～25分間の対照区および各濃度区における滞泳頻度の平均値を両区間で比較することにより行った。その結果，178ppm以上の濃度区で *t*-検定による有意差が認められ，供試魚がオリマルジョンを忌避したと判断された。また，濃度が高くなるに従って忌避反応が強くなる傾向も認められた。

キーワード：忌避反応，忌避実験，オリマルジョン，サケ稚魚，並流型実験水槽

まえがき

溶存化学物質（有害物質）や低酸素水に対する魚類の忌避行動実験の歴史は古く，「新編 水質汚濁調査指針 第7章 1.5 魚類の忌避行動」（日本水産資源保護協会，1980）のなかで，外国では魚類の忌避行動を調べる装置が1910年代から考案されて実験されていたことが紹介されている。また，同書の中で，日本でも高安が魚類の忌避実験を行い，実験水槽内で有害物質を嫌って逃げ始める濃度として，「忌避量」という概念を1924年に提唱したとされている。その後，大谷ら（1939）が高安の考案した実験水槽を改良して忌避行動実験を行った。

日高・立川（1985a, 1985b, 1985c, 1985d）は，総

説「魚類による化学物質の忌避試験法（1）～（4）」を発表し，魚類の忌避行動実験方法についてとりまとめている。この中で，実験の簡便さ，再現性，統計処理の容易さから，“並流型”と呼ばれる方法を推奨している。これは，供試魚の行動範囲を限定し，清浄水（対照区）と薬剤を含む水（薬剤区）のどちらの区画に滞泳する頻度が高いかによって忌避反応を判定するものであり，二者択一水槽のひとつである。

著者らは，溶存化学物質に対するサケ稚魚の忌避反応をこの並流型実験水槽を用いて測定した。以下，実験水槽の概要を紹介する。なお，実験結果の詳細については伊藤ら（2001）に報告しているので，そちらを参照していただきたい。

実験に用いた化学物質は，過去に，火力発電所

（2013年12月2日受付，2014年2月19日受理）

*1 公益財団法人海洋生物環境研究所 実証試験場（〒945-0017 新潟県柏崎市荒浜4-7-17）

§ E-mail: itoh@kaiseiken.or.jp

*2 元職員

*3 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）

の燃料として使用が検討されていたオリマルジョン（豊田・中嶋，1990；山本，1998）で，忌避実験は平成11年3月から4月にかけて北海道大学水産学部附属白尻水産実験所で実施した。

装 置

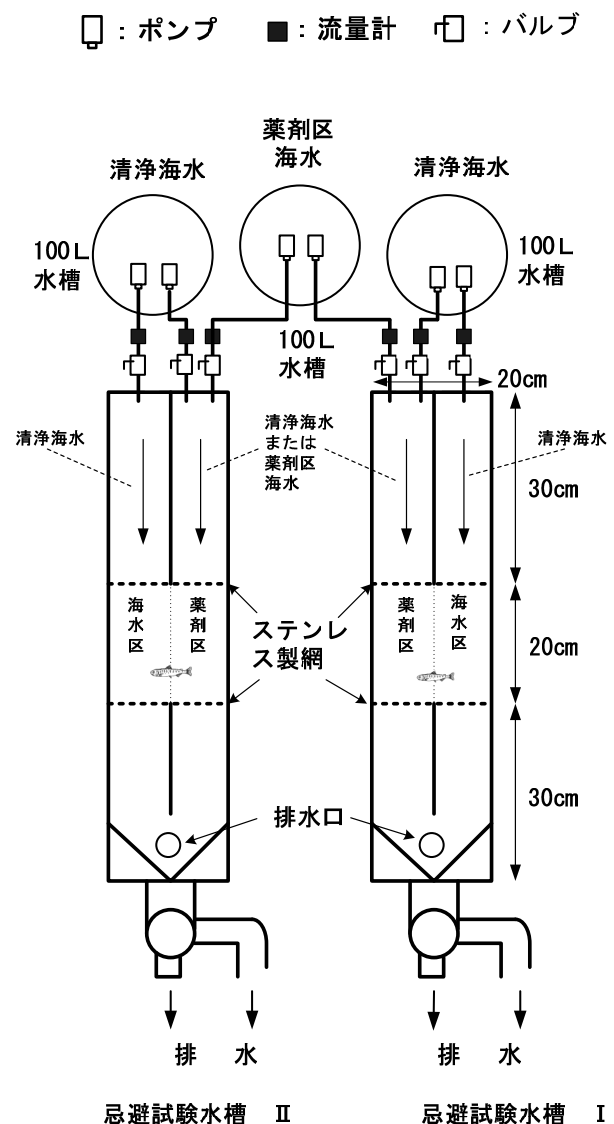
並流型実験水槽 第1図に並流型実験水槽の概略図を示した。水槽は塩化ビニール樹脂製で，長軸方向に中央の隔壁で2つの区画に区切り，上流側から試験水を供給することによって，2つの水流を混合しないよう流すことが可能である。中央部は隔壁をなくして供試魚を収容する区画を設け，ステンレス製の網を上流側と下流側に設置することによって，供試魚の行動を中央部の区画に限定している。2つの区画のうち1つの区画に清浄海水を，もう1つの区画に有害物質を含む海水や低酸素水を流すことによって，供試魚がどちらの水流を選好するか，もしくは忌避するかを調べることが可能である。便宜上，中央部の区画において，清浄海水を流す側を海水区，薬剤添加海水を流す側を薬剤区と呼ぶことにする。並流型実験水槽の排水口は鉛直方向に可動式の二重管でオーバーフローさせ，この二重管の高さを調節することによって水位を調節した。

サケ稚魚を用いた予備実験において，化学物質を流した際の物質の移動状況や分布を予め確認するため，メチレンブルーを薬剤区に流し，その挙動を観察した（第2図）。オリマルジョン添加海水でもほぼ同様の薬剤区と海水区との分離が得られ，一定流量以上の流速があれば海水およびオリマルジョン添加海水は同じ流速でほとんど混合せずに下流側に流れていくことが確認された。

第1図に示すように，実験では並流型実験水槽2基を用いた。上流側に100L水槽を清浄海水用として2基，薬剤区海水用として1基設置し，水中モーターを用いて実験水槽へ試験水を供給した。両区への供給水量はバルブで3.0L/minになるように調整した。この状態で水深は約6cmとなるので，流量と水槽の大きさから計算した流速は約0.83cm/sであり，約30分間の実験を行うことが出来た。

なお，本実験では同じ型の実験水槽を2基同時に使用して，2基のそれぞれ異なった側に薬剤（オリマルジョン）を流して忌避実験を行った。すなわち，下流側から見て，左側にオリマルジョンを流す水槽を忌避実験水槽Ⅰ，右側にオリマルジ

ョンを流す水槽を忌避実験水槽Ⅱとした。これにより，1回の実験で，2回分のデータが得られることになる。一般に，並流型水槽の忌避実験では，海水区と薬剤区における滞泳頻度の大小により忌避反応を判定する。一方，供試魚が水流に対して右側もしくは左側を選好して泳ぐ傾向を持っていた場合は，忌避反応を正確に捉えることが難しい。そこで，こうした実験水槽に対する供試魚の行動上の偏りによる評価結果の不正確さを排除するために，2基の水槽を用いて両者で異なった側に薬剤区海水を流す実験を同時に行った。



第1図 並流型実験水槽を用いた魚類忌避濃度実験システム(上から見た図，2台を並べて実験を行った)。

忌避実験の方法 供試魚には海水馴致したサケ *Oncorhynchus keta* 稚魚を用い、オリマルジョンを懸濁した海水に対してどの程度の濃度でサケ稚魚が忌避するかについて調べた。1回の実験には1水槽に1尾の供試魚を用い、2水槽同時に実験を行った。実験時間は30分とし、前半15分には海水区および薬剤区ともに濾過海水を流し、後半15分には海水区に濾過海水を、薬剤区にオリマルジョン添加海水をそれぞれ流した。また、実験水槽下流側の上部にビデオカメラを設置し、薬剤区の流れが安定する実験開始後20～25分の滞泳場所(海水区か薬剤区か)を、観察者がモニター上で5秒ごとに判定し、シートに記録した。忌避反応の観察を実験開始後20分から始めた理由は、供試魚を入れた区画にオリマルジョン添加海水が到達して安定した流れが形成されるまで若干の時間がかかり、20～25分の間の観察が適当と考えられたためである。観察時間を5分とした理由は、5秒ごとに供試魚の位置を目視で記録する観察者の疲労を考えたためである。実験当時は、コンピュータもソフトウェアもまだ高価な時期であり、画像処理ソフトに適当なものがなかったが、現在では、適当なソフトウェアを用いることにより、滞泳場所の記録を省力化するとともに、観察時間も長く出来ると思われる。

オリマルジョンの濃度は0(対照区)、10ppm、100ppm、178ppm、316ppm、562ppmの6段階を設定した。対照区におけるサケ稚魚の行動を調べる実験では、忌避実験水槽の海水区、薬剤区ともに濾過海水を流した。実験中は黒いビニールで実験水槽を覆い、供試魚に外部からの刺激を出来るだけ与えないようにした。

結 果

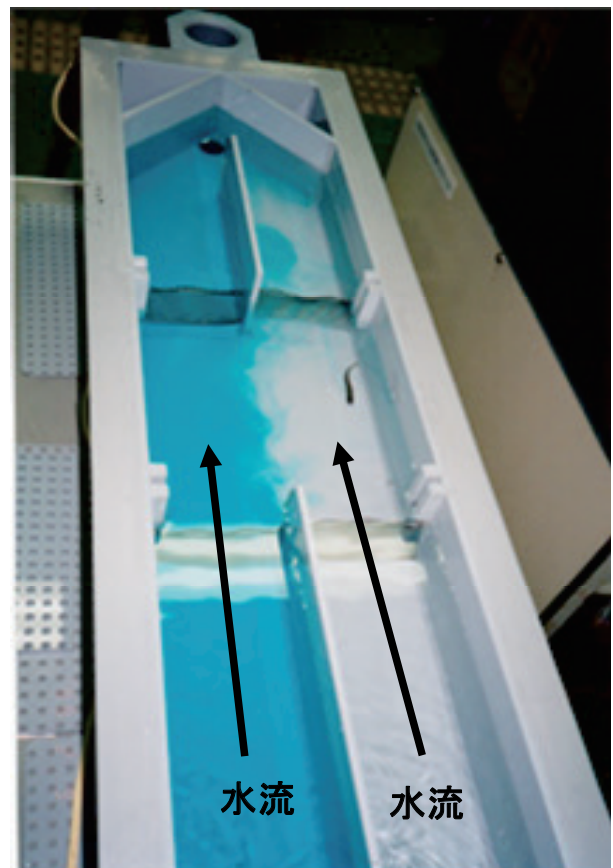
実験中の水温は 3.0～5.9℃の間で、サケ稚魚にとっては比較的低温であったと考えられるが、活発に遊泳行動を示す個体が多かった。忌避濃度実験の代表的な例を1分ごとの海水区の滞泳頻度として第3図に示した。

忌避反応の判定は、実験開始後20～25分後の対照区と薬剤区の平均滞泳頻度について t -検定による有意差検定を行った。この検定を行う上では、両区ともに濾過海水を流す対照区の実験で、海水区滞泳頻度の平均値が50%に近いこと、即ち海水区と薬剤区ともに均一に泳いでいることが望まし

い。本実験では、対照区での20～25分間の海水区滞泳頻度の平均値は、水槽Ⅰにおいて $44.0 \pm 5.8\%$ ($n=5$)、水槽Ⅱにおいて $56.0 \pm 23.8\%$ ($n=5$)、水槽Ⅰ+Ⅱにおいて $50.0 \pm 19.3\%$ ($n=10$) であり、どちらの水槽においてもほぼ 50%に近かったことから、 t -検定の適用は妥当であると考えられた。 t -検定の結果、10ppm、100ppmでは対照区との間に有意差が認められなかったが、実験水槽Ⅰの178ppmと316ppm(ともに $P < 0.05$)で、実験水槽Ⅱの178ppm($P < 0.05$)と316ppm($P < 0.01$)で有意差が認められた。さらに、562ppmでは実験水槽ⅠおよびⅡともに有意差が $P < 0.01$ となり、平均値の差もオリマルジョンの濃度が高くなるに従って、大きくなる傾向が認められた。これは、オリマルジョンの濃度が高くなるに従ってより強くオリマルジョンを忌避したためと考えられた。

考 察

日高・立川(1985a, 1985b, 1985c, 1985d)が用いた並流型の忌避実験装置を一部改良して実験を行い、オリマルジョンの忌避反応を調べることが出



第2図 サケ稚魚を用いた予備実験(左側の区画にメチレンブルーを流した)。

来た。本実験では、オリマルジョン100ppm以下では忌避反応が認められなかったが、178ppmから忌避反応が認められるようになり、178ppm, 316ppm, 562ppmと濃度が高くなるに従って、忌避反応が強くなる結果が得られた。

また、サケ稚魚が水流に対して、右もしくは左を選好する傾向は特に認められなかった。一方、実験水槽に対する魚類の行動特性は魚種や発育段階によっても異なる可能性があり、事前に左右の選好性に関する情報が得られない場合や、実験期間が非常に限られている場合には、複数水槽を用いた同時実験が必要かつ有効な方法と考えられる。

今回、採用した日高・立川(1985a, 1985b, 1985c, 1985d)の方法に準じた並流型実験水槽は、少ない供試魚で比較的簡便に忌避反応を解析するためには優れた方法と考えられた。しかし、2つのうちどちらか1つを選択するという、現場を非常に単純化した実験方法でもあるので、より現場に近い状況での忌避反応を調べるためには、被験物質の濃度勾配が存在するなかでの忌避反応を調

べられるようなシステムの構築が課題と考えられた。

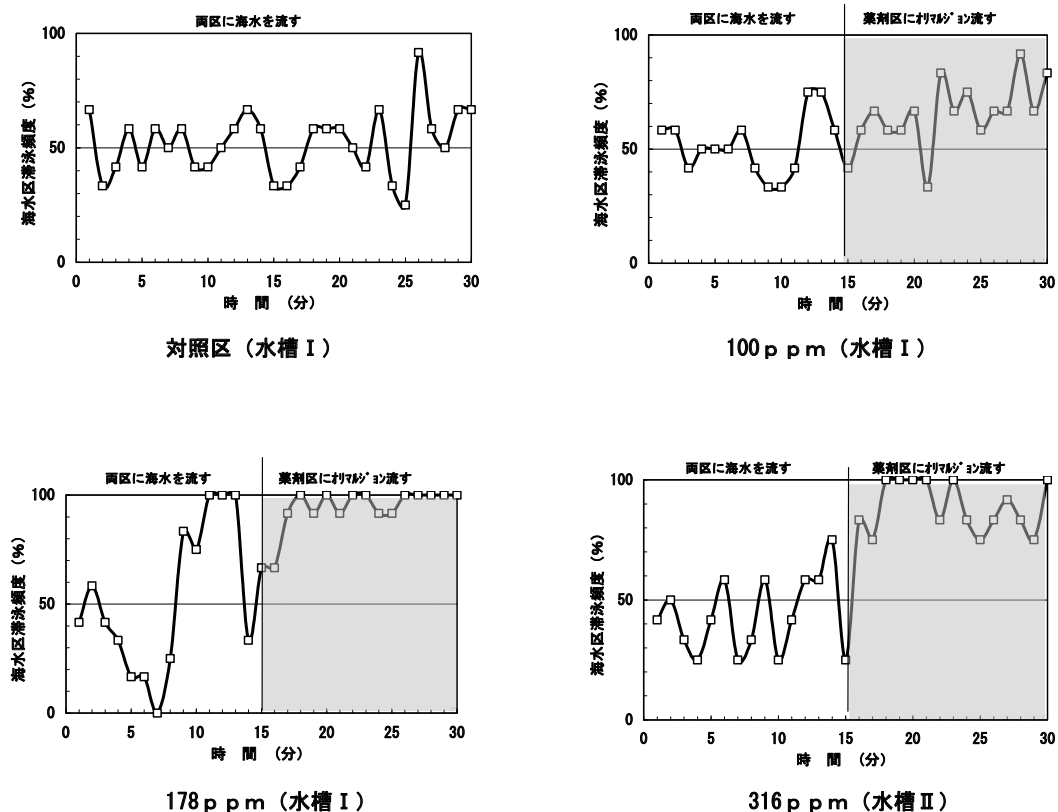
謝 辞

本実験は、オリマルジョン対策協議会より平成10年度に委託されたものである。供試材料であるサケ稚魚の入手に関しては北海道庁渡島支庁水産課および上磯町漁業協同組合の方々のお世話になった。また、本実験の実施にあたっては北海道大学附属白尻水産実験所の施設を使用させていただいた。ここに、お世話になった関係各位に対して、深甚なる謝意を表する。

当研究所の瀬戸熊卓見技術参事および箕輪 康主任技術員にはサケ稚魚の移送・飼育および海水馴致を担当していただいた。ここに記して、厚く御礼申し上げる。

引用文献

日高秀夫・立川 涼(1985a)．魚種による化学物質



第3図 サケ稚魚のオリマルジョンに対する忌避実験の例（海水区滞泳頻度の経時的変化として示した）。

- の忌避試験法(1). 生態化学, **7**(4), 17-26.
- 日高秀夫・立川 涼(1985b). 魚種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). 魚種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). 魚種による化学物質の忌避試験法(4). 生態化学, **8**(3), 31-38.
- 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.
- 日本水産資源保護協会(1980). 生物に関する試験法 1.5魚類の忌避行動. 「新編 水質汚濁調査指針」(日本水産保護協会編), 恒星社厚生閣, 東京, 408-411.
- 大谷武夫・薄井興兵衛・木俣正夫・石川亀好(1939). 水中に溶存する化学物質の魚介類に及ぼす影響(第1報). 日水誌, **7**, 281-287.
- 豊田隆治・中嶋靖史(1990). オリマルジョン. 火力原子力発電, **42**, 82-86.
- 山本 聡(1998). 新燃料オリマルジョンの生産及び導入を巡る動向. 海外電力, 1998年1月号, 68-79.