アカハライモリ (*Cynops pyrrhogaster*) における 水強化を用いた同時視覚弁別学習¹

木村 誠¹⁾・上野糧正²⁾・谷内 通¹⁾

Simultaneous visual discrimination learning in newts (*Cynops pyrrhogaster*)

MAKOTO KIMURA¹⁾, RYOUSEI UENO²⁾ and TOHRU TANIUCHI¹⁾

Abstract The present study examined the visual discrimination learning of Japanese fire-bellied newts (*Cynops pyrrhogaster*). Four female newts were trained in a simultaneous visual bright and dark discrimination task using a dry T-maze. Two newts were assigned to a dark-positive condition and two to a bright-positive condition. Submersion in water was used as reinforcement. For correct responses, newts could enter into a water tank through an opening in the floor of the arm, whereas in the case of incorrect responses newts were dropped onto a net above the water. They learned to choose the positive arm and performed significantly better than chance during test trials when a net was put onto each goal water tank regardless of correctness of their responses. These results strongly suggest that newts can learn a simultaneous visual discrimination task and that submersion in water is effective reinforcement for Japanese fire-bellied newts.

Key words : newts, discrimination learning, visual discrimination, water reinforcement, T-maze

動物の学習に関する比較研究では、学習課題によって種間で質的に異なる遂行パターンが認められることがある。例えば、Bitterman (1965) は様々な動物種における研究成果を、弁別逆転学習と確率学習それぞれについて位置課題と視覚課題に分類して整理した。この中で、サルとラットとハトを用いた弁別逆転学習においては、位置課題と視覚課題それぞれについて、正刺激の逆転を繰り返すことを通じて課題の習得速度が次第に速くなる漸次的改善(Progressive

Improvement ; PI 効果) が認められた。一方で、カメを用いた弁別逆転学習においては、PI 効果は位置課題においてのみ生じ、視覚課題では生じなかった。これに対し、キンギョ等の硬骨魚類を用いた弁別逆転学習においては、位置課題と視覚課題のいずれにおいても PI 効果が確認されていない。Bitterman (1965) では言及されなかった両生類についてもその後、ブチイモリ (*Triturus viridescens*) を用いた研究によって位置課題の弁別逆転学習における PI 効果が報告された (Ellins, Cramer, & Martin, 1982)。しかしながら、爬虫類のカメにおいて PI 効果が示されていない視覚課題については、両生類で

1 本研究は第3著者に対する科学研究費補助金 (21730589, 24530913) の助成を受けた。

1) 金沢大学大学院人間社会環境研究科
〒920-1192 石川県金沢市角間町

2) 石川県立大学附属農場
〒921-8836 石川県野々市市末松1丁目308番地

連絡先：谷内 通

E-mail: tohruta@staff.kanazawa-u.ac.jp

1) Graduate School of Socio-Environmental Studies, Kanazawa University

2) Farm of Ishikawa Prefectural University
Corresponding author: TOHRU TANIUCHI

Published online in J-STAGE: March 25, 2013
doi: 10.2502/janip.63.1.3

の検討はこれまでのところ行われていない。したがって、連続逆転学習におけるPI効果の生起を系統発生と関連づけて検討するためには、両生類において視覚課題を用いた弁別逆転学習を検討することが重要であると考えられる。

両生類において視覚課題の弁別逆転学習を検討するためには、まず視覚刺激の同時弁別課題を習得させるための課題と実験手続きを確立する必要がある。両生類の視覚弁別学習については、Jenkin & Laberge (2010) が無尾目両生類のスズガエル (*bombina orientalis*) を用い、餌を報酬としてコオロギ (*Acheta domestica*) の動画刺激に対する弁別学習の成立を報告している。しかしながら、Ellins, Cramer, and Martin (1982) が位置課題の連続逆転学習を検討したブチイモリが属する有尾目両生類の視覚弁別学習についてはこれまでは検討されていない。無尾目両生類と有尾目両生類のように目 (order) の水準で異なる動物種においては、共通祖先の相違が大きくなるため、種間の共通性は少ないとされている (Lockard, 1971; 柴崎・石田, 2006)。したがって、Ellins, Cramer, and Martin (1982) による位置課題の連続逆転学習の結果と比較するためには、有尾目両生類における視覚弁別学習の成立を確認することが重要であると考えられる。そこで本研究では、有尾目両生類のアカハライモリ (*Cynops pyrrhogaster*) における視覚刺激を用いた同時弁別課題の習得を検討することを目的とした。

両生類を用いた研究の歴史は古い (e.g., Seidman, 1948) にもかかわらず、両生類の学習について検討した研究例は比較的少ない。両生類を被験体とした研究が少ない理由としては、適切な報酬を特定することが困難である点が指摘できる (Thompson & Boice, 1975)。動物を用いた報酬訓練においては、食餌性の強化子が報酬として用いられることが一般的であるが、両生類においては飢餓動因を用いた食餌行動の統制が困難であることが示されている (Goldstein, 1960)。食餌性の報酬を用いた研究もいくつか報告されているが (Hershkovitz & Samuel, 1973; Jenkin & Laberge, 2010; 柴崎・石田, 2006; Shibasaki & Ishida, 2012; 山本・石田・柴崎, 2005)、両生類の1日の摂食量の少なさから、可能な訓練試行数が限定されるという問題点が指摘される (柴崎・石田, 2006)。実際に、食餌性の報酬訓練を行った研究のほとんどでは、1日の訓練試行数は1-6試行に限定されている。一般的に、弁別学習の成立には比較的多くの試行数を要することから、食餌性の強化子を用いて両生類の弁別学習を検討することは容易ではないことが予測される。

食餌性の強化子以外を用いた研究としては、電気

ショック (Suboski, 1992)、温風 (Ray, 1967)、または強い光 (Ray, 1967; Ray, 1970) を負の強化子として用いた研究が報告されているが、いずれも安定した課題習得は確認されていない。一方で、乾燥した環境からの着水を強化子とした研究では、その有効性が比較的多く報告されている (Daneri, Casanave, & Muzio, 2011; Ellins, Cramer, & Martin, 1982; Muzio, Segura, & Papini, 1992; Muzio, Segura, & Papini, 1994; Papini, Muzio, & Segura, 1995; Schmajuk, Segura, & Ruidiaz, 1981; Shiwartz & Cogan, 1977)。特に、Ellins, Cramer, and Martin (1982) と Shiwartz and Cogan (1977) では、イモリやサンショウウオにおけるT迷路を用いた位置弁別学習の成立が確認されている。

そこで本研究では、ブチイモリにおいて位置弁別学習の成立と連続逆転学習を検討した Ellins, Cramer, and Martin (1982) に基づいて作成したT迷路 (Figure 1) を使用し、水への着水を報酬としてアカハライモリにおける同時視覚弁別課題の習得を検討することを目的とした。習得訓練では、明暗いずれかの正刺激を選択するとアーム先端部の床が開放され、真下に設置された水槽に入ることができた。誤反応の場合には、水槽内の水面の上部に網が設置されており、水に入ることができなかった。習得訓練後のテストでは、正負の両方のアームの下に水槽に網を設置し、正反応の場合でもイモリは一度網に短時間乗せられた後に水報酬を与えられた。習得段階において、負刺激側の水槽への網の設置によって生じた何らかのアーティファクト、例えば網そのものの知覚や網の存在による水報酬等からの知覚情報の変化が弁別手がかりとして機能した場合には、テストにおける遂行はチャンスレベル程度に低下し、習得段階の成績からは大きく劣化することが予測される。これに対し、アームの明暗が弁別手がかりとして機能した場合には、テストにおいてもチャンスレベルよりも有意に上回る遂行が維持されると予測される。

方 法

被験体 静岡県の浜松生物教材株式会社より購入した実験経験のないメスのアカハライモリ4匹を被験体として用いた。体長は約10cmであった。体重は測定しなかった。

装置 装置の大きさと構造の概要において Ellins, Cramer, and Martin (1982) に準じて作成したT迷路を使用した (Figure 1)。装置は灰色塩化ビニール製であった。アームまでの走路部分は、長さ30cm、

Figure 1. A photograph and an illustration of T-maze used in the present experiment. Black- or White-tunnel was placed on each arm. The hinged floors of the arms could be opened manually. Water tanks placed under the arms were filled with 4 cm of water but a net was set 2 cm above the water for the negative arm to prevent access to water.

幅 9 cm, 高さ 7.5 cm であり, 各アームは長さ 23 cm, 幅 9 cm, 高さ 7.5 cm であった。各アームには視覚刺激として着脱可能なトンネルが設置された。トンネルは長さ 11 cm, 幅 8.5 cm, 高さ 7.5 cm であり, 天井と壁面と床のすべてが黒色の塩ビ板で構成された暗トンネルと, 壁面と床が白色で天井が透明の塩ビ板の明トンネルの 2 種類が用いられた。トンネル内の照度は, 明トンネルの中央で約 260 lx, 暗トンネルの中央で約 30 lx であった。各アームの先端部分の床(長さ 7.5 cm, 幅 9 cm)は実験者の操作によって開放することが可能であった。開放されたアームの床の下には, 長さ 17.5 cm, 幅 10.5 cm, 高さ 11 cm の透明な樹脂製の水槽が配置されており, 深さ 4 cm まで汲み置き水道水で満たされていた。誤反応に割り当てられたアームの下部に設置された水槽には同様に水道水が入れられていたが, 水面から 2 cm 上方に塩化ビ

ニール製の黒色の網が設置された。装置の上方約 2 m から 40 W の蛍光灯により照明した。

手続き 被験体は 2 匹ずつ明条件と暗条件のそれぞれに割り当てられた。明条件においては白色のトンネルが配置されたアーム, 暗条件においては黒色のトンネルが配置されたアームを選択することを正反応とした。2 種類のトンネルの各アームへの割付は Fellows 系列 (Fellows, 1967) によって決定した。試行の開始に先立って, 被験体は飼育用の水槽から待機ケージへと移され, 脱水手続きを受けた。待機ケージは 17.5 cm, 幅 10.5 cm, 高さ 11 cm の透明な樹脂製の容器であり, 床にはキッチンペーパーが敷かれていた。被験体の体表をキッチンペーパーで軽く拭き取った後, 同型の別容器内で魚類飼育用のセラミックサンドを付着させることにより体表の水分を除去した後に待機ケージに戻した。試行の開始時に被験体は待機ケージからピンセットで取り出され, 出発地点に置かれた。被験体の両方の後肢が左右いずれかのトンネルから出た時点でその刺激に対する反応とみなした。正反応, 誤反応いずれの場合もアーム先端の床が開放され, 被験体は下部に設置されている水槽に入れられた。正反応の場合には, 水槽内の水に 3 分間入ることができた。誤反応の場合には, 水槽内の水面上部に設置された網に 3 分間留められ, 水に入ることはできなかった。ITI は約 5 分間であった。正反応の場合には, セラミックサンドによる 1 分間の脱水手続きを受けた後, 待機ケージに 4 分間置かれた後に次の試行に移った。誤反応の場合には, 水の入った水槽に約 3 秒間入れられた後にセラミックサンドによる 1 分間の脱水手続きを受け, 待機ケージに 4 分間置かれた後に次の試行に移った。1 日に 1 セッション 12 試行を行った。2 セッション 24 試行を 1 ブロックとして 2 ブロック連続で 75% の正反応を得ることを学習基準とした。なお, 試行開始から 5 分間が経過した段階で弁別反応が生じない場合には, 被験体の尾をピンセットで軽く押し, 正刺激へと誘導した。この場合には, 正反応と同様に水の入った水槽に 3 分間入ることができたが, 無反応試行として正反応率の計算からは除外した。

学習基準に達した翌日からテスト段階として 4 日間のプローブテストを行った。プローブテストでは, 両方のアームの下部に習得段階における誤反応の場合と同様に, 水面の上に網の設置された水槽が置かれた。反応の正誤にかかわらず, 被験体は網の上に落とされた。正反応の場合, 網の上に落とされてから約 3 秒後に水の入った水槽に移され, 3 分間水に入ることができた。誤反応の場合には, 網の上に 3 分間置かれた。ITI における処置その他の手続きは習得段階と同じであった。

結 果

Figure 2 に各個体の習得訓練とテスト段階における遂行成績を示した。イモリ A は 8 ブロック、イモリ B は 21 ブロック、イモリ C は 7 ブロック、イモリ D は 15 ブロックで学習基準に達した。イモリ A およびイモリ B は暗条件、イモリ C およびイモリ D は明条件で訓練を受けたが、習得に要した試行数について正刺激の明暗条件間で明確な違いは認められなかった。

1 試行の制限時間である 5 分以内に弁別反応を完了した割合を示す到達率は、学習基準を達成した最終 2 ブロックについて、イモリ A が 100.00% (48/48)、イモリ B が 97.92% (47/48)、イモリ C が 93.75% (45/48) と高い水準に達したが、イモリ D については 62.50% (30/48) とやや低い水準に留まった。

テスト段階における正反応率は、イモリ A が 80.85% (38/47)、イモリ B が 78.72% (37/47)、イモリ C が 76.09% (35/46)、およびイモリ D が 73.33% (22/30) であり、チャンスレベルの 50% と比較してすべての個体が有意に優れる遂行を示した ($p < .01$, 二項検定, 片側)。また、習得訓練の最終段階と比較して成績が大きく劣化した個体はなかった。4 個体の平均正反応率は、学習基準を達成した習得最終 2 ブロックの 80.48% に対してテスト期間

の 77.25% へ若干の低下が認められたものの両者の差は有意ではなかった ($F(1, 3) = 4.79, p = .12$)。

考 察

本研究では、アカハライモリの同時視覚弁別学習について検討した。習得訓練においてすべての個体が学習基準に達したことから、これまで位置弁別学習の成立 (Ellins, Cramer, & Martin, 1982; Shiohartz & Cogan, 1977) のみが報告されていた有尾目両生類において、視覚刺激を用いた同時弁別課題の学習が可能であることが示された。また、両方のアームの下部の水槽に網が設置されたテスト段階においても、すべての個体において有意な遂行が確認され、習得最終段階と比較しても有意な遂行の低下は生じなかった。この結果は、習得段階におけるイモリの有意な弁別遂行が、負刺激側の水槽に設置された網の知覚や、網の設置によって生じた何らかのアーティファクトに依存した可能性を排除するものである。

一方で、習得訓練の第 1 ブロック (第 1-2 セッション) における正反応率は、イモリ A が 68.75%、イモリ C が 71.43% と、訓練の当初から高い水準を示した。この結果は、これらの被験体の遂行が弁別学習ではなく、明暗刺激への嗜好性や忌避傾向に基

Figure 2. Percent of correct responses during acquisition training and test. Dashed line indicates chance level (50%). Learning criterion was more than 75% correct in two successive blocks. Newts trained in dark condition are identified by closed symbols and bright condition by open symbols.

づいた可能性を示唆するようにも考えられる。しかし、イモリ A は暗刺激、イモリ C は明刺激が正刺激であり、明暗刺激に対するアカハライモリの一般的な嗜好性や忌避傾向によって説明することはできない。また、これらの個体の第 1 ブロックの成績をさらに詳細に分析すると、訓練の最初の 12 試行である第 1 セッションにおける正反応率は、イモリ A が 40.00% (5 分間以内に生じた有効な 5 反応中で 2 正反応)、イモリ C が 60.00% (同 6/10) であり、第 2 セッションの正反応率は、イモリ A が 81.82% (9/11) イモリ C が 81.82% (9/11) であった。このことから、両個体の正反応率は、訓練当初の第 1 セッションではチャンスレベル付近に留まり、第 2 セッションから上昇したことが分かる。したがって、第 1 ブロックにおける両個体の正反応率の高さは明暗刺激への嗜好性や忌避傾向の個体差によるものではないと考えられる。しかしながら、アカハライモリに明暗刺激への嗜好性や忌避傾向が存在するのか、あるいは正負刺激への明暗刺激の割付が弁別遂行に影響するのかについては、明条件と暗条件にそれぞれ 2 匹だけが割り付けられた本研究から言及することは困難である。この問題については、明条件と暗条件にさらに多数の個体を割り付けた実験による検証が必要であると考えられる。

これまでに、カエルにおいては強化時に水に浸す時間を変化させることによって強化量を操作することが可能であること (Muzio, Segura, & Papini, 1992)、訓練試行の前に体表の脱水手続きを実施することによって、水報酬への動因を高めることが可能であることが示唆されている (Daneri, Casanave, & Muzio, 2011)。本研究においても、体表の脱水操作と水報酬によってアカハライモリの弁別学習を成立させることが可能であったことから、体表の脱水は両生類における報酬訓練において有効な手続きであると考えられる。

一方で、5 分間以内にアームの基準地点に到達することのできた到達率については、4 匹中の 1 匹の個体がやや低い水準に留まったことから、水報酬を用いたアカハライモリの弁別課題においてより安定した動機づけ操作を行うための実験手続きの洗練が必要であると考えられる。本研究では水への着水を強化子として用いたが、柴崎・石田 (2005) は、水への依存度にはかなりの種間差があると考えられることから、食餌性の報酬に代わる正の強化子としての水の有効性を両生類一般に適用することについては慎重になるべきであると指摘している。本研究で用いたアカハライモリは半水棲であり、Ellins, Cramer, and Martin (1982) が位置弁別学習を検討したブチイモリは、幼体の段階では完全な陸棲を示すが、

生体になると水棲へと移行することが知られている。アカハライモリと比較して、ブチイモリの成体は水への依存度が高いことが予測されることから、水報酬や体表の脱水手続きの有効性には種差が存在する可能性は十分に考えられる。また、本研究の手続きでは、誤反応時にはイモリは水槽の水面上に設置された塩化ビニール製の網に落下した。この落下操作が嫌悪刺激として作用し、イモリの走行反応に抑制的に作用した可能性も考えられる。水報酬への動機づけの強度に影響する要因や誤反応時の処理の嫌悪性についてさらなる検討を行い、本研究で用いたアカハライモリだけでなく両生類の複数の種において安定した遂行を得るための手続きの改良を進める必要があると考えられる。

アカハライモリを用いた分子生物学的研究においては、桿体細胞に視物質のロドプシンが存在すること、錐体細胞に 3 種類の異なる波長感受性を持つ光受容タンパク質 (オプシン) が存在することが示されており (Sakakibara, Hiramatsu, Takahashi, Hisatomi, Kobayashi, Sakami, Saito, & Tokunaga, 2002)、明暗および色の知覚が可能であることが示唆されている。一方で、一般的にアカハライモリの視力は弱いとされているが、これを実証的に検討した証拠は報告されていないように思われる。アカハライモリは網膜や水晶体等の組織再生の研究において重要なモデル動物であることから (e.g., Sakakibara, Hiramatsu, Takahashi, et al., 2002)、視覚能力を行動実験により吟味する試みは、これらの再生過程に関する生理学的研究にも寄与する可能性も期待できると考えられる。

今後、本研究で確認された視覚同時弁別手続きを連続逆転学習へと展開することにより、視覚課題による連続逆転学習における PI 効果をアカハライモリにおいて検討することが可能になると考えられる。これまで、爬虫類のカメを用いた弁別逆転学習では、PI 効果は位置課題においてのみ生じ、視覚課題では生じないことが知られている。これに対し、キンギョ等の硬骨魚類を用いた弁別逆転学習においては、位置課題と視覚課題のいずれにおいても PI 効果が確認されていない。両生類については、Ellins, Cramer, and Martin (1982) が位置課題の弁別逆転学習において PI 効果を報告しているが、両生類の視覚課題の弁別逆転における PI 効果の存在は比較学習研究の空白領域となっている。弁別逆転学習における PI 効果については、直前の試行において報酬を伴った刺激に選択を続け、伴わなかった刺激には反応をやめる “win-stay, lose-shift” と呼ばれる反応方略 (e.g., Komaki, 1974) や、直前の学習が逆転後の遂行を阻害する順行性干渉の影響 (e.g., Bitterman,

1975) 等の過程が関与する可能性が指摘されている。PI 効果の背景に存在するこれらの学習過程の進化について比較研究を進めるためにも、両生類における視覚弁別学習とその連続逆転における PI 効果について検討するとともに、両生類内での種間一般性について吟味する必要があると考えられる。

引用文献

- Bitterman, M. E. 1965 Phyletic difference in learning. *American Psychologist*, **20**, 396-410.
- Bitterman, M. E. 1975 The comparative analysis of learning. *Science*, **188**, 699-709.
- Daneri, M. F., Casanave, E., & Muzio, R. N. 2011 Control of Spatial Orientation in Terrestrial Toads (*Rhinella arenarum*). *Journal of Comparative Psychology*, **125**, 296-307.
- Dufort, R. H., Guttman, N. & Kimble, G. A. 1954 One-trial discrimination reversal in the white rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, **47**, 248-249.
- Ellins, S. R., Cramer, R. E., & Martin, G. C. 1982 Discrimination reversal learning in newts. *Animal Learning & Behavior*, **10**, 301-304.
- Fellows, B. J. 1967 Change Stimulus sequences for discrimination tasks. *Psychological Bulletin*, **67**, 87-92.
- Goldstein, A. C. 1960 Starvation and food-related behavior in a poikilotherm, the Salamander, *Triturus viridescens*. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, **53**, 144-150.
- Hershkowitz, M., & Samuel, D. 1973 The retention of learning during metamorphosis of the crested newt (*Triturus cristatus*). *Animal Behavior*, **21**, 83-85.
- Jenkin, S. E. M., & Laberge, F. 2010 Visual discrimination learning in the fire-bellied toad *Bombina orientalis*. *Learning and Behavior*, **38**, 418-425.
- Komaki, J. 1974 The influence of overtraining and successive reversal training on strategic behavior of Japanese monkeys. *Japanese Psychological Research*, **16**, 149-156.
- Lockard, R. B. 1971 Reflections on the fall of comparative psychology: Is there a message for us all? *American Psychologists*, **26**, 168-179.
- Muzio, R. N., Segra, E. T., & Papini, M. R. 1992 Effect of schedule and magnitude of reinforcement on instrumental learning in the toad, *Bufo arenarum*. *Learning and Motivation*, **23**, 406-429.
- Muzio, R. N., Segra, E. T., & Papini, M. R. 1994 Learning under partial reinforcement in the toad (*Bufo arenarum*): Effects of lesions in the medial pallium. *Behavioral and Neural Biology*, **61**, 36-46.
- Papini, M. R., Muzio, R. N., & Segura, E. T. 1995 Instrumental learning in toads (*Bufo arenarum*): reinforce magnitude and the medial pallium. *Brain behavior evolution*, **46**, 61-71.
- Ray, A. J. 1967 Avoidance learning in the tiger salamander. *The American Journal of Psychology*, **80**, 642-643.
- Ray, A. J. 1970 Instrumental avoidance learning by the tiger salamander *Ambystoma tigrinum*. *Animal Behavior*, **18**, 73-77.
- Sakakibara, S., Hiramatsu, H., Takahashi, Y., Hisatomi, O., Kobayashi, Y., Sakami, S., Saito, T., & Tokunaga, F. 2002 Opsin expression in adult, developing, and regenerating newt retinas. *Molecular Brain research*, **103**, 28-35.
- Schmajuk, N. A., Segra, E. T., & Ruidiaz, A. C. 1981 Reward downshift in the toad. *Behavioral and Neural Biology*, **33**, 519-523.
- Schwartz, J. M., & Cogan, D. C. 1977 Position discrimination in the salamander, *Ambystoma tigrinum*. *Developmental Psychobiology*, **10**, 355-358.
- Seidman, E. 1948 Relative ability of the newt and the terrapin to reverse a direction habit. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, **42**, 320-327.
- 柴崎全弘・石田雅人 2005 両生類における比較学習研究の動向と課題 大阪教育大学紀要, **53**, 17-36.
- 柴崎全弘・石田雅人 2006 イモリにおける部分強化学習と消去抵抗 動物心理学研究, **56**, 101-106.

- Shibasaki, M., & Ishida, M. 2012 Effects of overtraining on extinction in newts (*Cynops pyrrhogaster*). *Journal of Comparative Psychology*, **126**, 368-371.
- Suboski, M. D. 1992 Releaser-induced recognition learning by amphibians and reptiles. *Animal Learning & Behavior*, **20**, 63-82.
- Thompson, P. A., & Boice, R. 1975 Attempts to train frogs: Review and experiments. *Journal of Biological Psychology*, **17**, 3-13.
- 山本崇史・石田雅人・柴崎全弘 2005 イモリにおける位置弁別課題での過剰訓練逆転効果の検討
大阪教育大学紀要, **54**, 71-84.
(2013. 1. 28 受稿, 2013. 2. 18 受理)