自由遊泳時の心電図測定装置の考案

野村和男・秋山勲

(1983年10月31日受理)

New Method for Measurement of Electrocardiograms in
Unrestrained Fish Swimming free of ElectrodesKazuo NOMURA*¹ and Isao AKIYAMA*²

In order to investigate the autonomic background of behavior in fish, a new method for recording ECG R-spike under unrestrained condition was devised. At first, the positional behavior of bitterling *Rhodeus ocellatus ocellatus* was studied in a test pool composed of 4 canals arranged in parallel with different water flows, and the condition under which a fish stayed swimming at the same position in a canal was clarified.

Secondly, in a circulation canal consisting of 4 chambers connected in series, electrodes were set at the bottom on the location where the fish preferred to stay swimming. The R-spike recorded was 30-360 μ V in amplitude according to the distance between fish and electrode. It was possible to record simultaneously the opercular movements as well as R-spikes.

Furthermore, two canal systems of the same size and shape as the original one were set bilaterally that allowed water passage among them through holes. Thus the fish was able to perceive each other through transparent wall with holes by the sense of sight and smell etc., and the social influences of species mates were possible to be studied.

魚体に電極を装着せず、自由に遊泳している個体の心電図の R 波を記録して、心拍数の変動を観察する方法は、自然な状態で観察できるので理想的な方法である。既に、ウナギ *Anguilla japonica* を用いて、その習性を利用し、筒状の水槽の一部に電極を固定して心電図を記録する方法が報告されている¹⁾が、この方法は水中を自由に遊泳しつづける習性の魚種には適用できない。また、発信器を魚体に装着するテレメトリー法はサケ・マスなどの大型魚には用いるが、小型の魚類には用いることはできない。それに、器械の負荷を与えることは自然な状態の個体の観察には好ましくなく、長期間にわたる生態学的あるいは生理学的研究には適しない。

魚類の習性を利用して、自由に遊泳している魚体から心電図を誘導する方法は研究されていない。我々は先ず、試験魚として淡水魚タナゴを用い、実験水槽内の水流条件に対する滞泳場所を観察して、水流中における個体の行動を明らかにし、次に魚が水流中に停まって遊泳しつづけるような水流条件を構成した水槽を作製し、その位置に電極を設置して心電図を記録できるようにした。以下に、自由に遊泳しているタナゴの R 波を記録するための実験装置ならびに記録方法について報告する。

並列型実験水槽の構造と観察結果

水槽の構造 適当な水流条件を与えると魚はある位置に停まりつづけるという習性を利用すれば、魚を束縛することなく固定でき、その近くに電極を設置しておけば心電図の導出が可能であると考えた。そこで、タナゴがどのような水流条件の場所に停まるかを調べるために、次の実験水槽を作製した (Fig. 1)。

厚さ 3 mm の透明塩化ビニール板を組合せて、幅 4 cm・高さ 4 cm・長さ 30 cm の並行した直水路 (両端は開放されているが、天井がつけてある) を 4 本作った。底面は共通した一枚板で幅が 30 cm・長さが 60 cm である。水路はこの中央に固定し、各々の底面に孔をあけて下面から水を送り込む湧出口とした。湧出口は各水路によって異なるが、これについては後述する。この全体を同面積の底面をもつ水槽 (深さ 15 cm) の底から 2 cm 上に固定した。つまりこの水槽は、Fig. 1 の側面図からもわかるように、水路 C₁~C₄ の底面によって上下の二階に分かれており、水は水路の天井より 4 cm 高いところまで入れる。上階の一隅には共通集水口をつくり、循環する水に魚が吸いこまれないように孔あき板で

*¹ 東京水産大学水族生理学講座 (Laboratory of Fish Physiology, Tokyo University of Fisheries, Konan-4, Minato, Tokyo 108, Japan)

*² 群馬大学医学部行動医学研究施設行動生理学部門 (Department of Behavior and Physiology, Behavior Research Institute, University of Gunma Medical School, 3, Showa, Maebashi 371, Japan).

Fig. 1. Ground plan (upper) and lateral plan (lower) of the test apparatus composed of 4 canals arranged in parallel which are made of transparent vinyl chloride plates. Locations and objects are coded as follows; C₁—C₄=canal numbers. C₁ has no holes. C₂ and C₃ have 6 holes of 6 mm in diameter located at the up-stream and middle-stream respectively. C₄ has 30 holes of 3 mm in diameter located at the up-stream; F=filter; P=water pump. Arrows indicate the direction of water flow.

作ったフィルターを置いて囲った。

水はこの集水口からポンプで水槽の上にある濾過槽に汲み上げられ、濾過された後、導管で直接に水槽の下階部に送り込まれるようにした。従って、濾過槽からの落差による力の下階部に分散して弱まり、湧出口からの溢水を可能とするだけで、水槽内での水流の方向は共通集水口でのポンプの集水力に依存するようになった。そのため集水口近くの水の流れが割合に強く、次に各水路内の順に弱くなり、水路内では濾過槽からの落ち口のある方が上流側、集水口の方が下流側となった。水路天井の水もわずかに集水口に向かう定常流をつくっていた。

湧出口は水路によって異なり、水路 C₁ は湧出口のない単なる水路であり、水路 C₂ は直径 6 mm の孔が 6 個上流部に、水路 C₃ は同じ孔が中央部に、水路 C₄ は上流部に径 3 mm の孔が 30 個あけてある。試みに、水槽の各地点から青インクを流して水路内の水流を調べ、次のことを明らかにした。まず、水路 C₁ の上流端でインクをたらすと、かなり緩やかであるが下流部に向かって流れていた。水路 C₂ の上流端でインクを滴下すると、水路内でインクがやや拡がって、しかし攪乱されずに、ゆっくりと約 5, 6 秒かき下流端まで進む帯状の流れとなった。濾過槽にインクを滴下すると、C₄ では湧出口から大量のインクが湧き出して攪乱され、水路内は直ち

に濃い青色に染まりわずか 2, 3 秒で水路の下流端に達した。また、C₃ の上流端でインクをたらすと、中央部まではよどみなく流れるが、湧出口から吹き出す水によって攪乱され、下流は薄青色に染まった。つまり、水路中央部で湧出する水の一部は上流側にも向かうが、既述のポンプによる集水力で水は集水口の方へ引かれるので、全体の流れは結局下流端に向かう。それで、上流端から湧出口、および湧出口附近での流速は、水流の方向が一定となった下流部の流速よりもやや緩やかであると考えられた。

即ち、水路内の水は上流部から下流部に流れ、水流は C₄ が最も速く、C₂・C₃ の湧出口から下流側、C₃ の上流側の順に遅くなり、C₁ は最も緩やかである。

魚の行動

1. 滞泳区域 実験は 8 月～9 月に実施し、その期間の水温は 25～28℃ であった。供試魚として、体長 3.5～4.5 cm のタイリクパラタナゴ *Rhodeus ocellatus* の雄を用いた。滞泳場所の観察のために水槽の周りには覗き窓のある遮蔽用の壁を立て、上方に 10W の蛍光灯を点灯し、また水槽の下には鏡を置いて観察の便を計った。

水槽には同時に 8 尾を放し、魚のいる水路および水路内の上流 (u)、中流 (m)、下流 (d)、の位置について、午

Fig. 2. The percent frequency of "stay" for fish. Observations are carried out every 30 s, during 10–12 a.m. and 3–5 p.m. for consecutive 10 days, recording about the canal numbers and locations in canal where the fish stays for 8 individuals. The ordinate is calculated as the number of fish falling into each of locations in abscissa divided by the total number of fish for all observations (8 individuals $\times$ 40 hr/30 s). Stippled bars, % total frequency in the respective canals; numbered 5 is for the area outside the canals; black bars, % frequency in the up-stream (u), mid-stream (m) and down-stream (d) of each canal. The upper inset shows schema of canals, in which length of arrows is represented in proportion to the velocity of water flow in canals.

前 10~12 時, 午後 3~5 時の時間帯で 30 秒毎に記録し, その 10 日間にわたるデータについて, 各水路ごとの上・中・下流で滞泳した魚の度数を総数 [8 (尾) $\times$ 観察回数の合計] で割って相対頻度 (以下, 滞泳頻度とよぶ) を求め図示した (Fig. 2)。水路 $C_1 \sim C_4$ の外 (Fig. 2 では 5 の区域) にいるのは, 摂餌しながら泳ぎ回る場合, 水路内で他の魚に押されて水路外に出る場合, 水槽の隅でなわばりを形成している場合, などであったが, この水域の容積は 1 つの水路の約 20 倍に相当する。そのために見かけの滞泳頻度が大きくなった。水流の最も速い C_4 での滞泳頻度は意外なほど少なく, 水路外の区域間の行き来に際して単なる通り路となつて了うのが目立った。そして水路 C_2 に停まることが多く, 魚体に至適な水流条件——即ち, 本水槽では湧出口のない水路よりは流速が速いが, cm で表わした秒速が一桁台以内であり, しかも均一な流れである等の条件——が確認され

た。

一般に魚たちは水路に下流側から進入し, 水路内で走流性を示しながら泳ぎ, 更に徐々に上流に移る傾向がある。しかし C_2, C_3, C_1 では他の魚に干渉されない限りは各地点で停まって泳いでいる時間が長く, 概して流れが均一で緩い上流部で滞泳する尾数が多かった。

2. 水路の変化による滞泳行動の変容 同一水路内での滞泳場所について解析するために, 魚の滞泳頻度の多かった水路 C_2 のみでの魚の行動を調べた。 C_2 以外の水路の両端および水槽の余分の場所 (濾過槽側の水槽の約半分の区域) は全部閉鎖して魚が行けないようにし, 魚を 1 尾だけ入れて, 給餌期を除いた期間の所在について観察した。但し, この条件下では水の動きうる区域が既述の条件よりも縮小しているので, C_2 での上流 (u) と下流 (d) での水流条件の差異は幾分大きくなっていると考えられた。

Fig. 3. The percent frequency of "stay" for one fish per location.

The test apparatus is equipped with only C_2 canal and the area outside the canal (No. 5) is reduced in size about to one-half. The upper panel shows data for the same fish observed at two different periods. The lower is for another fish. Symbols are same as Fig. 2, but m+d is for mid-stream plus down-stream. The position where a fish stays swimming comes to be in the up-stream as the day elapses or immediately after released into the apparatus.

個体によって多少は違うものの、数日経過した後は水の湧出口附近の上流側の場所にいることが多かった (Fig. 3)。一般に水路の上流側にいる時は鰭の動きが遅く、下流では胸鰭と腹鰭を激しく動かし、尾鰭は小さくめに鞭打つように振っており、前述したように「下流部の水流の方が速い」ことが魚の行動によっても明らかになった。また上流部では、魚は水底の方に位置し、腹鰭が底板から 5 mm 以内にある場合が多かった。それに対して下流部ではやや浮き上って滞泳する。即ち、水流の強い場所では水中に、流れの遅い場所では水底に位置するのを確認した。

次にこの水槽に魚を 8 尾入れて観察した。この条件下でもほとんどの個体は水路に入っていたが、下流側で滞

泳することが多く、上流区域での滞泳頻度は少なかった (Table 1)。前項で確認した最適区域、即ち「流れが均一で緩やかな上流部」では 1 ないし 2 個体がお互いに間隔をあけて静かに滞泳しているにすぎなかった。しかも、その個体は前述の「なわばりを形成」していた魚である場合が多く、他の個体は中流以下の区域に集まり、水流に対して斜め、時には斜め後方を向く姿勢が多く観察された。これは上流部に位置している魚体の抵抗によって下流部の流速が減少するために、そこに個体達が集中すると考えられた。下流部では個体間距離が短いので水路内での場所の移動はやや制限されるが、個体の突発的な動きによって水路外へのあわただしい脱出が引き起こされることもあった。

Table 1. Relation between the direction of fish body axis to water flow and position of fish in the canal. Behavioral records are taken every 30 s. during 11.00-11.30 a.m. for consecutive 5 days. Each figure in rows is represented as a percentage of the total number of fish in respective position for all observations shown in parentheses. Diagrammatical expression of fish body is a view from above with arrows indicating water flow

Position	Total Fish Number	Direction (%)			
up-stream	(239)	71	13	6	10
mid-stream	(676)	44	31	14	11
down-stream	(885)	56	20	15	9

直列型実験水槽の構造と観察結果

水槽の構造 前実験で魚は特定的水流条件をもつ区域に停まって泳いでいること、流速によって魚体と水底との間隔もきまることが、及びこの幾つかの条件を選びわけて、即ち滞泳の方式をかえて生活することが分かったので、透明塩化ビニール板で閉鎖式循環水槽を作った (Plate 1, Fig. 4)。

貯水槽 A には循環用ポンプ、エアストーン及びフィルターを入れた。ポンプは直流モーター (Sankyo テープレコーダー用ノイズレスモーター SF 655 R 01) を使い、可変抵抗を直列に入れて電流を増減させてモーターの回転数を変えることで水流の強さを調節した。水槽 B には着脱自在な 4 個の細長い箱型の筒 (各々高さ 4 cm × 幅 3.5 cm × 長さ 9 cm) を沈めて水路を作った (筒は上流側より筒 1, 2, 3, 4 とよぶ)。魚はこの長さ 36 cm の水路の中で自由に泳ぎ回ることができる。水は活性炭で濾過し曝気した水道水を用い、全量は 2.6 l で、B での水面が水路の天井より 1 cm 高くなる。また、箱型の筒 1 の上流 2 箇所に一面に小孔をあけた板を置いて水流を整えた。

B の中の筒 2 と 3 は断面積を変えることによって流速が変わるように設定した。即ち、筒 2 は筒 1 よりも両側壁の間を 1 cm 狭くして、幅 2.5 cm とし、筒 3 は更に天井を 1 cm 低くして断面が高さ 3 cm、幅 2.5 cm とした。筒 4 は筒 1 と同じ大きさであり、下流端は塩ビ板で封じ、両側面に径 4 mm の孔を多数あけたので、水流は徐々に向きを変え、流速を減じて側室 SR に流れ込み、連結部を通して貯水槽 A に戻る。

これらの各筒内の水流の速さを KMnO_4 溶液で調べた。即ち、 KMnO_4 の結晶を詰めたガラスピペットの尖端を筒 1 の上流に固定し、ピペットに適当量の水を注いで流出する紫色の流れを調べた。

可変抵抗の値を変えることでモーターへの供給電流は 60-95 mA の幅で変化するので、その範囲内の三段階について各筒での流速を測定した。水流は下層部が遅いので、安定な中層部と比較した。電流が 65 mA では筒 1 で 1.6 cm/s、2 で 2.0 cm/s、3 で 2.6 cm/s であり、80 mA では筒 1 で 2.0 cm/s、2 で 2.6 cm/s、3 で 3.6 cm/s であり、95 mA では筒 1 で 2.3 cm/s、2 で 3.0 cm/s、3 で 4.5 cm/s であった。筒 4 では紫色の水流が奥の壁にあたった後に、向きを変えて傍の小孔から側室 SR に流れ出した。筒 4 に入ってから側室に出るまでの時間は電流が 65 mA では 9 秒、80 mA では 6 秒、95 mA では 4 秒であった。また KMnO_4 溶液を 30 秒間流し続けた後に、筒 4 が再び透明になるまでの時間は電流が 65 mA では 1 分 20 秒、80 mA では 50

秒、95 mA では 30 秒であり、流速が遅いほどここで水が淀むことが分かった。

水槽 A と B 全体をシールドボックスに収め、その前面にスリットを作って筒 1~4 内を観察できるようにした。シールドボックス内の照明用電球には直流電源を用いた。

魚の行動 水路に魚を入れて滞泳場所を調べた。餌は筒 1 の天井に設けたはめこみ式の開口部から 1 日 1 回与えた。2 週間以上にわたって被験魚を収容した場合でも魚の状態は良好であり、すべての実験例で動作や行動に異常は認められなかった。但し個体によって停り易い場所や水路内の移動には違いがあり、その日周期のパターン及び経日的変化にも差異があった。しかし、それらは照明の有無や点燈電球の位置とは判然とした関係がなく、並列型水槽でみられた事柄がほぼ認められた。即ち、魚は走流性を示し、わりに緩やかな流れの筒 1 と 4 にいることが多く、水流の強さを少しずつ変えてみると、流れが速くて筒 1 に停まる場合は天井近くに位置し、流速を遅くするとやや水底に近づき頭を下げ気味にした斜めの姿勢をとっていた。流速を更に減弱するとより水底に近い場所に位置し、その程度の流速になるとむしろ筒 4 にいることが多かった。直列型水槽での観察で流速と魚の滞泳位置の相関があることが明らかとなった。

直列型実験水槽による心電図の記録

電極の設置 以上の観察から魚がよく滞泳する場所に電極を設置した。Fig. 4 に示したように、径 1 mm の銀電極 (e) を筒 1 では底から 1 cm 上げた位置に 2 列 (10 個)、筒 4 では底から 3 mm 上げた位置に 3 列 (18 個) と天井に 2 個、筒 2 では入口に近い底に 3 mm の高さに 1 列 (3 個) と天井に 1 個を埋めこんだ。筒 4 の天井と底の電極の一組に 0.1 mV の電位をかけて、他の電極間で誘導記録して校正電圧測定の一助とした。

更に筒 1 と 4 では電極の列の間に流れの軸と平行に隔板 (wa) を立てた。隔板は 1 mm 厚の透明な塩ビ板で、筒 1 での大きさは 2.4 cm × 7 cm、筒 4 では 1.4 cm × 7 cm であり、いずれも径 4 mm の孔が多数あけてある。魚は隔板附近にくると、底の電極に近い所で滞泳する傾向があるので、心電図が記録し易かった。

電極は埋没部を充分に防水処理した。リード線は脳波計用のターミナルボックスに導き、ダイヤルスイッチで 32 個の電極から随時に 2 個を選択した。別に銀線 5 cm をラセン状に巻いて筒 4 の後壁につけ、これを接地電極 (E) とした。増幅及び記録には日本光電製の AVB-2, AD2-22, 及び WI-130 を使用した。

R 波の記録 観察によっても充分確認したが、「口の

Plate 1. ECG recording apparatus equipped with one canal system.

開閉」と「鰓蓋運動による波形」とは単位時間あたりの頻度は合致していた。また電極を直接魚体に刺し込んで記録してみたが、鰓蓋運動の波形と魚の口の動きとは数が一致しているのが確認できた。鰓蓋運動の波形は二相性で持続時間は状態により $0.15 \sim 0.4$ s の範囲を変動した。水槽底部に埋設した電極での測定例では、鰓蓋運動の電位は増幅の時定数 0.3 s では持続時間 0.35 s の二相性の棘波状波形と持続時間 1 s にわたる単相性の徐波からなり、時定数が 10 ms では持続時間 60 ms の棘波状波形のみが記録された。魚が電極の近くに位置している際や鰓蓋運動の頻発する時には、徐波は融合して棘波状波形のみが記録され、電極から離れるに従い徐波成分が記録されることが多かった。概して、棘波状波形の持続時間は $60 \sim 80$ ms であったが、徐波成分の持続時間は魚の状態により変動範囲が大きかった。それらの全てに対して、心電図の R 波は常に短い持続時間 ($12 \sim 20$ ms) の二相性の棘波として記録された。また直接、電極を魚体に置いて測定すると、R 波は電極の位置により単相性ないし二相性であり、振幅も様々であったが、どの測定例でも持続時間は $10 \sim 20$ ms であった。

鰓蓋運動が活発なときでもゆっくりしているときでも、R 波は鰓蓋運動の波形に少し遅れて付随して出現することが多かった。呼吸数が少ない状態では、鰓蓋運動の波形のみが数回続いた後に R 波が出現し、次の R 波の出現まで鰓蓋運動のみが続くというパターンが繰り返されていた。呼吸数が多い状態では R 波が欠落することはなかった。

鰓蓋運動と R 波の電位は魚と電極との距離によって振幅が変わるが、両者の判別は増幅器の時定数を小さくすると容易である。R 波は電極から 5 mm ぐらいの距離で滞泳している時には約 $150 \mu\text{V}$ 、電極から 1 cm ぐらい離れていても $30 \sim 50 \mu\text{V}$ で記録できた。Fig. 5 に心電図の R 波と鰓蓋運動の同時記録の例を示す。一般に心拍リズムは不整であったが、まれに R-R 間隔がほぼ一定になることがあり、それは心拍数が多いときであった。心拍数の 1 分間値は個体の違い及び魚の状態により $20 \sim 100$ の範囲を変動し、概ね、水路に入れた初日は高い値を示し、2 日目以降は低下した値をとった。

本装置では自由遊泳している魚体の心電図と、場合によっては呼吸運動を記録できることが明らかとなった。

直列実験水槽の並置による実験

水槽の構造 同種他個体による影響を調べるために、3 つの平行に並んだ水路水槽 (底面積 $9 \times 27 \text{ cm}^2$) を透明塩化ビニール板で作製した (Plate 2, Fig. 6)。中央の水路に被験魚を入れ、両隣の水路には別の個体を 1 尾ずつ入れて、群泳行動を単純模式化して心電図の導出を試みた。

水槽全体に水を 6 l 入れて、水面は水路の天井よりも 1 cm 高くなるようにし、直流モーター (日本サーボ株式会社 DHCR80P, 24 V 用) でポンプを駆動し、塩ビ板を井桁に組合せて作った水流整流装置を通過させてから 3 水路に均等に導入した。モーターへの供給電流は $0.15 \sim 1 \text{ A}$ の範囲で可変であり、供給電流に比例して流速は大きくなる。実験は 0.2 A の緩い水流下で行った。

Fig. 4. The upper is elevation view and the lower two are lateral and ground plans of the ECG recording apparatus. A=compartment containing motor pump and filter (not shown); B=compartment embodying 4 chambers connected in series (numbered as 1-4) where a fish can swim. Chambers 1 and 4 are 4 cm in height, 3.5 cm in width and 9 cm in length. Chambers 2 and 3 are narrower by 0.5 cm on both sides and the ceiling of chamber 3 is lowered by 1 cm; SR=sideroom; P=joint-pipes; E=earth electrodes; e=recording electrodes; wa=partition wall. Arrows indicate the water flow.

中央の水路は実験水槽 (Fig. 4) と同様に着脱可能な 3 個の筒 (上流から筒 1, 2, 3 とする) を連結して作り、各筒は長さ 9 cm, 高さ 4 cm, 幅 3 cm とした。筒 2 は底を 1 cm 上げて、この場所で水流が速くなるように工夫した。両隣の水路は水槽の壁と中央の筒を側面とし、それぞれ水路の真中 1/3 の部分も底を 1 cm 上げて、これら 3 本の水路で対応する場所の断面積を等しくした。また、被験魚と他個体との交渉が視覚だけでな

く、嗅覚等によっても可能となるように、中央の筒の側壁には直径 4 mm の孔を沢山あけ、隣合う水路と連絡をつけた。中央の水路の筒 3 の端末部と両側壁の後半部は封じ、水は前半部の天井及び側面の壁にあけた小孔から向きを変えて流れ出るようにした。隣の 2 つの水路も実験環境が同じになるように同一構造に作り、水は前半部の小孔から側室 SR に流れるので、どの水路でも後半部は淀みの場所となった。

Fig. 5. Specimen record of R-spikes (indicated by arrows). Opercular movements superimposed on the spikes are also recorded.

Plate 2. ECG recording apparatus equipped with three canal systems.

電極は前記の装置と同様に径 1 mm の銀線を用い、筒 1 では 9 個、筒 2 は 6 個、筒 3 は 18 個を底面に埋め込み、水流の軸と平行に電極の列の間に孔のあいた隔板 (高さ 1.5 cm) を置いた。各筒の天井には 1 個ずつ接地電極を設け、ポンプを入れた水槽にも接地電極を設けた。R 波の誘導、増幅、記録についても前記の装置と同様である。

魚の行動と心電図 被験魚を中央の水路に収容して、5 日間にわたり行動を観察し心電図を記録した。6 日目に両隣の水路に魚を 1 尾ずつ入れると、被験魚の動きは 1, 2 日間は以前よりも活発になるのが認められたが、それ以降は被験魚が 1 尾でいたときとあまり変わらなかった。また水路での移動の際には互いに並んで泳ぐことが多くなり、3 尾がともに動くよりも被験魚は両隣の魚のどちらか一方と並泳することが多かった。いずれにしても、どの魚も筒 3 あるいはそれに対応した場所で滞泳する頻度が高かった。

他個体の導入後は、被験魚の心拍数はやや増加し、その状態が 3 日間にわたって持続するのも確認された。

考 察

水路の形は魚の水路内での行動観察を行いながら、試作と変更を繰り返して製作し完成したものである。水路外の水槽部分に 1 箇所入口を開けた、天井のついた箱を沈めたこともあるが、魚はこの中に入ることはあまりなく、両端の開いた水路、即ち水流のある場所で長く滞泳することが分かった。この段階で、水路に魚が入ったときに孔のあいた仕切り板を溝にそって上から落とし、魚

を強制的に閉じ込めて、滞泳する状態の心電図を導出しようと試みたことがある。しかし魚は狭い場所に閉じ込められると、頭を下にして動き回ったり、板に口をつけて押すような素振りをしたりしてあばれるので、この方法では無理であることが分かった。そこで、魚が自発的に場所を選べるように幾つかの水路を並べて、どの場所で滞泳することが多いかを調べた。

並列型水槽の各水路でどの孔をどの位置にするかについては色々な組合せで実験し、水流条件が魚の滞泳を決める主要因であることを確認し、最終的に Fig. 1 の実験水槽とした。この水槽で最適の水流条件では、魚が水路内の同じ位置で滞泳するのは長いときには連続して 4 時間にも達した。また魚の行動観察の時間が短いという懸念はあるが、水路 C_2 のみを残した水槽でタナゴを計 5 尾、約半年間以上にわたり飼育観察した結果では、魚は給餌期以外は水路内の上流から中流域にいたことが多かった。従って、緩い一定水流の場所で滞泳する等を含めた本研究結果の再現性は高いと考えられるし、それは心電図測定のための行動観察の諸過程でも明らかにされた。

本研究法での利点の第 1 は魚を傷つけずに無拘束の状態で心電図あるいは呼吸運動を測定することができ、長期間にわたる魚の行動、状態を肉眼観察で追跡することも可能であるというところにある。一例をあげると、魚が水底近くで鰭を動かさずに滞留している際には心拍数は約 40/min であったが、水中に浮き上がり鰭を動かして滞泳している状態では心拍数が約 60/min に上昇するのを測定したことがある。このように魚の行動、状態が

Fig. 6. Ground plan (upper) and lateral plan (lower) of the ECG apparatus equipped with three canals, each is 4 cm in height, 3 cm in width and 27 cm in length. The bottom of the middle portion of each canal is elevated by 1 cm. The subject fish is introduced in the central canal, and the other two fish are in either of the side canals. Symbols identical to those in Fig. 4 except that P=water pump, F=filter.

変化したときに生理的パラメーターは対応してどのように変動するのか、その日周変動の範囲はどのくらいか等を調べるのもこれからの課題であると考えている。上述の問題と関連して、魚の運動と心拍数との関係については、水流速度が大きいときには心拍数が増加するという報告^{2,3)}と、ほとんど変化しないという報告^{4,5)}がある。実験方法ないし水流速度の大きさに差異があるので一概に比較することはできないが、本研究の実験装置 (Fig. 4) の筒 4 で魚が滞泳している状態のときに水流速度を変えて心電図の測定をした結果では、心拍数はほぼ一定であり、R-R 間隔のばらつきも同様であった。

本研究法の利点の第 2 は被験体を繰り返して測定できることであり、魚の成長に伴う生理的パラメーターの変化を同一個体でも追跡することができる。予備実験として、体長 2.6 cm、体重 0.35 g の仔魚で自由遊泳下の状態の心電図を約 10 秒間にわたり数回測定したが、心拍数に換算すると約 40/min であり、意外なことに成魚とあまり変わらなかった。

本実験方法の利点の第 3 は自然な状態で測定できるので、外部環境の変化、例えば水質 (pH、水中の O_2 ・ CO_2 量、汚染物質等) の変化に伴う長期間にわたる魚の微細な生理的変動を調べることも可能などところにある。また

3 平行水路水槽での個体間交渉に関する実験では、視覚と、それ以外の感覚 (嗅覚、味覚等の化学感覚、水流感覚等) に分けて調べることも可能である。なお、本装置を用いて得られた詳しい実験結果については別に報告する予定である。

終りに臨み、実験の機会を与えて下さり、懇篤なる指導と校閲の労をとられた東京水産大学尾崎久雄教授に心から感謝の意を表する。また、指導助言を賜った東京水産大学池田弥生助教授に謹んで感謝の意を表する。

文 献

- 1) 山森邦夫・羽生 功・日比谷 京: 日水誌, **37**, 94-97 (1971).
- 2) E. D. STEVENS and D. J. RANDALL: *J. Exp. Biol.*, **46**, 307-315 (1967).
- 3) I. HANYU, K. TSUKAMOTO, K. YAMAMORI, P. V. NGAN, K. FURUKAWA, and T. HIBIYA: *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **45**, 1261-1265 (1979).
- 4) E. C. BLACK: *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **14**, 117-134 (1957).
- 5) 野村晋一・茨木弟介・広瀬 昶・白旗総一郎: 日水誌, **38**, 1105-1117 (1972).