マダイの視力の照度による変化と網膜順応状態

塩原 泰,^{1*} 有元 貴文²

(2002年9月2日受付, 2003年2月28日受理)

¹社団法人海洋産業研究会, ²東京水産大学海洋生産学科Change in visual acuity and retinal adaptation according
to light intensity for red sea bream *pagrus major*YASUSHI SHIOBARA^{1*} AND TAKAFUMI ARIMOTO²¹Research Institute for Ocean Economics, Minato, Tokyo 105-0003, ²Department of Marine Science and Technology, Tokyo University of Fisheries, Minato, Tokyo 108-8477, Japan

The change in visual acuity and retinal adaptation according to light intensity was investigated for red sea bream *Pagrus major*. Visual acuity was estimated by a behavioral training method as 0.24 in 500 lx, 0.19 in 100 lx, 0.15 in 10 lx and 0.10 in 1–0.1 lx. Retinal adaptation was examined by a histological method in fish exposed to the same light condition as a behavioral experiment. The pigment index was 72.8–65.8% in 500–1 lx and 42.0% in 0.1 lx. From the results of behavioral experiments and histological experiments, it was suggested that the visual cells of red sea bream shift to rods from cones between an illumination strength of 1 lx and 0.1 lx.

キーワード：マダイ, 視力, 照度, 学習法, 網膜

これまでいくつかの魚種について, 最小視認閾による視力と最小分離閾による視力が求められている。最小視認閾は点, または線の存在を認める閾値であり, コイ *Cyprinus carpio* の視力¹⁾およびイシダイ *Oplegnatus fasciatus* の線視力²⁾が行動学的手法により求められている。また, 餌に対する反応距離からブルーギル *Lepomis macrochirus*,³⁾ イシダイ *Oplegnatus fasciatus*⁴⁾ の視力が求められているが, これらも最小視認閾による視力と考えることができる。

一方, 物体の詳細な構造を識別する最小分離閾として, カツオ *Katsuwonus pelamis*, スマ *Euthynnus affinis*⁵⁾ カゴカキダイ *Microcanthus strigatus*⁶⁾ について視力が求められている。この他に, 組織生理学的手法により網膜分解能から魚類の視力が推定されている⁷⁾が, これは物体を識別するためには隣り合った視細胞の間に最低ひとつの細胞が必要という原理に基づいて最小分解角が求められていることから, 最小分離閾による視力となる。

筆者らはこれまでマダイ *Pagrus major* を対象として, 網膜分解能の成長変化⁸⁾や, 視軸と摂餌行動の関係⁹⁾について検討を行ってきた。本報では同じくマダイを用いて, 漁具などの物体を知覚する能力として有用な

知見となる最小視認閾による視力を行動学的手法により求め, 照度との関係について検討を行った。

試料および方法

行動実験 以下に説明する実験装置を用いて, 学習法¹⁰⁾によりマダイの視力測定を行った。実験魚には, 提示時に報酬が与えられる視覚目標 (正図形) に対し接近する行動を, 罰が与えられる視覚目標 (負図形) に対して回避する行動を学習させた。

長さ 200 cm × 幅 100 cm × 深さ 50 cm の塩化ビニール製水槽を Fig. 1 に示すように, 実験区画 (Experimental area), 待機区画 (Watching and waiting area), 飼育区画 (Keeping area) に区切った。各区画の間は不透明な塩化ビニール板で仕切り, 遠隔操作で開閉可能な通過口 (Gate) を設けた。

実験水槽は暗幕で遮光した実験室に設置した。実験水槽の上方 2.8 m に設置した 200 W 白熱灯により照明を施した。白熱灯に変圧器を接続し, 電圧を変化させることで照度を 500, 100, 10, 1, および 0.1 lx の 5 段階に変化させた。照度は水槽中央の底面で水中照度計 (Minolta デジタル照度計 T-1M) により測定した。同時に, 光

* Tel : 81-3-5401-1801. Fax : 81-3-5401-2596. Email : y-shiobara@ab.inbox.ne.jp

Fig. 1. Experimental tank. The experimental tank was separated into three sections, an experimental area, a watching and waiting area and a keeping area. An incandescent light (200W) connected to a transformer was installed above the tank. Luminance is variable from 0.1 lx to 500 lx.

量子計 (LI-COR li-250, LI-192SA) を用いて測定したところ、500 lx で $15.8 \mu\text{Mm}^{-2}\text{s}^{-1}$, 100 lx で $3.4 \mu\text{Mm}^{-2}\text{s}^{-1}$, 10 lx で $0.4 \mu\text{Mm}^{-2}\text{s}^{-1}$, 1 lx で $0.03 \mu\text{Mm}^{-2}\text{s}^{-1}$, 0.1 lx で測定限界以下であった。水槽内の海水は人工海水をろ過装置で循環させ、1-2 ヶ月の間隔で交換することで常に清澄な状態とした。

視覚目標 (Visual target) には、正図形として白色アクリル板中央にコントラストの明瞭な黒色の円図形を貼付したものを用い、対照とする負図形には白色アクリル板を用いた。学習の段階では正図形の直径を 50, 40, 30, 20 mm の 4 段階とし、視力測定の場合は 10, 9, 6, 4, 3, 2, 1.5, 1.2, 0.9 mm の 9 段階とした。黒色円図形と背景の白色アクリル板とのコントラストは 0.96 であった。マダイの視軸は前下方である^{7,8)}が、マダイの摂餌行動を観察した研究ではマダイは正面および左右の下方に餌にもっとも良く反応し、前下方の餌に対する反応は比較的鈍いという結果が得られている。⁹⁾ このことから、視覚目標の提示位置は、実験魚に対しほぼ正面とした。

実験魚には神奈川県栽培漁業センターより入手したマダイ種苗を約 2 年間実験室で飼育した体長約 200 mm のマダイ 3 尾を用いた。

実験の手順を以下に説明する。飼育区画から実験魚 1 尾を待機区画に誘導した後に、待機区画と実験区画の間のゲートを開放した。正図形提示時にゲートを通過した場合は報酬として餌を与え、負図形提示時にゲートを通過した場合はゲートを落下させ実験魚を威嚇することで罰を与えた。ゲート開放から通過までの時間を測定し、120 秒間ゲートを通過しない場合は報酬や罰を与えずにゲートを閉じることとした。

正図形と負図形の提示順序は基本的に不規則とした

が、罰の効果で実験魚の行動様式が変化し、ゲート通過時間が延長傾向にあるときは正図形を優先的に提示した。また、報酬の効果でゲート通過時間が短縮し続け、ゲート開放と同時にこれを通過するときは、負図形を優先的に提示した。このような強化¹⁰⁾を繰り返すことで、静止して視覚目標を観察するという行動を学習させた。学習実験は、照度 500 lx、正図形の直径を 50 mm、ゲートから視覚目標までの距離を 30 cm として開始し、学習の形成を確認しながら距離を 100 cm に順次延長し、正図形の直径を縮小していった。なお、視力の測定は最終的に学習の良好な 1 尾についてのみ行った。

最小視認閾は、正図形提示時のゲート通過時間と、その直後に行った負図形提示時のゲート通過時間の両者の差を検定することによって判定した。

実験は、実験魚の状態を観察しながら通常は 1 日当たり 30-60 回行ったが、実験魚の摂餌活性が低いときには 1 日当たり 10 回程度とした。実験は、1997 年 10 月 9 日から 1998 年 7 月 22 日まで、延べ 100 日間にわたって行った。

網膜順応状態の測定 網膜順応状態の測定は行動実験と同じ光源を用い、照度 500, 100, 10, 1, 0.1 lx とコントロールとして、恒暗条件の合計 6 段階を設定した。実験魚は体長 12.9-14.7 cm のマダイを各段階で 5 尾ずつ、合計 30 尾用いた。

網膜のサンプリングは各条件で 1 日 1 回、午後 3 時時刻を定めて行った。実験魚は正午から、午後 3 時までの 3 時間、設定照度に順応させた。実験魚から摘出した左眼球を直ちにブアン液に浸し、組織の固定を行った。固定の完了した眼球から角膜、水晶体を取り除き、網膜の前下部を切りだした。パラフィン包埋および HE 染色を網膜片に施し、厚さ $4 \mu\text{m}$ の網膜縦断組織切片を作製した。完成した顕微鏡標本を検鏡することで錐体指数および色素指数¹¹⁾を求め、順応率の指標とした。錐体指数は、強膜から外限界膜までの距離における、錐体の外限界膜側上端から強膜までの距離の割合 (%) とした。また、色素指数は強膜から外限界膜までの距離における、色素の集中が見られる層から強膜までの距離の割合 (%) とした。観察状態の良好な 1 切片から 1 尾について 1 回計測し、各段階 5 尾の平均値を求めた。

結 果

行動実験 視力の測定段階では同一直径の視覚目標で連続して 23-54 回の実験を行った。照度 500 lx における正・負図形の接近時間を図形の直径順に Fig. 2 に示した。これによると、直径 10-1.5 mm の段階では正図形提示時に対しすべての結果で負図形提示時に通過時間が増加していたが、直径 1.2 mm および 0.9 mm では減少する結果がみられた。Wilcoxon の符号化検定の結

Fig. 2. The results of behavioral experiment in 500 lx. The approaching time of positive targets compared with negative targets for each diameter. It was shown as a result of statistic testing that the experimental fish is not seen in the target with a diameter of 0.9 mm.

果, 危険率 5% で, 直径 1.2 mm まで有意差が認められたが, 直径 0.9 mm では認められなかった。以上の結果からこの場合の最小視認閾値を直径 1.2 mm として, 以下の式より視力を算出した。

$$VA = \left\{ 2 \times \arctan \left(\frac{\phi}{2D} \right) \times \frac{180}{\pi} \times 60 \right\}^{-1}$$

ここで VA は視力, ϕ は視覚目標の直径, D は視覚目標までの距離を示す。ここで D は実験条件より 1000 mm とした。照度 500 lx 条件下での体長 200 mm のマダイの最小視認閾による視力は 0.24 と求められた。

照度による視力の変化 同様の実験を照度 100, 10, 1, 0.1 lx で行ったところ, 最小視認閾値はそれぞれ, 100 lx で 1.5 mm, 10 lx で 2.0 mm, 1 lx および 0.1 lx では 3.0 mm であった。各照度段階における視覚目標の直径と検定値の関係を Fig. 3 に示した。前述の式より算出した各照度の視力を, 500 lx の結果と併せて Fig. 4 に

Fig. 3. Relationship between target diameter and test statistic of Wilcoxon test. A broken horizontal line indicates 5% level of significance. The minimum significant target is 1.2 mm at 500 lx, 1.5 mm at 100 lx, 2 mm at 10 lx, 3 mm at 1 and 0.1 lx.

Fig. 4. The relationship between luminance and visual acuity. When decreasing illumination from 500 lx to 1 lx, the visual acuity of red sea bream decreased in connection with illumination. The same visual acuity was obtained as 0.10 both for 1 lx and 0.1 lx.

示した。照度を 500 lx から 1 lx まで減少させると, マダイの視力はこれにともない 0.24 から 0.1 まで減少した。しかし, さらに照度を減少させた 0.10 lx での視力は, 1 lx 時と同じ 0.10 であった。

網膜順応状態 500 lx, 0.1 lx および恒暗条件下 (control) における網膜組織を Fig. 5 に例示した。また, Fig. 6 に照度による錐体指数と色素指数の変化を示した。錐体指数は恒暗条件下 (control) において 69.4% であり, 照度 0.1–500 lx では 94.4–100% であった。錐体の強膜側への大きな移動は見られず, 錐体指数の変動は小さかった。

一方, 恒暗条件下 (control) における色素指数は 34.1% であった。また, 照度 0.1–500 lx での色素指数

Fig. 5. Photographs of retinal tangential section of red sea bream. Experimental fishes were adapted for three hours under each light condition. The control was under the darkness.

は 42.0–72.8% であり、錐体指数と比較してその変化は大きかった。各段階で t 検定を行ったところ、照度 500–100 lx 間、100–10 lx 間、10–1 lx 間では有意差は認められなかったが、1–0.1 lx 間では危険率 5% で有意差が認められた。また、照度 0.1 lx と恒暗条件 (control) 間では有意差は認められなかった。以上から、色素指数の観点では、本実験で用いた光条件では、0.1 lx で網膜の順応状態は暗順応に移行することが示された。

考 察

これまでに得られている魚類の視力に関する知見によれば、最小視認閾による魚類の視力は学習法からコイについて 0.11¹⁾ と、プランクトンに対する反応距離からブルーギルの視力が 0.06³⁾ と求められている。これらの結果と比較して、マダイの視力は 2–3 倍高いものとなっている。ブルーギル、コイの生息する淡水では海水と比較して透明度が低く、高い視力を必要としないことから生息水域への適応のひとつと考えることができる。また、網膜分解能から推定したマダイの視力は体長 200

Fig. 6. Retinal adaptation of red sea bream. The upper figure shows a cone index and the lower figure shows a pigment index. From 500 lx to 1 lx, the retina of red sea bream was in light adaptation. Retinal adaptation changed to dark adaptation at 0.1 lx.

mm の個体で 0.156⁷⁾、体長 202 mm の個体で 0.160⁸⁾ と報告されており、本研究で求めた値はこれらを上回っている。これについては、網膜分解能は最小分離閾に基づく視力であり、物体の詳細を見分けるよりも、存在の有無を認める方が容易であることから、今回の結果は矛盾していないと考えられる。今後、この点についてさらに検討を進めるためには、行動実験による最小分離閾の視力を求める必要がある。

魚類の最小分離閾による視力について、明るさの変化が及ぼす影響は、カツオ、スマ、⁵⁾ カゴカキダイ、⁶⁾ キンギョ¹²⁾ などで報告があり、また最小視認閾ではイシダイの単線視力²⁾ について検討がなされている。このうち、カゴカキダイの例では照度 0.1–5 lx の間で視力変化の不連続性が認められており、明順応から暗順応への移行が示されている。本研究における行動実験の結果においても、0.1–1 lx でマダイの視力は変化しておらず、カ

ゴカキダイの暗順応への移行照度とはほぼ一致した。

本研究における網膜組織の観察では、錐体指数には顕著な変動は見られなかった。網膜の順応状態は日周性を示し,¹³⁾ 恒明条件下においても変化することが知られている。網膜のサンプリングを行った時刻は午後3時であり、通常の飼育条件下では明順応していると考えられる時間帯であったため、恒暗条件下においても十分な錐体の移動は起きなかったと考えられる。一方、色素指数においては照度によって変動が見られ、0.1 lx と 1 lx の間で明順応から暗順応への移行が生じたと考えられた。マダイの明暗順応を網膜運動反応から検討した例¹⁴⁾では、明順応から暗順応へ移行する明るさを光量子量で $0.02\text{--}0.042\ \mu\text{Mm}^{-2}\text{s}^{-1}$ と報告している。本研究で用いた光源の光量子量は、1 lx において $0.03\ \mu\text{Mm}^{-2}\text{s}^{-1}$ に相当し、明順応から暗順応へ移行はこれ以下で生じたことから、この値とはほぼ一致していた。

以上より、行動実験および網膜順応状態の両者から、本研究で用いた光源下におけるマダイの明順応から暗順応に移行する照度は 0.1 lx と 1 lx の間であることが示された。

本研究の行動実験では、マダイの視力は照度の減少にともない減少するが、1 lx と 0.1 lx で横這いとなった。この段階で光受容体が錐体から桿体へ移行したと考えると、桿体による視力は 0.1 程度であることが予想された。これについて、網膜上の桿体の密度分布が明らかとなれば組織生理学的に桿体の視力を推定することが可能になると考えられる。漁獲対象魚種の暗順応状態での水中視程は、漁業において有用な知見といえる。暗順応状態における魚類の視力についての研究例は少なく、本分野における今後の展開が期待される。

引用文献

- 1) 中村善彦. 水中の濁りが魚の視力に与える影響に関する基礎的研究. *J. Tokyo Univ. Fish.* 1989; **76**: 83–122.
- 2) 宮崎多恵子, 中村善彦. 条件反射手法を用いて求めたイシダイ 0 年魚の単線視力. *日本誌* 1990; **56**: 887–892.
- 3) Breck JE, Gitter MJ. Effect of fish size on the reactive distance of Bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1983; **40**: 162–167.
- 4) 中村善彦, 松生治. 水中の濁りと魚の視力との関係(3)濁った水中における魚の小さなターゲット (餌) に対する反応. *La mer.* 1989; **27**: 19–24.
- 5) Nakamura EL. Visual Acuity of Two Tunas *Katsuwonus pelamis* and *Euthynnus affinis*. *Copeia* 1968; **1**: 41–49.
- 6) Yamauchi T. The visual acuity of the coral fish *Microcanthus strigatus* (Cuvier and Valenciennes). *Publ. Seto Mar. Biol. Lab* 1956; **V**: 133–156.
- 7) Tamura T. A study of visual perception in fish, especially on resolving power and accommodation. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1957; **22**: 536–557.
- 8) Shiobara Y, Akiyama S, Arimoto T. Developmental changes in the visual acuity of red sea bream. *Fish. Sci.* 1998; **64**: 944–947.
- 9) 塩原 泰, 有元貴文. マダイの視軸に関する行動実験. *日本誌* 1999; **65**: 728–731.
- 10) 井上 実. 魚の学習. 「魚の行動と漁法」恒星社厚生閣, 東京. 1978; 41–45.
- 11) Ali MA. Retinomotor response. In: Ali MA (ed) *Vision in fishes*. Plenum press, New York and London. 1975; 313–356.
- 12) Penzlin VH, Stubbe M. Studies on the visual acuity in the goldfish. *Zool. Jb. Physiol. Bd* 1977; **81**: 310–326.
- 13) Douglas RH, Wagner HJ. Endogenous patterns of photomechanical movements in teleosts and their relation to activity rhythms. *Cell Tissue Res.* 1982; **226**: 133–144.
- 14) Kawamura G, Miyagi M, Anraku K. Retinomotor movement of all spectral cone types of red sea bream *Pagrus major* in response to monochromatic stimuli and UV sensitivity. *Fish. Sci.* 1997; **63**: 233–235.