

マコガレイの周波数弁別能力について

張 国勝, 梨本勝昭

(1999年6月18日受付)

Auditory Frequency Discrimination in Marbled Sole *Pleuronectes yokohamae**1

Guosheng Zhang*2 and Katsuaki Nashimoto*3

Auditory frequency discrimination of marbled sole *Pleuronectes yokohamae* was determined by measuring the cardiac response of fish exposed to a series of paired tones, one of standard frequency (F_1) and one of alternating-tone frequency (F_2) were combined at 0.2 s intervals. Fish were first conditioned in a paired tone of different frequency in one octave coupled with an electric shock. Fish could discriminate frequencies between 100 and 300 Hz, but not frequencies of 400 Hz and above. Frequency discrimination limens ($(|F_2 - F_1|/F_1) \times 100(\%)$) were approximately 30% at 100-200 Hz and 35% at 300 Hz in standard frequency.

キーワード: マコガレイ, 周波数弁別閾, 条件付け, 心拍抑制

魚の音響馴致に関する基礎研究として, これまで筆者らはマコガレイの基本的な聴覚特性である聴覚閾値¹⁾と背景雑音によるマスキング²⁾についての研究を行ってきた。海洋牧場などにおいてより有効に水中音響を利用して魚の行動を制御するためには, さらに重要な聴覚特性の一つである周波数弁別能力を明らかにする必要がある。

動物の聴覚における周波数分析の分解能を表す指標としては, 周波数弁別閾 (FDL, Frequency Discrimination Limen), 臨界比帯域幅 (CRB, Critical Masking Ratio Bandwidth), 臨界帯域幅 (CB, Critical Bandwidth), 精神物理学的同調曲線 (PTC, Psychophysical Tuning Curve) がある。³⁾ 魚類においては周波数弁別閾の測定が多く行われている。魚類の周波数弁別閾は聴覚特性の優れた骨鰾類のキンギョ *Carassius auratus*, コイ科の *Phoxinus laevis* では 4~5%, 非骨鰾類のハゼ科の *Gobius niger*, タイ科の *Sargus annularis*, ニベ科の *Corvina nigra* では 10~15%, 鰾を持たない *Cottus scorpius* では 8~16% となり,^{3,4)} 人間^{5,6)} に比べ 10 倍以上大きくなり, 周波数弁別能力は悪い。

魚類の周波数弁別能力に関する過去の実験は様々な方法が採用され, 刺激音の周波数弁別の概念も研究者によって異なっている。また, 音圧が等しい二つの音を用いて周波数を弁別させる実験では, 魚が周波数差を弁別し

たのか, 音圧の差として二つの音を弁別したのかを明らかにしていない。

本研究では前報¹⁾と同様に音と電気刺激を組み合わせた古典的条件付けの手法を採用し, 周波数の異なる二つの純音信号を一定の時間間隔で組み合わせた刺激音を供試魚に聴かせて, 両純音信号の周波数差による心拍抑制反応の変化からマコガレイ *Pleuronectes yokohamae* の聴覚における周波数弁別能力について調べた。

材料および方法

実験は前報¹⁾における聴覚閾値測定用の装置を利用した。実験にはガラス製の長さ 60 cm, 幅 30 cm, 高さ 36 cm の水槽を用いた。供試魚には予め心電図導出用の電極を装着して置き, 前方, 後方, 上面が解放されているプラスチック製のケージの内側底面に魚体の有眼側を上にして着底させ, 網で覆い固定した。そしてケージを実験水槽内の中央部に魚の頭部が音軸方向の中心位置になるように吊した。心電計で心電図を観察記録しながら, コンピューターで作製した純音信号を D/A 変換し, 刺激音として与えた。刺激音は増幅器を用いて, ケージ内の魚の頭部において必要な音圧が得られるようにして, 空中スピーカーから放音した。なお, 水粒子の変位を抑えるために水槽を挟んで両側面からそれぞれ 5 cm の位置に二つのスピーカーを対向させ設置し, 二つ

*1 本文の一部は平成 10 年度日本水産学会秋季大会に口頭発表した。

*2 大連水産学院 (Dalian Fisheries University, Heishijiao, Dalian, 116023, China)。

*3 北海道大学水産学部 (Faculty of Fisheries, Hokkaido University, Minato, Hakodate, Hokkaido 041-8611, Japan)。

の音源からの音を同振幅, 同位相で放音した。本測定は実験水槽内の暗雑音や床からの振動, ハムノイズなどを低減させるために外側全体を吸音材で覆い, アルミ箔を貼りつけるなどして工夫した簡易防音室内に実験用の水槽を設置して行った。なお測定中の水温, 背景雑音については前報¹⁾とほぼ同じ状態であった。測定は2段階に分けて行った。第1段階の実験では平均全長 22.9 cm, 平均体重 157.8 g のマコガレイ 17 尾を供試魚に使用した。第2段階の実験では平均全長 30.5 cm, 平均体重 391.8 g のマコガレイ 8 尾を供試魚に使用した。

本実験では持続時間が1秒間で周波数 F_1 の音と F_2 の音との二つの純音信号を0.2秒間隔で組み合わせて刺激音として使用した。ただし, 両純音信号の時間間隔は安楽⁷⁾の断続音によるマダイ音響馴致効果に関する研究結果を参考にして決定した。刺激音の源信号の波形を Fig. 1 に示す。ここでは F_1 を基本周波数, F_2 を変換周波数とする。なお, 放声時に過渡雑音を発生しないように, 基本周波数 F_1 と変換周波数 F_2 の両信号音ともに立ち上がり前後の0.1秒間を Fade-in, Fade-out 処理した。

本実験では前報¹⁾で測定したマコガレイの聴覚閾値曲線を参考にして基本周波数 F_1 を決定した。第1段階の実験では, 周波数 100, 200, 400 Hz を基本周波数 F_1 に選択した。また, 変換周波数 F_2 を基本周波数 F_1 から5%ごとに50%まで合計11段階にわたって増加させ, さらに100%に増加させて測定を行った。第2段階の実験では, 周波数 200 Hz と 300 Hz を基本周波数 F_1 に選択し, 変換周波数 F_2 を基本周波数 F_1 から5%ごとに50%まで減少して変化させて測定を行った。

魚類の聴覚閾値は同一魚種においても周波数によって異なる。このため異なる周波数の音を等しい音圧で放声して聴かせた時, 魚に対する刺激の物理的強さは等しくても受容器の感度特性によって感覚的強さは異なってくる。したがって, 周波数弁別能力を調べる実験では, 周波数の異なる二音間で魚の感覚的強さが異なることから生ずる学習効果を排除することが肝要である。このため各周波数に対する放声音圧は感覚レベルが一定となるように設定する必要がある。本実験において放声音圧は前

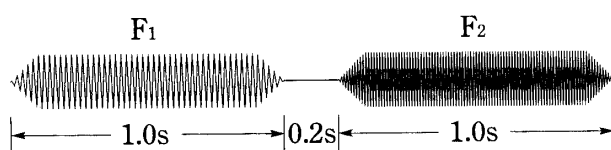


Fig. 1. Waveform of a pure-tone stimulus.

F_1 , standard frequency; F_2 , alternating-tone frequency.

報¹⁾で測定した各周波数の平均聴覚閾値より 20 dB 大きく設定した。ただし, 閾値を測定していない周波数帯については聴覚閾値曲線から閾値レベルを推定して放声音圧を決定した。

各供試魚の心電図は前報¹⁾と同様の手法により導出した。心電図導出のための電極には直径 0.5 mm の1芯(銅線)のコード線を使用した。濃度 0.02% の麻酔薬 m-アミノ安息香酸エチルメタンスルホネート溶液中で供試魚を薬浴し, その麻酔効果が確認された供試魚に心電図導出の電極を挿入した。その後銅線が露出した電極部が供試魚の心臓近傍になるように調節した。さらにリード線がずれないように魚体表面から出ているコード部分二ヶ所を内径約 0.4 mm のビニールチューブで別々に固定した。電極を埋め込んだ供試魚を保持ケージの底面に固定し, 実験水槽の中に入れて麻酔から回復させた。

条件付けは電極を装着してから5時間以上経過した後に開始した。Fig. 2 に放声音と電気刺激のタイミングを示す。第1段階の実験では, Fig. 2(1)に示すように変換周波数 F_2 が基本周波数 F_1 に等しい刺激音を7.8秒間隔で連続5回放声してから7.8秒後に, 変換周波数 F_2 が基本周波数 F_1 の2倍である刺激音を1回放声し, 放声音終了後に直流 12 V, パルス幅 0.1 秒の電気刺激を供試魚に与えた。第2段階の実験では, Fig. 2(2)に示すように変換周波数 F_2 が基本周波数 F_1 に等しい刺激音を7.8秒間隔で連続5回放声してから7.8秒後に, 周波数 F_2 が周波数 F_1 の0.5倍である刺激音を1回放声し, 放声音終了後に直流 12 V, パルス幅 0.1 秒の電気刺激を供試魚に与えた。この試行を5分間隔で10回

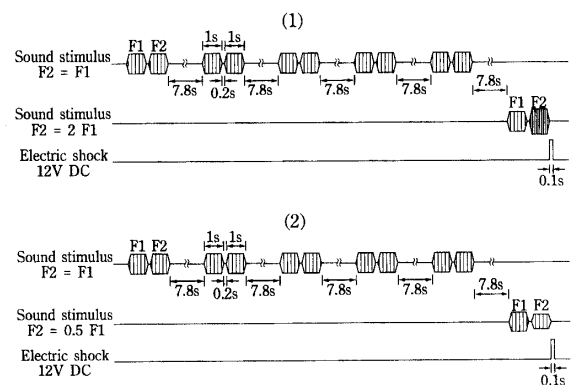


Fig. 2. Conditioning method.

(1) Top trace, F_1 and F_2 pure tones of equal frequency; Middle trace, F_2 pure tone frequency twice that of F_1 ; Bottom trace, electric shock.

(2) Top trace, F_1 and F_2 pure tones of equal frequency; Middle trace, F_2 pure tone frequency half that of F_1 ; Bottom trace, electric shock.

繰り返して条件付けを終了した。なお、条件付けのための放声音圧レベルは測定する周波数帯と同じ音圧レベルに設定した。

周波数弁別能力の測定は条件付けが完了してから1時間以上経過し、心電図の心拍間隔と基線が安定していることを確認してから開始した。第1段階の実験では変換周波数 F_2 を基本周波数 F_1 より高くして測定を行った。測定は Fig. 3(1) に示すように、 $(F_2 - F_1)/F_1$ を 0.00 から 1.00 まで上げていく実験（上昇系列）と、1.00 から 0.00 まで下げていく実験（下降系列）を交互に配置して行った。第2段階の実験では変換周波数 F_2 を基本周波数 F_1 より低くして測定を行った。すなわち Fig. 3(2) に示すように、 $(F_2 - F_1)/F_1$ を -0.50 から 0.00 まで上げていく上昇系列と、0.00 から -0.50 まで下げていく下降系列を交互に配置して測定を行った。上昇、下降両系列とも測定を始める3分前に変換周波数 F_2 が基本周波数 F_1 に等しい刺激音を7.8秒間隔で5回放声して最初の放声音に驚愕反応を起こさないように配慮した。また上昇、下降両系列ともに2分ごとに放声して測定を行い、各刺激音における供試魚の反応を調べた。

前述したように周波数が異なっても魚に与える感覚レベルを一定になるように放声音圧を配慮する必要がある。ここでは音刺激の与え方について表示した Fig. 2, 3の音刺激の振幅の大きさは音圧の強さを、また縦縞の間隔は周波数の違いを模式的に表している。

供試魚の反応は測定時に心電図と刺激音信号を同時に記録し、放音時の心拍間隔の変化から判断した。放音前20拍の心拍間隔と放音後3拍までの中で最大となる心拍間隔を Mann-Whitney の U 検定により比較し、心拍間隔が有意に伸びた場合（有意水準5%，片側検定）

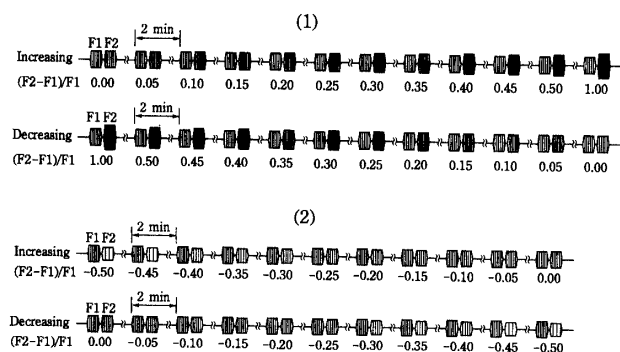


Fig. 3. Traces showing how the auditory frequency discrimination of marbled sole were measured for increasing (upper trace) and decreasing (lower trace) F_2 frequencies.

- (1) $F_2 \geq F_1$.
- (2) $F_2 \leq F_1$.

を反応有りと定義した。

結果

Fig. 4 には供試魚 B6 の個体を用いて基本周波数 F_1 を 300 Hz とし、上昇系列で測定した時に記録した 50 秒間の心電図を示す。この図から、供試魚 B6 の個体は変換周波数 F_2 が 150~210 Hz の各周波数に対して連続的に反応したことがみられた。また、同じ個体について下降系列で測定した結果も、上昇系列と同様に変換周波数 F_2 が 210~150 Hz の各周波数に連続的に反応したことが認められた (Fig. 5)。

第1段階で測定した 17 尾の供試魚の結果を整理して Table 1 に示す。Table 1 により、各測定周波数において上昇、下降両系列ともに反応を表し始める $(F_2 - F_1)/F_1$ は基本周波数 F_1 100 Hz では 0.20~0.35, 200 Hz では 0.25~0.40 となることがわかった。しかし、基本周波数 F_1 400 Hz において測定した 5 個体では変換周波数 F_2 400~800 Hz の刺激音に対しても明らかな反応は認められなかった。

第2段階で測定した 8 尾の供試魚の結果を整理して Table 2 に示す。Table 2 により、各測定周波数において上昇、下降両系列ともに反応を表し始める $(F_2 - F_1)/F_1$ は基本周波数 F_1 200 Hz では $-0.15 \sim -0.35$, 300 Hz では $-0.30 \sim -0.40$ となることがわかった。

本測定で行った基本周波数 F_1 より変換周波数 F_2 を

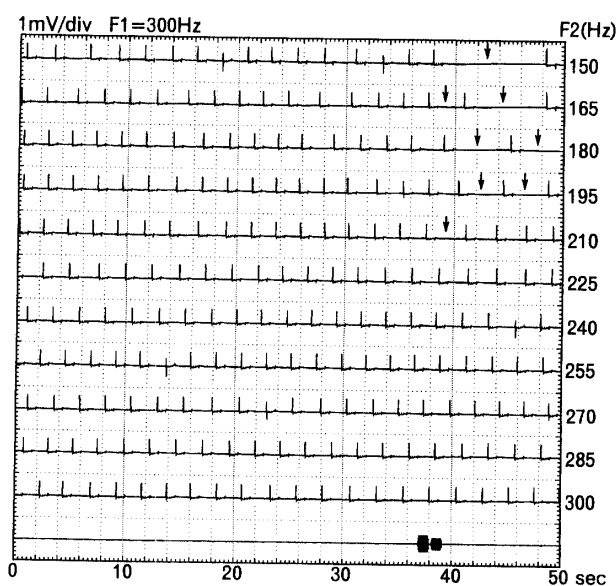


Fig. 4. Cardiac responses of fish B6 to pure tones of a standard frequency of 300 Hz (F_1) and alternating-tone frequencies increasing from 150 Hz to 300 Hz (F_2).

Bottom trace shows the pure-tone stimuli. Arrows show positive response.

高くした場合と低くした場合について得られた Table 1, 2 の結果を整理し, Table 3 に示す。ここでは各個体について上昇系列, 下降系列ともに正の反応が確実 (100%) に現れる最小周波数差 ($F_1 - F_2$) の絶対値の平均値を, 周波数弁別差 (ΔF) として求め, また同時に標準偏差も表示した。また, 正, 負の反応が測定した

個体全体の 90% 以下を示す周波数範囲について Range として示した。

Table 3 から, マコガレイの周波数弁別差は基本周波数 100~300 Hz で周波数の増加に伴って大きくなる傾向がみられた。なお, 周波数弁別閾 ($(\Delta F/F_1) \times 100$) の平均値は基本周波数 F_1 100 Hz では約 31%, 200 Hz では約 27~34%, 300 Hz では約 35% となった。しかし, 周波数 400 Hz 以上では明らかな周波数弁別閾は求められなかった。

考 察

魚類の周波数弁別能力に関する研究は本世紀 30 年代ごろから始められ, これまで数種の魚の周波数弁別閾は測定されている。^{3,4)} しかし, ほとんどの実験では各測定周波数における放声音圧を等しく設定して測定を行っているため, 二つの音の周波数の違いにより反応したのか, 二つの音の強さに対する感覚レベルの違いにより反応したのかを明らかにしていない。魚が周波数弁別能力を有することは最近の Fay⁸⁾ の実験によって実証されている。Fay⁸⁾ の実験では, 呼吸活動の抑制という無条件反応の強化を指標として条件付けの手法を用い, 各測定周波数の放声音圧を常に聴覚閾値より 30 dB 大きくして, キンギョについて周波数弁別能力を調べた。その結果, キンギョは周波数弁別能力があることが明らかにされている。

本実験では音と電気刺激を組み合わせた条件付けの手法を用い, 両純音の周波数差による心拍抑制反応の変化によりマコガレイの周波数弁別能力について調べた。各

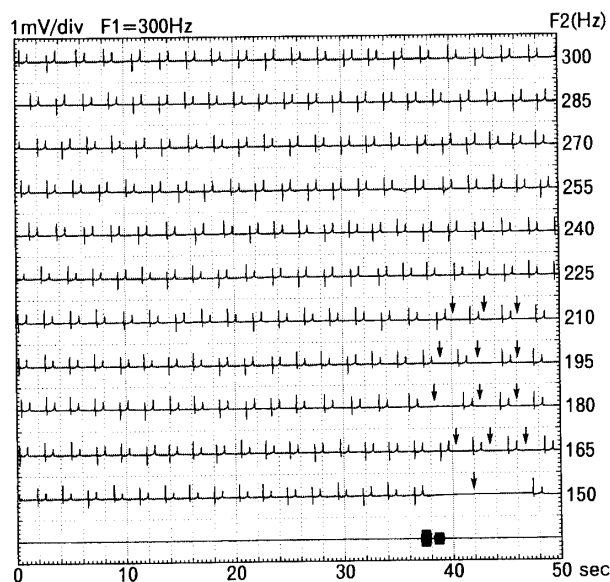


Fig. 5. Cardiac responses of fish B6 to pure tones of a standard frequency of 300 Hz (F_1) and alternating-tone frequencies decreasing from 300 Hz to 150 Hz (F_2).

Bottom trace shows the pure-tone stimuli. Arrows show positive response.

Table 1. Suppression responses for different F_2 frequencies in marbled sole at $F_2 \geq F_1$

$(F_2 - F_1)/F_1$	$F_1 = 100$ Hz							$F_1 = 200$ Hz					$F_1 = 400$ Hz				
	Fish							Fish					Fish				
	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12	A13	A14	A15	A16	A17
	↓ ↑	↓ ↑	↓ ↑	↑ ↓	↓ ↑	↑ ↓	↓ ↑	↓ ↑	↑ ↓	↑ ↓	↓ ↑	↑ ↓	↓ ↑	↑ ↓	↓ ↑	↓ ↑	↓ ↑
0.00	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
0.05	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
0.10	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
0.15	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
0.20	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
0.25	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
0.30	○	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
0.35	○	×	○	○	○	○	○	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×
0.40	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	×	×	×	×
0.45	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	×	×	×
0.50	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	×	×	×
1.00	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	×	×	×

F_1 , standard frequency; F_2 , alternating frequency.

Arrows shows sequence of determination. ↑, increasing; ↓, decreasing.

○, positive response; ×, negative response.

Table 2. Suppression responses for different F_2 frequencies in marbled sole at $F_2 \leq F_1$

$(F_2 - F_1)/F_1$	$F_1 = 200 \text{ Hz}$								$F_1 = 300 \text{ Hz}$							
	Fish				Fish				Fish				Fish			
	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8
	↑ ↓	↓ ↑	↑ ↓	↓ ↑	↑ ↓	↑ ↓	↓ ↑	↓ ↑	↑ ↓	↓ ↑	↓ ↑	↓ ↑	↑ ↓	↑ ↓	↓ ↑	↓ ↑
0.00	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
-0.05	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
-0.10	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
-0.15	○	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
-0.20	○	×	×	×	○	×	○	○	×	×	○	×	×	○	×	×
-0.25	○	○	○	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
-0.30	○	○	○	○	×	×	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○
-0.35	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○
-0.40	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
-0.45	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
-0.50	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

F_1 , standard frequency; F_2 , alternating frequency.

Arrows shows sequence of determination. ↑, increasing; ↓, decreasing.

○, positive response; ×, negative response.

Table 3. Frequency discrimination limens (FDL) of marbled sole

	Standard frequency (F_1)				
	100 Hz $F_2 \geq F_1$	200 Hz $F_2 \leq F_1$	200 Hz $F_2 \geq F_1$	300 Hz $F_2 \leq F_1$	400 Hz $F_2 \geq F_1$
Mean difference (ΔF)	31 Hz	54 Hz	68 Hz	105 Hz	—
Standard deviation	±5.8	±15.2	±11.7	±15.0	—
Range	20~35 Hz	30~70 Hz	50~80 Hz	90~120 Hz	—
Number of determinations	6	5	6	3	5
Mean FDL ($(\Delta F/F_1) \times 100$)	31	27	34	35	—

F_2 , alternating frequency.

測定周波数の放声音圧は聴覚閾値より 20 dB 大きくしており、二つの音の強さによる弁別の可能性を排除したものと考えられる。Fig. 4 に示すように、条件刺激音およびその近くの刺激音に顕著な心拍抑制がみられ、刺激音の周波数差の減少に伴って心拍抑制が小さくなっていき次第に消失した。これは供試魚が二つの純音の周波数差を識別していることを意味する。すなわち、マコガレイも周波数弁別能力をもつと考えられる。

以上から、有鰾魚だけでなく、無鰾魚も音の周波数を弁別できることが示唆された。しかしながら、魚は可聴域にある周波数をすべて弁別できるのではない。安樂⁹⁾は中脳に位置する半円堤から誘導した脳波の変化によりコイの周波数弁別特性を調べ、刺激音周波数に対する半円堤の周期性がみられるのは 700 Hz までで、それ以上の周波数では応答の脱落が生じることを見つけている。

このことから、コイの周波数弁別は 700 Hz までであろうと指摘している。本実験では Table 1 と Table 2 に示すように、100~300 Hz においてはマコガレイの周波数弁別閾は認められるが、400 Hz 以上においては明らかな周波数弁別閾は認められなかった。また、前報^{1,2)}ではマコガレイの聴覚感度は周波数 100 Hz で最も良く、300 Hz より高くなるに伴って急激に悪くなり、聴覚能力は有鰾魚に比べ劣るという結果が得られている。以上のことから、マコガレイが弁別できる周波数の上限は 400 Hz までで、それ以上の周波数では弁別不能であることが示唆された。

骨鰾類のキンギョ^{10,11)}は 50~1000 Hz の広範囲の音に対して周波数弁別能力をもっており、平均周波数弁別閾は 100 Hz で 5.3%, 200 Hz で 4.7%, 500 Hz で 3.5%, 1000 Hz で 5.0% となっている。本実験で得られたマコ

ガレイの平均周波数弁別閾は100~200 Hzで約30%, 300 Hzで約35%であり, キンギョの5~6倍の値となっている。無鰾魚のマコガレイは聴覚感度の良い低周波数帯において周波数の弁別が可能であるが, 聴覚の優れている骨鰾魚に比べ劣るものと考えられる。

本実験では魚を狭い水槽の中に固定し, 二つの音の周波数差を条件刺激として与えて測定を行っている。音響馴致システムなどに応用するためには, 大型水槽や実海域で餌と単純音を組み合わせる学習付けによる手法を利用して, さらにマコガレイの周波数弁別閾を測定し, その周波数弁別特性を検討する必要がある。

文 献

- 1) 張 国勝, 平石智徳, 本松敬一郎, 山本勝太郎, 梨本勝昭: マコガレイの聴覚閾値について. 日水誌, **64**, 211-215 (1998).
- 2) 張 国勝, 平石智徳, 山本勝太郎, 梨本勝昭: マコガレイの背景雑音によるマスキング. 日水誌, **64**, 987-992 (1998).
- 3) 畠山良己: 魚類の聴覚能力 (周波数分析能力), 「魚類の聴覚生理」(添田秀男, 畠山良己, 川村軍蔵編), 恒星社厚生閣, 東京, 1998, pp. 302-304.
- 4) R. R. Fay: Auditory frequency discrimination in vertebrates. *J. Acoust. Soc. Am.*, **56**, 206-209 (1974).
- 5) J. D. Harris: Pitch discrimination. *J. Acoust. Soc. Am.*, **24**, 750 (1952).
- 6) 境 久雄, 中山 剛: 聴覚の弁別能, 「聴覚と音響心理」(日本音響学会編), コロナ社, 東京, 1995, pp. 79-96.
- 7) 安楽和彦, 松田宗之, 中原真弥, 重里憲広, 川村軍蔵: 断続音によるマダイ音響馴致効果の検討. 日水誌, **63**, 934-938 (1997).
- 8) R. R. Fay: Analytical listening by the goldfish. *Hearing Res.*, **59**, 101-107 (1992).
- 9) 安楽和彦: 魚類の聴覚能力 (コイ), 「魚類の聴覚生理」(添田秀男, 畠山良己, 川村軍蔵編), 恒星社厚生閣, 東京, 1998, pp. 187-209.
- 10) D. W. Jacobs and W. N. Tavolga: Acoustic frequency discrimination in the goldfish. *Anim. Behav.*, **16**, 67-71 (1968).
- 11) R. R. Fay: Auditory frequency discrimination in the goldfish (*Carassius auratus*). *J. comp. Physiol.*, **73**, 175-180 (1970).