

微小重力および近赤外光照射下における ティラピアの姿勢保持

遠藤 雅人, 小林龍太郎, 有賀 恭子, 吉崎 悟朗, 竹内 俊郎*

2001年11月30日受付, 2002年6月24日受理

東京水産大学資源育成学科

Postural control in tilapia under microgravity and
the near infrared irradiated conditions

MASATO ENDO, RYUTARO KOBAYASHI, KYOKO ARIGA,
GORO YOSHIKAZAKI AND TOSHIO TAKEUCHI*

Department of Aquatic Biosciences, Tokyo University of Fisheries, Minato, Tokyo 108-8477, Japan

This study investigated the postural control in tilapia *Oreochromis niloticus* under near infrared light irradiated conditions at microgravity. Parabolic flight experiments using aircraft were conducted with juvenile tilapia (TL 3-4 cm) that were accommodated in airtight tanks irradiated near infrared light (wavelength 880 ± 40 nm) from bottom to top. The swimming behavior was visualized by infrared CCD video cameras and recorded in videotapes. Six fish among 55 (10.9%) showed normal swimming and they turned their dorsal side to the infrared light source (dorsal light response). Percentage of time the fish spends with dorsal side towards the light source to normal swimming time was $74.4 \pm 22.5\%$ ($n=6$). The result shows that the normal swimming individuals control their posture depending on infrared light. Thus, a population of tilapia can sense near infrared light similar to that under a visible light irradiated condition.

キーワード：背光反射, 微小重力, 近赤外光放射物線飛行, ティラピア

地上(1 G 条件下)における魚類の姿勢保持は主に重力を感知する耳石器官等前庭系の支配と, 光源に対して背を向ける背光反射との双方の感覚の上に成り立っている。しかし, 微小重力下における航空機やスペースシャトルを用いた魚類実験では微小重力の影響により前庭系への情報入力が行われないため, 体軸を中心とした左右への回転(ローリング)行動および腹部を中心とした頭部方向への回転(ルーピング)行動等の異常遊泳行動が多く観察されている。¹⁻¹⁰⁾ 一方, 同条件下においても背光反射により姿勢を保持し, 正常遊泳および定位する個体も観察されており, これらの個体は平衡感覚に依存するのではなく, 視覚に依存して姿勢保持が可能な個体である。⁹⁾ メダカ *Oryzias latipes* においてはこのような正常遊泳個体を選抜し, 微小重力下での飼育実験で交尾, 産卵および受精卵の発生が実現されている。^{11,12)} この研究から, 微小重力下における魚類の再生産が可能であることが明らかとなった。

我々はこれらの知見をもとに, 微小重力閉鎖環境下の食料生産における食用魚養殖の可能性を検討するため, 航空機を用いた放射物線飛行(Fig. 1a)によるティラピア *Oreochromis niloticus* 稚魚の行動観察を行った。ティラピアの可視光(発光波長 585 ± 30 nm)照射時における正常遊泳個体の割合は95%(19/20)であり, ティラピアは微小重力耐性の高いことが明らかとなった。また, 暗条件の実験設定として近赤外光(発光波長 880 ± 40 nm)を照射し, 近赤外線対応 CCD カメラによる遊泳行動の撮影を試みた結果, 常に正常遊泳を行う個体が10%(2/20)確認された。¹³⁾

本研究では微小重力下, 近赤外光照射時の正常遊泳個体における近赤外光感知および背光反射による姿勢保持の有無を調査するため, 再度, 実験条件を変えてティラピア稚魚の行動観察を試みた。

* Tel : 81-3-5463-0545. Fax : 81-3-5463-0545. Email : take@tokyo-u-fish.ac.jp

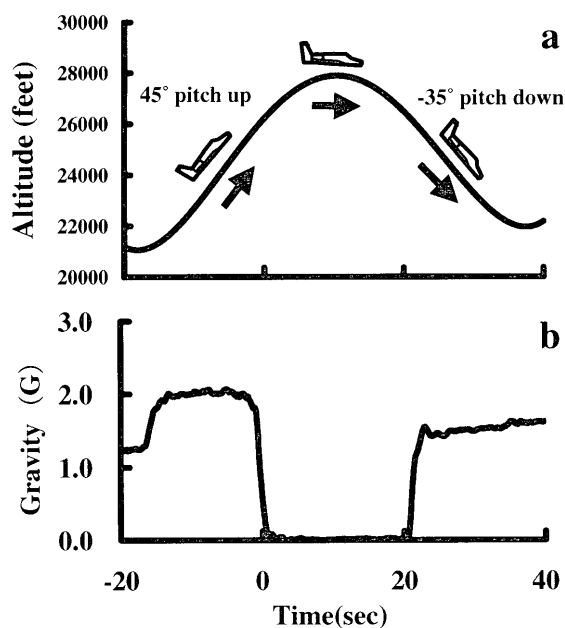


Fig. 1. The parabolic flight pattern of the aircraft (a) and change of gravity condition (b) during the experiment. This figure shows one parabola.

試料および方法

実験装置 実験には行動観察用の1 L 密閉式アクリル水槽 (10×10×10 cm) を各2個装備した密閉式魚類飼育装置 (川崎重工㈱および東洋エンジニアリング㈱) を2台使用した。装置は完全密閉とし、飼育水は水槽—中空糸膜 (MHF0504MBF, 三菱レイヨン㈱) 間で循環させ、溶存酸素を維持した (循環水流量 200~250 mL/min) (Fig. 2b)。これらの装置を航空機 (MU-300 三菱重工業㈱, ダイヤモンドエアサービス㈱運行) の実験用ラックに固定した。微小重力環境は航空機を放物線飛行させることにより発生させた。1回の放物線飛行により約20秒間の微小重力環境が得られ、1フライトあたり約10回の放物線飛行を繰り返した (Fig. 1a)。実験は計4フライト実施した。また、放物線飛行の微小重力前後にはそれぞれ2.0および1.5 Gの過重力が負荷される (Fig. 1b)。実験には照明として発光ダイオード (LED) を使用した。可視光照明には発光波長 585 ± 30 nm の LED (GL3HY44, シャープ㈱) を、近赤外光照明には 880 ± 40 nm の LED (GL383, シャープ㈱) を、それぞれ64個配置した基盤を作成し、水槽上部および下部に設置し、実験条件に応じて点灯、消灯を行った (Fig. 2a)。使用した LED の発光波長域および総放射熱量はそれぞれ可視光 LED で 550~700 nm および 0.0733 W/m^2 、近赤外光 LED で 750~1000 nm および 1.51 W/m^2 であった (Fig. 3)。LED の分光特性および総放射熱量の測定には波長別光エネルギー分析装置 (LI-1800;

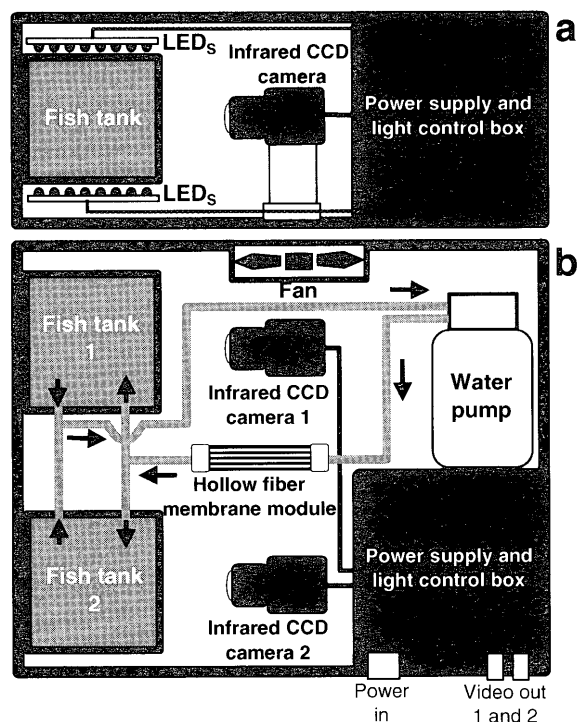


Fig. 2. The construction scheme of the experimental apparatus to observe fish behavior under microgravity. Upper side figure shows side view (a) and lower side figure shows ventral view (b).

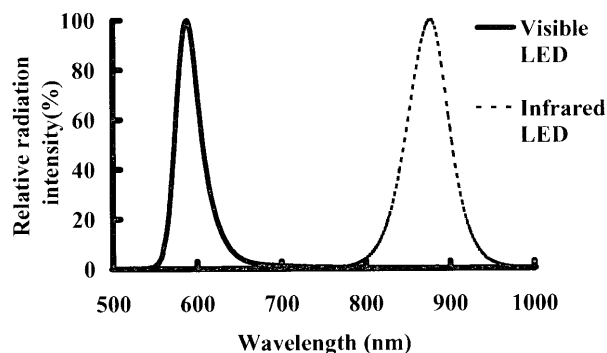


Fig. 3. Relative radiation intensity based on wavelength of the two types of LEDs. The LEDs radiate light with different emission spectral range of 550~700 nm (visible light) and 750~1000 nm (near-infrared light), respectively.

LI-COR, inc.) を用いた。実験中の水温は航空機の機内温度 ($20.0 \sim 23.8^\circ\text{C}$) とした。

供試魚 東京水産大学水族養殖学研究室において人工受精により得られた稚魚 (TL: 3~4 cm) を各水槽に5~10個体収容した。実験に用いた供試魚は計58個体であった。同一水槽内における個体識別のため、白色プラスチックビーズ (直径2 mm) にステンレス製の虫ピン

を接着した微小タグを供試魚の異なる部位（躯間背部および尾柄部）に最高で2個標識した。なお、この微小タグはティラピア稚魚の遊泳行動に支障の無いこと、近赤外線対応 CCD カメラで容易に確認できることを事前に確認した。また、水槽へ供試魚を収容してから実験開始までの約2時間は LED を消灯し、全暗条件とした。

実験条件 背光反射による近赤外光感知の有無を把握するため、実験開始から5回の放物線飛行（約100秒間）について水槽下部の近赤外光 LED を点灯し、供試魚の腹部側から近赤外光を照射する実験を行った。その後、背光反射を示した個体について背光反射の速度を把握するため、微小重力開始から10秒後に水槽下部から上部へ照明の切り替えを行い、背光反射による反転行動を観察した。反転行動の観察は各個体3回ずつ行った。実験中のティラピアの行動は各水槽側面より近赤外線対応 CCD カメラ（VM-80S, ㈱テクノポート）を用いて撮影し（Fig. 2）、ビデオレコーダ（DSR-20, ソニー㈱）により重力値および時刻を同映像内に記録した。なお、全ての実験は対照区として可視光 LED を用いて同様の条件で行った。

ティラピアの遊泳行動解析 行動解析はビデオ画像から目視で行った。微小重力における供試魚のローリングおよびルーピング行動を異常遊泳行動として分類し、それ以外を正常遊泳行動とした。また、正常遊泳行動のうち、光源に対して背を向ける反転行動および背を向けて定位する行動を背光反射行動として別に分類した。これらの行動の出現時間を各個体別に計測し、微小重力暴露時間に占める割合を算出し、正常遊泳時間の割合が60%以上を占める個体を正常遊泳魚と定義した。さらに、背光反射行動を示した個体については光照射方向切り替え時の反転時間を記録した。なお、反転時間は光照射方向の切り替えから魚が反転して光源に背を向けて定位した状態に達するまでとした。

結 果

微小重力下、可視光および近赤外光照射時の正常遊泳を行った個体の割合を Fig. 4 に示す。可視光照射下における正常遊泳個体は91.9% (34/37) であるのに対し、近赤外光照射下における正常遊泳個体は10.9% (6/55) であり、有意に低かった (χ^2 検定, $p < 0.01$) が、これら全ての正常遊泳個体は近赤外光に対して背光反射行動を示した。Fig. 5 に可視光および近赤外光に反応した個体について正常遊泳時間に対する背光反射時間の割合を示す。可視光照射下における背光反射の割合は100% ($n=34$) であり、正常遊泳行動の全てが背光反射に依存したものであったが、近赤外光照射下では $74.4 \pm 22.5\%$ (平均 $\pm$ 標準偏差, $n=6$) であり、この値は有意に低く (Mann-Whitney の U -検定, $p < 0.01$)、背光

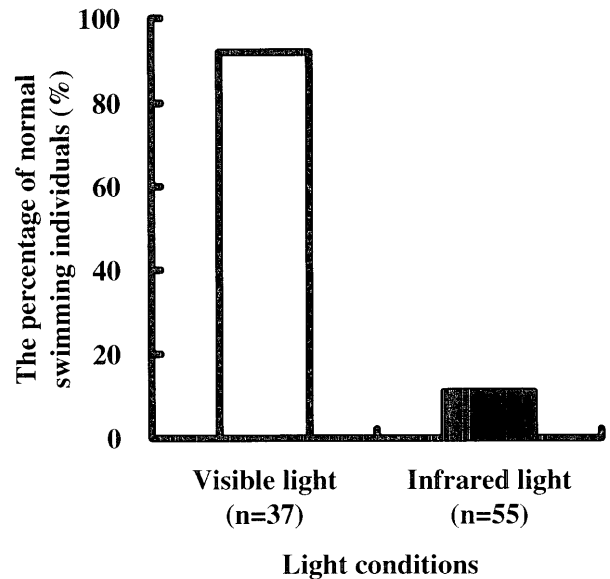


Fig. 4. The percentage of individuals showing normal swimming behavior under visible or infrared light irradiated conditions. There is significant difference between the two values (χ^2 -test, $p < 0.01$).

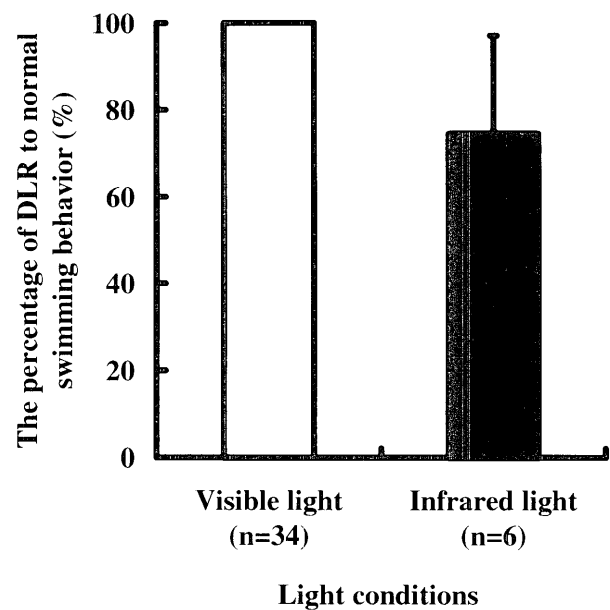


Fig. 5. Comparison of the swimming behavior of fish, expressed as percentage of time the fish spends with dorsal side towards the light source (DLR) to normal swimming time under visible or infrared light irradiated conditions. Mean $\pm$ SD. There is significant difference between the two values (Mann-Whitney U -test, $p < 0.01$).

反射による定位には個体間のばらつきが見られた。また、近赤外光下における背光反射以外の正常遊泳は光源に背を向けず、腹部を水槽表面に向けて定位する行動で

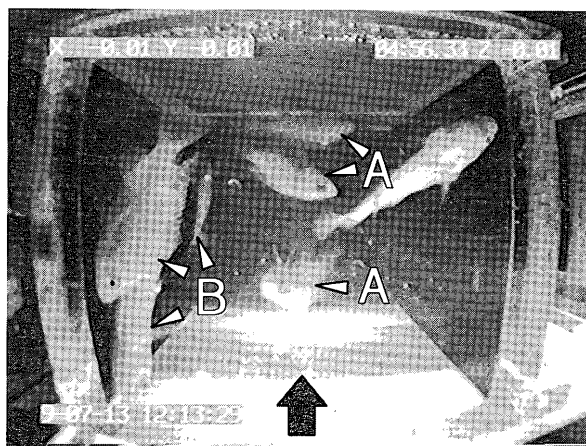


Fig. 6. The postural control of the fish under microgravity. The infrared LEDs are irradiated from the bottom to the top of the tank. The arrow indicates a direction of the light. A, Dorsal light response (the fish oriented and turned their dorsal side to the infrared light source). B, Ventral substrate response (the fish oriented and touched the wall of the tank with the abdominal side).

あった (Fig. 6)。微小重力中に光照射方向の切り替えを行い、その切り替えの際に生じる背光反射による反転時間を測定した結果について Fig. 7 に示す。値は各個体における 3 回の測定平均値について照射光別にまとめたものである。可視光の試験では反転に 2.63 ± 1.22 秒 (平均 $\pm$ 標準偏差, $n=31$) を要したのに対して近赤外光では 1.46 ± 0.523 秒 (平均 $\pm$ 標準偏差, $n=3$) であり、可視光と比較し、近赤外光照射時の反応が有意に速かった (t -検定, $p < 0.05$)。

考 察

今回の航空機を用いた微小重力暴露実験から微小重力下、近赤外光照射時のティラピア姿勢保持は近赤外光を感知し、背光反射によって制御されたことが明らかとなった。また、近赤外光照射時の正常遊泳個体率は 10.9 % であり、前回の航空機実験における 10.0%¹³⁾ と比較し、有意差は認められず (χ^2 検定, $P > 0.05$)、同等の割合であった。この値は可視光照射時の正常遊泳個体率と比較すると有意に低く (Fig. 4)、近赤外光感知能力は可視光のそれと比較して低いことがわかった。また、純系メダカを用いた実験から微小重力下の行動に系統差があり、その系統差は視感度の違いによるものと報告されている⁹⁾が、今回の近赤外光下の正常遊泳個体と異常遊泳個体との差も同様に近赤外光感知能力の個体差によるものであると推察される。

さらに本実験に用いた近赤外光 LED は発光波長域が 750–1000 nm であることから (Fig. 3)、一部のティラピアは少なくとも波長 750 nm 以上の光を感知し、受容

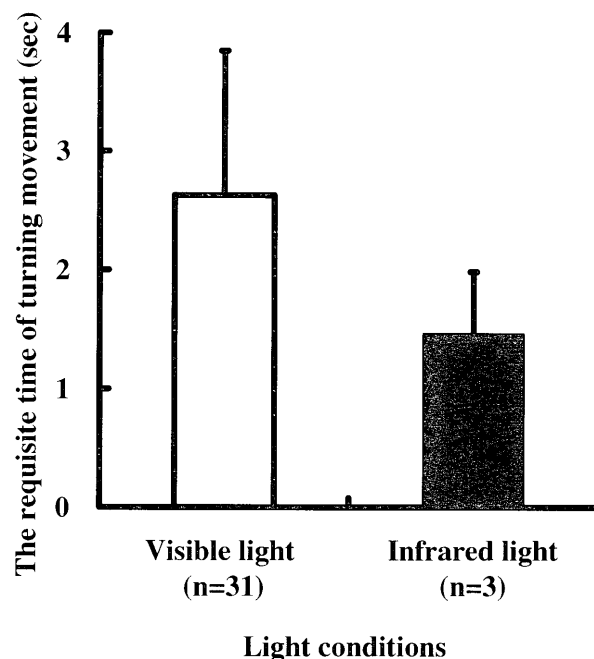


Fig. 7. The requisite time of turning movement regulated by dorsal light response under each light condition. Mean $\pm$ SD. There is significant difference between the two values (t -test, $p < 0.05$).

可能であることが明らかとなった。可視光への背光反射は光源から発せられる光によって生じる左右両眼の視覚入力の不均衡を緩和するための姿勢制御として働くと考えられており、^{14,15)} 可視光照射下におけるキンギョ *Carassius auratus* を用いた微小重力下の行動観察では片眼および両眼を切除した個体で異常遊泳行動が観察されたが、正常個体ではほぼ通常の遊泳行動を示したと報告されている。⁵⁾ このように可視光下における背光反射および微小重力環境暴露時の姿勢保持は視覚に依存したものである。一方、コイ *Cyprinus carpio* においては網膜の電気生理学的研究により発光波長 750 nm の光受容が可能であることが示唆されている。^{16,17)} これらの知見を今回の結果と照らし合わせると、ティラピアも個体差はあるが可視光照射下と同様に背光反射により姿勢保持を行うことから、視覚情報として近赤外光を受容できる可能性が高い。今後、ティラピアにおける近赤外光感知が視覚によるものであることを明確にするため、近赤外光照射下における視運動反応等を調査する必要がある。視運動反応を調査する方法として回転ドラムを追従するか否かを調査する保留走性を用いる方法^{9,18-21)} が有効である。

今回の実験では暗条件下の行動観察で用いられる近赤外 LED および近赤外線対応 CCD カメラを使用した。CCD カメラの分光感度特性は約 500 nm で最大となり、長波長になるに伴い、感度は低下し、1100 nm で

感度を失う。²²⁾ このことから、暗条件下の行動観察で CCD カメラを用いる場合には発光波長 1100 nm 以下の近赤外光光源が必要不可欠である。今回の実験でティラピアは 750 nm 以上の光を感知していることが明らかとなったが、赤外線カメラによる魚類行動観察を行う際には、用いる光源の発光波長および供試魚の近赤外光感知能力に十分な配慮が必要となる。視覚における波長別感度と行動との相関性については魚の体側に一定波長の光を照射し、魚の傾斜角度を測定する背光反射を用いる方法^{15,23)}や上記の視運動反応を利用する方法により調査できる。今後、完全な暗視野で実験を行う際にはこれらの方法を用い、長波長域の光受容能力について調査が必要である。

光源の照射方向切り替えによる反転時間については可視光と比較して近赤外光では平均 1.17 秒短く、近赤外光照射下の背光反射行動が可視光のそれと比較し、速いことが明らかとなった (Fig. 7)。これはティラピアの近赤外光感知能力が可視光のそれと比較して劣るため、背光反射による反転を迅速に行うことで姿勢が保持された結果であると推察される。また、可視光の反転行動が迅速でない場合は姿勢保持ができず、異常遊泳を引き起こすとも考えられる。

近赤外光照射実験で観察された背光反射以外の定位行動は水槽側面に腹部を向けた定位であったことから、これらの行動は向壁反射¹⁴⁾であると推察される (Fig. 6)。この行動は可視光下では観察されない定位行動であったため、近赤外光下の姿勢保持は主に背光反射に依存し、向壁反射行動は補完的なものであると考えられる。Black croaker *Cheilotrema saturnum* および弱電魚 *Eigenmannia* sp. における行動実験では、視覚や電気受容器官の向壁反射への関与が示されている¹⁴⁾が、今回の結果からはティラピアが近赤外光を視覚情報として感知し、向壁反射を示したとは明言できない。今後は完全な暗視野のもとでティラピアにおける視覚入力を阻害し、視覚以外の向壁反射についても再検討する必要がある。

謝 辞

本研究は宇宙開発事業団、財団法人宇宙フォーラムが推進している平成 10 年度選定「宇宙利用に関する公募研究フェーズ I 研究(A)」により行ったものである。また、航空機実験を行うにあたり、実施面で多大なご協力を賜ったダイヤモンドエアサービス株式会社の皆様に心より御礼申し上げる。

文 献

- 1) von Baumgarten RJ, Baldrighi G, Shillinger GL Jr. Vestibular behavior of fish during diminished G-force and

- weightlessness. *Aerospace Med.* 1972; **43**: 626-632.
- 2) von Baumgarten RJ, Simmonds RC, Boyd JF, Garriott OK. Effects of prolonged weightlessness on the swimming pattern of fish aboard Skylab 3. *Aviat. Space Environ. Med.* 1975; **46**: 902-906.
- 3) Hoffman RB, Salinas GA, Baky AA. Behavioral analyses of killifish exposed to weightlessness in the Apollo-Soyuz test project. *Aviat. Space Environ. Med.* 1977; **48**: 712-717.
- 4) Hoffman RB, Salinas GA, Homick JL. Piracetam and fish orientation during parabolic aircraft flight. *Aviat. Space Environ. Med.* 1980; **51**: 568-576.
- 5) De Jong HAA, Sondag ENPM, Kuipers A, Oosterveld WJ. Swimming behavior of fish during short period of weightlessness. *Aviat. Space Environ. Med.* 1996; **67**: 463-466.
- 6) Mori S, Mitarai G, Takabayashi A, Usui S, Sakakibara M, Nagatomo M, von Baumgarten RJ. Evidence of sensory conflict and recovery in carp exposed to prolonged weightlessness. *Aviat. Space Environ. Med.* 1996; **67**: 256-261.
- 7) Rahmann H, Hilbig R, Flemming J, Slenzka K. Influence of long-term altered gravity on the swimming performance of developing chichlid fish: including results from the 2nd German space mission D-2. *Adv. Space Res.* 1996; **17**: 121-124.
- 8) Takabayashi A, Ohara K, Ohmura T, Watanabe S, Mori S, Tanaka M, Sakurai S. Mechanism of vestibular adaptation of fish under microgravity. *Biol. Sci. Space* 1997; **11**: 351-354.
- 9) Ijiri K. Vestibular and visual contribution to fish behavior under microgravity. *Adv. Space Res.* 2000; **25**: 1997-2006.
- 10) Anken RH, Hilbig R, Ibsch M, Rahmamm H. Readaptation of fish to 1G after long-term microgravity: behavioral results from the STS 89 mission. *Adv. Space Res.* 2000; **25**: 2019-2023.
- 11) Ijiri K. A preliminary report on IML-2 medaka experiment: meting behavior of the fish medaka and development of their eggs in space. *Biol. Sci. Space* 1994; **8**: 231-233.
- 12) Ijiri K. Medaka fish had the honor to perform the first successful vertebrate mating in space. *Fish Biol. J. MEDA-KA* 1995; **7**: 1-10.
- 13) 竹内俊郎, 吉崎悟朗, 倉沢 聡, 遠藤雅人, 廣田哲也, 鈴木克徳, 木部勢至朗, 上田 匡, 田仲広明. 航空機を用いた微小重力環境下における水棲生物の重力感知, 応答実験. パラボリックフライトー航空機微小重力実験結果報告— 宇宙開発事業団, 東京. 1998; **8**(3): 21-28.
- 14) Meyer DL, Heiligenberg W, Bullock TH. The ventral substrate response. A new postural control mechanism in Fishes. *J. Comp. Physiol.* 1976; **109**: 59-68.
- 15) Silver PH. Photopic spectral sensitivity of the neon tetra (*Paracheirodon innesi* (Myers)) found by the use of a dorsal light reaction. *Vision Res.* 1974; **14**: 329-334.
- 16) Tomita T, Kaneko A, Murakami M, Pautler EL. Spectral response curves of single cones in the carp. *Vision Res.* 1967; **7**: 519-531.
- 17) Tomita T. Electrophysiological study of the mechanisms subserving color coding in the fish retina. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 1965; **30**: 559-566.
- 18) Ohki H, Aoki K. Development of visual acuity in the larval medaka, *Oryzias latipes*. *Zool. Sci.* 1985; **2**: 123-126.
- 19) 長谷川英一. 薄明視の魚類に対する光の影響. 日水誌

- 1993; **59**: 1509–1514.
- 20) Schaerer S, Neumeyer C. Motion detection in goldfish investigated with the optomotor response is “color blind”. *Vision Res.* 1996; **36**: 4025–4034.
- 21) Anstis S, Hutahajan P, Cavanagh P. Optomotor test for wavelength sensitivity in guppyfish (*Poecilia reticulata*). *Vision Res.* 1996; **38**: 45–53.
- 22) 吉田正太郎. 「光学機器大全」誠文堂新光社, 東京. 2000; 69.
- 23) Muntz WRA, Partridge JC, Williams S, Jackson C. Spectral sensitivity in the guppy (*Poecilia reticulata*) measured using the dorsal light response. *Marine Freshwater Behav. Physiol.* 1996; **28**: 168–173.