

電気刺激を用いたハダカイワシ科魚類の発光実験

中村 翔^{*1}・澤田浩一^{*2}・内川和久^{*3}・安樂和彦^{*1}
岡崎雄二^{*3}・高橋秀行^{*4}・安部幸樹^{*1}

Bioluminescence of myctophid fishes induced by electrical stimulation

Sho NAKAMURA^{*1}, Kouichi SAWADA^{*2}, Kazuhisa UCHIKAWA^{*3}, Kazuhiko ANRAKU^{*1},
Yuji OKAZAKI^{*3}, Hideyuki TAKAHASHI^{*4}, and Koki ABE^{*1}

Abstract: Precise biomass estimation is necessary to understand an ecosystem of micronekton which are myctophids, small squids and decapods. Acoustic method is one of the alternatives instead of direct sampling method using net gears which have inevitable problem of selectivity. Species identification and representative target strength of the targeted species are required to convert acoustic estimates to abundance in acoustic methods. We developed an acoustic-optical composite observation system for species identification and target strength measurement of myctophid fishes. In this study, we attempted to obtain clear pictures of myctophid fishes while emitting light from their luminous organs by electrical stimulation. They are basic information to identify the species from the pictures taken by the TV camera system.

Key words: bioluminescence, myctophid, electrical stimulation

1 はじめに

マイクロネクトンは2 cmから10cm程度のサイズの、比較的小型で、活発な遊泳力を持つ生物の総称であり、主に小型魚類、頭足類およびエビ類で構成される生物群が含まれる。ハダカイワシ科魚類は外洋のマイクロネクトンにおける主要構成生物であり、様々な高次捕食者の餌生物であることが知られている (Gjosater and Kawaguchi, 1980; Beamish et al., 1999)。ハダカイワシ科魚類の現存量推定は主に、中層トロールやフレームトロールなどの漁具を用いた採集による手法が主体であるが、漁具の選択性といった問題は避けられず、その定量性には問題がある。一方、主に単一種で中層にいる魚群についての音響調査による資源量推定値はかなり正確であり (Simmonds et al., 1992)、音響手法による現存量推定が望まれている。

音響調査では、魚群のエコーを積分し、面積あたりのエコー積分値である面積散乱強度を求める。この値を一尾当たりの平均的な反射の強さ (ターゲットストレングス, 以下TS) で除し、面積あたりの分布密度を求める。調査海域の面積にこの分布密度をかけあわせ、調査海域内の尾数の推定を行う。魚種別に分布密度を求めるためには、エコー積分結果を魚種の組成と魚種別のTSに応じて分ける必要があるが、採集手法とは独立した魚種推定手法による検証が必要である。このため、魚群近くまで垂下して使用する音響光学複合生物観測システムの開発を行っている (澤田他, 2004; 高橋他, 2004)。このシステムは、ステレオTVカメラと計量魚群探知機からなり、魚群をTVカメラで観察でき、TSの測定が可能である (Sawada et al., 2004; Takahashi et al., 2004; Sawada et al., 2006)。

ハダカイワシ科魚類では、発光器配列が種識別のための形質として重要である。TVカメラなどを用いて

暗環境下での生物発光を識別するためには、生物発光の強度や種別の違いについて知る必要がある。本研究は、発光強度や種別の違いを知ることが目標とし、その前段階として、ハダカイワシ科魚類を人為的に発光させる手法の開発を目的とした。

2 方 法

ハダカイワシ科魚類の採集

実験は、北海道区水産研究所調査船北光丸（902 t）で実施された親潮域Aライン調査航海中に行った。調査期間は平成18年7月15日～25日であった。Fig. 1にハダカイワシ科魚類を採集した調査点を示した。

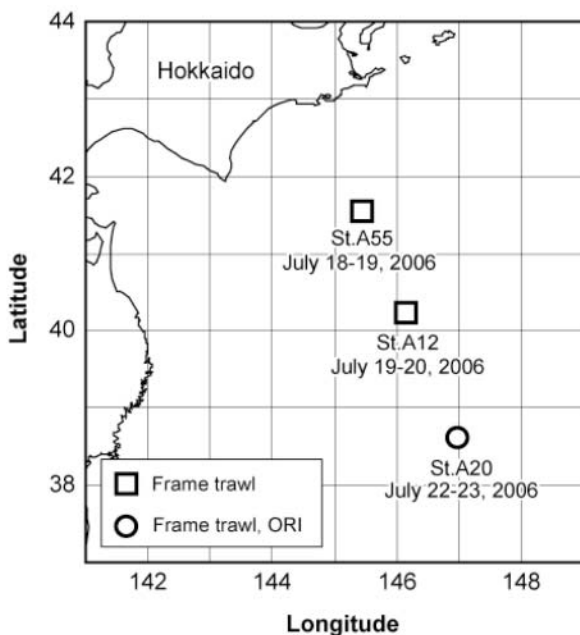


Fig. 1 Sampling stations of lantern fish. Each number shown in figure indicates the station and the date of sampling and experiment.

夜間表層に浮上してきたハダカイワシ科魚類を、フレームトロール（網口面積 5 m²、目合い 2 mm, Oozeki *et al.*, 2004）、またはORIネット（網口面積 2 m²、目合い 2 mm）を用いて採集した。フレームトロールは、対水速度 3 kt、曳網時間 5 分間で水平曳き（ネット深度 9 ~ 77 m）と斜め曳き（最大ネット水深 261 m）を行った。

フレームトロールについては、ワイヤの繰り出し長を指定し、ネットのヘッド部の深度を漁網監視装置により確認し記録した。ワイヤの繰り出し長は、魚群探知機の魚群反応と漁獲結果に応じて変更した。

ORIネットは、フレームトロールより表層を曳くために用い、対水速度 2 kt で表層曳き（ネット深度：表

層～約 3 m）を行った。また、ORIネットは重量 20 kg または 40 kg のウエイトを装着して使用した。リングの中間に取り付けたメモリ式TDセンサ（アレック電子、ATD-HR）によりネット深度を計測した。

調査点A55、A12では、フレームトロールによる水平曳きを各 5 回（ネット深度はA55が 9 ~ 33 m、A12が 11 ~ 77 m）、斜め曳きを各 1 回（最大ネット深度はA55が 200 m、A12が 261 m）行った。A55、A12では、ORIネットは使用しなかった。A20では、フレームトロールによる水平曳きを 1 回（ネット深度 12 m）、ORIネットによる表層曳きを 17 回行った。

揚網後、円筒型のコッドエンドに入網した個体は、迅速にクーラーボックスへ移し、船内の研究室へ運搬した。ハダカイワシ科魚類の発光器は死後には消光し、現在までにこれを再発光させる手法は見出されていない（羽根田、1970）。したがって、実験には生きた個体を使う必要があり、クーラーボックス内で自発的に遊泳し、状態が良いと思われる個体を供した。

供試個体の固定

ハダカイワシ科魚類の発光の撮影は、暗室として使用できるように改造した船内の研究室で行った。実験装置の設定をFig. 2に示した。供試個体はデジタルカメラ下に設置したトレイ内のプラスチック段ボール板上に固定した。プラスチック段ボール板の下には保冷剤を設置し、灌流水の水温がトレイ上で上がらないようにした。魚体を傷つけないように注意し、鰭を縫針で固定した。個体の呼吸を確保するために、チューブを口に挿入し、エアレーションした海水を鰓に灌流した。保冷剤を使用し、灌流水の水温は表層海水温とほぼ同じ 17 °C に調整した。実験台へ固定した後の供試個体の生存時間は概ね 20 分程度であった。

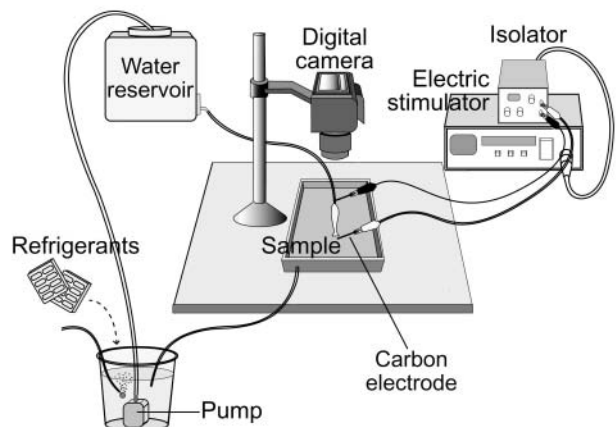


Fig. 2 Experimental set up for inducing bioluminescence of electrical stimulation.

電気刺激方法

ハダカイワシ科魚類の発光を促すために電気刺激を与えた。電気刺激は、電気刺激装置（日本光電、SEN-3301）で生成した矩形パルスをアイソレーター（日本光電、SS-202J）を介して電極に印加した。矩形パルスのパルス幅は0.5秒とし、繰り返し周期1秒で任意の時間電気刺激を行えるように装置を設定した。電極には炭素棒電極を使用し、電極が直接魚体に接触しないよう、個体の頭部前方と尾鰭後方にそれぞれ設置した。個体周辺部は灌流水により常時海水が広がった状態にあり、前述の電極設置により海水を媒質とした電気刺激が可能であった。印加電圧は1Vから開始し、個体の発光が確認されるまで1Vずつ上昇させた。

撮影方法

1眼レフデジタルカメラ（Canon, EOS Kiss Digital N）を用い撮影を行った。Table 1に使用機材の詳細と設定値を示した。ハダカイワシ科魚類の発光は、肉眼では暗い環境でのみ観察できる程度と微弱であるため、レンズ（Canon, EF-S）の絞りは全開（ $F = 4.0$ ）、ISO値は使用機材の最大感度であるISO1600に固定した。また、撮影時は室内の照度を落とし、全ての照明を落とした暗状態（ $< 0.05 \text{ lx}$ ）、電気刺激装置に取り付けた緑色LEDの照明を有効にした状態（ 0.05 lx ）、ヘッドランプに白色の紙を取り付けた照明を有効にした

Table 1 Setting of camera for the photography of light emitting lanternfish

Camera	Canon EOS Kiss DigitalN
Lens	Canon EF-S (f = 18-55mm, F3.5-5.6)
ISO	ISO1600
Diaphragm (F)	full
Shutter speed	10s (0.12lx), 30s (0.05lx)

状態（ 0.12 lx ）の3段階の照度条件下で撮影を行った。照度は供試個体の無い状態で、個体の固定位置において照度計（コニカミノルタ、T-10M）により計測した。シャッタースピードは照度により変化させ、実際に撮影を行いながら照度別の最適なシャッタースピードを求めた。発光の撮影は供試個体の側面と腹側面から行った。

3 結 果

供試個体別発光状況

Table 2に、採集調査点別に、実験に供したハダカイワシ科魚類の種名、体長および発光を誘発するのに要した電気刺激の印加電圧を示した。採集を行った3調査点でナガハダカ（*Symbolophorus californiensis*）、トドハダカ（*Diaphus theta*）、ゴコウハダカ（*Ceratoscopelus warmingii*）、アラハダカ（*Myctophum asperum*）、ススキハダカ（*Myctophum nitidulum*）の計5種を得、計18個体を実験に使用した。電気刺激に

Table 2 Individual information of experimental fish and conditions in each sample station and stimulus voltage which induced a bioluminescence

Station	Date (2006-)	Species	SL (mm)	Stimulus voltage (V)	Luminescence*
A55	Jul. 18-19	<i>Symbolophorus californiensis</i>	94.0	7-10	
		<i>Symbolophorus californiensis</i>	104.6	7-10	
		<i>Symbolophorus californiensis</i>	112.3	7-10	
		<i>Symbolophorus californiensis</i>	106.4	7-10	
		<i>Symbolophorus californiensis</i>	100.4	7-10	
		<i>Diaphus theta</i>	57.8	3-10	
		<i>Diaphus theta</i>	56.2	3-10	
A12	Jul. 19-20	<i>Ceratoscopelus warmingii</i>	64.1	3-10	
		<i>Ceratoscopelus warmingii</i>	49.9	10	
		<i>Ceratoscopelus warmingii</i>	53.1	10	
		<i>Ceratoscopelus warmingii</i>	44.5	3-10	
		<i>Symbolophorus californiensis</i>	24.4	-	×
		<i>Mictophum asperum</i>	33.4	-	×
		<i>Mictophum nitidulum</i>	42.9	5-15	
		<i>Mictophum asperum</i>	36.1	-	×
		<i>Mictophum nitidulum</i>	45.1	10-15	
		<i>Mictophum nitidulum</i>	42.3	10-15	
		<i>Mictophum asperum</i>	53.1	10	

* , succeed luminescence photography; , only visually checked; ×, no luminescence induced.

よる強制発光は18個体中15個体で観察された。肉眼による観察では、発光色はすべて青色であった。発光が観察されなかった個体の内訳は、ナガハダカで6個体中の1個体、アラハダカで3個体中の2個体であった。これらの個体（標準体長24~36 mm）は、採集されてから実験トレイに固定した段階であまり動こうとせず、既に弱っているものと思われた。

刺激電圧と発光の関係

電気刺激の電圧の上昇にともない持続的な発光が認められた。発光は電気刺激の印加に同期して生じる場合が多かったが、個体によっては連続的な発光を行うものも見られた。発光を誘発する電圧は同種でも個体によって異なり、トドハダカ、ゴコウハダカ、ススキハダカでは3~5 Vの低い印加電圧にも反応した（Table 2）。しかし低電圧刺激の場合には刺激を繰り返すと次第に発光が誘発されなくなり、電圧を上昇させると再度発光が生じた。継続的な発光の観察には10~15Vの電圧が必要であった。

発光の撮影

本実験で撮影できたハダカイワシ科魚類5種の発光前および発光時の画像を、種ごとにFig. 3~Fig. 7に示した。電気刺激による発光が観察された5種15個体中の5種5個体で発光時の画像を得ることができた。残り10個体は生存時間が短いという制約から、発光時の画像を得ることができなかった。ナガハダカは0.05lx以下の照度条件でシャッタースピード30秒での発光時の撮影が可能であった（Fig. 3）。トドハダカは照度0.05lx以下で撮影し、いずれの条件下でもシャッタースピード30秒で撮影可能であった（Fig. 4）。ゴコウハダカでは照度0.05 lxと0.12lxで撮影できた。照度0.05lxではシャッタースピード30秒、照度0.12lxではシャッタースピード10秒で撮影可能であった（Fig. 5）。ゴコウハダカでは特に腹側中央部から尾柄部にかけて直線長にある発光器（尾柄下部発光腺）が大きい。肉眼での判断ではあるが、尾柄下部発光腺は他の発光部位と比較して強く発光した。したがって他魚種よりも短いシャッタースピードでの撮影が可能であった。アラハダカ（Fig. 6）、ススキハダカ（Fig. 7）は共に照度0.05 lxの照度下ではシャッタースピード30秒で発光時の撮影が可能であった。

4 考 察

電気刺激方法の評価

本研究で、ハダカイワシ科魚類の強制発光手段とし

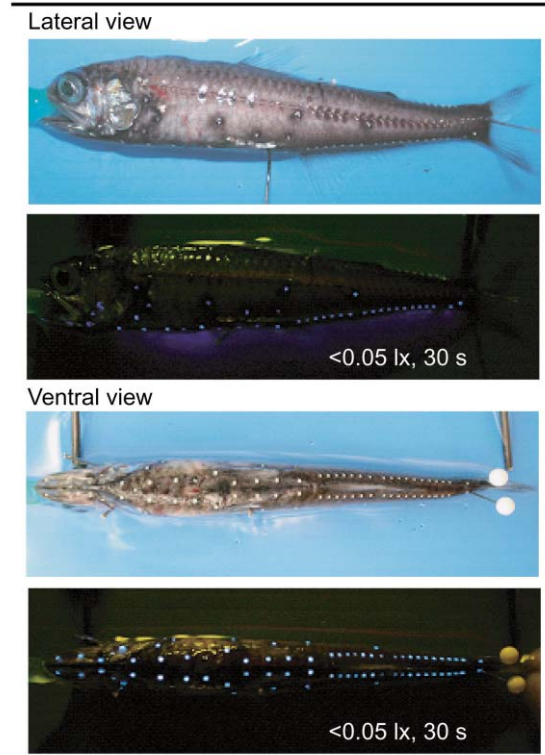


Fig. 3 Photographs of light emitting lantern fish, *Symbolophorus californiensis* (SL = 106.4 mm), captured at St. A55. Numbers in the photographs show luminosities of experimental condition and shutter speeds of camera.

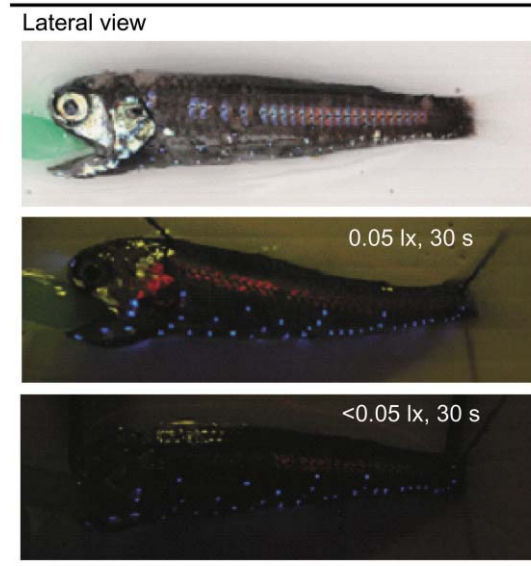


Fig. 4 Photographs of light emitting lantern fish, *Diaphus theta* (SL = 56.2 mm), captured at St. A55.

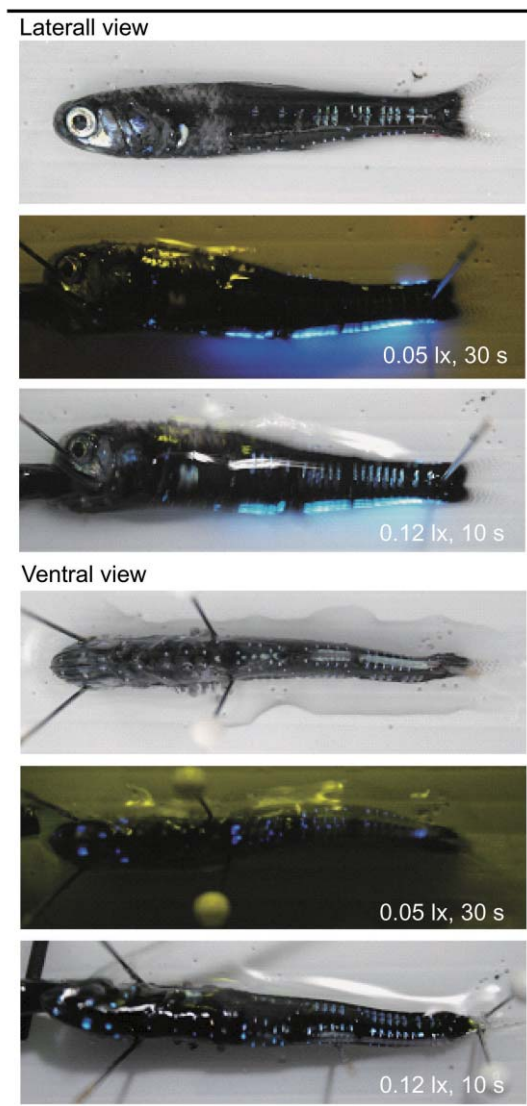


Fig. 5 Photographs of light emitting lantern fish, *Ceratoscopelus warmingii* (SL = 53.1 mm), captured at St. A12.

て電気刺激が有効であり、かつ10V程度の刺激電圧により発光することを明らかにした。予備実験で行ったDC電気刺激に対しては、刺激電圧の印加に伴う瞬間的な発光は誘発されたが、継続的な発光は観察されなかった。生理学実験においては、細胞あるいは神経系等の活動を誘起させる電気刺激として、連続する矩形パルスが一般的に用いられる。ハダカイワシ科の発光器も神経支配を受け、個体の生理的活動により発光を生じるため (Ancil and Case, 2005), パルス刺激を使用することにより、より効果的に発光を誘発したものと考えられる。

今回の撮影において、概ね全ての発光器が発光する際の画像を記録できたが、一部の発光器はその活動が誘起されなかった。採集時に生じた魚体の損傷或いは

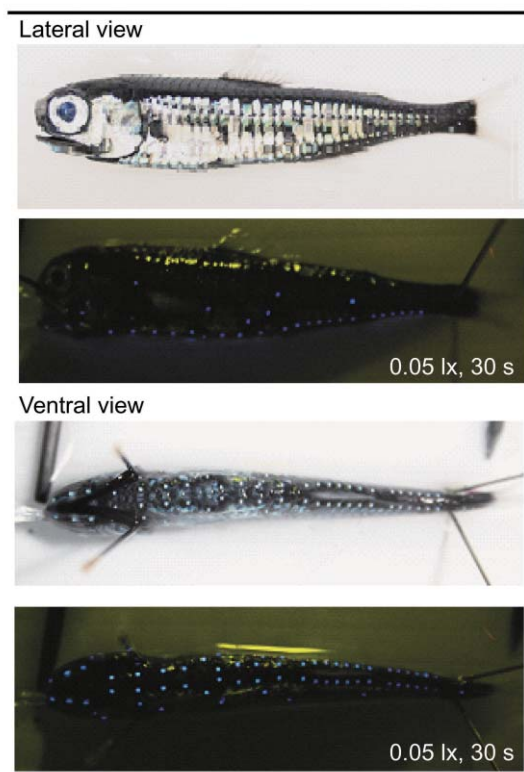


Fig. 6 Photographs of light emitting lantern fish, *Myctophum asperum* (SL = 53.1 mm), captured at St. A20.

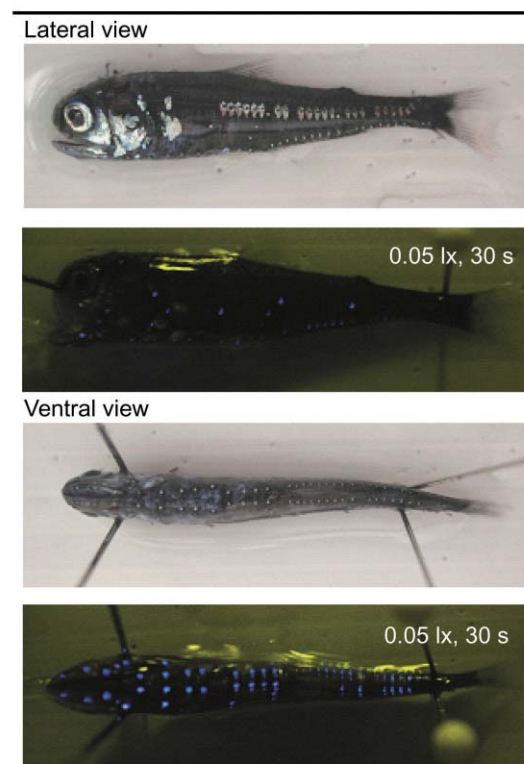


Fig. 7 Photographs of light emitting lantern fish, *Myctophum nitidulum* (SL = 42.9 mm), captured at St. A20.

疲弊により、完全な発光が観察されなかったことが考えられる。したがって、電気刺激による強制発光には、供試個体であるハダカイワシ科魚類を良い状態に保ち、迅速に実験を行う必要が示唆された。

本実験により、電気刺激手法の有効性が確かめられた。今後より迅速な実験作業を実施できるものと考えられる。

発光の特徴

電気刺激の利用により、ナガハダカ、トドハダカ、ゴコウハダカ、アラハダカ、ススキハダカ、計5種の発光時の写真標本を得た。発光部位は発光器の分布に従い、発光色はいずれの種においても肉眼では青色と判断された。発光強度には、種による差異、同個体の部位による差異が見られた。特にゴコウハダカの尾柄下部発光腺は顕著に他種と異なり、画像からの種の識別も容易であろうことが推測された。

撮影手法開発

自然遊泳状態にあるハダカイワシ科魚類の種識別を行うためには発光器配列情報が大きな手懸かりとなる (Benoit-Bird and Au, 2006)。自然状態にある魚の発光器配列を観察する手段として、発光状態の魚を撮影する方法が考えられる。本実験のように、ハダカイワシ科魚類を固定し強制的に発光させる場合、市販の1眼レフデジタルカメラでもシャッタースピードを10~30秒に設定することで発光の鮮明な撮影が可能であることが示された。しかし、自然遊泳状態にあるハダカイワシ科魚類の撮影を想定すると、長時間のシャッタースピードを設定することは現実的ではない。自然遊泳時の発光の撮影には市販の撮影機器とは異なる高感度機材を使用する、または撮影後の画像処理技術を確立する必要が強く示唆された。

本プロジェクト(「中深層性マイクロネクトン測定手法開発」)の一部として行われている他の実験では、光電子増倍管付きCCDTVカメラにより、暗環境下の実験水槽内で遊泳するゴコウハダカの生物発光の撮影に成功している(安部他, 2006)。同カメラシステムは、自然環境下でのハダカイワシ科魚類等の生物発光を撮影するのに適していると考えられる。今後、実用化するために、今回開発した電気刺激手法を用いて分光照度計による発光波長の計測と発光強度測定を行い、カメラに求められる解像度や感度を調べていく予定である。

5 謝 辞

本研究は、平成18年度水産総合研究センター交付金プロジェクト研究「中深層性マイクロネクトン測定手法の開発」の一環として実施されたことをここに記す。北光丸乗船調査においては、北海道区水産研究所亜寒帯海洋環境部小埜恒夫室長には、実験スペースの提供、実験の支援等で多大なる御助力をいただいた。ここに記して感謝する。また、ハダカイワシ科魚類の採集に際し、夜間に甲板上の照明をできるだけ消した状態で、の操業を多数回実施していただいた北光丸大島克幸船長以下の乗組員に感謝の意を表す。

参考文献

- 安部幸樹, 高橋秀行, 澤田浩一, 渡辺一俊, 内川和久, 岡崎雄二, 2006: 中深層性マイクロネクトン測定のための不可視ライトの開発 - 各種光源下におけるハダカイワシ類の行動観察 -, 平成18年度日本水産学会大会講演要旨集, 70.
- 澤田浩一・高尾芳三・高橋秀行・安部幸樹・奥村都誉司, 2004: 水産調査のための音響・光学複合システムJ-QUESTの開発 - 音響システムの開発 -, 水工研技報, 26, 23-33.
- 高橋秀行, 澤田浩一, 高尾芳三, 安部幸樹, 町田憲司, 菊元千史, 杉本守弘, 2004: 水産調査のための音響・光学複合システムJ-QUESTの開発 - 光学システムの開発 -, 水工研技報, 26, 35-45.
- 羽根田弥太, 1970: 発光魚・魚類生理学, 川本信之編, 恒星社厚生閣, pp515 - 539.
- Anctil M and J.F. Case, 2005: The caudal luminous organs of lanternfishes: General innervation and ultrastructure. *American J. Anatomy*, 149: 1-21.
- Beamish, R. J., K. D. Leask, O. A. Ivanov, A. A. Balanov, A. A. Orlov and B. Sinclair, 1999: The ecology, distribution, and abundance of midwater fishes of the Subarctic Pacific gyres. *Prog. Oceanogr.*, 43: 399-442.
- Benoit-Bird KJ and WWL Au, 2006: Extreme diel horizontal migrations by a tropical nearshore resident micronekton community. *Marine Ecology Progress Series*, 319: 1-14.
- Gjøsaeter, J. and K. Kawaguchi, 1980: A review of the world resources of mesopelagic fish. *FAO Fish. Tech.*, 1-151.
- Oozeki, Y., F. Hu, H. Kubota, H. Sugisaki and R.

- Kimura, 2004: Newly designed quantitative frame trawl for sampling larval and juvenile pelagic fish. *Fish. Sci.*, 70: 223-232.
- Sawada K., H. Takahashi, Y. Takao, K. Watanabe, J.K.Horne, S. McClatchie, and K. Abe, 2004: Development of Acoustic-Optical System to estimate Target-Strengths and Tilt Angles from Fish Aggregations, OCEAN'S04 MTS/IEEE /TECHNO-OCEAN'04 CD-Rom Proceedings, 395-400, 2004.11.
- Sawada K, H. Takahashi, K. Abe, and Y. Takao, 2006: In situ measurement of target strength, tilt angle, and swimming speed of Boreopacific gonate squid (*Gonatopsis borealis*), 4th Joint meeting ASA/JSA in Honolulu, *J. Acoust. Soc. Am.*, 120(5), 3107.
- Simmonds E., J., N.J. Williamson, F. Gerlotto, and A. Aglen, 1992: Acoustic survey design and analysis procedure; A comprehensive review of current practice, *ICES Coop. Res. Rep.*, 187, 1-131.
- Takahashi H, K.Sawada, K.Watanabe, J.K.Horne,S. McClatchie, and K. Abe, 2004: Development of Stereo TV Camera System to Complement Fish School Measurements by a Quantitative Echo Sounder, OCEANS'04 MTS/IEEE/TECHNO-OCEAN'04 CD-Rom Proceedings, 409-414, 2004.11.