

魚類の聴性誘発反応に関する基礎的研究

学位論文内容の要旨

魚類の聴覚閾値を計測する方法には心電図導出による刺激時の心拍間隔の伸長を指標とした方法 (以下, 心電図法) がよく使われてきたが, 近年では人間でも実用化されている聴性誘発反応を測定する方法 (以下, 聴性誘発反応法) が使われるようになってきている。Kenyon ら (1998) は聴性誘発反応法と心電図法等で求めた聴覚閾値曲線の測定から聴性誘発反応法では手術を必要とせず, 短時間で計測できる等の長所を示している。

本研究では魚類の聴覚閾値の計測法を発展させるために次の 3 つの課題, (1) スピーカ対向法による実験に近距離効果の影響が含まれているか, (2) 聴性誘発反応波形の発生器官は何か, (3) 魚体を完全に水中に置いた状態で聴性誘発反応が測定可能か, についての実験を行った。さらに水産有用魚種のイカナゴの聴覚閾値の測定とマイワシの超音波に対する応答を計測し, 聴性誘発反応法の有用性について検討した。本研究では従来の電極接触部位のみを空中において測定する聴性誘発反応法を空中電極固定法と呼び, 電極部分まですべて水中に沈めた状態で測定する方法を水中電極固定法と呼ぶことにする。

【実験方法】

近距離効果の影響 実験にはマコガレイ *Pleuronectes yokohamae* 10 尾を使用した。実験は音圧のみが供試魚に刺激として与えられるように魚体全部を空中に保定して実験を行った。刺激はスピーカ対向法により放音し, 閾値の測定には心電図法を用いた。刺激音は 63 Hz, 100 Hz, 160 Hz, 200 Hz, 315 Hz, 400 Hz, 500 Hz, 630 Hz, 1000 Hz の周波数を使用した。放音の感知の判定は, 放音前の 30 拍の間隔と放音時の間隔で Mann Whitney の U 検定を行い, 音刺激により心拍間隔が有意に伸びたことを指標とした。

聴性誘発反応の発生器官 実験は空中電極固定法で行った。聴覚特性を詳細に調べられているキンギョ *Carassius auratus* を使用した。供試魚は頭部を除いてネオプレーンゴムで包み, プラスチックのクリップで留め, クランプを使って固定した。反応導出電極にはテフロンコーティングされた直径 0.1 mm のタングステンを使った。関電極は中脳中心部の頭部表皮から内部へ 0.5 mm 挿入し, 不関電極は関電極の 5 mm 前方へ同様に挿入した。反応は生体電気アンプで増幅し, 同じ音刺激に対する反応を 300 回加算平均してオシロスコープに記録した。刺激音は音波形を編集して出力できるソフトを使って作成し, オーディオアンプで増幅し, 反応波形から刺激音波形の影響を除去するために放音毎に位相を反転させ, 空中スピーカから断続的に放音した。供試魚の位置での音圧はハイドロホンと同じ位置において測定した波形の振幅から求めた。刺激音は 1kHz で持続時間を変化させた音を使用した。

水中電極固定法 水中電極固定法では電極と電極に繋がれたコードの水没する部分を絶縁, 防水する必要がある。そこで絶縁, 防水できる自己融着テープを使って電極とコードの水没する部分を巻いた。さらにテープの隙間からの水の侵入を防ぐため, カシューを塗

付した。電極は頭部に挿入してから生体接着剤を使って接着した。実験装置と方法は空中電極固定法と同じ供試魚を使用し、2つの実験法による比較が行えるようにした。刺激音は250Hz, 500Hz, 1kHz, 2kHz, 4kHzを使用した。

イカナゴとマイワシの聴覚特性 空中電極固定法を使用して実験を行った。イカナゴ *Ammodytes personatus* 13尾, マイワシ *Sardinops melanostictus* 8尾を使用した。イカナゴでは刺激音として128 Hz, 181 Hz, 256 Hz, 362 Hz, 512 Hz, マイワシでは40 kHz, 60 kHz, 80 kHz, 100 kHzと1.024kHzの音を使った。刺激音の感知の判定は反応の振幅と波形の特徴から判断した。聴覚閾値は反応が観察できた時の最も小さい音圧とした。

【実験結果および考察】

心電図法で魚体を水中に置いた場合のマコガレイの聴覚閾値 (Zhang, 1998) と本研究で魚体を空中においた場合の聴覚閾値を比較すると160Hz以下では本研究の値が高くなっている。魚体を水中においたスピーカ対向法では水粒子変位 (近距離効果) を完全に抑えることができずに内耳と側線器が応答して聴覚閾値が低くなることがわかった。したがって音圧 (遠距離効果) についての聴覚閾値を測定するためには実験方法を改良する必要があることがわかった。

聴性誘発反応発生器官の確認実験では各刺激音の持続時間とそれに対応した反応持続時間には正の相関があった。この特徴は内耳の小囊から直接導出されるマイクロホン電位等と同様であり、キンギョの聴性誘発反応は内耳の小囊, 通囊や壺囊等の器官に由来して発生した反応電位が間接的に頭部表皮から記録されていると考えられる。

水中電極固定法の実験では反応開始から負のピークまでと、負のピークから正のピークまでの時間、振幅の絶対値はいずれも水中電極固定法と空中電極固定法とで有意差はなかった。電気ノイズの最大振幅と反応波形の最大振幅との比 (S/N 比) に関しても1 kHzの音に対する反応波形で有意差はなかった。聴覚閾値でも250 Hz, 500 Hz, 1000 Hzで有意差はなかった。したがって防水処理を十分に行うことで魚体が水中にある場合でも聴性誘発反応を計測し、聴覚閾値を求めることが可能であることがわかった。

イカナゴで128~362 Hzで得られた反応波形はFFTの結果から刺激音周波数の約2倍の周波数成分を持ち、基線が振動する聴性誘発反応を示す特徴があった。聴覚閾値は128 ~ 256 Hzの範囲で低くなり、113~118 dBであった。音源から100 m離れた距離で漁船騒音は100 ~ 500 Hzで127 ~ 146 dBであり、マスキング現象を考慮しても騒音を感知していると考えられる。マイワシの超音波への反応波形は先行研究での超音波が聴こえる魚種のような、下に凸のV字型の特徴は見られず、反応らしき波形振幅も見られなかった。マイワシは本研究で用いた超音波を音圧180~190 dBの範囲で感知しないと考えられる。

聴性誘発反応法は短時間で実験を終わらせる必要のあるマイワシのような魚種で有効である。マイワシの超音波に対する聴覚特性はこれまで計測されたことはなく、本研究の結果では超音波を感知していないと考えられたが、他のニシン科の魚類についても調査し、資源量調査に使用されている魚群探知器の周波数との関連についても明らかにする必要がある。さらにイカナゴの様な小型魚でも電極を接触させることで手術なしに聴覚閾値が測定できることから聴性誘発反応法は有効な手法であることがわかる。

魚類の生棲する環境には様々な音が存在しており聴覚閾値の最も低い周波数とその魚類にとってどの様な利点があるのか、どの様な周波数を人間が利用可能か等、解明すべき点は多くある。このためには幼稚魚からマグロ等の高速遊泳魚まで広い範囲の魚種の聴覚特性の計測が必要であり、聴性誘発反応法は現在用いられている手法では最適である。したがって、電極の材質、寸法、取り付け方法を改善するとともに閾値判定をより客観的に判定できるシステムを確立することが必要となる。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 齊 藤 誠 一

副 査 教 授 飯 田 浩 二

副 査 准教授 平 石 智 徳

学 位 論 文 題 名

魚類の聴性誘発反応に関する基礎的研究

魚類の聴覚閾値の計測方法としては心電図導出による心電図法がよく使われてきたが、近年では人間でも実用化されている聴性誘発反応を測定する方法（聴性誘発反応法）が使われるようになってきている。聴性誘発反応法は手術を必要とせず、心電図法での電気刺激等による条件づけが不要で、短時間で聴覚閾値が計測できる等の長所がある。したがって、長時間の保定が困難であった魚種や、体長の小さな魚種、稚魚等の聴覚閾値の計測も可能となる。

本研究では魚類の聴覚閾値の計測法を発展させるために次の3つの課題、(1)スピーカ対向法による実験に近距離効果の影響が含まれているか、(2)聴性誘発反応の発生器官は何か、(3)魚体を完全に水中に置いた状態で聴性誘発反応の測定は可能か、について実験を行った。このために先行研究で使用されたマコガレイを同一海域から採集し、スピーカ対向法での実験において魚体の保定方法を改良して近距離効果の影響を取り除く手法を提案し、この手法を用いたマコガレイの聴覚閾値曲線を測定し、先行研究の結果と比較した。また、従来の電極接触部位のみを空中に置いた聴性誘発反応法（空中電極固定法）と電極部や魚体全体をすべて水中に沈めた状態で測定する方法（水中電極固定法）の2つの方法を同一個体に適用し、計測した反応波形を比較して水中電極固定法で聴性誘発反応の計測が可能であることを示した。さらに水産有用魚種のイカナゴの聴覚閾値の計測とマイワシの超音波に対する応答を計測し聴性誘発反応法の有用性について検討したものである。得られた主な成果を以下に示す。

- 1) 刺激音の近距離効果を除くために、聴覚閾値の測定では通常水中に保定する魚体を空中に保定して測定する方法を確立した。
- 2) スピーカ対向法により計測された聴覚閾値曲線には刺激音の近距離効果の影響が含まれていることを明らかにした。
- 3) キンギョを用いて刺激音の持続時間とそれに対応した聴性誘発反応の持続時間とは正の

相関があることを見だし、内耳の聴覚器官の応答と等価であることを明らかにした。

- 4) 従来の聴性誘発反応の測定は電極の挿入部分が空中にあるように魚体を保定してきたが、この部分に防水処理をすることで魚体と電極部を完全に水没させて聴性誘発反応を測定することを可能とした。
- 5) イカナゴの聴性誘発反応の計測から、漁船の騒音である 100～500Hz の音を感知可能であることを明らかにした。
- 6) マイワシは資源量推定に用いられる魚群探知機やソナーの超音波を感知していないことを明らかにした。

以上の成果は、魚類の聴覚閾値の計測に聴性誘発反応法が有効な手法であることを具体的に示したものであり、この手法を用いることで多様な魚類の聴覚閾値曲線を計測することが可能となり、この研究分野のさらなる発展に資するものとして高く評価できる。よって審査員一同は申請者が博士（水産科学）の学位を授与される資格のあるものと判定した。