

## ゾウリムシの個体間相互作用を引き起こす要因；機械刺激により放出される化学物質の検討

荒木 広大（筑波大学 生物学類） 指導教員：大網 一則（筑波大学 生命環境系）

## 導入

生物は種間、個体間などで様々な相互作用を示す。生物の相互作用は細胞レベルでも広く認められ、多細胞動物のホルモンや神経伝達物質などの化学的な手段を使った細胞間のコミュニケーションは動物にとって極めて重要な役割を持つ。

私は個体間や細胞間のコミュニケーションについて興味を持った。この研究では、単純な体制をもつ単細胞生物の同種内での個体間相互作用を明らかにすることを目的とした。高等動物に比べ、単細胞生物による個体間、細胞間相互作用の詳細は明らかにされていない。これまでに、私の研究室の先行研究により、集団で遊泳するゾウリムシが、前方に存在する障害物を事前に察知して、回避する行動が明らかにされている。この行動は、ゾウリムシが同種の他個体に対して何らかの信号を出した結果であると解釈されており、化学物質の存在が想定されているが、その実体は明らかではない。このような背景から、私はゾウリムシの個体間相互作用の一端を明らかにするために、他個体の行動を制御しうる信号の存在に着目して実験を行った。

## 材料・方法

ゾウリムシ (*Paramecium caudatum*) は麦藁の抽出液を用いて培養し、標準溶液 (1mM KCl, 1mM CaCl<sub>2</sub>, 1mM Tris-HCl, pH7.4) で洗った後、実験に用いた。

ゾウリムシが他個体に対する信号を放出する要因として考えられるのは、障害物に衝突した際の機械的な刺激である。自由遊泳しているゾウリムシに定量的に制御された機械刺激を与えることは困難である。そこで、この実験では、ゾウリムシの集団にマグネチックスターラーの攪拌子を用いて定量的な機械刺激を与えた。ピーカーにゾウリムシの密度を調整した標準溶液を入れ、攪拌子を回転させて機械刺激とし、攪拌子の回転速度を変えることにより刺激強度を変化させた。機械的な刺激を与えた後、溶液中のゾウリムシは遠心処理により、この溶液から除外した。残った溶液を以下に示す化学集合のアッセイ系で検定した。このアッセイ系は2種類の液槽、標準槽と試験槽が接する実験槽からなっている。2液槽ははじめ離して用意しておき、ゾウリムシは標準槽中にのみに入れた。試験槽には試験液を満した。これらの液槽を接触させて両実験槽が一線で相接する実験槽とした。

## 結果

(1) はじめにシャーレの中にゾウリムシと障害物を入れ、障害物付近におけるゾウリムシの遊泳行動を観察した。障害物を入れた直後は、ほとんどのゾウリムシが障害物に衝突して回避反応を示した。障害物を入れて数分すると、実際には障害物に衝突せず、障害物の手前で回避反応を示す個体が現れた。この回避行動(無衝突)を示す個体の割合は時間とともに増え、およそ30分で最大となった。これは先行研究の結果を支持する。

(2) 次に、ゾウリムシ集団に機械的的刺激を与えた後、ゾウリムシを取り除いた溶液が、ゾウリムシの行動にどのような効果を

持つかを2液槽からなる実験槽で調べた。ゾウリムシを400匹/ml入れて機械刺激を与えた後の溶液に対して、ゾウリムシは負の集合を示した。この結果は、ゾウリムシを取り除いたあとでも、ゾウリムシが機械刺激を受けた溶液中に、負の集合をもたらす効果があることを示す。

(3) 試験液調整時のゾウリムシの密度を変え、その効果を調べた。ゾウリムシの負の集合はその密度が高い程、強くなった。

(4) 機械刺激を与える強さとゾウリムシの集合の関係について調べた。機械刺激を与えないとき、ゾウリムシの分布には2液槽間で偏りは見られなかった。機械刺激を与える攪拌子の回転を1回/秒にすると、ゾウリムシは負の集合を示した。より強い機械刺激を加えると、ゾウリムシの負の集合の度合いは低くなった。

(5) 標準槽と試験槽でのゾウリムシの遊泳速度について調べた。いずれの液槽でも、ゾウリムシの密度が上がると、遊泳速度が増した。試験液調整時のゾウリムシの密度が高い時には、標準槽中のゾウリムシに比べ、ゾウリムシの遊泳速度が低かった。

(6) 標準槽と試験槽の境界でのゾウリムシの回避反応の頻度を調べた。ゾウリムシは標準槽から試験槽に向かう時に回避反応を頻繁に示した(最大で50%)。一方、試験槽から標準槽に向かうゾウリムシは回避反応をほとんど示さなかった。また、試験液調整時のゾウリムシの個体数が多いほど、回避反応の頻度が上昇した。ゾウリムシに機械刺激を与えた溶液に対する、ゾウリムシの負の集合は、境界で生じる回避反応が主な原因と考えられる。

## 考察

今回の実験で取り上げた、回避反応(無衝突)は、単純な体制の生物が、障害物の存在を予見して、衝突以前に避ける事実を示している。ゾウリムシはこの行動反応により障害物に衝突する際に生じる細胞の物理的な損傷を減らし、集団としての生存の可能性を上げていると考えられる。このような、機械刺激によらない物理的障害物の回避は、ゾウリムシ個体間の相互作用によることが示唆されてきたが、その詳細は明らかではなかった。

今回の実験から、ゾウリムシに実際に機械刺激を与えた溶液に対して、ゾウリムシが負の集合を示すことが示された。負の集合は、主に溶液の境界で生じる回避反応に起因している。この負の集合は、ゾウリムシの密度が高くなるに従って強くなった。これらの結果は、障害物に衝突したゾウリムシが、機械的的刺激に応じて何らかの信号を出し、その信号に他個体が行動反応を起こしている事を示唆している。信号の正体としては、残存、蓄積する性質や、局所的に作用する点から化学物質であることが予想される。従って、溶液の境界で生じるゾウリムシの回避反応は、自由に遊泳するゾウリムシの回避反応(無衝突)に対応すると考えられる。想定される化学物質の実体については今後の課題である。

ゾウリムシが集団として障害物を事前に察知して、それを回避する行動は、実際に衝突を経験したゾウリムシから後続の個体に対する化学物質を介したコミュニケーションを示していると考えられる。