

ゾウリムシの H<sup>+</sup> に対する行動反応：順応 pH と集合 pH の関係

萩原 和輝（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

ゾウリムシは細胞表面にある繊毛を使い遊泳する単細胞生物である。様々な外界の刺激に対する反応性を持ち、遊泳行動を変化させることにより、刺激に対して集まったり、反対に刺激を避けたりする。

ゾウリムシは外界の温度刺激に対しても行動反応を示すことが知られており、温度勾配環境下では特定の温度へ集合する。ゾウリムシが集合する温度は培養温度に等しいことが示されており、培養温度を変えると集合する温度も変わる。温度刺激に対するゾウリムシの行動反応の特徴は、特定の温度を絶対値として判断し、そこに集合することである。一般の有害物質や光等に対する反応では、多くの生物はそれら刺激の相対値を判断し、行動を決定していると考えられるが、温度の場合は、相対的な刺激の強度（温度の高低）に依存して行動すると、極端な高温あるいは低温に集合してしまうことになり、生存に不都合である。

ゾウリムシは様々な化学物質に対しても反応性を有している。そのうちのひとつに pH (H<sup>+</sup>) があるが、温度に対する反応と同様にゾウリムシは pH の絶対値を判断していると考えられる。私は、ゾウリムシが pH の絶対値を認識し、遊泳行動を制御していることに興味を持った。温度刺激に対する反応は、環境情報の絶対値を判断すると同時に、培養温度という履歴に基づいた集合を示す。これは、生物の環境に対する適応能力を意味し、また、記憶の単純な形として捉えることができ、興味深い。このような履歴に基づいた行動反応の可塑性がゾウリムシの pH に対する行動にも見られるかどうかは興味深い問題である。この実験では、ゾウリムシが実際に特定の pH を判断して集合行動を示すかを確認し、更に、この集合 pH が事前に pH を制御した前処理により変化するか否かに着目して実験を行った。

## 材料・方法

実験に用いたゾウリムシ (*Paramecium caudatum*) は麦藁の抽出液で培養した。培養したゾウリムシは標準溶液に ME S バッファーを加えた溶液 (1 mM KCl, 1 mM CaCl<sub>2</sub>, 1 mM Tris-HCl, 1 mM MES, pH 5.5~8.5) で 2 回洗い、30 分以上順応させた後、実験に用いた。この溶液は pH 5 から pH 9 の範囲で緩衝能をもつ。

異なる pH の溶液に対するゾウリムシの集合反応は、2 種類の薄い溶液が中央で接する実験槽で調べた。2 つの液槽（標準槽、試験槽と呼ぶ；それぞれ 9 mm×10 mm×1.05 mm）ははじめ離して用意し、実験開始時に結合した。ゾウリムシは、はじめに、標準槽だけに入れ、実験開始後、ゾウリムシの遊泳に伴うそれぞれの溶液槽でのゾウリムシの分布の変化をビデオカメラを用いて記録し、解析した。今回解析した pH は 5.5、6.5、7.5、8.5 の 4 種類であり、隣接した pH 値をもつ溶液 2 種類について集合反応を調べた。ゾウリムシは標準槽に用いた pH 値をもつ標準溶液で洗浄して実験に用いた。

ゾウリムシの集合の程度は集合指数として表した。集合指数は、標準槽中のゾウリムシの分布数から試験槽中の分布数を引き、そ

れを両液槽中のゾウリムシの総数で割ったものである。分布が均一な場合値は 0 となり、標準槽に完全に集合した場合 1、試験槽に集合した場合 -1 の値をとる。

## 結果・考察

はじめにコントロール実験として、標準槽と試験槽に同じ標準溶液 (pH 7.5) を満たして、ゾウリムシの分布を調べた。はじめ、標準槽だけに入れておいたゾウリムシは、溶液結合とともに、両液槽間を移動し、およそ 3 分すると、両液槽間のゾウリムシの数はほぼ同じになり、その後、5 分後まで維持された。

次に pH 5.5 の標準液（標準槽）と pH 6.5 の標準液（試験槽）でのゾウリムシの分布を調べた。ゾウリムシは溶液結合後両液槽間を移動し、2 分程すると分布の割合はほぼ一定値を示した。このときの集合指数は約 0.1 であった。この結果は、ゾウリムシの分布が、標準液に用いた pH 5.5 の標準液側のわずかに偏ったことを示す。

同様に pH 5.5 と 6.5 の溶液に対するゾウリムシの集合を pH 6.5 の溶液を標準槽に満たして調べた。この場合も、ゾウリムシの分布の割合は 2 分程で一定となり、その値は 0.7 であった。これは先ほどの pH 5.5 で洗った時と異なり、ゾウリムシの分布が pH 6.5 の溶液に大きく偏ったことを示す。即ち、同じ pH に対する集合反応であっても、事前にゾウリムシを入れておいた条件（履歴）の違いにより、ゾウリムシの集合が大きく影響を受けたことになる。

同様に pH 6.5（標準槽）と 7.5（試験槽）の溶液でゾウリムシの集合を調べた。ゾウリムシは溶液結合後両液槽間を移動し、2 分程すると分布の割合はほぼ一定値を示した。このときの集合指数は約 0.1 であった。同じ pH に対する集合反応を pH 7.5 を標準槽に満たして調べると、集合指数は約 0.2 であった。これはゾウリムシの分布がわずかに pH 7.5 の溶液に偏った事を示す。従って、この 2 つの pH に対する行動反応も、ゾウリムシを洗った pH 値により、大きく影響を受けたことになる。

次に pH 7.5 の標準液と pH 8.5 の標準液で調べると、pH 7.5 を標準槽にした時には集合指数は約 0.2 であり、pH 8.5 を標準槽にしたときは約 -0.5 でありどちらの場合も、ゾウリムシは pH 7.5 の溶液に集合した。

今回の実験から、ゾウリムシが pH の違いを認識し集合反応を示すこと、また、その集合 pH は事前に経験した履歴により変化する事実が示された。これまでは、pH を調整していない培養液から実験を開始しているが、今後、既知の pH の溶液にゾウリムシを一定期間インキュベートし、その際の、ゾウリムシの pH に対する集合反応と順応 pH の関係を詳細に調べる所存である。