

共生による光走性への影響 ミドリゾウリムシの場合

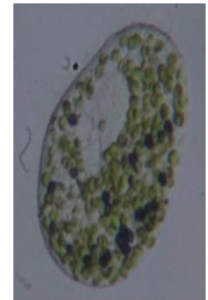
静岡北高等学校

科学部 2年 寺川 実那 他1名

1 動機

本研究を始めた動機は、科学部の活動で大学生や研究者の方からお話を聞く機会が多くある。そのなかでミドリゾウリムシという鮮やかな緑色をしたゾウリムシを知り、私達はこの植物のように見えるがゾウリムシとして自由に水の中を泳ぎ、植物性の生物を体の中に取り込み、共生している不思議な現象について非常に興味を持ち、共生について詳しく調べることにした。

ミドリゾウリムシの緑色は細胞内に共生するクロレラという単細胞の緑藻に由来する。ミドリゾウリムシは雑食性だが、このクロレラに関しては体内で分解せず保持している。この共生関係によりクロレラからの光合成産物がゾウリムシに供給されるが、興味深いことに、ゾウリムシが極度の飢餓状態に陥るなどゾウリムシに共生の利益がなくなった場合、共生しているクロレラをエサとして摂取することがある（これを白化という）。



私達は細胞内のクロレラとの共生によってゾウリムシの行動に変化があるの 図1 ミドリゾウリムシか、ということに特に興味をもち、クロレラは光合成により酸素を生産することから、共生によって体内に酸素の供給があり、ミドリゾウリムシの行動に関して影響が大きいと予想される光合成（光）という面から、ミドリゾウリムシの光走性に注目して研究を始めた。

ミドリゾウリムシが光走性をもつことは知られているため、本研究では、照度 (lux) の違いによるミドリゾウリムシ、白化させたミドリゾウリムシのそれぞれの行動の変化を比較することで、共生によって走性へどのような影響があるのかを明らかにすることを目的とした。

2 実験

(1) 実験試料

本研究では、クロレラと共生しているミドリゾウリムシをノーマル、白化したミドリゾウリムシを白化ゾウリムシと呼ぶ。本研究には、国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) のナショナルバイオリソースプロジェクトを介して国立大学法人山口大学から提供を受けたミドリゾウリムシの Yad1g1N(ノーマル：参考文献)と、白化したミドリゾウリムシ (白化ゾウリムシ：参考文献) の Ha1w を使用した。これらのノーマル、白化のミドリゾウリムシはカロリーメイト 1ml を 500ml の水に薄めたものを培養液とし、室温は約 24℃に保った状態で 24 時間照明下に置き培養した。照明には蛍光灯を使用し、光の強さは培養フラスコの上部が 2500lx になるように保った。

(2) 実験方法

ミドリゾウリムシの光走性を調べる実験は、ミドリゾウリムシを培養している細胞培養フラスコを顕微鏡下に置き、顕微鏡の右から LED ライトで光をあて、その行動を観察した。観察は、下記の A～ウの方法で行った。

ア 右方向から一定の明るさの光を 5 分間当て続ける。

光源は LED ライトを使用し、照度は以下の 8 パターンで調べる。

901x (光源なし) 13001x 22501x 35001x 46001x 66001x 86001x 117001x

なお、照度はライトからの距離で変え、照度計で計測した値である。

また、901x は、光源となっている LED は光をつけないで電源を切っており、室内灯も切った状態で、窓から入ってくる屋外からの光のみの値である。

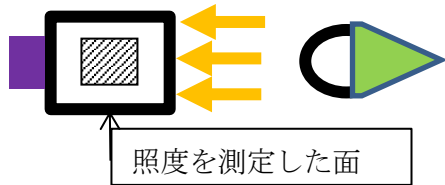


図 2

実験装置（真上から見た図）

双眼実体顕微鏡のステージに細胞培養フラスコを置き、フラスコの中央で照度を測定した。

イ 1分毎にフラスコの中央部（上図斜線部）の顕微鏡を通して撮影する。撮影枚数は基準となる0分を含め、1～5分目の計6枚である。

ウ 撮影した写真を光源に近い右半分と遠い左半分に分け、それぞれの範囲にいる個体数を数える。はじめに写真に写る個体数のばらつきを考慮し、結果は全体の個体数に対する割合で示す。

(例)

図 3

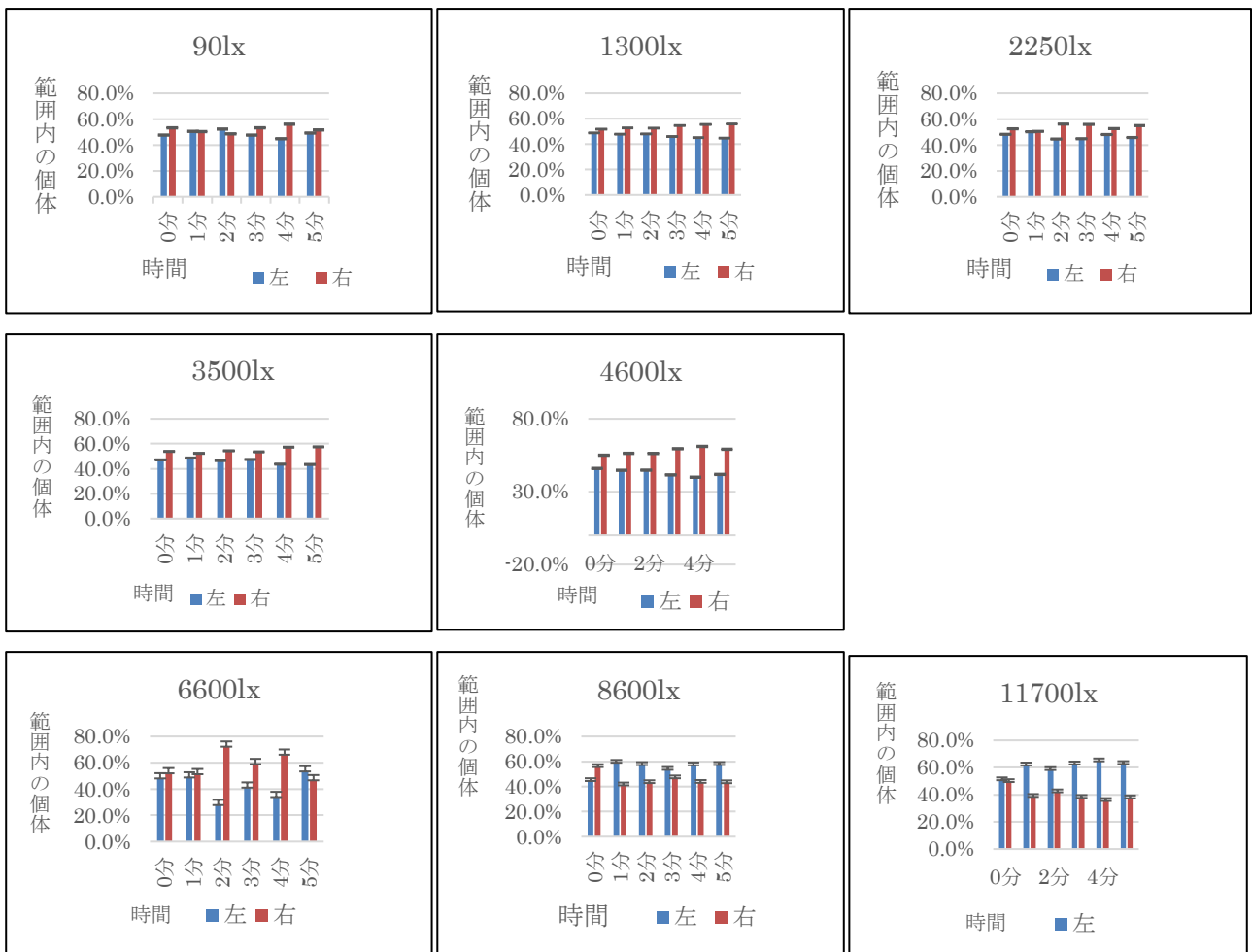


エ 結果について T 検定を行う

3 結果

(1) ノーマル

図 4 照度と時間経過による範囲内の個体数（割合）の変化 <左：非光源側 右：光源側>



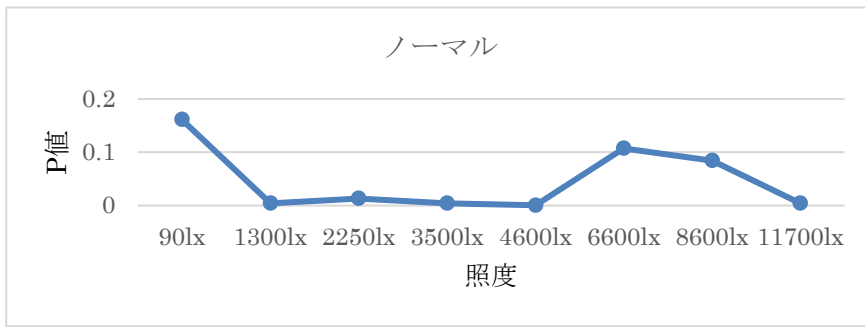


図5 T検定 (左右の検定) の結果

- 図4のグラフから
- ・90lx (光源なし) 右側、左側どちらの方向に対しても傾向は見られなかった
 - ・1300lx~4600lx 時間の経過に伴い、光源側の個体の割合が増えた
 - ・6600lx 光源側、非光源側のどちらの方向に対しても傾向は見られなかった
 - ・8600lx~11700lx 時間の経過に伴い、非光源側の個体の割合が増えた

- 図5のT検定の結果から
- ・有意差はない : 90lx、6600lx
 - ・有意傾向である : 8600lx
 - ・有意差がある : 1300lx 2250lx 3500lx 4600lx 11700lx

これより、90lx、6600lxでは、ミドリゾウリムシの泳ぐ方向には規則性がなかった。そして、ミドリゾウリムシは1300lx~4600lxでは光の方向に対して泳いでおり、8600lx~11700lxでは光が差す方向と反対の方向に泳いでいた。

(2) 白化ゾウリムシ

図6：照度と時間経過による範囲内の個体数（割合）の変化 <左：非光源側 右：光源側>



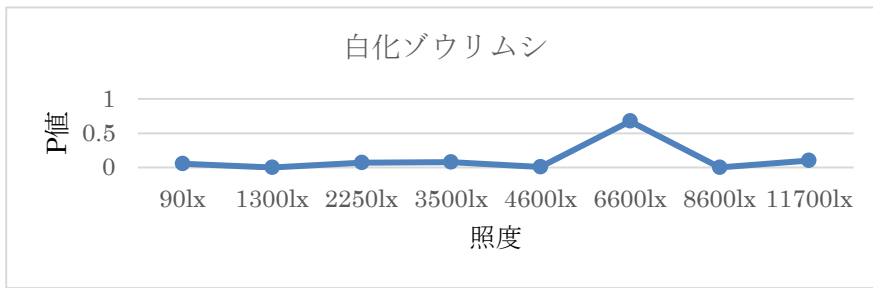


図7 T検定 (左右の検定)

図6のグラフから

- ・90lx ほとんど変化は見られなかった
- ・1300lx~6600lx 時間の経過に伴い、光源側の個体の割合が増えた
- ・8600lx~11700lx 時間の経過に伴い、非光源側の個体の割合が増えた

図7のT検定の結果から

- ・有意差はない : 6600lx 11700lx
- ・有意傾向である : 90lx 2250lx 3500lx
- ・有意差がある : 1300lx 4600lx 8600lx

これより、6600lx、11700lxでは、ミドリゾウリムシの泳ぐ方向には規則性がなかった。そしてノーマルと同様に、ミドリゾウリムシは1300lx~4600lxでは光の方向に対して泳いでおり、8600lxでは光が差す方向と反対の方向に泳いでいた。

4 考察

結果から、照射照度と光源側にいる個体（照射開始から5分後）の割合との関係（図8、9）についてまとめた。

(1) ノーマル

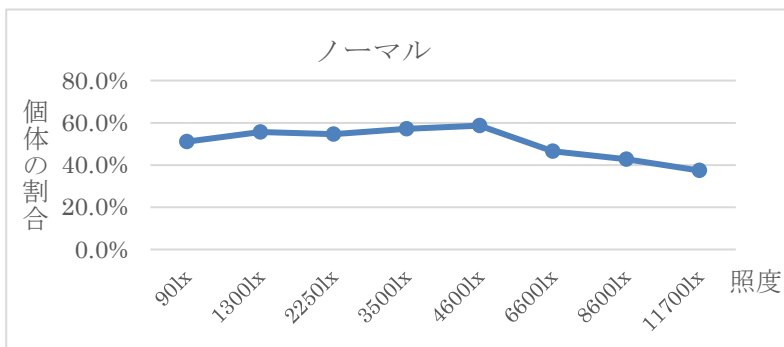


図8 照射照度と光源側にいる個体（照射開始から5分後）の割合

クロレラとの共生関係にあるミドリゾウリムシは、照度4600lxまで正の光走性を示し、6600lxからは負の光走性を示すといえる。また、照度が大きくなるにつれ、どちらの光走性も顕著に表れてくると思われる。しかし、図5より6600lxで有意差が見られないことから、6600lx付近で光走性の正負が変化すると推測される。

(2) 白化ゾウリムシ

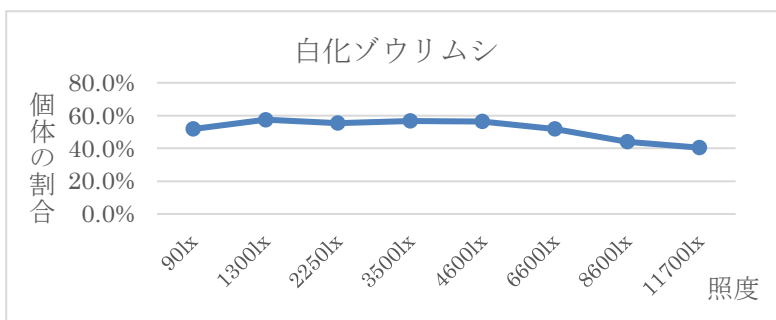


図9 照射照度と光源側にいる個体（照射開始から5分後）の割合

クロレラをもたないミドリゾウリムシも同様、照度4600lxまで正の光走性を示し、6600lxからは負の光走性を示すといえる。しかしノーマルと比較すると正負の変化は小さく、加えて、正の光走性の強さは照度が大きくなってほとんど変化しない。図7より6600lxで有意差がないことから、6600lx

付近で光走性の正負が変化している可能性が高いと考えられる。また、11700lx でも有意な差が見られないことから、白化ゾウリムシは明らかな負の光走性を示すとはいえないのではないかと考え、光以外の他のことに行動が影響されている可能性もあると推測する。

(3) ノーマルと白化ゾウリムシの比較

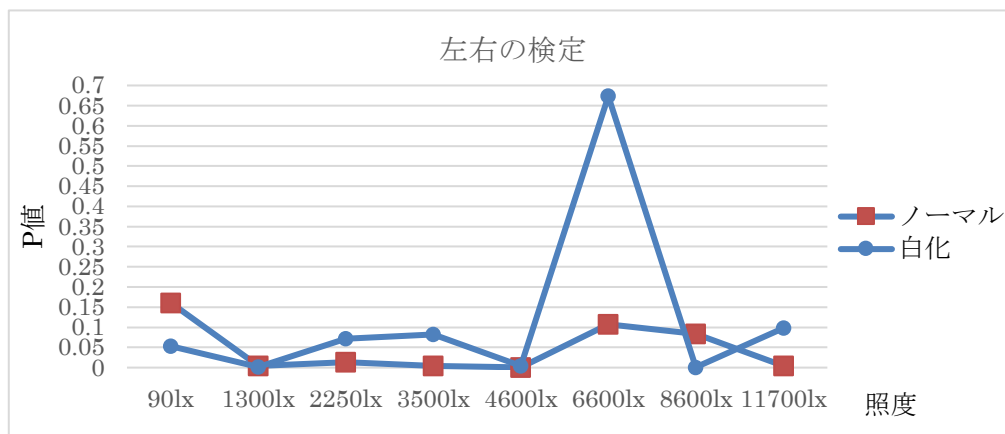


図 10
ノーマルと白化ゾウリムシのP値の比較

図 8, 9, 10 のグラフから

光源がない状況では共生の有無に問わず、ミドリゾウリムシの行動にほとんど規則性はない。また、6600lx の光を照射したときも光源がないときと同様に、ノーマル、白化ゾウリムシともに行動は規則的でないため、共生の有無に問わず 6600lx 付近で光走性の正負が変化すると考えられる。そして、照度によらず、共生しているミドリゾウリムシの方が、光走性が顕著に表れると考えられる。

5 今後の課題

白化したゾウリムシの方が、明らかな正負の光走性を示していないことから、白化したゾウリムシの行動を変化させる光以外の要因を探り、クロレラとの共生がミドリゾウリムシの光走性を左右させていることを明らかにしたい。

6 謝辞

本論文の作成にあたり、終始適切な助言を賜り、丁寧に指導して下さった静岡大学准教授道羅英夫博士に感謝いたします。また、島根大学大学院生の塚越亮充さんには、調査のあり方や考察の方法など、細部にわたるご指導をいただきました。山口大学の藤島政博教授にはミドリゾウリムシ等を提供していただきました。ここに感謝いたします。塚越汐里先生を始め、研究室のメンバーには常に刺激的な議論を頂き、精神的にも支えられました。本当にありがとうございました。

7 参考文献

- (1) 九十九 慎吾・中川 弥生・中岡 保夫・石田 正樹 (2009 年)
「*Paramecium bursaria* の集光性における共生クロレラの役割に関する研究」
(奈良教育大学理科教育講座、大阪大学基礎工学部システム科学科生物工学コース)
- (2) KOHJI MATSUOKA and YASUO NAKAOKA (Accepted 3 February 1988)
「PHOTORECEPTOR POTENTIAL CAUSING PHOTOTAXIS OF *PARAMECIUM BURSARIA*」 (Department of Biophysical Engineering, Faculty of Engineering Science, Osaka University, Toyonaka, Osaka, Japan 560)
- (3) Iwai T, Fujiwara K, Tamura T. Maintenance of algal endosymbionts in *Paramecium bursaria*: a simple model based on population dynamics. *Environ. Microbiol.* 18, 2435-2445, 2016.
- (4) Yuuki Kodama, Haruo Suzuki, Hideo Dohra, Manabu Sugii, Tatsuya Kitazume, Katsushi Yamaguchi, Shuji Shigenobu, Masahiro Fujishima. Comparison of gene expression of *Paramecium bursaria* with and without *Chlorella variabilis* symbionts. *BMC Genomics*, 2014, 15:183.