

線虫の生態

2年3組 大加田 凌 2年3組 飯田 航平 2年3組 宮本 鎌慎
2年4組 森本凜乃介 2年4組 山本 峻大
指導者 林 広樹

1 課題設定の理由

線虫とは線形動物門 (nematoda) に属する動物の総称である。推定で50万種以上が存在し、多くの土壌、海洋、淡水に生息する非寄生性のものと、一部の寄生性のものが存在する。

簡易がん検査 (N - NOSE) では、線虫の優れた嗅覚で、尿に含まれるがんの匂いを検知し、尿に集まる線虫の性質が利用されている。

その一方で、線虫による農作物の被害も報告されている。そこで、私たちは線虫の生態について興味を持ち、その生態を解明することを試みた。



図1 センチュウの顕微鏡写真 (4×10倍)

2 仮説

- (1) 土壌に生育しているため、暗い場所を好み、負の光走性を示す。
- (2) アミノ酸や NaCl には体内での生命活動に必要な物質であるため NaCl やアミノ酸に対して正の光走性を示す。
- (3) 育った培地が生育好条件であれば、その温度を記憶し、その温度に対して正の走性を示す。

3 研究内容

(1) 線虫の採取

ア 採集及び観察、培養方法

- ① 日向の乾いたコケと日陰の湿ったコケを採集する。
- ② 簡易ベールマン装置を用いてコケから線虫を分離する
- ③ 日向及び日陰で採集した線虫の個体数を比較する
- ④ 光学顕微鏡または実態顕微鏡を使って線虫を観察する。
- ⑤ 2%寒天培地に納豆菌を塗布し、線虫を培養した
- ⑥ NGM (Nematode Grown Medium) 寒天培地に大腸菌を塗布し、線虫を培養した

イ 結果と考察



図2 簡易ベールマン装

表1 捕まえた土壌センチュウの数

| コケの種類 | 乾いたコケ | 湿ったコケ |
|----------|-------|--------|
| 5回採集した平均 | 4.2 匹 | 12.6 匹 |

- ・線虫は日向の乾いたコケよりも日陰の湿ったコケの方が個体数が多かった
- ・2パーセント寒天培地 (納豆菌) では増殖しなかった。これは納豆菌を繁殖させるための糖類が少なかったのではないかと考えられる。
- ・大腸菌を塗布した NGM (Nematode Grown Medium) による培養では線虫が1週間で大量に増殖した



図3 NGM 寒天培地

(2) 光走性の実験

ア 実験方法

- ① 培養シャーレ（寒天培地）の半分にアルミ箔を巻き、片側だけ光を遮断する。
- ② 線虫をシャーレの中央に移しアルミ箔のない部分に光を照射する。
- ③ 三日後、線虫の集合状態を観察し5mm²当たりの個体数を数える。3区画を切り取り、その平均を求めた。
- ④ 光走性指数

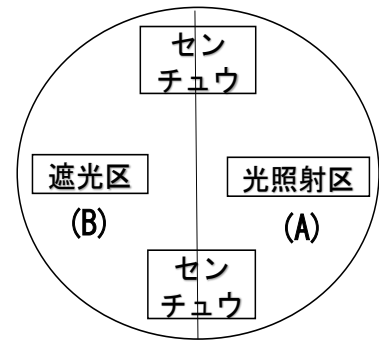


図4 光走性の実験

$$\text{光走性指数} = \frac{(A)}{((A)+(B))} \quad \text{とする。}$$

イ 結果と考察

表2 光走性の結果

| 光照射 | 3区画の平均 | 方向 | 光走性指数 |
|-----|--------|----|-------|
| 有 | 214 | 正 | 0.72 |
| 無 | 83 | 負 | 0.28 |

正の光走性を示したため、**感覚ニューロン**で光を受容し、**神経環（脳）**で光刺激を処理し、**筋肉系**へつながる**神経回路**が存在するのではないかと推察される。

(3) 化学走性の調査

ア 実験方法

- ① シャーレの半分に塩化ナトリウム、アミノ酸（アスパラギン酸）を滴下した。
- ② 線虫をシャーレの中央に移す。
- ③ 三日後、集合状態を観察し、5mm²当たりの個体数を数えた。3区画切り取り、その平均を調べた。
- ④ 化学走性指数

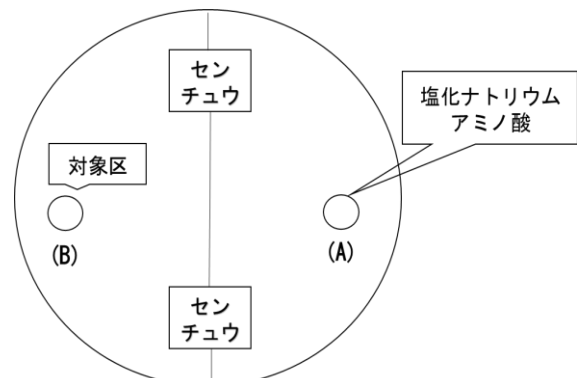


図5 化学走性の実験

$$\text{化学性指数} = \frac{(A)}{((A)+(B))} \quad \text{とする}$$

イ 結果と考察

NaCl水溶液について、1.0%で正の化学走性を示し、化学走性指数が最も高くなった。NaClが餌である細菌の存在を示しており、NaClに引き付けられるのではないかと推察される。高濃度のNaCl水溶液に対しては、浸透圧に対しての防御機構がはたらき負の走性を示すのではないかと推察される。アミノ酸水溶液について、正の化学走性を示し、濃度を高くすれば、化学走性指数が大きくなった。アミノ酸はタンパク質合成に必要な物質なので、濃度が大きいほど化学走性指数も大きくなるのではないかと推察される。

表3 化学走性の実験結果

| 物質の種類 | 濃度 | 物質の有無 | 平均値 | 化学走性指数 |
|--------|--------|-------|------|--------|
| NaCl | 0% | 蒸留水 | 54 | 0.53 |
| | | 無 | 48 | |
| | 0.001% | 有 | 107 | 0.46 |
| | | 無 | 125 | |
| | 0.01% | 有 | 114 | 0.62 |
| | | 無 | 69 | |
| | 0.10% | 有 | 58 | 0.88 |
| | | 無 | 8 | |
| | 1.00% | 有 | 81 | 0.93 |
| | | 無 | 6 | |
| | 5.00% | 有 | 35 | 0.64 |
| | | 無 | 20 | |
| 10.00% | 有 | 84 | 0.39 | |
| | 無 | 131 | | |
| アミノ酸 | 0.100% | 有 | 132 | 0.67 |
| | | 無 | 66 | |
| | 1.00% | 有 | 233 | 0.81 |
| | | 無 | 55 | |

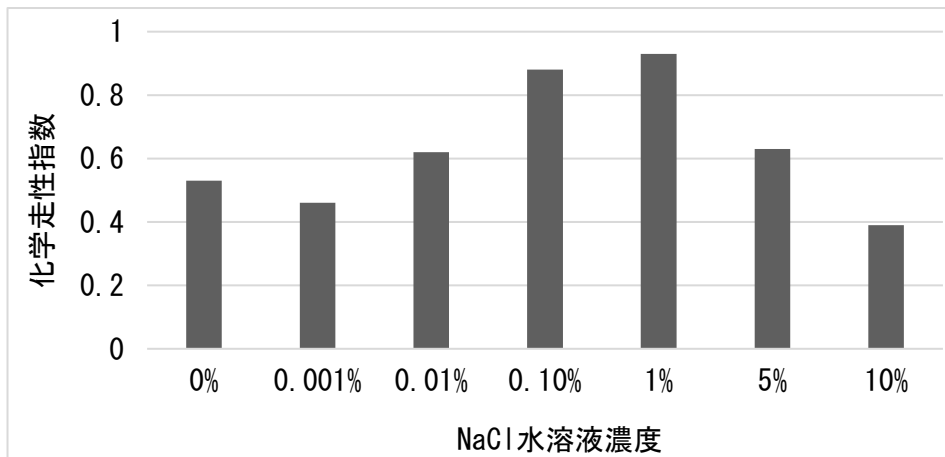


図6 NaCl 水溶液濃度と化学走性指数

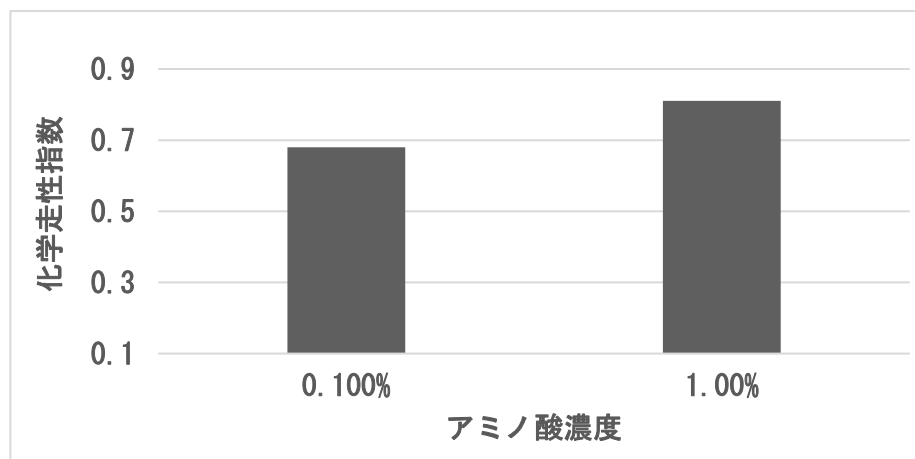


図7 アミノ酸水溶液濃度と化学走性指数

(4) 温度に対する反応

ア 実験方法

- ① 線虫を予め 15 度、20 度、25 度の温度で培養する。
- ② 保冷剤とカイロを使用し、シャーレに温度勾配を付けた。
- ③ それぞれの温度で培養した線虫をシャーレに移した
- ④ 1 日後、集合状態を観察し、5 mm² 当たりの個体数を数えた。3 区画を切り取り、その平均を求めた。

イ 結果と考察

表3 温度走性の結果

| 育った培地の温度 | 培地の温度勾配 | | | 温度走性指数 |
|----------|---------|-----|-----|--------|
| | 15℃ | 20℃ | 25℃ | |
| 15℃ | 207 | 131 | 43 | 0.54 |
| 20℃ | 136 | 161 | 60 | 0.45 |
| 25℃ | 57 | 41 | 99 | 0.50 |

栄養条件を十分にした育った場所の温度で、温度走性指数が高くなっている。よってセンチュウは温度を記憶することができるのではないか。

4 結論

- ・線虫は正の光走性を示す。
- ・線虫は、NaCl 水溶液やアミノ酸水溶液に対して正の化学走性を示す。
- ・線虫は、生まれた時の温度条件や生育環境が整っているときの温度条件を記憶し、その温度に対して正の温度走性を示す可能性がある。

5 今後の課題

- ・正の光走性を引き起こすための感覚ニューロン及び神経回路の解明。
- ・センチュウの温度を記憶する神経系のメカニズムの解明
- ・オンアイス（0℃～5℃ 氷などによる低温刺激）やヒートショック（50℃～60℃ タンパク質が変性しない程度の温度）などの刺激が、行動様式に与える影響の検証。

参考文献

- 飯野雄一・石井直明(2003):シュプリンガー・フェアラーク株式会社『線虫 究極のモデル生物』、
水久保隆之・二井一禎(2014):亜細亜印刷株式会社『線虫学実験』
鈴木恵子(2011):線虫を用いた発生学および遺伝学実験の教材化の研究、
鈴木恵子(2014):啓林館『線虫 (C. elegans) の教材化』
https://www.shinko-keirin.co.jp/keirinkan/kou/science/seibutsu-jissen_arch/201411/
土壌線虫の教材化に関する研究 —マイ土壌線虫を使った実験・観察—
<https://www.chiba-c.ed.jp/shidou/k-kenkyu/H23/rika-4.pdf>