

ゾウリムシ *P.tetraurelia* の生物対流とフロント形成 Bioconvection and front formation of *Paramecium tetraurelia*

狐崎 創, 奈良女大人間文化, 〒630-8506 奈良市北魚屋西町, E-mail: kitsune@ki-rin.phys.nara-wu.ac.jp

小森 理絵, 徳島文理大薬, 〒769-2193 香川県さぬき市志度
春本 晃江, 奈良女大理, 〒630-8506 奈良市北魚屋西町

So Kitsunezaki, Graduate School of Human Culture, Nara Women's University, Nara, 630-8506, Japan
Rie Komori, Faculty of Pharmaceutical Sciences at Kagawa Campus, Tokushima Bunri University, Shido, Kagawa 769-2193, Japan
Terue Harumoto, Faculty of Science, Nara Women's University, Nara, 630-8506, Japan

Bioconvection is fluid convection driven by swimming of microorganisms, which has been found for many kinds of protozoa and bacteria. In the case of *Paramecium tetraurelia*, it can be observed in large-density suspensions obtained by centrifugal concentration. We investigated the formation process of bioconvection of *P. tetraurelia* by using Hele-Shaw type containers, and found that the bioconvection appears with the propagation of a crowded front of paramecia. The results of experiments in nitrogen-gas environments suggest that the lack of oxygen causes such front formation. The fluid convection becomes non-stationary as the depth of a suspension increases, and its roll structures change rapidly with an increase of the density of paramecia.

1. 始めに

微生物の高密度の懸濁液では、熱対流と一見よく似た対流パターンが自発的に発生し、数時間にわたって続く現象がしばしば観察される。この対流は、微生物の個体運動によって維持されるので、生物対流と呼ばれている。

微生物の運動により、系が静水力学的に不安定な密度状態へと絶えず駆動されることがこの種の対流の原因である。生物対流を示す典型的なケースでは、微生物の各個体に上昇運動する性質があり、これによってまず水面付近に個体密度の高い層が形成される。しかし、微生物の各個体が周囲の流体よりわずかに重いと、この状態は懸濁液の比重が上下で逆転した不安定な状態である。その結果、Rayleigh-Taylor(RT)あるいはRayleigh-Bernard(RB)タイプの不安定性によって決まる間隔で層から下降流が発達する^(1, 2, 3, 4)。

生物対流は多くの種類の原生動物やバクテリアで見ついているが、上昇運動の原因は様々である。例えば、ゾウリムシに近い繊毛虫の仲間の *Tetrahymena pyriformis* は、体の形状から後部が重いために重力下では上に泳ぐ傾向がある (gyrotaxis)。また、緑藻の仲間の *Chlamydomonas nivalis* は重力の対する負の走行性と共に光に対する走行性 (phototaxis or photokinesis) があり、バクテリアの一種である枯草菌 *Bacillus subtilis* は、拡散的な運動の結果、酸素濃度の高い水面付近に集まることが知られている (oxykinesis)^(5, 6, 7, 8, 9)。

このような生物対流に対してはいくつかの数理モデルが提案されている。推進運動による流れと移流を考慮して、Navier-Stokes 方程式と微生物の拡散方程式を構成する手法が一般的であり、線形および弱非線形解析、数値計算などを使って調べられている^(10, 11, 12, 13, 14, 15, 16)。

2. ゾウリムシの生物対流の形成過程

本研究では *P. tetraurelia* の生物対流に関する実験を行った⁽¹⁷⁾。*P. tetraurelia* は体長約 90 ~ 170 μ m の葉巻型の繊毛虫で、その比重は水よりわずかに大きい。ゾウリムシは、過去に生物対流の実験が行われた代表的な微生物の中では大型な部類に属し、また thermotaxis, glavanotaxis, chemokinesis, rheotaxis など、様々な刺激に対して複雑な応答を示すことが知られている^(18, 19, 20, 21)。ゾウリムシは他の個体と衝突すると接触を避けて回避行動をするので普段は拡散的に振る舞い一様な密度分布

を作る傾向があるが、通常の個体密度の 100 倍程度に濃縮した高密度の懸濁液の中では生物対流によって生じた個体密度の濃淡模様が観察できる。

実験では、培養後の *P. tetraurelia* (wild stock 51) を遠心分離器を用いて 10⁵ cells/ml 程度まで濃縮した液を用い、間隔 $D = 1.23\text{mm}$ の 2 枚の平行なスライドガラスを側壁として作った Hele-Shaw 容器 (幅 $W = 66.7\text{mm}$) 内で準 2 次元的な対流の実験を行った。*P. tetraurelia* の生物対流はこれまで報告されている例とは異なり、下図のように高密度のゾウリムシのフロントが伝播しながら形成される。

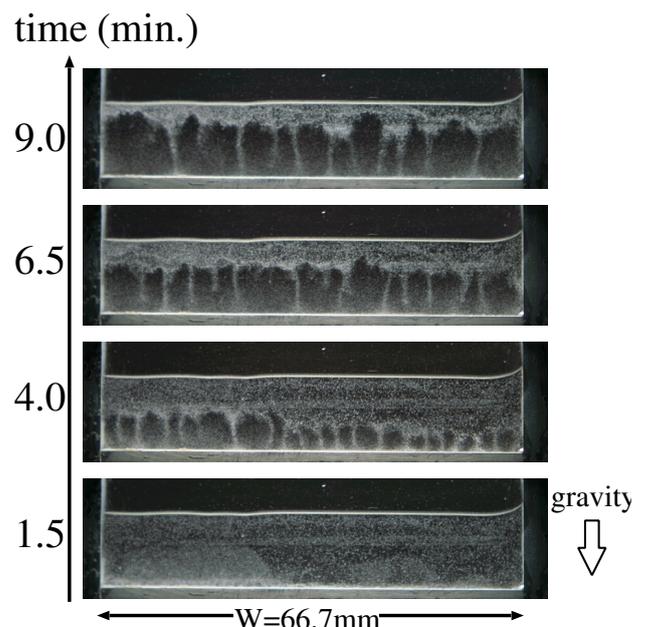


Fig. 1 The formation process of bioconvection. The density and the volume of the suspension was $1.06 \pm 0.16 \times 10^5$ cells/ml and 1000 μ l. Large-density regions of paramecia look white in this photograph.

このようなフロントは攪拌後静置すると、しばらくしてから容器の底付近に形成され、ゆっくり水面に向かって伝播した後、

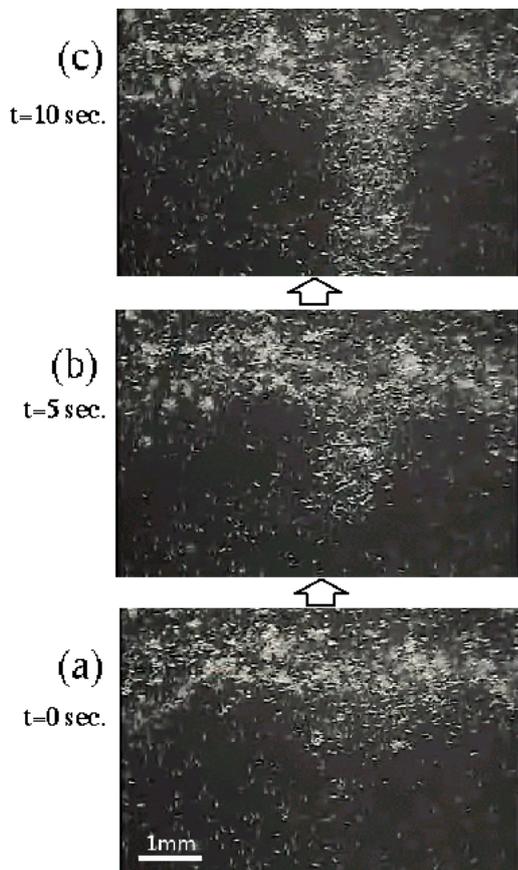


Fig. 2 Microscope images of a front. These photographs were taken at intervals of 5 seconds. A decent flow is observed to be developing.

水面付近で止る。対流はこのフロントの下に発生する。フロントの形成や伝播にかかる時間を調べてみると、ゾウリムシの密度と水深に関して増加関数であることがわかった。

図2はフロントからちょうど下降流が成長する過程の実体顕微鏡写真である。フロントではゾウリムシが渋滞状態になっている。フロントが通過するまでは、ゾウリムシはほぼ止まっているかランダムに泳いでいるので、その運動に平均的な方向性は見られない。一方、フロント通過後はゾウリムシは活発に運動している。ゾウリムシは、フロントから発達した下降流で運ばれるが、下降流から出ると上方へと泳いでフロントに戻り、その運動には明らかに方向性がある。

フロントでは数匹～数十匹の個体からなるクラスターが多数できている。クラスターはしばしばフロントから離れて沈むが、フロントから離れて沈み始めたクラスターではクラスターを構成しているゾウリムシが活発に運動を始めクラスターが分解する。フロントの概形はクラスターが上昇流の中に落下しても、落下したクラスターが少数であれば安定に保たれる。上昇流の中ではクラスターが分解した後、ゾウリムシは個々に上へと遊泳を始めるのが観察できる。

このようなフロントの形成は、懸濁液内の酸素が欠乏が原因と考えられる。懸濁液の上の空気を窒素ガスで置換すると、生物対流もフロントも消滅し全体がほぼ一様な密度になり、空気を再び入れるとゾウリムシが水面付近に集まり対流が再生される。また、希釈した低密度の溶液でゾウリムシの個体運動を調べると、遊泳速度が窒素環境で増加し、動きが活発になることがわかった。空気中では酸素は水面から供給されるが、高密度

のゾウリムシが大量の酸素を消費すると、底付近から酸素の欠乏が起り、それがゾウリムシの運動を活発にして渋滞フロントを形成するものと推測できる。

3. 対流パターンの時間発展

図3は、一定時間間隔で撮影された対流パターンの各デジタル画像を決まった高さで水平方向にスライスして1ピクセルの行を取り出し、時間順に並べて合成した時空プロットである。容器に入れる懸濁液の量を変えた水深の異なる3つの実験の結果を載せている。画像で白い部分がフロントから発達した下降流に対応する。攪拌した後、フロントが上昇してくるまでは、個体密度はほぼ一様であるが、フロント通過後は対流によるパターンが現れる。

対流によって生じるロール構造は水深が浅いとほぼ定常になるが、水深が大きいと非定常である。フロントからは下降流が頻繁に発達するが、下降流は水平方向にゆっくりと動いて、互いに合体して大きな下降流を作る。懸濁液のゾウリムシの個体密度を小さくすると、このような非定常な時間発展は遅くなるが定常にはならない。

フロントから発生する小さな下降流の間隔はどの水深でもあまり変化しないのに対し、合体を繰り返して発達する大きな下降流の間隔は水深で決まっているように見える。このような非定常性の原因はまだ明らかではないが、フロントの最大不安定波長と、水深という2つのスケールの不一致が非定常な時間発展をもたらしていると推測される。

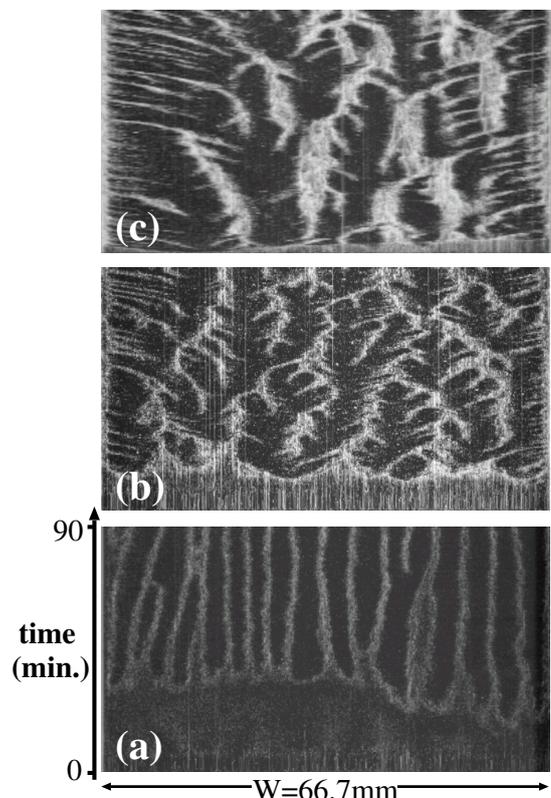


Fig. 3 Space-time plots for suspensions of various volumes; (a) $V = 500 \mu\text{l}$, (b) $V = 1000 \mu\text{l}$ and (c) $V = 1400 \mu\text{l}$. These were obtained from a sequence of digital images by cropping horizontal slices for a fixed height y . $y = 0.5H$ for (a) and $y = 0.75H$ for (b) and (c), where $H \equiv V/D$ is the height of a suspension.

4. 結論

遠心濃縮で得られた高い密度の *P. tetraurelia* の懸濁液を用いた生物対流の実験の結果を報告した。

P. tetraurelia の生物対流は、ゾウリムシが渋滞した密度の高いフロントの伝播とともに形成されるが、このようなフロントは、ゾウリムシが酸素を消費した結果生じる酸素の欠乏により、個体運動が活発になって生じていると考えられる。

対流のロール構造は、水深が深いと非定常な時間発展をするが、これはフロントの最大不安定波長と水深のスケールの不一致が原因であると予想される。フロントの最大不安定波長が RT 不安定性で決まっているとすれば、それはフロントによって作られるゾウリムシの密度差に依存して決まるはずである^(2,8)。従って、密度差がほぼ一定に保たれるようなフロントの形成のメカニズムがあると期待される。これは、今後、数理モデルなどを通して検討すべき課題である。

生物対流の発生は、懸濁液中の酸素分布や個体の長距離の移動の性質を変化させ、ゾウリムシの生存にとって何らかの影響があると思われるが、その点はまだ未解明である。生物のつくる”流れ”と言うと、鳥や魚の作る群れのように各個体の目的をもった行動の結果として作られたり、バクテリアのコロニーや細胞性粘菌のように各個体に意図がなくても結果として明らかに生存に有利に働くものを連想することが多い。それに対して、生物対流は環境の物理的な条件から発生した受動的な集団運動であり、生存戦略に利用される以前の原始的な集団運動の始まりを考える上で重要であろう。

参考文献

- (1) M. S. Plesset and C. G. Whipple, *Phys. Fluids* **17**(1974), pp.1.
- (2) S. Childress, M. Levanodowsky and E. A. Spiegel, *J. Fluid Mech.* **63**(1975), pp.591.
- (3) M. S. Plesset, C. G. Whipple and H. Winet, *J. Theor. Biol.* **59**(1976), pp.331.
- (4) T. J. Pedley and J. O. Kessler, *Annu. Rev. Fluid Mech.* **24**(1992), pp.313.
- (5) J. O. Kessler, *Nature* **313**(1985), pp.218.
- (6) M. A. Bees and N. A. Hill, *J. Exp. Biol.* **200**(1997), pp.1515.
- (7) I. M. Jánosi, J. O. Kessler and V. K. Horváth, *Phys. Rev. E* **58**(1998), pp.4793.
- (8) A. Czirók, I. M. Jánosi and J. O. Kessler, *J. Exp. Biol.* **203**(2000), pp.3345.
- (9) Y. Mogami, A. Yamane, A. Gino and S. A. Baba, *J. Exp. Biol.* **207**(2004), pp.3349.
- (10) J. O. Kessler, *J. Fluid Mech.* **173**(1986), pp.191.
- (11) T. J. Pedley, N. A. Hill and J. O. Kessler, *J. Fluid Mech.* **195**(1988), pp.223.
- (12) A. Harashima, M. Watanabe and I. Fujishiro, *Phys. Fluids* **31**(1988), pp.764.
- (13) N. A. Hill, T. J. Pedley and J. O. Kessler, *J. Fluid Mech.* **208**(1989), pp.509.
- (14) T. J. Pedley and J. O. Kessler, *J. Fluid Mech.* **212**(1990), pp.155.
- (15) A. M. Metcalfe and T. J. Pedley, *J. Fluid Mech.* **370**(1998), pp.249.
- (16) M. Nagataki, 数理解析研講録 **1313**(2003), pp.36.
- (17) S. Kitsunezaki, 数理解析研究所講録 **1472**(2006), pp.129.
- (18) K. Hausmann and N. Hülsmann, *Protozoology*, *2nd ed.*

(Georg Thieme Verlag, New York, 1996).

(19) R. Wichterman, *The Biology of Paramecium*, *2nd ed.* (Plenum Press, New York, 1986).

(20) J. V. Houten and R. R. Preston, *Paramecium*, edited by H.-D. Görtz (Springer, Berlin, 1988), pp. 282–300.

(21) J. O. Kessler, *Comments Theor. Biol.* **1**(1989), pp.85.