OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	アンドレイミミズの概日リズムの探究
Author(s)	水谷, 瑞穂
Citation	平成29年度学部学生による自主研究奨励事業研究成果報告書. 2018
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/68102
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

様式６

申請先学部　　学部　採択番号　No.

平成２９年度学部学生による自主研究奨励事業研究成果報告書

ふりがな 氏　　名	みずたに　みずほ 水谷　瑞穂	学部 学科	理学部 生物科学科	学年	２年
ふりがな 共　同 研究者氏名		学部 学科		学年	年
					年
					年
アドバイザー教員 氏名	志賀　向子	所属	比較研究生物学研究室		
研究課題名	アンドレイミミズの概日リズムの探究				
研究成果の概要	研究目的,研究計画,研究方法,研究経過,研究成果等について記述すること。必要に応じて用紙を追加してもよい。(先行する研究を引用する場合は,「阪大生のためのアカデミックライティング入門」に従い,盗作剽窃にならないように引用部分を明示し文末に参考文献リストをつけること。)				

A.研究の動機と目的

私は幼い頃から，夜になるとミミズが地上に出てくることに疑問を感じていた。そこで高校２年生の時，ミミズはどのようにして夜を認識するのかと考えた末，光に反応し,弱い光に近づいていくのではないかと考えた。そこでアンドレイミミズ *Eisenia Andrei*（ツリミミズ科）を用いて正負の走光性を調べた結果，*E. andrei* は，1.52 lx より弱い光の下では正の走光性を，強い光の下では負の走光性を持つことがわかった。しかしこの結果について,地中で光はそこまで認識できるのか,といったご指摘を頂いた。そんな中,大学生になり，生物学の授業を受ける中で，多くの動物の体内には体内時計があると知った。そこで私はミミズにも夜に活動するという概日リズムがあるのではないかと思い過去の論文を調べてみた。オオシュウツリミミズ *Lumbricus terrestris*（ツリミミズ科)で昼夜の歩行速度に違いがあることが示されている[1,2]が，概日リズムの３つの性質である，自由継続性，同調性，温度補償性は調べられておらず，ミミズにおいて概日リズムの存在はまだ明確に示されていない。そこで本研究では，*E.andrei* を用いて，自由継続性と同調性を調べ，ミミズの行動にも概日リズムが見られるかを調べ，夜に出てくる行動が概日リズムに因るのかを考察することにした。

B. ミミズの移動速度に関する昼夜の差における既存の報告

暗室で飼育した *L.terrestris* において,12:00 と 19:00 の 2 回ミミズに光を当て,光が当たっている場所からミミズが抜け出すのにかかった時間を計測した。19:00 に計測した場合,309 回行った平均反応時間は 7.13 秒であり,12:00 に計測した場合,平均反応時間は 9.93 秒であり有意に短かった。[1)]

また,同じく暗室で飼育された *L.terrestris* において 45° の傾きがある長さ 10cm の傾斜を何秒で登り切れるか計測した。一日に 7:00,12:00,19:00 の 3 回計測し,時間によって登り切り時間に差がでるかを観察した。7:00 に計測した場合,446 回の試行における平均時間は 17.19 秒,12:00 に行われた 475 回の試行における平均は 21.52 秒,19:00 に行われた 475 回の試行では 16.49 秒だった。 7：00 と 12：00 の平均時間と 12：00 と 19：00 の平均の差は $p < 0.001$ と有意であったことから 12：00 よりも 7：00 の移動速度が速く,12：00 より 19：00 の移動速度が速いことが示されている。[2)]

C. 研究方法

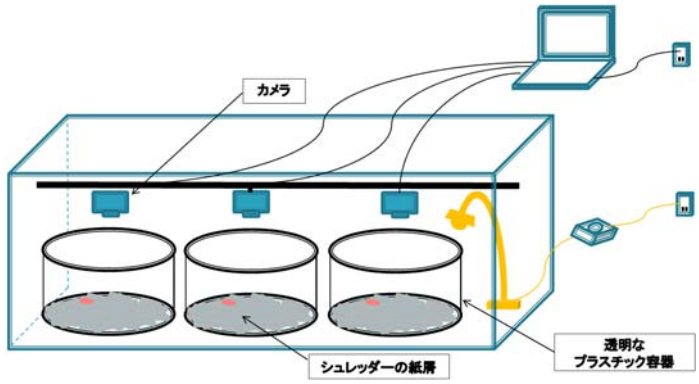
C. 1. 研究対象としたミミズ

ミミズは，日本国内に数百種以上生息するとの報告があるが[3)]，本研究は入手のしやすさを優先し，魚釣りの餌として釣具店で市販されている「ミミズちゃん熊太郎」（マルニチ 21 社）を用いて実験した。なお，このミミズは栃木県立博物館の南谷幸雄氏により *Eisenia andrei*（シマミミズの近縁種でアンドレイミミズと呼ばれている）と同定していただいた[4)]。

C. 2. 活動記録装置

透明な丸形プラスチック容器（スチロール製 V 式容器）の中に，ミミズの小さな動きが分かりやすくなるようにするためシュレッダーにかけた紙を入れた。霧吹きを用いて紙を十分に湿らせ，容器 1 つにつき 1 匹のミミズを置いた。外からの光が入らないように装置全体を黒いプラスチック衣装ケースに入れた。衣装ケースに突っ張り棒を渡し，そこにウェブカメラ（DC-NCR300U）を固定した，ミミズの状態を 10 分ごとに撮影した。ウェブカメラとノートパソコンを接続し，撮影データをノートパソコンに送れるようにした。明暗条件の実験では，衣装ケースに LED デスクライト（LDL-8W）を設置し，24 時間繰り返しタイマー（WH3301WP）を用いて明期暗期の長さを設定した。（図 1）

図 1



C. 3. 実験方法

これらの実験は温度が 20 度に設定された恒温室内で行った。

またこれらの実験は 2017 年 8 月 23 日から 2017 年 11 月 23 日までの期間，複数回行った。

c. 3. 1.　実験Ⅰ　ミミズに同調性があるかを確認する実験

① ミミズを実験装置一つにつき一匹ずつ安置した。

② タイマーで LED ライトを 12 時間明期，12 時間暗期の繰り返しで点灯するようにした。

③ 利用したソフトウェアの名前も入れるとよい　ウェブカメラを 10 分ごとにシャッターを切るようした。

④ 6 日間静置した。

⑤ ウェブカメラの画像を目視で解析した。10 分前に比べてミミズが移動していれば活動しているとし，グラフにまとめた。

C. 3. 2.　実験Ⅱ　ミミズに自由継続性があるかを確認する実験

① 実験Ⅰに用いたミミズを引き続き恒暗条件下で 6 日間飼育し，活動を記録した。

C. 3. 3　実験Ⅲ　ミミズに自由継続性があるかを確認する実験 ii

ミミズは日が経つにつれて弱ってしまうので, 始めから恒暗条件下で観察を行った。

① ミミズを実験装置一つにつき一匹ずつ安置した。
② ウェブカメラを 10 分ごとにシャッターを切るよう設定した。
③ 10 日間静置した。
⑤ ウェブカメラの画像を目視で解析した。10 分前に比べてミミズが移動していれば活動していると判断した。

C. 3. 3　実験Ⅳ　ミミズに同調性があるかを確認する実験 ii

ミミズに同調性があるか明らかにするため, 恒暗条件下で飼育した後, 明暗条件下で観察を行った。時間の都合上, 恒暗条件下での観察は 4 日間とした。

① ミミズを実験装置一つにつき一匹ずつ安置した。
② ウェブカメラを 10 分ごとにシャッターを切るよう設定した。
③ 7 日間静置した。
⑤ 引き続きタイマーで LED ライトを 12 時間明期, 12 時間暗期の繰り返しで点灯するように設定した。
⑥ 4 日間静置した。
⑤ ウェブカメラの画像を目視で解析した。10 分前に比べてミミズが移動していれば活動しているとし, グラフにまとめた。

C. 3. 4 考えられる仮説

これまでの観察により,ミミズは夜に活動しているように見えたため,実験 I では約 24 時間周期で活動期と休息期を繰り返すのではないかと予測した。概日リズムがある場合,恒暗条件下,つまり実験ⅡとⅢでも約 24 時間周期で活動期と休息期を繰り返すと予測できる。ただし恒暗条件下よりも明暗条件下の方が周期はより 24 時間に近いと予測した。

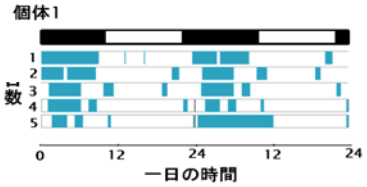
D. 研究の結果と考察

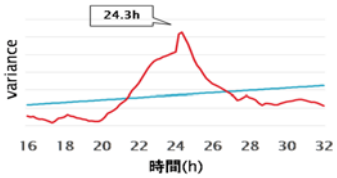
D. 1. 1　明暗条件下の結果

明暗条件下のミミズの動きをダブルプロット方式でグラフに表した。塗りつぶしてある部分が活動期, 白い部分が休息期を表している。

またカイ二乗ピリオドグラムで周期性を解析し，グラフに表した。青い線を越えたところにピークがあれば, 周期性を示していることが分かる。

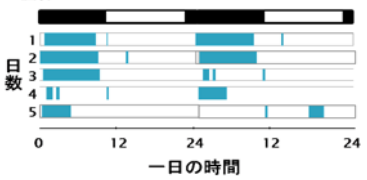
グラフ 1-1

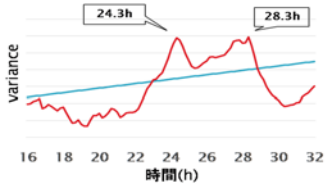




グラフ 1-2

グラフ 2-1





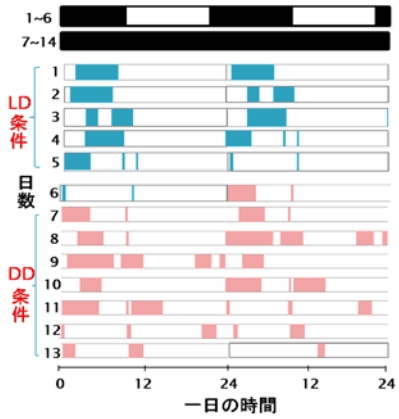
グラフ 2-2

D.1.2　明暗条件下から恒暗条件下の結果

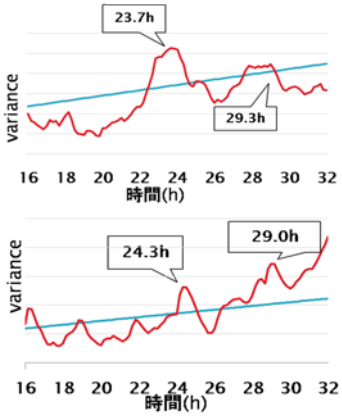
明暗条件下で記録した後,引き続き恒暗条件下で記録したミミズの動きをダブルプロット方式でグラフに表した。

またカイ二乗ピリオドグラムで周期性を解析し，グラフに表した。

グラフ 3-1



グラフ 3-2

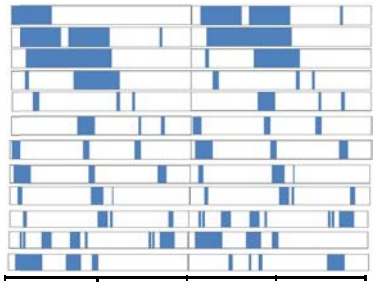


D.1.3　恒暗条件下の結果

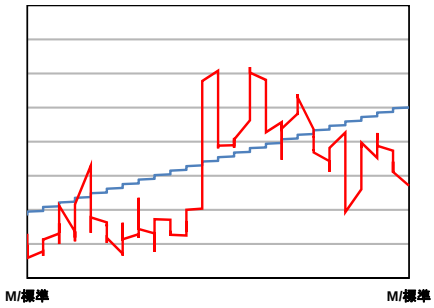
恒暗条件下のミミズの動きをダブルプロット方式でグラフに表した。

またカイ二乗ピリオドグラムで周期性を解析し，グラフに表した。

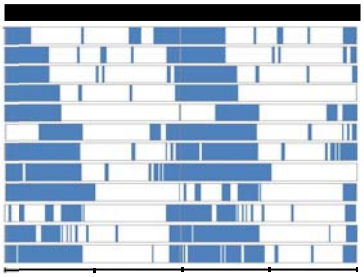
グラフ 4-1



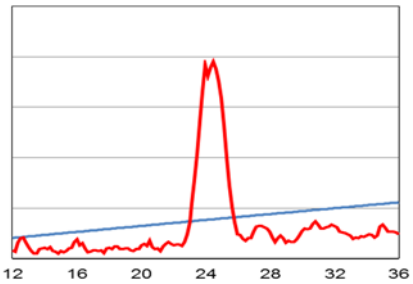
グラフ 4-2



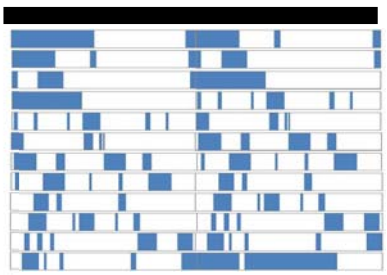
グラフ 5-1



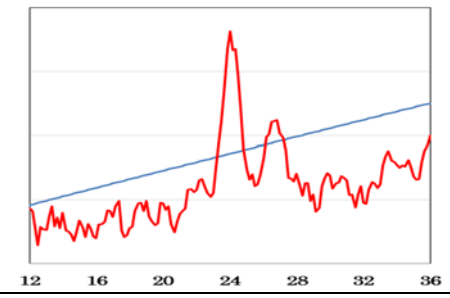
グラフ 5-2



グラフ 6-1



グラフ 6-2



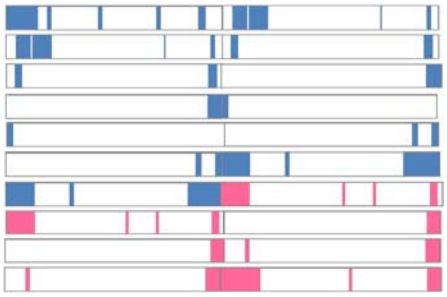
D.1.3　恒暗条件下の結果

恒暗条件下で記録した後，引き続き明暗条件下で記録したミミズの動きをダブルプロット方式でグラフに表した。
またカイ二乗ピリオドグラムで周期性を解析し，グラフに表した。

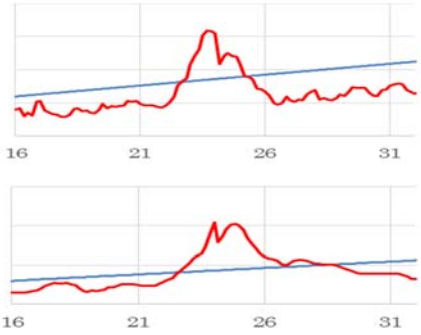
D.1.4　恒暗条件下から明暗条件下の結果

恒暗条件下で記録した後，引き続き明暗条件下で記録したミミズの動きをダブルプロット方式でグラフに表した。
またカイ二乗ピリオドグラムで周期性を解析し，グラフに表した。

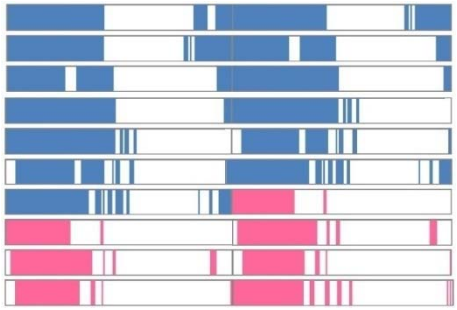
グラフ 7-1



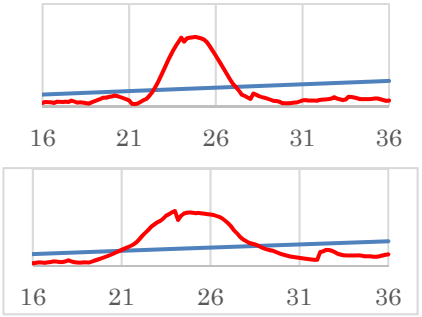
グラフ 7-2



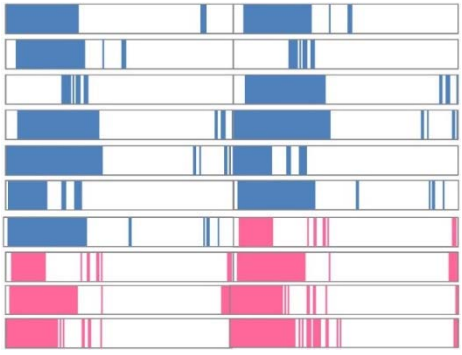
グラフ 8-1



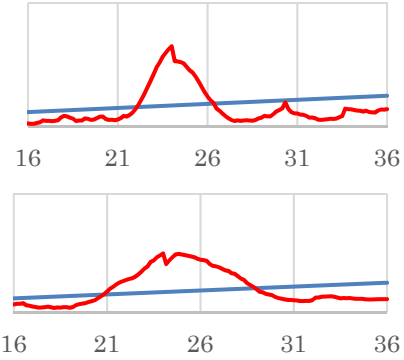
グラフ 8-2



グラフ 9-1



グラフ 9-2



カイ二条ピリオドグラムの解析より,明暗条件下では 24 時間付近で周期性のピークが見え,その後の恒暗条件下でも約 24 時間の周期性が現れた。初めから恒暗条件で行った場合も 24 時間で周期性のピークが見られた。グラフ 2-2,3-2,4-2 においては 26 h から 30 h あたりにもピークが見られた。

D.2 考察

実験Ⅰの結果より，明暗条件ではアンドレイミミズは約 24 時間の周期を持ち，23:00 頃から 10:00 頃に活動量が増えることが分かった。実験Ⅱでの恒暗条件下では 3 日目からは周期性がなくなりつつあるように見えたが，最初の 2 日間は綺麗な周期性が見えたことから自由継続性を示すのではないかと考えられ,実験Ⅲの結果からも自由継続性があると考えられた。カイ二乗ピリオドグラムから明暗条件の周期と恒暗条件の周期にほとんど違いがないことから,光に対する同調性は内可能性が高いと考えられた。23:00 から 10:00 に活度量が増えることから,ミミズが夜に地上に出て活動するのは,自由継続性のためだと考えられる。さらに,一日の中で活動を開始する時間はほぼ同じ時間だが,休息状態に入る時間はグラフ 3-1,4-1,5-1,6-1,9-1 では後ろにずれているように見えた。このこととグラフ 2-2,3-2,4-2,6-2,9-2 においては 24 h 辺り以外に 26 h から 30 h 辺りに周期性のピークが出ていることから,活動開始を知らせる約 24 時間周期の時計と,活動終わりを知らせる約 27 時間周期の時計の 2 種類がある可能性も考えられる。

夜に活動量が増える理由はおそらく,夜は外敵となる鳥などが少ないためだと考えられる。

E 結論

本研究においてアンドレイミミズは，明瞭な自由継続性を示ことが分かった。また光に対する同調性はない可能性が高いと考えられた。

F.今後の発展と展開の可能性,今後の研究の予定

節足動物の概日時計細胞の伝達物質は Pigment-dispersing-factor であると知られているが,環形動物において,また時計が２つある場合において睡眠サイクルに関与するものは何であるのか探索したいと考えている。

G.参考文献

1)Miriam F. BennettDana C. Reinschmidt
“The diurnal cycle and a difference in reaction times in earthworms”
Zeitschrift für vergleichende PhysiologieSeptember 1965Volume 49,
Issue 3pp 407–411
2) Miriam F. BennettDana C. Reinschmidt
“The diurnal cycle and locomotion in earthworms”
Zeitschrift für vergleichende Physiologie January 1966 Volume 51, Issue 3 pp 224–226
3) 渡辺弘之　『ミミズ―嫌われもののはたらきもの』東海大学出版社 2006年
4) 南谷幸雄氏からの私信メール
5)JulianeZantke et al.
“Circadian and Circalunar Clock Interactions in a Marine Annelid”
CellReportsVolume 5, Issue 1, 17 October 2013, Pages 99-113

様式６

申請先学部　　学部　採択番号　No.