

声振动对秀丽隐杆线虫转向行为的影响

张阳, 吉鸿飞, 罗林姣*, 郭霞生, 屠娟, 章东

南京大学声学所, 近代声学教育部重点实验室, 南京 210093

* 联系人, E-mail: linjiao@mail.nju.edu.cn

2015-03-24 收稿, 2015-06-07 修回, 2015-06-12 接受, 2015-11-24 网络版发表

国家重点基础研究发展计划(2011CB707900)和国家自然科学基金(81127901, 81227004, 11374155, 11174141, 11104140, 11304153)资助

摘要 秀丽隐杆线虫是一种典型的模式生物, 且其神经系统对光、电、热梯度以及化学药物等有反应. 本文报道了声振动对线虫转向行为影响的研究. 建立了一套实时的声波作用线虫的电脑成像系统, 实现拍摄并统计分析指定区域内多条线虫的行为; 基于粒子追踪与形状分析算法, 量化线虫行为; 利用OFV-5000模块化激光测振系统测量培养基在声波作用下的振动; 通过改变声波的位移振幅及频率等参数探讨声振动对线虫转向行为的影响. 定义声感系数来衡量线虫转向行为受声振动影响的大小. 实验结果表明: 秀丽隐杆线虫可以感受到声振动, 并且对声振动具有一定的适应性; 相对于野生型线虫N2, 机械力感觉神经元存在缺陷的突变体线虫mec-4, mec-7对声振动的响应减弱, 表明机械力感觉神经元参与了对声波的感应; 对于同一频率的声波, 位移振幅的增加刺激了线虫的转向行为; 但在固定位移振幅下, 随着频率的升高, 线虫的转向行为呈现先增强后减弱的趋势. 本文的工作为进一步探究声波对线虫神经系统的作用并用于治疗神经系统疾病奠定了理论及实验基础.

关键词 秀丽隐杆线虫, 声振动, 转向行为, 频率, 位移振幅, 测振系统

人脑和其他高等动物大脑是由数百亿的神经细胞和数十万亿的神经突触组成的复杂体系, 不利于神经学机理的基础研究. 秀丽隐杆线虫作为一种典型的模式生物, 具备以下优点: (1) 神经结构简单(只有302条神经), 并且神经之间的相对位置和相互之间的连接已经通过电子显微镜重建, 各条神经的功能和性质已清楚; (2) 易于实验室培育; (3) 基因组已被完整测序, 在基因表达上容易操控等^[1]. 基于上述特点, 秀丽隐杆线虫适合作为神经学机理研究对象.

大量研究表明, 秀丽隐杆线虫对力、光、热、电、化学药物等刺激都有反应. 例如: 线虫身体遭受触碰时的对抗性反应^[2], 线虫对化学梯度变化表现出来的趋化性^[3], 线虫对温度梯度的感应^[4]. 秀丽隐杆线虫能够通过不同的神经回路感知不同的机械刺激. 线虫可以感知的机械感应包括轻触^[5]、重触^[6]、触碰鼻子^[7]等. Wicks和Rankin^[8]设计了一种可以用电信号控

制的探针来敲打装有线虫的培养皿, 观察线虫的爬动行为, 并对线虫的神经系统进行研究.

声波作为一种机械波, 可以产生介质位移, 且其振幅及频率可以精确控制. 但至今基于声波对线虫行为的影响研究还未见报道. 本文研究了声波对线虫行为的影响. 建立了一套实时的声波作用线虫的电脑成像系统, 实现拍摄并统计分析指定区域内多条线虫的行为; 基于粒子追踪与形状分析算法, 量化分析线虫行为; 利用模块化激光测振系统测量培养基在声波作用下的振动; 通过改变声波的位移振幅及频率等参数探讨声振动对线虫转向行为的影响.

1 实验材料与方法

1.1 线虫的培养

对野生型线虫N2、突变体线虫mec-4(e1611)和

引用格式: 张阳, 吉鸿飞, 罗林姣, 等. 声振动对秀丽隐杆线虫转向行为的影响. 科学通报, 2016, 61: 536–542

Zhang Y, Ji H F, Luo L J, et al. Effects of acoustic vibration on the reorientations of *C. elegans* (in Chinese). Chin Sci Bull, 2016, 61: 536–542, doi: 10.1360/N972015-00274

mec-7(e1343)(*C.elegans* Genetic Center, Minneapolis, 美国), 用标准方法在20℃的环境下培养^[9]. 在每组实验中, 首先挑选25条成年线虫(卵产下后72 h), 在标准培养液中清洗1~2 min, 然后将洗净的线虫转移到一个边长为10 cm的装有标准培养基的正方形培养皿中.

1.2 声振动作用系统

如图1所示, 载有线虫的培养皿置于扬声器斜下方, 扬声器出口对准培养皿中心点, 且与水平方向呈45°, 扬声器端口中心点距离培养皿中心点的距离固定为7.5 cm. 信号发生器(33250 A, Agilent, 美国)产生正弦波脉冲信号, 经过功率放大器(DC-80, AUDIO, 浙江, 中国)后驱动扬声器(PI-615, DRIVER UNIT, 江苏, 中国)发出声波. 正弦脉冲信号(幅度、频率及脉冲数)通过计算机上的LabVIEW软件(National Instruments, Austin, TX, 美国)控制. 实验开始前用OFV-5000模块化激光测振系统(Polytec, 德国)测量培养皿中心点处位移振幅 ξ 的大小. 实验采用声波的频率范围为60~1000 Hz, 其波长远大于培养皿尺度, 可以忽略位移振幅在培养皿这一小范围内差异.

1.3 线虫行为采集

整个实验都在一个不透光的密闭环境中进行. 选用4排超亮的LED灯从四周给线虫照明, 并且用吸声板将整个实验装置包围起来, 以减小环境噪声对实验的干扰. 使用LabVIEW软件控制CCD照相机(BCE-B050-U, Mightex, 美国)来连续拍摄照片记录线虫的行为(图1), 每组实验拍摄持续30 min, 照片曝光时间为0.5 s. 借助于LabVIEW软件, 可以记录线虫的运动轨迹.

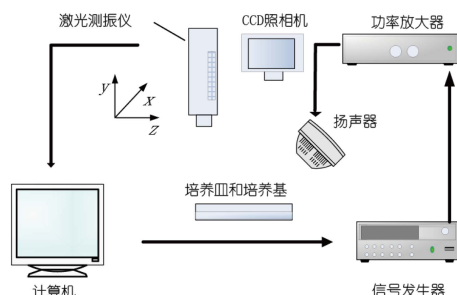


图1 (网络版彩色)实验装置示意图

Figure 1 (Color online) Schematic diagram of experimental setup

1.4 线虫行为量化分析

在各向同性的环境中, 线虫的爬行是一种随机游走: 分段的相对直行被随机出现的转向行为所打断. 线虫的转向行为分为2种: Ω 转向和倒退转向. 其中 Ω 转向表现为线虫的头部往后仰, 接触到尾部, 形成类似 Ω 的形状, 之后再伸展身体选择新的前进方向; 倒退转向表现为线虫倒退几秒钟后, 再选择新的前进方向.

为了实现对线虫行为的自动量化分析, 采用LabVIEW和MATLAB(Mathworks, Natick, 美国)自主编写了视觉追踪和图形分析软件. 在自动标记线虫转向行为的时候, 同时考虑了线虫质心的运动和线虫的身体形状. 当线虫做出 Ω 转向时, 身形长宽比降低, 随着前进的方向改变; 当线虫做出倒退转向时, 身形长宽比基本保持不变, 而质心方向会沿着来时路线后退一段距离. 由于线虫的朝向是不断变化的, 计算其身形长宽比必须要首先找出其图形长宽的朝向. 计算了图形的像素强度协方差矩阵, 其2个本征值的大小分别对应图形的最长边长(L)和最短边长(W), 2个本征值的比值能表征图像偏离正方形的程度(具体解释见 http://en.wikipedia.org/wiki/Image_moment). 取2个本征值的比值 η ($\eta=L/W$) 来表征线虫身形长宽比(η 较小表征线虫头尾相接, 趋近 Ω 形; η 较大表征线虫身体比较伸展), 如图2所示. 当 $\eta < 1.8$, 且此后 θ 在1 s内的改变超过60°时, 标记为 Ω 转向; 当 θ 与倒退方向的夹角不超过20°, 且在此期间保持 $\eta > 2$, 标记为倒退转向^[10]. 自动量化分析的精确程度都通过人机交互系统(同时显示线虫的运动图像和自动量化的结果)进行了人为校对.

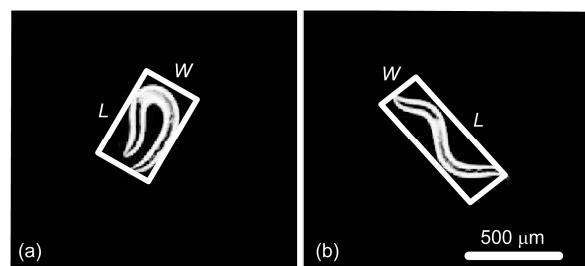


图2 线虫身形长宽比量化分析. (a) Ω 转向, 长宽比 η 较小; (b) 直行或倒退转向, 长宽比 η 较大

Figure 2 Quantify the aspect ratio of the worm image. (a) Ω turn, small aspect ratio; (b) forward movement or reversal turn, large aspect ratio

1.5 激光测振

OFV-5000模块化激光测振系统(Polytec, 德国)可以对单点振动实现非接触式测量. 系统由OFV-525高速光学头和OFV-500-S控制器组成. 系统覆盖的振动频率上限为1.5 MHz, 测量振动位移范围从亚纳米到几厘米. 利用该系统可以测量培养皿在声振动作用下的振动位移.

2 实验结果与讨论

2.1 线虫在声振动作用下的转向行为

把线虫放到干净的培养基上, 在一定频率的声波作用下线虫会产生转向行为. 图3左侧为500 Hz声波($\xi=1.4\ \mu\text{m}$)作用下某条线虫在0~787 s时间内的爬行轨迹. 当没有外界刺激时, 线虫会自由地爬行, 伴有随机性的转向行为, 这种转向行为的概率是固定的^[11]; 图中“*”号所在位置表示该时刻有声波作用于线虫, 当有声音作用于线虫时, 线虫会出现明显的转向行为. 图3右侧为放大后线虫在不同时刻的运动形态, 在201 s, 线虫处于正常爬行状态, 身体形状接近正弦曲线; 在210 s时, 线虫正在进行 Ω 转向, 线虫身体呈半圆形, 在219 s时, 线虫正在进行倒退转向.

2.2 声振动作用下的线虫行为分析

每组实验信号有15个周期, 每个周期长120 s. 以第一个周期为例说明, 如图4所示, 0~60 s为off状态, 60~120 s为on状态, on状态区间内每隔18 s信号发

生器发出时间长度为0.5 s的脉冲信号, 脉冲信号参数(幅值、频率、脉冲个数)根据实验需要设定. 根据上文描述, 可以对如图3所示的轨迹进行分析处理, 统计出每组实验(15个周期)中off与on转向次数的总和, 进一步可得出off与on的转向频率, 即每秒钟内线虫的转向次数(图4). 由图4可见, 在无声波作用时, 线虫转向频率为0.04 Hz, 而在500 Hz的声振动作用下, 线虫转向频率为0.17 Hz, 转向次数增加了325%, 声振动对线虫转向行为作用明显. 特别地, 利用线虫量化分析算法还可以得到, 在此声波作用下, 线虫的 Ω 转向占45%, 倒退转向占55%; 没有声波作用时, Ω 转向占64%, 倒退转向占36%.

2.3 线虫对声振动适应性初步研究

线虫对机械刺激表现出一定的适应性^[12]. 线虫对于某种刺激适应性越强, 线虫再次受到该刺激时作出反应的概率就越低, 适应性越弱表现为线虫再次受到刺激是作出反应的概率越高. 影响线虫适应性的因素包括线虫寿命、刺激的强度以及刺激的时间间隔等. Beck与Rankin^[12]发现老年线虫(卵产后大于120 h)对于间隔机械刺激的适应性要强于年轻线虫; Timbers等人^[13]进一步对中年线虫(卵产后72~120 h)的适应性研究发现, 年龄越大, 刺激间隔越短, 刺激强度越弱, 适应性越强.

为了研究线虫对声振动的响应是否具有适应性, 选取年轻的成虫(卵产后72 h), 采用的声波频率 $f=500\ \text{Hz}$, 位移振幅为 $1.4\ \mu\text{m}$, 相邻声波刺激的间隔为18 s. 研究表明, 第2次声波刺激时线虫转

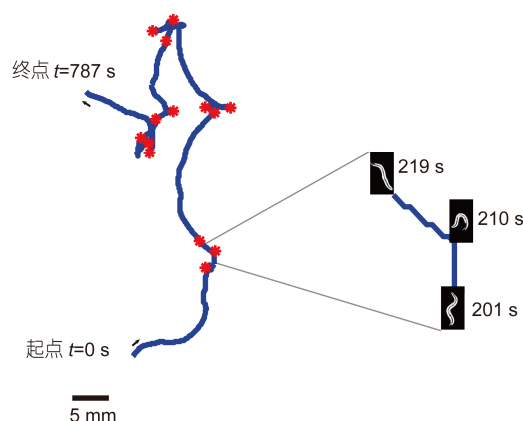


图3 (网络版彩色)声振动作用下线虫爬行的代表性质心轨迹
Figure 3 (Color online) A representative center-of-mass trajectory of an individual worm subjected to acoustic stimuli

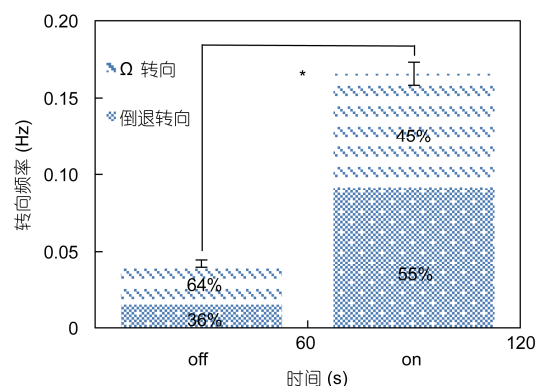


图4 (网络版彩色)500 Hz声波($\xi=1.4\ \mu\text{m}$)作用下off-on转向频率对比及不同转向类型所占百分比

Figure 4 (Color online) Comparison of reorientation frequency between off and on at $f=500\ \text{Hz}$ ($\xi_0=1.4\ \mu\text{m}$)

向频率为首次声波刺激时转向频率的77.8%，第3次声振动时转向频率为首次声振动的66.7%，说明线虫对声振动具有一定的适应性。

2.4 线虫感知声振动的突变体分析

由于声波是一种机械波，线虫对声振动的感知很可能与对机械振动的感知有关联。充当线虫触觉感知器的主要有6个机械力感觉神经元：PLML, PLMR, ALML, ALMR, AVM和PVM^[14]。mec-4基因和mec-7基因集中表达在上述6个机械力感觉神经元中，对这2个基因进行突变的线虫均表现出不正常的机械触碰感知^[15-18]。在mec-4(e1611)突变体线虫中，由于对mec-4基因的功能获得性突变，导致6个触觉神经元的退化和死亡，因而不能感知轻微型的触碰(如用眼睫毛触碰线虫身体等)；而mec-7编码形成15根原纤维丝的微管，在线虫中只有上述6个机械力感觉神经元有15根原纤维丝的微管，其他的微管都由11根原纤维丝组成。mec-7(e1343)突变体线虫中的机械力感觉神经元不正常(缺少15根原纤维丝的微管)，因此对机械触碰的感知有所减弱，但并未完全丧失感知机械振动的能力^[17,18]。

在500 Hz声波($\xi=1.4 \mu\text{m}$)作用下，对野生型线虫N2和机械力感觉神经元缺陷的突变体进行了对比。为了抵消不同类型线虫基础转向频率的差异，定义一个无量纲的新参量：声感系数，以描述线虫转向行为与声振动的关系，规定：

$$\text{声感系数} = \frac{|f_{\text{on}} - f_{\text{off}}|}{f_{\text{on}} + f_{\text{off}}}, \quad (1)$$

其中， f_{on} 为声波on状态区间内线虫的转向频率， f_{off} 为声波off状态区间内线虫的转向频率。声感系数介于0~1之间，当声感系数趋近于0时，认为声音对线虫转向行为影响非常小；声感系数越趋近于1，代表影响越明显。实验结果如图5所示。

与野生型线虫N2相比，mec-4(e1611)mec-7(e1343)均表现出较小的声感系数，说明机械力感觉神经元参与了对声振动的感知。同时，mec-7(e1343)表现出比mec-4(e1611)较强的声感系数，这是因为mec-4(e1611)突变体线虫中，6个机械力感觉神经元完全退化死亡，而mec-7突变体仅仅导致了15根原纤维丝的微管的缺少，机械力感知神经元还是存活的，mec-4(e1611)是比mec-7(e1343)更显著的突变体，这与之前的相关研究是一致的^[15-18]。

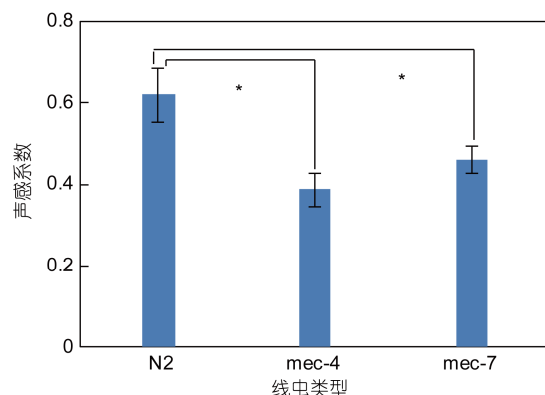


图5 (网络版彩色)500 Hz声波($\xi=1.4 \mu\text{m}$)作用下不同类型线虫声感系数对比

Figure 5 (Color online) Comparison of wild type and mutants at $f=500$ Hz ($\xi_0=1.4 \mu\text{m}$)

2.5 位移振幅对线虫转向行为的影响

在500 Hz声波作用下，调节输入信号幅值，使培养皿中心点处位移振幅分别为98 nm, 214 nm, 551 nm, 986 nm和 $1.4 \mu\text{m}$ 。在不同位移振幅下分别进行3组独立实验，每组实验使用25条成年N2线虫，记录下线虫的轨迹并且统计分析。图6为不同位移振幅下的声感系数变化。

从图6可以看出，在频率固定为500 Hz时，随着位移振幅的增大，线虫的转向现象越来越明显。当位移振幅为98 nm时，声感系数只有0.148，这时线虫对声音的感觉很微弱；当位移振幅增至214 nm时，声感系数增加到0.310；位移振幅继续增大到551和986 nm时，转向的频率随之增加，声感系数变成0.397和0.506；当位移振幅达到 $1.4 \mu\text{m}$ 时，声感系数达到最

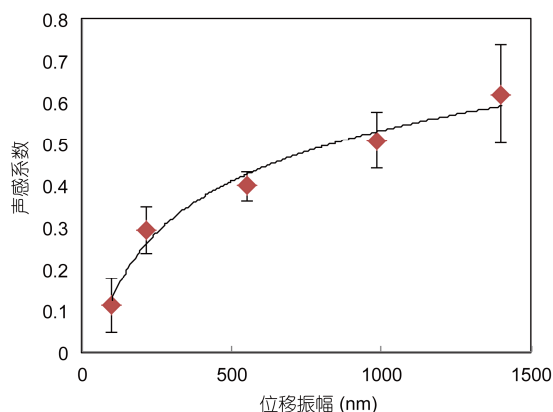


图6 (网络版彩色)声感系数随位移振幅的变化关系

Figure 6 (Color online) The relationship of acoustic sensitive index and displacement amplitude

大为0.619. 当频率固定时, 随着位移振幅增大, 线虫受到的刺激越强, 因此转向行为越明显.

2.6 频率对线虫转向行为的影响

为进一步考虑声波频率对线虫行为的影响, 保持培养皿中心点处位移振幅不变(550 ± 10 nm), 改变声波频率为60, 125, 250, 500, 700和1000 Hz. 每个参数进行3组独立实验, 每组实验使用25条N2成年线虫, 记录下on与off的转向次数, 处理方式同2.1. 结果如下图7所示.

从图7可以看出, 控制位移振幅为550 nm, 随着频率的升高, 线虫转向行为受到的声振动的影响呈现先增大后减小的趋势. 当频率不大于250 Hz时, 声感系数随着频率的增大而增大, 60 Hz对应声感系数为0.336, 125 Hz升高到了0.462, 250 Hz达到最大值为0.516; 当频率继续增大, 声感系数逐渐减小, 频率升高到500 Hz时, 声感系数减小到0.403; 继续增大频率, 变为700 Hz时, 声感系数下降至0.329, 继续将频率增加到1000 Hz, 声感系数降为0.175. 这说明, 位移振幅固定, 尽管线虫受到力的幅值是一样的, 但由于频率的不同, 线虫感受到声振动作出的转向反应的程度也不相同.

2.7 讨论

传统方法研究线虫敲击反应, 通过电信号控制探针敲击培养皿的方式实现, 只能由探针敲击的力度来推测线虫感受到振动的强度^[19]. 激光测振系统可以测量声波作用下线虫所在培养基的振动情况. 本实验中, 线虫在不同声波作用下转向行为差异非

常明显. 激光测振显示, 在频率固定为500 Hz, 随着培养皿表面位移振幅依次增大, 分别为98 nm, 214 nm, 551 nm, 986 nm, 1.4 μ m, 线虫对应的转向行为也越来越剧烈. Timbers在研究成年线虫对于机械感应的转向行为反应时, 曾通过改变敲击培养皿探针的位移振幅来控制敲击力度, 探针位移振幅从5.6 μ m增大到113.8 μ m, 实验发现, 随着探针位移振幅的增大, 线虫的转向的概率从0.6逐渐增大到0.9^[13], 这与我们的实验结果是一致的. 当培养基位移振幅固定为550 nm时, 随着频率从60 Hz增至1000 Hz, 线虫转向行为受到的声振动的影响不再是单调关系, 而是呈现先增大后减小的趋势. 根据线虫转向行为随着频率升高有先增大后减小的趋势可以得出初步结论: (1) 在某个固定位移振幅下, 存在一个极值频率, 该频率声波对线虫转向行为影响最为明显; (2) 位移振幅固定时, 线虫只能感受到的某一频率段的振动, 存在阈值 f_1 与 f_2 ($f_1 < f_2$), 当声振动频率 f 满足 $f_1 < f < f_2$ 时, 线虫才能感受到声振动而作出转向反应.

3 结论

本实验有效地将声振动与秀丽隐杆线虫的行为研究结合起来, 利用信号发生器, 功率放大器和扬声器等电子设备产生声波, 作用于线虫, 借助激光测振系统对声场进行控制测量, 通过CCD摄像机与LabVIEW以及MATLAB等软硬件进行数据图片的采集与处理. 实验结果表明, 线虫对声振动具有一定的适应性; 机械力感知神经元PLML, PLMR, ALML, ALMR, AVM和PVM参与了对声振动的感知, 机械力感知神经元退化死亡的mec-4突变体线虫仍能在一定程度上感知声波, 说明还有别的神经元充当声波的感知器, 有待进一步研究; 当频率固定时, 随着位移振幅的增大, 线虫的转向行为越来越明显; 而当位移振幅固定时, 随着频率的升高, 线虫转向行为受到的声振动的影响呈现先增大后减小的趋势. 当然, 线虫受到刺激时, 除了转向行为外, 还会出现一些其他有趣的现象, 比如加速爬行, 抽动频率改变等等; 另外, 本实验采用的是可听声波段的声波, 低强度的超声脉冲已经表现出了干预神经系统的潜力^[20]. 研究声波对神经系统的作用, 为进一步用声波治疗神经系统疾病打下基础, 这一课题有着广阔的研究和医学应用前景.

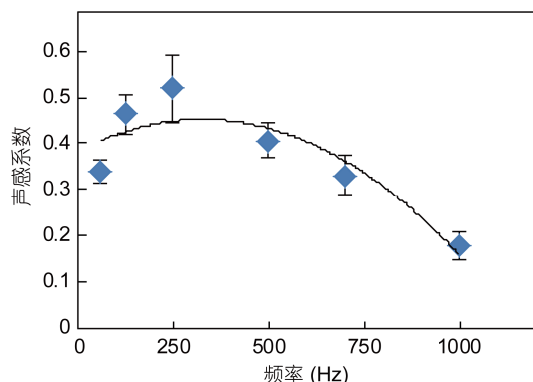


图7 (网络版彩色)位移振幅不变时, 声感系数随频率的变化关系
Figure 7 (Color online) The relationship of acoustic sensitive index and frequency

参考文献

- 1 Luo L J, Clark D A, Biron D, et al. Sensorimotor control during isothermal tracking in *Caenorhabditis elegans*. *J Exp Biol*, 2006, 209: 4652–4662
- 2 Chalfie M, Sulston J E, White J G, et al. The neural circuit for touch sensitivity in *Caenorhabditis elegans*. *J Neurosci*, 1985, 5: 956–964
- 3 Bargmann C I, Horvitz H R. Chemosensory neurons with overlapping functions direct chemotaxis to multiple chemicals in *C. elegans*. *Neuron*, 1991, 7: 729–742
- 4 Hedgecock E M, Russell R L. Normal and mutant thermotaxis in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1975, 72: 4061–4065
- 5 Chalfie M, Sulston J. Developmental genetics of the mechanosensory neurons of *Caenorhabditis elegans*. *Dev Biol*, 1981, 82: 358–370
- 6 Chalfie M, Wolinsky E. The identification and suppression of inherited neurodegeneration in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 1990, 345: 410–416
- 7 Kaplan J M, Horvitz H R. A dual mechanosensory and chemosensory neuron in *C. elegans*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90: 2227–2231
- 8 Wicks S R, Rankin C H. Integration of mechanosensory stimuli in *Caenorhabditis elegans*. *J Neurosci*, 1995, 15: 2434–2444
- 9 Sulston J, Dew M, Brenner S. Dopaminergic neurons in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *J Comp Neurol*, 1975, 163: 215–226
- 10 Luo L J, Wen Q, Ren J, et al. Dynamic encoding of perception, memory, and movement in a *C. elegans* chemotaxis circuit. *Neuron*, 2014, 82: 1115–1128
- 11 Gray J M, Hill J J, Bargmann C I. A circuit for navigation in *Caenorhabditis elegans*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 3184–3191
- 12 Beck C D, Rankin C H. Effects of aging on habituation in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Behav Processes*, 1993, 28: 145–163
- 13 Timbers T A, Giles A C, Ardiel E L, et al. Intensity discrimination deficits cause habituation changes in middle-aged *Caenorhabditis elegans*. *Neurobiol Aging*, 2013, 34: 621–631
- 14 Chatzigeorgiou M, Schafer W R. Lateral facilitation between primary mechanosensory neurons controls nose touch perception in *C. elegans*. *Neuron*, 2011, 70: 299–309
- 15 García-Añoveros J, Ma C, Chalfie M. Regulation of *Caenorhabditis elegans* degenerin proteins by a putative extracellular domain. *Curr Biol*, 1995, 5: 441–448
- 16 Goodman M B, Erntstrom G G, Chelur D S, et al. MEC-2 regulates *C. elegans* DEG/ENAC channels needed for mechanosensation. *Nature*, 2002, 415: 1039–1042
- 17 Bounoutas A, O'Hagan R, Chalfie M. The multipurpose 15-protofilament microtubules in *C. elegans* have specific roles in mechanosensation. *Curr Biol*, 2009, 19: 1362–1367
- 18 Swierczek N A, Giles A C, Rankin C H, et al. High-throughput behavioral analysis in *C. elegans*. *Nat Methods*, 2011, 8: 592–598
- 19 Mah K B, Rankin C H. An analysis of behavioral plasticity in male *Caenorhabditis elegans*. *Behav Neural Biol*, 1992, 58: 211–221
- 20 Tyler W J, Tufail Y, Finsterwald M, et al. Remote excitation of neuronal circuits using low-intensity, low-frequency ultrasound. *PLoS One*, 2008, 3: e3511

Effects of acoustic vibration on the reorientations of *C. elegans*

ZHANG Yang, JI HongFei, LUO LinJiao, GUO XiaSheng, TU Juan & ZHANG Dong

Key Laboratory of Modern Acoustics, Ministry of Education, Institute of Acoustics of Nanjing University, Nanjing 210093, China

As a typical model organism, the nematode *C. elegans* detect and respond to diverse environmental stimuli, such as light, temperature, odors and chemicals. The underline neuronal circuitry has been defined by decades of work by *C. elegans* researchers. However, there's no work done on its perception to acoustic vibration, which is a critical environmental cue in the natural habitat. For the first time, we quantified worm's response to acoustic vibration with precisely controlled amplitude and frequency. In an isotropic environment, worm's navigation can be described as a random walk. Periods of forward movements are interrupted by random reorientations. *C. elegans* respond to environmental cues by biasing its reorientations. In this work, we delivered acoustic wave with defined amplitude and frequency to freely moving *C. elegans*. A custom-built real-time computer vision system was used to record the movements of individual young adult worms navigating the agar surface. Data collected was analyzed using customized particle-tracking and shape analysis algorithms. To automatically flag reorientations, we considered both the posture of the animal and the movement of its center of mass. Rapid reorientations (Ω turns or reversal-turns) were flagged when the heading change of the center of mass trajectory was $> 60^\circ$ over 1 second. It was found that worms reorientate more when sound is on and reorientate less when sound is off. To quantify animal's response to acoustic wave, we defined a non-dimensional acoustic sensitive index according to the formula. The index approaches 0 or 1 if there is no response or big response, respectively. We tested animal's response to acoustic wave of varying displacement amplitude and fixed frequency. It was found that the acoustic sensitive index is proportional to the displacement amplitude. However, when we further tested animal's response to acoustic wave of fixed displacement amplitude and varying frequency, the data shows that the acoustic sensitive index first increases then decreases with the increase of frequency. To characterize the mechanical vibration of the agar surface during the acoustic stimuli, we used a laser vibrometer (Polytec). It was showed that there's obvious response when the sound cause vibration is as low as ~ 200 nm. The vibration level is much lower than other mechanical stimuli, such as gentle hair touch or plate tapping, which were used for studying the mechanical sensation of *C. elegans* in most labs. Our results suggest that worm can sense acoustic vibration. It responds to acoustic vibration by biasing the reorientation rate during navigation. The acoustic sensitive index depends on the frequency and displacement amplitude of the acoustic wave. The vibration level *C. elegans* can sense is much lower than people normally thought. Our work laid the ground work for studying *C. elegans* acoustic sensation. It would be interesting to further understand the neural circuits and cellular mechanism of this behavior.

***C. elegans*, acoustic vibration, reorientation, frequency, displacement amplitude, vibrometer system**

doi: 10.1360/N972015-00274