

# 酵素電気泳動法を利用した水生植物の調査(その1)

## ミクリ科植物①

津久井 公昭 山崎 正夫

### 要 旨

酵素電気泳動法を利用したミクリ (*Sparganium erectum*) とナガエミクリ (*S. japonicum*) の判別法を検討した。酵素としてGOTを使用して、ミクリとナガエミクリについて、電気泳動分析すると、それぞれ異なるバンドパターンを示した。実地試料の分析を行った結果、この方法でミクリとナガエミクリを確実に判別できる可能性が高くなった。形態による判別法では、花序を確認する必要があるが、この方法では、花期を待たず、少量の葉を電気泳動分析することで、いつでもそれぞれを判別できる。

## Classification of Aquatic Plants by Making Use of Isozymes I Sparganiaceae (1)

Takaaki Tsukui and Masao Yamazaki

### Summary

A distinction method making use of isozymes by electrophoresis was investigated for *Sparganium erectum* and *S. japonicum*. Electrophoretic separation of GOT with *S. erectum* and *S. japonicum* extracts showed different band patterns. These band patterns indicated that analyzed sample belonged to *S. erectum* or *S. japonicum* definitely. In an ordinary way, *S. erectum* and *S. japonicum* can be distinguished by observation of the whole flower that dose not have any defect. However, the electrophoresis analysis to distinguish *S. erectum* and *S. japonicum* needs only a few square centimeters of the leaf.

### 1 はじめに

筆者らは、東京都内の河川に生育する水生植物を調査して、都内河川に約40種の水生植物が存在することを報告したり、これらの水生植物は、都内河川の現況においては、どれも大切にされるべきと考えるが、特にこれらの中で、ミクリ、ナガエミクリ、ミズニラの3種が絶滅危惧種に指定されており<sup>2)</sup>、この3種の水生植物の取扱いを考えることが優先される。ミズニラは、落合川だけに生育しており、また、存在量からみても、絶滅しつつあり、保護の必要性が従来から指摘されている。一方、ミクリとナガエミクリについては、都内河川のあちこちで見出されており、時には大群落をなして生育している。

そのため、絶滅に対する安全度は、高そうに見える。しかしながら、各河川それぞれについてみると、限られた条件下での生育であり、多量に繁茂しているようでも、環境の変化により、消滅する可能性が常に存在する。都内河川で、ミクリとナガエミクリを確実に保護し維持していくためには、それぞれについて、生育環境、生育状況、存在量等を十分に把握しておく必要がある。

これらの調査の出発点となるのは、種の判別である。ミクリ科植物は、主として花序の違いによって判別される<sup>2)3)</sup> (図1)。花序がない場合は、周辺の状況、履歴等で判断されることになるが、もとより、それぞれの個体について正確に判断を下すことは困難である。また、

ミクリ科植物は、一般に抽水植物と受け取られているが、沈水形もあり、水域によっては、沈水形の方が圧倒的に多いこともある。沈水形のミクリ科植物については、その中に混在する抽水形の個体の花序を見て種を判別するが、常に正しく判定できる保証はない。また、沈水形の個体しか存在しない水域においては、種の判別ができない。前述したように、都内河川では、ミクリ科植物としては、ミクリとナガエミクリが確認されているが、更にその詳細な実態を把握しようとしても、現状では、長期間にわたり絶えず観察するなど多大な労力を使わなければ、不完全な調査しかできない。そこで、花序によらず、種の判別を行うことを目的として、酵素電気泳動法を検討した。酵素の特徴としては、①酵素は、DNAの情報から直接生成されており、その種の遺伝情報を調査するのに適切である、②酵素には、多数の種類があり、選択の幅が広い、③酵素の反応は、それぞれの酵素で非常に特異的であり、検出上有利である、等が挙げられる。酵素電気泳動法は、酵素多型を用いた種分化の研究等で種内変異の検出に広く利用されており、ここで、種間レベルでの差異の調査に利用することは、比較的容易ではないかと考えられる。

ここでは、酵素電気泳動法の水生植物調査への適用を

目的とした、ミクリとナガエミクリの判別に関する酵素電気泳動法の検討と実地調査について、1995年度の研究結果を報告する。

## 2 調査方法

都内各河川からミクリ科植物を採取して、電気泳動分析を行い、バンドパターンを調査した。花序があり、ミクリかナガエミクリかが判明している個体を分析して得られたバンドパターンを、それぞれの種の標準バンドパターンとした。同時に、花序がなく、外形から種の判別のできない個体について、様々な形態のものを採取して、それぞれのバンドパターンを調査して、標準バンドパターンと比較して、その個体が属する種を推定した。

### (1) 調査時期

1995年10月～1996年 4月

### (2) 調査地点

- ① 落合川
- ② 神田川
- ③ 矢川、ママ下湧水、府中用水
- ④ 多摩川中流域
- ⑤ 仙川
- ⑥ 豊田用水

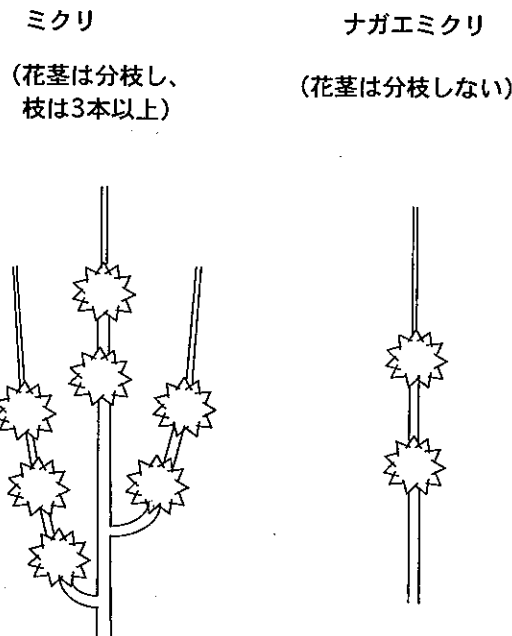


図1 ミクリとナガエミクリの花序による判別

(3) 電気泳動の分析条件<sup>4)</sup>

ミクリとナガエミクリを電気泳動法で判別するためには、電気泳動分析を行ったとき得られるバンドパターンがそれぞれ異なる酵素を選べばよい。ここでは、GOT (グルタミン酸オキサロ酢酸転移酵素) を選択したが、ADH (アルコール脱水素酵素)、SKD (シキミ酸脱水素酵素) 等の酵素でも、明らかに異なったバンドが得られている。

分析のフローを図2に示す。分析試料は、原則として葉の先端部として、1~2 cm<sup>2</sup>程度を使用した。電気泳動分析の操作条件は、次のとおりである。

- ①分析酵素：GOT
- ②ゲル：アクリルアミド

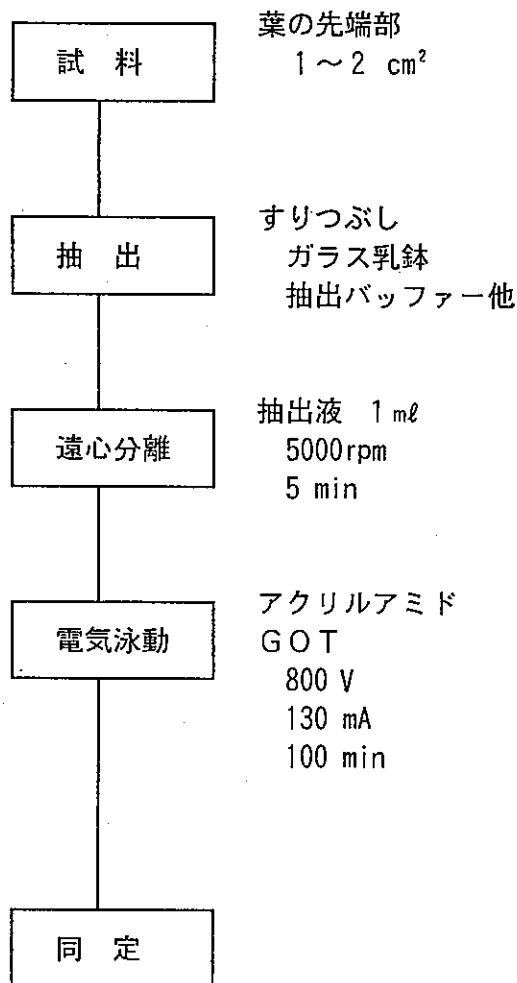


図2 分析フロー

③泳動槽：スラブゲル型

④電圧、電流：800V, 130mA (クロスオーバー方式)

⑤泳動時間：約100分

(4) 試料の形態

ミクリとナガエミクリの葉の形態は、成長時期と生育環境によって、様々な形を示す。今回の調査時に見られた葉の形態で次の様におおまかに分類した。なお、ここでは、沈水形とは、水中で、流れにたなびいている状態をいう。

- 抽水形 a 比較的大きく、葉の根元が三角形 (A1)
- b 線形で小型 (A3)
- 沈水形 a 比較的大きく、葉の根元が三角形 (B1)
- b 三角形まではいかないが、葉の根元に厚みがある (B2)
- c 平に近い (B3)

3 結果と考察

(1) ミクリとナガエミクリのバンドパターン

ミクリとナガエミクリについて、花序があり種類が判明している試料について、電気泳動分析した。葉の形態は抽水形A1である。ミクリについては、多摩川日野橋下流 (1995.10.17) と神田川 (1995.10.25) の試料を、

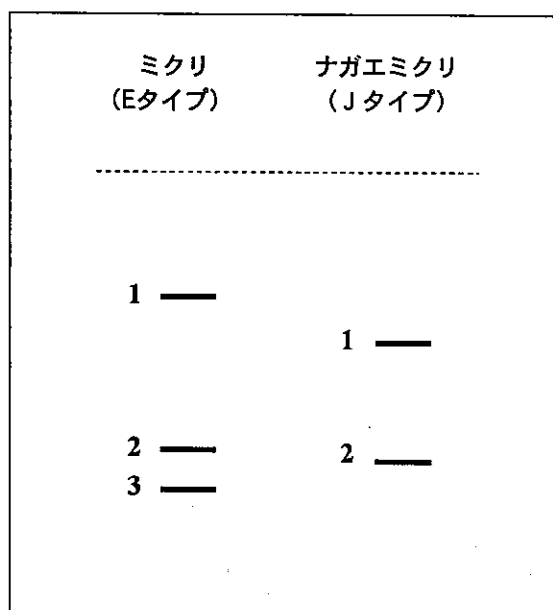


図3 ミクリとナガエミクリのバンドパターン (GOT)

ナガエミクリについては、神田川 (1995.10.25)、仙川 (1995.10.25)、落合川 (1995.11.9) の試料を使用した。その結果、ミクリとナガエミクリについて、それぞれ明らかに異なるバンドパターンを得た (図3)。ミクリは、3本のバンドを、ナガエミクリは、2本のバンドを示した。この2種のバンドパターンをそれぞれの標準パターンとして、ここでは、ミクリのバンドパターンをEタイプ、ナガエミクリのそれをJタイプとした。

(2) 実地調査

冬期に抽水葉は枯れるが、沈水葉は維持される。春期になれば新芽が伸び始める。この期間は、花序による種の判別がほとんどできない時期である。電気泳動分析した総ての試料のバンドパターンは、EタイプかJタイプのいずれかを示した。そこで、Eタイプを示したものは、

ミクリと、Jタイプを示したものはナガエミクリと判断した。

ア 落合川 (図4)

落合川には、ミクリ科植物が大繁殖している。存在の形態としては沈水形が多い。ナガエミクリが多いが、ミクリも観察されている。毘沙門橋の調査 (1995.11.9) では、葉の形態は、抽水形A1、沈水形B1、B3であったが、電気泳動分析の結果では、すべてJタイプ、即ちナガエミクリであった。次に行った全域調査 (1996.3.6) では、沈水形しか存在しない地点も多かったが、同一地点で抽水形と沈水形のペアで採取した。上流部から黒目川合流点まで、抽水形A1、沈水形B1、B3等の種々の形態の試料を電気泳動分析しているが、1例を除きすべてナガエミクリであった。1例は、抽水形A1の形態をし

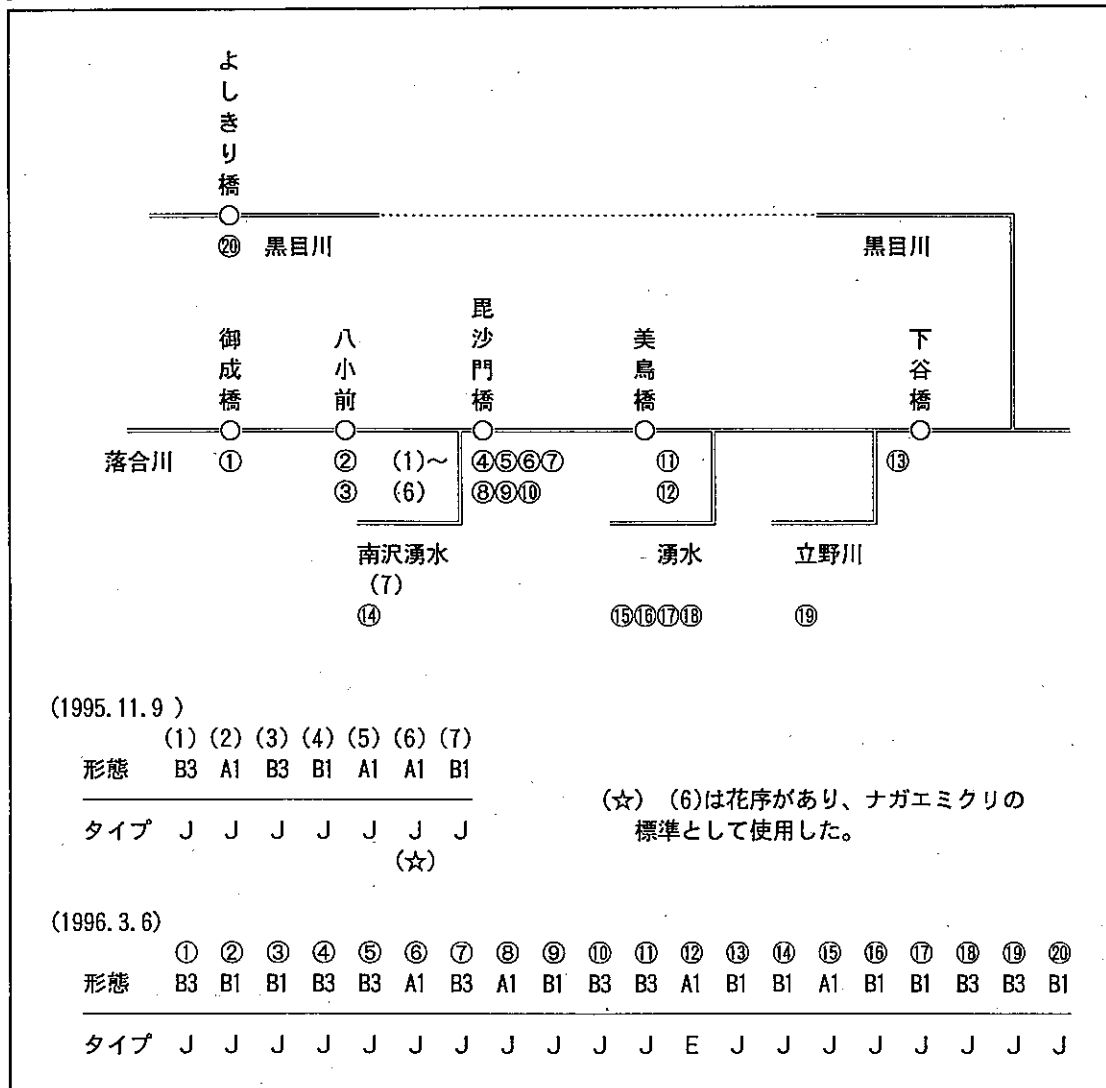


図4 落合川の調査結果

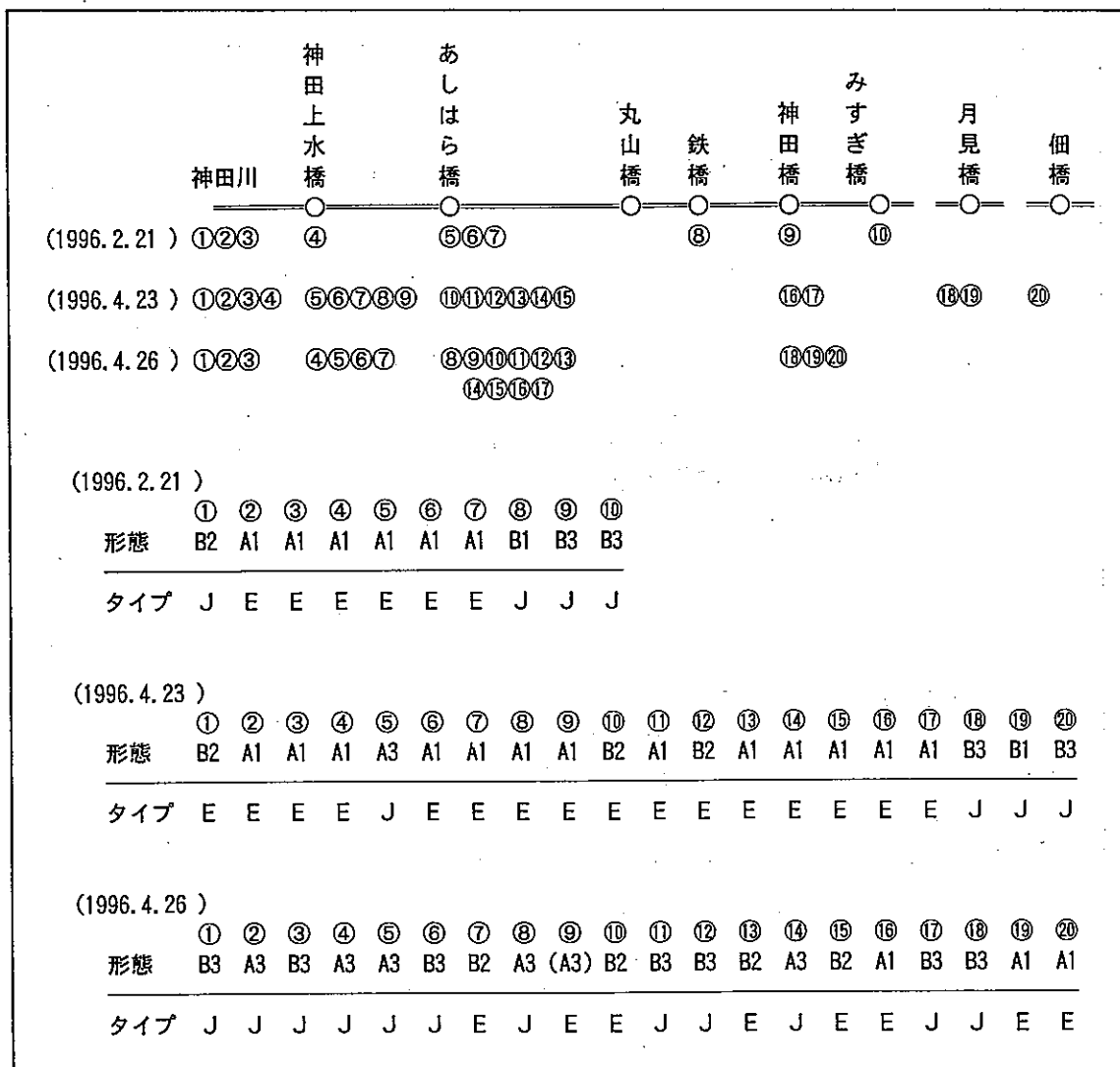


図5 神田川の調査結果

た個体であり、Eタイプを示し、ミクリと認定した。この個体は沈水形B3の群落の中に、数本だけ立っていたものであるが、電気泳動分析でなければ、確認できないところであった。電気泳動分析による調査の結果として、特に多量にある沈水形を確認できたことで、この水域のミクリ科植物は、ほとんどナガエミクリであると確定できた。そしてミクリも少数混在している状況であった。

イ 神田川 (図5)

神田川には、ミクリとナガエミクリが生育している。第1回の調査(1996.2.21)時期には、ミクリ科植物は少なかった。抽水形A1に近いミクリ科植物は芽生え時期であったが、電気泳動分析の結果、いずれもEタイプ即ちミクリであることを示した。一方、沈水形は、B1、B2、B3の形態があり、いずれも、Jタイプで、ナガエ

ミクリであった。次の調査時期(1996.4.23/4.26)には、ミクリ科植物はかなり成長・増加していた。各種の葉の形態が見られたが、電気泳動分析の結果、ほぼ典型的に分類でき、抽水形A1と沈水形B2は、ミクリを、抽水形A3と沈水形B3は、ナガエミクリを示した。前者が量的に多いので、ここではこれからの増殖期に、ミクリが優占すると見込まれる。

ウ 矢川、ママ下湧水、府中用水 (図6)

矢川にはナガエミクリが多量に繁茂しており、ミクリも少数見られる。今回の調査時期(1996.4.10)は、湧水のため、矢川のミクリ科植物はほとんど枯れていた。ママ下湧水には、沈水形がほとんどであるがナガエミクリが多量に繁茂している。矢川とママ下湧水は、府中用水に合流する。府中用水には沈水形ミクリ科植物が生育

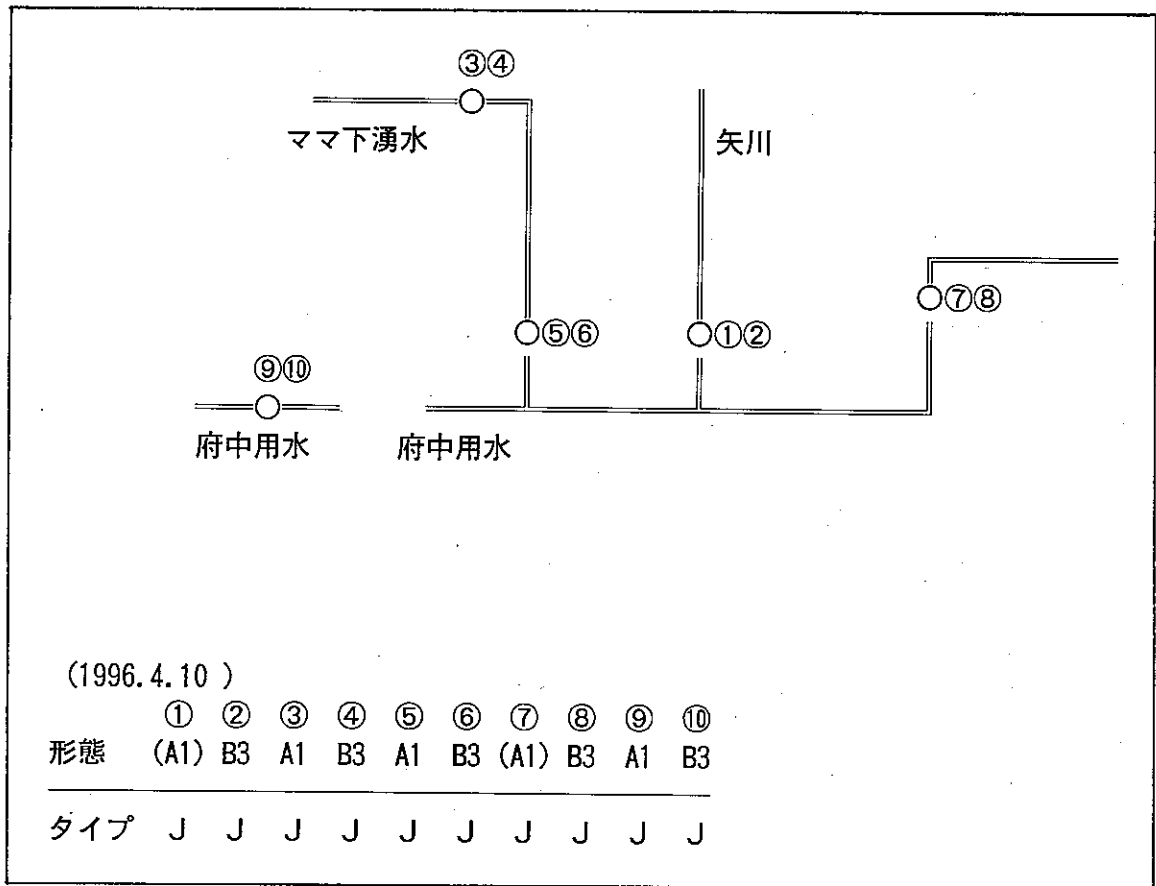


図6 矢川、ママ下湧水、府中用水の調査結果

しており、ミクリも時々見られる。今回の調査では、いずれもすべてJタイプで、ナガエミクリであった。

エ 多摩川中流域

多摩川中流域については詳細な調査は行っていないが、あちこちでミクリ科植物が生育していると思われる。日野橋下流あたりは、ミクリが多いようである。ここの3カ所で採取した(1996.4.10)抽水形A1の試料を電気泳動分析したが、いずれもEタイプで、ミクリであった。

オ 仙川

仙川の谷端一の橋から東一の橋にかけては、ミクリ科植物が多量に繁殖しており、ほとんどが沈水形である。谷端一の橋で採取した(1996.2.21)抽水形A1と沈水形B3、東一の橋の沈水形B2を分析した結果は、いずれもJタイプで、ナガエミクリであった。現在のところ、この水域のミクリ科植物は、ナガエミクリだけと思われる。

カ 豊田用水

ここは、沈水形のミクリ科植物しか出現していない

め、電気泳動分析が期待される場所である。今回採取した2試料(1996.1.12)を分析した結果はJタイプであり、ナガエミクリと判定できた。

4 まとめ

都内河川に生育するミクリ科植物としては、ミクリとナガエミクリが確認されている。この2種の判別を花序によらず、生化学的分析法として酵素電気泳動法を利用して行うことを検討した。酵素種としてGOTを用いた電気泳動のバンドパターンは、ミクリとナガエミクリでは異なり、また、都内河川から採取した多数のミクリ科植物の電気泳動分析のバンドパターンは、必ずミクリかナガエミクリのどちらかの標準バンドパターンと同一であった。これらのことから、酵素電気泳動法でミクリとナガエミクリを判別できることがほぼ確実にになった。この方法を確定するためには、今後、次の3点を調査する必要がある。

① 花序のある試料の分析例の確保等

今回の調査では、標準バンドパターンとした花序のある試料の分析数が少ないので、今後、更に分析例を増やして確実にしていく必要がある。また、実地調査においても、分析した試料は、多数の中のごく一部ともいえるので、今後の調査で更に例数を増やす必要がある。

② 他のミクリ科植物の調査

都内で確認されているミクリ科植物は、ミクリとナガエミクリの2種であり、今回の調査で得られたバンドパターンは、それぞれに対応する2種類であるが、現時点では、別のミクリ科植物が同じバンドパターンを持つ可能性を捨て切れない。ミクリとナガエミクリ以外のミクリ科植物のバンドパターンを確認しておく必要がある。

③ 夏期調査

今回の調査は、冬期を中心とした調査であり、最盛期の春期～夏期にかけての調査が必要である。

謝 辞

酵素電気泳動法の実施に当たり、詳細にわたる御教示と多大な御協力を頂いた愛知教育大学生物学教室の渡辺幹男氏に厚く感謝申し上げます。

引用文献

- 1) 山崎正夫, 津久井公昭: 東京都内における水生植物の生育概況 (第3報), 東京都環境科学研究所年報 1995, p.143~148.
- 2) 角野康郎: 日本水草図鑑, 文一総合出版, 1994.
- 3) 北村志郎ら: 原色日本植物図鑑 草本編 (III) 単子葉類 (38刷), 北隆館, 1979.
- 4) 渡辺幹男: 私信.