

酵素電気泳動法を利用した水生植物の調査 (その2)

—ミクリ科植物②—

津久井 公昭 山崎 正夫

要 旨

都内河川に生育するミクリ科植物であるミクリ (*Sparganium erectum*) とナガエミクリ (*S. japonicum*) の2種を、一般的な同定根拠とされる花序の有無に関わらず、少量の葉を使用して同定する手法について検討した。都内河川から花序の形状が典型的なミクリ科植物を多数採取し、生化学的分析法の一つである酵素電気泳動分析を行ってバンドパターンを調べ、例外なくミクリあるいはナガエミクリに固有なパターンに分類されることを確認した。また、花序による同定が不可能であった試料も含め、昨年調査と異なる生育時期においても、全て昨年と同一のミクリあるいはナガエミクリのバンドパターンを示すことを確認した。したがって、この酵素電気泳動法を用いれば、花序に依存せず同定できることがほぼ確実となった。

キーワード：ミクリ、ナガエミクリ、ミクリ科植物、酵素電気泳動法、水生植物

Classification of Aquatic Plants by Isozyme Electrophoresis (II)

— *Sparganium* sp. (2) —

Takaaki Tsukui and Masao Yamazaki

Summary

In order to establish a biochemical method to distinguish *Sparganium erectum* and *S. japonicum* with small amount of their leaves, the isozyme electrophoresis using GOT (glucose - oxaloacetic transaminase) was investigated. Several samples with and without normal inflorescences, by which the identification can be done, were collected from 11 rivers and analyzed. They showed typical band patterns for *S. erectum* and *S. japonicum*, respectively, and no exceptional band pattern was observed. In addition, it was confirmed that those band patterns do not change throughout the year. These results indicate that the isozyme electrophoresis is a reliable method to distinguish *S. erectum* and *S. japonicum* with abnormal or without inflorescence. To increase the reliability of this method, it should be confirmed that the other *Sparganium* species do not show same band patterns.

Keywords : *Sparganium erectum*, *Sparganium japonicum*, *Sparganium* species, enzyme electrophoresis, aquatic plant

1 はじめに

著者らは、東京都内の河川における水生植物を調査し、約40種もの水生植物が生育することを明らかにしたが¹⁾、このような調査で最も重要なのは現場で見つかった植物の同定方法である。例えば全国的に絶滅の危惧されているミクリ科植物については、同定の根拠となる花序^{2,3)}

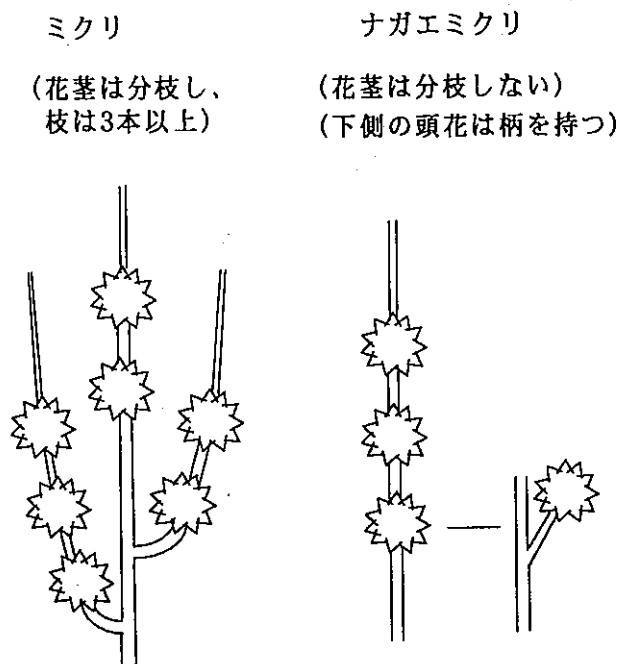


図1 ミクリとナガエミクリの花序による同定

(図1)の欠如(未成熟個体や沈水形)や変形により、容易に同定できない場合も少なくなかった。そこで、水生植物の形態に依存しない同定手法として、平成7年度から酵素電気泳動法の利用について検討を始めた。

ミクリ科植物を対象として検討したところ、酵素種としてGOT(グルタミン酸オキサロ酢酸転移酵素)を利用した電気泳動分析で得られたバンドパターンは、花序からミクリとナガエミクリと同定されたものでは明瞭に異なっており、それぞれEタイプ及びJタイプに分類された(図2)。花序がなく同定できなかったミクリ科植物のバンドパターンも、必ずミクリかナガエミクリのいずれかのバンドパターンを示すことが判明し、酵素電気泳動法により、花序の有無に関わらずミクリとナガエミクリを判別できる可能性が示された⁴⁾。

しかしながら、この手法を確実なものにするためには、①正常な花序を持つ個体の電気泳動バンドパターンに例外のないこと、②バンドパターンが生育時期によって異

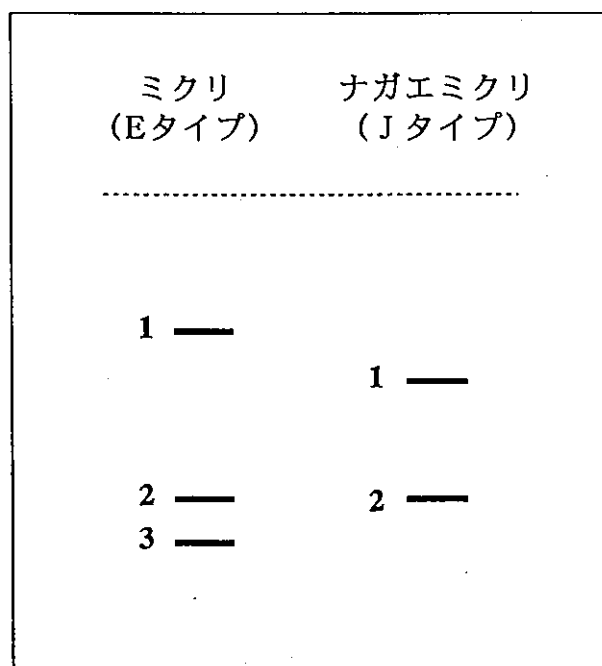


図2 ミクリとナガエミクリのバンドパターン(GOT)

ならないこと、そして③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が異なること、などを確認しておくことが必要である。今回はこれらのうち①と②について検討した。

2 調査方法

(1) 調査時期

昨年度の調査は10月から4月までに行った。今年度は、生育時期の違いによる電気泳動バンドパターンに差異が生じないかを確認するため、1996年5月～1996年9月の夏期を中心に調査した。

(2) 調査地点

今年度の調査地点は、昨年度調査した落合川、神田川、仙川、矢川、多摩川、府中用水、豊田用水、ママ下湧水の8河川に、新たに白子川、野川、浅川の3河川を加えた合計11河川とした(図3)。

(3) 電気泳動の分析条件

分析手順を図4に示す。分析試料は、原則として葉の先端部分の1～4cm²程度を使用した。電気泳動分析は、以下のような、前報とほぼ同様の操作条件⁴⁾で行った。

対象酵素：GOT

ゲル：アクリルアミド

泳動槽：スラブゲル型

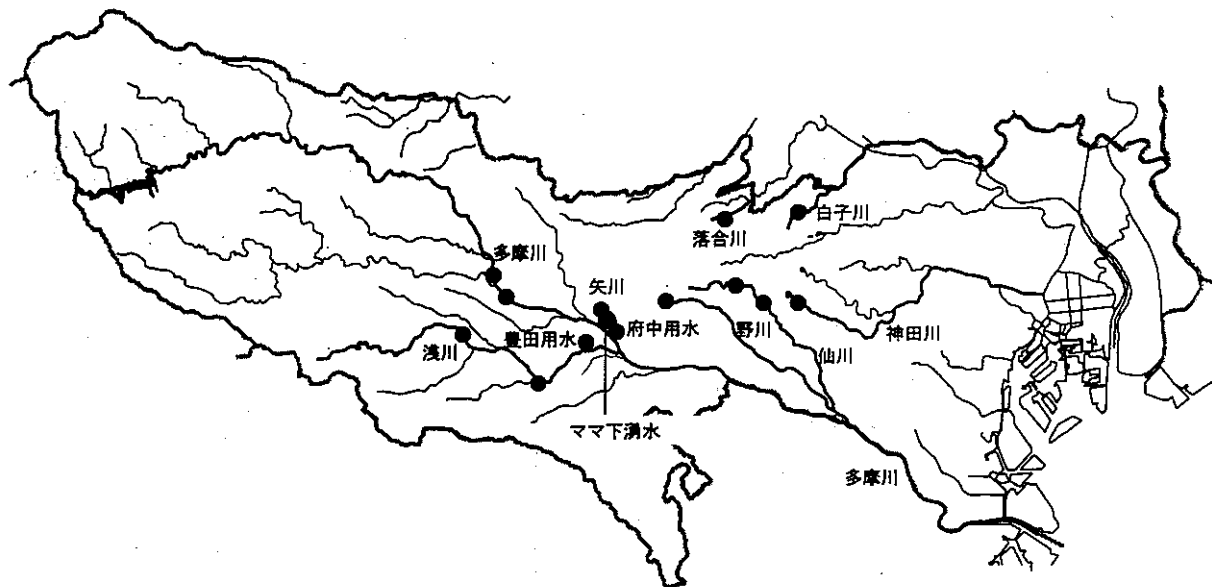
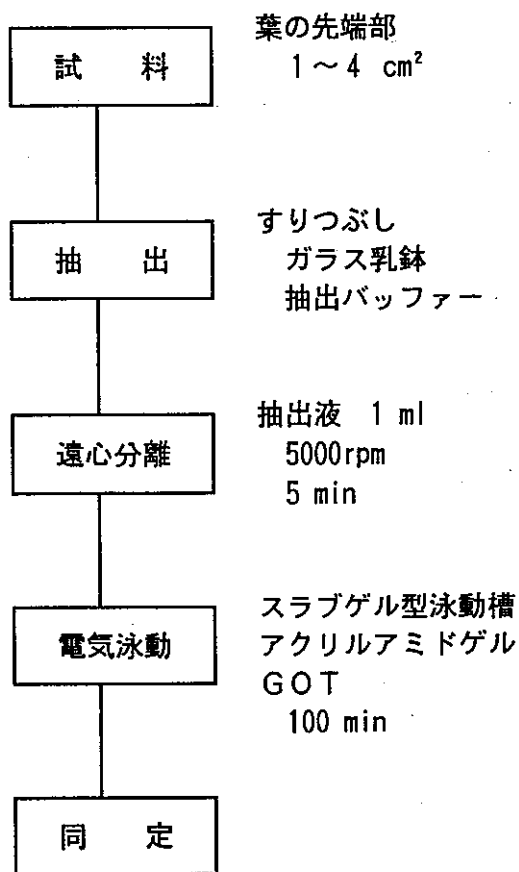


図3 調査地点図



葉の先端部
1~4 cm²

すりつぶし
ガラス乳鉢
抽出バッファー

抽出液 1 ml
5000rpm
5 min

スラブゲル型泳動槽
アクリルアミドゲル
GOT
100 min

図4 分析フロー

電圧、電流：800V, 130mA

泳動時間：約 100分

なお、酵素として、ADH（アルコール脱水素酵素）及びSKD（シキミ酸脱水素酵素）を用いた場合でも、

明らかに異なるバンドパターンが得られることを確認しているが⁴⁾、本報では、最も発色の良好であったGOTによる結果について述べる。

(4) 試料の形態

実際に現場で見られるミクリとナガエミクリの形態は、次の様に分類された。

①抽水形で、典型的な花序があり、その形態からミクリまたはナガエミクリと同定できるもの。これらの試料の電気泳動バンドパターンを、ここでは標準バンドパターンとした。

②抽水形で、花序が正常形でなく、ミクリまたはナガエミクリと同定できないもの。以下の③、④と同様に、バンドパターンから種を推定する対象である。ただし、ミクリに関しては、花序の枝分かれだけで他の種と区別できたため、今回の調査ではこの分類に該当する試料は存在しなかった。

③抽水形で、花序がなく、ミクリまたはナガエミクリと同定できないもの。

④沈水形で、花序がなく、ミクリまたはナガエミクリと同定できないもの。このタイプは、さらに細かく次の3形に分類された。なお本報では、植物体全体が水中に没している個体は、全て沈水形と見なした。

- a. 比較的大型（長さ約1m）で堅く、葉の根元の断面が三角形。
- b. 葉の根元に厚みがあるが、断面の形状は明瞭な三角形ではない。

表1 分析試料数内訳

調査 河川	ミク リ			ナガエミク リ				
	花序及び バンドパ ターンから 同定	花序からは同定不能で、 バンドパターンから同定			花序及び バンドパ ターンから 同定	花序からは同定不能で、 バンドパターンから同定		
		花序あり	抽水形	沈水形		花序あり	抽水形	沈水形
落合川	5		(1)	8 (1)	1	1 (5)	6 (20)	
白子川	1		1	3			3	
神田川	19 (2)		(23)	(7)	10 (2)	4	3 (6)	11 (14)
仙川					6 (1)	1		2
野川					2	1		2
矢川					2		1	(2)
多摩川	9 (1)		2 (6)	1				1
浅川	3		2					
その他			1				1 (4)	7 (4)
小計	37 (3)		6 (30)	1 (7)	31 (4)	7	6 (15)	32 (40)
合計	40		36	8	35	7	21	72

1995年度と1996年度の試料分析数、()内は1995年度の試料分析数

c. 葉はほぼ平らで柔らかく、全体に小型である。

3 結果及び考察

電気泳動分析を行ったミクリ科植物試料の内訳を表1に示す。花序からミクリと同定できた試料はすべてEタイプの標準バンドパターンを、花序からナガエミクリと同定できたものはすべてJタイプを示し、例外は1例も見られなかった。昨年度は、表1からもわかるように少数の試料についてしか検討しておらず、今回の結果によりその正当性が支持されたといえる。

また、外形から種の同定のできなかつた試料のバンドパターンは、必ずEタイプもしくはJタイプのいずれかを示し、この結果も総合すると、生育時期によるバンドパターンの変化は全く見られないことが明らかとなった。

ミクリについては、表1からわかるように、花序からは同定不能でバンドパターンから同定されたものに「花序あり」の試料は一つもない。これは、花序が枝分かれするだけでミクリと同定できたためである。別種のヒメミクリも希に花序が枝分かれするとされているが、植物体全体の大きさが顕著に異なるため、混同の恐れはない

と考えられる。また、ミクリは一般に沈水形が希にしか見られず、したがって分析試料数もナガエミクリに比べわずかであった。一方、ナガエミクリでは、花序があってもその形状からは同定できなかつた個体はかなり存在したことがわかる。これは、ナガエミクリの花序が枝分かれせず、この形状が、ヤマトミクリ、ヒメミクリ、エゾミクリ、タマミクリなどと類似しているため、少しでも変則的な形状を持った個体はいずれの種であるか判断できなかつたためである。一方、ナガエミクリは、沈水形の分析試料数が非常に多くなっているが、これはこの種が沈水形で生育する割合が非常に多いことによる。例えば、豊田用水では、全てが沈水形であり、抽水形はこれまでに1個体も見られていない。

今回の酵素電気泳動法による同定結果から、河川ごとのミクリ科植物の生育状況を見てみると、ミクリとナガエミクリは平均的に分布しているのではなく、それぞれかなり偏在することが明らかとなった。例えば、多摩川、浅川においては大部分がミクリで、落合川、白子川、仙川、矢川などはナガエミクリが優占していた。また、神田川は、ミクリとナガエミクリの両方が相当量に生育す

る、都内でも珍しい河川であることもわかった。

今回の結果から、花序の形態から種の同定ができないミクリ科植物（ミクリあるいはナガエミクリ）でも、少量の葉を用いて電気泳動分析を行い、バンドパターンがミクリあるいはナガエミクリの標準バンドパターンのどちらと同一になるかを見ることにより正確に識別できることが明らかとなった。著者らがこれまでに都内において典型的な花序を持ったミクリ科植物について調査した結果では、ミクリとナガエミクリの2種のみが確認されただけであり、都内のミクリ科植物の同定手法としてはほぼ完成したと考えられる。しかしながら、都内には過去に別の種類のミクリ科植物が存在していたことがわかっており²⁾、それらが現存する可能性を考慮するならば、それらがミクリあるいはナガエミクリと同じバンドパターンを示さないことを確認しておく必要がある。仮に、今回利用したGOTで同一パターンを示す種が存在することが明らかとなれば、異なるバンドパターンを示す別の酵素種に変更しなければならない。しかし、これらが確認できれば、この手法は単に都内におけるミクリとナガエミクリの判別法として利用されるだけでなく、全国に分布するミクリ科植物一般にも適用できる手法となり得る。これらについては、現在、検討を進めているところである。

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) 津久井公昭、山崎正夫：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、東京都環境科学研究所年報1996、p.99~105