

# 酵素電気泳動法を利用した水生植物の調査 (その3)

## —ミクリ科植物③—

津久井 公 昭 山 崎 正 夫

### 要 旨

ミクリ科植物について種を同定する場合、通常は花序の形状が判断基準になる。正常に發育していない花序、花期以前、沈水形等については、対象試料から種を同定することはむずかしい。そこで、酵素電気泳動法を利用したミクリ科植物の同定法を検討した。植物が含有する酵素について電気泳動分析を行なったとき、出現する酵素のバンドパターンが種によって異なれば、バンドパターンを調査することで種を同定することができる。国内に生育する主要な7種のミクリ科植物、即ち、ミクリ、ナガエミクリ、オオミクリ、ヒメミクリ、ヤマトミクリ、エゾミクリ及びタマミクリについて、GOTとLAPのバンドパターンを調査して、酵素電気泳動法でこれらのミクリ科植物が同定できるという結果を得た。

キーワード：酵素電気泳動法、GOT、LAP、水生植物、ミクリ科植物、ミクリ、ナガエミクリ、オオミクリ、ヒメミクリ、ヤマトミクリ、エゾミクリ、タマミクリ

## Classification of Aquatic Plants by Isozyme Electrophoresis (III)

### - Sparganium sp. (3) -

Takaaki Tsukui and Masao Yamazaki

### Summary

Normally, the identification of Sparganium species depends on the shapes of their inflorescences. However the actual samples sometimes have abnormal inflorescences or have none if they are not mature or growing as the submerged form. In such cases, the identification of the species is difficult.

Therefore, we studied a biochemical identification of Sparganium species employing isozyme electrophoresis. As a result, we found that the seven Sparganium species (*S. erectum*, *S. japonicum*, *S. erectum* var. *macrocarpum*, *S. subglobosum*, *S. fallax*, *S. emersum* and *S. glomeratum*) will be identified by this method using GOT and LAP in which the presence of inflorescence is not needed.

Keywords : isozyme electrophoresis, GOT, LAP, water plant, Sparaganiaceae, *Sparganium erectum*, *Sparganium japonicum*, *Sparganium erectum* var. *macrocarpum*, *Sparganium subglobosum*, *Sparganium fallax*, *Sparganium emersum*, *Sparganium glomeratum*

### 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40種以上の水生植物が存在することを報告した<sup>1)~3)</sup>。これらの調査において、簡単に同定でき

る種も多いが、その反対に同定が容易でない場合も少なくないことを経験した。同定の難しい例として、ミクリ科植物があげられる。ミクリ科植物の種の同定は、主として花序の形態を見て行なわれる<sup>4)5)</sup>。ミクリ科植物は、

抽水形だけでなく、沈水形（ここでは、浮葉形も含めて、明らかに水中で生育している場合は沈水形とした。）で生育することもあり、水域によっては、沈水形の方が圧倒的に多いことがある。沈水形のミクリ科植物については、その中から抽水形の個体が出現し、育成し、正常な花序を示せば、種を同定することができる。しかし、沈水形の個体しか存在しない状況においては、種の同定ができない。また、花期以前、不完全な花序しか見出せない場合等においても同定が困難となる。ミクリ科植物に限らず、現場調査においては、花序等の形態だけでは同定の難しい場合が多い。

そこで、花序等の形態によらない種の同定法として、酵素電気泳動法の利用を考え、都内に生育するミクリ科植物について検討を始めた。その結果、都内河川に生育するミクリ科植物はミクリとナガエミクリの2種であり、これらについては、生育の形態を問わず、また、ごく少量の試料を用いて、酵素電気泳動法で同定できることを明らかにし、前報等で報告した<sup>6)~8)</sup>。その概要は以下の通りである。

①花序からミクリまたはナガエミクリと同定できる試料について、酵素としてGOT（グルタミン酸オキサロ酢酸転移酵素）を利用し、電気泳動を行い、バンドパターンを調査したところ、それぞれ異なった固有のバンドパターンを示した。

②沈水形、育成途中、正常な花序とは思われないミクリ科植物、即ち花序からは同定が出来ない試料について、同様にバンドパターンを調査したところ、必ずミクリまたはナガエミクリのどちらかのバンドパターンを示し、

それぞれミクリまたはナガエミクリとして同定することができた。

上述の方法は同定手段としては強力で、都内で採取した多数の試料を明快に同定することができた。

しかしながら、この方法は、まだ、一般的なミクリとナガエミクリの同定手法としては不完全である。第一に、国内にはミクリとナガエミクリは広く分布している<sup>9)</sup>、都内産とは別のバンドパターンを示す可能性がある。第二に、国内には、ミクリとナガエミクリを含めて約10種のミクリ科植物が分布しており<sup>9)</sup>、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は明らかになっていない。

そこで、平成9年度は同定手法としての完成を目指し、国内に産する主要なミクリ科植物7種、即ち、ミクリ (*Sparganium erectum*)、ナガエミクリ (*S. japonicum*)、オオミクリ (*S. erectum* var. *macrocarpum*)、ヒメミクリ (*S. subglobosum*)、ヤマトミクリ (*S. fallax*)、エゾミクリ (*S. emersum*) 及びタマミクリ (*S. glomeratum*) についてバンドパターンの調査を行なった。その結果、これらのミクリ科植物は、GOT単独あるいはGOTとLAP（ロイシンアミノペプチダーゼ）を併用することで、それぞれ同定できるという結論を得たので、報告する。

## 2 調査方法

### (1) 調査、分析時期

1997年 5月~1997年10月

### (2) 分析試料

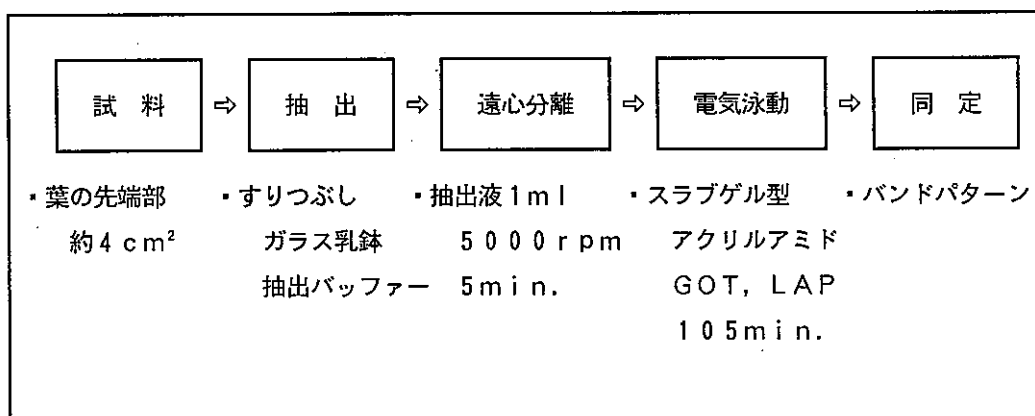


図1 分析手順

ミクリ、ナガエミクリ、オオミクリ、ヒメミクリ、ヤマトミクリ、エゾミクリ及びタマミクリの7種を対象とした。ウキミクリ、ホソバウキミクリ、チシマミクリの3種については、分布域が狭いため<sup>9)</sup>、今回は分析から省いた。

分析試料の内訳は下記の通りである。

- ①ミクリ (3地点：埼玉2、栃木)
- ②ナガエミクリ (6地点：埼玉2、栃木、宮城、富山、徳島)
- ③オオミクリ (3地点：東京、千葉、徳島)
- ④ヒメミクリ (4地点：栃木、富山、宮城、兵庫)
- ⑤ヤマトミクリ (2地点：福岡、広島)
- ⑥エゾミクリ (1地点：富山)
- ⑦タマミクリ (1地点：岩手)

試料は国内各地から入手したが、筆者らが直接採取した試料と各地の専門家から送付された試料がある。なお、富山試料(ナガエミクリ、ヒメミクリ、エゾミクリ)は、1996年に採取し、当研究所内で栽培していたものである。また、兵庫のヒメミクリも栽培株である。東京のオオミクリは新たに発見したものである<sup>9)</sup>。

これらの試料は、花序を有し、正しく種が同定できる株を分析に供した。栽培株の一部は、花序のない株も分析に用いた。

また、都内のミクリとナガエミクリについては、次の地点の試料を、花序を有し、正しく種が同定できる株について再分析した。

- ①ミクリ (3地点：浅川、多摩川、神田川)
- ②ナガエミクリ (5地点：白子川、落合川、神田川、仙川、矢川)

### (3) 電気泳動の分析条件

分析手順を図1に示す。分析試料は、葉の先端部分(先端が枯れているときはできるだけ上部の緑色部分)の4cm<sup>2</sup>程度とした。電気泳動分析の操作条件は、LAPも使用した他は前報<sup>9)</sup>とほぼ同じである。

- ①分析酵素：GOT、LAP
- ②ゲル：アクリルアミド
- ③泳動槽：スラブゲル型
- ④電圧、電流：800V、130mA
- ⑤泳動時間：約100分

### 3 結果と考察

各試料を電気泳動分析して得られた各ミクリ科植物のバンドパターンを整理して、GOTについては図2に、LAPについては図3に示す。

GOTとLAPの両方において、採取地点によるバンドの差異は、オオミクリを除いては、どの種についても認められなかった。即ち、ミクリ(4)、ナガエミクリ(7)、ヒメミクリ(4)、ヤマトミクリ(2)について、それぞれ単一のバンドパターンのみが得られた。

(括弧内の数字は地点数。但し、都内分は1地点として算出している。)オオミクリについては、GOTとLAPのそれぞれに2種類のバンドパターンが見られた。そこで、それぞれのバンドパターンをI及びIIとした。GOTに関しては、千葉と東京試料がバンドパターンIを、徳島試料がIIを示した。LAPに関しては、千葉試料がIを、東京と徳島試料がIIを示した。

なお、富山の栽培種については、栽培種入手時に分析して得たバンドパターンと今回の分析のバンドパターンは一致しており、差異は認められなかった。都内のミクリとナガエミクリの再分析についても、過去の分析と今回の分析のバンドパターンに差異はなかった。

図2と図3から、ここで対象とする7種のミクリ科植物は、GOT単独またはGOTとLAPの2種の酵素を使用することで、それぞれの種が判別され、それぞれを同定できると判断された。以下に詳細を述べる。

図2において、GOTのバンドパターンは、ナガエミクリ、ヒメミクリ及びタマミクリの三者については同一であるが、それ以外の種についてはそれぞれに違いが見られ、相互に判別することが可能である。ミクリは3本のバンドを持つが、他の6種のミクリ科植物と明らかに異なるバンドパターンを示し、他から区別することができる。オオミクリについては、GOTで、3本と5本の2種類のバンドパターンが出ているが、これについてはオオミクリ内部の問題と考えれば、どちらのバンドパターンも明らかに他種とは異なり、オオミクリの判別はGOTだけで確実にできることになる。ナガエミクリについては、GOTで、似たあるいは同一のバンドパターンを示すものが多い。エゾミクリとナガエミクリのGOTのバンドパターンを比較すると、似た位置にバンドが出ているが、バンドの数も異なり、はっきり判別できる。ヤマトミクリとナガエミクリについても、GOT

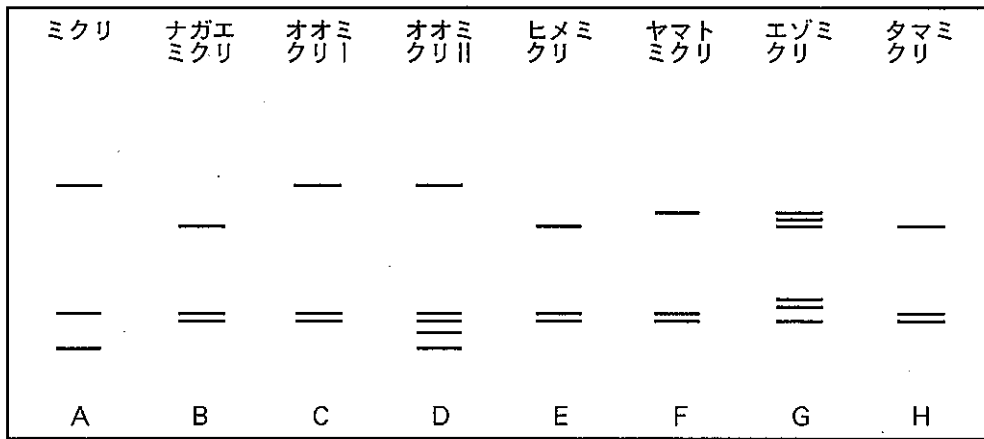


図2 GOTのバンドパターン

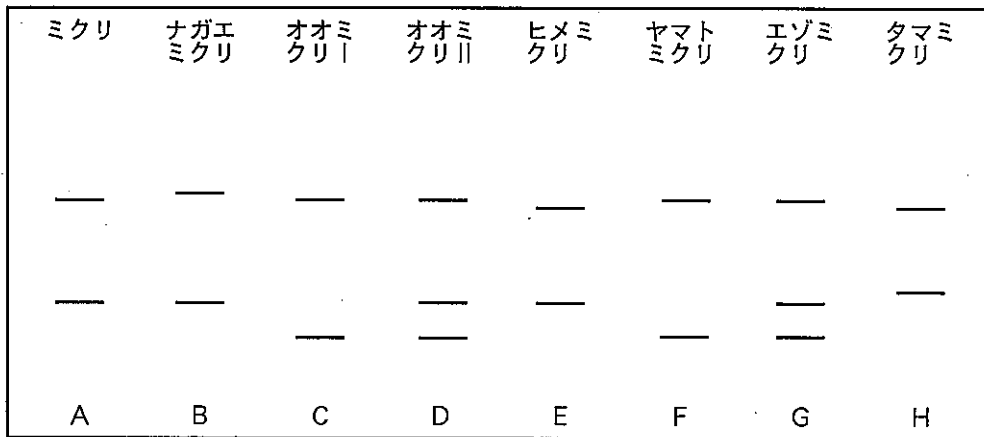


図3 LAPのバンドパターン

でのバンドの数も位置もよく似ているが、僅かではあるが明らかな違いがあり、間違えることはない。また、ナガエミクリ、エゾミクリ、ヤマトミクリについては、図3から明らかなように、LAPのバンドパターンが異なり、LAPを併用することで更に確実に判別することができる。ヒメミクリとタマミクリの場合は、GOTでナガエミクリと同一のバンドを示すため、GOTだけでは、これらの種を区別することはできない。しかし、LAPのバンドパターンがこれらの三者で異なるため、LAPを使用することで、それぞれを判別することができる。以上の結論として、ミクリ科植物は、主としてGOTで、更にLAPを併用することで、それぞれを区別し、同定することができる。

今回の調査で、オオミクリについては、二つのバンドパターンを得たが、これらの関係等については今後の検討課題である。なお、オオミクリの東京の採取地点では、花序があり種が分かる分析試料として採取した群落（バンドパターンはGOTがI、LAPがIIを示す。）から数mはずれて、GOTのバンドパターンがII（LAPはII）を示すミクリ科植物が生育しており、群落と何らかの関係を持つと思われるが、これについて花序を確認することはできなかった。

以上のように、酵素電気泳動法を利用することによって、花序の形態によらず、ミクリ科植物を同定することが可能であることが明らかとなった。今後、各種のミクリ科植物について、より多くの試料を分析していくなか

で、存在するバンドパターンの種類が十分に把握され、種とバンドパターンの関係が明確になれば、手法としてより一層信頼度の高いものとなろう。

#### 4 おわりに

筆者らが水生植物調査を始めた当初は、花序・形態から同定できるものだけが対象であり、都内河川に生育する確認できるミクリ科植物の種は、ミクリとナガエミクリの2種であった。沈水形等の同定できないものは、ミクリ科植物と分類していた。酵素電気泳動法を開発することにより、沈水形等についても分析し、同定することができるようになった。分析の結果はミクリとナガエミクリのいずれかであり、種類としては増えなかったが、多数の水域で、明瞭に判定を下すことができた。その後、ミクリとナガエミクリ以外に別のバンドパターンを見出したことから、都内にオオミクリが生育していることを発見した<sup>9)</sup>。これらは、電気泳動分析の大きな収穫であった。

今般、東京都の野生生物種目録<sup>10)</sup>が発表された。この中に、ミクリ、ヤマトミクリ、タマミクリ、ナガエミクリ、ヒメミクリの5種のミクリ科植物が記載されている。この目録は、既存文献から作成したもので、現時点では、ミクリとナガエミクリ以外は絶滅した可能性が高いが、これらが残存していれば大変貴重である。野生生物種目録に記載された種の存否の確定は、今後の水生植物調査の一つのポイントになろう。酵素電気泳動法は、ミクリ科植物に限らず同定が難しい植物の有力な同定手段となりうると考えている。

#### 謝 辞

本研究を実施するためには、各種のミクリ科植物の生品が必要でした。快く試料を送っていただいた大野睦子先生（北九州市）、及川邦夫先生（盛岡市）、名塚史雄先生（鹿沼市）、薄羽満先生（いわき市）に厚く御礼申し上げます。現地に同行し、試料採取を指導いただいた加藤仁先生（太田原市）に感謝致します。

また、試料採取に係わる情報を提供して下さった下田路子先生（広島市）、鈴木昌友先生（水戸市）、大賀宣彦先生（千葉大学）、小倉洋志先生（栃木県立博物館）に感謝の意を表します。

#### 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) 東京都環境科学研究所：東京都の水生植物に関する調査研究結果報告書（1992-1996年現在の生育実態等について）、1997.
- 3) 山崎正夫、津久井公昭：東京都内における水生植物の分布と生育環境について、水草研究会報No.60(1997)、p.7~13.
- 4) 北村志郎他：原色日本植物図鑑 草本編（Ⅲ）単子葉類（38刷）、北隆館、1979.
- 5) 角野康郎：日本水草図鑑、文一総合出版、1994.
- 6) 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2）ミクリ科植物②、東京都環境科学研究所年報1997、p.158~162.
- 7) 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.
- 8) 津久井公昭、山崎正夫：酵素電気泳動法によるミクリとナガエミクリの同定手法について、水草研究会報No.59(1996)、p.1~4.
- 9) 東京都環境保全局：東京都環境行政交流会誌、第21号（平成9年度）1998、p.75~78.
- 10) 東京都環境保全局：東京都の野生生物種目録、1998.