# 絶滅危惧水生食虫植物ムジナモの保全と生命現象の解明

# Conservation and biological studies of *Aldrovanda vesiculosa*, an almost extinct aquatic carnivorous plant

プロジェクト代表者: 金子 康子 (教育学部) KANEKO, Yasuko (Faculty of Education)

## 1. はじめに

ムジナモは、淡水に浮遊する食虫植物で、19世紀末にチャールズ・ダーウィンにより学術的に紹介されて以来、その興味深い生物特性は多くの研究者の関心を集めてきた。しかしかつてはアメリカ大陸を除く世界各地に点在していたムジナモは大2次世界大戦以降の環境変化により激減し、国際的に絶滅が危惧されている。日本では国指定の天然記念物として、国内最後の自生地である埼玉県羽生市宝蔵寺沼で、ムジナモ保存会会員の尽力により維持されてきた。ムジナモは適切な環境下では旺盛な生育を示すが、藻類の繁茂や水質の変化に極めて敏感に反応して生育が阻害され、短期間で消滅にいたる。そのためムジナモを継続して維持栽培することは極めて難しく、長年にわたって試行錯誤が繰り返されてきたが、いまだ未知の要因が多く、栽培法の確立には程遠い現状である。本研究では、まずは入試ムジナモ保存会と協力して、ムジナモの生育に適した水環境を明らかにし、ムジナモの保全を試みること、同時にムジナモの生育を阻害し絶滅に追いやった水環境変化の要因を明らかにし、水環境の復元と保全の方策を探ることを目的とした。

ムジナモは細胞の構造と機能を解明するための研究材料として極めて適した特性を持っている。 輪生する半透明の捕虫葉上には3種類の腺毛が規則的に配置し、それぞれ特有の機能と細胞内微 細構造を有する。ミジンコなどの水生小動物が捕虫葉上の感覚毛に触れると、刺激が運動細胞に伝 わり瞬時に捕虫葉を閉じて獲物を捕らえる。獲物を閉じ込めた袋状のスペースには消化腺毛から消 化酵素が分泌され、消化産物はやがて捕虫葉から吸収される。植物にとって動物を捕食することは 極めて特異な性質であるが、捕食の個々のプロセス(刺激の伝達、膨圧運動、分泌、吸収など)は多 くの植物に普遍的に見られる現象である。ムジナモはこれらの生命現象を時間的、空間的に切り出 して解析するのに極めて適した材料であるといえる。本研究のもうひとつの目的は、ムジナモを材料 として植物細胞の微細構造変化と機能発現に関する新たな知見を得ることである。

### 2. ムジナモの生育環境の制御

In vitro でクローン増殖したムジナモを野外に設置した約 300 個のプラスチックコンテナに放し、様々な環境要因がムジナモの生育に与える影響について継続して観察を続けた(図1上段)。複数年にわたって良好な生育が観察されたコンテナはヒメヨシ、セリ、ホテイアオイ、サンショウモなどの水生植物が豊富に存在する環境であった(図1下段)。一方ムジナモの生育が阻害される要因の中では特に、藻類の繁茂(図 2c)とセンチュウの増殖(図 2b)の影響が大きかった。良好な生育状態のムジナモ(図 2a)に比べ、これらの生育が阻害されているムジナモは捕虫葉が縮小し、全体的に細く短くなりやがて消滅する。走査電子顕微鏡観察により、ムジナモの生育が阻害されている上体では、植物の成長の要であるシュート頂(図 2d)の形態に著しい変形がみられることが明らかになった。

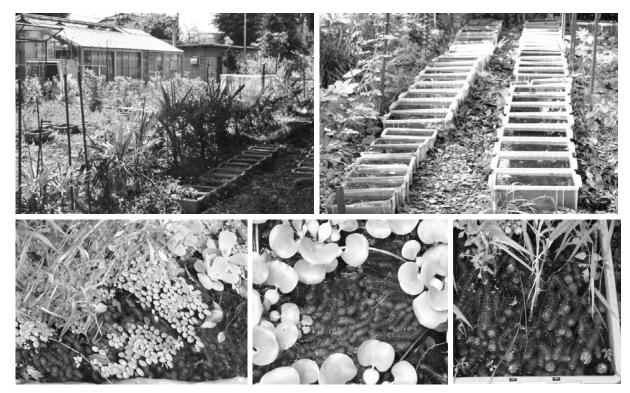


図1 野外でのムジナモの栽培

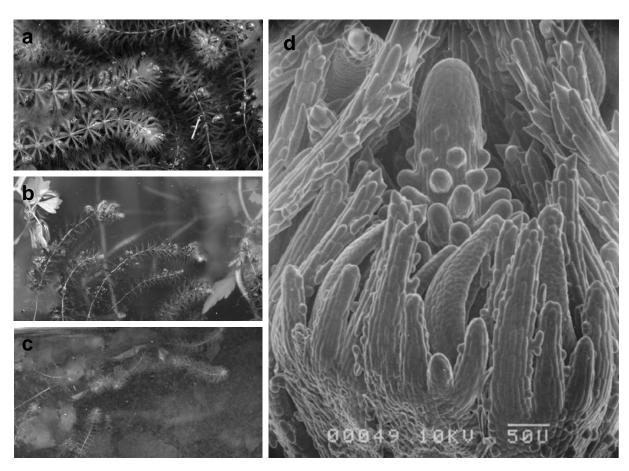


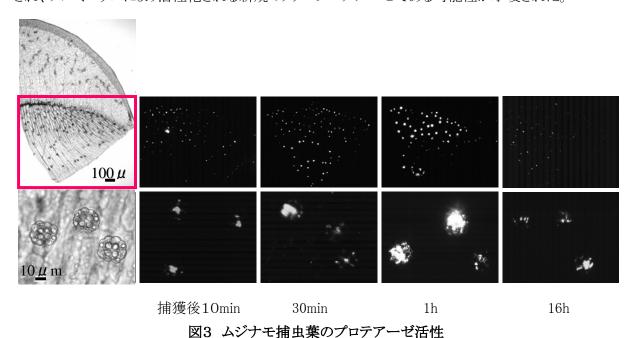
図2 ムジナモの生育状態とシュート頂

藻類の繁茂を一時的に抑えるために 0.3~0.5%のミョウバンや酸性ピートモスの抽出液を加えることによる効果を確認した。ただし、特にミョウバンの場合他の生物に与える影響も大きく、長期的な水環境への影響を追跡する必要がある。より穏やかに藻類の増殖を抑える方策として水生植物の存在とともにタニシやメダカを共存させることも有効であった。またセンチュウの増殖はセリの存在により抑制されることが示唆された。今後セリの水環境の保持に与える効果について検討していきたい。

これらの結果はムジナモ保存会会員に紹介し、年2回の宝蔵寺沼への放流会に参加し、宝蔵寺沼におけるムジナモ保全活動に貢献した。またこれらの取り組みは2006年1月5日に放映されたNHK総合テレビ「こんにちはいっと6けん」で紹介された。

# 3. ムジナモの微細構造変化と機能発現の研究

ムジナモ捕虫葉から分泌される主要な消化酵素であるとみなされるプロテアーゼ活性の発現と局在を追跡する方法を検討した。薄いゼラチン層に黒い銀粒子を含む露光・現像済みの写真用フィルムを用いることによりプロテアーゼ活性の局在を高解像度で可視化することが可能であることが分かった。この方法で獲物捕獲前後のムジナモ捕虫葉プロテアーゼ活性の発現を経時的に観察した(図3)。捕獲前の捕虫葉からプロテアーゼ活性は検出されず、捕獲後10分頃の捕虫葉基部に散在する消化腺毛からプロテアーゼ活性が検出され始めた。捕獲後1時間目には消化腺毛頭部の中心部付近の細胞壁に沿って強い活性が検出できた。透過電子顕微鏡観察により、この時期にプロテアーゼ活性が局在する部位の細胞内では小胞体などの膜構造の発達が夥しく、小胞体膜内(図4矢印)から細胞壁(図4\*)に向かって電子密度の高い物質を放出しているとみなされる様子(図4矢頭)を捉えることができた。元素分析を試みた結果、この電子密度の高い物質はアルミニウムを含むことが示され、アルミニウムにより活性化される新規のメタロプロテアーゼである可能性が示唆された。



### 4. 新しい電子顕微鏡観察法の検討

ムジナモの活発に活動する細胞で生きている状態に極めて近い微細構造像を捉えるために、急速 凍結技法を活用した新しい電子顕微鏡観察法を検討した。クライオ走査電子顕微鏡や新たに開発 された位相差電子顕微鏡を応用する可能性を探った。

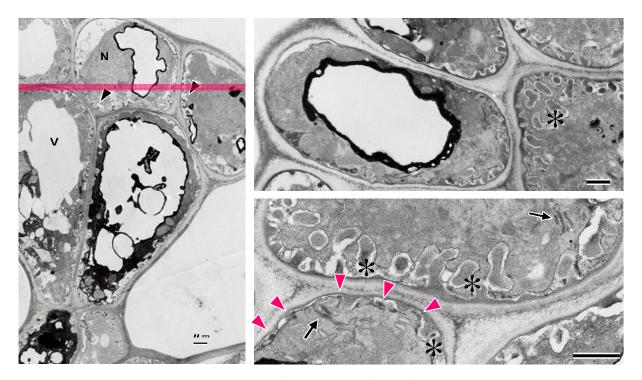


図4 捕獲後1時間目の消化腺毛微細構造

### <論文>

- 1. Kaneko Y, Danev, R, Nitta K, Nagayama K (2005) In vivo subcellular ultrastructures recognized with Hilbert differential contrast transmission electron microscopy. J. Electron Microsc. 54: 79-84.
- 2. Kaneko Y, Danev R, Nagayama K, Nakamoto H (2006) Intact carboxysomes in a cyanobacterial cell visualized by Hilbert differential contrast transmission electron microscopy. J. Bacteriol. 188: 805-808.

# <学会発表>

- 1. 金子康子、坂本君江、菊池のぞみ、厚沢季美江、松島久、仲本準 (2005) 水生食虫植物ムジナモの消化 腺毛の微細構造と機能. 日本顕微鏡学会第 61 回学術講演会講演概要集 p 93.
- 2. 金子康子(2006) 位相差電子顕微鏡によるシアノバクテリア・植物細胞の観察. 日本顕微鏡学会関東支部 第 30 回講演会予稿集 p67.
- 3. 中澤史雄、金子康子 (2006) 培養環境におけるムジナモの形態変化とシュート頂の観察. 日本顕微鏡学会関東支部第 30 回講演会予稿集 p108.
- 4. 坂本君江、佐山秀明、金子康子 (2006) 水生食虫植物ムジナモの消化・吸収過程の観察. 日本顕微鏡学会関東支部第 30 回講演会予稿集 p108.
- 5. 佐山秀明、中臣礼子、宮木充史、山田満彦、端川勉、金子康子 (2006) 急速凍結した植物組織・細胞内 微細構造 SEM 観察法の検討. 日本顕微鏡学会関東支部第 30 回講演会予稿集 p109.
- 6. 坂本君江、仲本準、金子康子 (2006) 水生食虫植物ムジナモ (Aldrovanda vesiculosa) 捕虫葉におけるプロテアーゼ活性の発現と微細構造変化. 第 47 回日本植物生理学会年会要旨集 p198.
- 7. 金子康子 (2006) ミクロの目でみたムジナモの世界. 放送大学埼玉学習センター一般公開講演.
- 8. Sakamoto K, Sayama H, Nakamoto H, Matsushima H, Kaneko Y (2006) Ultrastructural changes during digestion and absorption in the aquatic carnivorous plant *Aldrovanda vesiculosa*. Proc. 16<sup>th</sup> International Microscopy Congress (1) p 460.
- 9. Sayama H, Nakatomi R, Sakamoto K, Miyaki A, Yamada M, Hashikawa T, Kaneko Y (2006) SEM observation of rapidly frozen plant tissues and cells. Proc. 16<sup>th</sup> International Microscopy Congress (1) p 19.
- 10. Kaneko Y, Nitta K, Danev R, Nakamoto H, Nagayama K (2006) Visualization of in vivo ultrastructure of ice embedded cyanobacteria by Hilbert differential contrast transmission electron miscorcopy. Proc. 16<sup>th</sup> International Microscopy Congress (1) p 101.