

9. 不定根の形態形成と物理的特性

- 不定根を利用した塩害ファイトレメディエーション基礎研究 -

学校法人 静岡理工科大学 静岡北高等学校 科学部植物班
2 年 伊東朋里 望月峻太

1 研究目的

定根とは幼根が成長した根であり、不定根とは定根以外の根で単子葉植物及び双子葉植物など維管束植物で見られる。不定根には様々な種類があり、植物成長の補助や危機的状況に陥った際の助けとなり、植物成長において重要な役割があると考えられる。しかし、不定根の基本的構造やはたきについての研究は多くない。従って、本研究では不定根の基本的構造と物理的特性を明らかにし、不定根を利用した塩害ファイトレメディエーションへの応用を行うための基礎研究を行った。

2 研究内容

ツククサ(*Commelina communis*)を用いて不定根発生の確認、光学及び電子顕微鏡を用いて不定根及び定根組織の確認、破断実験を行った。加えて、トマト(*Lycopersicon esculentum*)の不定根及び定根の基本的構造も確認した。その後、塩害ファイトレメディエーションの基礎研究として培地及び土壌条件の決定を行った。

3 研究方法

3-1 不定根の形態形成と物理的特性

3-1-1 不定根発生の確認

ツククサを採取した後、茎を切り取り水中で生育させた(図 4)。不定根が発生した日数及び位置、側根が発生した日数を確認した。トマトは茎を切り取り、約 3cm 水中に入れ生育させた(図 5)。



図 1. *Commelina communis* 図 2. *Lycopersicon esculentum* 図 3. ツククサ採取場所 (緯度 35.028422, 経度 138.41991) 図 4. ツククサ不定根発生方法(左) 図 5. トマト不定根発生方法(右)

3-1-2 ツククサの節の太さと不定根及び定根数の調査

ツククサ 30 本の節の直径を測定し、不定根発生が停止するまで水中で生育させ不定根数を数えた。

3-1-3 ツククサの不定根発生と植物方向の調査

3-1-1 と同様の方法でツククサを処理後、縦方向、横方向及び逆さま方向で各 15 本ずつ生育させた(図 4, 6, 7)。不定根の発生方向を比較しながら観察した。

3-1-4 光学及び電子顕微鏡を用いた不定根及び定根組織の観察

徒手切片法を用いて、ツククサ及びトマトの不定根及び定根から横断面及び縦断面に切片を取り酢酸オルセイン液及びトルイジンブルー O にて染色した後、光学顕微鏡を用いて観察した。一部のツククサは赤く染色した水中で不定根を発生させた。電子顕微鏡では、試料を試料台に貼り付け観察した。

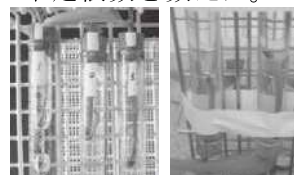


図 6. 横方向での生育方法(左)
図 7. 逆さま方向での生育方法(右)

3-1-5 ツククサの不定根及び定根の引っ張り強度

不定根及び定根を根元から切り取り、徒手切片法を用いて切片をとり染色した後、光学顕微鏡を用いて全体直径、中心柱、皮層及び表皮の長さを計測した。その後、根元から 5cm の長さに切り揃え 2 つ折りにし、引っ張り強度を測定した(図 8)。



図 8. 引っ張り強度測定方法

3-2 塩害ファイトレメディエーション条件

3-2-1 寒天培地濃度

100mL ビーカーに微粉ハイポネックス 0.2g、ショ糖 3.5g、寒天 0.3g、0.5g、0.7g、0.9g、1.1g、1.3g、1.5g、1.7g、水を 100mL 加えた。pH6.0 となるよう NaOH aq を加え、攪拌した。

3-2-2 寒天培地 NaCl 濃度

3-2-1 と同様に、微粉ハイポネックス、ショ糖、水、NaOH aq、寒天 0.5g を加え、攪拌した。その後、NaCl を各 0.02g、0.06g、0.11g 加え攪拌、加熱し、寒天を溶解させ放冷した。

3-2-3 寒天培地 pH

3-2-2 と同様に、微粉ハイポネックス、ショ糖、水、寒天、NaCl 0.06g、pH5.0、6.0、7.0 となるよう NaOH aq を加え攪拌、加熱し寒天を溶解させ放冷した後、寒天の硬さを確認した。

3-2-4 土壌による植物栽培の水分量

土を 100g 入れ、ツクサ及びメノマンネングサ(*Sedum japonicum*)をそれぞれ植え付けた。水 30mL を各 3 日、5 日、7 日、9 日、11 日に一度与え 27 日間生育させた後、植物を観察した。

4 研究結果

4-1-1 不定根発生の確認

ツクサから発生した不定根は、浸水した節のみから発生し節根であり(図 9)、除茎した部分から近い順に不定根が発生した。1~2 日で不定根、6~7 日で側根が発生した(図 10)。トマトから発生した不定根は浸水した茎の膨らみ部分から発生した(図 11)。発生位置は上方及び下方から発生しており、規則性はみられなかった。1~2 日で不定根が発生し、7~8 日で側根が発生した(図 12)。ツクサ及びトマトは浸水していない部分からも不定根は発生したが、伸長しなかった(図 13)。



図 9. 不定根 図 10. 不定根発生時間と本数

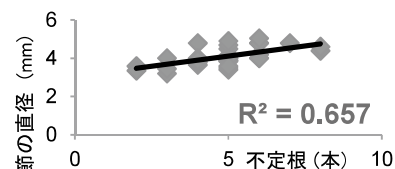
図 11. 不定根発生初期

図 12. 不定根後期側根

図 13. 不定根発生

4-1-2 ツクサの節の太さと不定根及び定根数の調査

不定根発生の結果、節の直径は平均 4.1mm、節から生える不定根数は平均 4.8 本であった。図 14 より、節の直径と不定根数には正の相関があった。定根は 30 本のツクサから本数のみを数えた結果、平均 3.1 本であった。



4-1-3 ツクサの不定根発生と植物方向の調査

縦方向の場合、不定根は節を囲うように全方向に不規則に発生した(図 15)。節の太さは平均 4.2mm、不定根数は平均 5.5 本。横方向の場合、不定根は下方に集中して発生し、上方向には発生しなかった(図 16)。伸びた不定根は試験管に接するまで下方向に伸び続け、接した所から試験管に沿って左右に伸びた。節の直径は平均 4.3mm、不定根数は平均 4.8 本。逆さま方向の場合、不定根は横方向と同様に全て下方向に発生し、そのまま伸び続けた(図 17)。節の直径は平均 4.1mm、不定根数は平均 2.6 本、逆さま方向のみ発生本数が少ない結果となった。不定根発生の時間については各 1~3 日であり、大差なかった。

図 14. 節の太さと不定根本数結果

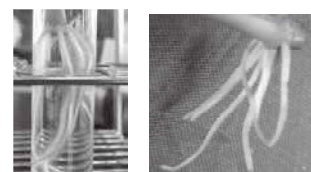


図 15.縦方向 図 16.横方向

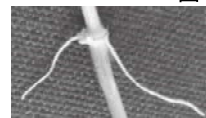


図 17.逆さま方向

4-1-4 光学顕微鏡及び電子顕微鏡を用いた不定根及び定根組織の観察

ツクサの不定根及び定根を観察した結果、外側から順に丸型細胞からなる表皮、大小様々な楕円及び丸型細胞のからなる皮層、丸型細胞からなる中心柱などから構成されていた(図 18,29)。不定根の中心柱最外層には一層の円形細胞からなる内鞘が存在し大きさは約 100~300μm、内側には維管束が存在した。不定根の原生木部数は不定根の発生時間に伴い増加し、発生初期は 4 本、中期は 5 本、後期は 6 本以上存在し多原型であり(図 18)、定根も 6 本以上の原生木部を確認することがで

き、多原型であることがわかった(図 32)。不定根及び定根の中心柱内には維管束が存在し、師部が木部を包むことから外木胞圍維管束、螺旋紋道管及び環紋道管が観察できた(図 19,20,27,28,33)。また、道管は幅約 10~30 μm とばらつきがあり、2~3 本が束になり並列するように構成していた(図 19,27)。茎と不定根の繋がりからは、不定根の道管及び師管と茎の道管及び師管は茎の内鞘に近い部分から発生しており(図 24)、定根では茎と定根の維管束が繋がっていた(図 34)。不定根及び定根の根端では分裂組織の層状構造が不明瞭で、縦の細胞列であるコルメラが存在し開放型であった(図 22,35)。根冠の中央基部に平衡細胞が観察され、平衡細胞内には重力を感知するアミロプラストが存在した(図 23)。発達した不定根の切片では、側根が内鞘から発生していた(図 24)。側根の切片からも維管束が観察され、無機栄養塩及び水を運搬することがわかる。さらに、ヨウ素液で染色した結果、不定根及び定根ではヨウ素でんぷん反応を示さなかったが、茎では多くの細胞内含有物として $\text{Ca}(\text{COO})_2$ 針状結晶、デンプン粒が観察された(図 25,26,36)。

トマトの不定根は直径 0.5mm~1.5mm と非常に細く、観察した結果外側から表皮、皮層、中心柱などから構成されていた(図 37)。中心柱の内側に維管束が観察でき、原生木部が 4 本存在し四原型であった(図 37)。さらに、内外両側に師部があり木部を挟んでいるため外師複並立維管束であり(図 40)、螺旋紋道管及び環紋道管が観察された(図 38,39)。定根の直径は 0.2mm~1.0mm と非常に細く、外側から表皮、皮層、中心柱などから構成されて(図 41)、内外両側に師部があり木部を挟んでいるため外師複並立維管束であり(図 42)、螺旋紋道管及び環紋道管が観察された(図 43)。

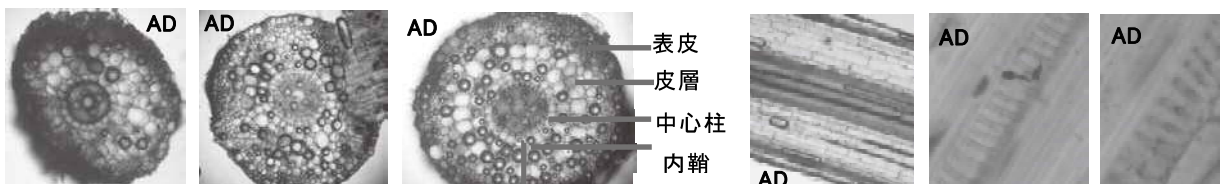


図 18.横断面(左から 3 日目、5 日目、8 日目)

原生木部 図 19.縦断面 AD 図 20.環紋道管(左)螺旋紋導管(右)

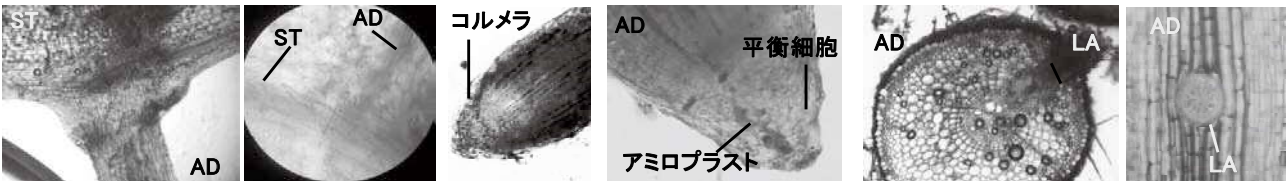


図 21.つながり(左:トルイジンブルー 右:赤インク) 図 22.コルメラ 図 23.平衡細胞、アミロプラスト 図 24.内鞘から発生した側根

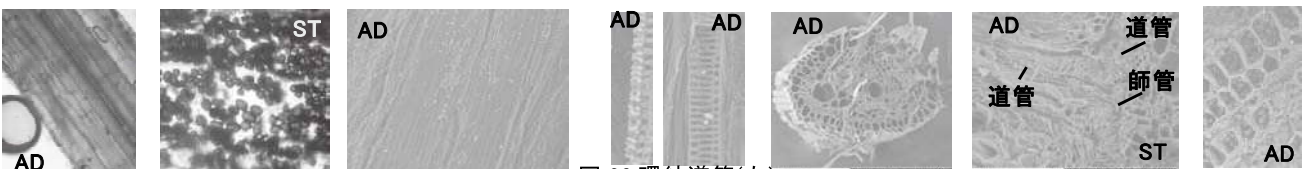


図 25.ヨウ素反応 図 26.デンプン粒 図 27.縦断面 図 28.環紋道管(左)螺旋紋導管(右) 図 29.横断面 図 30.つながり 図 31.デンプン粒 $\text{Ca}(\text{COO})_2$ 針状結晶

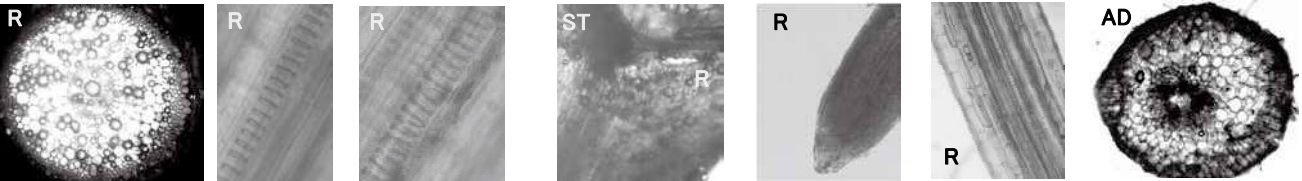


図 32.横断面 図 33.環紋道管(左)螺旋紋道管(右) 図 34.つながり 図 35.コルメラ 図 36.ヨウ素反応 図 37.横断面

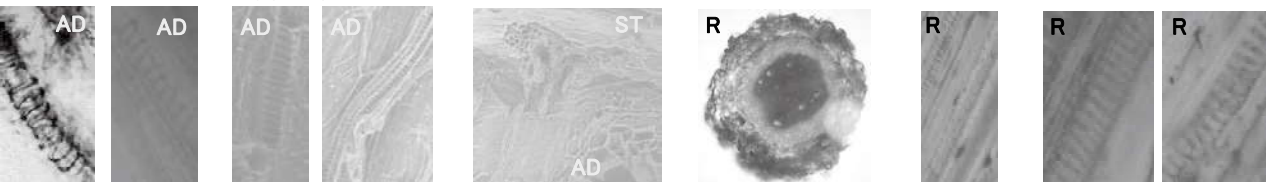


図 38.螺旋紋道管(左)環紋道管(右) 図 39.螺旋紋道管(左)環紋道管(右) 図 40.つながり 図 41.横断面 図 42.師管及び道管 図 43.環紋道管(左)螺旋紋道管(右)

4-1-5 ツुकサの不定根及び定根の引っ張り強度

不定根の全体直径は平均 843.9 μm 、中心柱は平均 255.2 μm 、皮層は平均 256.1 μm 、表皮は平均 43.37 μm 、破断時の重さは平均 438.2g であった。決定係数は全体直径 $R^2=0.689$ 、中心柱 $R^2=0.298$ 、皮層 $R^2=0.670$ 、表皮 $R^2=0.0740$ であり、全体直径及び皮層において正の相関がみられた。定根の全体直径は平均 798.3 μm 、中心柱は平均 215.8 μm 、皮層は平均 256.1 μm 、表皮は平均 39.07 μm であり、破断時の重さは平均 94.31g であった。決定係数は全体直径 $R^2=0.0609$ 、中心柱 $R^2=0.0609$ 、皮層 $R^2=0.0385$ 、表皮 $R^2=0.0001$ であり、相関はみられなかった。

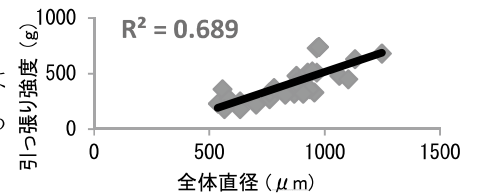


図 44.全体直径に対しての引っ張り強度

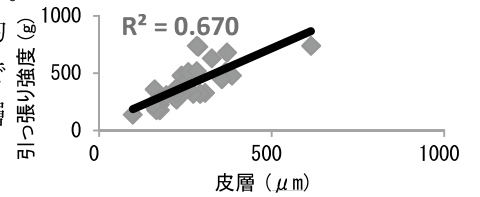


図 45.皮層に対しての引っ張り強度

4-2-1 寒天培地濃度

寒天濃度を变化させた結果、どの培地もゲル状となった。0.3%培地はゲル状になったものの水分が多過ぎた。0.7%~1.7%寒天培地は植物が根を張るには硬すぎた。従って、不定根発生には0.5%培地が適すると考え48時間後の培地を確認したところ、水分が蒸発したが変化は小さかった。

4-2-2, 4-2-3 寒天培地 NaCl 濃度, 寒天培地 pH

各 NaCl 濃度の寒天培地では、硬さ、水分量等に変化がなかった。pH 調整すると、pH5.0、6.0、7.0 の順に寒天培地は硬くなった。

4-2-4 土壌による植物栽培の水分量

ツुकサの水分量を変化させ27日間栽培した結果、全条件から不定根が発生した(図 57)。成長率は30mL/3日 平均0.30g、30mL/5日 平均0.31g、30mL/7日 平均0.83g、30mL/9日 平均0.75g、30mL/11日 平均0.49gであった。メノマンネングサの水分量を変化させ27日間栽培した結果、全条件から不定根が発生した(図 58)。成長率は30mL/3日 平均0.01g、30mL/5日 平均0.01g、30mL/7日 平均0.02g、30mL/9日 平均0.03g、30mL/11日 平均0.01gであった。

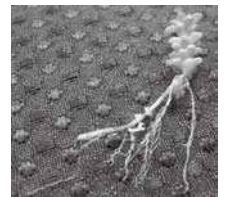


図 46.各水分量で生育したツुकサ 27 日後(左から 30mL/3 日、30mL/5 日、30mL/7 日、30mL/9 日、30mL/11 日) (左から 30mL/3 日、30mL/5 日、30mL/7 日、30mL/9 日、30mL/11 日)

5 実験考察

5-1-1 不定根発生の確認

研究結果より、未分化細胞はツुकサの節下、トマトは茎の膨らみに多く存在すると考えられる。ツुकサ及びトマトは損傷を受けても、不定根を数日で発生させ機能を回復し、不定根は自然界でも危機的状況を打開する役割を持つと考えられる。さらに、共に浸水させた部分から速く長く不定根が発生したことから水が不定根を発生させる、または伸長させる条件となっていることがわかる。

5-1-2 節の太さと不定根及び定根数の調査

不定根は節の直径が長い程多くの不定根が発生した。節が太い場合、植物体が大いことから、植物体を支え、水及び無機栄養塩をより必要とするため多くの不定根を発生させる必要があると考えられる。逆に全体直径が短い場合、植物体が小さいことから植物体と不定根の発生頻度との間には密接な関係があることがわかる。さらに、不定根は多くの節から容易に生じたが、定根は1植物体あたり3.1本と少数であった。従って、ツुकサは定根が殆ど発達せず、多数の不定根により植物体を支え、無機栄養塩及び水を得ていることがわかる。

5-1-3 不定根発生と植物方向の調査

縦及び横方向に育てたツुकサの不定根発生に ± 0.7 本の差が生じたことから、不定根発生には重力と関係性があると考えられる。これによる利点は確実に土壌に向かうことであり、水及び無機栄養

養塩を土壌中から得られる点である。さらに、逆さま方向で育てたツユクサの不定根数が 2.6 本と少ないことから、植物が自然界において逆さまになることは滅多に無く、そのような機能がもともと備わっていないと考えられる。しかし、植物ホルモンとの関係性から考えると、逆さまでもその分泌や流れは変わらないため、サンプル数を増やし検証する必要がある。

5-1-4 光学及び電子顕微鏡を用いた不定根及び定根組織の観察

ツユクサ及びトマトの観察から、不定根組織と定根組織は非常に類似していた。特に、不定根にも維管束組織が存在しその形態が非常に類似していたことから、不定根は定根と同様に水及び無機栄養塩を運ぶ役割を持つことが分かった。さらに、不定根及び定根はヨウ素デンプン反応を示さないことから、貯蔵根の役割を果たさず茎にデンプンを蓄えていた。これらから、単子葉類であるツユクサと双子葉類であるトマトの不定根は共に定根と非常に良く似た構造を示し、植物はダメージを受けた器官を補い、機能を回復するために不定根を発生させていることが示唆された。

5-1-5 不定根及び定根の引っ張り強度実験

不定根の破断実験より、全体直径が長いと引っ張り強度が大きく、全体直径が短いと引っ張り強度が小さいことが示唆された。特に、皮層と引っ張り強度に正の相関がみられ、皮層の発達により不定根の引っ張り強度は決定することがわかった。定根の破断実験より、内部形態の発達により強度が左右されず、破断時の重さが不定根は平均 438.2 g、定根は平均 94.3 g であり、定根は植物体を支え引っ張りに耐えるよりも、無機栄養塩及び水を得るために存在すると考えられる。

5-2-1 寒天培地濃度

各寒天濃度を検証した結果、植物栽培に適した寒天培地はある程度柔らかいほうが生育は良好になると考えられるため、ある程度の柔らかさを保ち水分量が確保できる 0.5%寒天培地を採用した。寒天は pH により硬さが変わり、pH6.0 が程良い柔らかさとなった。さらに、東日本大震災の被災地域の土壌は pH5.5~8.5 であり、pH6.0 はその範囲内であることから妥当である。

5-2-2 寒天培地 NaCl 濃度

4-2-2 の結果より、NaCl を加えた培地に変化がなかったことから、0M、0.05M、0.1M、0.2M を採用する。東日本大震災の被災地域の土壌 NaCl 濃度は 0.5M~1.0M であり、低濃度ではあるが NaCl 濃度 0.2M 以下で生育可能な植物を選定することから研究を始める。

5-2-3 寒天培地 pH

4-2-3 の結果は寒天が酸により加水分解されたためであると考えられ、0.5%寒天培地に適した pH は 6.0 であると判断した。また、植物は土壌 pH が成長に大きく左右するが、多くの植物が適正 pH6.0~7.5 であることから、寒天培地は pH6.0 が妥当であると考えられる。

5-2-4 土壌による植物栽培の水分量

土壌による植物栽培の水分量は植物の種類により変更する必要があると考えられる。しかし、4-2-4 の結果より、30mL/7 日~30mL/9 日の条件で水を与えることが適していると考えられる。

6 おわりに

不定根は多くの植物種で普通に発生し、ツユクサ及びトマトの不定根は定根と非常に良く似た組織構造をし、はたらきも類似した。しかし、ツユクサの不定根は強度を増すため皮層が発達していたが、定根にはみられなかった。従って、ツユクサの不定根と定根の基本的構造は類似するが、その役割は全く同じではないことがわかった。これにより不定根を用いた塩害ファイトレメディエーション実験が可能であると判断した。寒天濃度、pH、NaCl 濃度は実験にて決定したものを採用し、今後は様々な植物を用いて NaCl 耐性及び吸塩性植物の選定を行う。さらに、それらの植物に含まれる塩に対する DNA 配列を特定し、農作物や成長の早い植物に組み込むことでさらに時間を短縮した不定根利用の塩害ファイトレメディエーションを確立することを目指す。

7 参考文献

根の事典編集委員会,根の事典(2009 年)株式会社朝倉書店