

竹の枯殺状況の簡易判別法の検討

—竹根系への染色による生死判別の試み—

石田洋二

I はじめに

近年、猛威をふるう侵入竹林による人工林の衰退や、田畑や人家への侵入の被害が顕著化している。

石川県においても、伐採や薬剤処理などの手法を利用した竹の有効な駆除方法の研究開発が行われているところであるが、その効果を判断する上で、処理竹に連続する地下部組織（根系）への影響波及の強度や時期の情報を入手することは重要である。そのため、地下部組織の即時の生死判別が重要であるが、生命活動が停止していても外見上の変化を見るのは難しく、現状では処理後数ヶ月経過した後、地下部組織を掘り起こし、腐りによる変色や芽子の成長の停止から間接的に判別するしかなかった。

ファストグリーンやトルイジンブルーなどの細胞の顕微鏡観察時に使用される染色液は、生細胞に見られる細胞質の成分を着色する。この性質を利用して、染色の有無（強弱）により、細胞の生死を直接的に判別することが可能となると考えられる。ここでは、駆除処理を行った竹への処理効果を現地で簡便に把握する技術の開発を目的として、地下部組織の生育しているものと死亡したものに対する、染色液の染色性の違いを判別することが可能か検討した。

II 材料と方法

1 試料採取

試料の採取は、平成 22 年 11 月 11 日に、石川県金沢市坪野町地内の富樫県有林における竹林で行った。

根切りチェンソーで、竹林の地表部から、20cm×20cm×20cmの土壌ブロックを2個切り出した。一方の土壌ブロックをAブロックとし、直後に染色処理を行い、生存組織への染色性の調査に供した。もう一方の土壌ブロックはBブロックとし、枯殺処理を行った後、死亡組織への染色性の調査に供した。切り出したA、Bそれぞれのブロックは、さらに10cm×10cm×10cmの小ブロック8個に分割し、直ちにビニル袋に入れ密封した。

2 枯殺処理

Bブロック由来の小ブロックは、密封状態で3か月間室内暗所に放置し、そこに含まれる竹の地下部

組織を枯殺した。今回の枯殺処理において、乾燥や加熱等の物理的な処理は行わなかった。これは、本実験は現地で竹の生死を簡便に判別するための染色処理を想定しているため、自然状態で枯死した試料を得るためである。

3 染色処理

染色液は、ファストグリーン 0.5%溶液と、トルイジンブルー0.05%溶液を使用した。ファストグリーン 0.5%溶液は、ファストグリーン FCF 粉末（和光純薬）を少量のエタノールに溶かし、0.5%（w/v）になるよう純水を加えたものである。トルイジンブルー0.05%溶液は、市販のトルイジンブルー 0.05%溶液（和光純薬）を原液で使用した。

生育している竹の根系への染色は、以下の方法で行った。

Aブロック由来の8個の小ブロックは、採取後にそれぞれ直ちに流水で土壌を洗い流し、竹の地下部組織（地下茎及び根系）のみとした。本実験の染色処理は地下部組織のうち根系のみを対象とするため、8個の試料のうち、根系が豊富に含まれる4試料を選んだ。なお、根系試料は、土壌ブロックを10cm×10cm×10cmの小ブロックに切り分けた時点で、長さが概ね10cm以内の断片に裁断されていた。

土壌を洗い流した4個の根系試料は軽く水気を切り、湿った状態でそれぞれプラスチックトレイに広げ、染色液を霧吹きで吹きつけた。染色処理の組み合わせは、ファストグリーン染色5分間及び30分間、トルイジンブルー染色5分間及び30分間の組み合わせとし、所定の染色時間が経過した後は、流水で染色液をよく洗い流した。

死亡組織への染色は、Bブロック由来の枯殺処理した小ブロックを使用した。その染色処理については、上記のAブロックの処理と同様とした。

4 染色率調査

それぞれの染色液および染色時間の組み合わせについて、染色処理された根系のどの部分がよく染まっているかを、目視により観察した。また、その部分の大まかな染色率を目視により判定した。

Ⅲ 結果と考察

採取直後の生存組織に対する染色処理の結果、染色が確認された部位は、ファストグリーンおよびトルイジンブルーともに、根毛表皮、概ね直径1mm未満の細根表皮および根の裁断された切断面であった。一方、概ね根の直径が2mm以上の部位の表皮については、ほとんど染色が見られなかった。表-1に、生存組織の染色が見られた部位ごとの染色結果の目視評価を示す。2種類の染色液ともに、根毛および根の切断面において、高い水準の染色率であった。一方、径1mm未満細根表皮においては、他の部位と比べて染色率は低かった。染色時間については、どの染色液、部位についても、5分より30分の方の染色率が高まっていた。

採取後死亡組織に対する染色処理の結果を表-2に示す。ファストグリーンについては、根毛表皮および根の切断面において、高い染色率であり、直径1mm未満の細根表皮はやや低い染色率を示す傾向が見られた。ただし、細根表皮の染色時間30分では、5分と比較して染色率が非常に高まり平均としては、生存組織よりも高い染色率となっていた。トルイジンブルーについては、根毛表皮、細根表皮および根の切断面いずれについても、生存組織よりも染色率は低下していた。特に、根毛表皮に対する染色率が大きく低下していた。また、染色時間5分と30分で染色率の変化が少ないのも特徴的であった。

ファストグリーンは、生存組織の中に含まれるタンパク質を染色する。しかし、今回の実験では、死亡組織に対しても、高い染色性を示した。これについての原因の究明は現段階では不十分であるが、もともとこの染色液は発色が良く、試料の繊維間に浸

透した染色液が、洗浄後も残留している事によって見かけ上染色されてしまったように見えたためではないかと考えられた。そのため、今回の実験に供した0.5%という染色液濃度は高すぎたとも考えられ、改善の必要があると考えられた。

トルイジンブルーは、ファストグリーンと同様、生育している細胞質中に含まれるタンパク質や多糖類を染色すると言われている。今回の実験では、根毛表皮と径の小さい細根表皮について、生存組織と死亡組織との間に、染色率の差がみられた。特に根毛表皮において、明確な差が見られたため、この染色液の根毛表皮への染色性により、竹の根系の生死判別の可能性が認められた。ただし、今回実験に供した染色液の濃度0.05%では、生存組織についての発色についても明瞭なものではなかった。現地での染色を行う際、十分な光が確保されない場合は、肉眼で正確な判別が困難となる可能性もあることに留意する必要がある。

また、染色時間については、5分から30分へと長くなるほど染色率は高まったことから、少なくとも5分では十分に染色が完了しないと考えられる。よって、染色時間は30分程度とした方が無難と考えられる。しかし、ファストグリーンでは上記のように、死亡試料でも見かけ上、染色される可能性があり、染色時間が長くなるほど染色率が高まったが、トルイジンブルーでは、死亡試料への染色時間が長くなっても染色率の大きな変化がない。このこともトルイジンブルーを使用する利点の一つと考えられた。

表-1 生存組織に対する染色結果の目視評価

染色液	ファストグリーン0.5%			トルイジンブルー0.05%		
	5分	30分	平均	5分	30分	平均
目視による染色率(%)						
根毛表皮	70	100	85	90	90	90
径1mm未満細根表皮	20	50	35	10	50	30
根の切断面	100	100	100	90	100	95

表-2 死亡組織に対する染色結果の目視評価

染色液	ファストグリーン0.5%			トルイジンブルー0.05%		
	5分	30分	平均	5分	30分	平均
目視による染色率(%)						
根毛表皮	90	100	95	10	10	10
径1mm未満細根表皮	30	90	60	5	5	5
根の切断面	95	100	97.5	75	90	82.5