

かんたん 根の染色法 v1.1



(独) 東北農業研究センター 村上敏文

Ver.1.0 2005.2.7 Ver.1.1 2005.6.23

根の染色法

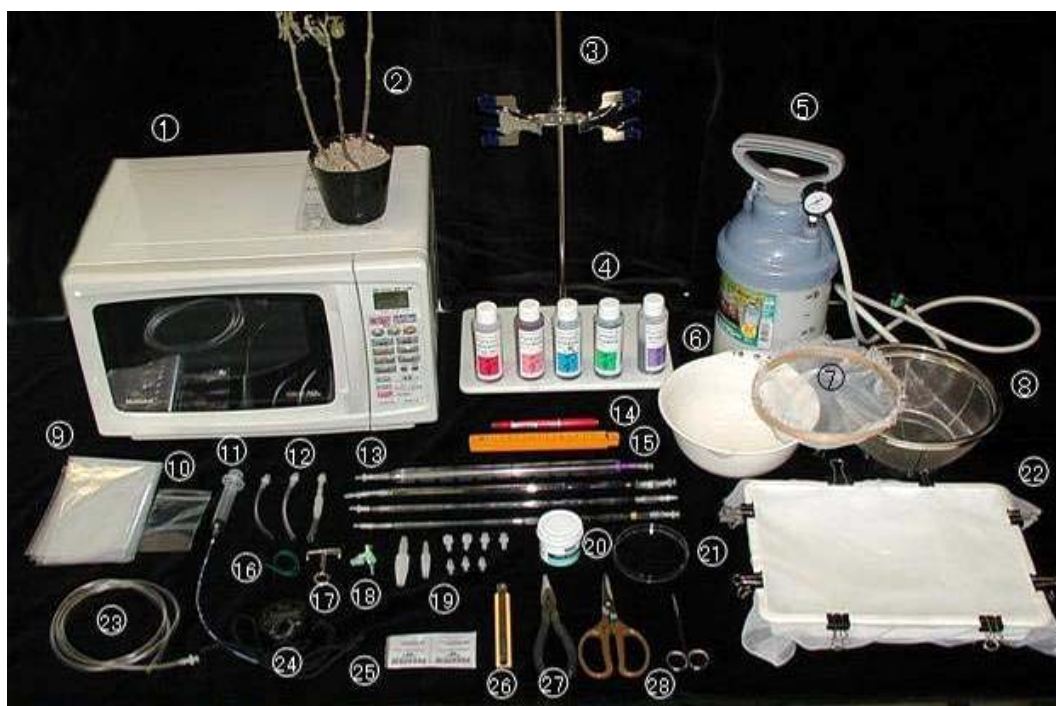
(独) 東北農業研究センター 村上敏文

1. はじめに

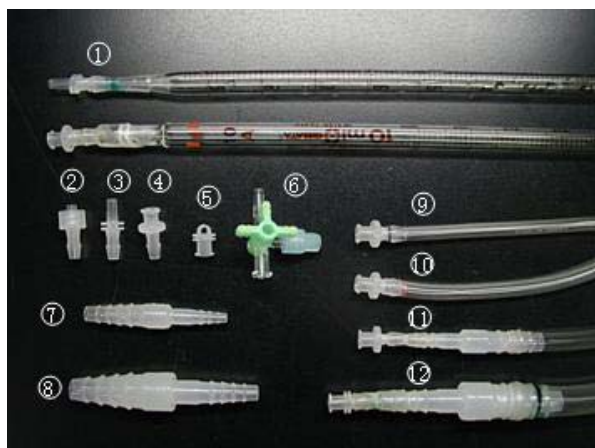
このマニュアルは、前作「根の調査法」同様、やはり運悪く根を調べるはめになった人のために、できるだけ少ない労力で、隣接する2株の根を染め分ける方法を述べたものです。この方法は、きわめて安価な装置を使って、切り花着色液（ファンタジー、パレス化学）を根に注入するだけですが、染まり具合は（！）です。本法の有効性を確認している植物は、トマト、ナス、ピーマン、タカノツメ、インゲン、シシトウ、ブロッコリ、スイートバジル、サツマイモ、マリーゴールド、ヒメジオン、トウモロコシなどです。

2. 用意するもの

図1 根染色道具一式



(1)家庭用電子レンジ (750W) (2)犠牲者、ポット栽培植物 (3)ピペットスタンド (4)切り花着色剤（ファンタジー、パレス化学）（注1） (5)蓄圧式農薬散布器（注2） (6)プラスチックボウル（直径25cm） (7)布メッシュ 目の大きさ0.2mm（光洋合繊加工のテトロンシーア No1126 など）、18cm 刺繍枠に張る (8)網カゴ 目の大きさ2mm (9)ビニール袋（30cm×25cm 厚さ0.03mm 程度のもの） (10)チャック付きビニール袋 (11)ディスポーザルシリンジ10mL（針の先に、テフロン細管を30cm 装着） (12)タイゴンチューブ（11cm）+チューブコネクター（次ページの図2参照） (13)メスピペット（1mL、2mL、10mL、50mL） (14)マジック (15)物差し (16)針金（ねじりっこ） (17)ピンチコック (18)三方活栓 (19)チューブコネクター各種 (20)真空グリース (21)シャーレ (22)メッシュを張ったバット、幅30cm (23)タイゴンチューブ各種 (24)ストップウォッチ (25)パラフィルム (26)カッター (27)ニッパー (28)ハサミ各種



No	名称	規格	アズワンコード	単位	値段
2	オスルアーロック	VRM406 4mm	AJ-1054-360	1袋10個	1400
3	オスルアー	VRS406 4mm	AJ-1054-260	1袋10個	1400
4	メスルアーハブ	VRF406 4mm	AJ-1054-420	1袋10個	1400
5	プラグ、メス	VRFP6	AJ-1054-290	1袋10個	1400
6	三方活栓	R型	トップ 01301	1個	400
7	PPチューブジョイント	異径PD-SM	AH-1054-100	1袋10個	350
8	PPチューブジョイント	異径PD-ML	AH-1054-110	1袋10個	480
9	タイゴンチューブ	3.96x5.56mm	AH-1036-080	1巻き15m	3300
10	タイゴンチューブ	4.76x6.35mm	AH-1036-100	1巻き15m	3700
11	タイゴンチューブ	6x8mm	AH-1036-280	1巻き15m	4200
12	タイゴンチューブ	10x13mm	AH-1036-320	1巻き15m	11000
他	タイゴンチューブ	2.38x3.96mm	AH-1036-040	1巻き15m	2100

図2 コネクターおよびチューブ類

(1) ピペット；先端にオスルアーをタイゴンチューブで接続し、パラフィルムを巻く。末端にはメスルアーハブを接続。（注3）(2) オスルアーロック；圧力装置からのチューブをピペット末端へ接続するのに使用 (3) オスルアー (4) メスルアーハブ (5) プラグ (6) 三方活栓 (7) 異径ジョイント小 (8) 異径ジョイント中 (9) - (12) タイゴンチューブにメスルアーハブをはめ、接続部分にパラフィルムを巻いたもの。太いチューブを使う時は異径ジョイントを間にはさむ。チューブの全長は統一し、同一の液量が入るようにする。ここでは11cmにしてある。

3. 染色装置の概要

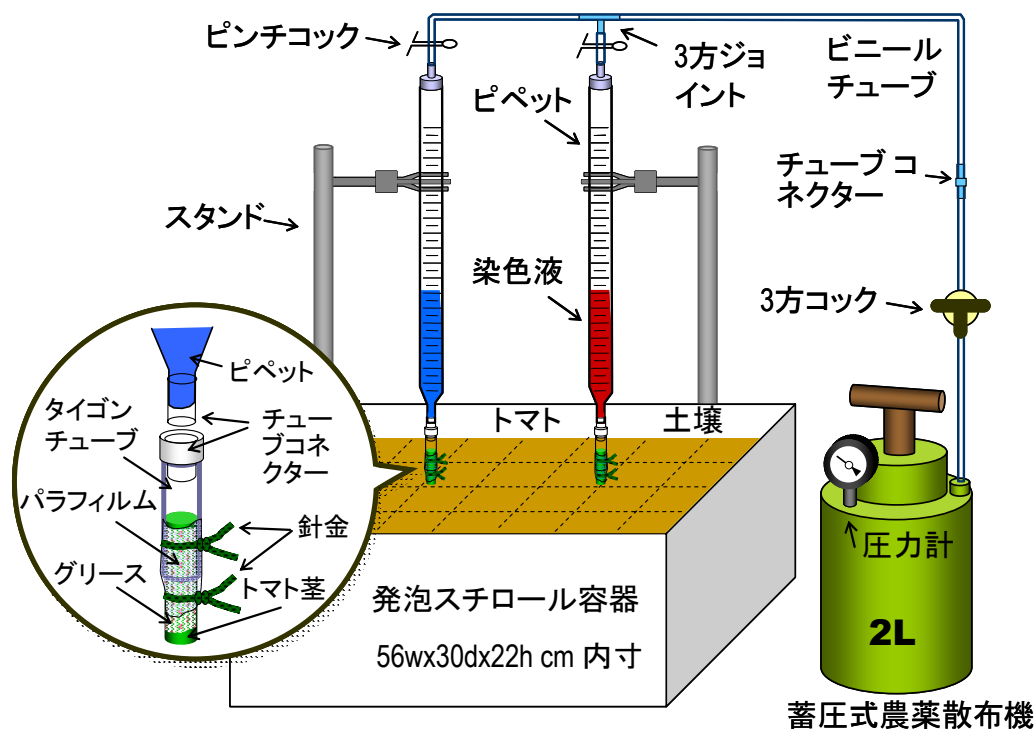


図3 40L発泡スチロールコンテナの例

4. 手 順



図4 元気なころのトマト（桃太郎 53 日）

（1）植物をポットで栽培する（図4）。茎が堅めでしっかりと立つ作物（トマト、ナスなど）が染色しやすい。黒ポリポットの内側に透明ポリポットを入れて栽培をすると、根の生育や染色状況が容易に観察できる。



図5 水がなくなってかわいそうなトマト

（2）染色日の数日前から、灌水を停止し、植物が萎凋する程度に土壌を乾燥させる（図5）。（注4）



図6 茎をハサミで切断する

（3）茎を地上 4cm の位置で切断する（図6）。



図7 切断面をきれいに削る

（4）茎の切断面をカッターでなめらかに削る（図7）。切断面は少し斜めにすると、チューブをはめやすい。茎表面にこぶがある場合は、それも削る。



図8 茎側面にグリースをぬる

(5) 茎の側面全体に真空グリースをぬり、茎表面をなめらかにする。これにより、チューブを差し込むのが容易になり、液漏れも防げる(図8)。なお切断面にグリースが着かないように注意する。



図9 茎にチューブを差し込む

(6) 茎の直径より小さめのタイゴンチューブ(メスルアーハブ付き)を茎に差し込む(図9)。



図10 茎にパラフィルムを巻く

(7) チューブの上から、2×4cmのパラフィルム片を巻く。特に、チューブと茎の継ぎ目にしっかりと巻き、茎元まで覆う(図10)。



図11 針金を巻いてきつく締める

(8) 茎の上下2箇所のパラフィルム上から針金を巻き、ニッパーでねじってきつく締める(図11)。はりがねを巻く位置は、上が茎先端から約1cm、下がチューブの下から約1cmの部分。



図 1 1-変 樹脂を塗布し液漏れを防止

単子葉植物では、（８）の手順の後、パラフィルムの下端および葉鞘と葉鞘の隙間部分に、樹脂又は接着剤を塗って染色液の漏れを防止する。土壌はぎとり用のトマック NS10（三恒商事（株）06-538-0571）は、水と反応して 30 分程度で固化するので使いやすい（図 11-変）。



図 1 2 染色装置

（９）ピペットをスタンドにセットし、農薬散布器を準備する（図 12）。



図 1 3 染色液をピペットに入れる

（１０）ピペット末端側のピンチコックを開ける。ピペット先端を染色液の容器をつける。ピペット末端から出ているチューブを吸って、染色液を吸い上げる（図 13）。液が必要量入ったら、末端のピンチコックを閉じる。染色液容器を下におき、ピペット先端の液を拭き取る。先端にキャップをする。



図 1 4 ポンピングして圧を溜める

（１１）農薬散布器からピペットへの流路が閉じていることを確認し、圧力ゲージの読みが 0.05MPa（0.5 気圧）になるまで農薬散布器のハンドルをポンピングする（図 14）。圧力ゲージの読みに 0.1MPa（1 気圧）を加算すると、かかる圧力になる。（注 5）



図 15 茎側のチューブに染色液を入れる。

(1 2) シリンジで、茎側のチューブに染色液を注入する (図 15)。(注 6)



図 16 ピペットと茎を接続する

(1 3) ピペット先端のキャップをとる。ピペットと茎側のチューブを接続する (図 16)。



図 17 ポンピングによる気泡除去

(1 4) 茎側チューブの中に残っている気泡を指でポンピングしてピペット上方へ出す (図 17)。ポンピングはチューブをしばらくつまんで気泡が液面に達するまで待つようなやり方で行う。収縮が速いと小さな気泡が出来て、ピペットの液面にたまり、目盛りが読めなくなるので注意する。ピンチコックを開ける。



図 18 染色開始

(1 5) ピンチコックが開いていること、農薬散布器からの流路がすべて開になっていることを確認する。散布器に接続している 3 方コックを開にして、圧をかける。その瞬間に液面が下がる。それを染色開始時の目盛りとする (図 18)。



図 19 染色開始 5 分。すでに根が染まりはじめている。

(16) 必要な染色液量が注入されるまで、待機する(図 19)。このマニュアルの表紙ぐらいに染まれば OK(注 7)。十分量の染料が注入されても、根の色が薄いことがある。しかし加熱処理をして水洗すると、染料が浸みて濃くなるので心配は無用。



図 20 ピンチコックを閉じる

(17) 染色が終わったら、3 方コックをまわして、系内の圧を抜く。ピペット上方のピンチコックを閉じる(図 20)。



図 21 ピペットから茎をはずす

(18) 茎をピペットからはずす(図 21)。このとき、液の噴出に注意する。圧を抜き忘れると、一気に液が出る。



図 22 ピペットにキャップをする

(19) ピペット先端にキャップをかぶせる(図 22)。

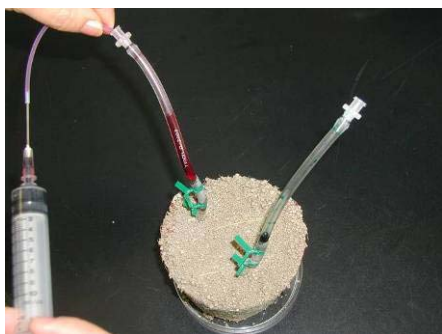


図 23 チューブ内の液を捨てる

(20) チューブ内に残った染色液は、シリンジで吸引して、廃液溜めに捨てる（図 23）。この残液には、植物から出た成分が入っており、再使用するとトラブルを起こす可能性がある。



図 24 チューブを茎からはずす

(21) 針金をはずし、チューブを茎から取り外す。チューブをまわしながら上方へ引っ張るとパラフィルムごと抜ける（図 24）。



図 25 土壌をビニール袋に入れる

(22) ポットごとあるいは土壌ブロックをビニール袋に入れる（図 25）。必要なら土壌をくずして水分測定用に 5g ずつ 2 点を採取する。



図 26 電子レンジで 6 分間加熱処理

(23) 残りの土壌を電子レンジで加熱する（6 分 / 1kg 土あたり）。この操作で、ファンタジーの水洗時の色抜けが抑えられる（図 26）。



図 27 ビニール袋に水を入れ攪拌

(24) ビニール袋に水を入れ、攪拌する(図 27)。



図 28 根から土壌を除く

(25) ビニール袋の土壌をボウルに入れ、根から土壌を除く(図 28)。



図 29 メッシュ上で根の形を整える

(26) 0.2mm 程度のメッシュを張ったバットに水を満たし、その上で根を洗いながら、形を整える(図 29)。



図 30 水を捨てる

(27) 根をおさえて、水を切る(図 30)。

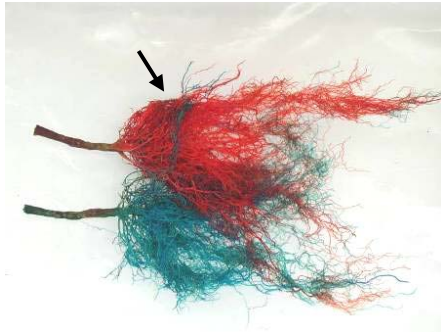


図31 染め分けた根

(28) 染め分けた根の様子。青の根が一本、赤の根に向かってプローブのように伸びている(図31)。



図32 残土をバットにあける

(29) 土壌中に残っている根を回収する場合は、土壌を幅40cm程度のバットにあける(図32)。
(姉妹編「根の調査法」に詳しい内容が載っています。下のアドレスのHPの根の調査法のところからダウンロードできます。5.4Mb.
<http://www.h2.dion.ne.jp/~barnaba/index.html>)



図33 バットの根をメッシュで回収

(30) バットを揺らしながら根を水に浮かせて、刺繍枠に張ったメッシュに流し込む(図33)。
その下には、2mm目のステンレスザルを置く。



図34 回収した根+ゴミ+土壌を集める

(31) 回収した根、ゴミ、土壌をメッシュ中央に集める(図34)。



図35 ボウル内の水を回転させる

(32) 集めた根等を水を張ったボウルに入れ、水を回転させる(図35)。この操作により、根は上に浮かび、ゴミおよび土壌は下方の真ん中に集まり、根の分別が容易になる。



図36 浮かんでいる根をそっとメッシュに流し込む

(33) 土壌やゴミが入らないように、浮かんでいる根をゆっくりとメッシュに流し込んで回収する(図36)。



図37 回収した細断根

(34) 回収した細断根(図37)。赤と青の根の量はおおよそ、元の根の量に比例している。



図38 根は冷凍保存する

(35) 根は、根重、根長を測定するまでは、チャック付きビニール袋にいれて、 -20°C で冷凍保存する(図38)。冷蔵(5°C)では腐る。

5. 注

注1 ファンタジーは18色ある。詳しくはパレス化学のホームページ

<http://www.palacechemical.co.jp/fgs/131.htm> 参照。100mL 600円、他に5L、20L単位でも買える。実際に染色に使えるのは、赤、青、ピンク、緑、コバルト、紫など濃い色である。成分は特定されていないが危険有害性物質には該当していない。ファンタジーの他に、各種顕微鏡系の染料も使用できる(表)。染色目的に応じて、維管束柱のみそめるものや、蛍光を発するものなどを使うと良い。ただし、毒性がないことや使用できる色数を考えるとファンタジーが一番使いやすい。

表1 各種染色液の染色能力の比較(10分間染色)¹

染料	ツイーンー	ツイーン+	染料	ツイーンー	ツイーン+
ファンタジー	●	●遅い	インジゴカルミン ²	◎	◎ _{4/5}
エオジン	●速い	●速い	酸性フクシン	◎ _{1/2}	●
ローダミンB	●速い	●速い	酢酸カーミン	●薄い	●薄い
ローズベンガル	◎	◎	ゲンチアンバイオレット	◎ _{1/3}	◎
トリパンブルー	◎	◎	メチレンブルー ²	● _{4/5}	×
ヤスググリーン	◎	◎			

¹ トマト苗の根(長さ約10cmで太さが同じ)を染色液につけて染色状況をみた。● 根の全体が染まった。◎ 根の中心柱のみ染まった。× 染まらなかった。記号の右の数字は全長に対する染まった%を表す。数字なしは、100%染まったことを意味する。記号右の言葉は、ファンタジーと比較した染色の様子。

² 染色が安定しない。時々根が染まらないことがある。

* ツイーン+は、ツイーン80界面活性剤を1v/v%含む処理

注2 蓄圧式農薬散布器の容量は、2L程度でよい。ここで用いたのは、アイリス製ホームスプレー211、2100円である。

安全弁を取り外し、そこにシリコンのゴム栓を埋め込み、圧力ゲージ(1MPa、トラスコ中山製PG41ねじR(PT)1/8にホースジョイントG1/8をつけたもの、合計1400円)を差し込む。散布器の容器の密閉は不十分なことがあるので、ふたのネジ部分にガス配管用のシールテープを巻き、バリを取り、グリースを塗って漏れを防ぐ。漏れのチェックは、

圧力をかけておいて、漏れそうな箇所に石鹼液を垂らして調べる。漏れがあると、泡が出てくる。散布器の他に、写真のような加圧器具(自作)を用いシリンジで圧をかけることも可能。また、ガスボンベをつないでもよい。しかし、重たいので、散布器が手軽でよい。



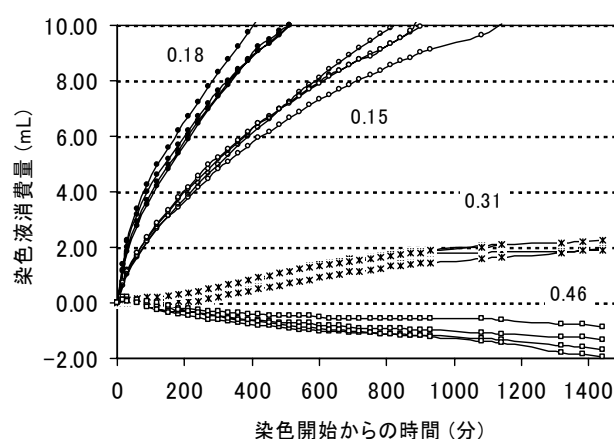
注3 メスピペットのサイズは、植物のサイズ、ポットの大きさに応じて使い分ける。10cmポットは10mL、40Lコンテナで50mLを使用する。

注4 土壌を乾燥させる方法としては、ポットごと50℃の通風乾燥器に入れる方法もある。ピペット部分は排気口を通じて外に出しておく。この場合、水分が常に蒸発し土壌の水ポテンシャルが下がり続けるので、圧力をかけなくても染色液が吸われる。

注5 系に漏れがなければ、染色が終わるまでにごくわずかな加圧を1回行う程度で、圧力を維持できる。このシステムでは0.2MPaの圧力まで問題なく作動することを確認している。しかし、圧が高ければ高いほど、茎表面からの染料の浸みだしや、チューブなどの継ぎ目からの液漏れの危険性が高まるので、0.15MPaぐらいが適当である。

注6 茎側に染色液を入れておかないと、チューブのポンピングでピペット内の液を茎側まで導入するのに時間がかかる。50mLピペットのように、先端の穴が大きければ、茎側に液を入れておかなくても、液はすぐに導入できる。

注7 染色液量、時間は、ポットがはずせるならば、染色の様子を見て決める。根の表面に染色液がしみ出てきたら十分量に達している。これまでの試験で、10cmポリポットの根で300mまでなら10mL、40Lコンテナで1500mなら100mLで充分なことを確認している。これらは、染色液の種類によっても変わる。染色時間は、土壤水分が高いほど長くなる。溢泌液が上昇するぐらいの土壤水分の場合、液の



注入は困難である。逆に乾かしすぎて、茎や根が完全に枯れてしまうと、かえって液の注入が阻害される。土壤水分（含水比；図中の数字）と染色時間の関係の一例を、図に示す。土壤はクレハ園芸培土で、トマトは85日齢、根長は平均202mである。土壤が変わればこの関係もかわる。土壤水分あるいは水ポテンシャル（pF）を測って、染色の適期を判断するのは、大変なので、植物が萎れる程度の土壤乾燥を目安にするのがよい。

6. 謝 辞

本マニュアルを作成するにあたり、出演を快諾いただいた、齋藤みき子さんに心よりお礼申し上げます。

7. 関連文献

1. 村上敏文 2004 マルチカラー染色法による根系分布の解明（第1報）日本土壤肥料学会東北支部会講演要旨 6p
2. Toshifumi Murakami, Satoshi Shimano, Miyuki Nakajima, Yasufumi Urashima, Satoshi Kaneda and Norikazu Miyoshi Multicolor staining of root systems in pot culture 投稿中