

無葉緑らんタカツルランの根の重力反応

馬田 英隆・濱屋 正子

(演習林)

平成8年8月7日 受理

Gravitropic Response of the Roots of an Achlorophyllous Orchid, *Erythrorchis ochobiensis*

Hidetaka UMATA and Masako HAMAYA

(University Forests)

緒 言

無葉緑らんの一種であるツチアケビ (*Cyrtosia septentrionalis* (Reichb. f.) Garay = *Galeola septentrionalis* Reichb. f.) や同じくタカツルラン (*Erythrorchis ochobiensis* (Hayata) Garay = *Galeola ochobiensis* Hayata) は、その根に内生する菌が運び込む養分のみによって生活している全菌養植物である^{2, 3)}。この種の植物にとって、根はその植物が宿主である内生菌と交渉する最も重要な器官と言える。

筆者の一人馬田¹³⁾は、タカツルランと菌根菌との共生に関する研究の中で、共生培養によって得られたタカツルラン植物体の根の一部は気根となり、培地表面より上向きに伸び重力に対して負の屈性を示すことを観察した。今までラン科植物の気根が負の重力屈性を示すことは古くから観察されているが、無葉緑らんの根の重力に対する反応について実験的に確かめた例は無いものと思える。本報告は、タカツルラン培養植物体の気根が試験管内で重力に対して示した反応について観察したことを述べ、また併せて気根と地中根の生体重、本数、長さ、直径の計測を行い重力の影響について述べたものである。

材 料 と 方 法

供試植物

タカツルランは種子島、屋久島以南から琉球列島に自生し、台湾から熱帯アジアにかけて広く分布する無葉緑らんの一種で^{1, 4)}、その地上茎はツル状となり、しかもその茎長は36mにも達する⁵⁾ わが国最

長のランである。地上茎には退化して鱗片状となった葉と気根が互いにその位置を替えながら一対となって生じ、気根は付着根となって樹幹をよじ登り (Fig. 1)、茎の上方に腋生の円錐花序を付ける。また内生菌の侵入を受けた菌根は、長根に多数の短根が付いた特異な形状を示す。

今回の実験に供したタカツルラン植物体は次のようにして得た。

(1) カタツルラン種子とタカツルラン内生菌 (鹿児島大学農学部附属演習林保存の菌株番号 R204) とをクヌギ (*Quercus acutissima* Carr.) のオガクズを使った培地 (以後オガクズ培地と表記する) で共生培養を行い、30℃で2カ月間暗所で培養しプロトコームを得た。

(2) 次に1試験管当たり3~4個のプロトコームを新たなオガクズ培地に移植し、23℃で2カ月間、暗所で培養し植物体を得た。本報告では便宜的に培地から立ち上がっている根を気根とし、培地中に入り込んだ根を地中根とした (Fig. 2)。

共生培養の方法は田島¹¹⁾と馬田¹³⁾に従った。使用した培地は森⁶⁾の培地を改変したもので、その組成は蒸留水1,000mlに対し $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 170 mg; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 240mg; KCl, 80mg; NH_4NO_3 , 60mg; KH_2PO_4 , 40mg; EDTA-Na-Fe Salt, 3,850 mg; $\text{MnCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0.4mg; H_3BO_3 , 0.6mg; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0.05mg; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.05mg; $\text{H}_2\text{MO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0.02mg; Yeast extract (Difco), 2.0 g; D-Mannitol, 20.0 gであった。pHは 5.7 ± 1 に調整した。各試験管 (40×130mm) に上記培養液を10mlとクヌギオガクズ3.0g (ただし風乾重量) を入れ、

121℃で30分間高圧滅菌して使用した。

気根の重力反応の観察

気根が十分に伸びたタカツラン植物体を、光の影響を避けるために試験管のまま黒紙に包み暗所で水平に静置し、23℃で2週間培養し観察した(Figs. 3, 4)。また気根の先端部を5~10mmのところで切断して除去し(Figs. 5, 6)、やはり黒紙に包み水平に静置して観察した。

植物体の正立、倒立培養

次に重力が気根と地中根の根数、根長、根径、重量(生体重)に及ぼす影響を調査した。プロトコームを新たなオガクズ培地に移植後、出根して間もない植物体(根長0.5~1.5cm)を試験管を倒立して培養し(以後、倒立試験管と表記する)、正立して培養した(以後、正立試験管と表記する)植物体との比較を行った。供試植物個体数はそれぞれ12個体であった。根長は植物体よりその付け根で切断して計り1mm括約とし、根径は根の長さの中心の位置をノギス(最小目盛1/20mm)で計り0.1mm括約とした。また重量は天秤(最小目盛1mg)で計り四捨五入して10mg括約とした。

結果と考察

重力に対する気根の屈性

植物の根の屈性の因子は、長い間光と重力のみとされていたが、最近水分もその因子であることが解明され¹⁰⁾、根の屈性には三つの因子が関与することが明らかとなった。今回の実験に供したタカツランの気根は明らかに負の重力屈性を示し、正の屈性を示した根は無かった(Figs. 3-6)。反応を示した根は実験開始後に新しく伸長した部分のみで、それ以外の部分もしくは伸長しなかった根は反応を示さなかった。つまり根の屈曲位置から判断すると、根は実験開始直後から重力に反応して新しく伸長するものと考えられた。しかし新しく伸長した全ての根が負の屈性を示したわけではなく、反応を示さない根もあった。また今回の試験に供しなかった培養植物体の中には、地中根でもその根から新しく分岐した根には負の屈性を示すものが観察された(Fig. 7)。

今回の実験が暗黒下で行われたこと、試験管内での水分供給源は培地以外ではなく、顕著な水分勾配が生じるとは想像し難いことから、タカツランの気根の屈性因子は重力であり、しかも重力に対して負の屈性を示すものと判断した。ラン科植物の気根

が負の重力屈性を示すことは古くから観察されてきたが、今回の結果は無葉緑らんでもその気根は負の重力屈性を示すことが明らかとなった。

しかしながら無葉緑らんの中には、サカネラン(*Neottia nidus-avis* var. *mandshurica* Komar.)のようにその根の先が上向することから命名されたランがあるが、その根は気根とは記載されていない。またクロヤツシロラン(*Gastrodia pubilabiata* Sawa)やツチアケビにも気根がないが、これらの根も重力に対して正の重力屈性を示さないことが観察されていて、気根のみが負の屈性を示すわけではないようである。例えばプロトコーム形成後出根して間もないクロヤツシロランの根は、無菌培養植物体であれ内生菌との培養植物体であれ、重力に対して負の屈性を示した(Fig. 8, 馬田未発表)。またツチアケビでも幼植物体の根は必ずしも重力屈性を示さず、その伸長方向は一定しないことが観察されている⁷⁾。これらのことは、無葉緑らんの中にはその幼植物の根は、重力に対して負の屈性を示すものが少なからずあるということを示唆している。

根の重力感受部位

根の重力感受部位は先端数mmにあり、植物によっては根冠にのみ局在している場合もあるが、それらの部分を除去すると根は重力屈性を示さない¹²⁾。タカツランの場合も、根の先端5~10mmのところを除去した根は屈性反応を示さなかった(Figs. 3-6)。また切断部から根の再生も観察されなかったことから、除去した部分に分裂組織が含まれたものと言える。ただし本実験では根冠のみの除去は行っていないので、重力感受部位が根冠にあるのか分裂組織にあるのかについては今後に委ねたい。

出根数に対する重力の影響

正立試験管と倒立試験管の気根と地中根の本数を調べ、比較検討した結果(Table 1, Fig. 9)、気根と地中根の植物1個体当たりの平均本数は、正立試験管ではそれぞれ3.1本と3.3本で、両者の間にはほとんど差は認められなかった。本報告では試験管内の根を気根と地中根に分けたが、今回の観察によれば根が培地表面より立ち上がるか否か、すなわち気根になるか地中根になるかは、発生的に最初から決まっているのではなく、根の原基から根が伸長する方向(=根原基の発生位置)のみで決まってしまうようである。本植物もツチアケビと同様に主根は座止したままで茎は必ずしも背地性を示さず⁷⁾、植物体が直立することは希で、時には茎は培地の中に潜っ

Table 1. Effects of the gravity on the number, the length, the width and the fresh weight of the aerial and the subterranean roots of *Erythrorchis ochobiensis* in the upright test tube (above) and in the upside down test tube (below)

The upright test tube											
Whole plants			Aerial root				Subterranean root				Ratio of total roots to whole plants (fresh weight)
No of plants	Fresh weight		No	Length	Width	Fresh weight	No	Length	Width	Fresh weight	
	mg			mm	mm	mg		mm	mm	mg	
Sum	12	18,070	37	3,391	67.9	7,589	40	1,393	109.2	6,560	
Avg.		1,506	3.1	92	1.8	632	3.3	35	2.7	547	

The upside down test tube											
Whole plants			Aerial root				Subterranean root				Ratio of total roots to whole plants (fresh weight)
No of plants	Fresh weight		No	Length	Width	Fresh weight	No	Length	Width	Fresh weight	
	mg			mm	mm	mg		mm	mm	mg	
Sum	12	16,500	29	1,112	57.9	3,091	66	2,222	175.8	10,250	
Avg.		1,375	2.4	38	2.0	256	5.5	34	2.7	854	

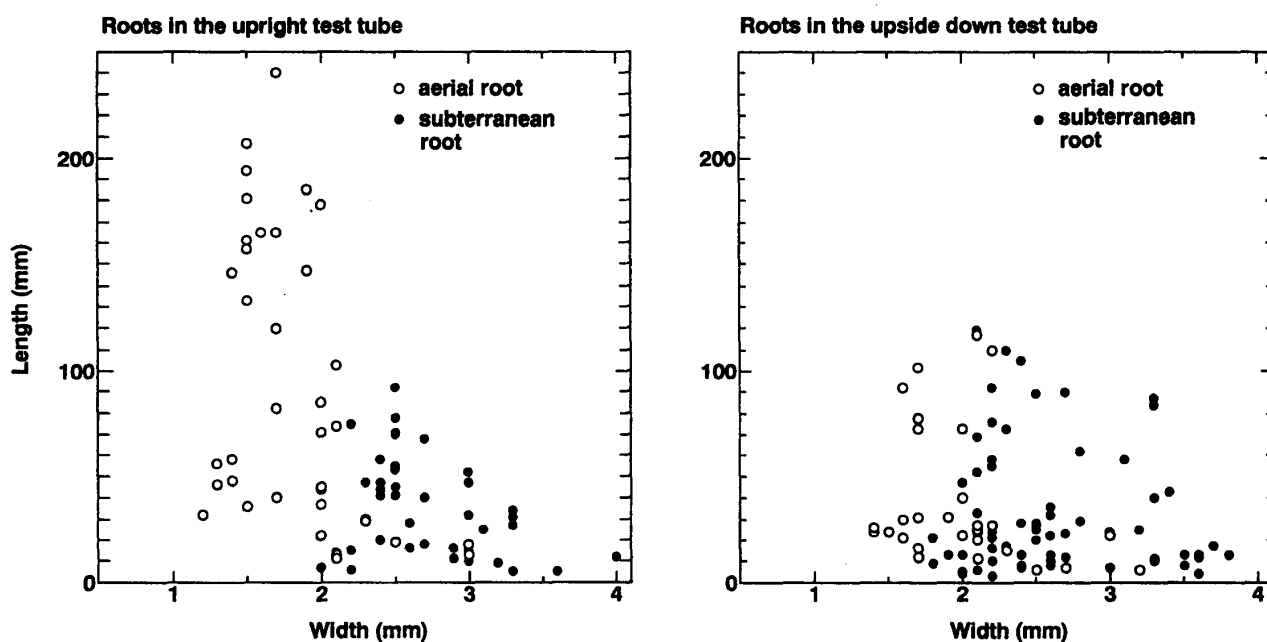


Fig. 9. Length and diameter of the aerial and the subterranean roots of *Erythrorchis ochobiensis* in the upright test tube (left) and in the upside down test tube (right) about 4 months after synthetic culture with Isolate R204. The length of aerial root in the upside down test tube showed a drastic reduction compared to that in the upright test tube.

て伸長することすらある。このように植物体は直立していないのに、根は茎の周囲にラセン状に発生するので、根が伸びる方向が上向きになったものが気根となり、下向きになったものが培地の中に潜り地

中根となるようである。従って発生学的には2つのタイプの根の間に差異はなく、同様のことはタカツルランと同じく異型根を持つ *Vanilla planifolia* Andr. でも報告されている⁸⁾。根は茎の上方から見

ると多くは四方に射出していて (Fig. 10) しかも茎が直立しないため、確率的には2本は気根に、2本は地中根になる。このことが正立試験管で気根と地中根の本数に差がなかった原因と考えられる (ただし四方に射出するのはある時期までのようで、またラセン状となっているかどうかはさらに検討を要する.)。しかし倒立試験管では気根は2.4本なのに対し、地中根は5.5本あり気根の2.3倍となった。これは出根した多くの根が重力に対して示した負の反応の結果とも考えられたが、さらに今後の研究に委ねたい。

根の伸長生長に及ぼす重力の影響

正立試験管と倒立試験管の気根と地中根の長さをそれぞれ測り、重力が根の伸長生長に与える影響を評価した (Table 1, Fig. 8)。その結果、正立試験管では気根の長さは11~240mmで平均92mmであるのに対し、地中根は6~92mmで平均35mmとなり、平均長で比較すると気根は地中根の2.6倍になった。いっぽう倒立試験管では気根と地中根の平均長はそれぞれ38mmと34mmで、両者の差はほとんど無かった。しかし気根と地中根の差は培地の深さにも関係するとみられるので、この点については更に検討が必要と思われる。ただし正立と倒立の培養の違いで比較すると、地中根ではほとんど差がないが、気根の場合は正立試験管のほうが倒立試験管の2.6倍となり、重力は気根の伸長生長に大きな影響を及ぼすものと考えられた。

根の肥大生長に及ぼす重力の影響

正立試験管と倒立試験管の気根と地中根の直径をそれぞれ計測した結果 (Table 1, Fig. 8)、気根の直径は正立試験管では1.2~3.0mmで平均直径は1.8mm、倒立試験管では1.4~3.2mmで平均直径2.0mmとなり、両者の間の差は僅かであった。また地中根の直径は正立試験管では2.0~4.0mmで平均直径は2.7mm、倒立試験管では1.8~4.4mmで平均直径は正立試験管と同じく2.7mmであった。このことから、重力は根の直径には作用しないことが明らかとなった。正立試験管と倒立試験管での気根と地中根のそれぞれの直径が、近い値を示した原因は、根が内生菌の侵入を受けて菌根化しているかどうかによるものであった。すなわち気根の菌根化は少ないのに対し、地中根のほとんどは菌根化し肥大していた。なお菌根化は必ずしも根全体に起こるわけではなく、部分的に菌根化した根が観察された。

根の重量 (生体重) に及ぼす重力の影響

正立試験管と倒立試験管の気根と地中根の重量をそれぞれ計測した結果 (Table 1)、12個の植物体で根が全植物体に占める割合を生体重で比較してみると、正立試験管では総生体重18,070mgに対し根の総生体重は14,149mgで78%となり、倒立試験管でも根は81%を占め、培養4カ月後のタカツランでは根が植物体そのものと言っても過言ではないようである。野外のツチアケビもその根茎の広がりや長さ⁸⁾、長根は5mにも及ぶことがあり²⁾、これら無葉緑植物にとって根は非常に重要な器官となっていることを示している。また気根と地中根の比較では、正立試験管ではそれぞれ632mgと547mgで気根が85mg重いものに対し、倒立試験管では気根はわずか256mgで地中根854mgに対しその差は実に598mgになったが、これは前述の根の本数と長さに起因するものと考えられた。ただし1個体当りの根の生体重は正立試験管で1,179mg、倒立試験管で1,110mgで両者の間に大きな差は見られなかった。

独立栄養を営むことが出来ない無葉緑の全菌養植物にとって、すべての養分吸収を行うと考えられている根はその植物の必須の器官であり、またこれらの根が宿主となる共生菌に巡り会えるか否かはその植物の死活にかかわる問題といえる。ツチアケビの場合、その根は枯木 (= 菌 = ナラタケ) のある方向に向かって伸びる可能性があるという考えもあれば、水分やある種の物質を吸収するためにその方向に向かって伸長するのではないかという考えもある⁹⁾。しかしいずれにしろ根の伸長方向に何らかの積極性を与えた考え方である。

今回のタカツランの根に関する観察結果では、気根となった根は重力に対して負の屈性を示し、地中根から分岐した根にも負の重力屈性を示すものがあり、その伸長方向に負の重力屈性以外には要因を見いだすことは出来なかった。しかも発根した根が気根になるか地中根になるかは、幼植物の段階では、発生的に前もって決まっているのではなく、根が射出する方向 (= 根が発生する位置) のみによって決まるまったくの偶然性によるものと考えられた。

ただクロヤツシロラン、ツチアケビの場合も含めて、これら植物の根が、少なくとも幼植物の段階では、負の重力屈性を示すという現象は興味深く、この現象が全菌養植物に共通する性質なのか、その意義は何なのか、また共生菌と巡り会う (= 共生菌の

認識＝共生の成立)ということにつながるのかなどを明らかにするには、これら植物と共生菌に関する生理・生態学的研究が更に必要のことと考えられた。

要 約

全菌養植物の根の重力に対する反応を、無葉緑らん的一种タカツランを使って調べた。共生菌の一種である菌株番号 R204との共生培養で得たタカツランは、試験管内で重力に対し次のような反応を示した。

- (1) タカツランの気根は、実験開始後新しく伸長した根の部分のみが重力に反応を示し、負の重力屈性を示した。
- (2) 気根の中には、重力に対して反応を示さない根もあった。
- (3) 気根の先端部 5～10mmのところを除去すると、根の再生は起きず、また重力に対する反応も示さなかった。
- (4) 正立培養では気根と地中根の出根本数はほぼ同数であったが、植物体を逆さにして育てると、気根の出根本数は地中根に比べ約半数であった。
- (5) 植物体を逆さにして育てると、気根の伸長生長は著しく阻害を受けた。
- (6) 植物体に占める根の比率は正立培養でも倒立培養でも約80%で(ただし生重量)、重力の影響を受けなかった。
- (7) 気根と地中根の肥大生長は重力の影響を受けなかった。

謝辞 本報告の校閲を頂いた本学農学部衛藤威臣教授に深謝いたします。

文 献

- 1) コーナー・E. J. H.・渡辺清彦：図説熱帯植物集成。p. 1097, 広川書店, 東京 (1969)
- 2) Hamada, M.: Studien über die Mykorrhiza von *Galeola septentrionalis* Reichb. f. — Ein neuer Fall der Mykorrhiza-Bildung durch intraradicale Rhizomorpha. *Jpn. J. Bot.*, 10, 151-212 (1939)
- 3) Hamada, M. und Nakamura, S. I.: Wurzelsymbiose von *Galeola altissima* Reichb., f., Einer chlorophyllfreien Orchidee, mit dem holzerstörenden Pilz *Hymenochaete crocicreas* Berk. et Br. *Sci. Rep. Tohoku Univ. Series 4, Biology*, 29, 227-238 (1963)
- 4) 初島住彦：琉球植物誌。p. 803, 沖縄生物研究会, 那覇 (1971)
- 5) 牧野富太郎・根本完爾：日本植物総覧。p. 1936, 春陽堂, 東京 (1931)
- 6) 森 寛一・浜屋悦次・下村 徹・池上雍春：組織培養法によるウイルス罹病植物の無毒化。農事試験報, 13, 45-110 (1969)
- 7) 中村信一：培養技術は根菌に代り得るか — 無菌生物学的考察。日本菌学会会報, 19, 325-331 (1978)
- 8) Neubauer, H. F.: Bau und Entwicklung der Luftwurzel von *Vanilla planifolia* Andr. *Beitr. Biol. Pflanzen*, 36, 239-253 (1961)
- 9) 相良直彦・高山 栄：無葉緑らんツチアケビの根茎の一例。日本菌学会会報, 19, 338-340 (1978)
- 10) 高橋秀幸：植物の水分屈性。化学と生物, 30(8), 510-513 (1992)
- 11) Tashima, Y., Terashita, T., Umata, H. and Matsumoto, M.: In vitro development from seed to flower in *Gastrodia verrucosa* under fungal symbiosis. *Trans. Mycol. Soc. Japan*, 19, 449-453 (1978)
- 12) 田沢 仁：屈性反応。(古谷雅樹ら編) 生長と運動 (植物生理学講座 3), p. 206-239, 朝倉書店, 東京 (1971)
- 13) Umata, H.: 1995. Seed germination of *Galeola altissima*, an achlorophyllous orchid, with aphyllorales fungi. *Mycoscience*, 36, 369-372 (1995)

Summary

Some gravitropic tests were carried out on the roots of an achlorophyllous orchid, *Erythrorchis ochobiensis* (Hayata) Garay. The orchid cultured, *in vitro*, for about 4 months, with one of its symbionts (Isolate R204), showed, under the various conditions, the following seven sorts of behaviours to the gravity.

1. Only the parts of the aerial roots which elongated newly after the commencement of the experiment responded to the gravity, showing the negative gravitropism.
2. There were some aerial roots showing no response to the gravity.
3. In the occasion when the aerial root was cut out at the section 5-10 mm off the tip, the root showed neither regeneration nor gravitropism.
4. Cultured under the upright cultural condition, the number of the aerial roots was almost the same as that of the subterranean roots, while put under the upside down cultural condition, it was nearly half of that of the subterranean ones.
5. Under the upside down condition, elongation of the aerial root was drastically reduced.
6. Under both the upright and the upside down cultural conditions, the ratio of the total fresh weight of the roots to the whole plants was ca. 80%, not affected by the gravity.
7. The growths in thickness both of the aerial and the subterranean roots were not affected by the gravity.

Explanation of plate I

- Fig. 1. Twining *Erythrorchis ochobiensis* climbing *Castanopsis sieboldii*.
L, R and S show the scaly leaf, the adhering root and the terrestrial stem, respectively.
Photo: courtesy of Dr. T. Terashita.
- Fig. 2. Aerial and subterranean roots of *Erythrorchis ochobiensis*.
AR, SR and S show the aerial and subterranean roots and a stem respectively. Aerial roots are slender and long, but subterranean roots are thick and short. Arrow shows a thick portion of an aerial root invaded by a symbiont. Compare Fig. 11. Scale = 2cm.
- Figs. 3-4. Gravitropic response of roots of *Erythrorchis ochobiensis* whose root-tips were not cut off.
Roots A-E in Fig. 3 (before test) corresponded to Roots A-E in Fig. 4 (2 weeks after test), respectively. All the roots except root A showed clearly negative gravitropism. Arrow (right) shows the direction of gravity. Scale = 2cm.
- Figs. 5-6. Gravitropic response of roots of *Erythrorchis ochobiensis* whose root-tips were cut off.
Roots F-J in Fig. 5 (before test) corresponded to Roots F-J in Fig. 6 (2 weeks after test), respectively. Root tips of F and G were cut off and those of H-J were not cut off. Roots F and G did not show response. Root H showed distinct negative gravitropism, but roots I and J did not show response. Arrow (right) shows the direction of gravity, another arrow (below the center in Fig. 6) shows the root tip of J before the test. Scale = 2cm.

Explanation of plate II

- Fig. 7. Branched roots from a subterranean root of *Erythrorchis ochobiensis*.
Arrows show negative gravitropic roots which branched from a subterranean root. Scale = 1cm.
- Fig. 8. The negative gravitropic response of the roots of *Gastrodia pubilabiata*, an achlorophyllous orchid, which was cultured with a symbiont of the orchid. Scale = 1cm.
- Fig. 10. The roots of *Erythrorchis ochobiensis* which were elongated to four directions.
S: Scaly leaf. SR: Juvenile root which was developed to the subterranean root. AR: Root which grew to an aerial root, showing the negative gravitropism. Scale = 1cm.
- Fig. 11. Two vertical sections of a same root of *Erythrorchis ochobiensis*.
Fungal coils were not detected in the slender portion (above) while those were detected abundantly in the thick portion (below). Arrows show fungal coils in the cells. Scale = 1cm.

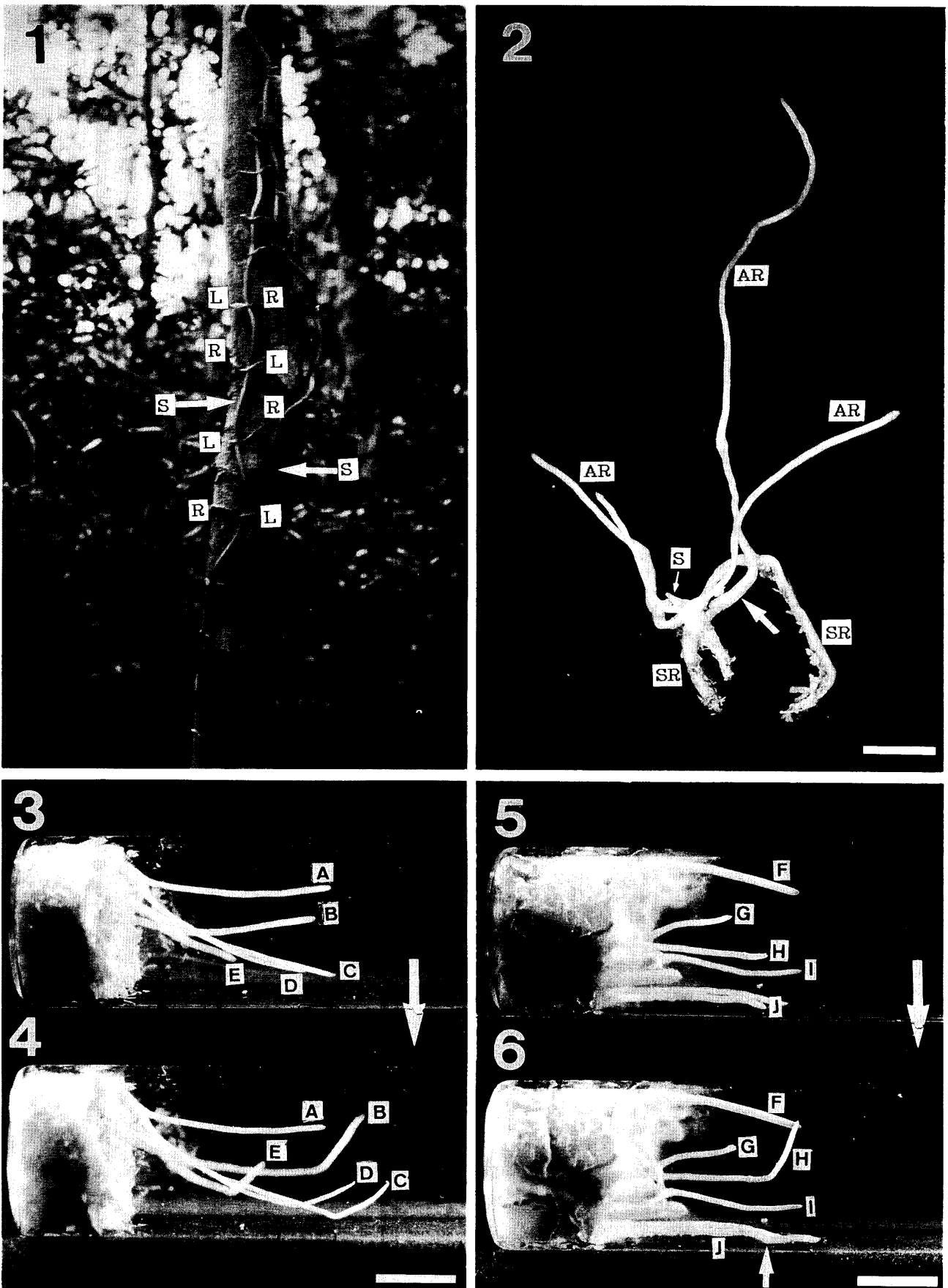


Plate I

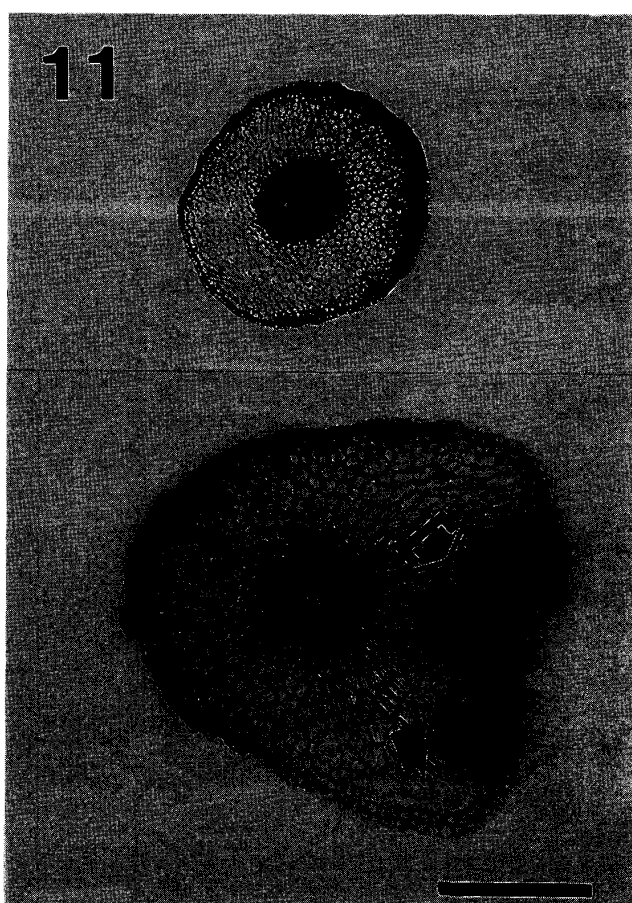
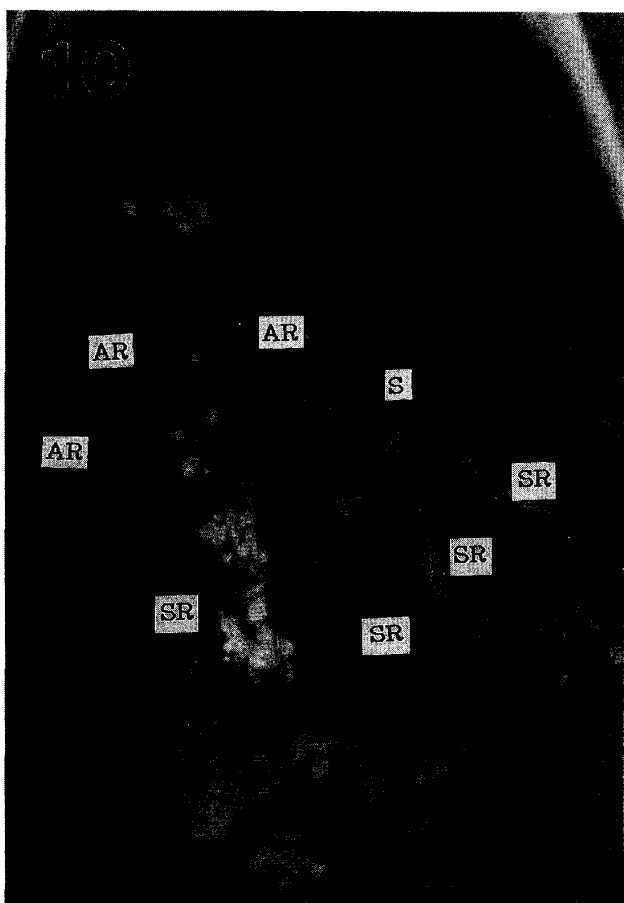
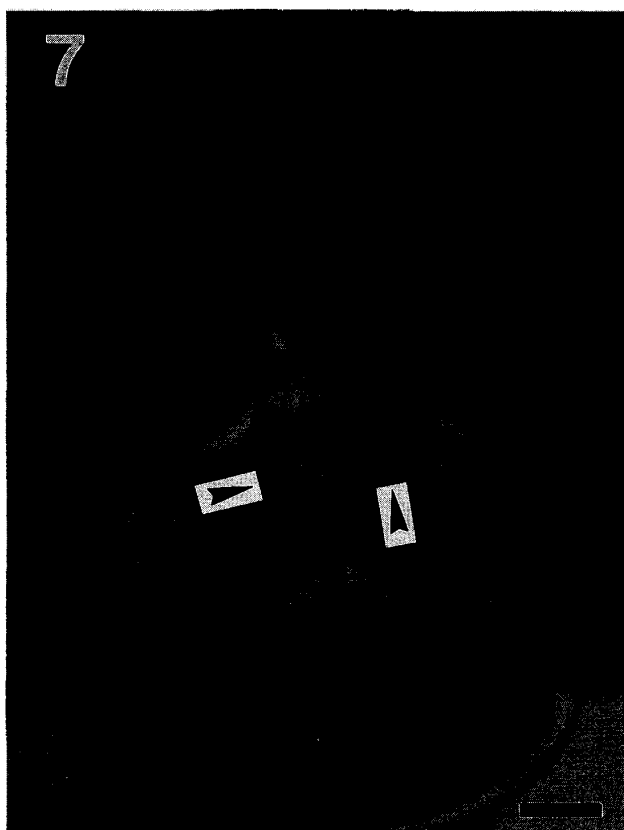


Plate II