木本植物種子の早期発芽力検定法

長 信也¹⁾・江刺洋司¹⁾・吉田 寛²⁾

1) 日本樹木種子研究所 cho@toko-kensetsu.ne.jp

2) 東興建設株式会社

摘要: 早期発芽力検定法は、従来の調査方法では、短期間で正確に調査することが困難であった木本植物種子の発芽力を、約1週間という短期間で測定することを可能とした手法であり、木本植物種子の品質検査に非常に有効な手法である。この方法は、従来の発芽試験との相関関係も高く、緑化工事における種子品質調査法として有効であることが認められた。今回は、この早期発芽力検定法の概要について報告する。

キーワード: 木本植物種子, 早期発芽力検定法, 発芽力, 品質検査, 1週間

1. はじめに

現在まで、播種工による法面緑化は急速に変貌を遂げつつある。当初は、緑化の目的として法面表面の侵食防止の観点から外来草本を主体とした植物群落の造成が主体に行われてきた、その後は法面防災機能の向上、および景観形成の観点から木本植物群落の造成に変わってきた。播種工による木本植物群落造成が始まった当初は、マメ科ハギ属やカバノキ科を主体とした単純な木本植物群落に留まっていたが、近年ではより多様性に富む木本植物群落を造成するために多種の木本植物種子の混播を行ったり、各地域で採取した自生の木本植物種子を用いることが行われるようになってきている⁵⁾。

このような播種工を行う場合、重要なポイントとなるのが種子の品質である。従来から、木本植物種子の品質を調査する方法として発芽試験等が行われてきたが、木本植物種子の品質を短期間で正確に調査することは困難であった。

このようなことから、我々は木本植物種子の品質を発芽能力を保有している割合として正確に、かつ約1週間という短期間で調査することが可能である「早期発芽力検定法」を開発したので、その概要を報告する。

2. 従来の品質検査とその問題点

2.1 発芽試験

従来より、植物種子の品質調査を行う方法として、もっと

も広く用いられている方法として発芽試験がある。通常、この方法は、シャーレ等の容器に湿った濾紙などを入れ、その上に一定数量の種子を置床し、一定温度下で発芽した本数を発芽率として算出する。

この方法は、草本植物種子のように短期間で発芽するものに関しては、問題無く利用が可能であり、結果を出すのに14~28日間必要とされている²⁾。しかし、木本植物種子は、強い休眠性を有しているものがほとんどであり、発芽試験を行っても発芽に至らないものが多く存在する。この休眠を覚醒するために、よく用いられる方法として低温湿潤処理があるが、例えばヤマザクラ種子では30~90日間の処理が必要とされており、この処理後に、通常の発芽試験を行って、品質結果を出すまでには長期間が必要となってしまう¹⁾。また、木本植物種子の特性は、樹種によって多種多様であるため、的確な休眠打破処理が明らかになっていないものが多くあり確実に休眠を打破し、発芽試験を行なうことが困難である場合がほとんどである。木本植物種子であっても、休眠性の弱いものも存在するが、草本植物と比較するとそれは強く、休眠覚醒処理が必要ないとしても、発芽試験期間に最低でも1ヶ月以上は必要となってくるものが多い。

また、木本植物種子は、貯蔵方法を間違えると、急激に劣化してしまう。このことから、仮に長期間の発芽試験を行い、正確に発芽率を求めることができたとしても、結果が出た時点で、既に種子が劣化してしまった可能性もあり、現時点での品質を求めたとは必ずしも言えない。また、採取した種子を、速やかに施工に用いる場合などでは、発芽試験では、長期間の試験期間が必要となることから、播種量を決定する発芽率を迅速に調査することが不可能であった。

さらに発芽試験を行った場合、試験期間が長期間に至ってしまうことから、試験中に腐敗種子や精製しきれなかった種子に付着している果肉粕などからカビが発生してシャーレ内に蔓延してしまい、良好種子の発芽にも影響を及ぼし、正確に発芽率を測定できない場合も多くある。

以上のことから、木本植物種子の品質調査に発芽試験を用いた場合、短期間で正確に種子の品質を調査することは困難であり、播種工を行う上で大きな問題となっていた。

2.2 テトラゾリウム試験

テトラゾリウム試験は、種子をテトラゾリウム溶液に一定期間浸すことによって、テトラゾリウムが種子の呼吸に関わる脱水素酵素に反応する発色によって、種子の生死を調査する種子の品質調査方法の一つである⁴⁾。

この方法は、実質2日間という短期間で調査することが可能であるが、測定するものが種子の生死であるために、「テトラゾリウム反応」＝「種子の発芽能力」にはならない。たとえば、劣化しかかっている種子や未熟種子などでは、発芽能力を有していないが、種子自体は生きており、呼吸しているので、テトラゾリウムには反応してしまう。このことから、テトラゾリウム試験では、実際に必要とされる発芽率は求められるとは言えない。

また、テトラゾリウム試験の評価方法は、発色反応によるものとなるため、試験者の目視となってしまふ。この評価方法が難しく、発色反応の濃淡、無発色箇所の大きさなどにより、試験者の評価基準が異なると、結果に大きな差が生じてしまうこともある。

これらのことから、テトラゾリウム試験は、短期間で結果を出すことは可能ではあるが、種子の発芽能力の有無を正確に調査することが可能であるとは言えない。

3.1 胚摘出法

胚摘出法は、種子組織内部から胚のみを取り出し、それを培養して発芽力を迅速に判定するものである⁴⁾。早期発芽力検定法は、この胚摘出法と似ているが、より簡易的、合理的に改良されたものと言える。胚摘出法は、前述の従来の2つの方法を比較して、短期間で正確に品質を調査することが可能であると考えられる。しかし、胚摘出法は、種子内部から完全に胚を取り出すため、非常に手間がかかる上、樹種ごとに種子の構造が異なるため、国際種子検査規定⁴⁾に記載されている方法は、9種類のみしか方法の詳細が解説されていない。また、胚摘出法は、ただ湿らせた濾紙の上で胚を培養しているため、試験期間が、5～14日間とやや長い。

しかし、早期発芽力検定法は、現在約150種の本木植物種子に対して、各方法が開発されている上に、完全に種子組織から胚を取り出すわけではなく、簡略化できるものは、より容易に試験が行える方法となっている。また、休眠が強力なものに関しては、後述する発芽促進処理を併用して、約1週間以下という短期間で調査が可能となっている。

3. 早期発芽力検定法の概念

早期発芽力検定法は、写真-1に示すように、基本的には発芽試験と同様に、シャーレに湿った濾紙を敷き、そこに種子を並べて23℃という一定温度下で置床することで種子を発芽させる方法を行う。早期発芽力検定法の概念で、発芽試験と異なるところは、種子を発芽しやすい状態に処理することで、発芽を促して約1週間という短期間で種子を発芽させ、

写真-1 早期発芽力検定法と従来の発芽試験法の比較

発芽能力を保有している種子の割合を百分率で評価するものである。

植物種子には、一見、同様に見える休眠であっても、それぞれ異なった休眠性を有している。例えば、生理的に休眠している一次休眠、種皮が厚かったりすることで水や酸素の供給を妨げる硬実休眠、種子自体は成熟しているが内部では胚が未熟の状態である後熟休眠などがある³⁾。早期発芽力検定法は、これらの休眠タイプなどの生理的特性や種子の構造的特性に応じて、各種子に適した数種類の処理方法を選択して実施する。その処理方法は大きく置床処理、前処理、発芽促進処理の3種類に区分され、各処理の中にさらに数種類の方法に細分される。

4. 早期発芽力検定法の各処理と測定方法

4.1 置床処理

置床処理は、早期発芽力検定法のベースとなるもので、種子をそれぞれの特性に応じて数種類の方法を使い分けて発芽しやすい状態に加工してシャーレ内の濾紙の上に種子を置床する処理である。

この置床処理は、種子の構造的特性、生理的特性に基づき、種皮の除去、種子組織の切断、種皮の薄層化、種皮に傷を付ける処理などがあり、状況に応じて、種皮の除去と種子組織の切断を組み合わせたりもする場合がある。

種子を発芽させるために、重要な必須要素として酸素と水がある。種子が発芽するときに、種子組織内で最初に生長を開始する組織は軸組織である。置床処理を行う理由は、軸組織への酸素、水の供給を抑制している種皮の除去、薄層化、傷付け等、または種子組織自体を切断することで、軸組織への酸素、水の供給を促すことである。このことで、無処理の状態の種子よりも発芽速度を高めることが可能となる。

なお、種子が極めて小さい場合や、構造的な問題で種子の加

工が十分に行うことができない場合は、後記の発芽促進処理方法を用いて発芽を促すことを行う。

4.2 前処理

前処理は、置床処理に先行して行うもので、置床処理時の種子加工を行いやすくするためや、試験中の発芽を良好に行わせるために実施する。

種子加工を行いやすくする処理として、水浸処理がある。これは、置床処理を行う前に、あらかじめ種子を一定時間水に浸しておき種皮や種子組織を柔らかくしておくことで、置床処理時の種子への加工を行いやすくするものである。

試験中の発芽を良好に行わせる処理として、種子精製、殺菌処理、油脂成分の除去などがある。試験中のカビの発生を抑えるために、果肉粕やハンノキ類などの種子に付いている羽などのカビの発生源となるものを種子精製により除去したり、カビが発生しやすい種子は、あらかじめ殺菌処理などを行う。また、種皮に油脂成分が付着しており、水をはじき、そのまま置床すると種皮への水供給を妨げるものには、油脂成分を除去する。

これらの前処理は、全種子に対して行うものではなく、それぞれの種子の特性に応じて行う。

4.3 発芽促進処理

発芽促進処理は、休眠性が強く、前記した置床処理だけでは約1週間という短期間で発芽に至らないものや、構造的特性で十分な置床処理が行えない場合などに行う、発芽を促進させる処理である。

この発芽促進処理には、植物ホルモンの添加、発芽促進物質の添加、高酸素分圧下での置床がある。植物ホルモンや発芽促進物質を添加する処理は、置床を行う濾紙に染み込ませて行うもので、種子の発芽パターンによって添加する物質を選択したり、休眠の強度や種子の大きさで適した濃度に調整したものをを用いたり、必要に応じて、これら数種類の物質を混合したものをを用いる場合もある。

高酸素分圧下での置床は、置床したシャーレをデシケーターなどの容器に入れ、酸素置換を行い高酸素分圧下で置床することで、発芽に必要な酸素を種子に強制的に供給することで、発芽を促すものである。この処理も、種子の休眠の強度によって、前記した植物ホルモン、発芽促進物質と併用する場合もある。

しかし、早期発芽力検定法の基本的な考え方は、できるだけ種子自体が保有している発芽力のみで発芽を実現させることにある。このことから、発芽促進処理は、必要最低限に抑え前記した置床処理のみで発芽促進効果を得て、それで不十分な場合に、発芽促進処理で発芽の手助けをする程度にすることが前提となる。

4.4 調査方法

早期発芽力検定法の調査方法は、試験終了時に発芽兆候を示している個体をカウントして種子母集団中の発芽する能力を保有している種子の割合を百分率で測定する。この値を「早

期発芽力検定値」と呼んでいる。

このときの発芽兆候も種子の発芽特性や置床方法によって状態が異なり、状況によって発芽兆候を示していると判定する方法が異なる。その判定基準は、次の5つがある。

- ・幼根や軸組織が伸長、または種子組織から幼根が突出した個体。
- ・幼根や軸組織が重力方向に彎曲した個体。
- ・子葉組織が堅固なまま膨張した個体。
- ・子葉組織に葉緑素が形成され緑色化した個体。
- ・不定根が形成された個体。

これらの調査は、試験終了時に行うことになるが、基本的には、試験期間は1週間以内となる。しかし、休眠性が極めて強い場合、1週間以上必要なものも数種類存在している。

5. 早期発芽力検定法と従来の発芽試験の相関関係の検証

5.1 調査目的

本実験は、早期発芽力検定法で得られた結果（早期発芽力検定値）が、本方法で得られるとされている発芽能力を保有している割合を、正確に示しているか、従来の発芽試験と比較して、相関関係を得ているか調査するために行った。

5.2 調査方法

実験は、湿潤種子としてシャリンバイを用い、乾燥種子としてヤシャブシを用いて行った。

本実験を行なう目的のためには、いろいろな品質の種子に対して2つの品質検査を共に行なうことで、相関関係を検証するために、あらかじめ、いろいろな品質の種子を人為的に作る必要があった。そこで本実験では、良品質の種子に次のような劣化誘導を行い各品質の種子を作った。

まず、シャリンバイ種子の場合は、元々種子含水率が高く水分が多いので、これらの種子を密閉容器に適量入れた。この容器を40℃下で放置し、0、2、3、4日間、放置して各品質の種子を作った。ヤシャブシ種子の場合は、湿度80%に調整した密閉容器に種子を必要量入れ、この容器を40℃下で0、1、1.5、2、4週間放置して高温多湿の状態を与え、種子を劣化させて各段階の品質のヤシャブシ種子を作った。

これらの種子に対して、それぞれ決められた早期発芽力検定法と発芽試験を行い、それらの間での相関関係の調査を行った。早期発芽力検定法は、シャリンバイの場合は、種皮を除去した後、軸組織を含むように切断した種子切片を、湿らせた濾紙を敷いたシャーレ内に並べ、23℃下で置床した。また、ヤシャブシでは、植物ホルモン添加と酸素置換を組み合わせ23℃下で置床した。発芽試験は、それぞれシャーレ内の湿らせた濾紙の上に種子を並べて、23℃下で置床した。各播種数は、早期発芽力検定法では、シャリンバイ30粒、ヤシャブシ100粒の3連で行った。発芽試験では、シャリンバイ50粒、ヤシャブシ100粒の3連で行った。

調査は、早期発芽力検定法では約1週間後に、発芽本数を

図-1 シャリンバイの早期発芽力検定法と発芽試験の相関関係

図-2 ヤシャブシの早期発芽力検定法と発芽試験の相関関係

測定し発芽力検定値を求め、発芽試験では、定期的に発芽本数を測定し、約30～60日後に測定を終了した。

5.3 調査結果及び考察

シャリンバイの結果を図-1に示す。シャリンバイからの結果では、どの品質の状態の種子であっても、早期発芽力検定値と発芽試験の結果が、ほぼ同等を示すことが証明できて正の相関関係を確認することができた。

ヤシャブシの早期発芽力検定法と発芽試験の比較結果を図-2に示す。ヤシャブシの早期発芽力検定法と発芽率との値は、多少のバラツキがあるものの、ほぼ同等の値を示し、基本的には、発芽力検定値が上がるに連れて、発芽率が上がるという正の相関関係を確認できた。しかし、早期発芽力検定値が

高くなるにつれて、発芽試験結果（発芽率）がやや低くなる結果となった。早期発芽力検定法の原理は、置床処理や発芽促進処理を施すことにより、種子を発芽し易い状態にすることで、短期間で発芽能力を保有しているものの割合を測定するものである。従って、この結果は、早期発芽力検定法では、種子を発芽しやすい状態に加工や処理をするため、原理的には、発芽試験結果よりもやや高い結果となると考えられ、実際に発芽に至らない一部の種子が、発芽する能力を保有していると判断された結果であると思われる。このような誤差については、今後改良を行なっていく予定である。

6. まとめ

以上のことから、早期発芽力検定法は、木本植物種子の発芽能力を有している個体の割合を約1週間という短期間で、かつ正確に測定ができるという優れた方法と言える。特に、木本植物種子は、貯蔵方法によっては早期に劣化してしまうが、早期発芽力検定法は、タイムリーに正確な品質検査が可能であるため、木本植物種子の貯蔵管理をサポートする上でも、優れた方法と言える。また、採取したばかりの種子を、速やかに播種工に用いる場合でも、短期間で正確な品質が測定できるため、事前的に的確な種子配合計算が可能となる。今後の播種工では、地域性系統や自生種を用いた播種工も盛んになってくると思われるが、このような場合にも、早期発芽力検定法は、木本植物種子の品質検査方法として、有効な方法となると考えている。この方法は、各樹種によって、それぞれ調査方法が異なることを述べてきたが、現在、約150種に対しての方法が確立されており、今後も、その数を増やしていく予定である。

なお、本報告の内容の一部は、技術資料「樹木種子の早期発芽力検定法（解説）」³⁾に記載していることを付記しておく。

引用文献

- 1) 勝田 柁・森 徳典・横川敏孝著（1998）日本の樹木種子（広葉樹編）：410pp
- 2) 日本道路協会編（1999）道路土工のり面工・斜面安定工指針：470pp
- 3) 日本樹木種子研究所編（2002）樹木種子の早期発芽力検定法（解説）：13pp
- 4) 農林水産省種苗管理センター編（1991）国際種子検査規定：175pp
- 5) 斜面樹林化技術協会編（2002）斜面樹林化工法技術資料第3版：54pp

（2004.6.30 受理）