タニウツギ (*Weigela hortensis* K. Koch) 種子の暗条件での発芽

近藤哲也^{*1)}・山田啓介²⁾

1) 北海道大学大学院農学研究院 Research Faculty of Agriculture, Hokkaido University

2) 北海道大学大学院農学院 Graduate school of Agriculture, Hokkaido University.

摘要: 既往研究ではタニウツギの種子は、明条件下では高い発芽率を示すが、暗条件下では低温湿潤処理を施しても全く発芽しないか3%以下しか発芽しないとされている。しかし、これらの研究は比較的狭い温度と限られた湿潤処理の条件のもとで行われたものであった。もしタニウツギの種子を暗条件下でも発芽させることができれば、土中の種子も発芽させることができ、播種工の際に発芽率の向上が期待できる。本研究では、より広い範囲の温度と湿潤処理の条件を設定して既往研究の結果を確認した。さらに、タニウツギの種子を暗条件下でも発芽させる方法を探るために湿潤処理と光照射処理の条件、そしてGA₃の効果を明らかにした。タニウツギの種子に5℃の湿潤処理を15日以上施した後、25~30℃の温度で7 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 以上の光を1~2日照射すると、その後暗条件に置いて発芽した。室内で401日間貯蔵した種子でさえも、この処理によって暗条件の20~30℃の範囲で約80%が発芽した。ただし、これらの低温湿潤処理と光照射処理の後、発芽を抑制するために暗区・5℃で湿潤貯蔵した種子は、3日以上貯蔵によって、その後の暗条件での発芽率が低下した。

キーワード: タニウツギ, 種子, 光, 低温湿潤処理, 暗条件での発芽

KONDO, Tetsuya and YAMADA, Keisuke: **Germination of *Weigela hortensis* K. Koch seeds in darkness**
Abstract: In previous studies, seeds of *Weigela hortensis* K. Koch had high germination rates in light but did not germinate or only germinated less than a few percent in darkness, even after cold stratification. However, those studies were conducted under experimental conditions in relatively narrow range. If we can work out how to germinate seeds of *W. hortensis* in darkness, we can germinate them in soil and thus improve the rate of germination in seedling works to cover slopes. Therefore, we tested a broader range of temperatures and stratification treatments in this study than in previous studies and confirmed the results of those studies. We also tested the effects of temperature, stratification, light irradiation in detail, and GA₃ on germination in darkness, which have not hitherto been reported. Germination in darkness was optimized by cold stratification at 5 to 10℃ for ≥ 15 days and then irradiation at $\geq 7 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ for 1 to 2 days at 25 to 30℃. With this treatment, even seeds stored at room temperature without desiccant for 401 days had an 80% germination rate at 20 to 30℃ in darkness. However, seeds cold-stratified, irradiated by such methods, and then stored moist at 5℃ in darkness for ≥ 3 days decreased subsequent germination at 25℃ in darkness.

Key words: *Weigela hortensis*, seeds, irradiation, cold stratification, germination in darkness

1. はじめに

タニウツギ (*Weigela hortensis* K. Koch) は、スイカズラ科タニウツギ属の樹高2~5mに達する落葉樹で^{5,7,11)}、北海道西部から東北、北陸、山陰地方にかけての日本海型気候の山地に分布している^{5,7,10,11)}。5月から6月に^{5,7,11)}桃色または淡紅色から紅色の花を咲かせ^{5,7,10,11)}、半日陰から日当たりの良い林縁や法面に時折群落を見ることができる。本研究において種子を採取した北海道小樽市では、道路法面に沿って彩りを添える大きな群落があり、6月中旬から7月上旬にかけ

て開花し、10月中旬に大量の種子を生産する。

このような特徴を持つ樹木であるため、タニウツギは在来緑化用樹木のひとつとして有望視されている^{3,6)}。タニウツギを緑化用樹木として利用するためには、種子からの苗生産⁶⁾や播種工³⁾への利用のために、種子の発芽特性に関する情報の蓄積が重要となる。

これまでのタニウツギの種子発芽に関する研究では、明条件下では高い発芽率を示すが、暗条件下では全く発芽しない¹⁴⁾か2.7%以下の発芽率にとどまること³⁾が示されている。また、暗条件では、暗所にて4℃で3週間冷湿処理した種

子も全く発芽しなかったこと¹⁴⁾も示されている。さらに、タニウツギの種子は、連続光、暗黒のいずれでも 25℃ で 70～80% の発芽率を示したことが報告されているが⁴⁾、この研究では「一部の実験は吸水、調査時に光にさらした」との記述があり、タニウツギの発芽実験での発芽調査時の光条件が明確ではない。

既往研究で示されたように、タニウツギの種子が暗条件下では、低温湿潤処理後も数%以下の発芽にとどまるという特徴を持っているならば、土中に埋もれて暗条件となった種子は冬の低温湿潤条件を受けた後も発芽しないこと、播種する際には暗条件とならないように覆土を薄くすべきことを意味している。また、播種工によって種子を利用する際、基盤材表面や地表面に位置する種子しか発芽しないことも示唆される。

ところが、我々が 2005 年に実施した実験では、暗条件で 50～80% の種子が発芽した（資料未記載）。この実験では、一定量のタニウツギ種子をまとめて低温湿潤処理した後、実験室の蛍光灯の下でシャーレに播種し、その後に暗条件に置いて発芽率を調査した。一方、種子の中にはほんのわずかな量の光でも発芽する種子が存在する¹⁾。この 2005 年の実験においてタニウツギの種子が暗条件でも発芽した理由は、低温湿潤処理後の種子を実験室の蛍光灯の光の下で播種したためではないかと推測した。

もし、そうであるなら、この性質を利用して、湿潤処理後の種子に一定量の光を与えると、その後の暗条件でも発芽させることができるかも知れない。そして、暗条件で発芽するための最適な条件を明らかにできれば、種子からの苗生産や播種工による緑化の場面においても、土中の種子も発芽させることができ、地上への発芽率を高めることができるのではないかと考えた。

一方、種子の発芽に際しての光要求は温度によって変わることが広く知られている¹⁾ことから、タニウツギ種子の発芽においても既往研究よりも広い範囲の温度条件で光の影響を調査する必要がある。

さらに、タニウツギ種子への 250 ppm のジベレリン（以下、GA₃）処理によって、暗黒下 25℃ での発芽が促進されたことも報告されているが⁴⁾、一文の記述のみで資料は記載されておらず、どの程度の発芽促進効果が示されたのかは不明である。

そこで、本研究では、既往研究よりも広い範囲の温度条件と湿潤処理の条件を設定して、既往研究の結果を確認した。また、タニウツギの種子が暗条件でも発芽できる条件を明らかにするために、様々な湿潤処理と光照射処理に関わる実験を実施した。さらに、暗区でも発芽可能になった種子がその性質を維持できる貯蔵期間と、GA₃ 処理が暗区での発芽に及ぼす影響も明らかにした。

2. 材料および方法

2.1 種子の採取、調整方法および果実当たりの種子数

2006 年 10 月 14 日に、北海道小樽市にあるタニウツギの

自然群落の母樹およそ 10 個体から茶褐色に変色した果実を枝とともに採取し、実験室内の新聞紙の上で自然乾燥した。大部分の果実は、この期間に自然裂開した。5 日後に果実から種子を取り出し、0.5 mm 目の篩を通過しなかった種子を実験に用いた。

種子の縁には薄い翼があり、翼を除いた種子の長径は 1.3 ± 0.1 mm（平均値 $\pm$ 標準偏差、 $n=20$ ）で、果実あたりの種子数は 57.9 ± 18.4 粒（ $n=20$ ）であった。また、採取年度は異なるが参考として 2007 年に採種した種子の千粒重を示す。2007 年 10 月 14 日に同じ場所で採取し、採取 5 日後に同様の方法で調整した種子では、千粒重が 0.20 ± 0.01 g（ $n=4$ ）（種子 1 g 当たり 5,000 $\pm$ 161 粒）であった。この値は、これまで報告されている千粒重、0.26～0.27 g（種子 1 g 当たり 3,700～3,900 粒）¹³⁾、0.24～0.29 g（種子 1 g 当たり 3,500～4,200 粒）¹²⁾、0.11～0.13 g（種子 1 g 当たり 9,300～7,800 粒）⁶⁾ の範囲内であった。

2.2 実験における共通事項

以下の各実験では 2006 年 10 月 14 日に採取した種子を供試した。

それぞれの実験方法の要約を表-1、2、3 に示した。

室内貯蔵とは、種子を薄手の筋入り茶色の紙封筒（以下、紙封筒と称す）に入れて空調装置が備えられた実験室内で貯蔵したものとした。実験室内の温度をサーモレコーダー（RT-30S、エスベックミック株式会社）で 15 分ごとに記録し、日最高温度、日最低温度、日平均温度を計算した。貯蔵期間中のそれぞれの平均は、25.6℃、22.0℃、23.7℃ であった（図-1）。また、5℃ 乾燥貯蔵とは、種子を紙封筒に入れた後シリカゲルの入った密閉プラスチック容器に入れ、暗区・5℃ で貯蔵したものとした。この密閉プラスチック容器の中に、小型のデジタル温湿度計を入れ、数カ月毎に確認した範囲では、その中の湿度は、約 20% であった

発芽実験では、直径 5 cm のプラスチックシャーレを用い

図-1 実験期間中の実験室内の温度
(2007 年 4 月 14 日から 28 日まで欠測)

Fig. 1 Temperature in the laboratory during the experiment period.

(Temperature from April 14, 2007 to 28 days are missing.)

て、滅菌蒸留水で湿らせた2枚の濾紙上に播種した。シャーレの反復は全ての実験を通じて4反復としたが、シャーレあたりの播種数は、前半の実験では40粒、後半の実験では種子数が少なくなったため30粒とした(表-1, 2, 3)。

湿潤処理を施す種子では、播種中に光に曝される時間を15秒以内と可能な限り短くし、水分の蒸発を防ぐために播種後直ちにシャーレをパラフィルム(Pechiney Plastic Packaging, Menasha, Wisconsin, USA)で密閉するとともに2重のアルミホイルで覆った暗条件で湿潤処理を行った。

発芽実験中の光条件としての明区では、白色蛍光灯の光を照射し、種子表面での光合成光量子束密度(以下、光強度と称す)をLI-250A Light meter (LICOR Biosciences, Nebraska USA)で測定した。湿潤処理後に明区に移動する場合には、アルミホイルを取り除いた。暗区の種子では、播種中に光に曝される時間を15秒以内と可能な限り短くし、水分の蒸発を防ぐために播種後直ちにシャーレをパラフィルムで密閉するとともに2重のアルミホイルで覆って光を遮断した。湿潤処理後に暗区に移動する場合も、アルミホイルは取り除かずにそのままにした。

発芽実験のための温度設定は、各実験毎に表-1, 2, 3の注に示した恒温器を用いた。

明区では1日おきに、暗区では実験終了時にのみ発芽種子と腐敗種子を数えた。

本研究では、発芽種子とは種皮から幼根が1mm以上出現した状態の種子とした^{2,8,9)}。幼根が出現した種子からは、数日後に子葉が出現した。また、腐敗種子とは、種子に糸状菌が発生するとともにピンセットで軽く挟むと崩れる種子とした。全実験を通じて腐敗種子は少なく、ひとつの処理区で最大でも8%であった。

2.3 採取直後の種子の発芽に及ぼす光と温度の影響

採取後5日を経過した種子を採取直後の種子とし40粒4反復で播種した(表-1)。発芽実験時の光区として明区と暗区を設け、明区では、 $40\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ の光を1日に12時間照射した。また、明区、暗区にそれぞれ5段階の恒温条件(5℃, 10℃, 15℃, 20℃, 25℃, 30℃)と5段階の変温条件(15/5℃, 20/10℃, 25/15℃, 30/20℃, 35/25℃)を設けた。変温条件では、高温期と低温期をそれぞれ12時間とし、明区の変温条件では高温期に光を照射した。調査期間は30日間とした。

2.4 5℃湿潤処理後の種子の発芽に及ぼす光と温度の影響

種子の採取後5日目に、40粒4反復で播種し、5℃で湿潤処理を施した(以下、5℃湿潤処理と称す)(表-1)。また同じ日に、これとは別の種子を5℃乾燥で貯蔵した。

その後10, 30, 90日後に、5℃湿潤処理の種子はそのまま、5℃乾燥貯蔵の種子は40粒4反復で播種した後、明区、暗区の光条件の下、5段階の恒温条件で発芽実験を実施した。

「2.3 採取直後の種子の発芽に及ぼす光と温度の影響」で、発芽適温である25℃付近では恒温条件と変温条件の発芽率の間に有意な差が認められなかったことから、これ以降の実験では5段階の恒温条件のみで発芽実験を行った。

調査期間は30日間とした。

2.5 暗区で発芽させるための湿潤処理とそれに続く光照射処理の条件

2.5.1 光照射前の湿潤処理における温度の影響

室内で290日間貯蔵した種子を30粒4反復で播種し、暗条件の0℃, 5℃, 10℃, 15℃, 20℃, 25℃および30℃でそれぞれ30日間湿潤処理を施した(表-2)。その後、アルミホイルを外して25℃で $40\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ の光を24時間照射し、その後直ちに暗区・25℃に置いた。

先の「2.3 採取直後の種子の発芽に及ぼす光と温度の影響」(図-2)と「2.4 5℃湿潤処理後の種子の発芽に及ぼす光と温度の影響」(図-3)において、明区の25℃では、15日後にほぼ発芽が完了したことを参考にして、15日後に発芽状況を調査した。

2.5.2 光照射前の5℃湿潤処理期間の影響

室内で210日間貯蔵した種子を、30粒4反復で播種し5℃湿潤処理を施した(表-2)。その後0日, 1日, 3日, 7日, 15日, 30日および88日後に、アルミホイルを外して25℃で $40\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ の光を24時間照射した。光照射後、直ちに暗区・25℃に置き、15日後に発芽状況を調査した。

2.5.3 5℃湿潤処理後の光照射時における温度の影響

採取後5℃乾燥で51日間貯蔵して置いた種子を40粒4反復で播種し、5℃湿潤処理を30日間施した(表-2)。その後アルミホイルを外して5℃, 10℃, 15℃, 20℃, 25℃, 30℃において、 $40\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ の光を24時間照射した。

光照射処理の後直ちに暗区・25℃に置き、15日後に発芽状況を調査した。

2.5.4 5℃湿潤処理後における光強度の影響

室内で358日貯蔵した種子を30粒4反復で播種し、5℃湿潤処理を30日間施した(表-2)。その後、シャーレの側面と底面をアルミホイルで遮光し、シャーレの上面を黒色の寒冷紗で3, 2, 1, 0重に覆うことで、3, 7, 16, および $39\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ の光照射区を設けた。また、5℃湿潤処理時の暗区のまま、シャーレ全体をアルミホイルで覆った $0\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ の区も設けた。これらの光照射処理を25℃で24時間施した後、直ちに暗区・25℃として、15日後に発芽状況を調査した。

2.5.5 5℃湿潤処理後における光の照射時間の影響

採取後333日間室内で貯蔵した種子を30粒4反復で播種し、5℃湿潤処理を30日間施した(表-2)。その後、アルミホイルを取り除き、25℃で、 $40\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ の光を、0分, 1分, 30分, 1時間, 4時間, 12時間, 24時間, および48時間照射した。所定の光照射の後、直ちに暗区・25℃に置き、15日後に発芽状況を調査した。

また、5℃湿潤処理の開始と同時に、室内貯蔵をさらに30日間継続した種子も30粒4反復で播種し、上述の5℃湿潤処理の種子と同じ条件で発芽実験を行った。

2.5.6 暗区での発芽適温

室内で401日間貯蔵した種子を30粒4反復で播種し、5℃湿潤処理を30日間施した(表-2)。その後、アルミホ

表-1 採取直後の種子と 5℃ 湿潤処理後の種子の発芽に及ぼす光と温度の影響の実験における方法の要約

Table 1 Summary of methods in the experiments for effects of light and temperature on the germination of seeds immediately collected and stratified at 5℃.

実 験 ^{注1}	貯蔵方法および実験開始日と採取から実験までの日数	粒数と反復	湿潤処理または貯蔵方法 ^{注2}	発芽実験時における			調査期間
				光区	明区の光条件	温度 ^{注3}	
2.3 採取直後の種子の発芽に及ぼす光と温度の影響	室内貯蔵 2006/10/19 (5 日)	40 粒 4 反復	なし	明区 暗区	40 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 12 時間/日	5 段階の恒温条件 ^{注4} 5 段階の変温条件 ^{注5}	30 日
2.4 5℃ 湿潤処理後の種子の発芽に及ぼす光と温度の影響	室内貯蔵 2006/10/19 (5 日)	40 粒 4 反復	5℃ 湿潤処理および 5℃ 乾燥貯蔵で 10, 30, 90 日	明区 暗区	40 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 12 時間/日	5 段階の恒温条件	30 日

注 1: 実験の前の番号は、本文中の方法の番号と対応している。

注 2: 5℃ 湿潤処理と 5℃ 乾燥貯蔵では低温恒温器 (IL-92, ヤマト科学株式会社) を用いた。

注 3: 温度勾配恒温器 (TG-100-ADCT, 株式会社日本医化器械製作所) を用いた。

注 4: 5 段階の恒温条件とは、5℃, 10℃, 15℃, 20℃, 25℃, 30℃ の温度区を意味する。

注 5: 5 段階の変温条件とは、15/5℃, 20/10℃, 25/15℃, 30/20℃, 35/25℃ の温度区を意味する。

表-2 暗区で発芽させるための湿潤処理とそれに続く光照射処理の条件に関する実験における方法の要約

Table 2 Summary of methods in the experiments for the treatments of stratification followed by light irradiation to germinate in darkness.

実 験 ^{注1}	貯蔵方法および実験開始日と採取から実験までの日数	粒数と反復	湿潤処理 ^{注2}	光照射処理時の		湿潤処理と光照射処理後の発芽実験時の光と温度 ^{注4}	調査期間
				温度 ^{注3}	光条件		
2.5 暗区で発芽させるための湿潤処理とそれに続く光照射処理の条件							
2.5.1 光照射前の湿潤処理における温度の影響	室内貯蔵 2007/ 7/31 (290 日)	30 粒 4 反復	0, 5, 10, 15, 20, 25, 30℃ の湿潤処理を 30 日	25℃	40 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (24 時間)	暗区, 25℃	15 日
2.5.2 光照射前の 5℃ 湿潤処理期間の影響	室内貯蔵 2007/ 5/12 (210 日)	30 粒 4 反復	5℃ 湿潤処理を 0, 1, 3, 7, 15, 30, 88 日	25℃	40 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (24 時間)	暗区, 25℃	15 日
2.5.3 5℃ 湿潤処理後の光照射時における温度の影響	5℃ 乾燥貯蔵 2006/12/ 9 (51 日)	40 粒 4 反復	5℃ 湿潤処理を 30 日	5, 10, 15, 20, 25, 30℃	40 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (24 時間)	暗区, 25℃	15 日
2.5.4 5℃ 湿潤処理後における光強度の影響	室内貯蔵 2007/10/12 (358 日)	30 粒 4 反復	5℃ 湿潤処理を 30 日	25℃	0, 3, 7, 16, 39 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (24 時間)	暗区, 25℃	15 日
2.5.5 5℃ 湿潤処理後における光の照射時間の影響	室内貯蔵 2007/ 9/12 (333 日)	30 粒 4 反復	5℃ 湿潤処理および室内貯蔵で 30 日	25℃	40 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (0 分~48 時間)	暗区, 25℃	15 日
2.5.6 暗区での発芽適温	室内貯蔵 2007/11/19 (401 日)	30 粒 4 反復	5℃ 湿潤処理を 30 日	25℃	40 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (24 時間)	暗区, 5 段階の恒温条件	30 日
2.5.7 5℃ 湿潤処理と光照射処理後の種子の貯蔵	室内貯蔵 2007/ 7/ 9 (268 日)	30 粒 4 反復	5℃ 湿潤処理を 30 日	25℃	40 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (24 時間)	暗区・5℃ 湿潤で 0, 1, 3, 7, 15, 30, 90 日貯蔵。その後, 暗区・25℃	15 日

注 1: 実験の前の番号は、本文中の方法の番号と対応している。

注 2: 0℃ および 5℃ の湿潤処理は、それぞれ低温恒温器 (IN602W, ヤマト科学株式会社, 東京および IL-92, ヤマト科学株式会社) で行い、その他の温度の湿潤処理は温度勾配恒温器 (TG-100-ADCT, 株式会社日本医化器械製作所) で行った。

注 3: 2.5.3 の実験では温度勾配恒温器 (TG-100-ADCT, 株式会社日本医化器械製作所), その他の実験では恒温器 (コイトロン HNB-20, 小糸工業株式会社) を用いた。

注 4: 2.5.6 の実験では温度勾配恒温器 (TG-100-ADCT, 株式会社日本医化器械製作所), その他の実験では恒温器 (コイトロン HNB-20, 小糸工業株式会社) を用いた。

表-3 GA₃ が発芽に及ぼす影響の実験における方法の要約Table 3 Summary of methods in the experiments for effects of GA₃ on germination.

実 験 ^{注1}	貯蔵方法と採取から実験までの日数	粒数と反復	GA ₃ 処理	発芽実験時における			調査期間
				光区	明区の光条件	温度 ^{注2}	
2.6 GA ₃ が発芽に及ぼす影響	5℃ 乾燥貯蔵 2006/11/18 (35 日)	40 粒 4 反復	GA ₃ 0, 0.1, 1, 10, 100, 1000 ppm	明区 暗区	40 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (12 時間/日)	25℃	20 日

注 1: 実験の前の番号は、本文中の方法の番号と対応している。

注 2: 温度勾配恒温器 (TG-100-ADCT, 株式会社日本医化器械製作所) を用いた。

ルを外して 25℃ で 40 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ の光を 24 時間照射した。光照射処理後、直ちに暗区として、5℃, 10℃, 15℃, 20℃, 25℃, 30℃ の恒温器に移動した。この実験では、5℃ と 10℃ での発芽が遅れる可能性を考慮して、30 日後に発芽状況を調査した。

2.5.7 5℃ 湿潤処理と光照射処理後の種子の貯蔵

室内で 268 日間貯蔵した種子を 30 粒 4 反復で播種し、5℃ 湿潤処理を 30 日間施した (表-2)。その後アルミホイルを外して 25℃ で 40 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ の光を 24 時間照射した。光照射の後直ちに暗区とし、湿潤 5℃ で、0, 1, 3, 7,

15, 30, 90 日間貯蔵した。所定の貯蔵期間後に暗区・25℃に移動し、15 日後に発芽状況を調査した。

2.6 GA₃ が発芽に及ぼす影響

5℃ 乾燥で 35 日間貯蔵した種子を 40 粒 4 反復で播種した (表-3)。その後、シャーレに 0 ppm (滅菌蒸留水のみ), 0.1 ppm, 1 ppm, 10 ppm, 100 ppm, および 1000 ppm の GA₃ 溶液を 2 ml 加えた。発芽実験時の光条件として明区と暗区を設け、明区では 40 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ の光を 1 日に 12 時間照射した。明区、暗区ともに 25℃ で発芽実験を行い、20 日間発芽状況を調査した。

2.7 統計処理

統計解析は、SPSS Statistics 22.0 (IBM, Somers, New York, USA) で行った。本研究では、各実験毎に発芽率の平均値を比較した。発芽率をアークサイン変換した後に、一元配置の分散分析を行い、有意な差 ($P < 0.05$) が認められた場合、さらに Tukey's HSD の多重比較検定 ($P < 0.05$) を実施した。

3. 結 果

3.1 採取直後の種子の発芽に及ぼす光と温度の影響

暗区では、恒温、変温ともに全く発芽しなかった。明区では、恒温 25℃ と 30℃ および変温 25/15℃, 30/20℃, 35/

図-2 採取直後の種子の様々な温度での発芽率 (明区) 播種後 15 日目 (■) および 30 日目 (□) の結果。垂直線は標準偏差を示す。恒温と変温を全て含んで、同じ文字が付された 30 日後の発芽率の間では有意な差がなかったことを示す (Tukey's HSD, $P < 0.05$)。暗区では全く発芽しなかったため、暗区の結果は示していない。

Fig. 2 Germination of fresh seeds at various temperatures in light.

Results at 15 days (■) and 30 days (□) after sowing. Vertical bars show SD. Bars topped by the same letter are not significantly different (both within and between temperature regimes) at 30 days after sowing (Tukey's HSD, $P < 0.05$). Results in darkness are not shown because no seed germinated.

図-3 5℃ 湿潤処理を施した種子と乾燥 5℃ で貯蔵した種子の発芽率 (明区) 播種後 15 日目 (■) および 30 日目 (□) の結果。垂直線は標準偏差。暗区では全く発芽しなかったため、暗区の結果は示していない。

Fig. 3 Germination of seeds following cold stratification at 5°C in light or dry storage at 5°C in light.

Results at 15 days (■) and 30 days (□) after sowing. Vertical bars show SD. Results in darkness are not shown because no seed germinated.

図-4 光照射前の湿潤処理における温度が光照射後の暗区での発芽率に及ぼす影響
播種後 15 日目の結果。
垂直線は標準偏差。
同じ文字が付された平均値の間では有意な差がなかったことを示す (Tukey's HSD, $P < 0.05$)。

Fig. 4 Effects of temperature of stratification before irradiation on subsequent germination in darkness.
Seeds stored at room temperature without desiccant for 290 days were used.
Seeds were stratified for 30 days, irradiated at ca. $40 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ for 24 h, and then held in darkness at 25°C for 15 days. (Stratification $\rightarrow$ irradiation $\rightarrow$ darkness at 25°C)
Vertical bars show SD.
Bars topped by the same letter are not significantly different (Tukey's HSD, $P < 0.05$).

図-5 光照射前の 5 °C 湿潤処理の期間が光照射後の暗区での発芽率に及ぼす影響
播種後 15 日目の結果。
垂直線は標準偏差。
同じ文字が付された平均値の間では有意な差がなかったことを示す (Tukey's HSD, $P < 0.05$)。

Fig. 5 Effects of duration of cold stratification 5°C before irradiation on subsequent germination in darkness.
Seeds stored at room temperature without desiccant for 298 days were used.
Seeds were cold-stratified at 5°C for the specified number of days, irradiated at ca. $40 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ for 24 h, and then held in darkness at 25°C for 15 days. Vertical bars show SD.
Bars topped by the same letter are not significantly different (Tukey's HSD, $P < 0.05$).

図-6 5 °C 湿潤処理後の光照射時の温度が暗区での発芽率に及ぼす影響
播種後 15 日目の結果。垂直線は標準偏差。
同じ文字が付された平均値の間では有意な差がなかったことを示す (Tukey's HSD, $P < 0.05$)。

Fig. 6 Effects of temperature during irradiation following stratification at 5°C on subsequent germination in darkness.
Seeds stored at 5°C with desiccant for 51 days were used.
Seeds were cold-stratified at 5°C for 30 days, irradiated at ca. $40 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ for 24 h at the specified temperature, and then held in darkness at 25°C for 15 days. Vertical bars show SD.
Bars topped by the same letter are not significantly different (Tukey's HSD, $P < 0.05$).

25°C で、播種後 15 日目にはほぼ発芽を完了し、74~81% の種子が発芽した(図-2)。また、 25°C 、 30°C 、 $25/15^\circ\text{C}$ 、 $30/20^\circ\text{C}$ および $35/25^\circ\text{C}$ の発芽率の間には有意な差は認められなかった。

3.2 5 °C 湿潤処理後の種子の発芽に及ぼす光と温度の影響

暗区では、 5°C 湿潤処理を 90 日間施しても全く発芽しなかった。しかし図-3 に示すように、明区では、 5°C 湿潤処理によって発芽が促進され、30 日の処理によって、採取直後には発芽率が低かった 10°C 、 15°C 、 20°C でも 86% 以上が発芽するようになった。また、 20°C 、 25°C 、 30°C では、播種後 15 日目には発芽をほぼ完了した。一方、 5°C 乾燥貯蔵種子は貯蔵 90 日後も 10°C 、 15°C の発芽率は高まらなかった。

3.3 光照射前の湿潤処理における温度の影響

0°C 、 5°C 、 10°C の低温湿潤処理を 30 日間施した後、光を 24 時間照射した種子は、その後、暗区・ 25°C に異動しても 73~79% が発芽した(図-4)。しかし、 15°C 以上で湿潤処理を施した種子は 18% 以下の発芽率となった。

3.4 光照射前の 5 °C 湿潤処理期間の影響

5°C 湿潤処理の期間が長くなるにつれて光照射後の暗区での発芽率は高まり、15 日以上で低温湿潤処理によって発芽率は 75% 前後となった(図-5)。

3.5 5 °C 湿潤処理後の光照射時における温度の影響

5°C 湿潤処理を 30 日間施した種子では、光照射時の温度が高くなるにつれて、その後の暗区での発芽率は高まり、

図-7 5℃ 湿潤処理後における光強度がその後の暗区での発芽率に及ぼす影響
播種後 15 日目の結果。垂直線は標準偏差。
同じ文字が付された平均値の間では有意な差がなかったことを示す (Tukey's HSD, $P < 0.05$)。

Fig. 7 Effects of photosynthetic photon flux density (PPFD) after stratification at 5°C on subsequent germination in darkness.
Seeds stored at room temperature without desiccant for 358 days were used. Seeds were cold-stratified at 5°C for 30 days, irradiated at specified PPFD at 25°C, and then held in darkness at 25°C for 15 days. Vertical bars show SD.
Bars topped by the same letter are not significantly different (Tukey's HSD, $P < 0.05$).

図-8 5℃ 湿潤処理後における光の照射時間がその後の暗区での発芽率に及ぼす影響
播種後 15 日目の結果。垂直線は標準偏差。
低温湿潤処理された種子において、同じ文字が付された平均値の間では有意な差がなかったことを示す (Tukey's HSD, $P < 0.05$)。

Fig. 8 Effects of irradiation duration following stratification at 5°C on subsequent germination in darkness.
Seeds stored at room temperature for 333 days were used. Seeds were treated with or without cold-stratification at 5°C for 30 days. Then they irradiated at ca. $40 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ for the specified duration at 25°C, and held in darkness at 25°C for 15 days. Vertical bars show SD.
Bars topped by the same letter are not significantly different (within stratification treatment) (Tukey's HSD, $P < 0.05$).

図-9 5℃ 湿潤処理と光照射処理後の種子の暗区での様々な温度における発芽率
播種後 30 日目の結果。垂直線は標準偏差。
同じ文字が付された平均値の間では有意な差がなかったことを示す (Tukey's HSD, $P < 0.05$)。

Fig. 9 Germination at various temperatures in darkness after cold stratification and irradiation.
Seeds stored at room temperature without desiccant for 401 days were used. Seeds were cold-stratified at 5°C for 30 days, irradiated at ca. $40 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ at 25°C, and then held in darkness at the specified temperature for 30 days. Vertical bars show SD.
Bars topped by the same letter are not significantly different (Tukey's HSD, $P < 0.05$).

図-10 5℃ 湿潤処理と光照射処理後の暗区・5℃ 湿潤での貯蔵日数が発芽率に及ぼす影響
播種後 15 日目の結果。垂直線は標準偏差。
同じ文字が付された平均値の間では有意な差がなかったことを示す (Tukey's HSD, $P < 0.05$)。

Fig. 10 Effects of duration of moist storage in darkness at 5°C after cold stratification and irradiation on germination.
Seeds stored at room temperature without desiccant for 268 days were used. Seeds were cold-stratified at 5°C for 30 days, irradiated at ca. $40 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ for 24 h, held moist in darkness for specified duration at 5°C to inhibit germination, and then held in darkness at 25°C for germination for 15 days. (Stratification → irradiation → darkness at 5°C (to inhibit germination) → darkness at 25°C) Vertical bars show SD.
Bars topped by the same letter are not significantly different (Tukey's HSD, $P < 0.05$).

図-11 GA₃の濃度が発芽率に及ぼす影響

播種後20日目の結果。垂直線は標準偏差

明区と暗区を全て含んで、同じ文字が付された30日後の発芽率の間では有意な差がなかったことを示す (Tukey's HSD, $P < 0.05$)

Fig. 11 Effects of GA₃ on germination.

Seeds stored at 5°C with desiccant for 35 days were used. Seeds were soaked in GA₃ without stratification or irradiation, and placed in light or darkness at 25°C for 20 days. Vertical bars show SD.

Bars topped by the same letter are not significantly different (both within and between light regimes) at 30 days after sowing (Tukey's HSD, $P < 0.05$).

25°C と 30°C で光照射した種子は約 60% が発芽し、両区間で発芽率に有意な差は認められなかった (図-6)。

3.6 5°C 湿潤処理後における光強度の影響

5°C 湿潤処理を 30 日間施した種子では、 $3 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ の弱い光の照射でもその後の暗区での発芽が促された (図-7)。7, 16, および $39 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ の光照射では 60% 程度の種子が発芽し、それらの光照射区間における発芽率の間に有意な差は認められなかった。

3.7 5°C 湿潤処理後における光の照射時間の影響

30 日間 5°C 湿潤処理を施した種子は、その後 30 分の光の照射によって 4% が発芽し、照射時間が長くなるにつれてその後の暗区での発芽率が上昇し、24 時間および 48 時間の照射で 75% が発芽した (図-8)。室内貯蔵した種子でも、播種後 24 時間と 48 時間の光照射によって、その後の暗区での発芽率はそれぞれ、8% と 21% に高まった。

3.8 暗区での発芽適温

5°C 湿潤処理 30 日間の後に光照射処理を施した種子は、暗区の 20°C, 25°C, 30°C で、73~81% の高い発芽率を示した (図-9)。

3.9 5°C 湿潤処理と光照射処理後の種子の貯蔵

30 日間の 5°C 湿潤処理と光照射処理の後、発芽を抑制するため暗区・湿潤 5°C で貯蔵したところ、貯蔵期間が長くなるにつれて発芽率が低下し、3 日以上貯蔵では、貯蔵 1 日以内に比べて有意に発芽率が低下した (図-10)。

3.10 GA₃ が発芽に及ぼす影響

5°C 乾燥貯蔵した種子は、明区では 0 ppm でも 69% の種子が発根したが、GA₃ 100 ppm 区では他の区よりも有意に発芽率が高まって 96% が発芽した (図-11)。一方、暗区では GA₃ 100 ppm 区で 82% の種子が発芽したものの、他の処理区では、2% 以下の発芽率となった。

4. 考 察

4.1 タニウツギ種子の暗条件での発芽

本研究では、既往研究よりも幅広い発芽温度と低温湿潤処理の条件を設定して発芽実験を実施した。その結果、タニウツギの種子は明条件下では高い発芽率を示したが、暗条件下では低温湿潤処理を施しても全く発芽せず、この結果は既往の報告と一致した^{3,14)}。しかし、5°C 湿潤処理 30 日後では、30 分の光照射によってその後の暗条件下で 4% が発芽し、24 時間および 48 時間の光照射では 75% が発芽した (図-8)。これらのことから、既報⁴⁾で暗黒でも 25°C で 70~80% の発芽率を示した理由は、発芽調査時に光に曝されたためと推察される。

本研究の結果によれば、タニウツギの種子を暗条件下で発芽させるための最適条件は、5°C 前後の湿潤処理を 15 日以上施し (図-4, 5)、その後、25~30°C の温度で (図-6)、 $7 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 以上の光 (図-7) を 1~2 日 (図-8) 照射することであった。このような低温湿潤処理と光照射処理を施された種子は、暗条件下でも 20~30°C の範囲で 80% 程度発芽した (図-9)。

また、本研究における「3.8 暗区での発芽適温」の実験では、室内で 401 日間貯蔵した種子でも、5°C 湿潤処理 30 日間とそれに続く光照射処理によって 25°C で 80% 発芽することが示された (図-9)。しかしながら、「3.9 5°C 湿潤処理と光照射後の種子の貯蔵」実験において、室内で 268 日間貯蔵した種子に 5°C 湿潤処理 30 日間とそれに続く光照射処理を施した後、発芽を抑制するために暗区・5°C 湿潤で貯蔵した場合、3 日以上貯蔵ではその後の発芽率が低下した (図-10)。一旦休眠が打破された種子が、不適当な環境に置かれて再び休眠状態になることを、一般に二次休眠という¹⁾。タニウツギの種子でも、始めの低温湿潤処理と光照射処理によって休眠が打破されたものの、再び暗区・5°C という発芽に不適当な環境に置かれたため、二次休眠に入ったと考えられる。

4.2 実際現場での応用

苗生産や播種工の現場において、これまで暗条件下では発芽しないとされてきたタニウツギの種子を暗条件下で発芽させることができれば、地表面の種子に加えて土中の種子も発芽させることができ、地上への発芽率を高めることができる。

本研究の結果から、実際現場で土中に埋もれたタニウツギ種子の発芽率を高めるためのいくつかの方法が考えられる。

秋に採取した種子を紙封筒に入れて、室内か冷蔵庫で貯蔵しておく。その後、野外の温度が低温湿潤処理後のタニウツギの発芽適温である 20°C (図-9) に近くなる 1 か月ほど前

に、種子を透水性のある不織布などで包み、さらにそれを湿らせたミズゴケかバーミキュライトに埋め、約5℃の冷蔵庫で30日低温湿潤処理を施す。その後、水を薄く張った開口面積の広い容器に移し替え、25℃前後の室内で30cm程度の上部から $7\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 以上の蛍光灯の光を1~2日間照射する。このとき、下の種子も光に曝すために、時々攪拌する必要があると思われる。低温湿潤処理と光照射処理の後、数日の内に現場に播種する必要がある。

また、より簡便な方法も考えられる。室内で330日間貯蔵し低温湿潤処理を施さなかった種子でも播種後48時間光を照射するとその後の暗区で20%程度発芽した(図-8)ことから、室内貯蔵した種子を水に浸漬しながら2日以上光を照射した後に播種すると日光の当たる地表面の種子はほぼ発芽し、同時に土中に埋もれた種子のうち20%程度の発芽が期待できる。しかも、土中の発芽できなかった約80%の種子も、施工後に雨による土壌の流亡などがあれば土地表面に露出して光に曝され、その結果、時期をずらして発芽する可能性も残される。

4.3 今後の課題

GA₃ 100 ppm 処理を施しても暗条件下で80%程度発芽したことから(図-11)、GA₃ 100 ppm 処理も効果的な方法と考えられるが、本実験では、GA₃ への適切な浸漬時間を明らかにできなかった。また、既報⁴⁾でもGA₃ 250 ppm で24時間浸漬すると発芽が促進されたことが報告されているが、発芽実験中の正確な光条件と発芽率が示されていない。GA₃ の応用については今後の重要な課題である。

また、本研究によって、一応タニウツギの種子を暗条件下でも発芽させるための処理方法を明らかにできた。しかしながら、実際現場で、このような丁寧な処理を行うことは難しいかも知れない。さらに、この結果を参考に野外での実証実験を実施する必要もある。

また、小さな種子は貯蔵養分が少ないために、土中で発芽できたとしても、地上に発芽するまでに養分を消費し尽くして死亡してしまう可能性もある。暗条件下で発芽可能になったタニウツギの種子がどの程度の土中深度から発芽可能かを確認することも課題のひとつである。

謝辞: 本実験で使用した種子の採集に際しては北海道三祐株式会社のご協力を得た。ここに記して感謝申し上げる。

引用文献

- 1) Baskin, C.C. and Baskin, J.M. (2014) Seeds. Ecology, biography and evolution of dormancy and germination. Second Edition. 1586 pp. Academic Press, San Diego.
- 2) Demir, I., Ermis, S., Mavi, K. and Matthews, S. (2008) Mean germination time of pepper seed lots (*Capsicum annuum* L.) predicts size and uniformity of seedlings in germination tests and transplant modules. Seed Sci. & Technol., 36: 21-30.
- 3) 福永健司・甲田 遙・橘 隆一 (2012) タニウツギ属・アジサイ属・ウツギ属低木類の種子発芽に対する光および温度の影響に関する実験, 日本緑化工学会誌, 38(1): 204-207.
- 4) 橋詰隼人 (1978) 法面緑化用木本・草本種子の発芽特性, 広葉樹林研究 4: 75-83.
- 5) 原 寛・大場秀章 (1999) タニウツギ, 佐竹義輔・原 寛・亘理俊次・富成忠夫編, 日本の野生植物 木本 II, 平凡社, p. 239-240.
- 6) 入山義久・鈴木玲・高山光男 (2003) 寒冷地に自生する木本類の苗生産試験, 日本緑化工学会誌, 29(1): 219-222.
- 7) 北村四郎・村田源 (1971) 原色日本植物図鑑 木本編 [I], 保育社, 453 pp.
- 8) Li, X., Baskin, J.M. and Baskin, C.C. (1999) Seed morphology and physical dormancy of several North American Rhus species (Anacardiaceae). Seed Science Research, 9: 247-258.
- 9) Nur, M., Baskin, C.C., Lu, J.J., Tan, D.Y. and Baskin, J.M. (2014) A new type of non-deep physiological dormancy: evidence from three annual Asteraceae species in the cold deserts of Central Asia. Seed Science Research, 24: 301-314.
- 10) 大井次三郎 (1983) 新日本植物誌 顕花篇, 北川政夫改訂, 至文堂, 1716 pp.
- 11) 奥山春季 (編) (1977) 寺崎 日本植物図譜, 平凡社, 1165 pp.
- 12) 斉藤晶・佐藤孝夫 (1981) 緑化樹木の苗木養生法 一実生, 無性繁殖の技術 (2)一, 光珠内季報, 50: 26-35.
- 13) 新村義昭・伊藤重右エ門 (1976) 治山用広葉樹苗の育成法の研究 実生法による各樹種の苗木の特徴, 北海道林業試験場報告, 14: 77-85.
- 14) 新庄久尚・西脇亜也・菅原和夫 (2004) 放牧地の侵入低木であるタニウツギ (*Weigela hortensis* K. Koch) の種子発芽特性, 日本草地学会誌, 50(4), 369-371.

(2016. 4. 26 受理)