

オウレンにおける種子の休眠打破及び発芽適温

林 喜三郎・松田 育

(農学部 作物・育種学研究室)

Dormancy Breaking and the Optimum Temperature of germination in the Seed of Ohren, *Coptis japonica* Makino

Kisaburo HAYASHI and Iku MATSUDA

Laboratory of Crop Science and Plant Breeding, Faculty of Agriculture

Abstracts: In order to make clear the mechanism of seed dormancy, the factors for dormancy breaking and the optimum temperature of germination were examined in Ohren seed.

The embryos of freshly harvested seed began approximately to grow at 60 days and to germinate at 90 days after the seeds were put on agar medium at 5°C, although didn't begin for more than six months at room temperature (Fig. 2 & 3).

Gibberelline was known to be very effective in promoting growth of the embryo, even if at room temperature. It seems to be quite all right to consider that the promoting effect of low temperature is substituted for the effect of gibberelline on the growth of embryo (Fig. 2).

In the examination of germination using the seeds which were stored for six months in imbibed state at 5 °C, the higher the final germination percentage became, the lower examination temperature was. However at 10°C or lower temperature, the seeds were divided into two groups, "A" and "B", from the aspects of germination. The group "A" began to germinate soon after the start of examination. The group "B" was unable to germinate for long period, more than ten weeks, and was supposed to enter into the secondary dormancy dueing to high temperature just before the start of examination. In the group "A", percentage and the increase speed of germination at 15°C was higher than any other temperature, 5-25°C (Fig. 4).

It is satisfactory to divide the dormancy of Ohren seed into two stages, (i) the immature embryo undeveloped morphologically and (ii) the physiological dormancy after embryo developed morphologically.

緒 言

前報¹⁾ではオウレンの種子には胚の形態的未熟ならびに生理的休眠があって、この休眠の覚醒には低温や水分含量などが関与するのではないかと推定しておいた。また、一般にこのような低温の休眠覚醒効果は、しばしばジベレリンなどの生長調節物質により代替されることが明らかにされている。そこで、オウレン種子の休眠を打破するための諸条件、低温、ジベレリン及び種子水分含量等が、胚の発育や発芽の遅速に対する影響あるいは発芽適温について調査し、休眠の機構について検討した。本報告はそれら検討結果の概要である。

報告に先だち実験の遂行に貴重な実験材料を供与された福井県総合グリーンセンター 朝日善次郎、鳥取県林業試験場 土居国光、平尾二郎、兵庫県山南町 高階和男、岡山県林業試験場 片田美貴男、岡山県勝山町 古谷繁盛、高知県物部村 坂本敬紀、公文庸夫の各氏に厚く御礼申し上げる。

実験材料及び方法

1. 貯蔵及びジベレリン処理法

供試の種子は高知県物部村の杉林下で栽培中のセリバオウレンより1983年5月7日に採種した。種子の貯蔵は寒天培地と砂中埋蔵の2方法で実施したが、両者の結果はほぼ一致していたので、この報告では寒天培地のみ記述する。ジベレリン濃度 10^{-6} ~ 10^{-3} モルの水溶液に寒天1%を加えて煮とかし、その約10mlずつを18cmの試験管に入れてアルミホイルで密閉し、1気圧20分間の高圧殺菌後、試験管を傾斜させて固まらせた。なお、対照としてジベレリン無添加区も設けた。これらの培地に表面殺菌した種子を約20粒ずつ播種し、1983年5月9日より5℃または室温下で貯蔵し、6月1日から10日毎にそれぞれ1本ずつ取り出し、胚の発育状況と発芽数を調査した。

2. 貯蔵砂及び種子の水分含量

胚発育と水分含量の関係及び実際農家での埋蔵の実態を明らかにするために、兵庫県山南町、岡山県勝山町、鳥取県林試、高知県物部村(2カ所)の5地区で実際埋蔵中の種子及び砂を、1983年8月中旬ビニール袋に密封して送付してもらった。これらは入手直後に砂と種子を選り分けて、それぞれ生重量を測定した後、4日間80℃で乾燥させた後、再び乾燥重量を測定して水分含量を算出した。なお、種子の一部については胚の発育状況を観察した。

3. 発芽適温

福井県大野市、兵庫県山南町、岡山県勝山町、同奥津村、同林試、同阿波村、高知県物部村の4県7地区より、収穫直後の種子を送付してもらい、6月~12月の間5℃で砂中埋蔵した。これらを12月中旬に取り出し、発芽したものを取り除いて供試した。これは長期間の低温で休眠が完全に覚醒したと思われる種子について、発芽適温を調べるためである。発芽試験は直径9cmのシャーレに2枚のろ紙を重ねて敷き、十分に水で湿めらせた上に種子を播種し、1983年12月20日(上記種子を取り出してから2, 3日後)から5℃~25℃の間、5℃間隔の恒温器内に置いて実施した。たゞし、入手種子数の関係上、系統によっては実験できなかった温度区もある。シャーレには3日に1度の割合で水を注ぎ足し、発芽は1週間毎に観察した。

4. 胚の観察方法

前報で用いたパラフィン切片法は、切片の作成に長時間と多大の労力を必要とする上、標本作成に熟練を要するので、多数の胚の観察は容易でない。そこで迅速で、簡単な胚の標本作成法を新たに開発した。その方法は大意以下のとおりである。

- (1) 固定液に入れて一昼夜以上置いた種子を正確に2分間濃硫酸中に浸漬する。
- (2) 濃硫酸を捨てて水で2, 3回洗った後、30分間60℃の8規定苛性ソーダに浸漬する。
- (3) 容器の口をガーゼで2重にして塞ぎ、流水下に15分間置く。
- (4) 以上の処理で種皮はほとんどはずれ、種子は柔くなるので、時計皿等の上で種子と種皮とを選り分ける。
- (5) デラフィールドのヘマトキシリンで約5分間染色する。
- (6) スライドガラス上に種子を均等に配置し、2~3倍に薄めたグリセリンをたらした後、カバーガラスを静かに置き、さらにその上ろ紙をかぶせ、厚手のガラスをのせて上から静かに圧迫

して標本を作成観察する。

以上の操作で胚は胚乳部より容易に飛び出し、Fig. 1 に示すように立体的に観察できる。なお、Fig. 1 の各発育段階番号はそのまゝ、発育分化の程度を表わす指標として本文中で用いた。



Fig. 1. Growth of embryos observed by the procedure of new technique.

- a ~ c : Stage 1; Spheroid shaped embryo
- d : Stage 2; Cotyledon differentiation (Heart stage)
- e ~ f : Stage 3; Early stage of cotyledon development
- g : Stage 4; Cotyledon development
- h ~ j : Stage 5; Late stage of cotyledon development
- k, l : Stage 6; First leaf differentiation

以上の操作のうち、(1)の硫酸処理は固い種皮を剥皮するためであり、処理時間の影響は著しい。(2)の苛性ソーダ処理は組織を柔らかくするとともに透明化するために重要である。この方法は一度に多量の種子を処理することが可能であり、また短時間に、簡単に観察できる。したがって、他の植物の胚発育や種子胚の発生学的研究にも適用できる便利な方法と考えられる。ただし、上記の硫酸と苛性ソーダの濃度と処理時間の工夫が必要と思われる。

実験結果

1. 種子の胚発育及び発芽に及ぼす貯蔵条件の影響

5℃及び室温に置いた場合の、ジベレリン各濃度区の胚長を経時的に観察した結果は、Fig. 2に示すとおりである。

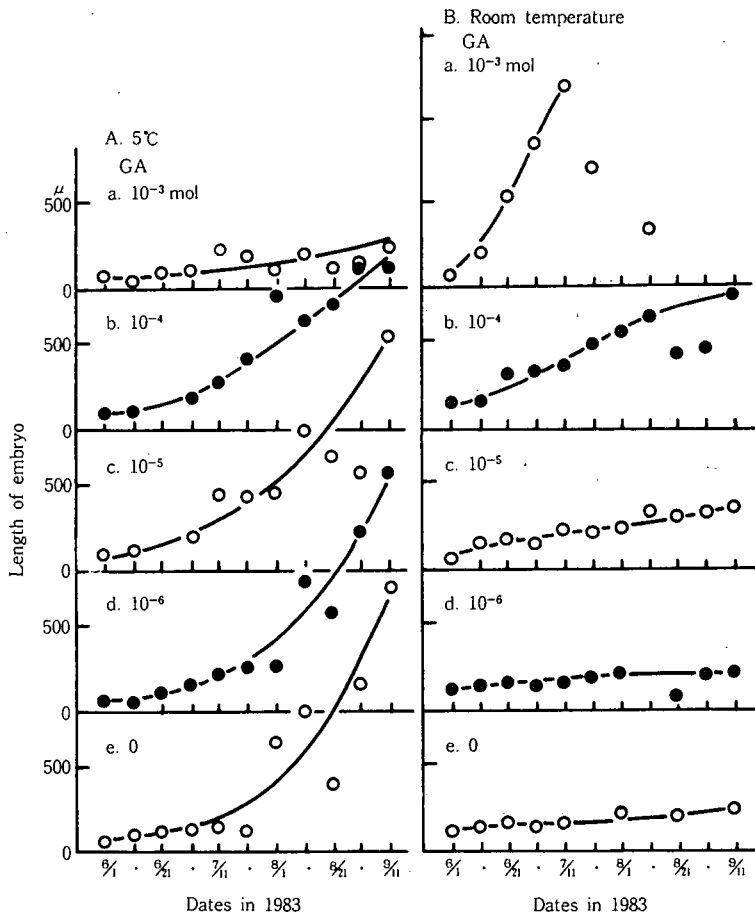


Fig. 2. The effect of temperature and gibberelline concentration on the growth of embryo.

A & B: Embryo length in micron on the media with 10^{-3} ~ 10^{-6} and 0 mol (Control) gibberelline at 5°C and room temperature.

(1) 低温

Fig. 2, B-eの室温区のジベレリン無添加の場合、実験期間中胚の伸長がわずかに見られるが、9月中旬になっても胚長は200 μ を越えず、発育ステージもようやく子葉分化期にはいる程度である。これに対して Fig. 2, A-eの5℃、ジベレリン無添加区においては、貯蔵開始60日

目から胚は急激に伸長して9月中旬には 1580 μ に達し、発育ステージは子葉分化後期にまで進む。これらの事実より、オウレン種子の胚の休眠覚醒には低温が有効であり、その覚醒には5℃で少なくとも60日間が必要と思われる。

(2) ジベレリン濃度

a) 胚の発育: Fig. 2, A の5℃では 10^{-3} モル区を除いて貯蔵開始後60日目より胚は伸長を開始し、9月中旬には 900~1500 μ 近くに達し、子葉分化中期~後期まで進むが、その発育の傾向には濃度による違いはほとんどみられない。なお、 10^{-3} モルではほとんど胚の伸長がみられなかったのは、殺菌を行なったにもかかわらず、カビの発生による腐敗が起こったためである。これに対して Fig. 2, B-a 室温の 10^{-3} モル区では貯蔵開始後10日目より伸長を開始し、7月中旬ですでに 1190 μ まで伸長し、発育ステージも子葉分化中期に達している。 10^{-4} モル以下でも同じような傾向がみられるが、濃度の減少とともにその傾向はうすれ、 10^{-6} モルではジベレリンによる促進効果はみられなくなる。

以上の事実より、室温条件下ではジベレリンの促進効果が著しく、その効果には濃度による差がみられ、 10^{-3} モルで最も顕著である。すなわち、ジベレリンの濃度を選べば低温による種子後熟の促進効果を代替し得ると考えられる。これに対し低温下ではジベレリンの胚の伸長促進効果は低いが、これは5℃のような低温下では、発育が抑えられてジベレリン効果は発現し難いためと思われる。

b) 種皮亀裂: オウレン種子は後熟が進むと胚の伸長によって種子内部からの圧力が高まり、種皮に亀裂が生じる。この現象は胚の生長をうかがう一つの目安とすることができる。Table. 1 は、ジベレリン処理濃度別々に種皮亀裂の始まる時期を調査した結果をとりまとめたものである。

Table 1. The effect of gibberelline concentration on the beginning date of seed coat cracking

Temperature	Concentration (mol)				
	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	0
5°C	Jun. 1	Aug. 1	Aug. 1	Aug. 11	Aug. 21
Room	Jul. 11	Aug. 1	Sep. 11	-	-

同表によると、種皮亀裂の開始日は7月から9月にわたっているが、貯蔵温度に関係なくジベレリン濃度が10倍高まるごとに10~40日近く早くなっている。これら事実は前項で指摘のようにジベレリンの胚の伸長促進効果を裏付けたものといえる。

c) 発芽: 5℃区の発芽率の調査結果を示すと、Fig. 3 のとおりである。

同図によると発芽開始日には濃度による差は余り著しくないが、11月下旬の発芽率では 10^{-3} , 10^{-4} モルで65%前後、 10^{-5} モルで35%前後と濃度の低下とともに最終発芽率が低くなる傾向がみられる。一方、室温下でも同様の実験を行なったが、腐敗が著しく信頼できる結果を得ていない。たゞし、Fig. 2, B の胚の生長促進効果より期待されるほど、発芽に対すれジベレリンの効果は有効でないと思われた。

(3) 埋蔵砂の水分含量

Table. 2 は4県5地区より入手したオウレンの砂と種子の水分含量を1983年9月5日に調べた結果を表示したものである。

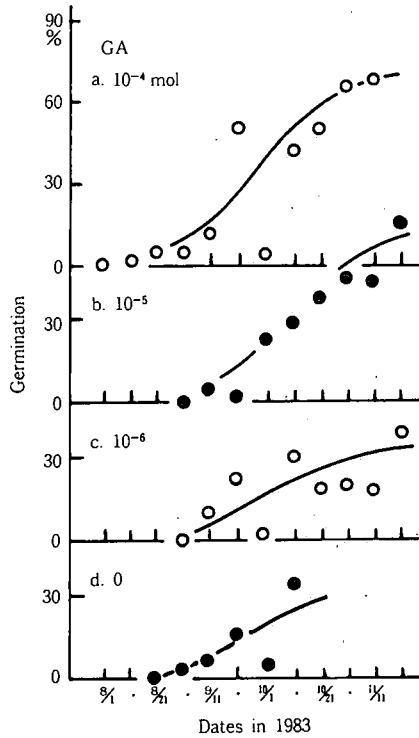


Fig. 3. The effect of gibberellin concentration on the germination of seed.

Table 2. Water content of the soil and the seed during stratification period

Sites *)	A	B	C	D	E
Water content					
Soil(%)	0.7	20.2	10.2	1.7	2.2
Seed(%)	10.9	47.1	48.0	23.9	34.9
Embryo					
Length(μ)	145.8	375.0	246.8	131.9	116.3
Stage **)	2.0	2.6	2.1	2.0	1.5

*): Collection sites of the seed
 A; Sannan, Hyogo prefecture
 B; Katsuyama, Okayama prefecture
 C; Forest E. S., Tottori prefecture
 D; Monobe-a, Kochi prefecture
 E; Monobe-b, Kochi prefecture

**): Developmental stage of embryo, see "Stage No." in Fig. 1.

同 Table によると本来は、近似した値を示すと予想された砂と種子の水分含量の間に著しい差異があり、輸送中に蒸発による水の損失があってその程度がとくに砂の方に顕著であったためと思われる。これらの条件を考慮しても勝山町及び鳥取県林試の土及び砂の水分含量は他の3地区よ

り明らかに高い。この観点から胚長及び胚のステージを見ると、土及び砂の水分含量の高いこれら2地区では胚の発育ステージも進み、胚長は2～3倍にも達している。これらの事実から胚発育を促進するには十分な水分供給が行なわれることが不可欠であり、前報¹⁾での推定を実証したものと考えられる。

2. 発芽適温

Fig. 4, a～e は4県7地区より入手した種子を、後熟が完了したと思われる時点で5～25℃の5段階の温度条件下で発芽させた結果を図示したものである。

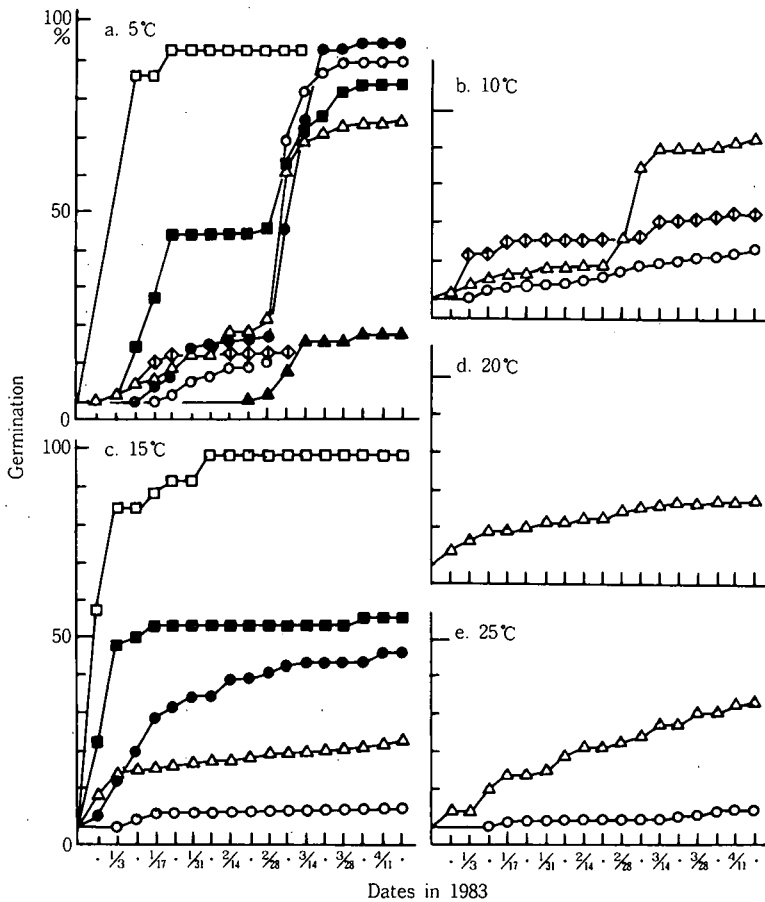


Fig. 4. The effect of temperature on the seed germination.
Collection sites of seed:

- Katsuyama, Okayama prefecture
- Awa, Okayama prefecture
- Okutsu, Okayama prefecture
- Forest E. S., Okayama prefecture
- △—△ Ohno, Fukui prefecture
- ▲—▲ Sannan, Hyogo prefecture
- ◇—◇ Monobe, Kochi prefecture

これらの発芽状況は産地によりかなり変異がみられるが、一般的に Fig. 4, c~e の15°C以上の区では実験開始1週間後から発芽を始め、その後2~3週間で最高値に達した後平衡になる。それに対して Fig. 4, a 及び b の10°C以下の区では発芽がやや遅れ、実験開始2~3週間後に発芽を始め、それから3~4週間で一時停止した後、5~6週間おいて再び発芽率が上昇を始める。すなわち、10°C以下では発芽までの期間の短いグループ(Aグループ)と長いグループ(Bグループ)の二通り存在しているのに比べ、15°C以上ではBグループが存在しない。

本供試の種子は、6月から12月までの6か月間にわたって5°C条件下で貯蔵しており、しかもかなり多数の種子が発芽を始めた段階での、未発芽種子であるにもかかわらず、まだ休眠覚醒の不十分な種子(Bグループ)が存在していることを物語っている。このBグループの種子は、更に5、10°C条件下に5~6週間置かれることで初めて休眠が打破されて発芽を再開したものと思われる。

以上のような経過から最終発芽率は低温区ほど高い傾向がみられるが、後熟の完了したAグループのみでみる限り発芽率及び発芽速度はともに15°Cが最も高いといえる。したがって、オウレンの種子は5°Cのような低温でも十分に発芽可能であるが、発芽適温としては15°Cと考えるのが妥当と思われる。

考 察

オウレンの種子の発芽については、高橋・小河原²⁾は土中埋蔵後の種子を用いて、伊東³⁾は採種直後の種子を用いてそれぞれ実験し、5、6°Cの低温下では発芽するが、10°C以上の高温では発芽が阻害されること、及び低温下で発芽を始めた種子でも、20あるいは25°Cの高温に移せば、発芽を停止し、このような種子を再び低温にもどしても発芽を再開するまで、相当長期間を必要とすることを見ている。本報告 Fig. 2, ~4 の結果も上記の諸氏の報告とは一致し、とくに低温下での発芽以前の胚の動きを明確化したと云いうる。一方、Fig. 4 の結果は、発芽態勢の整った種子(Aグループ)では10°C以上の温度でも充分発芽可能であり、発芽率及び発芽速度は15°Cあたりがむしろ最高となった。これらの事実から、オウレンの種子に対する5°Cの低温は発芽に好適な温度と考えるより、その前段階である未熟胚の生長及び成熟胚の生理的休眠を打破して、発芽態勢を整えることに貢献しており、発芽適温としては15°Cが妥当であろう。また、このような発芽態勢を整えつつある過程でも、後述のように高温下におくと容易に二次休眠に入ると考えられる。

つぎにジベレリンの効果については、高橋・小河原²⁾は埋蔵後の種子の発芽に対し極めて有効で、発芽速度及び発芽率を向上せしめたとし、本報告 Fig. 2 からも処理直後から未熟胚の生長を著しく促進できることを示した。ただし、その著しい促進効果ほど発芽を促進せず、むしろ非常に腐敗し易くなった。これらの事実はジベレリンが休眠打破や発芽に有効と考えられ、上記の低温効果を代替することは明らかであるが、胚が未熟の段階での処理は成熟胚までの生育は促進しても、それ以降の生理的休眠の打破には余り有効でないと思される。崔・高橋^{4), 5)}は、薬用人参種子の休眠が2~3段階に分けうるとしているが、オウレン種子の休眠においても、上述の諸事実を総合すれば(1)未熟胚あるいはその生長過程及び(2)成熟胚の生理的休眠期の2段階の存在を考えると好都合であろう。低温による休眠覚醒ではこの2段階の進行はスムーズに行なわれるが、ジベレリンは各段階内の進行には著しい効果を発揮しても、第1段階→第2段階への移行が容易でないように思われる。

なお、Fig. 4 の実験で10°C以下の区において実験開始期において休眠覚醒された種子群(A)と休眠中の種子群(B)の2群が明確に区別できたことは、極めて注目値する。この実験に供試の種子は6ヶ月以上の低温処理期間があり、休眠の覚醒には十分な期間と考えられ、仮に休眠覚醒

がなお不十分としても、種子の発芽は漸増の傾向をみせるはずであって、このように2群に分れることにはならないと思われる。この点について供試種子の貯蔵状態から実験開始まで室温下で2、3日を要しているの、この間に二次休眠に入ったとも考えられ、もしこの判断が正しいとするなら、オウレン種子は(i)比較的短期間の高温により容易に二次休眠に入る可能性があること、及び(ii)二次休眠への移行には休眠覚醒過程中的の特定の限界時期が存在するらしいこと、などが考えられ今後検討が急がれる。

要 約

オウレン種子の休眠を打破するための条件、低温、ジベレリン及び種子水分含量などが、胚の生育及び発芽に及ぼす影響あるいは発芽適温について調査検討した結果はつぎのとおりである。

室温下では6カ月間未熟胚はほとんど生長せず、発芽もみられないが、5℃の低温下では60日後から胚が生長し始め、90日後には発芽も始まる。一方5℃区ではジベレリン濃度と胚発育との間に明瞭な関係はみられないが、室温下では高濃度区(10⁻³~0モル)ほど胚の伸長が促進される。ただし、その促進効果から期待されるほど、発芽率は高くないと思われる。4県5地区の農家から入手した埋蔵中の種子及び土の水分含量は高くなるほど、種子胚の発育が進み、大きくなる。

4県7地区より入手し、6~12月の約6カ月間5℃に置いて後熟が完了したと思われる種子を、5~25℃の恒温条件下に置いた場合の最終発芽率は低温区ほど高くなる。しかし10℃以下の区では発芽までの期間の短いAグループと長いBグループの2群に分かれ、このBグループの種子は発芽試験直前の高温によって二次休眠に入ったものと思われる。15℃以上の区ではAグループのみが発芽し、Bグループは発芽しえない。Aグループのみで比較すると15℃区が発芽率及び発芽速度が最高である。

以上の諸事実より、オウレン種子が低温でよく発芽するのは、休眠覚醒に有効に作用したためであり、発芽適温としては15℃が考えられる。またジベレリンは低温の効果を代替し得るが、休眠初期段階での処理は発芽には余り有効でない。したがって、オウレン種子の休眠は、(1)未熟胚あるいはその生長過程期及び(2)成熟胚の生理的休眠期の2段階に分けて考えるのが好都合と思われる。

引 用 文 献

- 1) 林喜三郎・小淵伸司, オウレンの開花及び結実経過ならびに埋蔵中の種子胚の動態, 高知大学学研報, 32(農学), 23-30(1984)。
- 2) 高橋隆平・小河原公司, 薬用植物オウレンの種子の発芽研究, 日作紀, 49, 323-329(1980)。
- 3) 伊東祐道, オウレン種子の保生管理および発芽(I), 第34回日林関西支部講演要旨, 319-322(1983)。
- 4) 崔 京求; 高橋成人, 薬用人参種子の発芽特性に関する研究(I), 東北大農学研, 28, 145-157(1977)。
- 5) 崔 京求; 高橋成人, 薬用人参種子の発芽特性に関する研究(II) 東北大農学研, 28, 159-170(1977)。

(昭和59年9月28日受理)

(昭和59年12月10日発行)

