

中国半乾燥地に生育する臭柏(*Sabina vulgaris* Ant.)種子の発芽と吸水特性

田中(小田)あゆみ(東大院新領域)・田中憲蔵(森林総研)・福田健二(東大院新領域)

要旨: 中国半乾燥地に生育するヒノキ科の常緑針葉樹・臭柏(*Sabina vulgaris* Ant.)は、耐乾性に優れ、植林樹種として有用であるが、種子の発芽率は数%と非常に低い実生苗の生産が難しい。種子の発芽率を高めるためには、硫酸による前処理が有効であることが分かっているが、なぜ硫酸処理が有効なのかその要因は不明であった。本研究では、5つの前処理(低温処理、温水処理、傷つけ処理、硫酸処理、無処理)を施した種子の吸水特性を比較し、発芽率との関係を考察した。硫酸処理では約60%の種子が発芽したが、それ以外の処理ではほとんど発芽は見られなかった。硫酸処理を行った種子は他の処理を行った種子に比べて吸水率が最も高かった。硫酸処理以外の処理を行った種子に対して、吸水実験後に硫酸処理を行い吸水させたところ、再び大きく吸水した。また硫酸処理後の種子の吸水は、種皮内部にある胚珠で起こることも分かった。以上から、硫酸処理をおこなうことで種皮が破壊され、内部の胚珠の吸水が迅速に起こることで休眠が打破され発芽すると考えられた。

キーワード: 発芽率, 硫酸処理, 吸水率, 前処理, 臭柏

Abstract: Germination of plants is important not only for understanding natural regeneration processes but also for developing seedling production techniques for planting. *Sabina vulgaris* is a common species used for reforestation in semi-arid areas of Mu-U's Desert, Inner Mongolia, China, but its extremely low germination rate, both in situ and in vivo, is a bottleneck for seedling production. To improve germination rate of *S. vulgaris*, we tested five pretreatment (control, pre-chilling, hot water, scarification, and sulfuric acid). Sulfuric acid pretreatment was only improved germination, and the water absorption rate (WAR) also the highest among pretreatment. In addition, WAR was positively correlated with soaking time to sulfuric acid. Only sulfuric acid treatment improved water absorption by the embryo and there are many creating cracks and cavities in the seed coat according to the electron microscope observation. These results indicated that *S. vulgaris* seeds have physical dormancy caused by their hard seed coat, which prevents absorption of water by the embryo. A combination of pretreatment with sulfuric acid was the most effective way of improving germination rate of *S. vulgaris* seeds.

Key words: germination, sulfuric acid treatment, water absorption rate, pretreatment, *S. vulgaris*

I はじめに

樹木種子の多くは最適な発芽・定着条件を得るため、種ごとに複雑な休眠特性を発達させている(1, 2, 5)。半乾燥地など、強い環境ストレス下に生育する樹木の多くは複雑な休眠特性を持ち、発芽率が著しく低いことも多く(1, 2)、休眠打破条件を明らかにすることは、その生態的特徴を知る上でも重要である。

休眠の種類には、物理的休眠(硬い種皮など)、化学的休眠、生理的休眠などが知られている(5)。中でも、不透水性の種皮を持つ物理的休眠は、最も単純で効果的に発芽を遅らせることのできる方法と考えられている(5, 9)。その場合、人為的な休眠打破には物理的な傷つけ処理や硫酸浸漬などの化学的処理が必要であり、これらの技術開発は、人工造林や育苗を行なう際の発芽率向上のための重要な知見となる。

中国北西部の毛烏素沙地では、植生後退と砂漠化が深刻化しており(16)、砂漠化を食い止めるための造林活動が盛んである。ポプラやヤナギなどの早生樹種による植林は、地下水位の低下など更なる環境悪化を引き起こす

可能性がある(7)。一方、成長は遅いがこのような問題の起こりにくい郷土樹種を用いた植林が注目されており、現地に自生する低木種の中でも耐乾性の高い常緑針葉樹・臭柏(*Sabina vulgaris* Ant.)が期待されている(13, 17)。しかし、臭柏の発芽率は極めて低いため、植林に用いられる苗木のほとんどが挿し木由来で、遺伝的多様性の低下や病害虫の発生が懸念されている(11, 17)。臭柏種子の適切な発芽条件を解明し、効率的な実生苗を育苗する技術開発が求められている。

植物種子の多くは発芽に十分な吸水を必要とする。臭柏種子の発芽率は低温湿層処理や温水処理などのいくつかの前処理を行った後でも約2-25%と低いが(14, 15, 18, 19)、最近の報告では、90分以上の硫酸浸漬処理により発芽率が60%程度に高まることが分かっているが(12)、なぜ硫酸処理で発芽率が向上するのか具体的な要因は不明なままであった。種子の発芽には、種子の吸水が関係している可能性が高いため、本研究では、硫酸処理を含めた5種類の前処理による吸水特性を調べ、発芽との関係を明らかにすることを目的とした。

II 材料と方法

1. 種子材料 試験には2005年11月から2006年1月の間に中国陝西省榆林市近郊で採取された種子を用いた。種子は球果採取後に果肉状の果鱗を取り除き、樹脂を中性洗剤などでよく洗い流した後、自然乾燥させ、綿袋に入れ暗所に保存したものをを用いた。種子は試験まで約20°Cの室内に3ヶ月保存した。種子の1000粒重は17.245gであった。充実種子の精選方法として比重選抜を行った(12)。

2. 発芽試験 発芽率を高める前処理法を検討するため、①低温処理(-18°Cで1週間処理)、②温水処理(80°C以上の水500mlで5分間処理後、室温(20度)まで放置)、③傷つけ処理(川砂と種子を乳鉢にいれ、乳棒で約10分間傷つけ処理)、④硫酸処理(97%濃硫酸にそれぞれ30、60、90、120分浸漬)、⑤無処理の5つを行った。前処理後は直径9cmのプラスチックシャーレにイオン交換水で湿らせた脱脂綿を置き、100粒ずつ4反復を播種し、インキュベーター内で25度に保持した。種皮を突き破って発根もしくは発芽が確認できた種子を発芽種子として数えた。5日ごとに発芽種子数を調査し、ほぼ発芽が見られなくなった40日目の時点で発芽率を算出した。発芽率は以下の式により求めた。

$$\text{発芽率 (GR)} = \frac{\text{発芽した種子の数}}{\text{全ての種子の数}} \times 100$$

未発芽の種子について、胚珠の有無とその生存をテトラゾリウム法で確認した(6)。

3. 種子の吸水曲線と吸水率 前処理による吸水速度の違いを明らかにするため、各前処理についてそれぞれ種子20粒を用意し、播種後5時間までの重量変化から吸水曲線を作成した。また、播種前と播種後24時間後の重量変化から吸水率を調べた。吸水率は以下の式により求めた(4)。

$$\text{吸水率(\%)} = \frac{W_i - W_d}{W_d} \times 100 (\%)$$

このとき、 W_i と W_d は吸水させる前とさせた後の重量である。

さらに、硫酸処理以外の前処理について、前処理を行った種子をそれぞれ5時間以上吸水させた後、さらに硫酸処理を90分おこなって2度目の吸水曲線を作成した。

4. 含水率測定 吸水部位を特定するため、吸水前と5時間吸水させた種子をそれぞれ10粒ずつ用意し、種皮と胚珠の含水率を調べた。種子をカッターで割って薄皮と共に胚珠を取り出し、種皮と分けて生重量を測定した。その後、真空乾燥機で24時間乾燥させ、乾重量を測定後、吸水率と同様に含水率を求めた。

5. 統計解析 統計解析は、各処理区間での発芽率と最終的な吸水率について、1元配置の分散分析(ANOVA)を行った。有意差の検定はTukey's testを用いた。発芽率の検定はアークサイン変換をした後に行った。全ての解析はSPSS ver. 11.5 for Windows (SPSS Japan Inc., Tokyo, Japan) を用いた。

III 結果と考察

1. 前処理法と発芽率の関係 発芽率は硫酸処理を行った種子でのみ高い値を示した(図-1)。硫酸処理を行った種子の発芽率は56%で、これは播種前に調べた活性を有する胚珠を持つ種子の割合(60.7%)とほぼ一致したことから、生存種子のほとんどが発芽したものと考えられた。傷つけ処理でもごくわずかだが発芽した。

一方、温水処理では胚珠が活性を持つ種子の割合が低下しており、処理により一部の種子が死亡したと考えられた。その他の処理では発芽が見られなかったが、胚珠が活性を持つ種子の割合は低下していなかった(30-57%, データ未表示)。

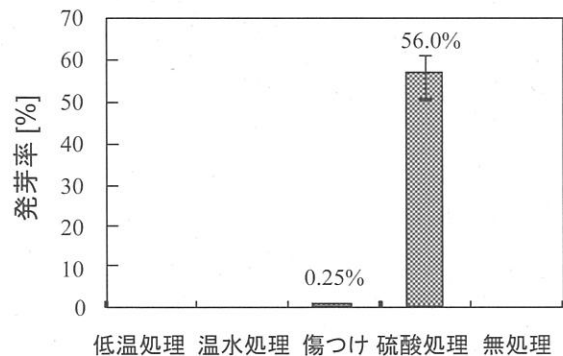


図-1 前処理ごとの発芽率

Figure-1 Germination rate among pretreatment (Mean±SE).

2. 前処理法と吸水曲線の関係 前処理によって吸水曲線が異なり、硫酸処理で最も早かった(図-2)。硫酸処理種子は無処理の種子に比べて有意に吸水率が高く、また処理時間が長い種子ほど吸水速度が速くなった(t-test, $P < 0.05$)。温水処理では吸水速度が最も低くなった。最終的な吸水率も硫酸処理で最も高く、温水処理で低くなった(図-3)。

また、硫酸処理以外の処理後に5時間吸水させた種子について、新たに90分間の硫酸処理を施すと、再び急速な吸水が観察された(図-4)。

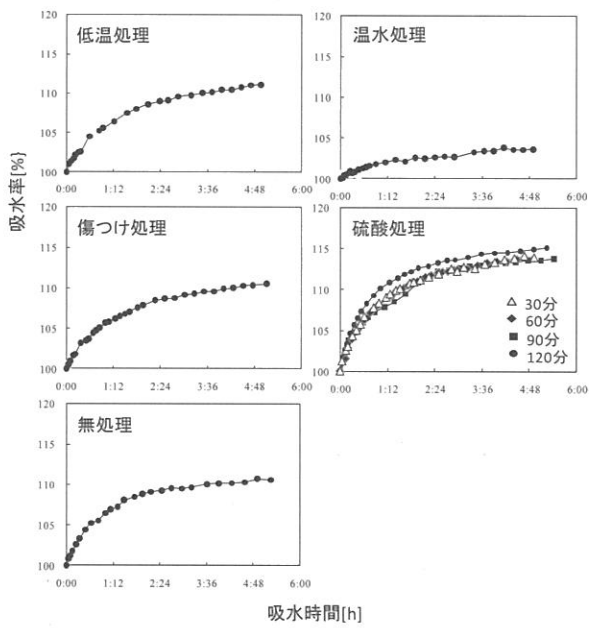


図-2. 前処理区間での吸水曲線

Fig-2. Seed water absorption rate among pretreatment.

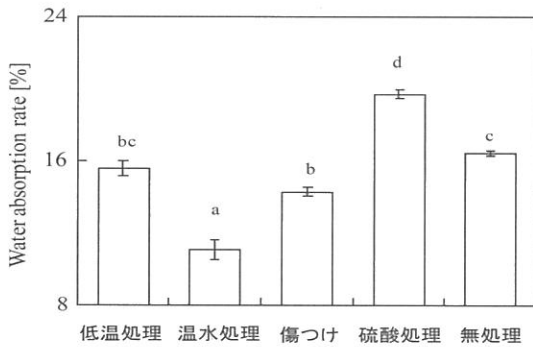


図-3. 最終的な前処理区間での吸水率

Fig-3. Final seed water absorption rate among pretreatment (Mean±SE). Different letters denote significant differences (ANOVA, $P < 0.05$).

3. 胚珠と種皮の含水率の変化 種皮の含水率は吸水の前後で各処理5%程度の違いしか見られなかったが、胚珠の含水率の変化は硫酸処理後が無処理の20%以上と最も高く、硫酸処理により胚珠で吸水が起こっていることが分かった(図-5)。多くの種子で休眠を打破するには胚が吸水を行なう必要があることが知られており(1, 5), 臭柏においても硫酸処理が胚の吸水及び休眠打破に効果的な処理法であると考えられた。また、硫酸処理後の種子の表面を電子顕微鏡で観察したところ、硬い種皮に多くの割れ目が出ていたことが観察されていることから(12), これらの割れ目から胚珠の吸水が起き、発芽率が高まったと考えられた。

一方で低温処理・熱処理・傷つけ処理は臭柏の発芽率にほとんど影響を与えなかった。Wesche et al. (2005)は、臭柏種子に傷つけ処理を行い2%の発芽率を得たと報告している。今回の調査でも、傷つけ処理ではわずかながら発芽(0.25%)が見られたが、川砂による物理的処理では硬い種皮に傷をつけるのは困難であり、硫酸処理が最も効果的な処理であると考えられた。

硫酸処理による発芽は、種子が動物や鳥などに食べられ腸内で胃酸により吸水が容易になり、発芽を促進する過程と似ている(10, 3)。一般に、*Juniperus*属は鳥散布による種が多く、他にもヒツジ、ヤギ、ウサギなどが採食する(3)。現在、臭柏種子の採食者は不明であるが、今後、採食者が分かれば、自然環境下での種子の発芽条件や散布、更新特性を明らかに出来ると考えられた。

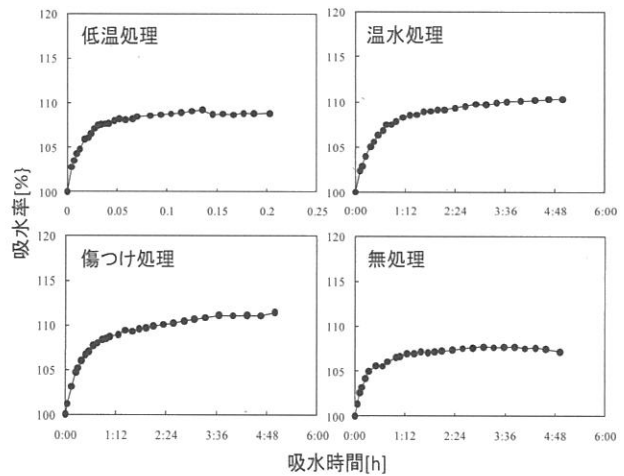


図-4. 前処理後の硫酸処理による再吸水率の変化

Fig-2. Re-water absorption rate among different pretreatment after sulfuric acid treatment.

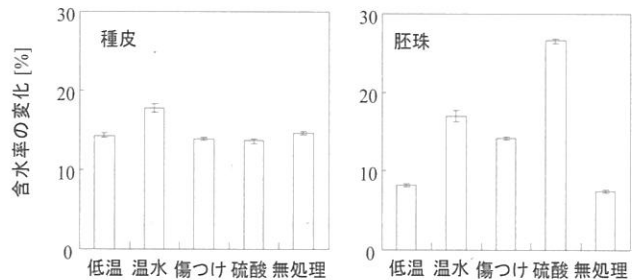


図-5. 吸水前後での種皮と胚珠の含水率の変化

Fig-5. Changes on water content ratio before-and-after water absorption in seed coat and embryo (Mean±SE).

IV. おわりに

以上の結果から、硫酸処理により臭柏種子の硬い種皮が破壊され、そこから胚珠の吸水が起こり、休眠が打破され発芽すると考えられた。臭柏種子の発芽率を高めるには、まず、水による充実種子の比重選抜を行い、その後、強力な酸などによる種皮の破壊による胚珠の吸水が有効であると考えられた。

引用文献

- (1) BASKIN CC, BASKIN JM (2001) Seeds. Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination. Academic Press, San Diego.
- (2) BEWLEY JD, BLACK M (1994) Seeds. Physiology of development and germination. 2nd Ed. Plenum Press, New York.
- (3) CHAMBERS JC, WALL SBV, SCHUPP EW (1999) Seed and seedling ecology of *Pifion* and *Juniper* species in the pygmy woodlands of Western North America. Bot. Rev. **65**: 1-38.
- (4) COOK A, TURNER SR, BASKIN JM, BASKIN CC, STEADMAN KJ, DIXON KW (2008) Occurrence of physical dormancy in seeds of Australian Sapindaceae: A survey of 14 species in nine genera. Ann. Bot. **101**: 1349-1362.
- (5) DERKX MPM (2000) Pre-treatment at controlled seed moisture content as an effective means to break dormancy in tree seeds. In: Dormancy in Plants. Eds. Viémont JD, Crabbé J, CAB Int. Wallingford, UK.
- (6) ISTA (1985) International rules for seed testing. Seed Sci Tech **13**: 299-513.
- (7) JACKSON RB, JOBBÁGY EG, AVISSAR R, ROY SB, BARRETT DJ, COOK CW, FARLEY KA, MAITRE DC, MCCARL BA, MURRAY BC (2005) Trading Water for Carbon with Biological Carbon Sequestration. Science **310**:1944-1947.
- (8) KHAN AA (1977) The physiology and biochemistry of seed dormancy and germination. Elsevier. North-Holland Biomedical Press, New York.
- (9) MARUYAMA E, UGAMOTO M (1989) Treatments for promoting germination of *Parkia oppositifolia* BENTH and *Schizolobium amazonicum* HUBER seeds. J. Jpn. For. Soc. **71**: 209-211.
- (10) NICHOLAS W (1983) Germination of pretreated seed of Mesquite (*Prosopis chilensis*) under arid conditions in northern Sudan. For. Ecol. Manage. **5**: 307-312.
- (11) SU SP, LI LX (1987) The biological and ecological characteristics of *Sabina vulgaris*. J. NW College For. **2**: 29-40.
- (12) TANAKA-ODA A., KENZO T, FUKUDA K. (2009) Optimal germination condition by sulfuric acid pretreatment to improve seed germination of *Sabina vulgaris* Ant. J. For. Res. **14**: 251-256.
- (13) 田中憲蔵・小田あゆみ・増田寛子・二宮生夫・王林和・吉川賢 (2006) 中国内蒙古自治区に生育する臭柏(*Sabina vulgaris* Ant.)の個体サイズにともなう光合成能力と葉の特性の変化, 日緑工誌, **30**: 657-671.
- (14) 徳岡正三 (1989a) 内蒙古の毛烏素沙地に分布する叉子円柏(*Sabina vulgaris*)の増殖について. 京都府大演報 **33**: 7-11.
- (15) WANG XY, ZHANG JP, SU SP, YANGJP, LI LX (2007) Main techniques for raising sexual propagation of *Sabina vulgaris*. Protect. For. Sci.Tech. **6**: 4-6.
- (16) 王林和, 三木直子, 李玉靈, 楊靈麗, 吉川賢 (2008) 中国の砂漠化防止に関する歴史および現在. 日緑工誌 **33**: 554-560.
- (17) 温国勝, 王林和, 吉川賢 (2002) 中国半乾燥地に生育する臭柏(*Sabina vulgaris* Ant.)の生理的特性と生態的特性. 日緑工誌 **27**: 526-537.
- (18) WESCHE K, RONNENBERG K, HENSEN I (2005) Lack of sexual reproduction within mountain steppe populations of the clonal shrub *Juniperus sabina* L. in semi-arid southern Mongolia. J. Arid Environ. **63**: 390-405.
- (19) ZHANG GS, DONG Z, WANG LH (1997) The research review of the bioecology characteristics and the growth reproduction of *Sabina vulgaris*. J Neimenggu For. College **19**: 69-75.