

宮崎県固有種キバナノホトトギス (*Tricyrtis flava*) 種子の 暗黒処理による二次休眠誘導と その解除における冷湿処理の効果

松田(黒木)亜紀*, ハツ橋寛子

**Dark Incubation-induced Secondary Dormancy and Effects of Cold Stratification
on Its Breaking in Seeds of *Tricyrtis flava* Endemic Species in Miyazaki Prefecture**

Aki KUROKI-MATSUDA* and Hiroko YATSUHASHI

要 旨

宮崎県固有種キバナノホトトギス (*Tricyrtis flava* Maxim.) 種子は、登熟直後は光発芽性であり、15~25℃赤色光下で発芽するが、吸水状態で長期間15~35℃の暗黒中におくと二次休眠が誘導され、発芽に適切な環境下 (25℃, 赤色光下) に移しても発芽しにくくなった。暗黒処理は、温度が高く期間が長いほど、休眠誘導効果が高かった。休眠種子に35日間の冷湿処理 (4.5℃, 暗黒) を行ったところ、25℃においたものでは二次休眠がほぼ解除されたが、35℃においたものではまったく解除されなかった。このような発芽特性は、自然条件下で晩秋~初冬に登熟した種子が、適当な光の当たらない状態で夏を越した場合、翌冬の寒さを経験して初めて発芽できることを示唆しており、秋に発芽して幼い芽ばえが冬に枯死することを防いでいると考えられる。

緒 言

キバナノホトトギス (*Tricyrtis flava*) は、林縁に生育するユリ科ホトトギス属の夏緑性多年草で、宮崎県の固有種であり、環境省版レッドデータブック (2000) およびレッドリスト (2012) では絶滅危惧Ⅱ類とされている。我々は、この種子の基本的な生理学的性質を明らかにする目的で研究を行い、すでにフィトクロムの制御する光発芽性であることを報告した (ハツ橋と宮田, 2009)。一方、宮崎市内の自生地で数年にわたり、その生活史を観察した (ハツ橋と村岡, 2012)。今回の研究で、キバナノホトトギス種子は、暗黒中に長期間おかれると、光照射下に移しても発芽しにくくなることがわかった。これは二次休眠状態に入ったためと考えられる。本論文では、二次休眠が誘導される条件と、その解除に対する冷湿処理の効果を調べ、また、これらの結果に基づいて、キバナノホトトギスの生活史における休眠の意義について考察した。

*宮崎県立都城泉ヶ丘高等学校

方 法

1 植物材料

キバナノホトトギス (*Tricyrtis flava*) 種子は、2006年12月13日に加江田溪谷(宮崎市鏡洲)において採取した(ハツ橋と宮田, 2009)。採取後、超冷凍庫(-80℃, MDF-192, 三洋電機, 東京)で保存し、2008年10月22日に冷蔵庫(National, NR-C372M-SH, 4.5±1.5℃)に移した。実験に用いる種子は、その都度、吸湿を避けるために、播種の1時間前に冷蔵庫から室温のデシケーター内に移した。実験は、2009年3月までに行った。

2 播種

濾紙(No.6, アドバンテック, 東京)を二重に敷いた直径9 cmのガラス, または, プラスチックシャーレに純水(Elix-UV3, 日本ミリポア株式会社, 東京, による)を4 ml加えたものに100粒の種子を播いた。すべての実験は2シャーレずつ行ったが, データは1シャーレ分のみ示したのももある。播種後は, 乾燥を防ぐためにシャーレにプラスチックラップを一重に播いた。暗黒処理の場合は, 播種直後にシャーレにアルミホイルを二重に巻いて, 光が当たらないようにした。実験の途中でシャーレの水が不足した場合は, 播種時の量とほぼ同等になるまで純水を追加した。

3 暗黒処理, 発芽および冷湿処理

暗黒処理は, インキュベータ(MIR151, 三洋電機, 東京)内で, 15.0±0.8℃, 25.0±0.6℃, または35.0±0.5℃(以降それぞれ15℃, 25℃, 35℃と表記する)の温度で行った。

発芽実験は同型のインキュベータ内で, 25℃の赤色光連続照射下で行った。赤色光光源は赤色蛍光灯(ハイライトS FL20S・R-F純赤色20W, 松下電器産業株式会社, 東京)で光強度は3.4 W m⁻²であった。ただし, 図1では, 15℃および35℃の暗黒条件および赤色光連続照射下でも発芽実験を行った。発芽の経過観察は, 暗室内の緑色安全光のもとで行い, 最終発芽率の観察は, 通常の室内で行った。緑色安全光は, 昼白色蛍光灯(サンラインFL10D-G, 10W, 日立株式会社, 東京)にプラスチックフィルム(リュテートNo.63およびNo.31, 龍電社, 現東芝ライテック株式会社, 東京)を巻いたものを1灯使用した。幼根が種皮から突出した場合を発芽と判断した。

冷湿処理は, アルミホイルを二重に巻いたシャーレを上記冷蔵庫に入れて行った。

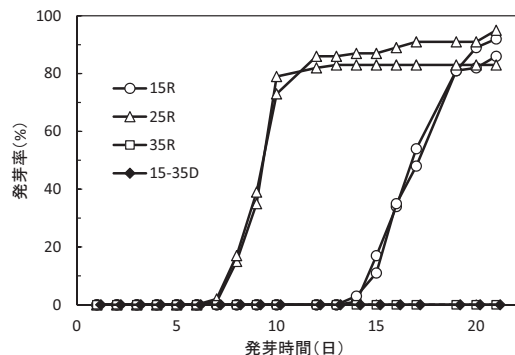


図1 異なる温度および光条件下におけるキバナノホトトギス種子発芽の時間的経過

種子は15, 25, 35℃の赤色光下(それぞれ15R, 25R, 35R)および暗黒中(15-35D)においた。暗黒中ではいずれの温度でも発芽が起こらなかった。各処理2シャーレ(各100粒)を継続して観察した。

結 果

1 キバナノホトトギス種子発芽に対する 温度と光の影響

キバナノホトトギス種子は、15~25℃では光発芽性で、暗黒中では全く発芽しなかったが、赤色光照射下では80%以上発芽した。この結果は、ハツ橋と宮田 (2009) の報告と一致した。しかし、35℃では暗黒中、赤色光下ともに全く発芽しなかった(図1)。

2 二次休眠の誘導

15~35℃暗黒中に一定期間おかれた種子を発芽条件(25℃, 赤色光下)に移すと、暗黒の期間が長くなるに従って、最終発芽率が低下することがわかった(図2, 3)。発芽の開始時期は、35℃以外では、ほとんど変わらなかった(図2)。暗黒期間がない場合の発芽率はおよそ80%であったが、暗黒期間が30日では15℃でおよそ23%, 25℃で15%, 30℃で0%に低下した(図3)。これらの未発芽種子は、二次休眠状態に入ったと考えられる。

3 二次休眠種子に対する冷湿処理の効果

吸水させた種子を一定期間低温におくことを冷湿処理(cold stratification)といい、温帯の多くの春季発芽性植物の種子休眠解除に有効であることが知られている(Baskin & Baskin, 2009など)。そこで、25℃および35℃暗黒に25日間おいた種子に様々な期間冷湿処理を行い、休眠が解除されるかどうかを調べた。25℃で暗黒処理を行った種子は、冷湿処理期間が6日以上で発芽率が上昇した(図4, 5)。35日の冷湿処理では、暗黒処理なし(図1)に近い発芽率になり、休眠はほぼ完全に解除された。6日以上冷湿処理を行った場合、発芽の開始は、冷湿処理なしに比べ1~2日、暗黒処

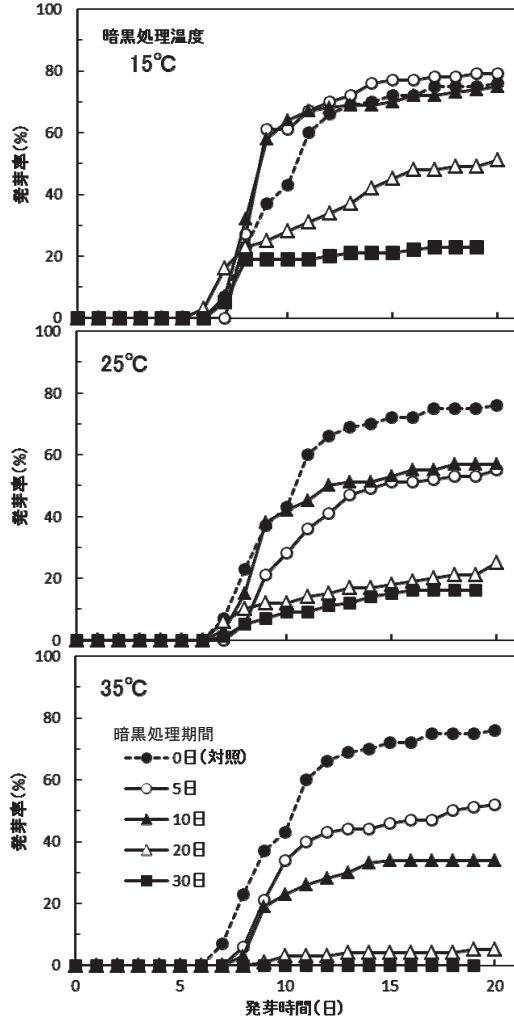


図2 暗黒処理後の発芽の時間的経過

図に示した温度と日数で暗黒処理を行った後、25℃赤色光下に移し、発芽を継続して観察した。横軸は、25℃赤色光下に移してからの日数。各記号は、1シャーレ100粒の値。0日は暗黒処理なしの対照を示す。

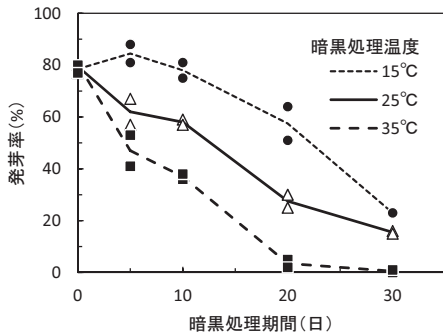


図3 15~35°Cにおける暗黒処理の期間と発芽率

図中に示した温度の暗黒中に横軸の日数おいた種子を、25°C赤色光下に移して20日後の発芽率。1つの点は、1シャーレ100粒の値。図2の値などから作図。

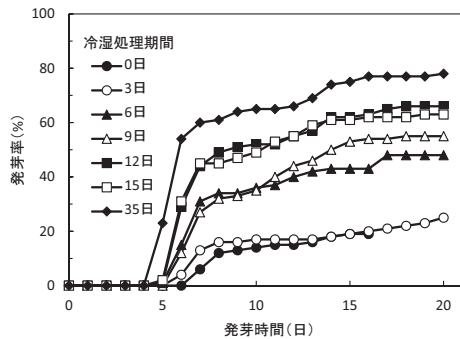


図4 暗黒処理後、様々な期間冷湿処理を行った種子の25°C赤色光下における発芽の時間的経過

25°C暗黒中に25日間おいた種子に、様々な期間冷湿処理を行い、25°C赤色光下に移した。各処理1シャーレ100粒の値。

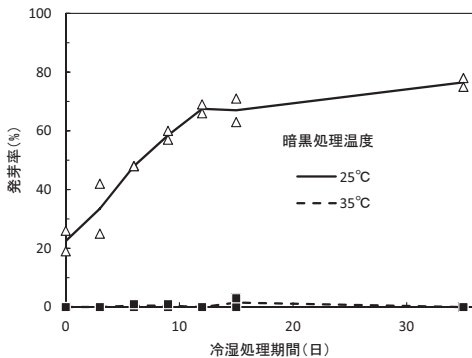


図5 暗黒処理後の種子の発芽に対する冷湿処理の効果

25°Cまたは35°C暗黒中に25日間おいた種子に、横軸に示した期間冷湿処理を行った後、25°C赤色光下に移して20日後の発芽率。1点は1シャーレ100粒の結果。図4の値などから作図。

理なしに比べ2~3日早くなった(図4)。しかし、35°Cで暗黒処理を行った種子は、35日の冷湿処理後も、発芽は起こらず、休眠が継続しているとみられた(図5)。

考 察

八ツ橋と宮田(2009)と今回の研究で得られたキバナノホトトギス種子の発芽特性および宮崎市における生活史(八ツ橋と村岡, 2012)から、自然条件下での発芽と休眠について以下に考察する。キバナノホトトギス種子は、12月頃登熟するが、直後は光発芽性であり、太陽の直達光が当たる場所に散布され、気温が適当であれば発芽できる状態にある。しかし、光が全く当たらない、あるいは遠赤色光の比率の高い葉の透過光のみが当たる状態では、春に適温になっても発芽しない。未発芽のまま埋土種子集団をつくった種子が一旦夏の高温を経験すると、二次休眠状態に入って、秋に落葉や草本の枯死、または土壌のかく乱によって光が当たるようになって発芽せず、次の冬を経験することによってはじめて発芽できるようになると考えられる。ただし、夏に35°Cのような高温が長期間続くと、冬の低温による休眠解除は難しくなる可能性が示唆された。実際にはこのように高温が続くことはないが、今後夏の気温の上昇や高温の長期間化が起こると、発芽しない種子が増加することが考えられる。また、夏に高温になると、光が当たっても発芽は抑制される。今回の実験条件は自然界の複雑な環境条件をシミュレートするものではないが、キバナノホトトギスにおけるこのような種子の休眠性は、秋に発芽し冬の低温で幼い芽ばえが枯死することを防いでいるとともに、盛夏における発芽も抑制していると考えられる。

引用文献

- C. C. Baskin & J. M. Baskin (2009) 種子休眠のタイプと区分, 種生物学会 (編) 発芽生物学 種子発芽の生理・生態・分子機構, p.11-45, 文一総合出版
- 環境庁編 (2000) 改定・日本の絶滅のおそれのある野生生物 植物 I (維管束植物), 財団法人 自然環境研究センター
- 環境省 (2012) 第4次レッドリスト 植物 I (維管束植物), <http://www.env.go.jp/press/press.php?serial=15619>
- 八ッ橋寛子, 宮田真理子 (2008) 光および温度によるキバナノホトトギス (*Tricyrtis flava*) 種子発芽の制御, 宮崎大学教育文化学部紀要 (自然科学) 21号: 21-28
- 八ッ橋寛子, 村岡嗣文 (2012) 加江田溪谷 (宮崎市) における宮崎県固有種キバナノホトトギス (*Tricyrtis flava*) の生活史および個体数の変動, 宮崎大学教育文化学部紀要 (自然科学) 25-26号: 47-54