

ヤチダモのタネの発芽遅延についての研究

(第7報)

発芽にみられた温週的傾向*

浅川 澄彦⁽¹⁾

石川⁽¹⁰⁾らや BLACK & WAREING⁽⁹⁾は、いくつかの樹種のタネの発芽に、光週的傾向がみとめられることをあきらかにしたが、筆者は、クミアワセ湿層処理によつて休眠をやぶられたヤチダモのタネが、発芽温度についてこれとよく似た週期的傾向をしめすことにきがついた。もつとも発芽と温度との関係について、いろいろな種類のタネの発芽に、変温がいちじるしい効果をしめすことが知られており⁽¹⁶⁾⁽⁹⁾⁽¹²⁾、ヤチダモのタネもこういう一群のなかのいちじるしい例とかんがえることができる。しかし WENT⁽¹⁴⁾は、夜間の温度をさげるることによつて、伸長成長や結実、根の成長などがいちじるしく増大する現象を温週性 (Thermoperiodicity) とよんでいるから、この報告にのべる実験結果をもとにすれば、発芽と変温のあいだの関係を、温週性という概念で一般化することができるとかんがえる。そしてこのことは、石川らが発芽と光との関係を光週性という概念で一般化したこととくらべることができる。

1. 材料と方法

タネ: ヤチダモのタネは、第6報⁽⁴⁾の実験にもちいたものとおなじである。〔北〕および〔南〕はオヤ木を、また、I (1955年8月25日)、II₁ (9月10日)、III (9月30日)、およびIV (10月20日)はそれぞれトリレ時期をしめしている。また II₂と II₃は、II₁のタネをとりいれてからそれぞれ3カ月および6カ月してから湿層処理したものである。

湿層処理: これまでとまったくおなじ方法でおこない、処理条件のあらわしかたは第6報にしたがう。

発芽試験: 第6報とまったくおなじ方法でおこなつた。ただ、変温区のペトリー皿を一つの温度からほかの温度にうつす場合、光条件をかえるときのように不連続にはかわらない。それで、ここでもちいる温度について、温度条件をかえたときの温度変化をしらべた。Fig. 1はその結果をしめしている。この図からわかるように、うつされた温度にたつするまでにはかなりの時間を必要とする。それでこの実験では、25°Cから8°Cにうつす場合、まず2°Cに30分おいて——このあいだにおよそ10°Cまでさがる——から、のこりの時間を8°Cにおいた。なお発芽温度のあらわしかたのうち、m~n°Cというのは、m°Cに8時間、n°Cに16時間おく普通の変温をしめしている。

2. 実験結果

(1) 発芽にみられた温週的傾向

ヤチダモのタネが、発芽にあたつてきわめてかわつた温度要求をしめすことを、第5報⁽³⁾にのべた。そ

* 一部は日林誌 38, 7. (1956) p. 269~272 に報告した。

(1) 造林部造林科種子研究室員

しておなじ変温条件でも、くみあわせる温度によつてちがう結果をあたえること、およびそれぞれの温度におかれる時間によつてちがう結果をあたえることがわかつた。後者の事實は、変温の週期をいろいろにかえて実験をこころみる必要があることをしめした。ここでは 25°C と 8°C とをもちいて、いろいろな週期で発芽試験をおこなつた。

(i) 24時間の週期のなかで 8°C におく時間をかえた場合の発芽への影響：果皮をとりのぞいてから 25°C(3)–2°C(2) で湿層処理した III のタネについての実験結果を、Fig. 2 にしめす。(I) にしめすような発芽経過から、温過的傾向を理解しやすいように (II) をつくつた。おなじく III の果皮をつけたまま湿層処理したタネについての結果を Table 1 にしめし、果皮をとりのぞいてから 25°C(3)–2°C(3) で湿層処理した II₂ のタネについては、温過曲線だけを Fig. 3 にしめす。

Fig. 2 にしめされる〔北〕と〔南〕の結果は、ほとんどおなじ傾向をしめしている。8°C におかれる時間がみじかくなるにつれて、はやく発芽ははじめるけれども、しだいに阻害過程³⁾ があらわれるらしい。発芽温度にたいするタネの反応のシカタを説明するために、タネのなかの状態の変化について一つの仮説を第5報³⁾ にしめしたが、このカンガエカタにしたがえば、Fig. 2 の結果はつぎのようにかんがえることができる。すなわち、“温度に影響されない状態”のちかくまで後熟がすすんでいるタネは、たかい温度 (25°C) にながくおかれたほうがすみやかに発芽するが、まだ“温度に鋭敏な状態”にあるタネは、25°C(4時間)~8°C(20時間) のような週期におかれないと発芽するにいたらない。ずつと 8°C におかれるときはゆつくり発芽をつづけるが、一部分は発芽するにいたらない。この場合に発芽にいたらないのも、“温度に鋭敏な状態”にあるタネだとかんがえる。Table 1 も Fig. 3 も、それぞれこれらのうちの一部分を理解するのにやくだつものとおもう。

Fig. 3 にしめされる〔北〕と〔南〕の結果はいちじるしくことなるが、第6報⁴⁾ にしめしたように、果皮をとりのぞいて湿層処理した II₁ の〔南〕のタネは、発芽促進の効果がきわめてわかつたためである。

いずれにしても、これらの図および表から、ヤチダモのタネの発芽にあきらかに温過的傾向をみいだすことができる。

(ii) 週期をいろいろにかえた場合の発芽への影響：発芽の光週反応においては、暗黒期のナガサが重要なヤクワリをはたしているとかんがえられている⁶⁾。そこで、高温期と低温期のナガサをいろいろにかえた週期のもとで発芽経過をしらべた。Table 2 は、これらの結果をとりまとめたものである。

この表から、温過反応の場合にも高温期のナガサが重要な意味をもっていることがわかるが、低温期間
高温期間の比がおおきいときには、高温期間をながくした場合の影響はそれほどいちじるしくない。いずれにしても、ここでもちいた程度の湿層処理期間をとる場合には、うえの比が2~5になるような24時間の週期で発芽させるのがもつともよい。

高温期間の中間にみじかい低温期をさしはさむことによる影響は、光の場合⁶⁾ のようにはつきりあらわれていないが、あることはたしかである。

(2) 後熟にともなう温感性の変化

湿層処理の期間をながくしたり、処理しているあいだの温度条件のクミアワセをかえると、発芽のときの温度要求がことなることを、第5報³⁾ Fig. 10 (p. 77) にしめした。すなわち、ヤチダモのタネの温過的傾向は、後熟がすすむにつれてかわるものである。発芽の光週曲線もまた、後熟の程度によつてことな

ることがしられており¹⁰⁾、アカマツ・クロマツのタネについても、前処理によつて後熟をすすめると、温度や光による影響がかわり、しかもこの場合には、これら3つの因子のあいだになにか関係がありそうにおもわれた⁵⁾。したがつて、温週反応のシクミをあきらかにするイトグチの一つは、後熟との関係をつきとめることにあるとかがえる。筆者が第5報³⁾でしめた、タネのなかの状態の変化についての仮説は、この問題をほりさげるための一つの作業仮説であるが、ここでその内容をいくらかおぎなう必要がある。

ヤチダモのタネの場合、湿層処理のある期間によつてはじめてあらわれる“温度に鋭敏な状態”は、発芽のために特別な温週期を必要とする段階であり、高温だけで発芽への過程をすすめないことはもちろんであるが、低温だけでも十分にすすむことはできない。ただ、前者の場合には阻害過程がすすむのに反して、後者の場合には阻害過程がつくられないという点でことなっている。ところで、後熟がすすむにつれて、だんだん“温度に影響されない状態”にうつるとのべたが、これは特別な温週期を必要としなくなるという意味であり、発芽への過程が、高温でも低温でもおなじようにすすむということは意味していない。こういう状態になつたタネは、高温でも低温でも発芽への過程をすすむことができるが、高温におかれるほうがずつとすみやかに発芽できるから、この意味では温度に影響されるといわなければならない。そこでこれらの2つの状態は、“温週反応をしめす時期”および“温週反応をしめさない時期”とよんだほうがよさそうである。

(3) 阻害過程におよぼす低温処理の効果

不利な発芽温度におかれたヤチダモのタネのなかに、可逆的な阻害過程がつくられること、およびこの阻害過程は、タネをふたたび2°Cにおくことによつてゆつくりきえさることを、第5報³⁾にのべた。この点をたしかめるためにおこなわれた実験の一部を、Table 3 にしめす。

この表をみると、うえにのべたような阻害過程は、15°Cでよりも25°Cでずつとすすむものであることがわかる。そしてこのことは、不利な温度条件におかれた場合にあらわれる発芽阻害が、積極的な阻害過程によつていることをしめしている。この表にしめた低温処理の効果は、第5報³⁾のTable 1 およびTable 2 にしめされているものよりもずつとおおきい。したがつて、このような阻害過程は、材料のチガイや、発芽条件におかれるまでのタネのリレキのチガイにもいちじるしく影響されるものとかんがえられる。

(4) 変温と呼吸との関係

まえがきにのべたように、温週反応は変温の効果にあずかるシクミであるとかんがえる。発芽にたいする変温の効果は、変温によつてガス交換がさかんになり、呼吸作用がさかんにされるためであるといわれている¹¹⁾から、この点をたしかめる実験をくわだてた。

50mlの三角フラスコに湿層処理された50コノタネをいれ、水道水を一杯にいれてゴム栓をした。これをペトリー皿による場合とおなじようにいろいろな温度条件におき、ある期間ののちにとりだして、普通の発芽床で発芽させた。水につけられていたあいだは、まったく発芽しなかつた。Table 4 は、これについての2回の実験結果をしめしている。

Table 4 (1) の2本のオヤ木のタネとも、ほとんどおなじ傾向をしめしている。すなわち、タネを水中におくことによつて有気呼吸をたち、この状態で3週間25~8°Cの変温条件においてから普通の発芽試験をおこなうと、発芽しはじめるのはおそいけれども、3週間の発芽率にはほとんどちがいがいがない。このことは、有気呼吸をたたれた3週間のあいだにも、変温におかれることによつて積極的な阻害過程がつく

られなかつたことをしめしている。したがつて、好氣的な状態で 25°C にたもつた場合——こういう条件では 3 週間のあいだにあきらかに阻害過程がつくられる——とはあきらかにことなることがわかる。そしてこのことは、25°C にたもたれた場合の阻害過程が、直接に呼吸に関係してはいないことをしめしている。これを逆にいえば、変温の第一義的な効果を、呼吸がさかんにされることにもとめることはできない。

Table 4 (2) にしめされる結果は、このようなカンガエカタをさらにたしかめている。この実験では、有気呼吸をたつた条件で 25°C にたもつ区ももうけたが、好氣的条件で 25°C にたもつたときとくらべて、ずっと積極的な阻害過程がすすむらしく、発芽試験をおわるまでにおよそ 20% がくさつてしまつたばかりでなく、ふたたび 2°C においたときに阻害過程がきえさる程度はいちじるしくちいさい。2°C に 1 カ月おいてから 25~8°C で発芽させたところ、3 週間に 17.5% しか発芽しなかつた。そこでさらに 2°C に 3 カ月おいてから 25~8°C にうつしたが、なおのこりの 83.5% は発芽しなかつた。一方 25~8°C の変温条件をあたえておくと、2 カ月間有気呼吸をたたれても、そのあと好氣的条件にうつされたとき 23% まで発芽した。もつともこうながくると、やはりなにかべつ阻害過程がおこるものとみえ、発芽試験をおわるまでにおよそ 10% がくさり、ふたたび 2°C に 3 カ月おいてからも、のこりの 42.5% しか発芽しなかつた。

これらをとりまとめるとつぎのことがいえるとおもう。すなわち、力源代謝に無気呼吸様式をとつているときでも、変温は効果があり、一方 25°C にたもつとわるい影響があらわれる。しかもこのような阻害過程は、好氣的条件では可逆的であるが、嫌氣的条件のもとでは不可逆的なものにされるらしい。

(5) 2, 3 の化学物質が発芽におよぼす影響

ヤチダモのタネの物質代謝様式をあきらかにするために、つぎのような予備的な実験をおこなつた。力源代謝のクサリを重要な関門で特異的にたちきるのでしられている 4 種の阻害剤を、溶液にして発芽床にくわえた。Table 5 にしめす実験結果から、つぎのようなことがいえる。すなわち、アンカプレーとしてしられている 2,4-ジニトロフェノールが、M/10,000 で発芽阻害をひきおこすから、ヤチダモのタネの発芽過程においては、その力源のおもな部分をフォスフォリレーションにおうているとかがえることができる。また *p*-ニトロフェノールが阻害をしめさないで、青酸カリが阻害作用をしめすから、末端酸化酵素はおそらくチトクローム系であるだろう。

(6) 温週反応とコルク質膜のヤクワリ

ヤチダモのタネの発芽遅延において、コルク質膜があるヤクワリをはたしているらしいが、低温湿層処理によつて影響をあたえられるのは胚であり、こうして胚の成長力がたかめられた結果、コルク質膜をつきやぶつて発芽するにいたるといふカンガエカタをしめした³⁾。実際、この問題を実証するのはかなりむずかしいことであるが、とりあえず、発芽条件におかれてから発芽するまでのそとからみた変化と、湿層処理の 3 つの段階で、幼根をおおつている部分のコルク質膜と胚乳をとりのぞいたときの発芽結果をのべ、これらをもとにして、タネのなかのどの部分が温週反応にあずかっているのかをかんがえてみたい。

コルク質膜⁵⁾とよばれる組織は、かなり弾性にとんでいるらしい。クミアワセ湿層処理によつて休眠をやぶられたタネが、発芽するのによい条件におかれると、タネのなかで胚の成長がはじまる。前発芽¹⁾とよばれる時期の胚の成長は、子葉のついている方向におこなわれたのたいてい、この時期の胚の成長は、幼根の側におこなわれる。この胚の成長にもなつて、はじめのあいだはコルク質膜がのびるらしく、幼根をつつんだままつきでてくる。ひきつづいて成長反応がすすむと、幼根は一杯にのびつたコル

ク質膜をつきやぶつておもてにあらわれる。一方発芽のために不利な条件におかれた場合には、休眠が小さくなつていて、うえのようにはじめの胚の成長によつてコルク質膜をつきだしたのもでも、そのまま成長がとまつてしまふらしい。すなわち、こういう温度条件のもとでの胚の成長力は、コルク質膜の機械的なツヨサにうちかつことができなかつたものとおもわれる。この場合にも、コルク質膜の弾性の限界までは、ゆつくり肥大成長をつづけるようである。したがつて、温過反応が胚に影響をあたえたとすれば、伸長成長にたいしてであるとかんがえられる。

つぎに湿層処理の3つの段階でとりだしたタネを、幼根をおおつている部分のコルク質膜と胚乳をとりのぞいて発芽させた。その結果を、おなじときにおこなつた、とりだした胚の成長状態とあわせて Table 6 にしめす。低温湿層処理によつてやぶられる発芽遅延も、コルク質膜の機械的なツヨサによつているとすれば、どの段階のタネも、このような処理によつてたやすく発芽するはずである。しかし、高温湿層処理のあとの低温湿層処理期間をながくするにつれて、正常に発芽するタネがふえることは、この段階の発芽遅延の原因を、コルク質膜の存在だけによつて説明できないことをしめしている。FERENCZY⁹⁾ は、低温処理によつて、粘液層の発芽阻害作用がうしなわれることをあきらかにしたが、これは一つの有力な原因であるかもしれない。

(7) 変温条件のもとでの吸水経過

クミアワセ湿層処理をおわつて発芽条件にうつされたタネが、変温条件にともなつてどのようなオモサの変化をたどるかをしらべた。Fig. 4 にしめす実験結果から、およそつぎのような傾向がみいだされる。すなわち、25°C におかれているあいだは、おおむねオモサがへり、8°C におかれているあいだにふたたびふえる。このようなオモサの増減は、あくまでミカケのものであり、いろいろな生体反応の差引をしめしているにすぎない。しかし、このようにおよそ逆の傾向をしめすということは、ミカケのオモサの変化に関係している生体反応のすくなくとも量的な関係が、25°C 期と 8°C 期ではかなりことなつていゝことをしめしているとおもわれる。

(8) 発芽におよぼす光の影響

ヤチダモのタネが発芽にあつてしめすかわつた温度要求が、光をあたえることによつて影響されるかどうかをしらべた。まず、25°C にたもちながら光をあたえてみたが、毎日8時間散光をあたえても、連続光——昼間は散光を、夜はおよそ 200lux の光をあたえる——をあたえてもまつたく影響はなく、普通に 25°C にたもつたものとおなじであつた。

そこで、前処理のあいだの光条件の影響と、変温条件で発芽させる場合の光条件の影響をしらべることにした。この実験には、発芽床に 0.4% の寒天床をもちい、暗黒条件 (D) の区のベトリ皿は、あついで黒紙で二重につつんだ。高温処理のあいだ (Fig. 5 の 1) と発芽試験のあいだ (Fig. 5 の 3) の光区は、毎日8時間散光にあてたが、低温処理のあいだ (Fig. 5 の 2) は、光をあたえる設備がなかつたので、朝夕2回およそ 100lux ぐらいの光が 20 分あてられただけである。また、発芽試験のときの暗黒区は、10 日目に黒紙からとりだして発芽数をしらべたため、のこりの4日間は散光条件におかれた。この実験の結果を Fig. 5 にしめす。

この図から、高温処理のあいだの光条件も、発芽のときの光条件もほとんど影響をあたえないこと、低温処理のあいだの光条件はいくらかわるい影響をあたえることがわかる。もつとも、低温処理のあいだの光条件のチガイによる発芽経過のチガイは、実験方法の不備のためにうたがわしいところがある。しか

し、すくなくとも 2 週間の発芽率でくらべるかぎりでは、ヤチダモのタネの発芽においては、光は重要なヤクワリをはたしていないといえる。

3. かんがえられること

うえにのべたいくつかの実験結果にもとづいて、湿層処理をうけたヤチダモのタネの発芽反応に、いちじるしい温過性があるとかんがえた。WENT¹⁵⁾ は、タネの発芽におよぼす変温の効果は、ことなつた適温をもっているいくつかの反応過程が、発芽をひきおこすためにかわりあわなければならないという意味での温過性ではないらしいとかんがえ、変温に反応するのは種皮であつて、胚ではないだろうとのべている。かれのカンガエカタのもとになつているのは、MORINAGA¹²⁾、TOOLE¹⁵⁾ および HARRINGTON⁹⁾ の実験であるが、MORINAGA と TOOLE は、変温を要求するタネをキズツケ処理すると、変温条件をあたえなくても発芽するようになることをあきらかにした。しかし、このような実験から、キズツケ処理をうけた種皮が、変温の影響をうける部分であるとかんがえるのは、すこしはやいようにおもわれる。完全なタネの発芽というのは、胚の成長力がそれをつんでいる組織の機械的なツヨサにうちかつて、幼根がおもてにあらわれる現象であり、この 2 つの力の相対的な関係が、発芽するか、しないかのカギをにぎっているわけである。とすれば、うえに引用したおなじ実験から、もう一つのべつなカンガエカタをみちびくことができる。すなわち、変温に反応するのは種皮ではなくて胚であるという立場で、変温条件でも種皮の性質はかわらないが、胚の成長力がたかめられるために発芽をもたらすとかんがえる。この胚の成長力をたかめるシクミが、変温によつて影響されるタネの場合には、温過反応であるとかんがえる。一方光によつて影響されるタネの場合には、このシクミに光過反応が関係しているのであろう。BLACK & WAREING⁶⁾ のしめた実験結果は、このカンガエカタで説明できる。事実 MORINAGA¹²⁾ 自身、変温の効果が胚にあらわれるというカンガエカタがありうることをほめかしている。こうかんがえてくれば、発芽と変温との関係も、WENT¹⁵⁾ がかんがえているような意味での温過性という概念にふくめることができるだろう。ただ、HARRINGTON⁹⁾ がしめしている、重要なのはもちいられた温度よりも温度をかえるということであるという事実は、いまのところ疑問としてのこされている。

この報告をとりまとめるにあつて、草本のタネについてこの問題をとりあつかつた興味ある研究があることをしつた。すなわち、一つは BÜNNING ら⁷⁾ のものであり、ほかのは TOOLE ら¹³⁾ のものである。前者は、植物のなかのいろいろな反応に内的なリズムがあることを指摘し、これとの関連において、発芽と変温との関係について興味ある実験結果をしめた。一方 TOOLE らは、発芽と光との関係について研究をすすめているあいだに、変温が効果的なハタラクをしめすことをあきらかにした。そしてこのような変温の効果を、温度条件がいろいろな反応系のバランスに影響をあたえるというカンガエカタで説明している。これらの研究は、変温と発芽との関係についての筆者のカンガエカタのたしからしさを暗示しているとおもわれる。

これまでにえられた知見をとりまとめると、ヤチダモのタネの休眠がやぶれて発芽にいたるまでの過程は、およそつぎのようにわけてかんがえることができる。すなわち、第一に、高温湿層処理は胚の休眠をやぶり、第二に低温湿層処理は胚の成長力をたかめるとともに、粘液層あるいは胚乳にある阻害作用をなくする。低温湿層処理が胚の成長力に影響をあたえる反応過程はかなりゆつくりすすみ、この過程で“温過反応をしめす時期”があらわれる。この段階にはいつたタネは、温過処理によつて急激に胚の成長力が

たかめられうるが、コルク質膜の機械的なツヨサにうちかつまでにたかめられたものは発芽する。一方、低温湿層処理期間を十分にながくすれば、この期間に胚の成長力は、たやすくコルク質膜をつきやぶることができるほどたかめられる——すなわち“温過反応をしめさない時期”にはいつている——から、とくに温過処理をおこなう必要はなく、むしろ高温におくことによつて物質代謝が促進されればすみやかに発芽する。なお果皮にある阻害系²⁾は、うえにのべた2つの段階のうちの、すくなくとも一部分にたいして影響をあたえているとかがえられる。

この研究のあいだ、みちびいてくださった坂口勝美博士、柳沢聡雄技官、長谷川正男技官、実験をてつたつていただいた田中ナミ氏、そしてタネをえるについてお世話になつた諏訪営林署富士見担当区の由井恵寿技官、矢沢和臣氏に、心からお礼をもうしのべます。

4. あらまし

湿層処理をうけたヤチダモのタネが、発芽にあたつてきわめてかわつた温度要求をしめすことをあきらかにしたが、これに関連していくつかの実験および観察をこころみ、つぎのような結果をえた。

(1) 25°C と 8°C の変温をつかう場合には、8°C におく時間を、1日のうち16~20時間にすれば、もつともよい発芽率がえられる。8°C におく時間をこれよりみじかくすると、はやく発芽しはじめるけれども、発芽率はひくくなる。一方これよりながくすると、発芽率はそんなにかわらないが、発芽のハヤサがおそくなる。

(2) うえの事実から、湿層処理をうけたヤチダモのタネが発芽にあたつてしめすかわつた温度要求は、その温過性にもとづいたものとおもわれる。

(3) 高温湿層処理にひきつづく低温湿層処理によつて、ヤチダモのタネは、ゆつくり“温過反応をしめす時期”をへて“温過反応をしめさない時期”にうつる。

(4) 力源代謝に無気呼吸様式をとつているときでも、ヤチダモのタネは変温におかれたほうがよい。したがつて、変温の第一義的な効果を、有気呼吸がさかんになることにもとめることはできない。

(5) 力源代謝様式について二、三の知見をえた。

(6) クミアワセ湿層処理をうけたタネの発芽遅延も、コルク質膜の機械的なツヨサにたいして、胚の成長力がまだちいさいためであるらしく、変温の効果は、温過反応をとおして胚の成長力をたかめることにあり、その結果発芽をもたらすものとおもわれる。

(7) 変温条件のもとでの吸水経過は、2つの温度条件のもとでおこるいろいろな反応系のバランスがかわることをほのめかしている。

(8) ヤチダモのタネの発芽においては、光が重要なヤクワリをはたしているとはおもわれない。

**Studies on the Delayed Germination of *Fraxinus mandshurica*
var. *japonica* Seeds (7)**

Thermoperiodicity in germination*¹

Sumihiko ASAKAWA*²

Recently ISIKAWA & ARAKI¹⁰⁾ and BLACK & WAREING⁶⁾ observed the photoperiodic responses in germination of the seeds of certain herbaceous and woody species. The writer observed similar periodic responses in relation to temperature in the germination of *Fraxinus mandshurica* var. *japonica* seeds released from dormancy by compound stratification. As to the effect of temperature on germination, it is well known that the germination of the seeds of various species is better affected by alternating temperatures⁹⁾¹²⁾¹⁶⁾, so *F. mandshurica* var. *japonica* is thought to be also a member of such a group. WENT¹⁴⁾ has proposed the name thermoperiodicity for the phenomenon comprising stem elongation, fruiting, and root development being significantly increased when the night temperature is lowered. Through the experimental results reported here, we may also observe thermoperiodicity in the meaning proposed by

WENT, in an effect of alternating temperatures on germination, as the photoperiodicity was observed in an effect of light on germination.

Materials and Methods

Seeds: Seeds are common to those described in the 6th report⁴⁾. The mother trees are called [N] and [S], respectively. The sign of I, II₁, III, or IV means the collection on August the 25th, September the 10th, September the 30th, or October the 20th in 1955 respectively. The seeds of II₂ and II₃ are a part of II₁, but the stratification of II₂ was started after the lapse of three months, and that of II₃ was started after the lapse of six months from harvesting.

Stratification: The method for stratification is common to that described in the 5th report³⁾, but how to express the condition complies with the 6th report⁴⁾.

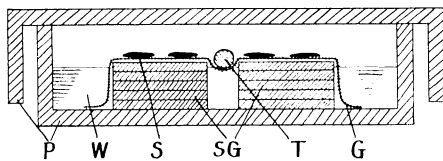
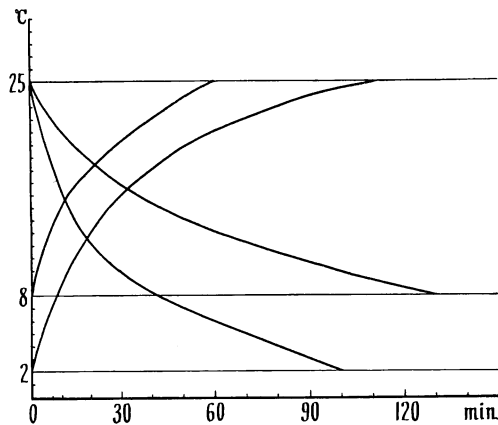


Fig. 1 Changes of temperature in seed bed under alternating temperatures of 25~8°C. or 25~2°C. The figure below the graph shows the method for measuring the change of the temperature in seed bed. P: petri dish, G: gauze, S: seed, SG: slide glass, W: water, T: thermometer.

*¹ A part of this study has been reported in Jour. Jap. For. Soc. 38 (7), (1956) p. 269 ~372.

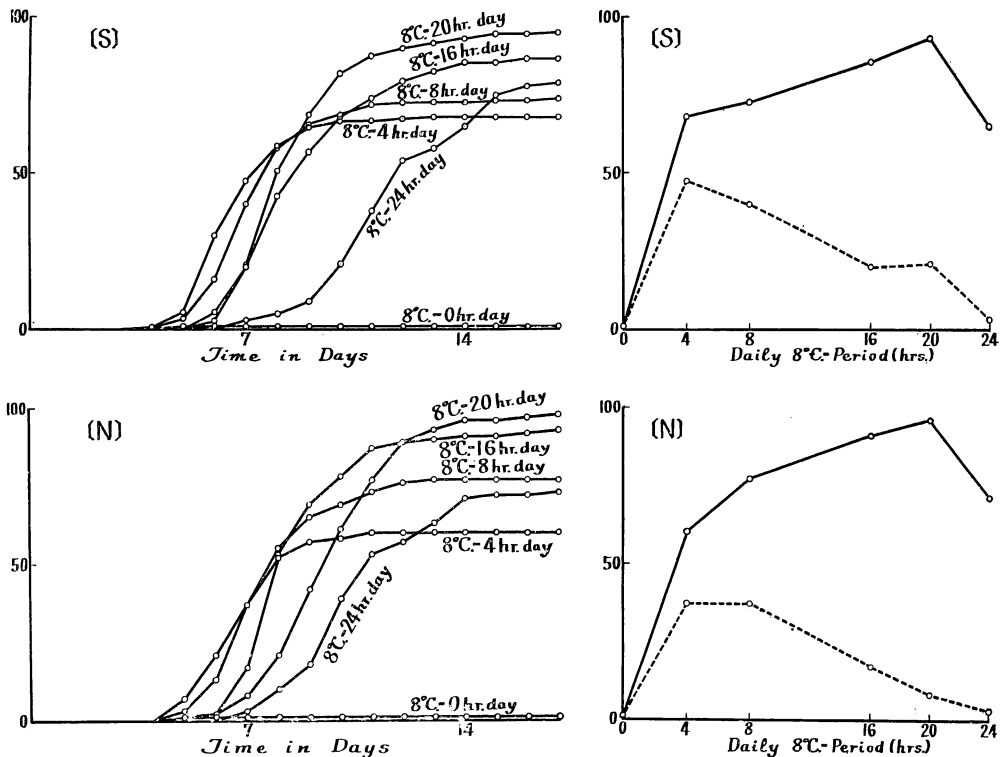
*² Laboratory of Seed Research, Silviculture Divison.

Germination test: The same method as that in the 6th report was taken. Petri dishes under alternating temperatures were transferred from one incubator to the other at intervals of a given time, and the temperature of such dishes rose or fell gradually to that of the new incubator, unlike the case in the change of light condition. Fig. 1 shows the processes of temperature change taken in these experiments. In consideration of such processes, petri dishes were kept at 2°C. for the initial thirty minutes and then at 8°C. for the other time in the case of transferring from 25°C. to 8°C. In the expression of alternating temperatures, the left number means the temperature held for 8 hours (day), and the right one means that held for 16 hours (night).

Experimental Results

(1) Thermoperiodicity in germination.

By the 5th report⁽³⁾ it was proved that *F. mandshurica* var. *japonica* seeds have a special temperature requirement for germination after compound stratification, and that their germination is affected variously according to the temperatures used for a daily fluctuation or the period exposed to each temperature. These facts, especially the latter, suggest that we should carry out an experiment using various cycles in



(I) Daily germination.

(II) Thermoperiodic curves induced from (I). Solid or dotted line shows germination percent in two weeks or in one week respectively, which is common to Fig. 3.

Fig. 2 Effect of 8°C-length in the cycle of 24 hours on germination. Ordinates show germination percent, which is common to Fig. 3 and Fig. 4. Materials:

III (DW). Condition for stratification: 25°C. (3)—2°C. (2).

Table 1 Effect of 8°C.-length in the cycle of 24 hours on germination.
Materials: III. Condition for stratification: 25°C. (3)—2°C. (2).

Mother Tree	Daily 8°C.-period (hrs.)	Germination percent in				
		7 days	10 days	14 days	17 days	21 days
[S]	16	0.5	14.0	37.5	46.5	50.5
	8	5.5	14.5	17.5	19.5	20.0
	0	0	0	0	0	0
[N]	16	0	8.0	29.5	42.0	48.0
	8	1.5	14.5	21.5	22.5	24.0
	0	0	0	0	0	0

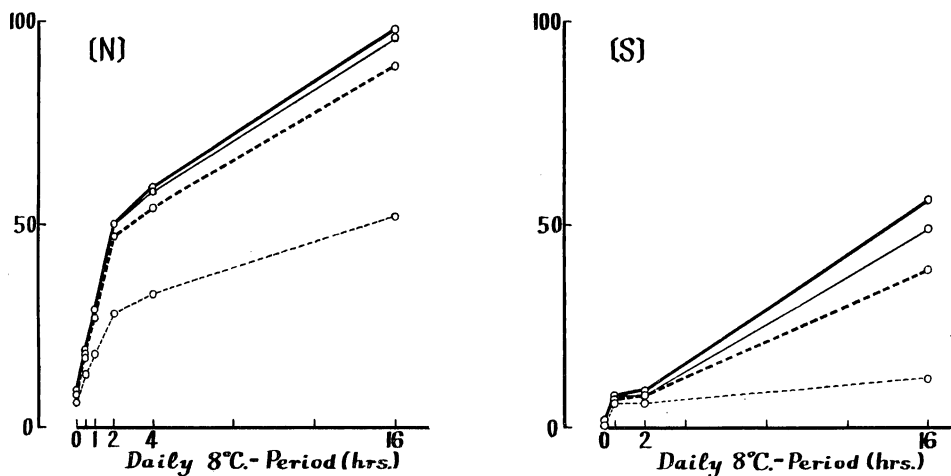


Fig. 3 Thermoperiodic curves showing the effect of 8°C-length in the cycle of 24 hours on germination. Materials: II₁ (DW). Condition for stratification: 25°C. (3)—2°C. (3).
Fine solid or dotted line shows germination percent in 10 days or 5 days respectively.

alternation. Here the experiments were carried out with special reference to 25°C. and 8°C.

(i) **Effect of 8°C-length in the cycle of 24 hours on germination:** Fig. 2 shows the experimental results with the seeds of III stratified in seed at 2°C. for 2 months after 3 months at 25°C. The germination processes under various 8°C.-lengths a day are shown in (I), from which (II) was induced to see readily the thermoperiodic tendency. Table 1 shows the result with the seeds of III stratified in fruit likewise, Fig. 3 showing the thermoperiodic curves with the seeds of II₁ stratified in seed at 2°C. for 3 months after 3 months at 25°C.

The seeds from each mother tree have a similar tendency to thermoperiodicity in their germination. As 8°C.-length is shortened, the early germination speed is faster, but the subsequent speed falls down. To explain the responses of seed to germination temperature, the writer has proposed the hypothesis on the internal condition in seed³⁾, according to which the result shown in Fig. 2 may be explained as follows: The seed, after-ripening and getting near the "insensible state to temperature", germinates more

Table 2. Effect of various cycles with the same ratio of 25°C.-period/8°C.-period on germination.

Collection time and condition for stratification	Mother tree	Kind of cycle		Germination percent in					
		25°C. (hrs.)	8°C. (hrs.)	7 days	10 days	14 days	17 days	21 days	
III (DW) 25°C.(3)—2°C.(2)	[N]	8	16	17.5	78.0	90.5	92.5	92.5	
		24	48	30.5	70.5	80.0	81.5	82.0	
	[S]	8	16	20.0	67.5	85.5	86.5	87.5	
		24	48	31.5	68.0	74.5	75.5	76.0	
	IV (DW) 25°C.(3)—2°C.(2)	[N]	8	16	88	93	96	96	96
			4	20	35	95	100	—	—
8			40	50	93	95	96	96	
16			80	24	90	96	96	97	
[S]		8	16	56	85	92	94	94	
		16	8	30	50	58	59	61	
		32	16	20	30	34	35	35	
		48	24	10	23	23	23	24	
I (DW) 25°C.(3)—2°C.(4)	[N]	8	16	80	93	96	97	97	
		48	24	52	68	68	68	68	
		48	24	with 1 hr. 8°C. break	43.	55	60	60	60
		8	16		80	91	91	91	91
	[S]	48	24	48	55	56	58	58	
		48	24	with 2 hrs. 8°C. break	52	57	58	61	61
		8	16		37	68	83	86	86
		48	24	22	29	30	30	30	
I 25°C.(3)—2°C.(4)	[N]	48	24	with 1 hr. 8°C. break	19	29	31	32	32
		48	24		with 4 hrs. 8°C. break	23	40	48	49

quickly under shorter 8°C.-length, while the seed being in the "sensitive state" does not germinate unless it is kept under a cycle such as 25°C. (4 hours) 8°C. (20 hours). Even in 8°C.—24 hrs. day, however, some of the seeds failed to germinate. The writer considers them as seeds being in a very sensitive state, too. The result in Table 1 or Fig. 3 may be also discussed nearly in parallel. In Fig. 3, however, there is an exception, namely, the result of [N] is markedly different from that of [S], which is due to the fact that the germination of the seeds of II₁ [S] was not affected well through the same stratification as others, as described in the 6th report⁴⁾.

(ii) **Effect of various cycles on germination:** In the photoperiodic control of seed germination, it is known that the absolute length of the dark period plays a determinative rôle⁴⁾. So the experiments were carried out to determine the effect of various cycles with various 25°C.-lengths on germination, the result of which is shown in Table 2.

From this table it was proved that the length of high-temperature (25°C.) period played a determinative rôle in the thermoperiodic control, but its rôle seemed to be decreased by increasing the ratio of $\frac{\text{low-temperature period}}{\text{high-temperature period}}$. The cycle of 24 hours with the ratio of 2~5 brings about better germination for the seeds being in such an

internal condition. Inhibitory effect of high-temperature on germination seems to be reduced by interrupting high-temperature period with short low-temperature period. But this reducing effect is not so remarkable as that of light break on dark reaction in photoperiodic responses⁶⁾.

(2) Alteration of thermoperiodicity with after-ripening.

It is shown in Fig. 10 of the 5th report³⁾ that the temperature requirement for germination is variable with the composition and period of compound stratification. Generally expressed, the thermoperiodicity in the germination of *F. mandshurica* var. *japonica* seeds alters with after-ripening. It is known that the photoperiodicity in germination also alters with after-ripening, while it was proved that the effect of light and temperature on the germination of *Pinus densiflora* and *P. Thunbergii* seeds was also affected by the degree of after-ripening, and a possible connection among these factors was suggested⁵⁾. Thus the information about the relationship between after-ripening and thermoperiodicity is thought to be the first step towards clarifying the mechanism of thermoperiodic responses. The hypothesis³⁾ on the internal condition in seed proposed by the writer can be made a working hypothesis for the relationship between after-ripening and thermoperiodicity, but some supplement seems to be necessary.

The germination of *F. mandshurica* var. *japonica* seeds that reach the "sensitive state to temperature" through compound stratification takes place under special thermoperiod, but does not occur if they are kept only under higher or lower temperature. The difference between these two conditions is whether the positive inhibitory processes proceed or do not. It was described that the property of the metabolic system subservient to the germination shifts from "sensitive state" to "insensible state" to temperature as a seed after-ripens, which means that the special thermoperiod becomes unnecessary for its germination, but does not mean that the process for germination proceeds at the equal speed under either higher or lower temperature. The seed at this stage can proceed along this process under both temperatures, but more quickly under a higher temperature than under a lower one. From this point of meaning the germination of the seeds at this stage is affected by temperature, we must conclude. Thus we had better call these two states "thermoperiodic phase" and "non-thermoperiodic phase".

(3) Effect of cold treatment on the inhibitory processes produced under unfavorable temperature.

It was described in the fifth paper³⁾ that unfavorable temperatures in germination test produced the reversible inhibitory processes in doubly-stratified seeds, which were abolished by keeping them at 2°C. Some of the experimental results to ascertain this point are shown in Table 3.

From this table it was proved that the above-mentioned inhibitory processes proceeded more positively at 25°C. than at 15°C., which suggests that such an inhibition to germination is due to positive processes. The effect of cold treatment on the inhibitive processes shown in this table is more remarkable than those shown in Table 1 or 2 of the fifth paper³⁾. So such processes vary with material or its previous history.

Table 3. Effect of cold treatment on abolishing the inhibitory processes caused by unfavorable temperatures.

Collection time and condition for stratification	Mother tree	The first germination test		The period for which the non-germinating seeds in the first test had been kept at 2°C. (months)	Germination % at 25~8°C. in 21 days after cold treatment
		Temperature	Germination % in 21 days		
I 25°C.(3)-2°C.(2)	[N]	25~8°C.	64	3	—
		25°C.	0		97.5
		15°C.	9.5		100
	[S]	25~8°C.	74	3	—
		25°C.	0		93.5
		15°C.	19.5		94
IV 25°C.(3)-2°C.(2)	[N]	25~8°C.	78.5	2	—
		25°C.	0		98
		15°C.	16		98.5
	[S]	25~8°C.	68.5	2	—
		25°C.	0		96
		15°C.	18.5		94
IV 25°C.(3)-2°C.(3)	[N]	25~8°C.	83.5	1	—
		25°C.	1		69.5
		15°C.	18		83
	[S]	25~8°C.	76.5	1	—
		25°C.	0.5		55
		15°C.	26		70

(4) Relationship between alternating temperatures and respiration.

As described in this introduction, the thermoperiodic response is thought to play an important part in mechanism bringing about the effect of alternating temperatures. On the other hand it is said that the effect results from increased respiration through

Table 4. Effect of soaking on germination. Materials: (1) II₁ (DW), Condition for stratification: 25°C. (3)-2°C. (2); (2) IV-[N], Condition for stratification: 25°C. (3)-2°C. (3).

Material	Condition for germination	Germination percent in						
		5 days	7 days	10 days	14 days	17 days	21 days	
(1)	[N] after soaking for 3 weeks at 25~8°C.	25~8°C.	6	64.5	91.5	94	94	94
		25~8°C.	0	13	74	92	93	93
		25~8°C.	0.5	4.5	24.5	36	41.5	44.5
	[S] after soaking for 3 weeks at 25~8°C.	25~8°C.	0	0	12	34	39	41
		25~8°C.	8	38	69.5	79.5	81.5	83.5
		25~8°C.	2	31	61	77	82	84
(2)	after soaking for 3 weeks at 25°C.	25~8°C.	0	0	0	0	0	0
		25~8°C.	0	0	3	14	21	23
	after soaking for 2 months at 25~8°C.	25~8°C.	0	0	3	14	21	23
		25~8°C.	0	0	3	14	21	23

alternating temperatures¹¹⁾. So this led to a very interesting investigation to clarify the relation of thermoperiodic responses to respiration. The experiment conducted for this purpose is as follows:

Each triangle flask of 50 ml with 50 doubly-stratified seeds was filled with tap water and stoppered. The flask was kept under various temperature conditions for a given period in the same way as in petri dish. Then the seeds were taken out and germinated in an ordinary seed bed. They failed to germinate during submergence. Table 4 shows the duplicate results of this experiment.

After submerging at 25~8°C. for three weeks, the first germination speed is rather slower, but the final germination percent in three weeks is nearly equal to that of the seeds without submerging. This fact suggests that stopping an aerobic respiration for three weeks did not bring about the inhibitive processes under daily fluctuation of 25~8°C. So it was proved that the metabolic pattern under these conditions is different from that under an aerobic condition at 25°C., which brings about an inhibition. And from this fact the writer supposes that the inhibition under an aerobic condition at 25°C has no—at least, direct—relation to respiration. In other words, the opinion that the first essential effect of alternating temperatures on seed germination is due to an increase of respiration is very questionable. The result shown in Table 4 (2) confirms the write's supposition mentioned above. The inhibition at 25°C. seems to be much stronger under an anaerobic condition than under an aerobic condition, because about twenty per cent of the seeds under the former had decayed by the end of the first germination test, and the reversibility of the inhibitive processes caused by the former was much smaller. That is, only 17.5% of the seeds, kept under an anaerobic condition at 25°C., germinated in three weeks after placing at 2°C. for a month, while about 70% of the seeds kept under an aerobic condition at 25°C. germinated in three weeks after placing at 2°C. for a month. Of the remaining seeds in the former, 83.5% did not germinate even after replacing at 2°C. for three months. On the other hand, 23% of the seeds germinated even after two months under an anaerobic condition if they had been soaked under the daily fluctuation of 25~8°C. But even under this temperature the unfavorable condition seems to have been gradually caused during two months, because about ten per cent of the seeds had decayed by the end of the first germination test, and only 42.5% of the remaining seeds germinated after three months at 2°C. These facts may be summarized as follows: a daily fluctuation of temperature is the better condition for the seed of *F. mandshurica* var. *japonica*, even when it owes energy to anaerobic respiration, and the inhibitory processes caused at 25°C. seem to be reversible under an aerobic condition, but to be irreversible under an anaerobic condition.

(5) Effect of some chemicals on germination.

A preliminary experiment was carried out to clarify the metabolic pattern in the seed of *F. mandshurica* var. *japonica*. The seed beds were supplied with the solutions of four specific inhibitors to energize metabolism. The experimental results using such seed beds are shown in Table 5. As an uncoupler, 2,4-dinitrophenol, inhibits the germination of these seeds, they are thought to owe most of the energy for germination to phosphorylation. Moreover, *p*-nitrophenol does not inhibit, but potassium cyanide does inhibit their germination. So it is supposed that their terminal oxidase

Table 5. Effect of some chemicals on germination. Material: II₃ (DW)—[S]. Condition for stratification: 25°C. (3)—2°C. (2). Temperature for germination test: 25~8°C.

Chemical	Conc.	Germination percent													
		4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	16	18	21
2,4-dinitrophenol	M/10 ⁴	0	0	1.5	2.5	4.5	8.5	12*	14	16	19.5	21.5	26	30.5	38
p-nitrophenol	M/10 ⁴	0.5	6	24	40	53.5	64.5	70.5	74	80.5	81.5	81.5	82	82.5	83.5
Potassium cyanide	M/200	0	0	1.5	15.5	30	44	60.5*	62	63.5	63.5	64.5	67.5	79.5	83.5
Sodium malonate	M/200	2	8	20.5	32	48	54.5	60.5	64	70	71.5	72.0	75.5	76	78
Distilled water	—	1.5	13.5	21.5	38	44	51.5	57.5	64	68.5	70.5	73.5	75.5	76	76

The sign * shows the day when chemical solutions were renewed.

is the cytochrome-cytochrome oxidase system.

(6) Thermoperiodicity and suberized membrane.

It was supposed that an embryo given greater growing pressure through cold stratification breaks through its suberized membrane to germination³⁾. Though it is very difficult to verify this hypothesis, the writer will discuss which tissues in this seed take part in the thermoperiodicity, based on the visible changes from sowing to germination, and the behavior on seed bed of the seed without the parts of its suberized membrane and endosperm enveloping its radicle.

A suberized membrane seems to be rather elastic. When the seed released from dormancy through compound stratification is exposed to the favorable condition for germination, its embryo begins to enlarge in it. An embryo in this stage enlarges in the direction of its radicle, while an embryo in the stage "pre-germination" does so in the direction of its cotyledons¹⁾. At the early stage of this embryo enlargement its suberized membrane is stretched out over its radicle. If the embryo goes on enlarging,

Table 6. Effect of removing a part of the tissues, enveloping embryo at the end of radicle, on germination. Material: II₃ (DW)—[S]. Temperature condition: 25°C. A and B are shown at p. 22 of the second report. Treatment was made under non-aseptic condition.

The period kept at 2°C. after 3 months at 25°C. (months)	Kind of treatment	Number of seed or embryo	Days from the beginning of test				
			2	3	5	7	10
0	Removing a part	50	0	B : 6	A : 5 B : 8	A : 12 B : 4	A : 13* B : 5
	Excising	20	B : 3	B : 13	A : 15 B : 3	A : 19	A : 19
1	Removing a part	50	A : 4 B : 15	A : 16 B : 14	A : 26 B : 8	A : 29 B : 7	A : 31 B : 6**
	Excising	20	A : 1 B : 16	A : 16 B : 4	A : 20	—	—
2	Removing a part	50	A : 21 B : 23	A : 42 B : 3	A : 45 B : 1	A : 46	A : 46***
	Excising	20	A : 2 B : 16	A : 18	A : 18 B : 1	A : 19	A : 19

* All the seeds had decayed in 12 days.

** Most of the seeds had decayed in 12 days, but in a few seeds their cotyledons had appeared and they germinated normally.

*** More than half of the seeds had decayed in 12 days, but about one third had germinated normally. The germination percent of the intact seeds from this stage was 76% under 25~8°C. in three weeks.

it breaks through its suberized membrane which has been stretched fully and makes its appearance. On the contrary, if such a seed is exposed to an unfavorable condition for germination, its embryo stops enlarging at the state that its suberized membrane has been stretched out somewhat, even if it has once begun to enlarge. Under such a condition the growing pressure of the embryo is thought to have been unable to overcome the mechanical resistance of its suberized membrane. In such a case, however, the embryo seems to go on fattening within a certain limit. Accordingly, the writer supposes that if it is an embryo that is affected by the thermoperiod, its enlargement should be affected.

The seeds without the parts of their suberized membranes and endosperms enveloping their radicles were germinated on the moistened gauze spread over glass slides in petri dish at three stages of stratification. Table 6 shows the result with that of the behavior of excised embryos¹⁾ at the same stages. The seeds from each stage should germinate easily by such a treatment if the delayed germination overcome by cold stratification is due to the mechanical resistance of suberized membrane. But normally germinating seeds increase with an increased period of cold stratification after a given warm stratification, which suggests that the delayed germination at this stage could be not explained only by the presence of suberized membrane. With the seeds of *Fraxinus excelsior*, FERENCZY⁸⁾ found that the inhibiting activities in the mucilaginous layer disappeared through cold stratification, which may be one of its important effects.

(7) **Process of water absorption under alternating temperatures.**

The change in weight of the seed stratified doubly was traced on the seed bed under alternating temperatures. The result in Fig. 4 shows the following tendency: In general, the weight decreases at 25°C. while it increases at 8°C. Such an apparent change in its weight will be the outcome resulting from various metabolic changes. The above-mentioned difference in tendency suggests that at least the quantitative balance among these metabolic changes seems to be variable between 25°C.- and 8°C.-period.

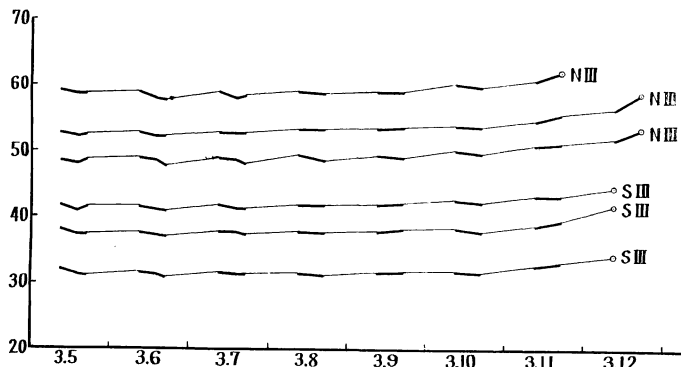


Fig. 4 The process of water absorption by the seed, pretreated for 3 months at 25°C. followed by 2 months at 2°C., under daily fluctuation of 25~8°C. Thick or fine line shows the period kept at 25°C. or 8°C. The sign ● shows the time when the seed has germinated. Ordinate: water intake in percentage to original weight. Abscissa: date.

(8) Effect of light on germination.

The experiments were designed to clarify whether the special temperature requirement for germination is affected by the exposure to light or not. In a preliminary test it was proved that the inhibitory processes caused by 25°C. seemed to be affected neither by the exposure to diffused light for 8 hours a day nor to the continuous illumination of about 200 lux. So in the further experiment the effect of light condition during stratification and germination test was investigated. Agar bed of 0.4% was used for this experiment. Each petri dish had 50 seeds, and in the case of the dark lot they were covered doubly with thick black paper just after sowing. During warm stratification (1 in Fig. 5) and germination test (3 in Fig. 5), petri dishes in the light lot were exposed to diffused light for 8 hours a day, but during cold stratification (2 in Fig. 5) those were illuminated by about 100 lux for 20 minutes twice a day. On the 10th day of germination test, the petri dishes of the dark lot were taken out from their black covers for counting germinating seeds, so they were exposed to diffused light for 8 hours a day during the remaining four days.

From Fig. 5, it was proved that the germination of these seeds under 25~8°C. was hardly affected by the light condition during warm stratification or germination test, but seemed

to be affected rather unfavorably by that during cold stratification, though the latter is uncertain on account of the inadequacy of experimental method. In short, the conclusion is that light plays no important rôle in the germination of these seeds.

General Discussion

Based on some experimental results mentioned above, the writer supposes the presence of thermoperiodicity in the germination of *F. mandshurica* var. *japonica* seeds stratified doubly. WENT¹⁵⁾ reported that the effect of alternating temperatures on seed germination does not seem to be a case of thermoperiodicity in the sense that processes with different optimal temperatures have to alternate to cause germination, and that the seat of response to alternating temperatures seems to be in the seed coat and not in the embryo. His view is based on the experiments of MORINAGA¹²⁾, TOOLE¹⁵⁾, and HARRINGTON⁹⁾, who found that the optimal germination of the seeds requiring alternating temperatures for germination is made possible without alternation of temperature through scarification. But it would be premature to think the seed coat as the part affected by alternating temperatures on the basis of only such an experiment. The germination in an intact seed can be defined the phenomenon that the growing pressure

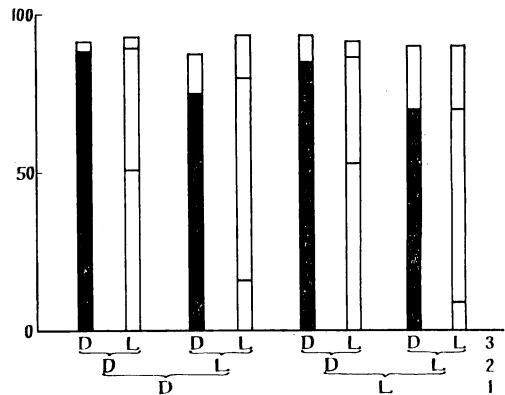


Fig. 5 Effect of light on germination. D: dark; L: light. Temperature condition for 1, 2, or 3 is 25°C. (3 months), 2°C. (2 months), or 25~8°C. (the period for germination test), respectively. The top, upper boundary, or lower boundary in each column shows the germination percent in 14 days, 10 days, or 7 days respectively. Material: III, [S].

of an embryo does overcome the resistance of its enveloping tissues in its best condition, and if so the germination will be determined by the balance between the growing pressure of the embryo and the resistance of enveloping tissues. Thus the other thought can be deducted from the same experiment cited above. That is to say, it follows that what is affected by alternating temperatures is not a seed coat but an embryo, the increased growing pressure of which breaks down the balance and brings about its germination. Such a growing pressure of embryo is thought to be raised through thermoperiodic responses in the seeds sensitive to alternating temperatures, and raised presumably through photoperiodic responses in the light-favored seeds. The experimental result on excised embryos by BLACK & WAREING⁶⁾ can be explained well by this thought. MORINAGA¹²⁾ has also suggested the possible effects of alternating temperatures on the embryos. Thus the relationship between germination and alternating temperatures may be also included in the concept of thermoperiodicity proposed by WENT¹⁵⁾. But the fact remains to be not accounted for that not the actual temperatures employed, but the alternation of temperatures as such determine germination⁹⁾.

In the preparation of this paper, the writer found some very interesting studies on a similar problem with the seeds of certain herbaceous species. One of them is the work by BÜNNING and his co-workers⁷⁾, and the other is that by TOOLE and his co-workers¹³⁾. BÜNNING *et al.* have supposed the presence of endogenous rhythms in plants, in connection with which they carried out interesting experiments about thermoperiodism in germination. On the other hand TOOLE *et al.* found that the germination of the seeds of some species is greatly increased by the exposure to higher temperature for a short time, in the course of studying the relationship between germination and light. And they have explained such an effect of alternating temperatures based on the opinion that the balance of various metabolic steps is affected by temperature condition. These studies are thought to confirm the writer's supposition that it is an embryo that is affected by alternating temperatures.

On the basis of the information obtained up to the present, the process the seed of *F. mandshurica* var. *japonica* follows to germination is summarized as follows: It consists of the dormancy broken down through a warm stratification and that broken down through a cold one. In the first process an embryo becomes non-dormant. In the second process it is given greater growing pressure, and on the other hand the inhibiting activities disappear in the mucilaginous layer or endosperm enveloping it. During the course that the growing pressure of an embryo is made greater, the "thermoperiodic phase" appears. Thermoperiodic treatment raises abruptly the growing pressure in the embryo of the seed at this phase, and the seed, the growing pressure in the embryo of which has been raised enough to overcome the mechanical resistance of its suberized membrane, germinates. On the other hand, if the period for cold stratification is lengthened, during this period the growing pressure in an embryo is raised enough to break through a suberized membrane—that is, an embryo reaches the "non-thermoperiodic phase". So the seed at this phase does not require special thermoperiodic treatment, and germinates rather more quickly under higher temperature. The inhibiting system in pericarp²⁾ seems to have some effect on one, at least, of the two stages mentioned above.

The writer expresses his cordial thanks to Dr. K. SAKAGUCHI, Dr. M. HASEGAWA, and Dr. T. YANAGISAWA for their kind guidance that facilitated this study.

Summary

Some experiments were carried out in relation to the special temperature condition the doubly-stratified seeds of *Fraxinus mandshurica* var. *japonica* require for germination. The results obtained are as follows:

(1) Using a daily fluctuation of 25°C. and 8°C., 8°C.-16~20 hrs. day results in the best percentage of germination. As the length of 8°C.-period is decreased, the first germination speed is faster, but the final percentage of germination is decreased. On the contrary, if it is increased, the final percentage of germination is nearly equal, but the germination speed is slower.

(2) From the facts mentioned above, it is supposed that the special temperature requirement these seeds stratified doubly show in germination, is due to their thermoperiodicity.

(3) By means of warm followed by cold stratification, the seed gradually reaches the "non-thermoperiodic phase" through the "thermoperiodic phase".

(4) Even under an anaerobic condition, alternating temperatures are more convenient for these seeds. So it is very difficult to think that the first essential effect of alternating temperatures is due to the increased aerobic respiration.

(5) Some information was obtained about the metabolic pattern of these seeds.

(6) The delayed germination of the seed stratified doubly seems to be also due to smaller growing pressure in its embryo, rather than to the mechanical resistance of its suberized membrane. Alternating temperatures are thought to raise the growing pressure through thermoperiodic responses and lead to germination.

(7) The process of water absorption under alternating temperatures suggests that the balance of the various metabolic changes is different between two temperature conditions.

(8) Light does not play an important rôle in the germination of these seeds.

Literature cited

- 1) ASAKAWA, S.: Bull. Govt. For. Expt. Sta. 83. (1956) p. 19—28.
- 2) ———: Ibid. 83. (1956) p. 29—38.
- 3) ———: Ibid. 95. (1957) p. 71—90.
- 4) ———: Ibid. 100. (1957) p. 23—39.
- 5) ———: Ibid. 92. (1956) p. 1—18.
- 6) BLACK, M. & P. F. WAREING: *Physiol. Plantarum* 8. 2. (1955) p. 300—316.
- 7) BÜNNING, E.: Endogenous rhythms in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 7. (1956) p. 71—90.
- 8) FERENCZY, L.: *Acta Biol. Szeged* 1. 1/4. (1955) p. 17—24.
- 9) HARRINGTON, G. T.: *Jour. Agr. Res.* 23. 5. (1923) p. 295—332.
- 10) ISIKAWA, S. & S. ARAKI: *Jour. Jap. For. Soc.* 37. 11. (1955) p. 485—487.
- 11) KONDO, M.: *Seed Science for Japanese Agriculturists, Horticulturists, and Foresters.* I. Tokyo (1936) p. 119.
- 12) MORINAGA, T.: *Amer. Jour. Bot.* 13. (1926) p. 141—159.

- 13) TOOLE, E. H. et al.: Physiology of seed germination. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 7. (1956) p. 299—324.
- 14) WENT, F. W.: *Amer. Jour. Bot.* 31. (1944) p. 135—150.
- 15) — — — : Thermoperiodicity in a Symposium "Vernalization and Photoperiodism". Waltham (1948) p. 145—157.
- 16) — — — : The effect of temperature on plant growth. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 4. (1953) p. 347—362.