

ヤチダモ種子を中心とした林木種子の 発芽生理に関する研究

浅 川 澄 彦⁽¹⁾

目 次

まえがき	2
第1章 ヤチダモのタネの発芽にみられた温適性およびその光感性への関連	3
1-1. これまでの関連研究の要約	3
1-2. 材料と方法	4
1-3. いろいろな温度での発芽反応	5
1-4. いろいろな温週期での発芽反応	7
1-5. 不利な発芽温度でつくられる阻害過程	9
1-6. 低温による阻害過程の回復	12
1-7. 発芽における温適性	12
1-8. 光感性および温週反応と光感反応の相互関係	14
1-9. 温適性および光感性の消長	17
1-10. 発芽機構の図式	20
1-11. 要 約	21
第2章 発芽における温適性の普遍性	22
2-1. これまでの研究の要約	22
2-2. トネリコ属樹木のタネの発芽特性	23
2-3. 数種針葉樹のタネの発芽特性	25
2-4. 温週的傾向の一般性	32
2-5. 林木種子の休眠についての再検討	34
2-6. 要 約	36
第3章 温適性の機作へのアプローチ	36
3-1. 変温の効果についてのこれまでの研究	36
3-2. 材 料	37
3-3. 吸水パターンからみた温週反応	37
3-4. 呼吸パターンからみた温週反応	40

(1) 造林部造林科種子研究室員・農学博士

3-5. 温週反応の素地としての物質変化	47
3-6. 温週反応の機作とその意義	57
3-7. 要 約	59
総 括	60
文 献	62
Résumé.....	67

ま え が き

林木のタネには、発芽するのに長い月日を要するものが多く、また比較のみじかい期間に発芽するものでもきわめてふぞろいな例がおおい。こういうタネをはやく、そろえて発芽させることの必要性に関連して、なぜながいあいだ芽をださないかということは、この分野の研究にとって大きな懸案であった。その原因にはいろいろなものがあげられてきたが、それらをひっくるめて休眠というきわめてひろい、むしろあいまいな概念がもちいられてきた。しかし発芽をおくらせている原因を休眠 (dormancy) という概念でかたづけるだけでは問題はあきらかにされない。最近の 2, 3 の研究が示唆しているように¹¹⁾¹⁸⁾⁷⁷⁾、あるタネが休眠しているという場合、そのタネをすぐに発芽させる条件がわからないということを意味していることがおおかった。つまりこういうタネは、発芽するためにきわめて限定された条件を要求する。タネがその寿命を維持している以上、外部の条件になんらかのかたちで反応していると考えることが当然であるが、タネが容易に発芽するかしないかは、積極的に成長を再開するために要求する外因の幅がひろいかせまいかによって左右される。しかも、このような外因の幅が固定された性質でないとすれば、休眠という概念を休眠していないという状態と不連続にもうけることは正しくない。

ここでは、ヤチダモ (*Fraxinus mandshurica* var. *japonica*) のタネが発芽にいたる過程でしめす、きわめて特異な温度要求のうつりかわりを中心として、発芽温度という 1 つの尺度によってタネが発芽にいたるまでの生理的過程を、動的に理解する筋道を明示することを意図している。温度が、タネの発芽に影響するひとつの重要な因子であることは、すでにふるくからしられてきたが、筆者はその関係が温週反応とよばれるべき一連の調節反応によって、総合的に理解されるべきものであることを提唱した (1956)⁷⁾。そしてヤチダモのタネの発芽にみられた温週性 (thermoperiodicity) は、このような温週反応によってもたらされるものであろう。

本論文では、温週性が発芽への過程でどのようにあらわれ、またほかの外因とどのように関連しているかをあきらかにし、ついで温週性がいろいろな林木のタネの発芽にかなり一般的にみられることをしめして、林木種子の休眠を動的に理解する考え方を説明し、最後に温週反応に関係している生理的機構をあきらかにするための 2, 3 の試みを報告し、発芽における温週反応の意義を考えてみたい。

本研究をとりまとめるにあたり、直接間接にご指導をいただいた東京大学猪熊泰三教授および畑野健一博士に、心から感謝の意を表します。

また本研究を行なうにあたって、ふかいご理解といろいろのご配慮をいただいた、元林業試験場長長谷川孝三博士、同大政正隆博士、前場長斎藤美鷲博士、現場長坂口勝美博士、現造林部長加藤善忠氏はじめ

おおくの先学の方々、したしくご指導とご激励をうけてきた当時生理研究室長長谷川正男博士、元種子研究室長柳沢聰雄氏、材料調製などにたえずご協力くださった当研究室員田中ナミさんにたいして、心からの感謝を申しのべます。

最後に、本研究にもちいた材料をえるについては、国有林局署、県、東京大学農学部付属演習林の、きわめておおくの方々にお世話になったが、これらの方々、とくに学友前嶋ヶ沢営林署長須郷研次氏のご好意にあつくお礼を申しあげます。

第1章 ヤチダモのタネの発芽にみられた温週性およびその光感性への関連

1-1. これまでの関連研究の要約

発芽に関係した温度要因についての研究はきわめておおいが、それらのおおくは、特定の温度条件にたいする特定の状態のタネの反応を報告したもので、発芽におよぼす温度の影響を総合的に理解しようとした試みは比較的すくなかった。WENT (1953)¹¹³⁾ は植物の成長におよぼす温度の影響についての総説のなかで、発芽における感温機構をうきぼりにするひとつの試みを示したが、TOOLE et al. (1956)¹⁰⁴⁾ はさらに包括的な発芽と温度の関係を総説した。従来発芽にたいする最低温度、最適温度、最高温度という3つの概念が一般的にもちいられているが、それにもかかわらずおおくの研究は、このような温度範囲の区分がきわめて形式的なものにすぎないことを示している。実際、種がちがう場合はいうにおよばず、おなじ種のなかでも発芽のための温度要求は、いろいろな因子、ことにタネの内的状態に影響をおよぼすような因子によって、いちじるしくかわることが知られている。つまり発芽にたいする温度要求は、ある特定の試料の特定の状態について、ほかの外因との関連においてはじめてきまるものである。このような温度要求のうつりかわりを報告した研究はきわめておおく、林木を材料にした最近の研究だけでも浅川 (1957)¹¹⁾、GROSE (1957)⁴⁴⁾、STONE (1957)⁹⁶⁾⁹⁷⁾ (1958)⁹⁸⁾、GROSE & ZIMMER (1958)⁴⁵⁾、STEARNS & OLSON (1958)⁹¹⁾、OLSON et al. (1959)⁷⁹⁾、ALLEN (1960)¹⁾ などがあげられる。これらの研究があきらかにしている点を全体としてみると、タネの内的状態がすすむにしたがって、発芽の適温ないしは最高温度がたかくなるという結果と、最低温度がひくくなるという結果にわけられるが、これらを包括すれば発芽のために要求される温度範囲の幅がひろがるということができる。

ところで、タネの発芽におよぼす光の影響のひとつの因子として、変温の効果が指摘されたのは19世紀の終わりであったが、以来変温についておおくの研究がおこなわれてきた。そのなかで、HARRINGTON (1923)⁴⁶⁾ と MORINAGA (1926)⁷⁸⁾ の報告は豊富な実験結果と興味ある見解のために、しばしば引用される代表的なものである。これらの研究結果もふくめて、普通には毎日の変温の効果が研究されているが、ある場合には、ただ1回の温度変化がいちじるしい効果をもたらすことが知られている²⁷⁾¹⁰⁸⁾。変温要求が、すでにのべたような発芽のための温度要求のひとつの特異な例にすぎないことを暗示するかのようになり、タネの内的状態がすすむにつれて変温にたいする要求度も減少するものである¹¹⁾⁵⁷⁾¹⁰⁴⁾。ヤチダモのタネの発芽における温度要求を研究していた筆者は、このような温度要求の消長を中心とした発芽と温度の関係を総合的に理解できる機作がありそうに考えた。

ここで発芽におよぼす光の影響についてみると、1860年にでた可視光線による発芽促進についてはじめての報告¹⁰⁴⁾以来、温度要因についてと同じくらいおおくの研究が発表されてきたが、それらのほとんどは個々の現象を報告したものにすぎなかった。一方 FLINT & McALISTER (1935, 1937)¹⁰⁴⁾ にはじま

る光感機構へのアプローチは、BORTHWICKとその共同研究者たちによってここ数年間活発にすすめられ、発芽と光との関係を全体的に理解する道がひらかれた²⁴⁾¹⁰³⁾¹⁰⁴⁾が、それをさらにすすめたのは石川とその共同研究者たち³³⁾⁵⁵⁾、BLACK & WAREING (1954, 1955)¹⁹⁾²⁰⁾、BÜNNING とその共同研究者たち²⁶⁾²⁷⁾の研究である。かれらはタネの発芽に光週的傾向をみとめ、それが開花や成長にたいして知られていた光週性ときわめてよく対応する反応であることをあきらかにした。こうして発芽と光との関係は、発芽における光週性という概念で一般的に理解されるようになった⁷⁷⁾¹⁰⁶⁾¹⁰⁷⁾¹⁰⁹⁾。さらにごく最近になって、BORTHWICK一派は、かれらがさきに仮定した発芽における光感反応を媒介する色素を、かなりの程度まで純化し、phytochrome となづけた²⁵⁾。

さて WENT (1944)¹¹¹⁾ は、トマトの成長と結実についての広汎な研究をとおして、温週性 (thermo-periodicity) というあたらしい概念を提唱した。つまりかれは、植物の成長または開花、結実における夜間のひくい温度の意義を強調し、温週性が、高温 (昼間) および低温 (夜間) で2つの異なった代謝過程がかわりあうことによっておこると結論した。筆者がはじめヤチダモのタネの発芽反応にみとめた結果は、かれがいうような温週的傾向の存在を暗示しているように思われたが、その後の実験結果は、温週反応があきらかに存在することを示すにいたった。こうして発芽と温度との関係も、発芽と光の場合とおなじように、温週性という概念で全体的に理解されうるものと思われる。WENT (1948)¹¹²⁾ は、温週性についての総説のなかで、タネの発芽におよぼす変温の効果は種皮にあらわれるもので、ことなつた適温をもっている反応過程がかわりあうという意味での温週性にははまらないとのべているが、あとからも述べるように、これは HARRINGTON (1923)⁴⁶⁾ や MORINAGA (1926)⁷³⁾ らの研究成果を皮相に解釈したためと思われる。実際森永自身変温の効果が胚にあらわれる可能性について論じている。

1-2. 材料と方法

タネ：この章でもちいたヤチダモのタネは、とくにことわらないかぎり、10月のはじめによくみのつたものをとり、研究室にとどいてからは 2°C または 5°C の冷蔵庫に保存した。

1954 年のタネ 北海道旭川営林局神楽営林署内にとつた。

1955 年のタネ 長野県諏訪郡富士見町にある諏訪営林署立沢苗畑のちかくの、天然生樹齢およそ 50～60 年の2本のオヤ木からとつた。オヤ木は No.1, No.2 とよび、それぞれのオヤ木から8月25日 (I), 9月10日 (II), 9月30日 (III), 10月20日 (IV) の4回にわたってとつた。

1958 年のタネ 北海道旭川営林局神楽営林署部内にとつた。

湿層処理：室温で 48 時間水道水につけたミまたはタネを、適当にしめらせた水ゴケにはさんでふかいペトリー皿にいれた。

一方光を調節した実験では、寒天末でつくった 0.5% または 0.7% 寒天溶液を径 7.5 cm のペトリー皿にそそぎこみ、かたまつてから 50 粒のタネをならべた。タネをならべおわつたペトリー皿は、すぐにあつち黒紙で二重につつんだ。

発芽床：12 cm の径のペトリー皿のなかにならべたスライドガラスのうえに、しめらしたガーゼをしいた発芽床をペトリー皿床とよぶ。

一方光を調節する実験では、湿層処理の項でのべたような径 7.5 cm のペトリー皿に寒天をいれたものをもちいたが、これを寒天床とよぶ。

発芽温度：湿層処理温度もふくめて、この研究にもちいた温度条件はすべて ± 1°C の温度幅をもつ

ている。このような温度幅は定温器の調節装置によるものであるが、変温区の発芽床をいれた定温器の温度は、一時的ではあるがこのような温度幅をこえてふれた。変温条件は、たとえば $25 \sim 8^{\circ}\text{C}$ のようにあらわすが、この場合左の数字 (25°C) が昼間 (8時間) おかれた温度で、右 (8°C) が夜間 (16時間)

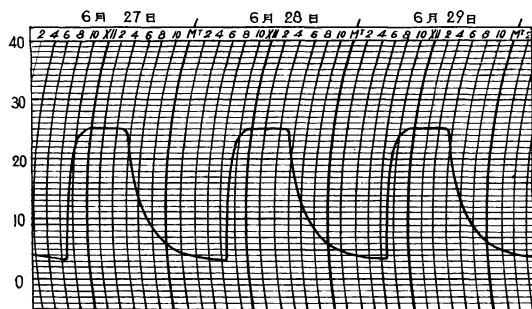


Fig. 1 変温条件にもちいた定温器内の温度変化の一例 ($25 \sim 8^{\circ}\text{C}$)

An example of automatic changing of incubator temperature.

けた2本の20ワット屋光色蛍光灯を光源にもちいて行なった。定温器のなかのあかるさはおよそ1,000～2,000ルクスであった。

赤色光照射は、赤セロファン (2枚) でおおった屋光色蛍光灯を光源にもちいて行なったが、発芽床をおいた位置のあかるさは、赤セロファンをつけないときでおよそ4,000ルクスであった。

一方赤外光照射は、300ワットのフラッド白熱電球 (東芝製) をもちい、5～7cmの水の層と、赤セロファンおよび青セロファンの各2枚をとおして行なった。発芽床をおいた位置のあかるさは、色セロファンをつけないときでおよそ4,000ルクスであった。

発芽率：各処理区に50粒を3～4組とり、発芽率は、健全なタネにたいする発芽粒の百分率でしめた。

1-3. いろいろな温度での発芽反応

この節の実験には、1954年のタネとベトリ皿床をもちいた。果皮のまま湿層処理してから、いろいろな温度条件で発芽させた結果を Fig. 2 と Fig. 3 に示す。

発芽試験は、とくにことわらないかぎり果皮をのぞいて行なった。これらの発芽経過から、ヤチダモのタネが発芽にあたって特異な温度要求をしめすことがわかる。すなわち、

おかれた温度である。なお、変温区の発芽床を1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。このような場合に、発芽床内の温度がどのようにかわるかについてはすでに報告したが、その後は、定温器自体の温度が時間的にきりかわるようにした。その一例を Fig. 1 にしめす。

光照射：発芽試験のあいだの光照射は、とくにことわらない場合には、定温器 (ガラス張り) の上部または側面にとりつ

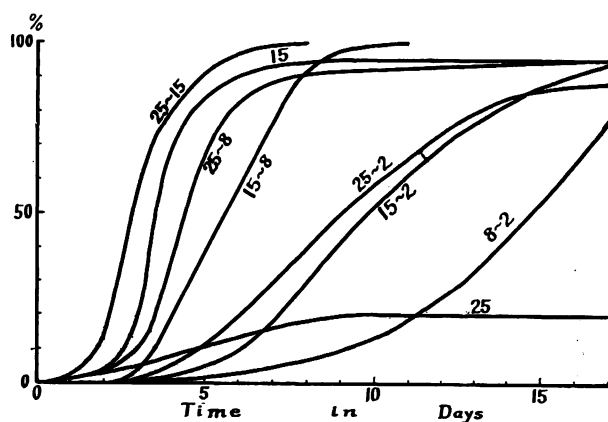


Fig. 2 湿層処理をうけたヤチダモのタネのいろいろな温度での発芽経過

Germination result under various temperature conditions of *Fraxinus mandshurica* var. *japonica* seeds stratified at 25°C for 4 months followed by 3 months at 2°C . In the following figures, an ordinate shows germination percent (%) in case of no special note (Asakawa 1957¹¹⁾).

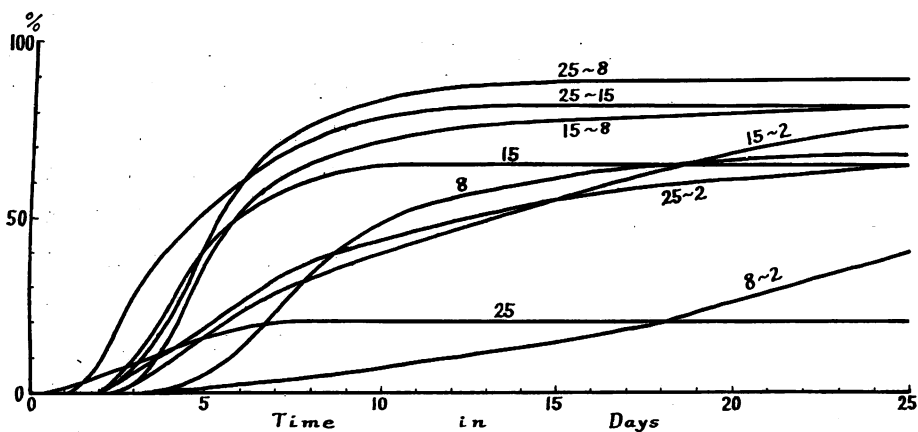
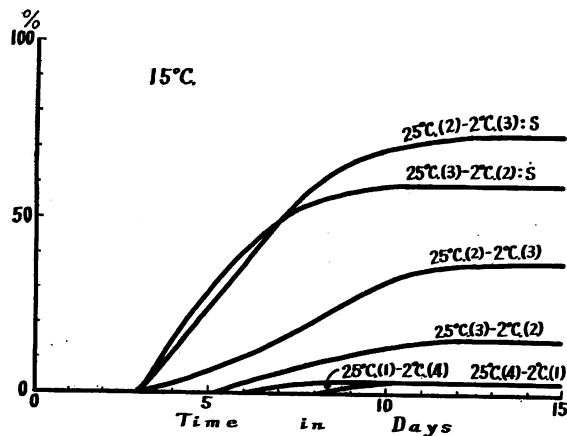
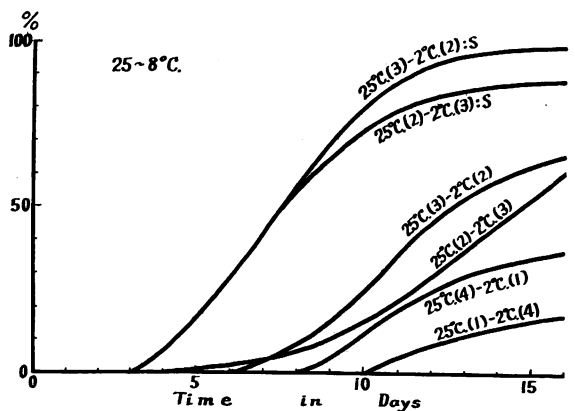


Fig. 3 湿層処理をうけたヤチダモのタネのいろいろな温度での発芽経過
Germination result under various temperature conditions of *F. mandshurica* var. *japonica* seeds stratified at 25°C for 3 months followed by 3 months at 2°C (Asakawa 1957¹¹⁾).



普通に発芽の適温と考えられている 25°C にたもつと、ほとんど発芽しないが、夜間ひくい温度にうつすいわゆる変温条件ではよく発芽する。しかもおなじ変温条件でも、たかい温度とひくい温度には、それぞれ適当な温度があるように思われる。一方定温条件でも、普通に適温と考えられている温度よりもひくい温度ではかなり発芽する。いずれにしても発芽経過曲線は、一定の温度におくことによってしたいに発芽に不利な状態がつくられることをしめしており、これはことに 25°C の定温でいちじるしい。これに反して変温条件ではややおくれで発芽しはじめるが、まもなく急速に発

← Fig. 4 いろいろに湿層処理されたヤチダモのタネの発芽経過

Germination result at 25~8°C and 15°C of *F. mandshurica* var. *japonica* seeds subjected to different stratifying conditions. For example, 25°C (3)—2°C (2) shows the stratification at 25°C for 3 months followed by 2 months at 2°C. S means the removal of a pericarp before stratification. (Asakawa 1957¹¹⁾).

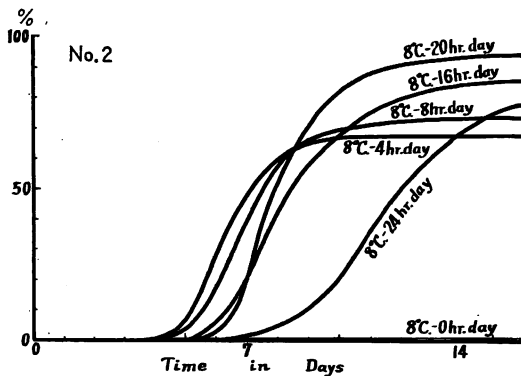
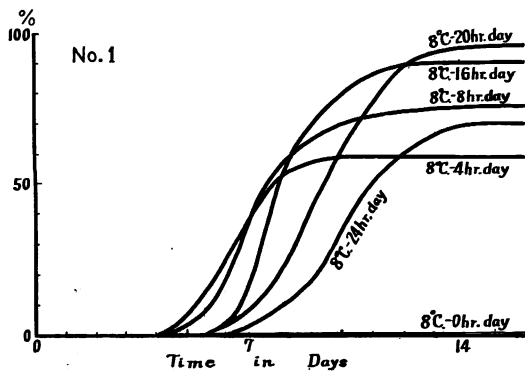


Fig. 5 25°C と 8°C をもちい、24 時間の週期のなかで、それぞれの温度におく時間をいろいろにかえた場合のヤチダモのタネの発芽経過

Germination result of *F. mandshurica* var. *japonica* seeds stratified at 25°C for 3 months followed by 2 months at 2°C, under various combinations of 25°C- and 8°C-lengths in the cycle of 24 hours (ASA-KAWA 1957¹³⁾).

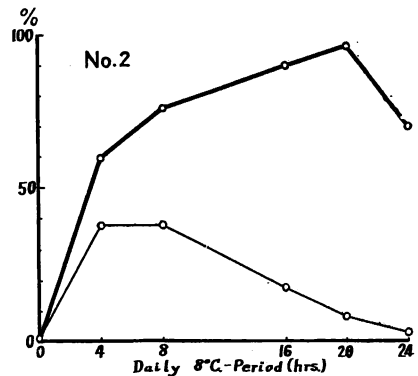
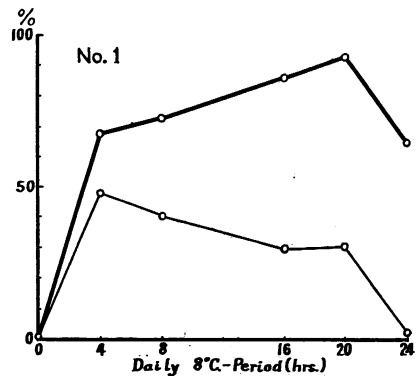


Fig. 6 ヤチダモのタネの発芽における温週曲線

Thermoperiodic curves induced from Fig. 5. Thick or fine line shows germination percent in two weeks or in one week, respectively (ASA-KAWA 1957¹³⁾).

芽する傾向をしめしている。また2つの図を比較すると、湿層処理期間をながくすることによって発芽勢だけでなく最終発芽率もよくなることがわかるが、このような発芽のための温度要求の湿層処理条件による変化は、Fig. 4 によってさらにはっきり理解されるだろう。

1-4. いろいろな温週期での発芽反応

前節でしめたような実験結果から、いろいろの変温条件がヤチダモのタネの発芽に有利なことがわかったが、それらはいずれも高温に8時間、低温に16時間おいたものであった。それで、つぎに24時間のなかで、それぞれの温度におく時間をかえることを試みた。1955年のⅢのタネを、果皮をのぞいてから25°Cで3か月、2°Cで2か月湿層処理し、No.1, No.2のオヤ木別に、ペトリー皿床で行なった発芽経過をFig. 5にしめす。このような発芽経過を、24時間のうち8°Cにおいた時間を横軸にとってかきかえてみるとFig. 6のようになる。これら2本のオヤ木からのタネは、きわめてよくにた発芽反応をしめしている。8°Cにおかれる時間がみじかくなるにつれて、はやく発芽しはじめるけれども、まもなく発

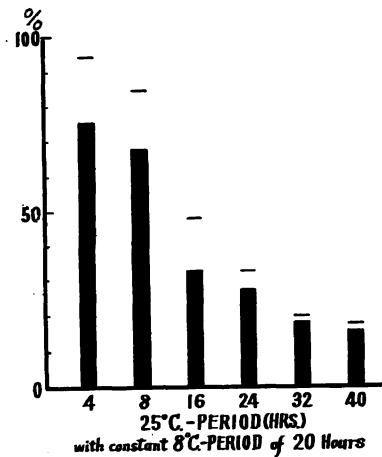


Fig. 7 8°C におく時間を一定 (20時間) にし、25°C におく時間をいろいろにかえた場合のヤチダモのタネの発芽反応

Germination result of stratified *F. mandshurica* var. *japonica* seeds under various 25°C-periods (hrs.) with constant 8°C-period of 20 hours. Painted columns show germination percent in twelve days in darkness. A bar above each column shows the increase of germination percent in the subsequent ten days, during which the seeds were exposed to white fluorescent light. Stratified at 25°C for 3 months followed by 3.5 months at 2°C. Those notes are common to Fig. 8 to Fig. 11.

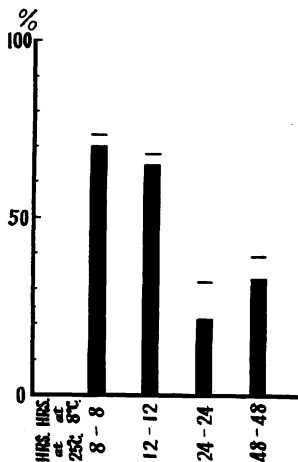


Fig. 9 25°C と 8°C の 2つの温度におく時間はひとしくし、それらの単位時間をかえた場合のヤチダモのタネの発芽反応

Germination result of stratified *F. mandshurica* var. *japonica* seeds under four kinds of thermoperiods, in which the periods at 25°C and at 8°C were equal. See the notes of Fig. 7.

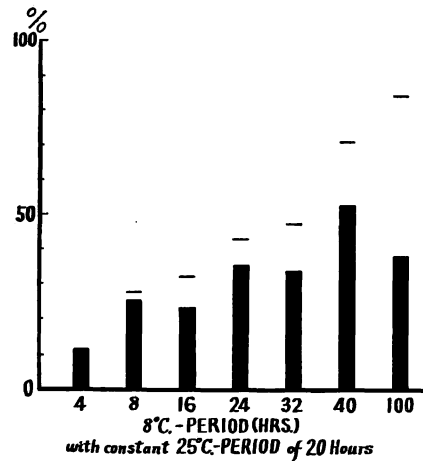


Fig. 8 25°C におく時間を一定 (20時間) にし、8°C におく時間をいろいろにかえた場合のヤチダモのタネの発芽反応

Germination result of stratified *F. mandshurica* var. *japonica* seeds under various 8°C-periods (hrs.) with constant 25°C-period of 20 hours. See the notes of Fig. 7.

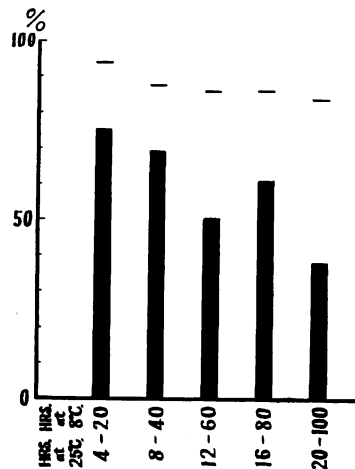


Fig. 10 25°C と 8°C の 2つの温度におく時間の割合を同じにし、それらの単位時間をかえた場合のヤチダモのタネの発芽反応

Germination result of stratified *F. mandshurica* var. *japonica* seeds under various 25°C- and 8°C-lengths with the same ratio of both periods. See the notes of Fig. 7.

芽がみられなくなる。つまり 8°C におかれる時間がみじかいときは、一部分のタネはまもなく発芽するが、のこりのタネは発芽にはいたらない。一方 8°C にながくおかれた区では、発芽しはじめるのはおそいが、ほとんど大部分のタネが発芽する。いずれの場合にもおよそ 2 週間で発芽しおわたが、最終発芽率の差にあたる部分のタネは、温度条件さえよければ発芽したはずのもので、これらは 25°C にながくおかれたために阻害過程がつくられたものと思われる。なお 8°C だけにおかれたものの一部分も発芽にいたらないが、こういうタネが発芽するためには、高温反応に依存している代謝過程も進行することが必要と思われる。

そこでさらに温週期をいろいろにかえた場合の発芽反応をしらべた。1958 年のタネを、果皮をのぞいてから寒天床にまきつけ、暗黒条件で 25°C で 3 か月、2°C で 3.5 か月湿層処理し、それからひきつづき暗黒条件のまま、いろいろな温週期で 12 日間発芽試験をおこなった。12 日目のおわりに結果をしらべたあとは、25~8°C の変温条件で 25°C のあいだ光(光源: 昼光色蛍光灯, およそ 1,000 ルックス)をあててひきつづき 10 日間だけ発芽させた。Fig. 7 から Fig. 10 にしめすこの実験の結果から、ヤチダモのタネの発芽への過程は、高温で有利にすすむような反応と、低温で有利にすすむような反応のあるバランスのもとにすすむことがあきらかであり、ここでもちいた材料については、低温期間は高温期間のおよそ 5 倍のながさを必要とするように思われる (Fig. 7, Fig. 8, とくに Fig. 10)。いずれにしても高温反応が、制限因子になっていることはたしかであり、低温期間にたいする高温期間の比率が小さいほど高温期間がみじかくなければならない。ここでたとえば Fig. 7 を例にとって、これらの図がしめしている意味を考えてみたい。この材料のうちのおよそ 30% は、8°C (20 時間)–25°C (8 時間) の温週期で発芽することができ、8°C (20 時間)–25°C (4 時間) の温週期でしか発芽できないタネは、たかだか 10% にすぎないのである。一方およそ 20% は 8°C (20 時間)–25°C (40 時間) の温週期でさえも発芽することができる。つまりこれらの図から、温度要求の程度について材料につかったタネを層分けすることができる。

1-5. 不利な発芽温度でつくられる阻害過程

不利な発芽温度のもとで発芽できなかったタネが、湿層処理をおわたったときとおなじ状態で休止しているのか、あるいはある積極的な阻害状態がつくられたために発芽しないのかをしることが、このタネの発芽における温度反応をあきらかにするために必要におもわれた。そこで 15°C と 25°C の定温条件で発芽試験を行なった区を、22 日目から 25~8°C にうつしてみた。その結果は Table 1 (1) のようであるが、25~8°C にうつしてからは、ほとんど発芽がみられなかった。おなじような試みを、はじめの発芽温度がことなるものについて行なったが、その結果は Table 1 (2) のようである。8°C, 2°C および 8~2°C から 25~8°C にうつしたものをのぞいて、うつした温度条件では、あまり発芽しなかったが、とくに 25°C からうつされたものでいちじるしかった。これらの結果から、8°C より高い温度で発芽できなかったタネのなかで、ある阻害反応がおこったか、あるいは高温反応にともなってなんらかの阻害的な状態が副次的につくられたことがわかる。そしてこのような状態は、ひきつづいて 25~8°C の変温条件にうつしてももとはもどらない。一方 8°C より低い温度ではこのような阻害反応はすすまなくて、発芽しなかったタネは、もっとたかい温度またはもっとながい時間を必要としていたにすぎない。

ところで、たとえば 25°C にたもった場合に、タネのなかで阻害反応がどのようにおこるものかが、Fig. 11 の結果からおよそ理解される。つまり 25°C ですすむような諸反応が 72 時間以上すすむと、

Table 1. ヤチダモのタネの発芽におよぼす発芽温度の影響

ベトリ皿床, () 内の数字ははじめからの総発芽率

Effect of temperature on the germination of stratified *F. mandshurica* var. *japonica* seeds. Germination percent in parentheses shows the total from the beginning (Asakawa 1957¹¹⁾).

(1)

湿層処理条件 Condition for stratification Temperature (Time in months)		はじめの発芽温度 The first incubating temperature (°C)	はじめの発芽温度で の 21 日間の発芽率 Germination percent in 21 days at the first temperature (%)	25~8°C にうつして から 21 日間の発芽率 Germination percent in 21 days after transfer to 25~8°C (%)
果皮がついて いるタネ	25°C(1) - 2°C(4)	15	5	2(7)
		25	0	0(0)
	25°C(2) - 2°C(3)	15	38	4(42)
		25	0	0(0)
With pericarp	25°C(3) - 2°C(2)	15	16	0(16)
		25	0	0(0)
	25°C(4) - 2°C(1)	15	4	0(4)
		25	0	0(0)
果皮をとった タネ	25°C(2) - 2°C(3)	15	75	3(78)
		25	14	0(14)
	Without pericarp	15	60	5(65)
		25	4	3(7)

(2)

湿層処理条件 Condition for stratification Temperature (Time in months)		はじめの発芽温度 The first incubating temperature (°C)	はじめの発芽温度で の 21 日間の発芽率 Germination percent in 21 days at the first temperature (%)	25~8°C にうつして から 21 日間の発芽率 Germination percent in 21 days after transfer to 25~8°C (%)
果皮がついて いるタネ	25°C(3) - 2°C(3)	25~15	82	1(83)
		25~2	68	8(76)
		15~8	82	4(86)
		15~2	79	7(86)
		8~2	48	46(94)
		25	20	0(20)
With pericarp	25°C(3) - 2°C(3)	8	70	24(94)
		25°C(2) - 2°C(4)	50	37(87)
		Without pericarp	64	36(100)

ひきついて 25~8°C の変温条件をあたえても、もはやもとにもどらないような状態がつくられる。なお注目すべき事実、このような高温による阻害過程が、高温-低温湿層処理によって、いわゆる休眠状態から解放されたタネのなかだけで特異的に起こるらしいことである。このことは、Table 2 にしめす結果から理解される。つまりあらかじめ低温湿層処理だけをうけたタネは、おなじように 25°C の発芽温度に

おかれたあと、高温-低温湿層処理をうけたものの半分の低温処理期間で、いちじるしく発芽が促進された。チョウセンマツの発芽におよぼす湿層処理の効果について、低温—高温—低温の組合せと、高温—低温の組合せがほとんどおなじ促進効果をもたらすことが報告されている⁵⁾¹⁴⁾が、ここにみられた例においても、お

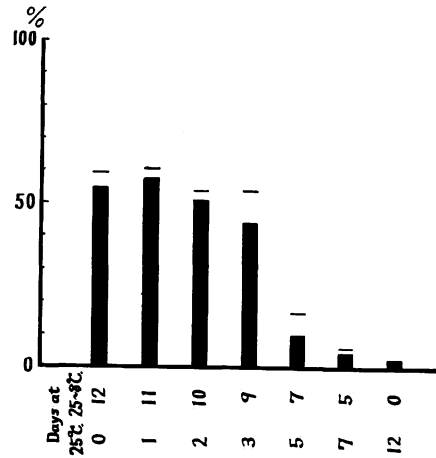


Fig. 11 25°C にたもった時間と阻害のあらわれかたの関係

Inhibited germination of stratified *F. mandshurica* var. *japonica* seeds with the increased period of incubation at 25°C prior to transfer to alternating temperatures 25~8°C. See the notes of Fig. 7.

Table 2. はじめ 25°C の発芽温度においたヤチダモのタネのその後の反応
ベトリ皿床、() 内の発芽率ははじめからの総計。

Subsequent behavior of stratified *F. mandshurica* var. *japonica* seeds incubated first at 25°C. Germination percent in parentheses shows the total from the beginning (Asakawa 1957¹¹⁾).

湿層処理条件 Condition for stratification		25℃での21 日間の発芽率 Germination percent in 21 days at 25℃ (%)	25～8℃にう つしてから21 日間の発芽率 Germination percent in 21 days after transfer to 25～8℃ (%)	発芽しなかった タネをふたたび 処理した条件 Condition for re-stratifying non-germinating seeds (Time in months)	25～8℃での28 日間の発芽率 Germination percent in 28 days at 25～8℃ (%)
果皮がつい ているタネ With pericarp	2℃(5)	0	0(0)	25℃(2) -2℃(2)	75(75)
	8℃(5)	0	0(0)		87(87)
	25℃(1)-2℃(4)	0	0(0)	2℃(4)	12(12)
	25℃(2)-2℃(3)	0	0(0)		12(12)
	25℃(3)-2℃(2)	0	0(0)		3(3)
25℃(4)-2℃(1)	0	0(0)	6(6)		
果皮をとっ たタネ Without pericarp	25℃(2)-2℃(3)	14	0(14)		5(19)
	25℃(3)-2℃(2)	4	3(7)		8(15)

湿層処理条件 Condition for stratification		発芽しなかったタネを みたび処理した条件 Condition for the third stratification for remaining seeds (Time in months)	25～8℃での28日間 の発芽率 Germination percent in 28 days at 25～8℃ (%)	のこったタネの内容 Remaining seeds				
Temperature (Time in months)				よ い タ ネ Sound	胚 の ない Embryoles	タ ネ く さ った Decayed	計 Total	
果皮がつい ているタネ With pericarp	2℃(5)	2℃(2)	16(91)	5	0	4	9	
	8℃(5)		3(90)	4	0	6	10	
	25℃(1)-2℃(4)		54(66)	24	3	7	34	
	25℃(2)-2℃(3)		52(64)	35	0	1	36	
	25℃(3)-2℃(2)		72(75)	21	0	4	25	
25℃(4)-2℃(1)	57(63)		31	0	6	37		
果皮をとった タネ Without pericarp	25℃(2)-2℃(3)		53(72)	23	2	3	28	
	25℃(3)-2℃(2)		50(65)	14	0	21	35	

なじような現象がおきていたのかもしれない。

1-6. 低温による阻害過程の回復

前節で、不利な発芽温度におかれたタネのなかに、発芽に阻害的な状態がつくられることをあきらかにしたが、このような阻害過程は可逆的なものであることが Table 2 の結果から推察される。この点をたしかめるために行なった実験結果を Table 3 にしめす。この結果は、問題の阻害過程が低温によつてのぞかれることを確かめたばかりでなく、このような阻害過程が、15°C よりも 25°C でずっといちじるしくすすむことをしめした。Table 3 およびつぎにしめす Table 4 からわかるように、阻害過程の低温による回復はきわめてゆっくりすすむ。低温期間をかえて、回復がどのようにすすむかをみたのが Table 4 にしめした結果である。

1-7. 発芽における温度性

1-1 節でもふれたように、WENT (1948)¹¹²⁾ は、MORINAGA (1926)⁷³⁾、TOOLE¹¹¹⁾ および HARRINGTON (1923)⁴⁶⁾ の研究を引用してタネの発芽におよぼす変温の効果について論じた際、ことに前2者のな

Table 3. 不利な発芽温度でヤチダモのタネにつくられた阻害過程の低温による回復

Recovery of the inhibitory processes occurring in stratified *F. mandshurica* var. *japonica* seeds at unfavorable temperatures with the increased period of cold treatment. Collected date: I (Aug. 25, 1955); IV (Oct. 20, 1955) (ASAKAWA 1957¹³⁾).

湿層処理条件 (材料の採取時期) Condition for stratification Temperature (Time in months) (Collection time)	オヤ木番号 Mother tree No.	はじめの発芽試験 The first germination test		発芽しなかった タネをふたたび 2°C で処理した 期間 (月) Period for re-stratifying non-germinating seeds at 2°C (Months)	25~8°C での21 日間の発芽率 Germination percent in 21 days at 25~8°C after the second stratification (%)
		温度条件 Temperature (°C)	21日間の発芽率 Germination percent in 21 days (%)		
25°C(3)→2°C(2) (I)	No. 1	25~8	74	3	—
		25	0		93.5
		15	19.5		94
	No. 2	25~8	64		—
		25	0		97.5
		15	9.5		100
25°C(3)→2°C(2) (IV)	No. 1	25~8	68.5	2	—
		25	0		96
		15	18.5		94
	No. 2	25~8	78.5		—
		25	0		98
		15	16		98.5
25°C(3)→2°C(3) (IV)	No. 1	25~8	76.5	1	—
		25	0.5		55
		15	26		70
	No. 2	25~8	83.5		—
		25	1		69.5
		15	18		83

かの、変温を要求するタネの種皮にキズをつけるか、または種皮をのぞくことによって、変温条件をあたえなくても発芽するようになる事実をとりあげ、変温に反応するのは種皮であって胚ではないだろうと考えた。そしてこの現象は、かれの提唱した温過性と同一には論じられないものとしている。しかしこのような実験結果だけから、種皮が変温の影響をうける部分だと判定することは適当でない。事実 MORINAGA (1926)⁷³⁾ 自身、変温の効果が胚にたいするものであるかもしれないことをほのめかしているが、筆者がえた一連の実験結果、ことに不利な発芽温度で可逆的な阻害過程がつくられるという事実 (Table 1) は、変温条件によって“直接”影響をうけるのが種皮ではなくて、物質代謝をいとなんでいる部分、おそらくは胚であることを示している。もしも変温の主要な効果を種皮にたいするものとするならば、Fig. 11 のような結果を理解することは困難である。ここでとくに“直接”とのべたのは、発芽における種皮の役割を考えてのことである。つまりタネの発芽は、胚と胚をつつんでいる組織ないしはその条件とのあいだのバランスでまゐるものであり、後者の条件がたとえ一定であっても、胚の成長力がそれをうわまわれれば発芽にいたるはずである。

ここで胚の“成長力”という言葉をもちいたが、これは代謝系の反応のツヨサとでも考えられるべきものであり、たとえばある物質が閾値の濃度になったことによって、はじめて発芽への反応がはじまるという考え方¹⁰⁹⁾ や、co-factor が蓄積することによって代謝活性が増大するという考え方¹⁵⁾⁹⁰⁾ などの例とおなじである。こうして、胚が変温条件の影響をうける主要な部分であるとする立場から、湿層処理の効果がすすむにつれてヤチダモのタネの発芽にあらわれる特異な温度反応は、WENT (1944, 1948)¹¹¹⁾¹¹²⁾ のような温過性に対応されうる現象、すなわち発芽における温過性の所産であると考えられる。この章のはじめにふれたように、変温がタネの発芽に影響をおよぼす例はかなりおおくしられてきたが、これらは温過性という概念のもとに統一的に再検討されるべきであるだろう。

ところで現在までのところ、ヤチダモのタネの発芽における温過性は、“ことなる適温をもった2つ以上の反応系のあいだのバランスによってもたらされる”という程度以上に、具体的な諸反応の様相にふれることは困難である。これまでに筆者が研究した2, 3の点については第3章でふれるが、ここでこれらの諸反応をひっくるめて温過反応となづけると、ヤチダモはじめ変温条件で発芽が有利におこるようなタネの胚の“成長力”は、温過反応によってたかめられ、その結果これらのタネを発芽にまでもたらすものと思われる。BORTHWICK (1957)²³⁾ ものべているように、この分野のおおくの研究成果は、タネを発芽にもたらしいくつかの代謝経路があることを暗示しているが、よくしられているもう1つの発芽への経路は光によって調節されるものである。光が発芽に有利にはたらくようなタネのなかでは、光感経路がより主要

Table 4. 25°C に 10 日間おいたあいだにヤチダモのタネにつくられた阻害過程の低温 (5°C) による回復
湿層処理条件: 25°C (3 か月) — 2°C (3 か月)。湿層処理のはじめから試験期間中暗黒条件。

Recovery of the inhibitory processes occurring in stratified *F. mandshurica* var. *japonica* seeds during the 10-day incubation at 25°C with the increased period of cold treatment (5°C). Stratified at 25°C for 3 months followed by 3 months at 2°C. Kept in darkness from the beginning of stratification to the end of test. Germination percent in 12 days at 25~8°C just after stratification: 79.2%.

冷 処 理 の 期 間 Period for cold treatment (Days)	25~8°C での 12 日間 の発芽率 Germination percent in 12 days at 25~8°C (%)
0	2.8
10	3.8
20	3.0
40	24.8
80	71.1

な発芽への経路であるだろうが、このようなタネの胚の“成長力”は、Isikawa らのいう光感機構、いいかえれば広義の光週反応⁽¹⁹⁾⁽²⁰⁾⁽⁵³⁾⁽⁵⁵⁾によってたかめられるものと思われる。いずれの経路も、湿層処理によっていちじるしい影響をうける⁽¹¹⁾⁽⁴⁸⁾⁽⁷⁹⁾⁽⁹¹⁾が、湿層処理期間をいちじるしくなくした場合に、きわめてひくい温度で発芽しはじめる事実を考えあわせると、ここにも 1 つの発芽への経路を考えなければならないかもしれない。しかも次節あるいは第 2 章にくわしく示すような実験結果から、これらの発芽への経路がおたがいに独立した無関係のものではないことが理解されるだろう。

1-8. 光感性および温週反応と光感反応の相互関係

前節までにしめた発芽試験の大部分は、光について特に考慮をはらわないで行なったが、温度をかえるときや発芽結果をしらべるときにあたる程度の散光が、重要な影響をおよぼすようには思われなかった。光条件と温週反応との関係をしらべるのはじめての試みは、25°C によってつくられる阻害過程が光によって影響をうけるかどうかについて行なわれた。25°C にたもったベトリ皿床に、毎日 8 時間散光をあたえる区、連続光——昼間は散光、夜間は昼光色蛍光灯を光源にしたおよそ 1,000 ルックスの光——をあたえる区をもうけたが、いずれもほとんど効果がみとめられなかった。

ついで湿層処理の間の光条件の影響と、発芽試験の間の光条件の影響をしらべた。3 か月間の高湿処理期間と発芽試験の間は、毎日 8 時間散光をあたえたが、2 か月の低温処理期間は、設備の関係で朝夕 2 回

Table 5. いろいろに湿層処理したヤチダモのタネの発芽におよぼす光の影響

湿層処理のあいだは暗黒条件で、発芽条件にうつす直前に赤色光を照射した。各欄の上の行は、それぞれの発芽条件での 12 日間の発芽率で、() 内はその後 10 日間毎日 8 時間光をあてて発芽させたものをあわせた 22 日間の総発芽率。

Effect of light on the germination of stratified *F. mandshurica* var. *japonica* seed. The seeds were stratified in darkness, and exposed to red light just before transfer to germination conditions. The number without parenthesis shows the germination percent in twelve days at each germination condition, and that in parenthesis shows the final germination percent in twenty-two days, during the later ten days of which the seeds were exposed to white fluorescent light.

発芽条件 Condition for germination		赤色光を照射しない Not R-irradiated			赤色光を照射した R-irradiated : 3 hours	
		25°C	25~8°C		25°C	25~8°C
		暗 Darkness	黒 Darkness	25°C のあいだ 光をあてる Light for 25°C	暗 Darkness	黒 Darkness
湿層処理期間 Stratifying period		発芽率 (Germination percent)				
at 25°C (Months)	at 2°C (Months)					
3	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
3	1	0 (0)	1.3 (1.9)	5.3 (18.9)	0 (0)	3.4 (6.3)
3	2	0 (0)	29.2 (32.6)	74.2 (87.6)	0 (0)	50.3 (51.4)
2	2	0 (0)	15.8 (23.6)	— (—)	0 (0)	23.6 (32.6)
3	3	0 (0)	79.2 (84.6)	84.2 (95.9)	1.8 (1.8)	78.4 (86.0)

およそ 100 ルックス (光源: 昼光色蛍光灯) の光を 20 分あてただけである。すでに報告したように¹³⁾, この程度に湿層処理したタネの発芽は, 光によってほとんど影響をうけないことがわかる。

そこでつぎの試みを, いろいろに湿層処理したタネの発芽における光の役割をたしかめるために行なった。発芽床に 0.7% の寒天床をもちいた点をのぞいて, 方法は前の場合とまったくおなじである。この実験では, 湿層処理期間はすべて暗黒にたもち, 発芽試験にうつすときに温度条件・光条件についていくつかの区にわけた。それぞれの発芽試験条件にたいする結果は Table 5 のようである。この結果によって, ヤチダモのタネの発芽に光感性が存在することがあきらかになったが, これは外国産のタネもふくめて, トネリコ属のタネについて光感性がみとめられたはじめての例である。そして光感性は湿層処理, ことに低温湿層処理期間をながくするにつれてしだいにあらわれ, その後ふたたびしだいによわまる。ここで光感性がしだいにみとめられなくなるのは, 温週性がしだいにたかまって前者にとってかわるためであるらしい。これら 2 つの代謝経路が湿層処理にともなってどのように消長するか, ことに両反応の相互関係がどのようにかわるかについては, ふたたびつぎの節でふれることにする。

タネの発芽における光感反応について, 赤色光 (約 6,600 Å) が発芽を促進し, 赤外光 (約 7,300 Å) が発芽を抑制すること, 両反応はある色素系をとおして可逆的にかわりうるということがひろく知られてきた²⁴⁾¹⁰⁴⁾¹⁰⁹⁾が, ヤチダモのタネにみいだされた光感反応が, おなじような可逆機構をもっているかどうかをしらべた。方法は Table 5 にしめた実験の場合とまったくおなじで, 湿層処理期間 (25°C: 4 か月; 2°C: 2 か月) はすべて暗黒にたもち, 発芽条件 (25°C~5°C) にうつすときに光照射を行なった。Table 6 にしめすような実験結果から, ヤチダモのタネの発芽における光感反応にも, 赤色光と赤外光によって可逆的に転換する光感系が関係していることがあきらかになった。ここで従来知られている例とくらべてややことなる点は, 赤外光によって赤色光の促進効果が完全にうちけされないことであるが, このことは, 赤外光だけを照射した場合にみとめられるある程度の促進効果とともに, 将来こまかく検討しなければならない。同様な事実がアカエゾマツの湿層処理したタネについてもみられたが, その無処理のタネ, あるいはクロマツの場合には完全に可逆的に進行したので, 技術的な欠陥によっているとは思われない*。

Table 6. 赤色光と赤外光にたいするヤチダモのタネの発芽反応

Reversal of light effect by repeated alternations of red (R) and far-red (FR) irradiations in the germination of stratified *F. mandshurica* var. *japonica* seeds. Stratifying condition: 25°C (3 months)—2°C (2 months). Irradiations were made just before transfer to germination temperature (25~5°C). Dark control: 44.0%. Daily white light for 8 hours at 25°C: 93.1%.

照 射 光 の 種 類 Irradiation	60 min./irrad.	120 min./irrad.
	Germination percent in 12 days	
R	94.0	89.4
FR	62.2	59.6
R+FR	71.8	66.9
R+FR+R	96.1	96.5
R+FR+R+FR	66.2	62.0

* ASAKAWA, S. & T. INOKUMA: 日林誌 43, 10, pp. 331~335 (1961)

さて光感反応は、それ自体ではヤチダモのタネを発芽にまでもたすことはできないらしい。光を週期的にあたえる場合にはこれと並行して、また発芽試験のはじめに一時的に光をあてる場合にはこれにひきつづいて、変温条件をあたえなければ発芽にはいたらない。また3時間の赤色光による1回照射が、週期的に光をあたえた場合の効果よりはすくないが、かなりいちじるしい効果をもたらしたことから、光をうけとる反応が発芽への過程のはじめの部分に位置していて、温週反応にしたがわれるべき性質のものであることがわかる。光感反応が発芽への過程のはじめの部分にあることは、Table 5 の 12 日間の発芽率

Table 7. 発芽温度 (25~5°C) にうつしてからの時間の経過と、赤色光照射にたいするヤチダモのタネの発芽反応の関係

Effect of a single red irradiation on the germination of stratified *F. mandshurica* var. *japonica* seeds at various intervals after transfer to germination temperature (25~5°C).

(I) R-irrad. : 120 minutes

Seeds stratified at 25°C for 4 months
followed by 2 months at 2°C.

発芽温度にうつしてからの時間 Interval after transfer to germination temperature (Days)	12日間の発芽率 germination percent in 12 days
0	89.4
1	89.6
2	92.2
3	85.3
4	91.6
5	86.6
7	71.9
Dark control	44.0

(II) R-irrad. : 30 minutes

Seeds stratified at 25°C for 3 months
followed by 2 months at 5°C.

発芽温度にうつしてからの時間 Interval after transfer to germination temperature (Days)	発芽率 Germination percent in	
	12 days	17 days
0	70.7	—
1	90.8	—
2	77.5	—
4	77.4	78.4
8	60.5	84.6
Dark control	53.9	64.7

The germination percentages in 12 and 17 days were obtained for different lots.

と 22 日間の発芽率を比較してもわかる。つまり 12 日目以後の光照射は、それ以前に暗黒条件でつくられた状態をほとんどかえることができない。もっとも、このことははじめの 12 日間におかれた温度条件によって異なるが、これについては次節でふれることにする。なお 25~5°C の発芽温度で、光照射の効果がみとめられなくなる時期をしらべてみたが、発芽温度にうつしてから 8 日目までは、依然としてその促進効果がみとめられた (Table 7)。

このように、ヤチダモのタネに存在する光感機構は、あるシカタで温週反応とむすびつかなければならぬが、これと似た現象が *Elsholtzia* のタネについて報告されている⁵⁴⁾。これにしめした一連の実験結果は、光化学的の反応をとおして準備される状態が、温週反応が進行するための前駆的状态として役立っていることを暗示している。さらに温週反応と光感機構とのあいだの明確な関連をしめす興味ある事実は、赤色光の短時間照射が、部分的にはあるが、25°C でつくられる阻害過程を回復させることである。

Table 8 の実験結果は、25°C での阻害過程のすすみ具合と、赤色光によるその回復度合との関係をしめしているが、赤色光が阻害過程をのぞく作用は、25°C での反応がすすむにつれてしだいに減少する。ある程度以上にすすんだ阻害過程は、1-6 節でのべたように、低温におくことによってのみゆっくり解除される。この阻害過程をのぞく赤色光の作用が、すでにのべたような色素系をとおしておこっていること

Table 8. 25°C でつくられた阻害過程の赤色光照射による回復

Recovery of the inhibitory processes produced in stratified *F. mandshurica* var. *japonica* seeds at 25°C by the R-irradiation just before transfer to 25~5°C. R-irradiated immediately after stratification and then transferred to 25~5°C: 89.4%. Dark control: 44.0%. Stratifying condition: 25°C (3 months)-2°C (2 months).

25°C においた日数 Time in days of incubation at 25°C	赤 色 光 照 射 R-irradiation (min.)	12 日間の発芽率 Germination percent in 12 days
3	0 120	29.2 84.9
5	0 120	2.4 51.4
7	0 120	0.6 4.1

Table 9. 25°C に 5 日間おいたヤチダモのタネの発芽と光照射の関係

Reversibility between R- and FR-effects on the germination of stratified *F. mandshurica* var. *japonica* seeds after 5 days of incubation at 25°C. After 5 days at 25°C, irradiations were made just before transfer to alternating temperatures (25~5°C). Stratifying condition: 25°C (3 months)-5°C (2 months).

25°C においた日数 Incubation at 25°C (days)	照射した光の種類と時間 または冷処理 Irradiation (Time in min.) or prechilling	発 芽 率 Germination percent in	
		12 days	23 days
0	No irradiation R (10)	48.5 81.6	56.8 —
5	No irradiation	1.2	9.1
	R (10)	12.0	49.7
	R (60)	13.7	58.9
	R (60)+FR (60)	1.9	10.3
	Prechilled for 90 days at 5°C	90.9	94.3

は, Table 9 の結果からあきらかである。

したがって, 高温でおこる阻害反応は, BORTHWICK らによって提唱されているような色素系²⁴⁾²⁵⁾を中心とした光感機構にたいして, すくなくとも副次的に影響をあたえるものであるだろう。このように光感機構が, ある特定の状態にあるときだけ温週反応が効果的にはたらくから, 温週反応の解析には光感反応との関連を十分に考えなければならないだろう。

1-9. 温週性および光感性の消長

ヤチダモのタネの発芽における温度要求が湿層処理条件によってかわることは, すでにのべたおおくの実験をとおしてあきらかである。いろいろに湿層処理したタネについて, このような変化をしらべたところ¹¹⁾, 高温湿層処理にひきつづく, 低温期間をながくするにつれて, 発芽のさいの温度要求の特異性がへり, したがって同時に最終発芽率も増加する傾向がみられた。またこのような変化は, 湿層処理をおこな

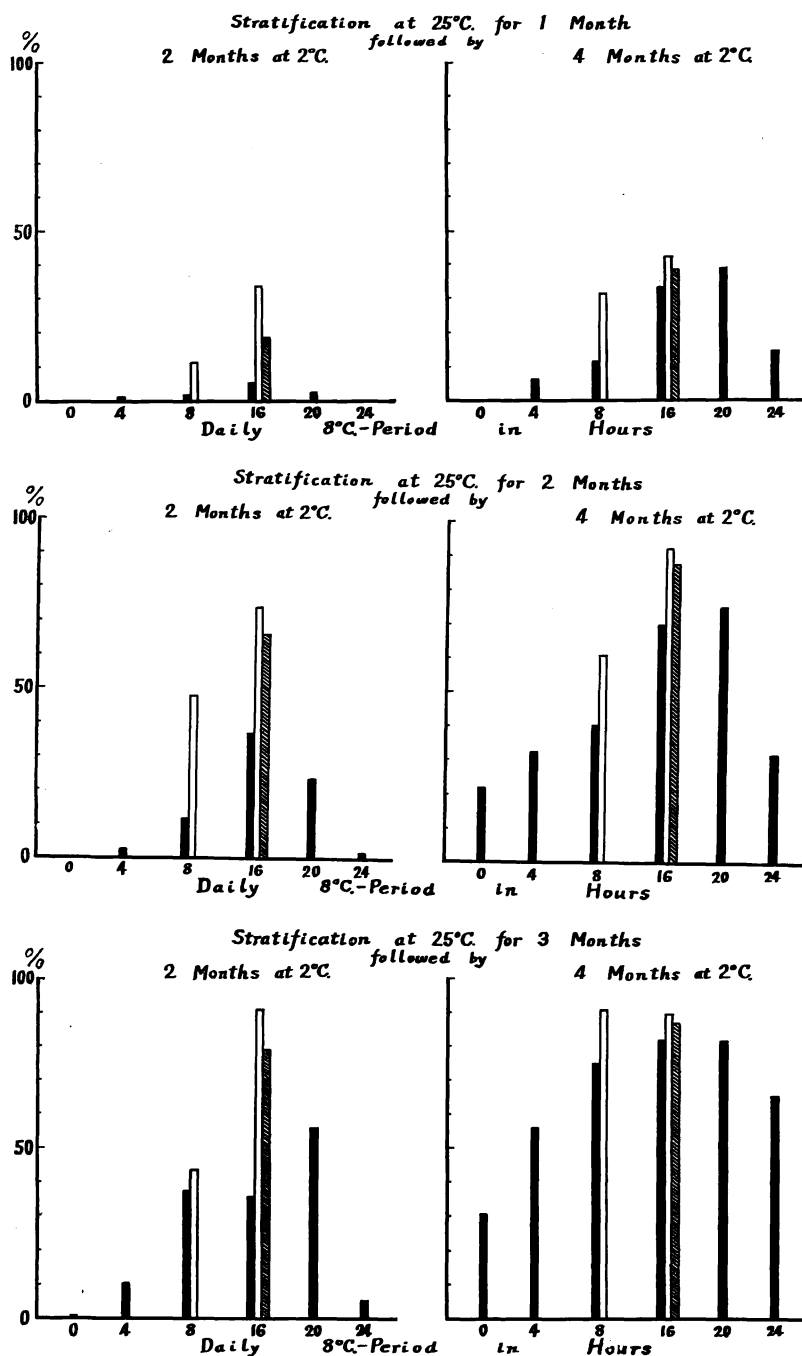


Fig. 12 湿層処理条件による温週性と光感性の消長

Germination behavior of stratified *F. mandshurica* var. *japonica* seeds to various daily thermoperiods and to light condition. Each column shows the germination percentage in 12 days. The painted, blank, and shaded column show dark condition, white light for 8 hours, and red irradiation of 6 hours just before transfer to germination temperature. Abscissae show the daily 8°C-period in hours, and for the remaining hours seeds were kept at 25°C.

うまに果皮をのぞくことによってずっとはやくあらわれた。

ついで前節であきらかにした光感性をもふくめて、温適性が湿層処理条件によってどのようにかわるかをしらべた。前節 Table 5 にしめた実験とまったくおなじ方法で、各湿層処理区はすべておなじ時期に処理をおわるようにし、同時に発芽試験を行なった。暗黒区のもの、湿層処理後そのまま発芽条件にうつし、光をあてる区のもの、黒紙からとりだして、25°C におかれている間およそ 1,000 ルックスの光 (光源: 昼光色蛍光灯) をあて、8°C のあいだは暗黒状態にたもった。一方赤色光照射区のもの、発芽温度にうつす直前に黒紙からだして、6 時間赤色光にあてたのち、ふたたび黒紙で二重につつんで暗黒条件にもどした。

Table 10. 湿層処理条件による温適性と光感性の消長

Germination responses of stratified *F. mandshurica* var. *japonica* seeds to various daily thermoperiods and to light condition. For ten days after the first counting on the end of the 12th day, all the lots were kept at 25~8°C and daily exposed to white light for 8 hours at 25°C. The number in () shows the total germination percentage for 22 days. Light: Daily white light for 8 hours at 25°C. Red: Red irradiation for 6 hours just before transfer to germination temperature.

湿層処理期間 Stratifying period in months at		発芽率 Germination percent in 12 days (in 22 days) (%)								
		毎日 8°C に お い た 時 間 Daily 8°C-period (hrs.) in the cycle of 24 hours, and 25°C for the remaining hours								
25°C	2°C	0	4	8	16			20	24	
		Dark	Dark	Dark	Light	Dark	Light	Red	Dark	Dark
1	2	0	1.1 (1.1)	1.7 (1.7)	11.2 (15.0)	5.4 (6.6)	33.6 (41.4)	18.7 (20.0)	2.4 (9.6)	0 (47.1)
	4	0	6.6 (6.6)	11.3 (13.1)	31.6 (47.8)	33.1 (41.1)	42.5 (53.1)	38.9 (43.8)	39.0 (59.0)	14.4 (62.4)
2	2	0	2.7 (2.7)	11.8 (11.8)	47.9 (57.1)	37.0 (46.8)	74.0 (84.3)	66.2 (66.2)	23.8 (54.8)	1.8 (73.6)
	4	22.4	32.6 (35.7)	40.5 (43.9)	61.0 (66.2)	70.0 (75.3)	92.5 (96.4)	88.0 (88.0)	75.6 (92.4)	32.1 (90.1)
3	2	0.6	10.1 (11.3)	37.6 (37.6)	43.7 (52.5)	35.6 (53.2)	91.3 (95.7)	78.7 (84.9)	55.9 (80.5)	5.2 (95.2)
	4	30.9	56.0 (56.5)	75.0 (76.6)	90.9 (94.8)	81.9 (87.7)	89.6 (95.7)	87.0 (90.4)	81.8 (93.2)	65.2 (94.5)

これらの各区の発芽反応を Fig. 12 および Table 10 にしめす。Fig. 12 はことに温適性、光感性の消長をはっきりしめしているが、これまでの報告¹¹⁾¹²⁾ および Table 5 の結果からあきらかなように、普通どちらも高温または低温湿層処理の一方だけではあらわれない。高温湿層処理にひきつづいて低温にあわせることによってはじめてあらわれる温適性、光感性は、それぞれの処理期間をながくするにつれてしだいにつまり、そしてふたたびしだいによまる。ここで“よまる”という意味は、特別な温度条件、光条件を要求しなくなるということ、つまりこれらの条件についての発芽できる幅がひろがるということである。冷処理による光感性の消長については、すでに数種の針葉樹のタネについて報告されている⁴⁷⁾⁴⁸⁾⁷⁹⁾。また Fig. 12 であきらかなように、光感反応の温適反応による代行の傾向が、とくに低温湿

層処理によって影響されるようである。こうして 25°C で 3 か月、 2°C で 4 か月湿層処理すると、 25°C (8 時間)~ 8°C (16 時間)の温週期のもとでは、ほとんど光線の影響がみとめられなくなる。この場合にも、毎日の低温期間をみじかくすると光線の影響が増加するから、すくなくとも部分的に、光感反応と温週反応は相互にかわりうるものと思われる。この実験では赤色光を 6 時間照射したが、それでも毎日週期的に光をあたえた場合の効果よりはひくかった。したがって、照射すべき光の量、適期については今後さらに検討しなければならない。

前節で、発芽条件にうつしてからある期間をへて光を照射しても効果がないこと、したがって、光感機構は発芽への過程のはじめの部分でのみ活性であるらしいことをのべた。しかし Table 10 の結果をみると、光感機構がその活性を持続できる期間は、タネがおかれる発芽温度条件によってことなることがわかる。つまり、光照射が効果をしめさなくなったのは、光感機構がそれまでの温度条件で不活性化されたためと思われる。 25°C におかれる時間がながくなるにつれて、不活性化されるタネが増加する。

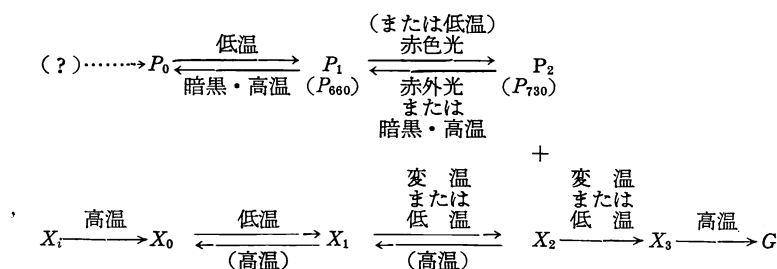
こうして、ヤチダモのタネの発芽と温度・光条件との関係はつぎのように要約される。このタネの発芽への代謝経路には、温週反応系と光感反応系が密接な関係をたもって共存しているが、とくに温週反応系が主導的役割をはたしている。光感反応はことにはじめのうち温週反応の先駆的役割をはたしているが、その後も温週反応をおさなう役割をはたしている。これら反応系の消長をみると、ある期間の湿層処理によってはじめで“温週反応をしめす時期 (thermoperiodic phase)” があらわれるが、その初期はことに特異な温週期を要求する。その後期にいたるほど低温反応を要求する度合がへり、まもなく“温週反応をしめさない時期 (non-thermoperiodic phase)” にうつる。この段階にうつったタネは、高温におく時間をおくするほどはやく発芽するようになる。このような温度反応についての内的状態のうつりかわりに並行して、光感反応についての内的状態もしだいに变化するが、光照射の効果があるのは、高温湿層処理にひきつづく低温湿層処理期間の初期であり、おなじ高温湿層処理期間にたいして低温湿層処理の期間をながくすると、光照射を必要としなくなる。

1-10. 発芽機構の図式

タネの発芽における光感機構について、光感色素系の転換がおこるという考え方が BORTHWICK et al.²⁴⁾ によってだされたが、その後 WAREING¹⁰⁹⁾も同様な考え方にもとづいて、発芽経路を図式的に説明した。最近になって、BORTHWICK 一派は、光感色素が phytochrome となづけられる蛋白様の物質であり、これが植物における光感諸反応に関与していることを明らかにした²⁵⁾。すでにくりかえしのべてきたように、ヤチダモのタネの発芽経路においては、光感機構と温感機構とが巧妙にかみあっていることがあきらかであるが、この場合の光感機構も、BORTHWICK らが考えた機構ときわめてよく似たもので、おそらく phytochrome が関与しているものと考えられる。

これまでの実験結果にもとづいて、ヤチダモのタネの発芽における両機構の関連は、次のような図式によって理解されるだろう。

すなわち、 P でしめす光感系についてみると、はじめの状態 P_0 は湿層処理をへてはじめて P_1 に变化するが、この P_1 はおそらく BORTHWICK らのいう P_{660} にあたるもので、赤色光の照射によって P_2 に变化する。この P_2 がおそらく BORTHWICK らのいう P_{730} にあたるものと思われ、この場合には部分的ではあるが、赤外光によって P_1 にもどる。低温湿層処理の期間をながくした場合、光に対する要求がしだいに減少するが、これはこの間に P_1 が P_2 に転換したためか、あるいはまったく別の反応がおこ



り、 P_2 なしに次の過程がすすむことができるようになるためか、これまでのところではどちらと断定できるような結果はえられていない。針葉樹のタネについてもしられているように、低温処理の効果が赤外光照射によって打ち消されないところをみると、後者の考え方も可能ではあるが、数日間高温においてから変温にうつす直前にあてた赤色光が部分的に発芽を促進し、しかもこの赤色光の効果が赤外光によって打ち消されることから、ここでは $P_1 \rightarrow P_2$ の反応がおきたものと考えた。

一方、 X_i, X_0, X_1, X_2 および X_3 は、発芽経路におけるある種の生理的状态をしめしている。 X_i はヤチダモのタネがオヤ木の上で成熟した時の状態であり、この状態は高温湿層処理をとおして X_0 に、ひきつづく低温湿層処理をとおして X_1 に転換する。温過反応を示す時期の初期のタネは X_1 の状態にあるもので、変温のもとで $X_1 \rightarrow X_2$ の反応がすすみ、光の影響下でできる P_2 の存在のもとにさらに X_3 にすすんで発芽する。 $X_1 \rightarrow X_2$ の反応は低温でもゆっくりすすむが、 X_2 の状態が温過反応を示す時期の後期にあたるもので、この状態のタネは、変温条件におくだけで、すでにできていた P_2 と共転して X_3 になり暗黒でも発芽する。 $X_2 \rightarrow X_3$ の反応もまた低温でゆっくりすすむ。この X_3 の状態が温過反応を示さない時期で、高温にうつすとすみやかに発芽する。一方、 X_1, X_2 の状態にあるタネを高温におくと阻害的な状態がつくれ、この状態から回復させるには低温でかなりの期間処理しなければならないから、 P 系列の場合とおなじように、ここでも高温で $X_0 \leftarrow X_1 \leftarrow X_2$ の方向への反応がおきるものと考えられる。この点をあきらかにするためには、変温条件で X_1 から X_2 にすすむ反応の実体をあきらかにすることが必要である。 P_2 が X 系列の反応にどのように関与しているかをあきらかにすることが必要である。

1-11. 要約

温層処理をうけたヤチダモのタネは、発芽にあたってきわめて特異な温度要求をしめたが、これは従来変温の効果としてしられていたものである。ところで特定の高温 (25℃) と低温 (8℃) をくみあわせたところ、発芽反応にあきらかな週期性がみとめられたが、実験結果は、それぞれの温度である反応群がかわりあうことを暗示した。高温ですすむ反応群は発芽にとって阻害的な状態をつくるが、このような状態は、低温 (2℃) におくことによってゆっくりのぞかれる。このようなヤチダモのタネの温度反応をふくめて、発芽のときの変温にたいする反応の傾向を、発芽における温週性とよぶことにし、このような傾向をもたらし反応群全体を温週反応となづけた。一方、ヤチダモのタネの温週性は、光感反応と密接な関係にあることがわかった。このタネの光感反応においても、赤色光が促進的に、赤外光が阻害的に作用するから、phytochromeが重要な役割をはたしているものと考えられる。しかし、光をあたえるのと平行して、あるいは光照射にひきつづいて変温をあたえなければ発芽にはいたらない。また、高温でつくられる阻害過程にも、phytochrome が関係している可能性がおおきい。温週反応と光感反応の関係は、温層処理の方法によって、いいかえればそのような処理によって影響を受けるタネの内的状態によってかわるも

のである。温過性は、ある期間の湿層処理ののちにはじめてあらわれ、内的状態が発芽への方角にすすむにつれてしだいにみとめられなくなる。この時期のタネは、低温反応に依存する度合がしだいにすくなる。光感反応は温過反応の先駆的役割をはたしているものと思われるが、温過性の消長過程の初期において、とくに重要な役割をはたしている。最後にこれまでにえられた実験結果にもとづいて、ヤチダモのタネが発芽にいたる経路を図式的に考察した。

第 2 章 発芽における温過性の普遍性

第 1 章では、ヤチダモのタネを材料として、発芽における特異な温度反応とその消長をあきらかにしたが、そこに温過反応とよべるような発芽への代謝経路が考えられること、温過反応にもとづくと思われる発芽のシカタの傾向にたいして、温過性という概念が提唱されうことを論じた。この章では、このような温過性がはたしてほかの林木のタネにもみられるかどうか、これまでの文献にあらわれた結果と、筆者が行なったいくつかの樹種のタネについての実験結果をもとにして、その普遍性について考えてみたい。

2-1. これまでの研究の要約

第 1 章の 1-1 節でものべたように、タネの発芽が変温条件で有利にすすむといわれる例はきわめておおいが、林木については、はっきりした実験結果があまりおおやけにされていない。わがくにでは小山 (1927)⁶⁰⁾ が、比較的高温 (20°C ないし 25°C) の定温条件でほとんど完全に発芽する第 1 類のタネと、このような温度条件ではほとんど発芽しないが、変温条件か、発芽試験にさきだつてある期間冷処理 (5°C) するとよく発芽する第 2 類のタネに分けている。ここで変温とは、発芽床を毎日一定時間ずつ高温 (20°C ないし 25°C) と低温 (5°C ないし 10°C) におくことを意味している。第 1 類には針葉樹の大部分、マメ科植物、カバ、ハンノキ類、カン類、カツラ、アオギリ、ヒメツバキ、キリなどを、第 2 類にはチョウセンマツ、オニグルミ、ヒメグルミ、ケヤキ、ホオノキ、エノキ、オオシマザクラ、ヤマナシ、ノイバラ、シンジュ、カエデ類、グミ、トネリコなどをいれているが、具体的な実験結果は、わずかにケヤキ⁶²⁾⁶³⁾⁶⁴⁾、ホオノキ⁶³⁾、ウルシ⁶³⁾およびノイバラ⁶⁵⁾についてしめされているにすぎない。しかし前の 3 種のタネについては、変温条件と発芽の関係について、かなりくわしい実験結果を報告している。

この研究によれば、これら 3 樹種のタネの発芽にたいする温度要求は、第 1 章に報告したヤチダモのそれによく似た傾向をしめしている。すなわち、ケヤキ、ホオノキのタネは、冷処理 (5°C ないし 10°C) をしてから 20~24°C (12 時間) — 3~7°C (12 時間) の変温条件で発芽させるのがもっともよく、ウルシのタネは濃硫酸法、または浸湯法で種皮を処理してから、20~24°C (9 時間) — 5~10°C (15 時間) の変温条件で発芽させるのがもっともよいとしている。いずれの場合にも、もちいた変温条件のなかでは、低温におく時間のもっともながいものがよいという点で一致している。ケヤキについてはさらに、20°C ~ 24°C にたもって発芽しなかったものを変温条件にうつして観察しているが、その結果はある種の積極的な阻害状態が、20~24°C におかれたあいだにつくられたことを暗示している。もしも小山 (1927) が、未発表の類似した実験結果にもとづいて、うえのような 2 群にわけたとすると、ヤチダモのタネにみられたような性質が、程度にちがいはあるとしても、かれのいう第 2 類のタネにかなり一般的に存在するものかもしれない。その後田添 (1934)⁹⁹⁾ も、恒温 (25°C) で発芽するタネと、変温 (5°C に 12 時間、25°C に 12 時間) で発芽するタネをわけているが、2 つの温度条件について比較できる結果は、わずかにトドマツ、クロエゾマツ、アカエゾマツについてしめしているにすぎない¹⁰⁰⁾。

一方、欧米の林木のタネについての研究をみても、検査規約* などには変温条件がかなりひろくとりいれられていながら、それらの実験的よりどころはあまりあきらかでないように思われる⁴¹⁾。ROHMEDE (1951)⁸⁶⁾ は *Picea excelsa*, *Pinus silvestris*, *Larix europaea*, *Betula verrucosa*, *Alnus glutinosa* および *Pseudotsuga menziesii* のタネについて、光条件と関連させて変温 (20~30°C, 20~25°C) と定温 (25°C) とを比較した。これらの樹種のタネは、おおむね定温条件で発芽するグループにはいるはずである⁸⁶⁾が、事実ここに報告されている結果にも、いちじるしいちがいはみとめられない。しかしおおくの場合、変温の方が有利のようで、ことに不適当なとりあつかいなどで活力のよわったタネの場合に、このことがいえるということは興味あることである。とにかくこれらのタネについては、種により、そのほかの因子により、非常にまちまちの結果がでているので、変温の効果について、一般的な結論をだすことはできなかった。なお変温の効果は、光の効果と部分的にかわりうることがあきらかにされた。ごく最近 OLSON と STEARNS (1958)⁹¹⁾, (1959)⁷⁹⁾ は, *Tsuga canadensis* のタネの発芽と、外因ことに光週期と温度条件との関係についての詳細な研究のなかで、このタネの発芽に温週性 (thermoperiodism) がみとめられると述べた。かれらは 44°F (=7°C), 53°F (=12°C), 62°F (=17°C), 71°F (=22°C), および 80°F (=27°C) の5つの温度を昼間と夜間にくみあわせ、湿層処理をうけないタネについては、昼間 22°C, 夜間 12°C の組合せがいちじるしくよい結果をあたえるが、湿層処理 (1~5°C で 10 週間) をうけたタネでは、温度反応におけるこのような特異性がずっと減少することを報告している。また *Ulmus americana* のタネでは、光にたいする要求が、変温 (30~20°C) によってのぞかれることがしられている¹⁰⁵⁾。

2-2. トネリコ属樹木のタネの発芽特性

この属には、いちじるしい発芽遅延をしめすタネがふくまれているので、これまでにかなりおおくの研究が報告されてきたが³⁾⁸⁾³²⁾³⁵⁾³⁶⁾⁴¹⁾⁶⁷⁾⁷⁴⁾⁷⁵⁾⁹²⁾⁹⁹⁾¹¹⁴⁾, わがくにはもとより、欧米にも温度要因と発芽との関係についてくわしくしらべた実験的研究はほとんどなかった。わずかに STEINBAUER (1937)⁹²⁾ は、高温—低温湿層処理をした *Fraxinus nigra* のタネの発芽にもっともよい温度は、20°C と 30°C の変温条件だとのべているが、実験的よりどころが示されていない。また NIKOLAEVA (1951)⁹⁴⁾ も *Fraxinus Pennsylvanica* のタネについて報告しているが、その焦点は発芽がおくれる原因についてで、温度条件という点からみると、ごくかぎられた結果をしめしているにすぎない。

一方ヤチダモのタネと比較するために、トネリコ属の数種のタネの発芽特性をしらべた筆者は、それらの分類学的位置⁶⁹⁾⁷⁸⁾⁸⁵⁾⁸⁷⁾ およびタネの形態的特徴にもとづいて、この属の樹木が2群にわけられることをのべた³⁾⁸⁾が、その1つは、タネがみのったとき胚が十分に成長しているもの (I型)**で、わがくにのものは、ヤチダモをのぞいてすべてこのグループにはいる。外国種についてみても、報告されているかぎりでは、*Bumelioides* 亜節以外の種はこれにはいるもののようである³⁾⁸⁾⁹⁾²⁸⁾⁷⁴⁾。他の1つは、タネのみかけがみのったとき、まだ胚が十分成長していないもの (II型)**で、わがくにのヤチダモがはいるほかに、*Fraxinus excelsior*³²⁾³⁵⁾³⁶⁾⁶⁷⁾, *F. nigra*⁹²⁾, *F. quadrangulata* など *Bumelioides* 亜節にぞくするおおくの種のタネについてこのことがしられている。

* Proc. Internatl. Seed Testing Assoc. 24, pp. 475~584 (1959)

** 胚の成長の程度をくらべる方法として胚長比 (embryo ratio) がしられているが、 $\frac{\text{胚のながさ}}{\text{タネのながさ}} \times 100$ によってもとめた胚長比を、2つの型についてくらべてみたところ、I型のシオジが 95.1 ± 1.1 であるのたいして、II型のヤチダモでは 71.5 ± 5.3 という測定値がえられた。

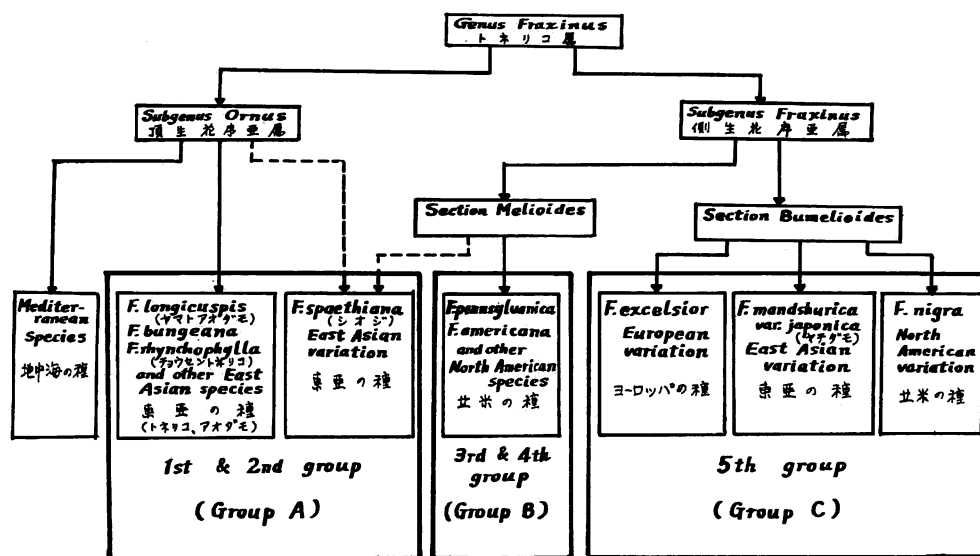


Fig. 13 トネリコ属の種の分類学的位置とタネの性質の関係
Interrelation of seed characteristics and systematic placing of the species
in genus *Fraxinus* (NIKOLAEVA 1958⁷³⁾).

タネの発芽特性にも、このような形態的特徴による区分を反映した興味あるちがいがみられるが、ここでは分類学的位置と分布に関連させて、トネリコ属のタネの発芽生理を論じた NIKOLAEVA (1958)⁷³⁾ の報告を中心にして検討してみたい。NIKOLAEVA は、自身の研究⁷⁴⁾や、VARASOVA (1956)⁷⁵⁾ の研究、筆者の初期の研究²³⁾⁸⁾などを総合して、発芽特性の面からこの属を5群に分けた。NIKOLAEVA も図上でくくっているように、第1群と第2群、および第3群と第4群のあいだをわける相違点はむしろ連続的なものであり、筆者は A, B, C の3群にわけたほうがよいと考える (Fig. 13)。

いま3群にしばった立場でそれぞれのグループの発芽特性をみるとつぎのようである。A群のタネは、果皮をのぞけばたいへん容易に発芽する。つまりこれらのタネの発芽をおさえているのは果皮であるが、その程度は、種により、とりあつかい方によってことなる。B群のタネの大部分は、果皮のあるなしにかかわらず容易に発芽しない。これらのタネは、発芽条件におくまえにある期間低温におかなければならないが、その期間は、種により、またとりあつかい方によってことなる。C群のタネの大部分もまた、果皮のあるなしにかかわらず容易に発芽しないが、これらのタネは、低温で処理するのにききだって、ある期間高温におかなければならない。ここでも、高温および低温におかなければならない期間は、種により、とりあつかい方によってことなる。A群とB群は、形態的特徴によってわけられたI型にふくまれるが、これまでしられているかぎりでは、C群はII型とまったく一致している。

ところで発芽のための温度条件という面からみても、うえにのべた3群のあいだをつぎのようにわけることができそうである。すなわちA群のタネは、果皮をのぞけば、定温でも変温でもほとんどおなじように発芽するが、一般に定温の方が発芽勢がたかいかわりに、ごく一部分のタネは変温でないと発芽しないようである。一方果皮をのぞかない場合には、むしろ変温の方が有利であるが、ことに果皮の阻害作用がつよいものでは、定温ではほとんど発芽しない。B群のタネのごく一部分は、果皮をのぞいて変温におけば、低温湿層処理なしに発芽できる。一方大部分のタネは、低温湿層処理後も変温条件でなければ発芽し

ない。最後のC群のタネは、高温—低温湿層処理によってはじめて変温で発芽できるようになるが、はじめのあいだは、24時間週期のうちで低温におく時間をながく要求する。このような湿層処理の期間をながくすると、低温におく時間にたいする要求度がしだいにすくなくなる、つまり、しだいに定温で発芽するタネが増加する。このような発芽のときの温度要求についての知見は、これまでほとんど報告されていないし、ことにその消長については、わずかにヤチダモの例がわかっているにすぎないので、これらを各群の特性ときめてしまうことはもちろんできないが、ごくおおまかには、このような相互関係を考えることができる。

2-3. 数種針葉樹のタネの発芽特性

2-1 に引用した 2, 3 の報告⁸⁶⁾⁸⁸⁾でもわかるように、普通の針葉樹のタネは、25°C ちかくの定温条件で、比較的容易に発芽することが知られている。わがくにの主要な針葉樹のタネについても、かぎられた実験結果にもとづいてではあるけれども、20°C ないしは 30°C の範囲に発芽の適温があるとされてきた⁶¹⁾⁹⁹⁾。しかしながら筆者は、変温条件と定温条件の比較に重点をおいて、温度と発芽の関係を再検討することが必要であると考え、光条件をもあわせ考えた一連の方法で実験をこころみた。

2-3-1. アカマツ・クロマツ

アカマツのタネは、1955 年の秋に、福島県下の富岡営林署部内で、クロマツのタネは、おなじ年に茨城県下の水戸営林署部内でとり、いずれも研究室でうけとってから翌年の春実験につかうまで室内に保存した。冷処理は 1956 年 4 月から 5 月にかけて暗黒条件で行ない 5 月 23 日から一斉に発芽試験を行なったが、冷処理のはじめから発芽試験のおわりまですべて寒天床をもちいた。発芽試験には、3つの冷処理区について、それぞれ定温 (25°C) と変温 (25~15°C) を、これらの発芽温度区について、それぞれ暗黒区と散光区 (毎日 1 時間—変温の場合には 25°C のあいだ—散光にあてた) をもうけた。

(i) アカマツ：12 の発芽条件について、2 週間の発芽率をしめしたのが、Fig. 14 (I) である。この図は、ここでもちいたアカマツのタネが、あきらかに変温条件で一層有利に発芽することをしめしているが、このことはかなり一般的にいえるように思われる⁴²⁾。冷処理をうけないタネについては、温度条件にかかわらず散光の効果がみとめられる。Fig. 14 (II) は、44 日間冷処理したタネと無処理のタネについて、散光区の発芽経過をしめしているが、これによって、2つの温度条件にたいする反応のちがいがあきらかに理解できる。

(ii) クロマツ：アカマツの場合とおなじように、発芽試験の結果を Fig. 15 にしめす。Fig. 15 (I) の結果は、クロマツのタネの発芽が、いちじるしく光感反応に依存していることをしめしている。一方温度条件については、むしろ定温のほうが有利であるような印象をあたえるが、Fig. 15 (II) をみると、ごくわずかではあるが、変温条件での発芽経過の後半に発芽速度の上昇がみられる。

2-3-2. カラマツ・ハリモミ・アカエゾマツ

1956 年の秋、カラマツのタネは長野県下の臼田営林署部内で、ハリモミのタネは山梨県下の甲府営林署部内で、アカエゾマツのタネは北海道空知郡の東京大学農学部北海道演習林でそれぞれとり、研究室でうけとってから翌年のはじめ実験につかうまで室内に保存した。冷処理は 1957 年 1 月から 2 月のおわりまで暗黒条件で行ない、3 月 1 日から一斉に発芽試験を行なった。ここでも、冷処理のはじめから全期間を通じて寒天床をもちいた。発芽試験には、5つの冷処理区のそれぞれについて、暗黒区には4つの温度条件：25°C の定温；25°C (16 時間)~15°C (8 時間)；25°C (8 時間)~15°C (16 時間)；15°C の定温

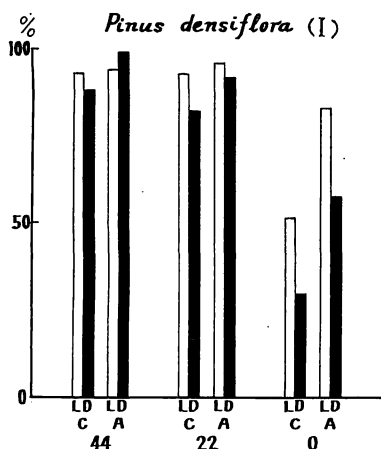
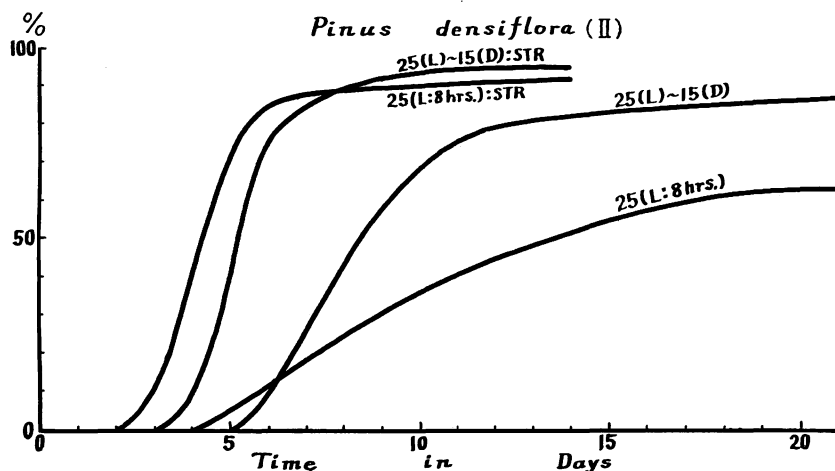


Fig. 14 アカマツのタネの発芽におよぼす温度と光の影響

(I) Germination percent in two weeks of *Pinus densiflora* seeds stratified at 2°C for 0, 22, and 44 days. L : exposed to diffused light for 8 hours every day. D : darkness. C : 25°C. A : 25°C for 8 hours and 15°C for 16 hours (ASAKAWA 1959*).

(II) Germination curves of *P. densiflora* seeds stratified at 2°C for 0 and 44 days (STR). L & D : same as (I).



を、散光区については定温 (25°C) と変温 (25~15°C) をもちいた。

(i) カラマツ：暗黒条件と散光条件のそれぞれについて、25°C と 25~15°C での 12 日間の発芽率をしめしたのが Fig. 16 (I) である。この図でみるかぎり、カラマツのタネの発芽は、アカマツ・クロマツのいずれともことなり、光条件でも温度条件でもいちじるしい影響をうけない。このタネの発芽への経路は、冷処理の期間をながくすることによって、比較的ゆっくりと準備される。一方、暗黒条件における 4 つの温度条件での 12 日間の発芽率を Fig. 16 (III) にしめす。この図も単純に解釈することはできないが、無処理のカラマツのタネは、暗黒条件での発芽にさいして変温条件で一層有利に発芽すること、その傾向は、冷処理の期間をながくするにつれてみとめられなくなることがわかる。Fig. 16 (II) は、4 週間冷処理したタネと無処理のタネについて、散光条件での発芽経過をしめしたものであるが、冷処理したタネについては、変温条件での発芽率が後半定温条件のものをうまわる。

(ii) ハリモミ：カラマツの場合とおなじようにして、Fig. 17 (I), (II), (III) がえられた。無処理のハリモミのタネでは、ほかのどの種のタネともちがって、光感反応と変温の効果がほとんど完全にかわりう

* ASAKAWA, S.: Jour. Japan. Forest. Soc. 41, 11, pp. 430~435 (1959).

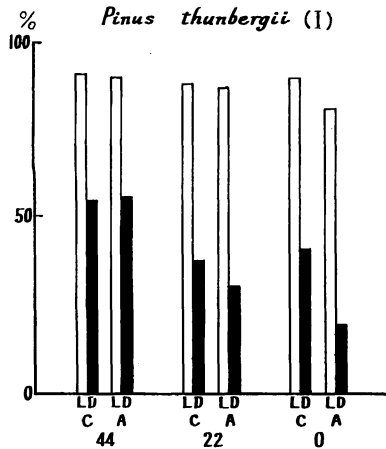
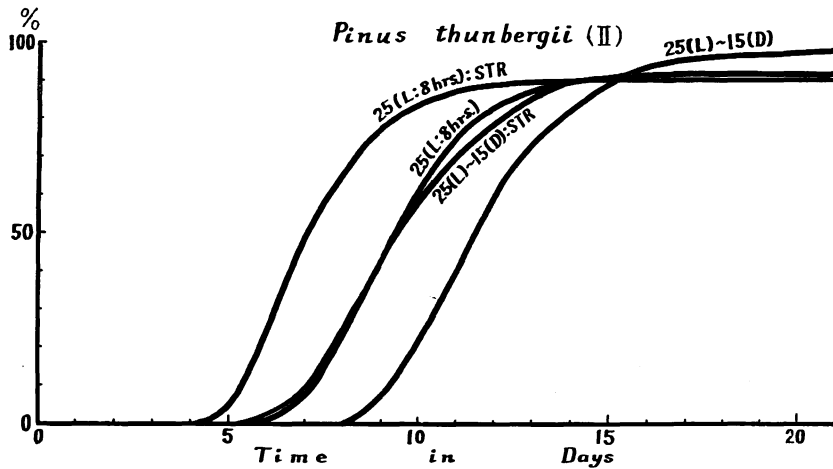


Fig. 15 クロマツのタネの発芽におよぼす温度と光の影響

(I) Germination percent in two weeks of *Pinus thunbergii* seeds stratified at 2°C for 0, 22, and 44 days. Notes are common to Fig. 14 (ASAKAWA 1959*).

(II) Germination curves of *P. thunbergii* seeds stratified at 2°C for 0 and 44 days (STR).



ることをしめしている (Fig. 17 (I))。つまり定温条件では光を必要とするタネが、変温条件では光なしに発芽するわけである。ここで特異な事実、変温条件での発芽にたいして、光がむしろ阻害的にはたらいっていることである。もっとも、それは発芽への反応をおくらせるという程度にはたらいっているにすぎない (Fig. 17 (II))。しかしこれらの性質のいずれも、冷処理の期間をながくするにつれてみとめられなくなる。Fig. 17 (III) は、無処理のタネまたは冷処理期間のみじかいタネについて、暗黒条件での温度反応のちがいを明示している。

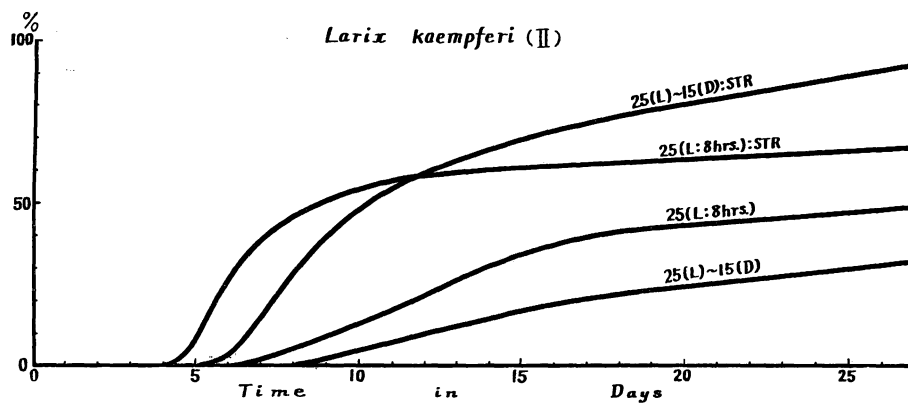
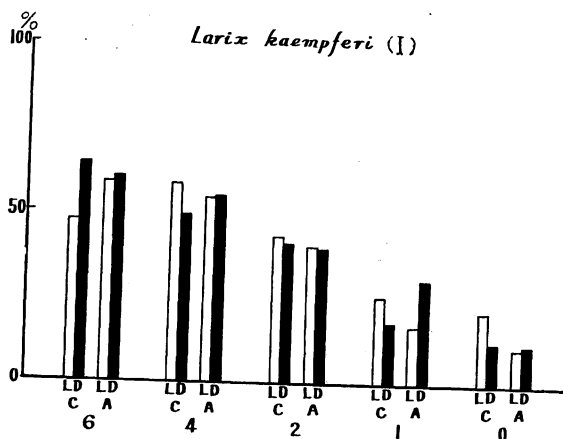
(iii) アカエゾマツ：12 日間の発芽率によって発芽条件のちがいをみた Fig. 18 (I) から、このタネの発芽が光感反応につよく依存していることがわかるが、クロマツとことなる点は、暗黒条件では変温のほうが有利なことである。しかしこの性質は、冷処理の期間をながくすると減少するように思われる。Fig. 18 (II) にしめす発芽経過からもわかるように、光をあたえた場合には、このような温度条件によるちがいはみとめられない。

* 26ページ脚注におなじ。

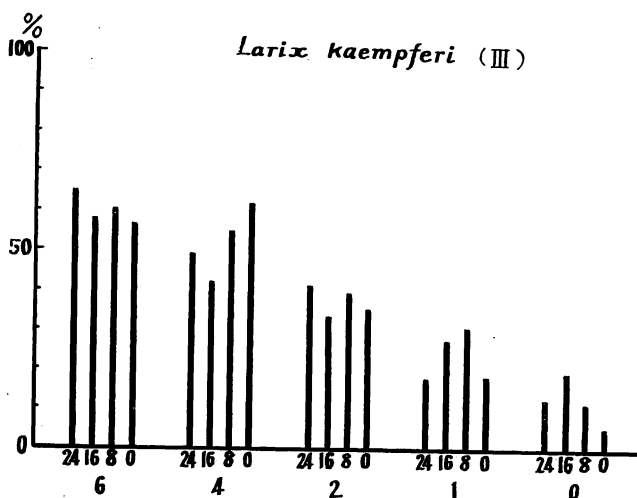
Fig. 16 カラマツのタネの発芽におよぼす温度と光の影響

(I) Germination percent in 12 days of *Larix Kaempferi* seeds stratified at 2°C for 0, 1, 2, 4, and 6 weeks. Notes are common to Fig. 14 (Asakawa 1959*).

(II) Germination curves of *L. Kaempferi* seeds stratified at 2°C for 0 and 4 weeks (STR).



(III) Germination percent in 12 days in darkness of *L. Kaempferi* seeds stratified at 2°C for 0, 1, 2, 4, and 6 weeks. 24, 16, 8, and 0 show the time in hours for 25°C, and the remaining hours of a day are for 15°C.



* 26ページ脚注におなじ。

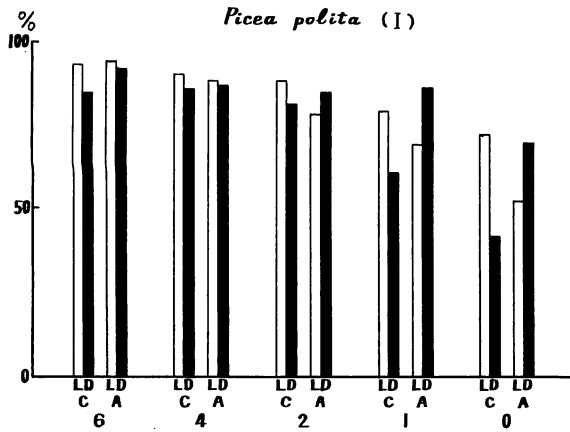
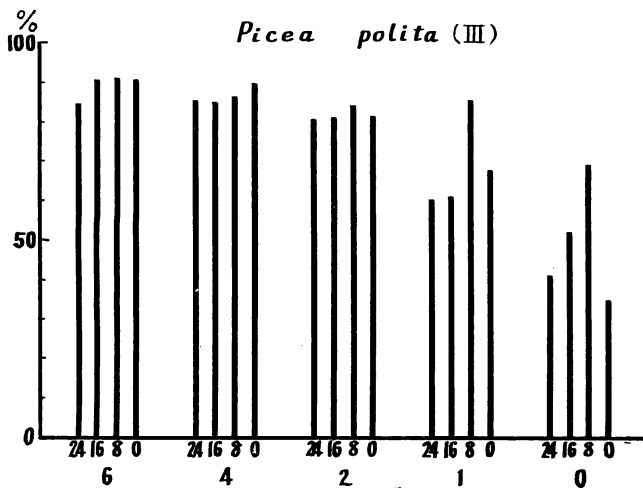
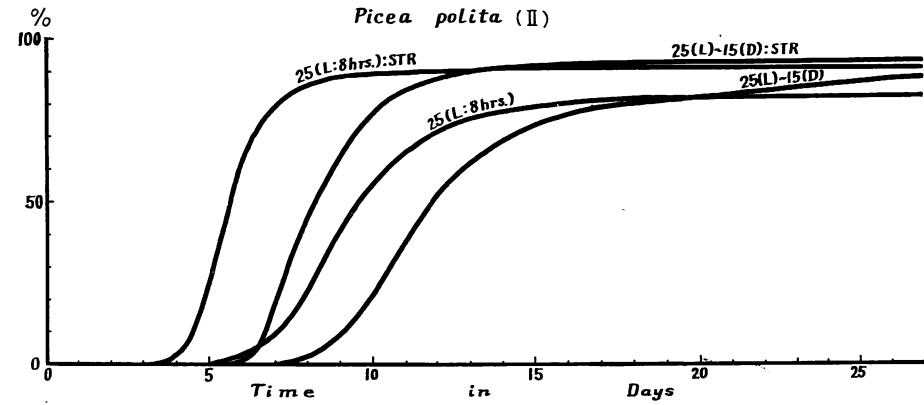


Fig. 17 ハリモミのタネの発芽におよぼす温度と光の影響

(I) Germination percent in 12 days of *Picea polita* seeds stratified at 2°C for 0, 1, 2, 4, and 6 weeks. Notes are common to Fig. 14 (Asakawa 1959*).

(II) Germination curves of *P. polita* seeds stratified at 2°C for 0 and 4 weeks (STR).

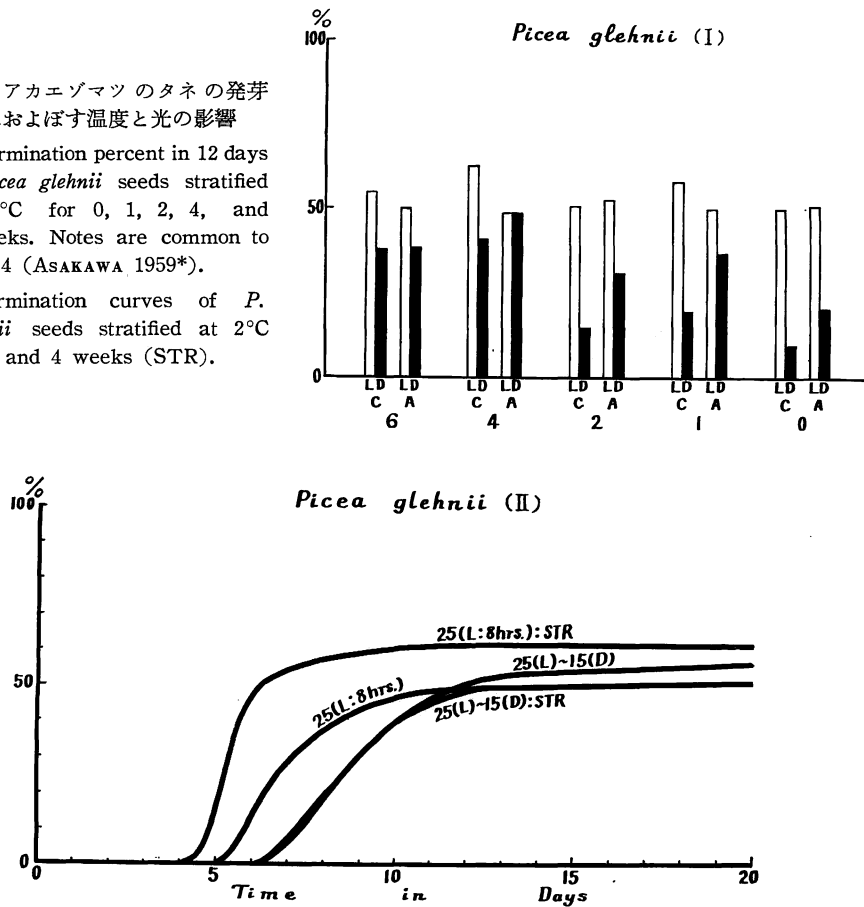


(III) Germination percent in 12 days in darkness of *P. polita* seeds stratified at 2°C for 0, 1, 2, 4, and 6 weeks. 24, 16, 8, and 0: same as Fig. 16 (III).

* 26ページ脚注におなじ。

Fig. 18 アカエゾマツのタネの発芽
におよぼす温度と光の影響

- (I) Germination percent in 12 days of *Picea glehnii* seeds stratified at 2°C for 0, 1, 2, 4, and 6 weeks. Notes are common to Fig. 14 (Asakawa 1959*).
- (II) Germination curves of *P. glehnii* seeds stratified at 2°C for 0 and 4 weeks (STR).



2-3-3. モミ・アオモリトドマツ・トドマツ

モミのタネは、1955年の秋東京都下の林業試験場浅川実験林で、アオモリトドマツとトドマツのタネは、1956年の秋に、それぞれ青森県下青森営林署部内、および北海道空知郡の東京大学農学部北海道演習林でとった。いずれも実験につかうまでは、2°C または 6°C の冷蔵庫に保存した。ただし、1957年の8月から9月にかけておよそ1か月、輸送のために気温にさらされた。これらのタネの発芽率はあまりよくなかったが、その理由はおそらくこの間の取扱いの不備によっているものと思われる。冷処理は、1958年の3月から5月にかけて暗黒条件で行ない、5月16日から一斉に発芽試験を行なった。発芽床には、全期間をとおして寒天床をもちい、発芽試験には、Table 11 にしめすような22の条件をもちいた。この場合の光条件は、発芽床からおよそ50cmの距離においた75ワットの白熱電球であたえた。

無処理のタネは、最終発芽率がひくかったばかりでなく、発芽勢もひくかったので、4週間の発芽率で、冷処理したタネについては2週間の発芽率で、22の発芽条件にたいする結果をFig. 19からFig. 21にしめす。別に、おなじ光条件で温度条件をことにする例について、Fig. 22に発芽経過をしめす。これらの結果から、各樹種のタネの発芽特性をつぎのように要約することができる。

* 26ページ脚注におなじ。

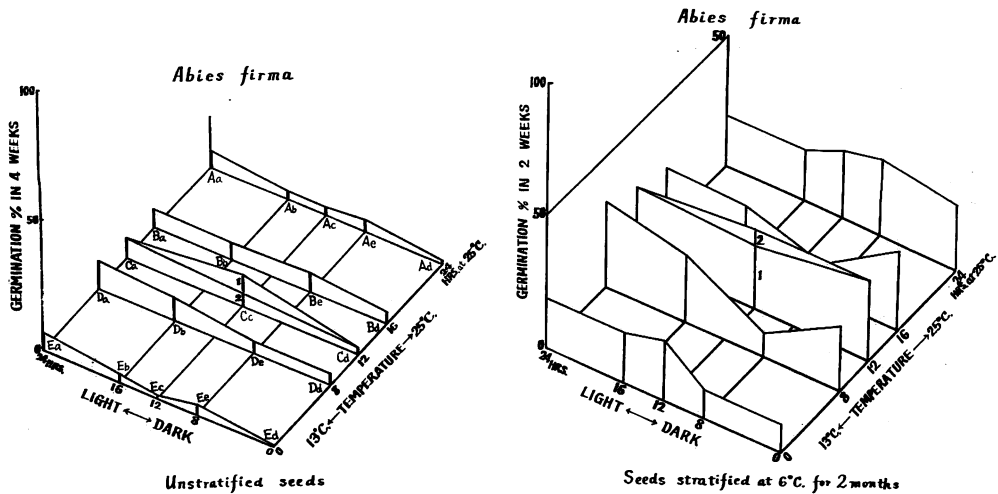


Fig. 19 モミのタネの発芽におよぼす温度と光の影響
Germination behavior of *Abies firma* seeds under various temperature and light conditions as shown in Table 11 (Asakawa 1959*).

(i) モミ：このタネは、温度条件にも光条件にも特異な発芽反応をしめさない。発芽への経路は、低温でゆっくりと準備される。

(ii) アオモリトドマツ：このタネの発芽経過には、変温条件と定温条件であきらかなちがいがみとめられる。つまり変温の場合には、はじめ発芽しはじめるのはおくれるが、まもなく定温の場合をうわまわる。もっともこのような変温条件の効果が、光反応をともなうことによってはじめてあらわれる点で特異的である。

(iii) トドマツ：このタネの発芽にも、変温条件が有利であるように思われるが、同時に光条件についても、短日的な性質をしめしている (Fig. 22)。しかしもちいた温度条件については、大部分のタネが光を必要としている (Fig. 21)。

Table 11. モミ・アオモリトドマツ・トドマツのタネの発芽試験にもちいた温度・光条件
Germination conditions for *Abies firma*, *A. mariesii*, and *A. mayriana* seeds.

	9.00AM		5.00PM		9.00PM		9.00AM
A a	←	25°C·Light	→				
b	←25°C·Dark	→	←	25°C·Light	→		
c	←25°C·Dark	→	←	25°C·Light	→		
e	←25°C·Light	→	←	25°C·Dark	→		
d	←	25°C·Dark	→				
B a	←13°C·Light	→	←	25°C·Light	→		
b	←13°C·Dark	→	←	25°C·Light	→		
e	←13°C·Light	→	←	25°C·Dark	→		
d	←13°C·Dark	→	←	25°C·Dark	→		
C a	←13°C·Light	→	←	25°C·Light	→		
c ₁	←13°C·Light	→	←	25°C·Dark	→		
c ₂	←13°C·Dark	→	←	25°C·Light	→		
d	←13°C·Dark	→	←	25°C·Dark	→		
D a	←25°C·Light	→	←	13°C·Light	→		
b	←25°C·Dark	→	←	13°C·Light	→		
e	←25°C·Light	→	←	13°C·Dark	→		
b	←25°C·Dark	→	←	13°C·Dark	→		
E a	←	13°C·Light	→				
b	←13°C·Dark	→	←	13°C·Light	→		
c	←13°C·Dark	→	←	13°C·Light	→		
e	←13°C·Light	→	←	13°C·Dark	→		
d	←	13°C·Dark	→				

* 26ページ脚注におなじ。

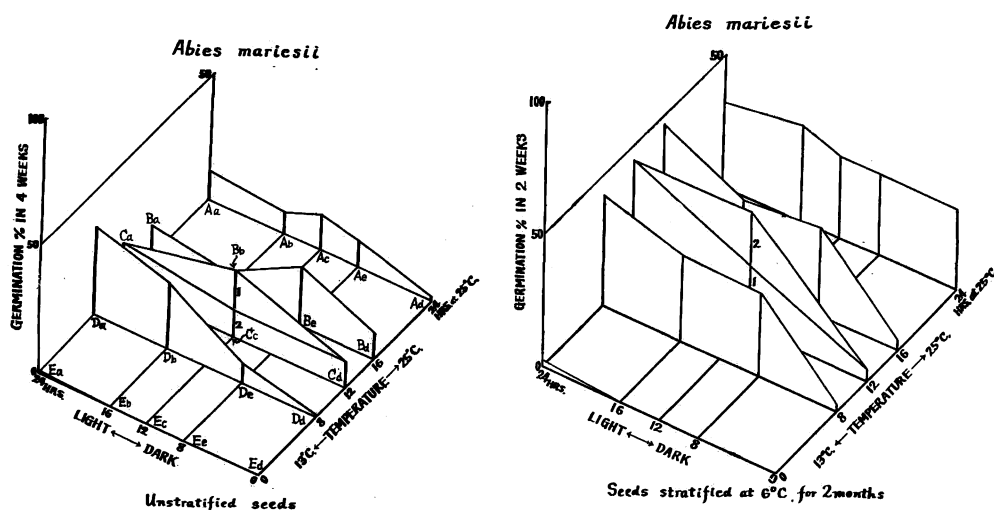


Fig. 20 アオモリトドマツのタネの発芽におよぼす温度と光の影響
Germination behavior of *Abies mariesii* seeds under various temperature and light conditions as shown in Table 11 (Asakawa 1959*).

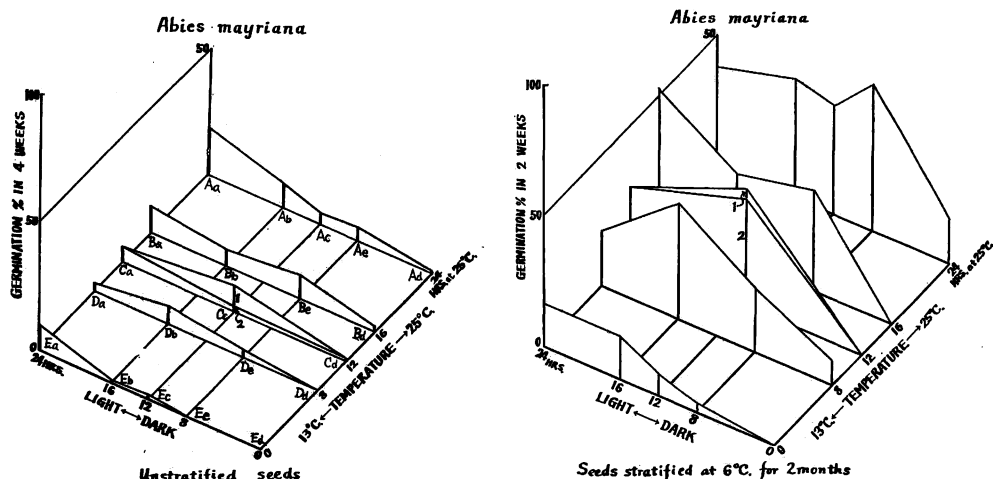


Fig. 21 トドマツのタネの発芽におよぼす温度と光の影響
Germination behavior of *Abies mayriana* seeds under various temperature and light conditions as shown in Table 11 (Asakawa 1959*).

2-4. 温適的傾向の一般性

ヤチダモのタネの発芽についてえられた実験結果から、温度条件にたいするこのタネの発芽反応に温適性がみとめられることをあきらかにしたが、とくに温適性自体の消長過程は、温適反応をになっている諸反応が、ほかのいろいろなタネ、ことに発芽に変温条件を要求するようなタネに、一般的に存在するかもしれないことを暗示した。この章のはじめに引用したように、林木のタネについても、発芽するために変温条件を必要とするものが割合おおいといわれてきたのにかかわらず、具体的な実験結果はきわめてとぼしいが、変温条件を必要とするようないろいろなタネをあつめるのはなかなかむずかしいので、ここでは、普通に発芽するようなタネについて、温度条件にたいする反応のシカタに重点をおいた実験結果をし

* 26ページ脚注におなじ。

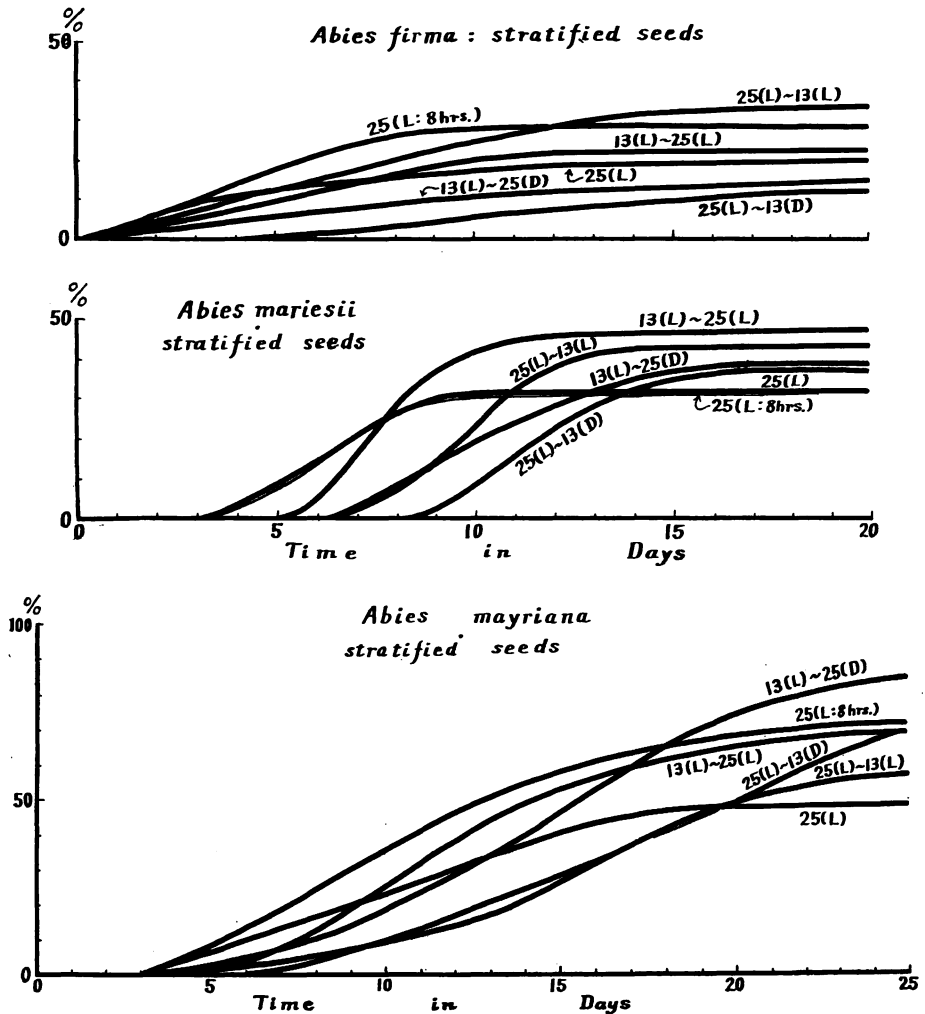


Fig. 22 冷処理したモミ・アオモリトドマツ・トドマツのタネの発芽経過
Germination curves of *Abies firma*, *A. mariesii*, and *A. mayriana* seeds stratified at 6°C for 2 months, under various germination conditions.

めした。しかし、これらのごくかぎられた実験結果についてみても、温週性の片りん、すなわち温週反応にもとづくと思われる特徴的な傾向が、ほとんどの樹種の発芽経過にみとめられた。すなわち、普通には定温条件でよく発芽すると考えられている針葉樹のタネでさえ、定温条件で一層はやく発芽しはじめはするけれども、変温条件での発芽経過もまもなく前者においつき、おおくの場合、結局は定温条件での発芽率をうわまわる。このような経過をしめすいちじるしいものが、ヤチダモや *Fraxinus americana*¹¹⁾ をはじめいわゆる変温で発芽するタネなのであるが、このような現象が、その程度にちがひこそあれ、かなり一般的にみられるということは、タネの発芽への過程に温週反応が一般的に存在する証拠である。

従来タネの発芽特性を尺度として分類する場合に、温度要因については、定温で発芽する群、変温で発芽する群が、また光要因については、光を必要とする群、暗黒でなければ発芽しない群、光に無関係な群などが、いわば不連続にわけられてきた。しかし、まえがきでもふれたように、一見不連続のように見え

る発芽特性のちがいに、統一的に考える原理があるはずである。光要因については、このような考え方と具体的な例証がすでにおおやけにされている²³⁾⁵⁸⁾¹⁰⁴⁾¹⁰⁹⁾が、筆者が提出した温週性は、温度要因にたいするタネの発芽特性を包括的に理解するための原理であるだろう。

2-5. 林木種子の休眠についての再検討

まえがきで、休眠を休眠していない状態にたいして不連続にもうけることは適当でないとし、休眠についてのより一般的な考え方を、ヤチダモのタネの発芽にみられる温度要求の消長によってしめすのべた。第1章からのべてきた一連の実験結果によって、すでにこのような考え方がもたらされたすじみちをしめしたが、さらにタネの内的状態を一層具体的に理解するテダテとして、発芽経路の図式を提出した。このような考え方で林木種子の休眠を再検討するまえに、これまでにしられている休眠の分類についてみると、個々の研究はきわめておおいが、それらは2, 3の労作においてそれぞれの見方から分類整理されている¹⁶⁾²⁸⁾²⁹⁾⁸⁰⁾¹⁰¹⁾。それらを通覧すると、およそつぎのような5つの型に要約される。

(1) 胚による休眠

- (i) 胚が十分に成長していないことによるもの。
- (ii) いわゆる胚休眠によるもの。

(2) 種皮による休眠

- (iii) 種皮が水をとおさないことによるもの。
- (iv) 種皮がガス交換をさまたげることによるもの。
- (v) 種皮が機械的にかたいことによるもの。

もちろんこのような分類は、休眠をおこす原因として考えられる因子によってわけたもので、実際の場合には、これらのうちの2つ以上が同時に関係している場合がすくなくない。ところでこれら5つのうちでも、とりわけ胚休眠とよばれるものはきわめてあいまいで、原因がはっきりしない場合にはだいたいここにふくめてきたといえることができる。

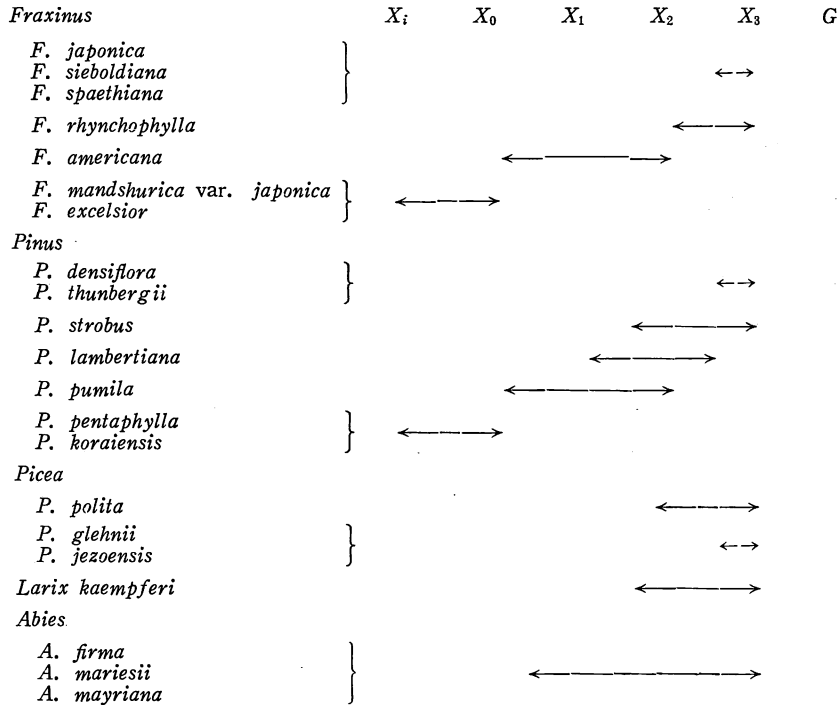
さて上述のようなこれまでの分類にたいして、筆者は、休眠をつぎのような2つのグループに分けることを提唱する。すなわち、

(I) 生理的休眠 (II) 物理的休眠

である。このような分類をおこなった立場を説明するために、物理的な処理をくわえないタネの発芽は、胚がその最上の状態で、胚をつつんでいる組織の保護をはなれることであるという考え方を強調したい。(I)の生理的休眠とは、なんらかの生理的反応の進行によって休眠がやぶれるような型のもので、そのような生理的反応の進行にともなって、主として胚の代謝系が発芽への経路をすすみ、その結果胚をつつんでいる組織の保護をはなれる、つまり発芽にいたる。一方(II)の物理的休眠にぞくするものは、なんらかの物理的処理によってだけやぶれる休眠で、そういう方法で胚をつつんでいる組織の状態をかえてやらなければ発芽にいたらない。つまりこの型の休眠をしめすタネの胚は、その最上の生理的状态でさえまわりの組織をやぶることができないか、あるいは胚をつつんでいる組織の状態をかえてやらなければ、一切の生理的過程を再開することができないものである。なおこれまで種皮による休眠と考えられていたものが、かならずしもここでいう物理的休眠にはいらないことはもちろんである。

生理的休眠は、一般的には胚、胚乳をふくめて生理的な未熟によっていると考えることができるが、筆者が提出したヤチダモのタネの発芽経路についての図式は、この型の休眠を統一的に理解するのに役立つ

だろう。林木のタネの生理的性質に、おおきなバラツキがあることは一般にみとめられているが、それにもかかわらず、そのようなバラツキを基盤とした、それぞれ特有の遺伝的性質をしめすこともみとめられている。いま主として筆者がしらべてきたいいくつかの種について、うえにのべた図式の X 経路への対応によって、いわゆる成熟したタネが、どのような生理的段階にあるかをしめすようにする。なおこれまでのところでは、それぞれの樹種のタネについて、各生理的状态にどのような割合でばらついてい



るかをしめすことはきわめてむずかしいし、またほかの発芽経路たとえば光感経路と、どのような関係にあるかを明示することもきわめてむずかしい。しかしこのような考え方によって、従来とかくあいまいなままのこされてきた胚休眠の実体にちかづくイトグチをえることができると同時に、いろいろな休眠の例を、普通には休眠していないと考えられてきたタネまでふくめて、統一的に理解することができるだろう。

最後に、従来いわゆる種皮による休眠とされていたものが、生理的休眠とみなされる場合について考えてみたい。たとえばチョウセンマツの例をとってみると、無処理のタネの吸水は、あきらかに種皮の存在によっておさえられる⁶⁾。このタネの種皮が水をとおすことはたしかであるから、この場合の吸水阻害は、種皮の機械的かつよさが、種皮の内容積以上に胚乳が吸水膨大することをおさえしているためにおこるとしか考えられない。この意味からは、従来のいわゆる種皮による休眠にいれられるべきものであるだろう。しかしここで重要なことは、このような種皮の状態を物理的にかえてやらなくても、湿層処理のあいだにすすむ生理的過程をととして増大した胚乳の吸水力によって、種皮の機械的かつよさが克服されることである⁵⁾⁶⁾。同様なことがヤチダモの場合にもみられる。すなわち、ある期間の高温湿層処理をへたタネからとりだした胚は、すみやかに成長をはじめる⁹⁾¹²⁾から、この時期に発芽がおこらない原因は、すくなくとも間接的には胚乳または種皮によっていると思われる。事実、胚乳が胚に接する部分にある粘液層

(mucilaginous layer) に阻害物質が存在すると主張した報告²⁸⁾³⁵⁾, 種皮や果皮が酸素をとおしにくいとのべた報告²⁸⁾¹⁰⁸⁾がある。ここではかりに種皮だけにかぎるとして, このタネはおよそ 2, 3 日で第 1 期の吸水をおわるから, 種皮が水をとおさないということは考えられないし, また第 3 章でのべるような呼吸実験の結果から, 種皮が酸素をとおしにくいということも考えにくい。しかし, かりに酸素をとおしにくい性質があるとして, 機械的なつよさをふくめたこのような種皮の性質が, 部分的にヤチダモのタネの発芽遅延の原因である²⁸⁾⁹²⁾と考えても, 湿層処理のあいだにすすむ生理的過程をとおして活性化された胚の成長力によって, これら種皮の物理的に不利な性質は克服されるのである。ただ, このような例をふくめた生理的休眠の実相を明示するためには, ここで漠然とのべた生理的過程に関係している生化学的機作について, 一層具体的な知見をえなければならない。

2-6. 要 約

前章で説明した発芽の温週性が, 林木のタネについてどの程度一般的にみられるかを検討した。ここでもちいた材料については, ヤチダモほどいちじるしい温週性をしめす例はみとめられなかったが, 発芽の経過曲線は, 温週反応がいろいろなタネにかなり普遍的に存在することをしめしている。ヤチダモのタネについてみられた温週性の消長とおなじように, これらのタネの温度要求もまた変化するが, これらのタネの発芽への過程も, 前章で提出した図式によって共通に理解できる。この図式を中軸として, 従来とかく相互の関連を考えないで分類されてきた休眠に再検討をくわえたが, まず生理的休眠と物理的休眠を大別し, うえにのべた図式によって, 生理的休眠を統一的に理解する考え方をのべた。

第 3 章 温週反応の機作へのアプローチ

第 1 章でのべたように, 発芽における温週性は, ことなる適温をもった 2 つ以上の反応系の相互干渉の結果もたらされるものと思われるが, 現在の段階で, それら反応系の実体をあきらかにすることはきわめて困難である。ここでは, 1956 年以来筆者がこころみてきた変温の効果, すなわち温週反応の機作に対する 2, 3 のアプローチの結果をもとにして, 現状で考えられる機作の片りんにふれてみたい。1-9 節であきらかにしたように, 温週反応は高温湿層処理にひきつづく低温湿層処理によってはじめてあらわれる。つまりこのような湿層処理によってタネのなかにつくられる状態が, 温週反応をもたらす素地として必要なのである。したがって, 湿層処理によってタネのなかにおける変化をしらべることも, 当然温週反応の機作をあきらかにするうえにきわめて重要である。

3-1. 変温の効果についてのこれまでの研究

発芽におよぼす変温の影響の機作については, ふるく 2, 3 の説があるが, 近藤 (1932)⁶⁰⁾が引用しているところによれば, その 1 は EIDAM (1883) による機械的説である。すなわち, 変温にともなって種皮組織が物理的によめられるとする考え方で, 従来タネの発芽における変温の効果は, 実験方法上の制約もあって, この考え方で説明された場合がおおかった。その 2 は ZADE (1908) の酵素説で, 変温によって, 酵素の活動がさかんになるとした考え方である。その 3 は VAÑHA (1898) が提唱した呼吸作用説で, 変温によって種皮内外のガス交換がさかんとなり, したがって呼吸作用がさかんになるとしている。DAVIS (1939)⁸¹⁾もこれとよく似た考え方をしめしているが, 変温によって影響をうけるのが, ガス交換を阻害している種皮組織であるとしている点で, EIDAM の説にも通ずるところがある。残念ながらごくみじかい報文で, 実験的よりどころをしめしていない。第 4 の説は VON LIEBENBERG (1884) がとった考え方

で、高温のあいだに溶解性となった貯蔵物質が、低温のあいだに胚の成長にもちいられるとしたいわゆる養分説である。これらにはいずれも実験的裏付けがないようで、単に説であるというにすぎないものであった。

最近になって、BUNNING 一門および TOOLE とその協同研究者たちは、実験的裏付けのうえに一層たしからしい考え方を提出し、この分野に興味ある寄与をしめした。BUNNING (1956)²⁸⁾は、植物体の中のいろいろな反応に内的なリズムがあることを強調しているが、低温にたいする要求は、タネのなかにあるこのような内的リズムに対応して変動する、つまり週期性をしめすものと考えている。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、変温ことに短時間 1 回だけ高温 (35°C) におく操作がいちじるしくよい影響をあたえることを示した¹⁰²⁾¹⁰³⁾。そしてこのような変温の効果は、温度条件がいろいろの反応系のバランスに影響をあたえるためにあらわれるものだろうと考えている¹⁰⁴⁾。もちろんこれらの例でも、直接温度反応にあずかる反応系がどのようなものであるかについてはふれていない。

また FRITH (1957)⁴⁰⁾は、*Sporobolus virginicus* のタネをもちいた実験で、変温条件が発芽にたいする物理的障がいをものぞく役割をはたしていないので、好適温度範囲のはなれた 2 つの生化学的系が存在しているだろうという仮説を提出した。そしてごく最近、SIFTON (1959)⁸⁸⁾ は *Typha latifolia* のタネをもちいて行なった興味ある実験を報告した。かれは顕微化学的手法をもちいて変温が液胞化 (vacuolation) を促進する過程をあきらかにした。低温におかれているあいだは呼吸が低下して、呼吸にもとづく生成物が一掃され、したがってつぎに高温にうつされたとき猛烈な呼吸作用がおこり、その結果液胞化が促進されるものと考えている。

3-2. 材 料

1-2 節でしめした 3 種類のほかに、1956 年の秋に、北海道旭川営林局神楽営林署部内にとったヤチダモのタネもつかった。また比較のためにつかったトネリコとシオジのタネは、それぞれ 1954 年 10 月に林業試験場構内で、また 1959 年秋に埼玉県下東京大学農学部秩父演習林でとったものである。

3-3. 吸水パターンからみた温週反応

タネの吸水比は、発芽へのあゆみをしめすよいメヤスであることがしられている⁴²⁾から、温週性の消長および温週性をしめさないタネとの比較という面から、ヤチダモのタネの吸水パターンをしらべた。

3-3-1. 方 法

胚と胚乳の吸水経過は、胚と胚乳をわけて別々にはかった含水率をプロットしてもとめた。含水率は、はじめ 105°C で 30 分熱してから、70°C に 2~4 日間たもち、一定になったところで、絶乾重に対する水分の割合としてもとめた。この測定で 1 回にもちいたタネの粒数は、普通 200 ないし 300 粒であったが、材料がすくなくてやむをえない場合は 50 粒しかもちいなかった。

3-3-2. タネの吸水経過

筆者が行なった実験結果から、ヤチダモ¹⁰⁾、トネリコ¹⁰⁾、シオジ*のいずれのタネも、郷⁴²⁾や畑野⁴⁹⁾が数種の針葉樹のタネであきらかにしたのとおなじような、3 段階の吸水経過をへることがわかった。ただこれらトネリコ属のタネの吸水経過が、針葉樹のタネの場合とことなる点は、第 3 の過程での吸水量が第 1 の過程にくらべていちじるしくすくないことである。

ところで、ヤチダモのタネの吸水経過のいちじるしい特徴は、第 2 の過程がきわめてながく、とくべつ

* シオジの例は発表していないが、トネリコの場合とほとんどおなじである。

の温度処理をあたえなければ、この段階にいつまでもとどまっていることである。硬粒としてしられているハゼノキのタネは、種皮組織をこわすような処理をしなければほとんど吸水しない¹¹⁰⁾が、ヤチダモの場合には、2,3日で第1の段階をおわり、この期間のオモサの増加にくらべると、第2,第3の段階での増加ははるかにすくない。したがって、ヤチダモのタネの発芽しにくい原因を、いわゆる硬粒の場合のような意味で吸水にもとめることはできない。

湿層処理をうけたタネが、変温条件で発芽にいたるまでの吸水経過をこまかくしらべた結果¹³⁾は、25°Cにおかれている間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という傾向をしめした。このような傾向は、高温反応と低温反応に関係している代謝系のバランスがちがうことを暗示する1つの事実ではあるが、それにしても、タネ全体としてみる立場自体が不適当であるように思われた。

3-3-3. 胚の吸水パターン

低温湿層処理または高温-低温湿層処理によって、タネの吸水力が増大することがしられている⁵⁾⁶⁾³⁷⁾³⁸⁾が、ヤチダモのタネについては、この点がはっきりみとめられなかった。ここでふたたび、マツ類のタネとヤチダモのタネの吸水経過にみられる特異なちがいについて考えてみたい。マツ類の例として、筆者が研究したチョウセンマツのタネの吸水経過⁵⁾⁶⁾をみると、ここでももちろん第1,第2,第3の各過程が

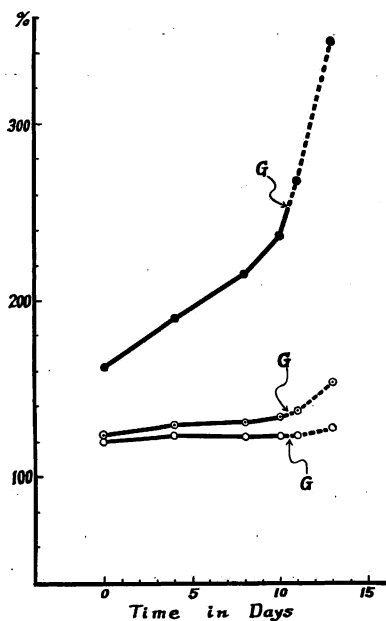


Fig. 23 湿層処理したヤチダモのタネ全体(●), 胚(●), 胚乳+種皮(○)についての含水率の変化

Changes in water content of *F. mandshurica* var. *japonica* seeds, after transfer to germination temperature (25~8°C) from the stratification at 25°C for 3 months followed by 3 months at 2°C. Seed (●), embryo (●), and endosperm with seed coat (○).

ははっきりみとめられるが、ここで第2と第3の過程の変曲点、種皮が縫線にそってわれるときであることは注目に値する。湿層処理後の吸水量の増大は、あきらかに第3段階の吸水量のちがいとしてあらわれる。つまり湿層処理後まもなく種皮にわれめがはいり、そのあとは急速に第3段階の吸水がすすむ。この段階——種皮にわれめができるすこし前から発芽のすこし前まで——の吸水量の過半が、胚乳によっていることは疑い余地がない。マツ類のタネによって代表されるようなおおくの針葉樹のタネにとって、種皮にわれめができるということは、発芽にかくことのできない生理過程のために必要な第3段階の吸水をうながすという点で——ガス交換の面についてはしばらくおくとしても、決定的なエポークであるが、その原動力は胚乳の吸水力であり、チョウセンマツのタネの場合、湿層処理の効果の重要な部分が、このような胚乳の吸水力をたかめることであることはたしかである⁵⁾。ところで3-3-2でふれたように、ヤチダモのタネの吸水経過をみると、もちろん第3の段階はみとめられるが、この段階で吸水される絶対量は、チョウセンマツなどの例にくらべてはるかにすくない。つまりヤチダモの場合には、湿層処理によって吸水力の増大がおこっているとしても、その主要な部分が胚乳によってになわれているとは思われない。こうして、胚の吸水パター

ンをあきらかにする試みをはじめた。ちなみに、ヤチダモの胚と胚乳の絶乾量は、およそ 1:16 の割合である (Table 16 参照)。

はじめの実験では、25°C で 3 か月、2°C で 3 か月湿層処理したタネについて、25~8°C の発芽温度で発芽にいたるまでの、胚と胚乳およびタネ全体としての含水率の変化をしらべた。なおヤチダモの胚乳と種皮をわけることは、方法上むずかしい¹¹⁾ばかりでなく時間がかかるので、以下で胚乳という場合は、すべて種皮をふくめた胚乳を意味している。Fig. 23 は、含水率によってしめした部分別の吸水経過である。適当な湿層処理を受けたタネを変温条件におくと、胚が急激に吸水しはじめる。一方胚乳の含水率にはほとんど変化がみとめられない。ヤチダモの種皮組織のなかで、重要な役割をしているコルク質膜^{11) 92)} (suberized membrane) は、きわめて可塑性にとんでいるように思われたが、実際胚乳は第 2 期の吸水過程のはじめごろまでに十分に吸水していることがあきらかになった。そしてこのために、タネ全体としてみると、第 3 過程の吸水量の絶対値がすくなく、胚による急激な吸水現象がかくれてしまうわけである。

そこで、3 つの湿層処理条件の過程と、処理をおえて発芽条件 (25°C と 25~8°C) にうつしてからの過程について、部分別の含水率の変化をしらべた。Fig. 24 はその結果をしめしたものであるが、まず胚

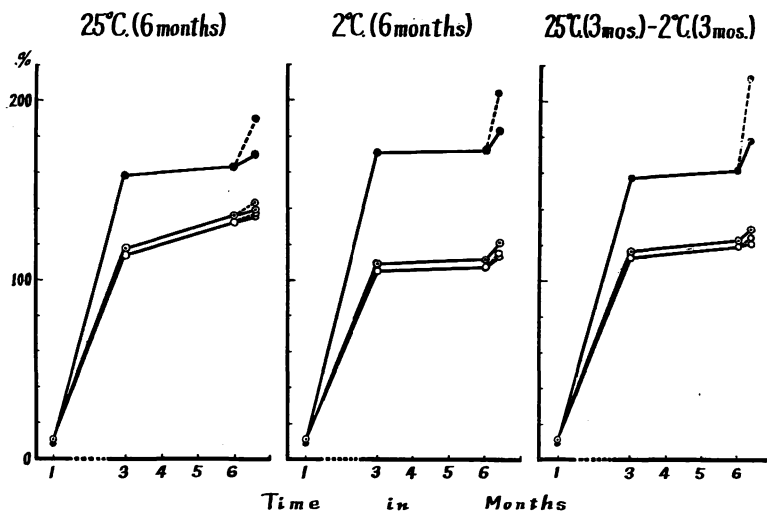


Fig. 24 湿層処理 (6 か月) のあいだと、発芽条件にうつしてからの、ヤチダモのタネ全体 (●), 胚 (○), 胚乳+種皮 (○) の含水率の変化
Changes in water content of *F. mandshurica* var. *japonica* seeds (●), embryos (○), and endosperms with seed coats (○) during stratification and germination condition. After each pretreatment of 180 days, the seeds were transferred to 25°C (solid line) and to 25~8°C (broken line).

についてみると、2°C で湿層処理したものの含水率をもっともたかく、発芽への準備がもっともすすんでいるはずの 25°C (3 か月) - 2°C (3 か月) の湿層処理条件のものは、25°C (6 か月) のものとほとんどかわらない。しかし、こういう状態にあるタネを発芽条件、ことに変温 (25~8°C) にうつすと、25°C (3 か月) - 2°C (3 か月) 区からの胚は、まもなくほかの区の胚の含水率をうわまわり、そのまま発芽にいたる。ここで興味ある事実は、不利な湿層処理条件においたタネでも、変温と定温とで胚の吸水経過があきらかにことなることである。もちろんこういう胚の吸水は、この段階でまもなく平衡状態になり、結局発芽にはいたらない。なお、25°C (6 か月) 区からのタネを、おなじ 25°C で発芽させた場合

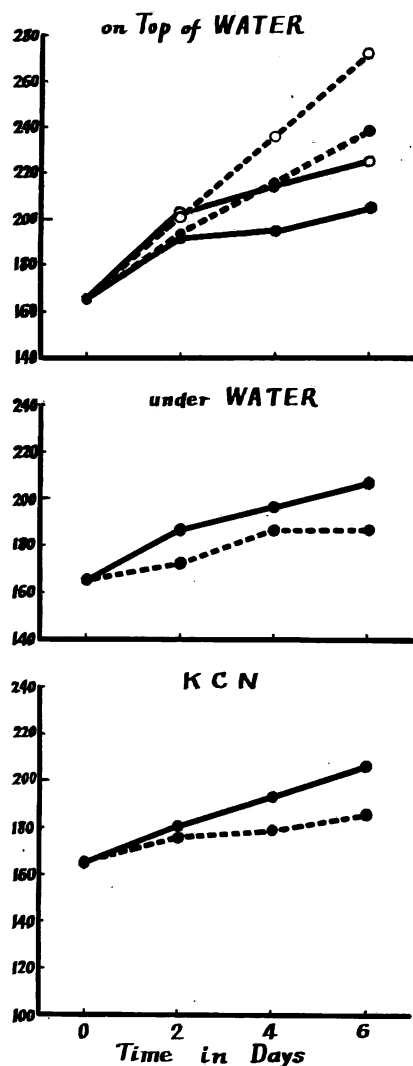


Fig. 25 湿層処理したヤチダモのタネを、3種類の発芽床にうつしたときの、タネのなかでの胚の含水率の変化

Changes in water content of incased embryos when stratified *F. mandshurica* var. *japonica* seeds were germinated on three kinds of seed bed at 25°C (solid line) and at 25~8°C (broken line). An ordinary petri dish bed with gauzes on slide glasses was used for the lot "on top of water". For the lot "KCN", an ordinary petri dish bed containing M/200 solution of potassium cyanide was used. Circle (O) shows the water content of all the embryos including germinating ones. Stratifying condition: 25°C (3 months)-2°C (4 months).

に、胚の含水率がかなり増加しているが、これは湿層処理方法と発芽床とのちがいによる。つまり発芽床にうつしてから呼吸量がふえたためと思われる。

一方胚乳についてみると、25°C (6か月) 区だけがほかの2区のものにくらべてずっとたかい含水率をしめしている。胚乳の場合にも、発芽条件にうつしたあと変温条件でいくらかおおく吸水する。しかしそのちがいは、胚の場合よりははるかにちいさい。

このように、おなじ湿層処理をうけたタネの胚が、変温条件と定温条件でいちじるしくことなる吸水パターンをしめすことがあきらかになったが、その吸水機構にあずかるのが、SIFTON (1959)⁸⁸⁾ のいう液胞化の促進であるかもしれない。しかしこの点についてのくわしい論議は、呼吸についての実験をのべてから行なうことにしたい。

予備的実験¹³⁾によって、力源代謝に無気呼吸様式をとっているときでも、変温が効果があることがしられていたが、そのような条件における胚の吸水パターンをしるために、つぎのような実験をこころみた。別の実験¹³⁾によって、M/200 青酸カリ溶液がヤチダモのタネの発芽をほとんど完全におさえることがわかっていたので、発芽床(ペトリー皿床)にその溶液をくわえて、25°C と 25~8°C で胚の吸水経過をしらべた。Fig. 25 にしめすような結果から、酸素呼吸がおさえられた場合には、変温条件におくことによって、胚の吸水はかえっておさえられることがわかる。こうして、変温の効果つまり温過反応が、呼吸系につらなる一連の生化学的系と密接な関係にあること、またこのような生化学的系は直接または間接に水分を吸収する機構に関係していることなどがあかるみにできた。

3-4. 呼吸パターンからみた温過反応

3-1 節でのべたように、発芽にたいする変温の効果は、変温によってガス交換がさかんになり、呼吸作用がさかんになるためであるとする考え方がある⁸⁰⁾が、筆者はこの点についてつぎのような予備的実験をこころみた¹³⁾。すなわちタネを水中において有気呼吸をたち、この状態で 25°C と 25~8°C に3週間おいてから、普通

の発芽試験（ペトリー皿床）にうつしたところ、25°C においたものは、好氣的条件で 25°C においた場合よりも阻害の程度がずっといちじるしかった。一方 25~8°C においたものは、はじめからペトリー皿床で発芽させた場合よりもおくれて発芽しはじめたけれど、結局ほとんどおなじ発芽率に達した。つまり有気呼吸をたたれた3週間のあいだにも、変温におくことによって積極的な阻害過程がつくられなかった。したがって、好氣的な条件で 25°C にたもった場合——こういう条件ではあきらかに阻害過程がすすむ——とはことなるから、25°C にたもった場合におこる阻害過程が直接呼吸に関係しているとは思われない。いいかえれば、変温の第一義的な効果を、呼吸がさかんにされるという考え方で説明することはむずかしいように思われた。こうして一層こまかい実験を、呼吸量および阻害反応について行なった。

3-4-1. 方 法

(i) 呼吸量の測定：この実験でもちいた検圧計は、American Instrument Company, Inc. 製の回転式ワールブルグ検圧計の Refrigerated-Heated Type である。

呼吸量は普通の検圧計用フラスコと STANLEY⁸⁹⁾ が試作した特別のフラスコを用いて測定した。普通のフラスコの場合には、おなじ材料について、CO₂ 排出量を測定することができなかったのので、R.Q. は別の材料について同時に測定した CO₂ 排出量をつかって算出した。一方 STANLEY のフラスコをもちいた場合には、CO₂ の排出量も、したがってまた R.Q. もおなじ材料についてえられた。また普通のフラスコの場合には、各フラスコに 20 粒のタネをいれ、STANLEY のフラスコには 10 粒のタネをいれて測定した。

この実験では、すべて果皮をのぞいたタネをもちいた。タネは 10% の “saniclor” 溶液（次亜塩素酸ソーダの 5.25 重量%）に 20 分つけてから無菌水でよくあらい、検圧計フラスコに入れた。材料の汚染をさけるため、このような滅菌操作をしたタネについて、24 時間で測定をうちきった。測定をおわった材料は、3-3-1 でのべた方法によって絶乾重を測定した。呼吸量はすべて、タネの絶乾重にたいしてしめす。

(ii) 阻害剤溶液による発芽試験：ペトリー皿床にそれぞれの阻害剤溶液をくわえた。これらの溶液の阻害作用は、ある期間ののちによわまることがわかったので、普通 2 日ごとにあたらしい溶液ととりかえた。

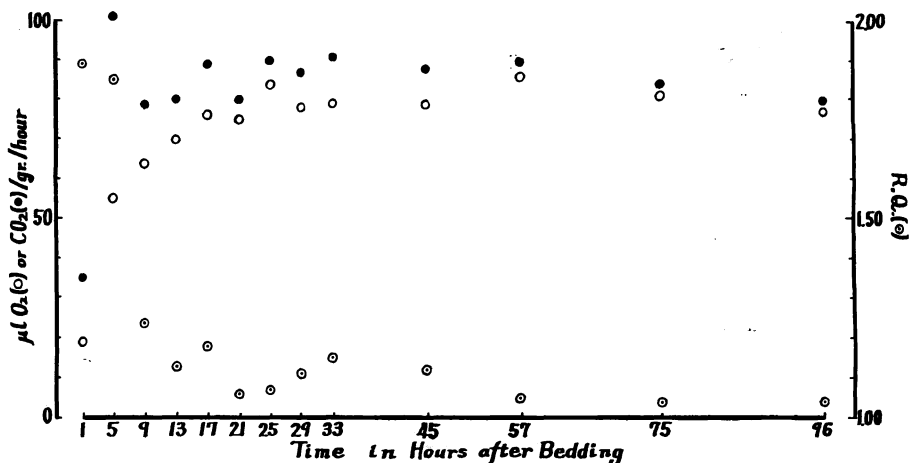
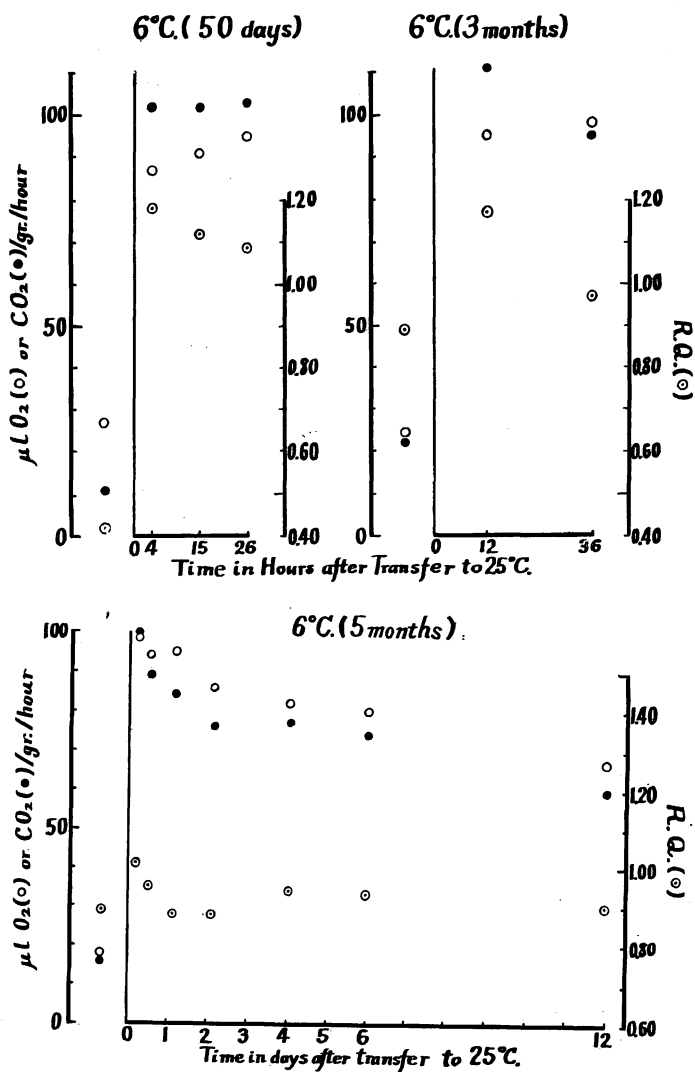


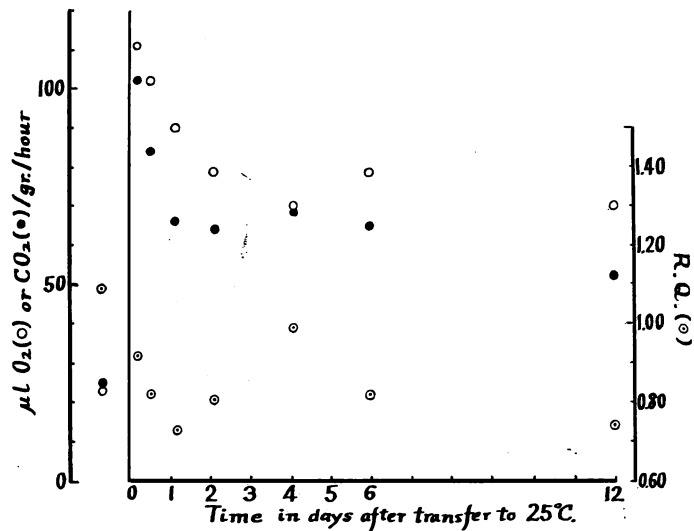
Fig. 26 無処理のヤチダモのタネを置床したときの呼吸量および R.Q. の変化
Respiratory changes of non-stratified *F. mandshurica* var. *japonica* seeds after bedding.

3-4-2. ヤチダモのタネの呼吸量とその変化

はじめに、湿層処理しないタネの呼吸を、発芽床(ペトリー皿床)においた直後から4日間にわたってしらべた。Fig. 26 はその結果をしめしているが、無処理のヤチダモのタネは、発芽床におかれてからおおよそ10時間で普通の呼吸状態に達する。そのときの O_2 吸収量はおおよそ $70 \mu\text{l/gr.}/\text{hour}$ で、 CO_2 排出量はおおよそ $80 \mu\text{l/gr.}/\text{hour}$ である。これらの呼吸量が比較的ちいさいのは、種皮、胚乳、胚の全体の絶乾重にたいする値としめしているからである。事実、*Euonymus europaea* のタネをもちいた実験によれば、胚乳は胚のおおよそ $1/10$ の呼吸量しかしめさない⁷⁶⁾ し、*Pinus lambertiana* のタネの場合にも、胚乳の CO_2 は胚のおおよそ $1/6$ にすぎないことがしられている⁹⁰⁾。さてはじめ R. Q. がいちじるしくおおきいのは、酸素の吸収が炭酸ガスの排出にくらべておこなわれているためであり、このことは、吸水しはじめてまもなく、無気呼吸から有気呼吸への転換がおこることをしめしている。そして置床後おおよそ100時間の範囲



(I) Seeds stratified at 6°C for various periods.



(II) Seeds stratified at 25°C for 3 months followed by 2 months at 6°C.

Fig. 27 湿層処理したヤチダモのタネを 25°C にうつしたときの呼吸量および R.Q. の変化

Respiratory changes of stratified *F. mandshurica* var. *japonica* seeds after transfer to 25°C.

では、R.Q. は1よりややおおきく、置床後の時間の経過とともにしだいに1にちかづく傾向がある。このような置床後の R.Q. の変化は、*Pinus sylvestris* のタネについてえられている結果⁵⁰⁾とくらべると、いちじるしく対称的であるし、また *Euonymus europaea* のタネの場合ともことなっている⁷⁶⁾。

つぎに、湿層処理条件が呼吸パターンにどのような影響をあたえるか、およびヤチダモのタネの発芽への過程における呼吸パターンの変化について実験をすすめたが、Fig. 27 および Fig. 28 にしめすがこれらの実験結果である。これらの結果をみると、湿層処理の期間をながくするにつれて、発芽温度 (25°C) にうつしてから R.Q. がしだいにひくくなること、つまり O₂ 吸収量が CO₂ 排出量をうまわるようになることがわかる。このことは、酸素をとりこむ機構が湿層処理のあいだに影響されることを暗示している。

ついで湿層処理条件のちがいに注目してみると、発芽温度に 25°C をもちいた場合にはあまりはっきりしたちがいはみられないが、25°C (3か月) - 6°C (2か月) 区からのタネの R.Q. のほうがややひくいようである。

最後に 25°C (3か月) - 6°C (2か月) 区からのタネについて、25°C (Fig. 27 (II)) と 25~6°C (Fig. 28) での呼吸パターンをくらべてみたい。いずれの場合にも R.Q. は1よりやや小さいが、後述する貯蔵物質の構成とその変化とを考えあわせると、ヤチダモのタネが発芽への過程でつかう呼吸基質は、おそらく主として炭水化物であるだろう。25°C の定温にたもつと、呼吸量がしだいに減少する傾向をしめすが、25~6°C の変温条件においた場合にはこのような減少はみられない。つまり 6°C におかれているあいだは呼吸量がいちじるしくすくないが、25°C での呼吸量はほとんどおなじレベルに維持される。この 25°C 期の呼吸量は、発芽の直前までほとんどおなじで、発芽の直後、つまりコルク質膜がやぶれて幼根の先端が外部にあらわれてから、はじめて増大しはじめる。そして幼根が数 mm にのびたこ

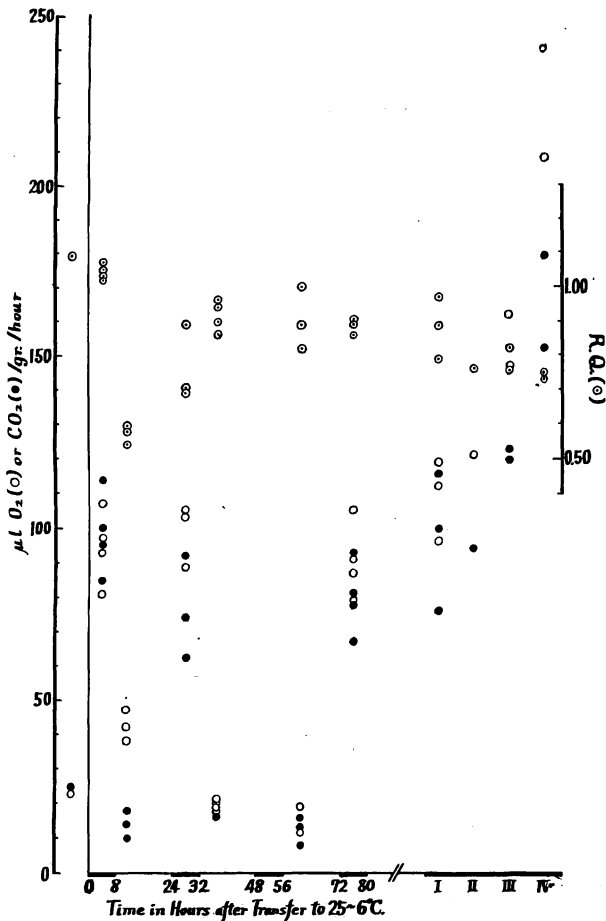


Fig. 28 25°C で 3 か月、6°C で 2 か月湿層処理したヤチダモのタネを、25~6°C にうつしたときの呼吸量および R.Q. の変化

Respiratory changes of *F. mandshurica* var. *japonica* seeds stratified at 25°C for 3 months followed by 2 months at 6°C, under 25~6°C. On abscissae, heavy and fine lines express 25°C and 6°C, respectively. Greek numbers show the visible stages to germination. I : All the seeds are just before germinating. II : Four of ten seeds have just germinated. III : Radicles of all the seeds are one to two mm long. IV : Radicles of all the seeds are five to ten mm long.

発芽したとみとめられる時期まで、ほとんど増加がみとめられなかった。ヤチダモのタネの発芽への過程においては、マツのタネでみられるような環境条件の転換期は、発芽そのものであり、したがってこの場合に、湿層処理の効果およびそれにひきつづく変温の効果を酸素条件にもとめるとすれば、酸素をとりこむ機構それ自体の活性化を考えなければならない。

3-4-3. 阻害質が発芽におよぼす影響

ろやっ、発芽前の呼吸量のおよそ 2 倍に達する。このように、呼吸量もタネ全体としてみると、発芽までほとんどいちじるしい増加はみとめられない。吸水の場合に、胚だけについていちじるしい増加がしられたことと考えあわせると、この場合にも、胚だけに関してはある程度の増加がおこるのかもしれない。しかしこの点をたしかめるためには、完全なタネのなかにある場合とおなじ条件での呼吸量を測定しなければならないので、技術的にきわめて困難である。

こうして、呼吸パターンについても、前節でふれたとおなじように、マツ類などのタネとのあいだにいちじるしいちがいがあることがわかった。すなわち、マツ類によって代表されるようなおおくの針葉樹のタネでは、種皮がやぶれることによって、外見的な第 3 の吸水過程がはじまる⁶⁾⁴²⁾が、この時期は同時に呼吸様式に関するエポークでもあり⁴²⁾、こうしてできたあたらしい環境条件でおこる代謝過程こそ、発芽への必要不可欠な経路であるはずである。ところがヤチダモのタネの場合には、このような意味での重大な変化を発芽時までみとめることができない。すなわち、第 3 過程での吸水量の増加がほとんどみとめられなかったとおなじように、タネ全体としてみた場合の呼吸量に関するかぎり、外見的に

物質代謝様式をあきらかにするためのテガカリをえる手段として、阻害質にたいする反応をしらべる方法がしられているが、予備的実験の結果は、つぎのような2つの事実をあきらかにした¹⁸⁾。すなわち、共軛解除剤 (uncoupler) としてしられている 2,4-ジニトロフェノールが、 10^{-4} M の濃度で発芽をおさえることから、ヤチダモのタネの発芽過程において、その力源の主要な部分は phosphorylation におうていると推定された。また *p*-ニトロフェノール (10^{-4} M) が阻害をしめさないで、青酸カリ (M/200) が阻害作用をしめすことから、ヤチダモのタネの発芽期における 末端酸化酵素系は、チトクローム-チトクローム酸化酵素系であるらしく思われた²²⁾。

Table 12. ヤチダモのタネの発芽におよぼす阻害質の影響 (I)

Effect of some chemicals on the germination of *F. mandshurica* var.
japonica seeds stratified at 25°C for 3.5 months followed by 4.5 months at 2°C.

発芽床にもちいた溶液の種類 Kind of medium for seed bed	発芽温度 Germination temperature	Germination percent in			
		4 days	7 days	10 days	14 days
Distilled water	25~2°C	1	8	69	94
Distilled water	25°C	9	16	19	19
M/200 Potassium cyanide	25~2°C	0	0	0	0* ¹
10^{-4} M 2,4-dinitrophenol	25~2°C	0	2	11	26* ²
10^{-4} M <i>p</i> -nitrophenol	25~2°C	1	6	55	93
10^{-4} M <i>p</i> -nitrophenol	25°C	4	7	12	12
M/200 Sodium malonate	25~2°C	1	9	64	87
M/200 KCN for 25°C Distilled water for 2°C	25~2°C	0	0	0	0* ³
Distilled water for 25°C M/200 KCN for 2°C	25~2°C	0	0	0	7* ⁴
10^{-4} M 2,4-dinitrophenol for 25°C Distilled water for 2°C	25~2°C	0	0	22	55
Distilled water for 25°C 10^{-4} M 2,4-dinitrophenol for 2°C	25~2°C	1	2	22	52

2週間後にうつされた発芽床の溶液の種類 Kind of medium to which seeds were transferred after two weeks	発芽率 Germination % in		
	17 days	20 days	24 days
* ¹ Distilled water	0	28	73
* ² Distilled water	47	63	66
* ³ Distilled water (continued)	0 0	32 0	82 0
* ⁴ Distilled water (continued)	72 26	86 38	92 68

Table 12 にしめす2度目の阻害質実験の結果は、うえにのべた事実をたしかめたほかに、発芽期の高温反応と低温反応について、興味ある暗示をあたえている。M/200 青酸カリを培地にもちいる場合に、高温期または低温期だけにわけてもちいると、タネはちがう反応をしめす。低温期に青酸カリをあたえた区は、発芽がかなりおくれるが阻害をうけているようには思われない。青酸カリの影響を、完全に低温期だけにかぎることは技術的に困難であったが、もしもそのような方法をとることができれば、発芽のおくれさえずっとすくなくなると思われるフシがある。このことは、14 日以後に青酸カリ培地から蒸留水にもどしたときの発芽反応によっても推察される。一方、高温期に青酸カリをあたえると、発芽は完全におさえられる。これらの事実から、低温反応の主要な部分が、青酸カリによってほとんど影響をうけないような反応であること、および高温反応が青酸カリによって影響をうける反応、おそらくは呼吸に依存していることが推論される。

第3の試みでは、2,3の阻害質を追加して実験を行なったが、その結果は Table 13 のようである。青酸カリによる発芽阻害は、ひくい濃度ではほとんどあらわれない。一方青酸カリによるよりもずっとつよい阻害が、チッ化ソーダの場合にみられた。この場合には、 $10^{-3}M$ の濃度でさえ発芽が完全におさえられる。また 8-ヒドロキシキノリン (M/200) およびモノヨード酢酸 ($10^{-3}M$) も、一部のタネの発芽を阻害する。

Table 13. ヤチダモのタネの発芽におよぼす阻害質の影響 (II)

Effect of some chemicals on the germination of *F. mandshurica* var.
japonica seeds stratified at 25°C for 8.5 months followed by 4.5 months at 2°C.

発芽床にもちいた溶液の種類 Kind of medium for seed bed	発芽温度 Germination temperature	発芽率 Germination percent in			
		3 days	6 days	8 days	10 days
Distilled water	25~8°C 25°C	58 27	89 49	93 56	96 58
M/200 Sodium Azide $10^{-3}M$ Sodium Azide	25~8°C	1 0	1 0	1 1	1 1
$10^{-3}M$ 2,4-dinitrophenol	25~8°C	1	2	2	2
M/200 Sodium fluoride $10^{-3}M$ Sodium fluoride	25~8°C	42 56	90 92	92 93	92 94
M/200 8-Hydroxyquinoline	25~8°C	22	47	51	51
M/200 Potassium cyanide $10^{-3}M$ Potassium cyanide	25~8°C	3 12	3 83	4 91	5 94
$10^{-3}M$ Iodoacetic acid $10^{-4}M$ Iodoacetic acid	25~8°C	18 49	52 94	64 94	71 95

以上阻害質実験の結果をとりまとめると、ヤチダモのタネの発芽期の力源代謝においては、呼吸と phosphorylation が共転していることがあきらかである。一方呼吸回路につながる主要な末端酸化酵素系は、チトクローム-チトクローム酸化酵素系であるものと思われるが、銅蛋白の特異な阻害質によって部分的に発芽阻害がみとめられることから、銅酸化酵素が共存しているか、あるいはある時期に鉄蛋白系とかわることが推定される。

3-5. 温過反応の素地としての物質変化

この節では、湿層処理によって温過性があらわれるようになる過程で、タネのなかにおこる物質変化について、炭水化物を中心とした実験の結果を報告する。物質代謝の面から温過反応自体を解明する試みは、これまでのところまったく行なわれていない。ところで、湿層処理のあいだの物質変化をふくめて、後熟にともなう化学変化についての研究はきわめておおい⁴⁾¹⁷⁾³³⁾³⁷⁾³⁸⁾³⁹⁾⁴²⁾⁵⁶⁾⁵⁹⁾⁷⁰⁾⁷²⁾⁸⁰⁾⁸¹⁾⁹³⁾⁹⁴⁾⁹⁵⁾¹⁰⁷⁾¹⁰⁸⁾。これらの研究をとおして、以下にのべる実験に関連のある部分をひろってみると、まず貯蔵脂肪の減少と、それにともなう糖の増加が一般的にみとめられているが、一方後熟のあいだにショ糖が減少する例もしられている⁴⁾⁵⁶⁾。糖の種類については、クロマツのタネでショ糖、ラフィノース、スタキオースの存在が知られている⁵¹⁾が、発芽するにない湿層処理を必要とするチョウセンマツの場合には、湿層処理をうけてからはじめてスタキオースがあらわれた⁴⁾。もっともおなじ五葉松の *Pinus lambertiana* のタネでは、無処理のタネにスタキオースがみとめられている¹⁷⁾。ちなみにこのタネは、チョウセンマツのタネよりもずっとみじかい低温湿層処理で、発芽が十分に促進されることがわかっている。

3-5-1. 方 法

アミノ酸のクロマトグラフィーをのぞいて、すべての実験は、胚と胚乳について別々に行なった。

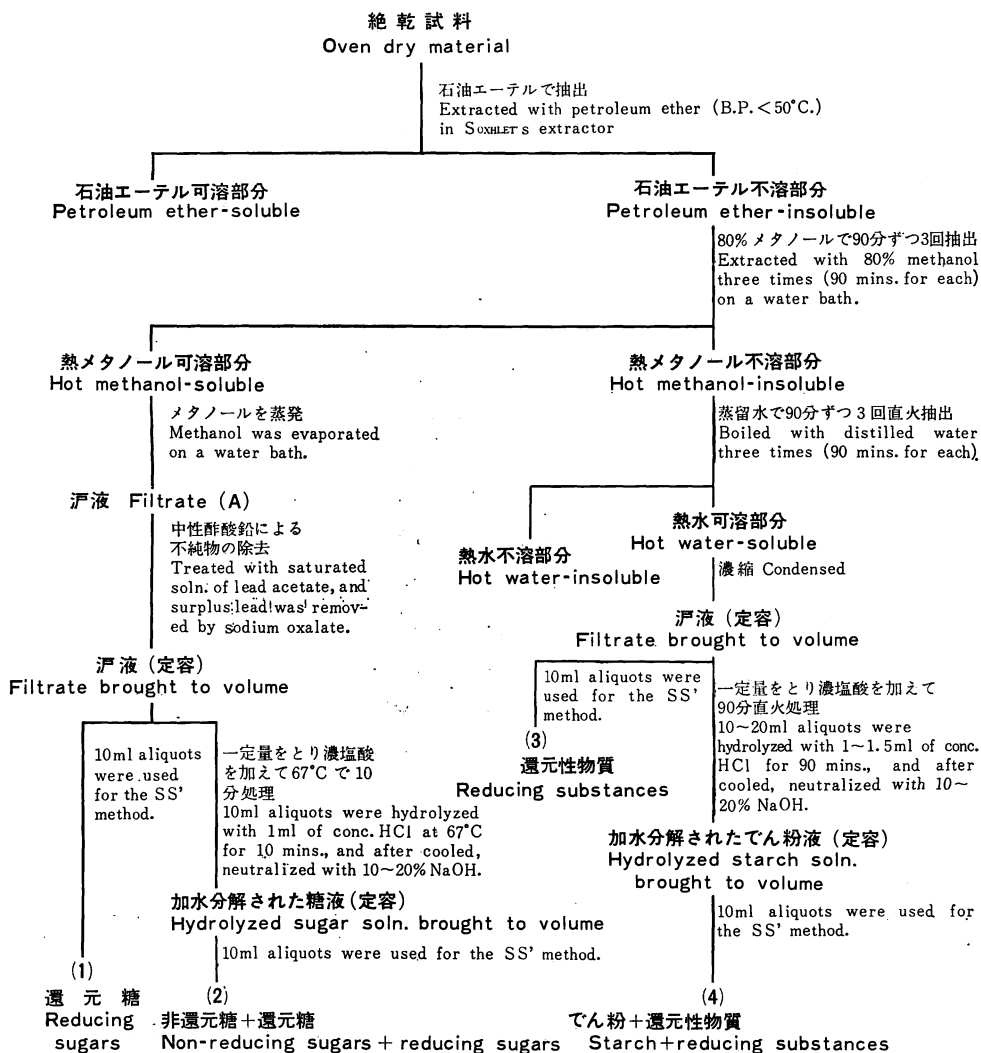
(i) 含水率の測定：3-3-1 でのべた方法とおなじである。

(ii) 炭水化物の定量：絶乾重量をはかった試料を、乳鉢でかるくくぐだいてから、Fig. 29 の操作要領にしたがって、まず石油エーテル可溶部分(脂肪)をわけた。石油エーテル不溶部分は、胚の場合には乳鉢で、胚乳の場合には、ポットミルで粉碎し、30 メッシュの篩をとおるようにこまかくしてから、Fig. 29 の順序で分析し、(1)、(2)、(3)および(4)について、SCHAFFER-SOMOGYI の改良法⁵²⁾で定量した。

(iii) ヘミセルロース・セルロースの定量：ヘミセルロースは PREECE の方法⁸³⁾に、セルロースは KURSCHNER & HOFFER の方法⁷¹⁾にしたがって定量した。

(iv) 糖のクロマトグラフィー：Fig. 29 にしたがって汙液(A)を調製したあと、中性酢酸鉛の飽和溶液で蛋白そのほかの不純物をのぞいてから、硫化水素をとおして過剰の鉛をのぞいた。その汙液を、10~20% の苛性ソーダで pH 6.0 に調節してから真空乾燥した。完全にかわいた試料は、メタノール抽出にもちいた石油エーテル不溶部分の絶乾重量にたいして、胚の場合には 40 mg あたり 0.1 ml、胚乳の場合には 0.2 g あたり 0.1 ml の割合で蒸留水をくわえてとかした。この糖液およそ 0.01 ml を、東洋汙紙 No. 50 の原点につけ、*n*-ブタノール：酢酸：水(4:1:1)の溶媒によって、上昇法でおよそ 16 時間展開した。こうしてスタキオース、ラフィノース、ショ糖、グルコース、ガラクトース、フラクトース、ラムノースの *R_f* と相互の関係位置をみたあと、各試料の比較にあたっては、各糖の分離をよくするために、一度展開したものを気乾して、ふたたびおなじ要領で展開した。クロマトグラムは、気乾してからベンチジン試薬⁵¹⁾(還元糖)と SELIWANOFF の試薬⁵¹⁾(ケトースをもつオリゴサッカリド)で発色させ、糖の種類とおおまかな量的関係をしらべた。

(v) アミノ酸のクロマトグラフィー：石油エーテル不溶部分を、80% メタノールをもちいて室温で 24 時間ずつ 3 回抽出し、遠心分離してあつめた上澄液を汙過してから減圧濃縮し、最後に真空乾燥した。完全にかわいた試料はメタノール抽出にもちいた石油エーテル不溶部分の絶乾重量 0.2 g にたいして、0.1 ml の割合で蒸留水をくわえてとかした。この水溶液の適量(2 次元クロマトグラフィーのときはおよそ 0.02 ml、1 次元のときはおよそ 0.01 ml)を、東洋汙紙 No. 50 の原点につけて、上昇法で展開し



- 1) To analyze petroleum ether-insoluble fraction, 1~2g was used for endosperm with seed coat and 0.1~0.2g for embryo.
- 2) The SS' method means the modified SCHAFFER-SOMOGYI's method.

Fig. 29 炭水化物の分析方法
Procedures for analyzing carbohydrates.

た。溶媒には、フェノール：0.5%アンモニア水（9：1）に少量の 8-ヒドロキシキノリンをくわえた²¹⁾ものと、*n*-ブタノール：蟻酸：水（15：3：2）とをもちいた。

2 次元クロマトグラムについては、ニンヒドリンの 0.25% アセトン溶液²¹⁾と、イサチンの 0.2% アセトン溶液²¹⁾を検出試薬としてもちいたが、1 次元クロマトグラムについては、このほかにつぎのような特異検出試薬を併用した²¹⁾。すなわち、 α -ナフトール：次亜塩素酸ソーダ試薬（坂口反応：アルギニン）、塩化第二白金：ヨードカリ試薬（シスチン）、PAULY の試薬（ヒスチジン）、*o*-フタルアルデヒドの 0.2

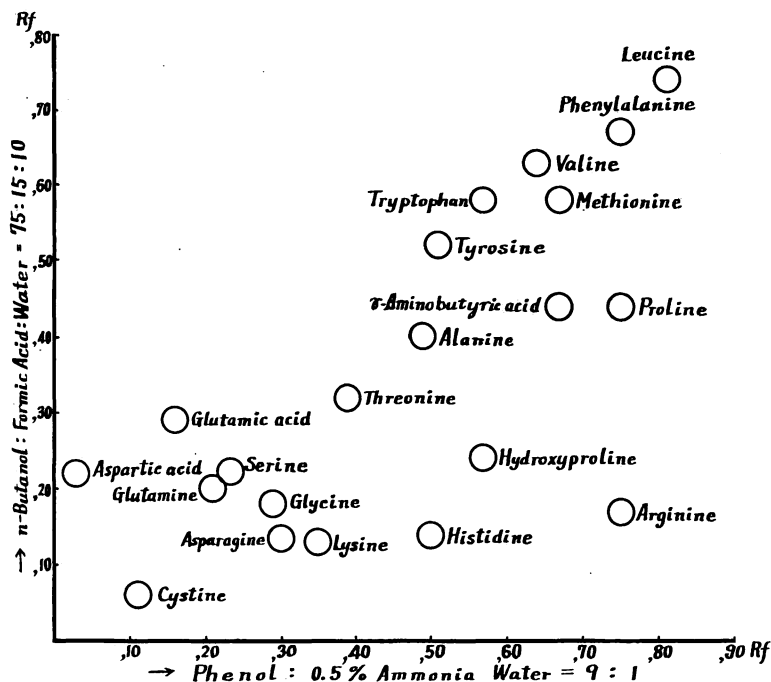


Fig. 30 アミノ酸およびアミドの標準展開図
Standard chromatogram for amino acids.

%アセトン溶液（グリシン），EHRlich の試薬（トリプトファン）である。なおうえにのべた溶媒によってえられた、2 次元クロマトグラム上におけるアミノ酸の標準展開図を Fig. 30 にしめす。

3-5-2. 絶乾重量の変化

湿層処理の過程については 500 粒の、発芽の過程については 300 粒の平均値によって、胚と胚乳の絶乾重量の増減をたどってみると、Fig. 31 のようである。高温湿層処理の過程で、タネの中にある胚がゆっくり成長することがしられている⁹⁾¹²⁾が、Fig. 31 の結果も、ことに 25°C で胚が胚乳から物質をとりこんで成長をつづけることを示している。ここで、このような胚の成長と湿層処理の発芽促進効果との関係を考えてみると、すでにタネのなかでの胚の成長について、それが発芽促進効果と相関をしめさないことを報告した¹²⁾が、Fig. 31 の絶乾重量の変化もおなじような関係を示している。つまり胚乳から胚への物質の転流は、25°C においてもっともいちじらしい。したがってこの場合にも、胚乳から胚への物質の量的転流は、発芽への準備のために必要不可欠な条件であるというよりは、むしろ単に結果的なものとみるべきであるだろう。

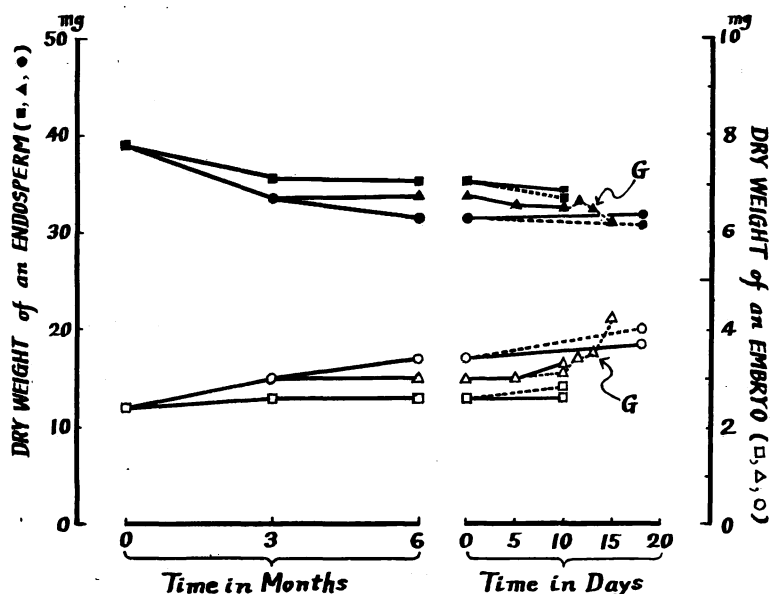


Fig. 31 湿層処理のあいだから発芽への過程でみられた胚と胚乳(十種皮)の絶乾重量の変化

Changes in oven dry weight of *F. mandshurica* var. *japonica* embryo (□, △, ○) and endosperm with seed coat (■, ▲, ●) during stratification and germination. Stratifying conditions: 25°C. (3 months)-2°C (3 months) (△, ▲); 25°C (6 months) (○, ●); 2°C (6 months) (□, ■). Germination temperatures: 25°C (solid line); 25~8°C (broken line).

3-5-3. 気乾種子の化学的組成

これまでのところ、トネリコ属樹木のタネの化学的組成を報告した例はほとんどない。BALDWIN (1942)¹⁰⁾が引用しているところによれば、KROTKIEWITSCH (1934) は *Fraxinus excelsior* のタネが 20% の脂肪を含むと報告しているらしいが、あとでのべるヤチダモの例にくらべるといちじるしくおおい。3-5-1 でのべた方法によってえられた、ヤチダモ、トネリコ、シオジの気乾種子の化学的組成は Table 14 のとおりである。シオジのタネの含水率がほかのものにくらべていちじるしくたかいたのは、採取してから分析にもちいるまでのおよそ1か月に、まだ平衡状態にたっていないためであろう。

(i) 脂肪含有量: タネ全体としてみると、ヤチダモのほうが脂肪含有率がすくない。これはヤチダモの胚乳の脂肪含有率がすくないためと、胚乳にたいする胚の割合が小さいためである。ところで胚だけについてみると、気乾状態のヤチダモの胚は、いちじるしくたかい脂肪含有率をしめている。

(ii) 炭水化物と糖の種類: 還元糖、非還元糖をふくめた糖の含有率は、トネリコ、シオジのほうがいくらかおおい。普通脂肪含有率がひくい場合には、デンプン含有量がおおいように思われる³⁰⁾が、ここでもちいた分析方法では、トネリコ属のタネは一般に少量のデンプンしか含んでいない結果をあたえた。きわめてひくい脂肪含有率および呼吸商(R.Q.)などと考えあわせると、このような結果はむしろ奇異に思われる。

糖の種類については、クロマトグラフィーによってつぎのような結果(Table 17 参照)をえた。すなわち、ヤチダモの胚にはラフィノースとグルコースがはっきりみとめられるが、スタキオースとショ糖は

Table 14. 気乾状態のヤチダモ, トネリコ, シオジのタネの化学的組成
 Chemical composition of resting seeds of *Fraxinus mandshurica* var. *japonica*, *F. japonica*,
 and *F. spaethiana*. Percentage to oven dry matter.

種 名 Species	含 水 率 Moisture content	石油エーテル 可溶部分 Petroleum ether-soluble	熱メタノール 可溶部分 Hot methanol- soluble	熱 水 可溶部分 Hot water- soluble	ヘミセル ロース Hemi- cellulose	セルロース Cellulose	そ の 他 Others	粗 蛋 白 Crude protein	還 元 糖 Reducing sugars	非還元糖 Non- reducing sugars	デ ン 粉 Starch
<i>F. mandshurica</i> var. <i>japonica</i>	11.5	4.8	36.0	12.6	5.9	11.6	29.1	20.3	1.4	6.9	2.0
<i>F. japonica</i>	9.7	6.6	43.8	9.6	5.9	9.5	24.6	21.8	2.1	8.7	1.9

種 名 Species	部 分 Part	含 水 率 Moisture content	石油エーテル 可溶部分 Petroleum ether-soluble	熱メタノール 可溶部分 Hot methanol- soluble	熱 水 可溶部分 Hot water- soluble	そ の 他 Others	粗 蛋 白 Crude protein	還 元 糖 Reducing sugars	非還元糖 Non- reducing sugars	デ ン 粉 Starch
<i>F. mandshurica</i> var. <i>japonica</i>	Embryo	9.3	36.0	38.3	8.4	17.3	21.1	2.6	8.6	2.2
	Endosperm+ Seed coat	11.7	2.8	33.8	12.2	51.2	19.9	1.7	7.8	4.1
<i>F. spaethiana</i>	Embryo	46.3	25.7	48.8	8.8	16.7	17.3	2.9	10.3	2.8
	Endosperm+ Seed coat	52.5	3.9	52.5	7.4	36.2	11.9	2.8	14.5	1.6

Table 15. 気乾状態のヤチダモおよびトネリコのタネに存在する遊離アミノ酸の種類
Free amino acids in resting seeds of *F. mandshurica* var. *japonica* and *F. japonica*. A quantitative relation is approximately shown. Amino acids with a question mark are not confirmed yet.

含水率 Moisture content (oven dry basis)	種 名 Species	<i>Fraxinus mandshurica</i> var. <i>japonica</i>	<i>F. japonica</i>
Amino acids & amides		11.5	9.7
	Leucine		
	Phenylalanine		
	Valine	+	++
	Methionin		
	Tryptophan	+	++
	Tyrosine	+	++
	Proline	++	+
	γ -Aminobutyric acid	?	?
	Alanine		
	Threonine		
	Glutamic acid	+	++
	Hydroxyproline		
	Serine	?	?
	Aspartic acid	+	+
	Glutamine		
	Glycine	+	+
	Arginine	?	?
	Histidine	?	?
	Lysine	?	?
	Asparagine	+	+
	Cystine	+	+

チロシンがおおくふくまれることがわかった。このような遊離アミノ酸の組成は、さらに胚、胚乳別に検討しなければならないだろう。

(iv) 粗蛋白そのほか：ヤチダモ、シオジ、トネリコとも、粗蛋白にはいちじるしいちがいみとめられない。シオジの胚乳における粗蛋白の割合がすくないのは、胚乳にたいする種皮組織の割合がおおきいためであろう。なお熱メタノールおよび熱水にとけでる部分についてみると、トネリコ、シオジでは前者がおおく、ヤチダモでは後者がおおい。主要な呼吸基質をあきらかにするためにも、ことに前者の組成をこまかく検討する必要がある。

3-5-4. 湿層処理から発芽への過程でおこる物質変化

以上のべたような気乾種子の化学的組成が、湿層処理をへて発芽にいたる過程でどのようにかわるかを、Table 16, Table 17, および Fig. 32 にとりまとめてしめす。以下項目をわけて、これらの結果を

ほとんどないか、あるとしてもごくわずかである。一方胚乳には、ラフィノース、ショ糖、グルコースがみとめられる。これにたいして、シオジの気乾種子の胚には、ラフィノース、ショ糖、グルコースがはっきりみとめられるが、スタキオースもわずかに存在し、また胚乳にはラフィノース、グルコースといちじるしい量のショ糖がみとめられる。トネリコについてはタネ全体としての結果しかないが、それによるとラフィノース、ショ糖、グルコースははっきりみとめられるが、スタキオースはほとんどみとめられない。

(iii) 遊離アミノ酸の種類：ヤチダモとトネリコのタネ（胚、胚乳、種皮）について、3-5-1(v)でのべたようなおおくの特異反応をもちいて、つぎのような結果をえた(Table 15)。この結果でわかるように、ヤチダモとトネリコの発芽特性に対応するようないちじるしいちがいは、遊離アミノ酸の組成にはみられなかった。それぞれのアミノ酸について、量的関係を十分に検討することはできなかったが、ヤチダモにプロリンがおおくふくまれること、トネリコにヴァリン、トリプトファン、

検討してみたい。

(i) 脂肪の変化: Table 16 に石油エーテル可溶部分としてしめされているものの変化のうち, 絶乾重にたいする割合——これをかりに含油率とよぶ——だけをプロットした Fig. 32 は, 脂肪の消長についてつぎのようなことをあきらかにしている。まず第1に, 含油率は湿層処理の温度条件にかかわらず, 胚のなかではいちじるしく減少し, 胚乳の中ではいくらか増加する。発芽条件にうつしてからも, 胚乳のなかでは依然としてやや増加する傾向があるが, 胚については湿層処理条件, 発芽温度によってちがう変化をみせる。つまり, 25°C (3 か月) —2°C (3 か月) の湿層処理をうけて 25~8°C の変温にうつしたものでは, 発芽するしばらく前からふたたび減少しはじめる。この場合胚自身の重量がふえている (Fig. 31) から, 含まれている脂肪の量そのものは減少していない。一方不利な発芽温度 (25°C), 不利な湿層処理条件においたものでは, ほとんど変化がみられない。Table 16 にしめしたシオジの例については, 発芽するまでの変化をおうことができなかったが, それでも発芽への過程にある胚のなかで脂肪が減少する傾向だけはわかる。呼吸についての節 (3-4-2) でもふれたように, このような変化から考えると, 発芽期の主要な呼吸基質として脂肪がつかわれているとは考えられないが, 発芽直前での減少は, この時期の R. Q. が1よりやや小さいという事実と関連しているかもしれない。また Table 16 でわかるように, ヤチダモの胚は胚乳にくらべていちじるしく小さいから, タネ全体としての

脂肪の量は, 湿層処理から発芽への過程でむしろ増加するが, これまでしられている例とはことなっている。なおごく最近, ある種のトネリコのタネについて, 成熟, 湿層処理, および発芽期にわたる物質変化が報告されている⁶⁹⁾が, 湿層処理のあいだには脂肪にいちじるしい変化はみとめられていない。

(ii) 糖およびデンプンの量的変化と組成の変化: 炭水化物の変化も, 全般的にみてあまりいちじるしくないが, およそつぎのようないくつかの傾向を指摘することができる。まず第1に, いろいろな状態の胚, 胚乳を通じて, 還元糖—グルコース—はわずかしき含まれていないばかりでなく, ほとんどいじりしい変化はみられない。しかし胚では, 発芽直前からわずかに増加し, ここでフラクトースがあらわれる。なお, おなじ時期の胚乳にもフラクトースがみとめられた。

一方非還元糖については, 胚でも胚乳でも興味ある変化がみとめられた。すなわち胚では, 25°C (3 か

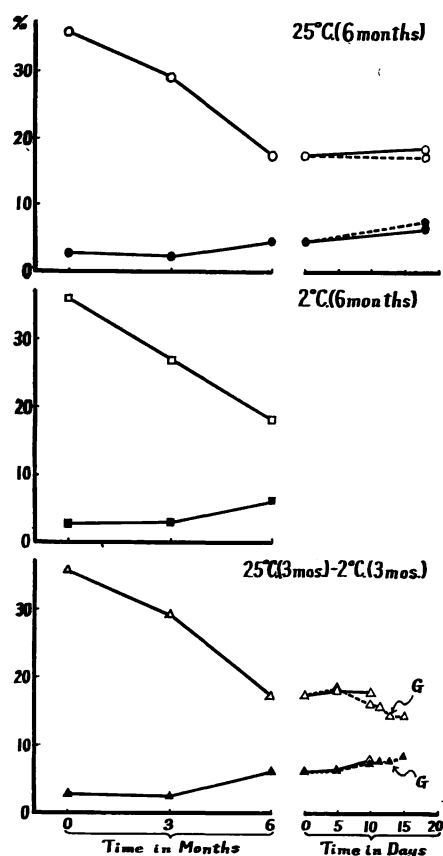


Fig. 32 湿層処理のあいだから発芽への過程でみられた胚と胚乳 (+種皮) の脂肪含有率の変化

Changes in oil content (oven dry basis) of *F. mandshurica* var. *japonica* embryo (□, △, ○) and endosperm with seed coat (■, ▲, ●) during stratification and germination. Stratifying conditions and germination temperatures: same as in Fig. 31.

Table 16. 湿層処理のあいだから発芽への過程で

Chemical changes of *F. mandshurica* var. *japonica* embryo and without parenthesis shows the oven dry weight in mg of ten seeds.

(1)

タネの状態 State (No.) of seed	胚 Embryo							
	絶乾重量 Oven dry weight	含水率 Moisture content	石油エーテル可溶部分 Petroleum ether-soluble	熱メタノール可溶部分 Hot methanol-soluble	熱水可溶部分 Hot water-soluble	還元糖 Reducing sugars	非還元糖 Non-reducing sugars	粉 Starch
(1) 気乾状態 Resting	24	(9.3)	8.6 (36.0)	9.2 (38.3)	2.0 (8.4)	0.6 (2.6)	2.1 (8.6)	0.5 (2.2)
(2) Stratified at 25°C for 3 months	30	(158.5)	8.8 (29.3)	12.6 (42.0)	3.3 (11.1)	0.9 (3.0)	3.1 (10.3)	0.5 (1.5)
(3) Stratified at 25°C for 3 months followed by 3 months at 2°C	30	(162.4)	5.3 (17.5)	15.4 (51.3)	3.1 (10.2)	1.1 (3.7)	4.7 (15.8)	0.8 (2.7)
(4) 5 days after transfer to 25~8°C from (3)	30	(190.0)	5.5 (18.3)	16.6 (55.4)	2.6 (8.7)	1.0 (3.3)	3.3 (11.0)	0.4 (1.4)
(5) 10 days after transfer to 25~8°C from (3)	31	(214.3)	5.1 (16.3)	17.3 (55.7)	1.6 (5.0)	1.2 (3.9)	3.6 (11.6)	0.7 (2.2)
(6) Just before germination	34	(236.4)	5.4 (16.0)	18.4 (54.2)	4.5 (13.3)	1.6 (4.6)	5.1 (14.9)	0.6 (1.9)
(7) Just after germination	35	(266.8)	5.1 (14.6)	20.1 (57.3)	3.6 (10.3)	1.8 (5.0)	6.1 (17.4)	0.5 (1.5)
(8) Germinating seeds (Radicles: 5~10 mm long)	42	(345.6)	6.1 (14.6)	23.3 (55.4)	4.2 (9.9)	2.2 (5.3)	4.9 (11.6)	0.9 (2.2)
(4') 5 days after transfer to 25°C from (3)	30	(181.6)	5.4 (18.1)	16.4 (54.6)	2.3 (7.8)	0.9 (3.0)	3.6 (12.0)	0.3 (0.9)
(5') 10 days after transfer to 25°C from (3)	33	(178.6)	5.9 (17.9)	18.4 (55.8)	2.0 (6.2)	1.3 (3.9)	3.5 (10.5)	1.3 (3.9)
(2') Stratified at 2°C for 6 months	26	(171.9)	7.0 (27.0)	11.4 (43.9)	2.5 (9.6)	0.8 (3.1)	2.8 (10.7)	0.5 (2.1)
(3') Stratified at 2°C for 6 months	26	(172.5)	4.8 (18.4)	12.9 (49.8)	2.8 (10.6)	1.0 (3.8)	3.7 (14.2)	0.7 (2.8)
(3'') Stratified at 25°C for 6 months	34	(162.3)	6.0 (17.7)	23.3 (68.4)	1.4 (4.1)	1.5 (4.4)	4.3 (12.6)	0.9 (2.5)

胚と胚乳(十種皮)にあらわれた物質変化

endosperm with seed coat during stratification and germination. The number

The number in parenthesis shows the percentage to total oven dry matter.

胚乳+種皮 Endosperm+seed coat							
絶 乾 重 量 Oven dry weight	水 率 Moisture content	石油エーテル可溶部分 Petroleum ether-soluble	熱メタノール可溶部分 Hot methanol-soluble	熱水可溶部分 Hot water-soluble	糖 元 Reducing sugars	糖 元 Non-reducing sugars	粉 Starch
388	(11.7)	10.9 (2.8)	131.1 (33.8)	47.3 (12.2)	6.6 (1.7)	30.3 (7.8)	15.9 (4.1)
336	(113.9)	8.1 (2.4)	116.3 (34.6)	36.0 (10.7)	6.4 (1.9)	18.8 (5.6)	12.4 (3.7)
336	(120.3)	20.8 (6.2)	99.1 (29.5)	29.9 (8.9)	4.7 (1.4)	23.9 (7.1)	6.0 (1.8)
329	(123.2)	21.4 (6.5)	97.7 (29.7)	39.5 (12.0)	4.9 (1.5)	22.2 (6.7)	7.2 (2.2)
327	(122.0)	24.5 (7.5)	104.3 (31.9)	37.9 (11.6)	6.2 (1.9)	23.5 (7.2)	7.2 (2.2)
327	(123.0)	25.8 (7.9)	99.7 (30.5)	41.5 (12.7)	6.2 (1.9)	25.2 (7.7)	6.5 (2.0)
326	(123.2)	25.8 (7.9)	101.7 (31.2)	46.9 (14.4)	6.2 (1.9)	24.8 (7.6)	5.2 (1.6)
311	(127.1)	26.7 (8.6)	93.0 (29.9)	40.7 (13.1)	6.2 (2.0)	21.8 (7.0)	6.2 (2.0)
329	(124.8)	22.4 (6.8)	97.1 (29.5)	36.8 (11.2)	4.9 (1.5)	22.7 (6.9)	6.6 (2.0)
327	(125.6)	26.2 (8.0)	102.4 (31.3)	40.5 (12.4)	6.2 (1.9)	30.7 (9.4)	8.5 (2.6)
356	(105.2)	11.0 (3.1)	105.7 (29.7)	40.9 (11.5)	5.7 (1.6)	29.2 (8.2)	16.7 (4.7)
353	(107.5)	22.2 (6.3)	109.1 (30.9)	38.1 (10.8)	4.9 (1.4)	26.8 (7.6)	7.8 (2.2)
316	(132.3)	14.9 (4.7)	95.1 (30.1)	33.8 (10.7)	4.7 (1.5)	22.1 (7.0)	6.3 (2.0)

(2)

Appendix

Chemical composition of

タネの状態 State of Seed	胚 Embryo							
	絶乾重 Oven dry weight	含水率 Moisture content	石油エーテル可溶部分 Petroleum ether-soluble	熱メタノール可溶部分 Hot methanol-soluble	熱水可溶部分 Hot water-soluble	還元糖 Reducing sugars	非還元糖 Non-reducing sugars	淀粉 Starch
気乾状態 Resting	141	(46.3)	36.2 (25.7)	68.8 (48.8)	12.4 (8.8)	4.1 (2.9)	14.5 (10.3)	3.9 (2.8)
発芽床で 25°C において 4 日目 4 days after sowing at 25°C	145	(166.0)	35.2 (24.3)	72.2 (49.8)	8.4 (5.8)	4.8 (3.3)	18.7 (12.9)	2.5 (1.7)

Table 17. 湿層処理のあいだから発芽への過程でみられた胚と胚乳(十種皮)の糖組成の変化

Changes in sugar composition of *F. mandshurica* var. *japonica* embryo and endosperm (+seed coat) during stratification and germination. This table shows only an approximate relation among different stages, and the quantitative relation is shown in Table 16. A comparison is made on different basis for embryo and endosperm with seed coat. ±: trace.

タネの状態 (No.) State of seed	胚 Embryo					胚乳+種皮 Endosperm+seed coat				
	Stachyose	Raffinose	Sucrose	Glucose	Fructose	Stachyose	Raffinose	Sucrose	Glucose	Fructose
(1) 気乾状態 Resting	±	+	±	+			+	+	+	
(2) {Stratified at 25°C for 3 months	±	+	+	+			+	+	+	
(3) {Stratified at 25°C for 3 months followed by 3 months at 2°C	+	+	++	+			+	+	+	
(5) {10 days after transfer to 25~8°C from (3)	±	+	+	+			+	+	+	
(6) Just before germination	±	+	++	+	+		+	+	+	+
(7) Just after germination	±	+	++	+	+		+	+	+	+
(8) {Germinating seeds (Radicles: 5~10 mm long)	±	+	++	+	+		+	+	+	+
(5') {10 days after transfer to 25°C from (3)	+	+	+	+			+	+	±	
(2') {Stratified at 2°C for 3 months	±	+	+	+			+	+	+	
(3') {Stratified at 2°C for 6 months	±	+	+	+			+	+	+	
(3'') {Stratified at 25°C for 6 months	±	+	+	+			+	+	±	

Appendix

Sugar composition of *F. spaethiana* seeds

気乾状態 Resting	±	+	+	+			+	++	+	
4 days after sowing at 25°C	+	+++	+	+			+	++	+	

F. spaethiana seeds.

胚乳+種皮 Endosperm+seed coat							
絶乾重量 Oven dry weight	含水率 Moisture content	石油エーテル可溶部分 Petroleum ether-soluble	熱メタノール可溶部分 Hot methanol-soluble	熱水可溶部分 Hot water-soluble	還元糖 Reducing sugars	非還元糖 Non-reducing sugars	淀粉 Starch
662	(52.5)	25.8 (3.9)	347.6 (52.5)	49.0 (7.4)	18.5 (2.8)	96.0 (14.5)	10.6 (1.6)
658	(156.2)	26.3 (4.0)	337.6 (51.3)	63.2 (9.6)	19.7 (3.0)	98.0 (14.9)	13.2 (2.0)

月) -2°C (3か月) の湿層処理のあいだにおよそ倍増する。Table 17 でわかるように、この過程での増加に関係しているのは主としてショ糖である。発芽条件 ($25\sim 8^{\circ}\text{C}$) にうつすと一時減少するが、発芽直前からふたたび増加する。なお湿層処理のおわりごろには、スタキオースがはっきりみとめられ、発芽条件にうつしてからふたたびほとんどみとめられなくなる。一方胚乳では、はじめの高温湿層処理期間には減少するが、ひきつづく低温湿層処理のあいだにふたたび増加する。発芽条件にうつしてからは、 $25\sim 8^{\circ}\text{C}$ でははじめやや減少するが、発芽するころ一時増加し、幼根が成長しはじめるとふたたび減少する。おなじ湿層処理をうけたタネを 25°C におくと、 $25\sim 8^{\circ}\text{C}$ においたものにくらべて非還元糖が蓄積するらしい。定温においたタネの呼吸はしだいに減少したが、糖からエネルギーを発生する代謝経路の回転がのろくなることによって、このような蓄積がおこるのかもしれない。

最後に、デンプンについてもいちじるしい消長はみられなかった。

以上に炭水化物の消長を、湿層処理のあいだから発芽への過程についておってみたが、その量的変化がすくなかったことは意外であった。注目された 2,3 の事実および R.Q. から、すでにのべたように、ヤチダモのタネの呼吸基質の主要な部分は炭水化物であるだろうが、ここでしらべたものの変化が比較的すくないのは、デンプンよりも高分子の炭水化物が基質源としてつかわれている可能性を暗示している。この点についての知見を与えるためには、熱メタノールや熱水にとける部分の組成をさらに検討する必要がある。

3-6. 温週反応の機作とその意義

温週反応の機作についてのアプローチは、これまでのところきわめてかぎられたものであるが、それらの実験結果をもとにして、現状で考えられる機作の一端を論じ、さらに温週反応が発芽においてどういう意義があるかを考えてみたい。

まず、みかけがみのったヤチダモのタネから、温週反応をしめすような時期にいたるまでの過程で、どのような変化がおきるかについて、この章でふれなかった点をふくめて要約するとつぎのようである。みかけがみのったヤチダモのタネは、これまでのところ温度条件や光条件だけで短期間に発芽させることはできない。このことは、タネをとる時期をかえても、とりいれてから保存してもかわらない¹²⁾。この時期のタネからとりだした胚は、普通ほとんど成長しないいわゆる休眠状態をしめす⁹⁾¹¹⁾。もっともこの休

眠状態は、つよい光を連続的にあてる方法¹²⁾¹¹⁴⁾や、チオウレアの 0.5% 溶液につける方法¹⁰⁸⁾によってやぶることができる。このような性質をしめすみかけがみのったタネを高温湿層処理すると、タネのなかで胚がしだいに成長しはじめるが、まもなく胚の生理的性質がかわってくる⁹⁾¹²⁾。つまりこの時期のタネからとりだした胚は、普通の温度 (25°C) ですみやかに成長するようになる。このような胚にみられる変化は、果皮の存在によってかなりおくらされる⁹⁾¹²⁾。この時期のタネも、これまでのところ温度条件や光条件だけで短期間に発芽させることができない。高温湿層処理をへたタネをひきつづいて低温湿層処理にうつすと、まもなくある光条件と温度条件のもとで発芽しはじめる (Table 5)。すなわち、この時期にはじめて光感反応をしめすようになり、ついで“温過反応をしめす時期”がかさなりあってあらわれる。さらに低温湿層処理期間をながくすると、結局“温過反応をしめさない時期”にはいり、この段階にあるタネは、普通発芽によいと考えられている温度 (25°C) ですみやかに発芽にいたる。

ところで、この章でしらべてきた 2, 3 の変化および胚の性質の変化を、発芽のための温度要求の消長と対応させることによって、温過反応と関係のありそうなタネの性質をぬきだすことを期待したけれども、これまでのところこのような試みは成功していない。すなわち吸水の程度、呼吸量について、温過反応をしめす時期の特異性をみとめることはできなかったし、脂肪、炭水化物の量的または組成の変化についても同様であった。実際 Fig. 24 の結果も、問題なのは湿層処理をおわったときの状態ではなくて、発芽条件にうつしてからの反応のしかたであることを明示している。このことは KOBLET (1932)⁵⁹⁾ がのべた暗示ぶかい考え方をおもいおこさせるが、それにしても、おなじ発芽条件にうつされながら、湿層処理条件をことにするタネがちがう反応をしめす以上、各湿層処理条件のおわりに、タネの内的状態がちがっていたことはたしかである。最近、VILLIERS & WAREING (1960)¹⁰⁸⁾は、*Fraxinus excelsior* のタネをもちいて、成長阻害物質と促進物質の相互作用を報告しているが、無処理のタネを水浸したときできる阻害物質が湿層処理のあいだに減少しないこと、しかし湿層処理した胚の水抽出液のなかに存在する促進物質が、阻害物質の作用をおさえる性質があることをあきらかにし、こういう面から問題が進展する可能性を暗示している。

これに反して、変温のもとでおこる温過反応自体については、これまでのところいづれもすくなくならず結果的なものではあるが、興味あるいくつかの事実がえられ、その機作についてさえある程度の暗示がえられた。すなわち、まず吸水パターンについてみると、問題になるのは胚の吸水で、第 3 期の吸水の重要な部分はほとんど胚によっておこなわれているが、湿層処理条件にかかわらず、その吸水割合は定温 (25°C) と変温 (25~8°C) であきらかにことなっている。もちろん発芽にいたる 25°C (3 か月) — 2°C (3 か月) 区からのタネの胚でその差がもっともいちじるしいから、このような発芽温度のちがいに對する反応のしかたが、“温過反応をしめす時期”にあるタネでもっともいちじるしいことはたしかである。しかしもっとひろいタネの状態にわたって、温過処理をうけとめる機作が吸水に関係した生化学的系であることが推察される。さらにこのような生化学的系のなかで重要な部分をしめているのは、呼吸に関係した機構であるらしく思われる。発芽直前まで呼吸量そのものがほとんど増加しないことや、無気呼吸様式のもとでも温過処理にたいして有利に反応することなどから、現在までの知見だけで具体的な関係を論ずることはきわめて困難であるが、阻害質による実験結果と考えあわせると、酸素をとりこむ機構からはなれた位置にある代謝系、および直接酸素をとりこむ代謝機構が、温過反応に関係する重要な生化学的系であって、前者が低温期反応の、後者が高温期反応の主要な部分であるらしい。そして発芽は、これら両反

応のバランスによっているものと考えられる。

最後に、発芽の温適性に関与している温適反応が、自然のなかでのタネの行動にとってどのような意義をもっているかについて、筆者がえた研究成果およびこれまでの研究を基盤にして考えてみたい。タネの発芽は、胚と胚をつつんでいる組織ないしはその条件とのあいだのバランスによってきまるものと考えられるが、タネが発芽するために要求する外的要因は、すべてそれらのタネの胚を最上の生理的状态——発芽経路の図式（21 ページ）の X_3 ——にもたらしするために必要なものである。たとえば、光を必要とするタネは光感反応によって X_3 への準備がととのえられ、まったくおなじように、変温をあたえなければ発芽しないようなタネの胚は、温適反応によって X_3 への経路をすすむことができる。また湿層処理をへなければ発芽できないようなタネは、その期間に X_3 への経路をすすみ、光や温度条件に応じて容易にすすめるようになり、あるいはまた、湿層処理のあいだにそのまま X_3 にすすんで発芽することもある。ところで、こういうタネの胚がまだ生理的に最上の状態にないときに、発芽をおさえて保護的な役割をはたしているのが、種皮あるいは胚乳であり、そのしかたとしては機械的なつよさ、水にたいする不透過性、気体にたいする不透過性、あるいはさらに成長抑制物質を中心とする発芽抑制機構⁽²⁾⁽¹⁸⁾⁽²⁸⁾⁽³⁴⁾⁽³⁵⁾⁽⁵⁸⁾⁽⁷⁰⁾⁽⁸²⁾⁽⁸⁴⁾⁽¹⁰⁸⁾などがあげられる。

こうして、発芽をうながすようないろいろな外因は、これら発芽抑制機構自体の性質をかえると考えるよりは、むしろ胚を中心としたタネの内的な生理的活性をたかめて、まわりに存在する抑制作用を克服すると考えたほうがよさそうに思われる。湿層処理のあいだに阻害物質は減少しないが、促進物質があらわれるという知見⁽¹⁰⁸⁾は、このような考え方の合理性をうらづけるきわめて示唆的な研究である。発芽に光適性のみとめられている *Betula pubescens* のタネ⁽¹⁹⁾⁽²⁰⁾が、種皮をきずつけて酸素因子についての環境をかえれば、阻害物質が依然として存在するのに発芽した。一方酸素分圧をあげても同様な結果がもたらされたことから、酸素が阻害物質の不活性化に関係しているかもしれないと考えられている⁽¹⁸⁾が、冷処理や光適処理によって、酸素条件についての環境がいちじるしくかえられるとは考えられないから、ここでも胚自体の生理的活性化が、完全なタネの発芽をもたらす第一の要因ではないだろうか。そしてその活性化の具体的な過程は、GRIESBACH (1958)⁽⁴³⁾も考えているように、胚に必要な酸素の絶対量が減少する方向でおこるか、あるいは積極的に酸素をとりこむ機構が活性化される方向でおこるものであるだろう。

3-7. 要 約

温適反応の機作をあきらかにするためには、それに関係している個々の反応をしることが必要であるが、ここでは反応群全体がもたらす温適反応の結果をとらえるにとどまった。温適反応は、まず胚の吸水機構に関係している反応系に影響をあたえる。その結果、変温条件における胚の吸水は、定温条件での吸水をうわまわるが、このことは高温—低温湿層処理によって“温適反応をしめす時期”にたっているタネでとくにいちじるしい。一方酸素呼吸をたたれた状態では、温適反応はむしろ吸水をおさえるようにはたらくらしい。これらの事実は、温適反応群が吸水を調節する機構の重要な部分に、酸素をとりこむ生化学的系が関係していることをしめしている。ところでタネ全体としてみた呼吸量については、変温条件と定温条件でいちじるしいちがいはみられないが、後者ではしだいに減少する傾向があるのにはんして、前者では高温期の呼吸量がほぼおなじレベルに維持される。呼吸量のいちじるしい増大は、発芽の直後すなわち幼根がコルク質膜をやぶって外部にあらわれてからはじめておこる。阻害質実験にもとづいて、末端酸化酵素系はチトクローム-チトクローム酸化酵素系であると推定されたが、この系をとおして行なわれ

ている酸化反応に依存しているのは、おそらく高温反応であるだろう。湿層処理のあいだから発芽への過程でみられた物質変化のうちで、もっともいちじるしかったのは、胚における脂肪の減少である。炭水化物の量的変化のうちでは、非還元糖——ショ糖、ラフィノース、スタキオース——の消長がもっともめだった。無処理のタネの胚には、ショ糖、スタキオースがほとんどみられなかったが、湿層処理のあいだにことに前者が増加した。定温条件と変温条件でのちがいはそれほどいちじるしくないが、前者で非還元糖が増加する傾向がある。以上のような実験結果およびこれまでの研究成果から、温過反応の発芽における意義について論じた。

総 括

これまでタネの発芽と温度についてふれる場合、定温条件で発芽するものと変温条件で発芽するものが、いわば不連続に区分されてきた。しかしおなじ材料についても、個々のタネによって、またとりあつかいかたによって、温度要求がまちまちであることから、一見不連続のように思われる発芽にたいする温度要求が、実は本質的におなじ生化学的系の外因にたいする反応のしかたのちがいによっておこるのではないかと考えた。変温にたいしていちじるしい反応をしめすヤチダモのタネを材料にもちいて、ある期間の湿層処理をあたえてから、いろいろな温度、および2つの温度（25℃ と 8℃）についてそれぞれの温度におく時間をかえて、発芽反応を観察した。

このタネの発芽は、もちいる温度と、それぞれの温度におく時間によっていちじるしい影響をうける。一般に高温（25℃）だけにおくとはやく発芽しはじめるが、まもなく発芽がみられなくなる。一方低温だけにおくと、ゆっくりではあるが、ながい期間にわたって発芽しつづける。こういう傾向は、それぞれの温度におく時間の割合をしだにかえるとはっきり理解できる。このような傾向を、個々のタネについていいあらわすと、あたえられた湿層処理によって発芽への準備が十分にととのったタネは、高温におくことによってすみやかに発芽するが、発芽への準備がおくれているタネでは、高温と低温でそれぞれ有利にすすむ反応がかわりあわないと発芽することができない。こういうタネを高温におくと、発芽に阻害的な状態がつくられて、ある期間ののちに変温条件にうつしても、もはやそのままでは発芽することができない。このような阻害過程は、低温（2℃）におくことによってゆっくりのぞかれた。以上のような実験結果から、従来変温にたいしてしられていたタネの反応は、発芽の温過性の一断面であると考えた。

ヤチダモのタネの発芽にみられた温過性は、さらに光感性と密接な関係があることがあきらかになった。ヤチダモのタネを高温—低温湿層処理すると、ある期間にわたって好光性をしめす。この場合、赤色光の短時間照射が促進的に作用し、この効果は、赤外光照射によってだいたいうちけされるから、このタネの光感反応にも phytochrome が関与していると考えてもよさそうである。この場合、光照射だけでは発芽にいたらず、光をあたえるのと平行して、あるいは光照射にひきつづいて変温をあたえなければならぬ。また高温でつくられる阻害過程が、変温にうつす直前の赤色光照射によって部分的にとりのぞかれ、この赤色光の効果も赤外光照射によってうちけされるという事実は、高温でつくられる阻害過程にも、phytochrome が関係していることを暗示している。

ヤチダモのタネの発芽にみられる温過性は、湿層処理条件によって、つまりタネの内的条件によって消長するが、高温湿層処理にひきつづく低温湿層処理によって、しだいに温過性があらわれる。この時期を“温過反応をしめす時期”とよぶことにするが、低温湿層処理の期間をながくすると、ゆっくり“温過反

応をしめさない時期”にうつる。高温におくことによってすみやかに発芽するタネは、この段階にたっているものである。光感反応が温週反応の先駆的役割をはたすのは、“温週反応をしめす時期”の初期であり、その後期には温週反応だけで——暗黒条件で——発芽することができるようになる。このような実験結果にもとづいて、ヤチダモのタネが発芽にいたる経路を図式的に考察した。

ヤチダモのタネの発芽にみられた温週性の消長は、温週性が、タネの発芽における温度反応を統一的に理解しうる考え方であることを暗示したが、ここでは数種の林木のタネについて、その一般性を検討した。ここでもちいた材料については、ヤチダモほどいちじるしい温週性をしめす例はみとめられなかったが、発芽の経過曲線は、温週反応がいろいろなタネにかなり普遍的に存在することをしめしている。発芽におよぼす温度の影響についてのこれまでの研究成果を考えあわせると、温週性はタネの発芽における温度反応を支配している一般的な原理と考えることができる。従来タネの休眠は、休眠をおこす原因によって分類されてきたが、それぞれの相互関係についてはほとんど考えられなかった。ここでは生理的休眠と物理的休眠を大別し、生理的休眠を、ヤチダモのタネの発芽経路にたいして提出した図式によって説明した。

温週性をもたらし反応群を温週反応とよぶことにしたが、その機作をとくいとぐちをえるために、タネのなかの 2, 3 の生理的あるいは生化学的狀態にたいして、温週反応がどのような影響をあたえるかをしらべた。タネ全体としてみた、発芽する直前までの吸水パターンには、温度条件によるちがいがほとんどみとめられない。しかし胚だけについてみると、発芽条件にうつしてからいちじるしいちがいがあらわれる。すなわち、変温条件におけるタネのなかでの胚の吸水は、定温条件での吸水をうわまわり、このちがいは、高温—低温湿層処理によって“温週反応をしめす時期”にたっているタネでとくにいちじるしい。一方、酸素呼吸をたつと、温週反応はタネのなかでの胚の吸水をむしろおさえる傾向がある。これらの事実は、温週反応が胚の吸水を調節している機構に関係しており、酸素をとりこむ生化学的系が、このような吸水機構のなかで重要な役割を果たしていることをしめしている。つまり酸素についての環境条件に対応して、発芽過程の進行を調節する巧妙な機作がうかがえる。このことは、阻害質実験の結果からも理解できるが、チトクローム系と推定される末端酸化酵素系をとおしてすすむ酸化反応は、主として高温期におこるものと考えられる。呼吸量についても、タネ全体としてみると、温度条件によるちがいがあまりいちじるしくない。定温（25°C）条件ではしだいに減少するのにくらべて、変温（25～6°C）条件では高温期の呼吸量がほぼおなじレベルに維持されるが、いちじるしい増加は発芽の直後までみとめられない。湿層処理のあいだから発芽への過程でおこる物質変化は、発芽後ほどおおきくないが、脂肪、非還元糖などについて 2, 3 の変化がみとめられた。ことに胚における脂肪の減少、および非還元糖の量的増加と組成の変化が特徴的であった。最後に、温週反応の発芽における意義について論じたが、湿層処理の効果および光週反応をもふくめて、これらの諸反応は、タネにもともとある発芽抑制機構とのバランスをやるようなしかたで、タネの内的状態を活性化するものであるだろう。

文 献

- 1) ALLEN, G.S. : Factors affecting the viability and germination behavior of coniferous seed. IV. Stratification period and incubation temperature, *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco. Forest. Chron., **36**, 1, pp.18~29, (1960).
- 2) ASAKAWA, S. : Preliminary studies on the growth inhibitors in *Fraxinus* fruits. 日林誌, **36**, 6, pp.153~159, (1954).
- 3) ASAKAWA, S. : Some observations on *Fraxinus* seeds. 同上, **37**, 1, pp.1~5, (1955).
- 4) ASAKAWA, S. : Hastening the germination of *Pinus koraiensis* seeds. Preliminary study on chemical changes during pretreatments. 同上, **37**, 4, pp.127~132, (1955).
- 5) ASAKAWA, S. : Further investigation on hastening the germination of *Pinus koraiensis* seeds. 同上, **38**, 1, pp.1~4, (1956).
- 6) ASAKAWA, S. : On the water absorption by *Pinus koraiensis* seeds. 同上, **38**, 4, pp.125~129, (1956).
- 7) ASAKAWA, S. : Thermoperiodic control of germination of *Fraxinus mandshurica* var. *japonica* seeds. 同上, **38**, 7, pp.269~272, (1956).
- 8) 浅川澄彦 : ヤチダモのタネの発芽遅延についての研究 (第1報) これまでの研究のあらましとトネリコ属植物のタネの比較観察, 林試報, **83**, pp. 1~18, (1956)
- 9) 浅川澄彦 : ヤチダモのタネの発芽遅延についての研究 (第2報) ヤチダモのタネの前発芽について, 同上, **83**, pp. 19~28, (1956).
- 10) 浅川澄彦 : ヤチダモのタネの発芽遅延についての研究 (第4報) 吸水経過について, 同上, pp. 75~84, (1956)
- 11) 浅川澄彦 : ヤチダモのタネの発芽遅延についての研究 (第5報) 湿層処理の効果, 同上, **95**, pp. 71~90, (1957).
- 12) 浅川澄彦 : ヤチダモのタネの発芽遅延についての研究 (第6報) 土中埋蔵の効果に関連した2,3の実験, 同上, **100**, pp. 23~39, (1957).
- 13) 浅川澄彦 : 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, 同上, **103**, pp. 25~44, (1957).
- 14) 浅川澄彦 : 五葉松類のタネの発芽促進, 同上, **100**, pp. 41~54, (1957).
- 15) ASAKAWA, S. : Physiology of embryo dormancy. 日林誌, **41**, 10, pp.389~395, (1959).
- 16) BALDWIN, H.I. : Forest Tree Seed. Waltham, (1942).
- 17) BARON, F.J. : Observations on some factors associated with the germination of seeds of sugar pine (*Pinus lambertiana* Dougl.). Ph. D. Thesis Univ. of Calif., (1957).
- 18) BLACK, M. : Interrelationships of germination inhibitors and oxygen in the dormancy of seed of *Betula*. Nature, **178**, 4539, pp.924~925, (1956).
- 19) BLACK, M., & P.F. WAREING : Photoperiodic control of germination in seed of birch (*Betula pubescens* Ehrh.). Nature, **174**, 4432, pp.705~706, (1954).
- 20) BLACK, M., & P.F. WAREING : Growth studies in woody species. VII. Photoperiodic control of germination in *Betula pubescens* Ehrh. Physiol. Plantarum, **8**, 2, pp.300~316, (1955).
- 21) BLOCK, R.J., E.L. DURRUM, & G. ZWEIG : A Manual of Paper Chromatography and Paper Electrophoresis. New York, (1958).
- 22) BONNER, J. : Plant Biochemistry. New York, (1952).
- 23) BORTHWICK, H.A. : Light effects on tree growth and seed germination. Ohio Jour. Sci., **57**,

- 6, pp. 357~364, (1957).
- 24) BORTHWICK, H. A., S. B. HENDRICKS, M. W. PARKER, E. H. TOOLE, & V. K. TOOLE : A reversible photoreaction controlling seed germination. Proc. Nat. Acad. Sci., **38**, 8, pp. 662~666, (1952),
- 25) BORTHWICK, H. A., & S. B. HENDRICKS : Photoperiodism in plants—control of plant growth by light & the measurement of night length. Science, **132**, 3435, pp. 1223~1228, (1960).
- 26) BÜNNING, E. : Endogenous rhythms in plants. Ann. Rev. Plant Physiol., **7**, pp. 71~90, (1956).
- 27) BÜNNING, E., I. I. CHAUDHRI, & Z. ul ABIDIN : Die Beziehung von Photo- und Thermo-periodismus bei der Samenkeimung zur endogenen Tagesrhythmik. Ber. deut. Bot. Ges., **68**, 1, pp. 41~45, (1955).
- 28) COX, L. G. : A physiological study of embryo dormancy in the seed of native hardwoods and iris. Ph. D. Thesis Cornell Univ., (1942).
- 29) CROCKER, W. : Growth of Plants. New York, (1950).
- 30) CROCKER, W., & L. V. BARTON : Physiology of Seeds. Waltham, (1953).
- 31) DAVIS, W. E. : An explanation of the advantage of alternating temperatures over constant temperatures in the germination of certain seeds. Amer. Jour. Bot., **26**, pp. 17s~18s. (1939).
- 32) DOLJA, N. I. : Physiology of embryo growth and germination of *Fraxinus excelsior*. Dokl. Acad. Nauk SSSR, **88**, 4, pp. 729~732, (1953). (For. Abstr. **14**, 4, (1953) 3293 による)
- 33) ECKERSON, S. : A physiological and chemical study of after-ripening. Bot. Gaz., **55**, pp. 286~299, (1913).
- 34) EVENARI, M. : Germination inhibitors. Bot. Rev., **15**, 3, pp. 153~194, (1949).
- 35) FERENCZY, L. : The dormancy and germination of seeds of the *Fraxinus excelsior* L. Acta Biologica (Szeged), **1**, 1/4, pp. 17~24, (1955).
- 36) FINDEIS, M. : Über das Wachstum des Embryos in ausgesäeten Samen vor der Keimung. Kaisl. Acad. Wiss. Sitzber. Math-Naturwiss. Kl. Abt., **1**, 126, pp. 77~102, (1917) (Cox²⁸⁾ による)
- 37) FLEMION, F. : Physiological and chemical studies of after-ripening of *Rhodotypos kerrioides* seeds. Contr. Boyce Thompson Inst., **5**, 1, pp. 143~159, (1933).
- 38) FLEMION, F. : Physiological and chemical changes preceding and during the after-ripening of *Symphoricarpos racemosus* seeds. Ibid., **6**, 1, pp. 91~102, (1934).
- 39) FLEMION, F. : Physiological and chemical changes occurring prior to, during and subsequent to germination of some rosaceous seeds. Rept. XIV Internatl. Hortl. Congress, pp. 1197~1200, (1955).
- 40) FRITH, J. L. : The germination of *Sporobolus virginicus*. Jour. Australian Inst. of Agricultural Science, **23**, 1, pp. 69~75, (1957).
- 41) Forest Service, USDA : Woody Plant Seed Manual. Washington, D. C., (1948).
- 42) 郷 正士 : 吸水曲線にもとづく針葉樹のタネの発芽生理, 東大演報, **51**, pp. 159~236, (1956)
- 43) GRIESBACH, R. A., & P. D. VOTH : On dormancy and seed germination in *Hemerocallis*. Bot. Gaz., **118**, 4, pp. 223~237, (1958).
- 44) GROSE, R. J. : Notes on dormancy and effects of stratification on germination of some eucalypt seeds. Bull. Forests Commission Victoria, **3**, pp. 1~23, (1957).
- 45) GROSE, R. J., & W. J. ZIMMER : Some laboratory germination responses of the seeds of river red gum, *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. syn. *E. rostrata* Schlecht. Australian Jour.

- Bot., 6, 2, pp.129~153, (1958).
- 46) HARRINGTON, G.T.: Use of alternating temperatures in the germination of seeds. Jour. Agr. Res., 23, 5, pp.295~332, (1923).
- 47) 長谷川正男・古川 忠: 林木種子の光発芽(第I報) クロマツ, アカマツ種子の発芽の相違, 日林誌, 35, 12, pp. 382~384, (1953).
- 48) 長谷川正男・古川 忠: 林木種子の光発芽(第II報) クロマツ, アカマツ種子の発芽におよぼす光と低温の影響, 同上, 37, 1, pp. 6~7, (1955)
- 49) HATANO, K.: On the absorption of water by seeds of *Larix kaempferi* and *Pinus thunbergii*, 日林誌, 33, 12, pp. 426~430, (1951).
- 50) HATANO, K.: Über die Abhängigkeit der Atmungsintensität vom Wassergehalt bei keimenden Kiefernnsamen verschiedener Keimfähigkeit. Forstw. Cbl., 76, 11/12, pp. 376~381, (1957).
- 51) HATTORI, S., & T. SHIROYA: The sugars in the seeds and seedlings of *Pinus thunbergii*. Arch. Biochem. & Biophys., 34, 1, pp.121~134, (1951).
- 52) HEINZE, P.H., & A.E. MURNEEK: Comparative accuracy and efficiency in determination of carbohydrates in plant material. Res. Bull. Missouri Agric. Expt. Station, 314, pp. 4~23, (1940).
- 53) ISIKAWA, S.: Light-sensitivity against the germination. I. "Photoperiodism" of seeds. Bot. Mag., 67, 789/790, pp.51~56, (1954).
- 54) ISIKAWA, S., & T. ISHIKAWA: Requirement of low temperature treatment following illumination in the germination of seed of *Elsholtzia*. Plant & Cell Physiol., 1, pp.143~149, (1960).
- 55) 石川茂雄・荒木 繁: 樹木種子の発芽におよぼす光の影響(第2報) 光過的傾向について, 日林誌, 37, 11, pp. 485~487, (1955).
- 56) JONES, H.A.: Physiological study of maple seeds. Bot. Gaz., 69, pp.127~152, (1920).
- 57) KEARNS, V., & E.H. TOOLE: Temperature and other factors affecting the germination of fescue seed. USDA Tech. Bull., 638, p.35, (1939).
- 58) KNOWLES, R.H., & S. ZALIK: Effect of temperature treatment and of a native inhibitor on seed dormancy and of cotyledon removal on epicotyl growth in *Viburnum trilobum* Marsh. Canadian Jour. Bot., 36 (5), pp.561~566, (1958).
- 59) KOBLET, R.: Über die Keimung von *Pinus strobus* unter besonderer Berücksichtigung der Herkunft des Samens. Ber. Schweiz. Bot. Ges. 41, pp.199~283, (1932), (BALDWIN¹⁶⁾による)
- 60) 近藤万太郎: 日本農林種子学(前編), 東京, pp. 119~125, (1936)
- 61) 小山光男: 林木種子の発芽に要する最適温度, 林試報, 8, pp. 1~10, (1910).
- 62) 小山光男: ケヤキ種子の播種季節及発芽に要する温度に就て, 同上, 15, pp. 1~24, (1917).
- 63) 小山光男: ケヤキ, ホホ及ウルシ種子の発芽促進法, 同上, 18, pp. 1~82, (1919).
- 64) 小山光男: ケヤキ種子の後熟と発芽とに就て, 同上, 22, pp. 1~29, (1922).
- 65) 小山光男: ノイバラ種子に関する研究, 林試彙報, 16, pp. 1~29, (1925).
- 66) 小山光男: 樹木種子の発芽試験方法に就て, 日林誌, 9, 3, p. 41, (1927).
- 67) LAKON, G.: Beiträge zur forstlichen Samenkunde. II. Zur Anatomie und Keimungsphysiologie der Eschensamen. Naturw. Ztschr. Forst- u. Landw., 9, pp. 285~298, (1911).
- 68) LINGELSHHEIM, A.: Das Pflanzenreich (von A. ENGLER). Leipzig, (1920).
- 69) LISITSYN, D.I.: The dynamics of the carbohydrate and fat content in ripening and germination of ash tree seeds. Biokhimia (Transl.), 24, 5, pp. 779~782, (1959). (Biol. Abstr., 35, 19 (1960) 54063 による)

- 70) LUCKWILL, L.C.: Growth-inhibiting and growth-promoting substances in relation to the dormancy and after-ripening of apple seeds. Jour. Hort. Sci., **27**, pp. 53~65, (1952).
- 71) 右田伸彦: パルプ及製紙工業実験法, 東京, pp. 53~54, (1943).
- 72) MIROV, N.T.: The relation of some internal factors to germination of seeds of *Pinus jeffreyi* Murr. and *P. lambertiana* Dougl. Ph. D. Thesis Univ. of Calif., (1936).
- 73) MORINAGA, T.: Effect of alternating temperatures upon the germination of seeds. Amer. Jour. Bot., **13**, pp. 141~158, (1926).
- 74) NIKOLAEVA, M.G.: Causes of dormancy of the seed of *Acer negundo* L., *Fraxinus pennsylvanica* Marsh., and *Berberis vulgaris* L. Papers of V.L. KOMAROV Bot. Inst., Series IV. Exptl. Bot., **8**, pp. 234~256, (1951).
- 75) NIKOLAEVA, M.G.: The biology of germination of ash tree seeds (*Fraxinus*) and its bearing on the taxonomic position and distribution of its species. Bot. Jour., **43**, 5, pp. 679~683, (1958).
- 76) NIKOLAEVA, M.G., & V. KARKLINA: Respiratory pattern of dormant and stratified seeds of European spindle-tree. Papers of V.L. KOMAROV Bot. Inst., Series IV, Exptl. Bot., **10**, pp. 267~289, (1955).
- 77) NITSCH, J.P.: Photoperiodism in woody plants. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci., **70**, pp. 526~544, (1957).
- 78) 大井次三郎: 日本植物誌, 東京, pp. 942~944, (1953)
- 79) OLSON, J.S., F.W. STEARNS, & H. NIENSTAEDT: Eastern hemlock seeds and seedlings. Response to photoperiod and temperature. Conn. Agric. Expt. Station Bull., **620**, p. 70, (1959).
- 80) PACK, D.A.: After-ripening and germination of *Juniperus* seeds. Bot. Gaz., **72**, pp. 32~60, (1921).
- 81) PACK, D.A.: Chemistry of after-ripening, germination and seedling development of juniper seeds. Bot. Gaz., **72**, pp. 139~150, (1921).
- 82) PEARSALL, W.H.: Growth inhibition and stimulation. Sci. Progress, **41**, 165, p. 491, (1953).
- 83) PREECE, I.A.: Studies on hemicelluloses. Jour. Biochem., **25**, pp. 1304~1318, (1931).
- 84) REDMOND, D.R., & R.C. ROBINSON: Viability and germination in yellow birch. Forest Chron., **30**, 1, pp. 79~87, (1954).
- 85) REHDER, A.: Manual of Cultivated Trees and Shrubs. New York, pp. 766~775, (1949).
- 86) ROHMEDER, E.: Beiträge zur Keimungsphysiologie der Forstpflanzen. München, (1951).
- 87) SCHNEIDER, C.K.: Illustriertes Handbuch der Laubholzkunde. Jena, pp. 810~835, (1912).
- 88) SIFTON, H.B.: The germination of light-sensitive seeds of *Typha latifolia* L. Canadian Jour. Bot., **37**, pp. 791~739, (1959).
- 89) STANLEY, R.G.: Manometer flask for measuring respiratory quotients. Science, **122**, 3158, pp. 76~77, (1953).
- 90) STANLEY, R.G.: Respiratory patterns in germinating seeds of sugar pine (*Pinus lambertiana* Dougl.). Ph. D. Thesis Univ. of Calif., (1956).
- 91) STEARNS, F., & J. OLSON: Interactions of photoperiod and temperature affecting seed germination in *Tsuga canadensis*. Amer. Jour. Bot., **45**, 1, pp. 53~58, (1958).
- 92) STEINBAUER, G.P.: Dormancy and germination of *Fraxinus* seeds. Plant Physiol., **12**, pp. 813~824, (1937).
- 93) STOKES, P.: A physiological study of embryo development in *Heracleum sphondylium* L.

- I. The effect of temperature on embryo development. *Ann. Bot. N.S.*, **16**, 63, pp. 441~447, (1952).
- 94) STOKES, P.: A physiological study of embryo development in *Heracleum sphondylium* L. II. The effect of temperature on after-ripening. *Ann. Bot. N.S.*, **16**, 64, pp. 571~576, (1952).
- 95) STOKES, P.: A physiological study of embryo development in *Heracleum sphondylium* L. III. The effect of temperature on metabolism. *Ann. Bot. N.S.*, **17**, 65, pp. 157~173, (1953).
- 96) STONE, E.C.: Embryo dormancy of *Pinus jeffreyi* Murr. seed as affected by temperature, water uptake, stratification, and seed coat. *Plant Physiol.*, **32**, 2, pp. 93~99, (1957).
- 97) STONE, E.C.: Embryo dormancy and embryo vigor of sugar pine as affected by length of storage and storage temperatures. *Forest Sci.*, **3**, 4, pp. 357~371, (1957).
- 98) STONE, E.C.: The seed dormancy mechanism in pine. *The Physiology of Forest Trees* edited by K.V. THIMANN. New York, pp. 611~628, (1958).
- 99) 田添 元: 北海道主要造林樹種の種子に関する試験, 北海道林業会報, **32**, 6, pp. 266~272, (1934).
- 100) 田添 元: とどまつ, くろえぞまつ, あかえぞまつ種子の発芽に対する温度の影響に就て, 北大演報, **10**, 2, pp. 1~28, (1936).
- 101) TOOLE, E.H.: Physiological problems involved in seed dormancy. *Handbook on Seed Testing Assoc. Offic. Seed Analysts*, p. 8, (1941).
- 102) TOOLE, E.H., H. A. BORTHWICK, S. B. HENDRICKS, & V. K. TOOLE: Physiological studies of the effects of light and temperature on seed germination. *Proc. Internatl. Seed Test. Assoc.*, **18**, pp. 267~276, (1953).
- 103) TOOLE, E.H., V. K. TOOLE, H. A. BORTHWICK, & S. B. HENDRICKS: Interaction of temperature and light in germination of seeds. *Plant Physiol.*, **30**, 5, pp. 473~478, (1955).
- 104) TOOLE, E.H., S. B. HENDRICKS, H. A. BORTHWICK, & V. K. TOOLE: Physiology of seed germination. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **7**, pp. 299~324, (1956).
- 105) TOOLE, E.H., V. K. TOOLE, S. B. HENDRICKS, & H. A. BORTHWICK: Effect of temperature on germination of light-sensitive seeds. *Proc. Internatl. Seed Test. Assoc.*, **22**, pp. 1~9, (1957).
- 106) VAARTAJA, O.: Photoperiodic response in germination of seed of certain trees. *Canadian Jour. Bot.*, **34**, pp. 377~388, (1956).
- 107) VALLANCE, K. B.: The germination of the seeds of *Rhinanthus Crista-galli*. *Ann. Bot. N.S.*, **16**, pp. 409~420, (1952).
- 108) VILLIERS, T. A., & P. F. WAREING: Interaction of growth inhibitor and a natural germination stimulator in the dormancy of *Fraxinus excelsior* L. *Nature*, **185**, 4706, pp. 112~114, (1960).
- 109) WAREING, P. F.: Photoperiodism in woody plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **7**, pp. 191~214, (1956).
- 110) 渡辺 章: ハゼノキ種子の吸水について, 東大演報, **44**, pp. 7~13, (1953)
- 111) WENT, F. W.: Plant growth under controlled conditions. II. Thermoperiodicity in growth and fruiting of the tomato. *Amer. Jour. Bot.*, **31**, pp. 135~150, (1944).
- 112) WENT, F. W.: Thermoperiodicity. *Vernalization and Photoperiodism* edited by A. E. MURNEEK & R. O. WHYTE. Waltham, pp. 145~157, (1948).
- 113) WENT, F. W.: The effect of temperature on plant growth. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **4**, pp. 347~362, (1953)
- 114) ZELINKOVA, M., F. HORAVKA, & R. RETOVSKY: Klíčení jasanu ztepilého-*Fraxinus excelsior* L. *Sborník Cesk. Akad. Zemedelské*, **24**, 1/5, pp. 94~100, (1951) (*Biol. Abstr.* **27**, (1953) 17801 による).

**Physiological Studies on the Germination of Forest Tree Seeds, with
Special Reference to *Fraxinus mandshurica* var. *japonica* Seeds*¹.**

Sumihiko ASAKAWA

(Résumé)

It has been well known that temperature is one of the most important factors affecting seed germination. In this paper, the writer intends to show the dynamic understanding of physiological processes to germination by means of seed behavior in response to temperature conditions, with special reference to the alteration of temperature requirement for germination in *Fraxinus mandshurica* var. *japonica* seeds. Recently the writer proposed that the germination behavior to temperature conditions could be interpreted by "thermoperiodicity in germination" (1956). In Chapter 1, the alteration of thermoperiodicity in the germination process of ash seeds is explained systematically in connection with other external factors. In Chapter 2, the dynamic interpretation of dormancy is discussed on the basis that thermoperiodic responses are generally favorable for the germination of various forest tree seeds. Finally, in Chapter 3, some approaches are reported to elucidate the physiological processes related to thermoperiodic responses, on which basis the possible significance of thermoperiodic responses in seed germination is discussed.

**1. Thermoperiodicity in the germination of *Fraxinus mandshurica*
var. *japonica* seeds and its relation to their light-sensitivity**

1.1 Historical review

Although there have been a number of reports on the effect of temperature on seed germination, most of them describe the germination behavior of seeds of certain physiological condition to certain temperature, and only a few articles deal with the comprehensive understanding of the temperature effect on seed germination. Minimal, optimal, and maximal temperatures have usually referred to the temperature requirement for germination, but many research works indicate that the temperature requirement for germination varies with species, with an internal condition of seeds, and so with various external factors affecting the internal condition of seeds. In other words, the temperature requirement for germination is dependent on a given internal condition of a given sample in a given species in relation to other external factors. According to previous works, the optimal or maximal temperature for germination becomes higher, and the minimal temperature for it becomes lower with the progress of internal condition of seeds: that is, the temperature range for germination gets wider.

Since the alternation of temperature was noticed as one of the effects of light on seed germination, there have been also numerous studies on the effect of alternating temperatures on germination. Daily alternation of temperature is usually implied, but it is also reported that the temperature alternation of only once shows a remarkable influence. The requirement of alternating temperatures for germination also decreases gradually with the alteration of internal condition of seeds. Based on the alteration of temperature requirement for germination, the writer directed his research to the principle of an inclusive understanding of the relation between germination and temperature factor.

As to the effect of light on seed germination, there have been also a number of studies. BORTHWICK and his coworkers concentrated their efforts on a photochemical reaction, and recently

*¹ Studies were supported in part by an André MAYER FAO Research Fellowship.

succeeded in extracting a pigment participating in the photochemical reaction, which was named “phytochrome”. On the other hand, ISIKAWA, WAREING, and BÜNNING claimed individually that there is a photoperiodicity in seed germination, which brought about the general understanding of the relation between germination and the light factor.

With tomato plants, the thermoperiodicity in growth and fruiting has already been studied by WENT, who emphasized the important rôle of low night temperature on the metabolic processes in plants. On the basis of the fact that scarified seeds do not require the alternation of temperature for their germination, he has stated an opinion that the effect of alternating temperatures on germination is different from the real thermoperiodicity as proposed by him, which results from the alteration of two or more processes with different optimal temperatures. But, the experimental result with *Fraxinus mandshurica* var. *japonica* seeds indicates that in their germination behavior there is the same kind of thermoperiodicity as suggested by WENT, which will bring about the general understanding of the relation between germination and temperature factor, just in the same way as in the case of the light factor.

1.2 Materials and methods

Seeds: *Fraxinus mandshurica* var. *japonica* seeds were collected in Kagura National Forest, Hokkaido, in 1954 and in 1958, and in Suwa National Forest, Nagano, in 1955. All the materials were received at the laboratory at the end of the year when the seeds were collected, and stored in a cold room (2°C or 5°C).

Stratification: Seeds or fruits (seeds with their pericarps) were soaked in tap water at room temperature for two 24 hour-periods, and then stratified with moistened sphagnum in a deep petri dish. In the experiments with the controlled light condition, fifty seeds were placed in each 7.5 cm petri dish containing 0.7% agar, and the dish was covered with two thicknesses of black paper immediately after sowing.

Germination bed: A moistened cheese-cloth bed on slide glasses in a 12 cm petri dish was used for the experiments with the non-controlled light condition, while an agar bed in a 7.5 cm petri dish was used for those with the controlled light condition.

Germination temperature: At first, the alternation of temperature was performed by the transfer of petri dishes from one incubator to another. The temperature change in this case is described in the previous paper. Later, the temperature of incubator was automatically changed from a day temperature to a night one. Fig.1 shows an example of automatic changing of incubator temperature. To indicate alternating temperatures, the left number means the temperature for 8 hours, and the right number for 16 hours.

Light irradiation: White light was given by daylight fluorescent bulbs installed outside a glass-incubator (ca. 1000~2000 lux). Red light was given by daylight fluorescent bulbs through two thicknesses of red cellophane (ca. 4000 lux without a red filter). Far-red light was given by a 300-watt incandescent flood lamp through two layers of red and two of blue cellophane and 5~7 centimeters of water (ca. 4000 lux without color filters).

Germination percent: Three to four replicates of 50 seeds were used for each treatment. Germination results are expressed by the percentage to sound seeds.

1.3 Germination behavior at various temperature conditions

Results are shown in Figs. 2 to 4. The germination behavior at those temperature conditions is discussed in the previous paper⁽¹⁾.

1.4 Germination behavior at various thermoperiods

The germination behavior in the cycle of 24 hours is shown in Figs. 5 and 6, the results of which are discussed in the previous paper¹³⁾. Those results indicate that there is a kind of thermoperiodicity in the germination of *F. mandshurica* var. *japonica* seeds.

Further experiments were carried out at various thermoperiods in darkness. The results are shown in Figs. 7 to 10. From those experimental results, it is clear that in those seeds the process to germination steps ahead at a certain balance between the high temperature- and low temperature-reactions. In this case, the seeds require the low temperature period quintuple as long as the high temperature period. It is certain that the high temperature reaction is a limiting factor for the germination process of those seeds, and the smaller the ratio of the high temperature period to the low temperature period is, the shorter the former period should be. Incidentally, we can discuss what those figures mean. In Fig. 7, for example, about thirty percent of the material can germinate at the thermoperiod of 8°C-20 hours and 25°C-8 hours, and it is only about ten percent of the material that requires the thermoperiod of 8°C-20 hours and 25°C-4 hours. On the other hand, about twenty percent can germinate even at the thermoperiod of 8°C-20 hours and 25°C-40 hours. In other words, by means of those figures the material could be categorized in reference to the temperature requirement for germination.

1.5 Inhibitory processes produced by unfavorable temperature condition

It is very important to know whether just the same condition as at the end of stratification still remains, or some kind of inhibitory processes are produced in non-germinating seeds at unfavorable temperature. The result shown in Table 1 indicates that some inhibitory processes are produced in those non-germinating seeds during the incubation at high temperature. That is, those non-germinating seeds can not germinate even if they are transferred to favorable alternating temperatures such as 25~8°C, for instance. On the other hand, it seems that only a little higher temperature or longer time is necessary for the non-germinating seeds at temperatures lower than 8°C, because those non-germinating seeds were able to germinate soon after transfer to a subsequent favorable temperature.

Fig. 11 shows that the inhibitory processes mentioned above proceed rapidly with the increased period of incubation at 25°C. This inhibition could be reversed by subsequent alternating temperatures of 25~8°C if the period of incubation be less than 72 hours. It is noticeable that this inhibition is caused only in the seeds stratified at 25°C for a certain period followed by a certain period at 2°C, which is indicated by the result of Table 2.

1.6 Reversion of the inhibitory processes at low temperature

According to Table 2, it is obvious that the inhibitory processes mentioned above are reversible. The result shown in Table 3 reveals that this inhibition could be reversed gradually at low temperature, and that the inhibitory processes are produced more heavily at 25°C than at 15°C. Table 4 shows the reversion of this inhibition with the increased period of cold treatment.

1.7 Thermoperiodicity in germination

As described in the historical review, WENT has formed an opinion that the response of seeds to alternating temperatures is not due to the thermoperiodicity as proposed by him. From a series of experimental results, especially the finding that the inhibitory processes are produced at unfavorable temperature conditions, however, it is more probable that an embryo, but not a seed coat, is affected under alternating temperatures. From this point of view, the writer deduces that in *F. mandshurica* var. *japonica* seeds there is the thermoperiodicity in germination, by

which the germination behavior of seeds as affected favorably under alternating temperatures should be reexamined. The thermoperiodicity in germination seems to be also dependent on the balance between two metabolic processes with different optimal temperatures, which here will be called "thermoperiodic responses". Probably, the physiological activity of embryo in the seed as affected favorably under alternating temperatures is increased through the thermoperiodic responses. Consequently, the embryo can resume its active growth, and then the germination is attained.

BORTHWICK has suggested that in seeds there might be various pathways leading to germination. As is known well, one of other pathways to germination includes a photochemical reaction. In those seeds as affected by light, a light-sensitive process should be a main pathway to germination. In this case, the physiological activity of their embryos is probably increased through the photochemical reaction—photoperiodic responses. In general, either the temperature requirement or the light requirement for germination becomes less specific with the increased period of prechilling or stratification, and finally it sometimes happens that the seeds stratified long enough get ready to germinate even at a low temperature like 2°C. Therefore, here should also be another pathway to germination. These pathways leading to germination seem to be closely connected with each other, as shown by the following experimental results.

1.8 Light-sensitivity and the relation between the thermoperiodic and light-sensitive responses

The first attempt was carried out to ascertain whether the inhibitory processes mentioned above would be affected by light irradiation, but the result was negative. So the germination behavior of those seeds was examined with light irradiation during stratification or during germination test. As reported already¹³⁾ there is no significant effect of light on the germination of seeds stratified at 25°C for 3 months followed by 2 months at 2°C.

Then, the seeds were stratified in darkness for various periods, and exposed to certain light condition prior to or during germination test. The germination result is shown in Table 5, which indicates that there is a light-sensitivity in the germination of *F. mandshurica* var. *japonica* seeds. This light-sensitivity increases and then decreases with the increased period of stratification, especially a cold one. In this case, the reason why the light-sensitivity decreases gradually is that the thermoperiodicity increases gradually and can be substituted for the former.

It is well known that seed germination is stimulated by red light (ca. 660 m μ), and inhibited by far-red light (ca. 730 m μ), and that the effect of the former is reversed by the latter. An experiment was run in regard to the light-sensitivity of those seeds. The seeds stratified in darkness were exposed to light prior to germination test. From the result shown in Table 6, it is obvious that the stimulating effect of red light is reversed by far-red irradiation immediately following the former, although not completely. It should also be noticed that far-red irradiation brings about some stimulation. From the experimental result with *Pinus thunbergii* seeds, the writer does not think that the result obtained here is due to technical faults.

It is quite evident that in those seeds their germination can not be attained by a light-sensitive process alone. Alternating temperatures following light irradiation or with light irradiation are required for their germination. A single short red irradiation shows remarkable stimulation although the effect is less than that by daily exposure to white light, which suggests that irradiation is probably effective only at the earlier stage of the germination process. This is also suggested by the comparison between the germination percentages in 12 days and in 22

days, as shown in Table 5. But, the duration during which a photochemical system remains reactive varies with temperature condition, which will be discussed again in the following section. Table 7 shows the effect of red irradiation at various intervals after transfer to the germination temperature of 25~5°C. The result indicates that the light-sensitive mechanism still remains active after eight days at this germination temperature.

As mentioned above, the photochemical reaction in those seeds should be connected with thermoperiodic responses in some way. From the experimental results, it seems to the writer that the physiological condition of seeds at the light-sensitive stage gets ready for thermoperiodic responses through the photochemical reaction. Another interesting relation is revealed between the thermoperiodic responses and photochemical reaction. That is, the inhibitory processes produced by the incubation at 25°C are partially reversed by a single red irradiation prior to transfer to subsequent alternating temperatures. As shown in Table 8, this effect of red irradiation decreases rather rapidly with the increased period of incubation at 25°C. From the result in Table 9, it is also obvious that the phytochrome as proposed by BORTHWICK and his coworkers participates in this reversion. Therefore, the writer supposes that the above-mentioned inhibitory processes result from the photochemical reaction being, at least secondarily, affected.

1.9 Alteration of thermoperiodicity and light-sensitivity

In *Fraxinus mandshurica* var. *japonica* seeds, the temperature requirement for germination varies with stratifying condition. The alteration of temperature requirement has already been reported with the seeds stratified for various periods¹¹⁾¹²⁾, and experimental results indicate that the temperature requirement for germination becomes less specific with the increased period of cold stratification following a warm one, and that a final germination percentage also increases. The removal of pericarps prior to stratification greatly promotes the above-mentioned effects of stratification.

Here the alteration of thermoperiodicity and light-sensitivity was studied with the seeds stratified in darkness for various periods. The experimental result is shown in Fig. 12 and Table 10. As described in the previous papers¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾ and shown in Table 5, neither thermoperiodicity nor light-sensitivity appears either through warm or cold stratification. With the warm stratification for a certain period followed by cold stratification for a certain period, those phenomena appear, increase, and then decrease with the increased period of stratification. In other words, the temperature or light requirement for germination is very specific at first, and then becomes less specific.

As described in Section 1.8, the thermoperiodic responses could be substituted for the light-sensitive reaction, and the tendency of substitution is favored especially by cold stratification. For example, the germination at 25~8°C of seeds stratified at 25°C for 3 months followed by 4 months at 2°C is not significantly affected by light, but the effect of light on those seeds increases with the decreased daily incubation at 8°C.

In the previous section, 1.8, the writer supposed that irradiation was probably effective only at the earlier stage of the germination process. The result shown in Table 10 indicates that the duration during which the light-sensitive system remains reactive varies with germination temperature. The reason why irradiation becomes ineffective is, probably, that the light-sensitive system is inactivated at unfavorable temperature condition.

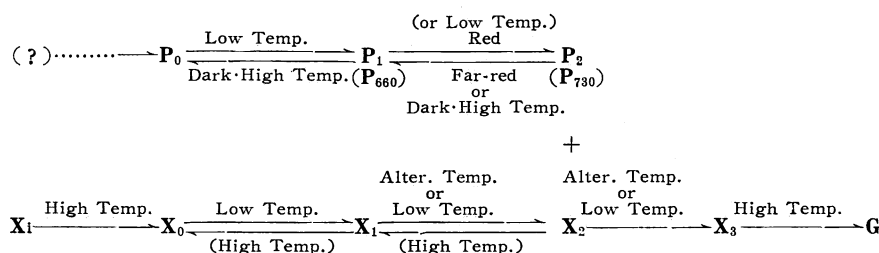
Finally, the temperature and light requirement for the germination of *F. mandshurica* var. *japonica* seeds is outlined as follows: In those seeds, there are two pathways to germination

including thermoperiodic responses and photochemical reaction, respectively. Those two pathways are closely connected with each other, but the former takes a leading rôle and the latter may take a supporting rôle. At first, the thermoperiodic responses should be preceded by the photochemical reaction, and later could be favored by the latter. Considering the response of those seeds to external factors, the seeds first become thermoperiodic with the stratification for a certain period—"thermoperiodic phase". At the earlier part of this phase, they require an especially specific thermoperiod, but at the later part they show less requirement for the low temperature reaction. Then they become non-thermoperiodic—"non-thermoperiodic phase". The seeds of this phase can germinate more quickly with the increased daily incubation at high temperature. In parallel with the alteration of response to temperature, the response of those seeds to light also varies. At the earlier part of the thermoperiodic phase, the seeds are very sensitive to light, but at the later part they become insensitive to light—in other words, the seeds of this stage can germinate without light.

1.10 Schematic hypothesis for germination process

BORTHWICK and his coworkers have proposed the scheme for the germination process including a photochemical reaction, which recently proved to be operated by the pigment named as "phytochrome". The same kind of schematic interpretation is described by WAREING. As discussed in the previous sections, the thermoperiodic and light-sensitive pathways are elaborately connected with each other in the germination process of *F. mandshurica* var. *japonica* seeds, where it might be also the phytochrome that participates in the light-sensitive pathway.

Based on the experimental results obtained so far, the germination process in those seeds could be interpreted in the following scheme.



In this scheme, the light-sensitive pathway is shown by P_0 to P_2 . The original P_0 is converted to P_1 through a certain period of cold stratification, and then P_1 is converted to P_2 by the irradiation of red light. Here P_1 and P_2 probably correspond to two forms of the pigment, P_{660} and P_{730} , as revealed by BORTHWICK and his coworkers. In this case, P_2 is also reversed by far-red irradiation although partially. With the increased period of stratification, the light requirement for germination decreases gradually, for which there are two possible interpretations. One of those is that P_1 is converted to P_2 during stratification, and then further germination process may proceed without light. Another is that some different pathway steps ahead, and then further process to germination may proceed without the aid of photochemical system. So far, there is no definite result to determine which is correct. However, the writer supposes the interconversion of P_1 to P_2 from the findings that the germination of seeds incubated at 25°C for three to five days could be hastened by red irradiation just before transfer to subsequent alternating temperatures, and that the effect of this red irradiation is also reversed by far-red irradiation immediately after the former. With coniferous seeds, it is known that the

hastening effect of cold stratification is not affected by far-red irradiation, so the converted P_2 may have been bound with some substances by the end of stratification.

The letters of X_1 to X_3 stand for various physiological conditions in the process to germination. X_1 indicates the physiological condition of the so-called mature seed. During warm stratification, X_1 is converted to X_0 , and then to X_1 during subsequent cold stratification. The condition of X_1 corresponds to the earlier part of the thermoperiodic phase. In the seed of this stage, X_1 is converted to X_2 under alternating temperatures, and X_2 is converted to X_3 with the aid of P_2 which has been changed by light irradiation. So the seed germinates at alternating temperatures after irradiation. The process of $X_1 \rightarrow X_2$ also proceeds slowly at low temperature, and the condition of X_2 corresponds to the later part of the thermoperiodic phase. In the seed of this stage, X_2 is converted to X_3 with the aid of P_2 which has also been changed at low temperature. So the seed germinates at alternating temperatures in darkness. The process $X_2 \rightarrow X_3$ also proceeds slowly at low temperature, and the condition of X_3 corresponds to the non-thermoperiodic phase. The seed of this stage germinates even at constant high temperature. On the other hand, if the seed at the condition of X_1 or X_2 is incubated at constant high temperature, some inhibitory processes are produced in it. As this inhibition could be reversed slowly by cold treatment, it is probable that the process of $X_0 \leftarrow X_1 \leftarrow X_2$ takes place at constant high temperature, just as in the case of the light-sensitive system. It is necessary to elucidate the actual status of each of X_1 to X_3 , but it is also very important to know where and how those two pathways are linked.

2. Germination behavior in the seeds of several forest tree species and dynamic understanding of seed dormancy

In this chapter, the writer intends to ascertain whether there are thermoperiodic responses in the germination of various forest tree seeds, and to introduce the dynamic understanding of seed dormancy, based on the alteration of temperature requirement for their germination.

2.1 Historical review

KOYAMA (1927) has divided forest tree species into two groups with reference to the temperature requirement for the germination of their seeds; one of them is the group including the species most seeds of which germinate at a constant high temperature (20°C - 25°C), and the other is the group including the species the seeds of which require alternating temperatures, or prechilling at 5°C for a certain period before germination test. He shows detailed experimental results only with *Zelkova serrata*, *Magnolia obovata*, and *Rhus verniciflua*, which indicate that those seeds show the temperature requirement for germination similar to that of *F. mandshurica* var. *japonica* seeds. His result with *Zelkova serrata* seeds also suggests that some inhibitory processes were produced in those prechilled seeds at a constant temperature of 20°C to 24°C . The same kind of classification has been reported by TAZOYE (1934), but he shows less experimental data.

In the international rules for seed testing^{*1}, alternating temperatures are recommended for the germination test of various tree seeds, but it does not seem that there are many papers in which germination behavior at a constant temperature is compared with germination at alternating temperatures. With the seeds of several coniferous and broad-leaved species, ROHMEDER (1951) found no remarkable difference in germination behavior between at 25°C and at alter-

^{*1} Proc. Internatl. Seed Testing Assoc. 24, (1959) p. 475~584

minating temperatures of 20°C and 30°C or 20°C and 25°C, although it is noticeable that alternating temperatures were more favorable, especially for the germination of the seeds the viability of which had been affected by unsuitable handling, than a constant high temperature. He also found that the effect of alternating temperatures could partially be substituted for that of light irradiation. The same kind of finding is also reported with *Ulmus americana* seeds.

On the other hand, OLSON & STEARNS (1958) (1959) studied the germination behavior of *Tsuga canadensis* seeds with reference to light and temperature conditions. Based on detailed experimental results, they report that there is a thermoperiodism in their germination, and that their behavior to temperature condition becomes less specific through cold stratification.

2.2 Germination behavior of seeds in *Fraxinus*

Genus *Fraxinus* includes the species the seeds of which show remarkably delayed germination, and so there have been a number of articles on the delayed germination of *Fraxinus* seeds. However, only a few of them deal with the germination behavior of those seeds with special reference to temperature.

The writer presumed that Genus *Fraxinus* could be divided into two groups, based on morphological features of seeds of several species in this genus. Type I includes all the Japanese species, the seeds of which have completely developed embryos, excluding *F. mandshurica* var. *japonica*. Type II includes *F. mandshurica* var. *japonica*, probably all the species in Subsection *Bumelioides*, the seeds of which have rudimentary embryos.

As to germination behavior, there is also an interesting difference in correspondence with morphological features. NIKOLAEVA (1958) has discussed the interrelation of seed biology and systematic placing in Genus *Fraxinus* (Fig. 13), on the basis of her own studies and others. She divides this genus into five groups with reference to seed characteristics. However, the writer thinks that the grouping into three, A, B, and C, is better, because the difference in germination behavior between the 1st and 2nd groups, and between the 3rd and 4th groups is more or less continuous.

Most seeds of the species in Group A germinate without any pre-treatment unless they have their pericarps. In this case, it is the pericarp that inhibits seed germination, although the inhibition may be variable with species, seed sample, or handling prior to germination test. Most seeds of the species in Group B do not germinate easily unless they are pre-treated, even if their pericarps are removed. Those seeds should be prechilled for a certain period, which may also be variable with species, seed sample, or handling. Most seeds of the species in Group C also do not germinate easily even if their pericarps are removed. Those seeds should be stratified at high temperature before cold stratification. The period for each stratification may also be variable with species, seed sample, or handling. According to the information obtained so far, Groups A and B are included into Type I, while Group C is included into Type II. Those three groups mentioned above show the following characteristics in the temperature requirement for germination. Most seeds of the species in Group A germinate either at a constant high temperature or at alternating temperatures if their pericarps are removed, although some seem to germinate only at alternating temperatures. Those seeds with pericarps germinate better at alternating temperatures. Most seeds of the species in Group B require alternating temperatures for germination, even after cold stratification, although some germinate at alternating temperatures without cold stratification. The seeds of the species in Group C germinate at alternating temperatures only after warm stratification followed by cold stratification. Then

the seeds germinating at a constant high temperature increase gradually with the increased period of stratification. Although there are only limited results with reference to the germination behavior to temperature, the interrelation mentioned above could probably be suggested for Genus *Fraxinus*.

2.3 Germination behavior in several coniferous seeds

Generally speaking, most of coniferous seeds germinate rather easily at a constant temperature around 25°C, and it is reported that the optimal temperature for germination ranges usually from 20°C to 30°C for the seeds of major coniferous species in Japan. In this section, the writer endeavors to show the germination behavior of several coniferous seeds, with special reference to temperature and light conditions *¹.

2.3.1 *Pinus densiflora* and *P. thunbergii* seeds

Experimental results are shown in Figs. 14 and 15. The result in Fig. 14 indicates that alternating temperatures are favorable for the germination of *P. densiflora* seeds. On the other hand, the germination of *P. thunbergii* seeds is greatly dependent on a photochemical reaction, and not significantly affected by temperature condition.

2.3.2 *Larix kaempferi*, *Picea polita*, and *P. glehnii* seeds

The results are shown in Figs. 16, 17, and 18. In *Larix kaempferi* seeds, their germination in darkness is a little favored by alternating temperatures, and this tendency decreases with the increased period of prechilling. In non-prechilled *P. polita* seeds, the effect of alternating temperatures could be substituted for that of light. In other words, those seeds require light for their germination at a constant temperature, while most of them germinate in darkness at alternating temperatures. This tendency also decreases with the increased period of prechilling. The germination of *P. glehnii* seeds is also greatly dependent on a photochemical reaction, and in darkness it is favored by alternating temperatures.

2.3.3 *Abies firma*, *A. mariesii*, and *A. mayriana* seeds

Experimental results are shown in Figs. 19 to 22. *A. firma* seeds show no specific germination response to temperature or light condition, so far as investigated here. Their germination is favorably affected only by prechilling. The germination of *A. mariesii* seeds is also favored by alternating temperatures, but in this case the effect of alternating temperatures seems to be attained with the aim of a photochemical reaction. *A. mayriana* seeds germinate better at alternating temperatures, but most of them require light for germination at the temperature conditions as used here.

2.4 Possible thermoperiodic tendency in the germination of various tree seeds

Experimental results described in Chapter 1 indicated that there was a thermoperiodicity in the germination of *F. mandshurica* var. *japonica* seeds. And its alteration with the increased period of stratification suggested that there might be the same kind of thermoperiodic tendency in the seeds of various tree species, especially in the seeds requiring alternating temperatures for their germination. The results shown above, although not abundant, indicate that there is the thermoperiodic tendency in the germination behavior of seeds of most species. In other words, even coniferous seeds germinating usually at a constant temperature attain better final germination at alternating temperatures in many cases.

In classifying seeds with regard to their germination behavior, the seeds have usually been

*¹ Most of the results described here are reported in Jour. Japan. Forest. Soc. 41, 11, (1959) p. 430~435.

grouped discontinuously. Concerning their response to temperature, for example, the group the seeds of which germinate easily at a constant temperature is distinguished from the group the seeds of which germinate better at alternating temperatures. Concerning the response to light, on the other hand, they have been divided into the group the seeds of which require light for germination, the group the seeds of which require darkness for germination, and the group the seeds of which germinate regardless of light condition.

However, there should be some principle for better understanding of seed behavior to external factors, and in regard to the light factor this kind of principle has recently been established. The thermoperiodicity in germination proposed by the writer might be the principle for inclusive understanding of seed behavior to the temperature factor.

2.5 Dynamic understanding of seed dormancy in forest tree species

As mentioned in the preface, the writer endeavors to arrive at a dynamic understanding of dormancy in forest tree seeds, according to their responses to external factors. Based on the alteration of temperature or light requirement for germination, the physiological process to germination has already been shown schematically for *F. mandshurica* var. *japonica* seeds, and this scheme will be helpful to reexamine the seed dormancy of forest tree species.

As to seed dormancy, there have been numerous research works, which are summarized in several articles. Looking through them, one gathers that seed dormancy has been classified into the following five types: (1) Dormancy due to embryo—(i) due to rudimentary embryo and (ii) due to dormant embryo, and (2) dormancy due to seed coat—(iii) due to the impermeability of seed coat to water, (iv) due to the impermeability of seed coat to gases, and (v) due to the mechanical resistance of seed coat. Actually, however, more than two of those types are connected in many cases. Of those types, the dormancy due to dormant embryo is especially indeterminate, and it may be said that most of the cases in which no cause is found have been put into this type of dormancy.

Based on his experimental results obtained so far, the writer proposes the following two types for seed dormancy:

- (I) Physiological dormancy
- (II) Physical dormancy

For better understanding of this classification, it should be noticed that the germination of seed having received no physical pretreatment is the emergence of its embryo from the enveloping tissues at its better or best physiological condition. The physiological dormancy is the type in which dormancy could be overcome through certain physiological processes, with the advance of which the internal condition of seed approaches germination. On the other hand, the physical dormancy is the type in which dormancy could be overcome only by some physical treatment, by which the features of enveloping tissues are affected, an active growth is resumed, and then germination takes place. In other words, an incased embryo in this type of dormancy can not resume its active growth at all, or it can not break through its enveloping tissues even at its best physiological condition, unless they are physically treated in some way. Incidentally, it should be noticed that the dormancy due to seed coat in the former classification is not always put into the physical dormancy mentioned above.

Generally speaking, the physiological dormancy is probably due to the physiological immaturity of embryo or including endosperm, and consequently the scheme for the pathway to germination with *Fraxinus mandshurica* var. *japonica* seeds should be helpful to understand this

type of dormancy. It is well known that there is a great variation in the physiological feature of seeds of a certain tree species, but it is also noticed that beyond this much of variation there is a certain genetic feature characteristic of a given species. To correspond to the X pathway in the above-mentioned scheme for the process to germination (p. 72), the so-called "mature" seeds of several tree species could be arranged as shown on page 35, with regard to their physiological condition. So far, it is very difficult to indicate how those seeds are scattered over a certain range, and also difficult to suggest how this X pathway is linked with other pathways to germination like the light-sensitive pathway as expressed by P in the scheme. This idea, however, might be the first step not only to approach the real mechanism of embryo dormancy, but also to establish the inclusive understanding for various types of seed dormancy.

Finally, the writer intends to discuss the example in which the dormancy having been considered to be due to seed coat in the former sense, should be regarded as the physiological dormancy. With *Pinus koraiensis*, for example, the water absorption by non-stratified seed is apparently inhibited by its seed coat. It is quite obvious that the seed coat is permeable to water, and so it should be the mechanical resistance of the seed coat that does not allow the endosperm to absorb water and expand beyond the volume surrounded by the seed coat. In this sense, this type of dormancy has been considered to be due to seed coat. However, it should be noted that the physiological processes occurring in those seeds during stratification allow the endosperm to absorb much more water and then to overcome the mechanical resistance of seed coat, even if the physical properties of seed coat are not changed.

With *F. mandshurica* var. *japonica* seeds, there is also a similar phenomenon. As an excised embryo from the seed stratified at 25°C for a certain period starts growing very soon, it is probable that the delayed germination of the seed at this stage is, at least indirectly, due to enveloping tissues. Actually, there are papers reporting the presence of some inhibitors in the endosperm or mucilaginous layer surrounding the embryo or the restriction of oxygen supply to embryo by seed coat or pericarp. Here, for example, the seed coat will be considered. As the water absorption of the first stage by a seed is certainly completed within a few days, it is not probable that the seed coat is impermeable to water. From the result of respiratory experiments, it is also not probable that the seed coat is impermeable to oxygen. Even if the seed coat is impermeable to oxygen, and the delayed germination of those seeds is caused by the physical features of seed coat including its mechanical resistance, the physiological processes occurring in the seed during stratification allow the embryo to resume growing, and then to overcome those unfavorable physical features of seed coat.

More clearly to understand the physiological dormancy, more biochemical information needs to be obtained about the physiological processes occurring in seed during stratification.

3. Some approaches to the mechanism of thermoperiodic responses

In Chapter 1, it has been described that the thermoperiodicity in germination results from the interaction of two or more biochemical systems with different optimal temperatures. At present, it is very difficult to refer to the features of those biochemical systems in detail, but some experimental results will be discussed with reference to the effect of alternating temperatures. With *Fraxinus mandshurica* var. *japonica*, as stated already, thermoperiodic responses take place only in the seeds exposed to warm stratification followed by a cold one. In other words, the internal condition of those seeds becomes ready to respond to thermoperiodic treatment

after this kind of stratification. To elucidate the mechanism of thermoperiodic responses, therefore, it is very important to investigate the changes occurring in seeds during stratification.

3.1 Historical review on the effect of alternating temperatures

According to KONDO, there are a few classical hypotheses to interpret the effect of alternating temperatures. One of them is EIDAM's (1883) that a seed coat is physically affected by alternating temperatures and most of the cases in which the germination is favored by temperature alternation have been interpreted by this hypothesis. The second is ZADE's (1908) that the enzymes are activated by alternating temperatures. The third is VAÑHA's (1898) that the increased gas exchange under alternating temperatures results in better respiration. A similar idea to the third has been suggested by DAVIS, who supposes that a seed coat to restrict gas exchange is affected by alternating temperatures. The fourth is LIEBENBERG's (1884) that the substrates having become movable at high temperature could be utilized at low temperature for the growth of embryo. None of them, however, has been verified by experimental data.

Recently, TOOLE and his associates, and BÜNNING and his coworkers have proposed more possible hypotheses on the basis of their experimental results, and have made some important contribution to the field concerned. In the course of studying the effect of light on germination, TOOLE and his associates found that the germination of some seeds is remarkably favored by alternating temperatures or by a single shift to higher temperature (35°C), and consequently suggest that the effect of alternating temperatures might result from some favorable balance of the various processes that lead to germination. BÜNNING (1956) claims, on the other hand, that there is a kind of endogenous rhythm with reference to various processes in plants, and that the requirement for low temperature varies periodically according to this kind of endogenous rhythm in seeds. With the seeds of *Sporobolus virginicus*, FRITH (1957) has also concluded that two biochemical systems with different optimal temperatures could be supposed because the physical factors inhibitory for germination are not affected by alternating temperatures. Very recently, SIFRON (1959) found the effect of alternating temperatures to be due to promotion of vacuolation, which results from the clearing away of the respiratory products during the time at low temperature, and consequently from the increased respiration at subsequent high temperature.

3.2 Materials

In addition to the materials described in Section 1.2, another sample of *Fraxinus mandshurica* var. *japonica* seeds was collected in Kagura National Forest, Hokkaido, in 1956. *F. japonica* seeds were collected on the campus of the Experiment Station in 1954, and *F. spaethiana* seeds collected in Tokyo University Forest, Titibu, Saitama, in 1959.

3.3 Pattern of water absorption

3.3.1 Method

The process of water absorption by an embryo or endosperm with seed coat is shown by the water content of each part. The water content was determined as follows: Materials were kept at 105°C for 30 minutes, and then dried up at 70°C until the weight became constant, usually for 2 to 4 days. The water content is expressed by the percentage of water to oven dry weight. For each measurement, 200 or 300 individuals were usually used, although only 50 individuals in unavoidable cases.

3.3.2 Pattern of water absorption by a single seed of *F. mandshurica* var. *japonica*

In the previous paper, the writer revealed that the pattern of water absorption by a single

seed of *Fraxinus* species also consisted of three phases as shown with various coniferous seeds, and the only difference from coniferous seeds was that the former absorbed much less water in the third phase (before germination) in comparison with the first phase. In the water absorption pattern by a seed of *F. mandshurica* var. *japonica*, the prolonged second phase is very characteristic, and the seed does stay in the second phase unless exposed to a certain temperature condition. Although *Rhus succedanea* seed hardly absorbs water without the pretreatment to break its seed coat, *F. mandshurica* var. *japonica* seed can absorb water for the first phase in a few days. Therefore, the cause for the delayed germination of the latter cannot be attributed to the difficulty of water absorption. For this reason it seemed to the writer that it was not justifiable to trace the water absorption process by a total seed.

3.3.3 Water absorption pattern by embryo

It has been reported that the water absorption power of a seed increases through a low temperature- or compound-stratification. With *Pinus koraiensis* seed, the increased absorption of water after stratification is apparently for the third phase, and it is no doubt that in this stage water is absorbed mainly by endosperm. In pine seeds, the cracking along the raphe of seed coat is an important stage in the meaning that it results from expanding of endosperm, and brings about the water absorption in the third phase essential for physiological processes to germination. In *P. koraiensis* seeds, it is quite probable that one of the important effects of stratification might be to increase the water absorbing power of endosperm.

In *F. mandshurica* var. *japonica* seeds, on the contrary, it is very difficult to attribute the increased water absorption power mainly to endosperm. Then the attempt was started to elucidate the water absorption pattern by embryo. Incidentally, the dry weight of the embryo is just about one-sixteenth of that of its endosperm with seed coat. As it was difficult to remove a seed coat from its endosperm, "endosperm" means the endosperm with seed coat in this paper.

As shown in Fig. 23, the embryo in the seed stratified properly absorbs water abruptly after transfer to alternating temperatures, while there is little increase in the water content of endosperm. Namely, the endosperm has almost fully absorbed water by the end of the second phase, and consequently the water to be absorbed in the third phase is not so appreciable as a whole seed. Therefore, the abrupt absorption of water in the third phase by an embryo could not be recognized.

To compare the water content of seeds among three kinds of stratifying condition, there is no significant difference in the water content of embryo (Fig. 24). After transfer to alternating temperatures, however, the embryos in the seeds stratified at 25°C for 3 months followed by 3 months at 2°C absorb much more water than the others, and come to germination. It should be noted that even the embryos in the seeds stratified ineffectively absorb more water at alternating temperatures than at constant temperature, although those seeds do not come to germination. On the other hand, the endosperms also absorb more water at alternating temperatures than at constant temperature. The difference between two temperature conditions, however, is much less in the endosperms than in the embryos.

Then, the water absorption pattern by an incased embryo was examined under anaerobic conditions, in which the embryos absorb rather less water at alternating temperatures (Fig. 25). This fact indicates that the thermoperiodic responses have a close connection with a series of biochemical processes including a respiratory cycle, which play an important rôle in the mecha-

nism for absorbing water.

3.4 Respiratory pattern

From the result of a preliminary experiment, it seemed to the writer that the primary effect of alternating temperatures was not on respiratory activity, because the favorable effect of alternating temperatures on those seeds was found even under an anaerobic condition.

3.4.1 Method

Respiratory measurement: Gross respiration was measured using an ordinary flask or a special flask with the refrigerated-heated type of WARBURG manometer. With the ordinary flask, CO_2 output and R.Q. were calculated on the basis of O_2 uptake by different material. With the latter, however, those could be calculated on the same material. The seeds without their pericarps were sterilized in a 10 % solution of "Saniclor" (active ingredient: sodium hypochlorite 5.25 % by weight) for twenty minutes, rinsed with sterile water several times, and then put into a manometric flask. Twenty seeds were usually used for each ordinary flask and ten seeds for each special flask. To keep the sterilized material from contamination, each measurement was ended after 24 hours. A respiratory intensity is expressed on the basis of oven dry weight of material.

Germination test with the solution of inhibiting substances: The seeds were germinated on a petri dish bed containing the solution of inhibiting substances, which were renewed every other day.

3.4.2 Respiratory changes

First, the respiratory change of unstratified seeds was traced for four days (Fig. 26). After placing unstratified seeds on the seed bed, their respiratory intensity attained almost the same level as that of stratified seeds just before germination, which coincides with JONES' result. At this time, the oxygen uptake by intact unstratified seeds is about $70 \mu\text{l/g/hour}$, while the carbon dioxide output by those seeds is about $80 \mu\text{l/g/hour}$. The reason why the respiratory intensity is comparatively low is that it is expressed by the value to a total dry weight of embryo, endosperm, and seed coat. In fact, it is well known that the respiratory intensity of endosperm is much less than that of embryo. In the earlier stage, the R.Q. value is very high because of the delayed oxygen uptake as compared with carbon dioxide output, which indicates that there is an alteration from anaerobic to aerobic respiration just after absorbing water. Within one hundred hours after bedding, the R.Q. value is a little higher than 1.0, and it seems to be gradually approaching 1.0 with the increased period after bedding. The alteration of R.Q. value like this is quite peculiar as compared with the result of *Pinus sylvestris* seeds, and it is also different from that of *Euonymus europaea* seeds.

Then, the effect of stratification on respiratory pattern was studied with various stratifying conditions. The results are shown in Figs. 27 and 28. With the increased period of stratification, the R.Q. value is getting lower after transfer to germination temperature (25°C), which means the oxygen uptake is getting more than the carbon dioxide output. This fact suggests that the mechanism to incorporate oxygen might be activated during stratification.

With the seeds stratified at 25°C for 3 months followed by 2 months at 6°C , their respiratory pattern was compared between two germination temperatures of 25°C and $25\sim 6^\circ\text{C}$. At 25°C , the respiratory intensity decreases gradually, while at the alternating temperatures of $25\sim 6^\circ\text{C}$ it does not decrease. Although the respiratory intensity during the 6°C -period is very low, that during the 25°C -period is maintained almost at the same level until germination.

Just after germination, when the tip of radicle comes out from a suberized membrane, the latter begins to increase, and at the stage when the radicle becomes several millimeters long, it gets about twice as much as the respiratory intensity before germination. As a whole seed, as described above, there is no appreciable increase of the respiratory intensity until germination. Just as in the case of water absorption, it might happen that there is some appreciable increase in the respiration of embryos. But it is very difficult to determine the respiratory intensity of incased embryos.

Thus, about the respiratory pattern there is also a significant difference between ash and pine seeds. With pine seeds, as described already, the visible third phase of water absorption comes just after breaking of seed coat, and this time is also an important stage in respect to their respiration. The metabolic processes proceeding under the environmental conditions caused by breaking of seed coat should be essential for their germination. With ash seeds, however, there is no appreciable change until germination, with regard to environmental factors. In the germination process of ash seeds, the turning-point for environmental conditions should be the time of germination, unlike pine seeds. Therefore, the effect of stratification or alternating temperatures could be to activate the mechanism of incorporating oxygen if it should be attributed to the oxygen factor.

3.4.3 Effect of specific inhibitors on germination

From the preliminary experiments, it seemed that in ash seeds phosphorylation should be connected closely with respiratory processes, and that the terminal oxidase system until germination might be cytochrome-cytochrome oxidase system.

Further experiments with specific inhibitors ascertained the findings described above, and also showed some interesting evidence on the difference between the high temperature- and low temperature-processes (Table 12). If the seeds are exposed to the medium containing M/200 potassium cyanide only for the low temperature period, no appreciable inhibition is observed although their germination is a little delayed. If they are exposed to the same medium for the high temperature period, on the contrary, their germination is inhibited almost completely. It is probable, therefore, that the major processes proceeding during the low temperature period are not affected by potassium cyanide, but those proceeding during the high temperature period are inhibited by potassium cyanide—probably, respiratory processes. This is also estimated by their germination behavior to other specific inhibitors (Table 13).

3.5 Chemical changes

The historical review about the chemical changes during after-ripening including stratification is outlined as follows for the convenience of understanding the following experimental results. During after-ripening, there is generally some increase of sugars with a decrease of stored fatty substances, although there are papers reporting the decrease of sucrose.

3.5.1 Method

All the analyses were done for excised embryos and for endosperms with seed coats except the chromatographic analyses for amino acids.

Measurement of moisture content: Moisture content was determined in the same way as described in 3.3.1.

Quantitative determination of carbohydrates: Oven dry materials were roughly ground with a mortar, and extracted with petroleum ether. For embryos, petroleum ether insoluble materials were ground with a mortar, and for endosperms by a ball-mill to pass through a sieve of

30 meshes. Then, those materials were analyzed by the modified SCHAFER-SOMOGYI's method according to the sequence as shown in Fig. 29.

Hemicellulose and cellulose: Hemicellulose was determined by PREECE's method, and cellulose by KURSCHNER & HOFFER's method.

Chromatographic analysis of sugars: The filtrate (A) prepared in the sequence of Fig. 29 was purified with a saturated solution of lead acetate, and surplus lead was removed by hydrogen sulfide. Then the filtrate was adjusted to pH 6.0 with 10 to 20 % solution of sodium hydroxide, and dried up under vacuum. The material spotted on Tôyô filter paper No. 50 was chromatographed with *n*-butanol:acetic acid: water (4: 1: 1) by the ascending method usually for 16 hours. HORROCK's benzidine and SELIWANOFF's reagents were used for detection of sugars.

Chromatographic analysis of amino acids: Petroleum ether insoluble fraction of material was extracted three times with 80 % methanol at room temperature for 24 hours each, and the combined extracts were concentrated under reduced pressure and finally dried up under vacuum. The material spotted on Tôyô filter paper No. 50 was chromatographed with phenol: 0.5 % ammonia water (9: 1) added a small quantity of 8-hydroxyquinoline and with *n*-butanol:formic acid:water (15:3:2). Two dimensional chromatograms were sprayed with 0.25 % ninhydrine solution in acetone and 0.2 % isatine solution in acetone (Fig. 30), while one dimensional chromatograms were sprayed or immersed with the following specific reagents: α -naphthol: sodium hypochlorite (SAKAGUCHI reaction) for arginine; tetraplatinic chloride: potassium iodide for cystine; PAULY's reagent for histidine; 0.2 % *o*-phthalic aldehyde in acetone for glycine; and EHRLICH's reagent for tryptophan.

3.5.2 Changes of oven dry material

The change of oven dry material was traced with 500 seeds during stratification and with 300 seeds during germination. It was reported that an incased embryo elongated slowly during warm stratification⁹⁾¹⁰⁾. The result in Fig. 31 also shows that at 25°C an incased embryo keeps growing to utilize the substrates from its endosperm. However, it was proved that there was no correlation between the embryo enlargement and the effect of stratification on hastening germination¹²⁾. There is also no correlation between the change of dry matter and the effect of stratification. It is more probable, therefore, that the translocation of constituents from endosperms to embryos is not essential for germination, but rather consequent.

3.5.3 Chemical composition of resting seeds

Oil content: The content of petroleum ether soluble fraction is expressed in percentage of oven dry weight (Table 14). As a whole seed, *Fraxinus mandshurica* var. *japonica* seeds contain less oil than the seeds of the other two species, because the endosperms of the former contain less oil and the ratio of embryo to endosperm is less in the former. The embryos of resting seeds of *F. mandshurica* var. *japonica* contain much more oil than those of the other two species.

Content of carbohydrates and kind of sugars: The content of sugars including reducing and non-reducing sugars is a little less in *F. mandshurica* var. *japonica* seeds than in those of the other two species (Table 14). Usually the seeds containing less oil contain more starch, but in *Fraxinus* seeds only a small quantity of starch was found with the analytical method used in this experiment, which seems to be rather curious considered with the presence of low content of oily substances and respiratory quotient.

By chromatographic analyses, an appreciable quantity of raffinose and glucose, and little sucrose and stachyose were detected in *F. mandshurica* var. *japonica* embryos, while raf-

finose, sucrose, and glucose were detected in endosperms of the same species (Table 17). On the contrary, raffinose, sucrose, glucose, and a small quantity of stachyose were found in *Fraxinus spaethiana* embryos, while raffinose, glucose, and a large quantity of sucrose were found in endosperms of the same species. In *Fraxinus japonica* seeds, raffinose, sucrose, glucose, and little stachyose were detected.

Kind of free amino acids: With *F. mandshurica* var. *japonica* and *F. japonica* seeds, the composition of free amino acids was compared by various specific reactions (Table 15). The result shows no significant difference between those two species. Although a quantitative comparison was not exactly done, *F. mandshurica* var. *japonica* seeds contain more proline, while *F. japonica* seeds have more valine, tryptophan, and tyrosine. Further analyses need to be done for embryo and for endosperm.

Crude protein and others: There is no significant difference in the content of crude protein among the seeds of three species in *Fraxinus*. *F. mandshurica* var. *japonica* seeds contain more hot water soluble substances, whereas *F. spaethiana* and *F. japonica* seeds contain more hot methanol soluble substances. Further analyses need to be done on the composition of those fractions.

3.5.4 Chemical changes during stratification to germination

Oil content: The oil content in percentage to dry matter decreases very much in embryos, but it increases a little in endosperms, irrespective of stratifying temperatures (Table 16 & Fig. 32). After transfer to germination condition, it still increases a little in endosperms, while that in embryos varies with temperature conditions. With the seeds stratified at 25°C for 3 months followed by 3 months at 2°C, the oil content decreases again just prior to germination under the alternating temperatures of 25~8°C. In this case, however, the real quantity of oil does not decrease because of the increased dry matter of embryo. On the contrary, no significant change is observed in the seeds stratified under unfavorable conditions or in the seeds transferred to a constant temperature after proper stratification. With *F. spaethiana* seeds, the oil content in their embryos seems also to decrease prior to germination. Based on the change of oil content, it is not probable that oily substances are mainly used as respiratory substrates during the germination stage. But, its decrease just before germination might be related to the fact that the R. Q. value during this stage is a little lower than 1.00. As described before, the ratio of embryo to endosperm in *F. mandshurica* var. *japonica* seed is very small, and so the oil content of a whole seed increases a little during stratification to germination, which is different from the examples known before. Recently some chemical changes were studied during maturation, stratification, and germination with the seeds of some *Fraxinus* species, where no appreciable change in the oil content was observed during stratification.

Quantitative and qualitative change of sugars and starch: As a whole, the change of carbohydrates is not so remarkable either, but there are some tendencies to be noticed (Tables 16 & 17). Both embryos and endosperms have a small quantity of reducing sugar—glucose—until the time just before germination, when some increase of reducing sugars were found and fructose appeared in embryos. The endosperms at this stage also contain some quantity of fructose.

As to non-reducing sugars, on the other hand, there are the following changes. Non-reducing sugars in embryos increase twofold during the stratification at 25°C for 3 months followed by 3 months at 2°C. The result in Table 17 indicates that the increase in this stage is dependent mainly on sucrose. Non-reducing sugars in embryos decrease for a while after transfer to the germination temperature (25~8°C), but those sugars start to increase again

just before germination. At the end of stratification, stachyose is clearly detected, and then seems to disappear after transfer to germination condition. Non-reducing sugars in endosperms decrease during warm stratification, while those increase during cold stratification. After transfer to the germination temperature of $25\sim 8^{\circ}\text{C}$, those sugars decrease a little, increase for a while around the time of germination, and decrease again with the elongation of radicles. In the case of incubating the seeds stratified in the same way at the germination temperature of 25°C , non-reducing sugars seem to accumulate as compared with the case of incubating those seeds at $25\sim 8^{\circ}\text{C}$. This accumulation of non-reducing sugars might result from the inactivation of metabolic processes to utilize those sugars for respiration, because the respiratory intensity decreases gradually under the germination temperature of 25°C .

There is no significant change in the content of starch.

3.6 Mechanism of thermoperiodic responses and their possible rôle in seed germination

So far as we know, non-stratified seeds of *F. mandshurica* var. *japonica* cannot germinate for a short period even under any special temperature or light condition, which is not affected either by the time when the seeds are collected or by dry storage after collecting¹²⁾. The excised embryo from non-stratified seed usually show deep dormancy, and hardly grow without a certain treatment. This dormancy could be overcome either under the continuous light of high intensity¹²⁾ or by 0.5 % aqueous solution of thiourea, which had proved to be effective in overcoming the embryo dormancy of *Fraxinus excelsior*. During warm stratification, the embryos grow in seeds slowly and are getting physiologically active; that is, the excised embryos from the seeds stratified at 25°C for a certain period grow quickly at 25°C . The growth and physiological change of incased embryos are delayed more or less in the presence of their pericarps⁹⁾¹²⁾. So far, the seeds stratified only at 25°C cannot germinate for a short period under any special temperature or light condition. Those seeds stratified at 25°C become ready to germinate through a certain period of subsequent cold stratification, although only under very limited temperature or light condition. At this stage their germination is affected by light; that is, those seeds are light-sensitive. The seeds of this stage also require specific temperature conditions—alternating temperatures. In other words, those seeds are thermoperiodic. With the increased period of cold stratification, those seeds first become non-light-sensitive, and then non-thermoperiodic. Finally they become ready to germinate at 25°C in darkness.

So far, several trials as described in this chapter failed to get any special changes for understanding the thermoperiodic phase of seeds. It seems to the writer that the important thing is not the condition of seeds at the end of stratification, but their responses to germination conditions, which has been suggested by KOBLET. Of course, different responses of the seeds stratified variously to the same germination condition indicate that there should be some difference in the internal condition of stratified seeds among various stratifying conditions. Recently VILLIERS & WAREING reported an interesting work on the alteration of growth-promoters and -inhibitors during stratification, which is one of the successful works to approach the problem mentioned above.

The experimental results obtained here reveal some interesting facts about the thermoperiodic responses occurring in seeds under alternating temperatures. Those findings give us some suggestions on the mechanism of thermoperiodic responses. From the experimental result on water absorption pattern, it is the water absorption by an incased embryo that should be noticed; that is, the water absorption in the third phase is mainly due to an embryo. Regardless of stratifying condition, an incased embryo absorbs much more water at $25\sim 8^{\circ}\text{C}$ than at 25°C . The

difference in the quantity of water to be absorbed between at 25~8°C and at 25°C is the greatest for the incased embryo of seed stratified at 25°C for 3 months followed by 3 months at 2°C. Therefore, it is quite probable that thermoperiodic responses are closely connected with biochemical processes to absorb water, in which the respiratory system seems to take an important rôle.

From the limited results obtained so far, it is very difficult to deduce the overall scheme of those processes, but in addition to the findings that there is no appreciable increase in respiratory intensity until just before germination, and that alternating temperatures are favorable for those seeds even under anaerobic condition, the experimental result with specific inhibitors might suggest that biochemical processes involved in thermoperiodic responses include the metabolic pathway to incorporate oxygen and that distant from the former, and the germination of those seeds is dependent on the balance between both pathways. Probably the metabolic pathway to incorporate oxygen could be called the high temperature reaction, and the latter could be called the low temperature reaction.

Finally, the possible rôle of thermoperiodic responses in the germination behavior of seeds is discussed on the basis of experimental results obtained so far and previous works. It could be defined that the germination of seed means the protrusion of embryo (radicle) from enveloping tissues at its best physiological condition. The external factors as required for the germination of seeds are necessary for its embryo to reach its best physiological condition. In the seed requiring light for germination, for example, the embryo gets ready for its final physiological condition through photochemical processes. In the seed requiring alternating temperatures for germination, just in the same way, the embryo gets ready for its final physiological condition through thermoperiodic responses. It should be a seed coat or an endosperm that protects an embryo not ready for its final physiological condition. In this case, the growth of embryo is controlled by the mechanical resistance of enveloping tissues, by their impermeability to water or gases, or by the germination inhibitors in them or in an embryo itself. From this point of view, it seems that various external factors favorable for germination affect the physiological activity of embryo to overcome the inhibiting mechanism of enveloping tissues, although those factors might also give some effect to the inhibiting mechanism itself. This is supported by the reports in which the formation of promoters and no decrease of inhibitors were observed during stratification.

With *Betula pubescens* seeds, it has been suggested that oxygen might have some influence on the inactivation of inhibitors, because those seeds can germinate even under the presence of inhibitors if they are scarified or exposed to the increased pressure of oxygen. However, it is reasonable to suppose that the embryos are activated physiologically rather than to suppose that oxygen supply is greatly favored by stratification or photoperiodic treatment. This physiological activation may be the decreased requirement of oxygen for germination as GRIESBACH suggested, or the activation of the metabolic pathway to incorporate oxygen.

Abstract

When speaking of the effect of temperature on seed germination, it has been very common that the seeds requiring constant temperature for germination are distinguished from those requiring temperature alternation for germination. Because of the great variability of the temperature requirement within a species or even within a sample, however, this sort of grouping is not thought to be satisfactory. The difference in the temperature requirement for germination should be due to the difference in the response of certain biochemical systems to external conditions.

With *Fraxinus mandshurica* var. *japonica* seeds, their germination behavior was observed in detail after a certain period of stratification, with special reference to germination temperature. Even after the same stratification, their germination behavior varies with the combination of incubation temperature and the period for each temperature. Generally speaking, at a high constant temperature some of the seeds germinate much more quickly, but most of them do not germinate, while at a constant lower temperature the seeds germinate slowly, but over a longer period. This tendency will clearly be indicated by the germination curves at alternating temperatures with various ratios of a high temperature-period to a low temperature-period. To explain this tendency, there will be the following idea in reference to an individual seed. The seed ready to germinate through stratification will germinate much more quickly at a high temperature, while the seed on the way to the readiness will not germinate without the alternation of high and low temperatures. If the latter is kept at a constant high temperature, some processes inhibitory for germination will be created in it. Consequently it is unable to germinate even under the subsequent alternating temperatures. The inhibitory processes are gradually reduced with the increased period of chilling at 2°C. Based on the experimental results mentioned above, the presence of thermoperiodicity is claimed in the germination of stratified *F. mandshurica* var. *japonica* seeds. The well-known response of seeds to alternating temperatures might be a part of the thermoperiodicity in germination.

The thermoperiodicity in the germination of *F. mandshurica* var. *japonica* seeds is related closely to their light-sensitivity. In the light-sensitivity of those seeds, there is also a reversibility between red and far-red actions, which indicates that the phytochrome participates in the photochemical reaction of those seeds. It is noticeable, however, that those seeds should be exposed to alternating temperatures after light irradiation or during germination test with daily light condition. Some other experimental results suggest that the phytochrome is also related to the inhibitory processes as produced in seeds at a constant high temperature. A single red irradiation of three hours is almost enough to cause their successful germination, which indicates that the reaction to require light is at an earlier stage of a series of biochemical processes to germination. In other words, it seems that the photochemical reaction should be followed by the thermoperiodic responses. The thermoperiodicity of those seeds varies with their internal conditions as affected through stratification; that is, it increases with the increased period of cold stratification subsequent to warm stratification. This stage of physiological condition may be called the "thermoperiodic phase". With more increased period of cold stratification, the internal condition of seed finally goes on to the "non-thermoperiodic phase". The seed germinating quickly at a constant high temperature should be at this stage. The physiological stage of seed when the photochemical reaction should be followed by the thermoperiodic responses is the earlier part of the "thermoperiodic phase", whereas the seed at the later part of the "thermoperiodic phase" can germinate through thermoperiodic responses alone—in darkness. Based on the experimental results obtained so far, the germination process of *F. mandshurica* var. *japonica* seeds is schematically interpreted.

The possible generality of the thermoperiodicity in germination is examined with the seeds of several tree species. None of the species studied here shows such a remarkable thermoperiodicity as *F. mandshurica* var. *japonica* does. By comparing the germination curves at different temperature conditions, however, a similar thermoperiodic tendency will be seen in the seeds of most species. Considering those results in connection with the previous papers on the

effect of temperature on seed germination, the "thermoperiodicity" will be a general principle for better understanding of the germination behavior of seeds to temperature. So far, seed dormancy has been classified mainly according to the factors causing dormancy, but there has not been discussion convincing enough to favor the reciprocal understanding of dormancy. In this paper, the "physiological dormancy" and "physical dormancy" are divided, the former of which is explained on the basis of the scheme proposed for the germination process of *F. mandshurica* var. *japonica* seeds.

To approach the mechanism of thermoperiodic responses, some attempts have been made in regard to the effect of alternating temperatures—actually, alternation of 25°C (8 hours) and 8°C or 2°C (16 hours)—on some physiological and biochemical conditions in *F. mandshurica* var. *japonica* seeds. The water absorption pattern by a whole seed is not affected so much by temperature condition until germination takes place. In the pattern of an embryo itself, however, there is a tremendous difference according to incubation temperature after stratification. An incased embryo absorbs much more water at alternating temperatures than at a constant high temperature, which suggests that the thermoperiodic responses are certainly related to the mechanism of water absorption in an embryo. Under anaerobic conditions, on the other hand, the water absorption by an incased embryo is restricted at alternating temperatures rather than at a constant high temperature. Thus it is quite probable that some biochemical system to transfer oxygen plays an important rôle in the mechanism controlling water absorption through thermoperiodic responses. There is an elaborate mechanism controlling the progress of biochemical processes to germination in response to external oxygen supply. This may also be seen in the experimental results with specific inhibitors, and the oxidative processes through some terminal oxidase system—maybe, cytochrome-cytochrome oxidase system—seem to proceed mainly during a high temperature period.

The respiratory intensity of a whole seed is not so variable with temperature condition. The respiratory intensity at 25°C decreases gradually if seeds are incubated at a constant 25°C, while it does not decrease at alternating temperatures (25~6°C) although there is also no significant increase before germination. The respiratory quotient of non-stratified seeds is a little higher than 1.00, whereas that of stratified seeds is a little lower than 1.00. Here, at a constant temperature and at alternating temperatures, no significant difference in R. Q. is found between them. Chemical changes occurring in seeds during stratification to germination are not particularly remarkable so far as investigated here, but some are noticed as to fat and non-reducing sugars. Especially noticeable changes are the significant decrease of fat, and the quantitative increase and qualitative change of non-reducing sugars in an embryo.

In the last section, the possible significance of thermoperiodic responses in seed germination is discussed in relation to the mechanisms regulating germination, which are the mechanical resistance of seed coat, the impermeability of enveloping tissues to water or to gases, and the presence of inhibitors in the enveloping tissues or in an embryo itself. Various processes occurring in seeds during stratification, under photoperiodic treatment, or under thermoperiodic treatment, result probably in an activation of their internal biochemical condition in some way, and consequently let their embryos overcome those regulating mechanisms primarily in seeds. In some case, those responses should be interchangeable in activating the biochemical processes to germination.

Acknowledgement

The writer wishes to express his cordial thanks to Professor Taizo INOKUMA and Dr. K. HATANO, Tokyo University, and Dr. M. HASEGAWA, Government Forest Experiment Station¹⁾, for their kind guidance and many encouraging discussions. He also wishes to express his sincere thanks to Professor E. C. STONE and Dr. J. M. ULRICH, University of California, and Dr. R. G. STANLEY, Pacific Southwest Forest & Range Experiment Station, for their kind help and many encouraging discussions during some of the studies reported here, which were carried out at the University of California.

(This article was concluded in January, 1961.)

1) Present address : Dept. of Biol., Metropolitan University, Tokyo.