

# 絶滅危惧種オグラセンノウの発芽特性

高岸 慧\*・宮本 太\*†・佐藤千芳\*\*

(令和4年8月25日受付/令和4年12月2日受理)

**要約:** 絶滅に瀕しているオグラセンノウ *Silene kiusiana* (Makino) H. Ohashi et H. Nakai は半自然草原に生育する大陸系遺存植物である。本研究ではオグラセンノウの種子発芽特性を明らかにした。低温湿層処理(無処理, 15日, 30日)を行った種子を用いた段階温度法による種子発芽試験の結果, 温度下降系は温度上昇系と比較して低い発芽率を示した。このことから本種の種子は短期間の高温環境下で二次休眠が誘導されたと考えられる。異なる光条件(暗黒区, 光量子束密度 30, 60, 150  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )の発芽試験において, 本種は光発芽性を持たないことが明らかになった。また生育地の種子結実・散布期の温度環境 29/14°C (オグラセンノウの生育地 8・9 月期の最高・最低平均気温)の変温条件と変温条件の平均温度 21.5°Cの恒温条件の発芽試験の結果, 本種の種子は変温要求性をもつと考えられる。このことから本種の種子は地表面付近においては結実後の当年に発芽できると考えられる。本種の種子寿命は不明であるが埋土された種子は永続的埋土種子集団を形成すると考えられる。

キーワード: ナデシコ科, 種子休眠, 発芽温度, 低温湿層処理, 保全

## 1. はじめに

オグラセンノウ *Silene kiusiana* (Makino) H. Ohashi et H. Nakai (写真1) は, 朝鮮半島と九州が陸続きになった約15万年前の寒冷な気候下に大陸から分布を南下させ, その後の温暖化に伴い国内に遺存的に生育する大陸系遺存植物である<sup>1,2)</sup>。本種は湿地に生育する多年生草本で, 国外では朝鮮半島, 中国東北部に分布し, 国内では岡山県, 広島県, 大分県, 熊本県の限られた生育地に分布する<sup>3,4)</sup>。そのため本種は国の絶滅危惧Ⅱ類に<sup>5)</sup>, 自生地全ての県において希少種に指定されている<sup>6,7,8,9)</sup>。

これまでのオグラセンノウの生態的研究は, 阿蘇草原に生育する個体群を対象に季節動態と生育環境について明ら

かにされており, 本種は7月から開花し, 8月から9月にかけて結実する夏生多年草であることが報告されている<sup>10)</sup>。希少植物の生育, 繁殖, および種子発芽(以下, 発芽)などの生態的特性を解明することは対象とする植物個体群の確な保全を行うために重要な情報を与えることができる<sup>11)</sup>。発芽における温度の作用は最も複雑であり, 種間差が大きいことから発芽の温度条件を解明することは, 希少植物群の保護・保全のためにも重要である<sup>12)</sup>。また種子は特定の温度域を経験することにより種子休眠が解除・誘導されること<sup>13,14)</sup>, 温度変動や光に反応して発芽が促進されることが報告されている<sup>15,16,17)</sup>。本研究ではオグラセンノウの温度反応性および温度変動と光環境の違いが発芽に及ぼす影響を明らかにし, 個体群の保全を進めるための基礎的な情報を得ることを目的とした。

## 2. 材料と方法

### (1) 試供種子および発芽試験環境

オグラセンノウの種子は, 熊本県阿蘇市(詳細な生育地は保護のため控える)において2019年の8月10日および9月19日に登熟した種子を蒴果とともに採取した。蒴果は室内で7日間風乾し, 奇形種子を除去した後, 種子を実験開始まで室温の風乾状態で保存した。播種床は, 直径5.5 cmの透明なプラスチックシャーレに直径3 mmのビーズを10 g充填した上に2枚の濾紙を重ねて敷き, 蒸留水で湿らせた状態を維持した。発芽試験および低温湿層処理は人工気象器(NC-241HC 日本医科器械製作所)を用いた。光源は植物育成用蛍光灯型LED(PF20-59WT8-D 日本医



写真1 生育地におけるオグラセンノウの開花期(7月)

\* 東京農業大学農学研究科バイオセラピー学専攻

\*\* 熊本植物研究所

† Corresponding author (E-mail: miya@nodai.ac.jp)

科器械製作所)を用いた。今回試験に用いた種子は表面殺菌および刺傷処理を行わなかった。各試験区は40粒4反復とした。発芽は発根したものとし、発芽を確認した種子はその都度試験区より除去した。発芽試験中に糸状菌に侵された種子は全区画において最大7.5%であった。糸状菌に侵された種子が観察された試験区の発芽率はそれらの種子数を引き補正を行った。

## (2) 段階温度法による発芽試験

2020年2月に室内で風乾保存した種子を用いて、オグラセンノウの種子休眠性および発芽可能温度域を明らかにするために段階温度法による発芽を観察した<sup>18)</sup>。また低温の経験が発芽に及ぼす影響を詳細に明らかにするため、試験に用いた種子は前処理として低温湿層処理を実施した。低温湿層処理は、蒸留水を充填した播種床に播種した後に二重のアルミホイルで全面を覆い暗黒状態を維持し、5°C恒温の人工気象器内で無処理(0日)、15日、30日の3条件を実施した。温度条件は36°Cから5°Cまで段階的に温度を低下させる温度下降系(以下、DT系)と5°Cから36°Cまで段階的に温度を上昇させる温度上昇系(以下、IT系)の2条件を実施した。これらの設定温度の処理日数を表1に示す。光条件は明期(約150  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )と暗期の12時間交代とした。発芽の有無は温度条件が変わる際に観察を行った。

## (3) 異なる温度条件による発芽試験

2019年8月10日に採取した無処理種子を4日後に用いて変温条件下と恒温条件下で発芽を観察した。生育地における本種の結実・種子散布期の温度環境を明らかにするため、8月から9月にデータロガー型温度計(おんどとり TR-71U, T&D社)を用いて地表面付近の気温と地表下5cmの地温の計測を行った。計測期間日ごとの最高および最低温度の平均値は、最高気温は29°C、最低気温は14°Cであり、最高地温は24°C、最低地温は19°Cであった。本研究では、地表面付近での発芽動態を明らかにするために温度条件は29/14°C(12時間交代)の変温区とその平均値である21.5°C(24時間一定)の恒温区を設定した。光条件は明期(約150  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )と暗期の12時間交代とした。試験期間は、発芽開始後10日連続で発芽が見られなくなるまで続した。発芽の有無は24時間おきに観察を行った。

## (4) 異なる光条件による発芽試験

2020年6月に室内で風乾保存した種子を用いて、オグラセンノウの光発芽性を明らかにするために異なる光条件下

で発芽を観察した。光条件は暗黒区、光量子束密度(PPFD)30  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 区、60  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 区、150  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 区の4条件を設定した。光条件はそれぞれの試験区に設定した明期と暗期の12時間交代に設定した。暗黒区はシャレをビニールテープで密封した後、二重のアルミホイルで全面を覆い遮光した。温度条件は前項(3)で設定した29/14°C(12時間交代)とした。明条件における試験期間と計測は前項(3)と同様に行った。暗黒区における試験期間は30日とし、発芽の観察は試験終了時に行った。

## (5) 統計解析

発芽率は逆正弦変換を行った後に解析を行った。低温湿層処理が発芽に及ぼす影響を明らかにするため、DT系とIT系それぞれの試験終了時の累計発芽率について処理条件間で一元配置分散分析を行い、有意な差( $p < 0.05$ )が認められた場合はTukey' HSDによる多重比較検定を行った。段階温度法における温度条件が発芽に及ぼす影響を明らかにするため、各処理条件におけるDT系とIT系の試験終了時の累計発芽率についてt検定を行った。異なる温度条件による試験ではt検定を行った。また異なる光条件による試験では一元配置分散分析において有意な差( $p < 0.05$ )が認められた場合、Tukey' HSDによる多重比較検定を行った。

## 3. 結 果

### (1) 段階温度法による発芽温度反応

段階温度法による試験の結果を図1に示す。DT系におけるオグラセンノウの発芽は、無処理区では24°Cから、低

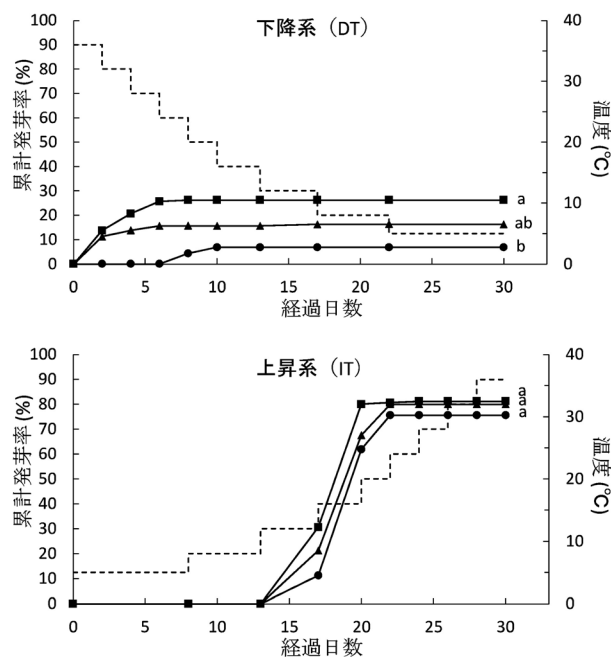


図1 オグラセンノウ種子の段階温度法における発芽温度反応  
●: 無処理区, ▲: 低温湿層処理15日区, ■: 低温湿層処理30日区, 破線は設定温度を示す(表1)。異なるアルファベットは各実験系内の処理区間において有意差が認められたことを示す(Tukey' HSD,  $p < 0.05$ )。

表1 段階温度法の設定温度と各温度の処理日数

温度下降系(DT系)									
温度(°C)	36	32	28	24	20	16	12	8	5
日数	2	2	2	2	2	3	4	5	8
温度上昇系(IT系)									
温度(°C)	5	8	12	16	20	24	28	32	36
日数	8	5	4	3	2	2	2	2	2

低温湿層処理 15 日区および 30 日区では 36℃ から観察された。DT 系における試験終了時の累計発芽率は、無処理区では 6.9%、低温湿層処理 15 日区では 16.3% および 30 日区では 26.3% が観察され、無処理区と低温湿層処理 30 日区に有意な差が認められた ( $p < 0.01$ )。しかし、無処理区と低温湿層処理 15 日区、低温湿層処理 15 日区と 30 日区には有意な差が認められなかった ( $p > 0.05$ )。IT 系におけるオグラセンノウの発芽は、無処理区、低温湿層処理 15 日区および 30 日区において 12℃ から観察された。IT 系における試験終了時の累計発芽率は、無処理区では 75.6%、低温湿層処理 15 日区では 80.0% および 30 日区では 81.2% が観察され、3 処理区間に有意な差は認められなかった ( $p > 0.05$ )。また DT 系と IT 系における無処理区、低温湿層処理 15 日区および 30 日区の発芽率は同処理区間で有意な差が認められた ( $p < 0.01$ )。

## (2) 異なる温度条件による発芽特性

異なる温度条件の試験の結果を図 2 に示す。オグラセンノウの発芽は、変温区では試験開始 5 日目から 19 日目まで、恒温区では 6 日目のみに観察された。変温区では 81.9%、恒温区では 0.6% の発芽が観察された。両試験区間の発芽率には有意な差が認められた ( $p < 0.01$ )。

## (3) 異なる光条件による発芽特性

異なる光条件の試験の結果を図 3 に示す。明条件区の発芽は試験開始 6 日目から 17 日目まで観察され、それ以降は観察されなかった。各試験区の発芽率は暗黒区では 44.0%、光量子束密度  $30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  区では 52.5%、 $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  区では 56.2% および  $150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  区では 53.5% の発芽が観察された。全試験区間の発芽率には有意な差が認められなかった ( $p > 0.05$ )。

## 4. 考 察

段階温度法の結果からオグラセンノウの発芽可能温度域は、12℃ から 36℃ であった (図 1)。しかし、DT 系の低温湿層処理 15 日区および 30 日区の種子は 36℃ から発芽したが、無処理区では 24℃ から発芽し、発芽開始温度に差異があった (図 1)。また DT 系におけるオグラセンノウの発芽率は、無処理区と低温湿層処理 30 日区に有意な差が認められた (図 1)。種子は休眠性の低下により発芽可能な条件が拡大することが報告されている<sup>19)</sup>。このことからオグラセンノウの種子は、30 日間の低温を経験することにより休眠性が低下し、発芽可能温度の上限域が拡大、発芽が促進したと考えられる (図 1)。

春から夏にかけて種子を散布させる温帯性の種は、高温により二次休眠が誘導される植物群があることが報告されている<sup>14)</sup>。オグラセンノウも高温により発芽が抑制された。段階温度法による発芽試験では、発芽開始前に最低 5℃ からの低温を経験する IT 系と比較して発芽開始前に最高 36℃ からの高温を経験する DT 系の発芽が抑制された (図 1)。そのためオグラセンノウの種子は、高温を数日経験することにより二次休眠が誘導されることが考えられる。一方、

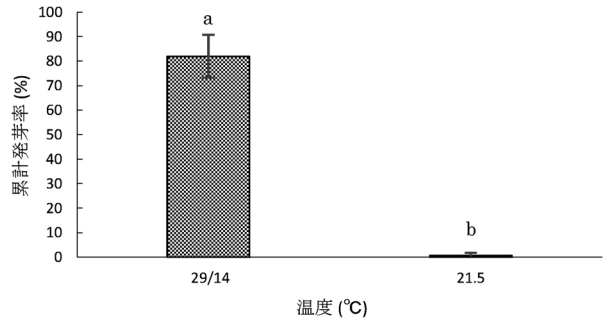


図 2 オグラセンノウ種子の温度条件 (変温および恒温) による発芽特性

29/14: 生育地における結実・種子散布期の最高および最低平均気温, 21.5: 変温区 (29/14℃) の平均温度, 光条件: 明期 (約  $150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) と暗期の 12 時間交代, エラーバーは標準偏差を示す ( $n=4$ ), 異なるアルファベットは有意差が認められたことを示す (t 検定,  $p < 0.01$ )。

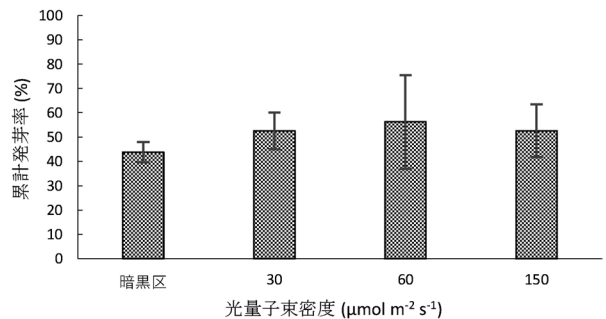


図 3 オグラセンノウ種子の光条件による発芽特性

温度条件: 29/14℃ (12 時間交代), エラーバーは標準偏差を示す ( $n=4$ )。

ナデシコ科のカワラナデシコ *Dianthus auperbus* L. var. *longicalycinus* (Maxim.) Williams の種子は低温要求性を持つが高温により誘導される二次休眠は確認されていない<sup>20)</sup>。二次休眠の有無が発芽・定着にどのような効果があるのかは不明であるが、同科である両種の開花期などの生育特性や生育環境を今後比較することにより、両種の分布・生育・繁殖の要因を明らかにしたい。

低温湿層処理を行っていない結実直後のオグラセンノウの種子は、生育地の地表面付近の温度環境から設定した 29/14℃ の変温区で 81.9%、同平均温度 21.5℃ の恒温区で 0.6% の発芽率を示した (図 2)。夏生多年草植物群の結実直後の種子は、低温により解除される種子休眠を持つことが報告されている<sup>13)</sup>。夏生多年草であるナデシコ科マンテマ属の *Silene elisabethae* Jan ex Rchb. の種子は 4℃ の低温湿層処理により休眠が解除されるが、無処理の種子は変温条件 (25/15℃, 20/10℃, 15/5℃) による休眠の解除は認められなかった<sup>21)</sup>。オグラセンノウの種子も低温湿層処理により発芽が促進したが、結実直後の種子は変温条件下で高い発芽率を示し、生育地の変温環境が休眠の解除に有効であり、変温要求性を持つと考えられる。しかし、14℃ の温度環境を経ることにより発芽が促進したとも考えられるため、オグラセンノウの種子発芽に対する低温反応性をさらに明らかにする必要がある。

光発芽性は土壌への埋土など不利な環境での発芽を避けるために機能していると考えられている<sup>15)</sup>。しかし、オグラセンノウの種子は、29/14°Cの変温環境下の暗黒区、光量子束密度 30  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  区、60  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  区および 150  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  区の明区において 44.0% 以上の発芽率を示したことから光発芽性を持たないと考えられる。

## 5. まとめ

オグラセンノウの発芽は、本種の結実・種子散布期である 8 月から 9 月の生育地の地表面付近の温度環境から設定した 29/14°C の変温環境下において、光条件を問わず発芽することが明らかになった。この結果から結実期に散布された本種の種子は、地表面付近において発芽できると考えられる。変温要求性を持つ種子は発芽後の実生の定着に適した土壌深度に関わると考えられている<sup>16,17)</sup>。

ナデシコ科マンテマ属の *Silene latifolia* Poir. は埋土種子による発芽が確認されている<sup>22)</sup>。本種およびナデシコ科が持つ発芽能力の期間は現在明らかにされておらず、本研究でも種子寿命の検討は行っていない。しかし、恒温 (21.5°C) ではほとんど発芽せず、生育地の結実・種子散布期の地表下 5cm の最高平均地温は 24°C、最低平均地温は 19°C であったことから、埋土されたオグラセンノウの種子は、土壌中の温度日格差が小さい条件に置かれると考えられ、永続的埋土種子集団を形成すると推測される。オグラセンノウの種子の種子寿命、生育地における埋土種子の実態、および種子休眠について解明することは、埋土種子による個体群の保護・保全を進めるために重要であり今後検討する必要がある。

**謝辞:** オグラセンノウの生育地である牧野内への立ち入り・調査を許可して頂いた組合長・坂梨哲郎氏および工藤信和氏に感謝の意を表します。また英文要旨の校閲に関してはハーバード大学・D. E. Boufford 教授にお願いいたしました。記してお礼申し上げます。

## 参考文献

- 南谷忠志 (2015) 阿蘇地域における植物相の特徴. 分類 15 : 1-10.
- 瀬井純雄, 高沢智嗣, 藤井紀行 (2015) 阿蘇における草原植物の現状と草原再生. 分類 15 : 21-27.
- AKIYAMA S (1999) Caryophyllaceae. IWATSUKI K, BOUFFORD DE, OHBA H (eds.), Flora of Japan II a. Kodansha, Tokyo. pp. 183-210.
- 門田裕一 (2017) ナデシコ科. 大橋広好・門田裕一・邑田仁・米倉浩司・木原 浩編, 改訂 新版 日本の野生植物 第 4 巻 アオイ科〜キョウチクトウ科. 平凡社, 東京. pp. 108-127.
- 環境省, 環境省レッドリスト 2020 の公表について, <http://www.env.go.jp/press/107905.html> (最終アクセス: 2022 年 8 月 24 日)
- 広島県, 絶滅のおそれのある野生生物 (「レッドデータブックひろしま 2011」) レッドデータブックについて, <https://www.pref.hiroshima.lg.jp/site/tayousei/j-j2-reddata2-index2.html> (最終アクセス: 2022 年 8 月 24 日)
- 熊本県希少野生動植物検討委員会 (2019) レッドデータブックくまもと 2019—熊本県の絶滅のおそれのある野生動物. 熊本県環境生活部自然保護課, 熊本.
- 岡山県, 「岡山県版レッドデータブック 2020」, <https://www.pref.okayama.jp/page/656841.html> (最終アクセス: 2022 年 8 月 24 日)
- 大分県, レッドデータブックおおいた 2011, <https://www.pref.oita.jp/soshiki/13070/rdbindex.html> (最終アクセス: 2022 年 8 月 24 日)
- 宮本 太, 宮澤ゆい, 佐藤千芳, 渡辺あかね, 三井裕樹 (2016) 絶滅危惧種オグラセンノウの季節消長と生育環境特性. 日本植物学会, 日本植物学会第 80 回大会研究発表記録 P-0322.
- SCHEMSKE DW, HUSBAND BC, RUCKELSHAUS MH, GOODWILLIE C, PARKER IM, BISHOP JG (1994) Evaluating approaches to the conservation of rare and endangered plants. *Ecology* 75 : 585-606.
- 鷺谷いづみ (1989) 種子発芽の生態学 方法論と展望の模索. 種生物学研究 13 : 1-17.
- BASKIN CC, BASKIN JM (1988) Germination ecophysiology of herbaceous plant species in a temperate region. *American Journal of Botany* 75 : 286-305.
- WASHITANI I, MASUDA M (1990) A comparative study of the germination characteristics of seeds from a moist tall grassland community. *Functional Ecology* 4 : 543-557.
- FENNER MK, FENNER M, THOMPSON K (2005) The ecology of seeds. Cambridge University Press, Cambridge.
- THOMPSON K, GRIME JP (1983) A comparative study of germination responses to diurnally-fluctuating temperatures. *Journal of applied ecology* 20 : 141-156.
- 鷺谷いづみ (1993) 種子発芽における環境モニター 生育にふさわしい場所と時を選ぶメカニズム. 化学と生物 31 : 382-384.
- 鷺谷いづみ (1997) 保全「発芽生態学」マニュアル, 休眠・発芽特性と土壌 シードバンク調査・実験法 (連載第 3 回). 保全生態学研究 2 : 77-86.
- BASKIN CC, BASKIN JM (2014) Seeds : ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. 2nd ed. Academic Press, San Diego.
- 植松拓理, 倉本 宣 (2006) 雌性両全性異株カワラナデシコの種子発芽特性. 日本緑化工学会誌 32 : 122-126.
- MONDONI A, DAWS MI, BELOTTI J, ROSSI G (2009) Germination requirements of the alpine endemic *Silene elisabethae* Jan: effects of cold stratification, light and GA3. *Seed Science and technology* 37 : 79-87.
- PERONI PA, ARMSTRONG RT (2001) Density, dispersion and population genetics of a *Silene latifolia* seed bank from southwestern Virginia. *Journal of the Torrey Botanical Society* 128 : 400-406.

# Seed Germination Traits of a Vulnerable Species, *Silene kiusiana* (Makino) H. Ohashi et H. Nakai

By

Kei TAKAGISHI\*, Futoshi MIYAMOTO\*<sup>†</sup> and Chiyoshi SATO\*\*

(Received August 25, 2022/Accepted December 2, 2022)

**Summary** : *Silene kiusiana* (Makino) H. Ohashi et H. Nakai (Caryophyllaceae), a threatened species, is a persistent continental plant in semi-natural grasslands. The purpose of this study was to determine seed germination traits of *S. kiusiana*. Germination tests based on gradually increasing (IT) and decreasing (DT) the temperatures of seeds treated by cold stratification for different periods (no treatment, 15-days, 30-days) indicated that an IT regime had a higher germination rate than a DT regime. The findings inferred that high temperatures for short periods of time induced secondary dormancy in the seeds of this species. Germination tests under different light conditions (darkness, PPFD : 30, 60, 150  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) revealed that germination of the seeds of *S. kiusiana* showed no response. Seeds germinated at alternating temperatures of both 29 and 14 °C which is the average of the highest and lowest temperatures during August and September during the fruiting season at the growing site, but did not germinate when subjected to a constant temperatures of 21.5°C (median of the highest and lowest temperatures). The findings suggest that the seeds germinate on the ground surface in the year after seed set. The seed longevity of this species is unknown, but its buried seeds contribute to a persistent seed bank.

**Key words** : Caryophyllaceae, seed dormancy, germination temperature, cold stratification, conservation

\* Department of Human and Animal-Plant Relationships, Graduate School of Agriculture, Tokyo University of Agriculture

\*\* Plant of Kumamoto laboratory

<sup>†</sup> Corresponding author (E-mail : miya@nodai.ac.jp)