

物理的休眠打破と生理的休眠打破に基づいたウルシ種子の発芽促進処理の評価

松尾晶穂^{1,4}・岩切鮎佳²・松下範久^{*,2}・田端雅進³・福田健二²

ウルシの種子は、物理的休眠と生理的休眠を併せ持つ複合休眠状態にあると推測されている。ウルシ種子の発芽率を向上させるために、発芽促進に効果があると報告された方法を種子の物理的休眠と生理的休眠の打破に分けて評価した。ウルシ種子の物理的休眠の打破には、濃硫酸への60～120分の浸漬、または内果皮の一部除去が有効であった。濃硫酸に90分浸漬した後の種子では、種子の2カ所から吸水が始まることが観察された。濃硫酸浸漬後の種子に対する生理的休眠打破の方法としては、4～12週間の低温湿層処理が有効であった。しかし、内果皮を一部除去した後に低温湿層処理した種子は発芽しなかった。濃硫酸に90分浸漬させた後に8週間の低温湿層処理を行った種子の発芽率 ($73.2 \pm 2.7\%$) は、濃硫酸浸漬処理と低温湿層処理を単独で行った場合 (それぞれ、 $0.8 \pm 1.0\%$ 、 $0.4 \pm 0.9\%$) や無処理の場合 ($0.0 \pm 0.0\%$) の発芽率よりも有意に高く、二つの処理を組み合わせた方法がウルシ種子の発芽促進に有効であることが確認された。

キーワード：ウルシ、物理的休眠、生理的休眠、濃硫酸浸漬処理、低温湿層処理


Akiho Matsuo,^{1,4} Ayuka Iwakiri,² Norihisa Matsushita,^{*,2} Masanobu Tabata,³ Kenji Fukuda² (2022) Evaluation of Germination Promoting Treatments for *Toxicodendron vernicifluum* Seeds Based on Breaking Physical and Physiological Seed Dormancy. J Jpn For Soc 104: 254–261 The seeds of *Toxicodendron vernicifluum* are considered to be in a state of combinational dormancy, which is a combination of physical and physiological dormancy. To improve the germination rate of *T. vernicifluum* seeds, the methods reported to be effective in promoting seed germination were evaluated separately for breaking physical and physiological seed dormancy. The most effective methods for breaking physical dormancy of *T. vernicifluum* seeds were soaking in concentrated sulfuric acid (H_2SO_4) for 60 to 120 min or partial removal of the endocarp. Water absorption was observed to begin at two locations on the seed after soaking in H_2SO_4 for 90 min. Cold stratification for 4 to 12 weeks was effective in breaking physiological dormancy of the seeds after soaking in H_2SO_4 . However, seeds treated with cold stratification after partial removal of endocarp did not germinate. The germination rate of seeds soaked in H_2SO_4 for 90 min followed by 8 weeks of cold stratification ($73.2 \pm 2.7\%$) was significantly higher than that of seeds soaked in H_2SO_4 or cold stratification alone ($0.8 \pm 1.0\%$ and $0.4 \pm 0.9\%$, respectively) or no treatment (0.0 ± 0.0), indicating that the combined treatment would be effective for improving *T. vernicifluum* germination.

Key words: cold stratification, concentrated sulfuric acid scarification, embryo dormancy, physical dormancy, *Toxicodendron vernicifluum*

I. は じ め に

ウルシ (*Toxicodendron vernicifluum*) は、ウルシ科ウルシ属の雌雄異株の落葉広葉樹であり、ウルシの幹に傷をつけることにより内樹皮で生産・分泌される樹脂と木部の樹液が「漆」として利用される (船田 2020; 田端 2021)。漆は、漆芸や社寺建築などの伝統文化に欠かせない資材である。第二次世界大戦後の日本国内の漆生産量は、1960年代に10トン未満に激減し (伊藤 1979; 山本 2008)、その後も生産量は減少して2000年代には1～2トンで横ばいとなった (林野庁 2021)。こうした状況の中で、文化庁は2015年に都道府県教育委員会に対して国宝・重要文化財建造物の保存修理事業における漆の使用について、原則として下地も含め国産漆を使う旨の通知を发出した (文化庁 2015)。この方針の実現に必要な国産漆は年平均で約2.2トンと予測されており、漆の増産が必要な状況となっている。ウルシの幹からの漆採取方法には、1年で漆を採取した後に個体を伐採する「殺し掻き」と、「殺し掻き」に比べて

辺 (傷) の数を少なくし、一定年数ごとに繰り返して漆を採取する「養生掻き」の二つの方法があるが (伊藤 1979)、戦後の日本では前者の方法が主流である (森林総合研究所 2013)。殺し掻きの場合は定期的にウルシ苗を育ててウルシ林を更新し続けるか、伐採後の根株を利用した萌芽更新によってウルシ林を造成する必要がある。漆の増産のためには、各産地のウルシ林面積を増やすだけでなく、再造林や萌芽更新のための作業の効率化も必要である。ウルシの育苗法には、主に種子を採取して実生苗を育てる方法と、親木の根を切り取り、植え付ける方法 (分根法) の二つがある (田端 2018)。現在、国産漆の約7割は岩手県で生産されており (農林水産省 2020)、その主産地である二戸市とその周辺地域では、実生苗によってウルシ林が造成されている。しかし、実生苗生産において種子の発芽率が極端に低いことが問題となっており、例えば、二戸市では、約26万粒を播種して約3万粒 (発芽率11.5%) しか発芽しなかった生産者の例もある。また、低い発芽率を補うために大量の採種が必要なことも、ウルシ実生苗の生産

*連絡先著者 (Corresponding author) E-mail: nmatsushita@g.ecc.u-tokyo.ac.jp  <https://orcid.org/0000-0003-3281-8846>

¹ 東京大学農学部 〒113-8657 東京都文京区弥生 1-1-1 (Faculty of Agriculture, The University of Tokyo, 1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8657, Japan)

² 東京大学大学院農学生命科学研究科 〒113-8657 東京都文京区弥生 1-1-1 (Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo, 1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8657, Japan)

³ 国立研究開発法人森林研究・整備機構森林総合研究所東北支所 〒020-0123 岩手県盛岡市下厨川字鍋屋敷 92-25 (Tohoku Research Center, Forestry and Forest Products Research Institute, 92-25 Nabeyashiki, Shimokuriyagawa, Morioka, Iwate 020-0123, Japan)

⁴ 現所属：株式会社荏原製作所 〒114-8510 東京都大田区羽田旭町 11-1 (Present address: Ebara Corporation, 11-1 Haneda Asahi-cho, Ota-ku, Tokyo 114-8510, Japan)

(2021年12月24日受付; 2022年6月6日受理)

©2022 一般社団法人日本森林学会：この著作はクリエイティブ・コモンズのライセンス CC BY-NC-ND (引用を表示し、改変せず、非営利目的に限定) の条件の元で再配布・二次利用が可能なオープンアクセスです。 <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.ja>

コストを押し上げている。苗木生産過程内のコストを抑えて現在の漆生産地に十分な実生苗を提供するため、さらに、余剰分の実生苗を他の地域に回して新たなウルシ林の造成を進めるため、ウルシ種子の発芽率の改善が求められている。

ウルシの果実は核果（石果）で、外果皮は薄くて脆く、中果皮は厚くて蠟分を含んだスポンジ状の組織からなり、内果皮は非常に硬い（図-1(A)~(C))。内果皮は三つの細胞層から成り（伊藤・野田 2014）、内果皮の内部に種子がある。ウルシの栽培では内果皮に包まれた状態の種子（核）を「種子」として取り扱うため、本研究でも核を種子と呼ぶ。ウルシの種子は休眠状態にあり、発芽に適切な環境条件がすべて揃ってもほとんど発芽しない。Baskin and

Baskin (2009) は、種子の休眠を大きく五つのクラスに分類しているが、そのうちウルシの種子の休眠は、物理的休眠と生理的休眠を併せ持つ複合休眠に該当すると推測されている（徐・徐 1988）。物理的休眠とは、不透水性の種皮や果皮を有するために種子が吸水できず、好適な条件下でも発芽しない状態であり、ウルシ科を含めて16科の植物にこの休眠種子をもつ種が含まれる（Baskin and Baskin 2009）。一方、生理的休眠とは、生理的阻害機構により発芽が妨げられている状態であり、木本植物を含む非常に多くの科の植物にこの休眠種子をもつ種が含まれる。物理的休眠と生理的休眠では、休眠を打破する方法が異なるため、ウルシ種子の発芽率を向上させるためには、物理的休眠と

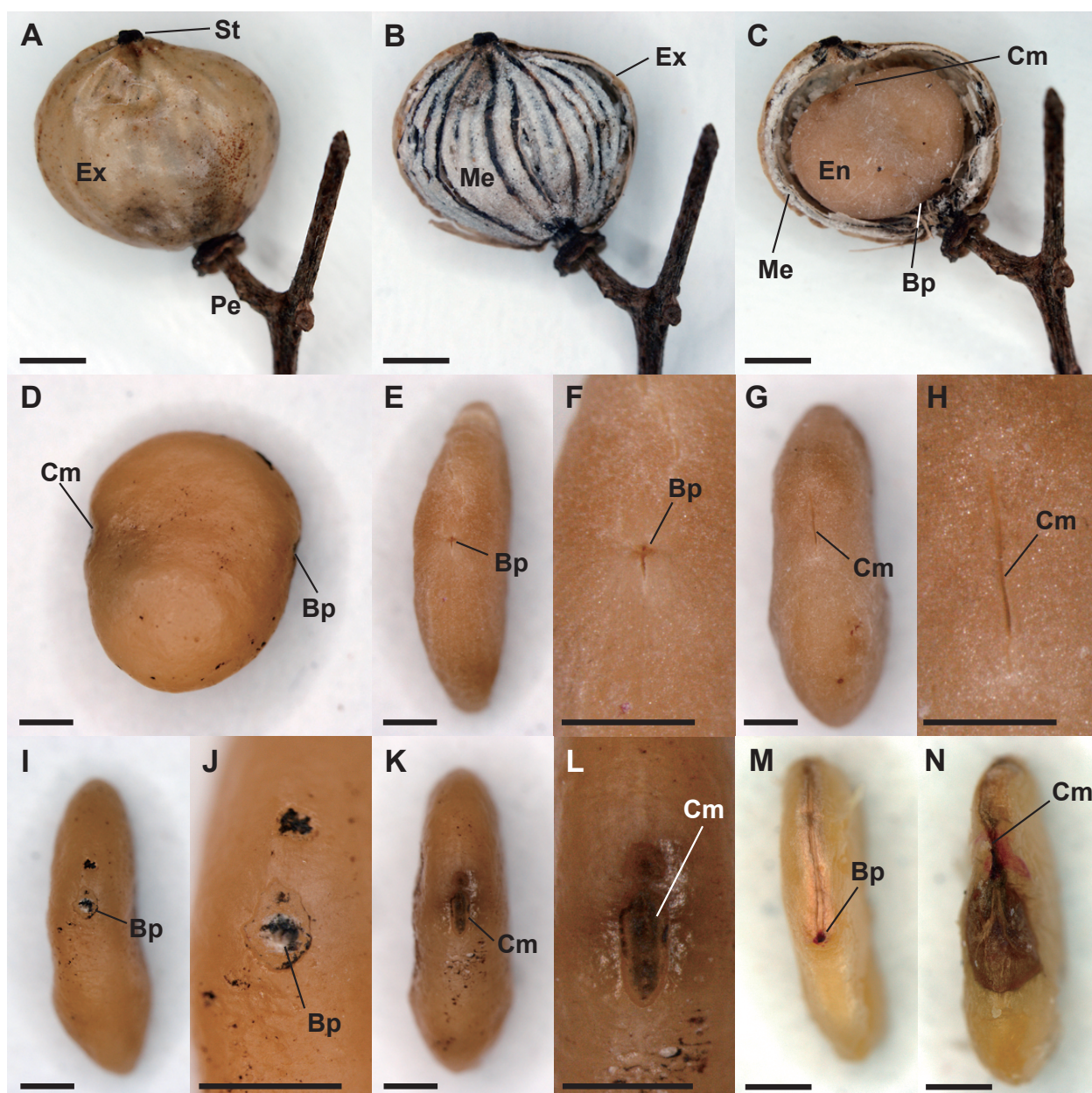


図-1. 90 分間の濃硫酸浸漬処理による内果皮の変化と処理後の内果皮の吸水部位

(A) ウルシの果実と外果皮, (B) 外果皮を除去して中果皮を露出させた果実, (C) 外果皮と中果皮を除去して内果皮を露出させた果実, (D) 濃硫酸浸漬処理後の種子（核）, (E, F) 濃硫酸浸漬処理前の果柄側の内果皮, (G, H) 濃硫酸浸漬処理前の花柱側の内果皮, (I, J) 濃硫酸浸漬処理後の果柄側の内果皮, (K, L) 濃硫酸浸漬処理後の花柱側の内果皮, (M, N) 濃硫酸浸漬処理後に0.5%酸性フクシン水溶液に60分間浸漬した種子（核）から内果皮を除去した種子。種皮が酸性フクシンにより赤色に染色された部位が内果皮の吸水部位と推測された。(M) 果柄側, (N) 花柱側。Bp, 果柄基部; Cm, 発芽時に幼根が突出する部位; En, 内果皮; Ex, 外果皮; Me, 中果皮; Pe, 果柄; St, 花柱。バーはA~Cが2 mm, D~Nが1 mm。

生理的休眠のそれぞれについて有効な打破方法を検討する必要がある。

日本における既往研究では、ウルシ種子の発芽率の低さは内果皮の硬さと不透水性、または果実の蠟分によるものと考え、物理的に内果皮を傷つけたり、蠟分を除去したりすること（脱蠟処理）により種子に吸水させようとする方法が多く試みられてきた。ウルシ苗木の生産マニュアル（森林総合研究所 2013；岩手県東北広域振興局農政部二戸農林振興センター林務室 2017）においても、濃硫酸や温湯への浸漬と金具やコンクリートを用いた種子の研磨による処理が紹介されている。これらはウルシ種子の物理的休眠の打破を目的とした処理である。また、既往研究のうち、処理と発芽率の対応が記録されている研究（小山 1919；松原 1940；高野 1948, 1949, 1950；沼田・岡本 1951；西口・今野 1980；小川 2002；今井ら 2021）では、濃硫酸、温湯、アルカリ、洗剤、漂白剤への浸漬のうち、濃硫酸浸漬処理で効果があるという見解ではいずれも一致しているが、発芽率が最も高い浸漬時間は研究により異なる。また、濃硫酸浸漬処理以外の処理の効果については評価が定まっていない。濃硫酸浸漬処理の最適な処理時間や既知の処理方法の効果は、種子の吸水速度や吸水量に基づいて物理的休眠打破の効果として評価できると考えられる。一方、物理的休眠状態の種子は、種皮上の特殊な形態をもつ部位（water gap）が開くと休眠が打破されるため（Baskin and Baskin 2009）、ウルシ種子の water gap の位置を特定することにより、ウルシ種子の物理的休眠打破のメカニズムの理解が進むことが考えられる。

生理的休眠の打破については、中国において濃硫酸浸漬処理によりウルシ種子の物理的休眠を打破した後、2～5℃の湿潤条件に20～30日置く低温湿層処理が有効であると報告されている（徐・徐 1988）。また、权（2001）は濃硫酸浸漬処理と低温湿層処理の処理時間によって発芽率が異なることを示し、3時間の濃硫酸浸漬処理と4週間の低温湿層処理により播種10日後に90%の種子が発芽したと報告した。日本においても15分以上の濃硫酸浸漬処理と30日以上低温湿層処理により発芽率が向上することが報告されている（今井ら 2021）。しかし、最適な低温湿層処理の期間は研究により異なっており、既往研究とは異なる産地の種子に対する処理期間の効果を調べるなど、データを蓄積して評価する必要があると考えられる。さらに、徐・徐（1988）は低温湿層処理を水ではなく、ジベレリン A3（GA3）水溶液で行うことで発芽率が向上すると報告しているが、低温湿層処理を行わなかった場合の GA3 の効果は不明である。また、GA3 以外にも他の植物種ではエチレンや硝酸イオンにより、種子発芽が促進されることが報告されており（米山・米山 2009；南原 2019 など）、これらによりウルシ種子の生理的休眠が打破される可能性も考えられる。

本研究では、ウルシ種子の発芽を促進すると報告されている種子の処理方法について、物理的休眠打破に対する効果と生理的休眠打破に対する効果に分けて評価することを目的とした。まず、物理的休眠打破に有効な処理方法を評

価するために、様々な処理を行った種子の吸水率を測定した。また、濃硫酸浸漬処理による物理的休眠打破のメカニズムを明らかにするため、処理後の内果皮の組織変化の顕微鏡観察を行うとともに、吸水部位の特定を試みた。次に、生理的休眠打破に有効な処理方法を評価するために、物理的休眠打破を行った種子について様々な処理を行った種子の発芽率を測定した。最後に、本研究により有効性が確認された物理的休眠打破の処理と生理的休眠打破の処理を組み合わせて行うことにより、無処理や単独処理の場合と比べて発芽率がどの程度向上するのかを確認した。

II. 材料と方法

1. 供試種子

2018年10～12月に茨城県常陸大宮市のウルシ林の1本の母樹（以下、茨城産）と岩手県二戸市のウルシ林の複数の母樹（以下、岩手産）から採集された後に乾燥した状態で保存された果実、または、2019年11月に岩手県二戸市のウルシ林の1本の母樹（以下、岩手2019年産）から採取され10℃で保存された果実を供試した。茨城産と岩手産の果実は2019年3～4月に、岩手2019年産の果実は2021年10月に、目開き4.75 mmのステンレス製の篩に押し付けて外果皮と中果皮を除去した。果皮を除去した種子をチャック付きのビニール袋に入れ、実験に用いるまで4℃、暗黒下で保存した。実験には水道水に浸漬して沈んだ種子を用いた。

2. 物理的休眠打破の処理と吸水率の測定

茨城産の種子に対して、以下のa～eの処理を行った。a, b, eは2019年6～7月に、dは2019年9月に、cは2020年1月に処理を行った。対照は無処理の種子とした。いずれの処理も10個の種子を供試し、a～cの処理では処理後の種子を流水（水道水）で十分に洗浄した。

a. 濃硫酸浸漬処理：約20 mLの濃硫酸を100 mL容のビーカーに入れ、種子を浸漬した。浸漬時間は10分、30分、60分、90分、120分のいずれかとした。

b. 水酸化ナトリウム溶液浸漬処理：約20 mLの1 M 水酸化ナトリウム溶液を100 mL容のビーカーに入れ、種子を浸漬した。浸漬時間は10分、30分、60分、90分、120分のいずれかとした。

c. 木灰湯浸漬処理：木灰は東京大学大学院農学生命科学研究科附属演習林田無演習林で使用された薪ストーブ内から採取したものをを用いた。木灰湯は沼田・岡本（1951）と岩手県東北広域振興局農政部二戸農林振興センター林務室（2017）を参考にして、木灰と温水を体積比1：10で混合したもの（9%木灰湯）と、1：3で混合したもの（25%木灰湯）の2種類を調製し、それぞれの処理効果を測定した。9%木灰湯処理では、500 mL容のビーカーに温水300 mLと木灰30 mLを加えて攪拌した後、70℃の恒温水槽（Isotemp, Fisher Scientific, Pittsburgh, PA, USA）に入れて保温し、木灰湯が70℃になった後に種子を浸漬して5分間保温した。25%木灰湯処理では、5 mL容のマイクロチューブに種子と70℃の温水3 mL、木灰1 mLを入れて5分間攪拌した。

d. 温湯処理：70℃の温水を入れた2 mL 容マイクロチューブに種子を1個ずつ入れ、アルミブロック恒温槽(DTU-1B, タイテック, 埼玉)で70℃, 24時間保温した。

e. 傷つけ処理：ニッパーで種子の先端(種子の形状から判断して幼根が無い方)の1~2 mmを切除した。

a~eの処理後の種子の表面の水滴を拭き取って1個ずつ重さを測定した後に、各種子を2 mL 容マイクロチューブに入れ、水道水を約2 mL 加えた後、20℃, 暗黒下に置いた。濃硫酸浸漬処理では、処理翌日から4日後までの毎日と7日後に、他の処理では7日後に種子の重さを測定して、吸水後の種子重量の増加率である吸水率(%)を $\{(\text{吸水後の重量} / \text{吸水前の重量}) - 1\} \times 100$ として算出した。7日後の吸水率をアークサイン変換した値を用いて一元配置分散分析を行い、処理間に有意差があることを確認した後、Dunnett 検定により無処理とそれ以外の処理の間に有意差があるのかを検定した。統計解析には R ver.3.5.2 (R core team 2018) の multcomp パッケージ (Hothorn *et al.* 2008) を用いた。

3. 内果皮の解剖観察

茨城産の種子に対して、II-2aの方法により濃硫酸浸漬処理を行った後、凍結ミクロトーム(CM1850, Leica Biosystems, Wetzlar, Germany)を用いて厚さ10 μm の種子の凍結切片を作成した。無処理の種子についても同様に切片を作成した。作成した切片の内果皮を光学顕微鏡(BX50, オリンパス, 東京)で観察し、写真を撮影した。

4. 吸水部位の特定

岩手2019年産の種子10個を濃硫酸に90分浸漬した後、0.5%酸性フクシン水溶液(以下、酸性フクシン)に60分浸漬した。浸漬後、内果皮を除去して種皮の表面を実体顕微鏡(MZ16, Leica Biosystems)で観察し、酸性フクシンにより赤色に染色された部位を種子の吸水部位とした。また、濃硫酸浸漬前の種子や酸性フクシン浸漬前の種子も実体顕微鏡で観察した。

5. 生理的休眠打破の処理と発芽率の測定

実験は2019年6~12月に行った。まず、以下のa~dの処理を行った後、低温湿層処理を行った。濃硫酸浸漬処理はII-2aの方法により行い、処理時間は90分とした。また、eの処理については低温湿層処理を行わなかった。

a: 濃硫酸浸漬処理-吸水-低温湿層処理：茨城産と岩手産の種子に対して濃硫酸浸漬処理を行った後、水道水中で20℃, 1週間吸水させた。吸水中は1~3日ごとに水道水を取り換えた。

b: 濃硫酸浸漬処理-吸水なし-低温湿層処理：低温湿層処理前の吸水の要否を確認するため、茨城産と岩手産の種子に対して濃硫酸浸漬処理を行った後、1週間の吸水を行わなかった。

c: 傷つけ処理-吸水-低温湿層処理：岩手産の種子に対して、II-2eの方法で傷つけ処理を行った。処理後の種子はaと同じ方法で吸水させた。

d: 低温湿層処理-濃硫酸浸漬処理：物理的休眠打破を行わずに低温湿層処理を行った場合に種子の生理的休眠が打破されるのかを確認するため、茨城産の種子を水道水中で

20℃, 1週間保管した後に低温湿層処理を行った。さらに、低温湿層処理後の種子に対して濃硫酸浸漬処理を行った。

e: 濃硫酸浸漬処理-低温湿層処理以外の処理：茨城産の種子に対して濃硫酸浸漬処理を行った後、100 ppm GA3水溶液, 0.2% 硝酸カリウム水溶液, 10 mM 2-クロロエチルホスホン酸(エテホン)水溶液, 水道水(対照)のいずれかに浸漬して、20℃, 暗黒下で1週間吸水させた。

低温湿層処理は、15 cm \times 21 cm \times 厚さ3 cmのポリスチレン製の箱の中に水道水で湿らせたペーパータオルを折りたたんで敷き、タオルの間にa~dの処理を行った種子を置いた後、4℃, 暗黒下で保管することで行った。処理期間は、茨城産の種子は4, 8, 12週間のいずれかとし、岩手産の種子は4週間、または8週間とした。

次に、処理後の種子を芝の目土(東京園芸資材販売, 横浜)を入れたプランター(28 cm \times 15 cm \times 深さ15 cm)に播き、1~2 cmの厚さで覆土した。播種数は各処理につき100個の予定で準備したが、操作ミスにより73~126個と処理ごとに異なった。播種後のプランターは23℃, 16時間明-8時間暗条件の人工気象室内に置いた。灌水は播種直後に十分に行った後、表面の芝の目土が乾くごとに行った。播種後、地上に胚軸や子葉が見えたものを発芽として、数日ごとに発芽数を調べた。発芽数は濃硫酸浸漬処理を行った日(吸水を開始した日)を0日として17週間後まで(例えば、濃硫酸浸漬処理後に1週間吸水させ、さらに低温湿層処理を4週間行った処理区では、播種12週間後まで)調べ、調査期間最終日までの累積発芽数から発芽率を求めた。

6. 物理的休眠打破と生理的休眠打破を組み合わせた処理の有効性の確認

II-5の実験では入手できた種子数の制限から各処理の反復ができなかったため、II-2と5の実験により発芽促進効果が高いと推測された処理、すなわち90分の濃硫酸浸漬処理を行った後に、8週間の低温湿層処理を行う処理について処理の有効性を確認するための反復実験を行った。茨城産の種子50個に対して以下のいずれかの処理を行った。実験は2020年7月~11月に行い、反復は各処理5とした。

a. 濃硫酸浸漬処理-低温湿層処理：II-2aの方法により90分の濃硫酸浸漬処理を行った種子を水道水で十分に洗浄した後、II-5の方法により8週間の低温湿層処理を行った。ただし、低温湿層処理にはポリスチレン製の角型シャーレ(14 cm \times 10 cm \times 厚さ1.6 cm)を用いた。

b. 無処理-低温湿層処理：種子を水道水で洗浄した後、II-6aの方法により8週間の低温湿層処理をした。

c. 濃硫酸浸漬処理-無処理：種子をチャック付きビニール袋に入れ、4℃, 暗黒下で8週間保存した後、II-2aの方法により90分の濃硫酸浸漬処理を行い、水道水で十分に洗浄した。

d. 無処理-無処理：種子をチャック付きビニール袋に入れ、4℃, 暗黒下で8週間保存した。

処理後の種子の発芽率をII-5の方法で調べた。ただし、調査期間は播種後8週間とした。発芽率をアークサイン変換した値を用いて、Steel-Dwass 検定により処理間に有意

差があるのかを検定した。解析は青木繁伸氏のスクリプト (<http://aoki2.si.gunma-u.ac.jp/R/Steel-Dwass.html>) を用いて、R ver.3.5.2 (R core team 2018) により行った。

III. 結 果

1. 物理的休眠打破のための処理の効果

濃硫酸浸漬処理を10分行った種子の吸水率はいずれも

表-1. 物理的休眠打破の処理後に7日間吸水させた種子の吸水率

処理	処理時間	吸水率 (%) ¹⁾
濃硫酸	10 分	-12.6 ± 6.0
	30 分	18.8 ± 29.7
	60 分	86.2 ± 8.7 *
	90 分	91.5 ± 11.9 *
	120 分	84.9 ± 6.3 *
1M 水酸化ナトリウム溶液	10 分	0.5 ± 0.7
	30 分	0.6 ± 1.1
	60 分	-0.4 ± 1.8
	90 分	0.4 ± 1.0
	120 分	0.3 ± 0.3
木灰湯 (9%, 70℃)	5 分	-0.1 ± 1.0
	(25%, 70℃) 5 分	-0.3 ± 0.5
温湯 (70℃)	24 時間	8.7 ± 21.5
傷つけ	-	64.6 ± 5.2 *
無処理	-	1.8 ± 0.5

¹⁾ 平均 ± 標準偏差。* は、無処理と比較して吸水率が有意に異なった処理 (Dunnnett 検定, $p < 0.05$)。

負であったが (表-1), 吸水率が負となった理由は分からなかった。30 分の浸漬処理をした種子のうち, 2 個の吸水率は 67% と 88% と高かったものの, 残りの種子の吸水率は 2~6% と低く, 種子間のばらつきが大きかった。60~120 分の浸漬処理をした種子の処理 7 日後の吸水率は無処理の種子の吸水率よりも有意に高く, すべての種子が吸水した。60~120 分の浸漬処理では, 処理 7 日後の最大吸水率に大きな差は見られなかったが, 最大吸水率 (飽和状態) に達するまでに要した日数は, 90 分と 120 分の浸漬処理では 1 日であったのに対して, 60 分の浸漬処理では 3 日であった。

濃硫酸浸漬処理以外の処理のうち, 傷つけ処理では無処理よりも処理 7 日後の吸水率が有意に高く, すべての種子が吸水した。温湯処理では 1 個の種子が吸水し, 吸水率は 73% と高かったが, 他の種子の吸水率は -1~3% と低かった。水酸化ナトリウム溶液と木灰湯への浸漬処理では吸水した種子はなく, いずれの種子も吸水率は 1% 未満であった。

2. 物理的休眠打破のための処理による内果皮の変化

無処理の種子の内果皮では三つの細胞層が確認された (図-2 (A))。これらの細胞層は, 外側から短形厚壁異形細胞 (brachysclereid, BS) 層, 骨状厚壁異形細胞 (osteosclereid, OS) 層, 長形厚壁異形細胞 (macrosclereid, MS) 層である (Li *et al.* 1999)。濃硫酸に 10 分浸漬した種子の内果皮

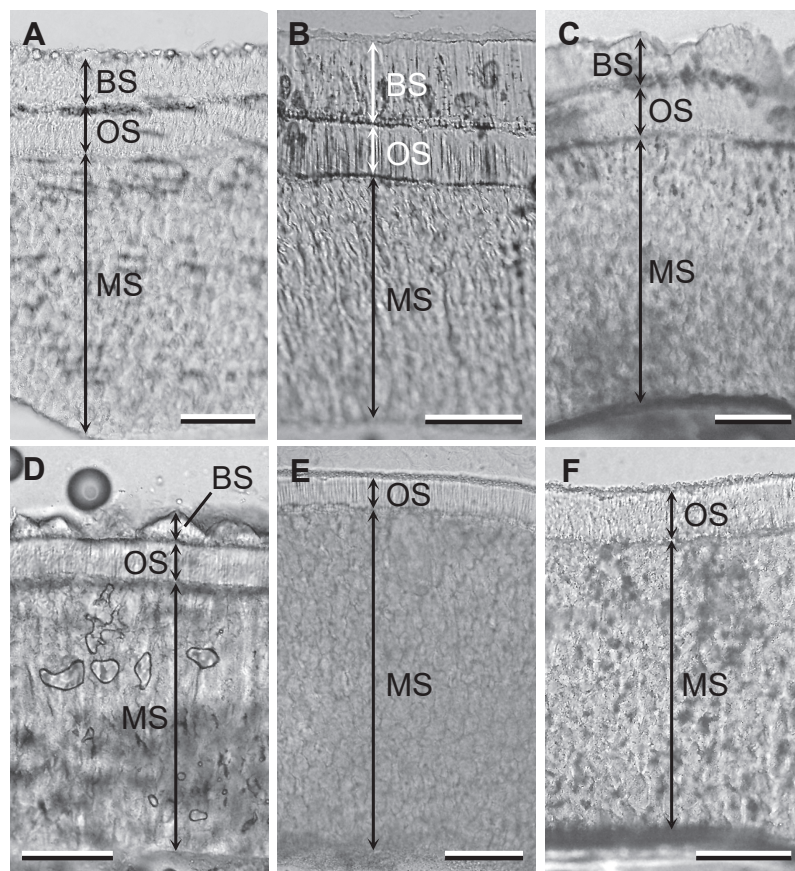


図-2. 濃硫酸浸漬処理を行ったウルシ種子の内果皮の横断面 (A) 無処理, (B) 10 分の濃硫酸浸漬処理, (C) 30 分の濃硫酸浸漬処理, (D) 60 分の濃硫酸浸漬処理, (E) 90 分の濃硫酸浸漬処理, (F) 120 分の濃硫酸浸漬処理。BS, 短形厚壁異形細胞層; OS, 骨状厚壁異形細胞層; MS, 長形厚壁異形細胞層。バーは 100 μm 。

の細胞層には、無処理の種子との違いは見られなかった (図-2 (B))。濃硫酸に 30 分浸漬した種子では BS 層がところどころ消失していたが OS 層は露出していなかった (図-2 (C))。60 分浸漬した種子では BS 層がほとんど消失しており、ところどころで OS 層が露出していた (図-2 (D))。90 分、または 120 分浸漬した種子では BS 層がすべて消失し、OS 層が露出していた (図-2 (E), (F))。

3. 吸水部位の特定

濃硫酸浸漬処理後の内果皮表面は、果柄とつながっていた部位 (果柄基部、以下 Bp) 周辺と内果皮から幼根が突出する部位 (以下 Cm) 周辺が、他の部位よりも濃硫酸による分解が進んでいた (図-1 (D) ~ (L))。濃硫酸処理後に酸性フクシンに 60 分浸漬した種子は、いずれも Bp 周辺の種皮が染色された (図-1 (M))。また、半数の種子では Cm 周辺の種皮が染色された (図-1 (N))。Bp の内果皮には種皮とつながった維管束が貫通しており、濃硫酸浸漬処理後の種子 (核; 内果皮に包まれた状態の種子) から内部の仁 (内果皮の中にある種子) を取り出すと、維管束が種皮とともに内果皮から外れ、この部位の内果皮に穴が開いた状態となることが観察された。一方、濃硫酸浸漬処理前の種子 (核) から仁 (種子) を取り出しても維管束は内果皮から外れず、この部位の内果皮に穴は見られなかった。また、濃硫酸浸漬処理後の種子では Cm の内果皮に穴が開いていたものがあり、穴が開いていない種子もピンセットの先などでこの部位の内果皮に容易に穴を開けられる状態であった。

4. 生理的休眠打破のための処理の効果

濃硫酸浸漬処理を行った後に低温湿層処理を行った種子の発芽率は、茨城産と岩手産のどちらの種子でも対照よりも高かった (表-2)。茨城産の種子の発芽率は、低温湿層処理期間が 8 週間では最も高く、4 週間と 12 週間では大きな差はなかった。岩手産の種子の発芽率は、8 週間の方が 4 週間よりも高かった。発芽は播種後 1~2 週間に多く見られ、2 週間以降の発芽はまれであった。低温湿層処理 (4 週間) を行う前に吸水を行わなかった種子の発芽率は、1 週間の吸水を行った場合と比べて、茨城産の種子では大きな差はなく、岩手産の種子では 2 倍以上高かった。

表-2. 生理的休眠打破処理後の発芽率

母樹	物理的休眠打破処理	生理的休眠打破処理	発芽率 (%)
茨城	濃硫酸 90 分浸漬	低温湿層 (4 週間)	46
		低温湿層 (8 週間)	61
		低温湿層 (12 週間)	42
		低温湿層 (4 週間, 吸水なし) ¹⁾	53
		低温湿層 (4 週間, 逆順) ²⁾	0
		GA3 浸漬	5
		KNO ₃ 浸漬	8
		エテホン溶液浸漬	10
		水道水浸漬 (対照)	3
		傷つけ	
岩手	濃硫酸 90 分浸漬	低温湿層 (4 週間)	0
		水道水浸漬 (対照)	0
		低温湿層 (4 週間)	25
		低温湿層 (8 週間)	70
		低温湿層 (4 週間, 吸水なし) ¹⁾	52
		水道水浸漬 (対照)	0

¹⁾ 低温湿層処理 (4 週間) の前に種子に吸水させなかった。²⁾ 低温湿層処理 (4 週間) を行った後に、濃硫酸浸漬処理を行った。

表-3. 濃硫酸浸漬処理と低温湿層処理の発芽率

処理 ¹⁾	発芽率 (%) ²⁾
濃硫酸浸漬 - 低温湿層	73.2 ± 2.7 ^a
濃硫酸浸漬	0.8 ± 1.0 ^b
低温湿層	0.4 ± 0.9 ^b
無処理	0.0 ± 0.0 ^b

¹⁾ 濃硫酸浸漬処理は 90 分行い、低温湿層処理は 4℃、暗黒下で 8 週間行った。²⁾ 平均 ± 標準偏差。異なるアルファベットは、処理間で有意な差があることを示す (Steel-Dwass 検定, $p < 0.05$)。

濃硫酸浸漬処理を行った後に、低温湿層処理以外の処理を行った茨城産の種子の発芽率は 5~10% であり、対照よりも高かったが、低温湿層処理よりも低かった。発芽は播種後 2~3 週間に多く見られた。4 週間低温湿層処理を行った後に濃硫酸浸漬処理を行った種子や、傷つけ処理を行った後に低温湿層処理を行った種子は、まったく発芽しなかった。

5. 物理的休眠打破と生理的休眠打破を組み合わせた処理の有効性の確認

濃硫酸浸漬処理を行った後に低温湿層処理を行った処理区の発芽率は、どちらかの一方の処理のみを行った処理区や無処理区の発芽率よりも有意に高かった (表-3)。低温湿層処理のみを行った処理区では、播種時に供試した 250 個の種子のうちの 1 個で吸水 (種子の膨潤) が確認され、この種子のみ発芽した。

IV. 考 察

1. ウルシ種子の物理的休眠打破に効果的な処理方法

本研究では、ウルシ種子の発芽率を向上させるために、発芽促進に効果があるとされた種子の処理方法について物理的休眠打破に対する処理効果と生理的休眠打破に対する処理効果に分けて評価した。

物理的休眠を打破する処理については、処理後の種子の吸水率が無処理よりも有意に高かった 60~120 分の濃硫酸浸漬処理、または傷つけ処理が有効であると考えられた。また、濃硫酸への浸漬は、処理後の種子の吸水が飽和状態に達するまでの日数が短かったことから、90~120 分行った方が良いと推測された。中国では濃硫酸への 3 時間の浸漬 (その後に低温湿層処理も行っている) により 90% の種子が発芽した報告 (权 2001) がある一方で、国内では 60 分以上 (今井ら 2021) や 3 時間以上 (松原 1940)、6 時間以上 (小山 1919) 浸漬すると発芽率が低下する報告もある。種子の産地や母樹により最適な浸漬時間が異なる可能性も考えられるため、浸漬時間については、本研究の評価法により他の産地や母樹についてさらに検討する必要があるかもしれない。

ウルシ種子の発芽促進に有効であると報告されたアルカリ性溶液や木灰湯への浸漬処理では種子が吸水しなかったことから、これらの手法はウルシ種子の物理的休眠打破には効果がないと考えられた。既往報告では処理前に臼でつく (杉本 1900; 農商務省山林局 1923)、処理後に泥落とし金具で擦り磨く (森林総合研究所 2013)、コンクリートなどのざらついた所で擦るように揉み洗いをする (岩手県県北広域振興局農政部二戸農林振興センター林務室 2017) といった傷つけ処理が含まれていたことから、溶液への浸

漬処理ではなく、傷つけ処理によって種子が吸水した可能性がある。温湯処理については、田中(1887)や小山(1919)で紹介されているが、沼田・岡本(1951)や小川(2002)では発芽率が10%未満と低く、本研究においても小山(1919)で示されたような種子の吸水は再現できなかった。したがって、温湯処理も種子の物理的休眠を打破する効果はないと考えられた。

濃硫酸浸漬処理後の内果皮を解剖観察した結果、種子の吸水が見られなかった浸漬時間10~30分では、内果皮を構成する三つの細胞層のうちの最も外側のBS層が残存しており、外側から2層目のOS層が露出していなかった。これに対して種子の吸水が見られた浸漬時間60~120分では、BS層がほとんど、または完全に消失してOS層が露出していた。したがって、ウルシの種子に吸水させるための濃硫酸浸漬処理は、内果皮のOS層が露出する程度の時間が必要であると推測された。

ウルシと同様に種子(核)が不透水性の性質をもつウルシ科ヌルデ属の*Rhus aromatica*では、BS層とOS層が不透水性であり、MS層に達する傷を付けないと種子は吸水しないとされている(Li *et al.* 1999)。ウルシ種子の内果皮の細胞層が同様の性質である場合、濃硫酸浸漬処理によりOS層が露出しても種子は吸水できないと考えられる。ウルシ種子の吸水部位を特定するために濃硫酸浸漬処理後の種子を酸性フクシンに浸漬した結果、吸水の初期にはBpやCm周辺の種皮のみが染色された。この結果から濃硫酸浸漬処理後のウルシ種子の吸水は、OS層が露出した内果皮全体からではなく、BpとCmの2カ所から始まることがわかった。ウルシと同じウルシ属のハゼノキでは、内果皮のBpやCmのBS層とOS層が薄く、濃硫酸に30分浸漬することで両層が除去されて吸水する(渡辺 1955)。また、*R. aromatica*の種子は、CmのBS層とOS層が薄く、濃硫酸に1時間浸漬すると両層が除去されて吸水する(Li *et al.* 1999)。本研究では吸水部位周辺の内果皮の層構造を観察していないが、Bpでは維管束が内果皮を貫通していることや、濃硫酸浸漬処理後のBpやCm周辺の内果皮表面は、他の部位の内果皮表面よりも分解が進んでいることが観察された。したがって、ウルシの種子もハゼノキや*R. aromatica*の種子と同様に、BpやCmのBS層とOS層が薄く、濃硫酸浸漬処理により両層が除去されることにより吸水が可能になると推測された。

本研究では、過去に発芽促進に有効であると報告された処理のうち、番茶(齋藤 1900)、石鹼(齋藤 1900; 農商務省山林局 1923)、洗剤や漂白剤(西口・今野 1980, 小川 2002)への浸漬は検討していない。今後、これらの処理や新たな処理の効果を評価したり、濃硫酸への浸漬時間を検討したりする場合は、吸水率の比較や、BpやCm周辺の内果皮の観察が有効であろう。

2. ウルシ種子の生理的休眠打破に効果的な処理方法

濃硫酸浸漬処理により物理的休眠を打破した後、4~12週間の低温湿層処理を行った種子の発芽率は対照よりも高かったが、他の処理(GA3水溶液、硝酸カリウム水溶液、エテホン水溶液への浸漬処理)を行った種子の発芽率は、

対照(水道水浸漬)と大きな差はなかった。したがって、ウルシ種子の生理的休眠の打破には低温湿層処理が有効であり、他の方法の効果は低いと考えられた。徐・徐(1988)は、濃硫酸浸漬処理を行ったウルシ種子に対して、水またはGA3水溶液(250 ppmまたは500 ppm)を用いて低温湿層処理を行った結果、水を用いたときの発芽率が88.7%であったのに対して、250 ppm GA3水溶液を用いたときの発芽率が94.0%、500 ppm GA3水溶液を用いたときの発芽率が96.7%であったことを報告している。本研究で調査した溶液についても、低温湿層処理を行う際に水の代わりに用いることで発芽率を向上させられるかもしれない。

最近まで国内ではウルシ種子の発芽を促進するために、生理的休眠の打破に着目した研究は行われてこなかった。しかし、戦前に行われた研究では、保管中の種子の乾燥を避けるために流水への浸水処理や土中埋蔵が行われており、これらが生理的休眠打破の処理になっていた可能性が考えられる。例えば、朝比奈(1888)は、10日間の浸水処理では十分に発芽しなかったのに対して、30日間の浸水処理では良く発芽したと報告している。また、齋藤(1900)は、重曹(炭酸水素ナトリウム)溶液などに浸漬して蠟分を洗い流すだけでは種子は発芽せず、種子を俵に入れたまま冬の間流水に浸漬し、播種前に暖かい場所に埋めて発芽を促進すべきだと述べている。

低温湿層処理を行う期間については、茨城産と岩手産のどちらも発芽率が最も高かった8週間が良いと考えられた。杈(2001)は、低温湿層処理を5週間行くと、18~28%の種子が処理中に発芽してしまうため、処理を4週間で止めるべきであると述べている。本研究でも8週間以上の処理では処理中に発芽した種子があったが、それらを含めて播種しても4週間よりも8週間の処理の発芽率が高かった。また、今井ら(2021)は、30日、60日、100日の低温湿層処理期間の間では発芽率に有意差はなかったが、処理期間が長いほど播種から発芽までの時間が短くなる傾向が見られたと報告している。本調査では入手できた種子数の制限から各処理の反復がなく、4週間と8週間の間の処理期間も設定していないことから、最適な処理期間についてはさらに検討する必要がある。また、低温湿層処理を行う前の種子の吸水は、茨城産では吸水の有無で大きな差がなく、岩手産では吸水させなかった方の発芽率が2倍以上高かったことから不要であると考えられた。一方、本研究では4℃以外の温度での低温湿層処理を行っておらず、最適な処理温度については検討が必要である。

傷つけ処理により物理的休眠を打破した種子は、低温湿層処理をしても発芽しなかった。発芽しなかった理由は不明であるが、傷つけ処理の切除部以外の内果皮では三つの細胞層がすべて残っていたため、幼根や子葉が硬い内果皮を破れずに発芽できなかった可能性や、低温湿層処理中に切除部から細菌類や菌類が侵入して種子が腐敗した可能性が考えられた。いずれにしても、種子の一部を切除する傷つけ処理は、種子の発芽促進のための処理としては不適であると考えられた。

3. ウルシ種子の発芽促進に効果的な方法

本研究の結果から、ウルシ種子の物理的休眠の打破には90～120分の濃硫酸浸漬処理または内果皮の傷つけ処理が有効であることが示された。また、生理的休眠の打破には4℃で8週間の低温湿層処理を行うことが有効であることが示された。しかし、内果皮の一部を傷つける処理により物理的休眠を打破した場合、低温湿層処理後の種子が発芽しなかったことから、発芽を促進するための処理としては不適であると考えられた。一方、濃硫酸浸漬処理後の種子の形態観察から、ウルシ種子の吸水が始まる部位（water gap）は種子の2カ所であり、この部位から吸水できるようになることで物理的休眠が打破されると推測された。

濃硫酸浸漬処理による物理的休眠打破と低温湿層処理による生理的休眠打破を茨城産の種子に対して行った結果、発芽率は平均で73.2%となり、この処理方法が有効であることが確認された。現在のウルシの苗木生産マニュアルには、濃硫酸への種子の浸漬時間が10分（森林総合研究所2013）、または20～30分（岩手県県北広域振興局農政部二戸農林振興センター林務室2017）と記載されているが、本研究の結果から、種子の物理的休眠を打破するための浸漬時間としては不十分であると考えられた。また、これらのマニュアルに記載された方法に低温湿層処理を加えることにより、種子の発芽率が大きく向上されることが考えられた。

本研究では濃硫酸浸漬処理は100 mL 容ビーカーを用いて行い、低温湿層処理は小型の箱やシャーレを用いて行った。今後、本研究の処理方法を苗木生産現場に導入するためには、それぞれの処理を大規模かつ効率的に行う方法を検討する必要がある。

謝 辞

本研究は、JSPS 科研費（課題番号：19H00551、課題名：「シグナル物質の作用機序とラッカーゼの構造解析による高品質漆生成技術の開発」）の助成を受けて実施した。元岩手県二戸市浄法寺総合支所漆産業課長姉帯敏美氏と奥久慈漆生産組合長神長正則氏には、種子の提供などにおいて多大なるご協力をいただいた。ここに厚く御礼申し上げる。

本論文に関して、開示すべき利益相反関連事項はない。

引用文献

- 朝比奈泰吉 (1888) 山形縣最上郡漆苗養成試験結果. 大日本山林會報 79: 479-481
- Baskin CC, Baskin JM (2009) Classification & biogeography of seed dormancy (吉岡俊人訳 種子休眠のタイプと区分). (発芽生物学 種子発芽の生理・生態・分子機構. 種生物学会編, 文一総合出版). 11-45
- 文化庁 (2015) 「国宝・重要文化財（建造物）保存修理における漆の使用方針について」平成 27 年 2 月 24 日付 (26 庁財第 510 号)
- 船田 良 (2020) 樹皮の組織構造. (地域資源を活かす 生活工芸双書 漆 2 植物特性と最新植栽技術. 田端雅進・橋田光監修, 農山漁村

- 文化協会). 14-20
- Hothorn T, Bretz F, Westfall P (2008) Simultaneous inference in general parametric models. *Biom J* 50: 346-363
- 今井駿輔・稲木孝至・小原 淳・小串重治・衣笠利彦 (2021) ウルシ種子の休眠打破条件および発芽特性の解明. *日緑工誌* 47: 99-104
- 伊藤清三 (1979) 日本の漆. 東京文庫
- 伊藤由美子・野田尚志 (2014) 青森県三戸町沖中 (2) 遺跡から出土した炭化ウルシ科果実について. 青森県立郷土館研究紀要 38: 93-106
- 小山光男 (1919) けやき, ほほ及うるし種子ノ発芽促進法. 林業試験場研究報告 18: 1-82
- 岩手県県北広域振興局農政部二戸農林振興センター林務室 (2017) 漆苗木生産マニュアル. 岩手県県北広域振興局農政部二戸農林振興センター林務室
- Li X, Baskin JM, Baskin CC (1999) Anatomy of two mechanisms of breaking physical dormancy by experimental treatments in seeds of two North American *Rhus* species (Anacardiaceae). *Am J Bot* 86: 1505-1511
- 松原瑞穂 (1940) ウルシ種子の硫酸處理に依る發芽促進に就て. 朝鮮總督府林業試験場時報 21: 1-30
- 南原英司 (2019) 硝酸イオンによる種子発芽の調節. 植物の生長調節 54: 39-43
- 農林水産省 (2020) 令和元年特用林産基礎資料. 農林水産省
- 農商務省山林局 (1923) 漆樹及漆液ニ関スル調査. 農商務省山林局
- 西口親雄・今野政男 (1980) 家庭洗剤によるウルシの種子の脱蠟. 林木の育種 117: 28-29
- 沼田大學・岡本省吾 (1951) 漆樹の造林學的研究 (第 1 報) 漆種子及びその發芽促進處理法に關する研究 (豫法). 京都大學農學部演習林彙報 2: 1-18
- 小川 享 (2002) 丹波漆の育成技術の開発 (I). 京都府林業試験場業務年報 14: 44
- 权 純燮 (2001) 漆樹種子萌发促進法研究. *中国生漆* 2001 (1): 3-7, 31
- 林野庁 (2021) 令和 2 年度森林・林業白書. 林野庁
- R Core Team (2018) R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>
- 齋藤勝藏 (1900) 巖手縣二戸郡地方に於ける漆樹栽培法. 大日本山林會報 212: 1-15
- 森林総合研究所 (2013) ウルシの健全な森を育て, 良質な漆を生産する. 森林総合研究所
- 杉本純英 (1900) 漆樹栽培法. 熊本縣内務部第四課
- 田端雅進 (2018) 植物としてのウルシ. (地域資源を活かす 生活工芸双書 漆 1 漆掻きと漆工 ウルシ利用. 室瀬和美・田端雅進監修, 農山漁村文化協会). 9-17
- 田端雅進 (2021) 国産漆の増産を目指した取り組み—日本の伝統文化を継承するために—. *森林科学* 93: 1-2
- 高野徳明 (1948) 「うるし」苗木養成に関する試験. 岩手県林業試験場業務報告 23: 1-10
- 高野徳明 (1949) ウルシ苗養成に関する試験. 岩手県林業試験場業務成績報告 24: 2-15
- 高野徳明 (1950) ウルシ苗養成に関する試験. 岩手県林業試験場業務報告 25: 130-158
- 田中 壤 (1887) 漆樹栽培法答. 大日本山林會報 60: 38-41
- 渡辺 章 (1955) ハゼノキのタネに水が入る場所について. ことに硫酸処理と関連して. 東京大学農学部演習林報告 48: 97-102
- 徐 本美・徐 玉蓉 (1988) 漆樹種子休眠と萌発の研究. *植物生理学通説* 1988(2): 42-45
- 山本勝巳 (2008) 漆百科. 丸善出版
- 米山弘一・米山香織 (2009) 発芽と土壤中化学物質. (発芽生物学 種子発芽の生理・生態・分子機構. 種生物学会編, 文一総合出版). 105-122