

# 生徒の理科 Seitonorika

生徒理科研究のための査読有り自由閲覧電子論文誌

一般社団法人 生徒の理科研究所 https://seitonorika.jp hensyubu@seitonorika.jp



(シニア論文)

# 市販レタス種子(Lactuca sativa L.) は光発芽種子ではない

### 辻村秀信

生徒の理科研究所 623-0342 京都府綾部市金河内町奥地22番地 責任著者: 辻村秀信、tsujmr@seitonorika.jp、生徒の理科研究所

要旨: 市販レタス種子 (Lactuca sativa L.) の発芽様式に及ぼす温度の影響を調べた。その結果、①グランドラピット品種の種子は典型的な光発芽種子ではなく、温度により発芽様式を変える種子であることが分かった。すなわち、②生育適温を含む 23℃以下では明暗両条件下で発芽する非光感受性種子の性質を示した。③生育適温を超える中高温では暗条件における発芽率が低下し、28℃~30℃では明条件でのみ発芽する光発芽種子の性質を示した。④高温の 33℃以上では明条件における発芽率も低下し、ほとんどの種子が非発芽種子の性質を示した。⑤この結果を同品種の自家採種種子の既報データと比較した結果、両者は同様の発芽様式変化を示すことが分かった。⑥他の6品種を調べた結果、すべてが生育適温の 20℃では光発芽せず、非光感受性発芽をした。市販種子は生徒による発芽研究のよい研究材料となるだろう。

**類別:**シニア論文、**分野:生物、キーワード:**市販種子、温度、光発芽、レタス

### はじめに

植物の種子発芽は種子中の胚が種皮を破って外部へ脱出し、芽生えの確立をめざして幼根や胚軸を伸ばす成長の最初のステップである(テイツほか,2017)。

種子が発芽するには、水、酸素(空気)、温度(生育適温)の3条件(発芽の3要素)が共通して必要である(石浦・鎌田ほか,2021;毛利・大島ほか,2021;村松・石田,2021;霜田・森本ほか,2021;養老・角屋ほか,2021;嶋田ほか,2017;平沢・大杉,2016;テイツほか,2017;日本種苗協会,2017)。しかし、種子によってはこれら3条件がそろっても発芽しない場合があり、この状態を休眠という(平沢・大杉,2016;嶋田ほか,2017;テイツほか,2017;日本種苗協会,2017,

2018)。休眠中の種子が発芽を開始(休眠解除または休眠打破)するには、発芽の3要素の他に別の条件が必要であり、この条件には光・温度体験・成熟後の時間・物理化学的損傷・阻害物質の除去・化学物質などがある(嶋田ほか,2017;平沢・大杉,2016;テイツほか,2017;日本種苗協会,2017,2018)。発芽温度・休眠中か否か・休眠解除に必要な条件は種子の種類と状態に固有のもので、これをここでは発芽様式とよぶ。

種子発芽に必要な光条件は植物により異なる。 発芽におよぼす光の影響の違いで種子は3タイプ に分けられる(平沢・大杉,2016;日本種苗協会, 2017,2018)。光の影響を受けない非光感受性(中 間性)種子、光で発芽が促進される光発芽(好光 性)種子、光で発芽が抑制される暗発芽(嫌光性) 種子である。種子にはこの他に光条件にかかわら ず発芽しない種子(ここでは非発芽種子と呼ぶ)が存在する(日本種苗協会, 2018)。

野菜の多くの種子は成熟後に自然に休眠に入り 乾燥する(一次休眠)(テイツほか,2017;日本 種苗協会,2017,2018)。この時、種をまいても 発芽しない。しかし乾燥状態で2~3カ月間する と休眠が解除され発芽するようになる。ところが 休眠解除された種子が発芽に不利な状態におかれ ると再び休眠に入り発芽しなくなることがある (二次休眠)(テイツほか,2017;日本種苗協会, 2017,2018)。

レタス種子は発芽に光を必要とする代表的な光 発芽(好光性)種子であり、光があるときのみ発 芽するとされる(浅島ほか,2017;本川・谷本ほか,2017;嶋田ほか,2017;庄野・戸塚ほか, 2017; 吉利ほか,2017;テイツほか,2017;日本 種苗協会,2017,2018)。光の有効波長は赤色光 (R)であり、遠赤色光(FR)はその効果を打ち 消す。この好光性は固定的なものではなく、温度 が高くなるほど強まる(日本種苗協会,2018)。

上に述べたレタス種子のデータは研究者自身が 栽培・採種した種子(以下、自家採種種子とよ ぶ)を用いた研究データである。しかし、一般の 農業生産や家庭菜園では自家採種種子を用いるこ とはほとんどない。多くの場合種苗会社が販売す る種子を用いる。ところが種苗会社が販売用種子 をどのように生産・処理・保存しているのかは一 般には明らかではない。栽培の手間がかからない 市販種子は生徒理科研究のためのよい研究材料と なる可能性がある。そこで本研究では、市販レタ ス種子をもちいて温度変化に応じた発芽様式の違いをしらべて、自家採種種子のデータ(Suzuki ほ か,1980; Suzuki,1989)と比較し、市販種子の 研究材料としての可能性を検討した。

その結果、市販種子・自家採種種子の違いによらず、レタス種子(Lactuca sativa L.;品種:グランドラピット)は典型的な光発芽種子ではなく、温度により発芽様式を変える種子であることが分かった。すなわち、生育適温を含む  $23^{\circ}$  C以下では非光感受性発芽を行い、生育適温を超える中高温の  $28^{\circ}$   $23^{\circ}$  でのみ光発芽した。他のレタス 6 品種を調べた結果、すべてが生育適温の  $20^{\circ}$  では光発芽せず、非光感受性発芽を行った。

本研究と同様の研究は2021年8月16日の時点

で過去の生徒理科研究(生徒理科研究のためのチェック・引用必須情報 https://seitonorika.jp/journaltop/toko/)や、小学から高校までの理科教科書と主要参考書、本論文に引用した文献中にはない。市販種子は生徒理科研究のためのよい研究材料となるにちがいない。

#### 材料と方法

この節は今後の生徒理科研究のために一般論文には不要な程に詳しく説明した。

### 種子とその保存方法

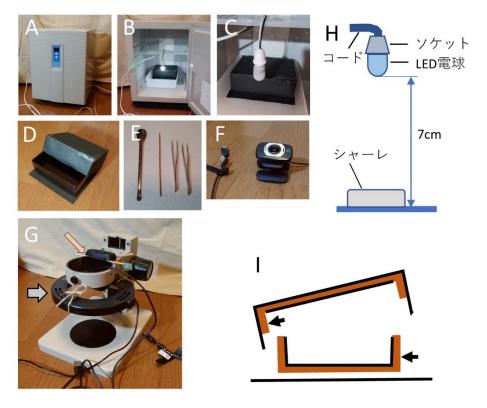
ほとんどの実験(結果の第1節から第4節まで) には市販レタス種子 (Lactuca sativa L.; 品種: グランドラピット、商品名:リーフレタスグリー ン、㈱サカタのタネ、有効期限 2021 年 10 月末日) を用いた。1個の種子袋を2020年12月に開封し、 開封したまま室内 (16℃から 22℃) に保管して 2021年1月初旬から5月初旬までの期間、実験に 用いた。結果の第5節の実験には、グランドラピ ット(リーフレタスグリーン、㈱サカタのタネ)の 他にレタス種子6品種を用いた。すなわち、グリ ーンウエーブ (リーフレタス、㈱タキイ種苗)、レ ッドウエーブ (サニーレタス、㈱サカタのタネ)、 レッドファイヤー(リーフレタス、㈱タキイ種苗)、 フリフリッカー(耐病大玉レタス、㈱サカタのタ ネ)、シスコ (レタス、㈱タキイ種苗)、チマサンチ ュ (かきレタス、㈱アタリヤ農園) である。これら 品種は 2021 年 10 月に種子袋を開封し、ただちに 実験に用いた。

### 温度調節

発芽実験における温度調節には低温恒温器 (クールインキュベータ CN-25C; 三菱電機エンジニアリング)(図 1A)を用いた。少なくとも実験開始 3時間前に実験温度に設定したうえで実験に用いた。

#### 明暗条件の設定

光照明装置として発熱の少ない LED 電球 (ナツメ球 100V 0.2W; オーム電機) を電源コードにつないだナツメ球ソケット(プラソケット E12 用 HS-



#### 図1 発芽実験に使用する器具

A: 小型低温恒温器。 B: 恒温器の内部。 C: LED 電球と暗箱の配置。 D: 暗箱。 E: 薬さじ(左)・竹串(中)・ピンセット(右)。 F: web カメラ。 G: 自作の写真撮影装置 実態顕微鏡の鏡柱に LED リングライト(太矢印)と web カメラ(細矢印)をつける。 H: LED 電球の高さ。 LED 電球の先端から基板までの距離は 7cm。 I: 暗箱の構造 菓子箱のフタ箱と下箱(茶太線)、黒色の画用紙(黒線)、箱表面(黒矢印)に黒マジックインクを塗る。

L12KPS/w オーム電機)にとりつけて用いた(図1B,C)。明条件は、LED 電球の先端から実験シャーレを置く基板までの距離が7cmになる位置にLED電球を設置して連続光照射した場合とした(図1H)。暗条件は暗箱に実験シャーレを入れ外部からの光を遮断した場合とした(図1C)。

暗箱は適当な大きさの紙の菓子箱(貼り箱、かぶせ式、100 x 130 x 50mm)を加工して作成した(図1D)。レタス種子は微弱な光でも反応する(テイツほか,2017)ので、光の透過・侵入を防ぐために下箱は黒色画用紙で内側を覆った(図1I)。フタ箱は外側を黒色画用紙で深く覆い、内側には黒色画用紙を張った。また、フタ箱と下箱の隙間を光が回り込まないように下箱の外側面とフタ箱の内側面は黒色マジックで黒色に塗った。さらに暗箱の下には黒色画用紙を敷いた(図1D,I)。

#### 発芽実験の方法

発芽実験においては、シャーレにろ紙を 2 枚敷き、精製水をろ紙表面にひたひたになる量 (1m1) だけ入れて前もって低温恒温器内に 2 時間以上置いた。実験開始時に再度水量を確認して必要なら追加し、ろ紙上に 20 粒のレタス種子を置き、シャーレのフタをして明条件あるいは暗条件で 2 日間または 4 日間、低温恒温器中に置いて吸水・発生させた。シャーレは身の外径 46mm、身の高さ 17mmのガラスシャーレである。ろ紙は No. 2 ろ紙(㈱ Advantec 東洋)をシャーレの身の内径に合わせて円形に切ったものを用いた。精製水は高純度精製水紫外線殺菌処理(㈱サンエイ化学)を用いた。レタス種子は少量を種子袋から乾燥した小容器に薬さじで移して広げ、頭を水で濡らした竹串にくっ

つけてシャーレ中の水を含むろ紙上に移した(図 1E)。乾燥状態の維持のため一度種子袋から出した 種子は余っても種子袋に戻さなかった。実験中は 水を入れたコップを庫内に置き、低温恒温器内の 乾燥を防いだ。

#### 結果の調査と写真撮影

吸水開始後2日間または4日間のシャーレからピンセット(K-3GG, KFI)(図1E)で(発芽)種子を取り出して黒画用紙上に並べ、発芽種子と不発芽種子を計数するとともに写真撮影を行い記録した。発芽は種皮からの幼根の露出により定義される。幼根の突起が明瞭でない場合は虫眼鏡を用いて発芽の有無を確認した。種皮を破って幼根が少しでも伸びているものを発芽種子とし、何も起こっていない種子を不発芽とした。種皮が破れるだけのもの、あるいは少し伸長するが種皮が破れていないものは不発芽とした。

写真撮影には実体顕微鏡の鏡柱に Web カメラとリングライトを取り付けた自作の撮影装置をもちいた (図 1G)。 Web カメラ (C615n, HD1080p, Logicool) (図 1F) をコンピュータに接続し、撮影ソフト (「カメラ」,(㈱マイクロソフト) と web カメラ調整ソフト (WebCamSetting) を用いてピント、明るさ、コントラストを手動操作した。照明にはリングライト(6 インチ LED RING LIGHT, ETSUMI)で昼光色を照射した (図 1G)。

#### 統計処理

実験結果の統計解析には、合計サンプル数が少なく(40個未満がある)、観察度数 10個未満があるという理由からフィッシャーの正確確率検定の多重比較法を用いた(嶋田・阿部,2017)。統計ソフトは無料ソフトの R を用いた。R は CRAN サイトhttps://cran.ism.ac.jp/からダウンロードした。実験データは、RVAideMemoire パッケージにあるフィッシャーの正確確率検定多重比較法の holm 法、hochberg 法、BH 法(fdr) で解析した(Asset Management Consulting, ホームページ; 大阪大学腎臓内科,ホームページ)。ソフトの使用方法は嶋田・阿部(2017)および「高知の田舎で耕すデータサイエンス農家のブログ」(ホームページ)を参考にした。上記3つの方法で多重比較を行った結果、有意水準を0.05としたときに有意差ありと判

定される場合が holm 法と hochberg 法では同じであったが、BH 法(fdr)ではより多かった。そこで本論文では有意差の検出されやすい BH 法(fdr)による多重比較をもとに結果を記述した。

#### 図表の作成

撮影した写真は無料の画像処理ソフト GIMP を 用いて整形した。表とグラフは Excel (㈱マイクロ ソフト) を用いて描いた。写真や表はすべて Powerpoint (㈱マイクロソフト)に張り付けて最終 的な図表として仕上げた。

#### 結果

#### 1. 生育適温における発芽様式

まず市販レタス種子が休眠しているか否か知る ために、レタスの生育適温 (15℃~20℃) (日本種 苗協会, 2018) における発芽状況を調べた。休眠 とは発芽の3要素である生育適温、水、空気(酸 素) が与えられても発芽しない状態である(平沢・ 大杉, 2016; 嶋田ほか, 2017; テイツほか, 2017; 日本種苗協会, 2017, 2018)。レタス種子は休眠す ることがあり、その休眠は光により解除されるこ とが知られている (Suzuki ほか, 1980; Suzuki, 1989; 日本種苗協会, 2017, 2018)。すなわち、レ タスの非休眠種子は生育適温下で明条件でも暗条 件でも発芽するが、休眠種子は明条件では発芽す るが暗条件では発芽しないはずである。そこで本 研究では市販レタス種子(グランドラピット品種) を 15℃と 20℃において明条件あるいは暗条件下 で水を含むろ紙上に置いて吸水させ、2 日後に種 子の発芽状況を調べた。その結果、15℃および20℃ の両方の温度下で、明条件でも暗条件でもほとん どの種子が発芽した (発芽率 0.93~1.00) (図 2A, B, C, D, E; 図 6)。発芽種子数と不発芽種子数の 統計解析の結果、15℃明、15℃暗、20℃明、20℃暗 の条件下における発芽率に有意差はなかった(図 2Ea, b, c, d)。以上の結果から市販レタス種子は休 眠しておらず、生育適温下では明条件でも暗条件 でもほとんどの種子が発芽する、すなわち、非光 感受性種子の性質をもつことが分かった。なお、 20℃において発芽した種子は15℃で発芽した種子









E 生育適温における発芽様式(2日後)							
記号	温度光日数	発芽	不発芽	合計	発芽率	有意差	
а	15°C明2日	20	0	20	1.00	_	
b	15°C暗2日	20	0	20	1.00	_	
С	20°C明2日	37	3	40	0.93	_	
d	20°C暗2日	37	3	40	0.93	_	

#### 図2 生育適温における発芽様式

A:15℃明2日後。20個で発芽。B:15℃暗2日後。20個で発芽。C:20℃明2日後。19個で発芽。幼根は15℃より大きい。\*:不発芽種子。D:20℃暗2日後。19個で発芽。幼根は15℃より大きい。\*:不発芽種子。E:生育適温における発芽率。有意差:その実験区と有意差のある他実験区を記号で示した。フィッシャーの正確確率検定を用いて holm 法、hochberg 法、BH 法(fdr)による多重比較を行った。記号:各実験区に割り当てた記号。 有意水準:0.05。abcdのすべての実験区について他実験区との有意差はなかった。

より幼根と胚軸の伸長が大きかった(図 2A, B, C, D)。

#### 2. 低温における発芽様式

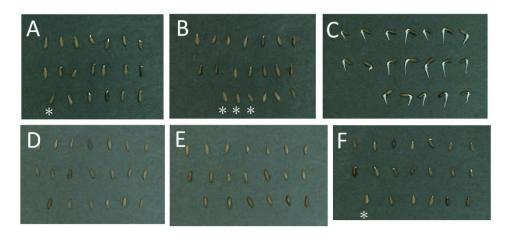
次に、生育適温より低温における発芽様式を調 べた。まず10℃2日後における発芽状況を生育適 温である15℃のものと比較した。10℃では明暗両 条件において多くの種子が発芽し(発芽率:明0.95、 暗 0.85)、15℃における発芽率との間に有意差は なかった (図 3A, B; 図 3Gc, d; 図 6)。発芽種子の 幼根の伸長は15℃と比べて著しく小さく、虫眼鏡 でようやく確認できる程度であった(図3A,B)。幼 根の小ささは低温による成長速度の遅さによる可 能性がある。そこで、成長期間を延長し吸水開始4 日後の発芽状況を調べた。その結果、明暗両条件 ともすべての種子が発芽し(発芽率 1.00), 幼根は 大きく成長した(図3C; 図3Gi,j)。したがって、 10℃では明暗両条件下でほとんどの種子が発芽し 発芽率に15℃との有意差はないこと、しかし発芽 における幼根の成長速度は15℃より遅いことが明 らかになった。

次に 5<sup> $\circ$ </sup> 2 日後における発芽状況を調べた。5<sup> $\circ$ </sup>

下では明暗両条件においてすべての種子が不発芽 で発芽率は 0.00 であった (10℃および 15℃と有 意差あり) (図 3D, E, 図 3Ga, b; 図 6)。10℃にお ける幼根が15℃より小さかった結果を考慮すると、 5℃における不発芽の原因は低温による成長速度 の遅さにある可能性がある。そこで吸水開始4日 後の発芽状況を調べた。その結果、明条件でほと んどの種子が発芽し(発芽率 0.95)、発芽率は 10℃ や15℃の明条件2日後の場合と有意差がなかった (図 3Gg)。また暗条件でも半数の種子が発芽し(発 芽率 0.50)、5℃暗条件 2 日後と比較して明らかな 発芽率の増加(有意差あり)が認められた(図 3Gh)。 しかしいずれの場合にも発芽種子の幼根の伸長は 小さかった(図3F)。この結果は、5℃における不 発芽の原因は低温による成長速度の遅さにあるこ とを示す。

#### 3. 中高温および高温における発芽様式

つぎに生育適温より高い中高温 (25  $\mathbb{C}$  以上) および高温 (35  $\mathbb{C}$  以上) における発芽様式を調べた。まず、25  $\mathbb{C}$  、30  $\mathbb{C}$  、35  $\mathbb{C}$  2 日後における発芽状況



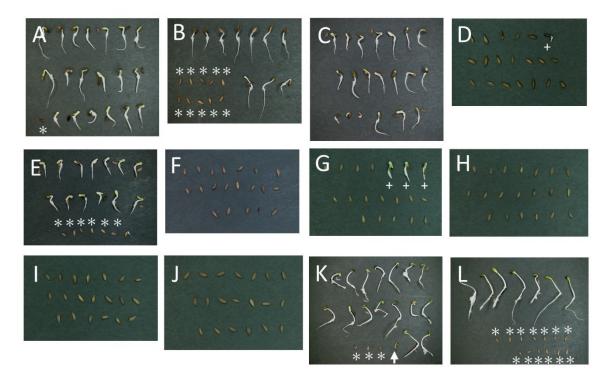
G 低温における発芽率(2日後4日後)							
記号	温度光日数	発芽	不発芽	合計	発芽率	有意差	
а	5°C明2日	0	20	20	0.00	cdefghij	
b	5°C暗2日	0	20	20	0.00	cdefghij	
С	10°C明2日	19	1	20	0.95	ab <mark>h</mark>	
d	10°C暗2日	17	3	20	0.85	ab	
е	15°C明2日	20	0	20	1.00	abh	
f	15°C暗2日	20	0	20	1.00	abh	
g	5°C明4日	19	1	20	0.95	abh	
h	5°C暗4日	10	10	20	0.50	ab <mark>c</mark> ef <b>g</b> ij	
i	10°C明4日	20	0	20	1.00	abh	
j	10°C暗4日	19	0	19	1.00	abh	

#### 図3 低温における発芽様式

A: 10<sup>°</sup>C明 2 日後。19 個で発芽したが幼根は 15<sup>°</sup>C明暗より小さかった。\*: 不発芽種子。B: 10<sup>°</sup>C 暗 2 日後。17 個で発芽したが幼根は 15<sup>°</sup>C明暗より小さかった。\*: 不発芽種子。C: 10<sup>°</sup>C暗 4 日後。すべての種子が発芽した。幼根がよく伸長した。D: 5<sup>°</sup>C明 2 日後。すべての種子が不発芽。E: 5<sup>°</sup>C暗 2 日後。すべての種子が不発芽。F: 5<sup>°</sup>C明 4 日後。19 個で発芽したが幼根は小さかった。\*: 不発芽種子。G: 低温における発芽率。有意差: その実験区と有意差のある他実験区を記号で示した。フィッシャーの正確確率検定を用いて 100 holm 法、100 hochberg 法、100 holm 法、100 hochberg 法、100 holm 是 100 h

を生育適温である 20  $\mathbb{C}$  の場合と比較した。 25  $\mathbb{C}$  においては明条件ではほとんどの種子が発芽したが(発芽率 0.98、20  $\mathbb{C}$  の明暗両条件と有意差なし)、暗条件では約半数しか発芽しなかった(発芽率 0.47、25  $\mathbb{C}$  の明条件および 20  $\mathbb{C}$  の暗条件と有意差あり)(図 4A, B; 図 5e, f; 図 6)。 30  $\mathbb{C}$  では明条件

においても少数の種子が発芽せず(発芽率 0.70、25℃明条件と有意差あり)、暗条件ではすべての種子が発芽しなかった(発芽率 0.00、30℃明条件および25℃暗条件と有意差あり)(図 4E,F;図 5i,j;図 6)。そして35℃では明暗両条件において発芽する種子はなかった(発芽率 0.00)(図 4I,J;図



#### 図4 中高温および高温における発芽様式(写真)

A: 25℃明 2 日後。19 個が発芽。\*: 不発芽種子。B: 25℃暗 2 日後。10 個が発芽。\*: 不発芽種子。C: 28℃明 2 日後。D: 28℃暗 2 日後。1 個が発芽。+: 発芽種子。E: 30℃明 2 日後。14 個が発芽。\*: 不発芽。F: 30℃暗 2 日後。G: 33℃明 2 日後。3 個が発芽。+: 発芽種子。H: 33℃暗 2 日後。I: 35℃明 2 日後。J: 35℃暗 2 日後。 K: 30℃明 4 日後。17 個が発芽。\*: 不発芽。1 個の幼根は小くて形態異常を示す(矢印)。 L: 33℃明 4 日後。7 個が発芽。\*: 不発芽。

5m, n; 図 6)。以上の結果から暗条件では 25  $\mathbb{C}$  以上で発芽率が低下し 30  $\mathbb{C}$  以上で不発芽となること、明条件では 30  $\mathbb{C}$  以上で発芽率が低下し、35  $\mathbb{C}$  では不発芽となることが分かった。結果的に、25  $\mathbb{C}$  と 30  $\mathbb{C}$  では明条件における発芽率が暗条件における発芽率より高くなった。また、25  $\mathbb{C}$  と 30  $\mathbb{C}$  における発芽種子の幼根と胚軸の伸長は明暗両条件でどの温度でも 20  $\mathbb{C}$  より大きかった(図 4A, B, E)。この事実は中高温および高温における発芽率の低下は成長速度の低下によるものではないことを示唆する。

中高温および高温における発芽率の低下がどの 温度から始まるのかをより詳細に調べるために、 23  $\mathbb{C}$ 、28  $\mathbb{C}$ 、33  $\mathbb{C}$  2 日後における発芽状況を調べ た (図 4C, D, G, H; 図 5c, d, g, h, k, 1; 図 6)。23  $\mathbb{C}$  の暗条件における発芽率は高く(発芽率 0.90) 20  $\mathbb{C}$  の暗条件と有意差はないが、25  $\mathbb{C}$  の暗条件とは有 意差があった(図 5d)。また、28  $\mathbb{C}$  の暗条件ではほとんどの種子が不発芽(発芽率 0.05)で、30  $\mathbb{C}$  の暗条件と有意差がなかった(図 4D; 図 5h)。したがって暗条件における発芽率の低下は25  $\mathbb{C}$  から生じ、28  $\mathbb{C}$  でほとんど不発芽となることが分かった。

一方、28℃の明条件ではすべての種子が発芽し、25℃の明条件と有意差はなかったが、30℃の明条件とは有意差があった(図 5g)。また、33℃では明条件における発芽率は大きく減少し(発芽率 0.10)、30℃明条件と有意差があるが 35℃明条件とは有意差がなかった(図 4G; 図 5k)。したがって明条件における発芽率の低下は 30℃から生じ、33℃ではほぼ不発芽となることが分かった。

結果的に 28℃から 30℃までの温度では明条件では多くの種子が発芽するが暗条件ではほとんどの種子が不発芽となり、光発芽種子の性質を示すことが分かった。また、33℃以上では明暗両条件

高温における発芽率(2日後4日後)							
記号	温度光日数	発芽	不発芽	合計	発芽率	有意差	
а	20°C明2日	37	3	40	0.93	fhjklmnpqrst	
b	20°C暗2日	37	3	40	0.93	fhjklmnpqrst	
С	23°C明2日	20	0	20	1.00	fh <mark>i</mark> jklmnpqrst	
d	23°C暗2日	18	2	20	0.90	<b>f</b> hjklmnprst	
е	25°C明2日	39	1	40	0.98	fh <mark>i</mark> jklmnpqrst	
f	25°C暗2日	28	32	60	0.47	abceg <mark>h</mark> jklmn <mark>o</mark> prst	
g	28°C明2日	20	0	20	1.00	fhijklmnpqrst	
h	28°C暗2日	1	19	20	0.05	abcdegio	
i	30°C明2日	14	6	20	0.70	<b>ceg</b> hjklmnprst	
j	30°C暗2日	0	20	20	0.00	abcdefgio <mark>q</mark>	
k	33°C明2日	4	35	39	0.10	abcdefgio	
- [	33°C暗2日	0	20	20	0.00	abcdefgio <mark>q</mark>	
m	35°C明2日	0	20	20	0.00	abcdefgio <mark>q</mark>	
n	35°C暗2日	0	20	20	0.00	abcdefgio <mark>q</mark>	
0	30°C明4日	17	3	20	0.85	<mark>f</mark> hjklmnp <b>q</b> rst	
р	30°C暗4日	0	20	20	0.00	abcdefgioq	
q	33°C明4日	7	13	20	0.35	abceg <mark>jlmnoprst</mark>	
r	33°C暗4日	0	20	20	0.00	abcdefgio <mark>q</mark>	
S	35°C明4日	0	20	20	0.00	abcdefgio <mark>q</mark>	
t	35°C暗4日	0	20	20	0.00	abcdefgio <b>q</b>	

# 図 5 中高温および高温における発芽様式 (発芽率)

2日後の発芽状況。フィッシャーの正確確率検定を用いて holm 法、hochberg 法、BH 法 (fdr) による多重比較を行った。記号:各実験区に割り当てた記号。 有意差:その実験区と有意差 のある他実験区を記号で示した。有意水準:0.05。黒字は holm 法、hochberg 法、BH 法 (fdr) のすべてで有意差がある実験区を示す。赤字は BH 法 (fdr) でのみ有意差が検出された実験 区を示す。

でほとんどの種子が不発芽となり、非発芽種子の 性質をしめすことが分かった。

最後に中高温および高温における発芽率の低下 や不発芽が成長速度の低下によるものではないこ とを確認するために 30  $\mathbb{C}$  、35  $\mathbb{C}$  で吸水開始 4 日後の発芽状況を調べた(図 4K,L; 図 50, p, q, r, s, t)。その結果 30  $\mathbb{C}$  、35  $\mathbb{C}$  のすべ てで、明条件暗条件ともに吸水開始 4 日後の発芽率は 2 日後の発芽率と有意差はなかった(図 5o, p, q, r, s, t)。また、発芽種子の幼根と胚軸は 20 $^{\circ}$ 2 日のものより大きかった(図 4 $^{\circ}$  $^{\circ}$  $^{\circ}$ 4、L)。この結果は高温における発芽率の低下と不発芽種子の増加は成長速度の低下によるものではないことを示す。

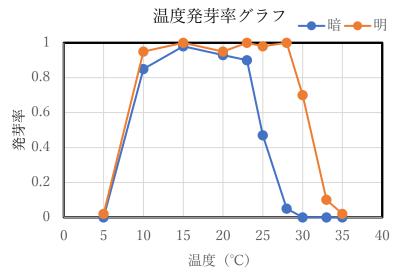


図 6 明条件および暗条件下の発芽率に対する温度の影響

# 4. 明条件および暗条件下の発芽率に対する温度 の影響

温度変化にともなう明暗両条件下の発芽率変化を俯瞰的に比較解析するためにこれまでに述べた吸水開始 2 日後のデータをもとに温度発芽率グラフを作成した(図 6)。グラフから、明暗両条件ともに温度が生育適温を超えると発芽率が低下するが、低下がおこる温度は明暗両条件で違うことがわかる。すなわち、暗条件では低温から生育適温までの範囲(10 $^{\circ}$  $^{\circ}$  $^{\circ}$ 23 $^{\circ}$  $^{\circ}$ 0)で発芽率が高く、中高温の 23 $^{\circ}$  $^{\circ}$ 2を超えると低下し、28 $^{\circ}$  $^{\circ}$ 2以上ではほとんどゼロとなる。一方、明条件では低温から中高温の範囲(10 $^{\circ}$  $^{\circ}$ 228 $^{\circ}$ 0)で発芽率は高く、30 $^{\circ}$ 2 から急速に低下し、高温の 33 $^{\circ}$ 2以上ではほとんどゼロとなる。ここから、非光感受性発芽から光発芽への発芽様式変化が、温度上昇に伴う発芽率低下と関係することが示唆される。

#### 5. 他のレタス品種の発芽様式

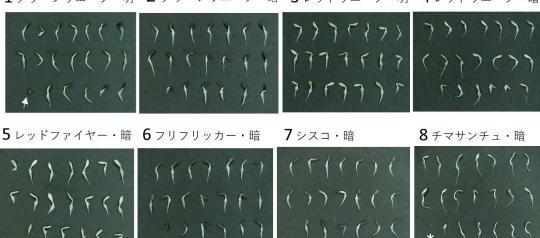
レタスにはグランドラピット以外にも形・色と 用途の異なる多くの品種がある。そこで他の6品 種について生育適温の20℃における発芽様式を 調べて、グランドラピットと比較した。グランド ラピットは緑色の葉レタスである。もう一つの緑 色葉レタス品種であるグリーンウエーブ、赤紫色 の葉レタス品種であるレッドウエーブとレッドファイヤー、結球性レタス品種であるフリフリッカーとシスコ、かきレタス品種であるチマサンチュを用いた。その結果、すべての品種においてグランドラピットと同様に20℃明暗両条件下ではほとんどの種子が発芽した(発芽率 0.95~1.00)(図7A,B)。すなわち、これらの品種もグランドラピットと同様に生育適温では光発芽せず、非光感受性発芽を行った。

#### 考察

本研究では市販レタス種子の発芽様式に及ぼす温度の影響を調べた。その結果、市販レタス種子は典型的な光発芽種子ではなく温度上昇にともない発芽様式を変化させる種子であることがわかった。すなわち、①市販レタスのグランドラピット品種は休眠しておらず、生育適温を含む 15℃~23℃では明暗両条件で高率に発芽し、非光感受性種子の性質を示した。②低温では温度低下に応じて成長速度は下がったが、やはり明暗両条件で高率に発芽した。③生育適温を超える中高温においては明条件では多くの種子が発芽したが暗条件では発芽率が低下し、28℃~30℃では光発芽種子の性質を示した。④高温の 33℃以上ではほとんどの種子が明条件においても発芽せず、非発芽種子の



1 グリーンウエーブ・明 2 グリーンウエーブ・暗 3 レッドウエーブ・明 4 レッドウエーブ・暗



В

記号	品種	条件	発芽	不発芽	合計	発芽率	有意差
а	グランドラピット	20°C明	20	0	20	1.00	_
b	グランドラピット	20°C暗	19	1	20	0.95	_
С	グリーンウエーブ	20°C明	20	0	20	1.00	_
d	グリーンウエーブ	20°C暗	20	0	20	1.00	_
е	レッドウエーブ	20°C明	21	0	21	1.00	,—
f	レッドウエーブ	20°C暗	20	0	20	1.00	-
g	レッドファイヤー	20°C明	20	0	20	1.00	_
h	レッドファイヤー	20°C暗	19	1	20	0.95	_
i	フリフリッカー	20°C明	19	1	20	0.95	_
j	フリフリッカー	20°C暗	19	1	20	0.95	-
k	シスコ	20°C明	19	1	20	0.95	_
1	シスコ	20°C暗	20	0	20	1.00	_
m	チマサンチュ	20°C明	19	1	20	0.95	-
n	チマサンチュ	20°C暗	19	1	20	0.95	_

# 図7様々な品種の20℃における発芽様式

A:様々な品種の 20℃における発芽状況(写真)。1: グリーンウエーブ・20℃・明。矢印:発芽種子、幼根の伸長が短い。2: グリーンウエーブ・20℃・暗。3: レッドウエーブ・20℃・明。4::レッドウエーブ・20℃・暗。5: レッドファイヤー・20℃・暗。+:不発芽種子、異常伸長。6: フリフリッカー・20℃・暗。\*:不発芽。7: シスコ・20℃・暗。8: チマサンチュ・20℃・暗。

B:様々な品種の20℃における発芽率。グランドラピッドとグリーンウエーブ:緑色の葉レタス。レッドウエーブとレッドファイヤー:赤紫色の葉レタス。フリフリッカーとシスコ:玉レタス。チマサンチュ:かきレタス。有意差:その実験区と有意差のある他実験区を記号で示す。フィッシャーの正確確率検定を用いて holm 法、hochberg 法、 BH 法 (fdr) による多重比較を行った。記号:各実験区に割り当てた記号。有意水準:0.05。すべての実験区間で有意差はなかった。

性質を示した。⑤他のレタス 6 品種も成育適温の 20℃では非光感受性種子の性質を示した。

# 自家採種したレタス種子は市販種子と同様に温度 により異なる発芽様式を示す

市販種子の示す性質は種苗会社による採種後の処理が明らかではないため必ずしも自家採種した種子と同じだとみなすことはできない。Suzuki ほか (1980)と Suzuki (1989)には、本研究とおなじレタス品種グランドラピットの自家採種種子をもちいて暗条件と R (赤色光) 照射条件下で行った発芽実験のデータが報告されている。そこでこの報告をもとに自家採種種子の発芽様式を推定し、市販種子を用いた本研究結果と比較した。

Suzuki ほか (1980) および Suzuki (1989) によると、自家採種種子では採種直後から 48 ケ月まではほとんどの種子が生育適温の 15℃と 20℃で明暗両条件において高率に発芽し、両条件における発芽率の差が拡大するのは採種 60 ケ月以後であった。したがって自己採取種子は採種後 48 ケ月までは休眠しておらず、非光感受性種子の性質を持つ。

25℃では採種直後(または採取直後から6ヶ月後まで)と48ヶ月後から66カ月後までの期間、30℃では採種後6ヶ月から48ヶ月までの期間、暗条件での発芽率が明条件での発芽率より低かった(Suzuki ほか,1980; Suzuki,1989)。したがって、自家採種種子は中高温の25℃と30℃で光発芽種子の性質を持つ。

35℃における自家採種種子の発芽率は調べられていない(Suzuki ほか, 1980; Suzuki, 1989)。しかしSuzuki ほか(1980)は30℃で採種後0~6カ月の期間、明暗両条件において低発芽率あるいは不発芽となるとし、Suzuki(1989)は30℃で採種直後と採種後48ケ月から66ケ月までの期間、低発芽率あるいは不発芽となるとしている。したがって自家採種種子は35℃では非発芽種子である可能性が高い。

以上からレタス品種グランドラピットの自家採種種子は、生育適温および低温では非光感受性種子、中高温では光発芽種子、高温では非発芽種子の性質を示すことがわかる。この結果から市販レタス種子と自家採種種子とはどちらも温度上昇に

ともない、同様の発芽様式変化を起こすことがわ かった。

#### レタスは典型的な光発芽種子ではない

従来、レタスは代表的光発芽(好光性)種子とし て専門書や理科教科書で取り上げられてきた(浅 島ほか,2017;本川・谷本ほか,2017;嶋田ほか, 2017; 庄野・戸塚ほか, 2017; 吉利ほか, 2017; 平沢・大杉, 2017; テイツほか, 2017; 日本種苗 協会, 2017, 2018)。しかし、本研究や Suzuki ほ か (1980)、Suzuki (1089)にあるように、レタス 品種グランドラピットは生育適温を含む23℃以下 では発芽に光を必要とせず、明暗両条件で発芽す る非光感受性種子の性質を示した。光発芽種子の 性質を示すのは中高温の 28℃から 30℃において だけである。光発芽種子とは「光により発芽が促 進される種子」(日本種苗協会、2017, 2018)、あ るいは「光を照射しないと発芽しない種子」「発芽 に光を必要とする種子」(平沢・大杉、2017;日本 種苗協会、2017; テイツほか、2017) と定義され る。この定義に従えば、グランドラピットの発芽 様式は固定的なものではなく温度により変化する ことがわかる。すなわち、生育適温を含む低温・中 温の広い温度範囲では非光感受性発芽を行い、生 育適温を超える中高温でのみ光発芽を行う。

本研究ではグランドラピット以外の 6 品種も生育適温の 20℃では非光感受性発芽を行い、光発芽をしなかった。この結果から、温度変化にともなう発芽様式変化はレタス種子一般の特徴である可能性が高い。この可能性は日本種苗協会 (2018) からも支持される。すなわち、レタス種子は「高温下ほど好光性が強い」と述べ、低温や中温における好光性の弱さを示唆している。様々なレタス品種の中高温における発芽様式の比較研究が期待される。

# 中高温における光発芽と高温における非発芽は今 後の研究課題

中高温における光発芽の出現には、理論的には 二通りのしくみが考えられる。光発芽機能が強ま る場合と、非光感受性発芽機能が弱まる場合であ る。本研究により発芽様式の変化は温度上昇によ る発芽機能の低下と関係することが示唆された。 すなわち、23℃以下では非光感受性発芽を行う が、23℃を超える中高温では暗条件における発芽 率が低下し28℃と30℃では光発芽した。そし て、30℃を超えると明条件における発芽率が低下 し33℃以上の高温では非発芽となった。この事 実は、中高温における光発芽様式への変化は非光 感受性発芽機能の低下・喪失による可能性を示し ている。また、高温における非発芽への変化は光 発芽機能の低下・喪失による可能性を示し でいる。また、高温における非発芽への変化は光 発芽機能の低下・喪失による可能性を示している。

日本種苗協会 (2017, 2018) はレタスは好光性種子であり、キク科の野菜として一次休眠するとしている。しかし、本研究および Suzuki ほか (1980)、Suzuki (1989) にあるように、採種以後の時期で好光性をしめすのは中高温においてだけであって生育適温では発芽に光を必要としない。すなわち、この好光性は休眠を意味するものではない。今後の検討が必要である。

また、日本種苗協会 (2017, 2018) はレタスは高温では二次休眠し発芽率が低下するとしている。本研究および Suzuki ほか (1980)、Suzuki (1989) においても 30℃または 35℃以上では明条件における発芽率が低下し非発芽となった。しかしこの非発芽状態がはたして休眠なのかそれとも休眠以外の何かなのかは今後の研究課題である。

# レタスにおける光発芽の適応的意義には疑問があ る

上述のようにレタス品種グランドラピットは中高温で光発芽をおこなう。この光発芽にはフィトクロムがはたらいており、R (赤色光)で促進され、FR (遠赤色光)でその効果がキャンセルされる(浅島ほか,2017;本川・谷本ほか,2017;嶋田ほか,2017;庄野・戸塚ほか,2017;吉利ほか,2017;Suzukiほか,1980;Suzuki,1989;鈴木ほか,2016;長野ほか,2016;テイツほか,2017;日本種苗協会,2017,2018)。光発芽の適応的意義は、種子が土壌中あるいは他植物の葉陰にあるとさの発芽抑制と、日の当たる場所での発芽促進にあるとされている。しかし、この説明はただちにレタス種子に当てはまるものではない。光がなぜ生育適温や低温では不要であり、中高温でのみ必

要なかの説明がないからである。

考えてみれば今回用いた品種は栽培植物であり 圃場で栽培されるので光に対する反応は不要であ る。むしろどんな光条件下でも発芽率が高い方が よい。市販レタスの発芽様式はこうした環境に適 応した結果なのかもしれない。すなわち、「レタス は野生ではどの温度でも光発芽する特性をもって いたが、発芽率の向上を求める人間の育種・選抜 により、生育適温および低温における非光感受性 発芽機能が強められた。しかし、生育に不適切な 高温においては発芽率の向上は育種・選抜の対象 とされなかったので、今日では中高温でのみ光発 芽種子の性質を示す」という仮説が可能である。 実際、グランドラピット以外のレタス 6 品種でも 生育適温では光発芽を行わず、非光感受性発芽を した。レタスの野生種や近縁種を用いた今後の比 較研究が期待される。

# 生徒理科研究のための関連テーマの提案

本論文では市販レタス種子が自家採種種子と同様に温度により異なる発芽様式を示すことを明らかにした。この結果は、市販種子をもちいた発芽研究の大きな可能性を示す。本論文では実験方法や結果のまとめ方を一般の研究論文では過剰なほどに詳細に説明した。これを参考に市販種子をもちいた多くの生徒理科研究を期待したい。

農業試験場や種苗会社は広範な種子の発芽試験 を行なっている。日本種苗協会(2017, 2018)に は一次休眠および二次休眠をする多くの野菜種子 が紹介されている。この中にはレタスと同様に低 温でよく発芽する「光発芽種子」や逆に高温でよ く発芽する光発芽種子が紹介されている。これら の種子はレタス種子と同様に温度依存的に発芽様 式の変化を示すのだろうか。また、光で発芽が抑 制される暗発芽(嫌光性)種子があり、カボチャや スイカの種子は低温ほど嫌光性をつよめるという (日本種苗協会, 2018)。これらの種子は温度によ り発芽様式を変化させるのだろうか。さらに日本 種苗協会 (2018) には 150 種を超えるさまざまな 野菜・草花・牧草の種子について発芽試験結果と 栽培方法がまとめられている。ここには花芽形成 が日長により決まるもの、温度により決まるもの、 植物体の栄養状態により決まるものが紹介されて いる。花芽形成機構の違いは種子発芽様式の違い と関係があるのだろうか。

市販種子の入手は容易である。ホームセンターに行けばさまざまな野菜・草花の種子が手に入る。ネットを利用すれば日本の主要な種苗会社(タキイ種苗、サカタのタネ、カネコ種苗、アタリヤ農園、その他)の種子を入手できる。菓子・食品材料店(富澤商店や大型スーパー)では豆類、穀類の種子が手に入る。

## 謝辞

研究を行うにあたり、京都大学の長谷あきら教授にはテイツほか(2017)に書かれたフィトクロム 反応についてご教示いただいた。また、農研機構 遺伝資源センターの小柳千栄氏には発芽試験方法 の資料をご紹介いただいた。

#### 研究費補助金

研究費補助金は受けていない。

#### 利益相反

利益相反はない。

#### 引用文献

浅島誠 他 20 名 (2017): 生物 高校教科書、東京書籍。

Asset Management Consulting (ホームページ): R 言語 | 統計的検定の種類と選択、 Science and Engineering Café、

https://saecanet.com/content/statisticaltest 01.html#anova01unpaired, 2021/07/08。

平沢正・大杉立 (2016): 作物 生産生理学の基礎、 農文協。

石浦章一・鎌田正裕 他 105 名 (2021): わくわく 理科 5 小学理科教科書、 啓林館。

高知の田舎で耕すデータサイエンス農家のブログ (ホームページ): Rでフィッシャー正確確率検 定をしさらに多重比較を行う方法、 https://www.xtraetc.xyz/entry/fisher\_exact\_test\_muticomp\_1, 2021/08/11.

大阪大学腎臓内科 (ホームページ): 多重比較、Clinical Journal Club、

https://www.med.osaka-

u. ac. jp/pub/kid/clinicaljournalclub1.html 、 2021/07/08。

本川達雄・谷本英一 他 16 名 (2017): 生物 高 校教科書、啓林館。

毛利衛・大島まり 他 100 名 (2021): 新しい理科 5 小学理科教科書、東京書籍。

村松久和・石田周治(2021):楽しい理科 5 小学 理科教科書、信州教育出版。

長野敬・牛木辰男 他 10 名 (2016): サイエンス ビュー生物総合資料三訂版、実教出版。

日本種苗協会(2017): タネ・苗のきほん、誠文堂 新光社。

日本種苗協会 (2018):新・種苗読本、農文協。 嶋田正和 他 21 名 (2017):生物 高校教科書、 数研出版。

霜田光一・森本信也 他44名(2021):みんなと 学ぶ小学校理科5、小学理科教科書、学校図書。 鈴木孝仁 他6名(2016):三訂版フォトサイエン ス生物図録、数研出版。

Y. Suzuki (1989): Influence of aging on photoand thermo-control of seed germination in Grand Rapids Lettuce (*Lactuca sativa L.*), Environ. Control in Biol. 27(4): 125-136.

Y. Suzuki, Y. Soejima & T. Matsui (1980): Inffuence of ager-riping on phytochrome control of seed germination in two varieties of lettuce (*Lactuca sativa L.*), Plant Physio. 66: 1200-1201.

庄野邦彦・戸塚雄弐 他 12 名 (2017): 生物 高校教科書、実教出版。

L. テイツ・E. ザイガー・I. M. モーラー・A. マーフィー (2017): 植物生理学・発生学 原著第6版、西谷和彦・島崎研一郎 (監訳)、講談社サイエンティフィック。

吉利勝利 他 16 名 (2017): 高等学校生物 高校教科書、第一学習社。

養老孟子・角屋重樹 他 32 名 (2021): 未来をひらく小学理科 5 小学理科教科書、教育出版。

# (英文)標題・著者名・要旨

Commercially available lettuce seeds (*Lacruca sativa L.*) are not photoblastic at the optimal temperature for growth.

by Hidenobu Tsujimura

Effect of temperature on the manner of germination was examined in commercially available lettuce seeds (Lactuca sativa L.). As results, 1. Seeds of a lettuce var. Grand Rapids are not typical photoblastic seeds. They germinated in different manners depending on the temperature. 2. Seeds germinated in a light-independent manner at 15℃ to 23℃ including the optimum temperature for growth. 2. At lower temperature, growth was delayed as temperature gets lower, but they germinated in a light-independent manner. 3. At moderate high temperature of  $28^{\circ}$ C to  $30^{\circ}$ C, seeds were photoblastic. The rate of germination gets lower in dark condition but most seeds germinated in light condition. 4. At temperature higher than 30°C, the rate of germination gets lower in the light condition and most seeds failed to germinate in both light and dark condition at higher than 33°C. 5. Six other lettuce variations germinated in a light-indent manner at 20°C. These results show that commercially available lettuce seeds take different manner of germination depending on temperature. Commercially available seeds will be good materials for research on seed germination by high school students.