Nobuyoshi WATANABE and Chikahiro TSUDA : Genetic Studies on the Dark-germination of Tobacco Seeds. III. Analysis of Dark-germination as Affected by High Temperature (English summary on p.404).

タバコ種子の暗発芽性の遺伝学的研究

III. 高温による暗発芽性の変化とその遺伝分析

渡部信義*・津田周彌**

(*岐阜大学農学部, 各務原市, **北海道大学農学部, 札幌市)

これまで暗発芽性品種として分類されてきた Xanthi と Zichina I を供試し, 種々の温度条件下における暗発芽率と光反応性を調査したところ, Xanthi の暗発芽性は温度によって変化し, 35°C では要光性を示した。また赤色光・遠赤色光可逆反応が認められた。この発芽特性の遺伝パラメーターを両品種の交雑試験によって推定した。Xanthi が部分優性であり, この形質の遺伝力は 0.452 であった。

緒 言

レタス (*Lactuca sativa* L.) 種子は光発芽種子として知られているが, 光に対する反応は温度条件により異っている。たとえば代表的な品種 Grand Rapids は 20°C から 25°C までの間では発芽のために光を必要とするが, 20°C 以下では光を必要とせず, 25°C では光の条件にかかわらず発芽率は低下する (BORTHWICK *et al.* 1954), また Grand Rapids からは温度反応性の異なる派生系統が得られ, この特性の遺伝することが明らかにされている (GLOBERSON *et al.* 1973, 1974)。また光発芽性を示さないとされてきた品種 New York では 35°C の高温下では光発芽性がみられる (TAKEBA and MATSUBARA 1976)。このように光発芽性か否かを分類するためには, 発芽時の温度条件が重要であることが判る。

タバコ (*Nicotiana tabacum* L.) 種子の発芽は光に依存する発芽特性 (light-requiring germination 要光性) を示すが, 明暗いずれの条件でも発芽する特性 (light-indifferent germination 以下著者らは暗発芽性と称する) を示す品種もある。この暗発芽性の遺伝は, HONING (1926, 1930), 小河原 (1957), KASPERBAUER (1968) らによって研究され, 渡部ら (1977 a, b, 1979) はこれが 2 対の劣性遺伝子に支配されると報告した。

ところが 25°C 条件下では同様の高い暗発芽率を示すオリエント種の Xanthi と Zichina I (渡部 1980) を供試して種々の温度条件と光に対する反応性を調査したところ, 35°C 条件下では Xanthi に要光性が認められ, 両品種の特性に差異があった。このことはタバコ種子発芽性の遺伝的な変異を究明する上で重要であり, 本稿ではその結果を報告する。

材料と方法

本実験には, 25°C 条件下で暗発芽性を示すオリエント種の Xanthi と Zichina I を供試した。実験に供試した種子は 1977 年の夏季に収穫した両品種とそれらの間の F₁, F₂ 及び F₃ 種子と, 1978 年夏季に収穫した F₄ 種子であり, いずれも収穫年に取り播きを行った。

発芽試験の培地は直径 5.5 cm のシャーレに 0.7% 寒天液 10 ml を注加して調製した。

発芽試験の手順は, 供試粒を相互に接し合わないよう培地に播き, その後すぐに遮光のために

アルミフイルで包み、暗黒下で処理温度においた。温度処理には恒温器を用い、処理温度の制御幅は $\pm 2^{\circ}\text{C}$ であった。

光処理に用いた赤色光は波長 660 nm に最大エネルギーを有する FL 20 RF カラー蛍光管 (National 製) 3 灯から得、遠赤色光はカラー用フラッドランプ (500 W) を光源とし、熱線を防ぐための 10 cm の水の層と 700 nm から 730 nm の波長の光のみを透過する IR-1 フィルター (NE C 製) 2 枚を透過させて得た。両種の光はいずれも照射エネルギーが約 $3\,500\text{ erg/cm}^2/\text{sec}$ となるように調整した。また照射時の光による温度への影響はなかった。

本実験は 3 種の異なる実験から成り立っている。まず実験 1 では両品種の発芽に対する温度の効果を明らかにし、実験 2 では、赤色光照明の効果の認められた温度 (35°C) 下におけるフィトクロム系の関与の有無を確認し、実験 3 では、 35°C 下の暗発芽の遺伝的な解析を行った。

Table 1. Treatments of light and temperature applied to two dark-germinating tobacco varieties, Xanthi and Zichina I (Experiment 1)

Main treatment (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40°C)	Succeeding treatment	Type of treatment
Continuous light (2 weeks)	None	A
Dark $\longrightarrow$ Red light $\longrightarrow$ Dark (1 day) (60 min.) (13 days)	None	B
Dark (2 weeks)	None	C 1
	Dark under 25°C (1 week)	C 2
	Continuous light under 25°C (1 week)	C 3

実験 1 では Table 1 に示したように、主処理として 5°C から 40°C まで 5°C 刻みに設定した温度下に 15 W 蛍光灯 (光強度 $1\,000\text{ lux}$) を 14 日照明した A 処理、各温度下に置床後 24 時間を経て 60 分間の赤色光照明を行い、再び暗所に 13 日間置いた B 処理、置床後 14 日間の連続処理した区 (C 1 処理) を設けた。このほか C 1 処理後、継続処理として 25°C 暗黒下の 7 日間処理区 (C 2 処理)、C 1 処理後 15 W 蛍光灯の連続照明 7 日間の C 3 処理を設けた。A 処理は 1 区 100 粒 2 反復、B~C 3 の 4 処理は、1 区 100 粒 3 反復とした。実験 1 は 3 回繰返しを行った。

実験 2 では、対照温度を 25°C とし、赤色光効果の認められた 35°C 下で赤色光と遠赤色光処理を行った。照明の方法は Table 3 の注) に示した。光照明時の温度 25°C とし、1 区 100 粒 3 反復で実験を行った。

実験 3 では、 35°C 下の暗発芽について遺伝解析を行った。Xanthi, Zichina I 及びそれらの F_1 種子の暗発芽率は、1 区 100 粒 5 反復とし F_2 種子は 1 000 粒を供試した。 F_3 種子は Xanthi $\times$ Zichina I では 58 の F_2 個体、Zichina I $\times$ Xanthi では 71 の F_2 個体から得た。各 F_2 個体について 500 粒 4 反復の実験を行った。 F_4 世代の種子は 35°C 下の暗発芽率が 60% 以上を示す F_2 個体 (H と示す) と 20% 以下の F_2 個体 (L と示す) からそれぞれ 5 個体を無作為に抽出して 2 系統とし、各 F_2 個体から、 F_3 を 40 個体を育成し、得られた F_4 種子の暗発芽率を求めて、遺伝力を推定した。 F_4 種子の発芽は 500 粒 4 反復とした。各世代の種子の発芽はいずれも置床後 14 日目に調査した。

なお実験 3 においては対照区として、 25°C における両品種、 F_1 , F_2 , F_3 及び F_4 の暗発芽率と調査したが、いずれも高い発芽率を示し、差異が認められなかったため結果を省略した。

結果および考察

Table 2 に実験 1 の結果を示した。A 処理の結果から、連続光下では 5°C と 40°C 区を除いて品種間はもちろん、温度の間にも発芽率の変化がなく、5°C では 25°C の継続処理によって、照明の有無に関係なく高い発芽率を示した。このことから 5°C 処理での発芽率の回復にかかわっているのは温度のみであることが判る。40°C では温度、光のいずれの処理によっても発芽率は 3.5% を最高とし、種子の腐敗や異常芽生がみられ、この温度が発芽に有害な作用のあることを示す。

主処理が 15°C から 30°C の間では、後続の温度変化はもちろん、光処理にも差異を生じないが、10°C と 35°C に温度と光の特有な効果がある。

まず 10°C の暗黒条件下 (C1) においては、Xanthi と Zichina I の発芽率はそれぞれ 61.0% と 62.5% であるが、赤色光処理によってともに 74.5% になった。また継続処理 C2, C3 のいずれによっても発芽率が 100% に近づき、この両品種間では差がみられなかった。

つぎに 35°C 条件下の赤色光処理によって、Xanthi と Zichina I はともに高い発芽率を示し、両品種間の差は認められないが、35°C 暗黒下 (C1) では、Xanthi の発芽率は 16.5% に低下するのに対し、Zichina I は 90.5% と高く両品種の間に有意な差異があった。さらに発芽期間を延長すると暗黒 (C2) では Xanthi の発芽率は 2.0% の上昇にとどまり、連続光 (C3) を与えると 100% に近い発芽率が得られ、Zichina I との違いが指摘される。

以上の結果から、10°C の低温では Xanthi と Zichina I の両品種とも赤色光処理による発芽率の変化は小さいが、35°C では両品種間に明瞭な差異があり、Xanthi は要光性を示し、光によって発芽が制御さ

Table 2. The seed germination percentage of two dark-germinating varieties under various light and temperature treatments in Experiment 1.

Temperature in main treatment (°C)	Treatment ¹⁾											
	A			B			C1			C2		
	Xanthi	Zichina I	Varietal difference	Xanthi	Zichina I	Varietal difference	Xanthi	Zichina I	Varietal difference	Xanthi	Zichina I	Varietal difference
5	0.0	0.0	ns	0.0	0.0	ns	0.0	0.0	ns	98.0	97.0	ns
10	95.0	96.0	ns	74.5	74.5	ns	61.0	62.5	ns	96.0	97.0	ns
15	95.0	96.0	ns	98.0	98.5	ns	96.5	95.5	ns	98.0	97.5	ns
20	98.0	98.5	ns	99.0	98.5	ns	95.0	95.5	ns	98.5	95.5	ns
25	98.5	98.0	ns	98.0	98.0	ns	95.5	95.0	ns	98.5	96.5	ns
30	99.0	99.0	ns	97.5	97.0	ns	86.5	90.5	ns	93.5	95.0	ns
35	98.5	98.0	ns	95.5	98.0	ns	16.5	90.5	**	18.5	98.5	**
40	0.0	0.0	ns	0.0	3.0	*	0.0	2.0	*	0.0	3.5	*

Note) *, **: significantly different between varieties by t-test at the 5 and 1% levels, respectively.

ns: non-significant.

1) Described in Table 1.

Table 3. The effects of red and far-red light treatments on seed germination percentages of two dark-germinating varieties under 25 and 35°C in Experiment 2. ¹⁾

Light treatment	Temperature			
	25°C		35°C	
	Xanthi	Zichina I	Xanthi	Zichina I
Dark	98.5	99.0	23.5	89.5
Red (R) ²⁾	98.5	99.0	92.5	97.5
Far-red (FR)	96.5	96.5	26.0	85.5
R → FR ³⁾	99.0	99.5	27.5	85.0
R → FR → R	97.0	99.0	92.5	95.5
R → FR → R → FR	98.0	99.0	44.3	96.5

1) In experiment 2, the seeds were incubated in the darkness for 2 weeks and then the germination percentages were recorded in each treatment. Light treatments were conducted after 24 hrs incubation.

2) Red light for 1 hr.

3) Far-red light treatment of 1 hr immediately after red light treatment.

れることが判明した。

要光性の発芽を示すタバコ品種においては既にフィトクロム系反応すなわち赤色光による発芽促進と遠赤色光による抑制の効果が確認されている (HOLDSWORTH 1972)。そこで, Xanthi と Zichina I についてフィトクロム系反応の有無を調査したところ Table 3 に示す結果が得られた。すなわち対照の 25°C 条件下では, Table 2 の結果に一致して, 両品種とも光に対する反応を示さないが, 35°C 条件下では, 赤色光あるいは遠赤色光照射の効果が認められた。赤色光と遠赤色光の処理効果の差は, Xanthi で 50~60%, Zichina I では 12% 程度であり, Xanthi には明瞭な光可逆性を検出した。

以上の結果から 35°C 条件下における Xanthi の発芽には, フィトクロムが関与することが明らかであり, また Zichina I についてもフィトクロムが関与していることが推察される。このことは,

Table 4. The germination percentage of parental and hybrid seeds under 35°C in Experiment 3¹⁾

Xanthi (X)	Zichina I (Z)	F ₁		F ₂	
		X × Z	Z × X	X × Z	Z × X
14.0	72.4	23.6	21.5	31.6	32.1

1) In Experiment 3, the seeds were incubated in the darkness for 2 weeks and then the germination percentages were recorded in each line.

Note) Reciprocal difference was not observed in the F₁ and F₂ generation.

35°C 条件下では種子の生理状態が変化し, 赤色光の照明を必要とするためと考えられる。

実験 3 において, 35°C 条件下の暗発芽性の差異における遺伝的要因の関与について解析を行った。Table 4 に示すように, 35°C 暗黒下において Xanthi と Zichina I の発

芽率はそれぞれ 14.0%, 72.4% であり, Table 2 とほぼ同様の明瞭な差異がある。F₁ と F₂ では相反交雑種子の間に発芽率の差異が認められないので, その平均値を求めると F₁ では 22.5%, F₂ では 31.8% である (Table 4)。また佐々木 (1974) の方法によって両親と F₁ の発芽率から Xanthi が部分優性であり優性度は 0.718 であると推定された。25°C 条件下の暗発芽性の遺伝子分析 (渡部ら 1977 a, b 1979) と同じく, 35°C 条件下でも遺伝子分析を試みたが, 雑種世代の分離が 25°C 条件下ほど明瞭ではなく, 関与する遺伝子数を決定することができなかった。そこで

35°C 条件下の暗発芽性を量的形質として取り扱い、後代における変異の特徴を記述する。

F₃ 種子は F₂ 種子の暗発芽率に相反交雑間の差異がない (Table 4) から、一括して 35°C 条件下の暗発芽性の頻度分布を Fig. 1 に示した。

F₃ では、35°C 条件下で暗発芽率の低下する Xanthi 型の系統の多いことが判る。

Table 5 に、暗発芽率の角度変換値を用いて分散分析した結果を示す。遺伝分散 (σ_g^2) と環境分散 (σ_e^2) から遺伝力 0.770 が求められた。

F₃ 選抜系統 (H 及び L) と次代の F₄ 種子の 35°C 条件下の暗発芽率の平均値をみると、H 系統では発芽率の低下する傾向があり、L 系統では 9.4% から 25.4% に上昇した (Table 6)。また遺伝力は $(57.4 - 25.4) / (80.2 - 9.4)$ から 0.452 が得られた。角度変換値を用いて同様に求めたが 0.449 であり差はなかった。選抜試験による遺伝力は分散分析による遺伝力より低下したが、このことは、35°C 下の暗発芽性が微働遺伝子の影響を受けていることを示唆していると考えられる。

両品種の発芽性の相違は 25°C 下の暗発芽性に関する 2 対の劣性遺伝子が 35°C 下では作用の異なる複対立遺伝子である場合と両品種の 25°C 下の暗発芽性に関する遺伝子は共通で、他の遺伝子が 35°C 下の暗発芽性に関与している場合を想定し得るが、この問題は今後の研究課題である。

タバコ種子の光発芽性はこれまで品種固有のもので温度条件に影響されないと考えら

Fig. 1. Segregation of germination percentages of the F₃ seeds in the dark-nees under 35°C.

Solid arrow indicates the mean germination percentage of F₃ seeds. The open and closed circles indicate the mean values of Xanthi and Zichina I, respectively.

Table 5. Observed and expected mean squares for the germination percentage in F₃ lines of the cross between Xanthi and Zichina I under 35°C.

Source of variation	d. f.	Observed mean square	Expected mean square
Between lines	128	291.07**	$\sigma_e^2 + 4\sigma_g^2$
Within lines	387	20.19	σ_e^2
Heritability (h^2)		0.770	

** : significant at the 1% level.

Note) Heritability was calculated as follows; $h^2 = \sigma_g^2 / (\sigma_g^2 + \sigma_e^2)$

The germination percentage was transformed to the arcsin scale prior to analysis.

Table 6. The dark-germination percentage of selected F₃ and derived F₄ seeds at 35°C.

Generation	Dark-germination	
	High	Low
	Mean ± S. E.	Mean ± S. E.
F ₃	80.2 ± 10.6	9.4 ± 0.5
F ₄	57.4 ± 16.8	25.4 ± 5.7
Heritability (h^2)	0.452	

Note) In high and low dark-germination, five selected F₃ lines (seeds) and five F₄ lines (seeds) consisted of 40 F₃ plants were tested.

The realized heritability (h^2) was computed as response/selection differential. The response was the difference in mean germination between high and low F₄ lines. The selection differential was the difference in mean germination between high and low F₃ lines.

れてきたが、本実験の結果からレタス種子の場合と同様に、タバコ種子においても温度条件が光発芽特性を変化させる現象のあることが判明した。この結果は植物の光発芽特性を統一的に理解する上での一助となるであろう。

謝 辞

本実験を行うにあたり、御指導をいただいた北海道大学名誉教授、細川定治博士に心から謝意を表する。

引用文献

- BORTHWICK, H. A., S. B. HENDRICKS, E. H. TOOLE, and V. K. TOOLE 1954. Action of light on lettuce seed germination. Bot. Gaz. **115** : 205~225.
- GLOBERSON, D., C. GINZBERG and A. KADMAN-ZAHAVI 1973. Comparative studies of seed germination of two newly isolated lines of Grand Rapids lettuce. Ann. Bot. N. S. **37** : 699~704.
- , A. KADMAN-ZAHAVI, and C. GINZBERG 1974. A genetic method for studying the role of the seed coats in the germination of lettuce. Ann. Bot. N. S. **38** : 201~203.
- HOLDSWORTH, M. 1972. Phytochrome and seed germination. New Phytol. **71** : 105~110.
- HONING, J. A. 1926. The heredity of the need of light for the germination in tobacco seeds. Proc. Kon. Akad. V. wetensch. Amsterdam. **29** : 823~833.
- 1930. Nucleus and plasma in the heredity of the need of light for germination in *Nicotiana* seeds. Genetica. **12** : 441~468.
- KASPEBAUER, M. J. 1968. Dark-germination of reciprocal hybrid seed from light-requiring and -indifferent *Nicotiana tabacum*. Physiol. Plant. **21** : 308~311.
- 小河原公司 1957. 種子の光発芽に関する研究. 京都大学学位論文 pp. 138.
- 佐々木多喜雄 1974. 水稻種子の低温発芽性に関する育種学的研究. 北海道立農試報告 **24** : 1~90.
- TAKEBA, G. and S. MATSUBARA 1976. Analysis of temperature effect on the germination of New York lettuce seeds. Plant and Cell Physiol. **17** : 91~101.
- 渡部信義・津田周彌・細川定治 1977 a. タバコ種子の光発芽性の二面交雑による遺伝的解析 北大農邦文紀 **10** : 139~146.
- . ——— . ——— 1977 b. タバコ種子の暗発芽性の遺伝学研究 第1報 ある交雑試験における種子の暗発芽性の遺伝行動 北大農邦文紀 **10** : 354~358.
- . ——— . ——— 1979. タバコ種子の暗発芽性の遺伝学的研究 第2報 暗発芽性遺伝子と赤色光反応性遺伝子との異同について 北大農邦文紀 **11** : 203~209.
- 渡部信義 1980. タバコ種子の光発芽性の遺伝学的研究. 北海道大学学位論文 pp. 150.

Summary

The seed germination of tobacco varieties, Xanthi and Zichina I, which had the same high dark-germination percentage at 25°C, was investigated under various temperature and light conditions. When tested at a high temperature of 35°C, Xanthi showed the light-requiring property, while seeds of Zichina I germinated well nearly irrespective of the light conditions. The participation of phytochrome system was suggested by the fact that red and far-red photoreversibility clearly observed in Xanthi and slightly in Zichina I at 35°C. The low dark-germinability of Xanthi at 35°C was partially dominant to the high dark-germinability of Zichina I, and the heritability value estimated from a selection experiment in F₂ plants of the cross Xanthi×Zichina I was 0.452.

N. WATANABE

Faculty of Agriculture, Gifu University

Kagamigahara, Gifu 504

Ch. TSUDA

Faculty of Agriculture, Hokkaido University

Sapporo, 060.