Nobuyoshi WATANABE : Studies on the Germination of Cultivated Tobacco Seeds as Affected by Sowing Density and Interspecific Interaction. (English summary on p.67)

栽培タバコ種子の発芽におよぼす播種密度 の影響と種間相互作用¹⁾

渡 部 信 義

(岐阜大学農学部, 岐阜市)

栽培タバコの *Nicotiana tabacum* L. および *Nicotiana rustica* L. からそれぞれ3品種を供試して一定面積当たりの播種粒数を 50, 100, 250 および 500 粒として播種密度を変えて発芽率を調べたところ, 全系統について, 高密度播種条件では種子間の競争が著しく, 発芽率が低下し, 負の密度反応が見られた。

一方種子の大きさを指標として, 小粒種である *N. tabacum* L. と大粒種である *N. rustica* L. をそれぞれ3品種用いた9組合せの実験区を設け, 種子数を同数(それぞれ 250 粒)の割合で混合播種することにより, 全体の発芽数の増加が8組合せの区で認められた。この場合, 種子の大小は両種間の相互作用とは直接に関係しなかった。

KEY WORDS : *Nicotiana tabacum*, *Nicotiana rustica*, seed germination, sowing density.

緒 言

植物集団を構成する種の個体数を決定する密度要因について生態学および進化学的な両面から詳細な注意が向けられてきた。種子発芽は, 植物の生活史を連結するうえで, 最も重要な段階であるが, 発芽における播種密度の効果に関する農学的な立場からの研究は比較的少ない。BALLARD (1958) や PALMBLAD (1968) は数種の雑草種において播種密度を高めることによって発芽率の上昇する正の密度反応あるいは逆に低下する負の反応を認め, LINHART and PICKETT (1973) および LINHART (1976) は連続的な数段階の密度で種子を播き, 密度反応性のあることを認め, 種子間の相互作用が種子から浸出する化学物質による可能性を指摘した。また, WAITE and HUTCHINGS (1978, 1979) も実験室条件下と自然条件下において発芽の密度反応性について実験を行い, 高密度条件が環境ストレスに対する耐性を向上させることを明らかにした。しかし, これらの実験は, いずれも雑草種子を主対象として行ったものであり, 作物種子での報告は, 著者の知り得た範囲では現在のところない。しかし, 植物種子の発芽において上述のような密度反応性が一般的にみられるとすれば, 移植を伴うような栽培形態における苗床での適正な播種密度の設定や密度反応に遺伝的要因がかかわっている場合には, 雑種種子集団の取り扱いに対して注意を喚起することになるであろう。

本研究は, このような観点から, 種子が小さく苗床における高密度播種が一般的に行われる栽培タバコを実験材料として, 2種の栽培タバコ (*Nicotiana tabacum* L. および *Nicotiana rustica* L.) の種子について, 密度反応性および遺伝子型の異なる2種間の混合播種の効果を明らかにしようとした。

材 料 と 方 法

遺伝子型の異なる2品種間の相互作用を明らかにするために, 混合播種した場合, どの品種由来

1983 年 5 月 23 日受領

¹⁾ 岐阜大学農学部遺伝育種学教室業績, No. 58.

の芽生かを発芽直後に判定する必要がある。*N. tabacum* L. では, Burley あるいは aurea のような葉緑素欠乏型形質を指標にして幼植物の緑色の濃淡によって判別する場合が多いので, 著者も予備的に検定したが, 発芽直後の芽生器管で正確に判別することは困難であることが判った。一方種子および芽生器管の大きさは *N. tabacum* L. に比べて *N. rustica* L. はかなり大きく判別は容易である。そこで本実験では種子の大きさ及びそれに伴う芽生の大きさを判別形質として採用した。

実験に供試した系統は, 1981 年 9 月に採種した *N. tabacum* L. 3 品種 (Mugla, Robertson および Coker 139) と *N. rustica* L. 3 品種 (Himlis, KP8 および Texana) の合計 6 品種である。実験には採種後 5 カ月の種子を用い, 1 品種 1 ロットとした。実験を行う前に各系統の種子の特性 (大きさ, 千粒重および発芽率) を調査し, その結果を Table 1 に示した。栽培タバコ種子は一般に長円球型をしていると考えられるので, 乾燥種子の長径と短径を光学顕微鏡でマイクロメーターを利用して各品種当たり 50 粒測定し, 平均値を求めた。千粒重は 2 反復測定し, その平均値を求めた。発芽率は直径 9cm のシャーレを用い, 脱イオン水で湿らせた沅紙上に 50 粒播き, 種子間の距離を 5mm 程度離し, 10 日後の発芽率を調査した。Table 1 に示すように, 種子の大きさは *N. tabacum* L. 3 品種間では差異がなく, *N. rustica* L. 3 品種間では Texana が Himlis および KP8 より小さかった。しかし, 両種間では差異が明らかであった。また大きさに対応して, 千粒重は *N. tabacum* L. と *N. rustica* L. の間には明瞭な差異があった。一方発芽率をみると 6 品種間には差異がほとんど認められなかった。

本研究では 2 通りの実験を行った。実験 1 では品種の播種密度に対する発芽の反応を明らかにすること, 実験 2 では *N. tabacum* L. と *N. rustica* L. の間の種子発芽に対する相互作用を明らかにすることを目的とした。

実験 1 ではふた付平型バット (17cm×30cm×3cm) に沅紙を 2 枚敷き, 沅紙上に半径 1.6cm (面積 8.03cm²) の円を描き, 脱イオン水で湿らせた。播種総数を 1 バット当たり 500 粒とし, 4 段階の密度区を設けた。すなわち 50 粒区の場合には 1 バット当たりの円数は 10 個, 100 粒区の場合には 5 個, 250 粒区では 2 個, 500 粒区では 1 個とした。

恒温器を用いて, 実験温度を 20°C とした。制御幅は ±1.5°C であった。実験中は 15w 蛍光灯の連続照明下においた。播種後 6 日目にバット当たり同量の脱イオン水を追加した。発芽数は, 播種後 10 日目に数え, 10 日目で未発芽の種子は, その後も沅紙上で実験を継続し, 14 日目に再び発芽数を数えた。しかし実際には 10 日目から 14 日目の間に各品種・密度区とも 1~3 粒発芽

Table 1. Seed size, weight and germinability in materials

Strain	Seed Size (mm) ¹⁾		1000 seed weight (mg)	Germination percentage ²⁾
	Long diameter	Short diameter		
<i>Nicotiana tabacum</i> L.				
cv. Mugla	0.71	0.55	73	94.3
cv. Robertson	0.75	0.50	67	95.1
cv. Coker 139	0.70	0.48	65	94.7
<i>Nicotiana rustica</i> L.				
cv. Himlis	1.18	0.92	301	95.1
cv. KP8	1.16	0.91	229	94.5
cv. Texana	0.95	0.66	136	95.1

¹⁾ Average of 50 seeds.

²⁾ Recorded after 10 days.

ただけであり、残りの種子は腐敗している場合もあり、発芽能力を失っていると考えられた。本実験では 10 日目の結果を用い、3 反復実験した。得られた発芽率を逆正弦変換し、分散分析を行った。

実験 2 では、*N. tabacum* L. と *N. rustica* L. の間の可能な組合せ 9 通りの全てについて、実験 1 と同じ要領で発芽床を準備し、500 粒区について両種の種子を 1:1 (250 粒:250 粒) の割合であらかじめ十分に混合してから、播種し、両品種の発芽数と不発芽数を実験 1 と同じく 10 日目に調査した。発芽数と不発芽数の期待値は、実験 1 で得られた 500 粒区における平均発芽率を粒にかけて求め、小数第 2 位以下は四捨五入した。一方の系統 (A) に対する他方の系統 (B) の相互作用の効果の検定には、適合度検定を常い、次式から求めた。

$$\chi^2 = \frac{(A \text{ 系統の発芽数} - A \text{ 系統の発芽期待数})^2}{A \text{ 系統の発芽期待数}} + \frac{(A \text{ 系統の不発芽数} - A \text{ 系統の不発芽期待数})^2}{A \text{ 系統の不発芽期待数}}$$

(ただし A 系統の不発芽期待数 = 250 - A 系統の発芽期待数)

また、B に対する A の効果も同様に求めた。更に両系統を合わせた場合の検定も行い、期待値は両系統の合計とした。実験 1 から 500 粒区では反復間の差異がないこと、実験 1 と 2 に供試した種子は同一ロットであることから実験 1 の 500 粒区の結果を期待値として採用した。

結 果

1. 種子発芽の播種密度による影響

実験 1 の結果は Table 2 に示すとおりである。Mugla は 50 粒区で 77.0% の発芽率であったが高密度区 (500 粒区) では 47.6% となり、29.4% 発芽率が低下した。他の系統についても 50 粒区と 500 粒区の発芽率を比較すると Robertson は、93.2% から 72.0% に低下し、Coker 139 も 84.5% から 68.6% に低下した。一方 KP8 の場合には 87.0% から 65.2% に、Himlis は 93.5% から 57.8% に低下し、Texana では 92.8% から 29.6% に低下した。

このように供試した 6 品種とも播種密度の上昇に対して発芽率が低下する負の密度反応を示している。4 段階の播種密度条件に対して、6 品種の発芽率低下の傾向はほとんど同じであるが、いずれの場合にも 250 粒区と 500 粒区との間で、とくに顕著な低下がみられた。以上の結果を分散分析したところ、系統および播種密度には 1% 水準で有意差が認められた (Table 3)。しかし、*N. tabacum* L. と *N. rustica* L. との間では播種密度の反応性に違いは認められなかった。

2. 混合播種による種間相互作用

Table 2. Effect of increased sowing density on seed germination of *Nicotiana tabacum* L. and *N. rustica* L.

Strain	density (no. of seeds/8.03 cm ²)			
	50	100	250	500
(% seed germination)				
<i>Nicotiana tabacum</i> L.				
cv. Mugla	77.0	76.5	73.5	47.6
cv. Robertson	93.2	92.6	83.6	72.0
cv. Coker 139	84.5	84.0	83.8	68.6
<i>Nicotiana rustica</i> L.				
cv. Himlis	93.5	90.1	83.4	57.8
cv. KP8	87.0	84.2	72.4	65.2
cv. Texana	92.8	89.8	85.4	63.2

Table 3. Analysis of variance for the effect of sowing density on seed germination

Source of variation	d. f.	mean square
Strain (S)	5	219.280**
Sowing Density (SD)	3	1185.655**
S × SD	15	24.736
Replication	2	26.491
Error	46	57.975

** ; significant at 1% level.

Table 4. Interspecific interaction affecting the seed germination in *Nicotiana tabacum* L. and *N. rustica* L.

Combination		No. of seeds observed	Expected value of germinated seeds ¹⁾	Response ²⁾	χ^2 (d. f. =1)	Probability
Himlis+Mugla	Himlis	183	144.5	38.5	24.3075	**
	Mugla	145	119.0	26.0	10.8410	**
	total	328	263.5	64.5	33.3793	**
Himlis+Robertson	Himlis	215	144.5	70.5	81.5076	**
	Robertson	127	180.0	-53.0	55.7341	**
	total	342	359.5	17.5	3.0316	0.01—0.05
Himlis+Coker 139	Himlis	185	144.5	40.5	26.8986	**
	Coker 139	175	171.5	3.5	0.2275	0.75—0.90
	total	360	316.0	44.0	16.6483	**
KP8+Mugla	KP8	157	163.0	-6.0	0.6347	0.25—0.50
	Mugla	164	119.0	45.0	32.4748	**
	total	321	282.0	39.0	12.3707	**
KP8+Robertson	KP8	174	163.0	11.0	2.1331	0.10—0.25
	Robertson	175	180.0	-5.0	0.4960	0.25—0.50
	total	349	343.0	6.0	0.3343	0.50—0.75
KP8+Coker 139	KP8	144	163.0	-19.0	6.3641	*
	Coker 139	179	171.5	7.5	1.0445	0.25—0.50
	total	323	334.5	-11.5	1.1945	0.25—0.50
Texana+Mugla	Texana	177	158.0	19.0	6.2087	*
	Mugla	157	119.0	38.0	23.1574	**
	total	334	227.0	57.0	26.2987	**
Texana+Robertson	Texana	164	158.0	6.0	0.6192	0.25—0.50
	Robertson	169	180.0	-11.0	2.4008	0.10—0.25
	total	333	338.0	-5.0	0.2283	0.50—0.75
Texana+Coker 139	Texana	174	158.0	16.0	4.4029	*
	Coker 139	163	171.5	-8.5	1.3417	0.10—0.25
	total	337	329.5	7.5	0.5006	0.25—0.50

**, * ; significant at the 1 and 5% levels, respectively.

1) Expected value is the average of the no. of seeds which germinated in single sowing of both strains.

2) Response=Observed value-Expected value.

本実験では、密度反応が顕著にみられ、種間の相互合用を検定する条件として適当と考えられる500粒区で行った。実験結果はTable 4に示すとおりで、HimlisとMuglaの間では両系統とも期待値より発芽数が多く、ともに1%水準で有意であり、発芽に当って共働的作用のあることが認

められた。Himlis と Robertson の間では Himlis の発芽数が期待値よりも多く、他方 Robertson が減少し、両品種は競争的關係にある。Himlis と Coker 139 の間では Himlis が 40.5 粒発芽数が有意に増加した。Himlis は *N. tabacum* L. の 3 系統と混合播種されると発芽数が増加し、平均で 49.8 粒であった。次に KP8 と Mugla の間では Mugla は 45.0 粒有意に発芽数が増加した。Robertson との間では、KP8 が 11.0 粒増加したが有意な差ではなかった。KP8 は Coker 139 に対しては 19.0 粒発芽数が減少した。KP8 は *N. tabacum* L. の 3 品種に対して反応性が小さく、平均では発芽数は 4.7 粒減少した。Texana は Mugla との間では共働的な相互合用が認められ、両品種は有意に発芽数が増加した。一方 Robertson に対しては、ほとんど反応性がなかった。Coker 139 との間では Texana が 16.0 粒有意に発芽数が増加した。Texana は *N. tabacum* L. 3 品種に対して平均で発芽数が 13.7 粒増加した。

N. tabacum L. の側から、*N. rustica* L. 3 品種に対する反応性をみると、平均では、Mugla は 36.3 粒の、Coker 139 は 0.8 粒の発芽数の増加が認められ、Robertson は 23.0 粒発芽数が減少した。

Texana と Mugla、Himlis と Mugla の間には、相互に発芽数が増加する傾向があり、これら 3 品種は、どの組合せにおいても発芽数の増加する傾向が認められた。一方 Texana は混合播種された相手品種の違いによって発芽反応が異なり、相手品種に対する効果は小さく、むしろ自身の発芽数を増加することに特徴があった。Robertson も効果は相手品種によって異っていた。Coker 139 に対する *N. rustica* L. の効果はみとめられなかった。

9 組合せのうち、8 組合せでは合計の発芽数は増加した。しかし、このうち有意に増加したと判定された組合せ数は 3 であった。

考 察

栽培タバコでは播種密度に対して発芽率の低下する負の反応が供試品種に共通して認められた。高密度条件にみられる未発芽種子の大部分は腐敗したことから、これらの種子は何らかの原因、おそらく種子から分泌された物質により、種子が活力を低下させるかまたは失うことにより菌に感染し、死滅したものと考えられる。種子が高密度で播かれると、種子は相互に接触する機会を増し、物理的あるいは化学的に相互作用を起こしやすくなる。発芽に要する水分やイオンの移動と吸収の変化あるいは種子集団中の既に発芽した種子から浸出する物質の隣接種子に対する影響も想定されるであろう。

種子集団中に既に発芽している種子を加えることによって発芽が促進されることを BALLARD (1958) は “primar” 効果と名づけた。GRESSEL and HOLM (1964) は 6 種の作物種子について、それぞれの種子を雑草種子で囲んだ状態で発芽させると発芽が遅延することを見出している。この現象は、競争要因とみられる光、水あるいは無機イオンの効果ではないことが判った。特に *Abutilon theophrastis* の種子からは、遊離アミノ酸が浸出していたことが報告された。また INOUE (1980) は、種子集団の早く確立した芽生が後続の種子発芽を抑制することを明らかにした。これらの報告から種内あるいは種間の相互作用が化学的要因で説明できること、また供試種子集団の個々の種子の発芽時間のずれが、種子間の相互作用の要因として考えられる。

本実験で注目すべきことは、全ての供試品種が高密度条件下で発芽率を低下するのに対して、同じ高密度条件下でも異種の種子を混合播種すると単独播種の場合より発芽率がやや上昇する場合がみられたことである。つまり、遺伝子型が同一である種子間の相互作用よりも、種間の差異のような異った遺伝子型が一定割合で混っているほうが負の密度効果が現われにくくなることが考えられ

た。この原因については今後検討する必要はあるが、遺伝的にヘテロである分離世代の種子を播いた場合の反応性、あるいは異なる遺伝子型の系統間の混合割合を変えた場合の発芽性についても育種学的見地からよく検討しておく必要があることを示唆していると言える。

品種間の相互作用を検討するための判別形質として、本実験では種子の大きさを指標とした。種子の大きさは遺伝形質であり、*Glycine soja* にみられるように、高い遺伝力 (0.93) を示す (FEHR and WEBER 1968)。小さな種子は貯蔵物質も少ないので小さな芽生器管を生成する。大粒と小粒種子の混合集団が高密度で播種されると、大粒種子由来の植物は芽生間の競争に有利であると考えられる。本実験で知り得た範囲では、種子の大小と発芽の間に明瞭な関係がなく、発芽に限れば小粒種子が必ずしも不利とはいえない。たとえば、*N. tabacum* L. の3品種のうち Mugla は全般に発芽率が上昇していた。

今後種子集団における遺伝子型と密度反応との関係あるいは種子間の相互作用を引き起こす要因を明らかにする必要がある。

謝 辞

本研究の実験材料の入手にあたって御世話いただいた日本専売公社中部支社の方々に謝意を申し上げる。また本論文を草するにあたり助言をいただいた岐阜大学農学部西川浩三教授に謝意を表す。

引用文献

- BALLARD, L. A. T. 1958. Studies of dormancy in seeds of subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.). Breaking dormancy by CO_2 and by activated carbon. Aust. J. biol. Sci. 11 : 246~260.
- FEHR, W. R. and C. R. WEBER 1968. Mass selection by seed size and specific gravity in soybean populations. Crop. Sci. 8 : 551~554.
- GRESSEL, J. B. and L. G. HOLM 1964. Chemical inhibition of crop germination by weed seeds and the nature of inhibition by *Abutilon theophrastis*. Weed Res. 4 : 44~53.
- INOUE, R. S. 1980. Density-dependent germination response by seeds of desert annuals. Oecologia 46 : 235-238.
- LINHART, Y. B. and R. A. PICKETT 1973. Physiological factors associated with density-dependent seed germination in *Boissuwallia glabella* (Onagraceae). Z. Pflanzenphysiol. 70 : 367-370.
- 1976. Density-dependent seed germination strategies in colonizing versus non-colonizing plant species. J. Ecol. 64 : 375-380.
- PALMBLAD, I. G. 1968. Competition in experimental populations of weeds with emphasis on the regulation of population size. Ecology 49 : 26-34.
- WAITE, S. and M. J. HUTCHINGS 1978. The effects of sowing density, salinity and substrate upon the germination of seeds of *Plantago coronops* L. New Phytol. 81 : 341-348.
- and ——— 1979. A comparative study of establishment of *Plantago coronops* L. from seeds sown randomly and in clumps. New Phytol. 82 : 575-583.

Summary

Seeds from three cultivars of the tobacco species, *Nicotiana tabacum* L. and *Nicotiana rustica* L., respectively, were tested in order to evaluate the effect of the sowing density on the seed germination percentage. Sowing density was expressed by the number of seeds per circle of 8.03 cm² on a filter paper. Seed germination percentage of either of the cultivars of the two species was negatively correlated with the sowing density. When five hundred seeds were sown in the circle, the germination percentage decreased remarkably due to seed-to-seed interaction.

After mixing an equal number of seeds, namely 250 seeds for each of the two species,

seeds were sown at the density of 500 seeds/circle with nine combinations. *N. rustica* L. could be differentiated from *N. tabacum* L. by the size of the seeds and seedlings. Total number of germinated seeds was significantly increased by interspecific interaction in the three combinations. Seed size had no influence on the interspecific interaction.

N. WATANABE

Faculty of Agriculture, Gifu University, Gifu 501-11