HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	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
Author(s)	渡部, 信義; 津田, 周彌; 細川, 定治
Citation	北海道大学農学部邦文紀要, 11(3), 203-209
Issue Date	1979-05-25
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/11918
Type	bulletin (article)
File Information	11(3)_p203-209.pdf

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

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

渡部信義・津田周彌・細川定治
(北海道大学農学部工芸作物学教室)

(昭和53年5月31日受理)

Genetic Studies on the Dark-germination in Tobacco Seeds

II. Difference in genetic system between dark-germination and the sensitivity to the promotive red light effect in germination

Nobuyoshi WATANABE, Chikahiro TSUDA
and Sadaji HOSOKAWA
(Laboratory of Industrial Crops, Faculty of Agriculture,
Hokkaido University, Sapporo, Japan)

緒　言

前報[1]において，在来種の桐ケ作とオリエント種のXanthiとの間の交雑後代から，暗発芽性(非要光性)は要光性に対して，2対の劣性重複遺伝子に支配されることを述べた。

また著者らは，要光性品種4と非要光性品種Xanthiとの合計5品種を用いて，2面交配を行ない，その結果から 1) 暗発芽性の劣性であること，2) 暗発芽性は，赤色光反応性とは，別の遺伝子系により，支配されている可能性のあること，また 3) これらの間には，遺伝子型間の交互作用の認められることを見出した[2]。

これらの実験結果のうち，暗発芽性を支配する遺伝子系と，赤色光反応性の遺伝子系の異同を確認することは，タバコ種子の暗発芽性の遺伝的解明にとって，極めて重要な示唆を与えることになる。

本実験の目的は，著者ら[2]が用いた4品種の要光性品種の間の要光性に関する遺伝子型の異同と，赤色光反応性の遺伝的変異性を検証することである。

材料と方法

この交雑実験の親として用いられた品種および系統は，1974年9月に収穫した，松川，南部，Samsoun及びHicks 2の要光性品種とXanthiの合計5品種である。これら品種とこれらの間のF_1個体を，1975年冬季に栽培育成し前々報[2]の結果に基づき，片面のみの組合せの下に，10組合せのF_1種子と，上記F_1種子の5×5の2面交配からF_2種子を得た。またXanthiとその他の4品種の組合せのF_1については，Xanthiを親として，戻し交雑を行ない，B_1F_1種子を得た。

また1976年の夏季には前報[1]と同様の方法を用いて遺伝子分析を行なうために4要光性品種とXanthiとのF_1, F_2, F_3, B_1F_2種子を得た。更に上記の遺伝子分析によって得られた結果に要光性の4品種の赤色光反応性とを比較するために，1976年夏季に，各品種とも10個体を育成し，自殖種子を得た。

発芽試験の培地としては，0.7%の寒天液を用い，シャーレには，直径4.5 cmのものを用いた。発芽試験の手順としては，供試粒を播種床に均等になるように播き，播種の後，直ぐに遮光のためにアルミフォイルで包み，暗黒下の定温25°Cに10日間保持し，その後に発芽率を測定した。

供試粒は1区100粒を標準とし，それぞれの反復を設けた。なお全ての実験は，採種後2カ月以内に終了した。

F_2個体の育成は，所要の肥料を与えたプラスチック製の播種箱に12個体を養成した。

なお赤色光反応性の実験のための照射装置としては，光源をNational FL 20 R-F蛍光管3灯を用いている当工芸作物学教室の照射箱を用いた。

結　　果

実験1　F_1 および F_2 種子の暗発芽性

1974年の実験結果については既に報告[2]し，その統計的分析の結果から，F_1 種子の暗発芽性に正逆交雑の差がみとめられないか，あってもわずかであることが示されたので，1975年には，片面のみの交配を行ない，Table 1 に示した結果を得た。Xanthi を除けば親品種の暗発芽性は，いずれも認められず，また F_1 種子も 0% の発芽率であった。

F_2 種子の発芽，不発芽がそのまま暗発芽性の分離を表現するので，供試粒数を多くし，1200粒を用い，正逆交雑間で検討した。要光性間の場合も同様である。

まず要光性×要光性の6組合せの発芽率は全て 0% であり，暗発芽性は認められなかった。

また要光性×Xanthi 種子の4組合せの場合には，F_2 種子の暗発芽性が 5.2～7.3% の範囲で認められ，暗発芽性の分離を確認し得た。

また交雑方向の差異（主として細胞質の効果と考えられる）も検討を加えたが，その差異は認められなかった (Table 2)。

Table 1. Parental and F_1 hybrid seed germination under the darkness

female parent	male parent				
	Nanbu	Matsukawa	Samsoun	Hicks 2	Xanthi
Nanbu	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Matsukawa		0.0	0.0	0.0	0.0
Samsoun			0.0	0.0	0.0
Hicks 2				0.0	0.0
Xanthi					93.5

Number of seeds used for germination test: 500.

Table 2. Parental and F_2 hybrid seeds germination under the darkness

female parent		male parent				
		Nanbu	Matsukawa	Samsoun	Hicks 2	Xanthi
Nanbu	1975	0.0	0.0	0.0	0.0	7.3
	1977	0.0	0.0	0.0	0.0	6.9
Matsukawa	1975	0.0	0.0	0.0	0.0	5.6
	1977	0.0	0.0	0.0	0.0	6.1
Samsoun	1975	0.0	0.0	0.0	0.0	5.2
	1977	0.0	0.0	0.0	0.0	5.8
Hicks 2	1975	0.0	0.0	0.0	0.0	6.5
	1977	0.0	0.0	0.0	0.0	6.0
Xanthi	1975	6.8	6.1	5.8	5.8	93.6
	1977	6.0	6.2	5.9	6.0	92.8

Number of seeds used for germination test: 1,200.

実験 2 4交雑組合せにおける暗発芽性の遺伝子分析

実験 1 と同時期に行なった B_1F_1 種子の暗発芽性は，23.5～27.5% の範囲で認められた。翌年 (1977年) に行なった F_2 と B_1F_1 種子の暗発芽も同様であり，年次による変動は極く小さく，細胞質の効果も認められなかった。

これら F_2 および B_1F_1 の発芽試験の結果は，前の報告[1] で述べた，暗発芽性が，質的形質であり，その分離比は F_2 種子の暗発芽率として表現されるとする仮説に充分適合する結果となった (Table 3)。

1976年の冬季には南部と Xanthi, Hicks 2 と Xanthi との組合せの F_3, B_1F_2 系統，1977年の夏季には Samsoun と Xanthi, 松川と Xanthi との間の F_3, B_1F_2 系統を得て，同時に上記の F_2, B_1F_1 種子の発芽傾向と比較して暗発芽性の分離の検定を行なった。

Table 3. Comparison of B_1F_1 seed germination under the darkness in four cross combinations in two years

Cross combination	Year 1975	Year 1977	Significance of between years or cytoplasmic effects
(Nanbu×Xanthi)×Xanthi	24.5	24.5	ns ←
do. ×Nanbu	0.0	0.0	ns ns
(Xanthi×Nanbu)×Xanthi	24.8	25.8	ns ←
do. ×Nanbu	0.0	0.0	ns
(Matsukawa×Xanthi)×Xanthi	27.5	26.0	ns ←
do. ×Matsukswa	0.0	0.0	ns ns
(Xanthi×Matsukawa)×Xanthi	26.0	24.0	ns ←
do. ×Matsukawa	0.0	0.0	ns
(Samsoun×Xanthi)×Xanthi	23.5	23.8	ns ←
do. ×Samsoun	0.0	0.0	ns ns
(Xanthi×Samsoun)×Xanthi	24.8	25.0	ns ←
do. ×Samsoun	0.0	0.0	ns
(Hickis 2×Xanthi)×Xanthi	23.5	25.5	ns ←
do. ×Hicks 2	0.0	0.0	ns ns
(Xanthi×Hicks 2) ×Xanthi	25.5	24.5	ns ←
do. ×Hicks 2	0.0	0.0	ns

Number of seeds used for germination test: 1,200. ns; non-significant

F_2 個体また B_1F_1 個体に稔実した F_3 および B_1F_2 種子の暗発芽から示される分離様相は，Table 4 のとおりである。前報[1] の基本的な考え方に基づき，期待頻度をとると，F_2 個体からは 11:4:1 また B_1F_1 個体からは 1:2:1 の比に適合する F_3 および B_1F_2 種子がそれぞれ得られたことがみとめられ，各交雑組合せの Homogeneity test の結果も，これら 4 組合せが同一の遺伝子支配によることを示した。

つまり前報[2] に述べたとおり Xanthi の遺伝子型を *aabb* であると仮定すると松川，南部，Samsoun，および Hicks 2 は，同一の遺伝子型つまり *AABB* であると結論できる。

実験 3 この実験に用いられた，要光性の 4 品種の赤色光反応性の遺伝変異

赤色光の照射時間として，30 分と 60 分，また処理方法としては 24 時間の暗浸漬のあと照明処理を行なった。同時に対照区として暗黒処理を行なったものを加えた。

各処理の各品種の平均値は Table 5 A に示した。この結果の分散分析から，これら，品種の間に赤色光反応性に関して有意な遺伝的差異があることが再び示され (Table 5 B)，渡部，津田，細川[2] の論述つまり，暗発芽性に関与する遺伝子系と赤色光反応性の遺伝子系は異るとする仮説を支持する結果を得た。

Table 4. Frequency distributions of percentage of F_3 or B_1F_2 seeds germinated under the darkness in four crosses

A) Frequency of F_2 plants (Hypothetical ratio=11:4:1)

Cross Combinations	Germination percentage of F_3 seeds										total	Goodness of fit
	0~10	10~20	20~30	30~40	40~50	50~60	60~70	70~80	80~90	90~100		
Nanbu×Xanthi	60	11	7	9	3	1	1	2	3	1	106	$\chi^2=2.1304$
observed	79		20				7					d.f.=2
theoretical	72.875		26.50				6.625				106.00	$0.25<p<0.50$
Matsukawa×Xanthi	91	8	5	13	4	3	2	3	3	1	133	$\chi^2=2.7293$
observed	99		25				9					d.f.=2
theoretical	91.4375		33.25				8.3125				133.00	$0.25<p<0.50$
Samsoun×Xanthi	89	22	8	14	3	3	2	1	4	2	148	$\chi^2=3.0369$
observed	111		28				9					d.f.=2
theoretical	101.75		37.00				9.25					$0.10<p<0.25$
Hicks 2×Xanthi	90	13	8	12	5	1	1	3	3	2	138	$\chi^2=2.8063$
observed	103		26				9					d.f.=2
theoretical	94.875		34.50				8.625				138.00	$0.10<p<0.25$

1) homogeneity test: $\chi^2=12.2168$ (d.f.=27), $0.990<p<0.995$.

B) Frequency of B_1F_1 plants (Hypothetical ratio=1:2:1)

Cross Combination	Germination percentage of B_1F_2 seeds										total	Goodness of fit
	0~10	10~20	20~30	30~40	40~50	50~60	60~70	70~80	80~90	90~100		
Nanbu×Xanthi	10	9	9	10	7	7	6	5	4	1	68	$\chi^2=0.2988$
observed	19		33				16					d.f.=2
theoretical	17.0		34.0				17.0				68.00	$0.75<p<0.90$
Matsukawa×Xanthi	11	7	8	11	6	8	4	5	4	1	65	$\chi^2=0.5077$
observed	18		33				14					d.f.=2
theorerical	16.25		32.50				16.25				65.00	$0.75<p<0.90$
Samsoun×Xanthi	13	4	6	12	6	6	3	4	3	2	59	$\chi^2=0.8644$
observed	17		30				12					d.f.=2
theoretical	14.75		29.50				14.75				59.00	$0.50<p<0.75$
Hicks 2×Xanthi	16	8	10	13	14	7	3	6	6	4	87	$\chi^2=0.5862$
observed	24		44				19					d.f.=2
theoretical	21.75		43.50				21.75				87.00	$0.50<p<0.75$

3) Xanthi was used as the recurrent parent in the back-crosses.

4) homogeneity test: $\chi^2=10.2439$ (d.f.=27), $p>0.995$.

Table 5. Germination responses of 4 varieties under the red light condition and its analysis of variance

A) Mean seed germination percentage of 4 varieties

	darkness	Red light (min.)	
		30	60
Nanbu	0	38.2	67.8
Matsukawa	0	46.0	68.5
Samsoun	0	89.0	95.3
Hicks 2	0	9.1	26.1

1) Mean value of ten plants of each variety.

B) Analysis of variance for the germination rate (angle scale) under the red light condition for 30 and 60 minutes

Source	d f.	MS	
		30 min.	60 min.
Variety	3	4786.73**	3649.61**
Error	36	13.07	9.18

** significant level for 1%.

考　　察

タバコ種子の暗発芽性が2対の劣性遺伝子によるとの結果は，前報[1]の桐ケ作と Xanthi の間の交雑の結果と同様である。暗発芽性の遺伝子型が *aabb* であるとの仮説に基づけば，要光性品種の遺伝子型は，*AABB*, *AAbb* および *aaBB* の3遺伝子型のいずれかであると推定できる。そしてこれら3遺伝子型と暗発芽性遺伝子型(*aabb*) との交配を行なえば，その後代の結果は，まず 1) *AABB*×*aabb* の場合 F_1 は *AaBb*, 2) *AAbb*×*aabb* の場合には，F_1 は *Aabb*, また 3) *aaBB*×*aabb* では，F_1 は，*aaBb* となり，それぞれの分離は，F_2 個体では，F_3 種子の発芽率が 0%, 6.25%, 25.0% そして 100% の個体の順に，1) は 7:4:4:1, 2) と 3) は，1:0:2:1 の比となる。

また要光型の遺伝子型である *AAbb* と *aaBB* との交雑後代からも暗発芽性の個体の分離がみとめられるはずである。つまり F_1 の遺伝子型は *AaBb* でありそれゆえ，F_3 種子においては，7:4:4:1 の分離比が期待できる。

この前提にたてば，松川，南部，Hicks 2 および Samsoun と Xanthi との後代の分離様相からこれら4つの要光型品種の遺伝子型は全て，*AABB* であるとすることができる。また要光型間の2面交配の F_2 後代に暗発芽性個体の分離のないことは，上述の仮定を側面から支持する結果である。なぜなら，*AAbb* と *aaBB* の間の F_2 種子には 6.25% の暗発芽がみとめられると予測されるが，本交雑後代にこのような現象のみとめられないこと，つまりこの二面表の要光性品種には *AAbb* と *aaBB* の遺伝子型が同時にはないことを示している。一方 *AABB* と *aaBB* (または *AAbb*) との間の F_2 種子には 0% の暗発芽率が期待されるが，この場合 *aaBB* と Xanthi との交配の F_2 個体を用いての F_3 種子の発芽率の分離は，1:0:2:1 の分離比が期待される。ここでは F_2 後代の暗発芽率は 0% であるが Xanthi との4要光型品種の F_3 後代からは，このような分離比はみとめられなかった。

つまり，著者らの 1976 年の実験結果では赤色光反応性は要光性の3遺伝子型 *AABB*, *AAbb*, および *aaBB* と相関のないこと，すなわち赤色光反応性の差異がこれらの遺伝子型の差異によるものではないことを証明する必要があったが，4品種とも要光性について同一の *AABB* の遺伝子型であるとすることができるから，暗発芽性を支配する遺伝子系と赤色光反応性を支配する遺伝子系とは異なることが指摘できると考えられる。充分多数の交配組合せを用いることによって *AAbb*, *aaBB* 型の遺伝子型を有する品種も識別できるであろうが，植田ら[3]は，

日本の在来種においては，暗発芽性はみとめられないと指摘している。その理由としては在来種の暗発芽性に関する遺伝子型として *AABB* 型を起源的に有していたと推定される。

以上のように，松川，南部，Samsoun および Hicks 2 の4品種は発芽する際に光が必要か否かを決定する遺伝子系つまり，暗発芽性については，同一の遺伝子型 (*AABB*) を有していることが推定された。そのため赤色光反応性についての品種間の差異のあること自体が，赤色光反応性と暗発芽性の遺伝子系との異同判定の決め手となった。

更に著者らの実験では，赤色光反応性の優劣関係については，低い反応性を優性としたが[2]，この傾向が，*AABB*, *AAbb*, *aaBB* 遺伝子の多面発現の結果として見出される場合も考慮にいれた。これがためには，*AABB*, *AAbb*, または *aaBB* 遺伝子型を持つ各品種群内で赤色光の効果を検討すべきことはいうまでもないが，要光性について *AABB* 遺伝子型を共通にもつと推定された4品種を用いた本実験の結果からも，赤色光反応性の遺伝的変異が確認された。

要光性品種間交雑後代の赤色光反応性における遺伝様式については，その知見を次報において報告する予定である。

赤色光反応性は，暗発芽性とは独立した形質であることが結論できるが，暗発芽性種子自体もフィトクロム依存型の発芽様式を示すことが知られているから，これらの形質は，種子内のフィトクロム系を介して生理的には交互作用を有しているだろうと推定できる。

摘　　要

1974年のタバコの5品種間の二面交配の後代，特に要光性の松川，南部，Samsoun および Hicks 2 の4品種と Xanthi との組合せを用いて，暗発芽性の遺伝子分析と要光性遺伝子との異同を検討した。

F_3 系統においては，11:4:1，F_1B_2 種子においては1:2:1の分離が推定され，暗発芽性に関する遺伝子は，4組合せとも，2対であり，更に F_2 種子においては，要光型間の二面交配後代では，分離が認められず，この4品種が *AABB* の遺伝子型であることも結論された。

更に，この4品種の赤色光反応性について検討を加えたところ，品種間で有意差が認められ，暗発芽性についての遺伝子型は同一でありながら，それぞれの反応性の異なることから，赤色光反応性と暗発芽性の遺伝子系は異なることも判った。

引 用 文 献

1. 渡部信義・津田周彌・細川定治：タバコ種子の暗発芽性の遺伝学的研究，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. 1977
2. 渡部信義・津田周彌・細川定治：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
3. 植田和彦・野元　智・木下正信・藤田進博：新品種の発芽特性について，葉たばこ研究，**73**：31-34. 1976

Summary

In order to confirm the difference in the genetic system between dark-germination and the sensitivity to the promotive red light effect of germination, further investigation on the genetic behavior of the dark-germination of tobacco seeds was conducted with progenies of a diallel cross of five varieties which were different from each other in light dependence of seed germination. The variety Xanthi is known to show dark-germination. Variety Nanbu, Matsukawa, Samsoun and Hicks 2 are also known to be light-requiring variety in seed germination, and the degree of light dependence differ to each other. The cultivar Xanthi was used as a recurrent parent in back crosses for the genetic analysis.

The germination tests were made with the seeds of parental varieties, F_1, F_2, F_3, B_1F_1, and B_1F_2 under the dark condition at 25°C.

The results obtained can be summarized as follows.

None of all F_1 hydrids showed the seed germination under the dark condition. It suggests that genetic behavior of dark-germination may be treated as "all or none character" and this property may be completely recessive to the light-requiring habits.

The germination rate of F_2 seeds of Xanthi x light requiring cultivars ranged from 5.3 to 7.2 percent under the dark condition. The germination rates of F_2 seeds were approximate to theoretical value of 6.25 percent which is expected under the hypothesis that the dark-germination is controlled by double recessive homozygous genotype such as *aabb*.

The dark-germination rates of F_2 seeds of cross combinations between two light-requiring varieties

were 0 percent. These results can be explained by the hypothesis that the crossing had been made between either one of three combinations i.e. 1) *AABB*×*AABB*, 2) *AABB*×*AAbb* or 3) *AABB* ×*aaBB*. Among four light-requiring varieties, cross combination *AAbb*×*aaBB* had not been made, because such cross combination would have produced 6.25 percent germination of F_2 seeds.

Under the genetic hypothesis mentioned above, the germination rates of F_3 seeds produced by F_2 plants were expected to be classified into following 4 classes; 0.0, 6.25, 25.0 and 100 percent. The F_2 plant with dominant homozygous genotypes at either one of two loci necessarily produced F_3 seeds with one dominant gene at least, and, thus, these seeds cannot germinate under the dark condition. The expected frequency of these genotypes in F_2 plants is 7/16. The plant with double heterozygous genotypes produced F_3 seeds of which expected germination of 6.25 percent, i.e. the expected frequency of double recessive homozygotes of F_3 seeds. The expected frequency of this genotype in F_2 plants is 4/16. The F_2 plant which is heterozygous at one locus and recessive homozygous at another locus (*aaBb* or *Aabb*) will produce F_3 seeds of which 25 percent can germinate under the dark condition. The expected frequency of these genotypes is 4/16 in F_2 plants. The other genotype, of F_1 plant, double recessive homozygote of which expected frequency in F_2 is 1/16 will produce F_3 seeds of which all can germinate under dark condition.

Similarily, frequency distribution of dark-germination rate in B_1F_1 plants back-crossed with Xanthi is expected as follows: 6.25%: 25.0%: 100%=1:2:1.

Moreover frequency distribution in dark-germination in F_2 plants of hybrids, between *AAbb* (or *aaBB*) and *aabb* is expected: 0.0% germination rate: 25%: 100%=1: 2: 1, and B_1F_1 plant back-crossed with Xanthi; 0.0%: 25.0%: 100%=0:1:1. The observed freqnency distribution of F_2 and B_1F_1 plants seemed to be continuous and disagree with the hypothesis mentioned above at a glance. However, the classification of class as those shown in Table 4 satisfied the tests for goodness of fit. This classification was made in consideration of sampling error, bias of germination rate in the past tests and the loss of viability of seeds with double recessive homozygous genotype.

Thus, the hypothesis that the double recessive homozygous genotype is responsible for the dark-germination may be again tentatively justified. Furthermore, inability of dark-germination of Nanbu, Matsukawa, Samsoun and Hicks 2 is controlled by double dominant homozygous genotype such as *AABB* in common.

The existence of genetic difference in the sensitivity to the promotive red light effect in germination among 4 varieties suggested the difference in genetic system between this trait and dark germination. Because identical genotype responsible for the dark gerimination, which is confirmed mentioned above, would not have produced the different sensitivity to red light among 4 varieties.