自交不親和性葉深甘藍系統的生理與遺傳之研究(一)

Studies on the Genetics and Physiology of Self-incompatibility Strain Yehsen Cabbage(1)

沈再發

by

Tzay-Fa Sheen

摘 要

- 1.本試驗為探求葉深甘藍之抽苔特性,及所育自交不親和性系統之後代的遺傳情形,更進一步探求自交不親和性與親和性柱頭上之花粉的發芽情形與柱頭上在物質上的差異。
- 2.葉深甘藍對於低溫之要求,只要較高的低溫(17 以下)就能感應。其感應之苗齡,隨著苗齡之愈大,對低溫愈為敏感,莖粗達低於 4.5mm 以下時,雖遇多長的低溫,還是不能感應。
- 3.不親和性葉深甘藍 21-2-1-1-2-1 的後代六個體,其自交不親和性檢定,仍皆為自交不親和性。而此六個體間之相互交配,親和性幾為 0 或近於 0。再與其親本之交配親和性檢定結果也為 0 或近於 0,而其花粉雖發芽,但不能侵入柱頭。
- 4.自交親和性與自交不親和性,柱頭之氨基酸及糖之種類上,自家親和性之柱頭具有較高 Alanine, Glutamic acid, Histidine 及 Tryptophan 含量。
- 5.此種物質上之區別,在自交不親和性系統的老花具有偽稔性之柱頭上,是否有此等物質存在,尚有待追究。

一、前言

十字花科蔬菜在我國蔬菜園藝上佔著很重要的位置。其育種之主體為利用自交不親和性 (Self-incompatibility), 以採取雜交 F_1 品種。此種 F_1 品種之優點,

非僅是雜交優勢(heterosis)之利用,而且其形質之優良性,均一性及永續性等更非普通固定品種所能比④。所以自第二次世界大戰後,利用自交不親和性育成

^{*}本研究得國科會之研究費,稿成後承莊場長紓斧正,謹此一併致謝。

^{*}本文發表於台灣省政府農林廳種苗繁殖場試驗報告

 F_1 及採種體系建立之後,各國對 F_1 品種之栽培面積急速的增加。最近本省甘藍之栽培近乎百分之百用自日本進口之 F_1 品種。③。

本省過去很有名的在地種葉深甘藍,雖然具有耐熱,球葉甜而柔軟等之優點,但是由於產量低又不整齊,所以隨著 F₁ 品種之出現,而農民就不再種植了。日本引進此葉深甘藍做為育種材料,在民國 39 年(昭和 25 年)以後,解決了過去一向沒有夏季品種栽培之困難受,並對此葉深甘藍多為研究,在栽培及生理上就有很多之報告臺區學學園園園,但是在遺傳育種上之研究,或許因種子公司利益的關係,很少看到此種資料,本省也素無此類報告。本報告即以葉深甘藍及幾年來所分離之葉深甘藍自交不親和性系統為材料行其抽苔性之調查,並分析此不親和性系統之後代的遺傳情形,更進一步試探其自交不親和性之生理機構,以作為今後育種及採種之基礎資料。

二、材料及方法

(一)材料:葉深甘藍及自交不親和性葉深甘藍系統 21-2-1-1-2-1。

(二)方法:

1.抽苔性之調查

A.低溫感應之臨界溫度 (Critical temperature)調查:以葉深甘藍為材料,於 11 月 25 日播種,並於次年 2 月 25 日莖粗達 12mm 以上時,分別在冷藏庫 10°± 2 ,15°±2 及 20°±2 三種的低溫處理。低溫完畢後,置於 25 以上溫室內調查其開花情形。

B.苗齡與低溫期間關係之調查。

為分別苗齡大小不同起見,分別在 11 月 25 日,12 月 26 日及 1 月 20 日行 三次播種。於 2 月 25 日三次所播種之苗,達所預期大小時,將三次之苗同時行 7°±2 之低溫處理,並留部份苗不行低溫處理而作為對照用。在低溫處理 10 日,20 日及 30 日後,各取出 6 株於溫室內,同樣行抽苔調查。其低溫處理開始時苗的大小如表 1 及圖 1。

上二項之低溫處理方法,均將苗生長達預定大小時,整株挖起,放於水苔上 再行低溫處理。

表 1. 低溫處理開始時苗的生長狀態

Table 1. The growth status of cabbage at the beginning of low temperature treatment

Tines of sowing	Sown on	Sown on Stem diameter	
			expanded leaves
	Nov.25	12.1	13.2
	Dec.26	6.9	5.6
	Jan.25	4.5	39.

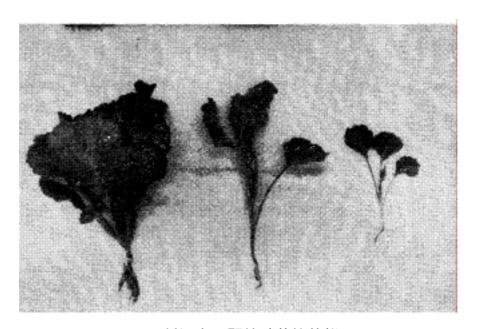


圖 1.低溫處理開始時苗的狀態

2.自交不親和性後代之遺傳情形

將自交不親和性系統於 9 月 5 日播種,10 月 6 日任選 6 株定植於 10 吋素燒盆內,於 2 3 月開花期,行下列三項之檢定:

- (1)自交不親和性檢定:各株選發育中庸之花苔,開花前先行用硫酸紙套袋,開花時以毛線繋結蕾部分及開花部分,以當日開之新鮮花粉,將蕾部分 20 朵蕾及開花部分 15 朵蕾,同時行蕾期授粉(Bud pollination)及開花授粉(Open pollination),於 5 月種子成熟時,以毛線為起點往上(蕾)及往下(開花部)之順序,計算每莢之稔實種子數。
- (2)系統內之交配親和性與不親和性檢定:於每株之花苔上約20朵花開時, 將此6個體行相互間之開花授粉,種子成熟時,收穫並計算每莢之平均種子粒數
- (3)後代(progeny)與親本之交配親和性與不親和性檢定:將此6個體分別 與其親本,如(2)方法行開花授粉,並計算每莢之平均種子粒數。

3.自交不親和性之生理追究

(1)花粉之發芽測定:自交不親和性系統及親和性葉深甘藍,於蕾期先行除 雄套袋,於開花時,選當日開之花朵行自交授粉。授粉後 16 小時,由柱頭採取 樣品(sampling),並即用醋酸 Carmine 加熱後,切取切片,於顯微鏡下檢查花粉在柱頭上之發芽情形。

(2)柱頭上之成分分析:將自交不親和性系統與親和性葉深甘藍,各切取開花的柱頭 0.3 公克,材料磨碎後以 75%酒精抽出,放置一夜後過濾,再將濾液濃縮 取試料時添加 0.5cc 之蒸餾水,用毛細吸管將 0.05ml 試料,點於 Whatman No.1 濾紙之原點上,以 Paper Chromntography 上昇法展開游離氨基酸類與糖類,並同時以純粹氨基酸和糖類展開作為對照用。氨基酸類以二次展開法第一次 Butyl Alcohol:醋酸:水=4:1:5(v/v),第二次 Phenol(80%)以 Ninhydrin 為檢出藥劑。糖類以一次展開法,Butyl Alcohol:醋酸:水=4:1:5(v/v),絲條法(Streifen)行之,並用Triphenyltertrazodium Chlorid (T.T.C.). Phloroglucin 及 Benzidine 為檢出藥劑。

三、試驗結果

在溫度感應方面;以莖粗達 12mm 以上(本葉 13 以上)之苗,行不同溫度之處理,其對抽苔之影響如表 2。10°±2 行 15 日處理,處理株數全數抽苔並有 100%之結實率。15°±2 時、20 株中 18 株抽苔,而有 70%之結實率。而在 20°±2 之低溫處理,其抽苔株數是 0,完全不抽苔開花。

在不同苗齡與低溫期間之關係方面;如表 3,第一期播種者,苗之莖粗在 12.1mm,無論 10日,20日及 30日的 7°±2 低溫處理,都可全數抽苔及 100% 的結實率,第二期播種者,苗之莖粗在 6.9mm,10 低溫的抽苔及結實率為 33.3%, 20 日的低溫為 66.7%,30 日的低溫為 83.3%低溫期愈長,其抽苔及結實率隨之 增高。至於第三期播種者,苗之莖粗為 4.5mm,雖然有 10日,20日,甚至 30日的 9°±2 低溫處理也不能抽苔開花。

(二)葉深自交不親和性系統後代之遺傳情形

自交不親和性系統 21-2-1-1-2-1,由蕾期授粉得到之後代,任取 6 個體,此 6 個體之代號,自去年之號碼後面分別再加-1,-2,-3,-4,-5,-6。其每個體行自交不親和性檢定之結果如表 4。六個體的開花授粉部分,每莢之種子粒數為 0 或幾乎近於 0,即開花授粉沒有捻性。而蕾期授粉部分都具稔性,大抵在第 6 到第 15 莢有較高的稔性,所以此六個體判定全部仍為自交不親和性。

表 2. 不同溫度對葉深甘藍之大苗的抽苔影響

Table 2. Effect of different low temperature exposure at large seedling stage of Yehsen cabbage on bolting.

處 理 溫 度	低溫日數	處 理 株 數	抽苔株數	結 實 率
Temperature	No. of days	No. of plants	No. of plants	Percent of
exposed	exposed	No. of plants	bolted	seedre

10°±2	15	20	20	100%
15°±2	15	20	18	70%
20°±2	15	20	0	0%

表 3. 不同苗齡的葉深甘藍與低溫期間之關係

Table 3. Relation between different size and period of low temperature (7°±2) at bolting in Yehsen cabbage.

播種期別 Times of sowing	低温日數 No. of days exposed	低溫開始日期 Low temperature began on	低溫結束日期 Low temperature ended on	抽苔株數 處理株數 No. of plants bolted/No of plants exposed	結實率 Percent of seeder
	0	-	-	0/6	0%
	10	Feb.25	Mar. 6	6/6	100
	20	Feb.25	Mar. 16	6/6	100
	30	Feb.25	Mar. 26	6/6	100
	0	-	-	-	0
	10	Feb.25	Mar. 6	2/6	33.3
	20	Feb.25	Mar. 16	4/6	66.7
	30	Feb.25	Mar. 26	5/6	83.3
	0	-	-	0/6	0
	10	Feb.25	Mar. 6	0/6	0
	20	Feb.25	Mar. 16	0/6	0
	30	Feb.25	Mar. 26	0/6	0

此六個體之個體彼此此間行開花授粉,其親和性與不親和性以每莢平均種子 粒數列如表 5。此六個體交配之稔性很低,全為稔性 0 或近於 0。

再將此六個體與其親本 21-2-1-2-1 行回交(Back-cross)以檢定親本 21-2-1-1-2-1 與其後代(progeny)的開花授粉親和性與不親和性,交配結果每莢 平均種子粒數如表 6。子代的六個體和親本都成稔性 0 或近於 0,最多的子代第 四個體與親本之每莢種子數為 0.6 粒。

表 4. 21-2-1-1-2-1-自交系之自交不親和性檢定

Table 4. Test of self-incompatibility of inbred line 21-2-1-1-2-1-

	Par	花部 ts of op ollinatio	en	蕾 部 分 Parts of bud pollination			自交不親和性之判定 Identify of	
	1-5	6-10	11-15	1-3	6-10	11-15	16-20	self-incompatibility
1	0	0	-	2.0	6.0	7.6	1.6	self-incompatibility
2	0	0	0	3.0	4.6	2.0	0.4	"
3	0	0	1	6.4	5.0	4.8	1	"
4	0	0	-	1.2	3.6	3.6	0.3	"
5	0	0	0	4.8	6.2	4.3	-	"
6	0	0	0.2	5.6	5.6	4.0	-	"

表 5. 21-2-1-1-2-1-自交系內之交配稔性檢定

Table 5. Test of cross-compatibility in inbred line 21-2-1-1-2-1-

	1	2	3	4	5	6
1		0	0	0	0	0
2	0		0	0.8	0	0.7
3	0.7	1.6		0	0	0.1
4	0	0	0.4		0.5	0
5	0	0	0.2	0		0.4
6	0.5	1.5	1.2	0	0	

表 6. 21-2-1-1-2-1-自交系後代與其親本之交配稔性表

Table 6. Test of cross-compatibility between progeny of inbred line 21-1-1-2-1- and its parent.

	21-2-1-1-2-1-					
	1	2	3	4	5	6
21-2-1-1-2-1-	0	0	0	0.6	0.2	0.1

(三)自交不親和性系統之生理追究

自交不親和性系統 21-2-1-1-2-1 及具親和性之葉深甘藍,各行自交開花授粉,於授粉後 16 小時,觀察花粉在柱頭上之發芽情形如圖 3 之(A)及(B)。自交不親和性系統之花粉在柱頭上發芽了,但花粉管之伸入受柱頭抑制,不能穿

入柱頭表面之角質層(cuticule)及通過果膠層(pectin),而具自交親和性之葉深甘藍,在同一時間內,花粉之發芽正常又迅速,花粉管已伸入柱頭之角質層(cuticule)並進入了果膠層(pectin)及纖維質層(cellulose)而深入組織內。



A.自交不親和性 Self-incompatibility



B.自交親和性 Self-compatibility 圖 3. 自交 16 小時後花粉之發芽情形

Fig 3. The germination stage of pollen after 16 hrs. self-pollinated.

在自交不親和性系統與親和性葉深甘藍的柱頭上,經 Paper Chromatography 展開後,其游離氨基酸及糖類的差異如表 7 及表 8。兩者在物質種類上,並沒有發現很大的差異,而可見到某種物質在量的方面有些不同,如游離氨基酸方面,自交親和性的柱頭上之 Alanine. Glutamic acid, Histidine 及 Tryptophan 比較在同樣情形之自交不親和性系統量多。糖類方面也是同樣,在自交親和性的 lucose 比較

不親和性為多。

表 7. 自交親和性與不親和性柱頭上存在之游離氨基酸的差異情形

Table 7. The differences of free amino acid exited in stigma of self-compatibility and-incompatibility

Amino acid	Self-compatibility	Self-incompatibility
L-Alanine	+	±
L-Arginine acid	+ +	+ +
L-Aspartic acid	+ +	+ +
L-Cystine	+ +	+ +
L-Glutamic acid	+ +	+
Glycine	-	-
L-Histidine	+ +	+
L-Isoleucine	+	+
L-Leucine	-	-
L-Lysine Hcl	-	-
L-Methionine	+	+
L-Phenylalanine	+	+
L-Proline	+	+
L-Serine	+	+
L-Threonine	+	+
L-Tryptophan	+	±
L-Valin	+	+

表 8. 自交親和性與不親和性柱頭上存在之糖類的差異情形

Table 8. The differences of sugar in stigma of self-compatibility and-incompatibility

糖類	自交親和性	自交不親和性
Sugar	Self-compatibility	Self-incompatibility
Ribose	-	-
Fructose	+	+
Glucose	+ +	+
Maltose	-	-
Saccharose	+	+

四、討論

葉深甘藍之抽苔性,需較大的苗齡對低溫才能感應,並不需很低的低溫也能花芽分化學,所以溫帶地區之秋冬栽培,結球性很低,容易抽苔開花,略遇低溫時就難結球或結球鬆、篠原(1959)旱葉深甘藍之低溫感應性,依其發育之階段,

認為進入第一相所謂感溫相(Thermophase)及進入第二相所謂感光相(Photo-phase)都很淺。本試驗以莖粗 12mm,行 10°±2 15 之低溫處理 15 日,有 100%之抽苔開花。甚至 15 日的 15°±2 低溫,也有 70%抽苔開花,而 20°±2 的低溫,完全不感應而不抽苔開花。可見葉深甘藍的低溫感應之臨界溫度就在 17 ,維持營養生長得在 18 以上溫度。在苗齡大小(size)對低溫感應與否的問題,本試驗的苗齡莖粗在 12.1mm 時,僅 10 日的 7°±2 就完全抽苔開花。莖粗在 6.9mm 時,無論 10 日、20 日及 30 日的低溫,其抽苔開花率,都未達 100%,而莖粗在 4.5mm 以下的苗,無論多長的低溫期間,還是不感應。伊東(1961) 閏稱葉深甘藍在莖粗 4mm 以下時,就對低溫不感應。與本試驗大抵有一致之結果。

再從低溫感應之期間看:12mm 以上只要 10 日低溫就完全抽苔開花、即苗齡之愈大者,在短期間內就感應。苗齡在 6.9mm 時,10 日之低溫也有 33.3%之抽苔率,可見葉深甘藍於達到低溫感應之苗齡,很短的低溫期間就有抽苔開花的危險。因此就本省氣溫而論,秋冬之栽培,如在中北部地區,10 月中旬以後播種之苗,在 12 月已達感應狀態,適逢氣溫降到感應溫度以下,所以經濟栽培已是不可能。以經濟栽培者,宜在 9 月底前播種為宜。相反的,以採種栽培者,則在 10 月中旬以後為理想之時期。

再就此六個體與其親本 21-2-1-1-2-1 行回交之結果,每莢種子之粒數也是零或近於零,最多也不過 0.6 粒,可見此六個體之不親和性遺傳因子與親本之因子,在遺傳上雖尚未能判定為相同,但在育種上已具利用價值。

自交不親和性之遺傳機構有兩種:一為配偶子型(Gametophytic Type),一為胞子體型(Sporophytic Type),Brewbaker (1957) 当指出屬於前者,其自交授粉時,花粉管之伸長在柱頭內受抑制,而屬於後者,其自家授粉時,花粉管之伸長是在柱頭上就受抑制。本試驗在授粉十六小時,自交不親和性之花粉,雖然在柱頭上發芽,但花粉管之伸長幾乎停止,在柱頭上就受到抑制。而自交親和性之花粉,在同一時間內,其花粉管經角質層(Cuticule)通過果膠層(pectin)及纖維層(Cellulose),並進入誘導組織,可見葉深甘藍之自交不親和性仍是胞子體型(Sporophytic Type),Linskens(1961) Kroh (1966) 以胞子體型之自交不親和性行他家授粉時,花粉管可將柱頭之一部角質層(cuticule)溶解,柱頭上之濕度因而提高,花粉之發芽良好。而行自交授粉時,花粉管不能通過柱頭之角質層,則濕度條件一良,結果花粉發芽也不良。本試驗雖沒有測其濕度,但此現象頗有類似之處。

在另一方面,建部(1947) 言用蘿蔔為材料,以自家柱頭與他家柱頭的汁液加入培養基內,觀察花粉之發芽率及花粉管之伸長度有所差異。又開花部及蕾部之自家柱頭也有同樣之差異。因此認為在柱頭內具有自家授粉的抑制物質存在。將此見解更進一步發展後,即為柱頭上之 Cuticule、Pectin 及 Cellulose 層之含有物質,為花粉管之伸長抑制之可能。本試驗所得柱頭上的游離氨基酸之種類,具有自交親和性者,其 Alanine、Glutamic acid、Tryptophan 及 Histidine 較不親和性者為高,在糖類上 Glucose 也較不親和性者為高。

Konar 和 Linskens (1966) 對以矮牽牛 (petunia) 柱頭之角質層 (cuticule)與柱頭細胞間有多量之分泌液存在,花粉經角質層進入此分泌液中,接觸柱頭細胞後開始發芽進入組織。Christ (1959) 問認為自交不親和性為花粉管之 Chitinase,受柱頭之抑制,他家花粉管之 Chitinase,在柱頭上而成活性。此 Chitinase,能使Cellulose 和 Chitin 類之 Polysaccharides 的構造分解。Chitin 分離成為N-acetylglucosamine。

依 Fruton 及 Simmonds (1958) 氢氨基酸類之代謝, Alanine 成 Polypetide 狀多量存在於細胞壁, Glutamic acid 為負有氮素代謝的主要任務, Histidine 亦同具此作用。而 Tryptophan 則-(NH₃) Indoly1-3-pyruvic acid -(CO₂) I.A.A.變成植物荷爾蒙。此等物質,於具親和性之柱頭上存有較多量。到底係柱頭本身所具有的,或本身花粉授粉後,由 Chitinase 作用而產生之物質,尚不得而知。所以本試驗雖已得此物質之不同,而此物質之來源,更有求知之需要。如以自交不親和性系統之老花具有偽稔性(Pseudogamy)時,此老花之柱頭是否在物質上有同樣的變化,當留待追究,以明此物質之產生。

參考文獻

- 1.沈再發 (1970): 利用自交不親和性育成甘藍之一代雜種(一)中國園藝。 16(3):26-30。
- 2.沈再發、劉昌碧 (1971), 利用自交不親和性育成甘藍之一代雜種(二)。中國園 藝 17(4):198-203。
- 3.經濟部商品檢驗局編印 (1969): 檢驗統計要覽 18:159-166。
- 4.治田辰夫 (1968): 蔬菜生素コ玉コヂロ 系育 百種的利用,第 9 回日本育種 學會系ピロ る て 報告,育種學最近 11 進步,日本,養賢堂 73-86。
- 5.建部民雄 (1947): 打 🤊 🕆 🗈 自家受精 🗈 妨 ォ 五抑制物質 生關 🕏 五研究。日本園藝學會雜誌 16:106-125。
- 6.渡邊誠三 (1954): 甘藍品種 🛚 生態的研究 日本農技研究報告 E3:1-112。
- 7. 熊澤三郎 (1965): 甘藍 蔬菜園藝各論 日本養賢堂 407-427。
- 8. 篠原捨喜(1942): 甘藍 四一代雜種採種法。日本園藝學會雜誌 13(4):344-349。
- 9.篠原捨喜(1959): 抽苔開花 🛮 種生態學的研究。日本靜岡縣農試特別報告 6。
- 10.Brewbaker J.J. (1957): Pollen cytology and self-incompatibility system in plant. Jour. Hered. 48:271-277.
- 11.Christ, B. (1959): Entwicklungeshichtliche and physiologische untersuchungen uber die selbststerilitat von cardamine pratensis. J. Bot. 47:88-112.
- 12.Eguchi T. and K. Kagawa (1955a): Studies on the seed production in cabbage. 1. On the differentiation and development of terminal flower buds in cabbage. Bull. Nat. Inst. Agr. Sci. Jap; Ser. E 4:217-224.
- 13.Ito, H. and T. Saito (1961): Time and temperature factors for the flower formation in cabbage. Japan Tohoku Jour. Agr. Res. 12(4): 297-316.
- 14.Konar, R. N. and H. F. Linskens (1966a): The morphology and anatomy of the stigma of petunia hybrid. Planta 71:356-371.
- 15.Kroh (1966): Reaction of pollen after transfer from one stigma to another. Zuchter 33: 185-189.
- 16.Joseph. S. Fruton and Sofia Simmonds (1958): Special aspects of amino acid metabolism. General Biochemistry P. 771-846.
- 17.Linskens, H. F. (1961): Biochemie der Inkompatibilitat bei der Befruchtung der Blutenpflanzen. Ber. dtsch. Bot. Ges. 74:329-332.
- 18.Nakamura E. (1961): Seed-vernalization of the cabbage I. Effect of seed-vernalization on the flowering in cabbage. Jap. Hort. Assoc. Jap. 30:57-62.

Summary

- (1) This paper reports of various tests done during last year, 1970-1971, on the following subjects:
 - 1.Bolting behavior of the strains of var. Yeshen cabbage, which had been selected for years as promising parent-stocks for developing new hybrid F1 varieties.
 - 2.The genetic outcomes of their F1 generation of those strains which already acquire self-incompatibility.
 - 3. Substantial differences between stigmas of those strains acquire self-incompatibility and those remain compatibile on selfing, in hope to find, if possible, a short-cut way to determine the acquiring of self-incompatibility of plant without tedious selfing procedure after flowering.
- (2)It seems that it could be sure after the test that Yeshen cabage bolts when temperature under 17 occurs, rather high a low-temperature required as compared to most cabbage varieties. The sponsibility of the plant to the low-temperature denpends uon its age or size. The older or larger one are more sensitive. Those with a diameter of the stem less than 4.5mm. do not bolt even a long, lower temperature occurs.
- (3)The six progenies of 21-2-1-1-2-1 strain, which had been identified to be self-incompatible in last year test, remained self-incompatible. Crossing between the progenies, and between them and their mother strains showed no sign of compatible. Pollens gemin ated on the stigma but failed to penetrate cuticle layer of the stigma.
- (4)After paper chromatography test, it showed that there is quite a difference in the content of amino acid and sugar between the juices abstracted from the stigmas of the plant that acquires self-incompatibility and of that acquires none. The later contents more alanine, glutamic acid, tryptophan histidine and glucose.
- (5)Question arised that the older flower, say, 4-5 days after opening, are usually could be selected in the self-incompatibile plant which is known as pseudogamy in pollination. Is there any difference of the content between the stigmas of th older flower and of newly opened flower of same plant is subjected to further investigation.