

自交不親和性葉深甘藍系統的 生理與遺傳之研究(二)

Studies on the Genetics and Physiology of
Self-incompatibility Line in Yehsen Cabbage(2)

沈再發

by

Tzay-Fa Sheen

摘 要

1.本試驗係繼續探求葉深甘藍系統的遺傳情形，並進一步探求自交不親和性系統之老花期具偽稔性的柱頭在物質上與蕾期及開花期的差異。

2.自交不親和性葉深甘藍系統 21D-2-1-1-2-1 之後代，全為自交不親和性個體，其系統內(個體間)之交配除二組合外，其他組合全為不親和性。21D-2-1-1-2-4 之後代六個體中，有五個體為自交不親和性，一個體為自交親和性，其系統內之交配，則親和性與不親和性，呈不規律變化。所以此二系統間，雖然雜交具親和性，但於系統內之不具相同 S 複相拒因子，作為雙雜交或三雜交之材料尚為困難。

3.自交不親和性葉深甘藍為孢子體自交不親和性型。而自交不親和性個體後代之有自交親和性個體出現，係由花粉與柱頭之相拒因子之顯隱性方向不一致的結果。如以 S_1S_2 為遺傳因子型時，在雌蕊的 S_1 的顯性，在花粉則以 S_2 為顯性，其自交時 S_1 的柱頭，由於花粉 S_2 之授粉而可為自交親和性。

4.經成分分析結，在蕾期的柱頭上，含有較高量之 Alanine, Glutamic acid, Histidine 及 Glucose 開花期則漸為減少，而老花期此等物質又增加。

*本研究得國科會之研究補助費，稿成後承莊場長斧正，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。

一、引言

甘藍為葉菜中極重要之蔬菜，依本省農林廳統計，民國五十九年全省之栽培面積為 12.159 公頃⁽⁶⁾。而究此種子之來源，全購自日本進口之雜交一代種子。民國五十九年進口竟達 11,329 公斤⁽⁵⁾，種子昂貴，零售每磅 1,000-1,200 元，因此每年僅甘藍種子外匯約千萬元，並且此進口之品種耐熱性差，不適用於本省夏季之平地栽培用，為節省外匯及尋求適用於本省夏季栽培品種，本場自民國五十三年起，開始利用自交不親和性 (Self-incompatibility) 以育成適合於亞熱帶栽培之早生及高溫結球性 (Hot hardiness) 的雜交一代為目標，在五十八年將分離之優良系統組合檢定結果，發現以本省熱帶型品種葉深系統為親本的交配組合最適合于目前育種目標⁽¹⁾，並在五十九年選出此優良組合之系統⁽⁴⁾。

為進一步深究起見，一方面再將此所選系統之後代，行系統內及系統間的交配，以確認不親和性之固定及不親和系統間之交配稔性情形，作為雙雜交 (Double cross) 或三雜交 (Triway cross) 之資料。另一方面則進一步以自交不親和性系統，探究其老花具親和性，所謂偽稔性 (Pseudogamy) 之奧秘，藉以判定物質上之區別，以供育種及採種材料之選拔標誌，期能將來可作為促進選拔育種之程序。

二、材料及方法：

(一)材料：

系統名	自交世代	親本品種名	備註
21D-2-1-1-2-1	6	葉深世藍	
21D-2-1-1-2-4	6	葉深世藍	

將上列材料二系統之後代、各任意選出 6 株為材料。

(二)方法：

1.自交不親和性檢定 (Test of self-incompatibility)：

在開花前先以 12cm × 36cm 硫酸紙套行套袋，在花苔上 10-15 朵花開時，以毛線繫結分為上半段蕾期部份與下半段開花部份，並以當日開的新鮮花粉，將開花部份 10-15 朵花及蕾部份 20 朵蕾，同時行開花授粉 (Open pollination) 及蕾期授粉 (Bud pollination) 種子成熟時，以毛線為起點，往上及往下分別計算，每莢平均種子在 0.3 粒以下者為自交不親和性，以上者為親和性。

2. 系統內交配檢定 (Test of cross-compatibility in inbred line)

二系統後代之 6 個體間，分別行系統內 (株間) 相互雜交。其方法同樣於花開前，以硫酸紙套袋，於花苔上開約 20 朵花時，行相互間的開花授粉，種子成熟時計算其每莢平均種子粒數，並判斷其交配親和性程度。以觀察系統內之固定與否。

3. 系統間交配檢定 (Test of cross-compatibility between inbred line):

將二系統間行適當之相互雜交。同樣於花苔約 20 朵花時，以開花授粉，種子成熟時，也計算每莢平均種子粒數，檢定此二系統間之親和性程度，決定是否可為雙雜交或三雜交之材料。

4. 自交不親和性與偽稔性之生理追究 (Physiological investigation on self-incompatibility):

(1) 花粉之發芽測定：分老花部份與開花部份。

於蕾期先行除雄，套袋經 4-5 天後再以新鮮花粉行授粉。以 4-5 天前所開之花為老花部份，而當天開之花為開花部份。授粉後 15 小時，摘取柱頭，隨即以手切法切取切片，以 Cotton blue 為染色液，觀察花粉在柱頭上之發芽狀態。

(2) 柱頭之成分分析：

將自交不親和性之老花與蕾期，分別切取柱頭 0.3 公克，並以研鉢磨碎後以 75% 酒精抽出，放置一夜後過濾，再將濾液濃縮。取試料時添加 0.5c.c. 蒸餾水，用毛細管取同量之試料，點於 Whatman No.1 濾紙上，在 20 定溫下以紙層分析法 (paper chromatography) 上昇法展開游離氨基酸與糖類，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) 絲條法行之，以 Benzidine, Triphenyl tetrazodim chlorid (T. T. C.) Phloroglucin 為檢出藥劑。

三、試驗結果：

(一) 自交不親和性檢定：

所用 21D-2-1-1-2-1 及 21D-2-1-1-2-4 二系統，在五十九年度之自交稔性調查如表 1、二系統皆為自交不親和性。

此二系統由蕾期授粉所得之種子，於六十年九月廿四日播種，播種後每系統各任選六株，以 10 寸素燒盆栽於玻璃室內。並每株將其編號，在各該系統號碼後面加上-1、-2、-3、-4、-5 及-6，並於六一年三月至四月開花期間行自交不親和性檢定，其結果如表 2。

表 1. 五十九年度自交系花位別之稔性表

Table 1. Test of self-incompatibility of 21D-2-1-1-2-1 and 21D-2-1-1-2-4 1970.

系 統 Line	開 花 部 分 Parts of open pollination			蕾 期 部 分 Parts of bud pollination				備 註 remark
	1-5	6-10	11-15	1-5	6-10	11-15	16-20	
	21D-2-1-1-2-1	0	0	0	6.6	16.8	8.7	
21D-2-1-1-2-4	0	0	0	3.4	2.0	4.5	0	自交不親和性

21D-2-1-1-2-1 之六個後代，大抵都是自交不親和性。而 21D-2-1-1-2-4 則五個後代為自交不親和性，而有一個為自交親和性。

(二)系統內之交配親和性檢定：

在 21D-2-1-1-2-1 系統內（兄弟間）其相互雜交稔性，以-6 個體為母本，以-2 及-3 個體為父本時，其每莢種子平均具有 1.0 及 1.2 種子。但是其相反交配時-2 -6 為 0.3 粒，-3 -6 為 0 粒。其他個體間之雜交稔性也都在平均一個種子以下（表 3.A）。而 21D-2-1-1-2-4 系統內之交配，則較為複雜，以-1 個體為母本，以-3 為父本時，其稔性平均每莢達 3.4 個種子，其相反交配（-3 -1）時達 3.6 個種子，-5 -3 亦達 3.5 個種子（-3 -5 則為 0）。-4 -2，-5 -1，-5 -4 每莢都在 2-3 粒之間，而-1 -4，-3 -2，-3 -4，-3-6，-4 -1 每莢在 1-2 粒之間，其他交配才在 1 粒種子以下。

(三)系統間之交配稔性調查：

21D-2-1-1-2-1 及 21D-2-1-1-2-4 兩系統間之相互交配所得之種子稔性如表 4。無論那一系統為母本或父本皆表現具有高度之親和性。

(四)自交不親和性與偽稔性之生理追究：

除雄後 4-5 天的老花與當天開花，以新鮮花粉同時授粉，在 15 小時後檢查其發芽情形如圖 1 之 A、B。開花部份之花粉雖然發芽了，但花粉管遇到柱頭乳狀突起細胞 (Stigma papillae) 就受角質層 (cuticule) 之抑制不伸長了。老花授粉方面，在 15 小時後，花粉管已通過了柱頭之角質層 (cuticule)。

表 2. 六一年度自交系花蕾別稔性表

Table 2. Test of self-incompatibility of inbred line in 1972.

A. 21D-2-1-1-2-1

No.	開 花 部 分 Parts of open pollination			蕾 期 部 分 Parts of bud pollination				備 註 remark
	1-5	6-10	11-15	1-5	6-10	11-15	16-20	
1	0.2	0.2	-	4.6	7.6	4.3	-	S
2	0.1	0	-	0.8	3.6	1.3	-	S
3	0	0	0	1.7	1.9	1.9	1.7	S
4	0	0	0	4.5	1.7	4.8	4.5	S
5	0.1	0	-	3.8	9.0	2.3	-	S
6	0	0	-	1.6	0.8	1.0	-	S

S 自交不親和性 Self-incompatibility

F 自交親和性 Self-compatibility

B. 21D-2-1-1-2-4

No.	開 花 部 分 Parts of open pollination			蕾 期 部 分 Parts of bud pollination				備 註 remark
	1-5	6-10	11-15	1-5	6-10	11-15	16-20	
1	0	0		3.2	4	2.5	0	S
2	0.3	0.3	-	2.8	9.8	112.	7.0	S
3	0.1	0.2	-	8.4	5	6	-	S
4	0	0	-	1.4	11.6	9.8	4.0	S
5	0.2	0.2	-	1.2	4.4	15.6	10	S
6	1.1	2.4	-	3.2	7.7	6.1		F

表 3. 系統内交配稔性表

Table 3. Test of cross-compatibility in inbred line

A. 21D-2-1-1-2-1

	1	2	3	4	5	6
1		0	0	0	0.1	0.6
2	0.2		0.2	0.	0	0.3
3	0.8	0		0	0	0
4	0.1	0.9	0.1		0	0
5	0.3	0	0	0		0.3
6	0.2	1.0	1.2	0.3	0.2	

B. 21D-2-1-1-2-4

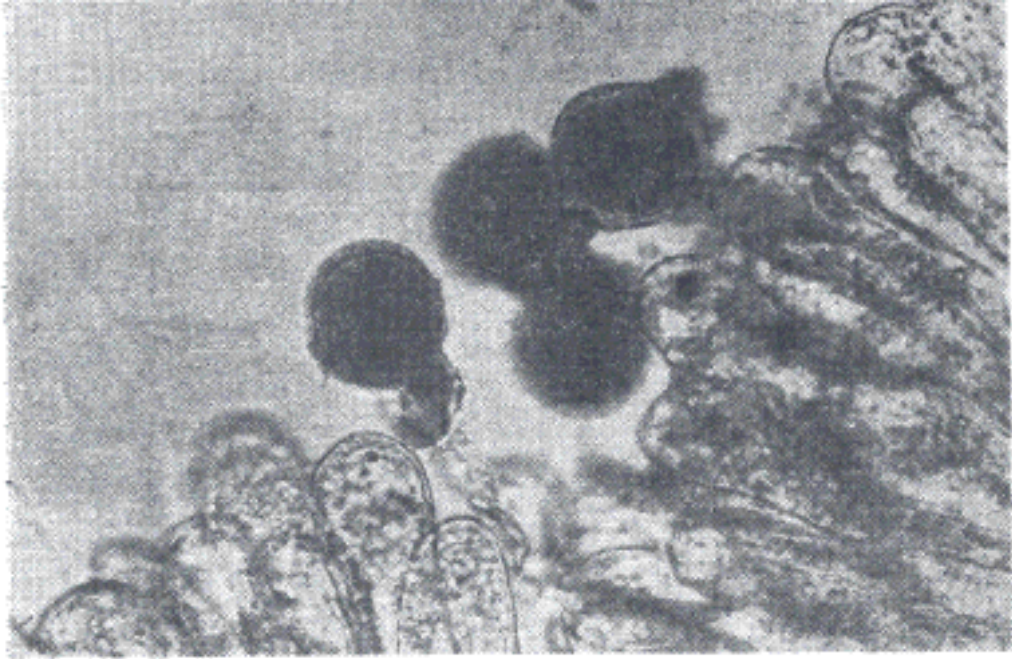
	1	2	3	4	5	6
1		0.1	3.4	1.5	0.9	0.2
2	0.3		0.8	0.9	0.3	0.8
3	3.6	1.1		1.1	0	1.0
4	1.3	2.5	-		0.4	0.3
5	2.3	0	3.5	2.3		0.8
6	0.4	0.5	0.7	0.3	0.2	

表 4. 品系間之交配稔性表

Table 4. Test of cross-compatibility between inbred line.

		21D-2-1-1-2-4					
		1	2	3	4	5	6
21D 2 1 1 2 1	1	4.9					
	2		5.6				
	3			0.8			
	4				4.2		
	5					10.1	
	6						8.2

		21D-2-1-1-2-1					
		1	2	3	4	5	6
21D 2 1 1 2 1	1	4.6					
	2		8.0				
	3			5.8			
	4				6.3		
	5					8.2	
	6						7.2



A. 開花期部份
Parts of flowering stage



B. 老花期部分

Parts of older flower stage

圖 1. 自交 15 小時之柱頭與花粉之發芽情形

Fig. 1. The state of stigma paillae and pollen grains 15 hours after self-pollination.

表 5. 柱頭上存之游離氨基酸之差異情形

Table 5. The differences of free amino acid existed in stigma of different flower stage.

游離氨基酸 Free amino acid	蕾 期 Bud stage	開 花 期 New flower stage	老 花 期 Older flower stage
Alanine	+ + +	+ +	+ + +
Argining Hcl	+	+	+
Aspartic acid	+	+	+
Cystine	-	-	-
Glutamic acid	+ +	+	+ +
Glycine	-	-	-
Histidine	+ +	+	+ +
Leucine	-	-	-
Isoleucine	-	-	-
Lysine Hcl	±	+	±
Methionine	±	±	+
Phenylalanine	-	-	-
Proline	-	-	-
Serine	+ + +	+ +	+ +
Threonine	-	-	-
Tryptophan	-	-	-
Valin	+	+	+

至於不親和性系統，其老花具有偽稔性存在的柱頭，分蕾期，開花期與老花期，經紙層分析法 (paper chromatography) 展開後，其游離氨基酸及糖類之差異情形如表 5 及表 6 除蕾期含有較高量之 Serine 開花期則含有較高量之 Lysine 外。最主要的是 Alanine，Histidine 及 Glutamic acid 之消長情形，頗值得注意。在蕾期含量多，而開花期減少些，到老花期又略為增加。在糖類方面，除了 Glucose 也具有同樣之傾向外其他看不出有任何差別。

表 6. 柱頭上存之糖類的差異情形

Table 6. The differences of sugars existed in stigma of different flower stage.

游離氨基酸 Sugar	蕾 期 Bud stage	開 花 期 New flower stage	老 花 期 Older flower stage
Ribose	-	-	-
Fructose	+	+	+
Glucose	+	±	+
Maltose	-	-	-
Saccharose	+	+	+

討 論

葉深甘藍 21D-2-1-1-2-1 的後代 6 個體全為自交不親和性 (表 2.A), 而 21D-2-1-1-2-4 的後代 6 個體中, 5 個體為自交不親和性, 1 個體為自交親和性 (表 2.B)。至於二系統內之相互雜交結果: 21D-2-1-1-2-1 之後代大部分稔性很低, 也即為雜交不親和性。但是有些個體間卻有低的稔性存在 (表 3.A) 而 21D-2-1-1-2-4 之個體相互間, 雖然部分為雜交不親和性, 表現幾乎近於 0 粒種子, 但是卻有許多個體間雜交具有相當高的稔性 (表 3.B)。在 21D-2-1-1-2-1 後代之另外 6 個體, 也表現全為自交不親和性, 個體間之雜交稔性, 也大致有相同結果⁽²⁾。但葉深甘藍系統 D-1-0-6, 則由自交親和性出現自交不親和性, 再由此自交不親和性後代, 又有不親和性與親和性之出現⁽³⁾。如果單以後代全為自交不親和性, 就認為可用之為親本的話, 由於其親本間具有雜交親和性之存在, 所以用之為 F₁ 採種時, 所採取之種子, 就不能完全達到 100% 之雜交率。此種同出於一親本, 而雖然又同為自交不親和性個體, 但其個體間之相互雜交, 卻未能達到完全沒有種子, 也就是其兄弟間交配未能達完全相同固定之不親和性因子, 這種現象, 在雜交育種之利用上, 就有其困難, 甚至此種材料, 不能利用。所以本試驗之系統間交配, 雖表現高度之稔性, 但系統內本身之具有親和存在, 基於上述之理由, 兩系統難能作為雙雜交或三雜交之材料。

有關甘藍自交不親和性之後代出現親和性個體, 在前已指出葉深甘藍也為孢子體型所控制 (Sporophytic control)⁽³⁾。由於複相拒因子 (Multiple alleles of oppositional factors) 有顯隱性之存在, 而此顯隱性因子並不單獨存在於花粉上的, 也不單獨存在於雌蕊上的。而是花粉與雌蕊兩者均有 (Bateman '52, '54, '55,

CROWE '54, Sampson '57 ab, Thompson '57, '59)⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾⁽¹³⁾⁽²³⁾⁽²⁴⁾⁽²⁵⁾⁽²⁶⁾。並且花粉與雌蕊之相拒因子作用之方向，如果是一致（同一方向）的話，則自交不親和性之有親和性個體出現是不能說明的。因此其花粉與雌蕊之相拒因子之顯隱性關係是不一致的（方向相反），例如 S_1S_2 為其遺傳因子型時，在雌蕊的 S_1 為顯性，而在花粉則 S_2 為顯性。這樣才能有親和性的後代出現。

以上事實，與 Bateman ('55)⁽¹¹⁾所得十字花科植物之自交及雜交不親和性的遺傳機構，在基本上是一致的，但以其假說試以來說明葉深甘藍系統之結果，不親和性系統後代之有親和性個體出現，以及同為不親和性系統內，其個體間之雜交，有親和性與不親和性之差異。甚至在單一方向之雜交具親和性，而另一方向之雜交卻為不親和性。就認為 Bateman 之假說不能十分滿足。所以葉深甘藍恐非僅以一因子座（locus）之單純的相拒因子所能說明的。在相拒因子之外，是有所謂與其他遺傳因子具平衡性（Mather '43, Willian '51, Growe '55）之存在⁽²⁰⁾⁽²⁷⁾⁽¹⁴⁾，或突然變異（Lewis and Crowe '54, Pandey '56）之存在⁽¹⁹⁾⁽²¹⁾，或對相拒因子之作用有調整之變更因子（Lewis '47 Bateman '54, Crowe '55）之存在⁽¹⁵⁾⁽¹⁰⁾⁽¹⁴⁾，僅以少數之個體或僅 2-3 世代之短年限，來作單純之結論，恐有所錯誤之處。因此增加試驗材料，將自交與雜交試驗之組合，在比較長的世代繼續觀察，當可得正確之說明。

從柱頭上的花粉發芽情形看：在自交不親和性的自交授粉 15 小時後，其剛開花部分，花粉雖然在柱頭上發芽了，但是花粉管之伸長，受柱頭乳狀突起之抑制而停止，不能侵入柱頭內。同時間之老花授粉，花粉管仍與親和性者相同，經過角質層。此種現象更表示出 Brew baker ('57)⁽¹²⁾的胞體子型自交不親和性（Sporophytic type self-incompatibility）特徵。

Roggen (1972)⁽²²⁾行電子顯微鏡照相指出十字花科柱頭乳狀突起存在著一層臘質層（Wax layer）。在蕾期乳狀突起尚未完全形成臘質層。而於具親和性之授粉時，花粉粒黏附在臘質層，可刺穿角質層使乳狀突起瓦解。不親和性久授粉時，花粉就被此臘質層阻擋了。再就本試驗之游離氨基酸及糖類之消長情形來看，在蕾期之柱頭 Alanine, Histidine, Glutamic Acid, Serine 以及 Glucose 含量多，開花期之柱頭含量減少，而到老花期柱頭之含量又增多。因此可想到柱頭乳狀突起之臘質層的形成，可能與此等物質有密切關係。在蕾期臘質層未形成時，此等物質含量多，而開花期此等物質可能用之於形成臘質層，故量減少，待老花期臘質層已形成完畢，此等物質不用了，則產生之量也就再增加了，在前報也指具親和性者，此等物質之含量也較不親和性者為高⁽²⁾。此前後二者之結果是相為吻合的。

篠原（1938）⁽⁷⁾以自交不親和性甘藍之柱頭切除後，行自交授粉而可得到親

和性，而認為柱頭有多量之抑制物質存在。建部（1947）⁽⁶⁾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，觀察花粉之發芽及花粉管之伸長長度有所差異，又開花部及蕾部之自家柱頭，同樣對花粉管伸長有很大之影響。因此，也認為柱頭內具有對自家花粉之抑制物質存在。以至本試驗具親和性之蕾期及老花期的柱頭，存有較多量之 Alanine, Histidine, Glutamic acid 及 Glucose。而不親和性之開花期的柱頭則略為減少，可以說明此等物質增加時則有親和性，減少時則為不親和性。而對所謂抑制物質是那些物質，則尚未能以肯定。

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（1971）：自交不親和性葉深甘藍的生理與遺傳之研究(一)。國科會 59 學年度甲種研究補助報告。
3. 沈再發（1972）：葉深甘藍系統之研究。中國園藝（出版中）。
4. 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。
5. 經濟部商品檢驗局編印（1971）：植物進出口之檢驗檢驗統計要覽。
6. 臺灣省政府農林廳編印（1971）臺灣農業年報 民國六 年版，P.193。
7. 建部民雄（1947）： 自家受精 妨 抑制物質 關 研究。日本園藝學雜誌 16:106-125。
8. 篠原捨喜（1938）：甘藍不和合性 生理 甘藍類 P.213-225。
9. Bateman, A. J. (1952): Self-incompatibility systems in angiosperms. I. Hered; 6:285-310.
10. _____(1954): *ibid.* . *ibid*; 8:305-332.
11. _____(1955): *ibid.* . *ibid*; 9:53-68.
12. Brewbaker, J. L. (1957): Pollen cytology and self-incompatibility systems in plants. J. Hered; 48:271-277.
13. Crowe, L. K. (1954): Incompatibility in *Cosmos bipinnatus*. Hered; 8:1-11.
14. Crowe, L. K. (1955): The evolution of incompatibility in species of *Oenothera*. *ibid*; 9:293-322.
15. Lewis, D. (1947): Competition and dominance of incompatibility alleles in diploid pollen. Hered; 1:85-108.
16. _____(1948): Structure of the incompatibility gene. I. Hered; 2:219-236.

17. _____ (1949): *ibid.* . *ibid*; 3:339-355.
18. _____ (1951): *ibid.* . *ibid*; 5:399-414.
19. _____ and L. K. Crowe (1954): *ibid.* . *ibid*; 8:357-363.
20. Mather, K. (1943): Specific differences in petunia. I. *J. Genet*; 45:215.
21. Pandey, K. K. (1956): Mutations of self-incompatibility alleles in *Trifolium pratense* and *T. repens*. *Genet*; 41:327-343.
22. Roggen H. P. J. R. (1972): Scanning electron microscopical observations on compatible and incompatible pollen-stigma interactions in *Brassica*. *Euphytica* 21:1-10.
23. Sampson, D. R. (1957a): The genetics of self-incompatibility in the radish. *J. Hered*; 48:26-29.
24. _____ (1957b): The genetics of self-and cross-incompatibility in *Brassica oleracea*. *Genet*; 42:253-263.
25. Thompson, K. F. (1957): Self-incompatibility in marrow stem kale, *Brassica oleracea* var. *acephala*. *I. J. Genet*; 55:45-60.
26. _____ and H. W. Howard (1959): *ibid.* . *ibid*; 56:325-340.
27. Williams, W. (1951): Genetics of incomstibility in alsike clover, *Trifolium hybridum*. *Hered*; 5:51-73.

Summary

1. This test was carried out to continue the study of genotype of self-incompatibility line of Yehsen cabbage, and material basis of the difference between stigma at older flower stage, bud stag, and new flower stage of those lines having pseudogamy.
2. The six progenies of 21D-2-1-1-2-1 line, were all identified to be self-incompatible, crossing between those progenies showed that all but two of them are cross-incompatible. Among six progenies of 21D-2-1-1-2-4 line, all but one progenies to be identified self-incompatible, But crossing between its progenies it still showed irregular in their compatibility. From those results, although crossing between the two lines are compatible, but there are still different in multiple alleles of the oppositional factor S. So that, it could not be used as materials for double cross or triway cross.
3. Self-incompatibility line of Yensen cabbage had been identified to be the

sporophytic type. The reason that there still have self-compatibility progenies segregated from self-incompatibility is due to the fact that there may exist a dominant direction of multiple alleles of oppositional factors interacting against each other. For instance, when S_1 of genotype S_1S_2 is dominant in stigma and S_2 is dominant in pollen, the stigma will accept the pollen when selfing.

4. In paper chromatography test, it showed that there are quite a difference in the content of free amino acids and sugars among the juices abstracted from the different stages of stigma. At bud stage, contents alanine, glutamic acid, histidine and glucose which decreased gradually at newly opened flower stage, but increased at older flower stage.