ダイコンにおける自家不和合性の生理機構について (第2報)

2, 3 薬品処理による自家不和合性の消去

建 部 民 雄

(大阪府茨木市上泉町)

Studies on the physiological mechanism of self-incompatibility in Japanese radish. II.

Breakdown of self-incompatibility by chemical treatments

T. TATEBE

Kamiizumi-cho, Ibaraki-shi, Osaka-fu, Japan

Summary

It has already been known that the barrier of self-incompatibility in the *Curuciferae* is stigmatic cuticle. LINSKENS (1961) reported that the breakdown of self-incompatibility in a species of this family was observed by treating stigmatic cuticle with cutinase. The purpose of this investigation was to attempt the breakdown of self-incompatibility in Japanese radish by using certain chemicals, instead of cutinase.

Of several chemicals tested ether and 10 percent solution of potassium hydroxide (KOH) were effective and they were employed chiefly. The stigmas were treated with an extremely small amount of ether or the 10 percent solution of KOH, using a fine straw of wheat. At the operation special attention should be given to avoid treating with the excess of chemicals. Because it causes the stigmas to be changed from green to black in color and further them to be destroyed. Some time after treatments the stigmas were smeared with pollen from other flowers of the same plant. The behavior of pollen on stigmas was examined by the following procedure:

The pistils were collected at 24 hours after pollination, fixed and stained with 0.5 percent lactic-blue for 2 hours, differentiated with lactic acid for about 24 hours, and at last mounted with glycerine. On the other hand, field pollination experiments were carried out to determine the effect of ether treatments on self-fertility. The results obtained were presented in Table 1 and 2.

The treated plants were much superior in the percentages of pollen germination and those of compatible pollen grains to the controls (Table 1). The percentages of pod-setting of the treated plants were higher than those of the controls, except in one case (a self-compatible plant, No. 7) (Table 2). From these results it may be concluded that the self-incompatibility of Japanese radish is to some degree broken down by treating the stigmas with ether or 10 percent solution of KOH. For this purpose ether is more effective than 10 percent solution of KOH. It seems likely that ether treatments cannot dissolve the stigmatic cuticle, but make it permeable to water.

I. 緒 言

アブラナ科植物の自家不和合反応は、柱頭表面に限られている事実がすでに知られており^(4,12,13)、また柱頭表面を切除して受粉するか、あるいは花粉を花柱誘導組織中に直接入れてやると、よく自殖種子を結ぶこともわかっている^(4,12,13)。OELKE⁽⁹⁾ (1957) はハツカダイコンの柱頭表面がクチンでおおわれている事実を確かめ、LINSKENS⁽⁶⁾ (1961) は適当なクチン分解酵素であらかじめ柱頭表面を処理すると、自家不和合性を消去することができるとしている。筆者は化学薬品で柱頭を処理して、クチンを溶かすか軟化させると、自家不和合性のダイコ

ンに自殖種子を結ばせることができるのではないかと考えて、種々実験を試みた。

すなわち、1965 年春に予備実験として、多少ともクチンを溶かすかまたは柔らかくする作用があると思われるエーテル、キシロール、10% 水酸化加里液、同グリセリン溶液、および 50% クロム酸溶液につき 3 回にわたって実験を試みた。使用した薬品は実験によつて異なるが、いずれの場合においても柱頭に薬液を処理してから隣花授粉を行なつた。第 1 回実験にはエーテル、キシロール、10% 水酸化加里グリセリン溶液、50% クロム酸溶液および無処理の 5 区、第 2 回実験にはエーテル、10% 水酸化加里液、同グリセリン溶液および無処理の 4

1968 年 3 月 19 日受理

区、第3回実験にはエーテル、10% 水酸化加里液および無処理の3区を設け、それぞれ供試材料5個体に処理した。その結果、第1回実験においては、薬液処理の過不足のために成績も区々であつたが、エーテルおよび10%水酸化加里グリセリン溶液は有効な場合がみられた。キシロールおよび50% クロム酸溶液区は全く無効であると思われた。第2回実験の場合も薬液をつけ過ぎたものが多く、十分な成績は得られなかつたが、10% 水酸化加里液は有効のように思われた。さらに第3回実験の場合も適度の薬液処理が困難なため十分な成績は得られなかつたが、前2回にわたる実験よりはよい結果が得られた。

このような予備実験の結果からエーテルおよび10%水酸化加里液、特にエーテル処理が有効であることを確かめ、1966年に本実験を行なつたので、以下にその成績を記述する。なお予備実験のうち第3回実験は本実験を遂行するうえの基礎実験であるので、その結果を付記することにする。

II. 材料および方法

供試材料は聖護院ダイコンを用いた。まずあらかじめ被袋してあつた花序につき、当日開いた花を早朝除雄した。つぎに細い小麦稈を用意し、その先端をエーテルまたは10% 水酸化加里液に軽く浸して、柱頭にごく軽く触れた。その際薬液をつけ過ぎると柱頭は変色し、さらに過度の場合はしおれてしまうので細心の注意を要す

る。柱頭が少しでも変色したものは不成績に終つた。その日のうちに供試しようとする花に次々と薬液処理を行ない、全部終つてから、処理した花にあらかじめ被袋してあつた隣花の花粉を授けた。ダイコンの自家不和合性の検定には、柱頭法が最も簡便でかつ正確な成績が得られることがわかつているから、この方法で実験した。すなわち隣花授粉後24時間をへて雌ずいを取り、0.5%ラクトイックブルー液で2時間固定染色し、翌朝まで乳酸中で分染しておいて、グリセリンで封じて検鏡した。これら一連の実験の結果、10% 水酸化加里液よりもエーテルのほうがはるかに取り扱いやすく、成績もよいことがわかつたので、さらに翌春は場においてエーテル処理した柱頭に隣花授粉を行ない、実際の自家受精力を調べた。

III. 実験成績

まず予備実験のうち第3回実験の結果を第1表に示すと、エーテル区は無処理区に比し、供試5個体ともに柱頭上の花粉の発芽歩合高く、和合花粉歩合（発芽して花粉管が柱頭内に侵入した花粉の歩合、ただしこれらの花粉管は柱頭組織内に入ると、大部分のものはすぐにその生長を停止してしまつた）も高く、空虚花粉粒（花粉管が長く伸びて内容の空虚となつた花粉粒）もみられた。また花柱内に深く侵入した花粉管もしばしば観察された。たとえば No. 4 においては、無処理区の花の発芽歩合は15.0%であつたが、エーテル区は95.2%で

Table 1. Percentage of pollen germination on stigmas treated with chemicals (1965)

Plant number	Pollination method	Number of pollen grains on stigmas	Number of pollen grains germinated	Percentage of pollen germination	Number of compatible pollen grains†	Percentage of compatible pollen grains	Number of emptied pollen grains††
4	C*	527	79	15.0	8	1.5	0
	E**	521	496	95.2	344	66.0	20
	K***	241	165	68.7	85	35.3	1
5	C	592	154	26.0	0	0	0
	E	377	325	86.2	240	63.7	11
	K	431	371	86.1	242	56.1	13
12	C	473	113	23.9	8	1.7	0
	E	482	404	83.8	241	50.0	9
	K	162	55	34.0	16	10.0	6
13	C	483	53	11.0	0	0	0
	E	372	307	82.5	161	43.3	1
	K	333	252	75.7	145	43.5	9
21	C	673	241	36.0	5	0.7	0
	E	496	470	94.8	277	55.9	22
	K	458	32	7.0	0	0	0

* C Control ** E Ether *** K 10% KOH solution

† Pollen grains which germinated well, and their tubes penetrated to a certain extent the stigma.

†† Pollen grains which had emptied their contents into their tubes.

Table 2. Effect of stigmatic treatment with ether on self-fertility (1966)

Plant number	Pollination method	Number of flowers tested	Number of pods set	Percentage of pod-setting	Total number of seeds obtained	Average number of seeds per flower
1	C	50	4	8.0	7	0.14
	E	51	21	41.2	60(3)*	1.18
2	C	47	5	10.6	6	0.13
	E	45	21	46.7	71(1)	1.58
3	C	40	0	0	0	0
	E	41	11	26.8	22	0.54
4	C	46	4	8.7	5	0.11
	E	44	15	34.1	50	1.14
5	C	50	15	30.0	36(1)	0.72
	E	46	18	39.1	44	0.96
6	C	49	24	49.0	44(1)	0.90
	E	52	30	57.7	131(5)	2.52
7	C	51	44	86.2	177(5)	3.47
	E	50	28	56.0	91(1)	1.82

* Number of defective seeds

あり、また無処理区の和合花粉歩合は 1.5% であったが、エーテル区は 66% となっていた。無処理区は柱頭に 1 個の空虚花粉粒もみられなかつたが、エーテル区では 20 個の空虚花粉粒が数えられた。これらの成績をみると、柱頭のエーテル処理はある程度まで自家不和合性を消去できるものと考えられる。つぎに水酸化加里溶液区も無処理区に比し、概して花粉の発芽歩合、および和合花粉歩合高く、少数空虚花粉粒もみられた。ただ No. 21 のみは、処理が過ぎて柱頭が変色し不成績に終わった。水酸化加里溶液処理は、エーテル処理に比して薬液の適量処理がいつそう困難であり、その成績も不安定であった。

1966 年においては処理の容易なエーテルをもつて柱頭処理後隣花授粉を行ない、ほ場において実際の自家受精力を調査した。その成績は第 2 表のとおりとなつた。

第 2 表の成績をみると、自家和合個体と考えられる No. 7 を除けば、いずれもエーテル処理は無処理区よりも高い自家受精力を示した。いま供試花 1 花当たりの種子数をみると、たとえば No. 1 において、無処理区 0.14 に対してエーテル処理区は 1.18 と多くなっている。

以上の成績からエーテルや水酸化加里液の柱頭処理、特にエーテル処理は、ある程度まで自家不和合性を消去できるように考えられる。ただ薬液処理がとかく過ぎる傾向があり、その適量を得ることが困難である。したがって熟練すれば、いつそう高い自家受精歩合が得られるものと考えられる。なお水酸化加里液処理は特に適量処理が困難で、エーテル処理の方が優れている。

IV. 考 察

およそクチンは薬液に溶かされがたいものである。上

記の実験において、エーテルを軽く柱頭につけただけで果してクチンが溶かされたかどうかを調べるため、処理柱頭をアセトカーミンで染色検鏡してみた。その結果柱頭乳頭細胞のクチンは、今回のエーテル処理では溶かされないことがわかった。なおエーテルをつけた過ぎて柱頭が黒く変色したもので、一部のクチンは溶かされ、さらに細胞が収縮変形している事実がみられた。したがって柱頭のクチンはエーテル処理で軟化

されて、細胞内の水分が蒸散されやすくなり、そのために自家の花粉が発芽し、花粉管も乳頭細胞内に侵入できやすくなったものと考えられる。もともとエーテルは麻醉薬として広く用いられているものであるから、その麻醉作用による自家不和合性の抑圧ということも、この際当然考えられるところである。しかし水酸化加里液にもほぼ同様の作用があつたから、ここではエーテルはおそらくクチンを軟化して、水分の蒸散を助けるのではないかと考えられる。

さきに OELKE⁽⁹⁾ (1957) は、ハツカダイコンの自家不和合性の機構について次のように考えた。すなわち柱頭がクチン化しているので水分の蒸散が妨げられ、柱頭上の自家の花粉は水分不足のために発芽が困難となる。また花柱内の花粉管の生長も、雌ずいの浸透価 (Osmotische Werte) によつて支配されていると考えて、浸透圧説をとらえた。その後諸家の研究^(1,6,7,10,14) によると、浸透圧は確かに一つの重要な要因であるが、これのみで自家不和合性の機構を説明することは困難のようである。CHRIST⁽¹⁾ (1959) はハナタネツケバナを供試して研究し、自家不和合反応の機構について次の二つの仮説の中のどちらかが真であろうと考えた。すなわち (1) 花粉はクチンを溶かす酵素を活性状態でもっているが、花粉と柱頭とが同じ不和合遺伝子 (S) を有する場合においては、柱頭にこの酵素を不活性化しある物質が生ずる。(2) 花粉はクチンを溶かす酵素を不活性の形でもっており、それが花粉と柱頭とが異なる S 遺伝子を有する場合において、柱頭上の特殊物質の作用によつて活性化される。HEINEN および LINSKENS⁽²⁾ (1961) は、初めて *Penicillium spinulosum* THOM から 1 種のクチン分解

酵素を分離することに成功し、これを cutinase と称した。さらに LINSKENS および HEINEN⁽⁸⁾ (1962) は、アブラナ科植物の花粉中には強力な活性をもった cutinase の存在を証明した。一方 LINSKENS⁽⁶⁾ (1961) は、柱頭表面を適当な cutinase で処理して、自家不和合性を消去できたという。KROH⁽⁵⁾ (1966) は *Arabis arenosa* や *Brassica nigra* を供試して、それらの花粉は他家の柱頭に授粉されて4分たつてから、自家の柱頭上に移されると、柱頭内に侵入することができたという。したがって花粉の cutinase は花粉と柱頭とがS遺伝子型について異なつた組み合わせにおいては、不可逆的に活性化されるものと考えられるという。最近菅野⁽³⁾ (1967) は KROH の実験を追試したが、成功しなかつたという。筆者も KROH の成績に興味をもち、1967年の春に小規模な追試を試み不成績に終つたが、さらに検討する予定である。

V. 摘 要

アブラナ科植物の自家不和合性は、柱頭乳頭細胞をおおっている、クチンが障壁となつている。これを酵素 cutinase で溶かすと、自家不和合性が消去できたといわれている (LINSKENS, 1961)。

この研究は酵素の代わりに2, 3の薬液で柱頭を処理して、自家不和合性を消去しようとして実施されたものである。

その結果ダイコンの柱頭はキシロール、または50%クロム酸溶液で処理しても無効であつたが、エーテル、または10%水酸化加里溶液を軽くつけて、しばらくしてから自家授粉すると、ある程度まで自家不和合性を消去できることがわかつた。なおエーテルは水酸化加里液よりも一層取り扱いやすく、成績もよかつた。

このエーテル処理は柱頭乳頭細胞をおおっているクチンを溶かすことはできないが、それを軟化して花粉の発芽や花粉管の侵入を助けるものと考えられる。

引用文献

1. CHRIST, B. 1959. Entwicklungsgeschichtliche und physiologische Untersuchungen über die

Selbststerilität von *Cardamine pratensis* L. Zeits. f. Bot. 43: 88-112.

2. HEINEN, W. and H. F. LINSKENS. 1961. Enzymic breakdown of stigmatic cuticula of flowers. Nature 191: 1416.
3. 菅野紹雄. その他. 1967, 十字花科植物における自家不和合性の研究—柱頭から柱頭への花粉移しかえ実験—. 育学雑. 17別冊 2: 105~106.
4. KROH, M. 1956. Genetische und Entwicklungssphysiologische Untersuchungen über die Selbststerilität von *Raphanus raphanistrum*. Zeits. f. Indukt. Abst. u. Vererbungslehre 83: 365-384.
5. ————. 1966. Reaction of pollen after transfer from one stigma to another. (Contribution to the character of the incompatibility mechanism in *Cruciferae*). Züchter 36: 185-189.
6. LINSKENS, H. F. 1961. Biochemie der Inkompatibilität bei der Befruchtung der Blütenpflanze. Ber. Deutsch. Bot. Ges. 74: 329-332.
7. ————. 1963. Biochemistry of incompatibility. Genetics Today. Proc. XI Internat. Congr. Genet. Hague, Netherlands: 629-636.
8. ———— and W. HEINEN. 1962. Cutinase-Nachweis in Pollen. Zeits. f. Bot. 50: 338-347.
9. OELKE, J. 1957. Zur Physiologie der Selbst- und Kreuzungssterilität beim Radieschen (*Raphanus sativus* L.). Züchter 27: 358-369.
10. RÖBBELEN, G. 1960. Über die Kreuzungsunverträglichkeit verschiedener *Brassica*-Arten als Folge eines gehemmten Pollenschlauchwachstums. Züchter 30: 300-312.
11. SEARS, E. R. 1937. Cytological phenomena connected with self-sterility in the flowering plants. Genetics 22: 130-181.
12. 建部民雄. 1939. ダイコンに於ける柱頭の切断が自家受精力に及ぼす影響. 園学雑. 10: 62-65.
13. ————. 1959. ダイコンの自家受精を妨げる抑制物質に関する研究 (続報 I). 同上. 28: 288-290.
14. ————. 1964. ダイコンにおける自家不和合性の生理機構について (1). 空気湿度が自家受精力に及ぼす影響. 同上. 33: 62-66.