ヒュウガナツの自家不和合性に関する研究 (第2報)

自家受粉後の雌ずい内たんぱくの消長と数種の
不和合性打破処理の効果について

山下 研 介

(宮崎大学農学部)

Studies on Self-incompatibility of Hyuganatsu (*Citrus
tamurana* hort. ex. Tanaka)

II. On the Sequential Changes of Protein Composition in Self-pollinated Pistils, and the Effect of Various Treatments to Overcome the Self-incompatibility

Kensuke YAMASHITA

College of Agriculture, Miyazaki University, Miyazaki, 880

Summary

Experiments were carried out to obtain further information about self-incompatibility in Hyuganatsu, *Citrus tamurana* hort. ex Tanaka. The results obtained were as follows.

1. Using disc electrophoresis, sequential changes in buffer soluble proteins and peroxidase isozymes in self-pollinated pistils were compared with those cross-pollinated with Hassaku, *Citrus hassaku* ex. Tanaka. Remarkable differences in the band distributions of buffer soluble proteins were observed in samples from stigmas, styles and ovaries at any time within 24 hours after pollination. Differences in peroxidase isozyme distributions between self- and cross-pollinations appeared first in the ovaries, second in the styles and last in the stigmas.

2. Several treatments were tried in search of an effective method of overcoming self-incompatibility. Self-pollination after smearing the stigma exudate of mature Hassaku flower buds onto the stigmas of immature Hyuganatsu flower buds, half the length of mature ones, was found to be the most effective of the treatments tried. Repeated pollination of immature flower buds for 4 continuous days was nearly as effective as the preceding treatment. With both treatments, a number of small seeds, 1/3 size of normal ones, developed; these might be expected to be seedless triploids.

緒 言

ヒュウガナツの成らいに自家受粉を行うと、花粉管は受粉1日後には花柱上部に達するが、その後花柱上部で停滞を続け、受粉7日後になっても花柱中部へは全く侵入しない(19)。このような花粉管の伸長停滞は、自家受粉後雌ずい内に特殊な不和合たんぱくが形成されることと密接な関係があると言われている(14)。またパーオキシダーゼの消長も不和合反応と密接な関係があると言われており、特にアイソザイムパターンの消長を調査

した実験もなされている(2, 3, 4)。しかしながらこのような実験データは、いずれもペチユニア、ユリなどについてのもので、果樹特にカンキツについてのデータは皆無と言ってよい。本実験においては、まず自家受粉後の認知、拒否反応について知見を広めるため、ヒュウガナツの成らいに自家受粉及び他家受粉を行い、柱頭、花柱、子柱、子房内の可溶性たんぱくとパーオキシダーゼアイソザイムの消長をディスク電気泳動によって調査した。また、つぼみに対する反復受粉や柱頭粘液塗布受粉などの種々の処理を試み、自家不和合性打破に有効な処

1980年10月16日 受理

理の探索に努めた。

材料及び方法

材料としては、宮崎大学農学部付属農場果樹園に栽植中のヒュウガナツとハッサクを使用した。

1. 雌ずい内たんばくの分析

開花1日前程度の花らい（以下成らいと略す）を有する新梢を適当数採取し、ピンセットで除雄後、室内に準備した小型ピーカーの水にさした。その後、あらかじめ採集しておいたハッサク（他家受粉区）とヒュウガナツ（自家受粉区）の花粉を人工受粉した。受粉 6, 12, 24, 時間後に各区の花らいを採取し、 -20°C のフリーザー中に保存した。分析にあたっては、雌ずいを柱頭、花柱、子房の3部位にわけ、各部位とも 350mg を乳鉢に投入し、2ml の 0.01M リン酸緩衝液 (pH 7.2) を加えて低温下で摩砕した。ホモジナイターは -5°C , 10,000rpm の下で20分間高速冷却遠心機（久保田製作所製 KR 200 FA 型）にかけ、えられた上澄液を 40% シュ糖液と 1:1 (v/v) に混合し、泳動用の試料とした。これを1カラム当たり 150 μl 添加してディスク電気泳動を行った。電気泳動は井上の方法 (12, 13) にしたがって行い、可溶性たんばくは通常のアミドブラック水溶液により (5)、パーオキシダーゼは山本らの方法 (18) によって染色を行った。染色後のゲルは、肉眼とデンシトメーター（富士理研製 FD-AV 型）によってバンドの位置を確認調査した。

2. 自家不和合性の打破処理

(1) 幼らいへの1回受粉および反復受粉

開花前1週間程度の幼らい（長さは成らいの1/2程度、以下‘幼らい’と略す）を30花選び除雄後ヒュウガナツ花粉を受粉した。これとは別に、除雄した幼らい30花にヒュウガナツ花粉を毎日1回4日連続して反復受粉する処理も行った。

(2) 花柱切断受粉

幼らいおよび成らいの各90花を除雄した後、これを30花ずつの3グループにわけ、それぞれ花柱最上部、中央部、最下部をカミソリ刃で切断した。いずれの処理についても切断面にヒュウガナツ成らい2花分の柱頭粘液を塗布した後、自家受粉を行った。

(3) 柱頭粘液塗布受粉

幼らいおよび成らい各30花を除雄した後、各花の柱頭にヒュウガナツ成らい2花分の柱頭粘液を塗布し、自家受粉した。これと同時に、ハッサク柱頭粘液または開花直後の鉄砲ユリの柱頭粘液を幼らい柱頭に塗布した後自家受粉を行う処理についても、各30花ずつ処理を試みた。この場合、ハッサクについては成らい2花分の柱

頭粘液をヒュウガナツ幼らい柱頭に塗布し、ユリについては開花直後の1花の柱頭粘液で5花のヒュウガナツ柱頭に処理を行った。

結果及び考察

1. 雌ずい内たんばくの分析

ヒュウガナツ成らいに自家受粉または他家受粉を行った場合の雌ずい内可溶性たんばくの消長は、第1図および第1表に示したとおりである。

まず、柱頭について両受粉区のバンドの位置を比較してみると、受粉6時間後では Rf 0.04, 0.25, 0.27~0.28, 0.80~0.81 の4種のバンドに差がみられた。このうち、0.25のバンドは自家受粉区に特有のバンドで、受粉12時間後、24時間後においても他家受粉区には存在しなかった。これとは逆に、0.80~0.81のバンドは他家受粉区のみ存在した。0.04, 0.27~0.28のバンドは、受粉12時間後ないしは24時間後には自家受粉区にも存在することからみて、他家受粉区に特有のバンドとは考えられない。

次に花柱について両受粉区のバンドの位置を比較すると、受粉6時間後には Rf 0.04~0.05, 0.25~0.27, 0.47~0.49, 0.79~0.82, 0.93 の5つのバンドに差がみられた。このうち、0.25~0.27, 0.47~0.49, 0.79~0.83 の3つのバンドは自家受粉区のみ存在するが、受粉12時間後になると他家受粉区にもバンドが出現し、他家受粉区にみられた0.93のバンドは消失した。また、自家受粉区にみられた0.04~0.05のバンドは、受粉12時間後までは存在したが、受粉24時間後には消失した。これと対照的に、0.16のバンドは自家受粉6時間後には存在しなかったが、受粉12時間後、24時間後にはその存在が認められた。

子房について両受粉区のバンドの位置を比較すると、受粉6時間後では Rf 0.26, 0.69~0.70, 0.84, 0.91 の

第1図 自家受粉ならびに他家受粉後のヒュウガナツ雌ずい内における可溶性たんばくの経時的变化。
左から柱頭、花柱、子房を示す。

第1表-1 自家受粉ならびに他家受粉後にヒユウガナツ柱頭内の可溶性たんぱくの消長

Rf*	0.04		0.06		0.08-0.09		0.11-0.13		0.16-0.17		0.18-0.20		0.21		0.25		0.27-0.28		0.31-0.33		0.35-0.37		0.40-0.42		0.43-0.44		0.47-0.49		0.52-0.54		0.57-0.59		0.62-0.64		0.66-0.68		0.71-0.72		0.75-0.77		0.80-0.81	
	s	c	s	c	s	c	s	c	s	c	s	c	s	c	s	c	s	c	s	c	s	c	s	c	s	c	s	c	s	c	s	c	s	c	s	c	s	c	s	c		
受粉後の時間	** s c		s c		s c		s c		s c		s c		s c		s c		s c		s c		s c		s c		s c		s c		s c		s c		s c		s c		s c		s c		s c	
6H	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
12H	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
24H	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

註) * バンドの位置
** s : 自家受粉, c : 他家受粉

第1表-2 自家受粉ならびに他家受粉後にヒユウガナツ花柱内の可溶性たんぱくの消長

Rf	0.02-0.04		0.04-0.05		0.06-0.09		0.12-0.13		0.16		0.18-0.20		0.25-0.27		0.29-0.32		0.38-0.40		0.47-0.49		0.50-0.53		0.56-0.58		0.60-0.64		0.64-0.68		0.68-0.71		0.72-0.75		0.79-0.82		0.85-0.89		0.93-				
	S	C	S	C	S	C	S	C	S	C	S	C	S	C	S	C	S	C	S	C	S	C	S	C	S	C	S	C	S	C	S	C	S	C	S	C	S	C			
受粉後の時間																																									
6H	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
12H	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
24H	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

註) 第1表-1 に同じ

第1表-3 自家受粉ならびに他家受粉後にヒユウガナツ子房内の可溶性たんぱくの消長

Rf	0.02-0.04		0.06-0.08		0.12-0.15		0.18-0.21		0.26		0.31-0.32		0.36-0.38		0.41-0.43		0.47-0.49		0.51-0.53		0.57-0.58		0.61-0.62		0.65		0.69-0.70		0.72-0.74		0.77-0.81		0.84		0.91					
	s	c	s	c	s	c	s	c	s	c	s	c	s	c	s	c	s	c	s	c	s	c	s	c	s	c	s	c	s	c	s	c	s	c	s	c				
受粉後の時間																																								
6H	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
12H	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
24H	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		

註) 第1表-1 に同じ

4つのバンドに差がみられた。このうち、0.26, 0.69～0.70 のバンドについては、受粉 12 時間後, 24 時間後においては両受粉区ともにその存在が認められ、差はなかった。これに対して、受粉 12 時間後になってはじめて差の生じたバンドは、0.57～0.58, 0.72～0.74 の 2 つのバンドである。すなわち、自家受粉区では、受粉 6 時間後に存在した 0.57～0.58 のバンドが受粉 12 時間後になって消失したのに対し、他家受粉区では受粉後 24 時間経ってもその存在が認められた。0.72～0.74 のバンドについては、これとちょうど逆の関係が得られた。すなわち、自家受粉区では、受粉後のいずれの時間にもこのバンドの存在が認められたのに対し、他家受粉区では受粉 12 時間後, 24 時間後にはバンド存在しなかった。このように、受粉 6 時間後という比較的早い時期において、すでに両受粉区間にバンドの位置に関して差が生じており、部位別にみるといまだ花粉管の侵入していない花柱、子房において差がみられたことは注目し値するものと思われた。

ちなみに、Donk (8) はヒュウガナツと同様にいわ

第2図 自家受粉ならびに他家受粉後のヒュウガナツ雌ずい内におけるパーオキシダーゼアイソザイムの経時的变化。左から柱頭、花柱、子房を示す

ゆる配偶体性自家不和合性を示すペチュニアを材料として分子生物学的レベルの実験を行い、次の2点を明らかにしている。

- 1. 配偶体性自家不和合性においても、自家受粉か否かの認知は受粉後の極めて初期におこる。というのは、受粉後3時間以内に雌ずい内に RNA 合成の質的かつ

第2表-1 自家受粉ならびに他家受粉後におけるヒュウガナツ柱頭内のパーオキシダーゼアイソザイムの消長

Rf*	0.04	0.06—0.10	0.12—0.16	0.19—0.22	0.26	0.32	0.36	0.36—0.37	0.63	0.65—0.66
	** s c	s c	s c	s c	s c	s c	s c	s c	s c	s c
6H	— —	+	+	— —	+	+	— —	— —	+	+
12H	— —	+	+	+	+	— —	— —	— —	+	+
24H	+	—	+	+	— —	— —	— —	+	+	+

註) * バンドの位置, ** s : 自家受粉, c : 他家受粉

第2表-2 自家受粉ならびに他家受粉後におけるヒュウガナツ花柱内のパーオキシダーゼアイソザイムの消長

Rf	0.02—0.04	0.07—0.08	0.15	0.19—0.22	0.27	0.31—0.35	0.36—0.40	0.42	0.69—0.73
	s c	s c	s c	s c	s c	s c	s c	s c	s c
6H	+	+	—	—	—	—	+	+	+
12H	+	—	+	+	+	—	+	+	+
24H	+	+	—	—	—	—	+	+	+

註) 第2表-1 に同じ

第2表-3 自家受粉ならびに他家受粉後におけるヒュウガナツ子房内のパーオキシダーゼアイソザイムの消長

Rf	0.02—0.03	0.06—0.09	0.12—0.15	0.18—0.21	0.28—0.29	0.30—0.32	0.35—0.36	0.65—0.70
	s c	s c	s c	s c	s c	s c	s c	s c
6H	—	+	—	—	+	+	+	+
12H	+	+	+	+	+	—	+	+
24H	—	—	—	+	+	—	+	+

註) 第2表-1 に同じ

量的な差異が、自家受粉と他家受粉の間ではっきり認められるからである。

2. 認知後、花柱は異なった遺伝子活性を示す。すなわち、自家受粉と他家受粉との間に RNA 合成とたんばく合成に全く違った差が生ずる。

また、Deurenberg (6, 7) もペチュニア子房内のたんばく代謝について調査し、花粉管が子房に到達するまもに子房のたんばく代謝が刺激されること、そして、それは自家受粉区と他家受粉区との間に差があることを明らかにした。同氏は、この差は結局柱頭から花柱を通じて伝えられるシグナルの違いによって生ずるのであろうとし、このシグナルは m-RNA 様の物質ではないかと推察している。

次に、自家受粉および他家受粉後の雌ずい内のパーオキシダーゼアイソザイムの消長を調査した結果を第2図および第2表に示した。

まず柱頭について両受粉のバンドの位置を比較してみると、受粉 12 時間後までは両区間に差はみられないが、受粉 24 時間後では Rf 0.04, 0.26, 0.32, 0.36, 0.63 のバンドに差がみられた。これらのうち、0.04, 0.63 のバンドは自家受粉区に、0.26, 0.32, 0.36 のバンドは他家受粉区に存在した。

花柱については、柱頭におけるよりもやや早く、受粉 12 時間後において両区間に差がみられた。すなわち、他家受粉区では 0.27, 0.31~0.35 にバンドが存在したのに対し、自家受粉区ではその存在が認められなかった。受粉 24 時間後においては、0.31~0.35, 0.42 の

2つのバンドに差がみられ、前者は他家受粉区のものに、後者は自家受粉区のものに存在した。

子房については、柱頭、花柱におけるよりもさらに早く受粉 6 時間後に両区間のバンドの位置に差が認められた。すなわち、0.02~0.03, 0.28~0.29 の2本のバンドは他家受粉区に、0.65~0.70 のバンドは自家受粉区のみが存在した。受粉 12 時間後には、0.28~0.29 のバンドが自家受粉区のものに存在し、受粉 12 時間後には 0.06~0.09 のバンドが他家受粉区のものに存在した。

以上の結果より判断すると、受粉によって柱頭に与えられた受粉刺激は極めて敏速に子房へと伝えられ、子房内の生長センタを活性化させる。これによって花柱、さらには柱頭の酵素パターンが制御され (3)、その結果生じたアイソザイムの違いによって花粉管の伸長が促進あるいは抑制されたと考えることができよう (4)。

2. いくつかの不和合性打破処理

第3図および第4図は、種々の自家不和合性打破処理を行った場合の落果率の経時的变化を、また、第3表および第4表は採集果数、含有種子数を示している。

幼らい受粉についてみると、1978 年には採集果は5個で、53 個の含有種子が得られた。しかるに、1979 年には、第4図にも示したように、処理花はいずれも受粉 7 週間以内に落果した。幼らい受粉を行った場合、供試花らしいのステージによって早期落果の様相が異なってくることは、これまでの実験成績からみても明らかであるが (17, 20)、本実験においても両年次の供試花らしいに微妙なステージの差があり、そのために多少異なった結果

第3図 ヒュウガナツの自家不和合性打破処理における落果率の経時的变化 (1978 年)

第4図 ヒュウガナツの自家不和合性打破処理における落果率の経時的变化 (1979 年)

第3表 種々の自家不和合性打破処理における収穫果数および含有種子数（'78, Oct. 16）

処 理 区	処 理 い	収 穫 果 数	平 均 果 重 (g)	平 均 横 径 (cm)	平 均 縦 径 (cm)	種 子 数				1 果 当 り 種 子 数	し い な 数		
						大 粒	中 粒	小 粒	計		長 さ 7 mm 以 上	3 ~ 7 mm	3 mm 以 下
幼らい受粉	幼らい	5	119	6.4	5.9	47	6	0	53	10.6	50	105	26
反復受粉	幼らい	8	112	6.4	5.8	60	13	4	77	9.6	36	202	39
花柱最上部切断 受粉	成らい	6	96	6.1	5.5	22	4	3	29	4.8	20	279	17
	幼らい	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
花柱中央部切断 受粉	幼らい	14	93	5.9	5.5	55	3	5	63	4.5	80	393	15
	幼らい	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
花柱最下部切断 受粉	成らい	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	幼らい	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ヒュウガナツ粘 液塗布受粉	成らい	4	92	5.9	5.4	19	4	2	25	20	20	105	17
	幼らい	10	75	5.6	5.0	2	1	1	4	13	13	322	12
ハッサク粘液塗 布受粉	成らい	12	127	6.7	6.0	84	13	19	116	103	103	288	33
放任受粉		10	127	6.7	6.1	125	3	3	131	86	86	217	5

註）中粒は大粒の 1/2~3/4, 小粒は大粒の 1/2 以下の長さの種子である

第4表 種々の自家不和合性打破処理における収穫果数および含有種子数（'79, Dec. 7）

処 理 区	処 理 い	収 穫 果 数	平 均 果 重 (g)	平 均 横 径 (cm)	平 均 縦 径 (cm)	種 子 数				1 果 当 り 種 子 数	し い な 数		
						大 粒	中 粒	小 粒	計		長 さ 7 mm 以 上	3 ~ 7 mm	3 mm 以 下
幼らい受粉	幼らい	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
反復受粉	幼らい	7	163	7.2	6.6	68	12	7	87	12.4	43	60	143
ヒュウガナツ粘 液塗布受粉	幼らい	2	169	7.4	6.8	15	1	1	17	8.5	4	19	60
ハッサク粘液塗 布受粉	幼らい	8	150	7.0	6.6	68	11	8	87	10.9	25	115	172
ユリ粘液塗布受 粉	幼らい	6	138	6.8	6.1	41	5	4	50	8.3	17	34	178
放任受粉		10	206	7.9	7.3	282	0	3	285	28.5	21	46	142

註）中粒は大粒の 1/2~3/4, 小粒は大粒の 1/2 以下の長さの種子である

が得られたものであろう。

幼らいに対する反復受粉についてみると、1978 年は採集果 8 個、含有種子 77 個を、1979 年には採集果 7 個、含有種子 87 個が得られた。幼らいに対する反復受粉がヒュウガナツの自家不和合性打破に有効であることは、*Petunia hybrida* (10)、日本ナシ (11)、ハッサク (20) における実験例からも予測されるところではあったが、ヒュウガナツについても同様の効果がみられた。ただ、本手法の難点は 4 日間連続して受粉を行わねばならず、技術的にみて繁雑なことである。

つぎに、花柱切断受粉の結果についてみると、成らいに本処理を行った場合には、処理部位のいかにかわらず、受粉後早期にすべて落果した。しかるに、幼らいについては、成らいに処理した場合とはいささか異なった結果が得られた。すなわち、最上部切断受粉において採集果 6 個、含有種子 29 個が、中央部切断受粉においては採集果 14 個、含有種子 63 個が得られた。しかし、1 果あたりの含有種子数をみると、前者は 4.8、後者は

4.5 であり、技術的に繁雑なわりには効率が良いと言えない。最下部切断受粉では、成らいに処理した場合と同様、いずれも早期に落果して全く効果がみられなかった。花柱切断受粉は、浅野らのユリに対する実験 (1) を参考にして行ったものであるが、ハッサクの場合 (20) とはやや違った結果が得られたことは興味深い。花柱切断断面を縦にわり、縦断面に柱頭粘液を塗布した後自家花粉を挿入するといった処理を試みれば一層の効果がある可能性もあり、再検討の余地が十分にある。

次に、柱頭粘液塗布受粉の効果についてみると、以下のとおりである。

ヒュウガナツ成らいの柱頭粘液を幼らいに塗布した後自家受粉を行った場合には、採集果は 2~4 個で、含有種子は 17~25 個であった。成らいに処理した場合には、10 個の採集果が得られたが、これらはほとんどすべて単為結果果実で、含有種子はわずかに 4 個にすぎなかった。

幼らい柱頭にハッサク成らいの柱頭粘液を塗布して自

第5図 種々の自家不和合性打破処理における収穫果
(Oct. 16, '78)

- A：幼らい受粉
- B：幼らい反復受粉
- C：幼らいヒュウガナツ柱頭粘液塗布受粉
- D：幼らいハッサク柱頭粘液塗布受粉
- E：幼らい花柱最上部切断受粉
- F：幼らい花柱中央部切断受粉
- G：成らいヒュウガナツ柱頭粘液塗布受粉
- H：放任受粉区

第6図 種々の自家不和合性打破処理における収穫果
(Dec. 7, '79)

- A：幼らいヒュウガナツ柱頭粘液塗布受粉
- B：幼らいハッサク柱頭粘液塗布受粉
- C：幼らいユリ柱頭粘液塗布受粉
- D：幼らい反復受粉
- E：放任受粉区

家受粉を行った場合には、不和合性打破に顕著な効果がみられた。すなわち、1978年には採集果は12個、含有種子は116個であり、1979年には採集果は8個で、87個の含有種子が得られた。Martinら(16)によれば、柱頭粘液中には、本来和合、不和合の識別に関与する物質が存在するとのことであるが、ヒュウガナツと交配和合のハッサク粘液を用いてこのような効果が得られたことは極めて興味深い。しかしながら、ハッサク柱頭にはヒュウガナツ柱頭に比べ多量の粘液が分泌されており、こ

れが単にまだ分泌粘液量の少ない幼らい柱頭に塗布されることによって、花粉発芽に対する物理的好条件を与えたにすぎないとも考えられる。

最後に、幼らい柱頭に鉄砲ユリ柱頭粘液を塗布した後自家受粉を行った結果についてみると、採集果は6果で、含有種子は50個であった。開花中の鉄砲ユリ柱頭には多量の粘液が分泌されるが、Labarcaら(15)はその成分を分析し、主としてたんぱくを含む高分子の多糖類や低分子の糖類などが含まれると報告している。これらの成分が、幼らい柱頭上におけるヒュウガナツ花粉の発芽や花柱内における花粉管伸長にどのような影響を与えたかは明らかではないが、ハッサク粘液塗布につぐ効果が得られたことは注目値する。

以上の結果、本実験に関する限り、成らいの1/2の長さの幼らいにハッサクの成らい柱頭粘液を塗布した後自家受粉する方法が、技術的にも繁雑でなく、ヒュウガナツの自家不和合性打破に最も効果があることがわかった。今後は、塗布粘液量を変えた場合や他のカンキツの柱頭粘液を塗布した場合の効果について検討を加えると同時に、はたして柱頭粘液中に不和合反応に関与する特殊成分が含まれるかどうかについても検討を進める必要があろう。なお、本実験においては、かなりの小粒種子が得られたが、これは自殖3倍体である可能性が高い(9)。カンキツのように遺伝的に極めて雑ばくな作物では、こうした自殖3倍体が必ずしも親の優秀な形質をそのまま受けついでいるとは限らないが、無核でヒュウガナツによく似たすぐれた肉質を有する系統も含まれている可能性も考えられる。こうした小粒種子の獲得数からみても、幼らいにハッサク粘液を塗布した後自家受粉を行う処理の有効性が示唆された。

摘 要

本実験においては、ヒュウガナツの自家不和合性に関する知見を増すことを目的として、2、3の基礎的実験を行い、以下のような結果を得た。

1. 成らいに自家受粉および他家受粉を行い、受粉後24時間以内における雌ずい内の可溶性たんぱく、パーオキシダーゼアイソザイムについて、その経時的变化をディスク電気泳動法を用いて比較検討した。可溶性たんぱくについては、いずれの時期においても、柱頭、花柱、子房の3部位とも出現したバンドの位置に差がみられた。また、両受粉区のパーオキシダーゼアイソザイムの相異は、時間的にみて子房で最も早く現われ、次で花柱、柱頭の順となった。

2. 自家不和合性打破に有効な方法を見いだすことを目的としていくつかの処理を試みたところ、ハッサク成

らしいの柱頭粘液をヒュウガナツ幼らい（成らしいの1/2の長さ）に塗布した後自家受粉を行う処理が最も有効であった。また、幼らしいに4日連続して自家受粉を行う方法も、これについて有効であった。これらの処理によって、正常種子の1/3程度の大きさの小粒種子が相当数得られたが、これらはおそらく無核性の3倍体系統であると思われる。

引用文献

1. 浅野義人・明道 博. 1977. ユリの遠縁交雑に関する研究（第1報）花柱切断受粉による交配. 園学雑. 46 : 59-65.
2. BREDEMEIJER, G. M. N. 1973. Peroxidases in un-, self-, and cross-pollinated tobacco styles. Incompatibility Newsletter 3 : 55-57.
3. BREDEMEIJER, G. M. N. 1974. Peroxidase activity and peroxidase isoenzyme composition in self-pollinated, cross-pollinated and un-pollinated styles of *Nicotiana glauca*. Acta. Bot. Neerl. 23 : 149-157.
4. BREDEMEIJER, G. M. N. 1975. A possible role of a stylar peroxidase gradient in the rejection of incompatible growing pollen tubes. Acta. Bot. Neerl. 24 : 37-48.
5. 電気泳動学会編. 1974. 電気泳動法. 文光堂 : 1-443.
6. DEURENBERG, J. J. M. 1976. *In vitro* protein synthesis with polysomes from un-pollinated, cross- and self-pollinated petunia ovaries. Planta 128 : 29-33.
7. DEURENBERG, J. J. M. 1976. Activation of protein synthesis in ovaries from *Petunia hybrida* after compatible and incompatible pollination. Acta Bot. Neerl. 25 : 221-226.
8. DONK, J. A. W. M. 1974. Gene activity and incompatibility reaction in petunia. 279-283. In H. F. LINSKENS (eds.), Fertilization in Higher Plants.
9. ESEN, A. and R. K. SOOST. 1971. Unexpected triploids in citrus; their origin, identification and possible use. Jour. Hered. 62 : 329-333.
10. 樋口春三. 1969. 異型花および配偶子型自家不和合性の生理と制御に関する研究 : 1-110.
11. 平田尚美・林 真二・田辺賢二・松永高博. 1975. 日本ナシの不和合性の生理と機構に関する研究（第2報）二十世紀ナシの自家不和合性の解消と結実促進について. 園芸学会昭和50年度秋季大会研究発表要旨 : 114-115.
12. 井上 勤. 1974. 電気泳動の実験—ディスク電気泳動法（上）. 科学の実験. 25 : 325-332.
13. 井上 勤. 1974. 電気泳動の実験—ディスク電気泳動法（下）. 科学の実験. 25 : 433-438.
14. 加藤幸雄・志佐 誠. 1975. 新・植物生殖生理学. 201-204. 誠文堂新光社. 東京.
15. LABARCA, C. M. K. and F. LOEWUS. 1970. The composition of stigmatic exudate from *Lilium longiflorum*. Plant. Physiol. 46 : 150-156.
16. MARTIN, F. W. and R. RUBERTÉ. 1972. Inhibition of pollen germination and tube growth by stigmatic substances. Phyton Argent. 30 : 119-126.
17. 三輪忠珍. 1951. ヒュウガナツミカンの受粉, 受精現象と落果問題について. 宮崎大学時報（自然科学）2 : 1-67.
18. 山本多聞・桃谷好英. 1971. ペルオキシダーゼアイソザイムのゲルエレクトロフォーカシングによる分離と検出. 植物の化学調節. 16 : 186-192.
19. YAMASHITA, K. 1978. Studies on self-incompatibility of Hyuganatsu, *Citrus tamurana* Hort. ex TANAKA. I. Pollen behavior on stigmas and pollen tube growth in styles observed under a scanning electron microscope and a fluorescent microscope. J. Jap. Soc. Hort. Sci. 47 : 188-194.
20. 山下研介. 1980. ハッサクの自家不和合性に関する研究（第1報）雌ずい内における自家花粉の行動と数種の不和合性打破処理の効果について. 園学雑. 49 : 49-56.