

## Ovules with Multiple Embryo Sacs in Three Fragaria Species

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2019-03-22 キーワード (Ja): キーワード (En): apomeiosis, apomixis, apospory, ovule clearing, strawberry 作成者: 岡本, 章秀, 曾根, 一純, 沖村, 誠 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="https://doi.org/10.24514/00002095">https://doi.org/10.24514/00002095</a>

## Fragaria 属植物 3 種における多胚のうをもつ胚珠の出現

岡本章秀・曾根一純<sup>1)</sup>・沖村 誠<sup>1)</sup>

(2009 年 8 月 3 日 受理)

### 要 旨

岡本章秀・曾根一純・沖村 誠 (2010) *Fragaria* 属植物 3 種における多胚のうをもつ胚珠の出現。九州沖縄農研報告 53: 25 - 32.

*Fragaria* 属のアポミクシスにおける無孢子形成を定量的評価し、その特性を明らかにすることを目的に、*F. vesca* 二倍体 ( $2n=2x=14$ ) および四倍体 ( $2n=4x=28$ )、*F. yezoensis* ( $2n=2x=14$ ) および *F. ×ananassa* ( $2n=8x=56$ ) を供試し、1 小花当たりの多胚のうをもつ胚珠の出現率 (多胚のう胚珠率) を調査した。胚珠の組織学的観察を行ったところ、多胚のうをもつ胚珠は通常 2 ~ 3 個の胚のうを形成していた。中には 5 個のものも認められた。多胚のうをもつ胚珠には 8 核性の *Polygonum* 型の胚のうだけが認められ、有性生殖の胚のうと無孢子形成由来の胚のうを形態から区別することはできなかった。1 小花ごとの多胚のう胚珠率を透明化法により調査したところ、値は小花ごとのバラつきが大きかった。5 月採取小花の多胚のう胚珠率は種間で有意に異なり、*F. vesca* 二倍体 (52.8%) は、*F. vesca* 四倍体 (20.8%) および *F. ×ananassa* (23.6%) よりも有意に高かった。*F. vesca* 二倍体の小花を 3 月と 5 月に採取し多胚のう胚珠率を比較したところ、5 月採取 (52.8%) の多胚のう胚珠率が 3 月採取 (33.3%) に比べて有意に高く、多胚のう胚珠率に季節的变化が存在した。

キーワード：アポマイオシス、アポミクシス、無孢子形成、透明化法、イチゴ。

### I 緒 言

*Fragaria* 属の繁殖法には、自家受粉および他家受粉による有性生殖と、匍匐枝およびアポミクシスによる無性生殖がある (DARROW, 1966)。*F. vesca* L. ( $2n=2x=14$ ) と *F. ×ananassa* Duch. ( $2n=8x=56$ ) との異倍数体間交配では、種子親と同じ形態を示す個体が現れることが認められ、これらはアポミクトと推定されている (岩田ら, 2009; 李ら, 2000; 森下ら, 1996)。このときアポミクシス率は、*F. vesca* が種子親の場合、32.5% (岩田ら, 2009), 72.5 ~ 100% (森下ら, 1996), *F. ×ananassa* が種子親の場合、49.7% (李ら, 2000), 96.7% (岩田ら, 2009) と報告されている。

配偶体アポミクシスの発現様式に関して、非減数性胚のうの形成 (アポマイオシス) には、無孢子形成 (apospory) と複相大孢子形成 (diplospory) の 2 型がある。無孢子形成では胚珠の体細胞 (通常は珠心) から直接的に非減数性胚のうが形成され、複相大孢子形成では生殖細胞 (胞原細胞や胚のう母細

胞) から、1) 有糸分裂によって直接的に (*Antennaria* 型)、または 2) 解対合とその結果生じる復旧核によって間接的に (*Taraxacum* 型および *Ixeris* 型)、非減数性胚のうが形成される (NOGLER, 1984)。また、複相大孢子形成には、これらの他に胞原細胞期における核内倍加とその後の減数分裂による非減数性胚のう形成 (*Allium* 型) がある (小島, 2001)。非減数性胚のうでは、体細胞と同じ染色体数の卵細胞が、単為発生によって無性的に胚に発達する能力を有し、胚乳の形成には、極核が受精することが必要な場合 (偽受精) と、単為発生する場合がある (NOGLER, 1984)。*Fragaria* 属のアポミクシスに関するレビュー (ASKER・JERLING, 1992) では、アポマイオシスについて、無孢子形成および複相大孢子形成が起こること、*F. ×ananassa* と *F. moschata* Duch. ( $2n=6x=42$ ) の交雑時に起こる複相大孢子形成には *Antennaria* 型と *Taraxacum* 型の両方があること、胚乳の形成には偽受精が必要なことが述べられている。

*Fragaria* 属におけるアポミクシスの利用目的には、ウイルス伝播の回避 (ASKER・JERLING, 1992) や、耐寒性、四季成り性および生産性等優良形質の固定化 (SUKHAREVA ら, 2002) があげられ、その他、我々は将来的にアポミクシスを利用した種子繁殖性イチゴの実現を目的としている。アポミクシスを育種に利用するためには、アポミクシス性を定量的に評価し、遺伝様式を解明する必要がある。アポミクシス性は、アポミクシス率に加え、アポマイオシス率および単為発生率から評価されるが (小島, 2001; NAUMOVA ら, 1999), *Fragaria* 属ではアポマイオシスおよび単為発生に関して定量的な評価を行った報告はほとんどみられない。この理由として、*Fragaria* 属の子房が球状の花床表面に1個ずつ着生し、慣行のパラフィン切片法では胚珠の観察に労力を要することがあげられる (李ら, 2000)。本報告では、胚珠の観察に透明化法 (HERR, 1982) を採用し、アポマイオシスの一つである無孢子形成の程度を多胚のうをもつ胚珠 (有性生殖の胚のう + 無孢子形成由来の胚のう) の出現率によって定量的に評価することを試み、これまで明らかにされていない *Fragaria* 属の無孢子形成の特性について検討した。

## II. 材料および方法

異倍数体間交配でアポミクトの出現が認められた *F. vesca* 二倍体および *F. ×ananassa* (岩田ら, 2009), 新たに異倍数体間交配でアポミクトの出現が認められた *F. yezoensis* Hara ( $2n=2x=14$ ) (未発表) に加え、*F. vesca* 四倍体 ( $2n=4x=28$ ) を供試した。*F. vesca* 二倍体は3個体、*F. vesca* 四倍体は1個体、*F. yezoensis* は1個体、*F. ×ananassa* は2品種 ('カレンベリー' および 'こいのか') を用いた。これらはいずれも雌雄同株であった。*F. vesca* および *F. yezoensis* は、九州沖縄農業研究センター久留米研究拠点の無加温ガラス室で、通年プラスチック製鉢 (直径 16.5cm) に植えられ、管理されている。*F. ×ananassa* は同研究拠点で7月に匍匐茎を採取し、苗養成した株を9月にビニルハウスに定植したものである。

*F. vesca* 二倍体は3月および5月に、*F. vesca* 四倍体、*F. yezoensis* および *F. ×ananassa* は5月に開花3~7日後までの小花を採取し、花床を FAA (ホルマリン:70%エタノール:酢酸 = 1:18:1 (v/v/v))

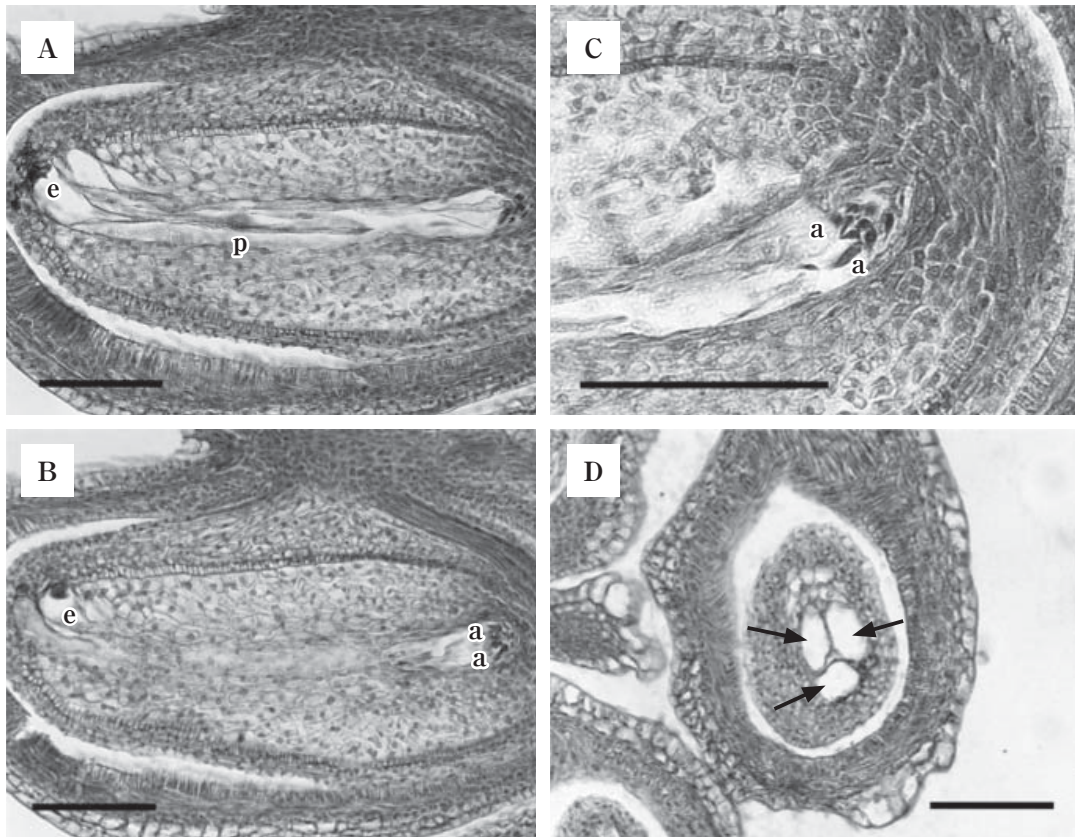
で24時間固定した後、70%エタノール中に室温で保存した。3月採取の *F. vesca* 二倍体について、胚のうの組織学的観察を行った。固定した花床をn-ブタノールシリーズで脱水し、パラフィン包埋した後、回転式マイクロトームで厚さ 12  $\mu$ m の縦断および横断面の連続切片を作製した。1%酸性フクシンおよび0.2%ファストグリーンで二重染色した後、オイキット液を滴下しカバーガラスをかけ封入し、永久プレパラートとした。胚のうの観察には生物顕微鏡を用いた。

3月および5月に採取したすべての種について、1小花ごとの多胚のうをもつ胚珠の出現率 (以下、多胚のう胚珠率) を透明化法により調査した。固定した花床は蒸留水で70%エタノールを洗浄後、1N水酸化ナトリウムで5 (二倍体種) ~7分 (八倍体種) アルカリ処理を行った。その後、蒸留水に1時間以上浸漬し、十分に吸水させた。実体顕微鏡下でピンセットを用いて子房を花床から外し、続いて子房壁を切開し胚珠を取り出した。胚珠は BB-4 1/2 液 (乳酸:抱水クロラール:フェノール:チョウジ油:キシレン:安息香酸ベンジル = 2:2:2:2:1:1 (v/v/v/v/v/v)) を滴下したスライドガラス上に置き、カバーガラスをかけ、室温下で24時間処理した。胚のうの観察にはノマルスキー微分干渉顕微鏡を用いた。透明化法を用いることで、1小花中に形成されたほとんどの胚珠を対象とした調査が可能であった。胚のうが退化している胚珠、核分裂異常等の異常胚のうを示した胚珠、胚のう完成前の胚珠および胚乳の遊離核分裂が進んでいる胚珠は、胚のう数の算定が困難であったため、出現率の算出から除外した。

多胚のう胚珠率は百分率で表わされたため、統計分析の際には SOKAL・ROHLF (1983) に従い逆正弦変換した値を用いた。

## III. 結 果

組織学的観察を行なったところ、胚珠数は種にかかわらず通常1子房中に1個であった。ただし、1小花中1, 2個の子房に胚珠が2個認められた。多胚のうをもつ胚珠では、2, 3個の胚のうが形成され (第1図 A および B), 中には5個のものも認められた。多胚のうの場合、1胚珠中に1個の胚のう



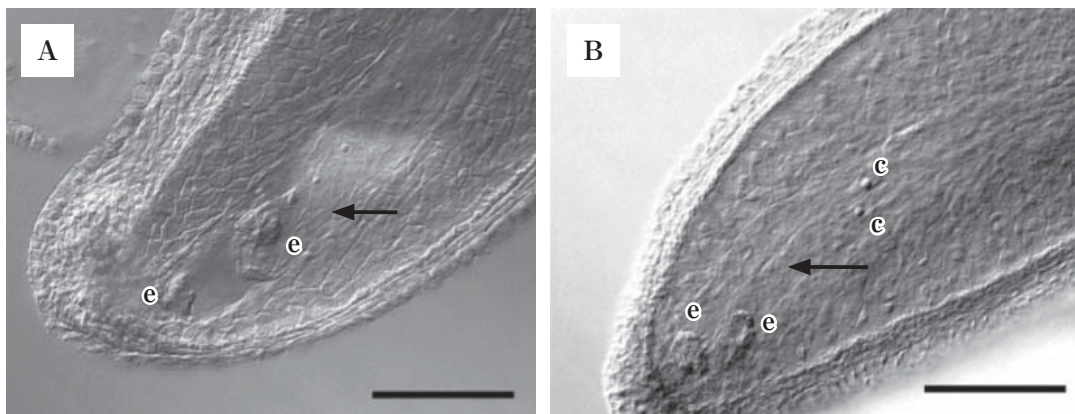
第 1 図 *Fragaria vesca* 二倍体胚珠の組織切片の顕微鏡写真

A および B, 胚珠 1 個の連続切片。胚珠断面に胚のうが 2 個認められる；C, 胚珠縦断面に反足細胞が 2 カ所認められる；D, 胚珠横断面に 3 個の胚のう（矢印）とその上部に複数の胞原細胞が認められる。a, 反足細胞；e, 卵装置；p, 極核。棒線は 100 $\mu$ m。

が形成されたときと同様，胚のうには反足細胞が認められた（第 1 図 C）。調査した胚珠中には，複数の胞原細胞が退化せずに胚のう近傍に認められるこ

とがあった（第 1 図 D）。

多胚のうをもつ胚珠では，有性生殖の胚のうが形成される場所とは異なる所に胚のうが形成された。



第 2 図 *Fragaria* 属植物の透明化法で処理した胚珠の顕微鏡写真

A, *F. xananassa* ‘こいのか’ の胚珠。有性生殖の胚のうに対して，胚珠の長軸方向にずれた位置に無孢子形成由来の胚のうが形成されている（矢印）。；B, *F. yezoensis* の胚珠。有性生殖の胚のうに対して，胚珠の短軸方向にずれた位置に無孢子形成由来の胚のうが形成されている（矢印）。c, 中心核；e, 卵装置。棒線は 100 $\mu$ m。

それらには2型あり，有性生殖の胚のうに対して胚珠の長軸方向にずれた位置に形成される場合（第2図A）と，胚珠の短軸方向にずれた位置に形成される場合（第2図B）があった。

各個体・品種につき3花調査した結果，多胚のう胚珠率は同じ品種・個体内でも小花単位でバラつきがあった。このため，第1表では個体・品種の平均値ではなく，1小花ごとの値を示した。5月採取の小花に関して，バラつきが大きかった個体・品種として，*F. vesca* 二倍体「No. 2」（44.4～75.2%），同「No. 3」（38.6～63.3%）および*F. ×ananassa* ‘カレ

ンベリー’（10.9～61.2%）があげられた。

分散分析の結果，多胚のう胚珠率は種間で有意に異なったが，*F. vesca* 二倍体内（個体間）や*F. ×ananassa* 内（品種間）で異なるとはいえなかった（第2表）。有意差が認められた種間の比較を行ったところ，*F. vesca* 二倍体（平均52.8%）は，*F. vesca* 四倍体（平均20.8%）および*F. ×ananassa*（平均23.6%）に比べて有意に高いことが示された（第3表）。*F. yezoensis*（平均41.0%）は他種との間に有意差は認められなかった。

*F. vesca* 二倍体における3月採取と5月採取の小

第1表 *Fragaria* 属3種における1小花当たりの多胚のうをもつ胚珠の出現率

種 (倍数性)	個体・品種	観察した胚珠数	胚のう数/胚珠			多胚のう胚珠出現率 (%) <sup>b</sup>	
			1個	2個以上	不明 <sup>a</sup>		
3月採取							
<i>F. vesca</i> (2x)	No.1	134	85	45	9	36.0	
		99	58	26	15	31.0	
		115	58	20	37	25.6	
	No.2	95	52	28	15	35.0	
		86	36	17	33	32.1	
		73	33	15	25	31.3	
	No.3	87	55	15	17	21.4	
		108	38	41	29	51.9	
		105	49	27	29	35.5	
5月採取							
<i>F. vesca</i> (2x)	No.1	163	64	51	48	44.3	
		95	40	27	28	40.3	
		88	23	47	18	67.1	
	No.2	90	27	25	38	48.1	
		85	40	32	13	44.4	
		119	28	85	6	75.2	
	No.3	118	40	69	9	63.3	
		134	62	39	33	38.6	
		95	39	45	11	53.6	
	<i>F. vesca</i> (4x)	No.1	80	49	9	22	15.5
			82	44	11	27	20.0
			140	46	17	77	27.0
	<i>F. yezoensis</i> (2x)	No.1	48	18	17	13	48.6
			56	23	17	16	42.5
			55	32	15	8	31.9
<i>F. ×ananassa</i> (8x)	カレンベリー	119	65	12	42	15.6	
		99	33	52	14	61.2	
		119	82	10	27	10.9	
	こいのか	133	104	29	26	21.8	
		72	38	9	25	19.1	
		109	60	9	40	13.0	

<sup>a</sup> 胚のう退化，異常胚のう，胚のう完成前および胚乳の遊離核分裂のため，胚のう数が調査できなかった。

<sup>b</sup> 多胚のう胚珠出現率 (%) = 胚のう数2個以上 / (胚のう数1個 + 胚のう数2個以上) × 100。

第 2 表 *Fragaria* 属 3 種 7 個体・品種における 1 小花当たりの多胚のうをもつ胚珠の出現率（5 月採取）に関する分散分析

変動因	自由度	平方和	平均平方	分散比 (F)
全個体 (品種) 間	6	0.52706586	0.087844	3.0104 <sup>*b</sup>
種間 <sup>a</sup>	3	0.49491429	0.164971	5.6536 <sup>*</sup>
<i>F.vesca</i> (2x) 個体間	2	0.00781444	0.003907	0.1339n.s
<i>F.×ananassa</i> 品種間	1	0.02433713	0.024337	0.8340n.s
誤差	14	0.40851900	0.029180	

<sup>a</sup> *Fragaria vesca* について 2 倍体と 4 倍体は別種として扱った。

<sup>b</sup> \* および n.s. はそれぞれ 5% レベルで有意差ありおよび有意差なしを示す。

第 3 表 *Fragaria* 属 3 種における 1 小花当たりの多胚のうをもつ胚珠の平均出現率（5 月採取）

種	調査小花数	多胚のう胚珠出現率 (%) <sup>a</sup>
<i>F.vesca</i> (2x)	9	52.8a <sup>b</sup>
<i>F.vesca</i> (4x)	3	20.8b
<i>F.yezoensis</i>	3	41.0ab
<i>F.×ananassa</i>	6	23.6b

*Fragaria vesca* について二倍体と四倍体は別種として扱った。

<sup>a</sup> 第 1 表参照。

<sup>b</sup> Tukey-Kramer 法により異なる文字間に 5% レベルで有意差あり。

第 4 表 *Fragaria vesca* 二倍体の異なる小花採取時期における 1 小花当たりの多胚のうをもつ胚珠の出現率に関する分散分析

変動因	自由度	平方和	平均平方	分散比 (F)
採取時期間	1	0.22229531	0.222295	13.1770 <sup>***</sup>
誤差	16	0.26991931	0.016870	

小花の採取は 3 月と 5 月に行った。

<sup>a</sup> \*\*\* は 0.1% レベルで有意差ありを示す。

花の多胚のう胚珠率を比較したところ、採取月で有意差が認められ（第 4 表）、5 月採取（平均 52.8%）は、3 月採取（平均 33.3%）に比べて値が高かった。

#### IV. 考 察

有性生殖の胚のうと無胞子形成由来の胚のう（以下、無胞子形成胚のう）との識別について、*Panicum maximum* Jacq. では、無胞子形成胚のうは 4 核性（*Panicum* 型）であり、反足細胞の有無、極核の数、形成される位置から容易に 8 核性の有性生殖胚のうと区別することができる（NAKAJIMA・MOCHIZUKI, 1983）。*Paspalum rufum* Nees の無胞子形成胚のうについても反足細胞を欠き、大きさが有性

生殖胚のうに比べて小さいため区別することができる（NORRMANN ら, 1989; SIENA ら, 2008）。*Fragaria* 属では、多胚のうである場合にすべての胚のうに反足細胞が認められ、無胞子形成胚のうは 8 核性の *Polygonum* 型と考えられた。このため、形態からは有性生殖胚のうと無胞子形成胚のうとを区別することができなかつた。形成される位置から無胞子形成胚のうを推定することは可能であったが、現時点において無胞子形成を定量的に評価する方法としては、多胚のう胚珠率を指標とすることが最良と考えられた。

配偶体アポミクトはほぼ常に倍数体であり、四倍体が最も一般的とされる。また、アポミクト二倍体は、人為的に作出できることが報告されているが、

作出された植物体は弱く、ほとんどが花粉不稔を示す (ASKER・JERLING, 1992)。それ故、倍数性はアポミクシスの発現に絶対に必要というわけではないが、アポミクシスの発現を高めるための役割を果たすとみられている (BICKNELL・CATANACH, 2006)。二倍体の配偶体アポミクトは、*Brachiaria decumbens* Stapf. (NAUMOVA ら, 1999) および *Paspalum* 属種 (NORRMANN ら, 1989; SIENA ら, 2008) 等で報告があり、同属の倍数体種に比べて低率ではあるが無孢子形成が確認されている。今回供試した *Fragaria* 属二倍体種の *F. vesca* および *F. yezoensis* は、多胚のう胚珠率がそれぞれ 52.8% および 41.0% と、*Fragaria* 属は二倍体における無孢子形成を比較的起こしやすい植物種であることが示唆された。アポミクトは氷河レフュジアで起原し、氷河の後退が始まると、近縁な有性生殖型の種よりも急速にそれらの地域から拡散していくことができたと考えられている (ASKER・JERLING, 1992)。BATURIN (2009) は、*F. vesca* 二倍体における配偶体アポミクシスの機構が、訪花昆虫の不調や花粉の質の低下を起こす受粉に不利な環境条件下での種子発達を可能とすることを指摘している。これらのことから、高緯度に分布する *F. vesca* および *F. yezoensis* と高率な多胚のう胚珠率との間の関係性が推察された。

アポマイオシスの季節的変化について、*Paspalum* 属の *P. rufum* および *P. cromyorrhizon* Trin. では、無孢子形成胚のうだけの胚珠および多胚のうをもつ胚珠の出現率が季節によって変化することが報告されている (NORRMANN ら, 1989; QUARIN, 1986)。*B. decumbens* では、夏 (18 時間日長) と秋 (11 時間日長) で有性生殖胚のうに対する無孢子形成胚のうの比率に違いはないが、夏よりも秋の方が両胚のう共に退化が多く、結果的に無孢子形成胚のう数が少なくなる (NAUMOVA ら, 1999)。今回行った *F. vesca* 二倍体を用いた試験では、5 月採取の多胚のう胚珠率が 3 月採取よりも高く、無孢子形成に季節的変化の存在が明らかになった。

栽培種である *F. ×ananassa* については、低い多胚のう胚珠率を示す品種しか見いだせなかったが、'カレンベリー' 小花の 1 つで 61.2% を示し、この小花が何らかの環境要因によって高い多胚のう胚珠率を示した可能性があった。従って、今後は高い多胚のう胚珠率を有する品種および系統を探索することに

加え、無孢子形成が誘導される環境条件を明らかにすることも必要と考えられた。

種子繁殖性イチゴの育種では、優良形質の遺伝的純度が高い母本を作出し、それらの交配により  $F_1$  品種を育成することが検討されている (森, 私信)。このとき、アポミクシスを利用することができれば、育種年限の短縮および種子生産の効率化に繋がると期待される。*Fragaria* 属のアポミクシスは有性生殖と共存し、環境要因によってアポミクシス率が変動する条件的アポミクシスである。柳ら (2008) は *F. vesca* に *F. ×ananassa* 花粉を交配したとき、同じ種子親でも花粉親に用いる品種の違いでアポミクシス率が変動することを示した。BICKNELL・CATANACH (2006) はアポミクシスの評価では、アポミクシス率による直接的な評価よりも、むしろ相関のあるアポマイオシスおよび単為発生による評価を実現することが重要と述べている。このため、今後単為発生を定量的に評価する手法を確立し、*Fragaria* 属のアポミクシス性の評価がアポミクシス率のみでなく、アポマイオシス率および単為発生率を加えた形で行われるようにする必要がある。また、アポミクシスの遺伝様式の解明に向けた取り組みのためには、完全な両性生殖性を示す二倍体個体の獲得が必要である。

*Fragaria* 属に認められるアポマイオシスのもう一方の経路である複相大孢子形成に関して、*Fragaria* 属と同じバラ科の *Potentilla* 属および *Rubus* 属の種は、多細胞性の胞原組織を形成し、大孢子母細胞と隣接する珠心細胞との間で移行が生じるため、複相大孢子形成と無孢子形成を見分けることが困難とされている (ASKER・JERLING, 1992)。*F. vesca* 二倍体胚珠の組織切片の観察では、複数の胞原細胞が胚のう近傍に認められ、*Fragaria* 属が多細胞性の胞原組織を形成すると考えられた。このため、複相大孢子形成の評価は、アポミクシス率への寄与を勘案した上で、取り組み方について検討していきたい。

## 引用文献

- 1) ASKER, S. E. and JERLING, L. (1992) Apomixis in plants. 320p. Crc Press, Boca Raton, Florida.
- 2) BATURIN, S. O. (2009) Agamospermy in outbred crosses of *Fragaria vesca* L. (Rosaceae). *Russ. J.*

- Genet.* **45** : 322–326.
- 3) BICKNELL, R. A. and CATANACH, A. S. (2006) The molecular biology of apomixis. In: The molecular biology and biotechnology of flowering second edition. (JORDAN, B. R. ed.) p354–390. Cabi Publishing, Oxfordshire.
  - 4) DARROW, G. M. (1966) The strawberry. 447p. Holt, Rinehart and Winston, New York.
  - 5) HERR, J. M., Jr. (1982) An analysis of methods for permanently mounting ovules cleared in four-and-half type clearing fluids. *Stain Technol.* **57** : 161–169.
  - 6) 岩田貴志・柳智博・NATHEWET, P.・曾根一純 (2009) イチゴの 8 倍体種 *Fragaria* × *ananassa* と 2 倍体種 *F. vesca* の種間正逆交雑により得られた個体の倍数性. 園学研 **8** (別 1) : 147.
  - 7) 小島昭夫 (2001) ニラの二倍体レベルにおけるアポミクシス性／両性生殖性分離集団育成の試み. 育種学最近の進歩 **43** : 65–68.
  - 8) 李玉花・候秀英・林亮・景士西・鄧明琴 (2000) イチゴ属の種間交雑 *Fragaria* × *ananassa* × *F. vesca* における花粉の発芽異常および胚の発育停止と交雑不和合性の関係. 園学雑 **69** : 84–89.
  - 9) 森下昌三・山川理・望月龍也 (1996) イチゴの種間雑種に関する研究. 野菜・茶業試験場研報 A **11** : 69–95.
  - 10) NAKAJIMA, K. and MOCHIZUKI, N. (1983) Degrees of sexuality in sexual plants of Guinea grass by the simplified embryo sac analysis. *Japan. J. Breed.* **33** : 45–54.
  - 11) NAUMOVA, T. N., HAYWARD, M. D. and WAGENVOORT, M. (1999) Apomixis and sexuality in diploid and tetraploid accessions of *Brachiaria decumbens*. *Sex. Plant Reprod.* **12** : 43–52.
  - 12) NOGLER, G. A. (1984) Gametophytic apomixis. In: Embryology of angiosperms. (JOHRI, B. M. ed.) p475–518. Springer-Verlag, Berlin.
  - 13) NORRMANN, G. A., QUARIN, C. L. and BURSON, B. L. (1989) Cytogenetics and reproductive behavior of different chromosome races in six *Paspalum* species. *J. Hered.* **80** : 24–28.
  - 14) QUARIN, C. L. (1986) Seasonal changes in the incidence of apomixis of diploid, triploid, and tetraploid plants of *Paspalum cromoerhizon*. *Euphytica* **35** : 515–522.
  - 15) SIENA, L. A., SARTOR, M. E., ESPINOZA, F., QUARIN, C. L. and ORTIZ, J. P. A. (2008) Genetic and embryological evidences of apomixis at the diploid level in *Paspalum rufum* support recurrent autopolyploidization in the species. *Sex. Plant Reprod.* **21** : 205–215.
  - 16) SOKAL, R. R. and ROHLF, F. J. (1983) 生物統計学. (藤井宏一訳) 449p. 共立出版, 東京.
  - 17) SUKHAREVA, N. B., BATURIN, S. O. and TRAJKOVSKI, K. (2002) Induction of apomixis in *Fragaria vesca*. *Acta Hort.* **567** : 231–234.
  - 18) 柳智博・岩田貴志・ナスワット プリーダ・曾根一純 (2008) イチゴの 2 倍体種 *Fragaria vesca* と 8 倍体種 *F.* × *ananassa* との交雑で得られた個体における倍数性の変異. 園学研 **7** (別 2) : 194.



## Ovules with Multiple Embryo Sacs in Three *Fragaria* Species

Akihide Okamoto, Kazuyoshi Sone<sup>1)</sup> and Makoto Okimura<sup>1)</sup>

### Summary

To obtain information on the quantitative aspects of apospory in *Fragaria*, we investigated the rate of ovules with multiple embryo sacs per floret (ROF) for diploid ( $2n=2x=14$ ) and tetraploid ( $2n=4x=28$ ) *F. vesca*, *F. yezoensis* ( $2n=2x=14$ ), and *F. ×ananassa* ( $2n=8x=56$ ). Histological observation revealed that two or three embryo sacs were normally formed in ovules with multiple embryo sacs, and occasionally five embryo sacs were observed in one ovule. Only eight-nucleate embryo sacs (*Polygonum* type) were recognized in the ovules with multiple embryo sacs, so aposporous sacs were not distinguished morphologically from meiotic sacs. ROF was examined using Herr's clearing technique and varied widely at the floret level. A statistically significant difference ( $P=0.05$ ) among species was found in ROF of sampling in May. Diploid *F. vesca* (52.8%) exhibited significantly higher ROF than both tetraploid *F. vesca* (20.8%) and *F. ×ananassa* (23.6%). When the florets of diploid *F. vesca* were sampled in March and May, the ROF of sampling in May (52.8%) was significantly higher ( $P=0.001$ ) than that of sampling in March (33.3%), demonstrating seasonal change in ROF.

**Key words:** apomeiosis, apomixis, apospory, ovule clearing, strawberry.