

## ギニアグラスにおけるアポスポリー性胚嚢始原細胞の出現時期の推定

陳 蘭荘・小島昭夫・加藤清正・小園照雄 (農業生物資源研究所)

Lanzhuang CHEN, Akio KOJIMA, Seisho KATO and Teruo KOZONO: Estimation of the Period of Aposporous Embryo-Sac Initial Cell Appearance in Guinea Grass (*Panicum maximum* JACQ)

アポミクシス遺伝子をサブトラクション法などにより単離するには、その遺伝子が発現している時期を特定する必要がある。本研究では、透明法により胚嚢形成過程を観察し、子房長を指標として、アポスポリー性胚嚢始原細胞の出現時期を推定した。また、開花後の胚珠の観察から、アポミクシス率の当代検定法について考察した。

## 1. 材料及び方法

ギニアグラスの両性生殖性の3系統と条件のアポミクトの7系統を供試した。開花前後の蕾と花をFPA<sub>50</sub>液で固定した後、子房を摘出してBB-4液で透明化処理し、微分干渉顕微鏡下で観察した。

## 2. 結果及び考察

両性生殖性系統とアポミクシス性系統のいずれにおいても、胚嚢母細胞の減数分裂によって四分子が形成され、珠孔側の3細胞は早期に退化して、合点側の1細胞だけが大きく成長した。その後、両性生殖性系統では、大胞子が3回分裂して8核の成熟胚嚢となった。アポミクシス性系統では、大胞子とは別に、アポスポリー性胚嚢始原細胞 (Aposporous embryo-sac initial cell, AIC) が出現した。AICは2回の分裂により4核の成熟胚嚢となった。多くの胚珠で複数のAICが生じ、その数は子房長が増すにつれて増加した。すなわち、複数のAICは同時に分化するのではなく、大胞子が形成される時期から珠孔側の胚嚢が成熟するまでの間に、次々に出現することが分かった(第1表)。また、アポスポリー性の高い系統ほど胚嚢数が多い(第2表)、AICの出現時期の幅も大きかった。

アポスポリー遺伝子の発現時期をAIC出現の直前と仮定すれば、胚嚢数の多い系統ほど、発現期間は長いと考えられる。アポスポリー遺伝子をクローニングするための材料としては、サンプリング適期の幅が広いという点で、胚嚢数の多い系統が有利であろう。

開花4日後の胚珠をアポミクシス性の5系統について観察した結果、珠孔側の胚嚢が胚を有する頻度は33%~91%であったのに対し、側位にあるいずれかの胚嚢が胚を有する頻度は4系統で0%で、残り1系統で4%で

あった(第3表)。これは花粉管が珠孔側にある胚嚢に優先的に侵入するためと考えられる。側位の胚嚢群は珠孔側の胚嚢の胚及び胚乳の発育によって圧迫され、10日後までに全て退化した。最終的に珠孔側の胚嚢の胚だけが種子胚となると考えられる。従って、次代検定によらなくても、珠孔側の胚嚢がアポスポリー性である頻度をもってアポミクシス率をおおよそ評価できるであろう。

第2表 アポスポリー率と平均胚嚢数 (開花当日)

系統名	観察した アポスポリー率 (%)		平均胚嚢数	
	胚珠数	第1胚嚢 <sup>a)</sup> 第2胚嚢 <sup>b)</sup>		
アポミクシス性系統				
Green Panic	20	95	94	2.5
N68/96-8-o-11	57	94	81	2.5
N68/84-1-s-6	10	90	78	2.5
80-043	26	84	81	2.5
80-060	26	72	65	2.2
ナツカゼ	72	68	72	1.6
80-004	63	59	67	1.6
両性生殖性系統				
80-007	18	0	0	1.0
80-038	48	0	0	1.0
N68/96-8	30	0	0	1.0

注) a) 珠孔側にある胚嚢。b) 珠孔側に最も近い胚嚢。

第3表 珠孔側の胚嚢の優先的な発育 (開花4日後)

系統名	観察した胚嚢数 (A)	胚と胚乳を持つ胚嚢の数			
		珠孔側 (B)	B/A 側位 (C)	C/B	
80-060	23	21	91%	0	0%
80-043	25	17	68%	1 <sup>a)</sup>	4%
N68/96-8-o-11	17	13	76%	0	0%
N68/84-1-s-6	7	3	43%	0	0%
ナツカゼ	6	2	33%	0	0%

注) a) 同一胚珠内に2つの胚嚢がともに発育した。

第1表 アポスポリー性胚嚢始原細胞の出現時期の子房長 (μm)

系統名	大胞子期	第1始原細胞	第2始原細胞	第3始原細胞	胚嚢成熟期
N68/96-8-o-11	328±82	384±48	432±57	464±78	597±62
80-004	429±87	534±41	538±43	680	683±55
Green Panic	395±48	440±138	440±60	— <sup>a)</sup>	638±82
ナツカゼ	342±89	333±56	400±120	— <sup>a)</sup>	634±73

注) <sup>a)</sup>未調査。