

「頂芽優勢の鍵物質 –オーキシンとサイトカイニン–」

独立行政法人 農業・生物系特定産業技術研究機構 果樹研究所
生理機能部 栽培生理研究室 伊東明子

1. はじめに

頂芽優勢とは、相関抑制(correlative inhibition:植物体の一部の器官や組織の成長が、他の部分の成長と関連して抑制される現象)の一種で、植物に頂芽と側芽(「腋芽」ともいう)が存在する場合、頂芽は旺盛に生育するが、側芽の成長は抑制されて「休眠」する現象を言う。側芽の休眠は頂芽を取り除く(摘心)と解除される。また、頂芽がついていても、その成長が環境の変化や分裂組織の老化などによって停止すると、側芽は成長を開始する。

頂芽優勢が生理活性物質により制御されていることを最初に示した研究以来、それを制御する物質の検索と制御機構の研究が精力的に行われてきた。しかし、その鍵物質の筆頭と考えられているオーキシンについてすら、その制御機構はいまだに解明されたとは言いがたい。一方、近年、生理学的手法の発展と、分子生物学的手法の利用により、頂芽優勢に関する研究もこれまでの「spray and pray」から大きく様変わりし、飛躍的に進展した。ここでは、オーキシンによる頂芽優勢制御機構を中心に、これまでに明らかになったことを紹介していきたい。なお、より詳しく勉強したい読者には、最近の総説^{1, 2, 8, 9, 12, 29, 35, 37, 38})をご参照いただきたい。

2. 「休眠」とは何か?

休眠とは、「分裂組織を含む植物の構造が、目に見える成長を停止している状態²⁰⁾」と定義されている。芽は、「成長」から「休眠」、「休眠」から「成長」という状態の変化を何度もくり返すことができる。「休眠」は、様式によって3種類に分けられる。環境要因が不適な時の休眠がecodormancy、植物体の他の器官からの制御による休眠がparadormancy、そしてその器官の中の生理的要因による休眠がendodormancyである。頂芽優勢は、頂芽による側芽の成長抑制であり、paradormancyに分類される。

さて、細胞周期の各段階ではそれぞれ特有な遺伝子が発現する。これらの遺伝子のmRNAの発現パターンの解析により、休止芽の細胞は、概ねG₁期で止まっているものと考えられる³⁴⁾。

また、頂芽に成長を抑制されている側芽は、頂芽切除後の側芽と同等にアミノ酸を取り込み、タンパク質を合成している。さらにこれらの芽ではそれぞれ異なるタンパク質を合成しており、頂芽を切除すると休眠状態の芽が産出するタンパク質は急速に成長状態の芽のタンパク質のパターンに変化する。つまり、植物は「休眠特異的タンパク質」を産出し、積極的に休眠状態を維持していることになる³⁷⁾。

3. オーキシンによる頂芽優勢の制御機構

(1) オーキシンとサイトカイニンの相互作用

頂芽を取り除くと側芽が成長するが、その切り口にオーキシンを塗布すると側芽の成長が抑えられる。一方、植物の側芽に直接サイトカイニンを塗布すると、頂芽があってもその側芽が伸長する。そのため、頂芽優勢はオーキシンとサイトカイニンのバランスで決定され、オーキシンを多量に産出している頂芽がなくなるとサイトカイニンの量が相対的に多くなり、その結果頂芽優勢が打破されると考えられている³³⁾。このことは、突然変異体の解析からも裏付けられる。オーキシンに対する反応性が高い*axr3*突然変異体では、頂芽優勢が強まり分枝が減少するが、逆に、オーキシンに対する反応性が失われた*axr1*突然変異体は頂芽優勢が弱まり分枝が増える²¹⁾。一方、サイトカイニンを過剰生産する*amp1*は多くの側枝が発生する⁷⁾。また、オーキシン生合成を過剰にした組換え体(*iaaH*, *iaaM*)では分枝が減少し³⁶⁾、逆にサイトカイニン生合成を過剰にした組換え体(*ipt*)では分枝が増加する²⁷⁾。

一方、*Lupinus angustifolius*の側芽において、植物ホルモン(オーキシン、サイトカイニン、アブシジン酸)含量と伸長速度を比較すると、伸長速度はそれぞれ単独の植物ホルモンの濃度とより、サイトカイニン/オーキシン比と高く相関した¹³⁾。また、オーキシン生合成が過剰の組換え体とサイトカイニン生合成が過剰の組換え体をかけ合わせ、両方が過剰の個体を作出すると、頂芽優勢は両親の中間となった¹⁸⁾。これらの結果は、頂芽優勢の制御にはオーキシンやサイトカイニン単独の濃度よりもその比が重要であることを示している^{19, 22, 37)}。

(2) 頂芽優勢におけるオーキシンの挙動

Thimann and Skoog³⁹⁾は当初、頂芽の産出す

る大量のオーキシンが茎を通して側芽の成長点に運搬され、直接その成長を抑制すると考えた。しかし、①オーキシンを直接側芽に処理しても成長は抑制されない³⁸⁾、②頂芽を切除しても側芽のオーキシン含量は低下しない^{16, 17, 32)}、③オーキシンは細胞膜に存在するオーキシン担体によって求基的に能動輸送されており、頂芽から側芽との分岐点まで運搬されても、そこから側芽の成長点には、ごく一部が拡散によって移動するだけで大部分は到達できない²⁴⁾、④オーキシを高濃度で含む頂芽は旺盛に成長しているのに、その一部が移動するだけで側芽の成長が抑えられると考えるには無理がある³⁷⁾ことから、現在では、頂芽から供給されるオーキシンが直接側芽の成長点に作用するとは考えられていない。

また、インゲンマメから側芽のついた節間を切り出し、¹⁴C- IAA (インドール酢酸：内生の活性型オーキシン)を含む培地に先端側の切り口をさせば芽は伸長しないが、切片を前もってオーキシンの移行阻害剤で処理しておくで芽が伸長する³⁸⁾。また、オーキシン移行阻害剤処理の有無にかかわらず、側芽で認められる放射活性はごく微量で、処理の影響は認められない。つまり、頂芽優勢の維持にはオーキシンが茎の中を求基的に移動していることが重要なものであり、芽におけるオーキシン集積が重要なのではない。

一方、成長が抑制されている側芽からのオーキシンの輸出量は、成長抑制が解除されている側芽に比較して少ないという現象が知られている。上胚軸で摘心し、子葉節から2本の側芽を伸長させて『Y』字型に仕立てたインゲンマメにおいては、成長の旺盛な側芽からのオーキシン輸出量は成長の弱い側芽に比較して大きい、

成長の大きい方の側芽を摘心すると、弱い方の側芽からのオーキシン輸出量が増加し、成長も旺盛となる。この効果は摘心した切り口にオーキシンを処理するとうち消される。さらに、2本の側芽の連結部付近ではオーキシンが結合型に変換されて蓄積していることから、成長の弱い器官から輸出されたオーキシンが連結部で不活化され、その情報が成長点に伝わり、オーキシン輸出と器官の成長の両方が抑制されると考えられている²³⁾。また、Tamas³⁸⁾は、1側芽を含むインゲンマメ茎切片の茎頂側の切り口に¹⁴C-IAAを処理するとき、同時に基部側にもIAAを処理すると、放射活性の切片内の移動が減少すると同時に、側芽の成長抑制が部分的に解除されることを見いだした。彼は、オーキシンの求基的能動輸送量と求頂的拡散輸送量の比が頂芽優勢の制御に関与していると推測している。

(3) オーキシンによるサイトカイニンの制御 (作用点はどこ?)

インゲンマメ芽生えを摘心すると16時間以内に導管液中のサイトカイニン濃度が急増するが、切り口にオーキシンを処理するとサイトカイニン濃度は上昇しない³⁾。また、導管液に放射ラベルのサイトカイニンを注入すると、摘心した植物の側芽は、摘心しないものに比べて放射活性を強く示す²⁶⁾。これらのことは、オーキシンは、サイトカイニンの生合成とその導管液を通じた側芽への供給を介して、頂芽優勢を制御していることを示唆している。

サイトカイニンの含量は、植物体では根で特異的に高く、主たる産出器官であると考えられている。それでは、オーキシンは根のサイトカイニン生合成に作用するのだろうか。*Cicer arietinum*において、活性型サイトカイニン含

量が、根の導管液では摘心の1時間後に増加したが、側芽では4時間後まで増加しなかったという結果は、オーキシンの作用点が芽の中であるよりもむしろ根であることを示している²⁵⁾。

しかし一方、オーキシンによる側芽の成長抑制は、根のない茎の切片でも認められる³⁸⁾。また、アサガオにおいていろいろな位置で摘心やオーキシン処理を行ったところ、側芽の成長はオーキシンの処理箇所が近いと強く抑制されるが、オーキシン処理箇所と根との距離は側芽の成長に関係しなかった¹⁰⁾。これらの結果は、根は頂芽優勢の制御にあまり重要でないことを示している。

さらに、タバコの茎切片において、オーキシンがサイトカイニンを不活化させるサイトカイニン酸化酵素の活性を増加させたことから^{30, 40)}、オーキシン応答性のサイトカイニン代謝制御が茎においても起こることが明らかとなった。また最近、森のグループにより、エンドウマメ茎組織から摘心によって発現が誘導される遺伝子群が単離されたが、その中には、サイトカイニン生合成の鍵酵素であるイソペンテニル基転移酵素をコードする遺伝子 (*PsIPT*) が含まれていた³⁵⁾。*PsIPT*は摘心の1時間後には茎で発現が上昇したが、切り口に1% IAAを処理すると上昇がおこらなくなった。また、茎のサイトカイニン含量は*PsIPT*の発現と連動して増加した。さらに、単離された複数の*PsIPT*のうち、少なくとも一つには5'側領域にオーキシン応答配列が認められた (森, 私信)。これらの結果は、オーキシンが茎組織のサイトカイニン生合成を介して頂芽優勢を制御していることを示す有力な証拠と考えられる。また、イソペンテニル基転移酵素遺伝子のある芽で過剰発現させてサイトカイニン量を増加させると、その芽は成長抑

制が解除され伸長を開始するが、他の芽の成長は影響されない¹⁴⁾との報告もあり、サイトカイニンは組織間を簡単には移動せず、その作用範囲も狭いものと考えられる。

以上のような研究から、根ではなく、比較的芽の近傍で起こるオーキシン/サイトカイニンの相互作用が頂芽優勢の制御に重要な働きをしているという考えが優勢になりつつある。しかし、オーキシンが根を経由して頂芽優勢を制御している可能性も、完全に否定されてはいない。

4. その他の制御物質

頂芽優勢は、オーキシン単独、あるいはオーキシンとサイトカイニンの比だけで説明できるほど単純なものではない。Beveridgeのグループは、枝分かれが旺盛になるエンドウマメの突然変異体 (*rms*) 群を解析し、オーキシン含量が高いものやサイトカイニン含量が低いもの、またその両方であるものが含まれることを明らかにし、オーキシン/サイトカイニン比が低くなることが頂芽優勢打破の十分条件ではないと結論した上で⁵⁾、オーキシンが *Rms1* 遺伝子産物を介して働いていることを示唆した⁴⁾。また枝分かれが旺盛なペチュニアの突然変異個体 (*dad1*) では、根と地上部との間に野生型の茎切片を挿入すると枝分かれが減少して野生型のようになることから、接ぎ木部を移動できる *DAD1* 遺伝子産物が側芽の発育を抑制していることが推測されている²⁸⁾。

また、オーキシンは側芽の成長点に到達できないことから、オーキシンのセカンドメッセンジャーとして何らかの物質が関与している可能性が早くから指摘されており、サイトカイニン、アブシジン酸、エチレンなどの植物ホルモン、無機塩類や有機養分などがその候補とされてき

た。サイトカイニンについては、上述のように、その役割に関する研究が現在も進行中である。一方、有機・無機養分の分配にオーキシンの関与が認められること、頂芽優勢の発現にはその植物の栄養状態が強く関わっていることから、無機・有機養分は、補助的に頂芽優勢の制御に関与していると考えられている^{8,9)}。

エチレン・アブシジン酸についてはこれらに非感受性の突然変異個体でもオーキシンによる側芽成長抑制が認められたことから、そのセカンドメッセンジャーとしての役割は否定されている⁶⁾。さらにエチレンについては、いろいろな研究の結果から、現在では頂芽優勢には関与していないと考えられている²²⁾。一方、芽のABA含量とその生育開始との間に負の相関が認められること¹³⁾、ABAに対する反応性が強い突然変異体 *eral* は分枝性が低くなること³¹⁾ などから、ABAは頂芽優勢の制御に一定の役割を果たしていると考えられている。

このほかにも、ポリアミン¹⁵⁾、ブラシノステロイド¹¹⁾などの生理活性物質が頂芽優勢に関与しているとの報告がある。長年の研究により、頂芽優勢の制御機構は、見かけほど単純ではないことが明らかとなってきた。今後の研究の進展により、全く新たな物質が制御物質と特定される可能性も大きいだろう。

文献

- 1) Anderson, J. V., Chao, W. S. and Horvath, D. P. 2001. A current review on the regulation of dormancy in vegetative buds. *Weed Sci.* 49: 581-589.
- 2) Bangerth, F. 1989. Dominance among fruits/sinks and the search for a correlative signal. *Physiol. Plant.* 76: 608-614.

- 3) Bangerth, F. 1994. Responses of cytokinin concentration in the xylem exudate of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants to decapitation and auxin treatment, and relationship to apical dominance. *Planta* 194: 439-442.
- 4) Beveridge, C. A., Symons, G. M. and Turnbull, C. G. N. 2000. Auxin inhibition of decapitation-induced branching is dependent on graft-transmissible signals regulated by genes *Rms1* and *Rms2*. *Plant Physiol.* 123: 689-697.
- 5) Beveridge, C. A., Symons, G. M., Murfet, I. C., Ross, J. J. and Rameau, C. 1997. The *rms1* mutant of pea has elevated indole-3-acetic acid levels and reduced root-sap zeatin riboside content but increased branching controlled by graft-transmissible signal(s). *Plant Physiol.* 115: 1251-1258.
- 6) Chatfield, S. P., Stirnberg, P., Forde, B. G. and Leyser, O. 2000. The hormonal regulation of axillary bud growth in *Arabidopsis*. *Plant J.* 24: 159-169.
- 7) Chaudhury, A. M., Letham, S., Craig, S. and Dennis, E. S. 1993. *ampl*-a mutant with high cytokinin levels and altered embryonic pattern, faster vegetative growth, constitutive photomorphogenesis and precocious flowering. *Plant J.* 4: 907-916.
- 8) Cline, M. G. 1991. Apical dominance. *Bot. Rev.* 57: 318-358.
- 9) Cline, M. G. 1994. The role of hormones in apical dominance. New approaches to an old problem in plant development. *Physiol. Plant.* 90: 230-237.
- 10) Cline, M. G., Wessel, T. and Iwamura, H. 1997. Cytokinin/auxin control of apical dominance in *Ipomoea nil*. *Plant Cell Physiol.* 38: 659-667.
- 11) Clouse, S. D., Langford, M. and McMorris, T. C. 1996. A brassinosteroid-insensitive mutant in *Arabidopsis thaliana* exhibits multiple defects in growth and development. *Plant Physiol.* 111: 671-678.
- 12) Crabbe, J. and Barnola, P. 1996. A new conceptual approach to bud dormancy in woody plants, p. 83-113, In G. A. Lang, ed. *Plant dormancy: physiology, biochemistry and molecular biology*. CAB INTERNATIONAL, Wallingford, UK.
- 13) Emery, R. J. N., Longnecker, N. E. and Atkins, C. A. 1998. Branch development in *Lupinus angustifolius* L. II. Relationship with endogenous ABA, IAA and cytokinins in axillary and main stem buds. *J. Exp. Bot.* 49: 555-562.
- 14) Faiss, M., Zalubilova, J., Strnad, M. and Schmulling, T. 1996. Conditional transgenic expression of the *ipt* gene indicates a function for cytokinins in paracrine signaling in whole tobacco plants. *Plant J.* 12: 401-415.
- 15) Genus, J. M. C., Smets, R., Struyf, T., Prinsen, E., Valcke, R. and Van Onckelen, H. 2001. Apical dominance in *Pssu-ipt-transformed* tobacco. *Phytochemistry* 58: 911-921.
- 16) Gocal, G. F. W., Pharis, R. P., Young,

- E. C. and Pearce, D. 1991. Changes after decapitation of indole-3-acetic acid and abscisic acid in the larger axillary bud of *Phaseolus vulgaris* L. cv. Tender Green. *Plant Physiol.* 95: 344-350.
- 17) Hillman, J. R., Math, V. B. and Medlow, G. O. 1977. Apical dominance and the levels of indoleacetic acid in *Phaseolus* lateral buds. *Planta* 134: 191-193.
- 18) Klee, H. J. and Estelle, M. 1991. Molecular approaches to plant hormone biology. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 42: 529-551.
- 19) Klee, H. J. and Romano, C. P. 1994. The roles of phytohormones in development as studied in transgenic plants. *Crit. Rev. Plant Sci.* 13: 311-324.
- 20) Lang, G. A., Early, J. D., Martin, G. C. and Darnell, R. L. 1987. Endo-, para-, and ecodormancy: physiological terminology and classification for dormancy research. *HortScience* 22: 371-377.
- 21) Leyser, O. 1997. Auxin: Lessons from a mutant weed. *Physiol. Plant.* 100: 407-414.
- 22) Li, C. J. and Bangerth, F. 1992. The possible role of cytokinins, ethylene and indoleacetic acid in apical dominance, p. 431-436, *In* C. M. Karssen, L. C. van Loon and D. Vreugdenhil, eds. *Progress in Plant Growth Regulation. Proceedings of the 14th International Conference on Plant Growth Substances.* Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- 23) Li, C. J. and Bangerth, F. 1999. Auto-inhibition of indoleacetic acid transport in the shoots of two-branched pea (*Pisum sativum*) plants and its relationship to correlative dominance. *Physiol. Plant.* 106: 415-420.
- 24) Lim, R. and Tamas, I. A. 1989. The transport of radiolabeled indoleacetic acid and its conjugates in nodal stem segments of *Phaseolus vulgaris* L. *Plant Growth Regulat.* 8: 151-164.
- 25) Mader, J. C., Emery, R. J. N. and Turnbull, C. G. N. 2003. Spatial and temporal changes in multiple hormone groups during lateral bud release shortly following apex decapitation of chickpea (*Cicer aristinum*) seedlings. *Physiol. Plant.* 119: 295-308.
- 26) Mader, J. C., Turnbull, C. G. N. and Emery, R. J. N. 2003. Transport and metabolism of xylem cytokinins during lateral bud release in decapitated chickpea (*Cicer arietinum*) seedlings. *Physiol. Plant.* 117: 118-129.
- 27) Medford, J. I., Horgan, R., El-Sawi, Z. and Klee, H. J. 1989. Alterations of endogenous cytokinins in transgenic plants using a chimeric isopentenyl transferase gene. *Plant Cell* 1: 403-413.
- 28) Napoli, C. A. 1996. Highly branched phenotype of the petunia *dad1-1* mutant is reversed by grafting. *Plant Physiol.* 111: 27-37.
- 29) Napoli, C. A., Beveridge, C. A. and Snowden, K. C. 1999. Reevaluating concepts of apical dominance and the control of

- axillary bud outgrowth. *Curr. Top. Dev. Biol.* 44: 127-169.
- 30) Palni, L. M. S., Burch, L. and Horgan, R. 1988. The effect of auxin concentration on cytokinin stability and metabolism. *Planta* 159: 50-59.
- 31) Pei, Z. M., Ghassemian, M., Kwak, C. M., McCourt, P. and Schroeder, J. I. 1998. Role of farnesyltransferase in ABA regulation of guard cell anion channels and plant water loss. *Science* 282: 287-290.
- 32) Prasad, T. K., Li, X., Abdel-Rahman, A. M., Hosokawa, Z., Cloud, N. P., Lamotte, C. E. and Cline, M. G. Does auxin play a role in the release of apical dominance by shoot inversion in *Ipomoea nil*? *Ann. Bot.* 71: 223-229.
- 33) Sachs, T. and Thimann, K. 1967. The role of auxins and CKs in the release of buds from dormance. *Amer. J. Bot.* 54: 136-144.
- 34) Shimizu, S. and Mori, H. 1998. Analysis of cycles of dormancy and growth in pea axillary buds based on mRNA accumulation patterns of cell cycle-related genes. *Plant Cell Physiol.* 39: 255-262.
- 35) Shimizu-Sato, S. and Mori, H. 2001. Control of outgrowth and dormancy in axillary buds. *Plant Physiol.* 127: 1405-1413.
- 36) Sitbon, F., Hennion, S., Sundberg, B., Little, C. H. A., Olsson, O. and Sandberg, G. 1992. Transgenic tobacco plants coexpressing the *Agrobacterium tumefaciens* *iaaM* and *iaaH* genes display altered growth and indoleacetic acid metabolism. *Plant Physiol.* 99: 1062-1069.
- 37) Stafstrom, J. P. 1993. Axillary bud development in pea: Apical dominance, growth cycle, hormonal regulation and plant architecture, p. 75-86, *In* R. M. Amasino, ed. *Cellular communication in plants*. Plenum Press, New York.
- 38) Tamas, I. A. 1995. Hormonal regulation of apical dominance, p. 572-597, *In* P. J. Davies, ed. *Plant hormones*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- 39) Thimann, K. V. and Skoog, F. 1933. Studies on the growth hormone of plants. III. The inhibiting action of the growth substance on bud development. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 19: 714-716.
- 40) Zhang, R., Zhang, X., Wang, J., Letham, D. S., McKinney, S. A. and Higgins, T. J. V. 1995. The effect of auxin on cytokinin levels and metabolism in transgenic tobacco tissue expressing an *ipt* gene. *Planta* 196: 84-94.