

単為結果性トマトの種子形成とオーキシンの関係

千葉大学大学院園芸学研究科

浄閑正史

大阪府立大学大学院生命環境科学研究科 小田雅行

1. はじめに

トマト (*Solanum lycopersicum* L.) は、通常、風などの振動により自家受粉する。しかし、トマトを周年供給するために行われるハウス栽培では、無風であることもあって、受粉が不十分になることが多い。そこで、4CPA (4-chlorophenoxy acetic acid) やクロキシホナック (4-chloro-2-hydroxymethylphenoxy acetate) などの合成オーキシンを開花前後の時期に花房散布することによって、単為結果を誘導する方法がとられている。しかし、合成オーキシンの処理は花房ごとに噴霧処理する必要がある、多くの労力を要する。一方、労力軽減を目的としてマルハナバチ受粉による着果および果実肥大も行われている。しかし、マルハナバチの価格が高く、病虫害防除に高い技術が必要となるという問題がある。その上、冬季にはマルハナバチの活動適温維持のために暖房費が増し、夏季は高温でマルハナバチの活動低下や花粉稔性の低下が生じる。

このような状況を改善するために、ホルモン処理やマルハナバチによる交配をしなくても着果・肥大する単為結果性トマトの育成が始まった。Lukyanenko (1991) によれば、単為結果とは、受粉・受精がなくても種子のない果実が肥大することである。一般に、非単為結果性品種では受精が子房発達の引き金となり (Gillaspy ら, 1993),

種子の発達に伴って果実が肥大し (Eeuwens・Schwabe, 1975; Ozga ら, 1992), 最終的な果実重は種子数に比例する (Gorguet ら, 2004; Groot ら, 1987)。しかし、単為結果性品種は、受粉・受精による種子形成を経なくても子房が肥大するので、花粉の稔性が低下する夏の高温下や冬の低温下でも栽培可能であり、通常の大きさの果実を得ることができる。したがって、生産者にとっては生産の安定、労働の軽減、経費の削減につながる。また、それは安価なトマトの供給につながり消費者にとっても魅力的である。

トマトでは、3つの単為結果性遺伝子、*pat*, *pat-2*, *pat-3/pat-4* が知られており (Ficcadenti ら, 1999; Fos・Nuez, 1996, 1997; George ら, 1984; Gorguet ら, 2005; Lukyanenko, 1991; Mazzucato ら, 1998), これを導入した様々な品種が育成されている。日本では、強い単為結果を示すロシアの品種 'Severianin' 由来の *pat-2* 遺伝子 (Splittstoesser・George, 1984; Lin ら, 1984) を持つ 'ラークナファースト' (菅原, 1995) や 'ルネッサンス' が育成されている (菅原ら, 2002)。*'ルネッサンス'* はどの季節に栽培しても単為結果の発現が安定しており、トマトの生育適温を大きく外れるような環境ストレス条件下でも安定した着花性と果実肥大性を発揮することが報告されている (大川ら, 2007)。

単為結果性果実では、種子が形成されないか、または、形成されても非単為結果性果実と比較して数が著しく少ない。したがって、単為結果は生産者や消費者にとって魅力ある特性であるにもかかわらず、種子の価格が高くなり、そのために普及が制限されている。種々の単為結果性果実において受粉しても種子ができない理由は、花粉の稔性、自家不和合性、花粉管の伸長速度と子房発達速度のアンバランス、胚珠の異常、果実内ホルモンによる各器官の異常などが挙げられている。しかし、栽培環境の制御や人為的な何らかの処理によって種子形成を促すことができれば、生産者に栽培容易なトマト種子を安価に供給でき、さらには安価なトマトを消費者に供給することができると考える。

ここで、本研究で供試した‘ルネッサンス’はF₁品種である。種子の増殖は、その親品種において求められているが入手は困難であった。しかし、‘ルネッサンス’やその親品種の単為結果性遺伝子 *pat-2* は劣性ホモの遺伝子なので、単為結果の特性は同じものと考えられる。したがって、‘ルネッサンス’で種子が形成されない原因が明らかとなり、種子数を増加させる方法を見出せば、親品種にも応用できるものと考えられる。

2. 受粉後の胚珠発達

種子形成が促進されない原因を明らかにする前に、単為結果性トマトと非単為結果性トマトの胚珠数、発育後の果実重ならびに種子数を比較した。単為結果性トマトは‘ルネッサンス’を供試し、対照となる非単為結果性トマトは‘桃太郎’を供試した。果実重は、‘桃太郎’および‘ルネッサンス’で200 g程度であり、1果実あたりの胚珠数もそれぞれ202個、173個と有意な違いは見られなかった(表-1)。しかし、1果実あたりの種子数は‘桃太郎’では191粒であったのに対し、‘ルネッサンス’では31粒と有意に少なかった。

単為結果性トマトの‘ルネッサンス’で種子数が少ないのは胚珠数が原因ではないと考えられた。次に、受粉後の胚珠発達過程を明らかにするために、受粉した子房の横断切片を作成して胚珠の発達過程を観察した。受粉当日には、‘桃太郎’、‘ルネッサンス’ともに異常な胚珠は見られなかった(図-1A, B)。両品種ともに胚珠の中に卵細胞が観察され、形態的異常は見られなかった(図-1C, D)。受粉1週間後では、‘ルネッサンス’の子房は‘桃太郎’の子房よりも大きかったが、子房内の胚珠の大きさに差はなかった(図-1E, F)。受粉2週間後では、‘桃太郎’の胚珠は発達していたが、‘ルネッサンス’の胚珠は、発達するものとしらないものに2極化

表-1 桃太郎とルネッサンスの果実重、胚珠数および種子数の比較

品種	果実重 (g)	胚珠数 (粒 果実 ⁻¹)	種子数 (粒 果実 ⁻¹)
‘桃太郎’	211	202	191
‘ルネッサンス’	207	173	31
t検定 ²	n.s.	n.s.	***

²n.s.および***は、それぞれt検定により有意差なしおよび0.1%レベルで有意差ありを示す。

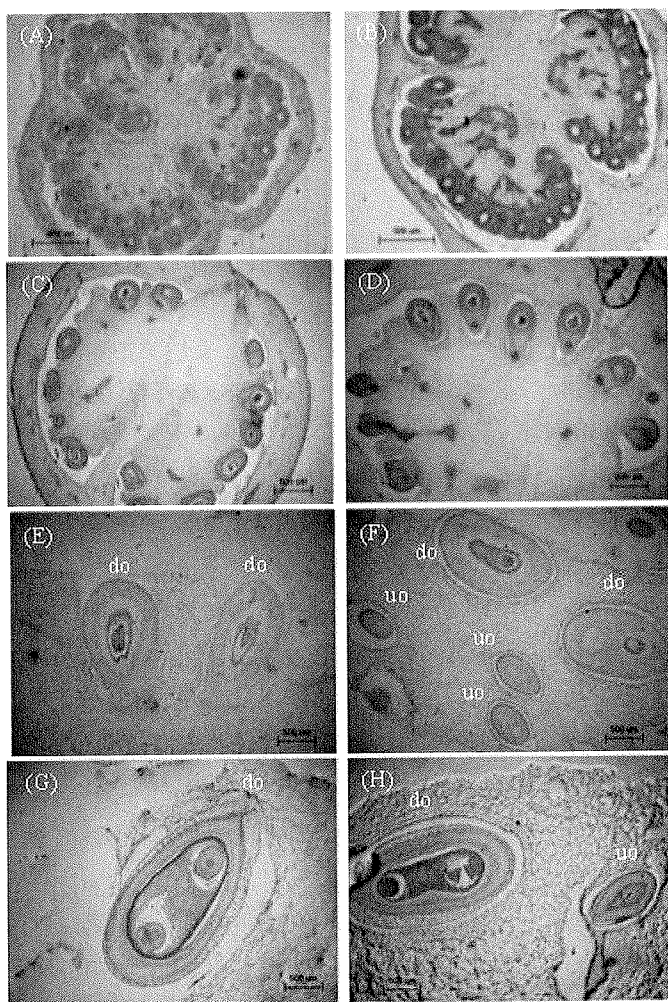


図-1 トマト‘桃太郎’（左）および‘ルネッサンス’（右）の胚珠の発達。(A)と(B), (C)と(D), (E)と(F), (G)と(H)はそれぞれ受粉0, 1, 2および3週間後を示す。do: 正常胚珠, uo: 未熟胚珠。スケールは500 μ m。

した(図-1G, H)。受粉3週間後, ‘桃太郎’の胚珠はさらに大きく発達しており, 胚が発達する様子が観察された。しかし, ‘ルネッサンス’の発達を停止した胚珠は小さくて細く, 胚の発達する様子は観察されなかった。

‘桃太郎’は受粉0～3週間後まで, ほとんど全ての胚珠が正常に発達した(図-2)。胚珠の発達が100%でないのは, おそらく, 受精しなかったためと思われる。一方, ‘ルネッサンス’の胚珠は, 受粉1週間後までは‘桃太郎’と同等の発達を示した。しかし, 受粉2週間後以降は発達を停止するものが増加し, 発達した胚珠の

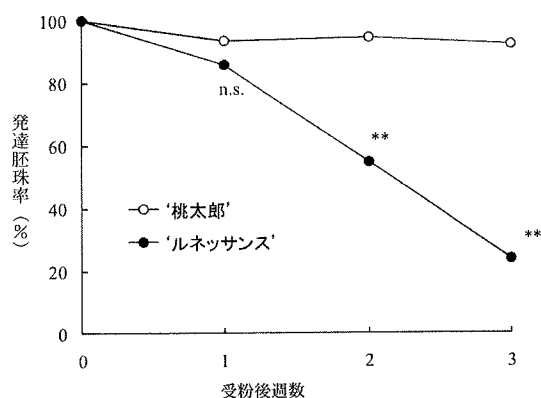


図-2 トマト‘桃太郎’および‘ルネッサンス’の受粉後の胚珠発達率。n.s.および**は, それぞれt検定により有意差なしおよび1%レベルで有意差ありを示す。

割合は、2週間後では55%、3週間後では22%にまで低下した。

一般に、非単為結果性品種では受精が子房発達の引き金となる (Gillaspy ら, 1993) ので、果実の肥大には種子が必要であり (Eeuwens・Schwabe, 1975; Ozga ら, 1992), 最終的な果実重は種子数に比例する (Gorguet ら, 2005; Groot ら, 1987)。これは、子房の発達には種子が生成するオーキシンやジベレリンなどの植物ホルモンが必要だからである (Sponsel, 1983; Talon ら, 1990; Rodrigo ら, 1997)。一方、合成オーキシン処理によって単為結果した果実では、肥大初期に胚嚢内の珠皮最内層の細胞が分裂して細胞塊となる偽胚が形成される (Asahira ら, 1967; Kataoka ら, 2003; Serrani ら, 2007)。単為結果性遺伝子 *pat-2* を持つ 'Severianin' でも非単為結果性トマトの合成オーキシン処理と同様な偽胚形成が見られる (Lin ら, 1984)。本研究でも 'ルネッサンス' の子房内で発達していない胚珠が見られたことから、なんらかの受粉・受精を阻害する要因があることを示唆している。

3. 受粉後の花粉管伸長

上記の結果より、単為結果性トマトでは胚珠が正常に発達していない可能性が示された。両品種の花粉稔性は90%以上と高かったことから (データ省略), 単為結果性トマトで種子数が少ない原因は受粉から受精に至る過程で何らかの障害があると推測された。そこで花柱内における花粉管の伸長を調べるため、花柱の柱頭側から基部側までを4つの部位に分け (図-3), 花柱1における花粉管数を100とした時の各部位における花粉管到達率を求めた。

柱頭での花粉発芽は両品種とも正常であった

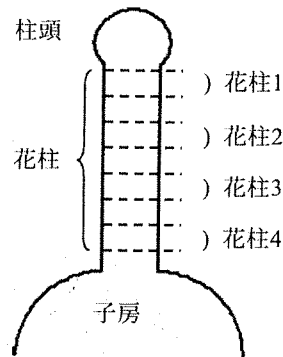


図-3 花柱内の花粉管伸長の品種比較に用いた花柱部位の区分。

が、花柱基部の花粉管は 'ルネッサンス' のほうが '桃太郎' よりも少なかった (図-4)。花粉管到達率は、花柱2では両品種間に有意な差はなかったが、花柱3では '桃太郎' が72%であったのに対して 'ルネッサンス' は21%しか到達していなかった (図-5)。グラフ中には、花粉管到達率の近似直線を示した。'ルネッサンス' は、'桃太郎' よりも直線の傾きが大きいことから、子房に近づくほど花粉管の伸長が抑制されることがわかった。

花粉は柱頭で発芽し、花粉管は花柱内を伸長して子房に到達し、胚珠まで進んで受精に至る。花柱内を伸長していた花粉管数は 'ルネッサン

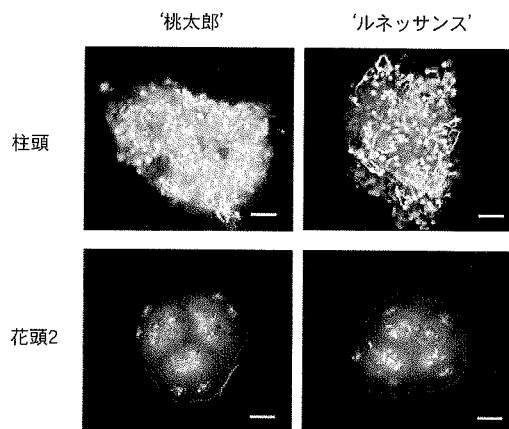


図-4 柱頭および花柱横断面におけるトマト '桃太郎' および 'ルネッサンス' の花粉管。スケールは100 μ m。

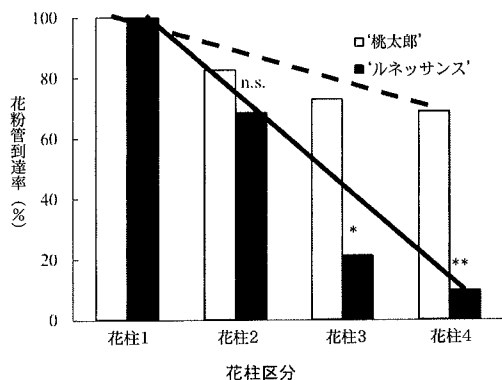


図-5 トマト‘桃太郎’および‘ルネッサンス’の受粉72時間後における花柱内の花粉管到達率。花柱1の花粉管数を100としてそれぞれの花柱区分における花粉管数の割合を示した。n.s., *および**は、それぞれt検定により有意差なし、5%および1%レベルで有意差ありを示す。

ス’が顕著に少なかったことから、‘ルネッサンス’では花粉管伸長が抑制されて受精できない胚珠が増加したために種子が形成されていないと考えられた。単為結果性トマトにおける子房内のオーキシン濃度は非単為結果性トマトよりも高いことが報告されている (Mappelliら, 1978)。そのため、子房やそれに付随する部位のオーキシン濃度は高い可能性があり、これが‘ルネッ

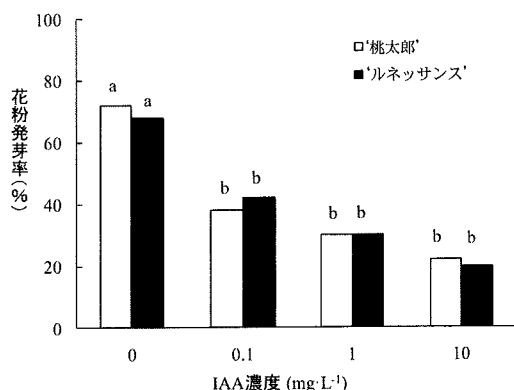


図-6 オーキシン (IAA) 濃度がトマト‘桃太郎’と‘ルネッサンス’の人工発芽床での花粉発芽に及ぼす影響。異なる文字間にはTukeyの多重検定により5%レベルで有意差あり。

サンス’の花粉管伸長抑制と関連していることが考えられる。

4. オーキシンが花粉管伸長に及ぼす影響

高濃度のオーキシンによって花粉管伸長が抑制されるかを確認するために、オーキシンとしてインドール-3-酢酸 (IAA) を含む人工発芽床にて花粉の発芽と花粉管伸長を調べる試験を行った。

花粉置床24時間後の発芽率は、IAA濃度が0 mg/Lでは‘桃太郎’で72%、‘ルネッサンス’で68%であったが、両品種ともIAA濃度が上昇するにつれて有意に低下し、0.1 mg/Lでは40%、1.0 mg/Lでは30%、10mg/Lでは20%であった (図-6)。花粉置床24時間後の花粉管長は、IAA濃度が0 mg/Lでは両品種とも150 μm程度であったが、IAA濃度が増加するにつれて有意に減少した (図-7)。

単為結果性遺伝子の有無に関わらずオーキシンは花粉発芽および花粉管伸長を抑制した。これは、合成オーキシン処理によって単為結果した果実内で形成される偽胚 (Asahiraら, 1967;

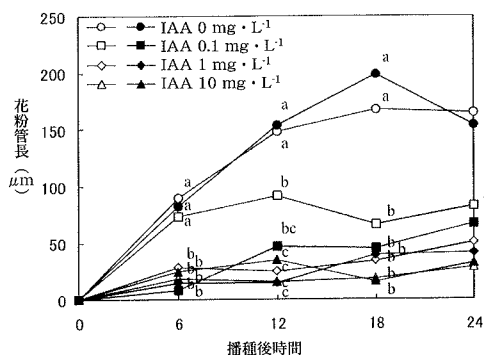


図-7 オーキシン (IAA) 濃度がトマト‘桃太郎’ (上) と‘ルネッサンス’ (下) の人工発芽床での花粉管伸長に及ぼす影響。異なる文字間にはTukeyの多重検定により5%レベルで有意差あり。

Kataoka ら, 2003 ; Serrani ら, 2007) と, 遺伝的単為結果によって形成される偽胚 (Lin ら, 1984) は同じメカニズムによって形成されていることを示唆している。すなわち, 子房内に高濃度で含まれるオーキシンが花粉管の伸長を抑制して, 受精と胚珠の発達を妨げるために偽胚が形成されたということである。したがって, 単為結果性トマトの種子形成を促進させるためには, 子房内のオーキシンレベルを下げることで受精と胚珠の発達を促す必要があると考えられる。

5. オーキシンと種子形成

上記の結果より, 花粉発芽および花粉管伸長抑制は低濃度のオーキシンでも起こることがわかり, これが単為結果性トマトにおける種子形成阻害要因と考えられた。そこで, 単為結果性トマトにアンチオーキシンを処理することで, 種子形成が促進されるかを調査した。開花1週間前の花房に $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ のオーキシン作用阻害剤 2-(p-chlorophenoxy)-2-methylpropionic acid (PCIB) を浸漬処理し, 開花1日後に人工授粉した。PCIB 処理は, ‘ルネッサンス’ の着果率や果実重には影響せず, 有種子果率を83%から92%に高め, 1果実あたりの種子数も13粒から74粒となり, 有意に増加した (表-2)。

PCIB 処理による単為結果性トマトの種子数 (74粒) は非単為結果性トマトの種子数 (152粒) の約半分まで回復した。

6. おわりに

単為結果性果実の種子が少ない原因については, 様々な報告がある。第一に雄ずいの異常 (Ercan・Akili, 1996 ; Mazzucato ら, 1999), 第二に雌ずいの異常 (Reed, 2004 ; Okamoto, 2001 ; Mazzucato ら, 2003), そして第三に果実内の植物ホルモンの影響 (Fos・Nuez, 1996, 1997 ; Fos ら, 2000, 2001) が挙げられる。本研究では, 単為結果性トマトの花粉稔性は高く, 柱頭の形態も非単為結果性トマトと同様の形態を示した (図-4)。単為結果性トマトの花粉管伸長が花柱の基部側で抑制されたことから, 子房内のオーキシンを原因の一つと特定し, PCIB によって種子形成が促進されることを示した。しかし, 得られた種子数は非単為結果性トマトの半分であることから, オーキシン以外にも種子形成を阻害する要因があることを示唆している。単為結果を発現する遺伝子はオーキシンだけでなくジベレリンの生合成も誘導する (Fos・Nuez, 1996, 1997 ; Fos ら, 2000, 2001)。このとき, オーキシンがジベレリン生合成を刺

表-2 PCIB 処理がルネッサンスの着果率、果実重、有種子果率および種子数に及ぼす影響

品種	PCIB濃度 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	着果率 ^z (%)	果実重 (g)	有種子果率 ^y (%)	種子数 (粒・果実 ⁻¹)
‘桃太郎’	-	87	180 a ^x	100	152 a
‘ルネッサンス’	0	100	167 a	83	13 c
	100	100	164 a	92	74 b

^z 着果数 / 人工授粉花数。

^y 有種子果数 / 着果数。

^x 異なる文字間には Tukey の多重検定により 5% レベルで有意差あり。

激するという報告 (Koshiokaら, 1994; Serraniら, 2008), 逆に, ジベレリンがオーキシン生成量の増加を引き起こすという報告 (Sastry・Muir, 1963) があり, 果実肥大の初期段階でこれら2つのホルモンの厳密な調節機能があると考えられている (de Jongら, 2009)。そのため, ジベレリンがどのようなメカニズムで種子形成を阻害しているかを明らかにするとともに, アンチジベレリンとアンチオーキシンを組み合わせた処理の検討が更なる種子形成促進に必要と考えられる。

最後に, 単為結果性トマト 'ルネッサンス' で種子が少ない原因が解明され, 非単為結果性トマトと同レベルにまで種子を増加させることができれば, その技術を 'ルネッサンス' の親品種など, 他の優れた単為結果性品種に活用できる。省力および省コスト化に優れた単為結果性トマトの種子を大量に増殖することができ, 生産者には安価な種子供給に, 消費者には安価な果実供給に寄与できることを期待する。

7. 文献

- Asahira, T., H. Takagi, Y. Takeda and Y. Tsukamoto. 1967. Studies on fruit development in tomato. Cytokinin activity in extracts from pollinated, auxin- and gibberellin-induced parthenocarpic tomato fruits and its effect on the histology of the fruit. Mem. Res. Inst. Food Sci., Kyoto Univ. 29: 24-54.
- de Jong, M., C. Mariani and W. H. Vriezen. 2009. The role of auxin and gibberellin in tomato fruit set. J. Exp. Bot. 60: 1523-1532.
- Eeuwens, C. J. and W. W. Schwabe. 1975. Seed and pod wall development in *Pisum sativum* L. in relation to extracted and applied hormones. J. Exp. Bot. 26: 1-14.
- Ercan, N. and M. Akilli. 1996. Reasons for parthenocarp and the effects of various hormone treatments on fruit set in pepino (*Solanum muricatum* Ait.). Sci. Hort. 66: 141-147.
- Ficcadenti, N., S. Sestili, T. Pandolfini, C. Cirillo, G. Rotino and A. Spena. 1999. Genetic engineering of parthenocarpic fruit development in tomato. Mol. Breeding 5: 463-470.
- Fos, M. and F. Nuez. 1996. Molecular expression of genes involved in parthenocarpic fruit set in tomato. Physiol. Plant. 98: 165-171.
- Fos, M. and F. Nuez. 1997. Expression of genes associated to natural parthenocarp in tomato ovaries. J. Plant Physiol. 151: 235-238.
- Fos, M., F. Nuez and J. L. García-Martínez. 2000. The gene *pat-2*, which induces natural parthenocarp, alters the gibberellin content in unpollinated tomato ovaries. Plant Physiol. 122: 471-479.
- Fos, M., K. Proano, F. Nuez and J. L. García-Martínez. 2001. Role of gibberellins in parthenocarpic fruit development induced by the genetic system *pat-3/pat-4* in tomato. Physiol. Plant. 111: 545-550.
- Gillaspy, G., H. Ben-David and W. Gruissem. 1993. Fruits: a developmental perspective. Plant Cell 5: 1439-1451.
- George, W. L., J. W. Scott and W. E. Splittstoesser. 1984. Parthenocarp in tomato. Hort. Rev. 6: 65-84.
- Gorguet, B., A. W. van Heusden and P. Lindhout. 2005. Parthenocarpic fruit development in

- tomato. *Rev. Plant Biol.* 7: 131-139.
- Groot, S. P. C., J. Bruinsma and C. M. Karssen. 1987. The role of endogenous gibberellin in seed and fruit development of tomato: Atudies with a gibberellin-deficient mutant. *Physiol. Plant.* 71: 184-190.
- Kataoka, K., A. Uemachi and S. Yazawa. 2003. Fruit growth and pseudoembryo development affected by uniconazole, an inhibitor of gibberellin biosynthesis, in *pat-2* and auxin-induced parthenocarpic tomato fruit. *Sci. Hort.* 98: 9-16.
- Koshioka, M., T. Nishijima, H. Yamazaki, Y. Liu, M. Nonaka and L. M. Mander. 1994. Analysis of gibberellins in growing fruits of *Lycopersicon esculentum* after pollination or treatment with 4-chlorophenoxyacetic acid. *J. Hort. Sci.* 69: 171-179.
- Lin, S., W. L. George and W. E. Splittstoesser. 1984. Expression and inheritance of parthenocarpy in severianin tomato. *J. hered.* 75: 62-66.
- Lukyanenko, A. N. 1991. Parthenocarpy in tomato. P.167-178. In: G. Kalloo, ed. Genetic improvement of tomato, monographs on theoretical and applied genetics 14. Springer-Verlag, Berlin.
- Mapelli, S., C. Frova, G. Torti and G. P. Soressi. 1978. Relationship between set, development and activities of growth regulators in tomato berries. *Plant Cell Physiol.* 19: 1281-1288.
- Mazzucato, A., A. R. Taddei and G. P. Soressi. 1998. The parthenocarpic fruit (*pat*) mutant of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) sets seedless fruits and has aberrant anther and ovule development. *Development* 125: 107-114.
- Mazzucato, A., G. Testa, T. Biancari and G. P. Soressi. 1999. Effect of gibberellic acid treatments, environmental conditions, and genetic background on the expression of the parthenocarpic fruit mutation in tomato. *Protoplasma* 208: 18-25.
- Mazzucato, A., I. Olimpieri, F. Ciampolini, M. Cresti and G. P. Soressi. 2003. A defective pollen-pistil interaction contributes to hamper seed set in the parthenocarpic fruit tomato mutant. *Sex. Plant Reprod.* 16: 157-164.
- 大川浩司・菅原眞治・高市益行・矢部和則. 2007. 高温および低温条件下における単為結果性トマト 'ルネッサンス' の着果および果実肥大特性. *園学研.* 6: 449-454.
- Okamoto, G., H. Tada and K. Hirano. 2001. Poor development of transmitting tissue in tetraploid grape pistils causing inhibition if pollen tube growth. *Vitis* 40: 49-54.
- Ozga, J. A., M. L. Brenner and D. M. Reinecke. 1992. Seed effects on gibberellin metabolism in pea pericarp. *Plant Physiol.* 100: 88-94.
- Reed, S. M. 2004. Self-incompatibility and time of stigma receptivity in two species of *Hydrangea*. *HortSci.* 39: 312-315.
- Rodrigo, M. J., J. L. García-Martínez, C. M. Santes, P. Gaskin and P. Hedden. 1997. The role of gibberellins A1 and A3 in fruit growth of *Pisum sativum* L. and the identification of gibberellins A4 and A7 in young seeds. *Planta* 201: 446-455.
- Sastry, K. K. S. and R. M. Muir. 1963. Gibberellin: effect on diffusible auxin in fruit development.

Science 140: 494-495.

Serrani, J. C., M. Fos, A. Atarés and J. L. Garcia-Martinez. 2007. Effect of gibberellin and auxin on parthenocarpic fruit growth induction in the cv Micro-Tom of tomato. J. Plant Growth Regul. 26: 211-221.

Serrani, J. C., O. Ruiz-Rivero, M. Fos and J. L. Garcia-Martinez. 2008. Auxin-induced fruit-set in tomato is mediated in part by gibberellins. Plant J. 56: 922-934.

Splittstoesser, W. E. and W. L. George. 1984. Hormonal-control of parthenocarp in severianin tomato supada chareonboonsit. HortSci. 19: 633-633.

Sponsel, V. M. 1983. The localization, metabolism and biological activity of gibberellins in

maturing and germinating seeds of *Pisum sativum* cv. Progress No. 9. Planta 159: 454-468.

菅原眞治. 1995. ホルモン処理のいらない単為結果性トマト品種 'ラークナファースト' の育成経過と特性. 施設園芸 37: 40-43.

菅原眞治・榎本真也・大藪哲也・矢部和則・野口博正. 2002. 完熟収穫型単為結果性トマト品種 'ルネッサンス' の育成経過と特性. 愛知農総試研報. 34: 37-42.

Talon, M., P. Hedden and E. Primo-Millo. 1990. Gibberellins in *Citrus sinensis*: A comparison between seeded and seedless varieties. J. Plant Growth Regul. 9: 201-206.

水稻用一発処理除草剤

新登場!!
ホクコー
エーワン

1キロ粒剤・フロアブル・ジャンボ

雑草を白く枯らす!
ノビエを長く抑える!

2成分で雑草撃退!

強力な2つの成分

新規成分
雑草を白く枯らす
テフリルトリオン
(AVH-30)

ノビエを長く抑える
オキサジクロメホン
CLM-100









取扱 全農 製造 北興化学工業株式会社

エーワンは北興化学工業(株)の登録商標