

ナス科果菜類のオーキシン代謝と単為結果

農研機構野菜花き研究部門
野菜花き育種基盤研究領域
松尾 哲

はじめに

トマトやナスなどのナス科野菜の果実は、雌しべの基部の子房が発達したものであり、通常、果実形成のためには、受粉とそれに続く受精が必要である。受粉後、トマトの子房では、細胞分裂が7~10日程度の間活発になり、増加した細胞が肥大することにより果実が肥大し、果実成熟期に最大の大きさとなる。このように、受粉は果実形成を開始させるためのトリガーとなるが、一方で、受粉していない子房に植物ホルモンを処理することでも果実が大きくなるのが古くから知られている。果菜類の品目や化合物の種類によって効果は異なるが、オーキシンやジベレリン、サイトカイニンなどを未受粉の子房に処理すると果実が肥大し、いくつかの化合物は植物成長調節剤として利用されている。ナスやトマトの栽培では、合成オーキシンの4-クロロフェノキシ酢酸（商品名トマトーン）を用いた着果や果実形成を促進させるための処理が行われており、年間を通した果実の安定生産に重要な役割を果たしている。

子房への植物ホルモンの外生処理は、内生の物質の代替としての働きやそれらの機能を補強する効果があると考えられるが、通常の果実形成では、植物ホルモンは子房内で合成され、果実形成を調節する物質として働いている。果実形成は、受粉により開始することから、植物ホルモンと受粉の間に

は深い関係があると考えられてきたが、内生植物ホルモンの定量技術向上や関連遺伝子が明らかになるとともに、果実形成期の植物ホルモンの調節に関する研究も進展してきた。本稿では、ナス科果菜類の果実形成における内生オーキシンの調節と農業上重要な形質である単為結果性の研究について紹介する。

1. ナス科果菜類の果実形成と内生オーキシン

先に述べたように、ナス科果菜類の果実形成に外生オーキシン処理が効果を示すことは古くから知られていた。一方、内生オーキシンと果実形成の関係の知見は少なかったが、遺伝子組換え体等を用いた研究で徐々に役割が明らかにされた。Rotino *et al.* (1997) は、細菌のオーキシン生合成酵素遺伝子 (*iaaM*) をナスの花芽に発現させ、内生オーキシンのインドール酢酸 (IAA) 含量を高めることにより、受粉しなくても果実が肥大することを示した。また、Wang *et al.* (2005) は、トマトのオーキシンスIGNAL伝達系のAux/IAAタンパク質に属するSHIAA9をコードする遺伝子の発現を抑制すると、果実が肥大することを明らかにした。Aux/IAAタンパク質は、内生オーキシン濃度が低い状態では下流のオーキシン応答性遺伝子の発現を抑制する機能を持ち、オーキシン濃度が上昇するとユビキチンプロテアソーム系で分解され、その抑制を解除して様々な

オーキシン応答反応が起こるようになることから、この結果は、子房の内生オーキシンの状態が、果実形成を制御することを示している。

植物のIAAの生合成や不活性化に関わる経路は長らく不明であったが、2000年以降にモデル植物のシロイヌナズナを用いた研究で大きく理解が進んだ。生合成では、アミノ酸のトリプトファン (Trp) を経由する経路としない経路が存在することが提唱されているが、現在では、Trpからトリプトファンアミノ基転移酵素 (TAA1/TARs) の触媒反応でインドールピルビン酸 (IPyA) に変換され、次いでフラビンモノオキシゲナーゼのYUCCAの働きにより、活性型のIAAとなる二段階反応が主要な経路 (IPyA経路) と考えられている (Mashiguchi *et al.* 2011; Stepanova *et al.* 2011; Won *et al.* 2011)。一方、IAAは様々な代謝経路で不活性化されることが報告されているが、シロイヌナズナでは、それらの内のGRETCHEN HAGEN 3 (GH3) とDIOXYGENASE FOR AUXIN OXIDATION (DAO) の2種類の酵素による不活性化が主要な経路と考えられている (Mellor *et al.* 2016; Porco *et al.* 2016; Zhang *et al.* 2016)。

著者らは、IAAの代謝経路とトマトの果実形成との関係を調べるため、受粉期の子房におけるIAA生合成と不活性化に関わる酵素の遺伝子群の発現解析を行った (Matsuo *et al.* 2018)。その結果、生合成酵素TAA1/TARs

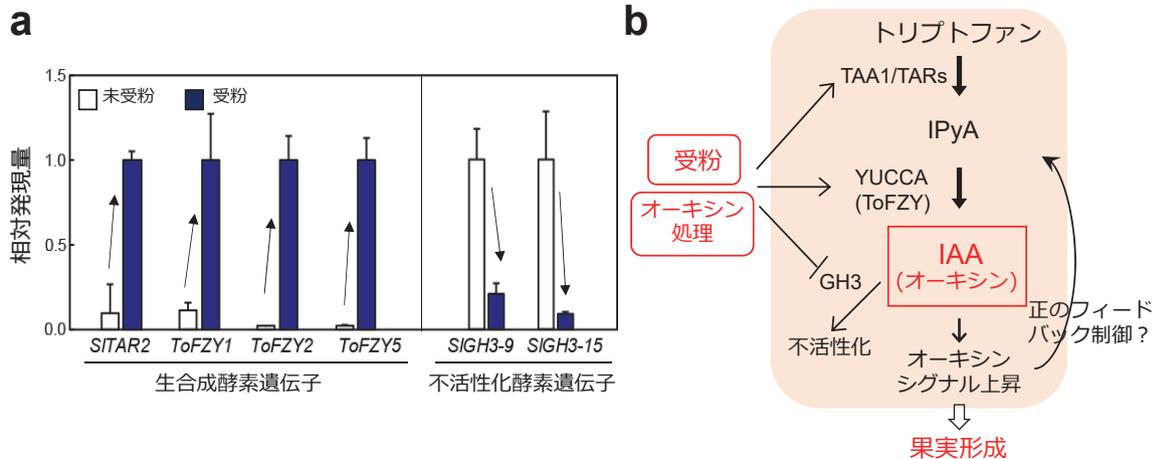


図-1 トマト子房でのオーキシンの調節
 (a) 未受粉 (白) と受粉 3 日後 (青) のトマト子房でのオーキシシン生成および不活性化酵素遺伝子の発現。
 (b) 受粉およびオーキシシン処理後のトマト子房でのオーキシシン代謝の調節。

や YUCCA (トマトでは ToFZY) をコードする複数の分子種の遺伝子は、受粉後数日で大きく発現が上昇する一方で、不活性化に関与する GH3 をコードする遺伝子の発現は抑制されることを明らかにした (図-1-a)。これらの発現パターンは、内生 IAA の動態とも一致しており、受粉により、生成が活性化、不活性化が抑制されることにより、子房に急速に IAA が蓄積すると考えられる (図 1-b)。

果実形成とオーキシシン代謝の関係をさらに理解するため、果実を肥大させる効果のある合成オーキシシンの 2,4-D を子房に処理した際の遺伝子の動態についても解析した。その結果、処理 3 日後には、受粉処理した際に発現が上昇した分子種と同じ生成酵素遺伝子の発現が上昇し、不活性化酵素遺伝子の発現が低下することが明らかとなった。興味深いことに、これは、通常の植物ホルモン処理で見られる応答とは傾向が異なる。多くの組織では、処理された植物ホルモンの効果を低減させるために、生成酵素遺伝子の発現を抑制し、不活性化酵素遺伝子発現を上昇させる反応を示す。実際、子房への 2,4-D 処理で発現が低下する不活性化酵素遺伝子の *SIGH3.9* や *SIGH3.15*

は、トマトの根に IAA 処理をすると発現が上昇することが報告されている (Liao *et al.* 2015)。以上のことから、受粉期の子房は、通常の組織とオーキシシン調節機構が異なると考えられ、受粉などで上昇したオーキシシンのシグナルに反応してさらに内生 IAA を増加させる仕組みが存在することが想定される (図 1-b)。

2. 単為結果とオーキシシン代謝

(1) 単為結果性

これまで述べたように、通常、果実形成は、受粉とそれに続く受精の後に起こるが、花粉形成を含めたこれらの過程は環境の影響を受けやすく、極端な高温や低温、低日照などの生育条件になると、果実形成は阻害される。また、ハウスなどの施設内の栽培では、通風不足で花粉が柱頭にうまく到達せず、受粉不十分により収量が不安定になることがあり、それらの対策として手作業や訪花昆虫による受粉や着果促進剤の処理が行われる。一方で、植物には受粉しなくても果実を肥大させる単為結果性を持つ系統が存在し、それ

らの利用は収量の安定につながると考えられてきた。単為結果系統は様々なものが発見されているが、トマトでは、*pat-2* 遺伝子を導入した「パルト」や「ハウスパルト」(サカタのタネ)、ナスでは、ヨーロッパの単為結果系統である Talina が持つ形質を導入した「あのみり」および「あのみり 2 号」(農研機構育成)などが国内で実用化されている。これら単為結果品種の農業への利用は、高温などの不良環境下でも収量を安定させ、受粉作業などの手間やコストを低減させることから大変有用だが、メカニズムの理解は進んでおらず、その形質を利用した品種の普及が進みにくい一因にもなっていた。次項では、新たに発見された単為結果ナス *pad-1* 変異体について紹介する。

(2) ナス *pad-1* 変異体

ナス *pad-1* 変異体は、民間種苗会社の農場で自然突然変異体として発見された。通常、野生型ナスでは、受粉を阻害すると子房は肥大しないが、*pad-1* 変異体は、野生型のナスが受粉して作る果実と同等以上の大きさの果実を肥大させる (図 2-a)。また、*pad-1* 変異体は、受粉すると種子を形成する。これまで、単為結果性を示す様々な植

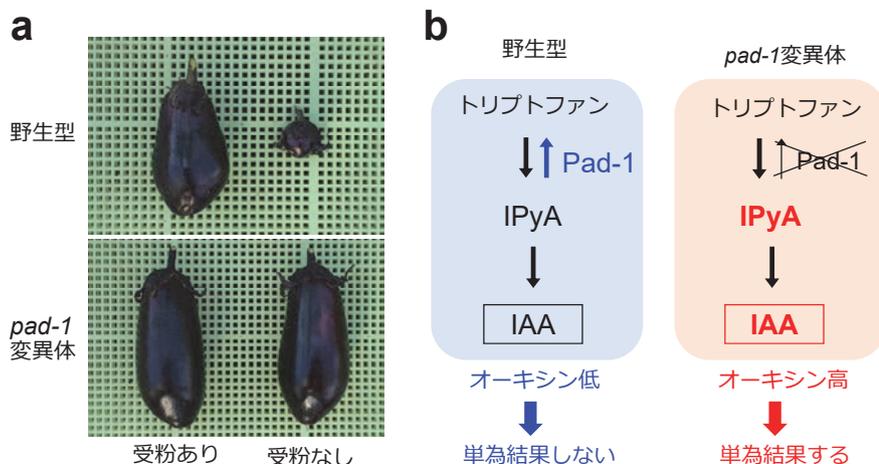


図-2 ナス *pad-1* 変異体
 (a) 野生型 (上) および *pad-1* 変異体 (下) の果実。
 (b) *pad-1* 変異体の単為結果性機構。

物が見出されているが、単為結果による果実の大きさが受粉してできるものより小さいことや種子が得られにくい等の欠点のために育種素材として用いられない系統も多かったことから、*pad-1* 変異体は品種育成のための有望素材であると考えられた。また、この変異体の単為結果性は、先に挙げたトマトの *pat-2* やナス「あのみり」等とは原因が異なることも明らかとなっている。余談だが、変異体の名称の *pad-1* は、*parental advice-1* の略で、諺の「親の意見と茄子の花は千に一つも仇はない」から来ている。実際のナスの栽培では、すべての花が無駄にならない訳ではなく、安定して生産するために着果促進剤や訪花昆虫が利用されるが、この変異体の栽培では、諺のとおりそれらの処理をしなくても落花や肥大不良で無駄になる果実が極めて少ない。

著者らは、*pad-1* 変異体の単為結果性の原因を解明するため、変異体の未受粉の子房を採取し、植物ホルモンの定量分析を行った (Matsuo *et al.* 2020)。その結果、*pad-1* 変異体の未受粉の子房には、野生型の約6倍という極めて高い IAA が含まれることが明らかとなった。子房以外の組織

では、薬と根の内生 IAA 濃度が *pad-1* 変異体において高い傾向が見られたが、地上部の他の栄養器官の含量は野生型と同等であった。これらの結果から、*pad-1* 変異体の子房に高濃度の IAA が含まれることが単為結果性の原因であると考えられた。

pad-1 変異体の子房に高濃度の IAA が蓄積する機構を明らかにするため、マップベースクローニングによる原因遺伝子の単離を試みた。その結果、変異体では、アミノ基転移酵素をコードする遺伝子 (*Pad-1*) に大きな欠失を含む変異が入っていることが明らかとなった。この酵素 (*Pad-1*) と IAA 代謝経路の関係を調べるため、変異体と野生型子房の IAA 関連物質の定量を行ったところ、変異体では、IAA 以外にその前駆体である IPyA の濃度も有意に高かった。一方、IPyA の上流の前駆体である Trp は、野生型と変異体との間に濃度差は無かった。さらに、この酵素が関与する反応を調べるため、野生型のナスが持つ正常な *Pad-1* 組換えタンパク質の機能解析を行ったところ、この酵素は、IPyA を Trp に変換する反応を触媒した。また、野生型ナスの受粉前後の子房の *Pad-1* の発現を確認したところ、受粉までの

子房発達と共に発現が上昇し、開花当日にピークとなり、その後減少することが明らかとなった。これらの結果は、通常のナスでは、*Pad-1* タンパク質は、受粉するまでの子房の IPyA 含量を減らすことで内生 IAA 濃度を低く保つ役割を持つことを示唆している。一方で、*pad-1* 変異体では、この酵素の機能が失われているため、子房に IPyA と IAA が蓄積し、単為結果が引き起こされると考えられる (図 2-b)。

(3) 単為結果品種開発への利用

Pad-1 と相同性の高い遺伝子は、同じナス科のトマトやピーマンにもそれぞれ1コピーずつ存在する (トマト *SlPad-1*, ピーマン *CaPad-1*)。そこで、これらの遺伝子の機能抑制が、単為結果性導入に利用できるかを検証した。その結果、トマトの RNAi 形質転換体やピーマンのエチルメタンスルホン酸による変異体も、ナスと同様に IAA を蓄積し、単為結果性を示したことから、ナス以外のナス科果菜類の品種開発にも利用できることが明らかとなった (図-3)。これらは種無し品種の開発にもつながることから、今後の進展が期待される。また、シロイヌナズナの *Pad-1* オルソログ遺伝子 (*VASI*) の変異体の報告では、果実等が肥大するという記述は見られず、この形質がナス科植物特有のものであるかどうかは、今後研究を進める上で興味深いところである (Zheng *et al.* 2013)。

現在、*pad-1* 変異による単為結果性は、ナス品種「PC 筑陽」や「PC お竜」(い



図-3 Pad-1 遺伝子発現抑制によるトマトへの単為結果性導入
花の雄しべを除去して受粉を阻害すると、野生型（左）では果実が肥大しないのに対し、*SIPad-1* 発現を RNAi で抑制した形質転換トマト（中央）では果実が肥大する。右の写真は、形質転換体の単為結果果実の切断面を示し、果実には種子が形成されていない。

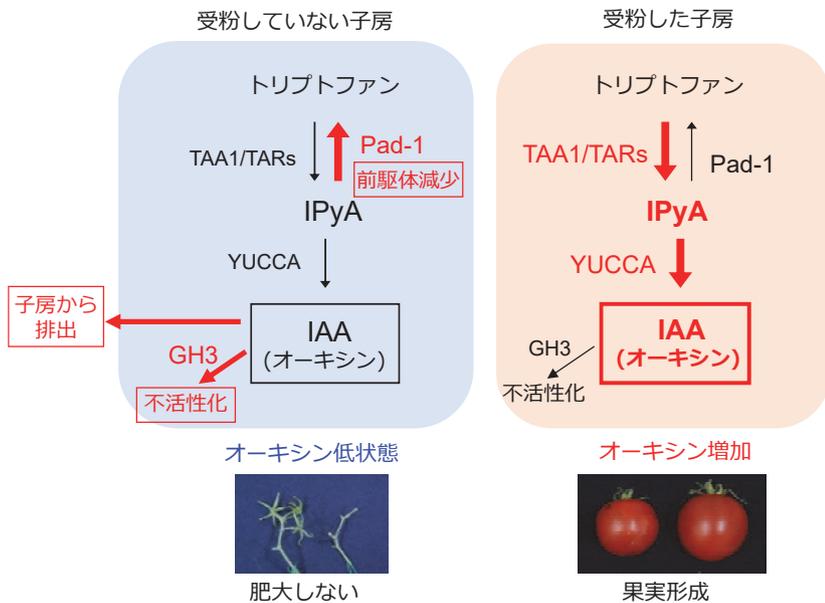


図-4 ナス科果菜類の受粉前後の子房でのオーキシンの調節

ずれもタキイ種苗)に導入され、普及が進んでいる。*pad-1* 変異体は、通常の栽培環境だけでなく、野生型のナスが受粉しても果実が肥大しないような過酷な高温条件でも果実を肥大させることが明らかになっている (Matsuo *et al.* 2020)。地球温暖化の進行は、果菜類の生産に深刻な影響を及ぼすことが懸念されており、単為結果品種の利用は、これを回避する有効な方法になると期待される。

おわりに

本稿では、主にナス科果菜類の受粉前後の子房での内生オーキシン調節について述べた。受粉後、果実形成のために IAA の蓄積が急速に進むことは

前に示したが、興味深いことに、トマトやナスの生合成酵素遺伝子の *TAA1/TARs* や *YUCCA* のいくつかの分子種は、未受粉の子房に発現しており、受粉後に発現が低下する (Matsuo *et al.* 2018, 2020)。このことは、未受粉の子房内でも IAA が作られていることを示している。一方で、野生型のトマトの未受粉花の花柄にオーキシン極性輸送阻害剤の N-1-ナフチルフタミン酸等を処理すると果実が肥大することが知られており、正常な生育のためには、作られた IAA が子房外に排出される必要があると考えられる (Serrani *et al.* 2010)。また、トマトの IAA 不活性化に関わる GH3 をコードする遺伝子には、*Pad-1* と同じように開花当日に発現が高く、受粉後に低

下するものがあることから、*Pad-1* と代謝経路は異なるが、未受粉の子房の IAA を減少させる点において、これらの酵素が同様の役割を持つことが推測される (Matsuo *et al.* 2018)。以上のことから、未受粉の子房では、IAA 前駆体の減少、IAA の不活性化、IAA の子房外への輸送などの様々な手段が取られることによって、IAA が果実形成をしてしまう内生量にならないように調節されていることがわかる (図-4)。植物にとって、子孫(種子)を残すためには、受粉せずに果実形成をすることは不都合であるにも関わらず、未受粉の子房で IAA が作られる理由は十分に明らかにされていないが、その状態においても受粉するまで内生 IAA を適切に保ち続ける仕組みがあることは興味深いことである。

なお、本稿の内容の一部は、引用文献に記載した原著論文、およびバイオテック東海(東海地域生物系先端技術研究会発行)令和3年度版86号「ナス *pad-1* 変異体の単為結果性機構」を改変したものである。

引用

- Liao, D.H. *et al.* 2015. The characterization of six auxin-induced tomato GH3 genes uncovers a member, *SIGH3.4*, strongly responsive to arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Plant Cell Physiol.* 56, 674-687.
- Mashiguchi, K. *et al.* 2011. The main auxin biosynthesis pathway in Arabidopsis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 108, 18512-18517.
- Matsuo, S. *et al.* 2018. Transcriptional regulation of auxin metabolic-enzyme

- genes during tomato fruit development. *Sci. Hortic.* 241, 329-338.
- Matsuo, S. *et al.* 2020. Loss of function of the *Pad-1* aminotransferase gene, which is involved in auxin homeostasis, induces parthenocarpy in Solanaceae plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 117, 12784-12790.
- Mellor, N. *et al.* 2016. Dynamic regulation of auxin oxidase and conjugating enzymes *AtDAO1* and *GH3* modulates auxin homeostasis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 113, 11022-11027.
- Porco, S. *et al.* 2016. Dioxygenase-encoding *AtDAO1* gene controls IAA oxidation and homeostasis in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 113, 11016-11021.
- Rotino, G.L. *et al.* 1997. Genetic engineering of parthenocarpic plants. *Nat. Biotechnol.* 15, 1398-1401.
- Stepanova, A.N. *et al.* 2011. The *Arabidopsis* YUCCA1 flavin monooxygenase functions in the indole-3-pyruvic acid branch of auxin biosynthesis. *Plant Cell* 23, 3961-3973.
- Serrani, J.C. *et al.* 2010. Inhibition of auxin transport from the ovary or from the apical shoot induces parthenocarpic fruit-set in tomato mediated by gibberellins. *Plant Physiol.* 153, 851-862.
- Wang, H. *et al.* 2005. The tomato *Aux/IAA* transcription factor *IAA9* is involved in fruit development and leaf morphogenesis. *Plant Cell* 17, 2676-2692.
- Won, C. *et al.* 2011. Conversion of tryptophan to indole-3-acetic acid by TRYPTOPHAN AMINOTRANSFERASES OF *ARABIDOPSIS* and YUCCAs in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 108, 18518-18523.
- Zhang, J. *et al.* 2016. DAO1 catalyzes temporal and tissue-specific oxidative inactivation of auxin in *Arabidopsis thaliana*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 113, 11010-11015.
- Zheng, Z. *et al.* 2013. Coordination of auxin and ethylene biosynthesis by the aminotransferase VAS1. *Nat. Chem. Biol.* 9, 244-246.

くさくさ
田畑の草種

胡草, 恵比須草, 夷草
(エビスグサ)

(公財)日本植物調節剤研究協会
兵庫試験地 須藤 健一

皆さん方は七福神をご存知だろうか。そう、恵比寿、大黒、毘沙門、弁財、福祿寿、寿老人、布袋の七神のことであり、^{かし}儂(恵比寿)もその一人ではあるのだが。

儂はもともとこの国での土着信仰の神として祀られておった。ところが平安時代初期の最澄という偉い坊さんがインドから台所の神として大黒さんを連れてきた。その後ほどなくして京都の鞍馬山で信仰されていた毘沙門どのが加わり、一時は儂を含む三神が信仰されることがあった。それが平安時代末頃になると近江竹生島の弁天様の信仰が盛んになって三神に加わり、しばらくは四神信仰の時期が続いた。

室町時代中期の東山文化のころ、中国の道教から福祿寿さんや寿老人、仏教界から布袋和尚もやってきて、室町時代の終わり頃には儂を含む七神の顔ぶれが揃ったことになる。

江戸時代の初め、天海僧正が徳川家康に、富国繁栄の方策として広く信仰されていた七柱の神々がもたらす徳を説いたといわれている。

つまりは、人間の七福を七神に求めて、インドから来られた大黒天に有福を、毘沙門天に威光を、弁財天に愛嬌を、また、中国からの寿老人に長寿を、福祿寿に人望を、さらに布袋和尚

には大量を願うことで六福を叶えようとした。そうして日本古来の恵比寿である儂に清廉、正直を委ねてきた。

それを象徴する縁起物として描かれたものが七福神の乗る宝船じゃ。その宝船の絵には一緒に回文の歌も書かれておる。

長き夜の 遠の眠りの 皆目覚め 波のり船の 音の良きかな
くどいようじゃが儂を除く六神は皆インドや中国から来た神々じゃ。

話がそれってしまったようじゃ。

エビスグサはマメ科センナ属の一年草。アメリカ原産の帰化植物。日本へは江戸時代の享保年間に中国から渡来したといわれている。本州以南の畑地、空き地、道端、樹園地などで生育。背丈は50cmから100cm。葉は互生し2~4対の偶数羽状複葉で、夕方になると葉を閉じる就眠活動をする。7月から8月に黄色い花を咲かせるが、いわゆるマメ科の蝶形花ではなくいびつな5弁花である。花後、10月頃に10cmから15cmの細長い豆果をつける。この細長い豆果を恵比寿天の持つ釣り竿に見立てて「恵比寿草」と名付けられたように思うが、牧野富太郎は「夷」の字を充てて「夷夷の異国から渡来したから」、とする方がいいかであろうか。