

令和 4 年 6 月 17 日現在

機関番号：22701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K05626

研究課題名(和文) イチゴにおける植物ホルモンによる単為結果誘導機構の解明研究

研究課題名(英文) Roles of plant hormones during parthenocarpy strawberry fruit development.

研究代表者

中村 郁子 (Nakamura, Ayako)

横浜市立大学・木原生物学研究所・助教

研究者番号：40585858

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：まず、二倍体イチゴを用いたオーキシンのスクリーニングから、合成オーキシンのピクロラム(Pic)が高い成熟率で単為結果を誘導し、受粉果実と同等に肥大することを明らかにした。次に、肥大促進に必要とされるジベレリン(GA)の役割について検討し、Pic誘導果実でも一定レベルのGAが果実の生育に必須であることを明らかにした。さらに、Pic誘導単為結果果実では成熟期に植物ホルモンのうちジャスモン酸が重要な役割を担っていることが示唆された。また、栽培種である八倍体イチゴでもPicとGAの共処理により誘導した果実は受粉果実と同等に肥大し、糖度が高くなることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果より、初めてイチゴでオーキシン単独処理で受粉した果実と同等の大きさに肥大し、高い成熟率を示す単為結果果実を形成可能であることを示した。また、これまでもジャスモン酸が成熟期に関与することは示されていたが、その役割には不明点が多かった。本研究よりジャスモン酸は成熟期に作用し、成熟促進に重要であることが示された。本研究成果は栽培種である八倍体イチゴでもPicとジベレリンを共処理することにより受粉果実に匹敵する大きさおよび受粉果実以上の糖度を示すイチゴの生産の可能性を示しており、イチゴ生産における1つの方法としての展開が期待される。

研究成果の概要(英文)：Parthenocarpy is the fruit development without pollination. Induction of parthenocarpy fruit by plant hormone treatment is used in producing grape and tomato fruits. The aim of this study was to reveal the role of plant hormones during parthenocarpy fruit development in strawberry. Of 13 auxins, a synthetic auxin Picrolam (Pic) appeared to be the most potent auxin that induced parthenocarpy strawberry fruits. Pic induced fruits as large as the pollinated fruits in size with high maturity rate. While even though Pic induce fruits about the same size as pollinated fruits, a certain level of gibberellin was required for the fruit development. The role of jasmonate during fruit maturation was also analyzed.

研究分野：植物生理

キーワード：イチゴ 単為結果 植物ホルモン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

単為結果は農作業の中で大きな負担の一つである受粉作業の軽減や種無し果実を好む消費者のニーズに応える手段として期待されているが、その分子メカニズムは最近ごく一部が明らかになったにすぎない。トマトでは未受粉花にオーキシン処理を行った場合やシグナル伝達を負に制御する *S/IAA9* を欠損させることにより、単為結果が起こり、受粉果実並みに肥大する (Shinozaki et al., 2015)。同様にジベレリン(GA)処理や GA の負の制御因子 *SIDELLA* の欠損により、単為結果が起こる (Martí et al., 2007, Serrani et al., 2007)。一方イチゴではオーキシン処理やオーキシン生合成酵素の過剰発現による単為結果果実はトマトのように受粉果実並みに肥大する訳ではない (Mezzetti et al., 2004)。トマトは果実として子房が膨らみ成熟時にエチレンを放出するのに対し、イチゴは子房以外が果実になりエチレンを放出しないなどの発生の違いがあり、オーキシンへの応答の違いから単為結果の誘導機構も異なることが予想された。そのため単為結果を理解するためには様々な植物種の知見が必要であった。

2. 研究の目的

そこでイチゴにおいてオーキシン単独あるいはオーキシンと他の植物ホルモンを共処理した単為結果果実と受粉果実の相違は何か、イチゴにおける植物ホルモンによる単為結果に関わる遺伝子は何か、という問いに答える為に、植物ホルモンに誘導された単為結果果実と受粉果実の形態および分子レベルでの挙動の相違を明らかにすることで農業への応用を検討すること、単為結果誘導機構に関わる遺伝子を探索し、単為結果における役割を明らかにすることで、特定の遺伝子を標的に育種を行う、ゲノム育種につなげることの二点を目的として行なった。

3. 研究の方法

特に断りのない限り二倍体イチゴ、*Fragaria vesca* 'Baron solemacher' の自殖 7 世代目を明期 20 h/暗期 4h、20 で生育した個体を用いて実験を行なった。

(1) イチゴの単為結果に最適なオーキシンの探索

2 種類の天然オーキシン及び 11 種類の合成オーキシンを、受粉を避けるために除雄した開花直前の花に投与し、成熟率、成熟に要する日数および成熟した果実の大きさを計測し、受粉により発達した果実と比較した。

(2) NAA 誘導果実における植物ホルモンの作用解析

NAA により単為結果を誘導した果実に誘導後 7、14、21 日目に NAA、ジベレリン(GA)、ジャスモン酸(JA)、エチレン、アブシジン酸(ABA)を処理することにより果実の発達への影響を検討した。

(3) ピクロラム誘導果実における植物ホルモンの内生量の解析

(1) の結果より、合成オーキシンであるピクロラム(Pic)処理により誘導した果実が最も成熟率が高く、受粉果実と同程度の大きさに果実を肥大させることが明らかになった。Pic 処理により誘導し、成熟開始直前の処理後 21 日目の果実の植物ホルモンの内生量を、別の合成オーキシンである 1-ナフチル酢酸(NAA)処理により誘導し、成熟開始直前で発達を停止した果実と比較し、成熟に必要な JA、ABA および GA の内生量を測定した。

(4) ピクロラム誘導果実における植物ホルモン生合成遺伝子の発現解析

Pic 処理、NAA 処理および受粉により誘導した果実を誘導後 1 週間ごとにサンプリングし、植物

ホルモンの生合成遺伝子の発現を、定量的リアルタイム PCR (Thermal Cycler Dice Real Time System TP900, Takara Bio)により解析した。

(5) ピクロラム誘導果実におけるジベレリンの作用解析

(1)の結果より、Pic 単独処理により受粉果実に匹敵する大きさに果実が発達したことから、Pic 誘導果実における GA の働きを GA 生合成遺伝子のうち果実で最も高い発現を示す *FvGA3ox4* 遺伝子の発現を RNAi により抑制することで検討した。

(6) ピクロラムおよびジベレリンにより誘導した八倍体イチゴの解析

通常店頭で販売しているイチゴは八倍体(*Fragaria x ananassa*)であることから、八倍体イチゴにおいて Pic および GA により単為結果果実を誘導し、成熟率、成熟に要する日数、成熟した果実の大きさ、硬度(FRUIT HARDNESS TESTER KM-1、藤原製作所)、酸度および糖度(PAL-BX|AC1D4、ATAGO)を解析した。

(7) トマトの単為結果誘導遺伝子の相同遺伝子の解析

トマトにおいて単為結果に関わるとされる *SlIAA9*、*SlARF2* および *SlDELLA* 遺伝子のイチゴにおける相同遺伝子と考えられる *FvIAA8a*、*FvIAA8b*、*FvIAA16*、*FvARF2* と *FvRGA* 遺伝子の発現を抑制するような RNAi コンストラクトを作製し、開花前の二倍体イチゴに一過的な導入を試みた。

4. 研究成果

(1) イチゴの単為結果に最適なオーキシンの探索

単為結果に関してより効果の高いオーキシンについて検討を行った結果、合成オーキシンの一つである Pic を用いると Pic 単独でもほぼ 100%成熟に至り、GA と同時に処理した場合には NAA との共処理のよりも果実サイズが大きく、果実の長さにおいては受粉果実との有意な差はなかった。この結果から Pic が最も効率よく単為結果を誘導するオーキシンであると考えられた。

(2) NAA 誘導果実における植物ホルモンの作用解析

NAA により誘導した果実にエチレン処理した場合、追加処理を行わない場合よりも成熟率が低下し、ABA 処理によっては 14 日目に処理した場合に成熟率が低下した。一方、JA の一種であるメチル JA を NAA により誘導した果実に投与すると 14 日目では成熟率が低下したが、21 日目の場合、成熟率は増加した。このことから ABA や JA は不適切な時期の増加はむしろ成熟阻害に働き、高濃度のエチレン処理は成熟阻害に作用すると考えられた。一方で適切な時期の JA 処理は成熟率の増加に寄与していると考えられる。

(3) ピクロラム誘導果実における植物ホルモンの内生量の解析

Pic 誘導後、成熟を開始する 21 日目の果実では種子となる瘦果と花托のいずれにおいても JA の内生量の増加が見られた。一方、ABA には大きな変化は見られなかった。GA は一部の分子種においてわずかな増加が見られた。

(4) ピクロラム誘導果実における植物ホルモン生合成遺伝子の発現解析

Pic により誘導された果実では成熟期前後の JA 生合成遺伝子の発現が高く、ABA 生合成遺伝子は成熟後期に増加が見られた。したがって Pic 誘導果実では JA が成熟期前後から、ABA が成熟後期に自発的に成熟期に誘導され、成熟率の向上に寄与していると考えられる。一方でエチレンの生合成遺伝子は受粉果実では受粉後低下が見られるのに対し、NAA により誘導された果実では低下が見られなかった。このエチレン生合成遺伝子の発現により、NAA 誘導果実が成熟した際の成熟時期の遅延や成熟開始直前の発達停止の可能性が考えられる。GA 生合成遺伝子は単為結果誘導後 14~21 日目頃にわずかな増加が見られた。

(5) ピクロラム誘導果実におけるジベレリンの作用解析

上述の通り単為結果果実では受粉果実と比較すると、GA 生合成遺伝子の発現誘導はごくわずかであり、内生量も一部の GA 分子種が、成熟を停止する NAA 誘導果実に比べるとわずかに多い傾向が見られるのみであるが、RNAi により GA の生合成遺伝子の発現を抑制すると果実の発達が停止することから、GA 自体は果実の発達には必須であることがわかった。

(6) ピクロラムおよびジベレリンにより誘導した八倍体イチゴの解析

八倍体イチゴでも二倍体イチゴの結果と同様、Pic のみでも GA と共処理の場合も、受粉果実の大きさと匹敵する程度の大きさにまで肥大した。さらに品質についても検討した。受粉、Pic 単独、Pic および GA 処理による単為結果果実の 3 処理区で比較した結果、Pic 単独処理では受粉果実に比べて果実が硬く、酸度が高い結果となったが、Pic 処理により単独でも GA との共処理の場合も糖度は高くなった。Pic と GA の共処理区では硬度と酸度は受粉処理の場合と同程度であった。

(7) トマトの単為結果誘導遺伝子の相同遺伝子の解析

目的遺伝子の発現を抑制するような RNAi ベクターを作製し、注射により開花前の二倍体イチゴに導入して実験を行った。一部、果実の肥大傾向が見られた遺伝子もあったが、ネガティブコントロールと比較して有意な差は得られなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 中村郁子, 石井ひかり, 石川亜美、嶋田幸久
2. 発表標題 ブラシノステロイド欠損二倍体イチゴにおける雌性稔性低下の原因解明
3. 学会等名 園芸学会令和3年度春季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 梅村 隼人、嶋田 幸久、中村 郁子
2. 発表標題 イチゴの単為結果に有効なオーキシンの検討と作用解析
3. 学会等名 植物化学調節学会第54回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 梅村 隼人、嶋田 幸久、中村 郁子
2. 発表標題 イチゴの単為結果に有効なオーキシンの検討と作用解析
3. 学会等名 園芸学会令和2年春季大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 土屋瑠唯・石井ひかり・中村郁子
2. 発表標題 二倍体イチゴ果実において瘦果と花托で異なる着色制御機構における植物ホルモンの作用解析
3. 学会等名 園芸学会令和2年春季大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 土屋瑠唯、石井ひかり、嶋田幸久、中村郁子
2. 発表標題 二倍体イチゴ果実の成熟期における植物ホルモン生合成遺伝子の発現解析
3. 学会等名 園芸学会平成31年度秋季大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中村郁子、石井ひかり、土屋瑠唯、嶋田幸久
2. 発表標題 単為結果誘導二倍体イチゴにおける果実の発達と植物ホルモン生合成遺伝子の発現解析
3. 学会等名 園芸学会平成31年度秋季大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 石井ひかり、黒倉健、石川亜美、嶋田幸久、中村郁子
2. 発表標題 プロピコナゾール投与によるブラシノステロイド欠乏状態の二倍体イチゴの形態解析
3. 学会等名 植物化学調節学会第56回大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	黒倉 健 (Kurokura Takeshi)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------