

令和 4 年 5 月 5 日現在

機関番号：32702

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2021

課題番号：18K05630

研究課題名（和文）トマトの花成におけるオーキシンの役割と花成調節技術への応用

研究課題名（英文）Physiological effects in the flowering of tomato and application of technology to regulate flowering

研究代表者

中川 理絵（菊地理絵）（Nakagawa, Rie）

神奈川大学・工学部・准教授

研究者番号：70620227

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：日本においてトマトは、消費者の人気が高く、重要な園芸作物である。トマトの生産現場では花成促進による収穫サイクルの短縮化が求められている。トマトにおける花成（花芽の分化）のしくみの解明はその一助となる。本研究では、オーキシンがトマトの花成に関わることを明らかにした。また、オーキシン生合成阻害剤を用いることで、トマトの開花時期を自在にコントロールできる可能性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

オーキシンは植物の成長のあらゆる段階に作用している重要な植物ホルモンである。本研究ではトマトに効果のあるオーキシン生合成阻害剤を開発・合成した。オーキシン生合成阻害剤は、成長途中の一時期に処理することで、処理された成長段階でのオーキシンの作用を解明することが可能となる。今後のトマトにおけるオーキシンの生理作用解明のためのツールとなることが期待できる。

研究成果の概要（英文）：Tomatoes are a popular and important horticultural crop among consumers in Japan. Tomato production sites are required to shorten the harvest cycle by promoting flowering. Understanding the mechanism of floral development (differentiation of flower buds) in tomatoes will help in this regard. This study revealed that auxin is involved in the flowering of tomato and auxin biosynthesis inhibitor can control the flowering time in tomato at will.

研究分野：植物生理学

キーワード：オーキシン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

日本においてトマトは、消費者の人気が高く、重要な園芸作物である。トマトの生産現場では個体間で着果位置を揃える技術や花成時期斉一性の向上、第1花房までの花成促進による収穫サイクルの短縮化などが求められている。花成(花芽の分化)のしくみの解明はその一助となる。多くの植物の花成では日の長さ(日長)が決定的な役割を果たしており、花成に必要な日長により長日植物と短日植物に大別される。花成の研究が、長日植物であるシロイヌナズナや短日植物であるイネを用いて精力的におこなわれていることに比べると、花成に日長が関係しないトマトの花成機構の解明は遅れている。

申請者は2013年度より横浜市立大学嶋田教授(研究分担者)と共に、植物ホルモンの一つであるオーキシシン(インドール-3-酢酸: IAA)の生合成や阻害剤に関する研究をおこなっている。嶋田研究室では、これまでにIAA生合成経路のみに効果を示す特異的な阻害剤の開発に成功している(研究業績1,18,20)。申請者は、シロイヌナズナの解析によって選抜されたIAA生合成阻害剤が、トマトにおいても同様の効果を示すかどうかを調査していく中で、K0K2052BPと名付けた化合物をトマトに処理すると花成が早まることを発見した。ここから「トマトにおいてオーキシシンが花成をどのように制御しているのか?」という本課題の中心となる「問い」が生まれた。

シロイヌナズナでは、花芽形成遺伝子である *LEAFY* の発現が IAA によって *ARF MONOPTEROS (MP/ARF5)* を介して促進される (Yamaguchi et al., 2013, 2017) という報告があるが、他の植物におけるオーキシシンと花成の関係は未解明である。

2. 研究の目的

本研究の目的は三つある。一つは「IAA生合成阻害剤を用いて、トマトのIAA生合成経路の一端を明らかにすること」である。トマトに効果のあるIAA生合成阻害剤は、嶋田教授と農研機構の東出博士の報告だけであり、本研究で用いる K0K2052BP はそれらより効果の高い化合物として嶋田研究室で開発されたものである。本課題でまずは、この化合物がトマトの IAA 生合成阻害剤であることを証明する。二つ目は「IAA生合成阻害剤を用いて、トマトの花成経路の一端を明らかにすること」である。IAAは植物にとって最も重要な植物ホルモンであるため、IAAが生育初期から合成されない組換え体などでは正常に生育しない場合もあり、花成と IAA の関係を研究するのは難しい。本課題では K0K2052BP を用い特定の時期に一時的に IAA 量を減少させることで、IAA が関わる生理作用の一つに花成があることを実証していく。本課題を通して、今後この化合物を用いることで、トマトの各成長段階におけるオーキシシンの生理作用についても詳細な解析を進めることができるという足がかりにしたい。三つ目の目的は「トマトにおける最適な阻害剤の探索をおこない、花成調節技術の基礎となる知見を得ること」である。K0K2052BP は高濃度で処理しないと効果がでない。本課題では、有機合成の専門である岡本教授に研究分担者になっていただくことで、トマトでより効果の高い化合物を合成・選抜していく。

3. 研究の方法

実験の準備状況等について

本課題では、阻害剤の効果がより早く明確に得られるように、トマトの地下部に阻害剤を処理した後に子葉上部(本葉と茎頂)を切断し、腋芽を観察するという実験系を構築した。この方法では、阻害剤処理個体で約1ヶ月後に花芽の形成が確認できる。花芽形成までの葉の枚数は、コ

コントロール個体が約 7 枚に対して処理個体では約 3 枚である。また、腋芽から出現する葉は、コントロール個体では複葉となるが、阻害剤処理個体では単葉となる。

トマトの品種については、マイクロトムを使うことが研究推進上は望ましいと考えられるが、予備実験の結果、阻害剤処理とコントロール個体間で有意な差が得られなかった。また、マイクロトムは花成関連遺伝子の変異体との報告もある (Marti et al., 2006)。したがって、本課題では応用面も視野にいれていることから、桃太郎ヨークを用いることとした。

(1) IAA 生合成阻害剤 KOK2052BP を用いたトマトの IAA 生合成経路の解明

本研究に着手する前に、KOK2052BP はシロイヌナズナの IAA 生合成阻害剤であることが判明していた。そのため、IAA 処理個体における IAA 内生量の定量と主要経路中間体の内生量を LC-MS/MS で測定し、シロイヌナズナと同様の経路上で KOK2052BP が機能するかどうかを確認した。

(2) IAA 生合成阻害剤 KOK2052BP を用いたトマトの花成経路の解明

KOK2052BP 処理個体とコントロール個体の子葉における花成関連遺伝子の発現量を Q-PCR で調査した。

(3) トマトにおける最適な阻害剤の探索

トマトはシロイヌナズナよりも大型のため、使用する化合物量も増える。これまで開発してきた化合物について大量合成を行った。

トマト地上部への効果は、上述の方法によって処理後腋芽から生じる 1 枚目の本葉が単葉になるかどうかを調査した。また、化合物を添加した寒天培地で 4 日間栽培することで、根への影響を調査した。

4 . 研究成果

(1) IAA 生合成阻害剤 KOK2052BP を用いたトマトの IAA 生合成経路の解明

KOK2052BP 処理個体における IAA 内生量および主要経路中間体を測定した結果、どちらの内生量も減少することを確認した。この結果より、KOK2052BP はシロイヌナズナと同様に、トマトにおいても IAA 生合成阻害剤として機能することが判明した。

(2) IAA 生合成阻害剤 KOK2052BP を用いたトマトの花成経路の解明

KOK2052BP 処理個体とコントロール個体の子葉における花成関連遺伝子のスクリーニングした結果、シロイヌナズナ等で花成を促進する遺伝子のいくつかと、抑制する遺伝子のいくつかの相同遺伝子が候補として見つかった。それらの遺伝子について、KOK2052BP 処理時間を 0 時間として 4 時間おき 3 日間のサンプリングを行い、経時的な発現変動を解析した。その結果、花成促進遺伝子はコントロール個体と比較して有意な発現変動がみられなかった。一方で、花成抑制遺伝子の一つがコントロール個体と比較して発現が有意に減少する時間帯があることがわかった。この遺伝子の発現がオーキシンに制御されるかどうかを詳細に調べるために以下を調査した。すなわち、KOK2052BP 単独処理区、KOK2052BP に IAA 50 μ M を加えた共処理区、KOK2052BP に IAA 100 μ M を加えた共処理区、IAA 単独処理区とコントロール処理区である。これらの結果、KOK2052BP によって減少した遺伝子発現量が、IAA によって回復することが明らかとなった。以上

の結果によって、トマトの花成経路の一つにオーキシンによって制御される経路が存在し、その下流に花成関連遺伝子の一つが位置していることを明らかにした。

(3) トマトにおける最適な阻害剤の探索

すでに開発済みの化合物約 100 種類について大量合成を試みた。その結果、33 種類の化合物について大量合成に成功した。そのうちの 13 種類の化合物について、トマト地上部(葉)への効果を調査した。腋芽から生じる 1 枚目の本葉が単葉になる個体数を計測することによって、化合物の効果を評価することとした。その結果、13 種類すべての化合物は、トマトの葉を単葉にすることはなかった。これら 13 種類の化合物は、シロイヌナズナでは主根伸長阻害や側根形成阻害を引き起こし、オーキシン生合成阻害剤として機能する可能性が示されている。トマトの地上部に効果が現れなかったのは、オーキシン生合成にシロイヌナズナとは異なる酵素を利用している可能性も考えられるが、化合物が地上部へ輸送されにくい構造だということも考えられた。そこで、化合物を添加した寒天培地でトマトを 4 日間栽培することで、根への影響を調査することにした。33 種類の化合物について調査した結果、100 μM まで処理濃度を高くしても主根伸長阻害が観察されなかった化合物が 6 つあった。これらはシロイヌナズナとは効果が異なるため興味深く、今後詳細な解析をしていく予定である。その他の化合物は主根伸長阻害などオーキシン減少時の形態が観察され、トマトでも阻害剤として利用することが可能であることが判明した。今後、トマトの成長段階におけるオーキシンの生理作用解明のためのツールとして利用可能かどうかを調査していく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
研究分担者	岡本 専太郎 (Okamoto Sentaro) (00201989)	神奈川大学・工学部・教授 (32702)	
研究分担者	嶋田 幸久 (Shimada Yukihisa) (30300875)	横浜市立大学・木原生物学研究所・教授 (22701)	

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