

## 塩ストレス条件下のトマト早期果実形成過程におけるセルロースの合成と分布の変化

矢野 朱華 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 岩井 宏暁 (筑波大学 生命環境系)

## 【背景と目的】

塩ストレス条件下のトマト果実ではグルコースやフルクトースなどの糖やプロリン、 $\gamma$ アミノ酪酸などのアミノ酸の蓄積が起こり、商品価値の高い果実がつくられることが知られている。一方で、果実硬度の上昇や、果実数・果実サイズの低下などの生育阻害も観察される。この果実サイズの低下には細胞壁構造が大きく関与する。

被子植物では、受粉をきっかけに子房が果実へと変遷し、果実形成、果実成熟を通して果実が発達する。着果から Mature green までを果実形成過程と呼び、急激な細胞分裂と細胞肥大による果実サイズの上昇などが起こる。Mature green 以降を果実成熟過程と呼び、色の変化や細胞壁分解による軟化が起こる。Mature green までに果実サイズが決定され、その後の成熟過程では大きさは変化しない。そのため、早期果実形成過程における解析が重要である。

果実のサイズに大きく影響する細胞壁は、セルロースマイクロフィブリルによる骨格、セルロースマイクロフィブリル同士を架橋するヘミセルロース、それらの間を埋めるペクチンなどの細胞壁多糖類からなる。植物は、壁の構造や力学に影響を与えるために、酵素を用いて細胞壁内の多糖類を積極的に切断したり再結合させたりすることができる。

本研究では、トマト果実サイズの決定が行われる早期果実形成過程における、細胞壁多糖類の合成や細胞伸長に関わる酵素の遺伝子発現解析を行うことで、塩ストレスによって果実サイズが低下する機構を明らかにすることを目的とする。

## 【材料と方法】

## 1. トマトの水耕栽培・塩ストレス処理

トマト(品種:Micro Tom)を24°Cのインキュベーター内で水耕栽培を行った(Yin *et al.*, 2010)。水で濡らしたろ紙にトマト種子を播種し、子葉が出た後ロックウールに植え替えた。花が咲き始めた時点から塩ストレス処理を開始した。NaCl 濃度を徐々に上昇させることで順化させ、最終的に150 mMで栽培した。NaCl濃度の調節は電気伝導率測定器を用いて行った。

## 2. サンプリング

開花直前の花をピンセットで軽くつまみ人工授粉を行った。開花直前の子房を1 DPA (Days Post Anthesis) 果実、人工授粉を行ってから1, 3, 5 日後の果実を1 DPA, 3 DPA, 5 DPA 果実としてコントロールおよび塩ストレス処理についてサンプリングした。

## 3. テクノビット切片の作成

-1, 1, 3, 5 DPA 果実をテクノビット7100樹脂に包埋し、輪切りの切片を作成した。

## 4. カルコフロールホワイト染色

3で作成した切片を用いて、0.01% カルコフロールホワイトによるセルロース染色を行った。

## 5. セルロース合成遺伝子発現解析

トマトの一次細胞壁のセルロース合成酵素遺伝子である *CESA1* について、コントロール、塩ストレス条件下の-1, 1, 3, 5 DPA 果実における発現解析をqRT-PCRにより行った。

## 【結果と考察】

## ●組織染色

カルコフロールホワイトによるセルロース染色では、コントロールと比較して、塩ストレス条件下の果実の果皮部分で、特に5 DPAで高いレベルで染色される様子が観察された。また、塩ストレス条件下の果実において、維管束組織がコントロール条件下の果実の維管束組織よりも高いレベルで染色される様子が-1, 1, 3 DPAにおいて観察された。5 DPAでは、コントロールでも染色性の高い維管束組織が観察された。以上の結果より、塩ストレス条件下では、1) 組織の拡大が起こるステージである5 DPAで、果皮でセルロース蓄積が起きること、2) 受粉前から維管束組織におけるセルロース蓄積が高いレベルで起きることが示唆された。また、コントロールでも5 DPAになると同様にセルロース蓄積が維管束組織で起こることも示唆された。

## ●遺伝子発現解析

セルロース合成遺伝子 *CESA1* の発現解析を行った。5 DPAにおいて、塩ストレス条件下の果実がコントロール条件下の果実よりも高いレベルの発現を示した。

これらの結果から、塩ストレス条件下のトマトでは、セルロースの合成と分布に変化が起こっていることが示された。これにより塩ストレス条件下の果実では、1) 組織の拡大が起こるステージである5 DPAでセルロースが果皮で蓄積されたこと、2) 硬度の高い維管束が受粉前から形成されていたことが示された。これまでに当研究室では、果皮に着目して、組織染色・免疫組織化学染色および遺伝子発現解析によって、塩ストレス条件下の3~5 DPAにおいて、果実サイズの拡大に必須な酵素であるXTHやエクспанシンの増加が見られないことを示してきた。以上より本研究の結果と合わせて考察して、塩ストレス条件下の果実では、組織の拡大が阻害され、果実サイズの低下が起こったと考えられる。

## 【今後の展望】

生化学的手法による塩ストレス条件下の果実とコントロール条件下の果実のセルロース含有量の測定、セルロースの結合およびセルロースとキシログルカンの結合に関連する遺伝子の発現解析とともに、維管束形成にも注目して解析を行う予定である。