

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 9 月 9 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25440125

研究課題名(和文) 落花と落果で異なる離層細胞壁の制御メカニズムの解明

研究課題名(英文) Studies on the Changes in the Distribution of Cell Wall Modification in Floral and Fruit Abscission Zones during Fruit Development in Tomato.

研究代表者

岩井 宏暁 (Iwai, Hiroaki)

筑波大学・生命環境系・准教授

研究者番号：30375430

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：落花や落果は農業において重要な現象である。トマトでは受粉の不成功時に花は離層から落花し、受粉成功後は発達中の落果を防ぐ一方、完熟した果実では簡単な刺激で落果する。落花時の離層では、開花後から3日目にかけて、エクспанシンは、受粉阻止直後から徐々に離層特異的に蓄積し、脱離するタイミングで、XTHは1日目でピークを迎えた。XTHは受粉阻止した直後の細胞壁修飾に、エクспанシンによる細胞の膨張は、器官脱離の決行に重要と考えられた。落果時の離層では、リグニンの蓄積が確認されたが二次細胞壁合成に関わるCesAの蓄積は観察されなかったことから、離層特有なリグニン蓄積様式があることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Regulation of cell wall metabolism may play an important role in abscission, but it is not well understood. In the study, we used immunohistochemistry to visualize changes in the distributions of xyloglucan metabolism-related enzymes in the AZs of pollinated and unpollinated flowers, and in ripened fruits. During floral abscission, we observed a gradual increase of expansin in the AZ. However, during floral abscission, we observed a large 1 day post anthesis peak in XTH in the AZ, which then decreased. During fruit abscission, unlike during floral abscission, no AZ-specific expansin and XTH were observed. Although lignification was seen in the AZ of over-ripe fruit pedicels, secondary cell wall-specific cellulose synthase signals were not observed. These results suggest that expansin and XTH play important, but different roles in the floral abscission process and cellulose metabolism-related enzymes do not play important roles in the AZ prior to fruit abscission.

研究分野：植物生理学

キーワード：離層 器官脱離 細胞壁 エクспанシン XTH キシログルカン リグニン

1. 研究開始当初の背景

植物個体において細胞同士が離れる現象の代表に、器官脱離があげられる。特に落花や落果を代表とする器官脱離は、農業や園芸学で非常に重要な現象の一つであると考えられる。多くの植物では、葉柄や花柄の基部に離層の形成を伴う。離層部には特殊に分化した小さな分裂組織細胞が存在し、繊維が存在していないため、機械的にも弱いことが知られている。

受粉が成功しなかったとき植物体は花を落とすが、この時花は離層と呼ばれる小花柄に形成された細かい細胞層から脱離することが知られている。器官脱離の大きな要因であり老化や障害応答時に生成されるエチレンとペクチンに着目した研究から、脱離時に様々なペクチン分解酵素が離層で働いていることが知られている。トマトでは受粉成功後の果実形成過程で、離層を含む小花柄を発達し落果を防ぐ一方、完熟した果実では離層に簡単な刺激を与えるだけで落果することが観察されている。よってトマト小花柄の離層では受粉および果実成熟それぞれを介した二段階の器官脱離制御が行われていることが示唆される(図1)。このように興味深い現象にもかかわらず、現在までにその制御機構の違いはよくわかっていない。しかし、申請者は近年、花と果実での二段階の器官脱離では、細胞壁構成多糖に分布的・量的変化が起こっていることを、主に生化学的および免疫組織化学的手法を用いて明らかとした。研究の主な手法として果実における受粉前後各ステージおよび離層における受粉前後・果実成熟各ステージにおいて、組織染色および免疫抗体染色を行い、染色試薬や抗体に特異的な細胞壁多糖をそれぞれ顕微鏡下で可視化した。

その結果、花の落花時の離層において、器官脱離が行われる際離層を形成する細かい

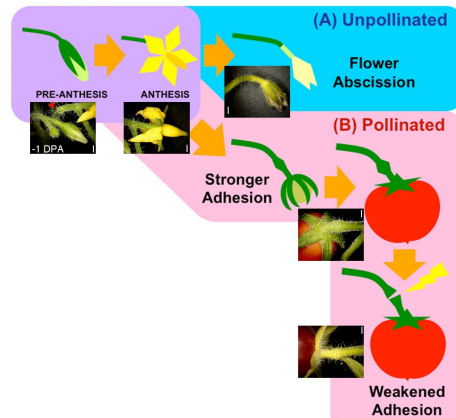


図1 落花と落果の脱離タイミング

細胞層は脱離組織側ではなく基部側に残り、一種のキャップ構造を構成することが確認された。またこのキャップ構造では、ヘミセルロースのキシログルカンとアラビノガラクトタンが蓄積し、新しい細胞壁が再編成されていることがわかった。また、このキャップ構造は、果実の落果過程でも観察されたが、落果ではリグニンによる細胞壁再編がされていた。しかし、その変化していた組織は極めて微細な細胞層であったことが明らかとなった。現在まで、これらの構造や現象が明らかとなつてこなかったのは、この変化が極めて特異的な細胞層で起こるからであったことが予想される。

2. 研究の目的

現在までの研究はあくまで、生じた結果である細胞壁多糖の免疫組織化学的解析であったこと、脱離と脱離時の2ステージのみの観察が行われただけで、その間にどのように細胞壁再編の変化が生じているかについて全くわかっていない。また、その細胞壁再編に関わる細胞壁関連酵素の動態についても未知である。そこで本研究では、落花と落果の離層における細胞壁多糖類と細胞壁関連酵素の経時的変化を観察し、その制御メカニズムについて明らかとすることを目的に実験を行った。

3. 研究の方法

研究材料にはトマト (*Solanum lycopersicum*) を用い、品種はトマト果実研究のモデル品種である Micro Tom を用いた。花のステージを開花後日数として Day Post Anthesis: DPA で表した。花においては、-1DPA の離層、受粉した花 (脱離しない) の 1, 2, 3DPA、受粉していない花 (脱離する) の受粉阻止後 1, 2, 3 DPA の離層をサンプリングした。また、受粉阻止した花の器官脱離が容易に生じるステージである小花柄が黄色くなっている離層の 8 つをサンプリングした。この 8 つのサンプルで抗 XTH 抗体、抗エクспанシン抗体、抗キシログルカン抗体 (LM15)、抗アラビナン抗体 (LM6) を用いた免疫組織化学染色を行い、それぞれの蓄積の経時的変化を観察した。果実においては、未熟な果実 (脱離しない) と、完熟した果実 (脱離する) の離層をサンプリングし、抗 XTH 抗体、抗エクспанシン抗体、抗 CesA7 抗体を用いて免疫組織化学染色を行った。

4. 研究成果

落花の際の離層部では、開花後日数が経つにつれ、キシログルカン、アラビナンが徐々に蓄積していく様子が観察された。また、細胞壁のゆるみに重要なエクспанシンは、このヘミセルロース性多糖類とほぼ同様のパターンでシグナルの増加が観察された。しかし、XTH は受粉阻止した直後から増え始め、一日目で蓄積のピークを迎え、その後シグナルは減少した。一方、このようなヘミセルロースとエクспанシン、XTH の増加は、落花が生じない花では観察されなかったことから、これらの変化は器官脱離が起こる花の離層に特有であることが示唆された。XTH は受粉阻止した直後からキシログルカンの合成や代謝に関わり、この XTH の細胞壁再編の働きが、その後のキシログルカンの増加を促進

していると考えられたことから、器官脱離時の細胞壁再編は、受粉が生じなかった直後から行われていることが示唆された。またエクспанシンが日数の経過につれ増加し、脱離が行われるタイミングでピークを迎えるのは、エクспанシンによる細胞の膨張が、器官脱離の実行の段階で必要であるためだと考えられる。またエクспанシンの働きでキシログルカンがセルロースから切断されたことが、抗体により認識されるキシログルカンの増加に繋がったと考えられる。このように落花の際には、細胞壁関連酵素による制御を受け、細胞壁再編が行われていると考えられる。エクспанシンは、脱離が起きるステージの離層特異的に局在量のピークを示し、脱離に積極的に関わっていることが示された。離層においてエクспанシンが働くことで、離層細胞が球状となり押し出すような形で脱離が生じていることが考えられる。触っただけで落ちる落花は、このキャップ構造とエクспанシンによるものであると考えられる。

一方果実においては、落花の際に蓄積がみられた XTH、エクспанシンの蓄積はみられなかった。またリグニンの蓄積はあったにも関わらず、二次細胞壁の合成に関わる CesA7 の蓄積はなかったことから、離層部での二次細胞壁の合成は起きておらず、離層細胞はリグニン化しプログラム細胞死へ向かっていることが示唆された。よって落果の際には、細胞壁関連酵素による制御は受けておらず、リグニン化が起きていると考えられる。つまり、落果する果実の離層では、セルロース合成を伴う細胞壁の強化を伴う二次細胞壁形成ではなく、ただリグニンを蓄積して死んでしまっていることがわかった。このことにより、ヒビが入りやすくなった果実の離層では、果実の運搬者である鳥などにとってもぎやすくなるメリットをもたらしていることが示された。

以上の結果から、花と果実の器官脱離過程では異なる細胞壁制御が行われていることが明らかになった。その変化していた組織は極めて微細な細胞層であったことが明らかとなった。現在まで、これらの構造や現象が明らかとなつてこなかったのは、この変化が極めて特異的な細胞層で起こるからであったことが考えられる。花も果実も離層において細胞壁を用いてキャップ構造を形成し、落ちやすくする準備をしていた。そして、落ちやすくする準備をしている点は花も果実も同じではあるが、落ちやすくするやり方が大きく異なっていた。今後は双子葉植物であるトマトの落花と落果で得られた結果をもとに、単子葉植物であるイネの脱粒性における細胞壁再編成機構の解明も次の目標である。世界の多くの地域で栽培されているインディカ米は、トマトの花のように触っただけで脱粒してしまうことでも知られている。これらの仕組みが解明できれば、農業にも大きく貢献できるものと考えている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計6件)

Mizukami A., Inatsugi R., Jiao J., Kotake T., Kuwata K., Ootani K., Okuda S., Sankaranarayanan S., Sato Y., Maruyama D., Iwai H., Garénaux E., Sato C., Kitajima K., Tsumuraya Y., Mori H., Yamaguchi J., Itami K., Sasaki N. and Higashiyama T. (2016) The AMOR arabinogalactan sugar chain induces pollen tube competency to respond to ovular guidance **Curr. Biol.** 印刷中 査読あり doi: 10.1016/j.cub.2016.02.040

Tsuchiya, M., Satoh, S., Iwai, H.

(2015) Distribution of XTH, Expansin and Secondary-wall-related Ces is n Floral and Fruit Abscission Zones during Fruit Development in Tomato (*Solanum lycopersicum*). **Frontiers in Plant Science** 6:323 査読あり doi: 10.3389/fpls.2015.00323

住吉美奈子 岩井宏暁 佐藤忍 (2015) 植物細胞壁：その多様なはたらき, 化学と生物, 53, 462-467 査読あり <https://katosei.jsbba.or.jp/index.php?aid=409>

Hyodo H., Terao A., Furukawa J., Sakamoto N., Yurimoto H., Satoh S. and Iwai H. (2013) Tissue specific localization of pectin-Ca²⁺ cross-linkages and pectin methyl-esterification during fruit ripening in tomato (*Solanum lycopersicum*). **PLoS One**, 8, e78949 査読あり doi: 10.1371/journal.pone.0078949

Terao A., Hyodo H., Satoh S. and Iwai H. (2013) Changes in the distribution of cell wall polysaccharides in early fruit pericarp and ovule, from fruit set to early fruit development, in tomato (*Solanum lycopersicum*). **J Plant Res**, 126, 719-728 (*筆頭著者扱い, ** 責任著者) 査読あり doi: 10.1007/s10265-013-0555-5

Iwai H., Terao A. and Satoh S. (2013) Changes in distribution of cell wall polysaccharides in floral and fruit abscission zones during fruit development in tomato (*Solanum*

lycopersicum). **J Plant Res**, 126,
427-437 (*責任著者) 査読あり doi:
10.1007/s10265-012-0536-0

〔学会発表〕(計3件)

落花および落果過程の離層における細胞壁代謝関連タンパク質の変化、土屋結実、佐藤 忍、岩井 宏暁、日本植物学会第79回大会、2015年9月7日、新潟県新潟市、新潟コンベンションセンター

岩井宏暁 (2014) トマト果実軟化過程における細胞壁再構築機構, 平成26年度園芸学会春季大会園芸植物細胞壁研究会、2014年3月30日、茨城県つくば市、筑波大学

Terao A, Satoh S. and H. Iwai, Changes in distribution of cell wall polysaccharides in floral and fruit abscission zones during fruit development in tomato (*Solanum lycopersicum*) 24th International Conference on Arabidopsis Research, 、2013年6月26日、シドニー(オーストラリア)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.biol.tsukuba.ac.jp/~plphys/iwaihomepage/hiroiwaiindex.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岩井 宏暁 (Iwai, Hiroaki)

筑波大学・生命環境系・准教授

研究者番号：30375430