

トマト果実軟化過程におけるカルシウム欠乏の細胞壁再編成への影響

宮地 桃子 (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)

【背景および目的】

果実は、植物にとっては種子の保護や散布のために重要な生殖器官である。多くの果実では成熟に伴い、果実が軟らかくなることが知られている。この果実軟化の現象は細胞壁の分解が関係していると考えられている。しかし、その果実内部では種子形成が同時に進行していることから、細胞壁の分解のみでなく合成や架橋形成も必要であり、細胞壁の変化は組織ごとに異なるのではないかと考えられる。現在までに、細胞壁骨格であるセルロースとの架橋成分であるヘミセルロース性多糖類のキシログルカン、キシランは、ともに果実の軟化過程において、分解のみでなく合成もされていることが示唆され、外果皮と内果皮の輪郭部分では果実の形状を保つため細胞壁の特徴的な再構築が行われていることが示唆されている。また、このヘミセルロース性多糖類と架橋を行うペクチンでは、特に、外果皮において、ペクチン-Ca架橋や側鎖を持つペクチンが高密度に存在していたことから、これらのペクチンが外果皮の細胞間、組織間の接着に重要であると考えられている。本研究では、果実成熟過程の細胞壁再構築過程におけるCaと細胞壁との架橋のはたらきを明らかにするために、Ca欠乏条件下で栽培したトマト (品種Micro Tom) を用いて、果皮組織 (外果皮、中果皮、内果皮) におけるキシログルカン、キシラン、そしてペクチンの各組織における生化学的な分析について行った。これらのことにより、果実成熟過程の細胞壁再構築過程におけるCaのはたらきを調査することで、果実軟化メカニズムの一端を明らかにすることを目的としている。

【試料および方法】

1. トマトの水耕栽培およびCa欠乏処理

試料：トマト (品種：Micro Tom) を、24°Cのインキュベーター内でYin et al. 2010, JXBの方法を用いて水耕栽培を行った。水に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を行った。Ca欠乏処理は花が咲きそろった時点でを行った。

2. サンプリング

1によって育てたトマト果実を成熟段階で4ステージ (Mature green (M), Breaker (B), Turning (T), Red ripe (R)、果実の組織を3つの組織 (外果皮、中果皮、内果皮) に分けて実験を行った。

3. ガスクロマトグラフィー (GC) による構成糖分析

2のサンプルから細胞壁を抽出し、得られた細胞壁に50 mM Na₂CO₃処理により細胞壁結合性の弱いペクチンを抽出、その後4 M KOH処理により細胞壁結合性の高いペクチンを抽出した。カルバゾール硫酸法を用いてこれらのウロン酸量を測定後、GCを用いて各サンプルをTMS化し、構成糖を分析した。

4. 種子の大きさと発芽率の測定

コントロール条件とCa欠乏条件のRの果実から種子を取り出し1日乾燥させた後、種子の大きさを測定した。測定後、水に濡らしたろ紙にトマト種子を播種して1週間後の発芽率を測定した。

5. トマトの力学的性質の測定

Rのトマト果実に音波振動を与え、力学的性質を測定した。

【結果および考察】

・Ca欠乏条件による生育への影響

Ca欠乏条件では葉の色は薄く、実の数、根の量も減少していた。しかしRになるまでの日数はコントロールより少なく、成熟が早いことが観察された。また、2つの果実が結合したような変形果の出現割合も高かった。

・GCによる構成糖分析

コントロールとCa欠乏条件では、細胞壁結合性の高いペクチン量が最大で約76%減少していた。また、ペクチンの側鎖を構成するアラビノース、ラムノースの減少がみられた。以上の結果から、Ca欠乏条件では側鎖を有するペクチンが減少していることが示唆された。

・種子の大きさと発芽率の測定

Ca欠乏条件では2.5 mm以下の種子の割合が増加していた。発芽率はコントロール条件、Ca欠乏条件、種子の大きさに関わらず、80%以上の高い値を示した。このことから、Ca欠乏条件下では貯蔵物質の少ない種子数は増えるが、正常な発芽能力を有した種子を形成することが出来ると示唆された。

・トマトの力学的性質の測定

トマトの硬さを示す弾性係数は、Ca欠乏条件下の果実の方が高く、コントロールよりも硬いことが示唆された。

【今後の展開】

本研究により、Ca欠乏条件下における細胞壁では、細胞壁と結合性の強いペクチンの減少がみられること、Ca欠乏ストレスは種子サイズには影響を及ぼすが、発芽能力には影響を及ぼさないことがわかった。今後は、細胞壁多糖類やCaの局在様式やCaとの結合に重要なペクチンメチルエステラーゼ等の酵素類の活性測定などの解析を行う予定である。

