

## 環境ストレス条件下のトマト果実成熟過程におけるアスコルビン酸細胞壁可溶化機構に関する研究

柳 英弓 (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】

果実の多くは成熟に伴い栄養分の蓄積と果実が軟らかくなる軟化が同時に起こる。果実軟化には細胞壁の分解が関与している。現在までに果実の成熟・軟化について、果実のモデル植物であるトマトを用いて、特に可食部である果皮の細胞壁分解酵素による多糖の低分子化に着目して研究が行われてきた。しかし、酵素による分解以外にも、細胞壁中のアスコルビン酸 (AsA) が、銅イオンと協調することで発生する活性酸素種による細胞壁分解系が、トマトのゼリー状組織であるローキュラー組織の液化に寄与することが本研究室の和田らによって示されている。AsA は細胞内ではペルオキシダーゼ (APX) による活性酸素除去が主な役割として一般的に知られているが、果実細胞壁中では APX を持たないために、細胞壁の AsA は活性酸素除去を行わない。また、AsA による細胞壁の可溶化は果実成熟過程において、AsA と銅の量により制御され機能していた。一般に、植物の AsA 含量は、様々な環境条件の影響を受けることが知られている。例えば、オオムギ葉の AsA 含量は光強度の増加に伴い上昇することが報告されている (Smirnoff, 2000)。トマト果実においては、塩ストレス条件下で栽培した場合、細胞内の抗酸化酵素 (SOD、APX、MDHAR、DHAR) の活性上昇が起きることが知られている。しかし塩ストレス下で栽培したトマトの AsA 含量の変化は一致した結果が得られていない。例えば、塩ストレス下で栽培したトマトの AsA 含量が上昇する (Petersen et al., 1998)、あるいは変化しない (Krauss et al., 2006; Sgherri et al., 2007; Zushi and Matsuzoe, 2007) ことが報告されている。また、塩ストレス下で栽培したトマトの AsA 含量が、どのようなメカニズムで変化するかは明らかでない。特にトマト果実のモデル品種の 1 つである MicroTom の塩ストレス下における AsA 含量については報告がない。栽培現場においては、塩トマトのローキュラー組織は液化レベルが高いといわれている。また、トマト果実の成熟/軟化過程において、組織ごとに異なる細胞壁の分解と再構成が生じ、また特に外果皮組織におけるペクチン-Ca 架橋の蓄積が特徴的であることが明らかとなっている。Ca 欠乏条件の果実では、果皮において側鎖をもつペクチンの量の減少と果実硬度の上昇が見られたことから、ローキュラー組織における液化にもカルシウムが影響している可能性がある。そこで本研究では、トマト果実成熟過程について、カルシウム欠乏、塩ストレス条件下において AsA 含量が果実の組織ごとにどのように変化するのか、また、細胞壁可溶化レベルがどのように変化するのかについて調査することで、AsA による細胞壁分解機構のローキュラー液化における役割について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カルシウム欠乏、塩ストレス処理  
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。カルシウム欠乏処理は花が咲きそろうた後、塩ストレス処理は花が咲き始めた時点でを行った。
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、中内果皮、ローキュラー組織) に分けて実験を行った。
3. AsA 量の測定  
2 によって得られた各サンプルについて RQ フレックスを用いてそれぞれの AsA 含量を測定した。

## 【結果および考察】

ローキュラー組織の AsA の量について比較を行ったところ、コントロール条件と Ca 欠乏条件の果実の AsA 量に大きな差はなかった。しかし、塩ストレス条件の果実では、Breaker 以降のステージにおいて AsA 量が増加した。特に Red Ripe のゼリー状組織では、コントロールの同ステージと比較して約 2 倍に増加した。AsA による細胞壁の可溶化は、果皮等の組織の軟化には寄与しないが、ゼリー状組織の液化の加速化に貢献していることが示唆された。また、Ca 欠乏条件の果実のローキュラーの液化は、コントロールのものとは変わった様子はなかったが、塩ストレス条件の果実のローキュラーは液化が進行している様子が観察された。そこで、現在、ローキュラー組織の液化の程度を数値化するために、スピンカラムを用いた方法の確立と測定を行っている。