

トマト果実成熟過程におけるペクチン制御機構に対する塩ストレスの影響

細川 花栄 (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】

植物はさまざまな環境ストレスにさらされているが、中でも塩ストレスは浸透圧ストレスやイオン毒性を引き起こし、植物の生育に支障をきたす。しかし塩ストレス条件下のトマトでは、グルコースやフルクトース等の糖類、プロリンやγアミノ酪酸等のアミノ酸の蓄積により、商品価値の高い果実が生産できることが知られている。その一方、塩ストレス条件下での栽培は、果実サイズの減少と果実数の減少、果実硬度が上昇するデメリットも生じている。この果実硬度の変化には細胞壁の構造が大きく関わっている。

現在までに本研究室ではトマト果実の成熟・軟化過程において、組織ごとに異なる細胞壁の分解と合成が起こり、それぞれ異なる性質の細胞壁を再構成していることを明らかにした (Takizawa A et al. 2014)。さらに塩ストレスの影響を組織ごとに調査したところ、塩ストレス条件下のトマトでは、クチクラ層が厚くなることで外部である皮の硬度が上昇する一方で、内部では軟化が促進されており、組織ごとに軟化の程度が異なっていることがわかった。しかし果実に硬度を寄与する存在である細胞壁の量が増加したにも関わらず果実内部は軟化しており、その理由は明らかになっていない。

そこで本研究では塩ストレス条件下のトマト果実内部の細胞壁はペクチン含量が増加しているという作業仮説のもと、成熟過程におけるトマト果実のサイズと硬度の変化において、ペクチン制御が塩ストレスの影響を受けてどのように変化しているかについて明らかにすることを目的とした。このことを通して、塩ストレスによってトマト果実に変化が起こる仕組みの一端が明らかにできることを期待している。

【材料】

トマト果実 (品種：Micro Tom) を成熟ステージで Immature green, Mature green, Breaker, Turning, Red ripe, Over ripe の 6 つに、果実の組織を外果皮、中内果皮の 2 組織に分けてサンプリングおよび実験を行った。

【方法】

▶ トマトの水耕栽培 / 塩ストレス処理

水耕栽培は Yin et al. 2010, JXB の方法を用いて、24°C のインキュベーター内で行った。水に濡らしたろ紙に滅菌した種子を播種し、子葉が出た後ロックウールに植え替えた。塩ストレス処理は花が咲き始めた時点で、NaCl 濃度の調節は電気伝導率測定器を用いて徐々に濃度を上昇させ、最終的に 150 mM になるよう水耕液に NaCl を溶かして行った。

▶ 細胞壁糖定量

コントロール、塩ストレス条件のそれぞれのトマトサンプルから細胞壁を抽出し、得られた細胞壁から 50 mM Na₂CO₃ 処理によって細胞壁との結合性の弱いペクチンを抽出し、さらにその後 4M KOH 処理によって細胞壁との結合性の強いペ

クチンを抽出した。これらペクチンのウロン酸量と中性糖量をそれぞれカルバゾール硫酸法とアンスロン硫酸法を用いて測定した。

▶ 果皮のペクチン染色

コントロール、塩ストレス条件のそれぞれのトマト果実の Mature green, Breaker, Turning, Red ripe の 4 ステージでの果皮のテクノビット切片を作製し、ルテニウムレッドを用いて染色し、生物顕微鏡で形態の観察を行った。

【結果・考察】

◆ 細胞壁糖定量

中性糖量は塩ストレス条件では初期ステージで増加していた。ペクチン量は外果皮では変化がみられなかったが、中内果皮では、塩ストレス条件で Mature Green におけるペクチン量が多かった。また、ステージを経るごとに減少していた。塩ストレス条件のトマト果実の中内果皮は、このペクチン量の大きな変化が原因で、力学的に柔らかな性質を持つに至った可能性が考えられた。

◆ 果皮のペクチン染色

ルテニウムレッド染色によってそれぞれの条件の果皮におけるペクチン量および細胞の形態を観察したところ、Red ripe ステージではコントロール、塩ストレス条件で同程度の染色レベルが観察され、細胞形態も違いがみられなかった。一方で、Mature green や Breaker のような初期ステージでは、塩ストレス条件のトマト果皮で強い染色レベルと細胞間隙の増加や細胞の肥大化が観察された。このことから塩ストレス条件下ではコントロールよりも、初期ステージにおけるペクチン量が多くなっていることや細胞形態が変化していることが示唆された。

本研究室の先行研究と今回の結果から、塩ストレス条件下の果実は、果実全体で見ると硬度は上昇しているが、組織ごとに軟化の程度は異なっていた。外果皮ではクチクラ層が厚くなることによって硬度上昇が起こり、逆に果実内部の中・内果皮では軟らかな肉質へ変わることで軟化が促進されていることが示された。軟化の促進が観察された果実の中・内果皮では、細胞壁のペクチン (ホモガラクトuronan) 量が増加するとともに、ペクチン分解酵素活性が上昇する傾向が確認された。塩ストレス条件下では、特に果実軟化が本来進行しない初期ステージにおいてペクチン動態に変化が生じており、これらのペクチンの変化が塩ストレス条件下における果実内部の軟化に寄与していることが示唆された。今後はこの結果をさらに発展させていくために、ペクチン合成関連遺伝子の発現解析を行う予定である。