

環境ストレス条件下のトマト果実発達過程における種子とローキュラーの変化

山田 佳央理 (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・目的】

陸上植物の多くは散布体として種子を形成する種子植物であり、種子植物はさらに被子植物と裸子植物に分類される。被子植物は重複受粉による種子形成と同時に種子を覆う子房を発達させる特徴をもつ。発達した子房は果実として、種子の保護および散布の役割を果たす植物にとって重要な生殖器官である。

多くの植物の種子と果実は成熟とともに乾燥することが多い。しかしトマト果実では、種子はローキュラー組織と呼ばれるゼリー状の組織に包まれて発達し、種子の水分含量は約40%程度と高いものとなっている。ローキュラーは種子の物理的保護の他に発芽抑制効果も報告があり、種子形成や発芽と密接な関係があると考えられるが、ほとんど機能についての報告がないのが現状である。

ローキュラーは果実および種子成熟過程において液化することが知られている。このローキュラーの液化現象は、細胞壁中のアスコルビン酸 (AsA) が関わっていることが本研究室の和田らによって示されている。AsAの植物体内における含量は様々な環境条件の影響を受けることが知られており、トマト果実においては塩ストレス下で栽培した場合、AsA含量の増加が見られる (Petersen et al., 1998)。またAsAが関わるとされる液化レベルも塩ストレス条件ではAsA量の増加と相関して上昇していた (柳, 2016)。しかし、環境ストレスによるAsA含量および液化レベルの変化はどのようなメカニズムで引き起こされるのかは明らかになっていない。また、AsAは、植物において主にマンナン生合成と共通部分をもった経路によって合成される。マンナンは種子における貯蔵物質であるため、環境ストレスがAsA量同様にマンナン合成さらには種子形成にも影響を与えることが考えられる。

本研究では、種子発達過程、ローキュラーの液化、AsAの合成、マンナン合成が、有機的に連携を取っていると仮説を立て、それらの関係性について考察することを目的とした。

【材料・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ォ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行った。
2. サンプルング
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4組織 (外果皮、中内果皮、ローキュラー、種子) 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。

4. ローキュラーの液化レベルの測定

先を切ったフィルター付きのチップにサンプリングしたローキュラーをのせ、1,500 rpm, 23°Cで5分間遠心ろ過を行い、ろ過された液体量の元のサンプル量に対する割合を液化レベルとした。

5. 種子の大きさ・重さ・発芽率の測定

各条件のRの果実から種子をサンプリングし、重さを測って正重量とした。2日間乾燥させて測った重さを乾燥重量とした。乾燥後の種子の大きさを測定した後、水に濡らしたろ紙に播種して1週間経過するまでの発芽率を調査した。

【結果・考察】

AsA量および液化レベルはカルシウム欠乏条件においてはコントロール条件と差が見られなかったものの、塩ストレス条件下ではどちらも上昇していた。そのため、環境ストレス下ではローキュラーにおけるAsA量の変化が液化レベル変化に関与していることが示唆された。

種子の大きさは、塩ストレス条件では、サイズが約15%小さい種子の割合が、10%程度増加した。一方、カルシウム欠乏条件では、逆に約16%大きい種子の割合が12%程度増加した。生重量に関してはコントロール>カルシウム欠乏>塩ストレスの順に値が大きかったが、乾燥重量は各条件に変化はなかった。発芽率はコントロールとカルシウム欠乏条件では同程度で、塩ストレス条件では他と比べて発芽までにより多くの日数を要し、1週間経過後の発芽率も半分程度に抑えられていた。

以上のことから、トマト果実のローキュラーにおいては特に塩ストレスの影響を受けて、抗酸化物質であるアスコルビン酸を蓄積させ、その結果液化を加速させるように働くことが分かった。また、塩ストレス下では果皮が赤く成熟しているのにも関わらず、果実内部では黄緑がかかった色の状態のものいくつか見られた。このことと種子に関する調査で得られた結果を合わせて考えると、塩ストレスは種子やローキュラーといった果実内部の成熟に対して何らかの効果をもたらすと考えられる。

【今後の展望】

現在、成熟や環境ストレスに伴うローキュラーや種子の発達過程の形態的特徴を顕微鏡による観察を行っている途中である。

環境ストレスと果実におけるAsA量の関係について、AsA生合成経路に関わる遺伝子やマンナンの合成酵素遺伝子の発現レベルがどのようにストレス下で変化しているか解析を行う予定である。