

トマト果実成熟過程における組織別硬度変化に対する塩ストレスの影響

杉山 晴香（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】

果実成分は、主要な園芸作物において食味や消費者の嗜好性を左右する際に、重要形質の一つとされている。トマトは、開花後に塩ストレス条件下で栽培を行うことにより、グルコースやフルクトース等の糖類やプロリン、GABA等のアミノ酸の蓄積が起きることで、商品価値の高い果実が生産できることが知られている。その一方で、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、そして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。これ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、それぞれ異なった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)。しかしながら、トマト果実の成熟・軟化に対する塩ストレスの影響については、多くの研究が果実全体での反応を対象としており、組織ごとの詳細な研究はされていない。果実に硬度を寄与する細胞壁が、果実軟化において組織ごとに異なる性質の細胞壁を再構成している以上、塩ストレスの影響が組織ごとに異なる可能性は非常に高いと考えられる。現在までに本研究室の先行研究における果実全体でみ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おり、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によって軟化が促進されていることが示唆されている。予備的なデータでは、細胞壁のペクチン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示唆された。そこで本研究では、予備データの検証を進めるとともに、塩ストレス条件下におけるトマト果実において、硬度変化を起こしている原因はなにであるのかを、生化学的、分子生物学的に調査することで明らかにすることを目的とした。

【方法】

1. トマトの水耕栽培・塩ストレス処理

トマト(品種: Micro Tom)を 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水耕栽培を行った。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から行い、NaCl 濃度の調節は電気伝導率測定器を用いた。徐々に濃度を上昇させることで馴化させ、最終的に 150 mM になるよう水耕液に NaCl を溶かして行った。

2. サンプリング

トマト果実を成熟ステージで 2 ステージ(Mature Green (M), Red Ripe (R))、果実組織を外果皮、中内果皮の 2 組織に分けてサンプリングおよび各実験を行った。

3. 細胞壁構成糖解析

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、ガスクロマトグラフィー、カルバゾール硫酸法、アンスロン硫酸法を用いて定量した。

4. ペクチン合成酵素遺伝子の発現解析

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を用いてペクチン合成酵素遺伝子である *GAUT1*, *GAUT1-family* について RT-PCR により発現解析を行った。

【結果・考察】

果実硬度が上昇し、ペクチンの蓄積が組織レベルで観察された塩ストレス条件果実を用いて、細胞壁を調整しペクチン性画分を抽出した。そのペクチン性画分のペクチン量を、カルバゾール硫酸法、アンスロン硫酸法を用いて定量を行った。その結果、塩ストレス条件とコントロール条件において、有為な差は観察されていないものの、ステージごとにペクチン量が減少する傾向が観察された。ペクチン合成遺伝子の発現量の変化については、現在、解析中である。

また、トマト果実の成熟過程においてキシランに関する糖類が増加することが報告されている。今回の解析により、現在はまだコントロール条件のみの結果であるが、果皮において新たにマンナンを構成するマンノース量が増加していることが細胞壁構成糖解析より示唆された。マンナン代謝に関わる *LeMAN4* については、果実で発現し、エチレンで誘導がかかることが知られている。これらのことから、果実の軟化過程で果実硬度の維持にマンナンが必要とされている可能性があると考えられる。

【今後の展望】

塩ストレス下では、ストレス応答のためビタミン C (アスコルビン酸) の合成が促進されるが、ビタミン C は、マンナンと全く同じ基質であるマンノースから合成されるため、塩ストレス下でのマンナン合成の促進が困難になる可能性が考えられる。

これらのことから、塩ストレス下では、この旺盛なビタミン C の合成のため、果実硬度の維持に必要なマンナンが不足し、そのことにより果実内部がやわらかくなる現象が生じているのではないかと仮説をたてた。今後は、マンナンに着目し、塩ストレス下でマンナンの合成および分解が果実の軟化過程で組織ごとにどのように変化するのかについて、塩ストレス条件下におけるマンナンの蓄積量を調査し、次に、合成遺伝子、分解酵素の動態について詳細な調査を行う予定である。