

塩ストレス条件下でのトマト果実軟化過程における維管束網状構造の変化

高橋 伶奈 (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】

果実は水分を多く含む複雑な組織を有する器官である。そして植物の中でも非常に珍しい成熟と軟化という物理的性質を有する。植物は動物と異なり移動ができないため、多くの環境ストレスに適応しながら生活しており、塩ストレスでは浸透圧ストレスとイオン毒性を引き起こすことで植物の生育や代謝に支障をきたすことが知られている。しかし塩ストレス条件下での栽培により、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、商品価値の高い果実生産ができることが知られている。一方、果実サイズや数の減少、果実硬度の上昇などのデメリットも生じる。これまでに本研究室では塩ストレス条件下トマトの果実成熟・軟化過程において外果皮では硬度増加、中内果皮では硬度減少と内部組織の液状化と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。さらに土耕栽培したcontrolにおいてキシランが果実のアウトフレーム構造である表皮で増加することもわかっている。ここまでの研究から内部が液状化しても全体的に形が崩れない特性には外果皮による形状維持以外にも支えとなる要因があると考えた。しかしながら、中内果皮の内部を通りインナーフレームとしての役割を持つ維管束網状構造が塩ストレス条件下でどう変化するかはわかっていない。外部ではアウトフレーム構造である細胞壁が強化された細胞層が発達する一方で、内部では果肉が液状化するにもかかわらず維管束網状構造が発達し、崩れない構造を維持すると考えられる。そこで本研究では柔らかい状態でも、非破壊で観察できるX線CTスキャンを用いることにより、塩水栽培によりどのように維管束網状構造が変化するかについて明らかとすることを目的に、“柔らかくなるが崩れない”構造の解明を目指した。

【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なった。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開始し、NaCl濃度を徐々に上昇させることで馴化させ、最終的に150 mMで栽培した。NaCl濃度の調節は電気伝導率測定器を用いて行なった。

2. サンプルング

トマト果実の成熟ステージの2ステージ(Mature Green (M), Red Ripe (R))、果実組織である外果皮、中内果皮の2組織に分けてサンプルングおよび各実験を行なった。

3. X線CT画像撮影と解析

マイクロフォーカス X線CTシステム(InspeXio SMX-225CT FPD HR)を用い、Cu 1mm フィルター、200kV、400 μ A、3600

views, 1024px×1024px, 900secの条件で撮影を行なった。撮影後はVGStudio MAXと画像処理ソフトImage-Jを用いて解析・測定を行なった。

4. リグニ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リグニン合成酵素遺伝子であるPAL5についてRT-PCRにより発現解析を行なった。

【結果・考察】

X線CTスキャンにより、維管束を確認できる条件で撮影することができた。撮影したX線CT画像から維管束の本数および維管束断面積/果実横断面積の比について比較した。Controlでは、果実サイズが決定した緑のMステージから、軟化が進行した赤のRステージの間で比較したところ、維管束の本数と維管束断面積/果実横断面積比に有意な差は見られなかった。MからRにかけてサイズ変更が起こっていないことから、維管束の本数と維管束が果実横断面においてはコントロールで変わる要因はないため、正常に測定できていることが確認できた。

一方、塩ストレス条件の果実では、果実サイズが決定した緑のMステージにおいて、controlと比較して約53%維管束断面積/果実横断面積比が少ないことが示された。しかし、軟化が進行した赤のRステージではcontrolと比較して約36%増加しており、維管束の本数も1.6倍に増加していた。塩ストレス条件の果実では、サイズが変化していないにもかかわらず、維管束断面積/果実横断面積比は約70%増加していた。

また、維管束の主成分の一つであるリグニンの合成酵素遺伝子であるPAL5の発現解析では塩ストレス条件の果実の中内果皮、Rステージで最も強い発現が見られた。中内果皮では各成熟ステージとも塩ストレス条件で発現が強くなっていった。このことから塩ストレスによってPAL5の発現量が増加しており、果皮内部で維管束形成が促進されていることが示唆された。

以上の結果から、Rステージにおいて内部でcontrolよりも果肉が柔らかくなっていた塩ストレス条件の果実では、維管束網状構造が発達することで、“柔らかくなるが崩れない”構造が維持されていると考察した。

【今後の展望】

塩ストレス条件栽培果実と通常栽培果実とを次世代シーケンサーを用いて、組織ごとに解析することにより新規の果実フレーム構造強化因子の発見を目指す。

【謝辞】

本研究を行うにあたり、ご指導、ご協力頂いた農研機構次世代作物開発研究センターの宇賀優作博士・沼尻侑子博士に感謝いたします。