

塩ストレス条件下でのトマト果実軟化過程における細胞壁構成成分の変化

長谷川 千晶 (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】

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と考えられているが不明な点が多いのが現状である。

現在までに本研究室では、コントロール条件下のトマト果実では成熟・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)。そして、近年、塩ストレス条件下で育てたトマト果実では、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いることを示した(杉山晴香 修士論文 2021)。塩ストレス条件下果実の硬度上昇は最外層の外果皮の高い硬度が大きく貢献しており、内部の中果皮は反対に非常に低い硬度であった。これらのことから、塩ストレス条件下で育てると果実は軟化が促進されるとともに、フレーム構造が強化されることが示唆された。そこで本研究では、外果皮の外表皮のみならず、内果皮の内表皮を含めた果実全体のアウトフレーム構造に着目し、これらの果実軟化過程における発達と機能、そして塩ストレス条件によりどのように影響を受けるのかについて、生化学的、分子生物学的に調査し明らかとすることを目的に実験を行った。

【材料と方法】

1. トマトの水耕栽培・塩ストレス処理

トマト(品種: Micro Tom)を24°Cのインキュベーター内で水耕栽培を行なった(Yin *et al.*, 2010)。水に濡らした濾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た。塩ストレス処理は花が咲き始めた時点で開始し、塩濃度の調節は電気電動率測定器を用いた。徐々に濃度を上昇させることで馴化させ、最終的に150 mMになるように水耕液にNaClを溶かして行った。

2. サンプルング

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、中果皮の2組織に分けてサンプルングおよび各実験を行った。

3. 細胞壁構成糖分析

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、ペクチン・ヘミセルロース画分を調整した。その後、ガスクロマトグラフィー、カルバザール硫酸法、アンズロン硫酸法を用いてペクチン・ヘミセルロース画分の構成糖の定量を行った。

4. キシラン合成酵素遺伝子の発現解析

キシラン合成酵素遺伝子は、モデル植物であるシロイヌナズナにおいて *IRX9* が重要な遺伝子として知られている。トマト果実で働くことが報告されている *SIIRX9-L1* を用いて、コントロール、塩ストレス条件下における遺伝子発現解析を行った。

【結果と考察】

●細胞壁構成糖分析

外果皮では、コントロール条件下と塩ストレス条件下のトマトで有意差はほとんどみられなかった。一方で、中果皮では、塩ストレス条件下の Red Ripe 果実において、マンノースおよびキシロース量の増加がみられた。

●キシラン合成酵素遺伝子の発現解析

キシランの合成に関わる *SIIRX9-L1* において、コントロール条件下の中果皮で、Mature Green ステージから Red Ripe ステージにかけて発現レベルの増加がみられた。

本研究の先行研究で、コントロール条件下のトマト果実の果皮組織において、内果皮および外果皮でのみ、キシロースを主鎖にもつキシランの分布が観察されていることから、塩ストレス条件下のトマト果実の内果皮でも内表皮においてキシランが蓄積し、アウトフレーム構造の強化に関与している可能性があると考えられる。また、内表皮は一般的な表皮と同様にクチクラ層が発達しているという報告がある(Matias AJ *et al.*, 2011) ことから、内果皮と外果皮には形態維持の役割があると考えられる。

よって、これらの細胞壁構成成分の変化は、アウトフレーム構造を強化し、膨張の調節や果実組織の力学的特性を向上することによって、形態を維持する機能を持つためではないかと考えている。

【今後の展望】

今回の細胞壁構成成分の分析結果をもとに、今後、キシランを中心とした細胞壁モノクローナル抗体を用いた免疫組織化学染色を行い、塩ストレス条件下におけるトマト果実の果皮組織の細胞壁構成成分の分布を調査していく予定である。

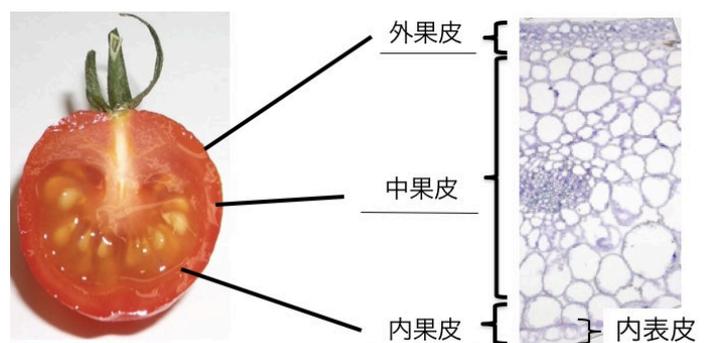


図. トマト果実の果皮組織分類 (Hyodo *et al.*, 2013 より一部改変)