

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 4 月 23 日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24580041

研究課題名(和文)単為結果性トマトの低温による肥大停止遅延現象の解明

研究課題名(英文)The extension of the growth period and enlargement of fruit induced by low temperature at the late phase of fruit growth in parthenocarpic tomato cultivars.

研究代表者

片岡 圭子(KATAOKA, Keiko)

愛媛大学・農学部・准教授

研究者番号：80204816

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,300,000円

研究成果の概要(和文)：果実発育後半での低温による果実肥大期間の延長と果実重の増加は、当初想定していたような単為結果性系統に特異な現象ではなく、'フルティカ'や'Micro Tom'でも観察され、トマト共通の現象である可能性が示唆された。低温下では、果実肥大速度は小さくなるが、光合成産物の流入は継続し、成熟までの日数の増加により、最終的な乾物量は増加することが明らかになった。また、スクロースの増加が顕著である一方、有機酸含量は低温遭遇によって低下し、果実品質におよぼす温度の影響が明らかになった。果実発育後期の果実肥大に関する酵素としてインベルターゼ、ペルオキシダーゼを検討したが、明らかな結果は得られなかった。

研究成果の概要(英文)：It has been suggested that the extension of the growth period and enlargement of fruit induced by low temperature at the late phase of fruit growth is common in tomatoes, because it has been observed not only in parthenocarpic cultivars, as expected at the start, but also in other cultivars, such as 'Micro Tom' and 'Frutica'. At low temperature condition, the influx of photoassimilate was continued, although the fruit growth became slower, and the final fruit at ripening became larger because of the extension of the growth period. Furthermore, the sucrose content was increased remarkably, and the organic acid was reduced in low temperature treatment. This could be useful to improve the fruit quality. Invertase and peroxidase were examined as the enzymes that participate in this phenomenon, but I could not find the clear evidence of this.

研究分野：蔬菜花卉園芸学

キーワード：トマト 果実発育 低温 糖濃度 ペルオキシダーゼ

1. 研究開始当初の背景

(1) 日本におけるトマト消費は生食が中心であり、周年生産に対する要求が大きい投入エネルギーをなるべく小さくするような冬期栽培体系の確立が必要である。

(2) 強い単為結果性を示すトマト‘京てまり’で、冬期無加温栽培の可能性が示されたが、加温栽培と比較すると収量は少なく、低温下での果実肥大についてより詳細に検討する必要がある。‘京てまり’において緑熟期以降に低温にすると、着色までの日数が増加すると同時に、肥大が継続し、対照区よりも2~4割大きくなり、細胞体積が大きくなって、果肉細胞壁が薄くなることを観察した。

2. 研究の目的

(1) 上記の‘京てまり’における低温による肥大継続現象は、単為結果性品種の低温期の栽培における果実肥大促進、ひいては収量増加の可能性を示唆しているが、同時に、裂果、肉質低下、希釈効果による糖度低下などの問題が起きることが予想され、その様相を明らかにしておく必要がある。

(2) そこで、トマト果実への光合成産物の流入を制御する糖代謝酵素活性の子房(果実)組織内での局在と発達段階に伴う変化が、温度によってどのように影響されるのかを調査し、*pat-2*品種が示す果実発達後期の低温による肥大の様相について、明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 糖代謝酵素活性の組織化学的検出法の開発

凍結マイクロトームを用いて、生鮮試料から8~10 μ m程度の切片を切り出し、Millerら(1992)の方法により酸性インペルターゼ活性を検出する。また、反応を薄切に先立って行わせる方法について検討した。

(2) *pat-2*品種と非単為結果性品種との低温栽培下での肥大性の比較

単為結果性品種MPK-1(‘京てまり’)、非単為結果性品種‘フルティカ’を供試し、開花後24日目から、無加温および加温区を設定して栽培した。着色時に収穫し、果実重、成熟日数を測定した。

(3) 遺伝的背景の近い単為結果性系統と非単為結果性系統における果実発育後半の温度の影響

‘Micro Tom’と*pat-2*単為結果性系統の交雑に由来するBC₃F₂を供試し、単為結果性を示した株(*pat-2*)と単為結果性を示さなかった株(WT)にわけ、各株2果を残して栽培した。開花後約1か月目に明期14h/暗期10hのインキュベーターに気温28/20 (HT区)および16/10 (LT区)の2区を設定し、各クローン同数を搬入した。搬入時に果実径をノギスで測定した。催色期に達した果実から収穫し、果実径、新鮮重、糖濃度を測定した。

(4) ‘Micro Tom’における果実肥大後期の温度の影響

同日に開花した各株4花に4CPA15ppm溶液を散布して着果させ、他の花蕾および果実は摘除した。着果後22日目に、明期16h/暗期8hのインキュベーターに、気温28/16 (HT区)、22/16 (MT区)および15/8 (LT区)の3区を設定し、各区4株を搬入した。催色期に達した果実を収穫し、新鮮重を測定し、凍結乾燥後、乾物重を測定し、粉碎して、HPLCにより糖と有機酸を測定した。

(5) 遺伝的背景の近い単為結果性系統と非単為結果性系統における果実発育後半の温度が果皮POX活性と果実肥大に及ぼす影響
‘Micro Tom’と*pat-2*単為結果性系統の交雑に由来するBC₄F₂種子を播種し、2月19日に開花している株36株を選び、株当たり3~5花を残してタッピングした。3月16日に各1個の果実を採取して種子の有無を確認し、単為結果性の有無を判定した後、各株2個の果実を残し、単為結果性(*pat*)、非単為結果性(WT)それぞれについて、生育の揃った8株を選んだ。3月21日に各系統4株ずつを、28/16 (HT区)および15/8 (LT区)に搬入し、4日後および10日後に各区3果実を採取して、赤道部から果皮を10~20mg切り取り、液体窒素中で磨砕し、緩衝液で8回洗浄したのち、NaClを含む緩衝液で細胞壁結合型POXを抽出して活性を測定した。

4. 研究成果

(1) 糖代謝酵素活性の組織化学的検出法の開発

Millerら(1992)の方法によりインペルターゼ活性を検出しようとしたが、NBTの青色沈殿は検出できなかった。そこで0.5mm程度の徒手切片を使って反応条件を確認したところ組織化学的な酵素反応部位の検出ができた(図1)。

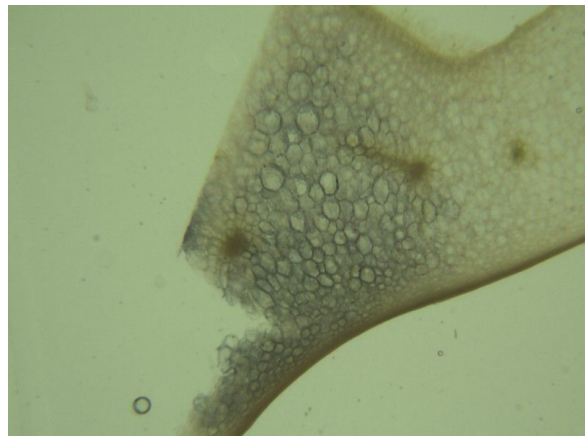


図1 成熟したトマト果皮の中性インペルターゼ活性

そこで、反応させた徒手切片を凍結切片にして活性の局在を観察した(図2,3)。活性の位置は偏っており、反応液が組織に届かなかった、あるいは切片作成中に脱落した可能性などについて、さらに検討する必要がある

と考えられた。

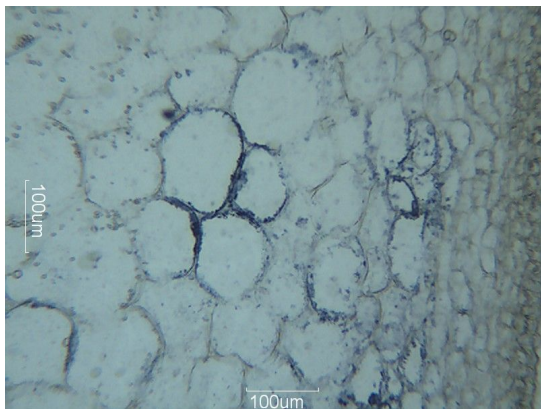


図 2 凍結切片による成熟したトマト果皮の中性インペルターゼ活性の局在

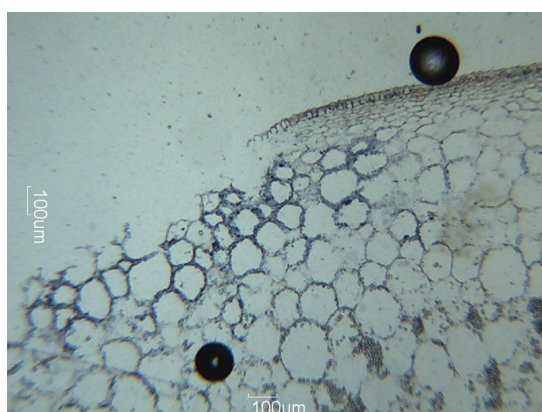


図 3 凍結切片による成熟したトマト果皮の中性インペルターゼ活性の局在

さらに反応時間を長くすると胚珠，維管束，果皮で脱色が起こることを観察した。POX 活性の存在が推測されたので，POX 特異的な反応系および転写法を用いて POX 活性を確認した(図 4)。また，FAA で固定後，洗浄して凍結切片を作成し，この切片で果皮部の POX 活性を観察したところ，クチクラ層直下の外果皮細胞で強い POX 活性が認められた(図 5)。

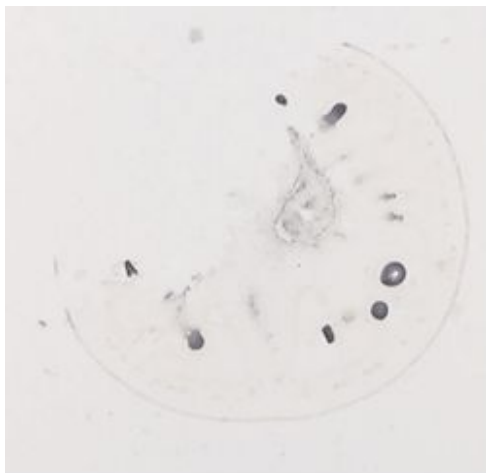


図 4 転写法によるトマト横断面の POX 活性

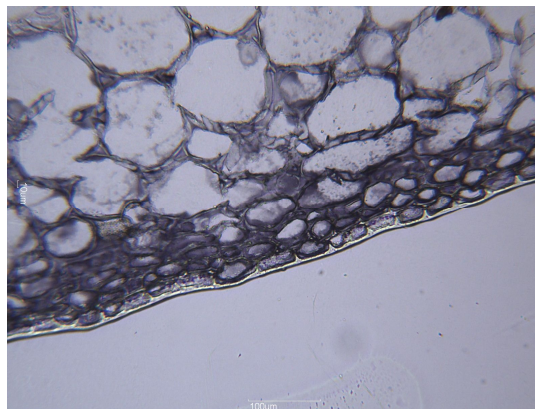


図 5 凍結切片でのトマト果皮における POX 活性の局在

(2) *pat-2* 品種と非単為結果性品種との低温栽培下での肥大性の比較

温度処理を開始した開花後 24 日目の 1 月 28 日からほぼ収穫が終わった 3 月 15 日までの平均気温は，加温している二重被覆内で 17.4 であり，無加温トンネル内では 11.9 であった。

‘京てまり’(MPK-1)では加温区に比べて低温区で収穫までの日数が 6 日長くなったが ($P < 0.01$) 果実重および糖濃度に差は認められなかった (Table 1)．‘フルティカ’では，収穫まで日数，果実重，糖濃度ともに処理による差は認められなかった．成熟まで日数について品種と処理の交互作用が認められ，単為結果性品種‘京てまり’では，低温による成熟まで日数の増加が‘フルティカ’よりも大きいことが示唆された．両品種とも成熟までの積算温度は LT 区で 100 ~ 200 °C・d，小さくなった。

Table 1. Tomato fruit growth and ripening of cv. MPK-1 and cv. Frutica under different temperature condition in later growth stage.

cv.	Temp.	DAT	FW (g)	Sugar (%FW)
MPK-1	HT	62.3	35.9	3.41
	LT	68.3	37.9	3.36
Frutica	HT	61.4	51.6	2.97
	LT	60.5	50.9	3.01
ANOVA 2				
cv.		n.d.	n.d.	n.d.
Temp.		*	n.d.	n.d.
cv. x Temp		*	n.d.	n.d.

ハウスでの栽培条件下で行ったこの実験では，低温によって催色までの期間は長くなったが，積算温度は変わらないか，むしろ小さくなった．高温遭遇時間に処理区間差は小さく，21 以上は，‘京てまり’の加温区で 12.3 日，低温区で 12.8 日，フルティカの加温区で 12.1 日，低温区で 11.2 日となった。

このことから成熟に關与する気温は 20 より高いことが考えられた。

(3) 遺傳的背景の近い単為結果性系統と非単為結果性系統における果実發育後半の温度の影響

催色までの日数は, pat-2 で 27.5 日, WT で 29 日, LT 区でそれぞれ長くなり, 系統間で差は認められなかった (Table 2)。果実重は LT 区で, pat-2 で 2.2 g, WT で 4 g, それぞれ重くなり, 果実径も pat-2 で約 2mm, WT で約 4mm 大きくなった。果実径の温度処理開始時から催色期までの果実径の成長率は, HT 区では 1.28 と 1.30, LT 区では 1.37 と 1.47 で, 低温によって果実肥大が延長し, 最終的に大きな果実となることが明らかとなった。温度処理期間中の果実径増加速度は, HT 区で, 0.258 および 0.223, LT 区で 0.148 および 0.156 で, HT 区のほうが高く, 系統間差は認められなかった。糖濃度は, どちらの系統でも LT 区で有意差はないものの, 高くなる傾向が認められた。

Table 2. Effects of temperature of late period in fruit growth on the fruit growth and ripening of 'Micro Tom' offspring with/without pat-2

Phenotype	T	DAT	Thermal unit	FW (g)
pat-2	HT	51.8	1058	7.6
	LT	79.4	1199	9.8
WT	HT	53.2	1093	5.9
	LT	84.2	1264	9.9
ANOVA2				
phenotype		n.d.		n.d.
Temp.		**		*
phenotype x Temp.		n.d.		n.d.

Pheno-type	T	DM	Growth ratio	Growth speed (mm d ⁻¹)	Sugar (%)
			mm		
pat	HT	24.5	1.28	0.258	2.1
	LT	26.4	1.37	0.148	2.5
WT	HT	22.9	1.30	0.223	2.2
	LT	26.8	1.47	0.156	2.7
ANOVA2					
phenotype		n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Temp.		*	*	**	n.d.
phenotype x Temp.		n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

催色期までの積算温度 (Thermal unit) はどちらの系統でも LT 区で多くなり, ハウスでの前の実験とは逆の結果になった。果実肥大後期の低温は, 催色を遅らせ, 果実肥大期間を延長して果実重の増加, 糖の集積を維持するが, その反応は, 遺傳的単為結果性に由来するものではないことが明らかとなった。

(4) 'Micro Tom' における果実肥大後期の温度の影響

成熟まで日数は, 処理区間で有意差が認められ, LT 区で HT 区に対してほぼ倍の日数が必要だった (Table 3)。果実重は新鮮重, 乾物重とも HT 区と MT 区の間に差がなく, LT 区で有意に大きくなった 'Micro Tom' の人為的単為結果果実でも, 果実發育後半の低温遭遇は, 成熟の進行を遅らせて果実肥大期間を延長し, 最終的な果実重を増加させることが, またその肥大は乾物重の増加を伴うことが明らかとなった。果実径の増加速度は低温処理で小さいが, 成熟までの日数の増加により増加率は低温処理で大きくなった。単為結果性の有無では差は認められなかった。

Table 3. Effects of temperature in later period of fruit growth on fruit at ripening of 'Micro Tom'

	DAT	FW (g)	DW (g)	Thermal unit
HT	34.9 c	9.6 a	0.65 b	776
MT	41.1 b	9.2 b	0.60 b	849
LT	70.8 a	12.7 a	0.94 a	1053

	Suc (%FW)	Gluc (%FW)	Fruc (%FW)	Total sugar (%FW)
HT	0.06 b	0.79 a	1.89 b	0.74 a
MT	0.09 b	0.64 b	1.57 b	0.77 a
LT	0.27 a	0.78 a	2.31 a	0.56 b

	Citrate (%FW)	Malate (%FW)
HT	0.74 a	0.27 a
MT	0.77 a	0.26 a
LT	0.56 b	0.17 b

0 以上の成熟まで積算温度は, 温度が高いほど小さくなった。HT 区で 775 ・日となり, 実験 1 および 2 よりも低い値となった。LT 区では糖の増加が認められ, 特にスクロースの増加が顕著だった。クエン酸およびリンゴ酸は LT 区で減少した。MT 区では, グルコースおよびフルクトースが少なくなる傾向が認められ, 果実重での結果と合わせて考えると, 成熟までの日数が増加しても明期の温度が低いために光合成生産が低下していた可能性が考えられる。しかし, LT 区では, 日中の気温が MT 区よりもさらに低いにも関わらず, 果実重の増加が見られ, 光合成産物の蓄積と成熟が異なる制御下にあることを示唆している。

(5) 遺傳的背景の近い単為結果性系統と非単為結果性系統における果実發育後半の温度が果皮 POX 活性と果実肥大に及ぼす影響

処理 4 日目では果実径の増加速度は低温処理区で小さい傾向が認められた (Table 4)。POX 活性には処理や系統による違いは認められなかった。また, 果実重と POX 活性との間に相関は認められず, 大きい果実は発達段階が進んでいる, あるいは POX 活性が低いとは

言えなかった。

10日目では、果実径の増加速度に処理間で有意差が認められた ($P=0.02$) が、表現型間では有意差がなく、また交互作用も認められなかった。POX 活性に有意差は認められなかった。単為結果性の有無による反応の差異は認められなかった。

Table 4. Effects of temperature of late period in fruit growth on the fruit growth and POX activity of pericarp of 'Micro Tom' offspring with/without *pat-2*.

Pheno- type		Growth speed (mm d ⁻¹)		POX activity	
		4 d	10 d	4 d	10 d
pat-2	HT	0.51	0.39	0.12	0.10
	LT	0.36	0.22	0.09	0.11
WT	HT	0.39	0.40	0.11	0.07
	LT	0.38	0.35	0.07	0.10

(6) 以上のように、果実発育後半での低温による果実肥大期間の延長と果実重の増加は、単為結果性系統に特異な現象ではなく、経済品種である'フルティカ'や'Micro Tom'でも観察され、トマト果実に共通する現象である可能性が示唆された。低温下では、果実肥大速度は小さくなるが、光合成産物の流入は継続しており、成熟までの日数の増加により、最終的な乾物重は増加することが明らかになった。また、スクロースの増加が顕著である一方、有機酸含量は低温遭遇によって低下し、果実品質におよぼす温度の影響が明らかになった。

果実発育後期の果実肥大に関与する酵素については、インベルターゼ、ペルオキシダーゼを検討したが、明らかな結果は得られなかった。この現象の解明にはさらに詳細な研究が必要である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

特になし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

片岡 圭子 (KATAOKA, Keiko)

愛媛大学・農学部・准教授

研究者番号：80204816