

海水を利用した塩水栽培による高マンナン&高ビタミン C 含有トマト栽培技術開発

岩井 宏暁

筑波大学生命環境系

概要 果実に含まれる成分は、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最重要形質の一つとされている。塩ストレスは浸透圧ストレス、イオン毒性を引き起こし、植物の生育や代謝に支障をきたす場合が多い。しかし、塩ストレス条件の塩水栽培のトマトでは、グルコースやフルクトース等の糖類やプロリン、 γ アミノ酪酸等のアミノ酸、そしてビタミン C であるアスコルビン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。しかし、どのようにしてビタミン C をはじめとした高機能成分が蓄積するのかについては、ほとんど研究報告がないのが現状である。またビタミン C が糖であるマンノースの誘導体であることも、その研究を難しくしている原因にもなっている。

トマト果実のサイズ決定及び成熟過程において、多糖類や糖類の合成や分解、そして果実の硬度およびサイズ変化が変化することがわかっている¹⁾。本研究により、塩水栽培においてビタミン C が高度に蓄積されること、それに伴って、果肉である果皮および種子のマンナン量が減少していることが示された。ビタミン C はマンナン合成経路と共通部分を持っており、互いに基質であるマンノースを取り合うトレードオフが行われていることが考えられる。つまり、塩水栽培では、ビタミン C とマンナンの材料であるマンノース不足に陥っていると考えられる。そこで、マンノース添加を塩水栽培と併せて行う栽培系を構築し、実験したところ、果肉となる果皮で、緑色の未熟なステージにおいて、完熟に近い赤色の果実とほぼ同量のビタミン C 含量となった。マンノースも増加傾向となった。

トマトは熟さない状態で出荷されることから、未熟果実でも熟した果実と同じレベルのビタミン C 含量のトマトが得られる塩水とマンナンを組み合わせた栽培系は、農業技術に転用できる有効な手段ではないかと考えられる。

1. 研究目的

果実に含まれる成分は、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最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、 γ アミノ酪酸等のアミノ酸、そしてビタミン C であるアスコルビン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²⁻⁷⁾。しかし、どのようにしてビタミン C をはじめとした高機能成分が蓄積するのかについては、ほとんど研究報告がないのが現状である。またビタミン C が糖であるマンノースの誘導体であることも、その研究を難しくしている原因にもなっている。本研究の目的は、塩水栽培におけるマンナン合成とビタミン C 合成がどのよ

うに調節されているかについて明らかとし、海水を利用した塩水栽培における高マンナン&高ビタミン C 含有の高機能トマト栽培技術基盤を構築することで、新たな塩の機能を示すことである。ビタミン C はマンナン合成経路と共通部分を持っており、互いに基質であるマンノースを取り合うトレードオフが行われていることが考えられる。つまり、塩水栽培では、ビタミン C とマンナンの材料であるマンノース不足に陥っており、さらにマンノース添加を塩水栽培と併せて行う栽培系を構築すれば、高マンナン&高ビタミン C 含有トマトの栽培が可能であり、新たな塩の利用を提示できると考えられる。さらに、海水中には溶存炭水化物としてマンノース、ガラクトースが含まれることが示されている。海水を利用することで人工的なマンノース添加がなく

とも、高機能トマトの栽培が期待できる。本研究では、塩水栽培におけるマンナン合成とビタミン C 合成がどのように調節されているかについて明らかにすることを通して、海水を利用した高マンナン&高ビタミン C 含有トマト栽培技術基盤の構築を行い、新たな塩の機能を示すことが目的である。

2. 研究方法

2.1 塩ストレス条件下におけるトマト果実のマンノース量とビタミン C 量の測定

トマト(*Solanum lycopersicum*: 品種 Micro-Tom)の塩ストレス処理、無処理区(コントロール)果実を試料として用いた。まずトマト種子を 0.5% 次亜塩素酸で殺菌後、蒸留水で洗浄し、ろ紙上に播種した。発芽後、双葉展開期に各系統 6 個体を 5 x 5 x 5 cm サイズのロックウールに移植し、プラスチックトレイを用いて水耕栽培を行った。本葉展開後、これらの植物体を電気伝導度(EC) 1.5 dS m^{-1} に調整した大塚 A 処方培養液に移し、2 日おきに培養液を交換しながら開花期まで育成を行った。生育条件は 16 時間明期(27°C)、8 時間暗期(22°C)とした。塩ストレス処理は、第一花房開花後、培養液に NaCl を加えて 15.0 dS m^{-1} (約 160 mM NaCl に相当)に調整することで行った。

ストレス処理開始時は、植物体の状態を観察しながら EC を 2 日おきに 1.5 dS m^{-1} から 5.0 dS m^{-1} 、 8.0 dS m^{-1} 、 12.0 dS m^{-1} 、 15.0 dS m^{-1} と徐々に上げていき、8 日程度かけて順化させた。果実の成長・成熟ステージを以下に示す 4 段階に分けて、果実のサンプリングを行った (Fig. 1)。また各段階の果実に対し、果皮とゼリー状子室組織のローキュラーに分けサンプリングを行った。

M: Mature green (30 day post anthesis (DPA))

B: Breaker (35 DPA)

T: Turning (37 DPA)

R: Red ripe (45 DPA)

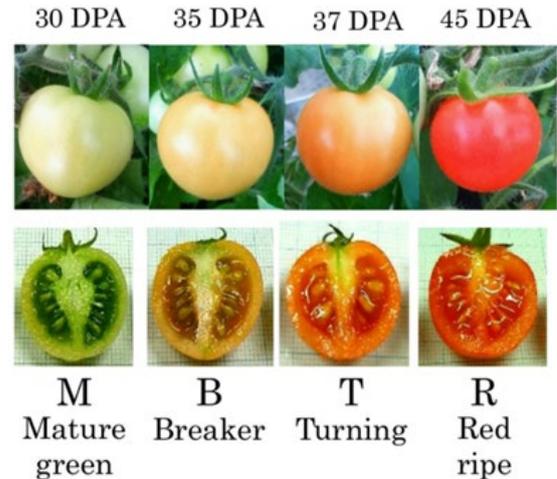


Fig. 1. Preparation for tissue-specific analysis.

The fruit ripening stages of cv. Micro Tom. The four stages included mature green (M), breaker (B), turning (T) and red ripe (R).

ビタミン C 量の測定: 各成熟ステージの果実から組織ごとに 100 mg ずつを凍結し、乳鉢と乳棒を用いて破碎し、5%メタリン酸(和光特級 Wako)を 100 ml 加えた。攪拌後、4°C、15,000 rpm で 5 分遠心し、上清を専用の試験紙(リフレクトクアント試験紙 Ascorbic acid Test Merck)に垂らし、15 秒後 RQ フレックス(RQflex plus 10 Merck)を用いて測定し、ビタミン C(アスコルビン酸)量とした。

細胞壁の抽出: 種子に関しては 3 粒、子室組織に関しては生重量 100 mg ずつを凍結し、乳鉢と乳棒を用いて破碎し、80% EtOH 1.5 ml を加えた。15,000 rpm で 1 分遠心し、上清を除いた。これにクロロホルム: MeOH = 1:1 を 1 ml 加えてボルテックスし、15,000 rpm で 1 分遠心後、上清を除いた。この操作を 3 回繰り返した。これにアセトン(和光特級 Wako) 1 ml を加えてボルテックス後、15,000 rpm で 1 分遠心し上清を除いた。サンプルを乾燥させ、重量を測定し、細胞壁量とした。抽出した細胞壁をねじ口試験管(ST-13M 日電理化硝子)に移し、パスツールピペットを用いて 2 M の TFA 250 μl を加え、121°C で 2 時間加温(EYELA MG-2200)することで加水分解を行った。その後、イソプロパノール 300 μl を加え、室温で吹き付けエバポレーターにて乾燥させた。DW を 100 μl 加えてボルテックスし、遠心したのち、上清を TFA 可溶画分とした。TFA 可溶画分にはペクチンとヘミセルロースが含まれるため、マンノース量の測定が可能となる。

ガスクロマトグラフィーによる細胞壁の構成糖分析:TFA可溶画分サンプル 30 μl を一晩凍結乾燥し, 250 μl のHCl/MeOHを加え, しっかり蓋を閉めた後, 80°Cで15時間加温した(EYELA MG-2200)。そこに100 μl のt-ブチルアルコールを加え, 室温で吹き付けエバポレーターにて乾燥させた。100 μl のピリジン, 100 μl のヘキサメチルジミラザン, 50 μl のトリメチルクロロシランを加えて蓋を閉めた後, 80°Cで20分加温(EYELA MG-2200)した。これらのTMS化剤は吹き付けエバポレーターによって静かに除去し, 1 mlのヘキサンに溶かして遠心を行った。上清を注意深く新しい試験管に移し, 再度吹き付けエバポレーターにより乾燥させた。5 μl のヘキサンに溶かし, そのうちの1 μl をガスクロマトグラフィー(GC-2010 Plus series, SHIMADZU, Kyoto, Japan)を用いて解析した。カラムはDB-1を用いた。糖の量の測定は, 中性糖量の測定はアンスロン硫酸法で, 酸性糖量の測定は, カルバザール硫酸法を用いた。

2. 2 塩ストレス条件下におけるトマト果実のマンナン合成酵素遺伝子とビタミンC合成酵素遺伝子の発現解析

各成熟ステージの果実から組織ごとに100 mg ずつを凍結し, 乳鉢と乳棒を用いて破碎した。RNeasy® Plant Mini Kit(QIAGEN)を用いて各組織から total RNA を抽出し, QuantiTect Reverse Transcription Kit(QIAGEN)を用いて cDNA を合成した(Gene Amp® PCR System 9700)。発現解析はGo-Taq qPCR Master Mixを利用した。Gotaq® 5 μl , DNase Free Water 4 μl , 10 μM Forward primer 0.2 μl , 10 μM Reverse primer 0.2 μl , CXR Reference Dye 0.1 μl , template 0.5 μl を混合し, 95°C 2 min \rightarrow (95°C 5 sec, 63°C 10 sec, 72°C 31 sec) \times 50 cycles \rightarrow dissociation stage の条件でPCRを行った(Applied Biosystems 7300 Fast Real-Time PCR System)。内部標準遺伝子として *Elongation factor 1a* を用いた。

2. 3 マンノースを添加した塩ストレス条件下におけるビタミン C 量の変化

マンノース添加する塩ストレス処理は, 第一花房開花後, 培養液に NaCl とマンノースを加えて NaCl:15.0 dS m^{-1} (約 160 mM NaCl に相当), マンノース:1mM に調整する

ことで行った。ストレス処理開始時は, 植物体の状態を観察しながら EC を 2 日おきに NaCl:1.5 dS m^{-1} マンノース:0.25 mM から NaCl:3.0 dS m^{-1} マンノース:0.5 mM NaCl:5.0 dS m^{-1} マンノース:0.75 mM, NaCl:8.0 dS m^{-1} マンノース:1 mM, 12.0 dS m^{-1} マンノース:1 mM, 15.0 dS m^{-1} マンノース:1 mMと徐々に上げていき, 8 日程度かけて順化させた。

発芽率の測定:各成熟ステージの果実から種子をサンプリングし, ろ紙上で 2 日間乾燥させた。種子をチューブに移し, 滅菌水 700 μl , 次亜塩素酸ナトリウム(化学用 Wako)200 μl , Tween-20 一滴を添加し, 6 分間転倒混和した後, 滅菌水 700 μl に懸濁し, 洗った。オートクレーブをしたろ紙を湿らせ, その上に種子を播種し, 7 日間にわたって発芽率の測定を行った。

3. 研究結果

3. 1 塩ストレス条件下におけるトマト果実のマンノース量とビタミン C 量の測定

ガスクロマトグラフィーを用いた生化学的手法により細胞壁の構成する糖類を分析することにより, 果皮と種子のマンノースの量を測定した。その結果, 果皮において, コントロール条件では, マンノースの量が果実が成熟する過程で増加していなかったのに対して, 塩ストレス条件下の果実は, 赤熟するにしたがってマンノース含量が増加していた。(Fig. 2)。一方, 種子においては反対に, コントロール条件と比較して, 塩ストレス条件下の果実は, 成熟のどのステージでも量が少なく, 最終的に赤熟した果実である R ステージでも, 約半分のマンノース量しか含んでいなかった。また, ビタミン C の量についても果皮と種子の両方について測定を行った。ビタミン C については, 種子でも果皮でも同様に, コントロール条件と比較して, 塩ストレス条件ではビタミン C の含量は高くなり, 両条件ともに約 20%程度の上昇が観察された。以上より, 塩ストレス条件栽培で, 果皮ではマンノース量もビタミン C 量も増加し, 種子ではマンノース量は減少し, ビタミン C 量は増加することが明らかとなった。

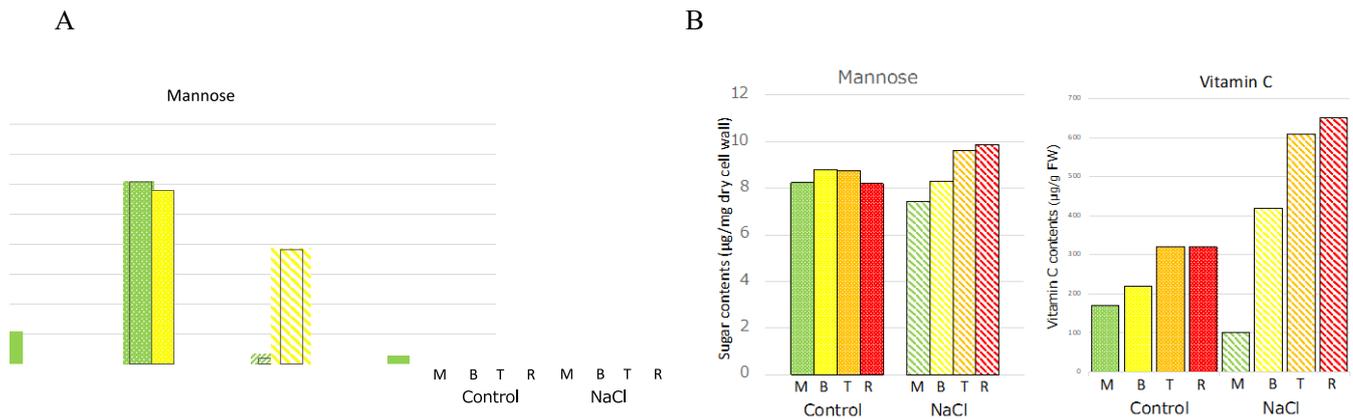


Fig. 2. Measurements of amounts of mannose and Vitamin C of red ripe tomato fruit grown under control and saline conditions (160 mM).

A: Seed, B: Pericarp. Ripening stages were as follows: M, mature green; B, breaker; T, turning; R, red ripe.

3. 2 塩ストレス条件下におけるトマト果実のマンナン合成酵素遺伝子とビタミンC合成酵素遺伝子の発現解析

マンノース量が減少し、ビタミン C 量が増加することが明らかとなった種子において、植物におけるビタミン C の生合成に関して、これまでにさまざまな代謝経路が提唱されてきた。中でも、最初に報告がなされた高等植物におけるビタミン C 合成経路は D-マンノース/L-ガラクトース経路である⁸⁾。この経路で働く GDP-マンノース 3',5'-エピメラーゼは GDP-D-マンノースを GDP-L-ガラクトースに変換する酵素であり、高等植物間で最も高度に保存されているビタミン C 生合成関連遺伝子であるため多くの研究がなされてきた。

本研究では、M から R のステージにおいて、*GME* の発現を qRT-PCR によって解析した。*GME* は発現のピークはコントロールと塩ストレス条件の両方ともで B ステージにおいて一番高い値を示した一方で、塩ストレス下での発現量が 45%程度高く上昇していた (Fig. 3)。

塩ストレス下の果実の種子において、マンノース量が減少していた結果を受けて、マンナン合成酵素の遺伝子である *CSLA* について発現解析を行った。その結果、コントロールでは *CSLA* の発現が M から B ステージにかけて大きく増加した後、徐々に減少に転ずるといった傾向がみられた (Fig. 3)。一方、塩ストレス条件では、発現のピークが B ではなく T へと遅れており、その発現量も 55%減少する結果となった。

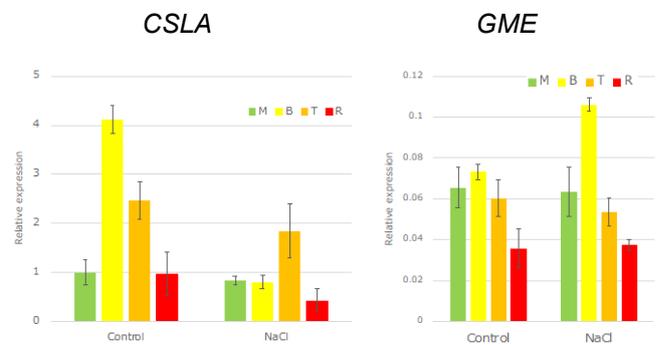


Fig. 3. Mannan and Vitamin C biosynthesis-related gene expression patterns during fruit ripening.

Gene expression was analyzed by qRT-PCR in tomato seeds. *Cellulose Synthase-Like A (CSLA)* involved in mannan biosynthesis, *GDP-Mannose Epimerase (GME)* involved in Vitamin C biosynthesis. Expression levels were compared to *rRNA* in the same assay. Ripening stages were as follows: M, mature green; B, breaker; T, turning; R, red ripe. Values are means \pm SD (n = 25).

3. 3 マンノースを添加した塩ストレス条件下におけるビタミン C 量の変化

塩ストレス果実の種子機能に関して調査をすべく、発芽率の測定を行った。測定の結果、R ステージでは大きな違いは見られなかったが、B ステージでは、Control 果実の種子に比べ、塩ストレス果実の種子は、ほとんど発芽しにくくなる傾向が見られ、種子の発達が遅れている様子が確認された (Fig. 4)。しかし、外部からマンノースを添加した場合、Control の種子では、蒸留水を与えた状態で 6 日目に 100%の発芽率に達していたが、さらにマンノースを添加すると発芽が、濃度が高いほど早まっていた (Fig. 4)。

塩ストレスの種子では蒸留水を与えた場合、全く発芽が見られなかったが、マンノースを加えることで、発芽する種子が観察されるようになった。マンノースがトマトの種子発芽にとって、有効に働く傾向があるとともに、塩ストレス条件の種子では、マンノースが欠乏状態になっていることが示された。

塩水栽培では、ビタミン C とマンナン材料であるマンノース不足になっていることが、Fig.4 の実験から示唆されたため、さらにマンノース添加を塩水栽培と併せて行う栽培

系の構築をおこなった。1 mM の濃度でマンノースを添加した塩水栽培を行ったところ、果皮において、含有量が低い時期の緑色の未熟な M ステージにおいて、熟した赤色の R ステージの果実と同じレベルのビタミン C を有していた (Fig.5)。一方で、ビタミン C の最大量は、マンノースを添加しない塩ストレス条件の果実と比較して変化がなかった。また、種子とゼリー状組織であるローキュラーにおいては、マンノースを添加してもビタミン C の含量に変化はなかった (Fig.5)。

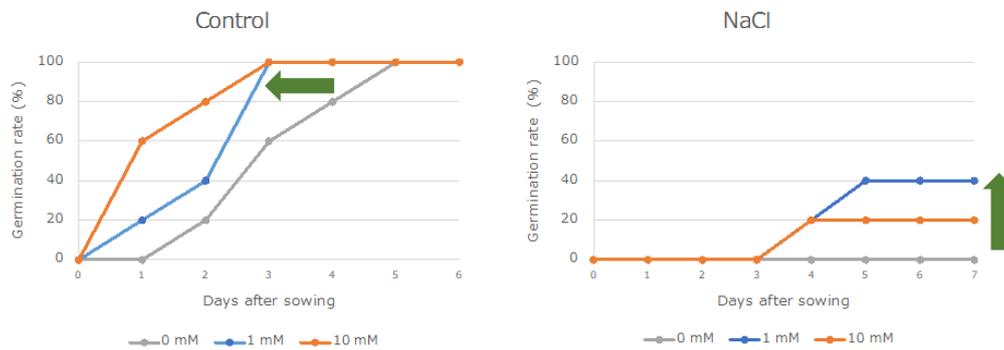


Fig. 4. Seed germination rate from B stage tomato fruit grown under control and mannose (1 mM or 10 mM) with saline conditions (160 mM).

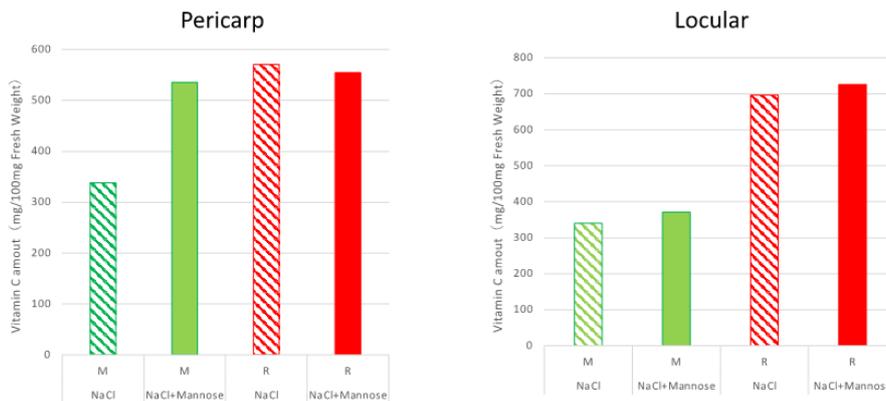


Fig. 5. Vitamin C content per 1 g fresh weight of tomato fruit grown under control, and mannose (1 mM) with saline conditions (160 mM).

Vitamin C were extracted from tomato fruit pericarp and locular tissue. Ripening stage: mature green, red ripe.

4. 考察

本研究では、1) 塩ストレス条件下におけるトマト果実のマンノース量とビタミン C 量の測定、塩ストレス条件下におけるトマト果実の組織別硬度測定、2) 塩ストレス条件下におけるトマト果実のマンナン合成酵素遺伝子とビタミン C 合成酵素遺伝子の発現解析、3) マンノースを添加した塩ストレス条件下におけるビタミン C 量の変化を行なった。

熊本県などの一部地域では、塩ストレスをかけて栽培した、糖度の高いフルーツトマトを「塩トマト」として売り出している。糖類の他にも、 γ アミノ酪酸やグルタミン酸といったアミノ酸や、アスコルビン酸の蓄積が起きるため、塩トマトは人類にとって商品価値の高い果実として有用である⁹⁾。植物体にとってビタミン C は、生育過程や環境ストレスを受けた際に発生する活性酸素種を除去する抗酸化物質として重要である。

ビタミン C の合成は、GDP-D-マンノースおよび L-ガラクトースを代謝中間体とする経路にかかわる酵素遺伝子の単離と解析が進められてきた。中でも、GDP-マンノースエピメラーゼ (*GME*) を過剰発現させたトマトではビタミン C 蓄積と、酸化ストレス、低温ストレスや塩ストレスへの耐性が促進されることが分かっている。この経路で基質として用いられる GDP-D-マンノースが、細胞壁ヘミセルロースであるガラクトマンナンやペクチンの合成にも使われる。そのため、ビタミン C 合成と細胞壁多糖合成は基質を共有していると言える。そのため、塩ストレスによってビタミン C 合成が促進されていたということは、細胞壁多糖の合成にも何らかの制御がかかっていると考えられる。トマトの種子において細胞壁多糖、とりわけマンナンは重要な物質である。栄養成長期のシロイヌナズナでは、花茎の維管束の *interfascicular* 繊維に局在し、物理的強度に貢献している¹⁰⁾。一方、ガラクトマンナンは、イナゴマメ、グアーのようなマメ科種子、そしてトマトの胚乳の細胞壁に多く存在していることが知られている。トマト種子の細胞壁マンナンは、この胚乳の細胞壁由来のものであると問題ない。マンナンは (i) セルロースと結合する結晶性または架橋性の構造物として、(ii) 種子内胚乳細胞壁、または栄養組織細胞壁における貯蔵備蓄として、という2つの役割を有していると考えられている。

種子におけるマンナン合成酵素遺伝子とビタミン C 合成遺伝子との発現解析の結果、塩ストレスによってマンナ

ン合成酵素である *CSLA* の発現が低下していることが分かった (**Fig. 3**)。このことから、塩ストレスを与えたトマト果実では GDP-マンノースという材料がビタミン C 合成側へと多く分配されているため、マンナン合成遺伝子の発現が通常よりも減少したということが考えられる。遺伝子発現解析の結果、マンナン合成酵素の発現が塩ストレス下では低下していることが分かっているが、種子中のマンナン量自体も塩ストレス下で減少していた (**Fig. 2A**)。つまり、塩ストレスによってマンナン合成成分の GDP-マンノースがビタミン C 合成に回されたためにマンナン量が減り、種子の発芽が不良になったと考えられる。ビタミン C はマンナン合成経路と共通部分を持っており、互いに基質であるマンノースを取り合うトレードオフが行われていることが考えられる。つまり、塩水栽培では、ビタミン C とマンナンの材料であるマンノース不足におちいっていると考えられる。そこで、マンノースを外部から添加することを行ったところ、全く発芽しなかった塩ストレスの B の種子がわずかに発芽するようになった。これらことは、このトレードオフが成立している可能性を支持すると同時に、種子の発芽機能とマンナン量に何らかの関係があることを示唆している (**Fig. 4**)。

一方、主要な可食部である果皮においては、マンナンとビタミン C 量は、塩ストレス条件下において、両方とも増加していたと考えられた (**Fig. 2**)。トマト果実全体では、ビタミン C とマンナンの材料であるマンノース不足におちいっている一方で、果皮では塩ストレス条件下で、両方の合成を盛んにしていることが考えられた。そこで、1 mM のマンノースを添加した塩水栽培を行ったところ、ビタミン C の最大量は増えなかったものの、含有量が低い時期の緑色の未熟なステージにおいて、完熟に近い赤色の果実とほぼ同量のビタミン C 含量となった (**Fig. 5**)。トマトは熟さない状態で出荷されることが多い。そのため、未熟果実でも熟した果実と同じレベルのビタミン C を含むことが可能となる塩水とマンナンを組み合わせた本研究の新しいトマトの栽培方法は、農業技術に転用できる有効な手段ではないかと考えられる。

5. 今後の課題

最後に、本研究では、添加するマンノースの適切な濃度を探索する試行錯誤の時間が多くかかったことから、当初計画していた解析や海水を用いた実験系などを期間内

に終わることが出来なかった。有効な栽培系であることを
確実なものとするために、早期に実験を進行するである。

謝辞

本研究の遂行に当たりご支援を頂いた公益財団法人ソ
ルトサイエンス研究財団に心より感謝申し上げます。

6. 文献

1. Takizawa A, Hyodo H, Wada K, Ishii T, Satoh S, Iwai H (2014) Regulatory Specialization of Xyloglucan and Glucuronarabinoxylan in Pericarp Cell Walls during Fruit Ripening in Tomato (*Solanum lycopersicum*) PLoS One 9: e89871
2. Adams P (1991) Effects of increasing the salinity of the nutrient solution with major nutrients or sodium chloride on the yield, quality and composition of tomatoes grown in rockwool. J Hort Sci 66: 201-207
3. Balibrea M, Santa Cruz A, Bolarín M, Pérez-Alfocea F (1996) Sucrolytic activities in relation to sink strength and carbohydrate composition in tomato fruit growing under salinity. Plant Science 118: 47-55
4. Zushi K, Matsuzoe N, Yoshida S, Chikushi J (2005) Comparison of chemical composition contents of tomato fruit grown under water and salinity stresses. J Sci High Technol Agric 17: 128-136
5. Saito T, Matsukura C, Ban Y, Shoji K, Sugiyama M, Fukuda N, Nishimura S (2008a) Salinity stress affects assimilate metabolism at the gene-expression level during fruit development and improves fruit quality in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). J Japan Soc Hort Sci 77: 61-68
6. Saito T, Matsukura C, Sugiyama M, Watahiki A, Ohshima I, Iijima Y, Konishi C, Fujii T, Inai S, Fukuda N, Nishimura S, Ezura H (2008b) Screening for γ -aminobutyric acid (GABA)-rich tomato varieties. J Japan Soc Hort Sci 77: 242-250
7. Yin YG, Tominaga T, Iijima Y, Aoki K, Shibata D, Ashihara H, Nishimura S, Ezura H, Matsukura C (2010) Metabolic alterations in organic acids and γ -amino butyric Acid in developing tomato (*Solanumlycopersicum* L.) fruits. Plant Cell Physiol 51: 1300-1314
8. Wheeler G. L, Jones M. A, Smirnoff N. (1998). The biosynthetic pathway of vitamin C in higher plants. Nature, 393(6683), 365.
9. Johkan M, Nagatsuka A, Yoshitomi A, Nakagawa T, Maruo T, Tsukagoshi S, Hohjo M, Lu N, Nakaminami A, Tsuchiya K, Shinohara Y. (2014). Effect of moderate salinity stress on the sugar concentration and fruit yield in single-truss, high-density tomato production system. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 83(3), 229-234.
10. Carpita N. C, Defernez M, Findlay K, Wells B, Shoue D. A, Catchpole G, Wilson R. H, McCann M. C. (2001). Cell wall architecture of the elongating maize coleoptile. Plant physiology, 127(2), 551-565.

Development of High Mannan and High Vitamin C Tomato Cultivation Methods under Salinity Conditions Using Seawater.

Hiroaki Iwai

Faculty of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba

Summary

Fruit composition is considered one of the differentially important traits that determine eating quality and consumer preference in major horticultural crops. Salt stress causes osmotic stress and ion toxicity, which often interfere with plant growth and metabolism. However, it is known that tomatoes grown in saltwater under salt stress conditions can produce fruits with high commercial value due to the accumulation of sugars such as glucose and fructose, amino acids such as proline, and γ -aminobutyric acid, and vitamin C, ascorbic acid. However, there have been few research reports on how vitamin C and other highly functional ingredients accumulate. It is known that polysaccharides and sugars are synthesized and degraded during the fruit ripening process of tomato fruit, accompanied by changes in fruit firmness and size (Takizawa et al., 2014). In this study, we found that vitamin C accumulates in the pericarp during saltwater cultivation, with a concomitant decrease in the amount of mannan in the tomato fruit pericarp and seeds. Vitamin C has some common aspects with the mannan synthesis pathway, and a trade-off relationship may occur between the two over the substrate mannose. In other words, saltwater cultivation is mannose deficient. In this experiment, it was confirmed that the pericarp of green unripe fruit contained almost the same amount of vitamin C as ripe red fruit. Since tomatoes are shipped in an unripe state, a cultivation system combining saltwater and mannan that can produce tomatoes containing the same amount of vitamin C in unripe fruit as in ripe fruit would be effective methods of transferring this technology to agricultural technology.