

塩ストレスによるトマトの高糖度化における「濃縮効果」にかかわる分子機構の解明

溝井 順哉

東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命化学専攻

概要

高糖度トマトの生産法の一つとして、塩による浸透圧ストレスを与える方法がある。塩ストレス下では、果実が小型化するため、光合成産物が濃縮されて、糖度が上がるとされる(「濃縮効果」説)。この果実の小型化は、浸透圧による膨圧の低下が原因だと言われてきたが、近年、乾燥などの水分ストレスを受けた植物では膨圧の低下が起きる前に、遺伝子レベルでの積極的な生育抑制が起きることが明らかになってきた。そこで本研究では、塩ストレス下によるトマト果実の小型化過程でも、遺伝子レベルでの積極的な生育抑制が起きている可能性を検証し、塩ストレスによる「濃縮効果」の分子機構に迫ることを目的とした。

水耕栽培の系を用い、通常の養液と食塩を加えた養液でトマトを栽培し、果実の成長や重量、糖度を分析した。また、組織切片を作り、細胞サイズを比較した。さらに、果実サイズが増大する時期を挟んで、定量的 RT-PCR およびトランスクリプトーム解析を行い、遺伝子発現の変化を解析した。

その結果、塩ストレスの有無による果実サイズの違いは、発達初期の受粉後 10 日目近辺を境に顕著になった。組織切片の観察から、塩ストレス下での果実サイズの減少は、細胞サイズの減少を伴っていることが確かめられた。受粉後 5 日と 15 日の遺伝子発現について、定量的 RT-PCR およびトランスクリプトーム解析を行った結果、塩ストレス下では、細胞伸長に関する遺伝子の発現が低下することが認められた。また、オーキシシンやジベレリンなどのいくつかの植物ホルモンについて、合成や応答に関わる遺伝子の発現が塩ストレスによって変化していた。一方、以前から指摘されていたようにデンプン合成の遺伝子発現が上昇したが、同時に光合成関連の遺伝子の発現も全体的に上昇していることが明らかになった。

塩ストレスによって、細胞伸長を促進する遺伝子の発現が低下していたことから、果実の小型化が遺伝子レベルで制御されていることが示唆された。また、複数の植物ホルモンの合成や応答に関する遺伝子の発現変化は、塩ストレスが果実の生理に広範な影響を及ぼしていることを示唆している。一方、塩ストレスによる果実発達初期の光合成系遺伝子の発現上昇は、果実内での光合成の活性化が糖蓄積に寄与する可能性を示唆しており、塩ストレスによる果実の高糖度化における、濃縮効果以外のメカニズムの候補として考えられる。

1. 研究目的

果実の糖度は、重要な農業形質である。消費者にとっても購入の判断基準の一つとなっており、例えば高糖度のトマトはスーパーマーケットやインターネット通販において、人気を集めている。トマトにおいては、主要な高糖度化手法の一つとして、塩による浸透圧ストレスや灌水制限で水分吸収を制限する方法がある。このようなストレスを受ける

と、一般的に果実が小型化する。そのため、光合成産物が濃縮されて、糖度が上がるとされる(「濃縮効果」説)。このように塩などの浸透圧ストレスによって果実が小型化する機構は、水分不足による膨圧の低下が原因だと言われてきた。一方、栄養成長期のストレス応答の研究から、乾燥などの水分ストレスを受けた植物では膨圧の低下が起きる前に、細胞周期・細胞伸長関連の遺伝子の発現抑制

が起き、積極的に生育が抑制されることが明らかになってきた¹⁾。このことから、塩ストレスによるトマトの果実の小型化においても、ストレスによる積極的な生育抑制が行われている可能性があり、メカニズムを再考する必要があると考えた。そこで、本研究では、塩ストレス下で栽培したトマト果実の小型化を引き起こす根本的な要因が、ストレスに応答した細胞分裂や細胞伸長の抑制ではないかという仮説を立て、その検証を行うことで、塩ストレスによる「濃縮効果」の分子機構に迫ることを目的とした。

2. 研究方法

2.1 トマトの栽培方法

トマト (*Solanum lycopersicum*) の品種として、タキイ種苗のフルティカを用い、東京都文京区の東京大学弥生キャンパス内の自然光人工気象室(昼間 25°C(16 時間), 夜間 18°C(8 時間))で栽培した。発芽後 3 週~4 週間ポットで育成した苗を、水耕栽培システム(ホームハイポニカ 303, 協和)に定植し、養液を用いた水耕栽培を用いた。養液は OAT ハウス肥料 1 号(950 g/t), 2 号(475 g/t), 5 号(30 g/t)とし、塩ストレス栽培区では 34 mM, あるいは 94 mM の NaCl を加え、それぞれ電気伝導度(EC)を 6 あるいは 12 に設定した。

2.2 果実の生育解析および糖酸度測定

開花日に花にマーキングし、定期的に果実の直径を測定した。完熟した果実を計量後、搾汁液を採取し、糖酸度計(PAL-BX|ACID3, アタゴ)を用いて糖度を測定した。

2.3 果実の組織解析

果実の赤道面の果皮を 3 mm 四方で切り出し、FAA で固定し、テクノビット 7100 樹脂(Kluzer)に包埋した。切片を作製後、0.1% (w/v) トルイジンブルーで染色し、実体顕微鏡(Leica M205c)で観察した。画像データをもとに画像解析ソフト(ImageJ)を用いて細胞の断面積を算出した。

2.4 核 DNA 量の解析

トマト果実の核 DNA 量の解析は、緑熟期(MG 期)の果皮を用い、神奈川大学の岩元明敏博士の指導のもと行った。

2.5 果実における遺伝子発現解析

トマトの果実を液体窒素で凍結後、乳鉢、乳棒を用いて粉砕した。粉末状のサンプル約 100 mg に RNAiso Plus (タカラバイオ)を 1 mL 加え、プロトコールに従って RNA を抽出した。なお、不純物を減らすため、クロロホルムによる抽出ステップを 2 回とし、また 2-プロパノール沈殿の high salt solution (0.8 M sodium citrate, 1.2 M NaCl) を等量追加して行った。Total RNA は、high-capacity cDNA reverse transcription kit (Applied Biosystems) を用いて逆転写した後、合成された cDNA を鋳型にして定量的 RT-PCR を行った。試薬は Power SYBR GREEN MASTER MIX (Applied Biosystems), 装置は Quant Studio 3 (Applied Biosystems) を用いた。

2.6 RNAseq 解析

RNAseq 解析は、龍谷大学の永野惇博士、(一社)クロックミクスに依頼して行った。GO 解析には、AgriGO (<http://systemsbiology.cau.edu.cn/agriGOv2/>)を用いた。

3. 研究結果

3.1 塩ストレスが果実の形質に与える影響

まず、トマトを異なる塩ストレス条件下で栽培し、塩ストレスによる果実の形質への影響を評価した。通常の水耕栽培養液に対して、電気伝導度(EC)が 6, あるいは 12 になるよう、それぞれ 34 mM あるいは 94 mM の NaCl を追加して栽培を行った。その結果、EC 上昇に伴う糖度の上昇が確認された(Fig. 1A)。また、果実の重量は EC の上昇とともに低下し、糖度とは反対の動きを示した(Fig. 1B)。個々の果実の重量と糖度の関係について散布図を用いて解析した結果、同じ重量では EC が高くなるほど糖度が高くなる傾向がみられた(Fig. 1C)。また、対照区や EC6 区では果実の重量と糖度の間に相関関係は見られなかったが、EC12 区では、果実の重量と糖度の間に負の相関が認められた(Fig. 1C)。

以上のことから実際に塩濃度に依存して糖度が上昇することが確認された。また塩は、同じ重量の果実でも糖度を上昇させる効果がある一方で、EC12 条件では、果実重量の低下にともない糖度が増加する、「濃縮効果」が顕在化すると考えられた。そこで、EC12 条件を用いて、更に解析を進めた。

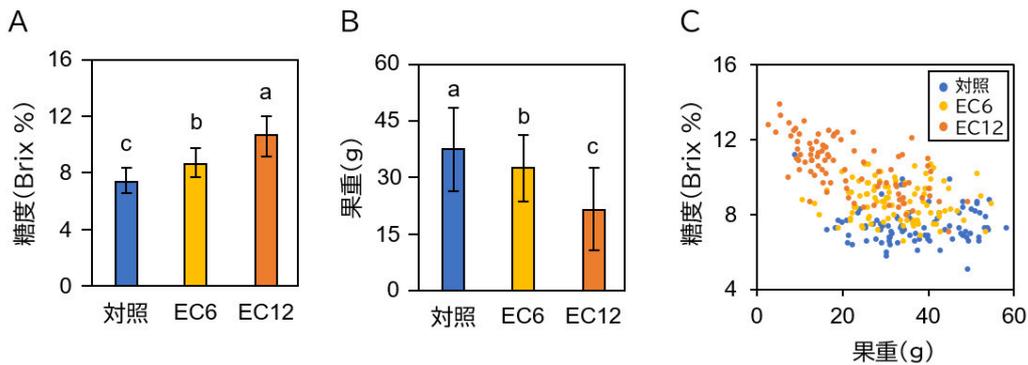


Fig. 1 ストレスがトマトの糖度と果実サイズに与える影響
 (A) 塩ストレス強度と糖度の関係。
 (B) 塩ストレス強度と果実重量の関係。
 (C) 異なる塩ストレス条件下での、個々の果実の重量と糖度の関係。

3. 2 塩ストレスによる果実サイズ低下に対する細胞数と細胞サイズの寄与

EC12 区では果実サイズの低下が認められたため、果実の発達ステージに沿った成長解析を行った。EC12 区では対照区と比較して、果実の発達および成熟に大きな違いはなかった(**Fig. 2A**)。経時的な成長解析の結果、EC12 区における果実サイズの低下は、対照区において果実の成長が加速する受粉後 10 日以降に顕著になることが示された(**Fig. 2B**)。また、トマトでは子室の数が果実のサイズに影響することから、子室の数を比較したが、これについても大きな違いはなかった(**Fig. 2C**)。

一般に植物の器官サイズは、細胞数(細胞分裂)と細胞の大きさ(細胞伸長)で決定される。そこで、果実の成長が止まった Mature Green (MG) ステージの果実について、果皮の組織切片を作製して、トマト果実の組織学的評価で一般的に用いられるパラメーターである、果皮の細胞層数と細胞サイズを比較した。細胞層数については、EC12 区と対照区の間で顕著な違いはなかった(**Fig. 2D**)。一方で、細胞の断面積に関しては EC12 区において全体的に低下していることが明らかになった(**Fig. 2E**)。

以上の結果から、塩ストレスは、少なくともトマトの細胞伸長を抑制している可能性が示された。

植物細胞では、細胞伸長に伴って、細胞当たりのゲノム DNA を増加させる、核内倍加が起こることがある。核内倍加は、細胞分裂を伴わない DNA 合成によって起こる現象で、細胞当たりの遺伝子発現量を増加させることにより、細胞の生化学的活性を増加させる意味があると考えられている。トマトの果実においては特にこの核内倍加が顕著

であり、核内倍加の抑制により、細胞サイズが低下することが知られている²⁾。そこで、MG 期の果実を用いて、核の DNA 量を測定した。その結果、EC12 区において、倍数性が低い C4 の細胞数が低下した一方、倍数性が高い C32 や C64 の細胞数が増加していた(**Fig. 3**)。このことから、一般的な傾向に反し、細胞サイズが小さい EC12 区においては、むしろ核内倍加が進行することが示唆された。

3. 3 塩ストレスが糖代謝細胞分裂、細胞伸長および関連遺伝子に与える影響

塩ストレスによる高糖度化および果実サイズの低下に関する遺伝子レベルの背景を明らかにするため、果実サイズの低下が顕著となる受粉後 10 日を挟んだ 5, 10, 15 日目に既知の遺伝子について発現解析を行った。

トマトの果実の発達初期におけるデンプン合成は、果実への光合成産物輸送を促進するシンク機能を高めるとされており³⁾、実際に品種・系統間での糖度の違いを与える遺伝子としてデンプン合成の律速段階を制御する酵素、ADP-Glucose pyrophosphatase (AGPase) の L サブユニットをコードする遺伝子 (*AgpL1*) が報告されている⁴⁾。また、塩ストレスに応答した高糖度化において、*AgpL1* の発現上昇、デンプン合成の亢進が報告されている⁵⁾。シンク機能を高める酵素としては、Sucrose synthase (*Susy*) も知られている。そこで、*AgpL1*、AGPase の S サブユニットをコードする *AgpS*、*Susy* をコードする遺伝子の 1 つ、*SUS1* についても発現解析を行った。*AgpL1*、*AgpS* については受粉後 5 日目から 15 日目にかけて EC12 区で高く、*SUS1* に関しては 5 日目と 15 日目で、EC12 区で若干高い傾向が認められた(**Fig. 4A**)。

以上の結果は、先行研究で示されているように、塩ストレスがデンプン合成等を通して果実発達段階の初期におけるシンク機能を高めていることを示唆している。

次に、果実サイズの制御に関する遺伝子の発現解析を行った。まず、細胞分裂と核内倍加に関わる *CDK1*、核内倍加の促進因子である *CCS52A*、核内倍加の抑制因子である *KRP1* について解析を行った。これらの遺伝子は、いずれの実験区でも 5 日目から 15 日にかけて発現が低

下する傾向が見られたが、実験区間での有意な発現の変化が見られなかった (**Fig. 4B**)。

以上の結果は、細胞分裂や核内倍加の活性が果実の発達の初期段階において高いことを示している一方、塩ストレスがこれらの遺伝子の発現には大きく影響しないことを示している。一方で、調べた遺伝子には相同遺伝子が存在しているため、これらが寄与している可能性も否定できない。

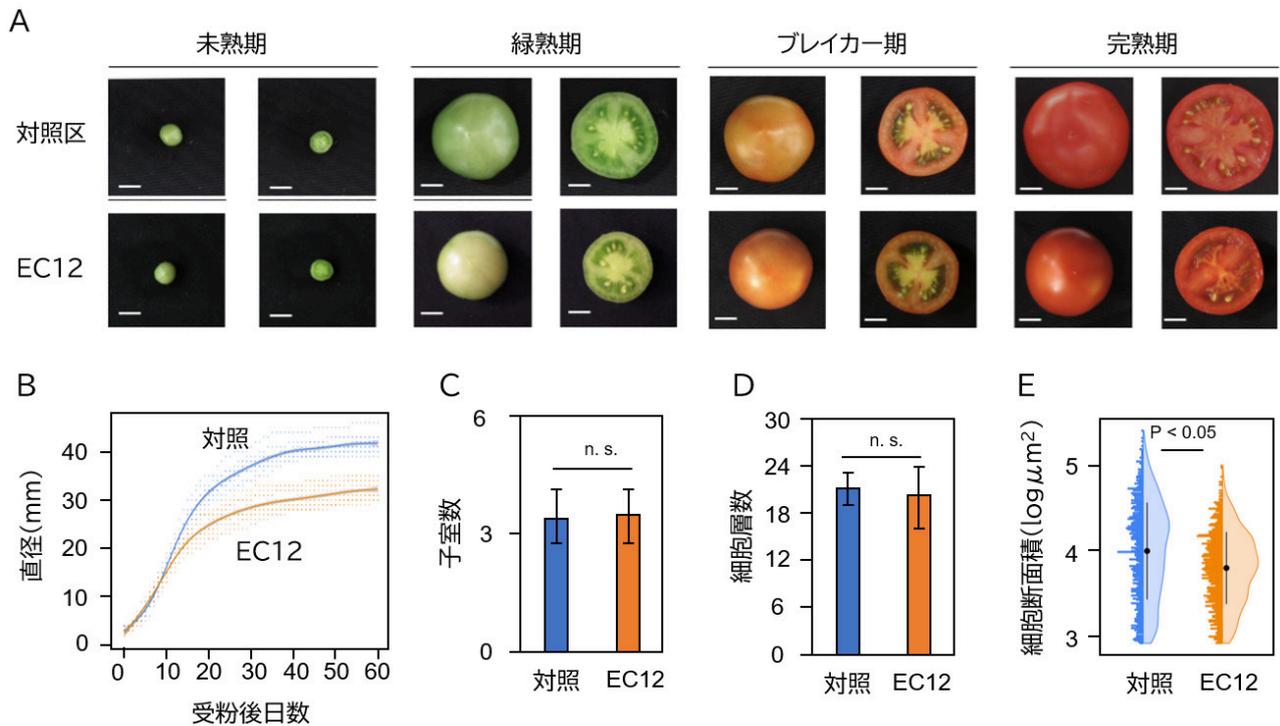


Fig. 2 塩ストレスによるトマト果実の小型化に関する組織学的解析

- (A) トマト果実の発達の比較。
- (B) トマト果実の肥大の経時的変化。
- (C) 果実の子室数。
- (D) 緑熟期 (MG 期) の果皮における細胞層数。
- (E) 緑熟期 (MG 期) の果皮における細胞の断面積の分布。

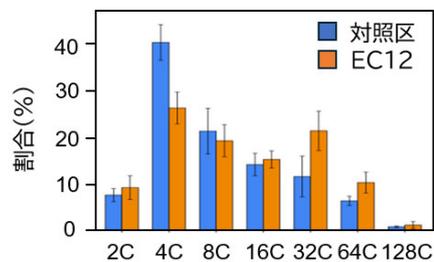


Fig. 3 塩ストレスが果皮における細胞の倍数性に与える影響

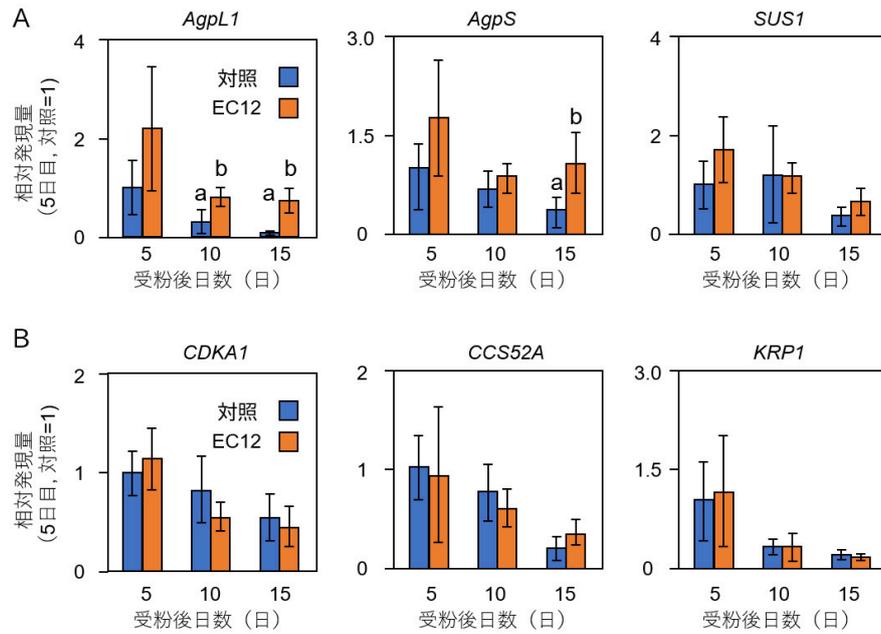


Fig. 4 塩ストレスが果実の遺伝子発現に与える影響。

(A) デンプン合成関連遺伝子の発現解析。

(B) 細胞分裂および核内倍加関連遺伝子の発現解析。

データは $n > 6$ の生物学的繰り返しの平均であり、エラーバーは標準偏差を示している。

3. 4 塩ストレスを与えたトマトの成長初期における網羅的発現解析

個別の遺伝子発現の結果、塩ストレスによってトマト果実におけるシンク機能が向上することが改めて示唆されたが、塩ストレスが細胞分裂および細胞伸長、生理応答に関するその他の経路に与える影響など応答の全体像は不明であった。そこで受粉後 5 日目および 15 日目の RNA を用いて、RNAseq によるトランスクリプトーム解析を行った。その結果、対照区と EC12 区の遺伝子発現の違いは 5 日目から 15 日目にかけてより顕著になり (Fig. 5A), 受粉後 5 日目には 44 および 14 遺伝子の発現が EC12 区において上昇、低下していた一方、受粉後 15 日目には、194 及び 596 遺伝子の発現がそれぞれ上昇、低下していた。

GO 解析の結果、EC12 区において受粉後 15 日目において顕著に発現が増加していた遺伝子群において、光合成や、デンプン合成、また植物ホルモンなどのシグナル伝達系の遺伝子の割合が期待値よりも有意に増加していることが明らかになった (Fig. 5B)。光合成系の遺伝子には、明反応の光化学系 II, 光化学系 I, 炭素固定反応の酵素群に加え、クロロフィル合成や葉緑体脂質、葉緑体の発生に関わる遺伝子も含まれ、果実における光合成が全体に向上していることが示唆された (Fig. 5C)。デンプン合成に関して

は、先行研究⁵⁾で指摘されていた律速酵素の ADP-glucose phosphorylase (AGPase) の遺伝子だけでなく、Starch synthase, Branching enzyme などの発現も上昇していた (Fig. 5D)。一方で、アミラーゼ等のデンプン分解に関する遺伝子の発現も向上しており、デンプンの代謝が全体的に向上していることが示唆された (Fig. 5D)。また、植物ホルモンに関係する遺伝子は、受粉後 5 日目にはオーキシンの合成や応答、受粉後 15 日目にはジベレリンの合成や応答に関わる遺伝子の発現が全体的に上昇していた (Fig. 5E)。一方、エチレンに関しては受粉後 15 日目に合成や応答に関わる遺伝子群の発現が低下する傾向が見られていた (Fig. 5E)。これらの遺伝子の発現変化は、塩ストレスが果実の発生に広範な影響を与えていることを示している。

一方、細胞分裂や細胞伸長に関する遺伝子発現の変化は、GO 解析では検出されなかった。個別の遺伝子ファミリーの発現解析の結果、細胞周期の進行に関わる CDK やサイクリン、細胞伸長を促進するエクспанシンや XTH は EC12 区において、5 日目で高い傾向があったが、15 日目では低くなる傾向が見られた (Fig. 5F)。したがって塩ストレス下での細胞の応答としては、受粉直後は細胞分裂や伸長が促進される一方、果実の肥大がピークになる受粉後 15 日目にはこれらが抑制されている傾向があることが示唆された。

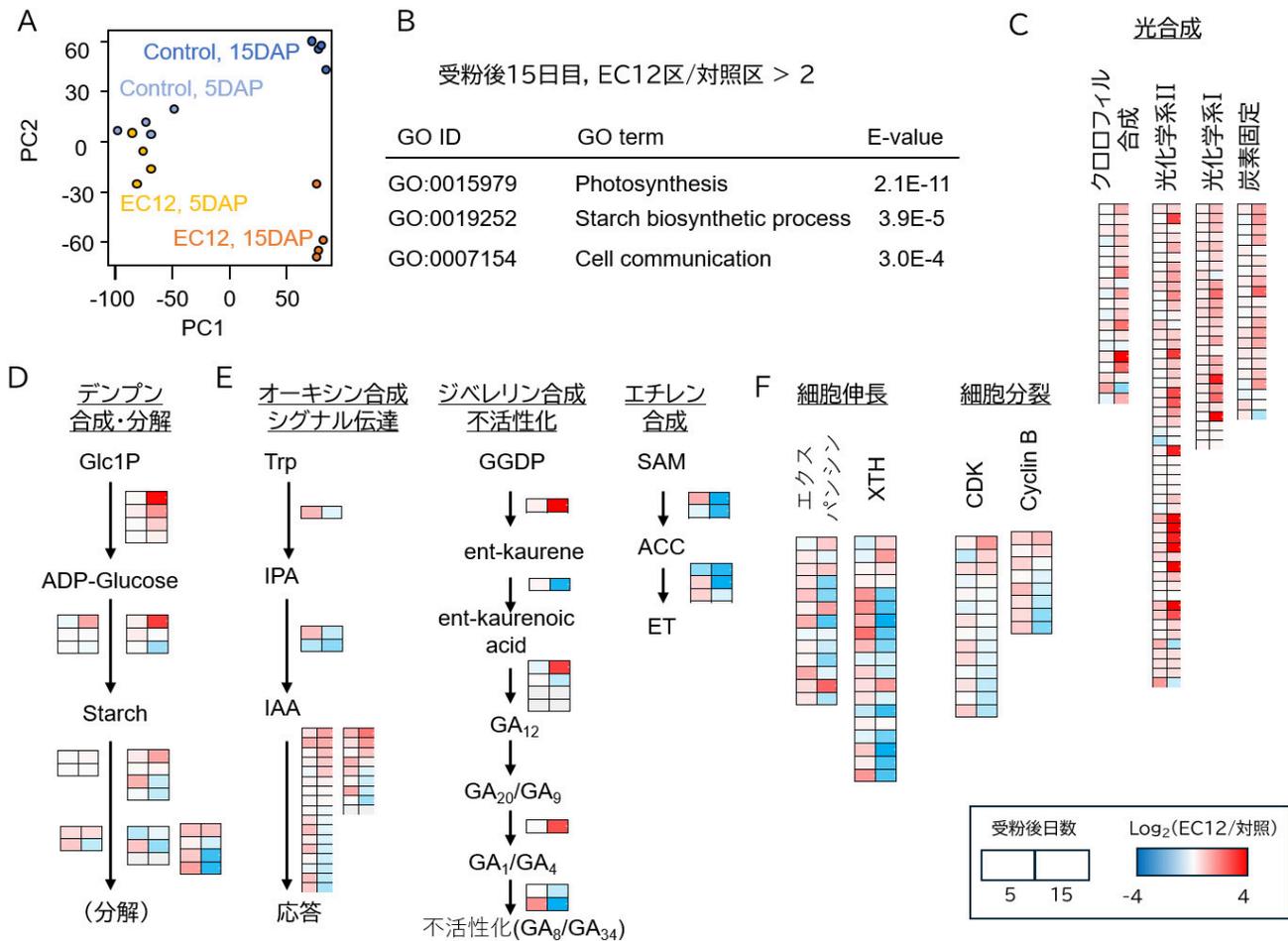


Fig. 5 塩ストレス下で生育させたトマトの未熟果実を用いたトランスクリプトーム解析

- (A) 使用サンプルの主成分分析。
 (B) GO 解析の主要な結果。
 (C) 光合成に関する遺伝子の変動。
 (D) デンプン合成および代謝に関する遺伝子の変動。
 (E) 植物ホルモン合成や分解に関係する遺伝子の変動。
 (F) 細胞分裂や細胞伸長に関する遺伝子の変動。

4. 考察

「濃縮効果」仮説においては、果実サイズの低下が糖度上昇に寄与するとされる。これまで、塩ストレス下では、膨圧の低下によって細胞の肥大が受動的に抑制されることで果実のサイズが減少すると考えられていたのに対し、本研究では、実の大きさを積極的に制御する分子機構が存在する可能性について検討した。

トマトの果実サイズはいくつかの要因で決定される。解析の結果、塩ストレスは、子室の数や細胞層の数には影響を及ぼさなかったが、細胞サイズに顕著に影響することが示され、塩ストレスによる果実サイズの縮小には少なくとも細胞サイズの縮小が寄与することが確認された (Fig. 2)。

トマトの果実では、核内倍加が細胞の肥大に必要なことが知られている。しかしながら、予想に反して、塩ストレス栽培は果皮における核の倍数性を増加させる傾向があることが示唆され、塩ストレスを与えたトマトにおける細胞の肥大抑制は、核内倍加の抑制によるものではないことが示された (Fig. 3)。核内倍加の増進には細胞内活動の促進など別の機能があるものと推測される。一方、トランスクリプトーム解析からは、塩ストレス下で、細胞壁の伸長に関わるエクサンシンや XTH の遺伝子の発現が 5 日目では全体に高まるが、15 日目には低下する傾向が見られた (Fig. 5F)。15 日目は、通常条件である対照区では果実肥大のピークにある。したがって、従来考えられていた浸透圧による膨

圧低下だけではなく、これらの細胞伸長に関わる遺伝子の発現が低下することで、細胞肥大の抑制、ひいては果実サイズの縮小が起こる可能性がある。ただし、一部のエクспанシンや XTH に関しては、15 日目においても対照区より強く発現するものもあった (Fig. 5F)。塩ストレス下ではこれらのホモログが細胞肥大を支えている可能性があるため、今後、器官特異性を含めた詳細な解析が必要である。また、トランスクリプトーム解析では、細胞分裂に関する遺伝子にも若干の発現変動が見られ、塩ストレス下では対照区と比較して、5 日目で高く、15 日目以降では低くなる傾向があった (Fig. 5F)。トマトの細胞分裂は主に発達初期に起こるとされていることから⁶⁾、果実発達時の果実サイズの抑制には、細胞分裂の寄与はあまり大きくない可能性が考えられる。

トランスクリプトーム解析で明らかになった大きな変化として、塩ストレス条件のトマト果実では、光合成系の遺伝子の発現が向上する傾向が顕著であった (Fig. 5C)。発現上昇した遺伝子には光化学系 I および II、炭素固定反応、さらにはクロロフィル合成や脂質合成遺伝子も含まれており、塩ストレス下の未熟果実では葉緑体が全体に発達することを示唆している。果実における光合成は、呼吸に伴って発生した二酸化炭素の再固定に働くと考えられている他、呼吸で低下した酸素濃度を高めて組織の低酸素状態を緩和している可能性も指摘されている⁷⁾。これまで、トマトにおける糖の蓄積は主に葉からの転流によるものとされてきた。本研究の結果は、塩ストレス下では果実での光合成量の増加が直接的に糖度の上昇につながる可能性を示唆している。

トマト果実への糖の蓄積には、果実におけるデンプン合成が必要であると考えられており³⁾、また塩ストレスは果実におけるデンプン合成を促進することが知られている⁵⁾。デンプン合成は、可溶性の糖を不溶化することで、篩管中や組織内に濃度勾配を作り、果実のシンク機能を増進していると考えられる。本研究では塩ストレス栽培によって、デンプン合成の律速酵素である AGPase だけでなく、経路全体の遺伝子発現が上昇することが示された (Fig. 4A, 5D)。前述のように塩ストレス下のトマト果実では、転流に加えて、果実内での光合成も促進されていることが推測される。このことにより、細胞内の糖を貯蔵する需要が高まり、デンプン合成経路が活性化した可能性が考えられる。一

方で、興味深いことに、デンプンの分解に関する酵素群の遺伝子発現も上昇していた (Fig. 5D)。葉では昼にデンプン合成が、夜には分解が行われている。塩ストレス下でのトマト未熟果実内でも、光合成が盛んになった結果、デンプンの合成だけでなく分解も含む糖代謝全体が亢進した可能性が推測される。

トランスクリプトーム解析の結果、植物ホルモンの生合成や植物ホルモンへの応答に関する遺伝子の発現も変動することが明らかになった (Fig. 5E)。このことは、塩ストレスが、単一の生物学的プロセスに作用するのではなく、果実の細胞に広範な影響を与えていることを示唆している。オーキシシンやジベレリンは、細胞伸長を促進する作用があり、果実の発達やシンク機能を促進する機能があるとされている。塩ストレス下でのこれらのホルモンの合成や応答に関わる遺伝子はそれぞれ 5 日目、15 日目に対照区より向上している結果が得られている。一方、15 日目には細胞壁の伸長に関わるエクспанシンや XTH の遺伝子の発現は逆に低下していた (Fig. 5F)。塩ストレス下のトマト果実において、これらのホルモンは細胞肥大ではなくシンク機能の向上に寄与している可能性がある。一方で、葉などで一般的に塩ストレスへの応答に関与するアブシシン酸の経路は大きくは動いていなかった。この結果は先行研究とも一致しており、塩ストレスによる果実の成長制御には、アブシシン酸は大きく寄与していないと考えられる。今回、実際のホルモン濃度は確かめられていない。また、植物ホルモンの作用には局在性も重要であることから、今後レポーターラインを作製するなどして、ホルモンの作用を詳細に分析する必要がある。

5. 今後の課題

本研究において、塩ストレス下における果実サイズの減少には細胞の肥大抑制が寄与していること、また、果実のサイズが増大する時期に、細胞肥大を促進するエクспанシンや XTH の発現が低下している可能性が示され、当初想定していたように、ストレスに応じた細胞肥大の制御が遺伝子レベルで行われている可能性が示唆された。

その一方で、核内倍化や、オーキシシン、ジベレリンシグナルなど、果実発達の促進につながる作用が塩ストレス下でむしろ促進されている可能性が新たに示唆された。また、塩ストレス下では、糖度の上昇に重要だとされているデンプン合成に関する遺伝子発現が上昇することが確

かめられたが、それに加えて、新たに果実での光合成が活発になっていることを示唆する結果が得られた。塩ストレス下では、同じ果実重量の果実でも糖度が高く、糖度上昇には濃縮効果以外の代謝による寄与もあると考えられる。果実における光合成の向上は、その一つの候補である可能性がある。

一方で、今回の研究では主に遺伝子発現に着目しており、実際のホルモン濃度や、遺伝子発現の組織特異性に関しては調べられていない。また、光合成に関しては、クロロフィルやデンプンの量、また実際の光合成量の変化について具体的なデータを得てはいない。今後は生化学的なデータを取得するとともに、レポーターラインを用いたホルモン応答や代謝関連遺伝子の局在性解析、さらに鍵遺伝子の過剰発現や遺伝子破壊による影響を解析し、今回得られた新しい知見に基づく仮説を検証する必要がある。

6. 文献

1. Todaka et al. (2017), Temporal and spatial changes in gene expression, metabolite accumulation and phytohormone content in rice seedlings grown under drought stress conditions. *Plant J*, 90: 61-78.
2. Chevalier et al. (2014) Endoreduplication and fruit growth in tomato: evidence in favour of the karyoplasmic ratio theory, *J Exp Bot*, 65: 2731–2746.
3. Colombié et al. (2015) Modelling central metabolic fluxes by constraint-based optimization reveals metabolic reprogramming of developing *Solanum lycopersicum* (tomato) fruit. *Plant J*, 81: 24-39.
4. Schaffer et al (2000) ADPglucose pyrophosphorylase activity and starch accumulation in immature tomato fruit: the effect of a *Lycopersicon hirsutum*-derived introgression encoding for the large subunit. *Plant Sci* 152: 135-144.
5. Yin et al. (2010) Salinity induces carbohydrate accumulation and sugar-regulated starch biosynthetic genes in tomato (*Solanum lycopersicum* L. cv. 'Micro-Tom') fruits in an ABA- and osmotic stress-independent manner. *J Exp Bot*. 61: 563-74.
6. Azzi et al. (2015) Fruit growth-related genes in tomato. *J Exp Bot* 66: 1075-1086.
7. 園池(2012) 果実の光合成, 光合成研究 22: 70-76.

Elucidation of the Molecular Mechanisms in the "Concentration Effect" of the Salt-induced Sweetening in Tomato Fruits

Junya Mizoi

The University of Tokyo

Summary

One method for producing high-sugar tomatoes involves inducing osmotic stress with salt. Under salt stress, the fruit becomes smaller, causing photosynthetic products to concentrate and increase the sugar content (the concentration theory). While this reduction in fruit size has been attributed to a decrease in turgor pressure due to osmotic pressure, recent studies have shown that in plants under water stress, such as drought, active growth inhibition at the genetic level occurs before turgor pressure drops. Therefore, this study aims to investigate whether active growth inhibition at the genetic level also occurs during the process of fruit size reduction under salt stress in tomatoes, and to elucidate the molecular mechanism behind the concentration effect induced by salt stress.

Using a hydroponic system, tomatoes were cultivated in a standard nutrient solution and in a nutrient solution with added salt. The growth, weight, and sugar content of the fruit were analyzed. Additionally, tissue sections were prepared to compare cell sizes. Furthermore, quantitative RT-PCR and transcriptome analysis were conducted around the period when the fruit size increased, to analyze changes in gene expression.

The results showed that the difference in fruit size due to the presence or absence of salt stress became significant around 10 days after pollination. Observation of tissue sections confirmed that the reduction in fruit size under salt stress was accompanied by a decrease in cell size. Quantitative RT-PCR and transcriptome analysis of gene expression at 5 and 15 days after pollination revealed that the expression of genes related to cell elongation decreased under salt stress. Additionally, the expression of genes involved in the synthesis and response of several plant hormones, such as auxins and gibberellins, was altered by salt stress. While the previously noted increase in the expression of starch synthesis genes was observed, it was also revealed that the expression of photosynthesis-related genes generally increased.

The decrease in the expression of genes promoting cell elongation due to salt stress suggests that fruit size reduction is controlled at the genetic level. Furthermore, changes in the expression of genes related to the synthesis and response of multiple plant hormones indicate that salt stress has a broad impact on fruit physiology. On the other hand, the increase in the expression of photosynthesis-related genes in the early stages of fruit development under salt stress suggests the possibility that the activation of photosynthesis within the fruit contributes to sugar accumulation, presenting a potential mechanism other than the concentration effect for the increase in fruit sugar content under salt stress.