

様 式 C - 1 9、F - 1 9 - 1、Z - 1 9 （共通）

科学研究費助成事業

研究成果報告書



令和 3 年 6 月 4 日現在

機関番号：34316

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K14456

研究課題名（和文）単為結果性トマトにおける高糖度化機構の解明

研究課題名（英文）Elucidation of the mechanism of high total soluble solid content in parthenocarpic tomatoes

研究代表者

滝澤 理仁（Takisawa, Rihito）

龍谷大学・農学部・講師

研究者番号：60627363

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000 円

研究成果の概要（和文）：本研究では、単為結果性トマトの糖度上昇機構に関する知見を得るため、単為結果性遺伝子pat-k/Slagl6の準同質遺伝子系統を用いて果実の一次代謝産物の調査と果実の糖代謝関連遺伝子の発現解析を行った。その結果、pat-k/Slagl6による単為結果果実では、果実発達初期においてデンプン生合成遺伝子の高発現によりデンプンが蓄積し、そのデンプンが分解することにより糖含量が上昇する可能性示された。また、メタボローム解析の結果、糖だけでなくアミノ酸もpat-k/Slagl6による単為結果果実で高蓄積しており、これらの増加がpat-k/Slagl6による糖度上昇に寄与すると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、単為結果性遺伝子pat-k/Slagl6による糖度上昇に果実発達初期におけるデンプンの蓄積が関与している可能性が示された。この現象は高糖度果実を形成する野生種や塩ストレス条件下で栽培したトマト果実で報告されており、pat-k/Slagl6の単為結果果実でも同様のメカニズムが糖度上昇に関与していると考えられた。単為結果性遺伝子の導入による果実の糖度上昇は、植物体に対する特別な処理なしに誘導されるため、経済性、作業性および安定性に優れており、本研究により得られた知見は、効率的な高糖度化技術の開発や良食味品種の育成につながる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：In this study, we investigated primary metabolites and analyzed the expression of genes related to sugar metabolism in fruits using near isogenic line of pat-k/Slagl6 to clarify the mechanism of total soluble solids (TSS) increase in parthenocarpic tomatoes. The results suggested that starch accumulates due to the high expression of starch biosynthesis genes in the early stage of parthenocarpic fruit development of plants homozygous for the mutated allele of Pat-k/Slagl6, and the sugar content may increase due to the degradation of the starch. Metabolomic analysis showed that not only sugar but also amino acid was highly accumulated in parthenocarpic fruits of plants homozygous for the mutated allele of Pat-k/Slagl6, and these increases may contribute to the TSS increase induced by pat-k/Slagl6.

研究分野：園芸学

キーワード：単為結果 糖度 トマト

1 . 研究開始当初の背景

トマトを含む果菜や果樹では、果実中の糖含量が重要な品質決定要因となっており、日本では、植物体に対して水ストレスをかけることにより高糖度トマトの生産が行われている。しかし、この方法は特別な栽培技術や設備が必要となる上に収量が減少するため、より効率的に果実の糖度を上昇させる方法が求められている。

受精なしに果実の着果・肥大を誘導する単為結果性トマトは、施設内のトマト栽培で必要とされる着果処理の省力化や高温・低温のような不良環境条件下での生産性の高い栽培を可能とする。申請者はこれまで、単為結果性トマト‘MPK-1’の研究を行い、‘MPK-1’の単為結果性遺伝子 *Pat-k* が E クラスの MADS-box 遺伝子 *SlAGL6* であることを明らかにした (Takisawa et al., 2018)。また、その一方で、*SlAGL6* に変異を導入した形質転換体では、単為結果性が誘導されるだけでなく、果実の糖度が上昇することが報告されている (Klap et al., 2017)。

トマト果実の糖度は、ソース (葉) での光合成、ソースからシンク (果実) への糖の転流、シンクでの糖の蓄積に依存している。これまでの研究により、野生種の高糖度化遺伝子や塩ストレス処理による果実の糖度上昇には、果実発達初期におけるデンプンの蓄積が重要であり、その蓄積にはスクロースシンターゼやインベルターゼ、AGPase などが関与することが示されている (Yin et al., 2010; Ikeda et al., 2016)。その一方で、単為結果性トマトでは、いくつかの変異体で、単為結果性の誘導と共に、果実の糖度が上昇することが報告されているが、そのメカニズムについては全く明らかにされていない。単為結果性遺伝子の導入による果実の糖度上昇は、植物体に対する特別な処理なしに誘導されるため、経済性、作業性および安定性に優れており、そのメカニズムの解明は、効率的な高糖度化技術の開発や良食味品種の育成につながる可能性がある。

2 . 研究の目的

本研究では、*pat-k/Slagl6* によるトマト果実の糖度上昇機構を解明するため、*pat-k/Slagl6* を有する単為結果性系統‘MPK-1’に‘Micro-Tom’を戻し交配した準同質遺伝子系統を用いて、植物体の生育や光合成速度、果実の糖代謝について調査を行った。

3 . 研究の方法

(1) *pat-k/Slagl6* が植物体の生育と光合成関連形質に及ぼす影響

‘Micro-Tom’に *pat-k/Slagl6* を導入した系統から、*Pat-k/SlAGL6* 座が野生型ホモ (WT) と変異型ホモ (*pat-k*) の植物体を選抜し、育成室 (明期 16hr/暗期 8hr, 28℃) で 10 個体ずつ栽培した。播種 60 日後に光合成測定装置 (Li-Cor 社製, LI-6400) により光合成速度および気孔コンダクタンスを、葉緑素計により SPAD 値を測定し、植物体を分解した後、葉、茎および果実の新鮮重と乾物重を量った。

(2) *pat-k/Slagl6* による糖度上昇と糖代謝の関係の解析

WT の受粉果実 (WT poll) と *pat-k* の単為結果果実 (*pat-k* unpoll) を、開花 15 日、25 日後、催色期および成熟時にサンプリングした。サンプリングした果実の一部を凍結乾燥し、粉碎した凍結乾燥サンプルを糖含量、デンプン含量の測定およびメタボローム解析に供試した。

4 . 研究成果

(1) *pat-k/Slagl6* が植物体の生育と光合成関連形質に及ぼす影響

pat-k/Slagl6 による糖度上昇に対するソース側の影響を明らかにするため、WT と *pat-k* の植物体の生育量と光合成関連形質を比較した。その結果、WT と *pat-k* の葉と茎の新鮮重および乾物重 (第 1 表)、SPAD 値、光合成速度および気孔コンダクタンスの間に有意な差がないことが明らかとなった。これらの結果から、*pat-k/Slagl6* による糖度上昇は、ソース能以外の要因が関与していると考えられた。

第 1 表. 野生型 (WT) および *pat-k* の葉と茎の新鮮重および乾物重

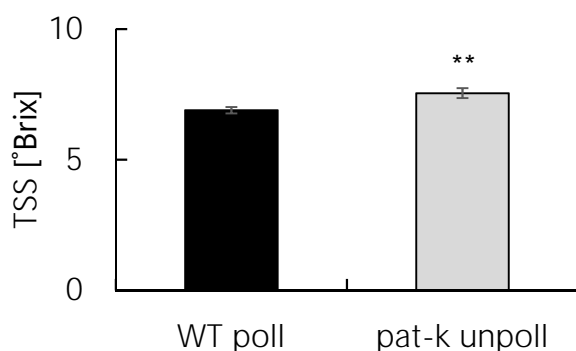
遺伝子型	葉新鮮重 (g/plant)	茎新鮮重 (g/plant)	葉乾物重 (g/plant)	茎乾物重 (g/plant)
WT	21.3 ± 0.7 ^z	13.7 ± 0.7	2.9 ± 0.1	2.1 ± 0.2
<i>pat-k</i>	26.2 ± 0.9	16.7 ± 1.1	3.4 ± 0.1	2.5 ± 0.2

^z 値は平均値±標準誤差

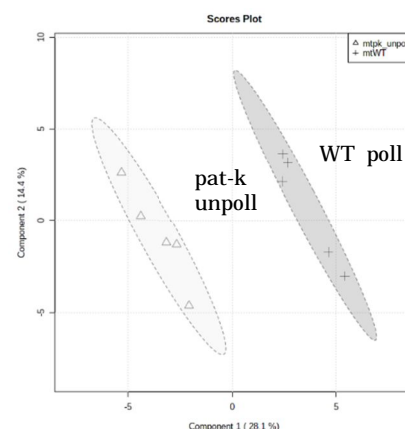
(2) *pat-k/Slagl6* による糖度上昇と糖代謝の関係の解析

WT poll と *pat-k unpoll* で糖度を調査した結果, 本研究でも, Klap ら (2017) の報告と同様に, *pat-k unpoll* の成熟期の糖度が WT poll に比べて有意に高くなることが確認された (第 1 図). 一方で, 果実水分含量については, いずれの生育ステージにおいても有意差は見られなかった. これらの結果から, *pat-k/Slagl6* による単為結果果実での糖度上昇は濃縮効果によるものではないと考えられた. 次に, *pat-k/Slagl6* による単為結果果実における糖度上昇と糖代謝の関係を明らかにするため, WT poll と *pat-k unpoll* の果実内糖含量およびデンプン含量を経時的に測定した. これらの解析により, 開花 25 日後に果実内のデンプン含量が野生型の受粉果実に比べて高くなることが判明した. また, デンプン生合成遺伝子の発現解析を行ったところ, WT poll に比べ *pat-k unpoll* でデンプン合成酵素の発現量が, 開花 15 日後に有意に高くなった. これらの結果から, *pat-k/Slagl6* の単為結果果実において誘導される糖度上昇には, 果実発達初期におけるデンプン生合成遺伝子の高発現とそれに伴うデンプンの蓄積, およびデンプン分解による糖含量の上昇が関与していることが示唆された. これと同様の現象は, 高糖度果実を形成する野生種や塩ストレス条件下栽培したトマト果実で報告されており (Ikeda et al., 2016; Kanayama, 2017; Stein and Granot, 2019; Yin et al., 2010), *pat-k/Slagl6* の単為結果果実において誘導される糖度上昇には, 高糖度野生種や塩ストレス条件下と同様のメカニズムが関与していると考えられた.

GC-MS を用いて WT poll と *pat-k unpoll* の成熟果実のメタボローム解析を実施した結果, 両試験区で 84 種類の代謝産物が同定された. そのうち, アミノ酸関連代謝産物が 29 種類, 有機酸関連代謝産物が 26 種類, 糖関連代謝産物が 11 種類, その他が 18 種類であった. 同定された全代謝産物で部分最小二乗判別分析 (Partial Least Squares - Discriminant Analysis; PLS-DA) を実施したところ, WT poll と *pat-k unpoll* の 2 つのグループに大きく分かれた (第 2 図). 同定された代謝産物含量を両試験区間で比較すると, 主な有機酸に関しては 試験区間で有意差があるものは認められなかった. 一方で, 糖に関しては, HPLC による糖含量の測定結果と同様に, フルクトースおよびグルコース含量が *pat-k unpoll* で有意に高かった. また, アスパラギン酸ファミリーに属するアスパラギン, メチオニン, リシン, および α -ケトグルタル酸ファミリーに属するグルタミンは, *pat-k unpoll* で有意に高い値を示した. 以上の結果より, *pat-k unpoll* における高い糖度には, 還元糖だけでなくアミノ酸の高蓄積も寄与していると考えられた.



第 1 図. 各試験区における成熟果実の糖度



第 2 図. WT poll および *pat-k unpoll* における成熟果実で検出された全一次代謝産物での PLA-DA 解析

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Takisawa Rihito, Maai Eri, Nakano Ryohei, Nakazaki Tetsuya	4. 巻 89
2. 論文標題 Effect of Parthenocarpic Genes <i>pat-2</i> and <i>pat-k</i> on Vegetative and Fruit Traits in Tomato (<i>Solanum lycopersicum</i> 'Micro-Tom')	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Horticulture Journal	6. 最初と最後の頁 261 ~ 267
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2503/hortj.UTD-127	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 滝澤理仁・間合絵里・中崎鉄也
2. 発表標題 単為結果性遺伝子 <i>pat-2</i> および <i>pat-k</i> が栄養生長器官および果実特性に及ぼす影響
3. 学会等名 園芸学会平成31年度秋季大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------