

省力樹形として期待されるリンゴのカラムナー性のメカニズム

農研機構果樹茶業研究部門
果樹品種育成研究領域
岡田 和馬

はじめに

日本の果樹生産量は戦後徐々に増加し、1979年に685万トンとピークに達した。しかし、その後は生産者の減少や高齢化、後継者不足などにより、生産量は緩やかに減少を続けており、2019年には270万トンとピーク時に比べて約6割も減少している。また、2020年には、果樹の栽培農家のうち経営者が60歳以上の割合が約8割を占め、高齢化が深刻になっている。このような状況の中、2020年に公表された新たな果樹農業振興基本方針では、「供給過剰基調に対応した生産抑制的な施策から、低下した供給力を回復し、生産基盤を強化するための施策に転換する」という方向性が打ち出されている（農林水産省 2022a）。

果樹栽培は、受粉・摘果などの細かな作業、収穫などのデリケートな作業、整枝・せん定などの熟練技術を要する作業が多いため機械化が難しく、労働時間の削減や規模拡大が進んでいない。樹形は、摘果・収穫などの果実生産、整枝・せん定などの樹体管理、栽植密度などに影響を与える重要な要素の1つであり、新たな果樹農業振興基本方針においても生産基盤を強化するため「省力樹形の導入」が推進されている。

省力樹形の例として、ミカンの根域制限栽培、リンゴの超高密植栽培、ナシのジョイント栽培などが挙げられている。いずれも①小さい樹を直線上に植えるため作業動線が単純で効率的、

②密植することで単収が増加、③均一に日が当たり品質が揃いやすい、④成木までの期間が早く未収益期間が短いなどの利点を持ち、省力化・機械化による労働生産性の向上が見込まれている（農林水産省 2022b）。

本稿では、省力樹形の1つとして期待されているリンゴのカラムナー性の特徴とメカニズムについて紹介する。

1. リンゴのカラムナー性

「ふじ」や「つがる」、「王林」など普通のリンゴ品種は、主幹から出た多数の側枝が横に伸び、円錐状の樹形を形成する（普通樹形、図-1A）。普通樹形では、枝や果実が3次元の複雑な配置となるため、①整枝・せん定に熟練を要する、②収穫などの機械化が困難という欠点があった。一方、1960年代初めに「マッキントッシュ」の突然変異体として発見された「ウィジック」は、側枝がほとんど伸びずに短果枝になり、枝が太く節間が短いため、細長い円柱状の樹形になる（図-1B）。これらの特徴はカラムナー（columnar）性と呼ばれ、①側枝が少なく枝の配置が単純であることから整枝・せん定が簡単、②樹列が揃って平面的に結実するため収穫作業の省力化・機械化が可能、③超密植栽培により単収が増加するなどの利点があり、労働生産性の向上が見込まれる省力樹形として期待されている。

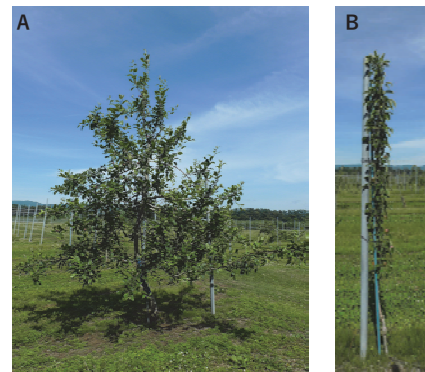


図-1 リンゴの樹形
(A) 普通のリンゴ、(B) カラムナー性のリンゴ

2. 「ウィジック」の突然変異の原因

「ウィジック」のカラムナー性は、遺伝解析により1つの顕性遺伝子（*Co* 遺伝子）によって制御されていることが明らかにされていた。我々は「ウィジック」の突然変異の原因を特定するため、カラムナー性のリンゴ（*Co/co*）と普通樹形のリンゴ（*co/co*）を交雑して得られた1,657個体の後代を用いて遺伝解析を行い、*Co* 遺伝子の位置を第10染色体の約100 kbの領域に絞り込んだ（Moriya *et al.* 2012; Okada *et al.* 2016）。次に、この100 kbの領域に対応するDNA断片を、カラムナー性のリンゴ品種「テラモン」（*Co/co*）と原品種の「マッキントッシュ」（*co/co*）から単離し、*Co* と *co* 遺伝子座乗領域の塩基配列を決定・比較した。その結果、*Co* 遺伝子座乗領域には、約8.2 kbのレトロポゾン（転移因子）が挿入されているこ

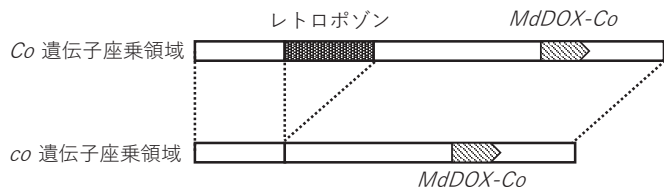


図-2 *Co* と *co* 遺伝子座乗領域のゲノム構造の模式図

とが明らかになった (図-2)。その他に違いは見られなかったことから、この挿入変異がカラムナー性を引き起こした原因であると考えられた (Okada *et al.* 2016)。

3. *Co* 候補遺伝子の探索

「ウィジック」で見つかった挿入変異は、タンパク質のコーディング領域ではなく、遺伝子間領域に位置すると推察されたため、挿入変異の近くにある遺伝子の発現を調査した。RNAシーケンスにより「マッキントッシュ」と「ウィジック」の茎頂で発現量に差がある遺伝子を調べたところ、挿入変異の約 16 kb 下流に位置する遺伝子 (*MdDOX-Co*) (図-2) が「ウィジック」の茎頂だけで発現していたことから、*Co* 遺伝子の有力な候補と考えられた (Okada *et al.* 2016)。RT-PCR により *MdDOX-Co* の発現組織を詳細に調べたところ、普通樹形のリングゴでは主に根で発現し、茎頂や側芽、葉ではほとんど発現していなかったのに対し、カラムナー性のリングゴでは根に加えて茎頂や側芽、葉でも発現していた (Wolters *et al.* 2013; Wada *et al.* 2018)。これらの結果から、カラムナー性のリングゴでは挿入変異の影響により *MdDOX-Co* が地上部 (茎頂、側芽、葉) で異所的に発現するようになり、カラムナー性を引き起こしたと考えられた。

4. *MdDOX-Co* の機能解析

MdDOX-Co は 339 個のアミノ酸から構成される 2-オキソグルタル酸依存性ジオキシゲナーゼ (DOX) をコードしている。DOX は、酸素添加反応を触媒する代謝酵素であり、3つのクラス (DOXA, DOXB, DOXC) に分類される。*MdDOX-Co* の機能を推定するため分子系統解析を行ったが、*MdDOX-Co* はアルカロイドやムギネ酸の生合成に関与する酵素が属する DOXC41 の系統群に分類され (Okada *et al.* 2016)、*MdDOX-Co* が樹形にどのように関与しているかについて手ごかりは得られなかった。

MdDOX-Co が植物へ与える影響を調べるため、*MdDOX-Co* を過剰発現



野生型
過剰発現体

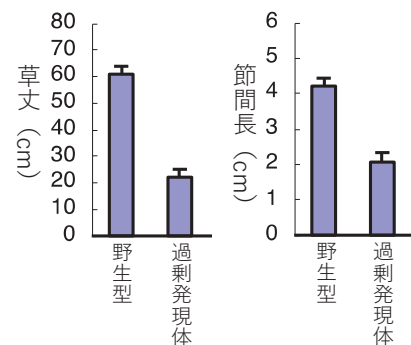


図-3 *MdDOX-Co* 過剰発現タバコの形態

する形質転換タバコを作成した。過剰発現タバコは、草丈が低い、節間が短い、葉が縮れる、葉が濃緑色になるなどわい性植物の特徴を示し (図-3)、ブラシノステロイドやジベレリンの生合成/受容・情報伝達が欠損したわい性変異体に酷似していた。そこで、*MdDOX-Co* を過剰発現するわい性タバコに、ブラシノステロイドあるいはジベレリンを処理したところ、ブラシノステロイド処理では大きな変化は見られなかったが、ジベレリン (GA_3) 処理では草丈と節間が長くなり、野生型 (非形質転換体) に近い形態に戻ることが明らかになった (図-4)。このことから、*MdDOX-Co* は、ジベレリンを減少させる機能を持つことが示唆された (Okada *et al.* 2020)。



水処理
10 μM GA_3
100 μM GA_3

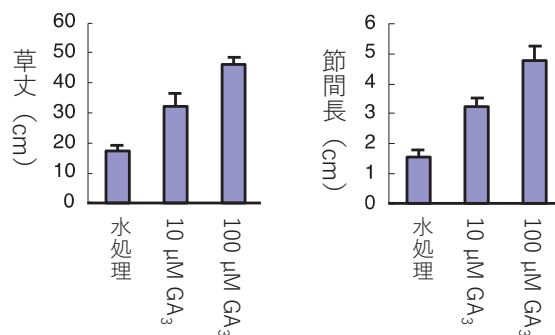


図-4 ジベレリン (GA_3) 処理した *MdDOX-Co* 過剰発現タバコの形態

表-1 ジベレリン (GA₃) 処理した接ぎ木当年のリンゴ苗の形態

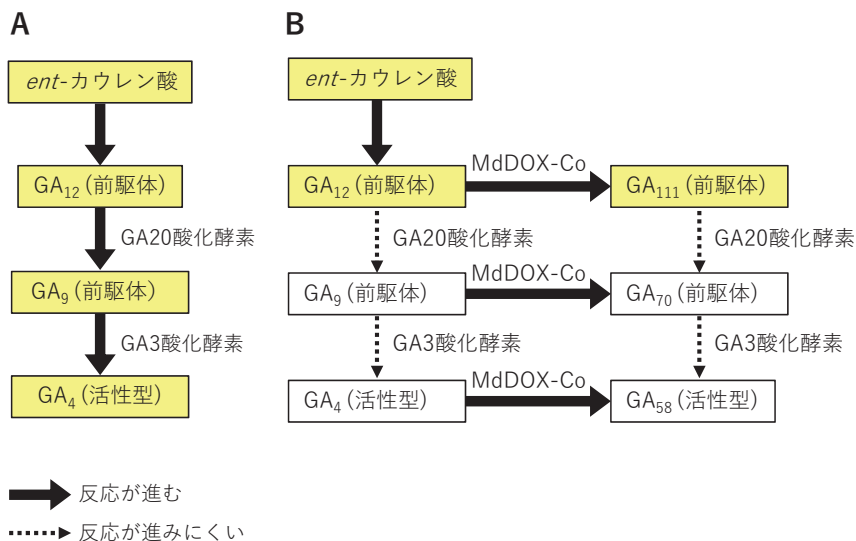
品種名	処理区	主幹延長枝長 (cm)	節間長 (cm)	側枝数 (本)	側枝長 (cm)
ウィジック	無処理	48.4	1.6	2.2	0.8
	0.1 mM GA ₃	50.4	1.6	1.0	1.3
	1 mM GA ₃	97.5	2.4	5.9	3.4
マッキントッシュ	無処理	122.5	2.8	7.4	10.6
	0.1 mM GA ₃	141.2	2.8	11.5	13.9
	1 mM GA ₃	154.8	2.9	13.6	15.8

5. 「ウィジック」へのジベレリン処理

リンゴのカラムナー性にもジベレリンが関係しているかどうか確かめるため、「ウィジック」と「マッキントッシュ」の苗木にジベレリンを処理した(表-1)。「ウィジック」にジベレリン(1 mM GA₃)を処理した時、主幹延長枝と節間が長くなり、無処理の「マッキントッシュ」に近い形態になることが明らかになった。また興味深いことに、ジベレリン(1 mM GA₃)を処理すると、「ウィジック」、「マッキントッシュ」ともに側枝(副梢)が増加することが明らかになった。このことから、ジベレリンはリンゴの枝や節間の伸長に加えて、側枝の形成にも重要な役割を果たしていることが示唆された(Okada *et al.* 2020)。

6. MdDOX-Co がジベレリン合成に与える影響

植物の代表的な活性型ジベレリンである GA₄ は、GA₁₂ から2種類の酵素(GA20酸化酵素とGA3酸化酵素)の働きにより合成される(図-5A)。MdDOX-Co がジベレリン代謝経路のどこで働くかを調べたところ、MdDOX-Co は GA₁₂ → GA₁₁₁、GA₉ → GA₇₀、GA₄ → GA₅₈ の反応を触媒することが明らかになった(図-5B)。また、MdDOX-Co を過剰発現する形質転換シロイヌナズナへ GA₁₂



を投与した場合、GA₁₁₁ は産生されたが、GA₉、GA₄、GA₇₀、GA₅₈ は産生されなかった。さらに、シロイヌナズナの GA20 酸化酵素は、GA₁₁₁ を GA₇₀ に代謝しにくいことが明らかになった。以上のことから、MdDOX-Co が GA₁₂ を GA₁₁₁ へ代謝することにより、前駆体である GA₉ と GA₇₀ の量が減少し、活性型のジベレリン(GA₄、GA₅₈)の合成が阻害されると考えられた(Watanabe *et al.* 2021)。

MdDOX-Co (DOXC41) は、既知のジベレリン合成酵素である GA20 酸化酵素(DOXC7)や GA3 酸化酵素(DOXC3)、ジベレリン不活性化酵素である GA2 酸化酵素(DOXC12, 13)とは異なるクレードに分類されることから、新規のジベレリン代謝酵素であると考えられる。

7. カラムナー性のメカニズム

以上の知見をまとめると、①普通のリンゴでは根で発現していた MdDOX-Co が、カラムナー性のリンゴではレトロポゾンの挿入によって、地上部(茎頂、側芽、葉)でも異所的に発現するようになった→②地上部組織で作られた MdDOX-Co がジベレリンの前駆体である GA₁₂ を GA₁₁₁ へ代謝することにより、活性型ジベレリンの量が減少した→③地上部の活性型ジベレリンが減少することにより、枝や節間が短くなり、側枝数も減少した→④これらの形態が複合的に組み合わせると、円柱状の樹姿を形成すると考えられた。

8. 今後の展望

カラムナー性のリングは省力樹形の特長を持つと期待されているが、まだ経済栽培されるカラムナー性のリング品種は育成されていない。農研機構果樹茶業研究部門では、1980年代後半から食味の良いカラムナー性リングの品種改良を進めており、2015年には「ウィジック」から数えて第5世代目となるカラムナー性の有望系統「盛岡74号」を選抜している。現在、リング主産県で果実品質や栽培特性が調査され、新品種候補として普及性が検討されているところである。

また、カラムナー性のリングは普通のリングと全く樹形が異なることから(図-1)、カラムナー性の特長を活かした新しい栽培方法を開発する必要がある。農研機構果樹茶業研究部門では、「カラムナータイプリングを用いた片面着果栽培」(岩波 2018)や「カラムナータイプ樹の隔年交互結実法」(岩波ら 2021)、カラムナー性のリングの主幹伸長が劣る場合に「ジベレリン処理(液剤あるいは塗布剤)によって伸長を促進する方法」(Okada *et al.* 2020; 馬場ら 2022)を開発している。ただし、ジベレリンはリングにおいて

生育調節剤として登録されていないため、現在、登録に向けて効果・葉害の確認試験が行われている(日本植物調節剤研究協会 2022)。さらに、産学が協力して省力樹形に対応した果実収穫ロボットの研究も進められており、果樹生産の機械化に向けて試作機が開発されている(農研機構 2020)。

このように、近い将来、食味の良いカラムナー性のリング新品種やカラムナー性に適した省力栽培方法、省力樹形に対応した作業用機械が開発・実用化されることにより、労働生産性が向上し、高品質な国産リングが安定的に生産・供給されることを願っている。

引用文献

- 馬場隆士ら 2022. ジベレリンペーストによる当年生リング苗の新梢伸長の促進効果. 園芸学研究 21(2), 149-156.
- 岩波宏 2018. リングカラムナータイプを活用した省力化の可能性. 果実日本 73(2), 44-49.
- 岩波宏ら 2021. 効率的な加工用途向けリング生産のためのカラムナータイプ樹の隔年交互結実法と収穫方法. 農研機構研究報 7, 63-72.
- Moriya, S. *et al.* 2012. Fine mapping of *Co*, a gene controlling columnar growth habit located on apple (*Malus × domestica* Borkh.) linkage group 10. Plant Breed. 131, 641-647.
- 日本植物調節剤研究協会 2022. 2021年度リング・落葉果樹関係除草剤・生育調節剤試

- 験判定結果. 植調 56(2), 13-18.
- 農研機構 2020. 果実収穫ロボットのプロトタイプを開発. https://www.naro.go.jp/publicity_report/press/laboratory/nifts/137793.html (2022年9月5日閲覧)
- 農林水産省 2022a. 果樹をめぐる情勢(令和4年8月). <https://www.maff.go.jp/j/seisan/ryutu/fruits/attach/pdf/index-77.pdf> (2022年8月22日閲覧)
- 農林水産省 2022b. 令和3年度補正予算及び令和4年度予算概算決定の概要. <https://www.maff.go.jp/j/seisan/ryutu/fruits/attach/pdf/index-1.pdf> (2022年8月22日閲覧)
- Okada, K. *et al.* 2016. Expression of a putative dioxygenase gene adjacent to an insertion mutation is involved in the short internodes of columnar apples (*Malus × domestica*). J. Plant Res. 129, 1109-1126.
- Okada, K. *et al.* 2020. Columnar growth phenotype in apple results from gibberellin deficiency by ectopic expression of a dioxygenase gene. Tree Physiol. 40, 1205-1216.
- Wada, M. *et al.* 2018. A root-localized gene in normal apples is ectopically expressed in aerial parts of columnar apples. Plant Growth Regul. 85, 389-398.
- Watanabe, D. *et al.* 2021. The apple gene responsible for columnar tree shape reduces the abundance of biologically active gibberellin. Plant J. 105, 1026-1034.
- Wolters, P.J. *et al.* 2013. Evidence for regulation of columnar habit in apple by a putative 2OG-Fe(II) oxygenase. New Phytol. 200, 993-999.