



# 不定胚に由来する無花粉スギ苗の効率的な生産法

樹木分子遺伝研究領域:丸山 E. 毅・鶴田 燃海・上野 真義  
新潟県森林研究所:番場 由紀子

(株)ベルディ:川上 清久  
新潟大学:森口 喜成

**国** 民の約40%がスギ花粉症であると言われています。スギ林を伐採した後に無花粉スギへ植え替えることが林業分野での究極的なスギ花粉症対策として期待されています。そのため、各地で無花粉スギを野外で探索し、人工交配に由来する苗の生産が進められていますが、無花粉個体の選別には長い時間かかる上、従来法では生産される苗の約半数が花粉を生産する個体であることが、無花粉スギの苗の供給のボトルネックになっていました。そこで我々は、MS1雄性不稔遺伝子を簡易に判定する技術と、組織培養により植物体を効率的に増殖させる手法とを組み合わせることで、無花粉スギを数か月で選び出し、その苗だけを量産する技術を確立しました。

## 成果

### ■ 組織培養による無花粉スギ苗生産の特徴

本研究では、人工交配に由来する未熟種子を用いて組織培養を行うことで、効率的にスギ苗を増殖することができました。この手法では、交配で得られた種子数に制限されることなく、大量に再生植物体を増殖させることができます。かつ、培養を開始してすぐの段階でDNA判定により雄性不稔(無花粉ともいう)の細胞系統のみを選別することで、その後の培養や苗の育成にかかる時間、手間とコストを大幅に削減することができます。これら組織培養由来の植物体は、通常の実生と同様にコンテナ苗等として育成することができます。またこれまでのところ、組織培養に由来する生育の障害も見られず、初期成長において実生由来の苗と同程度あるいはそれ以上の成長を示す系統も見られます。

### ■ 不定胚形成細胞の誘導・増殖と無花粉細胞系統の判定法

7月に採取した球果(図1A)から未熟な種子を取り出し(図1B)、無菌操作で種皮を剥ぎ取り(図1C)、培地上で培養すると2か月程でカルス(不定胚形成細胞の塊)となります(図1D, E)。これらのカルスには花粉を生産する個体と無花粉個体が約1:1の割合で含まれていることから、後者のカルスだけを選び出す必要があります。この判定のため、市販のDNA精製キットを用いたカルスからの簡易なDNA抽出法を開発しました(これは針葉樹では初となります)。この抽出法で、1サンプル(5mgほどのカルス)当たりわずか10分でDNAを抽出できるようになりました。さらに、無花粉の原因となるMS1の変異を検出するマーカーを開発し、100%の精度で無花粉の細胞系統を判定できるようになりました。

### ■ 効率的な不定胚と苗の生産

無花粉と判定された細胞系統(図1F)のみを、マルトース、アブシシン酸、ポリエチレングリコール、活性炭やアミノ酸等を添加した培地に移し、培養を継続して成熟させると不定胚と呼ばれる組織になります(図1G, H)。不定胚は種子のように発芽し(図1I, J)、やがて苗となります(図1K-M)。この方法を使うと、わずか1グラムのカルスから1000本以上の苗を生産することもできます。さらに、形成された不

定胚を培養シャーレごと密封して冷蔵保存すれば、少なくとも2年間は発芽能力が保たれることがわかりました。そのため工程が管理された工場で大量生産して保管することで、年間を通じた需要の変化にも柔軟に対応できます。

### ■ 今後の展開

我が国のスギ林を上で述べた方法で生産した無花粉スギの苗で植え替えていくことで、花粉症対策に大きく貢献します。しかし、組織培養に由来する苗は林業種苗法では想定されていません。植栽されてからどのように成長を続けていくのか、不明な点も残されています。そこで、生産された苗を実際に植栽し、特性や成長の継続的な調査を進めています(図1N)。これらのデータを蓄積することで、今後の組織培養由来の苗を山に植栽するための行政的な仕組みの整備に役立つとともに、無花粉スギ培養苗が広く活用されるようになることが期待されます。

## 研究資金と課題

本研究の一部は、生物系特定産業技術研究支援センター・イノベーション創出強化研究推進事業(28013BC)の支援による成果です。

## 文献および参照サイト

Maruyama, T.E. et al. (2021) Factors influencing somatic embryo maturation in sugi (Japanese cedar, *Cryptomeria japonica* (Thunb. ex L.f.) D. Don). *Plants* 10: 874. <https://doi.org/10.3390/plants10050874>

Maruyama, T.E. et al. (2022) An improved and simplified propagation system for pollen-free sugi (*Cryptomeria japonica*) via somatic embryogenesis. *Frontiers in Plant Science* 13: 825340. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.825340>

## 専門用語

**不定胚形成細胞**: 植物の体細胞のうち、分化全能性が高く不定胚を形成する能力を持った細胞です。

**不定胚**: 受精によらずに植物の体細胞から生じる組織で、種子胚と類似の形と発芽能力を備えています。

**MS1**: スギの雄性不稔の原因遺伝子の一つです。変異した対立遺伝子(*ms1*)のみを持つスギでは、花粉四分子期で発育が停止し、最終的に正常な花粉が形成されないため花粉が全く飛散しません。

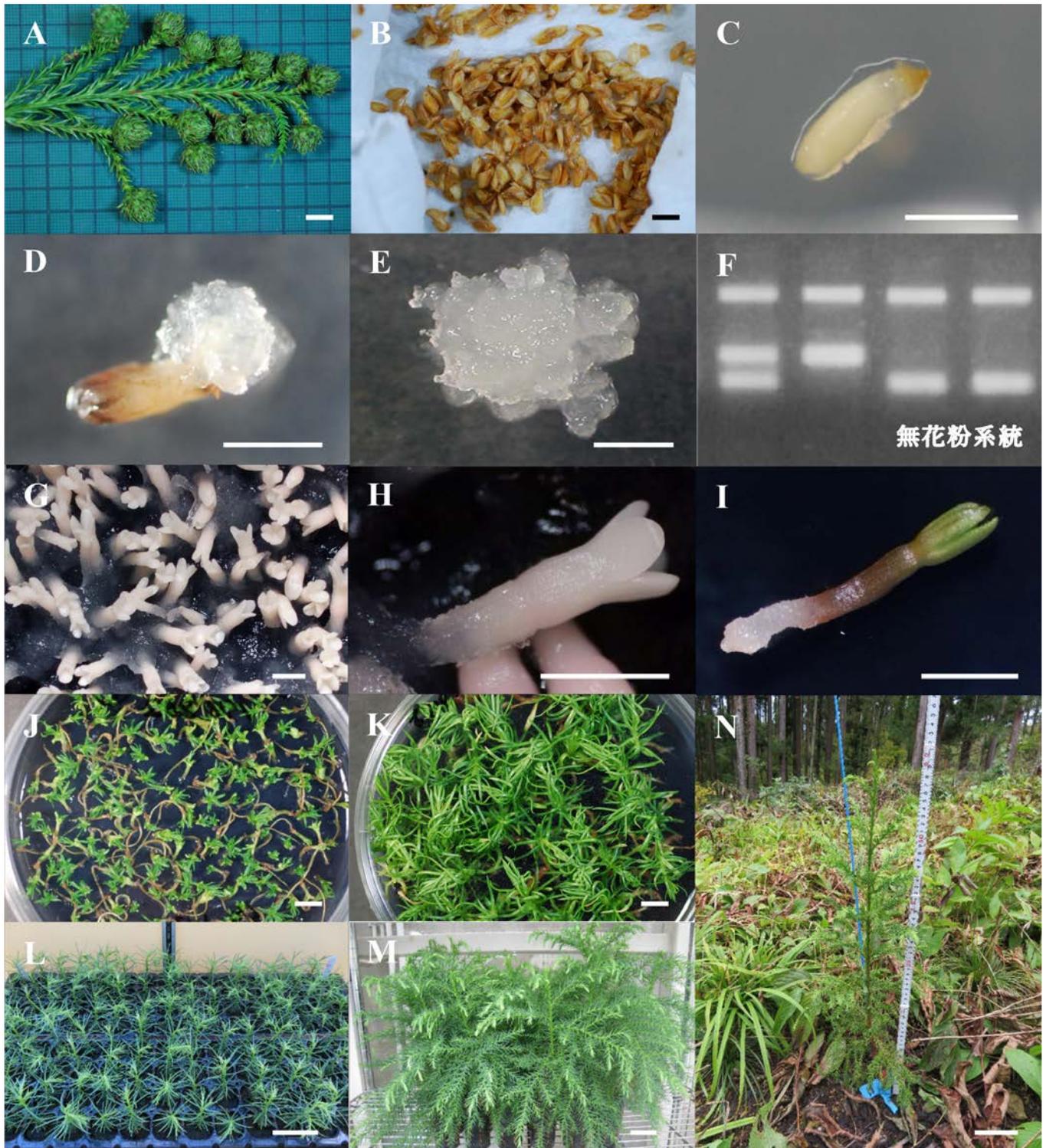


図1 不定胚に由来する無花粉スギ苗の効率的な生産法

(A) スギの球果、(B) 球果から取り出した種子、(C) 種皮を剥ぎ取った種子、(D) 不定胚形成細胞の誘導、(E) 不定胚形成細胞の増殖、(F) 無花粉細胞系統の判定の様子、(G, H) 成熟不定胚、(I, J) 不定胚の発芽、(K) 植物体の再生、(L) プラグ苗、(M) コンテナ苗、(N) 植栽された無花粉スギ培養苗の特性や初期の成長量調査。図中の白いスケールバー: 5 mm (B, C, D, E, G, H, I)、1 cm (A, J, K)、5 cm (L, M, N)