

## 新潟県産無花粉スギ種子からの不定胚形成細胞誘導の家系間差

Differences among families on embryogenic cell induction from seeds of pollen-free sugi  
(*Cryptomeria japonica*) produced at the Niigata prefecture

丸山 E. 毅<sup>\*1</sup>・宮澤真一<sup>\*1</sup>・上野真義<sup>\*1</sup>・大西昇<sup>\*2</sup>・戸塚聡子<sup>\*3</sup>・岩井淳治<sup>\*3</sup>・森口喜成<sup>\*4</sup>  
Tsuyoshi E. MARUYAMA<sup>\*1</sup>, Shinichi MIYAZAWA<sup>\*1</sup>, Saneyoshi UENO<sup>\*1</sup>, Noboru ONISHI<sup>\*2</sup>,  
Satoko TOTSUKA<sup>\*3</sup>, Junji IWAI<sup>\*3</sup>, Yoshinari MORIGUCHI<sup>\*4</sup>

\* 1 森林総合研究所

Forestry and Forest Products Research Institute, Tsukuba, Ibaraki 305-8687

\* 2 キリン株式会社

Kirin Company Limited, Kanazawa-ku, Yokohama, Kanagawa 236-0004

\* 3 新潟県森林研究所

Niigata Prefecture Forestry Research Institute, Murakami, Niigata 958-0264

\* 4 新潟大学

Niigata University, Nishi-ku, Niigata, 950-2181

**要旨:** スギ花粉症患者は年々増加し、国民の4人に1人がスギ花粉症と推定されており、深刻な社会問題となっている。スギ花粉症対策の一環として、花粉を飛散させない無花粉スギの活用が期待されている。現在、無花粉スギの苗木の生産現場では、実生苗木を育成し、ジベレリン処理によって雄花の開花を誘導したうえで無花粉個体を選抜して普及している。この方法では、無花粉個体の識別に手間がかかる上に正常な個体を半分以上除外しなければならないため、苗木の生産効率が悪いことが問題となっている。そこで当研究グループは、不定胚形成技術による大量増殖法にDNAマーカーを用いた無花粉スギ個体の早期選抜技術を組み合わせた革新的な無花粉苗木の大量生産方法の確立を目指している。今回は、雄性不稔遺伝子を持っているスギ複数家系の種子から不定胚形成細胞を誘導し、誘導効率の家系間差について報告する。不定胚形成細胞は、7月上旬から下旬にかけて採取した種子を2,4-ジクロロフェノキシ酢酸(2,4-D)と6-ベンジルアミノプリン(BAP)を添加した1/2 EM培地上で誘導した。種子採取時期や家系間差がみられたが、全ての家系において不定胚形成細胞を誘導できた。

**キーワード:** *Cryptomeria japonica*, 花粉症, 雄性不稔, 不定胚形成, EM培地, 胚培養

**Abstract:** The number of patients with sugi pollinosis increases year by year, and one of four people is estimated to be allergic to sugi pollen, being a serious social problem. As part of countermeasures against sugi pollinosis, the use of pollen-free sugi has been promoted. Currently, for the production of pollen-free sugi, seedlings were selected as pollen-free individuals after confirmation of the absence of pollen in male strobili induced by gibberellin treatment. In this method, due to the identification of pollen-free individuals is time-consuming and more than half of normal individuals must be excluded, the production efficiency of the seedlings becomes a problem. Therefore, our research group aims to establish a mass production method of pollen-free seedlings by innovative combination of early selection by DNA markers and mass propagation method based on somatic embryogenesis. In this study, somatic embryogenic cells are induced from the seeds of several families with male-sterile genes, and the differences among families on embryogenic cell induction efficiency are reported. Somatic embryogenic cells were induced in seeds collected from early to late July on 1/2 EM medium supplemented with 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and 6-benzylaminopurine (BAP). Although, differences among seed collection time and families were observed, embryogenic cell induction was achieved in all families.

**Keywords:** Japanese cedar, pollinosis, male sterility, somatic embryogenesis, EM medium, embryo culture

## I はじめに

スギ花粉症患者は年々増加し、国民の4人に1人がス

ギ花粉症と推定されており、深刻な社会問題となっている。スギ花粉症対策の一環として、花粉を飛散させない

無花粉スギの活用が期待されている。現在、無花粉スギの苗木の生産現場では、実生苗木を育成し、ジベレリン処理によって雄花の開花を誘導したうえで無花粉個体を選抜して普及している。この方法では、無花粉個体の識別に手間がかかる上に正常な個体を半分以上除外しなければならないため、苗木の生産効率が悪いことが問題となっている。そこで当研究グループは、不定胚形成技術による大量増殖法にDNAマーカーを用いた無花粉スギ個体の早期選抜技術を組み合わせた革新的な無花粉苗木の大量生産方法の確立を目指している。今回は、雄性不稔遺伝子を持っているスギ複数家系の種子から不定胚形成細胞を誘導し、誘導効率の家系間差について報告する。

## II 実験方法

1. 種子の採取 新潟県森林研究所にて、2017年3月に人工交配を行い作出した4家系の球果を2017年7月上旬から7月下旬にかけて採取し、取り出した種子を実験材料として用いた(家系毎の種子数は707~1,056)。

2. 不定胚形成細胞の誘導 種子表面の殺菌法、不定胚形成細胞誘導用の培地や培養条件については、丸山ら(1)の報告に記載された通りに行った。

3. 不定胚形成細胞の継代培養 不定胚形成細胞の継代培養は丸山ら(1)の報告に記載された通りに行った。

## III 結果と考察

1. 種子の採取時期や家系由来の不定胚形成細胞誘導効率への影響 無花粉スギと雄性不稔遺伝子をヘテロ接合体で保有する個体を交配した4家系の種子を7月上旬から下旬にかけて採取した。得られた発達段階の異なる未熟種子を用いて、不定胚形成細胞を誘導した。種子採取時期や家系間差がみられたが、全ての家系において不定胚形成細胞を誘導できた(図-1)。家系間差について、採取時期による変化がみられたが、「福島不稔1号×大井7号」家系由来の種子は最も高い誘導効率(59.0%)を示した。一方、「福島不稔1号×S3-37(1)」家系由来の種子は全ての採取時期において、最も低い値を示した(0.6~13.4%)。7月18日に採取した種子を試料にした場合は、「福島不稔1号×S3-37(1)」の家系を除いて、「新大不稔3号×珠洲2号」、「福島不稔1号×大井7号」、「福島不稔1号×S3-118(2)」の3家系由来の種子において50%以上の高い頻度で不定胚形成細胞の誘導が認められた(図-2)。

2. 不定胚形成細胞の維持・増殖 得られた不定胚形成細胞は、誘導時と同じ培養環境下で2~3週間ごとに継代培養することで維持・増殖が可能であった。

## IV おわりに

前年度の1家系の結果と同様に、採取時期が誘導効率に大きく影響することが示されたが、新潟県産の無花粉個体を母樹とする場合は、7月中に採取した種子を供試すれば不定胚形成細胞の誘導が可能であることが確認された。(本研究は、農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業の支援によって実施した。)

## 引用文献

(1) 丸山 E. 毅・細井佳久・上野真義・大西昇・戸塚聡子・岩井淳治・森口喜成(2017)新潟県産無花粉スギ種子からの不定胚形成細胞の誘導. 関東森林研究 68:41-44

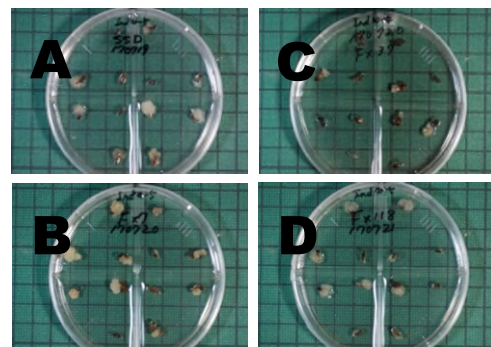


図-1. 雄性不稔遺伝子を持っているスギ4家系からの不定胚形成細胞誘導。A:「新大不稔3号×珠洲2号」、B:「福島不稔1号×大井7号」、C:「福島不稔1号×S3-37(1)」、D:「福島不稔1号×S3-118(2)」

Fig. 1 Embryogenic cell induction from 4 families of Sugi that have male sterility genes

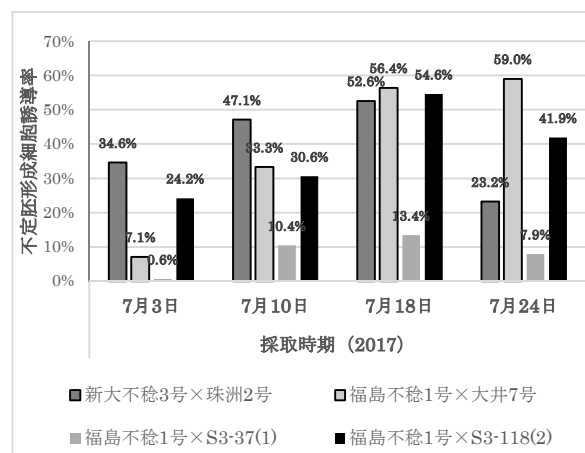


図-2. 種子採取時期や家系由来の不定胚形成細胞誘導効率への影響

Fig. 2 Effect of seed collection time and family source on the embryogenic cell induction frequency