スギ雄花形成の機構解明と抑制技術

篠原 健司^{*1}

スギは我が国を代表する林業樹種である。しかし、スギ花粉症患者が激増し、日本の社会問題になっている。全国的な疫学調査では、花粉症の発症率は国民の25%を上回っているという。自然条件下では、スギの花芽分化は6~8月に開始し、7~9月には未分化の雄花が観察できる。スギが花を咲かせ花粉を飛ばすまでには通常20年以上かかるが、植物ホルモンの一種であるジベレリンで処理すると、1年生の芽生えでも花芽形成が確実に誘導できる。しかし、スギの雄花形成や花粉形成についてはあまり理解されていない。最近、森林総合研究所はスギ雄花の完全長cDNAを10,463種類収集している。この完全長cDNAには、実験植物シロイヌナズナの雄ずいや花粉で特異的に発現する遺伝子が含まれ、その中には新規のアレルゲン遺伝子、転写因子として働くMADSボックス遺伝子や花成制御遺伝子、雄性不稔遺伝子など重要な機能をもつ遺伝子が多数存在した。これらの遺伝子は雄花の発達過程を理解するための重要な武器になる。本総説では、スギ雄花形成の機構解明に向けた研究の現状、ジベレリン生合成阻害剤を用いたスギ雄花形成の抑制技術の開発、遺伝子組換え技術を用いたスギの花成制御技術や不稔化誘導技術の開発について紹介する。

キーワード：雄花、花成制御、ジベレリン生合成阻害剤、スギ、スギ花粉症

Kenji Shinohara^{*,1} (2010) Special Issue “For Countermeasures against Sugi Pollinosis in Forest Science”, Formation of *Cryptomeria japonica* Male Strobili and Its Suppression. J. Jpn. For. Soc. 92: 304–309. *Cryptomeria japonica* D. Don is one of the most commercially important conifers in Japan. However, the allergic disease caused by its pollen is a severe public health problem in Japan. A recent nationwide epidemiological survey found that at least 25% of the Japanese population suffers from pollinosis due to pollen of *C. japonica*. The primordia of male strobili of *C. japonica* develop from June to August and first become visible from July to September under natural conditions. The development of strobili can also be initiated by treatment with gibberellic acid (GA_3). The promotion of flower formation by exogenous GA_3 occurs even in one-year-old seedlings in spite of the fact that formation of strobili usually requires around 20 years after germination under natural conditions. However, development of male strobili and pollen has not been clarified. The Forestry and Forest Products Research Institute has succeeded in the large-scale collection of 10,463 nonredundant full-length enriched cDNA clones of *C. japonica* male strobili. The cDNA resources contain homologs of stamen- and pollen-specific transcripts of *Arabidopsis*, and provide new information about potential allergens, putative transcription factors including MADS-box genes and floral meristem identity genes, and male sterility genes in *C. japonica*. These genes are valuable tools to clarify the development of male reproductive organs. I here introduce a direction of studies on the formation of male strobili, the suppression of formation of male strobili by inhibitors of gibberellin biosynthesis, and flowering control and introduction of male sterility by genetic engineering.

Key words: *Cryptomeria japonica* D. Don, flowering control, inhibitors of gibberellin biosynthesis, male strobili, sugi pollinosis

I. はじめに

日本で最初に報告された花粉症は、1961年のブタクサ花粉症である。1964年には、日光市の住民にスギ花粉症が初めて報告された(堀口・齋藤, 1964)。その後、花粉症の発症率は全国的に増加し、現在では国民の25%を上回っている(馬場・中江, 2008)。花粉症の原因となる植物として、スギ、ヒノキ、ブタクサ、ヨモギ、カナムグラ、カモガヤなど50種類以上が知られている(篠原・二村, 2005)。このうち、大きな社会問題になっているのがスギ・ヒノキ花粉症である。スギの花粉は人間にとって厄介者でも、スギにとっては子孫を残すための重要な役割を果たしている。しかし、スギの雄花形成や花粉形成についてはあまり理解されていない。実験植物での知見から類推すると、日長などの環境変化が細胞内のジベレリン濃度を増加させ、その変化が花成制御遺伝子の発現を誘導し、スギの花芽形成が

開始すると考えられるが、その検証はなされていない。本総説では、スギ雄花形成の機構解明に向けた研究の現状、ジベレリン生合成阻害剤等を用いたスギ雄花形成の抑制技術の開発、花成制御遺伝子等を用いたスギ雄花形成の抑制技術の開発について紹介する。なお、花粉アレルゲン、花粉症の発症機構や治療法の開発については別の総説(篠原・二村, 2005; 篠原ら, 2006)を参照いただきたい。

II. スギ雄花形成

スギは雌雄同株で、一つの個体に雄花と雌花を着生する(図-1)。花芽分化の時期は6月下旬~8月下旬で、雄花分化後若い葯の内部に胞原組織が分化し、これが数回分裂して花粉母細胞に発達する。花粉母細胞は、10月に減数分裂により四分分子ができる(篠原ら, 1998)。その後、減数分裂により生じた四分分子は小孢子となり、それぞれの小孢子は細胞分裂して生殖核と花粉管核を形成して、12月

* 連絡先著者 (Corresponding author) E-mail: kenjis@ffpri.affrc.go.jp

¹ 森林総合研究所生物工学研究領域 〒305-8687 つくば市松の里1 (Department of Molecular and Cell Biology, Forestry and Forest Products Research Institute, 1 Matsunosato, Tsukuba 305-8687, Japan)

(2010年2月10日受付; 2010年10月12日受理)

図-1. スギの雄花と雌花

までに核を2個持った成熟花粉が形成される。成熟花粉の大きさは直径約32 μ mで、厚い外壁と薄い内壁に包まれ、円形で小さな突起を有する。そして、2月中には花粉の飛散が開始する。ヒノキでは、雄性花芽は花粉母細胞の段階で越冬し、翌春3月上旬に減数分裂を開始し、下旬には未熟花粉が形成され、4月の飛散開始の約1週間前に成熟花粉へ発達する。

スギが花を咲かせ花粉を飛ばすまでには、通常20～30年かかる（橋詰, 1980; Nagao *et al.*, 1989）。開花や結実に達するまでの期間を短縮する方法として、環状剥皮、断根、施肥などの処理が古くから知られている。また、植物ホルモンの一種であるジベレリンで葉面散布や樹幹注入処理をすると、芽生えや苗木でも花芽形成が確実に誘導できる。花芽分化期のスギ針葉では、活性型のジベレリン（GA₃）が極端に増加し、その後急激に減少する（山本・本間, 2003）。この結果は、スギでは一過性のGA₃の増加が花成誘導のシグナルになっている可能性を示しているが、GA₄がその役割を果たすという研究者もいる（富山県立大・葭田, 私信）。生物環境調節施設内で、ジベレリン処理によるスギの花芽分化に及ぼす環境因子の影響が詳細に調べられている（Nagao *et al.*, 1989）。花芽分化はジベレリン処理濃度により大きく影響され、低濃度（25～50 ppm）で処理すると雄花の着生が、高濃度（200～300 ppm）で処理すると雌花の着生が促進される。また、日長条件や温度条件の影響を受け、高温（30～25℃）・長日条件では雄花が、

低温（20～15℃）・短日条件では雌花が多くなる。さらに、強光条件下では雄花と雌花の着生が促進されるが、土壤の乾燥は雄花の着生を促進する。

雄花生産量は雄花分化の開始時期にあたる前年7月の気象条件に強い影響を受け、前年7月の全天日射量、日照時間、最高気温、平均気温との間に正の相関関係が、また降水量との間には負の相関関係がみられる（横山, 1994）。空梅雨で猛暑が続くと、翌春には大量の花粉が飛ぶことになる。雄花や花粉の生産量には豊凶の周期性がある（横山, 1994）。

III. スギ雄花形成の分子機構の解明に向けて

1. 樹木のゲノム研究からのアプローチ

樹木のゲノム研究やポストゲノム研究が活発に進められている（篠原, 2008）。ポプラのゲノムサイズは約480 Mbpであり、ユーカリの約650 Mbp、スギの約11,000 Mbp、マツの約22,000 Mbpに比べ、樹木の中でも比較的小さい（おもな生物のゲノムサイズは、シロイヌナズナが約140 Mbp、イネが約430 Mbp、ヒトが約3,000 Mbp、ショウジョウバエが約180 Mbp、バクテリアが1～数 Mbpである）。この特徴が、ゲノムプロジェクトの対象にポプラが最初に選ばれた理由である。2006年に米国エネルギー省（DOE）を中心とする国際ポプラゲノムコンソーシアムは、ポプラゲノムの塩基配列の概要解読の結果を発表した（Tuskan *et al.*, 2006）。ポプラのゲノム上には約45,000種類の遺伝子が存在するという。これは樹木で初めての全ゲノム解読の報告であり、高等植物ではシロイヌナズナ、イネに次ぐ3番目のものである。ユーカリゲノムの塩基配列の解読はかずさDNA研究所、また米国の研究グループにより個別に進められている。スギのゲノムサイズはシロイヌナズナの約90倍、イネの約25倍、ポプラの約20倍に相当するため、その全ゲノムの解読はきわめて困難な状況にある。一方、さまざまな樹種で発現遺伝子の部分塩基配列（EST: Expressed Sequence Tagの略）情報の収集が進められている（二村ら, 2008）。ゲノムや発現遺伝子の塩基配列情報が公開されると、シロイヌナズナやイネなどで機能が解明された花成制御遺伝子や生殖器官の形態形成を支配する遺伝子に対する相同遺伝子を容易に単離できるようになる。

一方、遺伝子の構造や機能の確定には、塩基配列の羅列にすぎないゲノムの塩基配列情報だけでは不十分であり、ゲノム上の各遺伝子から発現するmRNA（cDNA）との塩基配列の比較が必要である。日本では、世界に先駆けて、ヒト、マウス、シロイヌナズナ、イネなどの完全長cDNAの大規模収集が行われている。完全長cDNAは、完全長のタンパク質の合成、プロモーター領域の探索、ゲノムのアノテーションに有効利用できる。そこで、森林総合研究所は理化学研究所植物科学研究センターと共同研究を進め、19,841種類のポプラ完全長cDNAを収集した（Nanjo *et al.*, 2004, 2007）。ポプラ完全長cDNAの大規模

スギの雄花形成

裸子植物では
花芽形成に関わる
遺伝子の多くが不明

図-2. シロイヌナズナにおける主要な
花成シグナル伝達経路

朱文字で示した遺伝子は MADS-box 遺伝子
である。↓は遺伝子発現の促進、↑は抑制を
示す。

図-4. 高等植物のジベレリン生合成経路と阻害剤の作用
部位

ウニコナゾール-P (Uniconazole-P)

(E)-(R5)-1-(4-Chlorophenyl)-4,4-dimethyl-2-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)pent-1-en-3-ol

図-3. ジベレリン生合成阻害剤の構造

収集は、樹木では世界で初めての報告であり、ポプラの完全長 cDNA の塩基配列情報を公表するとともに、理化学研究所バイオリソースセンターに寄託し、希望者へ完全長 cDNA を配付している。また、スギ雄花の完全長 cDNA を 10,463 種類収集している (Futamura *et al.*, 2008)。スギ雄花の完全長 cDNA には、実験植物の雄ずいや花粉で特異的に発現する遺伝子や転写因子の遺伝子など重要な機能をもつ遺伝子が多数存在し、花成制御関連遺伝子、雄性不稔関連遺伝子、花粉アレルゲン遺伝子なども含まれていた。花粉アレルゲン遺伝子には、5 種類のスギ花粉アレルゲン遺伝子 (Fujimura *et al.*, 2007) とスギ以外の 17 種類の花
粉アレルゲンに相同性を示す遺伝子が存在した。スギの塩基配列情報は森林総合研究所の森林生物遺伝子データベ

ス (ForestGEN) を通じて、外部から自由に利用できる形で公開した。現在、針葉や雌花由来のスギ完全長 cDNA を解析しており、さらにスギのバイオリソースの整備を進めている。

DNA マイクロアレイによる遺伝子発現の網羅的解析は、数千以上の遺伝子の発現変動を一度に解析できる利点がある (二村ら, 2008; 篠原, 2008)。森林総合研究所では、スギの EST 情報を統合して、約 22,000 種類の遺伝子情報を搭載した DNA マイクロアレイを作製し、スギの花芽形成過程や花粉形成過程の遺伝子発現の網羅的解析を行い、花成制御機構の解明や雄性不稔スギの原因遺伝子の絞り込みを進めている。なお、雄性不稔原因遺伝子の絞り込みには、その遺伝子を保有する交配家系を用いた連鎖解析を併用して進めている (Tani *et al.*, 2003)。このように、スギやポプラの生殖器官の形成過程で重要な役割を担う遺伝子情報が整備されつつある。

2. スギ花成制御遺伝子の機能解析

モデル植物であるシロイヌナズナでは、花成制御遺伝子や花の形態形成を支配する遺伝子が多数単離されている (Zik and Irish, 2003; Jack, 2004)。また、それらの遺伝子間相互作用についても概ね解明され、開花シグナルの伝達経路が明らかになっている (図-2)。ポプラでも、シロイヌナズナの *LEAFY* (*LFY*)、*FT* や *TFL1* に相同な花成制御

遺伝子が単離され、それらの機能や発現特性が解明されている (Rottmann *et al.*, 2000 ; Bohlenius *et al.*, 2006 ; Hsu *et al.*, 2006 ; Igasaki *et al.*, 2008)。森林総合研究所では、これら遺伝子を利用したポプラの花成制御技術を開発している (伊ヶ崎・西口, 2008)。ポプラは、その他にもシロイヌナズナと同様な花成制御遺伝子を保持し、類似した開花シグナルの伝達経路が存在すると考えられている (伊ヶ崎ら, 未発表)。

一方、スギなどの裸子植物では花成制御遺伝子の存在や機能解析はほとんど進んでいない。前述したスギ雄花の完全長 cDNA には、12 個の MADS ボックス遺伝子や *FT* 相同遺伝子が存在した (Futamura *et al.*, 2008)。MADS ボックス遺伝子は花成制御や花の形態形成に深く関係しており (図-2)、スギの相同遺伝子の機能解析を進めた。遺伝子組換えスギの作出には長い時間と労力が必要なため、6 種類のスギ MADS ボックス遺伝子をそれぞれ過剰発現させた組換えシロイヌナズナを作製し、花成の促進や遅延を評価することで遺伝子の機能を解析した。その結果、2 種類の MADS ボックス遺伝子を導入した組換えシロイヌナズナで早期開花性を示した (二村ら, 未発表)。導入遺伝子の発現量を調べると、花成促進を示した組換えシロイヌナズナでは発現量が極端に高いことが明らかになり、この 2 種類の MADS ボックス遺伝子がスギの花成制御に深く関与している可能性がある。なお、スギの *LEAFY* 相同遺伝子に関する報告もある (Shiokawa *et al.*, 2008)。

今後、スギの花成制御遺伝子の機能解析を進め、ジベレリン量、日長や温度などの環境変化、樹齢、傷害などの花成シグナルがどのように伝達するのかを解明し、スギ雄花形成の分子機構を明らかにする必要がある。

IV. ジベレリン生合成阻害剤による雄花形成の抑制

スギ・ヒノキの着花はジベレリン処理により誘導される。森林総合研究所では、ウニコナゾールやウニコナゾール-P (図-3)、天然型アブシジン酸による着花抑制技術を開発している (長尾, 1993)。ウニコナゾール類はジベレリンやブラシノステロイド生合成阻害剤で、ジベレリン代謝ではカウレン酸化酵素を特異的に阻害する (図-4)。このうち、ウニコナゾール-P の効果は最も大きく、5 ppm という低濃度で、ジベレリン処理により誘発したスギやヒノキ苗木の雄花・雌花形成を抑制する。また、野外に植栽されたスギやヒノキ成木に対しての樹幹注入処理や土壌施用処理技術も開発されている (長尾, 1993)。抗オーキシン作用を示すマレイン酸ヒドラジド・コリン塩も着花抑制効果を示すという。炭素数 18 の不飽和脂肪酸であるオレイン酸、リノール酸やリノレン酸は、発達したスギの雄花を褐変化させ (Koshio *et al.*, 1995)、雄花は花粉を飛散させることはない (本間, 1995)。

トリネキサパックエチル (プロモマックス液剤, シンジェンタ) によるスギの雄花形成の抑制効果が報告されている (山本・本間, 2003)。この化合物はおもに β -水酸化酵素

を阻害するジベレリン生合成阻害剤で、ハロゲン元素を含まず、安価で環境にやさしい薬剤として注目され、ゴルフ場で芝生の矮化剤として使用されている。トリネキサパックエチルは、野外のスギの花芽形成や環状剥皮等により誘導させた花芽形成をウニコナゾール-P と同等に十分阻害するが、ジベレリン処理により誘導させた花芽形成に対してはウニコナゾール-P ほど阻害することはなかった (長尾ら, 2005)。これらの薬剤処理は、花芽分化以前に施すことで十分な抑制効果が認められ、スギの花芽形成を誘導する活性型ジベレリン含量を減少させる (山本・本間, 2003)。また、ヘリコプターによる散布によっても、スギ林の雄花生産量を削減することが可能である。

薬剤散布については、環境や動植物に対する影響を十分に配慮する必要がある。低濃度で作用し、自然界で分解されやすい薬剤であれば、神社、寺、公園や街道沿いのスギ、学校や病院の周辺のスギなどに対する局所的散布は積極的に実施すべきであろう。しかし、スギやヒノキの着花抑制効果を示しても、広葉樹や果樹などの他の植物に対しては促進効果を示す可能性もあり、広範囲な散布は避けるべきであろう。

V. 遺伝子組換えによる雄花形成の抑制

森林・林業分野における遺伝子組換え技術の開発は、地球温暖化軽減対策、木質バイオマスの効率的利用、花粉発生源対策を通じて、国内外の環境・資源問題の解決に大きく貢献すると期待されている (伊ヶ崎・篠原, 2004 ; 篠原, 2007)。樹木でもゲノムや完全長 cDNA の塩基配列情報が大規模収集され、バイオリソースが十分に整備され、優良個体の選抜に用いる DNA マーカーの開発だけでなく、有用遺伝子を導入した組換え樹木の開発が可能となっている (篠原, 2008)。世界のトピックスを挙げると、早期花芽形成の誘導 (Weigel and Nilsson, 1995 ; Rottmann *et al.*, 2000 ; Bohlenius *et al.*, 2006 ; Hsu *et al.*, 2006)、低リグニン含量の誘導 (Hu *et al.*, 1999)、成長促進 (Eriksson *et al.*, 2000) などがある。また、中国での虫害耐性組換えポプラの商業栽培も話題となっている。国内では、王子製紙森林資源研究所が乾燥耐性ユーカリや酸性土壌耐性ユーカリの開発、日本製紙森林科学研究所が耐塩性ユーカリの開発、森林総合研究所はポプラの早期花成誘導技術、オゾン耐性かつ乾燥耐性ポプラの開発などの成功例がある (篠原, 2007)。

遺伝子組換えには、目的を達成させるための有用遺伝子、安定な遺伝子導入技術、遺伝子導入した後の効率の良い個体再生技術が必要である。スギ花粉症対策のため利用可能な遺伝子としては、ジベレリン生合成酵素遺伝子、花芽分化を制御する遺伝子、雄花の形態形成を支配する遺伝子やアレルゲン遺伝子などが考えられる (Fukui *et al.*, 2001 ; 伊ヶ崎・篠原 2004 ; Futamura *et al.*, 2006, 2007, 2008)。森林総合研究所では、これら遺伝子を単離し、遺伝子の発現特性を詳細に解析している。また、パーティクルガン法によりスギのさまざまな組織や培養細胞へ組換え遺伝子を導

入し、発現させることに成功し (Mohri *et al.*, 2000), さらに不定胚を経由した効率の良い個体再生技術を開発した (Igasaki *et al.*, 2003a, b)。最近、アグロバクテリウム法を用いた組換えスギの作出技術も開発している (Taniguchi *et al.*, 2008)。遺伝子組換え技術を用いたポプラの花成制御技術 (伊ヶ崎・西口, 2008) や不稔化誘導技術 (伊ヶ崎ら, 未発表) の開発に成功しており、同様にスギの花成制御遺伝子を用いた花成制御技術やスギの減数分裂に関連する遺伝子を用いた不稔化誘導技術の開発を進めている。しかし、遺伝子導入後の極端に低い組換えスギの再生効率が難題となっている。

スギの花成制御技術や不稔化誘導技術が開発されると、花芽形成、花粉や種子の生産を完全に抑制することができ、花粉症対策に貢献できるはずである。ポプラでは生殖活動を完全に抑制すると、バイオマス生産が約 15% 程度上昇すると試算されている。花芽形成を完全に抑制する遺伝子組換えを行えば、スギのバイオマス生産は増加することになる。しかも、花粉や種子の飛散が起きず、導入遺伝子の拡散による生態系攪乱が防止でき、組換えスギの商業植林も現実のものとなる。

VI. お わ り に

スギ花粉症患者の急増の原因の一つとして、戦後人工造林されたスギやヒノキ林の多くが着花年齢に達し、花粉の生産量が急激に増加したことがあげられる。「新成長戦略 (基本方針)」(2009 年 12 月 30 日) には、森林・林業の再生を図り、木材自給率を 50% 以上に向上されることを目指すとある。林業樹種としてのスギの重要性と林業全般への理解を求める必要性を考えると、花粉症対策を求める国民の声を無視すべきではない。われわれは、花粉発生源の軽減に向けた研究をさまざまな角度から積極的に推進する必要がある。

本稿では、スギ雄花形成の機構解明に向けた研究の現状、花成シグナルの伝達経路上に存在するジベレリンの生合成阻害剤を用いた雄花形成の抑制技術やその経路上に存在する花成制御遺伝子等を用いた雄花形成の抑制技術の開発について紹介した。スギの花成シグナル伝達経路についての研究は始まったばかりで、スギのバイオリソースの整備に伴い新たな花成制御遺伝子等が解明され、雄花形成の分子機構が明らかになるはずである。その結果、環境因子と花成制御遺伝子の発現の相互関係も解明され、雄花生産量の予測に科学的根拠が提出できる。また、雄性不稔スギ等の特性も遺伝子レベルで説明され、育種の選抜効率を高めるための DNA マーカーを開発できる。こうした研究の推進には、長期間にわたる研究費の支援が必要である。

本総説で紹介した研究成果の一部は、農林水産省の新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業「スギ雄花形成の機構解明と抑制技術の高度化に関する研究」や林野庁の「遺伝子組換えによる花粉発生制御技術等の開発事業」

の中で推進されたものである。森林総合研究所生物工学研究領域の伊ヶ崎知弘主任研究員、二村典宏主任研究員、元森林総合研究所の長尾精文博士から図を提供していただいた。ここに記してお礼申し上げる。

引用文献

- 馬場廣太郎・中江公裕 (2008) 鼻アレルギーの全国疫学調査 2008 (1998 年との比較). *Progress in Medicine* 28: 2001–2012.
- Bohlenius, H., Huang, T., Charbonnel-Campaa, L., Brunner, A.M., Jansson, S., Strauss, S.H., and Nilsson, O. (2006) *CO/FT* regulatory module controls timing of flowering and seasonal growth cessation in times. *Science* 312: 1040–1043.
- Eriksson, M.E., Israelsson, M., Olsson, O., and Moritz, T. (2000) Increased gibberellin biosynthesis in transgenic trees promotes growth, biomass production and xylem fiber length. *Nature Biotechnol.* 18: 784–788.
- Fujimura, T., Futamura, N., Midoro-Horiuti, T., Togawa, A., Yasueda, H., Saito, A., Shinohara, K., Masuda, K., Kurata, K., and Sakaguchi, M. (2007) Isolation and characterization of native Cry j 3 from Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) pollen. *Allergy* 62: 547–553.
- Fukui, M., Futamura, N., Mukai, Y., Wang, Y., Nagao, A., and Shinohara, K. (2001) Ancestral MADS box genes in sugi, *Cryptomeria japonica* D. Don (Taxodiaceae), homologous to the B function genes in angiosperms. *Plant Cell Physiol.* 42: 566–575.
- 二村典宏・楠城時彦・篠原健司 (2008) 樹木のゲノム解析の現状と展望～完全長 cDNA を用いた遺伝子の機能解析. 北海道の林木育種 51: 28–31.
- Futamura, N., Kusunoki, Y., Mukai, Y., and Shinohara, K. (2007) Characterization of genes for a pollen allergen, Cry j 2, of *Cryptomeria japonica*. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 143: 59–68.
- Futamura, N., Ujino-Ihara, T., Nishiguchi, M., Kanamori, H., Yoshimura, K., Sakaguchi, M., and Shinohara, K. (2006) Analysis of expressed sequence tags from *Cryptomeria japonica* pollen reveals novel pollen-specific transcripts. *Tree Physiol.* 26: 1517–1528.
- Futamura, N., Totoki, Y., Toyoda, A., Igasaki, T., Nanjo, T., Seki, M., Sakaki, Y., Adoriano, M., Shinozaki, K., and Shinohara, K. (2008) Characterization of expressed sequence tags from a full-length enriched cDNA library of *Cryptomeria japonica* male strobili. *BMC Genomics* 9: 383.
- 橋詰隼人 (1980) スギの開花と結実. *遺伝* 34: 4–10.
- 本間 環 (1995) スギ花粉の諸問題. *農薬誌* 20: 545–551.
- 堀口申作・斎藤洋三 (1964) 栃木県日光地方におけるスギ花粉症 Japanese Cedar Pollinosis の発見. *アレルギー* 13: 16–18.
- Hsu, C.-Y., Liu, Y., Luthe, D.S., and Yuceer, C. (2006) Poplar *FT2* shortens the juvenile phase and promotes seasonal flowering. *Plant Cell* 18: 1846–1861.
- Hu, W.-J., Harding, S.A., Lung, J., Popko, J.L., Ralph, J., Stokke, D.D., Tsai, C.J., and Chiang, V.L. (1999) Repression of lignin biosynthesis promotes cellulose accumulation and growth in transgenic trees. *Nature Biotechnol.* 17: 808–812.
- 伊ヶ崎知弘・西口 満 (2008) 遺伝子組換え技術を用いてポプラの早期開花に成功. 森林総合研究所平成 20 年度版研究成果選集: 48–49.
- 伊ヶ崎知弘・篠原健司 (2004) 環境ストレス耐性樹木の創出に向けた取り組み. *日林誌* 86: 74–79.
- Igasaki, T., Watanabe, Y., Nishiguchi, M., and Kotoda, N. (2008) The *FLOWERING LOCUS T/TERMINAL FLOWER 1* family in Lombardy poplar. *Plant Cell Physiol.* 49: 291–300.
- Igasaki, T., Akashi, N., Ujino-Ihara, T., Matsubayashi, Y., Sakagami, Y., and Shinohara, K. (2003a) Phytosulfokine stimulates somatic embryogenesis in *Cryptomeria japonica*. *Plant Cell Physiol.* 44: 1412–1416.
- Igasaki, T., Sato, T., Akashi, N., Mohri, T., Maruyama, E., Kinoshita, I., Walter, C., and Shinohara, K. (2003b) Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature zygotic embryos of *Cryptomeria*

- japonica* D. Don. Plant Cell Rep. 22: 239–243.
- Jack, T. (2004) Molecular and genetic mechanisms of floral control. Plant Cell 16: S1–S17.
- Koshio, K., Takahashi, H., and Ota, Y. (1995) Induction of browning of male flowers of *Cryptomeria japonica* by treatment with fatty acids: mechanism and the role of trans-2-hexenal. Plant Cell Physiol. 36: 1511–1517.
- Mohri, T., Igasaki, T., Sato, T., and Shinohara, K. (2000) Expression of genes for β -glucuronidase and luciferase in three species of Japanese conifer (*Pinus thunbergii*, *P. densiflora* and *Cryptomeria japonica*) after transfer of DNA by microprojectile bombardment. Plant Biotechnol. 17: 49–54.
- 長尾精文 (1993) スギ・ヒノキ等の着花抑制技術. 平成4年度森林総合研究所成果選集: 50–51.
- Nagao, A., Sasaki, S., and Pharis, R.P. (1989) *Cryptomeria japonica*. In CRC handbook of flowering. Halevy, A.H. (ed.), Vol. VI, CRC Press, 247–269.
- 長尾精文・清野嘉之・篠原健司・久島道宏・渡辺邦寿 (2005) SYJ-140液剤によるスギ雄花の着花抑制試験. 日本森林学会関東支部大会論文集 56: 129–132.
- Nanjo, T., Futamura, N., Nishiguchi, M., Igasaki, T., Shinozaki, K., and Shinohara, K. (2004) Characterization of full-length enriched expressed sequence tags of stress-treated poplar leaves. Plant Cell Physiol. 45: 1738–1748.
- Nanjo, T., Sakurai, T., Totoki, Y., Toyoda, A., Nishiguchi, M., Kado, T., Igasaki, T., Futamura, N., Seki, M., Sakaki, Y., Shinozaki, K., and Shinohara, K. (2007) Functional annotation of 19,841 *Populus nigra* full-length enriched cDNA clones. BMC Genomics 8: 448–457.
- Rottmann, W.H., Meilan, R., Sheppard, L.A., Brunner, A.M., Skinner, J.S., Ma, C., Cheng, S., Jouanin, L., Pilate, L., and Strauss, S.H. (2000) Diverse effects of over-expression of *LEAFY* and *PTLF*, a poplar (*Populus*) homolog of *LEAFY/FLORICAULA*, in transgenic poplar and *Arabidopsis*. Plant J. 22: 235–245.
- 篠原健司 (2007) 地球温暖化防止に貢献する組換え樹木の開発. (バイオプロセスハンドブック. エヌ・ティー・エス). 668–674.
- 篠原健司 (2008) 樹木のポストゲノム研究. 林木の育種 227:1-6.
- 篠原健司・二村典宏 (2005) 花粉. (抗アレルギー食品開発ハンドブック. 小川 正・篠原和毅・新本洋士編. サイエンスフォーラム). 29–38.
- 篠原健司・伊ヶ崎知弘・長尾精文・中島 清 (1998) スギ花粉の形成と花粉発生源の抑制技術. Progress in Medicine 18: 2773–2776.
- 篠原健司・伊ヶ崎知弘・二村典宏・毛利 武・清野嘉之・長尾精文 (2006) スギ花粉症対策を考える. 林業と薬剤 175: 10–17.
- Shiokawa, T., Yamada, S., Futamura, N., Osanai, K., Murasugi, D., Shinohara, K., Kawai, S., Morohoshi, N., Katayama, Y., and Kajita, S. (2008) Isolation and functional analysis of the *CjNdl* gene, a homolog in *Cryptomeria japonica* of *FLORICAL/LEAFY* genes. Tree Physiol. 28: 21–28.
- Tani, N., Takahashi, T., Iwata, H., Mukai, Y., Ujino-Ihara, T., Matsumoto, A., Yoshimura, K., Yoshimaru, H., Murai, M., Nagasaka, K., and Tsumura, Y. (2003) A consensus linkage map for sugi (*Cryptomeria japonica*) from two pedigrees, based on microsatellites and expressed sequence tags. Genetics 165: 1551–1568.
- Taniguchi, T., Ohmiya, Y., Kurita, M., Tsubomura, M., and Kondo, T. (2008) Regeneration of transgenic *Cryptomeria japonica* D. Don after *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of embryogenic tissue. Plant Cell Rep. 27: 1461–1466.
- Tuskan, G.A., DiFazio, S., Jansson, S., Bohlmann, J., Grigoriev, I., Hellsten, U., Putnam, N., Ralph, S., Rombauts, S., Salamov, A., Schein, J., Sterck, L., Aerts, A., Bhalerao, R.R., Bhalerao, R.P., Blaudez, D., Boerjan, W., Brun, A., Brunner, A., Busov, V., Campbell, M., Carlson, J., Chalot, M., Chapman, J., Chen, G.L., Cooper, D., Coutinho, P.M., Couturier, J., Covert, S., Cronk, Q., Cunningham, R., Davis, J., Degroove, S., Déjardin, A., dePamphilis, C., Detter, J., Dirks, B., Dubchak, I., Duplessis, S., Ehlting, J., Ellis, B., Gendler, K., Goodstein, D., Gribskov, M., Grimwood, J., Groover, A., Gunter, L., Hamberger, B., Heinze, B., Helariutta, Y., Henrissat, B., Holligan, D., Holt, R., Huang, W., Islam-Faridi, N., Jones, S., Jones-Rhoades, M., Jorgensen, R., Joshi, C., Kangasjärvi, J., Karlsson, J., Kelleher, C., Kirkpatrick, R., Kirst, M., Kohler, A., Kalluri, U., Larimer, F., Leebens-Mack, J., Leplé, J.C., Locascio, P., Lou, Y., Lucas, S., Martin, F., Montanini, B., Napoli, C., Nelson, D.R., Nelson, C., Nieminen, K., Nilsson, O., Pereda, V., Peter, G., Philippe, R., Pilate, G., Poliakov, A., Razumovskaya, J., Richardson, P., Rinaldi, C., Ritland, K., Rouzé, P., Ryaboy, D., Schmutz, J., Schrader, J., Segerman, B., Shin, H., Siddiqui, A., Sterky, F., Terry, A., Tsai, C.J., Uberbacher, E., Unneberg, P., Vahala, J., Wall, K., Wessler, S., Yang, G., Yin, T., Douglas, C., Marra, M., Sandberg, G., Van de Peer, Y., and Rokhsar, D. (2006) The genome of black cottonwood, *Populus trichocarpa* (Torr. & Gray). Science 313: 1596–1604.
- 山本福壽・本間 環 (2003) 薬剤による花芽形成の抑制の実施検討. (スギ花粉症克服に向けた総合研究. 第Ⅱ期成果報告書. 文部科学省). 207–217.
- 横山敏孝 (1994) スギ人工林と花粉. 林木の育種 172: 15–18.
- Weigel, D. and Nilsson, O. (1995) A developmental switch sufficient for flower initiation in diverse plants. Nature 377: 495–500.
- Zik, M. and Irish, V. F. (2003) Flowering development: initiation, differentiation, and diversification. Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 19: 119–140.