

ジャガイモマイクロチューバー生産技術の開発、 実用利用、応用

大西 昇

(キリン株式会社 基盤技術研究所)

キリン社は1980年代より、組織培養法を用いた植物の大量増殖システムの開発と実用利用を進めて来ている¹⁾。同システムは種々の基幹培養技術と周辺技術からなるが、本稿ではまず、もっとも早く確立し、その後のすべての技術開発の基盤となったジャガイモマイクロチューバー技術について紹介する。その後、社会課題解決に向けた技術の応用検討例として、東北地方の海岸防災林の復興に必要なクロマツ苗木の増殖の取組みについて触れる。

マイクロチューバーとは

無菌環境下で形成される極小の塊茎（ジャガイモ）がマイクロチューバーである（図1、サイズ0.5～3 g程度、以下MT）。MTは茎の節の部分に形成される。通常の塊茎に比して非常に小さいため、圃場（畑）での生育性にはハンディがある一方、高い増殖効率や貯蔵/流通過程での大幅な省力化などのメリットが実用場面で確認されている。日本では1999年より原原種（上流の種いも）としての利用が可能となっており、特に新品種の急速増殖の場面を中心に今日まで種いも生産に用いられている。

MTは基本的に以下の二つの工程/条件で誘導される。
①茎葉増殖工程：茎を明所で増殖させる、②塊茎形成工程：増殖させた茎をMT形成培地（高糖濃度、サイトカイニン添加、など）に置床し暗所で培養する。各工程1か月程度の培養期間を経てMTが得られる。



図1. MT（品種 ジャガキッズレッド）

MTの生産技術

上記の基本工程/条件は、まず1960年代に寒天培養で見いだされたが¹⁾、得られるMTは非常に小さかった。また、培養作業は茎を切り分けて移植するという労働集約的なものであったため、作製効率も低くMTが用いられる場面は遺伝子源の保管や移動に限られていた。

筆者らはMTを種いも生産に利用することを目的に、圃場で生育し得るサイズのMTを高効率、省力、安全、低コストに生産する技術開発を試み、以下の要素技術を確立した。(1)植物体上部へのMT誘導法、(2)簡易なスケールアップを可能とする袋型培養槽、(3)作業をサポートする機器類、(4)MTの品質管理法、MTの栽培技術。(1)、(3)、(4)についてはすでに一部報告²⁾しているため本稿では概説とし、他の増殖技術にも共通する実用化に必須要素技術となった(2)を中心に紹介する。

(1) 植物体上部へのMTの誘導 培養槽を用いた液体培養により、寒天培養法に比してMTのサイズが明確に改善されることが報告されている³⁾。一方、同方法でMTが形成される位置は培地面付近に限られ、MTの「生産」に向けてはさらに改良が必要であった。筆者らはさまざまな培養条件を精査し、以下の新たな知見を把握した。①茎葉増殖工程での高濃度CO₂の施用が茎をストロン（地下茎）化する。②塊茎形成工程での気相部への通気が植物体上部にMTを誘導する。それぞれの場



図2. 植物体上部へのMT誘導



面での培地組成他の培養条件の最適化の結果、きわめて特長のかつ高効率の植物形態の誘導に成功した(図2)⁴⁾。植物体の上部にMTが密集して形成される形態である。特に②の条件は、実用場面で課題となりやすい品種間差も少なく、効率に差異はあるものの供試したすべての品種で植物体上部にMTを誘導できた。

(2) 袋型培養槽 培養効率の改善に目処がつく中、スケールアップの検討は難航した。当初は培養槽の大型化(～1 t)、新たな形状の培養槽(プール型など)の開発に重点を置き、通常塊茎に近いサイズのMT誘導に成功するなど種々の成果を得たが、最終的に現状の種いも供給システムの中では、コストおよび安定生産の点から本方向でのスケールアップは困難であると判断した。

上記とはまったく異なるコンセプトで、並行して検討を進めていたのが袋型培養槽である。以下を基本要件として開発を進めた。①液体通気培養が可能な機能と形状、②誰もが容易に扱えるサイズ(培養時の最大重量約5 kg)、③同重量の培地を保持しての自立性、④滅菌が容易でリユース可能、⑤安価、⑥培地の自動充填にも対応可能。開発当時、上記要件を満たす資材はなくメーカーと協働して開発を進めた。①②⑤を満たしながら③を実現するのがまず大きなハードルとなった。通気ポートの形状/配置、袋の形状/材質、加工精度などを一つずつ検討した後、試作品にてトータルの性能を評価した。その課題以上に検討に時間を要したのが④であった。簡易なりユースに向け、滅菌はオートクレーブとした。すなわち、種々の構造を有した乾物(培養袋)を、生産場面で求められる効率と信頼性でオートクレーブ滅菌するという難度の高い課題であった。培養袋の材質/形状を筆頭に、滅菌条件をさまざまに検討し最終的に目標に達したが、確立までには数年を要した。またその設定した滅菌条件も、生産環境に応じ更なる改良が必要であった。

培地の滅菌には、ろ過滅菌法を用いた。ろ過だけで完全な滅菌を担保することも高難度の課題である。しかも低コスト生産の観点から、フィルターはリユースを前提

とした検討であったため、やはり確立までには数年を要した。当初はまったく想定外の原因により、植え付けた数百の培養槽のすべてがコンタミしたケースもあった。技術確立のポイントは、フィルターの選定、滅菌法、使用後の取扱い法、フィルターの品質管理、簡易なポンプ/培地タンク類の整備であった。

図3に生産用の培養室の一例を示す。後述するサポート作業機器類の活用もあり、最終的に、培養の準備や発送までの後処理の作業を含め、2人以下の人工で年間数千枚の培養袋の取扱いを安定的に実現できた。植物組織培養の分野では、類例の少ない生産/作業効率と思われる。

(3) 作業サポート機器類 培養効率が改善され、スケールアップが進展するほど、MTが得られた後の作業効率が実用化における律速要因となった。具体的な作業としては、①MTの収穫(植物体からのMTの回収)、②収穫したMTのサイズ分け、③サイズ分けしたMTの計数、④MTの圃場への植え付けである。いずれも既存農業機器を改造することによって必要な作業効率をクリアした。改造のもとになった農業機器はそれぞれ以下の通りである。①枝豆収穫機、②ミニトマト選別機、③種子計数機、④ジャガイモ植付け機および豆類真空播種機。MT収穫機のみは適用できる品種が限定されたが、他の開発した機器は汎用性が高かった。

(4) MTの品質管理、栽培技術 MTも塊茎として休眠特性を有し、出荷/植え付けには休眠の制御がきわめて重要であった。品種ごとに保存および休眠覚醒の条件を設定し、萌芽(発芽)能力の高いMTの出荷に努めた。完全に休眠を制御できた場合、MTは通常の塊茎に比して圃場での萌芽が早くなる。萌芽後の初期生育は遅れるが、生育後期には通常塊茎に比して栄養生長が旺盛になる。これらの特徴を把握した上で適した栽培技術を確立するために、北海道から鹿児島までの10を越える農業協同組合/生産者、研究機関、企業と10年を越える協働を行い、複数の栽培マニュアルを作成した。他の増殖技術を含め、得られる増殖物の生育特性は通常の苗に比してかなり異なるため、増殖物に適した栽培技術の確立は不可欠である。

MT技術の事業利用、展開

一連の技術開発、法要件のクリア、事業体構築を経て2000年にMT技術をコアとした事業を開始した。国内外の新品種をMTで急速増殖し、以前よりも早くお客様に届けるというビジネスである。当初は技術的な課題も発生したが、生産場面での改善と検証を通じて解決し、事業を順次拡大できた。キリン社でのMT生産は約10年続き、200万個以上のMT、1万tに近いMTからの種いも生産を行った⁴⁾。生産は現在も継続されている。MT



図3. MT生産培養庫(莖葉増殖工程)



の基本技術は農研機構種苗管理センターにも移管した。

一連のMT関連技術がその後の技術開発の基盤となり、現在までにさまざまな組織（茎、芽、胚）の大量増殖技術を確立できている⁵⁾。中でも芽の増殖法は、ブレンダーで植物組織を処理し、その切断/破砕物から芽を大量増殖すると言うきわめてユニークなものである⁶⁾。

次に、社会課題解決への技術の応用検討の一例として、東日本大震災で壊滅的被害を受けた東北地方太平洋岸の海岸防災林の再生に、組織培養法を用いたクロマツ苗木の大量増殖技術の適用を試みた取組みを紹介する。

不定胚によるクロマツ苗木の増殖

上記の海岸防災林の再生に必要なクロマツ苗木の数量は1000万本以上と膨大であるが、現状ではその供給量は限られている。筆者らと協働先である森林総合研究所は、農食研事業「東北地方海岸林再生に向けたマツノサイセンチュウ抵抗性クロマツ種苗生産の飛躍的向上」で不定胚（培養細胞などから形成される胚）法による苗木増殖の開発を担当し、基本技術を確立した（培養法の詳細は同事業の成果マニュアル⁷⁾にまとめられている）。

基本培養技術 不定胚法の最大の特長はその増殖効率である。筆者らは以前に、観葉植物のスパティフィラムにおいて培養槽あたり数万本の苗に相当する不定胚の生産を達成し、事業利用した経験を有している⁸⁾。クロマツでは寒天培養による不定胚増殖技術は確立されていたが、液体培養の報告例はほとんどなかったため、同技術の開発をターゲットとした。確立した技術のポイントは以下である。①液体培養に適したembryogenic細胞の確立：他の植物種と同様に最重要要素であった。②液体不定胚誘導培地へのエチレン作用阻害剤の添加：他植物には見られない効果があり本法を特徴づける条件である。③不定胚の脱水（図4）：本工程にて高い発芽力が付与される。④不定胚苗木の生育特性の把握：苗木は植え付けられた後、数十年に渡り役割を果たして行くため、不可欠な検討項目である。

地域との連携 海岸防災林の復興には長年月を要する。不定胚技術がどのように貢献し得るかの検討自体にも数年を要するため、取組みは地域の次の世代の方々と

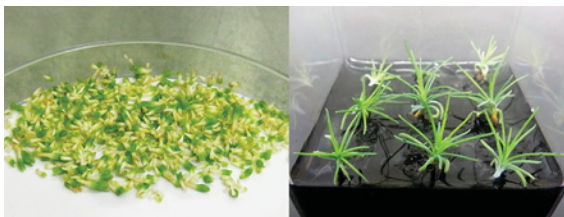


図4. 脱水不定胚およびその発芽



図5. 柴田農林高校との試験植林（キリンビール仙台工場）



図6. 日本森林林業振興会/宮城森の会/キリンビール仙台工場との試験植林（東松島市）

進めることが重要と考えている。その先駆けとして宮城県柴田農林高校と協働し、宮城県林業技術総合センターおよび森林総合研究所東北育種場の協力も得ながら、培養技術の移管と苗木の育成を進めている。生徒の皆さん、先生方、関係者の努力により、これまでに不定胚の誘導、発芽、苗木化などの一連の技術を修得いただきつつある。2017年秋には育成した不定胚苗木をキリンビール仙台工場に試験植林を行う段階に至った（図5）。また2018年の春には仙台湾の被災地にも試験植林を行った（図6）。通常の種子苗木に比して育苗に時間は要したが、現在は順調な生育を示している。今後も地域との連携を進め、将来につながる取組みとして行きたい。

おわりに

MTの最初の培養試験は1984年に開始した。以来さまざまな増殖技術を確立でき、また緒に就いたばかりではあるが、社会的課題にも貢献の可能性が出てきていることは望外の経過である。現在は培養植物での有用物質生産を重点テーマとして取り組んでいる。それらの進展についてもいつか紹介できるよう、チャレンジを続けていきたい。



文 献

- 1) Wang, P. J. and Hu, C. Y.: *Am. Potato J.*, **59**, 33 (1982).
- 2) 大西 昇：いも類振興情報, **110**, 12 (2012).
- 3) Akita, M. and Takayama, S.: *Plant Tissue Cult. Lett.*, **10**, 242 (1993).
- 4) 大西 昇ら：日本植物細胞分子生物学会大会講演要旨集, p. 90 (2014).
- 5) 大西 昇ら：日本植物細胞分子生物学会大会講演要旨集, p. 41 (2015).
- 6) 大西 昇：アグリバイオ (in press) (2018).
- 7) 大西 昇ら：寒冷地におけるマツノザイセンチュウ抵抗性クロマツ苗木の安定供給（採種園管理者と苗木生産者のためのマニュアル）, p. 16, 森林総合研究所 (2016).
- 8) 大西 昇ら：日本植物細胞分子生物学会大会講演要旨集, p. 91 (2014).