マイクロサテライトマーカーを使用したヒバ天然林および育種集団における 遺伝的多様性と集団間の遺伝構造の評価

樋口有未¹・松本麻子²・森口喜成^{*,2}・三嶋賢太郎³・田中功二⁴
矢田 豊⁵・高田克彦⁶・渡辺敦史³・平尾知士³・津村義彦²

ヒバの天然林集団と選抜集団の遺伝的多様性および集団間の遺伝構造を明らかにするため、北海道、青森県、岩手県、新潟県、石川県のヒバ天然林集団（1道4県7集団）と育種が盛んな青森県、新潟県、石川県の3県の選抜集団を対象に、5座の核のマイクロサテライトマーカーを用いた解析を行った。青森県、新潟県、石川県の3県の天然林集団と選抜集団の遺伝的多様性は同程度であった。STRUCTURE 解析およびNJ 系統樹の結果、新潟県と石川県の天然林集団と選抜集団がその他の集団と遺伝的に異なることが示された。NJ 系統樹の結果は各集団の地理的な位置関係を反映しており、3県の選抜集団がそれぞれの天然林集団から選抜されたことが支持された。検出されたヒバ天然林集団間の遺伝構造は、天然林の分布変遷や選抜集団の由来に起因していると考えられた。

キーワード：遺伝的変異, SSR, 選抜集団, 天然林集団, ヒノキアスナロ

Yuumi Higuchi,¹ Asako Matsumoto,² Yoshinari Moriguchi,^{*,2} Kentaro Mishima,³ Koji Tanaka,⁴ Yutaka Yada,⁵ Katsuhiko Takata,⁶ Atsushi Watanabe,³ Tomonori Hirao,³ Yoshihiko Tsumura² (2012) Genetic Diversity and Structure Using Microsatellite Markers in Natural and Breeding Populations of *Thuja dolabrata* var. *hondae*. J Jpn For Soc 94: 247–251 The genetic diversity and genetic structure of the natural and breeding populations in Hiba (*Thuja dolabrata* var. *hondae*) were investigated using five nuclear microsatellite markers. DNA samples were collected from seven natural populations in five prefectures (Hokkaido, Aomori, Iwate, Niigata, and Ishikawa) and three breeding populations in three prefectures famous for Hiba breeding (Aomori, Niigata, and Ishikawa). The genetic diversity such as allelic richness and expected heterozygosity between natural and three breeding populations were similar. In the results of STRUCTURE analysis and NJ tree, natural and breeding populations in Niigata and Ishikawa Prefectures were genetically differentiated from other populations. The NJ tree reflected the geographic location of each population, which suggested that the three breeding populations were selected from the natural populations in each prefecture. The detected genetic structures might be derived from the difference of their establishment process.

Key words: genetic diversity, SSR, breeding population, natural population, *Thuja dolabrata* var. *hondae*

I. は じ め に

ヒノキアスナロ (*Thuja dolabrata* var. *hondae*) は、北海道（渡島半島以南）と本州北部（太平洋側では栃木県、日本海側では能登半島まで）に天然分布し（倉田 1964；佐竹 1989）、我が国の林業分野では昔からヒバと呼ばれている。ヒバは耐陰性に優れ、人工造林では複層林の下木としても利用される。また材は耐水性、耐朽性に優れており、家の土台や風呂に利用され、石川県では輪島塗り漆器としても使用されている（斎藤 1972）。ヒバは、青森県、石川県、新潟県佐渡島で盛んに造林されている。青森県と新潟県の2県では実生造林が行われており、遺伝的に優良

な実生苗を生産するため、それぞれの県内から成長などの形質の優れた個体が選抜され、ヒバミニチュア採種園が造成されている（田中・矢本 2003；樋口・伊藤 2012）。針葉樹では、自殖や近親交配により充実率、発芽率、得苗率が低下することが確認されている（Bingham and Squillace 1955；Barnes *et al.* 1962；Orr-Ewing 1965；横山 1977；田島 1979）。そのため、成長や樹形によって選抜された選抜集団と天然林集団の遺伝的多様性を解析し、選抜集団の遺伝的多様性が著しく低い場合には、必要に応じて対策を講じる必要がある。また、スギやヒノキで調べられているように（Tsumura *et al.* 2007a, b；Matsumoto *et al.* 2010）、天然林集団間の遺伝構造の解明は、天然林資源を最大限に利

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

¹ 元新潟県森林研究所 〒958-0264 村上市鶴渡路 2249-5 (Niigata Prefectural Forest Research Institute, 2249-5 Uonoto, Murakami 958-0264, Japan)

² 独立行政法人森林総合研究所 〒305-8687 つくば市松の里 1 (Department of Forest Genetics, Forestry and Forest Products Research Institute, 1 Matsunosato, Tsukuba 305-8687, Japan)

³ 独立行政法人森林総合研究所林木育種センター 〒319-1301 日立市十王町伊師 3809-1 (Forest Tree Breeding Center, Forestry and Forest Products Research Institute, 3809-1 Ishi, Juo, Hitachi 319-1301, Japan)

⁴ 青森県産業技術センター林業研究所 〒039-3321 青森県東津軽郡平内町大字小湊字新道 46-56 (Aomori Prefectural Forest Research Institute, Aomori Prefectural Industrial Technology Research Center, 46-56 Hiranai-machi, Higashitsugaru-gun, Aomori 039-3321, Japan)

⁵ 石川県林業試験場 〒920-2114 白山市三宮町ホ-1 番地 (Ishikawa Prefectural Forest Experimental Station, Ho-1 Sannomiya-machi, Hakusan 920-2114, Japan)

⁶ 秋田県立大学木材高度加工研究所 〒016-0876 能代市海詠坂 11-1 (Institute of Wood Technology, Akita Prefectural University, 11-1 Kaieisaka, Noshiro 016-0876, Japan)

(2012 年 2 月 7 日受付；2012 年 8 月 14 日受理)

用する上でも、天然林集団の保全の上でも重要である。一方、石川県（能登を中心とした日本海側）では古くからアテという通称が使用され、マアテ、カナアテ、クサアテなどのさし木発根性の高い林業品種によるさし木造林が行われてきた。さし木発根性の高い個体が選抜されてきたため、選抜集団の遺伝的多様性が天然林集団と比べて極端に低い可能性がある。

本研究では、ヒバの天然林集団と選抜集団の遺伝的多様性および各集団の遺伝的特徴を明らかにし、両者を比較することによって各県の選抜集団について議論した。

II. 材料と方法

1. 試料の採取とDNA抽出

本研究では、ヒバの育種が盛んに行われている青森県、新潟県、石川県の3県の選抜集団とこれらの3県に北海道と岩手県を加えた1道4県の天然林集団からDNA抽出用の針葉を採取した（図-1、表-1）。天然林集団については、選抜集団がある3県の4集団104個体に加え、北海道（1集団）および岩手県（2集団）の3集団76個体、合計180個体から採取した（表-1、図-1）。採取木は、個体間の距離が30 m以上離れた成木とした。選抜集団については、青森県、新潟県、石川県の各県が造成したクローン集植所において、それぞれ94個体、55個体、87個体を採取した（表-1）。DNAの抽出はDNeasy Plant Mini Kits（Qiagen）を使用した。

2. 核マイクロサテライトマーカー解析

本研究では、ヒバで開発された5座の核マイクロサテライトマーカーを使用した（表-2; Mishima *et al.* 2012）。PCR増幅は、各Primer 0.4~10 μ M, 2×Multiplex PCR master mix（Qiagen）, 5 ngの鋳型DNAを含む6 μ Lの反応系で95°C 15分のあと、94°C 30秒・60~62°C 1分30秒・72°C 1分を32~35サイクル、60°C 30分でGeneAmp PCR System Model 9700（Applied Biosystem）を使用して行った。全個体の遺伝子型の決定には、ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer（Applied Biosystem）を使用した。

天然林集団について本研究で使ったマイクロサテライトマーカーにおけるnull対立遺伝子頻度をMicro-checker ver. 2.2.3（Van Oosterhout *et al.* 2004）でBrookfield-1の計

表-1. 供試サンプルの概要

集団名	緯度	経度	供試サンプル数	遺伝子型数 ^{a)}	備考
青森県選抜	—	—	94	93	青森県農林総合研究センター林業試験場
石川県選抜	—	—	87	15	石川県林業試験場
新潟県選抜	—	—	55	50	新潟県森林研究所
とど川	41.83	140.20	23	23	北海道天然林集団
中里	40.96	140.44	31	31	青森県天然林集団
奥戸	41.28	140.57	27	25	青森県天然林集団
御明神	39.38	140.54	29	29	岩手県天然林集団
五葉山	39.12	141.43	24	24	岩手県天然林集団
珠洲	37.44	137.27	16	16	石川県天然林集団
佐渡	37.97	140.24	30	30	新潟県天然林集団

^{a)} 同じ遺伝子型のサンプルを除外したサンプル数。

算式（Brookfield 1996）を使用して評価した。また、各マイクロサテライトマーカーのクローン識別能力の指標として、Probability of identity（PI）をGenAlex ver.6.2（Peakall and Smouse 2006）で評価した。

五つのマイクロサテライトマーカーによるクローン識別の結果に基づき、同じ遺伝子型が複数検出された選抜集団では1サンプルのみを遺伝的多様性および集団間の遺伝構造の評価に使用した（表-1、表-3）。5座の遺伝子型データをもとに、天然林集団と選抜集団における対立遺伝子数、対立遺伝子多様度（Allelic richness; AR ）、集団固有対立遺伝子数、ヘテロ接合度の観察値（ H_0 ）と期待値（ H_E ）をGenAlex ver.6.2（Peakall and Smouse 2006）で評価した。また、七つの天然林集団を用い、天然林集

図-1. ヒバ天然林7集団の位置図

表-2. 使用した各マイクロサテライトマーカーにおける推定null対立遺伝子頻度および五つのマーカーを使用した場合のクローン識別能力指数（PI）

集団名	Null 対立遺伝子頻度					PI
	TD42	TD36	TD34	TD10	TD74	
とど川	0.007	0.011	0.011	0.180	0.279	0.000036
中里	0.075	-0.024	-0.055	0.195	0.217	0.000010
奥戸	0.131	0.011	0.079	0.222	0.161	0.000006
御明神	0.107	-0.005	0.132	0.271	0.185	0.000006
五葉山	0.094	-0.065	0.125	0.186	0.200	0.000011
珠洲	0.170	0.003	0.047	0.270	0.291	0.000055
佐渡	0.198	-0.012	0.105	0.355	0.318	0.000055

表-3. ヒバ天然林および選抜集団の遺伝的多様性

集団名	供試個体数	対立遺伝子の豊富さ (AR)	H_0	H_E	固有の対立遺伝子数	F_{IS}
青森県選抜	93	6.6	0.483	0.728	2.6	0.332*
石川県選抜	15	5.8	0.351	0.705	0.0	0.513*
新潟県選抜	50	5.4	0.452	0.676	0.6	0.326*
とど川	23	6.0	0.500	0.678	0.2	0.271*
中里	31	6.4	0.586	0.737	0.4	0.208*
奥戸	25	6.9	0.532	0.759	0.0	0.300*
御明神	29	6.1	0.512	0.765	0.2	0.322*
五葉山	24	6.1	0.538	0.741	0.8	0.277*
珠洲	16	5.3	0.403	0.692	0.0	0.506*
佐渡	30	5.1	0.346	0.688	0.2	0.436*
天然林の平均	25.4	6.0	0.488	0.723	0.3	
選抜集団の平均	52.7	5.9	0.429	0.703	1.1	

AR , 標準サンプルサイズを10個体として計算した; H_0 , ヘテロ接合度（観察値）; H_E , ヘテロ接合度（期待値）。 F_{IS} の0からの隔たりの有意性は1,000回の並び替え検定を実施し、ボンフェローニ補正して調べた。* $p < 0.05$ 。

図-2. STRUCTURE 解析 (Pritchard *et al.* 2000) により検出された二つのクラスターの分布

団間の遺伝的分化の指標である固定指数 (F_{ST} ; Weir and Cockerham 1984), 遺伝子分化係数 (G_{ST} ; Nei 1973), 標準化した遺伝子分化係数 (G'_{ST} ; Hedrick 2005), 固定指数 (F_{IS}) を FSTAT ver. 2.9.3.2 (Goudet 2002) で推定した。各遺伝子座および各集団の F_{IS} について 0 からの隔たりが有意かどうかを並び替え検定 (permutation test) で調べた。さらに、各集団の遺伝的関係を明らかにするため、対立遺伝子頻度から集団間の遺伝距離 (shared allele distance (D_{AS}); Chakraborty and Jin 1993) に基づいた NJ 系統樹を Populations ver. 1.2.30beta (Langella 2007) を用いて作成した。さらに、STRUCTURE 2.3.1 (Pritchard *et al.* 2000) を用いて遺伝構造を評価した。使用した遺伝子座に null 対立遺伝子が存在したため (結果および考察参照), STRUCTURE 解析では検出された対立遺伝子を 1, 0 データとして扱い、混合モデル, F モデル, LOCPRIOR モデルの組み合わせで行った。最適なクラスター数 (K) は対数尤度 ($\ln Pr(X|K)$) に基づいて推定した。

III. 結 果

本研究で使用した 5 座のマイクロサテライトマーカーを用いた場合の PI はすべての天然林集団において 0.0001 以下であった (表-2)。5 遺伝子座のマイクロサテライトマーカーを用いたクローン識別の結果、奥戸集団 (青森県の天然林) とすべての選抜集団において、集団内で同一遺伝子型を示す個体が検出された (表-1)。石川県選抜集団では、集団内に同一遺伝子型を示す個体が多数あり、最終的に 15 遺伝子型に集約された。

Micro-checker ソフトウェアで null 対立遺伝子頻度を調べた結果、TD36 を除くすべてのマーカーにおいて推定 null 対立遺伝子頻度が高い集団が検出された (表-2)。各集団の遺伝的多様性を評価するために計算した AR , H_0 , H_E については、選抜集団の平均値はそれぞれ 5.9, 0.429, 0.703 であり、天然林の平均値の 6.0, 0.488, 0.723 と同程度であった (表-3)。各集団の F_{IS} はすべての集団で 0 より有意に大きかった。一方、集団固有の対立遺伝子数については、青森県の選抜集団で最も高かった。天然林集団間の遺伝的分化の程度は、 F_{ST} , G_{ST} , G'_{ST} の値が各々 0.046, 0.041, 0.047 であった。

図-3. 遺伝距離 (D_{AS} , Chakraborty and Jin 1993) に基づく NJ 系統樹

樹上の数値は、ブートストラップ確率 (%) を示す。

STRUCTURE 解析の結果では、最適なクラスター数は $K=2$ となった。北海道、青森県、岩手県の天然林集団および青森県の選抜集団ではクラスター I が、新潟県と石川県の天然林集団と選抜集団ではクラスター II が優占し、遺伝的に異なることが示された (図-2)。この傾向は集団間の遺伝距離に基づいて作成された NJ 系統樹の結果からも支持された (図-3)。NJ 系統樹の結果は各集団の地理的な位置関係を反映していた。

IV. 考 察

本研究で使用した 5 座のマイクロサテライトマーカーを用いた場合の PI はすべての天然林集団において 0.0001 以下で、非常に高い確率でクローン識別が可能であった。

マイクロサテライトマーカーを用いたクローン識別の結果、石川県の選抜集団は他の県の選抜集団 (青森県 93 遺伝子型, 新潟県 50 遺伝子型) よりも少ない 15 遺伝子型数であった。これは、石川県ではさし木品種のクローン造林地から優良個体の選抜を行ったためと考えられる。青森県の奥戸天然林集団とすべての選抜集団では、集団内に同一遺伝子型を示す個体が検出された。この理由として、生態的要因と人為的要因の二つが考えられる。ヒバでは、小径木や稚樹の下枝がしばしば下垂あるいは匍匐し、枝の接地

部分や埋土部分から発根し、やがて栄養的に独立する（伏条更新）。橋本ら（1999）は、岩手県のみズナラ-ヒバ林において広範囲のヒバが伏条更新に由来すると考えられる同一遺伝子型のクローンであったことをアイソザイムによって明らかにした。青森県の天然林では偶然同じジェネットのヒバをサンプリングした可能性がある。新潟県の選抜集団で同一遺伝子型を示した佐渡 21 号と佐渡 37 号は同一林分で選抜された精英樹であるため、これらも天然林から選抜する際に同じジェネットのヒバを選抜した可能性が高い。一方、選抜集団については、クローン集植所の造成過程で起こる人為的な誤植の可能性も考えられる。Moriguchi *et al.* (2005) はスギ採種園の造成に利用する採種園における人為的な誤植（ラベルミスや植栽ミス）が 5.7% であったことを報告した。各県において選抜された育種母材は、増殖から保存の過程で、様々な人為的なミスによる取り違いの危険にさらされる。育種事業の基盤となるクローン集植所や採種園などを造成する際には、DNA マーカーを用いて遺伝子型の確認を行うことが重要である。

ヒバ天然林集団間の遺伝的分化の程度 ($F_{ST}=0.046$, $G_{ST}=0.041$, $G'_{ST}=0.047$) は低く、スギ ($F_{ST}=0.028$; Takahashi *et al.* 2005) やヒノキ ($G_{ST}=0.048$, $F_{ST}=0.039$; Matsumoto *et al.* 2010) などの他の日本の針葉樹の場合と似た値を示した。天然集団と比較した育種集団における遺伝的多様性の低下は、いくつかの針葉樹で報告されている (Moran and Bell 1987; Rajora 1999)。本研究では、青森県、新潟県および石川県におけるヒバ選抜集団と天然林集団との遺伝的多様性を比較した。その結果、いずれの県のヒバ選抜集団も、 AR , H_O , H_E の値において天然林集団と同程度の遺伝的多様性を保持していた。青森県の選抜集団は青森県内の五つの天然林集団から選抜されたが、今回の研究に供試した天然林集団はそのうちの 2 集団のみであった。青森県の選抜集団で検出された高い集団固有対立遺伝子数は、今回使用しなかった 3 天然林集団に由来すると考えられる。

5 座のマイクロサテライトマーカーで評価した各集団の F_{IS} はすべての集団で 0 より有意に大きかったが、針葉樹の他殖率は一般的に高いこと (Williams 2009) や TD36 ではすべての天然林集団で F_{IS} が 0 より有意に隔たっていないことから（データ非参照）、ヌル対立遺伝子に起因する可能性が高いと考えられる。そのため本研究では、遺伝距離の評価には対立遺伝子頻度のみに基づいて計算する shared allele distance (D_{AS}) を用い、集団構造の評価のために行った STRUCTURE 解析ではデータを優性マーカーとして扱うこととした。

NJ 系統樹の結果は各集団の地理的な位置関係を反映しており、ヒバの造林が盛んに行われている 3 県の選抜集団がそれぞれの天然林集団から選抜されたことが支持された。STRUCTURE 解析および NJ 系統樹の結果、石川県と新潟県の選抜集団および天然林集団は北海道、青森県、岩手県の集団と遺伝的に異なっていた。石川県と新潟県の天然集団はヒバ分布域の辺縁部に孤立分布し（倉田 1964）、

AR などの遺伝的多様性に関連する値もその他の天然集団に比べて低い（表-3）。このような集団では、遺伝子流動の制限によって分布の中心集団より遺伝的多様性が低くなり、集団が孤立した後の遺伝的浮動の影響で遺伝的に異なることがヒノキや *Picea jenzensis* でも報告されている (Aizawa *et al.* 2009; Matsumoto *et al.* 2010)。今後、新たなマイクロサテライトマーカーを開発し、秋田、山形、宮城、福島、栃木、群馬の天然集団を加えた詳細な解析を行うことが期待される。

本研究の結果、ヒバの育種が盛んに行われている青森県、新潟県、石川県の選抜集団が各県の天然林集団と同等の遺伝的多様性を保持していること、各県の選抜集団は天然林の遺伝的特徴を反映していること、石川県と新潟県の選抜集団および天然林集団は北海道、青森県、岩手県の集団と遺伝的に異なっていることが明らかになった。本研究で得られた結果は、ヒバの育種事業を進める上での遺伝的な基礎情報として活用が期待される。青森県と新潟県では、造林に選抜集団の後代実生苗を使用する。実生苗の遺伝的多様性は、採種園に用いる選抜集団の遺伝的多様性だけでなく、採種園の各クロンの種子生産量や雄花着生量の影響も受けるため、苗木の普及に向け、今後は各クロンの着花性の調査が必要であると考えられる。

本研究を行うにあたり、石川県林業試験場の松元浩氏および小谷二郎氏に材料提供等でお世話になった。記して深謝の意を表する。

引用文献

- Aizawa M, Yoshimaru H, Saito H, Katsuki T, Kawahara T, Kitamura K, Shi F, Sabirov R, Kaji M (2009) Range-wide genetic structure in a north-east Asian spruce (*Picea jezoensis*) determined using nuclear microsatellite markers. *J Biogeogr* 36: 996–1007
- Barnes BV, Bingham RT, Squillace AE (1962) Selective fertilization in *Pinus monticola* Dougl. II. Results of additional tests. *Silvae Genet* 11: 103–111
- Bingham RT, Squillace AE (1955) Self-compatibility and effects of self-fertility in western white pine. *Forest Sci* 1: 121–129
- Brookfield JFK (1996) A simple new method for estimating null allele frequency from heterozygote deficiency. *Mol Ecol* 5: 453–455
- Chakraborty R, Jin L (1993) Determination of relatedness between individuals using DNA fingerprinting. *Hum Biol* 65: 875–895
- Goudet J (2002) FSTAT (version 2.9.3.2) <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>
- 橋本良二・山口礼子・佐藤典生 (1999) アイソザイム変異によるヒバの伏条繁殖クラップの出現と更新パターンの検討. *日林誌* 81: 169–177
- Hedrick P (2005) A standardized genetic differentiation measure. *Evolution* 59: 1633–1638
- 樋口有未・伊藤信治 (2012) ヒバ精英樹育種に関する試験 (I) 佐渡選抜ヒバ精英樹の種子生産特性. *新潟森林研報* 53: 1–6
- 倉田 悟 (1964) 原色日本林業樹木図鑑 第 1 巻. 地球出版
- Langella O (2007) *POPULATIONS (version 1.2.30)*. <http://bioinformatics.org/~tryphon/populations/>.
- Matsumoto A, Uchida K, Taguchi Y, Tani N, Tsumura Y (2010) Genetic diversity and structure of natural fragmented *Chamaecyparis obtusa* populations as revealed by microsatellite markers. *J Plant Res* 123: 689–699
- Mishima K, Hirao T, Watanabe A, Takata K (2012) Isolation and characterization of microsatellite markers for *Thujaopsis dolabrata* var. *hondai* (Cupressaceae). *Primer Notes & Protocols Section of Am J Bot*: e317–e319
- Moran GF, Bell JC (1987) The origin and genetic diversity of *Pinus*

- radiata* in Australia. *Theor Appl Genet* 73: 616–622
- Moriguchi Y, Tani N, Ito S, Kanehira F, Tanaka K, Yomogida H, Taira H, Tsumura Y (2005) Gene flow and mating system in five *Cryptomeria japonica* D. Don seed orchards as revealed by analysis of microsatellite markers. *Tree Genet Genomes* 1: 174–183
- Nei M (1973) Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc Natl Acad Sci USA* 70: 3321–3323
- Orr-Ewing AL (1965) Inbreeding and single crossing in Douglas-fir. *Forest Sci* 11: 279–290
- Peakall R, Smouse PE (2006) GENEALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol Ecol Note* 6: 288–295
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945–959
- Rajora OP (1999) Genetic biodiversity impacts of silvicultural practices and phenotypic selection in white spruce. *Theor Appl Genet* 99: 945–961
- 斎藤晃吉 (1972) 第1部 アテ造林のあゆみ. (アテ造林史. 斎藤晃吉編, 石川県林業試験場). 1–108
- 佐竹義輔 (1989) ヒノキ科アスナロ属. (日本の野生植物 木本 I. 佐竹義輔・原寛・亘理俊次・富成忠夫編, 平凡社). 20–21
- 田島正啓 (1979) ヒノキの自殖に関する遺伝学的研究. 九大農演報 51: 39–124
- Takahashi T, Tani N, Taira H, Tsumura Y (2005) Microsatellite markers reveal high allelic variation in natural populations of *Cryptomeria japonica* near refugial areas of the last glacial period. *J Plant Res* 118: 83–90
- 田中功二・矢本智之 (2003) ヒバの育種・育林技術に関する研究. 平成15年度 青森林試報告: 81–86
- Tsumura Y, Kado T, Takahashi T, Tani N, Ujino-Ihara T, Iwata H (2007a) Genome scan to detect genetic structure and adaptive genes of natural populations of *Cryptomeria japonica*. *Genetics* 176: 2393–2403
- Tsumura Y, Matsumoto A., Tani N, Ujino-Ihara T, Kado T, Iwata H, Uchida K (2007b) Genetic diversity and the genetic structure of natural populations of *Chamaecyparis obtusa*: implications for management and conservation. *Heredity* 99: 161–172
- Van Oosterhout CV, Hutchison WF, Wills DPM, Shipley P (2004) Micro-checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Mol Ecol Resour* 4: 535–538
- Weir BS, Cockerham CC (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38: 1358–1370
- Williams CG (2009) The dynamic wind-pollinated mating system. In: *Conifer reproductive biology*. Springer
- 横山敏孝 (1977) スギの自殖不稔の主因. 日林誌 59: 389–390