分子マーカー情報に基づく採種園の遺伝的管理

森口喜成^{*1}・後藤 晋²・高橋 誠³

森口喜成・後藤 晋・高橋 誠：分子マーカー情報に基づく採種園の遺伝的管理 日林誌 87：161~169, 2005 採種園研究に分子マーカーが利用されることにより、従来技術では制限のあった採種園における構成クローンの同定、園外からの花粉混入率、自殖率、次代に対する各構成クローンの花粉親としての寄与率に関する知見が急速に蓄積されつつある。これらの研究から、数%程度の誤植、30%以上の花粉混入率、5%以下の自殖率が多く、採種園で一般的であることが示された。また、報告された構成クローンの花粉親としての寄与率は、いずれも均等交配から著しく偏っていた。これらの知見から、1) 採種園構成クローン以外の混入個体を除去するために、分子マーカーを用いてクローンの配置確認を行う、2) 花粉混入率を低下させるために、同樹種の少ない場所に採種園を造成する、着花促進、SMP 処理などによって空中花粉中の園内花粉の割合を大きくする、3) 自殖率を低下させるために、クローンあたりのラメート数を少なくする、4) 均等交配を実現するために、各クローンの雄花着花量を均等化する、開花期の著しく異なるクローンを除去する、といった遺伝的管理が重要だと考えられた。

キーワード：遺伝的管理、花粉汚染、寄与率、採種園、分子マーカー

Moriguchi, Y., Goto, S., and Takahashi, M.: **Genetic Management of Seed Orchards Based on Information Revealed by Molecular Markers.** J. Jpn. For. Soc. 87: 161~169, 2005 High resolution molecular markers allow precise identification of clones and give information on diverse variables such as levels of pollen contamination, self-fertilization, and the genetic contributions of constituent clones as pollen donors. The use of such markers in seed orchard studies has accumulatively provided new insights, which could not be obtained by conventional methods, revealing that small percentages of mislabeling or misplanting occur in most seed orchards, and levels of self-fertilization are generally low (<5%), but often more than 30% of pollen comes from external sources. Furthermore, the genetic contribution of specific orchard clones as pollen donors often severely deviates from the genetic contribution expected under panmixia. To obtain the maximum potential genetic gain, the following measures should be carefully applied: 1) to prevent errors in clone management, the identity of every ramet should be reconfirmed using molecular markers, and mislabeled clones should be removed, 2) to minimize pollen contamination, seed orchards should be established apart from conspecific forests, and the proportion of orchard pollen in the pollen cloud should be maximized by pollen management measures such as flowering promotion or supplemental mass pollination (SMP) treatments, 3) to reduce self-fertilization, the number of ramets of each clone should be reduced, 4) to promote panmictic mating, the male fecundity of orchard clones should be equalized, and extremely early- or late-flowering clones that do not match the flowering phenology of other clones should be removed.

Key words: genetic contribution, genetic management, molecular marker, pollen contamination, seed orchard

I. はじめに

採種園 (Seed orchard) の目的は、遺伝的に優れた種子を効率よく大量に生産することである。採種園は、精英樹などの選抜個体の栄養繁殖体で構成されるクローン採種園と、選抜個体の実生後代で構成される実生採種園に大別される (Zobel and Talbert, 1984)。我が国の多くの採種園は、地域別 (育種基本区別) に選抜された複数の精英樹の接ぎ木苗が植栽されたクローン採種園で、それらのクローン間の自然交配で生産される次代を造林用種苗として利用する (大庭, 1991)。理想的な採種園の条件は、① 大量の種子の安定供給、② 設計に基づく正確な植栽と管理、③ 採種園外からの花粉混入 (Pollen contamination) の回避、

④ 自殖 (selfing) の防止、⑤ 次代に対する構成クローンの均等寄与、の5点に集約される (Eriksson *et al.*, 1973; Wheeler and Jech, 1992)。採種園をこのような理想条件により近づけるためには、採種園におけるクローンの配置や交配実態を明らかにする必要がある。しかし、葉や幹などの形態的特徴に基づいたクローン識別は、対象となるクローン数が多いことに加え、形態的特徴の環境や発達段階による同一クローン内での変異が大きいため非常に困難であった。さらに、種苗の花粉親の特定については、これといった有効な手法がなく、交配様式は各クローンの雄花量などから間接的に推定するにとどまっていた。

しかし 1970 年代になり、酵素多型を利用したアロザイム (Allozyme) 分析の技術が開発されると、ラベルミスや

* 連絡・別刷請求先 (Corresponding author) E-mail: mchi@ffpri.affrc.jp

¹ (独) 森林総合研究所森林遺伝研究領域 (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.

² 東京大学大学院農学生命科学研究科附属北海道演習林 (079-1561 富良野市山部市街地)

University Forest in Hokkaido, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo, Yamabe, Furano 079-1561, Japan.

³ (独) 林木育種センター (319-1301 日立市十王町大字伊師 3809-1)

Forest Tree Breeding Center, 3809-1 Ishi, Juo, Hitachi 319-1301, Japan.

(2004 年 10 月 28 日受付; 2004 年 12 月 15 日受理)

植栽ミスの割合（以下、誤植率）、園外からの花粉混入率、自殖率、構成クローンの花粉親としての寄与率などの研究が始められ、特に、花粉混入率や自殖率の研究が精力的に行われた（Di-Giovanni and Kevan, 1991; Wheeler and Jech, 1992）。しかし、アロザイム分析では利用可能な遺伝子座数に制約があり、種苗の花粉親を1クローンに特定することは難しく、各クローンの花粉親としての寄与率に関する情報は極めて限定的であった。近年、情報量の多いマイクロサテライト（microsatellite, 別名 simple sequence repeat (SSR)）マーカーが開発され、精度の高いクローンの識別や花粉親の推定が可能となってきた。これらのマーカーを採種園研究に適用することにより、今日では、誤植率、花粉混入率、自殖率に加え、多くの採種園で各構成クローンの花粉親としての寄与率に関する研究が行われ、分子マーカーに基づく採種園におけるクローン配置の実態や交配実態についての知見が急速に蓄積されてきている。このような背景に基づき、本総説では、これまでに蓄積された分子マーカー情報を整理するとともに、それらの知見に基づいた採種園の遺伝的管理について考究した。

II. クローンの配置

採種園における構成クローンの適正配置とその管理は、改良効果が十分に発揮される理想の採種園を実現するための必要条件である（Wheeler and Jech, 1992）。しかし、採種園の造成には、採ぎ穂、接ぎ木苗の育成、ラベル付け、植栽といった多くの段階があり、各段階で人為的なミスが発生する可能性がある。採種園に導入されるクローンが設計時と異なると、均等交配の実現が困難になる場合がある。また、無選抜木が誤って植栽されると、生産される種子において実現されるべき遺伝的改良効果の一部を失わせる原因となる。これまでの報告では、ヨーロッパアカマツ（*Pinus sylvestris*）採種園で7~10%（Harju and Muona, 1989）、テーダマツ（*Pinus taeda*）採種園で約10%（Wheeler and Jech, 1992）、クロマツ（*Pinus thunbergii*）の二つの採種園でそれぞれ2%と20%（川内・後藤, 1999）といった誤植率が報告されている。これらの誤植の多くは、植栽列の見誤り、紛らわしい名前を持つクローン間での取り違いなどで発生している（川内・後藤, 1999）。また、接ぎ木苗を用いたクローン採種園では、接ぎ穂に代わって台木が生育する台木の立ち上がり（百瀬, 1969 b; 川内・後藤, 1999）が発生する可能性がある。

このように、採種園には5~10%程度の誤植率が存在する可能性があり、できれば分子マーカーを利用してクローン配置を確認することが望ましい。採種園でのクローンの配置確認を効率的に行う手法として、同一クローンの複数ラメートを混合（バルク）して一度にDNAを抽出し、DNA分析を行うバルク法がある（Michelmore *et al.*, 1991; Goto *et al.*, 2001）。ただし、誤植率が20%を超えると、バルク法は全個体調査に比べてむしろ非効率になるという報告もあり（Goto *et al.*, 2001）、事前に予備調査を行っ

ておおよその誤植率を推定した上で全体計画を立てる必要がある。クローンの配置確認は、種苗生産が事業的規模になる前で、なおかつまだクローンの移植が容易な段階に行うのが最も効率的である（Van de Ven and McNicol, 1995; Goto *et al.*, 2001）。クローンの確認を行った結果、構成クローン以外のクローンや無選抜木の混入が検出された場合、それらの個体はただちに伐採した方がよい。また、構成クローン間での取り違いが検出された場合、同一クローンが隣接していなければ立て札や位置図の方を修正し、同一クローンが隣接していれば自殖防止のために、どちらか一方を改植するような措置が現実的であろう。

III. 採種園外からの花粉混入

採種園外からの混入花粉が受精すると、生産される種子の花粉親は無選抜木であるため、次代の遺伝的獲得量の減少や次代検定データの推定精度の低下といった重大な問題が生じる（El-Kassaby *et al.*, 1989; Wang *et al.*, 1991）。花粉混入に関する研究は、アロザイムをはじめ Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)、葉緑体 DNA のマイクロサテライト（cp SSR）、核 DNA のマイクロサテライト（SSR）など様々な分子マーカーを用いて行われてきた（表-1）。多くの採種園では、30%を上回る高い花粉混入率が報告されており（Harju and Muona, 1989; Yazdani and Lindgren, 1991; Wang *et al.*, 1991; Adams *et al.*, 1997）、最も高い採種園では70%を超す深刻な値である（Pakkanen *et al.*, 2000）。一部の採種園では花粉混入率は数%と低い（El-Kassaby and Ritland 1986 b; Goto *et al.*, 2002 a, b; Stoehr and Newton, 2002）、そのような採種園では採種園周辺に同一樹種の林分が著しく少なく、造林樹種ではむしろ例外的なケースと考えられる。

花粉混入率に影響を及ぼす要因の一つは、周囲に存在する同樹種林分であると指摘されている（Nagasaka and Szmidt, 1984; Fast and Dancik, 1986; Goto *et al.*, 2002a）。森口ら（2003 b）・森口（2004）は、5カ所のスギ採種園で花粉混入率をマイクロサテライトマーカーを用いて推定し、GIS データから各採種園に植栽されているスギ林の面積を算出した結果、各採種園の周辺半径8 km 以内に分布するスギ林面積が多いほど花粉混入率が有意に高いという傾向を見いだした。一方、Fast and Dancik（1986）と Harju and Muona（1989）は、構成クローンの樹齢が若いと園内での花粉生産量が少ないため、結果的に花粉混入率が高くなることを指摘した。したがって、花粉混入率は、空中花粉における園内花粉と園外花粉の比に依存すると考えられる。

以上のことを考慮すると、採種園を同樹種林分の少ない地域に造成することができれば、花粉混入率を低いレベルに抑えられる可能性がある。しかし、Pakkanen *et al.*（2000）は、主要造林樹種の採種園では花粉混入率を抑制するのは難しいという見解を示している。スギでも、半径8 km 以内にスギ林がほとんどない採種園においても35%

表-1. これまでの分子マーカーを用いた採種園に関する研究で用いられた採種園の概要と推定された交配実態

樹 種	導入クローン数	備 考	分析種子数	マーカー	座数	混入 (%)	自殖率 (%)	文 献
<i>Picea abies</i>	67 クローン	3 年間調査, 囲まれて いる	1233~2013 種子	Allozyme	11	69~71	7~11	Pakkanen <i>et al.</i> (2000)
<i>Pinus sylvestris</i>	25 クローン	—	276~956 種子	Allozyme	13	17~39	—	Harju and Muona (1989)
<i>Pinus sylvestris</i>	26 クローン	—	953 種子	Allozyme	13	33	—	同上
<i>Pinus sylvestris</i>	39 クローン	—	283~331 種子	Allozyme	21	21	4.3	El-Kassaby <i>et al.</i> (1989)
<i>Pinus sylvestris</i>	58 クローン	—	331~469 種子	Allozyme	21	36	3.9	El-Kassaby <i>et al.</i> (1989)
<i>Pinus sylvestris</i>	39 クローン	園外林分まで 100 m	2318 種子	Allozyme	21	35	—	Yazdani and Lindgren (1991)
<i>Pinus sylvestris</i>	34 クローン	数 100 m 以内には 数個体のみ	359 種子	Allozyme	18	51~55	—	Wang <i>et al.</i> (1991)
<i>Pinus sylvestris</i>	—	—	100 種子× 5 クローン	Allozyme	—	—	8	Rudin <i>et al.</i> (1986)
<i>Pinus sylvestris</i>	51 クローン	開けた平地	7 種子× 51 クローン	Allozyme	3	—	6	Shen <i>et al.</i> (1981)
<i>Pinus sylvestris</i>	30 クローン	南と東 園外林分まで 500~800 m, 北 隣接	245 種子 (28 クローン)	Allozyme	18	37.8	—	Nagasaka and Szmidt (1984)
<i>Pinus contorta</i>	39 クローン+13 全兄弟交配家系+ 1 オープン交配家系	200 m 南に採種園, 近隣にはない	31~51 種子× 15 クローン	cpSSR	6	5	2	Stoehr and Newton (2002)
<i>Pinus taeda</i>	23 クローン, 27 クローン	隣接した 2 採種園調 査, 園外林分まで 122 m	7703 種子	Allozyme	7	37, 33	1~2	Friedman and Adams (1985)
<i>Pinus pinaster</i>	28 優良木のポリクロ スによる 320 個体	約 400 m	309 種子	cpSSR	6	36.5	—	Plomion <i>et al.</i> (2001)
<i>Pinus thunbergii</i>	16 クローン	500 m 以内にはない	38~50 種子× 14 クローン	RAPD	28	2.2	1.5	Goto <i>et al.</i> (2002a)
<i>Pseudotsuga menziesii</i>	25 クローン	隣接	200 種子	Allozyme	11	42~61	—	Adams <i>et al.</i> (1997)
<i>Pseudotsuga menziesii</i>	20 クローン	囲まれている	40~99 種子× 6 クローン	cpSSR	1	40	6	Stoehr <i>et al.</i> (1998)
<i>Pseudotsuga menziesii</i>	43 クローン+	—	32 種子×302 個体	Allozyme	6	—	2 (clones), 7 (open)	Ritland and El-Kassaby (1985)
<i>Pseudotsuga menziesii</i>	19 オープン交配家系	近隣にはない	925 種子 (全クローン)	Allozyme	11	54.4	3	Burczyk and Part (1997)
<i>Cryptomeria japonica</i>	62 クローン	隣接	30 種子×12 個体	Microsatellite	6	47.8	2.2	Moriguchi <i>et al.</i> (2004)
<i>Cryptomeria japonica</i>	26~62 クローン	5 カ所調査, 様々	30 種子×12 個体	Microsatellite	4~7	35~65.8	1.4~4.4	Moriguchi <i>et al.</i> (未発表)
<i>Chamaecyparis obtusa</i>	33 クローン	—	1003 種子 (1 クローン 5 個体)	cpDNA	1 領域	—	2.3	Seido <i>et al.</i> (2000), 清藤 (2001)
<i>Eucalyptus grandis</i>	12 オープン交配家系	100 m と 400 m の 所に採種園, それ 以外は 1 km	724 種子 (30 個体)	Microsatellite	6	39.2	—	Chaix <i>et al.</i> (2003)
<i>Quercus robur</i>	57 クローン	400 m 以内にはない, 5 km 以内にも大木 はない	180 種子	Microsatellite	6	70	0	Buiteveld <i>et al.</i> (2001)

の花粉混入率が認められた事例があることから (森口ら, 2003b; 森口, 2004), 主要造林樹種の採種園では花粉混入の軽減のために, 周辺林分からの採種園の隔離以外にもなにかの方策を講じる必要があると考えられる。

花粉混入率を低下させる方策として, 採種園内の構成クロンの花粉量を増やして園内の空中花粉に占める割合を高める方法と, 園内と園外林分の開花期を時間的に隔離する方法が考えられる。採種園内の花粉密度を増加させる方法には, 主に花粉量の少ないクローンを採種園から除外する方法や植物ホルモン等を用いて着花促進を行う方法, 人工的に花粉を散布する方法などがある。スギやヒノキではジベレリン (GA₃) による着花促進の研究が古くから行われ

(杉村・山根, 1965; 百瀬, 1969a; 郷・八木, 1965; 長尾, 1980), 散布時期や濃度, 処理方法などの技術が確立されている。したがって, 着花促進を適切に行うことで, 花粉混入率を低下させることができたと報告されている (清藤, 2001)。海外では, 採種園内で人為的に花粉散布をする SMP (Supplemental Mass Pollination) 処理 (Denison and Franklin, 1975; Daniels, 1978; El-Kassaby and Ritland, 1986 a; El-Kassaby and Reynolds, 1990; Askew, 1992) によって花粉混入率を軽減する方法が提唱されている。これは, あらかじめ花粉親とするクローンから収集しておいた花粉を背負い型の加圧式スプレーなどで人工的に雌花に直接散布する方法である。Stoehr *et al.* (1998) は,

2 クローンから採取した花粉を SMP 処理した雌花と無処理の雌花で生産された種子を cpSSR マーカーを用いて父性解析し、SMP 処理によって花粉混入率が半減したと報告している。

園内と園外の開花期を時間的に隔離する方法として、海外では散水によって園内の構成クローンの花芽を冷却することで開花を遅らせる冷水処理 (Cooling treatment) が提唱されている (Denison and Franklin, 1975; El-Kassaby and Ritland, 1986 b; Fashler and El-Kassaby, 1987)。ダグラスファーでは、冷水処理によって開花期を約 8~14 日遅らせることができたと言われている (Fashler and El-Kassaby, 1987; El-Kassaby *et al.*, 1990)。ダグラスファー採種園では、冷水処理を行った 1983 年の花粉混入率は $0.2 \pm 5.7\%$ であったのに対し (El-Kassaby and Ritland 1986a), 冷水処理を行わなかった 1984 年は $12.2 \pm 9.2\%$ となり (El-Kassaby and Ritland, 1986b), その効果が検証されている。日本での花粉散布 (SMP) 処理や冷水処理の応用研究はまだ少なく (半田ら, 1980; 半田・古越, 1980; 半田, 1981), 日本国内の主要造林樹種での有効性については今後検証が必要であろう。

IV. 自 殖

他殖性の樹木、特に針葉樹では、自殖や近親交配は充実率、発芽率、得苗率の低下を引き起こすことが確認されている (Bingham and Squillace, 1955; Barnes *et al.*, 1962; Orr-Ewing, 1965; 野口・渡辺, 1972; 斎藤ら, 1973; 横山, 1977; 松田・宮島, 1978; 田島, 1979; 金山・宮浦, 2000; 清藤, 2001)。したがって、自殖種子による種苗の割合が高いと、種苗の生産効率の低下や採種園産種苗の遺伝的な改良幅の減少を引き起こすと考えられる。スギでは、黄金スギ (Ohba *et al.*, 1971) や葉緑素変異苗を用いて、これまで採種園における平均自殖率は約 19~33% (古越, 1978), 10.6~22.8% (田島ら, 1984), 4.2~22.6% (伊藤, 1987), 2.5~28.0% (金川ら, 1991) といった値が報告されている。一方、遺伝マーカーを用いて採種園の自殖率を推定した研究では、いずれの採種園でも自殖率は 5% 程度となっている (表-1)。

Tang and Ide (1998) は、採種園産種子とそれらを育成した 1 年生, 2 年生および, 3 年生苗木のヘテロ接合度と固定指数 (F) を調べた。その結果、種子段階よりも 3 年生苗木で F 値が有意に減少していた。そのため、自殖苗は苗木の成長に伴い徐々に消失しているものと考えられた。古越 (1978) は発芽時から山出し苗までのスギ自殖家系の割合の減少を調査し、発芽時の自殖個体の割合が 5% 以下の場合、自殖個体は山出し時までにはほとんど消失してしまうであろうと指摘した。これらのことから、多くの採種園で報告されている数%程度の自殖率の場合、自殖による種苗の遺伝的な改良幅の減少は問題ないであろうと考えられる。しかし、自殖は種苗の生産効率の低下につながるため、自殖防止は無視できない重要な要因の一つである。

自殖率は、採種園構成クローンの花粉飛散期や雌花の開花期の不一致度と密接な関係にあることがダグラスファーで指摘されている (Stoehr *et al.*, 1998)。クロマツでは、開花期が他のクローンと約 2 週間異なるクローンから生産される種子のほとんどが自殖種子であった (宮原ら, 1998)。一方、Schoen *et al.* (1986) は、雄花着生量の多いクローンが高い自殖率を示したと報告した。同一クローンの複数ラメートが近接している場合や周囲に他クローンの少ない場合にも、自殖率は高くなる (Pakkanen *et al.*, 2000)。したがって、自殖率は空中花粉中における自殖花粉の割合にも影響されると考えられる。森口ら (2003b)・森口 (2004) は、3 カ所のスギ従来型採種園でマイクロサテライトマーカーを用いて自殖率を推定し、クローンあたりのラメート数の多い採種園ほど自殖率が高いという傾向を見いだしている。清藤 (2001) は、ヒノキ採種園において、構成クローン数が十分であれば自殖率は無視できる程度に抑制できるとした。以上の結果から、開花期の極端に異なるクローンは採種園から除外することや構成クローン数を多くしてクローンあたりのラメート数を少なくすることで、自殖率の軽減が期待できると考えられる。

V. 各クローンの花粉親としての寄与率

採種園では、生産される種苗に対して各構成クローンが花粉親として均等に寄与することが理想とされる。各構成クローンが均等に寄与すれば、選抜個体である構成クローンの遺伝的多様性を十分に活用することができ (清藤, 2001; 津村, 2004), 生産される種子世代の有効な集団サイズをより高い水準に保つことで病害虫や気象害の大規模発生を防止することができる (Zhu *et al.*, 2000; Burdon, 2001)。初期の研究では各クローンの花粉親としての寄与率は、雄花着生量から推定されることが多く (Eriksson *et al.*, 1973; Griffin, 1982; 勝田, 1982; Schoen *et al.*, 1986), 遺伝的手法を用いて各クローンの花粉親としての寄与率を推定した例としてはシロトウヒ (*Picea glauca*) 採種園においてアロザイムを用いて推定した研究 (Schoen and Stewart, 1986) 以外に報告がなかった。しかし、マイクロサテライトマーカー等の DNA マーカーが使用されるようになり、花粉親としての寄与率に関する研究は急速に進展した。Stoehr *et al.* (1998) は、ダグラスファー採種園において、1 座の cpSSR を用いて採種園産種子について解析し、種子集団に占める各クローンの花粉親としての寄与率が 1.6~16.3%であることを示した。同様に、Stoehr and Newton (2002) は、6 座の cpSSR を用いてロジポールパイン (*Pinus contorta*) 採種園で各クローンの花粉親としての寄与率は 0.0~9.4% (ただし、花粉親クローンを特定できなかったものは除外した), Goto *et al.* (2002a) は 45 個の RAPD マーカーを用いてクロマツ採種園で 0.8~24.4%, 森口ら (2003a) は 6 座のマイクロサテライトマーカーを用いてスギ採種園で 0.0~14.7%であることを示した。興味深いことに、これらの採種園は樹種や場所が異なるにもか

図-1. 5 採種園において生産された種子に花粉親として寄与した採種園構成クローンの累積クローン数 (%) と累積寄与率 (%) の関係

横軸の累積クローン数は、花粉親としての寄与率の高いクローンから順に累積した。図中の実線は、理想とされる均等交配が実現した場合の累積クローン数 (%) と累積寄与率 (%) の関係を示している。スギ採種園については (森口ら, 2003a; 森口, 2004), クロマツについては Goto *et al.* (2002a), ダグラスファーについては Stoeher *et al.* (1998), ロッジポールバインについては Stoeher and Newton (2002) のデータから作図した。ダグラスファーとロッジポールバインに関しては、花粉親候補を 1 クローンに特定できなかったすべてを除いて作図しているため、クローン数が少なくなっている。

かわらず、いずれも全構成クローンの約 20% で全体の約 60% の累積寄与率を占め、約 30% のクローンは花粉親として全く寄与していなかった (図-1)。また、いずれの採種園においても理想とされる均等交配から著しく偏った状態で、各クローンの花粉親としての寄与率には著しいクローン間差が認められた (図-2)。したがって、このように偏った交配実態は樹種や場所にかかわらず採種園で一般的に認められる現象と考えられる。

交配に影響を及ぼす要因としては、個体間距離、開花期の一致度、雄花着生量、選択受精などが考えられる。Schoen and Stewart (1986) は、シロトウヒでは雄花の総量が多いほど花粉親としての寄与率が高いことを報告している。スギでも各クローンの雄花の着生量と花粉親としての寄与率に有意な相関が認められ (森口ら, 2004), クロマツでも最も雄花量の多いクローンが高い寄与率を示した (Goto *et al.*, 2002 a)。一方、ダグラスファー採種園では、採種園内の交配は採種園構成クローンの開花期と雄花着生量の相互作用に影響されていることが示唆されている (Erickson and Adams, 1989; Burczyk and Part, 1997)。これらのことから、花粉親としての寄与率には、主に雄花着生量と開花期の一致度が影響を与えると考えられる。

開花期や雄花着生量などの条件が一定の場合には、個体間距離や風向きも花粉親としての寄与率に影響を与えるようである。森口 (2004) は、任意の母樹の周囲に配置されているクローンの平均寄与率が、母樹からの距離に関係なくランダムに選んだ同数のクローンの平均寄与率よりも高い傾向にあることを確認した。Erickson and Adams

図-2. スギ従来型採種園とクロマツ採種園における構成クローンの花粉親としての寄与率

図中の実線は、理想とされる均等交配が実現した場合の花粉親としての寄与率を示す。

(1989) も、開花期の一致性が高いときには、クローン間の距離が繁殖成功に影響する重要な要因となることを示唆した。また、Shen *et al.* (1981) は、ヨーロッパアカマツにおいて、風向きが良好で開花期の一致性が高いときには受精花粉の約 31% が近隣個体由来であることを報告した。したがって、クローンの組み合わせが常に同じ規則配置では、得られる交配組み合わせが偏る可能性が高い。一方、任意交配を促進するためにあらゆるクローンの組み合わせが平等に隣接木としてあらわれるように工夫した均衡格子配置法 (Balanced Lattice design; Cochran and Cox, 1957) に基づく採種園では、採種園全体で考えると個体間距離が花粉親としての寄与率に及ぼす影響は小さいと考えられる。

ダグラスファー (Apsit *et al.*, 1989) やラジアータマツ

(*Pinus radiata*; Moran and Griffin, 1985), ドイツトウヒ (*Picea abies*; Schoen and Cheliak, 1987) では、花粉親としての寄与率に影響を及ぼす要因として、アロザイムを用いた解析で特定のクローンの花粉がより受粉されやすい選択受精の存在が確認されている。一方、ヒノキでは葉緑体 DNA の解析で今のところ選択受精は認められておらず (清藤, 2001), スギでは黄金スギを用いた試験で大庭 (1972) と糸屋ら (1978) で選択受精の結果が異なるため、追試験の必要がある。選択受精の花粉親としての寄与率への影響については、更なるデータの蓄積が必要である。

次代の成長等の遺伝的特性を考慮した上で判断する必要があるが、花粉親としての寄与率を均等に近づけるためには、雄花着生量や開花期の著しく異なるクローンを除外して、新たなクローンと入れ替えるのが一つの方策と考えられる。近年では、均衡格子配置法による設計をより効率的にするためのプログラムが多く開発されており (井出, 1984; 高橋, 2002), これらを利用することでより理想に近い状態にすることができる。また、分子マーカーで明らかにされた各クローンの寄与率に応じて、花粉量を平準化するのも一つの方策であろう。具体的には、雄花着生量に応じたラメート数の調整や雄花着生量の少ないクローンに対するジベレリン処理などである。さらに、開花期の早いクローンに冷水処理を行ったり、開花期が一致する時期に SMP 処理を行うなどのきめ細かい交配管理を行うことで、更なる寄与率の均等化が期待できる (Fashler and El-Kassaby, 1987; El-Kassaby and Reynolds, 1990; Reynolds and El-Kassaby, 1990)。

VI. 将来の採種園

新規に採種園を造成する場合、大面積の用地を確保することは今後いっそう困難になるであろうと予測され (清藤, 2001), 着花促進技術が既に確立されている樹種では、小面積で種子生産が可能なミニチュア採種園の適用が有効だと考えられる。スギでは、このミニチュア型採種園が既に実用化され、事業的な種子生産が可能であることが示されている (伊藤, 1985, 1986; Itoo and Katsuta, 1986)。ミニチュア採種園では、ジベレリン散布、整枝剪定、施肥、除草、採種などの作業を集約的に実施できるため、種子生産効率が高い (林木育種センター東北育種場, 2001)。また、若齢の挿し木苗による小型の採種木を用いるので、造成から種子生産が可能となるまでの期間を大幅に短縮できる (林木育種センター東北育種場, 2001)。マイクロサテライトマーカーを使用した花粉流動の解析でも、ミニチュア型採種園の花粉流動の花粉混入率や自殖率、花粉親としての寄与率の実態は従来型採種園と同様であることが確認された (森口ら, 2003b; 森口, 2003, 2004)。

施設内に採種園を造成し、管理する施設内採種園は、外界と完全に隔離することにより、花粉混入率を根本的に改善することができる。Koski (1975) は、シグレカンバ (*Betula pendula*) の 1~3 年生の実生個体で構成される実

生採種園を施設内に造成し、播種後 5 年目には大量の種子が得られるとした。大谷・大庭 (1983) が考案した施設内採種園は、農業用に用いられているビニールハウス (5.4 m×16.2 m) の中に、さらに小型のビニールハウス (1.8 m×1.8 m) を作り、その小型ハウスの中で交配を行うというものである。彼らは、一つの小型ビニールハウスに、苗長 40~60 cm の苗が 1 鉢あたり 3 本を植えられた 23 鉢 (花粉親 1 クローン 3 鉢, 母樹 10 クローン 20 鉢) を入れ、密閉したハウスの中へ手を入れて雄花を竹棒でたたき、花粉を飛散させた。これらの施設内採種園では、温度、水、風回りなどの管理が重要となる。また、施設内で SMP 処理を行えば、受精率の向上や花粉親としての寄与率の均等化も図られると考えられる。導入を検討する価値は高いと考えられるが、日本における施設内採種園はまだ研究段階である。

検定林の結果から特定組み合わせ能力の高いクローンが選定されれば、スカンジナビア半島では試験目的で造成されているバイクローナル採種園 (Eriksson and Ekberg, 2001) を検討する価値がある。バイクローナル採種園は、特にジベレリンなどによる着花促進や植栽木の小型化が困難で、交配作業が容易でないマツ科の採種園で有効であるだろう。バイクローナル採種園は、育種目的に沿った種子を低労力で生産することができ、得られる育種効果も大きい。この採種園は、導入するクローン間で開花期が一致していることや外部花粉の混入がないことが前提となるうえ、自殖によるシイナ率の増加も懸念されるため、導入には詳細な予備調査が必要である。また、北海道では、成長がよく、耐鼠性にも優れたグイマツ×カラマツ F_1 雑種の種子が事業規模で生産されている (宮木, 1990; 大島, 1996)。最近では、自家不和合性の高い単一のグイマツクローンをカラマツ採種園に植栽し、雑種率を高くする単一クローン母樹採種園が提唱された (黒丸, 2003)。バイクローナル採種園や単一クローン母樹採種園といった新しいタイプの採種園で育種効果を最大限に発揮させるには、従来の採種園よりもさらにきめ細かい交配管理が必要となる。その際、分子マーカーによる交配実態の検証がより重要な役割を果たすだろう。

VII. ま と め

1) 一般的に、採種園では構成クローンの 5~10% 程度の誤植が存在しうるため、造成後なるべく早い段階に分子マーカーを使用したクローンの配置確認が必要である。配置確認の際、構成クローン以外の未選抜個体が発見された場合には、ただちに除去すべきである。

2) 多くの針葉樹採種園の花粉混入率は 30% 以上であり、周囲の同樹種林分の割合が大きいと花粉混入率は深刻なレベルに達する。新たに採種園を造成する場合は、同樹種林分の少ない場所を注意深く選定する必要がある。既に造成されている採種園では、ジベレリン処理や SMP 処理などを用いて空中花粉における採種園内の花粉の割合を高

くすることが有効である。

3) 採種園における自殖率は一般的に5%以下であるが、苗木育成の段階で自殖苗木が枯死するため、採種園産種子の遺伝的な改良幅の減少を引き起こすことは少ない。しかし、自殖が起こると種子充実率が低下するため、苗木の生産効率が悪化する。これを改善するには、開花期の著しく異なるクローンの除去やクローンあたりのラメート数の調整も検討する必要がある。

4) 採種園を構成する各クローンの花粉親としての寄与率は大きく偏っており、均等交配から著しく偏った交配実態となっていることが多い。交配実態をDNAマーカーによって明らかにした上で、寄与度の低いクローンに対してジベレリン処理やSMP処理などを行い、各クローンの雄花着生量を均等化する必要がある。また、雄花着花量や開花期が他と著しく異なるクローンを除去することも検討する必要がある。

5) ミニチュア採種園における交配実態は従来型と同様であることが分子マーカーによって検証された。施設内採種園、バイクロナル採種園、単一クローン母樹採種園などの将来採種園では大きな育種効果を発揮できる可能性がある一方、よりきめ細かい交配管理が不可欠である。これらの採種園では、分子マーカーを用いた交配管理のモニタリングが実用に際して重要な役割を果たすだろう。

本総説をまとめるにあたり、福岡県森林技術センターの宮原文彦氏、森 康浩氏には未公開のデータを提供していただいた。東京農業大学教授の勝田 征博士、山梨県森林総合研究所の清藤城宏博士には採種園に関する貴重な文献をご提供いただいた。森林総合研究所の津村義彦博士には、草稿を校閲していただき、有益な助言をいただいた。これらの方々に厚く御礼申し上げます。

引用文献

- Adams, W.T., Hipkins, V.D., Burczyk, J., and Randall, W.K. (1997) Pollen contamination trends in a maturing Douglas-fir seed orchard. *Can. J. For. Res.* 27: 131-134.
- Askew, R.G. (1992) Potential genetic improvement due to supplemental mass pollination management in conifer seed orchards. *For. Ecol. Manage.* 47: 135-147.
- Apsit, V.J., Nakamura, R.R., and Wheeler, N.C. (1989) Differential male reproductive success in Douglas fir. *Theor. Appl. Genet.* 77: 681-684.
- Barnes, B.V., Bingham, R.T., and Squillace, A.E. (1962) Selective fertilization in *Pinus monticola* Dougl. II. Results of additional tests. *Silvae Genet.* 11: 103-111.
- Bingham, R.T. and Squillace, A.E. (1955) Self-compatibility and effects of self-fertility in western white pine. *Forest Sci.* 1: 121-129.
- Buiteveld, J., Bakker, E.G., Bovenschen, J., and de Vries, S.M.G. (2001) Paternity analysis in a seed orchard of *Quercus robur* L. and estimation of the amount of background pollination using microsatellite markers. *For. Genet.* 8: 331-337.
- Burczyk, J. and Part, D. (1997) Male reproductive success in *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco: the effects of spatial structure and flowering characteristics. *Heredity* 79: 638-647.
- Burton, R.D. (2001) Genetic diversity and disease resistance: some considerations for research, breeding, and deployment. *Can. J. For. Res.* 31: 596-606.
- Chaix, G., Gerber, S., Razafimaharo, V., Vigneron, P., Verhaegen, D., and Hamon, S. (2003) Gene flow estimation with microsatellites in a Malagasy seed orchard of *Eucalyptus grandis*. *Theor. Appl. Genet.* 107: 705-712.
- Cochran, W.G. and Cox, G.M. (1957) 格子方格. (新版実験計画法II. 711 pp, 丸善株式会社, 東京). 545-560.
- Daniels, J.D. (1978) Efficacy of supplemental mass-pollination in a Douglas-fir seed orchard. *Silvae Genet.* 27: 52-58.
- Denison, N.P. and Franklin, E.C. (1975) Pollen management. In *Seed orchards*. Vol. 54. Faulkner, R. (ed), 149 pp, For. Comm. London Bull., 92-100.
- Di-Giovanni, F. and Kevan, P.G. (1991) Factors affecting pollen dynamics and its importance to pollen contamination: a review. *Can. J. For. Res.* 21: 1155-1170.
- El-Kassaby, Y.A. and Reynolds, S. (1990) Reproductive phenology, parental balance, and supplemental mass pollination in a sitka-spruce seed-orchard. *For. Ecol. Manage.* 31: 45-54.
- El-Kassaby, Y.A. and Ritland, K. (1986a) The relation of outcrossing and contamination to reproductive phenology and supplemental mass pollination in a *Pseudotsuga menziesii* seed orchard. *Silvae Genet.* 35: 5-6.
- El-Kassaby, Y.A. and Ritland, K. (1986b) Low levels of pollen contamination in a *Pseudotsuga menziesii* seed orchard as detected by allozyme markers. *Silvae Genet.* 35: 224-229.
- El-Kassaby, Y.A., Edward, D.G.W., and Cook, C. (1990) Impact of crop management practices on seed yield in a Douglas-fir seed orchard. *Silvae Genet.* 39: 5-6.
- El-Kassaby, Y.A., Rudin, D., and Yazdani, R. (1989) Levels of outcrossing and contamination in two *Pinus sylvestris* L. seed orchards in northern Sweden. *Scand. J. For. Res.* 4: 41-49.
- Erickson, V.J. and Adams, W.T. (1989) Mating success in a coastal *Pseudotsuga menziesii* seed orchard as affected by distance and floral phenology. *Can. J. For. Res.* 19: 1248-1255.
- Eriksson, G. and Ekberg, I. (2001) Tree breeding. In *An introduction to forest genetics*. Eriksson, G. and Ekberg, I. (eds.), 166 pp, SLU Repro, Uppsala, 99-124.
- Eriksson, G., Jonsson, A., and Lindgren, D. (1973) Flowering in a clone trial of *Picea abies* Karst. *Stud. For. Suec.* 110: 4-45.
- Fashler, A.M.K. and El-Kassaby, Y.A. (1987) The effect of water spray cooling treatment on reproductive phenology in a *Pseudotsuga menziesii* seed orchard. *Silvae Genet.* 36: 245-249.
- Fast, W. and Dancik, B.P. (1986) Mating system and pollen contamination in a Douglas-fir clone bank. *Can. J. For. Res.* 16: 1314-1319.
- Friedman, S.T. and Adams, W.T. (1985) Estimation of gene flow into two seed orchards of loblolly pine (*Pinus taeda* L.). *Theor. Appl. Genet.* 69: 609-615.
- 古越隆信 (1978) スギ採種園の花粉管理に関する基礎的研究. 林試研報 NC-300: 41-120.
- 郷 正士・八木喜徳郎 (1965) ジベレリンの軟膏処理によるスギのハナメの形成. 演習林 16: 21-26.
- Goto, S., Miyahara, F., and Ide, Y. (2001) A fast method for checking the genetic identity of ramets in a clonal seed orchard by RAPD analysis with a bulking procedure. *Silvae Genet.* 50: 271-275.
- Goto, S., Miyahara, F., and Ide, Y. (2002a) Monitoring male reproductive success in a Japanese black pine clonal seed orchard with RAPD markers. *Can. J. For. Res.* 32: 983-988.
- Goto, S., Miyahara, F., and Ide, Y. (2002b) Identification of the male parents of half-sib progeny from Japanese black pine (*Pinus thunbergii* Parl.) clonal seed orchard using RAPD markers. *Breed. Sci.* 52: 71-77.
- Griffin, A.R. (1982) Clonal variation in radiata pine seed orchards. I. Some flowering, cone and seed production traits. *Aust. For.*

- Res. 12: 295-302.
- 半田孝俊 (1981) スギ採種園における花粉の人工散布とその効果 (III). 林木の育種 1981 特別号: 27-30.
- 半田孝俊・古越隆信 (1980) スギ採種園における花粉の人工散布とその効果 (II)―黄金スギをマーカーとした効果の判定―. 林木の育種 1980 特別号: 30-32.
- 半田孝俊・古越隆信・菊池利喜夫・伊藤輝勝 (1980) スギ採種園における花粉の人工散布とその効果 (I)―熱塩加納採種園での予備試験―. 林木の育種 1981 特別号: 28-30.
- Harju, A. and Muona, O. (1989) Background pollination in *Pinus sylvestris* seed orchards. Scand. J. For. Res. 4: 513-520.
- 井出雄二 (1984) パーソナルコンピューター・プログラミング報告 (I) 採種園設計プログラム (ASOR). 静岡県林試研報 12: 27-43.
- 伊藤信治 (1985) スギ採種園の種子生産技術 (II)―ミニチュア採種園における種子生産性―. 新潟林試研報 27: 1-13.
- 伊藤信治 (1986) スギ採種園の種子生産技術 (III)―ミニチュア採種園の種子生産と花粉飛散状態―. 新潟林試研報 28: 1-9.
- 伊藤信治 (1987) スギ採種園の種子生産技術 (V)―白子苗の発生頻度による採種園の自然自殖率―. 新潟林試研報 29: 1-10.
- Ito, S., and Katsuta, M. (1986) Seed productivity in the miniature seed orchard of *Cryptomeria japonica* D. Don. J. Jpn. For. Soc. 68: 284-288.
- 糸屋吉彦・古越隆信・菊池利喜夫・長坂寿俊 (1978) スギ精英樹の選択受精. 関東林育年報 14: 118-127.
- 金山央子・宮浦富保 (2000) アカマツの生存率, 樹高及び胸高直径における近交弱勢の影響. 林育研報 17: 152-161.
- 金川 侃・金指達郎・勝田 征 (1991) スギ採種園内で雄花量を調節した条件下での種子の稔性と自然自殖. 茨城林試研報 19: 53-69.
- 勝田 征 (1982) 坂下ヒノキ採種園における種子生産実績と今後の技術的対応. 林木の育種 124: 13-18.
- 川内博文・後藤 晋 (1999) 鹿児島県のマツノサイセンチュウ抵抗性クロマツ採種園におけるクローン管理のモニタリング. 日林誌 81: 338-340.
- Koski, V. (1975) Broadleaved seed orchards. Part A.-Notes on temperate broadleaved species including intensive methods for small-seeded species. In Seed orchards. Faulkner, R. (ed.), 149 pp, For. Comm. London Bull. 54: 128-130.
- 黒丸 亮 (2003) グイマツ雑種 F₁ 種苗のブランド化を目指した新採種園方式―列状植栽した単一クローン母樹産種子の品質と雑種率―. 北海道の林木育種 46: 5-8.
- 松田 清・宮島 寛 (1978) スギにおける不稔種子の形成. 日林誌 60: 1-9.
- Michelmore, R.W., Paran, I., and Kesseli, R.V. (1991) Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: a rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88: 9828-9832.
- 宮木雅美 (1990) ハイブリッドカラマツの改良. 北海道の林木育種 33: 7-12.
- 宮原文彦・前田 一・白石 進 (1998) マツノサイセンチュウ抵抗性クロマツ採種園構成クローンとしての小浜ーク 24 号の評価. 日林誌 80: 233-235.
- 百瀬行男 (1969a) ジベレリンの簡便な処理法. 林木の育種 58: 18-20.
- 百瀬行男 (1969b) 採種園の管理 (採種・採種園の管理とスギのさしき. 163 pp, 農林出版, 東京). 85-105.
- Moran, G.F. and Griffin, A.R. (1985) Non-random contribution of pollen in polycrosses of *Pinus radiata* D. Don. Silvae Genet. 34: 117-121.
- 森口喜成 (2003) DNA マーカーによるスギの遺伝・育種に関する研究―DNA マーカーを用いた採種園改良のための基礎的研究―. 林木の育種 208: 9-10.
- 森口喜成 (2004) マイクロサテライトマーカーを用いたスギ採種園の遺伝子流動の解析とその情報を用いた採種園改良の提案. 新潟大学大学院自然科学研究科博士論文. 64, 67-68, 88-89, 93, 104 pp.
- 森口喜成・谷 尚樹・平 英彰・津村義彦 (2003a) 設計様式および立地環境の異なるスギ採種園における遺伝子流動の比較. 日林誌 114: 370.
- 森口喜成・谷 尚樹・平 英彰・津村義彦 (2003b) 植栽間隔および樹高の異なるスギ採種園における花粉流動の解析. 育種学研究 5 (別 2): 246.
- 森口喜成・谷 尚樹・平 英彰・津村義彦 (2004) 採種園での花粉親としての貢献度に影響を及ぼす要因. 日林誌 115: 220.
- Moriguchi, Y., Tani, N., Taira, H., and Tsumura, Y. (2004) Variation of paternal contribution in a seed orchard of *Cryptomeria japonica* D. Don determined using microsatellite markers. Can. J. For. Res. 34: 1683-1690.
- 長尾精文 (1980) スギの花成におよぼす温度の影響. 日林誌 62: 280-282.
- Nagasaka, K. and Szmidt, A.E. (1984) Multilocus analysis of external pollen contamination of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) seed orchard. In Population genetics in forestry. Gregorius, H.R. (ed.), 287 pp, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, 134-138.
- 野口常介・渡辺 操 (1972) アカマツ精英樹クローンでの自家受粉によるタネのでき方. 日林誌 54: 356-359.
- 大庭喜八郎 (1972) 黄金スギ花粉を指標とした選択受精. 日林誌 83: 204-206.
- 大庭喜八郎 (1991) 林木育種とは. (林木の育種. 大庭喜八郎・勝田征編, 337 pp, 文永堂出版, 東京). 1-7.
- Ohba, K., Iwata, M., Okada, Y., and Murai, M. (1971) Paternal transmission of a plastid anomaly in some reciprocal crosses of sugi, *Cryptomeria japonica* D. Don. Silvae Genet. 20: 101-107.
- 大島紹郎 (1996) グイマツ雑種 F₁ の優良品種の開発と普及. 林業技術 652: 20-22.
- 大谷賢二・大庭喜八郎 (1983) 簡易なビニールフレームを用いたスギの人工交配. 日林誌 95: 289-290.
- Orr-Ewing, A.L. (1965) Inbreeding and single crossing in Douglas-fir. Forest Sci. 11: 279-290.
- Pakkanen, A., Nikkanen, T., and Pulkkinen, P. (2000) Annual variation in pollen contamination and outcrossing in a *Picea abies* seed orchard. Scand. J. For. Res. 15: 399-404.
- Plomion, C., LeProvost, G., Pot, D., Vendramin, G., Gerber, S., Decroocq, S., Brach, J., Raffin, A., and Pastuszka, P. (2001) Pollen contamination in a maritime pine polycross seed orchard and certification of improved seeds using chloroplast microsatellites. Can. J. For. Res. 31: 1816-1825.
- Reynolds, S. and El-Kassaby, Y.A. (1990) Paternal balance in Douglas-fir seed orchards-cone crop vs. seed crop. Silvae Genet. 39: 40-43.
- 林木育種センター東北育種場 (2001) 東北育種基本区スギミニチュア採種園技術マニュアル. 48 pp, 林木育種センター東北育種場, 岩手. 2-48.
- Ritland, K., and El-Kassaby, Y.A. (1985) The nature of inbreeding in a seed orchard of *Pseudotsuga menzeisii* as shown by an efficient multilocus model. Theor. Appl. Genet. 71: 375-384.
- Rudin, D., Muona, O., and Yazdani, R. (1986) Comparison of the mating system of *Pinus sylvestris* in natural stands and seed orchards. Hereditas 104: 15-19.
- 斎藤幹夫・岩川盈夫・渡辺 操 (1973) クロマツの近親交配における球果・タネおよび苗木のできかた. 林試研報 255: 31-46.
- Schoen, D.J. and Cheliak, W.M. (1987) Genetics of polycross. 2. Male fertility variation in Norway spruce, *Picea abies* (L.) Karst. Theor. Appl. Genet. 74: 554-559.
- Schoen, D.J. and Stewart, S.C. (1986) Variation in male reproductive investment and male reproductive success in white spruce. Evolution 40: 1109-1120.
- Schoen, D.J., Denti, D., and Stewart, S.C. (1986) Strobilus production in a clonal white spruce seed orchard: evidence for unbalanced mating. Silvae Genet. 35: 5-6.
- 清藤城宏 (2001) ヒノキ採種園の花粉管理に関する遺伝育種学的研

- 究. 山梨県森林総研研報 22: 13-64.
- Seido, K., Maeda, H., and Shiraishi, S. (2000) Determination of the selfing rate in a hinoki (*Chamaecyparis obtuse*) seed orchard by using a chloroplast PCR-SSCP marker. *Silvae Genet.* 49: 165-168.
- Shen, H.H., Rudin, D., and Lindgren, D. (1981) Study of the pollination pattern in a Scots pine seed orchard by mean of isozyme analysis. *Silvae Genet.* 30: 7-15.
- Stoehr, M.U. and Newton, C.H. (2002) Evaluation of mating dynamics in a lodgepole pine seed orchard using chloroplast DNA markers. *Can. J. For. Res.* 32: 469-476.
- Stoehr, M.U., Orvar, B.L., Vo, T.M., Gawley, J.R., Webber, J.E., and Newton, C.H. (1998) Application of a chloroplast DNA marker in seed orchard management evaluations of *Pseudotsuga menzeisii*. *Can. J. For. Res.* 28: 187-195.
- 杉村義一・山根光男 (1965) 開花結実促進試験 (I). 日林講 76: 208-211.
- 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.
- 田島正啓・栗延 晋・西村慶二・藤本吉幸 (1984) 採種園内の黄金スギの自然自殖率と種子の形質. 日林誌 66: 506-510.
- 高橋 誠 (2002) 採種園設計のための Visual Basic プログラム「Mixed」の開発・評価と設計の作業効率に影響する要因. 日林誌 84: 239-245.
- Tang, D.Q. and Ide, Y. (1998) Detection of genetic variation among seed and seedlings of *Chamaecyparis obtusa* using allozyme markers. *J. For. Res.* 3: 35-38.
- 津村義彦 (2004) マイクロサテライトマーカーの樹木の遺伝育種研究への利用. 日林誌 86: 184-190.
- Wang, C.W., Perry, T.O., and Johnson, A.G. (1960) Pollen dispersion of slash pine (*Pinus elliottii* Engelm.) with special reference to seed orchard management. *Silvae Genet.* 9: 78-86.
- Wang, X.R., Lindgren, D., Szmidt, A.E., and Yazdani, R. (1991) Pollen migration into a seed orchard of *Pinus sylvestris* L. and the methods of its estimation using allozyme markers. *Scand. J. For. Res.* 6: 379-385.
- Wheeler, N.C. and Jech, K.S. (1992) The use of electrophoretic markers in seed orchard research. *New Forests* 6: 311-328.
- Van de Ven, W.T.G. and McNicol, R.J. (1995) The use of RAPD markers for the identification of Sitka spruce (*Picea sitchensis*) clones. *Heredity* 75: 126-132.
- Yazdani, R. and Lindgren, D. (1991) Variation of pollen contamination in a Scots pine seed orchard. *Silvae Genet.* 40: 243-246.
- 横山敏孝 (1977) スギの自殖不稔の主因. 日林誌 59: 389-390.
- Zhu, Y., Chen, H., Fan, J., Wang, Y., Li, Y., Chen, J., Fan, J.X., Yang, S., Hu, L., Leung, H., Mew, T.W., Teng, P.S., Wang, Z., and Mundt, C.C. (2000) Genetic diversity and disease control in rice. *Nature* 406: 718-722.
- Zobel, B.J. and Talbert, J. (1984) Seed production and seed orchards. *In* Applied forest tree improvement. 505 pp, John Wiley & Sons, New York. 167-202.