

DNA マーカーを用いた富山県のスギ挿し木品種 および精英樹の分類

斎藤 真己

Classification of cutting cultivars and plus tree clones of sugi (*Cryptomeria japonica* D. Don) using DNA markers in Toyama prefecture.

Maki SAITO

富山県におけるスギクローンの正確な識別法を確立し、さらに挿し木品種と精英樹、雪害抵抗性候補木との関係を明らかにするためRAPD分析を行った。10種類のプライマーを用いて93クローンのDNA型について調査した結果、挿し木品種のミオスギと雪害抵抗性候補木のミオ1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10号やボカスギと精英樹の石動1, 3号はそれぞれ同一のDNA型を示した。他にも同一のDNA型を示すクローンがいくつか見つかった。また、ボカスギとリョウワ6号は、外見上よく似ているが遺伝的に異なるクローンであることが明らかになった。以上のように、本研究で使用したRAPD法は、スギクローンの識別に有効であると判断された。

1. はじめに

スギ (*Cryptomeria japonica* D. Don) は、我が国の最も重要な造林樹種の一つであり、富山県でも人工林の約93%がこの樹種で占められている¹⁾。富山県におけるスギ造林の歴史は古く、明治時代に入ってから小矢部市宮島や氷見市仏生寺、砺波市増山など県西部を中心にそれぞれの地域で優良な挿し木品種が積極的に育成され、挿し木造林地帯を形成した²⁾。その後、採穂園や採種園の造成を目的に昭和30年から林木育種事業が始まり、精英樹として富山県内から48クローンが選抜され、さらに、昭和45年には気象害抵抗性育種事業が始まり新たに133クローンが雪害抵抗性候補木として選抜された。これらは全て外観的な形質や成長の優れた個体が選抜されたため、同じクローンにもかかわらず別の名前がついたり、古くから選抜されていた挿し木品種がこれらの中に含まれていたりする可能性が高い。また、挿し木品種の中でも他の地域に広がっていく過程で、

同じ品種が異なる名前で呼ばれていたりすることがあり混乱が生じている場合もある。これまでに、品種の同定はパーオキシダーゼによるアイソザイム分析で試みられてきたが、富山県西部の在来挿し木品種の関係について調査したにすぎない²⁾。したがって、混乱の生じていると予想される県内の挿し木品種や精英樹、雪害抵抗性候補木の関係について整理することは、今後の林木育種を進めるうえで極めて重要である。

クローン識別に用いられる手法の一つとしてゲノムDNAの変異を直接、検出することができるRAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) 法がある³⁾。この手法は、任意の塩基配列をもつプライマーを用いてある領域のDNAをPCR (Polymerase Chain Reaction) 増幅させるもので、操作が簡単なことやマーカーとしての感度が高いことなどから様々な植物で個体識別に利用されている^{4,5,6)}。

そこで、本研究ではRAPD法を用いて簡便かつ確

実にスギのクローン識別ができる手法を確立し、県内の挿し木品種や精英樹、雪害抵抗性候補木について正確に分類することを目的とした。

2. 材料および方法

2.1 供試材料

クローン識別には、精英樹 23 クローン（一部県外産も含む）、雪害抵抗性候補木 45 クローン、その他県内で選抜された 14 クローン、そして県内の主要な挿し木品種ボカ 1 クローン、リョウワ 1 クローン、マサヤマ 8 クローン、ミオ 1 クローンを材料に用いた（表-1）、富山県林業試験場の構内に植栽されている個体から当年生の針葉を採取した。

2.2 DNAの抽出

DNAの抽出は改変CTAB法⁷⁾を用いた。抽出したDNAは、分光光度計を用いて濃度測定した後、20ng/ μ Lに調整した。

2.3 PCR反応および電気泳動

PCR反応は、Williams (1990) の条件を一部改変し、変性94°C1分、アニーリング36°C1分、伸長72°C2分の36サイクルで行った。反応液の組成は1サンプル (25 μ L) あたりTaqDNAポリメラーゼ0.5unit、鋳型DNA 50ng、MgCl₂25mM、RAPDプライマー0.25 μ M、dNTP濃度 各250 μ M、10×Buffer 2.5 μ Lとした。PCR反応のサーマルサイクラーはPTC 100Programmable Thermal Controller (MJ Research社) を使用し、電気泳動はミュールピッド電気泳動装置 (Advance 社) を用いた。25 μ L/mLの

臭化エチジウムを含む2%アガロースゲルを用いて泳動を行い、UVライトを照射してバンドパターンを検出した。

2.4 プライマーの種類

RAPDプライマーは、オペロン社製10merのプライマー10種類を用いた（表-2）。

3. 結果

表-1に示した93クローンについて、RAPDマーカーによるバンドの出現パターンを調査した。例えば、プライマーにOPD-5を使用した場合（図-1）、高坂3号、高坂4号、高坂5号、高坂7号、高坂8号、高坂11号は矢印で示したバンドを保有するため「1」、それら以外は保有しないため「0」と標記した。このように、多型性のあるバンドの有無を「1」、「0」で示し、10種類のマーカーによる組み合わせを各クローンのDNA型として、その分類結果を表-3にまとめた。挿し木品種のミオスギと雪害抵抗性候補木のミオ1、2、3、4、5、6、7、9、10号やボカスギと精英樹の石動1、3号はそれぞれ同一のDNA型を示した。他にも精英樹の下高井10号と13号や雪害抵抗性候補木の高坂5号と8号は同一のDNA型を示した（表-4）。また、ボカスギとリョウワ6号は、外見上よく似ているが遺伝的に異なるクローンであることが明らかになった。今回の結果から、富山県内の主要な挿し木品種であるミオスギは1クローン、リョウワスギは3クローン、ボカスギは1クローン、マサヤマスギは8クローンに分類され（表-5）、

表-1 実験に使用したクローン名

精英樹	石動1号 小原107号 下高井11号	石動2号 小原109号 下高井13号	石動3号 小原110号 下高井19号	砺波1号 小原111号 下高井25号	砺波2号 小原113号 下高井26号	小原103号 小原114号	小原104号 小原115号	小原105号 下高井2号	小原106号 下高井10号
雪害抵抗性候補木	高坂1号 ミオ1号 魚津11号 魚津25号 三角3号	高坂2号 ミオ2号 魚津12号 魚津26号 三角4号	高坂3号 ミオ3号 魚津14号 原牧1号 三角5号	高坂4号 ミオ4号 魚津15号 原牧2号 三角6号	高坂5号 ミオ6号 魚津17号 原牧3号 木根1号	高坂7号 ミオ7号 魚津18号 原牧4号 木根3号	高坂8号 ミオ9号 魚津21号 原牧5号 木根4号	高坂9号 ミオ10号 魚津22号 原牧6号 木根5号	高坂11号 魚津10号 魚津24号 原牧7号 木根6号
挿し木品種	ミオ マサヤマ-砺波	ボカ マサヤマ-砺波	リョウワ-高瀬 マサヤマ-シモダイ	マサヤマ-宮野アカ マサヤマM	マサヤマ-宮野アオ マサヤマPi	マサヤマ-信田アカ			
その他のクローン	早月3号 リョウワ3号	早月9号 リョウワ4号	早月14号 リョウワ5号	早月17号 リョウワ6号	早月21号 リョウワ7号	木根7号	片貝54号	リョウワ1号	リョウワ2号

*アンダーラインは、県外産を示す。

表-2 実験に使用したプライマー

プライマー名	塩基配列		
OP-A-07	G A A A C G G G T G	OP-B-17	A G G G A A C G A G
OP-A-11	C A A T C G C C G T	OP-D-3	G T C G C C G T C A
OP-A-19	C A A A C G T C G G	OP-D-5	T G A G C G G A C A
OP-B-10	C T G C T G G G A C	OP-D-7	T T G G C A C G G G
OP-B-11	G T A G A C C C G T	OP-D-11	A G C G C C A T T G

今回調査に用いた全93クローンも実際には、72クローンである可能性が高いと思われた。

4. 考 察

本研究によってRAPD法による正確なスギクロンの識別法を確立した。これまで富山県内のスギ品種の識別は、外部形態の特徴や生体内の酵素反応を利用するアイソザイム法で行われていたが²⁾、外部形態に依存した分類では、経験者の判断に委ねられることになり今回のように精英樹や雪害抵抗性候補木など100近くのクローンを正確に識別することは不可能である。また、アイソザイム法は生育環境や生

育段階の影響をうけること⁸⁾や分析可能な遺伝子座が限られていることから識別能力が低い⁹⁾などの問題点が指摘されている。それに対して、RAPD法はその個体もつDNAの変異をマーカーとして利用しているため環境による影響を受けることなく安定した手法であり、識別能力も非常に高い¹⁰⁾。個体の識別能力は、使用するプライマーの種類を増やしていくことによって向上していくが、10種類以上では頭打ちになりそれ以降、その能力は変わらないことが報告されている¹¹⁾。今回、使用したプライマーは10種類であったため十分な識別能力があり、本研究でバンドパターンに差が認められなかったクローンは、遺

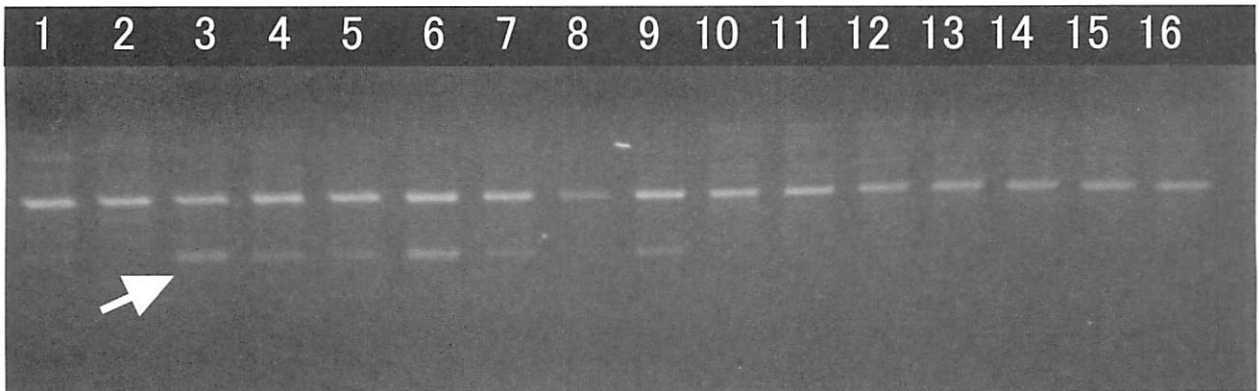


図-1 スギクローン各種の電気泳動パターン

RAPDプライマー (OPD-5) を使用した場合の電気泳動パターンを示す。

- レーン番号 1.高坂1号 2.高坂2号 3.高坂3号 4.高坂4号 5.高坂5号 6.高坂7号
 7.高坂8号 8.高坂9号 9.高坂11号 10.三尾スギ 11.ミオ1号 12.ミオ2号
 13.ミオ3号 14.ミオ4号 15.ミオ6号 16.ミオ7号

表-3 富山県の精英樹および挿し木品種のDNA型①

サンプル名	3-10 (1)	3-10 (2)	B-10 (3)	B-11(1)	B-11 (2)	D-3 (1)	D-3 (2)	D-3 (3)	A-11(1)	A-11(2)	A-19	A-7(1)	A-7(2)	D-5(1)	D-5(2)	D-11(1)	D-11(2)	D-7	B-17(1)	B-17(2)
高坂1号	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1
高坂2号	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	1
高坂3号	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1
高坂4号	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1
高坂5号	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1
高坂7号	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	1	1	1	0	0	1
高坂8号	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1
高坂9号	1	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	0	1	1
高坂11号	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1
三尾スギ	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0
ミオ1号	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0
ミオ2号	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0
ミオ3号	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0
ミオ4号	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0
ミオ6号	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0
ミオ7号	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0
ミオ9号	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0
ミオ10号	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0
下高井2号	1	1	0	1	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	1
下高井10号	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0
下高井11号	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0	1
下高井13号	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0
下高井19号	1	1	0	1	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
下高井25号	1	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1
下高井26号	1	1	0	0	0	1	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
早月3号	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	1
早月9号	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	1	0	1	0
早月14号	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0
早月17号	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0	1	1
早月21号	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
魚津10号	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0
魚津11号	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
魚津12号	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0	1	0
魚津14号	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0
魚津15号	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	1	1	0	0	1	1
魚津17号	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1
魚津18号	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
魚津21号	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	1
魚津22号	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1
魚津24号	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	1
魚津25号	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	1	1	1	1
魚津26号	1	1	0	1	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1
原牧1号	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1
原牧2号	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1
原牧3号	1	1	0	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1	0	1	0	0	1	0
原牧4号	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	1	1	1
原牧5号	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0
原牧6号	1	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1
原牧7号	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	1	1

表-3 富山県の精英樹および挿し木品種のDNA型②

サンプル名	3-10	(1) 3-10 (2)	B-10 (3)	B-11(1)	B-11 (2)	D-3 (1)	D-3 (2)	D-3 (3)	A-11(1)	A-11(2)	A-19	A-7(1)	A-7(2)	D-5(1)	D-5(2)	D-11(1)	D-11(2)	D-7	B-17(1)	B-17(2)
三角3号	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1
三角4号	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
三角5号	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0	1	1
三角6号	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1	1	0	1	1
石動1号	1	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	1	1	1
石動3号	1	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	1	1	1
ボカ	1	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	1	1	1
高瀬	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	1
石動2号	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1	1	0	0	1	1
リョウワ1号	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1	1	0	0	1	1
リョウワ2号	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1	1	0	0	1	1
リョウワ3号	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1	1	0	0	1	1
リョウワ4号	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1	1	0	0	1	1
リョウワ5号	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1	1	0	0	1	1
リョウワ6号	1	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1
リョウワ7号	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1	1	0	0	1	1
木根1号	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	1
木根3号	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
木根4号	1	1	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1	1	1	0	1	1
木根5号	1	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0
木根6号	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	1	0	1	0
木根7号	1	1	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	1
片貝54号	1	1	1	0	0	1	0	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	0	1	0
宮野アカ	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1
宮野アオ	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	0
お宮アカ	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0
信田アカ	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0
マस्याマM	1	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	0
マस्याマP1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	0
砺波	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0
砺波1号	1	1	0	1	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	0
砺波2号	1	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	0
シモダイ	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	0
小原3号	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	1	1
小原4号	1	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1
小原5号	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	1	1
小原6号	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	1	0
小原7号	1	1	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	0	0	1	1
小原9号	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	1	1	0	1	1	1
小原10号	1	1	0	1	0	1	0	0	1	1	0	1	0	1	1	1	1	0	1	1
小原11号	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1
小原13号	1	1	0	1	0	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0
小原14号	1	1	0	1	0	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
小原15号	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	0

表-4 同一と思われるクローン

・ 高坂5号	高坂8号								
・ ミオスギ	ミオ1号	ミオ2号	ミオ3号	ミオ4号	ミオ6号	ミオ7号	ミオ9号	ミオ10号	
・ 下高井10号	下高井13号								
・ 石動2号	リョウワ1号	リョウワ2号	リョウワ3号	リョウワ4号	リョウワ5号	リョウワ7号			
・ 宮野アオ	マスマヤ P								
・ ボカスギ	石動1号	石動3号							
・ お宮アカ	信田アカ								

表-5 富山県の主要な挿し木品種の構成クローン数

品種名	構成クローン数	精英樹および雪害抵抗性候補木との関係
・ ミオ	1	(ミオ, ミオ1号, ミオ2号, ミオ3号, ミオ4号, ミオ6号, ミオ7号, ミオ9号, ミオ10号)
・ ボカ	1	(ボカ, 石動1号, 石動3号)
・ リョウワ	3	(石動2号, リョウワ1号, リョウワ2号, リョウワ3号, リョウワ4号, リョウワ5号, リョウワ7号) (高瀬) (リョウワ6号)
・ マスマヤ	8	(砺波1号) (砺波2号) リョウワ3号, (シモダイ) (砺波) (宮野アカ) (宮野アオ, マスマヤPi) (お宮アカ, 信田アカ)

伝的に同一である可能性が非常に高いと考えられる。

また、不明なクローンがでてきた際に、表-3のようなDNA型の一覧表を利用することによって、その正確な分類や同定が可能になる。このことから、今後は富山県内で選抜された全精英樹と雪害抵抗性候補木についてDNA型を決定し、今回作成した一覧表に付け加えておく必要があるだろう。

本研究により、同一品種(クローン)から複数の個体が精英樹や雪害抵抗性候補木として選抜されていることが明らかになった。富山県西部で選抜された精英樹や雪害抵抗性候補木は、大半が人為的に植栽された集団の中から形質の優れた個体を選抜している。そのため、それらを選抜した林分や地域が異なっている場合でも、挿し木や接ぎ木によって増殖され広がっていった同一品種であったことがその理由として考えられる。このような異名同種(名前は異なるが遺伝的に同一)のクローンをそのまま使用し続けると、今後、様々な問題が生じてくることが予想される。例えば、新たな採種園を造成する場合、同一クローンが近くに配置されると自殖弱勢が起こる危険性が高くなる。また、これまで蓄積してきた検定林の生育調査や発芽、発根率など諸特性のデータにも当然、影響を及ぼすことが考えられる。したがって、今後は同一クローンに関しては名前を統一し、さらに誤植やラベルミスなどの人為的なエラーを軽減させるため各クローンの基準木を設定するのが好ましいと思われた。

引用文献

- 1) 富山県農林水産部 「平成12年度富山県林業統計書」(2002)
- 2) 平 英彰 富山県のスギさし木品種 パーオキシダーゼ・アイソザイム及び針葉形質によるスギ挿し木品種の分類と同定について 富山県林業試験場研究報告N0.5, 1-66 (1979)
- 3) Williams, J. K., Kuberik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A., and Tingey, S. V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucl. Acids. Res. 18: 6531-6535 (1990)
- 4) Koller, B., Lehmann, A., McDermott, J. M., and Gessler, C. Identification of apple cultivars using RAPD markers. Theor. Appl. Genet. 85: 901-904 (1993)
- 5) Mailer, R. J., Scarth, R., and Fristensky, B. (1994) Discrimination among cultivars of rapeseed (*Brassica napus* L.) using DNA polymorphisms amplified from arbitrary primers. Theor. Appl. Genet. 87: 697-704 (1994)
- 6) Schnell, R. J., Ronning, C. M. and Knight

- Jr, R. J. Identification of cultivars and validation of validation of genetic relations in *Mangifera indica* L. using RAPD markers. *Theor. Appl. Genet.* 90: 269-274 (1995)
- 7) 河原孝行, 村上哲明, 瀬戸口浩彰, 津村義彦
野生植物からのDNA抽出と解析への道 日本植物分類学会報 11: 13-32 (1995)
- 8) Falkenhagen, E. R. Isozyme studies in provenance research of forest trees. *Theor. Appl. Genet.* 69: 335-347 (1985)
- 9) Okuizumi, H. Clone analysis of collected sugi-cutting cultivars of the Kyushu region by the multilocus genotype of twelve isozyme loci. *J. Jpn. For. Soc.* 75: 293-302 (1993)
- 10) Hedrick, P. Shooting the RAPDs. *Nature* 355: 679-680 (1992)
- 11) 金山央子, 後藤陽子, 近藤禎二 関東育種基本区のスギ精英樹のクローン識別におけるRAPD法の有効性 日林試 84 (2) : 100-103 (2002)

Summary

RAPD markers were used to discriminate between cutting cultivars, plus tree clones, and snow damage resistance tree clones of sugi (*Cryptomeria japonica* D. Don) in Toyama prefecture. As a result of investigating DNA types of 93 clones using 10 kinds of primers, between Miosugi from cutting cultivar and Mio 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10 of snow damage resistance tree clones, they were identical. Some other genetically identical clones were also found. Bokasugi of cutting cultivar and Ryowa 6 of snow damage resistance tree clones resemble each other well. But it was clarified that they were different inherited clones. This study showed that RAPD analysis can be a useful tool for identification of sugi clones.