DNA情報によるグイマツ精英樹２系統の識別とその利用

北海道立総合研究機構林業試験場*，森林研究・整備機構森林総合研究所林木育種センター北海道育種場**

Identification of two plus trees of *Larix gmelinii* var. *japonica* based on DNA information and its application

Forestry Research Institute, Hokkaido Research Organization*,
Hokkaido Regional Breeding Office, Forest Tree Breeding Center, Forestry and Forest Products Research Institute**

要旨

北海道ではグイマツ雑種F_1の利用が進み，特定のグイマツ精英樹を母親とした優良な種苗も開発されている。今後の育種材料や採種園の管理，拡充のため，既存の遺伝子マーカーを用いて２系統のグイマツ精英樹（中標津５号，中標津３号）とどちらかが片親となっている交配世代の識別を行った。遺伝子型を判定した結果，用いた遺伝子マーカセットで明確に２系統のクローン個体や次世代を区別できることがわかった。同時に，林業試験場の有する中標津５号と中標津３号クローンはともに中標津５号の遺伝子型を有していたことや，台木管理等に起因する他の遺伝子型検出例があることがわかったことから，今後，DNA情報を活用した育種材料の修正や丁寧な管理を図っていくことが必要だと考えられた。

キーワード：マイクロサテライト解析，ジェノタイピング，グイマツ，中標津5号

はじめに

林木育種では，これまで60年以上にわたって脈々と，遺伝的に優れた成長特性，材質特性を有する精英樹を選抜する取り組みを継続してきた（林野庁 1987，白石 2016）。今後，より効率的な選抜育種を実施していくためには，旧来の取組みの中に新たな技術を積極的に取り入れて，選抜育種事業の高度化を図っていくことが重要である。その１つとして挙げられるのがDNA情報の解析技術である。豊富な突然変異が蓄積したDNA領域を調べることによって，そこから得られるDNA多型情報に基づいて個体の識別や親子鑑定が可能となる（Butler 2005 福島・五條堀監訳 2009）。中でも，マイクロサテライト（SSR；Simple Sequence Repeat）領域は簡便かつ頑強な解析を可能とするため，多検体に対して効率的に遺伝子型判定，すなわちジェノタイピングができる有効な手法である（Guichoux et al. 2011）。この手法はすでに多くの林木において個体識別や親子鑑定の用途に用いられている（井城ら 2006; Lian et al. 2008; Ozawa et al. 2009; Ishizuka et al. 2015; Sun et al. 2017）。林木育種にとっても有用な手法であり，たとえばカラマツ属（*Larix*）の樹木を材料に，個体識別によって有用な遺伝資源木の管理に役立てられることを示した報告（井城ら 2006）や，親子鑑定によって採種園産種子が想定通りに有用な個体間の交配によって得られているかを調べた報告（Sun et al. 2017）がある。さらに，一度遺伝子マーカーを揃えれば，そのマーカーは同種もしくは近縁種に広く適用させることができることも本手法の利点である。そこで，カラマツ属に関しては，これまでに整備されたマーカー情報やDNA情報を用いてさらなる林木育種への応用が望まれる。

カラマツ属のうち，ニホンカラマツ（*L. kaempferi*；以降，カラマツ）や，種子親（母樹）のグイマツ*L. gmelinii* var. *japonica*に花粉親のカラマツを交配させた雑種第１世代を指すグイマツ雑種F_1の２種は，北海道における主要林業樹種である。中でも，グイマツ雑種F_1は，グイマツよりも初期

*　北海道立総合研究機構林業試験場　Forestry Research Institute, Hokkaido Research Organization, Bibai, Hokkaido, 079-0198
**　国立研究開発法人森林研究・整備機構森林総合研究所　林木育種センター北海道育種場
Hokkaido Regional Breeding Office, Forest Tree Breeding Center, Forestry and Forest Products Research Institute, Ebetsu, Hokkaido, 069-0836
［北海道林業試験場研究報告　第56号　平成31年３月　Bulletin of the Hokkaido Forestry Research Institute, No. 56, March, 2019］

成長に優れ，かつ，カラマツよりも耐鼠性に秀でるという利点を有する（倉橋 1988; 宮木 1990）。母樹側のグイマツは自生地であるサハリン（樺太）と千島列島の色丹島からかつて北海道内に持ち込まれたとされ，北海道における選抜育種事業によって，1956年以降，全106精英樹が選抜されている（石塚 2017）。そのうち，グイマツ精英樹の中標津５号と中標津３号の２系統はグイマツ雑種F_1の親として特に遺伝的に優れることが次代検定によって明らかになっている（Kita et al. 2009）。そのため，クリーンラーチといった優良な種苗の開発につながるとともに（岩田 2008），グイマツ雑種F_1の有用な親として採種園への積極的な導入が進められている（黒丸 2015）。

そこで本報告では，今後の育種材料や採種園の管理，拡充のため，２系統の有用なグイマツ精英樹（中標津５号，中標津３号）について，既存の遺伝子マーカーを用いて識別ができるか検討した。同時にその識別技術の応用を試みることとし，育種材料として，また採種園の母樹として利用されている２系統のグイマツ精英樹のクローン個体や，交配によって得た次世代個体について，遺伝子型の把握を行った。

材料と方法

1　材料の選定

解析対象として，精英樹のクローン個体と，交配世代（精英樹を片親とした交配によって得られた次世代個体）を用いた（表－１）。解析の候補としてはこの他に精英樹の原木が挙げられるが，該当個体は現存していないために対象としなかった。なお，現存状況はすべて2018年６月時点を指す。また，クローン個体はすべて接ぎ木によって増殖されている。台木となる地際以下の部位（接いだ位置よりも下部）については増殖対象とは別個体に由来するため，別の遺伝子型を有すると考えられる。そのため，本報告においては，とくに断りのない限り，クローン個体を解析対象とする場合には地際以下の台木由来の部位を解析に含まないこととする。

(1) 精英樹のクローン個体

森林研究・整備機構森林総合研究所林木育種センター北海道育種場（以降，北海道育種場）のクローン集植所にて保存されているクローン個体のうち，精英樹の原木そのものから増殖されており，その精英樹の遺伝子型の基準となるクローン個体を解析対象とした。以下，このクローン個体をプライマリークローンと呼ぶ。中標津３号のプライマリークローンは１個体のみ現存しており，これを対象とした。中標津５号のプライマリークローンは枯損により現存しておらず，対象としなかった。

続いて，北海道立総合研究機構林業試験場（以降，林業試）のクローン集植所で保存されているクローン個体を解析対象とした。同場内に集植所は２ヶ所あり，1962年造成の「ダフリカ系カラマツ集植所」において現存する中標津５号のクローン２個体，中標津３号のクローン１個体，ならびに，2007年造成の「カラマツ類集植所」に，複数年にわたって順次植栽された中標津５号のクローン38個体，中標津３号のクローン10個体を対象とした。なお，「カラマツ類集植所」に植栽されたクローン個体は，「ダフリカ系カラマツ集植所」のクローン個体からの再増殖である。

次に，北海道が主管する訓子府町の道有採種園に植栽されたクローン個体を解析対象とした。本採種園は，単一母樹植栽によるグイマツ雑種F_1の種子生産が行われており，採種園内のブロックごとに植栽された母樹系統が異なる。中標津５号は２，３，６，７，10ブロックに植栽され，全ブロックより一部個体，のべ27個体を対象とした。中標津３号は１，４，５，９ブロックに植栽され，現存する全個体，のべ160個体を対象とした。これらについては，1996年から2012年にかけてブロックごとに植栽された。９ブロック以外に植栽されたクローン個体は林業試において増殖されたもので，９ブロックに植栽されたクローン個体は北海道育種場において増殖されたものである。

同様に，北海道が主管している中川町の道有採種園に植栽されたクローン個体も解析対象とした。本採種園は林業試道北支場構内にあり，ここに現存する中標津３号のクローン全３個体を対象とした。これらは1972年に造成した２ブロックに植栽されており，林業試において増殖された個体である。

また，林業試の苗畑にて育成中のクローン個体も解析対象とした。苗畑では中標津３号のクローン250個体を育成しており，このうち一部，７個体を対象とした。これらは，道有採種園（訓子府）の５ブロックに植栽されたクローン個体より2016年冬に採穂して，同年春に増殖が図られた個体である。

(2) 交配世代

林業試苗畑において育成する交配世代のうち，中標津３号を母親とした４家系の交配世代から４個体ずつ，のべ16個体を対象とした。なお，ここで用いた家系とは，父母が特定できる交配組合せのことを言う。本交配世代は，2008年に林業試道北支場構内において人工交配，および自然交配（表－１中のOpen）によって作出された。2015年に播種して苗木を育成し，2018年に新規造成したカラマツ類次代検定林へ植栽した（石塚ら 2019）。材料の収集時点では，苗畑で育成中であった。

続いて，1974年に造成したカラマツ類次代検定林３ヶ所を解析対象とした。すなわち，G16（北見），G17（新冠），G18（美唄）の３つの次代検定林で，ここには同一セットの交配世代が植栽されている。交配世代は人工交配によって作出されており，中標津５号と中標津３号が母親もしくは父親となる家系がある。そこでまず，母親を中標津５号とした４家系の交配世代の現存個体から，G16検定林でのべ16個体，G18検定林でのべ14個体を対象とした。また，父親を中標津５号とした３家系の交配世代から，G16検定林でのべ11個体，

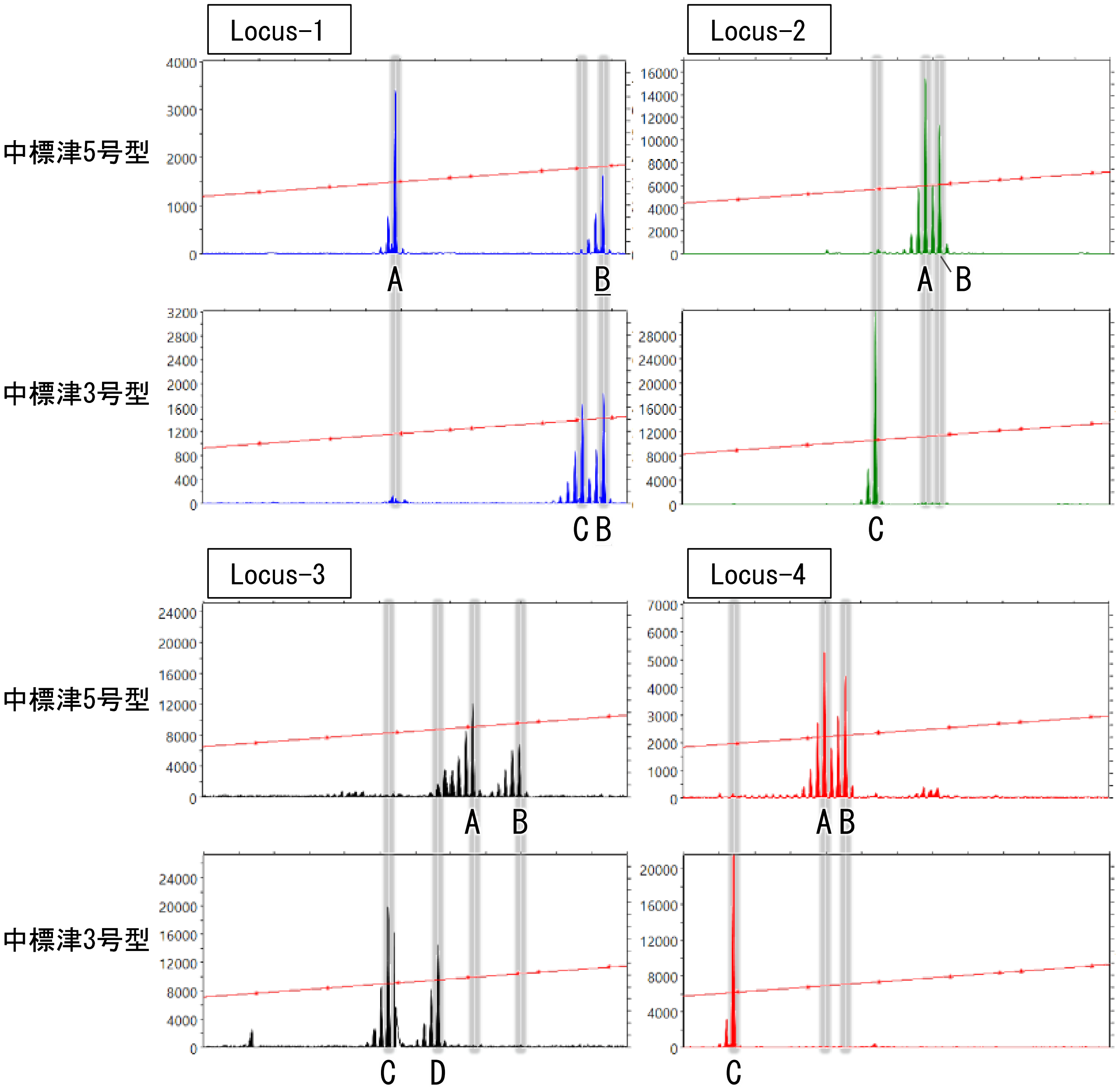
表－1　解析に供した精英樹のクローン個体ならびに交配世代の情報

	所管／植栽地	ブロック※1 家系番号※2	植栽年	クローン名※1 交配親組合せ※2	解析対象数
精英樹 クローン	プライマリークローン※3		1962年	中標津3号	1
	ダフリカ系カラマツ集植所		1962年	中標津5号	2 全数
				中標津3号	1 全数
	カラマツ類集植所		2007年以降順次	中標津5号	38 全数
				中標津3号	10 全数
	道有採種園（訓子府町）※4	2ブロック	1996年	中標津5号	5 一部
		3ブロック	1996年	中標津5号	6 一部
		6ブロック	2012年	中標津5号	5 一部
		7ブロック	2012年	中標津5号	3 一部
		10ブロック	2006年	中標津5号	8 一部
		1ブロック	1996年	中標津3号	43 全数
		4ブロック	1996年	中標津3号	39 全数
		5ブロック	1996年	中標津3号	24 全数
		9ブロック	2008年	中標津3号	54 全数
	道有採種園（中川町）	2ブロック	1972年	中標津3号	3 全数
	苗畑育成		2016年接ぎ木増殖	中標津3号	7 一部
交配世代	新設次代検定林 （苗畑育成中）	G05	2018年	中標津3号 × 胆振1号	4 一部
		G06		中標津3号 × 十勝35号	4 一部
		G07		中標津3号 × 空知3号	4 一部
		G08		中標津3号 × Open	4 一部
	次代検定林　北見G16 （1ブロックを対象）	162	1974年	中標津5号 × 上川2号	4 一部
		163		中標津5号 × 胆振1号	4 一部
		164		中標津5号 × 十勝35号	4 一部
		165		中標津5号 × 日高5号	4 一部
		113		上川2号 × 中標津5号	3 一部
		132		十勝35号 × 中標津5号	4 一部
		142		日高5号 × 中標津5号	4 一部
		411		中標津3号 × 日高5号	2 一部
		412		中標津3号 × 胆振1号	4 一部
		413		中標津3号 × 十勝35号	4 一部
		414		中標津3号 × 上川2号	4 一部
		223		十勝35号 × 中標津3号	4 一部
	次代検定林　新冠G17 （1，2ブロックを対象）	411	1974年	中標津3号 × 日高5号	4 一部
		412		中標津3号 × 胆振1号	4 一部
		413		中標津3号 × 十勝35号	4 一部
		414		中標津3号 × 上川2号	4 一部
	次代検定林　美唄G18 （1ブロックを対象）	162	1974年	中標津5号 × 上川2号	4 一部
		163		中標津5号 × 胆振1号	4 一部
		164		中標津5号 × 十勝35号	4 一部
		165		中標津5号 × 日高5号	2 一部
		132		十勝35号 × 中標津5号	4 一部
		142		日高5号 × 中標津5号	4 一部
		411		中標津3号 × 日高5号	4 一部
		412		中標津3号 × 胆振1号	4 一部
		413		中標津3号 × 十勝35号	4 一部
		414		中標津3号 × 上川2号	5 一部
	一般造林地（道有林）	ー	2017年	中標津5号 × カラマツ精英樹	21 一部

※１　精英樹のクローン個体の場合に記す内容
※２　交配世代の場合に記す内容
※３　林木育種センター北海道育種場所管の第４カラマツ育種素材保存園にて現存
※４　種子親（母樹）となるグイマツの植栽年を示す。花粉親となるニホンカラマツについては1961～1963年植栽

G18検定林でのべ８個体を対象とした。続いて，母親を中標津３号とした４家系の交配世代から，G16検定林でのべ14個体，G17検定林でのべ16個体，G18検定林でのべ17個体を対象とした。G16検定林では，父親を中標津３号とした１家系の交配世代から４個体も対象に加えた。対象個体はG16，G17，G18で計100個体となった。

補足的な解析対象として，一般に販売されているグイマツ雑種F_1のうち，中標津５号を母親とした交配世代であるク



図－1　異なる遺伝子型『中標津５号型』『中標津３号型』の電気泳動図の例

ジーンスキャンによって得られた電気泳動図を，解析対象とした４つの遺伝子座（Locus-1, 2, 3, 4）について供試個体ごとに示す。各遺伝子座で２つパネルがあるうち，上のパネルが『中標津５号型』，下のパネルが『中標津３号型』の結果となる。横軸が配列断片長，縦軸が相対蛍光シグナル強度を示し，どちらもパネル内に右肩上がりの線で示されるサイズ検量マーカーの検出値を基準として算出される。縦軸値は相対値で単位はなく，遺伝子座と個体ごとに任意の値をとるが，横軸はすべてのパネルで同一の範囲を示す。パネル内に認められる最も高いピークが，その個体の保有する対立遺伝子を示し，各遺伝子座において１つまたは２つの対立遺伝子が認められる。これらにアルファベットを付して区別することとした。なお，Locus-1の対立遺伝子B（下線で示す）のように『中標津５号型』と『中標津３号型』とで同じアルファベットが付される場合，これらの間で同じ対立遺伝子を共有していることを示す。

リーンラーチも加えた。クリーンラーチは現在，道有採種園（訓子府町）より採種され，挿し木増殖によって苗木生産されて販売されている。このうちオホーツク総合振興局管内の道有林に植栽されたクリーンラーチの一部21個体を対象とした。

2　DNA解析

全解析対象より針葉を採集し，DNA抽出まで乾燥状態で保存した。針葉は短枝から展開した健康で無傷な葉を対象とし，採集後は新鮮なうちにシリカゲルに封入して乾燥させた。DNA抽出は乾燥葉をビーズ破砕した後，Proteinase K（キアゲン社）を添加したDNeasy Plant Mini kit（キアゲン社）の試薬を用い，製品の推奨プロトコルに沿って抽出した。抽出

作業は林業試にて行った。得たDNA抽出溶液は次の使用まで冷凍保管した。

DNA解析には，カラマツの核DNA上のSSR領域の中から既知の４遺伝子座を適用した（Isoda & Watanabe 2006）。以下，それぞれの遺伝子座をLocus[※ローカス（遺伝子座を表す言葉）]-1, 2, 3, 4とする。それぞれのSSR領域を特異的に増幅させるため，DNA溶液に，４遺伝子座それぞれで開発された遺伝子マーカーと，Type-it Microsatellite PCR試薬（キアゲン社）を添加し，製品の推奨プロトコルに沿ってPCR（Polymerase Chain Reaction；ポリメラーゼ連鎖反応）を実施した。なお，PCR産物から遺伝子型を判定するため，サンプルの一部を除き，遺伝子マーカーのフォーワードプライマーの5’末端（配列の上流側の端）にはM13配列（5’-CACGACGTTGTAAAACGAC-3’）を付与するとともに，遺伝子マーカーの添加の際には任意の蛍光色でラベルしたM13配列も同時に添加した。残りの一部については，マーカーに蛍光色を付与し，マルチプレックスによるPCRを試みた。PCRはSimpliAmp サーマルサイクラー（Thermo Fisher Scientific社）を用い，林業試にて行った。

PCR産物はFASMAC社にてジーンスキャン（Applied Biosystems 3730xl DNA Analyzer，Thermo Fisher Scientific社）にかけ，得られた電気泳動図から配列断片長の解読と遺伝子型の判定を行った。これらのジェノタイピング作業・解析は林業試にてPeak Scanner２（Thermo Fisher Scientific社）を用いて実施した。これによって決定した遺伝子型を用いて，各クローンの識別と交配次代の親の推定を試みた。

結果と考察

１　２系統のグイマツ精英樹の識別

４つの遺伝子座を解析した結果，供試した精英樹のクローン個体は主として異なる遺伝子型を有する２つのグループに分かれた。一つは中標津５号クローンに一貫して検出されたことから，この遺伝子型を『中標津５号型』として決定した。もう一つはプライマリークローンとした北海道育種場の中標津３号クローンの遺伝子型と一致したことから，これを『中標津３号型』として決定した。

図－１に，『中標津５号型』と『中標津３号型』それぞれのジーンスキャンの出力結果を示す。図に示されるとおり，４つの遺伝子座すべてで１本または２本の最も高いピークが認められ，『中標津５号型』と『中標津３号型』間でピークを示す配列断片長に違いがあった。解析した遺伝子座は核DNAに座上することがわかっているため（Isoda & Watanabe 2006），２つの対立遺伝子を有することになる。以下，それぞれの配列断片長のピークを対立遺伝子と定義すると，２つの対立遺伝子が検出される場合にはヘテロ接合，１つの場合には同一の対立遺伝子のホモ接合となっていると考えることができる。対立遺伝子の違いをアルファベットで区別し（図－１），遺伝子型を対立遺伝子の組合せで表記すると，『中標津５号型』（図－１の各遺伝子座の上パネル）の遺伝子型はAB-AB-AB-AB（Locus-1, 2, 3, 4の順。以下同じ）となった。『中標津３号型』（図－１の各遺伝子座の下パネル）の遺伝子型については，Locus-2, 4をホモ接合と判断し，BC-CC-CD-CCとなった。

このように，『中標津５号型』と『中標津３号型』はLocus-1の対立遺伝子Bを共有するものの，すべての遺伝子座で対立遺伝子の組合せが異なっていたため，この遺伝子マーカーセットを適用させて得られる遺伝子型に基づいて２系統のグイマツ精英樹を識別できると結論づけた。

また，メンデルの分離の法則に従うと，子どもは両親から２つある対立遺伝子のうちの１つずつを受け継ぐため，各遺伝子座の対立遺伝子のうち１つは必ず親子間で共有していることになる。解析したSSR領域に十分な変異があって両親が異なる対立遺伝子を有していた場合，片一方の親と子どもの遺伝子型とは半分の遺伝子型が一致することになる。もしも両親が同じ対立遺伝子を共有していた場合，遺伝子型の上での一致率は半分を超えることになる。今回，中標津５号と中標津３号の遺伝子型は８つの対立遺伝子のうち１つしか共有していなかった（図－１）。そのため，遺伝子型の半分以上の一致を基準として，２系統のどちらが片親として貢献したかを推定できるとみられた。実際，交配世代の解析結果からは，確かに『中標津５号型』とは少なくとも遺伝子型の半分の一致がみられたが，『中標津３号型』とは遺伝子型の半分を超える一致はなかった（表－３参照）。井城ら（2006）も，カラマツで開発された遺伝子マーカー（Isoda & Watanabe 2006）の一部はグイマツにも適用可能で十分な変異が検出できること，および，遺伝子型から系統の判別ができることを報告している。このことから，使用した遺伝子マーカーセットを用いることで，２系統の精英樹の次世代についても識別できると結論づけた。

２　クローン個体の遺伝子型

解析に供した全クローン個体の遺伝子型を表－２に示す。表－２には，各個体に付与されている精英樹の系統名と，遺伝子型によって決定される精英樹の型（『中標津５号型』,『中標津３号型』,『その他』）とを併記した。表に示されるとおり，プライマリークローン以外で検出された『中標津３号型』は，大多数が道有採種園（訓子府）の９ブロック植栽のクローン個体だった。それ以外のクローン個体については，中標津３号として保存・植栽されていても，そのほとんどの遺伝子型は『中標津５号型』であり，中標津５号のクローン個体であると判断された。解析SSR領域数に限りはあるものの，本結果は，林業試のクローン集植所に保存される中標津３号クローン，ならびに，道有採種園に植栽される，９ブロックを除く中標津３号クローンのほとんどについては，中標津５号クローンとして修正が必要なことを意味する。一方，クローン

表－２　精英樹のクローン個体におけるDNA解析結果の一覧
（記号は対立遺伝子を示し，＊は欠損値で，ジーンスキャンデータが得られなかったことに起因する）

通番	所管およびブロック	個体ID	精英樹系統名	遺伝子型による精英樹型	Locus-1		Locus-2		Locus-3		Locus-4	
1	プライマリークローン	RefNak3	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
2	ダフリカ系カラマツ集植所	113	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
3		114	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
4	ダフリカ系カラマツ集植所	110	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
5	カラマツ類集植所	189	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
6		190	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
7		191	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
8		192	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
9		193	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
10		194	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
11		195	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
12		196	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
13		197	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
14		198	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
15		199	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
16		200	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
17		294	中標津5号	その他	A	D	A	A	E	E	A	D
18		295	中標津5号	その他	E	F	D	E	E	F	E	F
19		296	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
20		297	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
21		298	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
22		299	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
23		300	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
24		301	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
25		302	中標津5号	その他	G	G	A	F	F	F	G	G
26		303	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
27		304	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
28		305	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
29		306	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
30		307	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
31		308	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
32		309	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
33		310	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
34		311	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
35		312	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
36		313	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
37		314	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
38		315	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
39		316	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
40		317	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
41		318	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
42		319	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
43	カラマツ類集植所	401	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
44		402	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
45		403	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B

表－2　（続き）

通番	所管およびブロック		個体ID	精英樹系統名	遺伝子型による精英樹型	Locus-1		Locus-2		Locus-3		Locus-4	
46	カラマツ類集植所（続き）		404	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
47			405	中標津3号	その他	A	A	A	G	E	E	E	H
48			407	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	A	A	B	A	B
49			409	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
50			410	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
51	道有採種園（訓子府町）	2	244	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
52			245	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
53			246	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
54			247	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
55			248	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
56		3	251	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
57			252	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
58			253	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
59			254	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
60		6	263	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
61			264	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
62			265	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
63			266	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
64			267	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
65		7	268	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
66			269	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
67			270	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
68		10	255	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
69			256	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
70			257	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
71			258	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
72			259	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
73			260	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
74			261	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
75			262	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
76	道有採種園（訓子府町）	1	201	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
77			202	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
78			203	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
79			204	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
80			205	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
81			206	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
82			207	中標津3号	その他	B	G	A	H	A	C	B	C
83			208	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
84			209	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
85			210	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
86			211	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
87			212	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
88			213	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
89			214	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
90			215	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B

表－２　（続き）

通番	所管およびブロック		個体ID	精英樹系統名	遺伝子型による精英樹型	Locus-1		Locus-2		Locus-3		Locus-4	
91	道有採種園(訓子府町)	1続き	216	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
92			217	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
93			218	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
94			219	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
95			220	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
96			221	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
97			222	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
98			223	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
99			224	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
100			225	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
101			226	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
102			227	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
103			228	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
104			229	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
105			230	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
106			231	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
107			232	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
108			233	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
109			234	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
110			235	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
111			236	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
112			237	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
113			238	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
114			239	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
115			240	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
116			241	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
117			242	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
118			243	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
119		4	055	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
120			056	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
121			057	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
122			058	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
123			059	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
124			060	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
125			061	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
126			062	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
127			063	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
128			064	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
129			065	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
130			066	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
131			067	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
132			068	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
133			069	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
134			070	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
135			071	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B

表ー２　（続き）

通番	所管およびブロック		個体ID	精英樹系統名	遺伝子型による精英樹型	Locus-1		Locus-2		Locus-3		Locus-4	
136	道有採種園(訓子府町)	4続き	072	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
137			073	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
138			074	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
139			075	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
140			076	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
141			077	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
142			078	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
143			079	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
144			080	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
145			081	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
146			082	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
147			083	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
148			084	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
149			085	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
150			086	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
151			087	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
152			088	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
153			089	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
154			090	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
155			091	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
156			092	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
157			093	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
158		5	094	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
159			095	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
160			096	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
161			097	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
162			098	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
163			099	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
164			100	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
165			101	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
166			102	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
167			103	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
168			104	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
169			105	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	H
170			106	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
171			107	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
172			108	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
173			109	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
174			110	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
175			111	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
176			112	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
177			113	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
178			114	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
179			115	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
180			116	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B

表－２　（続き）

通番	所管およびブロック		個体ID	精英樹系統名	遺伝子型による精英樹型	Locus-1		Locus-2		Locus-3		Locus-4	
181	道有採種園(訓子府町)	5続き	117	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
182		9	001	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
183			002	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
184			003	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
185			004	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	*	*	C	C
186			005	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
187			006	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
188			007	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
189			008	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
190			009	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
191			010	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
192			011	中標津3号	中標津3号型	B	C	*	*	C	D	C	C
193			012	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
194			013	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
195			014	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
196			015	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
197			016	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
198			017	中標津3号	中標津3号型	B	C	*	*	C	D	C	C
199			018	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
200			019	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
201			020	中標津3号	中標津3号型	B	C	*	*	C	D	C	C
202			021	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
203			022	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
204			023	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
205			024	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
206			025	中標津3号	その他	A	G	E	E	F	G	I	J
207			026	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
208			027	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
209			028	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
210			029	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
211			030	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
212			031	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
213			032	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
214			033	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
215			034	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
216			035	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
217			036	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
218			037	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
219			038	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
220			039	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
221			040	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
222			041	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
223			042	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
224			043	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
225			044	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C

表－２　（続き）

通番	所管およびブロック		個体ID	精英樹系統名	遺伝子型による精英樹型	Locus-1		Locus-2		Locus-3		Locus-4	
226	道有採種園(訓子府町)	9続き	045	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
227			046	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
228			047	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
229			048	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
230			049	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	*	*
231			050	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
232			051	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
233			052	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
234			053	中標津3号	中標津3号型	B	C	C	C	C	D	C	C
235			054	中標津3号	中標津3号型	B	C	*	*	C	D	C	C
236	道有採種園(中川町)	2	Na087	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
237			Na092	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
238			Na107	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
239	苗畑育成		ツギ-1	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
240			ツギ-2	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
241			ツギ-3	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
242			ツギ-4	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
243			ツギ-5	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
244			ツギ-6	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B
245			ツギ-7	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	B	A	B

集植所や道有採種園の中標津５号クローンについては，調べた範囲ではほとんどが『中標津５号型』であり，遺伝的に同一のクローンが概ね正しく植栽・保存されていた。

林業試と道有採種園の解析対象の中で最も古くに設定されたものが「ダフリカ系カラマツ集植所」である。この集植所のクローン個体を使って再増殖が図られ，もう１つの「カラマツ類集植所」や，道有採種園（訓子府）の９ブロックを除くその他の採種園ブロックの造成が行われた。さらに，道有採種園（訓子府）の５ブロック植栽の個体を用いて，林業試苗畑育成のクローン個体が再々増殖された。すなわち，「ダフリカ系カラマツ集植所」の中標津３号が『中標津５号型』だったことにより，そこから増殖されたその他の個体もみな『中標津５号型』を有したものと考えられ，本結果とつじつまがあう。一方で，道有採種園（訓子府町）の９ブロック植栽のクローン個体は北海道育種場由来である。北海道育種場では『中標津３号型』の個体を正しく中標津３号クローンとして保存していることから，本結果もつじつまがあう。

これ以外に，想定した遺伝子型とは別の遺伝子型を示す個体や，同一のクローン個体であるはずの周囲の個体から逸脱した遺伝子型を示す個体がわずかに認められた（表－２）。まず，「カラマツ類集植所」の中標津５号クローンのうち３個体は，一部の遺伝子座の対立遺伝子については『中標津５号型』と共有するものもあったが，半分以上の対立遺伝子は『中標津５号型』とは別だった（８つの対立遺伝子の不一致率は，３個体それぞれで62.5%，100%，87.5%）。すなわち，遺伝子型は『その他』を割り当て，これらの個体は２系統の精英樹のいずれでもないと判断された。現地にて確認したところ，植栽後の枝の剪定不足によって，接ぎ木台木から伸びた枝が主軸となって成長してしまう，台木の立ち上がり（台勝ちとも言う）であると判明した。このような現象は，接ぎ木によって増殖されたクローンを植栽する際に気を付けるべきこととして知られており，クロマツ採種園でも8.1%の個体が台木の立ち上がりだったという報告がある（川内・後藤 1999）。また，「カラマツ類集植所」の中標津３号クローン１個体についても，『中標津５号型』とは62.5%，『中標津３号型』とは87.5%一致しておらず，２系統のいずれでもないと判断された。現地にて確認したところ，中標津３号植栽区画の隅で，中標津３号クローンの植栽後に新たに植栽された別系統のグイマツ個体だった。これらについては，将来にわたる確実な育種材料の保存と活用のためにも，速やかな除伐と集植所の配植情報の修正が必要である。

道有採種園（訓子府）において遺伝子型が他から逸脱していたものは，１ブロックで３個体，４ブロックで２個体，９ブロックで１個体検出された。まず，１，４ブロックの４個体は『中標津３号型』として識別されており，同ブロックの他個体が『中標津５号型』であることとは矛盾していた。現

地にて確認したところ，これらはみな補植されたとみられる若木であった（胸高直径５cm程度）。2008年の９ブロック造成時，余った北海道育種場由来の接ぎ木苗を当該ブロックの枯損位置に補植したという（林業試担当者談）。北海道育種場由来苗は『中標津３号型』であることから，この解析個体が確かに補植苗であるとしたら本結果は矛盾がない。

１ブロック内の残り１個体については，各遺伝子座の対立遺伝子の１つずつが『中標津５号型』と共有しており，８つの対立遺伝子の一致率は50%となる。これは『中標津５号型』が片親である場合に期待される遺伝子型である。すなわち，この個体が中標津５号クローンそのものではなく，その子どもであることを示す。天然更新由来の個体である可能性が類推されるが，現地にて確認したところ，造成時の植栽個体とみられ，天然更新個体とは考えられなかった。逆に，周囲の植栽グイマツよりも成長に秀でていた。すると，もう１つの可能性として，台木の立ち上がり（川内・後藤 1999）が類推された。かつてはグイマツの接ぎ木増殖においても，入手の簡便さからカラマツ台木が用いられていたが，それよりもグイマツ雑種F_1を台木として使ったほうが，接ぎ穂の活着と接ぎ木苗の成長の両面に利点があることが知られる（来田ら 2014）。全てではないが，林業試では実際に，中標津５号クローンを親木としたグイマツ雑種F_1苗を台木に用いて接ぎ木が行われる。そのため，台木である中標津５号クローンの子どもが主軸に置き換わって活着・成長していた可能性は十分にあると考えられた。

最後に，９ブロック内の１個体については，現地にて確認したところ，接ぎ木苗育成段階の系統管理用ラベルが地際に残っており，カラマツ精英樹のクローン個体であることが判明した。これら，採種園ブロック内他個体と遺伝子型が矛盾する計６個体は，道有採種園（訓子府町）の調査個体（187個体）の3.2%であった。一般に，採種園内には５～10%の誤植率があるとされており，多い場合には誤植率が20%にものぼる（森口ら 2005）。本採種園は単一母樹型の雑種採種園で，配植が単純であったことから（黒丸 2015），これらよりも低い値であったと推定される。確実な育種材料の管理・活用のため，この６個体の除伐や配植情報の変更が必要である。また，今後の採種園造成時にも同様のことが起こらないよう留意すべきである。

３　交配世代の遺伝子型

解析に供した交配世代全個体の遺伝子型を表－３に示す。ここに，交配時のグイマツ精英樹の系統名と遺伝子型からもっともらしいと推定される交配親を併記した。ただし，交配親と推定されても，それは「次世代の片親として考えても矛盾が生じない」ことを示すにとどまり，片親として確定したわけではない。先に述べたとおり，子どもは両親から対立遺伝子を１つずつ受け継ぐため，組合わせによっては，たとえ解析した８つの対立遺伝子の一致率が50%を超えていても，真の親ではない場合もある。親であることを確定するには，候補となりうる他個体（グイマツ，カラマツ）の遺伝子型情報を包括して親子解析を行う必要があるが，本解析では情報不足であることには留意すべきである。ただし，本結果からは，「次世代の片親として貢献していないことが確実である」かどうかの判定はできる。このような観点で結果をみていく。

まず，新設検定林用の交配世代について，各個体の有する８つの対立遺伝子と『中標津５号型』の有する８つの対立遺伝子との平均一致率は63.3%,『中標津３号型』との平均一致率は7.8%だった。どの個体も『中標津３号型』を片親とした次世代ではないことが確実で，みな片親を中標津５号と考えても遺伝子型に矛盾はなかった（表－３）。これらは，道有採種園（中川町）の『中標津５号型』個体より作出された次世代のため，つじつまが合う結果であった。ただし，表記については中標津３号交配家系となっていたため，次代検定林活用にあたっては修正すべきと考えられた。なお，すでに次代検定林への植栽が済んでいるが，次代検定林台帳には修正が反映済みである（石塚ら 2019）。

続いて，G16，G17，G18の次代検定林について，『中標津５号型』,『中標津３号型』の順に８つの対立遺伝子の平均一致率を示すと，G16の中標津５号の交配家系が54.6%，9.7%，中標津３号の交配家系が61.1%，7.6%，G17の中標津３号の交配家系が60.2%，4.7%，G18の中標津５号の交配家系が60.8%，7.4%，中標津３号の交配家系が63.2%，9.6%となった。いずれの家系，次代検定林でも，ごく一部を除き『中標津５号型』との一致率が50%を超えた一方で，『中標津３号型』の一致率は10%未満となっており，『中標津３号型』を片親とした次世代は存在しないことが明らかとなった。１交配家系を除く97個体については，『中標津５号型』を片親とした次世代と考えても矛盾しない個体が93個体（95.9%）にのぼった。これまでは，G16，G17，G18では，中標津５号の家系と中標津３号の家系は別個に管理されてきたが，今後の次代検定林の管理・活用のためには，『中標津５号型』の交配家系として同一の管理ができるように修正する必要があると考えられた。

なお，１交配家系（G16家系番号113）については，その親は『中標津５号型』にも『中標津３号型』にも帰属しない『その他』とみられた。この家系は，花粉親として中標津５号が用いられた家系である。本結果は，人工交配によってこの家系の次世代を作出する際，想定どおりに花粉がかかっていなかったことを示唆する。逆に言えば，それ以外で花粉親に中標津５号や中標津３号を用いた家系は，想定通りに『中標津５号型』が片親となっており，用いた花粉によって確かに次世代が作出できたことを裏付ける結果となる。

一般造林地のクリーンラーチ苗に関しては，『中標津５号型』との８つの対立遺伝子の平均一致率は58.3%だった。全

表－3　交配世代におけるDNA解析結果の一覧（表－2と同様に記号は遺伝子型，＊は欠損値）

通番	植栽地および家系番号		個体ID	グイマツ親の精英樹系統名	遺伝子型による推定親型	Locus-1		Locus-2		Locus-3		Locus-4	
246	新設検定林	G05	nurs-5-1	中標津3号	中標津5号型	B	E	A	B	B	F	A	A
247			nurs-5-2	中標津3号	中標津5号型	A	E	B	I	A	F	A	B
248			nurs-5-3	中標津3号	中標津5号型	B	E	A	B	B	E	A	B
249			nurs-5-4	中標津3号	中標津5号型	B	H	A	E	A	H	A	K
250		G06	nurs-6-1	中標津3号	中標津5号型	A	J	A	B	A	E	H	H
251			nurs-6-2	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	B	A	I	A	D
252			nurs-6-3	中標津3号	中標津5号型	A	I	A	B	A	E	B	E
253			nurs-6-4	中標津3号	中標津5号型	A	I	C	*	B	E	A	J
254		G07	nurs-7-1	中標津3号	中標津5号型	B	C	A	B	B	C	A	L
255			nurs-7-2	中標津3号	中標津5号型	B	G	A	A	A	F	A	D
256			nurs-7-3	中標津3号	中標津5号型	A	A	A	G	A	E	A	B
257			nurs-7-4	中標津3号	中標津5号型	A	G	A	B	A	F	B	D
258		G08	nurs-8-1	中標津3号	中標津5号型	A	G	A	B	A	E	B	E
259			nurs-8-2	中標津3号	中標津5号型	A	K	A	H	B	B	A	M
260			nurs-8-3	中標津3号	中標津5号型	A	I	B	D	A	F	B	H
261			nurs-8-4	中標津3号	中標津5号型	B	H	B	B	B	B	B	B
262	G16	162	16-162-6	中標津5号	中標津5号型	B	G	A	B	A	F	A	F
263			16-162-10	中標津5号	中標津5号型	A	G	A	B	B	F	A	H
264			16-162-11	中標津5号	中標津5号型	A	G	A	B	B	F	A	H
265			16-162-14	中標津5号	中標津5号型	A	G	A	A	B	F	A	F
266		163	16-163-5	中標津5号	中標津5号型	A	B	B	B	B	J	A	J
267			16-163-10	中標津5号	中標津5号型	B	G	B	B	B	E	A	A
268			16-163-12	中標津5号	中標津5号型	B	G	A	A	B	J	A	B
269			16-163-14	中標津5号	中標津5号型	B	G	A	A	B	J	A	A
270		164	16-164-3	中標津5号	中標津5号型	A	A	A	F	B	D	B	O
271			16-164-5	中標津5号	中標津5号型	B	I	A	F	B	D	B	O
272			16-164-9	中標津5号	中標津5号型	A	B	B	F	A	E	B	O
273			16-164-13	中標津5号	中標津5号型	A	I	A	G	A	D	A	E
274		165	16-165-1	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	L	A	F	B	G
275			16-165-2	中標津5号	中標津5号型	A	I	B	B	B	F	A	G
276			16-165-12	中標津5号	中標津5号型	A	I	B	L	A	F	A	G
277			16-165-14	中標津5号	中標津5号型	A	B	B	L	A	F	B	G
278		113	16-113-1	中標津5号	その他	A	G	A	J	C	F	F	L
279			16-113-7	中標津5号	その他	G	G	A	E	C	F	F	H
280			16-113-10	中標津5号	その他	B	G	A	A	F	F	G	F
281		132	16-132-1	中標津5号	中標津5号型	B	I	B	F	B	D	A	E
282			16-132-7	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	F	A	E	A	O
283			16-132-10	中標津5号	中標津5号型	B	I	B	G	A	E	A	E
284			16-132-12	中標津5号	中標津5号型	A	I	A	F	A	D	A	E
285		142	16-142-2	中標津5号	中標津5号型	B	I	B	B	B	F	A	G
286			16-142-8	中標津5号	その他	G	I	B	B	E	F	H	G
287			16-142-10	中標津5号	中標津5号型	A	A	A	A	B	F	A	G
288			16-142-12	中標津5号	その他	A	G	E	E	E	F	H	G
289		411	16-411-11	中標津3号	中標津5号型	A	I	A	A	B	F	A	G
290			16-411-3	中標津3号	中標津5号型	A	I	B	B	A	F	B	G

表－３　（続き）

通番	植栽地および家系番号		個体ID	グイマツ親の精英樹系統名	遺伝子型による推定親型	Locus-1		Locus-2		Locus-3		Locus-4	
291	G16（続き）	412	16-412-1	中標津3号	中標津5号型	A	B	B	B	A	E	B	J
292			16-412-2	中標津3号	中標津5号型	A	G	A	A	A	E	B	J
293			16-412-8	中標津3号	中標津5号型	A	G	A	A	B	E	B	J
294			16-412-9	中標津3号	中標津5号型	A	A	A	A	A	E	A	J
295		413	16-413-1	中標津3号	中標津5号型	B	I	A	F	B	E	B	O
296			16-413-3	中標津3号	中標津5号型	A	A	A	F	A	D	B	E
297			16-413-7	中標津3号	中標津5号型	B	I	B	F	B	D	B	E
298			16-413-13	中標津3号	中標津5号型	A	A	B	G	A	E	A	E
299		414	16-414-7	中標津3号	中標津5号型	A	G	A	A	A	F	A	E
300			16-414-8	中標津3号	中標津5号型	B	G	A	B	A	F	B	H
301			16-414-9	中標津3号	中標津5号型	B	G	A	A	B	F	B	F
302			16-414-13	中標津3号	中標津5号型	A	L	A	A	A	I	B	B
303		223	16-223-3	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	G	A	D	A	E
304			16-223-8	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	G	A	E	A	E
305			16-223-9	中標津3号	中標津5号型	A	I	A	G	B	E	B	E
306			16-223-14	中標津3号	中標津5号型	A	I	G	L	A	D	B	E
307	G17	411	17-411-5	中標津3号	中標津5号型	A	B	B	B	B	F	A	G
308			17-411-9	中標津3号	中標津5号型	A	A	A	L	B	F	A	G
309			17-411-10	中標津3号	中標津5号型	A	A	B	L	B	F	B	G
310			17-411-14	中標津3号	中標津5号型	B	I	B	L	B	F	A	G
311		412	17-412-7	中標津3号	その他	E	G	D	K	B	F	A	E
312			17-412-9	中標津3号	中標津5号型	A	G	B	B	B	E	B	J
313			17-412-10	中標津3号	中標津5号型	A	G	B	B	B	J	B	J
314			17-412-12	中標津3号	中標津5号型	A	G	B	B	B	E	B	J
315		413	17-413-9	中標津3号	中標津5号型	A	A	A	G	B	D	A	E
316			17-413-11	中標津3号	中標津5号型	A	A	A	G	B	E	A	O
317			17-413-12	中標津3号	中標津5号型	A	A	B	F	A	E	B	O
318			17-413-14	中標津3号	中標津5号型	A	B	B	F	A	E	B	E
319		414	17-414-1	中標津3号	中標津5号型	B	G	A	A	A	F	A	F
320			17-414-2	中標津3号	中標津5号型	B	G	A	B	B	F	B	H
321			17-414-5	中標津3号	中標津5号型	A	G	A	A	A	F	B	H
322			17-414-11	中標津3号	中標津5号型	A	G	A	A	B	F	B	H
323	G18	162	18-162-1	中標津5号	中標津5号型	A	G	A	A	A	F	A	H
324			18-162-4	中標津5号	中標津5号型	B	G	A	A	B	F	A	F
325			18-162-6	中標津5号	中標津5号型	A	G	A	A	B	F	B	F
326			18-162-12	中標津5号	中標津5号型	A	G	A	B	A	F	B	F
327		163	18-163-1	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	A	A	E	A	J
328			18-163-6	中標津5号	中標津5号型	B	G	A	A	B	J	A	J
329			18-163-13	中標津5号	中標津5号型	A	A	B	B	B	E	B	J
330			18-163-20	中標津5号	中標津5号型	A	G	B	B	A	E	B	B
331		164	18-164-2	中標津5号	中標津5号型	A	B	B	F	B	D	A	O
332			18-164-6	中標津5号	中標津5号型	B	I	A	F	A	D	B	O
333			18-164-14	中標津5号	中標津5号型	A	I	A	G	A	E	A	E
334			18-164-16	中標津5号	中標津5号型	A	I	B	F	A	D	B	E
335		165	18-165-15	中標津5号	中標津5号型	A	A	A	L	B	F	B	G
336			18-165-19	中標津5号	中標津5号型	A	I	B	B	A	F	A	G

表－３　（続き）

通番	植栽地および家系番号		個体ID	グイマツ親の精英樹系統名	遺伝子型による推定親型	Locus-1		Locus-2		Locus-3		Locus-4	
337	G18（続き）	132	18-132-8	中標津5号	中標津5号型	A	I	B	G	B	E	A	E
338			18-132-15	中標津5号	中標津5号型	B	I	A	G	A	D	A	O
339			18-132-18	中標津5号	中標津5号型	A	A	A	G	A	D	A	O
340			18-132-20	中標津5号	中標津5号型	A	I	B	G	A	E	A	O
341		142	18-142-5	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	L	A	F	A	G
342			18-142-15	中標津5号	中標津5号型	A	I	A	A	B	F	A	G
343			18-142-18	中標津5号	中標津5号型	A	A	A	L	A	F	A	G
344			18-142-20	中標津5号	中標津5号型	A	B	A	L	A	F	B	G
345		411	18-411-1	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	L	A	F	A	G
346			18-411-3	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	A	B	F	B	G
347			18-411-16	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	L	A	F	B	G
348			18-411-19	中標津3号	中標津5号型	B	I	A	A	B	F	B	G
349		412	18-412-1	中標津3号	中標津5号型	B	G	B	B	A	J	B	J
350			18-412-3	中標津3号	中標津5号型	B	G	A	A	A	E	A	N
351			18-412-19	中標津3号	中標津5号型	A	A	B	B	A	J	A	J
352			18-412-20	中標津3号	中標津5号型	A	B	A	A	A	J	B	E
353		413	18-413-2	中標津3号	中標津5号型	A	G	A	B	B	F	B	H
354			18-413-4	中標津3号	中標津5号型	A	I	B	D	B	K	A	A
355			18-413-16	中標津3号	中標津5号型	A	B	B	G	A	E	B	E
356			18-413-18	中標津3号	中標津5号型	B	I	A	F	A	E	B	O
357		414	18-414-5	中標津3号	中標津5号型	B	G	A	B	B	F	B	H
358			18-414-7	中標津3号	中標津5号型	A	I	A	F	B	E	A	E
359			18-414-12	中標津3号	中標津5号型	B	G	A	A	A	F	A	F
360			18-414-16	中標津3号	中標津5号型	B	G	A	A	B	F	A	H
361			18-414-21	中標津3号	中標津5号型	B	G	A	B	A	F	A	F
362	一般造林地（道有林）		CL17-1	中標津5号	中標津5号型	A	A	A	B	A	F	A	D
363			CL17-2	中標津5号	中標津5号型	A	H	B	D	B	E	A	B
364			CL17-3	中標津5号	中標津5号型	B	G	B	F	B	F	A	A
365			CL17-4	中標津5号	中標津5号型	B	I	A	L	A	F	A	K
366			CL17-5	中標津5号	中標津5号型	A	G	B	M	A	E	A	H
367			CL17-6	中標津5号	中標津5号型	B	I	A	G	A	E	B	H
368			CL17-7	中標津5号	中標津5号型	A	G	A	G	B	D	A	F
369			CL17-8	中標津5号	中標津5号型	A	G	A	B	A	L	A	H
370			CL17-9	中標津5号	中標津5号型	A	A	A	G	B	F	A	H
371			CL17-10	中標津5号	中標津5号型	A	G	A	A	B	D	A	F
372			CL17-11	中標津5号	中標津5号型	A	G	B	N	B	F	B	F
373			CL17-12	中標津5号	中標津5号型	B	G	B	E	B	E	B	J
374			CL17-13	中標津5号	中標津5号型	B	I	B	G	A	F	A	B
375			CL17-14	中標津5号	中標津5号型	B	G	B	B	B	F	A	G
376			CL17-15	中標津5号	中標津5号型	A	A	A	A	B	F	B	F
377			CL17-16	中標津5号	中標津5号型	A	I	A	M	B	K	A	B
378			CL17-17	中標津5号	中標津5号型	A	B	B	I	B	F	A	B
379			CL17-18	中標津5号	中標津5号型	B	I	B	G	B	F	B	I
380			CL17-19	中標津5号	中標津5号型	B	M	A	E	A	F	B	P
381			CL17-20	中標津5号	中標津5号型	A	A	B	L	B	F	B	G
382			CL17-21	中標津5号	中標津5号型	B	G	A	E	A	K	*	*

個体が『中標津５号型』を片親とした次世代と考えても矛盾しない結果となり，想定どおりに中標津５号が親として用いられ，種苗生産がなされていたことが確認された。

まとめ

今回のDNA解析では，カラマツを対象として開発された遺伝子マーカーによって，グイマツ精英樹の特定の系統について識別が可能であり，交配によって作出された次世代についても片親として貢献した系統を推定できることがわかった。これらの遺伝子マーカーを用いたDNA情報のさらなる活用によって，カラマツ属の育種に用いられる材料・系統の確実な管理に活かすことができる。今回明らかになったように，利用する系統名とクローンの遺伝子型が元々一致していなかった場合に加え，採種園への導入時に想定と異なるクローンが植栽された場合，ならびに，想定通りに植栽されてもその後の台木管理や配植管理が行き届いていない場合と，精英樹クローンについて修正が必要な事例は３通り見受けられた。場合によっては確実な管理のためには除伐採による修正が必要なものもあった。また，交配世代に関しては，上記のクローン修正を反映させると，人工交配で想定と異なる花粉で次世代が作出されていた１事例が見受けられ，今後の検定林の活用に際して修正が必要であった。

謝辞

材料収集にあたり，北海道水産林務部林務局森林整備課，オホーツク総合振興局東部森林室の職員にご協力いただきました。この場を借りてお礼申し上げます。

引用文献

Butler J.M.（2005）Forensic DNA Typing -Biology, Technology, and Genetics of STR Markers. Elsevier, USA（監訳　福島弘文・五條堀孝（2009）DNA鑑定とタイピング　－遺伝学・データベース・計測技術・データ検証・品質管理. 共立出版, 東京）

Guichoux E., Lagache L., Wagner S., Chaumeil P., Leger P., Lepais O., Leptoittevin C., Malausa T., Revardel E., Salin F. and Petit R.J.（2011）Current trends in microsatellite genotyping. Mol Ecol Resources, 11: 591–611

石塚航（2017）北海道内のグイマツの遺伝資源情報. 道林業試研報, 54: 23-29

石塚航･成田あゆ･今博計･佐藤弘和･黒丸亮･来田和人（2019）カラマツ類の苗木の成長動態と次代検定に向けた評価. 道林業試研報, 56: 1-13

Ishizuka W., Ono K., Hara T. and Goto S.（2015）Influence of low- and high-elevation plant genomes on the regulation of autumn cold acclimation in *Abies sachalinensis*. Front Plant Sci, 6: 890

Isoda K. and Watanabe A.（2006）Isolation and characterization of microsatellite loci from *Larix kaempferi*. Mol. Ecol. Notes, 6: 664–666

井城泰一・田村明・磯田圭哉・渡邊敦史（2006）DNAマーカーを用いたグイマツ雑種F_1品種の品種管理に関する考察. 林木の育種, 220: 30-34

岩田聡（2008）クリーンラーチ　サミットで植樹される. 北海道の林木育種, 51(１). 12-14

川内博文・後藤晋（1999）鹿児島県のマツノザ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

Kita K., Fujimoto T., Uchiyama K., Kuromaru M. and Akutsu H.（2009）Estimated amount of carbon accumulation of hybrid larch in three 31-year-old progeny test plantations. J Wood Sci, 55: 425–434

倉橋昭夫（1988）カラマツ属の交雑育種に関する研究. 東大演報, 79: 1-94

黒丸亮（2015）カラマツ林業と今後の育種の展望. 森林遺伝育種, ４: 167-172

Lian C.L., Goto S., Kubo T., Takahashi Y., Nakagawa M. and Hogetsu T.（2008）Nuclear and chloroplast microsatellite analysis of *Abies sachalinensis* regeneration on fallen logs in a subboreal forest in Hokkaido, Japan. Mol Ecol, 17: 2948–2962

来田和人・今博計・石塚航・黒丸亮（2014）カラマツ台木とグイマツ雑種F_1台木の違いがグイマツ接ぎ木の活着と成長に及ぼす影響, 北海道の林木育種, 58（２）, 6-9

宮木雅美（1990）ハイブリッドカラマツの特性と改良. 北海道の林木育種, 33（１）: 7-12

森口喜成・後藤晋・高橋誠（2005）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

Ozawa H., Watanabe J., Chen H., Isoda K. and Watanabe A.（2009）The impact of phonological and artificial factors on seed quality in a nematode-resistant *Pinus densiflora* seed orchard. Silv Genet, 58: 145–152

林野庁（1987）林木育種協会・日本造林協会編集　林木育種事業30年の歩み. 208pp. 林木育種協会刊, 東京

白石進（2016）森林の更新方法―林木育種―. 丹下健・小池孝良編, 造林学第四版, 124-136. 朝倉書店, 東京

Sun W., Yu D., Dong M., Zhao J., Wang X., Zhang H. and Zhang J.（2017）Evaluation of efficiency of controlled pollination based parentage analysis in a *Larix gmelinii* var. *principis-rupprechtii* Mayr. seed orchard. PlosOne 12: e0176483

Summary

Recently, the hybrid（F_1）larch of *Larix gmelinii* var. *japonica* crossed with Japanese larch

L. kaempferi has maintained its status as an important breeding species in Hokkaido, and superior hybrid larch derived from the

specific plus trees of *L. gmelinii* var. *japonica* has been developed. For facilitating tree breeding programs and maintaining seed orchard, we genetically identified the two specific plus trees （Nakashibetsu5 and Nakashibetsu3） and their progeny by using molecular markers. Genotyping analysis successfully distinguished two types of trees and discriminate the candidate parent of progeny. In addition, it was found that clone trees of ‘Nakashibetsu5’ and that of ‘Nakashibetsu3’ planted in Forestry Research Institute, Hokkaido Research Organization had the genotype of ‘Nakashibetsu5’, and a few of clone trees had different genotypes probably resulting from defective management. Further application of molecular information would be required for the broad and careful assessment of the breeding resources in *Larix* and other woody species.

keywords

microsatellite analysis, genotyping, *Larix gmelinii* var. *japonica*, Nakashibetsu5