

RAPDマーカによるハゼノキの品種識別

誌名	日本林學會誌 = Journal of the Japanese Forestry Society
ISSN	0021485X
著者	後藤, 晋 渡辺, 敦史 池田, 浩一
巻/号	79巻4号
掲載ページ	p. 229-233
発行年月	1997年11月

論 文

RAPD マーカーによるハゼノキの品種識別*

後藤 晋**・渡辺敦史***・池田浩一**

後藤 晋・渡辺敦史・池田浩一：RAPD マーカーによるハゼノキの品種識別 日林誌 79：229~233, 1997 ハゼノキは栽培の歴史が古く、各地に多数の品種が存在する。現在、品種の識別は果実の形質や外部形態などによっているが、これらは生育環境の影響を受けやすいため、正確な分類は困難である。本研究では、環境要因に左右されない RAPD マーカーを用いて、ハゼノキの品種間の遺伝的差異を明らかにし、簡便かつ確実な識別法を確立することを目的とした。スクリーニングを行った結果、9 プライマーで 14 個の品種識別に有効なマーカーを選抜することができた。これらのマーカーにより、既知の 7 品種 19 個体の識別を行った結果、同一品種は同じ DNA 型を示し、7 品種はそれぞれ互いに異なる DNA 型を示した。このことから、RAPD マーカーを用いることにより、簡便かつ確実なハゼノキの品種識別が可能であることが示唆された。また、これら 7 品種間の遺伝距離を算出し、クラスター分析を行った結果、地域的に原産地が近い品種は、遺伝的にも類似している傾向が認められた。

キーワード：RAPD マーカー、遺伝距離、ハゼノキ、品種識別

Goto, S., Watanabe, A., and Ikeda, K.: Use of RAPD markers for cultivar identification in *Rhus succedanea* L. J. Jpn. For. Soc. 79: 229~233, 1997 There are many cultivars of *Rhus succedanea* L. in Japan. It is very difficult to distinguish them precisely on the basis of morphological traits, as these traits are influenced by environmental factors. In order to distinguish these cultivars more accurately from each other, RAPD (random amplified polymorphic DNA) markers were used in this study. Out of 140 primers screened, 9 primers gave 14 markers for cultivar identification. Seven cultivars having 19 plants were investigated for their genotypic identity by using these markers. RAPD patterns were unique for each cultivar. On the other hand, RAPD patterns of all ramets from individual ortets were identical. It is apparent from these studies, that RAPD markers can be used to identify *Rhus succedanea* L. cultivars. The cluster analysis based on genetic distances were also carried out to investigate the genetic relationship among cultivars. It was found that the cultivars originating in the close proximity to each other are more closely related at DNA level than the rest.

Key words: cultivar identification, genetic distance, RAPD markers, *Rhus succedanea* L.

I. はじめに

ハゼノキ (*Rhus succedanea* L.) は、九州、四国、関東以西の本州などの暖地に生育するウルシ科 (*Anacardiaceae*) の落葉高木で、果実に含まれる木蠟を採油するため、各地で古くから栽培が行われてきた。ハゼノキの優良個体の選抜は江戸時代半ばより始まったとされ (正木, 1938), 各地に存在する品種の数は 100 に及ぶともいわれている (片山, 1952)。これらの品種は、果実の含蠟率や木蠟の色 (青木ら, 1952; 池田・中島, 1982), 耐病性 (橋本, 1959) などの性質が異なり、経済性を考慮すると、栽培する地域に適した品種を選ぶ必要がある。

ハゼノキの増殖は、一般的に接ぎ木によって行われ、品種の維持が行われてきた。そのため、品種は元来単一クローンであった可能性が高い。しかし、栽培の歴史が長いこと、品種の数が多きことから、伝播の過程で、同一クローンでありながら伝播した地域独自の名称で呼ばれているものも存在すると考えられる。例えば、鹿児島県の筑後ハゼは、筑後地方から伝わったとされ、この地方を原産とする伊吉もしくは松山であると考えられる (福岡県, 1992)。また、ハゼ栽培の衰退や、各品種の原種木の老齢化などから、徳門 (福岡県で栽培)、辰江 (同じく佐賀県)、正左

衛門 (鹿児島県) などのように、所在が不明な品種も少なくない (福岡県, 1992)。今後も品種の消失、混乱が起こるおそれのあることや遺伝子資源の保存を考慮すれば、早急に品種の整理、個体の管理を行う必要がある。しかし、品種識別に用いられる指標は、前述した特徴の他に、果実や葉の形態など環境要因に影響されやすいため (青木ら, 1952), 識別するための基準に普遍性がなく、確実に識別することは困難である。

近年、個体識別や品種識別に対し、環境要因に左右されない DNA 分子マーカーが用いられるようになってきた。特に Williams ら (1990) によって報告された random amplified polymorphic DNA (RAPD) マーカーは、操作が簡便なこと、マーカーとしての感度が高いことから、イネ (Fukuoka *et al.*, 1992), マンゴ (Schnell *et al.*, 1995), カカオ (Wilde *et al.*, 1992), マメ (Ratnaparkhe *et al.*, 1995) などの栽培植物で品種識別に用いられている。また、針葉樹ではトウヒ (Wilhelmina and McNicol, 1995), スギ (高田・白石, 1996) など、広葉樹ではユーカリ (Keil and Griffin, 1994) などの個体識別に関する報告がみられる。

本研究では、この RAPD マーカーを用いて、ハゼノキの品種間の遺伝的差異を明らかにし、簡便かつ確実な品種

* 本研究の一部は、第 6 回バイオテクノロジー研究会で口頭発表した。

** 福岡県森林林業技術センター Fukuoka Pref. For. Res. and Ext. Center, Kurume 839

*** 九州大学農学部 Fac. of Agric., Kyushu Univ., Fukuoka 812-81

識別法を確立することを目的とした。

II. 材料と方法

1. 供試材料

供試材料は、昭和福5個体、伊吉8個体、葡萄1個体、王2個体、上1個体、利太治1個体、松山1個体の19個体と、品種名の不明な11個体の合計30個体である。各個体は、各地から穂を採取し、福岡県森林林業技術センターにおいて接ぎ木した個体を使用した(表-1)。

2. 全DNAの単離・精製

平成8年10月~11月に上記30個体から成葉を採取し、分析に供試するまで-20°Cで冷凍保存した。全DNA抽出は、成葉約150mgからCTAB法(Murray and Thompson, 1980)を改良した白石・渡辺(1995)の方法に従って行った。抽出した全DNAは、ELU-QUIK™DNA精製キット(米国Schleicher & Schuell社)を用いて精製し、PCRの鋳型DNAとした。

3. RAPD分析

精製した全DNAを鋳型として、RAPD分析を行った。

表-1. 供試個体の概要

Descriptions of samples used in this study.

サンプル名 Name of sample	品種 Cultivars	供試個体の現在地 Location of ramets in this study
有明1号	昭和福	長崎県南高来郡有明町大三東字空閑
有明2号*	昭和福	長崎県南高来郡有明町大三東字空閑
有家2号	昭和福	長崎県南高来郡有家町蒲河
黒木1号	昭和福	福岡県八女郡黒木町西今
黒木2号	昭和福	福岡県八女郡黒木町西今
黒木3号	伊吉	福岡県八女郡黒木町本分字南野
筑後1号	伊吉	福岡県筑後市蔵敷
筑後2号	伊吉	福岡県筑後市蔵敷
鳥栖1号	伊吉	佐賀県鳥栖市立石町
鳥栖3号	伊吉	佐賀県鳥栖市立石町
鳥栖5号	伊吉	佐賀県鳥栖市立石町一本杉
中原2号*	伊吉	佐賀県三養基郡中原町山田
中原3号	伊吉	佐賀県三養基郡中原町高柳
八女1号*	葡萄	福岡県八女郡今福
丹原1号	王	愛媛県周桑郡丹原町寺尾
丹原3号*	王	愛媛県周桑郡丹原町来見
高田1号*	上	福岡県三池郡高田町下楠田
利太治*	利太治	愛媛県保内町
甘木4号*	松山	福岡県甘木町矢野竹
甘木1号	不明	福岡県甘木町下瀬
甘木3号	不明	福岡県甘木町小原
久留米1号	不明	福岡県久留米市山本町豊田
久留米5号	不明	福岡県久留米市山本町豊田
久留米6号	不明	福岡県久留米市山本町豊田
有家1号	不明	長崎県南高来郡有家町蒲河
戸島1号	不明	熊本県熊本市戸島
久留米4号	不明	福岡県久留米市山本町豊田
黒木6号	不明	福岡県八女郡黒木町
水部2号	不明	熊本県熊本市御幸町木部
水俣1号	不明	熊本県水俣市侍

* 各品種の標準として用いた個体。

* Individuals used for standards of cultivars.

PCR反応は、Takara PCR Thermal cycler MP TP 3000を用い、サーモサイクラーの変性(94°C, 10秒)・アニリング(36°C, 30秒)・伸長(72°C, 1分)およびサイクル数(60サイクル)を変更した他は、白石・渡辺(1995)に従った。得られた増幅産物は2%アガロースゲルを用いて電気泳動した後、エチジウムブロマイドで染色し、トランスイルミネーター上で検出を行った。

4. 遺伝距離の算出

RAPD分析で得られたデータから、Nei and Li (1979)の式より遺伝的類似度(F 値)を算出し、次式により遺伝距離(D)を求めた(白石ら, 1996)。

$$F = 2n_{XY} / (n_X + n_Y)$$

$$D = 1 - F$$

ここで n_{XY} は、比較する2個体(X, Y)が保有しているバンド数、 n_X は X 個体が保有しているバンド数、 n_Y は Y 個体が保有しているバンド数である。

III. 結果と考察

1. 品種識別マーカーの選抜

品種識別に用いるマーカーは、明瞭なバンドとして検出され、しかもサイズが近似するため読み間違いの原因となりうる増幅物が無いという条件を満たす必要がある。そこで、昭和福、伊吉、葡萄、王、上、利太治、松山の7品種について、各品種1個体ずつ選び(表-1)、プライマーのスクリーニングを行った。プライマーは、米国オペロン社製の市販品133個と、既に報告されているFB-01~07(檜崎ら, 1996; 白石ら, 1996)の7個の合計140個を用いた。スクリーニングの結果、前述した条件を満たしたのは15プライマー・23バンドであった。品種識別を確実にかつ継続して行うためには、誤って識別する可能性のあるバンドを予め除外しておく必要がある。そこで、これらの15プライマー・23バンドについて、スクリーニングに使用した7個体を無作為にラベルしたブラインド実験を5回行った。5回全ての実験において、確実に識別が可能であった9プライマー・14バンド(マーカー)のみが、ハゼノキの品種識別に有効なマーカーとして選抜された。

品種識別を行うRAPDマーカーの選抜について、Schnellら(1995)は、2回のPCR反応で再現性を示したマーカーを用いており、本研究で選抜されたマーカーの信頼性については問題ないと考えられる。

2. 7品種のDNA型の決定

次に、選抜された9プライマー・14マーカーの各品種における出現パターンについて調査した。RAPD分析は、7品種19個体を用いて行い(表-1)、マーカーが出現した場合は1、出現しなかった場合は0をスコアした。例として、プライマーP-17の結果を図-1に示した。400bpにみられるマーカーは、昭和福、王、利太治の3品種に出現し、その他の品種には出現しなかった。同様に、250bpのマーカーは、伊吉、王、上、松山の4品種のみで認められた。この2マーカーを組み合わせると、昭和福(1,0)、



- M サイズマーカー
- 1 昭和福
- 2 伊吉
- 3 葡萄
- 4 王
- 5 上
- 6 利太治
- 7 松山

図-1. ハゼノキ7品種のRAPDマーカー
RAPD markers of 7 cultivars in *Rhus succedanea* L.

表-2. RAPDマーカーによる7品種のDNA型
DNA type of 7 cultivars detected at RAPD markers.

品種	個体数	核ゲノム組成(各プライマーによる増幅結果)														DNA型	危険率*
		Nuclear genome composition															
Cultivar	Number	A-20	P-17		S-13		T-02	T-14	T-20		Y-03	Z-13	FB-03		DNA type	Hazard rate	
		280	400	250	760	560	640	1050	550	500	250	600	490	820	390		
昭和福	5	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0	1	1	0	A	0.00084
伊吉	8	0	0	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	1	0	B	0.00003
葡萄	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	C	0.00004
王	2	0	1	1	1	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	D	0.00111
上	1	1	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	E	0.00141
利太治	1	1	1	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	F	0.00111
松山	1	0	0	1	0	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	G	0.00002
マーカーが出現する(1)	頻度	0.29	0.43	0.57	0.57	0.86	0.43	0.14	0.43	0.86	0.29	0.14	0.43	0.43	0.14		
マーカーが出現しない(0)	頻度	0.71	0.57	0.43	0.43	0.14	0.57	0.86	0.57	0.14	0.71	0.86	0.57	0.57	0.86		

*危険率は、各品種においてマーカーごとの出現する(1)頻度、もしくは出現しない(0)頻度を掛け合わせて求めた。

伊吉 (0,1), 葡萄 (0,0), 王 (1,1), 上 (0,1), 利太治 (1,0), 松山 (0,1) となる。このようなマーカーの組み合わせを各品種のDNA型とすると、(0,1)のDNA型を持つ品種は、伊吉、上、松山、(1,0)のDNA型は、昭和福と利太治であり、葡萄と王はそれぞれ独自のDNA型を保有していた。このようにして、14マーカー全てを組み合わせることにより、7品種はそれぞれ特異的なDNA型(A~G)を持つことが明らかとなった(表-2)。昭和福、伊吉、王については、生育する環境が異なる地域からの接ぎ木個体を複数個体供試した(表-1)が、同一品種は同じDNA型を示した。したがって、RAPDマーカーを用いることにより、ハゼノキの品種識別を簡便かつ確実に進めることが示唆された。

本研究で供試した7品種に関しては、例えばA-20(280bp), P-17(400, 250bp), T-14(1,050bp)の3プライマー・4マーカーの組み合わせのみでも識別することが可能であった。使用するプライマー数は少ないほど効率的であるが、マーカー数が少ない場合、異なる品種を同一

のものとして識別する危険性が高くなる。前述の4マーカーのみを用いて、7品種以外の品種識別を行う場合、ある品種が昭和福と同じDNA型となる確率(以下危険率と呼ぶ)は、昭和福における各マーカーの出現頻度(もしくは出現しない頻度)を掛け合わせるにより算出され、 $0.71 \times 0.43 \times 0.43 \times 0.86 = 0.112$ (約9分の1)となる(表-2)。つまり、約9品種に1つは昭和福と同じDNA型を持つこととなり、信頼性が高いとはいえない。一方、14マーカー全てを用いた場合、各品種の危険率を同様に算出すると、上が最も大きく0.00141(約710分の1)、松山が最も小さく0.00002(約45,427分の1)となった(表-2)。ハゼノキの品種の数は100程度といわれている(片山, 1952)ことから、本研究で選抜した14マーカーの全てを用いることにより、今回供試した以外の品種についても信頼性の高い識別が可能であると考えられる。

また、本研究において出現が極めて稀な品種特異的なマーカーとして、S-13の560bpのマーカーが注目された。このマーカーは、葡萄にのみ出現せず(表-2)、また

表-3. 品種が不明な 11 個体の DNA 型
DNA type of 11 individuals (cultivar unknown)

サンプル名 Name of samples	核ゲノム組成(各プライマーによる増幅結果) Nuclear genome composition														DNA 型 DNA type		
	A-20		P-17		S-13		T-02		T-14		T-20		Y-03	Z-13		FB-03	
	280	400	250	760	560	640	1050	550	500	250	600	490	820	390			
甘木 1号	0	0	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	1	0	B		
甘木 3号	0	0	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	1	0	B		
久留米 1号	0	0	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	1	0	B		
久留米 5号	0	0	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	1	0	B		
久留米 6号	0	0	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	1	0	B		
戸島 1号	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	H		
有家 1号	0	0	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	I		
久留米 4号	0	0	1	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0	J		
黒木 6号	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	1	K		
木部 2号	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	L		
水俣 1号	0	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0	M		

後述する品種名が不明な個体の分析においても、このマーカーは全ての個体で出現していた(表-3)。本研究では、ハゼノキ品種の一部しか供試していないため、この 1 マーカーのみで品種識別が可能かどうかについては検討する必要があるが、このように出現が極めて稀なマーカーは、より容易に品種を識別する上で有効であると考えられる。

3. RAPD マーカーによる不明個体の品種判定

本研究で選抜した 14 のマーカーを用いて、品種名不明な 11 個体(表-1)について品種識別を行った。DNA 型を決定した結果、5 個体が伊吉と同じ DNA 型(B)を示し、その他の 6 個体は供試した 7 品種とはそれぞれ異なる DNA 型(H~M)を示した(表-3)。伊吉と同じ DNA 型(B)を示した 5 個体(甘木 1号, 甘木 3号, 久留米 1号, 久留米 5号, 久留米 6号)は、形態的にも伊吉ではないかと推察されていた。一方、有家 1号と久留米 4号は、形態的には伊吉と推察されたが異なる DNA 型(I, J)を示し、また、戸島 1号は、果実の形が松山に酷似するが異なる DNA 型(H)を示した(表-3)。このように、形態レベルでは不明確であった品種識別が、今回決定した DNA 型により、明確な基準をもって判断することが可能であった。

4. 品種間の遺伝距離

ハゼノキの品種間の遺伝的変異を調査するために、さらに RAPD 分析を行った。RAPD 分析は、58 プライマーで認められた 111 の明瞭な多型バンドについて行い、バンドの保有データから品種間の遺伝距離を算出した。

その結果、遺伝距離は、昭和福・葡萄間が最も大きく 0.762、王・利太治間が最も小さく 0.346 であり、7 品種間の平均遺伝距離は 0.541 であった。Ratnaparkhe ら(1995)は、*Cajanus cajan* の RAPD 分析において、Nei and Li (1979) の式から品種間の遺伝的類似度を算出し、0.7 から 0.9 (遺伝距離: 0.1~0.3) の範囲内であったとしている。また、Lee ら(1997)は、RAPD 分析により *Quercus* 属 3 種の遺伝変異を調査し、種内および種間の平

品種 (原産地)
cultivars (location of orters)

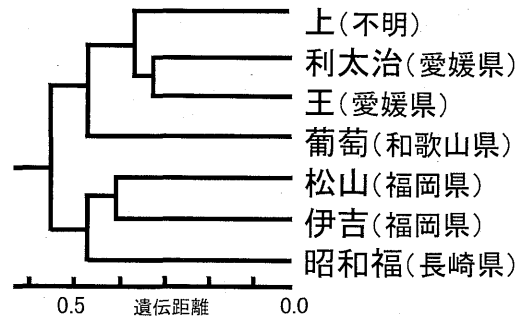


図-2. ハゼノキ 7 品種のクラスター分析
Cluster analysis based on genetic distances among 7 cultivars in *Rhus succedanea* L.

均遺伝距離を求めている。それによれば、種内の平均遺伝距離は、*Q. serrate* (0.347), *Q. mongolica* var. *crispula* (0.375), *Q. dentata* (0.382) であった。これらの結果と比較すると、ハゼノキの品種間の遺伝距離は非常に大きく、品種間での遺伝変異がかなり大きいことが明らかになった。

ハゼノキの栽培起源について、正木(1938)は日本在来種の改良に加え、大蔵永常の「農家益」や佐藤信淵の「六部耕種法」などの記述から、中国から優良種の移入があった可能性を示唆している。ハゼノキの品種間の遺伝変異が他の樹種と比較してかなり大きいことから、現存する品種の中に日本在来の品種と中国由来の品種が混在していることも考えられる。今後、東南アジア、中国、台湾に分布するハゼノキについても分析することにより、日本に存在するハゼノキのルーツを特定できる可能性がある。

次に、7 品種間の遺伝距離をもとに UPGMA 法によりクラスター分析を行った。その結果、昭和福、伊吉、松山の 3 品種と、王、利太治、上、葡萄の 4 品種がそれぞれ別のクラスターを形成した(図-2)。供試した 7 品種のうち、

上を除く6品種は原産地が明らかであり(正木, 1938), 伊吉と松山は福岡県, 昭和福は長崎県, 王と利太治は愛媛県, 葡萄は和歌山県が原産地である(図-2)。この原産地とクラスター分析の結果から, 原産地に近い品種ほど遺伝的に類似する傾向が認められた。天然に分布しているセンダン(金谷ら, 1997)や, クロマツ(宮田・生方, 1994)においては, 地理的に距離が遠くなるほど遺伝距離が大きくなる傾向が認められている。しかし, ハゼノキのような栽培植物においては, その栽培史の中で苗木が各地に流通しており, 品種の現存する地域と原産地は一致しないことも多い。品種間の遺伝距離は, 品種が現存する地域間の距離ではなく, むしろ原産地の地域間の距離を反映していると考えられる。したがって, 上は福岡県高田町にのみ現存する品種であるが, その原産地は四国地方である可能性が高い。

ハゼノキの品種の由来や伝播ルートを解明することは, その品種の特性や栽培適地を知る上でも有用な情報であるが, 口伝や歴史資料にたよるところが大きく, 栽培者の高齢化に伴って, 今後ますます困難になると考えられる。したがって, RAPD分析により求められる品種間の遺伝距離は, 今後ハゼノキの育種を進める上で重要な情報となりうる可能性がある。

本研究を行うにあたり, 九州大学農学部の白石 進博士には, 貴重など助言を頂いた。ここに厚く謝意を表します。

引用文献

- 青木義雄・山内正敏・中島康博(1952) 榿の品種識別に関する研究. 福岡県林業試験場: 1-85.
- Fukuoka, S., Hosaka, K., and Kamijima, O. (1992) Use of random amplified polymorphic DNAs (RAPDs) for rice accessions. *Jpn. J. Genet.* 90: 269-274.
- 福岡県・福岡県特用林産振興会(1992) ハゼと木蠟: 19-21.
- 橋本平一(1959) ハゼの黒痘病. 日林誌 41: 239-242.
- 池田浩一・中島康博(1982) ハゼに関する研究(II)ハゼ果実に含まれる蠟分の品種・産地による変異について(予報). 日林九支研論集 34: 233-234.
- 金谷整一・渡辺敦史・白石 進・玉泉幸一郎・斉藤 明(1997) RAPD
- マーカーを用いた九州に分布するセンダン (*Melia azedarach* Linn.) の遺伝変異の解析. 九大演報 76: 1-9.
- 片山佐又(1952) ハゼ. (『特用林産』. 朝倉書店, 東京). 223-236.
- Keil, M. and Griffin, A. R. (1994) Use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers in the discrimination and verification of genotypes in *Eucalyptus*. *Theor. Appl. Genet.* 89: 442-450.
- Lee, J. H., Hashizume, H., Watanabe, A., Fukata, T., Shiraishi, S., and Yamamoto, F. (1997) RAPD variation among *Quercus* species distributed in Temperate Deciduous Forests of Hiruzen Mountains. *J. For. Res.* 2: 121-123.
- 正木八十八(1938) 日本の榿と木蠟. 明文堂, 東京, 1-43.
- 宮田増男・生方正俊(1994) クロマツ天然林におけるアロザイム変異. 日林誌 76: 445-455.
- Murray, M. G. and Thompson, W. F. (1980) Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucl. Acids Res.* 8: 4321-4325.
- 橋崎康二・渡辺敦史・富田啓治・佐々木義則・白石 進(1996) ヒノキとサワラの種間雑種および園芸品種のDNA分析. 日林誌 78: 157-161.
- Nei, M. and Li, W. H. (1979) Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76: 5269-5273.
- Ratnaparkhe, M. B., Gupta, V. S., Ven Murthy, M. R., and Ranjekar, P. K. (1995) Genetic fingerprinting of pigeonpea [*Cajanus cajan* (L.) *Millsp.*] and its wild relatives using RAPD markers. *Theor. Appl. Genet.* 91: 893-898.
- Schnell, R. J., Ronnig, C. M., and Knight, Jr. R. J. (1995) Identification of cultivars and validation of genetic relationships in *Mangifera indica* L. using RAPD markers. *Theor. Appl. Genet.* 90: 269-274.
- 白石 進・渡辺敦史(1995) *rbcL* 遺伝子多型を利用したアカマツとクロマツの葉緑体ゲノム識別. 日林誌 77: 429-436.
- 白石 進・磯田圭哉・渡辺敦史・河崎久男(1996) 蔵王山系馬ノ神岳に生存するカラマツのDNA分類学的解析. 日林誌 78: 175-182.
- 高田克彦・白石 進(1996) RAPD マーカーを用いた九州地方のスギさし木品種の分類. 九大演報 75: 1-14.
- Wilde, J., Waugh, R., and Powell, W. (1992) Genetic fingerprinting of *Theobroma* clones using randomly amplified polymorphic DNA markers. *Theor. Appl. Genet.* 83: 871-877.
- Wilhelmina, T. G. V. and McNicol, R. J. (1995) The use of RAPD markers for identification of Sitka spruce (*Picea sitchensis*) clones. *Heredity* 75: 126-132.
- Williams, J. G. K., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A., and Tingey, S. V. (1990) DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Theor. Appl. Genet.* 83: 871-873.

(1997年6月2日受付, 1997年9月10日受理)