

doi:10.16779/j.cnki.1003-5508.2019.05.019

柳杉遗传资源及其研究进展

袁美灵¹,文亚峰^{1*},武星彤¹,李鑫玉¹,王敏求¹,蔡梦颖²,李霞¹,张原¹


(1. 中南林业科技大学风景园林学院,湖南长沙 410004;2. 日本筑波大学生命环境科学研究科,日本筑波 305-8577)

摘要:柳杉是东亚地区重要的用材林树种,包括柳杉(*Cryptomeria fortunei*)和日本柳杉(*Cryptomeria japonica*)两个种。本文结合国内外柳杉遗传资源及其研究现状,对其资源分布与特征,遗传变异及遗传育种研究进行述评。提出当前柳杉研究中存在的问题,就其今后研究重点进行展望。对我国柳杉资源保护和育种研究具有重要的参考价值。

关键词:柳杉;种质资源;遗传变异;遗传育种;综述

中图分类号:S722.3 文献标识码:A

文章编号:1003-5508(2019)05-0091-05

开放科学(资源服务)标识码(OSID): 

Genetic Resources and Research Progress of *Cryptomeria*

YUAN Mei-ling¹ WEN Ya-feng^{1*} WU Xing-tong¹ LI Xin-yu¹ WANG Min-qiu¹
CAI Meng-ying² LI Xia¹ ZHANG Yuan¹

(1. College of Landscape Architecture, Central South University of Forestry & Technology, Changsha 410004, China;

2. Graduate School of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba, Tsukuba 305-8577, Japan)

Abstract: *Cryptomeria* spp. were important timber trees in East Asia, including two species of *C. fortunei* and *C. japonica*. The status was reviewed for both species in distribution, characteristics, genetic variation and breeding, based on the current research of genetic resources. Also, the problems were put forward in the current research. It had important reference for the conservation and breeding of *C. resources* in China

Key words: *Cryptomeria*, Germplasm resource, Genetic variation, Genetic breeding, Overview

柳杉为杉科(Taxodiaceae)柳杉属(*Cryptomeria* D. Don)常绿大乔木,分为柳杉(也称中国柳杉,*Cryptomeria fortunei*)和日本柳杉(*Cryptomeria japonica*)两个种(中国植物志)。柳杉为我国特有,日本柳杉原产日本,与柳杉表型差异不大。柳杉起源于中生代白垩纪后期,曾广泛分布于北半球,受第四纪气候、地质变化,特别是全新世以来人类活动的影响,其天然林急剧减少,目前仅在中国东南部地区和日本岛有少量间断(孤立)分布^[1]。柳杉四季常绿,

树形优美,材质优良,适应性强,生长快,是良好用材林和园林绿化树种。相比较而言,我国柳杉研究相对滞后,日本柳杉在群体分布、资源特征、分子遗传学和遗传育种等方面都有较全面而深入的研究。本文结合国内外柳杉现有研究基础,对其资源分布与特征、遗传学研究进展进行述评,提出当前柳杉研究中存在的问题,就其今后研究重点进行展望。对柳杉资源保护和我国柳杉育种研究具有重要的参考价值。

收稿日期:2019-07-15

基金项目:东亚地区柳杉起源、保护与创新育种(2016YFE0127200)

作者简介:袁美灵(1995-),女,在读硕士研究生,专业:园林植物与应用,e-mail:yml0506@163.com。

*通讯作者:文亚峰(1971-),教授,博士生导师,主要从事园林植物与应用研究,e-mail:wenyafeng7107@163.com。

1 柳杉遗传资源及其特征

1.1 资源分布

作为古老的第三纪孑遗植物,中国柳杉天然林主要分布于浙江省天目山、福建省武夷山、天宝岩等地,江苏、安徽、湖南、湖北、四川等地有人工林栽培^[2]。日本柳杉天然林分布较为广泛,从日本北部的青森县(北纬 40°42′)至南部的鹿儿岛县(北纬 30°15′)都有间断分布,垂直分布最高海拔可达 1 850 m^[3]。日本柳杉在我国山东青岛、蒙山,上海,江苏南京、江浦,浙江杭州,江西庐山,湖南衡山,湖北武昌、武汉等地有引种栽培(中国植物志)。

1.2 资源特征

柳杉为常绿大乔木,树冠圆锥形,树干通直。小枝细长,常下垂,叶钻形,呈螺旋状排列。雌雄同株,风媒传粉,花期 4 月,球果 10 月成熟^[4],种子近圆形,扁平,边缘具窄翅。中国柳杉与日本柳杉在形态上差异不大,不同之处在于中国柳杉小枝相对柔软,老叶微内弯,球果种鳞 20 左右,每种鳞有两粒种子。日本柳杉小枝坚硬,叶直伸,通常不内弯,种鳞 20 ~ 30 之间,各有 3 ~ 5 粒种子,苞鳞的尖头和种鳞先端的缺齿均较长。由于生长环境的差异,日本柳杉可分为两个不同的生态型^[5],ura-sugi(*C. japonica* var. *radicans*)主要分布于日本海附近,其小枝细长,针叶柔软,具有较强的抗寒和抗雪压能力;分布于太平洋沿岸的 omote-sugi 类型小枝粗糙,针叶较硬,抗性较差。

中国柳杉和日本柳杉生态习性相似,喜湿度大且多云雾的山地气候,适宜生长在土质肥沃,松软潮湿,排水良好的酸性土壤中。中国柳杉生境以年均温 14 ℃ ~ 19 ℃,年降水量在 1 000 mm 以上的海洋性或亚热带山地气候为宜,海拔分布 400 m ~ 1 400 m,以山地黄棕壤、黄红壤或黄壤为主^[6]。日本柳杉适宜年均温 12 ℃ ~ 14 ℃,年降水量 1 000 mm ~ 1 200 mm,相对湿度 80% 以上的地区生长,分布区土壤类型以山地黄棕壤及棕壤为主^[7]。日本柳杉比中国柳杉更耐寒和耐干旱瘠薄,抗雪压、风害能力强^[8]。

1.3 特异种质资源

1.3.1 雄性不育种质

柳杉花粉过敏症在日本是一个严重的社会问题,选育雄性不育或花粉稀少品种是日本柳杉的主要育种目标之一。1992 年第 1 株完全无花粉的柳

杉种质在日本富山县被发现^[9],截至目前,日本已从 7 个县选育得到 23 个雄性不育种质资源^[10]。这些种质在形态上较同龄的正常植株矮小,花粉发育时间较晚^[11],雄花少^[12],花粉稀少甚至无花粉^[11]。在日本,雄性不育遗传学和育种研究已有大量而深入的开展,如雄性不育个体(品种)的选育、亲缘关系研究、杂交育种、雄性不育基因的定位与克隆等。在我国,柳杉花粉过敏症等问题在医疗方面有报道^[13,14],但目前尚未发现中国柳杉雄性不育或花粉稀少种质资源,相关研究工作未开展。

1.3.2 多倍体种质

日本柳杉存在异倍体植株,三倍体^[15]和三倍体^[16]类型在日本柳杉中均有发现和报道。植物异倍体植株由于染色体在减数分裂时出现异常,导致其育性低,种子实生繁殖困难,多采用扦插和嫁接繁殖方法。Zinnai I^[17]在 1 年和 2 年生的日本柳杉苗木中发现四倍体植株,其气孔带排列紊乱,气孔大小增加约 30%。形态上四倍体日本柳杉幼苗矮小,成活率低,生长速度慢,不适宜用于人工造林^[18],但可作为良好的育种资源。

2 柳杉资源遗传变异研究

2.1 表型遗传变异

表型是具有特定基因型的个体在一定环境条件下所表现出来的性状特征的总和,是表达遗传多态性的外在特征。大量研究表明^[19~21],多年生柳杉生长性状在种源和无性系水平上存在明显差异,生长性状在早期和成熟期有一定相关性,其中无性系水平上的相关性更强,生长性状与木材品质、形质性状间相关性没有明显的规律。李上前等^[22]测定分析了柳杉一代种子园 5 年生家系的子代林树高、胸径、材积和冠幅等生长性状,结果表明家系内生长性状的变异系数大于家系间,家系间胸径、树高、材积存在极显著差异,冠幅差异不显著。Murai^[5]通过表型性状对不同地理分布的日本柳杉天然林的遗传变异进行研究,结果表明日本柳杉可分为两个生态性(或品系),即 ura-sugi(*C. japonica* var. *radicans*, 日本海沿岸)和 omote-sugi(*C. japonica*, 太平洋沿岸)。这与 Yasue 等^[23]通过日本柳杉二萜类生化成分分析结果一致。

2.2 分子遗传变异

分子标记有蛋白质大分子和 DNA 标记两种类型,已被广泛用于植物学研究。Tsumura 等^[24]采用

聚丙烯酰胺垂直平板凝胶电泳技术,建立了日本柳杉同工酶变异检测方法。较多同工酶标记研究^[25~28]结果表明,日本柳杉保存有中等程度的遗传变异,遗传变异主要存在于群体内,群体间遗传变异相对较小。Taira^[29]利用同工酶标记研究日本柳杉天然林的更新模式与遗传多样性的关系。结果表明,海拔 1 750 m 以上日本柳杉仅通过压条繁殖,遗传多样性较低,海拔 1550 m 以下的群体通过幼苗繁殖和压条繁殖,遗传多样性丰富。

DNA 分子标记能直接反映基因组 DNA 的差异^[30],不受环境和人为干扰的影响,具有快速、高效、多态性好的特点,能提供比表型和谱系分析更准确的评价信息^[31],被广泛应用于柳杉种质资源亲缘关系、品种鉴定和群体遗传学研究。Takata 等^[32]利用 RAPD 标记对由 84 个品种扦插获得的 549 个个体进行了鉴别,53 个品种的 DNA 指纹图谱间无差别,另外 31 个品种的基因型有所差异。骆鹏等^[33]利用 SSR 标记分析了 89 个柳杉无性系的遗传多样性,结果表明柳杉的遗传多态性处于中等偏高水平,根据构建的指纹图谱以及个体间的遗传距离将柳杉 89 个无性系分为 5 大类。张景丽等^[34]通过开发的 EST-SSR 标记对收集的浙江和福建共 49 个柳杉优良无性系进行遗传多样性分析。聚类结果表明,福建的柳杉资源的亲缘关系相对较独立,而浙江的无性系亲缘关系相对较近。

柳杉群体遗传学研究方面,Tsumura 等^[35]对 11 个日本柳杉天然群体的遗传多样性进行分析,多态性 STS 标记结果与原等位酶结果一致且优于等位酶结果,可用于日本柳杉的群体遗传学和基因定位。Shimizu 等^[36]利用 RAPD 标记方法研究日本西部京都地区日本柳杉的遗传变异,表明日本柳杉种群内遗传多样性高于种群间。徐进等^[37]采用 SSR 标记对柳杉初级种子园 12 个种源地共 96 株优良无性系进行遗传多样性分析,26 对 SSR 分子标记共扩增得到 103 个多态位点,平均观察杂合度为 0.496 6, Shannon 信息指数的平均值为 0.994 5, Nei 多样性指数的平均值为 0.533 6,表明该柳杉初级种子园具有较高的遗传多样性水平。Uchiyama 等^[38]利用 4896 个 SNP 标记对 510 株日本柳杉核心种质进行群体结构和全基因组连锁不平衡(LD)研究,贝叶斯聚类分析和主坐标分析将样本细分为与日本海侧和太平洋沿岸相对应的两个不同的群体,与表型和二萜成分分析结果一致^[5,23]。

3 柳杉遗传育种研究

3.1 种子园传统育种

柳杉育种多利用种子园方式选育优良家系、无性系或品种,为人工林栽培提供大量的种子。我国于 1974 年开展柳杉优树选择。福建省霞浦县杨梅岭林场调查了 66 hm² 以上的柳杉,初选优树 74 株,通过复查淘汰,保存 12 株,提出了柳杉选优标准与方法^[39]。黄信金^[20]等通过种源试验,选育了福建杨梅岭、罗源西兰、江西庐山等优良种源 13 个,又从 40 个柳杉半同胞子代中选育出生长量大、木材品质好的优良家系 12 个^[19]。欧阳磊^[21]对 32 年生柳杉种子园亲本进行综合比较,选择出柳杉优良亲本 18 个。谢巧银^[40]对柳杉种源造林试验研究,筛选出适应性、抗逆性强且生长量大的优良种源 4 个。日本柳杉的育种早于我国,始于 20 世纪 50 年代。目前,日本柳杉分布区各县都建有种质资源圃和种子园,全国已选育得到 3600 个初代精英树,146 个二代优树^[41]。建立了普通无性系种子园和小型种子园^[42~43],小型种子园劳动力需求量小,育种效率高,种子产量高,相关技术已在日本国内得到广泛推广。

杂交育种是优良品种选育的重要方法。张景丽等^[34]通过遗传聚类分析获得 23 份优选柳杉亲本,选配 2 个无性系作为父本,以姥山林场 5 个优良无性系为母本,各杂交组合都已得到子代种子。近年来,日本育种学家通过室内微型种子园,以盆栽柳杉材料进行雄性不育品种选育^[44~45]。Saito 等^[46]将雄性不育突变株与优树无性系进行杂交,得到雄性不育的杂合子品种 Ohara13,检测结果表明该杂交子代中,优良雄性不育苗的比例可达到 47.3%^[45]。

3.2 分子标记辅助选择育种 (Marker Assisted Selection, MAS)

日本柳杉的分子标记辅助育种研究起步早,研究工作深入,包括 MAS 聚合育种和 QTL-MAS (Quantitative Trait Loci Mapping, MAS) 育种两种方式。MAS 聚合育种主要应用于日本柳杉花粉稀少品种的选育,Moriguchi 等^[47]在日本柳杉雄性不育基因定位与克隆的基础上,提出了一种利用与雄性不育基因座密切相关的遗传标记,通过这种方法可高效选择具有多个雄性不育基因的优良个体。Tadama 等通过 246 个 SNP 标记测定 15 个雄性不育种质间的遗传距离,评估其子代育种效率(通讯交

流),研究结果能为杂交育种的亲本选配提供理论依据。

QTL-MAS 育种是通过构建的遗传图谱检测数量性状位点(QTL),以得到最紧密连锁的分子标记来定位目标基因组。Mukai 等^[48]所构建的日本柳杉遗传连锁图谱包含 72 个 RFLP、11 个 RAPD、1 个同工酶和 1 个形态标记。在此基础上,Yoshimaru 等^[49]对日本柳杉幼龄期生长及开花生根能力进行分析,在遗传图谱的不同位置检测到与雌雄开花相关的 QTL,并表现出不同的遗传效应,表明控制雌雄开花的遗传系统是不同的。同样,Ujino-Ihara 等^[50]在 Yoshimaru 等^[49]获得的 QTL 同源区域,发现一个自然条件下与日本柳杉雄球花丰度稳定相关 QTL 位点。Kuramoto 等^[51]根据所构建的遗传图谱(包含 177 个 RAPD 标记)检测到与木材强度和密度相关的 QTLs 位点。Moriguchi 等^[52]构建了以 968 个 SNP 为主的 1 262 个标记(两个相邻标记间平均距离为 1.1 cM)的高密度连锁图谱,并在第九连锁群上定位了一个主要的雄性不育基因(ms1),ms1 基因与最近标记之间的图谱距离仅为 0.5 cM。另一个家系中的雄性不育基因(ms2)定位于第五连锁群上,ms2 基因与最近标记的图谱距离为 1.6 cM^[53]。雄性不育基因的定位成功为日本柳杉花粉稀少品种分子育种提供了可能。

4 问题与展望

相比较而言,柳杉作为日本的“国树”,其天然资源不仅得到了很好的保护,而且建立了众多种质资源圃,有系统、完整的柳杉优树选择、种源选择标准和育种体系。同时,日本学者在柳杉群体分布、分子遗传学以及遗传育种等方面有较深入的研究。而我国虽然柳杉遗传资源丰富,但质量不高,木材市场供需矛盾突出,现有的柳杉研究工作还存在很大的不足和滞后性。对现有资源保护不够,资源利用率低,育种进程缓慢,育种效率低,进一步限制了我国柳杉产业的发展。

今后的研究工作中,应注重开展我国广域分布柳杉资源的调查和遗传多样性评价研究,结合日本柳杉的优树选择标准和雄性不育品种高精度鉴别技术,从我国丰富的柳杉遗传资源中筛选、鉴定、收集优良株系和特异种质(如雄性不育种质),为柳杉资源保护和育种提供科学依据。在此基础上,将传统育种方法与生物技术相结合,高效选育柳杉优良品

种,加快良种苗木的繁育,提高柳杉用材林生产效益,满足不断增长的木材需求。

参考文献:

- [1] 王江,刘军,黄永强,等. 柳杉起源及天然分布[J]. 四川林业科技, 2007, 28(4):92~94.
- [2] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志: 41 卷[M]. 北京: 科学出版社, 2005.
- [3] Hayashi Y. Taxonomical and phytogeographical study of Japanese conifers[J]. 1960.
- [4] 中国科学院中国植物志委员会. 中国植物志: 第 7 卷[M]. 科学出版社, 1974.
- [5] Murai S. Major forestry tree species in the Tohoku region and their varietal problems[J]. Kokudo Saiken Zourin Gijutsu Kouenshu. 1947, pp 131~151. (in Japanese)
- [6] 阮兴盛. 柳杉的生态学特性及栽培技术[J]. 林业勘察设计, 2004(01):12~13.
- [7] 吴中伦. 国外树种引种概论[M]. 北京: 科学出版社, 1983: 151~154.
- [8] 赵祥秀,李昕,梁勇. 不同岩性土壤的日本柳杉幼树生长情况初报[J]. 农技服务, 2014, 31(6):165~165.
- [9] Taira H, Teranishi H, Kenda Y. A case study of male sterility in sugi (*Cryptomeria japonica*) [J]. Journal of the Japanese Forestry Society, 1993, 75(4):377~379. (in Japanese with English summary)
- [10] Saito M. Breeding strategy for the pollinosis preventive cultivars of *Cryptomeria japonica* D. Don[J]. Nihon Ringakkai Shi/Journal of the Japanese Forestry Society, 2010, 92(6):316~323.
- [11] Saito M, Taira H, Furuta Y. Cytological and genetical studies on male sterility in *Cryptomeria japonica* D. Don[J]. Journal of Forest Research, 1998, 3(3):167~173.
- [12] Tsubomura M, Fukatsu E, Nakada R, et al. Inheritance of male flower production in *Cryptomeria japonica* (sugi) estimated from analysis of a diallel mating test[J]. Annals of Forest Science, 2012, 69(8):867~875.
- [13] 许丽娟. 柳杉花粉症[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2003, 17(8):502~504.
- [14] 李全生,江盛学,李欣泽,等. 中国气传致敏花粉的季节和地理播散规律[J]. 解放军医学杂志, 2017(11):25~29.
- [15] Matsuda K, Miyajima H. Chromosome number of cutting variety in *Cryptomeria japonica*[J]. Journal of the Japanese Forestry Society, 1977, 59:148~150. (in Japanese)
- [16] Sasaki Y, Kuroki Y. Cytogenetical studies on spontaneous mutations in Genus *Chamaecyparis*, *Cryptomeria* and *Juniperus*. 39th Mtg. Kyushu Br., Journal of the Japanese Forestry Society, 1986, 71~72. (in Japanese with English title)
- [17] Zinnai I, Chiba S. Tetraploids of Sugi (*Cryptomeria japonica* D. DON) discovered at forest nursery. Japanese Journal of Breeding, 1951, 1(1):43~46.
- [18] Kikuti H. Inheritance of chlorophyll deficiency of Okina-Sugi, *Cryptomeria japonica* D. DON form. albospicata Hort[J]. Journal of the Japanese Forestry Society, 1978, 60:337~339.
- [19] 黄信金. 柳杉半同胞子代遗传变异与优良遗传型选择[J]. 中南林业科技大学学报, 2010, 30(7):50~54.
- [20] 黄信金. 柳杉种源变异与联合选择[J]. 浙江林学院学报,

- 2010, 27(6):884~889.
- [21] 欧阳磊. 柳杉种子园亲本遗传变异规律与选择[J]. 中南林业科技大学学报, 2010, 30(3):90~94.
- [22] 李上前. 柳杉一代种子园半同胞家系遗传变异分析[J]. 江苏林业科技, 2018, 45(05):14~17.
- [23] Yasue M, Ogiyama K, Suto S, et al. Geographical differentiation of natural *Cryptomeria* stands analyzed by diterpene hydrocarbon constituents of individual trees[J]. Journal of the Japanese Forestry Society, 1987, 69:152~156
- [24] Tsumura Y, Uchida K, Ohba K. Genetic Control of Isozyme Variation in Needle Tissues of *Cryptomeria japonica*[J]. Journal of Heredity, 1989, 80(4):291~297.
- [25] Yang J C, Chang C W, Lin T P. Allozyme variation of a *Cryptomeria japonica* plantation in Liu-Kuei Branch, Taiwan Forestry Research Institute[J]. Acta Horticulturae, 2003(615):391~393.
- [26] Tsumura Y, Ohba K. Allozyme variation of five natural populations of *Cryptomeria japonica* in western Japan[J]. The Japanese Journal of Genetics, 1992, 67(4):299~308.
- [27] Tomaru N, Tsumura Y, Ohba K. Allozyme Variation in Artificial Stands and a Plus-tree Group of Sugi, *Cryptomeria japonica* in Ibaraki Prefecture[J]. Journal of the Japanese Forest Society, 1992, 74(1):44~48.
- [28] Tomaru N, Tsumura Y, Ohba K. Genetic Variation and Population Differentiation in Natural Populations of *Cryptomeria japonica* [J]. Plant Species Biology, 1994, 9(3):191~199.
- [29] Taira H. A change of *Cryptomeria japonica* distribution from viewpoint of regeneration system and genetic diversity[J]. The Journal of phytogeography and taxonomy. 2001, 49(4):447~452.
- [30] 赵尚敏. 甜菜抗丛根病种质资源遗传多样性分析[D]. 内蒙古呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2009.
- [31] 邹奕, 吴则东, 兴旺, 等. 甜菜种质资源遗传多样性研究进展[J]. 中国糖料, 2018(5):73~76, 80.
- [32] Takata K, Shiraishi S. Discrimination of Japanese Cedar (*Cryptomeria japonica* D. Don) Cutting Cultivars in Kyushu Region with RAPD Markers[J]. Bulletin of the Kyushu University Forests, 1996, 75:1~14.
- [33] 骆鹏, 曹玉婷, 莫家兴, 等. 柳杉无性系指纹图谱的构建及遗传多样性分析[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2017, 41(04):191~196.
- [34] 张景丽. 柳杉优树资源的遗传多样性分析及杂交亲本的筛选[D]. 浙江杭州: 浙江农林大学, 2014.
- [35] Tsumura Y, Tomaru N. Genetic diversity of *Cryptomeria japonica* using co-dominant DNA markers based on sequenced-tagged sites [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1999, 98(3~4):396~404.
- [36] Shimizu Y, Ando M, Sakai F. RAPD marker diversity within and among natural populations of the clonal tree *Cryptomeria japonica* D. Don[J]. Journal of Sustainable Forestry, 2002, 15(3):75~90.
- [37] 徐进, 刘子梁, 欧阳磊, 等. 柳杉初级种子园遗传多样性[J]. 东北林业大学学报, 2014(4).
- [38] Uchiyama K, Miyamoto N, Takahashi M, et al. Population genetic structure and the effect of historical human activity on the genetic variability of *Cryptomeria japonica* core collection, in Japan[J]. Tree Genetics & Genomes, 2014, 10(5):1257~1270.
- [39] 福建省林科所, 霞浦县杨梅岭林场. 柳杉优树选择的标准与方法(初稿)[J]. 福建林业科技, 1977(S5):7~9.
- [40] 谢巧银. 柳杉优良种源选择试验[J]. 科技信息(科学教研), 2008(04):315~316.
- [41] Forest Tree Breeding Center. Status and statistics in forest tree breeding [J]. Forest Tree Breeding Center, FFPRI, 2013, 87pp. (in Japanese)
- [42] Ito S, Katsuta M. Seed productivity in the miniature clonal seed orchard of *Cryptomeria japonica* D. Don[J]. Journal of the Japanese Forest Society, 1986, 68:284~288.
- [43] Longman K A, Dick J M P. Can seed-orchards be miniaturized? [C]// Symposium on Flowering Physiology at the XVII Iufro World Congress, 1981.
- [44] Saito M, Taira H. Characteristics and effectiveness of glasshouse miniature seed orchards in *Cryptomeria japonica* D. Don [J]. Journal of the Japanese Forest Society, 2006, 88:187~191. (in Japanese)
- [45] Saito M. Effectiveness of an Indoor Miniature Seed Orchard Arranged in Lines for *Cryptomeria japonica* Retaining Male-Sterile Genes[J]. Journal of the Japanese Forest Society, 2009, 91(3):168~172.
- [46] Saito M, Taira H. Plus tree of *Cryptomeria japonica* D. Don with a heterozygous male-sterility gene [J]. Journal of Forest Research, 2005, 10(5):391~394.
- [47] Moriguchi Y, Totsuka S, Iwai J, et al. Pyramiding of male-sterile genes in *Cryptomeria japonica* D. Don with the aid of closely linked markers[J]. Tree Genetics & Genomes, 2017, 13(3).
- [48] Mukai Y, Suyama Y, Tsumura Y, et al. A linkage map for sugi (*Cryptomeria japonica*) based on RFLP, RAPD, and isozyme loci[J]. Tag. theoretical & Applied Genetics. theoretische Und Angewandte Genetik, 1995, 90(6):835~840.
- [49] Yoshimaru H, Ohba K, Tsurumi K, et al. Detection of quantitative trait loci for juvenile growth, flower bearing and rooting ability based on a linkage map of sugi (*Cryptomeria japonica* D. Don) [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1998, 97(1~2):45~50.
- [50] Ujino-Ihara T, Iwata H, Taguchi Y, et al. Identification of QTLs associated with male strobilus abundance in *Cryptomeria japonica* [J]. Tree Genetics and Genomes, 2012, 8(6):1319~1329.
- [51] Kuramoto N, Kondo T, Fujisawa Y, et al. Detection of quantitative trait loci for wood strength in *Cryptomeria japonica*[J]. Canadian Journal of Forest Research, 2000, 30(10):1525~1533.
- [52] Moriguchi Y, Ujino-Ihara T, Uchiyama K, et al. The construction of a high-density linkage map for identifying SNP markers that are tightly linked to a nuclear-recessive major gene for male sterility in *Cryptomeria japonica* D. Don [J]. BMC Genomics, 2012, 13(1):95.
- [53] Moriguchi Y, Ueno S, Higuchi Y, et al. Establishment of a microsatellite panel covering the sugi (*Cryptomeria japonica*) genome, and its application for localization of a male-sterile gene (ms-2) [J]. Molecular Breeding, 2014, 33(2).