

## [粕屋演習林]A. 林木の育種に関する研究 : 1. 家系分析法による天然林における遺伝力の推定に関する研究

宮崎, 安貞  
九州大学農学部附属演習林 : 講師

酒井, 寛一

<https://doi.org/10.15017/1456350>

---

出版情報 : 演習林研究経過報告. 昭和44年度, pp. 54-75, 1970. 九州大学農学部附属演習林  
バージョン :  
権利関係 :

## 粕屋演習林

### A 林木の育種に関する研究

#### 1. 家系分析法による天然林における遺伝力の推定に関する研究

宮崎安貞(粕演)、酒井寛一(口立遺伝学)

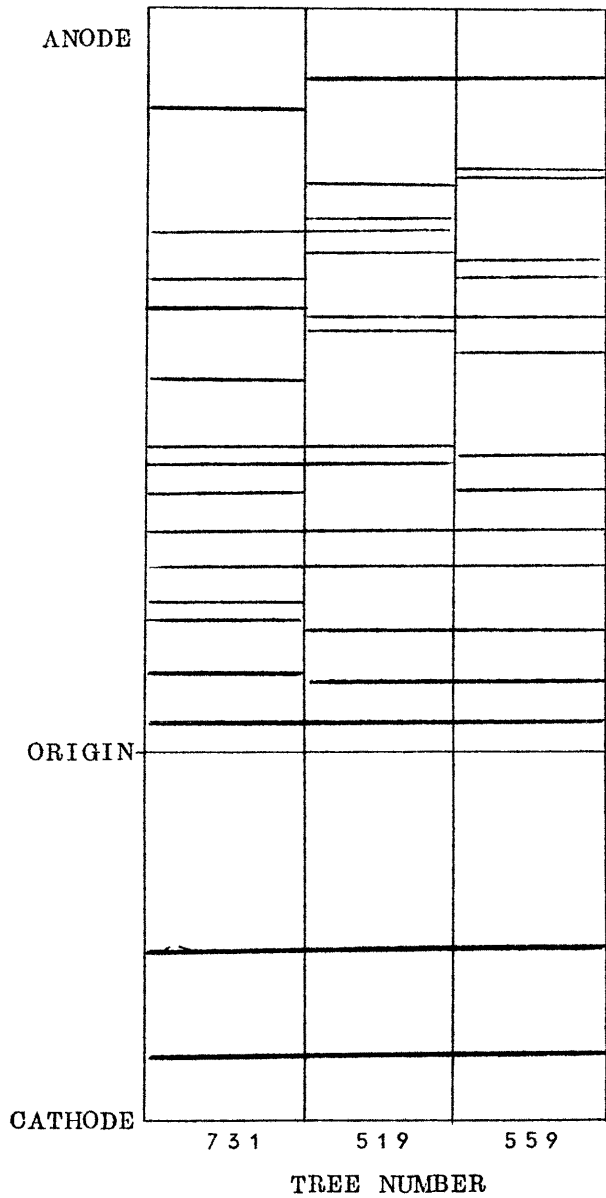
本研究は、同一林分内に生育している林木個体間のパーオキシダーゼ・アインザイムを比較することによつて、栄養繁殖個体はもとより種子繁殖による親子兄妹の家系を高い確からしさで判定できることを明らかにした。分析結果は家系図にとりまとめて示すとともに、この図に基づいて各種形質の遺伝関係を追求することができることを究明した。すなわち、天然林における母樹選抜用のパラメーターとして家系似通い度(Degree of family likeness), Mを定義して、実際の選抜に役立つことを明らかにした。

##### (1) 材料と方法

青森県の下北・津軽両半島から大畑、増川の2つのヒバ天然林を選び、それぞれ個体番号をつけ位置図をつくつた。各個体について、樹高、胸高直径、力枝の長さおよび力枝上の小枝の数を測定した。各個体の力枝からしかるべき量の針葉を採取したが、これらは実験室でさらに詳しく測定し、一部は電気泳動分析に当てた。測定した形質は、主葉の長さ、同幅および両副葉を含む全幅である。針葉は電気泳動実験に供するまで $-2^{\circ}\text{C}$ に冷凍保存した。電気泳動はSmithies氏の原法に準ずるもので、水平式スターチ・ゲル電気泳動装置を用いた。ゲルは、0.03Mのほう酸緩衝液pH 8.5(0.105g苛性カリと0.9gほう酸を含む)500ml中に水解スターチ57gを加えて調製した。泳動槽緩衝液はpH 8.5で、1ℓ当り3.4g苛性カリと18.5gほう酸を含んでいる。試料は、針葉約0.3gに同量の蒸りゆう水を加えた粗試料で、濾紙片(Toyo No 50、 $5 \times 18\text{mm}$ )にしみ込ませてゲルに挿入した。アインザイムの分離は $7^{\circ}\text{C}$ で最初の10分間100V、つづいて85分間400Vの定電圧下で行なつた。分離後、底半部のゲルは、0.3%  $\text{H}_2\text{O}_2$ を電子供与体とする0.2% Benzidine acetateと0.0625M Tris-acetic buffer pH4.0(0.01M Trisと0.0525M acetic acidを含む)からなる反応液によつてパーオキシダーゼ・アインザイムを呈色した。

ヒバのパーオキシダーゼ・アインザイムの最大数は42で、その数例を模式的に示せば図1のとおりである。異なつた個体のアインザイム・パターン間の比較は、不對バンド数すなわち disagreement count 数によりなされた。

Figure 1. A schematic illustration of three examples of peroxidase zymograms of *Thujopsis dolabrata*. "Disagreement counts" among them are given in the text.

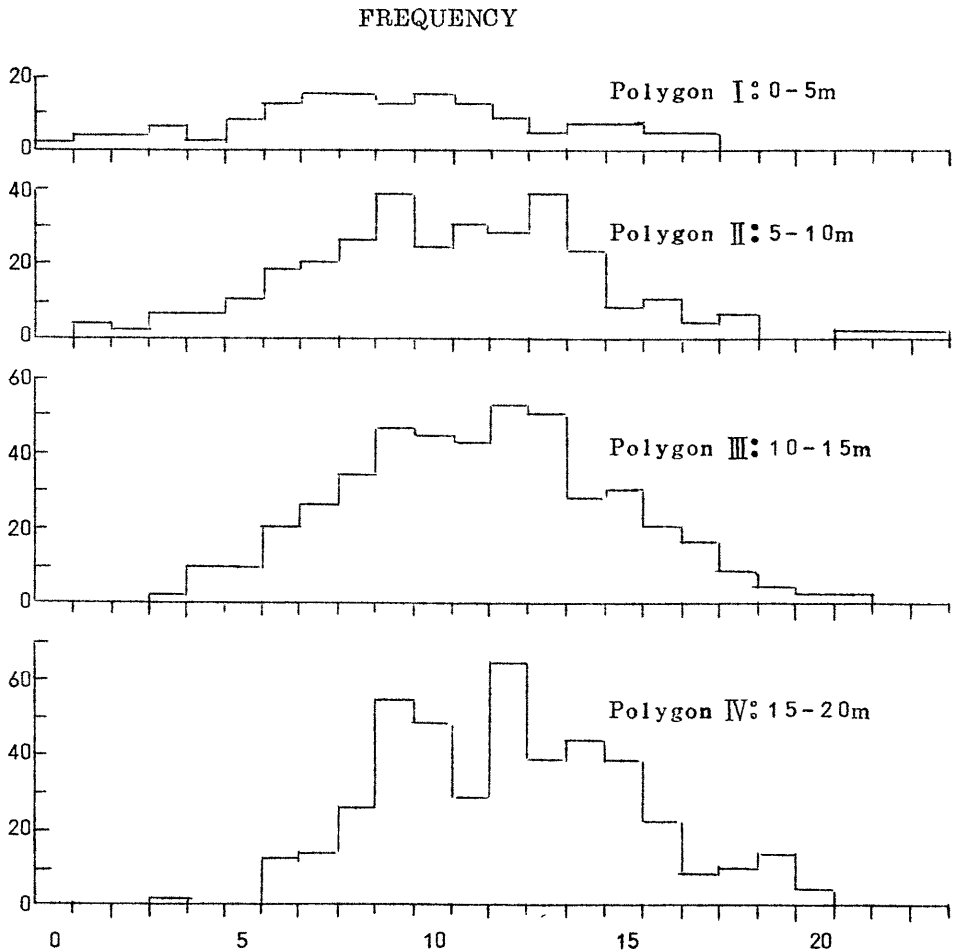


例えば図 1 に示す 3 個体間の 3 組で観測された disagreement count は、731 と 519 : 13、519 と 559 : 9、731 と 559 : 15 である。

(2) 結 果

同一林分において、近辺に生育している個体間ではかなり離れて生育している個体間に比較して disagreement count が小さいという明瞭な傾向が認められる。図 2、3 は、2 つの天然林でいろいろな距離級に生育している個体群の間の disagreement count の頻度分布を示したものである。

FIGURE 2. FREQUENCY DISTRIBUTION OF DISAGREEMENT COUNTS IN MASUKAWA FOREST IN RELATION TO DISTANCE



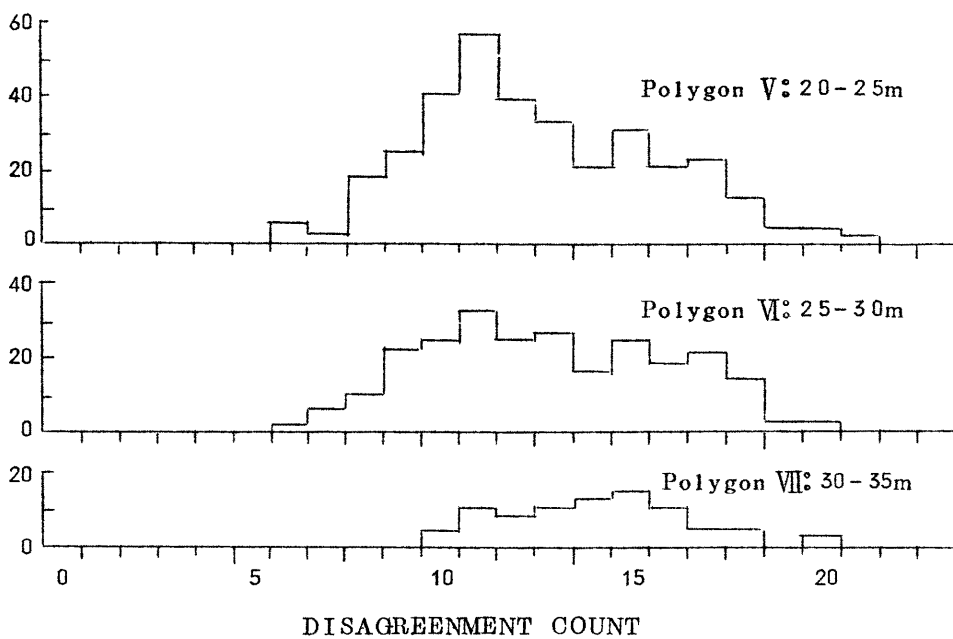
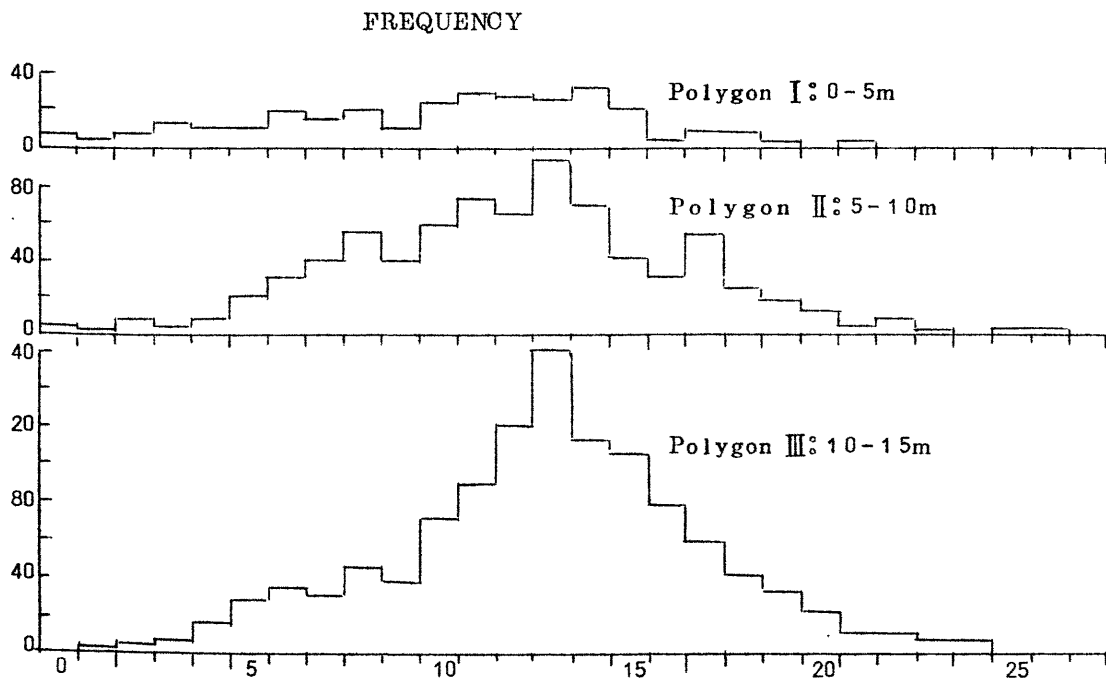
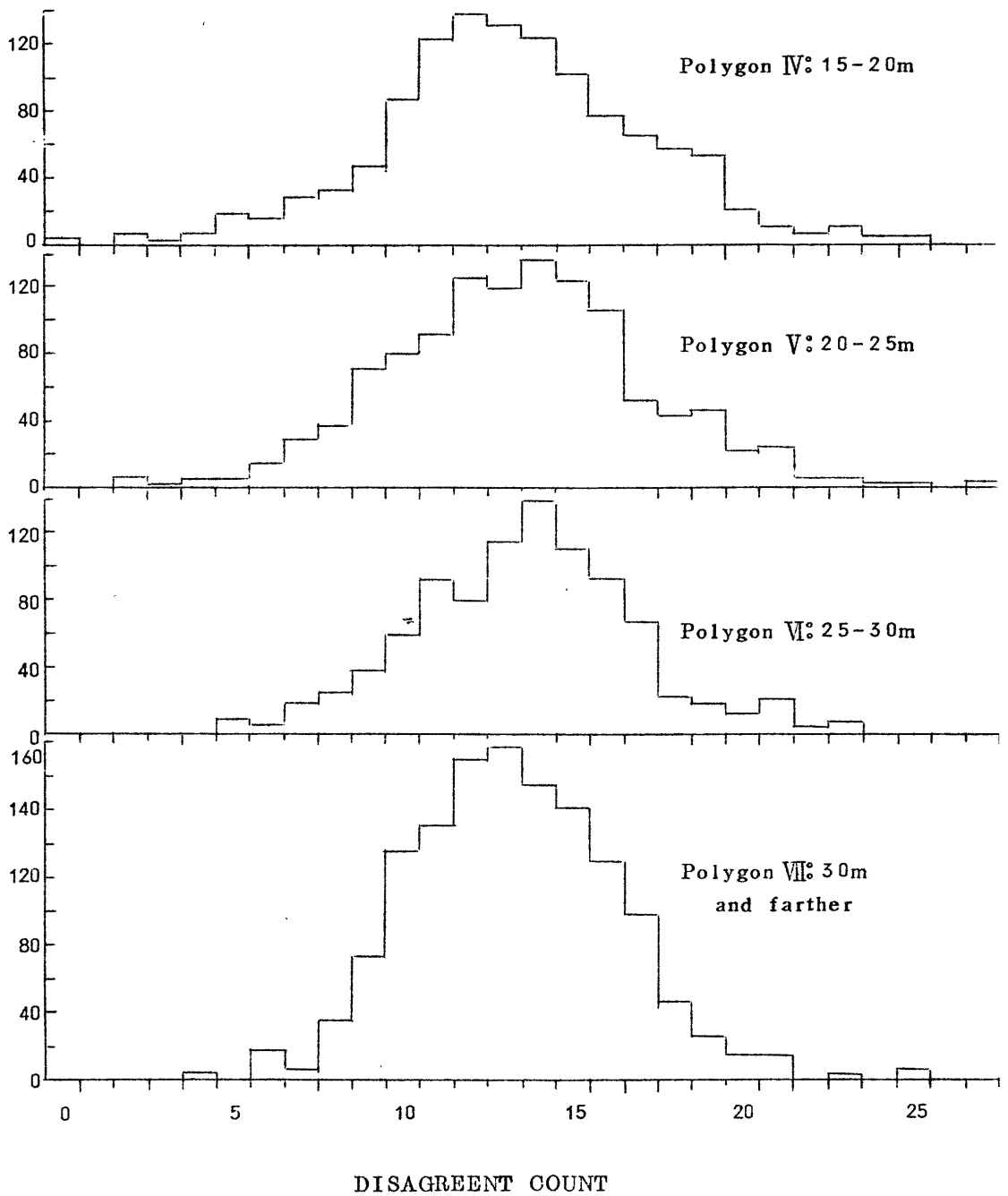


FIGURE 3. FREQUENCY DISTRIBUTION OF DISAGREEMENT COUNTS  
IN OHATA FOREST IN RELATION TO DISTANCE





図中、Polygon I は与えられた個体を中心とした直径 5 m の円形区域を示し、Polygon II は直径 5 m と 10 m の 2 つの円周に挟まれたドーナツ型の区域を示す。同様にして、他の Polygon は 5 m 幅で区分された地域を示している。I から X までの距離級別の平均 disagreement count は図 4 に示され、水平破線は互いに無関係と考えてよい林分間の平均 disagreement count である。

FIGURE 4. AVERAGE DISAGREEMENT COUNT IN VARIOUS DISTANCE GROUPS  
 IN TO FORESTS OF OHATA AND MASUKAWA

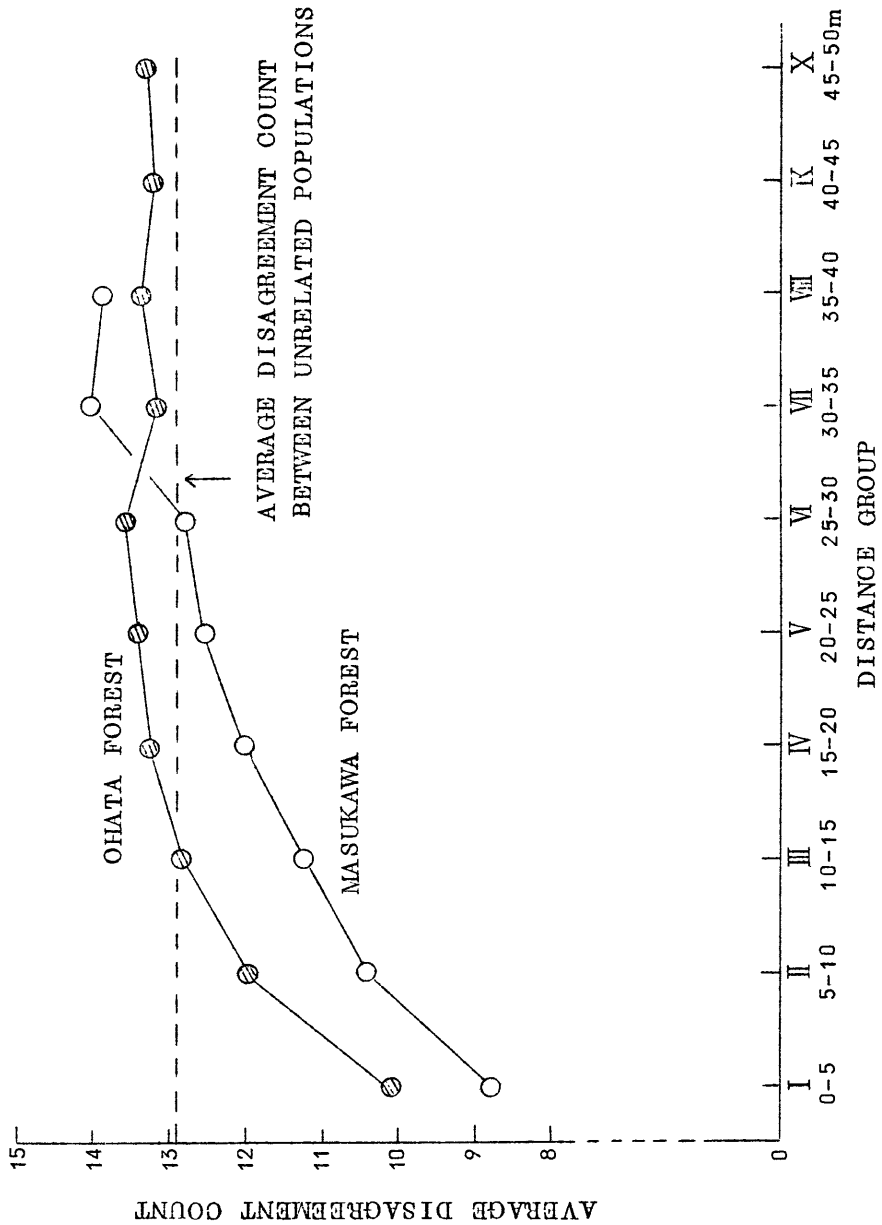
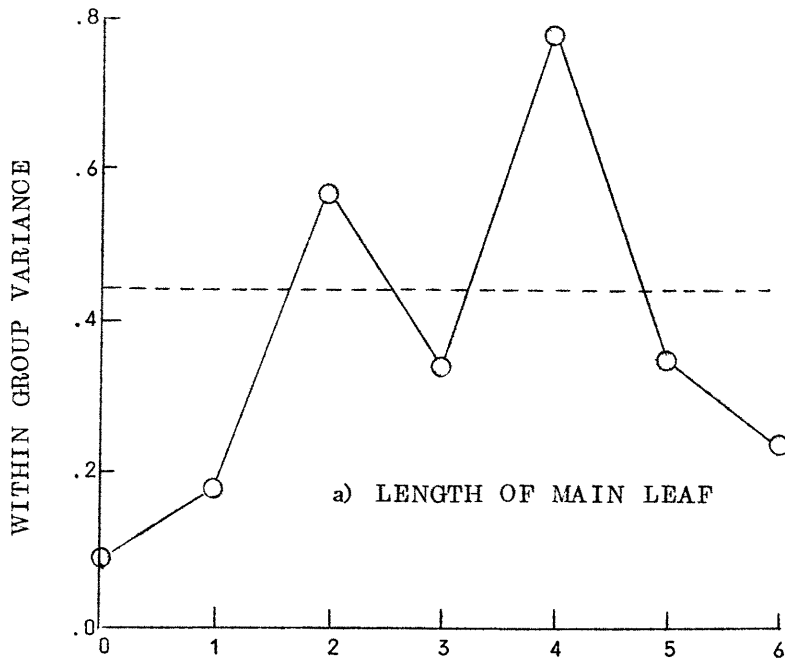
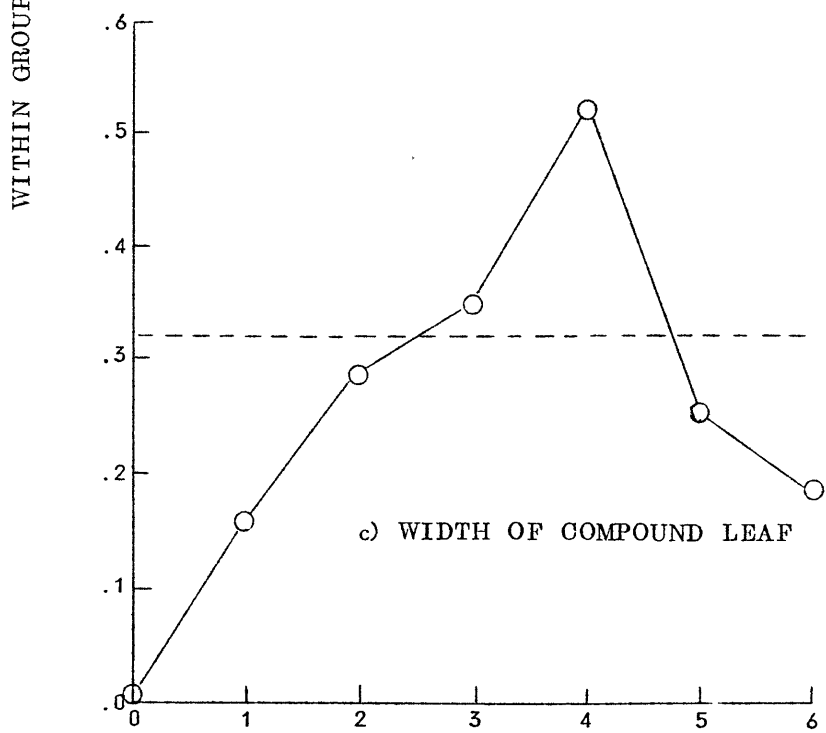
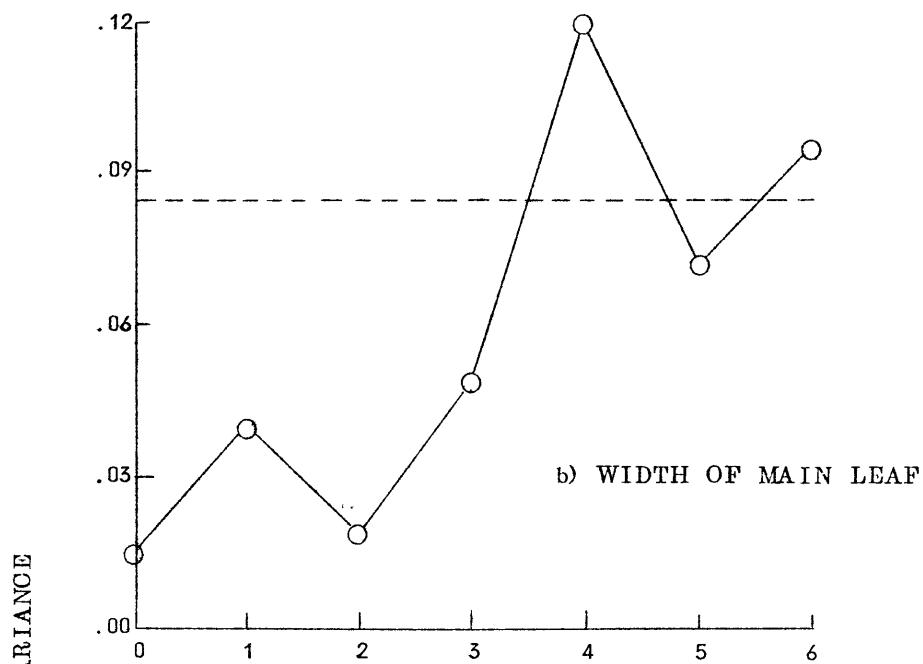


図2、3から判ることは、非常に小さな値0~3は増川集団ではI,II,III,Vにしか見られず、また大畑集団ではI~Vで見られることである。このような隣接して生育している個体間で起こり易いアイソザイム・パターンの高い似通い度は、(1)環境条件の似通い性がアイソザイム・パターンの似通い性を生みだしているのか(2)遺伝的に関係した個体が近傍に共存するのかのいずれかを示唆していると考えてよいであろう。(1)の可能性は、同一林分の地域内で考えられるような環境変異では余り考えられず、むしろ遺伝的に近縁な個体が森林内にいくつかの群れをなして生育していると考えてよさそうである。0から3のような近いdisagreement countを示す個体は何らかの意味で親類関係にあるかも知れないというこの仮説の正当性を検するため、disagreement countによつて級分けされた個体群についていくつかの外部形質を調査した。

Figure 5. Variance of four vegetative characters among trees with various disagreement counts of peroxidase isozymes in Masukawa forest.







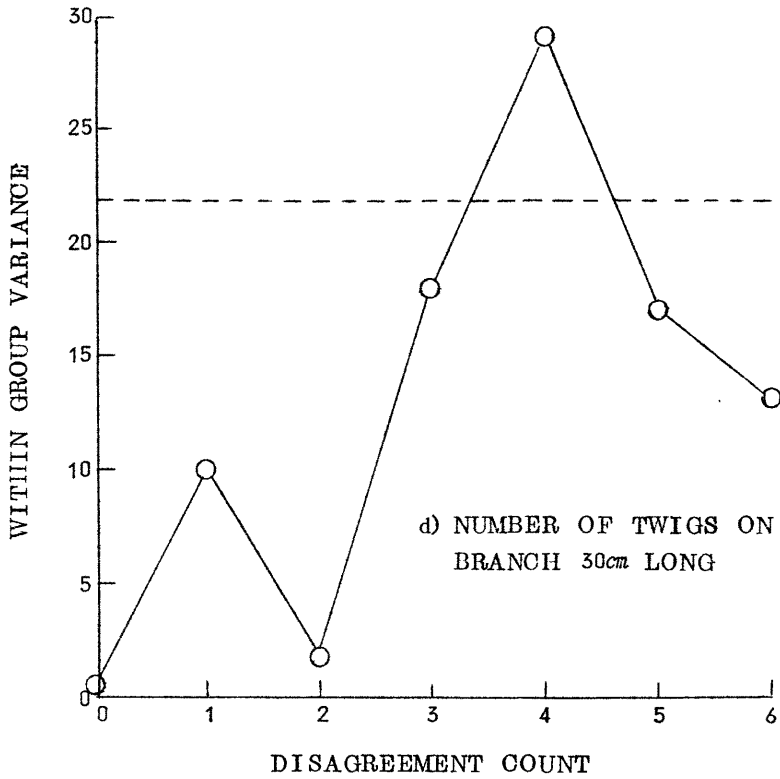
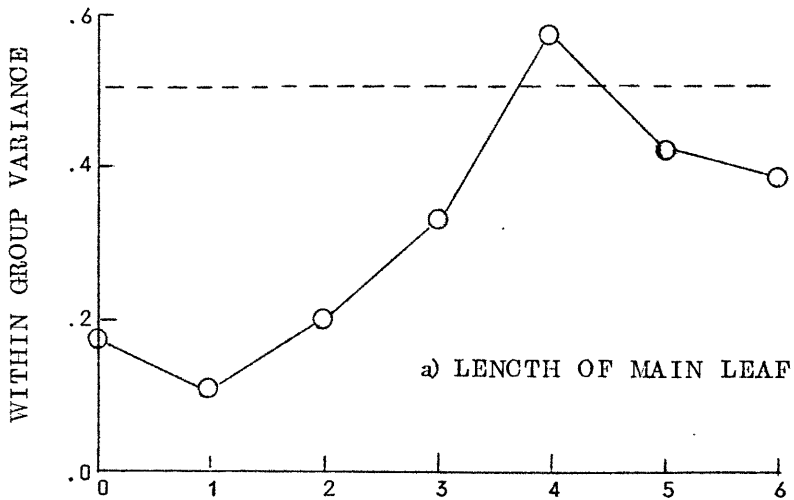
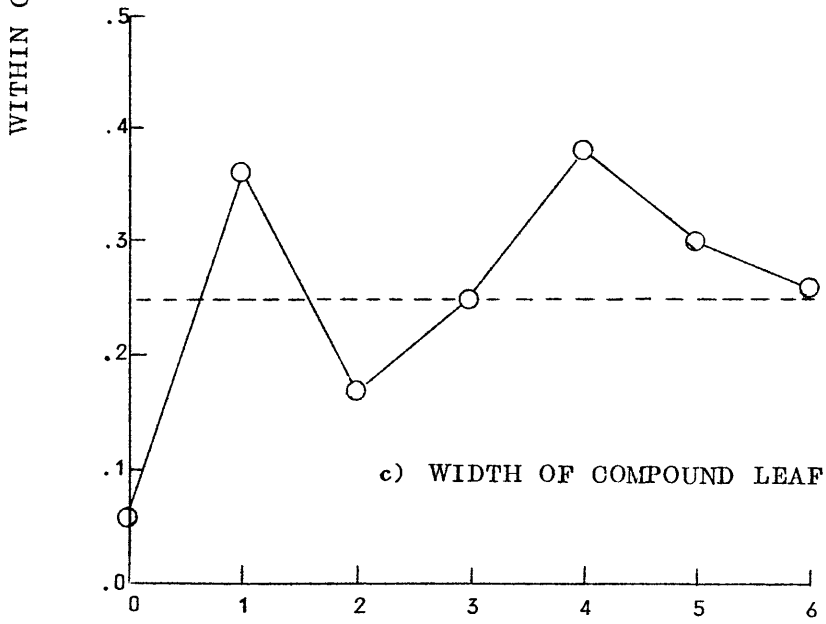
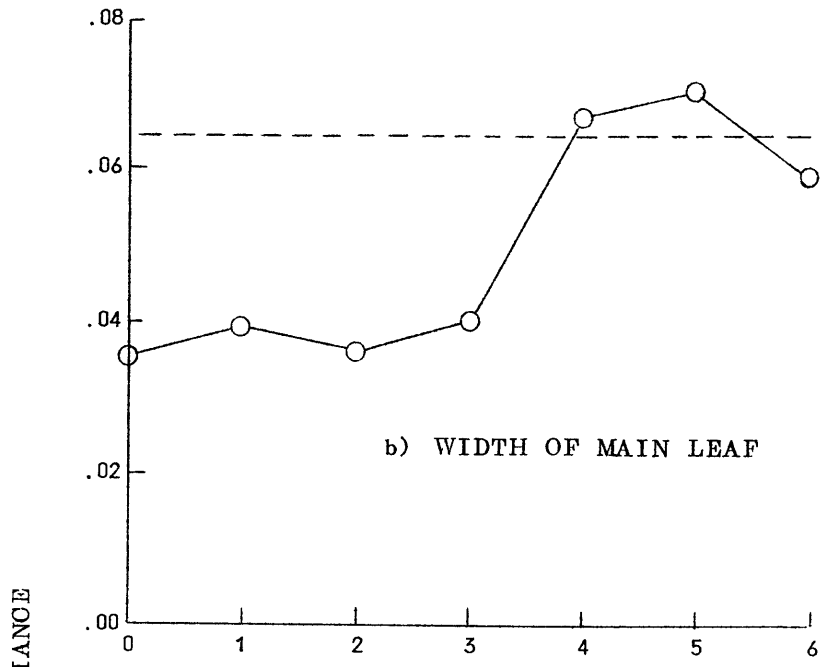


Figure 6 Variance of four vegetative characters among trees with various disagreement counts of peroxidase isozymes in Ohata forest.





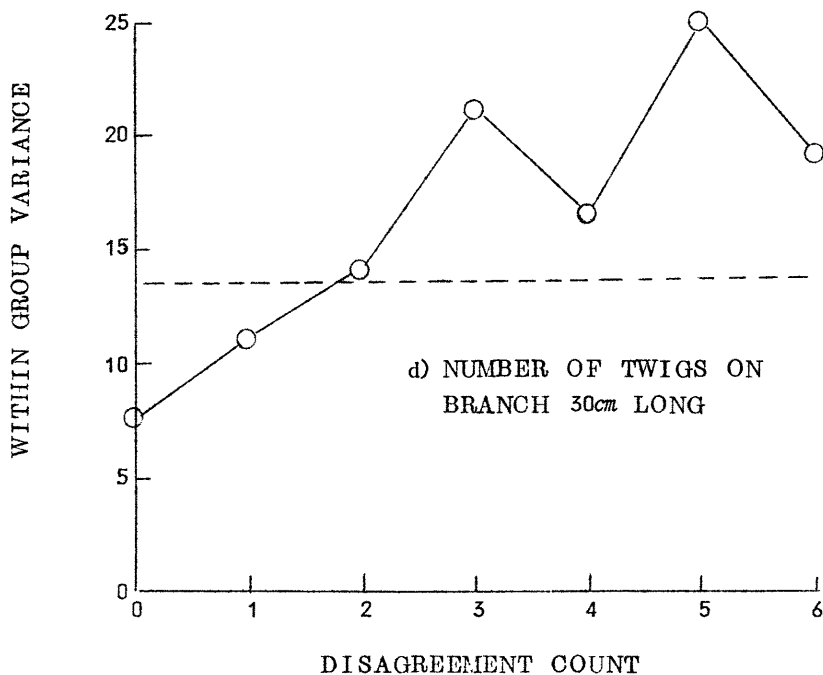


図 5、6 でみられるように、disagreement count が 0、1、2、3 ときわめて小さいときに、群内分散はきわめて小さな値をとることが判つた。ただし水平の破線は全林木における個体間分散である。そこで、アイソザイムで相対的に似通っている個体は、外部形質においても互いに似ており、またこのことは同一家系に属する親類木であろうことを示唆している。次にでてくる問題は、異なる集団の縮類関係のありそうにない個体間で disagreement count 3 のような値が起るかどうかを確かめることである。そのために大畑および増川試験林の個体間の disagreement count を調べた。2 林分は 10 Km の海峡で孤立し、遺伝的に異なる性質をもつことが実証されている（酒井、宮崎、松浦）。その結果、調べた 3 4 3 2 組の中には 0、1、2 は出現せず、count 3 は起ることが判つた。これ等はチャンスで起きたものと考えられ、その出現頻度は 0.12% に過ぎなかつた。上述のことから内輪にみても disagreement count 0 は栄養繁殖をした個体であり、他方同 1、2、3 は同一家系の種子繁殖による後代を示していると結論づけた。count 4 以上は安全性の見地からこの研究ではとり扱わなかつた。家系分析の結果をとりまとめて家系地図を作製した。

Figure 7. FREQUENCY DISTRIBUTION OF DISAGREEMENT COUNTS  
 BETWEEN TWO GEOGRAPHICALLY ISOLATED POPULATIONS

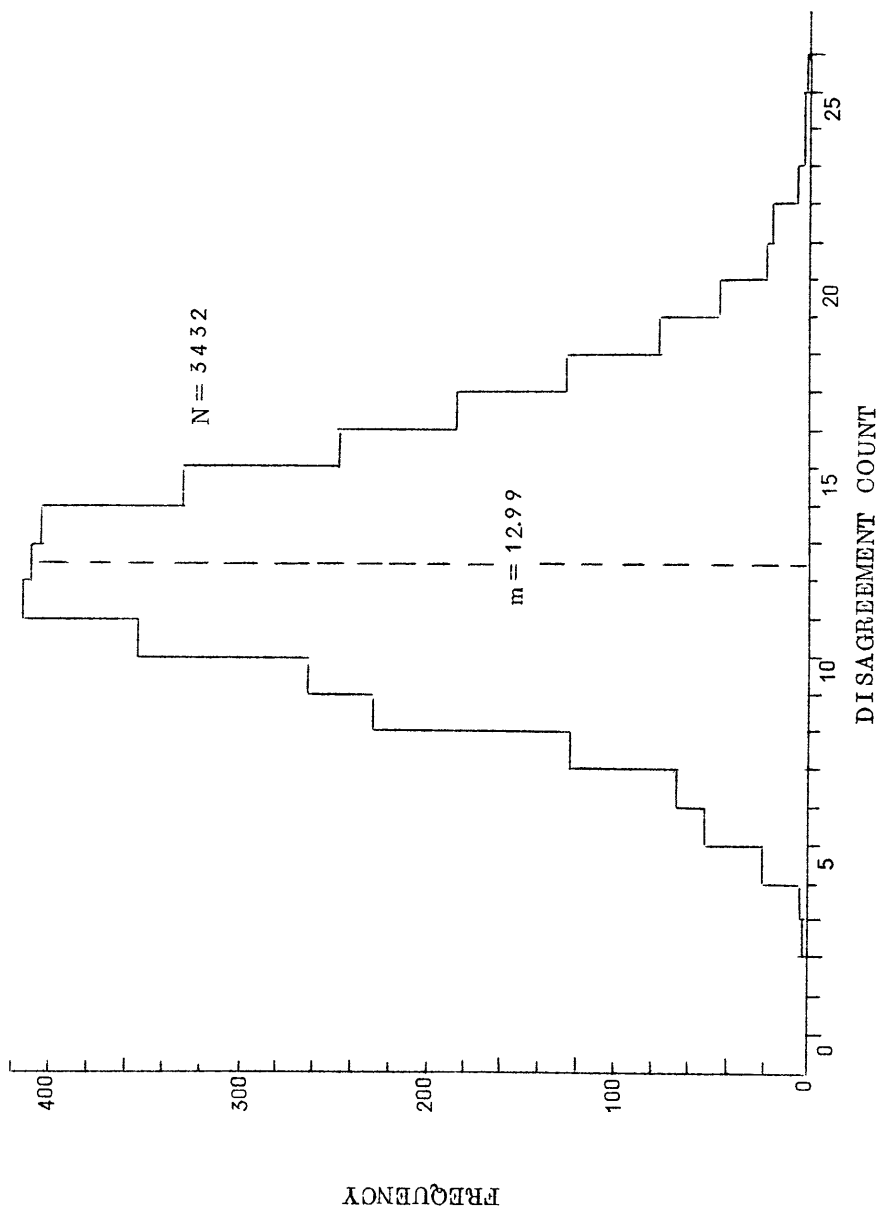


Figure 8. Family map of 45 trees of different ages in a natural forest in Masukawa. Trees connected with triple bars : clonal propagules : Trees connected with single solid bars : seed-propagated sib-trees : Stars : Orphaned with no relatives in the forest.

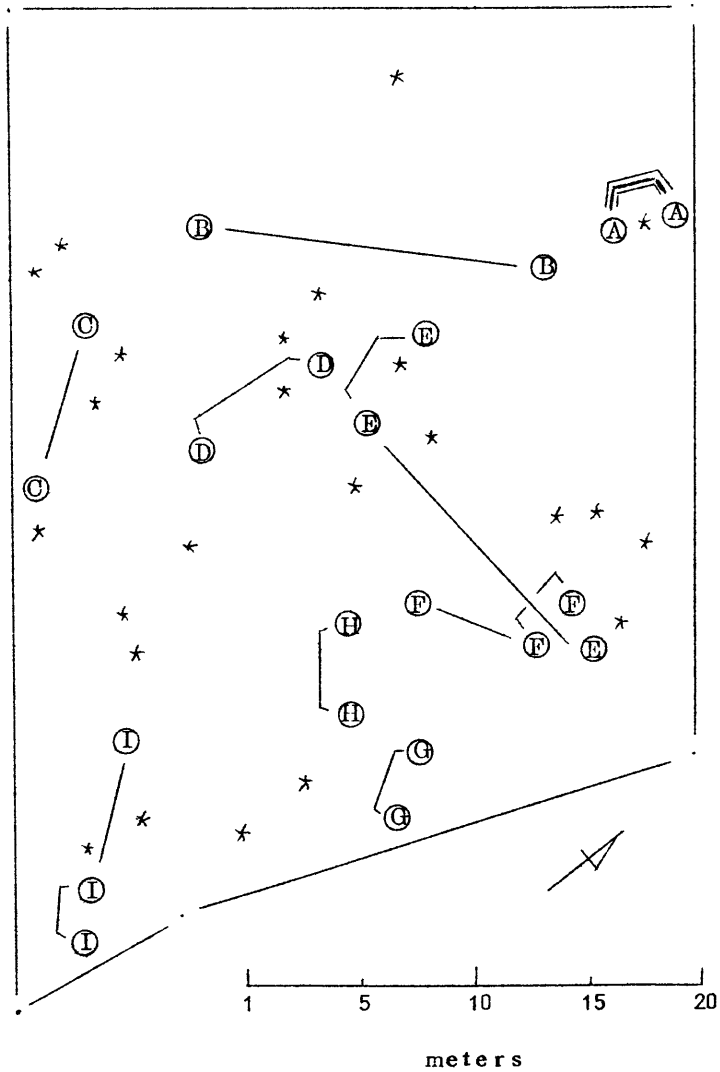


Figure 9. Family map of 83 trees of different ages in a natural forest in Ohata. Trees conected with triple bars : clonal propagules : Trees conected with single solid bars : seed-propagated sib-trees : Stars : Orphaned trees with no relatives in the forest.

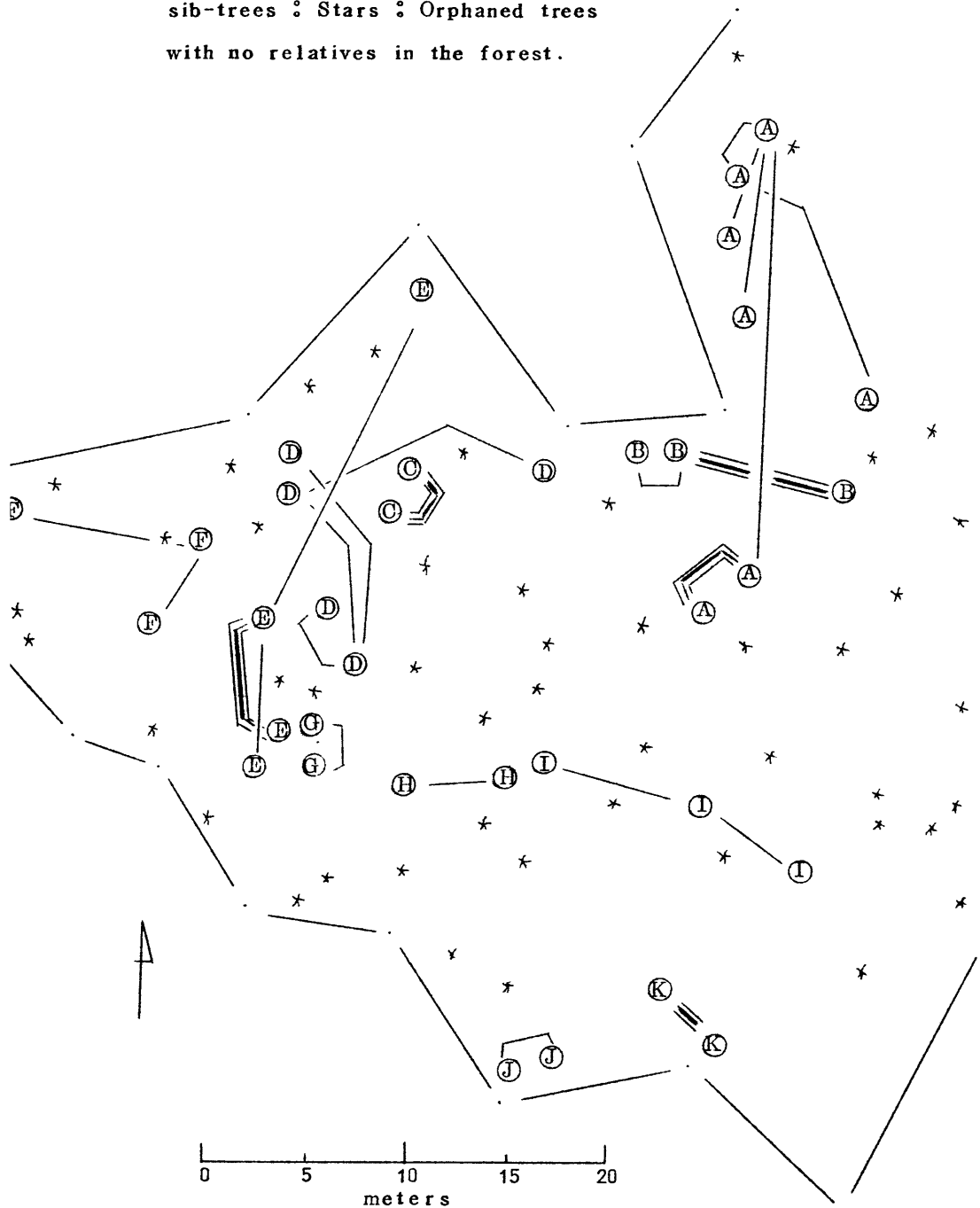


図 8、9 はそれぞれ増川および大畑両林分における家系地図で、3重線は栄養繁殖、実線は種子繁殖個体を示していて、円内のアルファベットは異なる家系を区別する記号である。

Figure 10. Variability in number of twigs on 30cm branch  
in clones (black circles) and families (open circles).

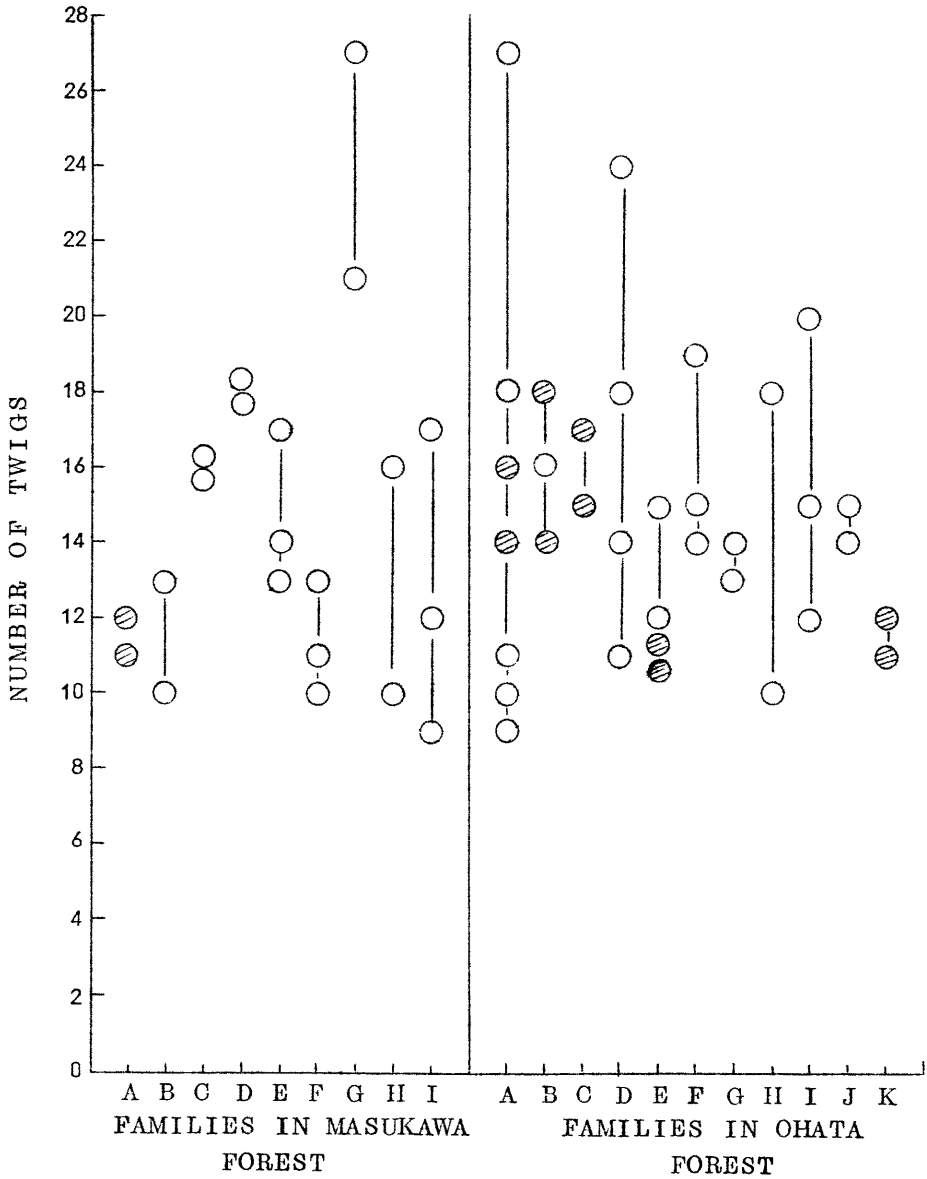
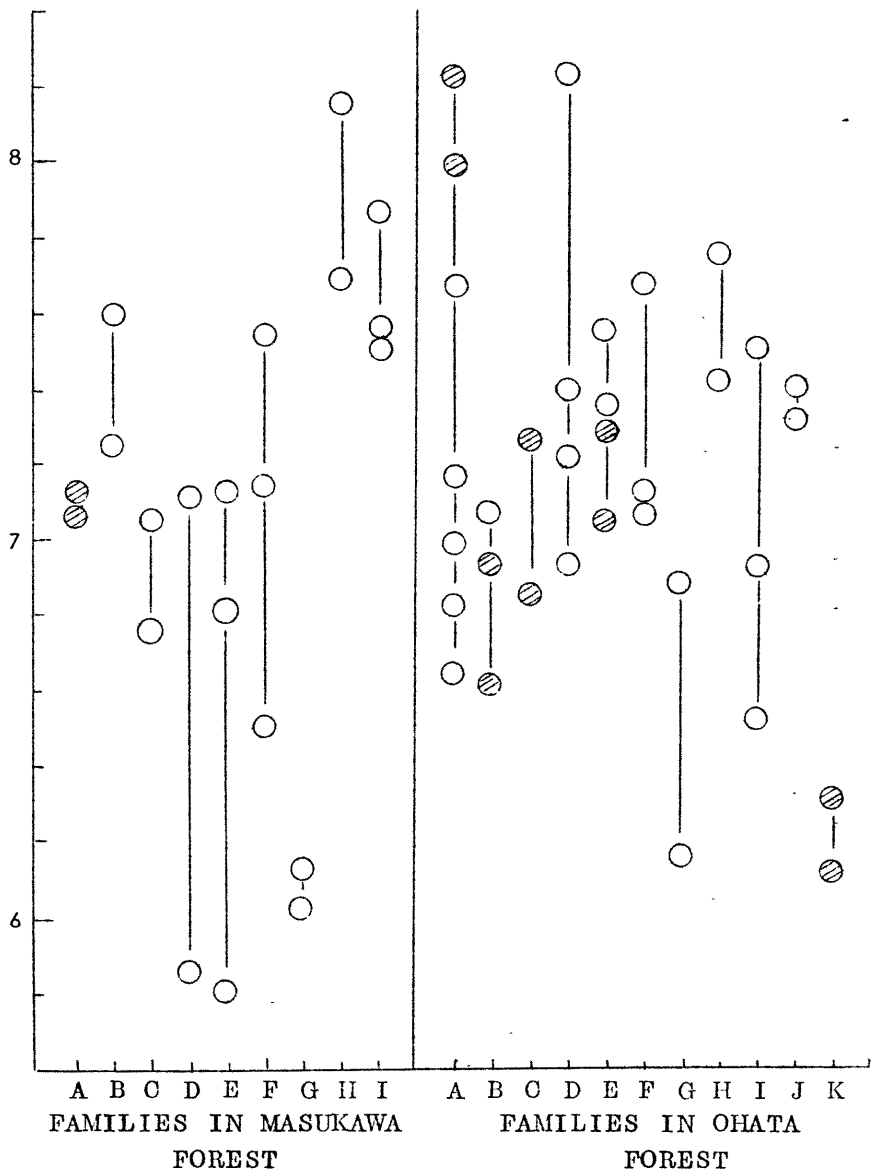




Figure 11. Variability in width of compound leaf in hypothetical clones(solid circles) and families(open circles).



クローンおよび家系における外部形質の変異性は図10、11に示され、30cmの長さの枝に着生する小枝数と複合葉幅の2形質をとつている。量的形質の遺伝パラメーターを推定するために家系間および家系内の分散分析を行なつたが、これは表1に示されている。

Table 1. Analysis of variance of length and width of the main leaf, width of the compound leaf and number of twigs on branches 30cm long in two forests of Masukawa and Ohata.

Source of variation	Degrees of freedom	Mean squares			Expected components of mean squares
		Leaf length	Leaf width	Compound leaf Twigs	
Masukawa forest					
Between families	7	1.0446	0.1344	0.8742	$\hat{\sigma}_W^2 + 2.36\hat{\sigma}_B^2$
Within families	11	0.2875	0.0333	0.2317	$\hat{\sigma}_W^2$
$\hat{\sigma}_B^2$		0.3207	0.0428	0.2721	13.0460
$\hat{\sigma}_W^2$		0.2875	0.0333	0.2317	7.8642
M *		0.5273	0.5624	0.5401	0.6239
Ohata forest					
Between families	8	0.5610	0.0369	0.1910	$\hat{\sigma}_W^2 + 3.12\hat{\sigma}_B^2$
Within families	20	0.3081	0.0507	0.2247	$\hat{\sigma}_W^2$
$\hat{\sigma}_B^2$		0.0810	—	—	—
$\hat{\sigma}_W^2$		0.3081	0.0507	0.2247	22.0000
M *		0.2082	—	—	—

$$* M = \frac{\hat{\sigma}_B^2}{\hat{\sigma}_B^2 + \hat{\sigma}_W^2}$$

この分散分析では同一クローンに属する付加的な個体や孤独木すなわちどんな親類木もなかった  
 だ1個体だけ生育しているものは棄てた。しかしながら、孤独木を加えても、得られたパラメ  
 ーターはあまり強い影響はなかつた。(表2参照)

Table 2. Comparison of genetic parameters between two cases:  
 orphaned trees discarded from the analysis or included.

Orphaned trees	d.f.*	Leaf length		Leaf width		Compound leaf		Twigs		Expected components of between-family mean squares				
		$\hat{\sigma}_B^2$	$\hat{\sigma}_W^2$	$\hat{\sigma}_B^2$	$\hat{\sigma}_W^2$	$\hat{\sigma}_B^2$	$\hat{\sigma}_W^2$	$\hat{\sigma}_B^2$	$\hat{\sigma}_W^2$					
Masukawa														
discarded	7	1.04	.29	.53	.04	.03	.56	.27	.23	.54	13.05	7.86	.62	$\hat{\sigma}_W^2 + 2.36\hat{\sigma}_B^2$
included	32	.15	.29	.34	.05	.03	.61	.09	.23	.27	14.06	7.86	.62	$\hat{\sigma}_W^2 + 1.32\hat{\sigma}_B^2$
Ohata														
discarded	18	.08	.31	.21	—	.05	—	—	.22	—	—	22.00	—	$\hat{\sigma}_W^2 + 3.12\hat{\sigma}_B^2$
included	57	.23	.31	.43	.01	.05	.16	—	.22	—	—	22.00	—	$\hat{\sigma}_W^2 + 1.33\hat{\sigma}_B^2$

\* ) Number of degrees of freedom for the between-families variation.

The number for the within-family variation remains the same for either case,  
 discarded or included.

通例の遺伝研究において家系間分散要素すなわち  $\sigma_B^2$  は、集団の構成員が無作意交配されるという仮定のもとに、片親家系に対して一般に  $\frac{1}{4}\sigma_G^2$  として理解されている。もし、その集団が特定の父親と母親の組合わせによる交配で繁殖したものであると仮定すれば、 $\sigma_B^2$  は  $\frac{1}{2}\sigma_G^2$  となる。しかしながら、本研究の場合にはこれらの仮定が集団内で保たれているとは考えられない。その理由は、いずれの場合にも  $\sigma_E^2 + \frac{3}{4}\sigma_G^2$  あるいは  $\sigma_E^2 + \frac{1}{2}\sigma_G^2$  に相当する  $\sigma_W^2$  より  $4\sigma_B^2$  あるいは  $2\sigma_B^2$  が大きな値を示すからである。後に述べるように、ヒバ林では多かれ少なかれ同型度を高めるよう自家受粉木間の交配による近親交配がなされてきたと考えられるだけの理由がある。もしこの場合がそうであるならば、単一母樹あるいは母系家族の構成員から生じた子供はその中できわめて高い似通い性を示すであろうし、それだから  $\sigma_B^2$  や  $\sigma_W^2$  に通常の遺伝的解釈を用いることはできないかも知れない。クローンはできるだけ検出してとり扱う前に棄てたが、この研究ではクローンが種子繁殖家系のなかに誤つて含まれる可能性がある。このような一部の不確かさを考慮しても、われわれは選抜の研究に有用なこの新しいパラメーターを用うべきである。この家系似通い度あるいは家系内相関  $M$  は次式で示される。

$$M = \frac{\sigma_B^2}{\sigma_B^2 + \sigma_E^2}$$

$M$  は、統計学でいう級内相関と同じ意義をもつものであるが、ここに記した新しい記号  $M$  で表わす方がこのパラメーターを林木育種家が実際に使うときにより役立つと考えられる。

### (3) 考 察

天然林はあまねく地球上に分布している。これらの天然林は恐らく天然に種子によりまた栄養繁殖によつて再生されながら、無限の世代を重ねてきたものである。したがつて、天然林は例外なしに生育密度が不齊一かつ異種の異令的な樹木のきわめて複雑な混交林を呈している。

動物の自然集団のいくつか、例えば小哺乳動物すなわちネズミ類あるいは昆虫すなわちシヨウジョウバエおよびチヨウ類はきわめて頻繁に遺伝研究の材料となつて、これらの生物は遺伝学や進化論の科学的発展に偉大な貢献をしたのである。これらの動物たちは、自然界で捕えられた動物であつて、比較的短かい期間で増殖させることができるし、また成獣の観察が容易なことなどの理由から試験研究に適している。これに反して、樹木はこのような育種材料には全く不適當である。樹木が成熟に達するには少なくとも数10年を要することや、樹木が一般の遺伝研究で通常要求されるような多数の個体を生育させるためには大面積の土地を必要とする。かくてわれわれは天然林について遺伝的接近を試みることを放棄せざるを得なかつた。一方、日本における近代産業の発展は都市近郊や山村からきわめて大量の人口

流出をもたらし、このため人工造林を進める労働者は深刻な不足をきたすに至っている。このような情勢のもとに、天然林あるいは労働粗放林業の比重は従来行なわれてきた多労人工林ないし労働集約林業よりも次第に大きな比重をしるに至りつつあると考えられる。したがって、天然林の遺伝学的研究は遅滞なく拡大されるべきであると考えられる。

林木におけるパーオキシダーゼの電気泳動の変異に関する研究が進展して、天然林における家系同定が可能となり、そしてこれらの天然林について量的あるいは生理的形質に関する遺伝的性質を見出しうるに至った。一つの形質が遺伝的であるかどうかは、家系内の親類木がその形質についてお互いに似通っているかどうかで判断される。いい換えれば、林木の効果的な選抜は他の無縁な樹木と比べてその木の家系の構成員を考慮に入れることによつてなされるであろう。そうであれば、母樹の選抜はある与えられた形質がその母樹の親類木の中に見出されるときに確信をもつてなすことができよう。

本研究で興味あることは、近接して生育している林木はパーオキシダーゼ・アイソザイムのパターンが高い似通い度を示すことであつた。かりに実際の森林について明らかにされたとおり環境変異はアイソザイムの表現型に影響を与えないとすれば、遺伝的に近縁な樹木は天然林で群をつくと結論できそうである。母親および父親は子供のアイソザイム・パターンの遺伝にほぼ同程度の貢献をすると期待される。20mないし25mの円型内に生育している樹木間のアイソザイム・パターンにおける高い類似性は、花粉親が同一円形区域内に生育しているに違いないことを示している。万一そうでなくて、つまり花粉は森林のどの樹木からでも自由にやってくるとすれば、そのときは近似したアイソザイム・パターンを示す樹木は20mの範囲内だけでなく、他の離れたところにも見出されるに違いない。もし近親交配がヒバの天然林で一般に行なわれていると仮定すれば、天然ヒバは多かれ少なかれ均一性の傾向を持つてくると考えてよいであろう。

われわれは新しいパラメーターMで家系らしさの度合いを定義づけたわけであるが、これは動物育種の領域でしばしば論じられた真の遺伝力を示す値と種子繁殖した林分および単一クローンから成り立っている林分を比較することによつて推定される広義の遺伝力との中間にあるといえよう。

林木の遺伝力はいろいろの方法で測ることができる。しかしながら、天然林内の樹木は異令的であつて30年生から3000年生までというように多様であるので、そのたいがいの方法は殆んど役に立たないといつてよい。本研究で展開された家系分析法は天然林における量的または生理的形質の遺伝研究に役立つものである。その推定は増川林分ではきわめて成功したが、大畑林分では4つのうち3ないし2はMのよい推定値を得るのに失敗した。現段階ではなぜ推

定が失敗したのかその理由は不明であり、その解答は今後の研究にまたねばならない。

#### (4) 結 論

パーオキシダーゼにおける電気泳動の変異に基づいて、異令の構成をもつ天然林近縁個体が判別しうるようになった。これらの個体はその近縁性によつて幾つかの家系を形成している。アイソザイム・パターンが明確な特徴として用いられる理由としては、(1)アイソザイムは環境条件によつて殆んど影響を受けない(2)近辺に生育している林木は同一性の高いパターンを示し、このことは離れて生育している個体との間では見出されない(3)アイソザイム・パターンが似通っている個体同志の間の外部形態の変異は、任意に選ばれた個体同志間のものと比べると小さいなどである。

ヒバ天然林の個体は多少ともホモザイガスではないかと考えられるが、このことから無作意あるいは他の形式の交配を仮定している動物学者が用いる遺伝力の指定法をとるわけにはいかない。そこで、ここに次式で求められるような家系似通い度あるいは家系内相関を示す  $M$  という新しいパラメーターを定義づけた。

$$M = \frac{\hat{\sigma}_B^2}{\hat{\sigma}_W^2 + \hat{\sigma}_B^2}$$

天然林における家系判別のこの方法は、"家系分析"と名づけた。

#### 要 旨

1. ヒバ天然林から2林分を選び、パーオキシダーゼ同位酵素の電気泳動の変異を調べた。
2. アイソザイム・パターンの似ている個体は半径20~25mの地域内にしか生育していないことが判つた。遺伝的に関係のある個体は近辺に生え、しかも群状をなすと考えられる。
3. よく似たアイソザイム・パターンをもっている個体同志の間でいくつかの外部形質の変異を調べたところ、これらの個体間の形質の分散はきわめて小さく、これらの個体は同一家系の構成員であると考えべきことが判つた。
4. ヒバ天然林の個体は、無作意交配から期待されるよりはるかに homozygous であることが示唆された。
5. 本研究で述べられた"家系分析"技術はわれわれが天然林における生理および量的形質の遺伝分析をとり扱いうるに至つたことを示している。

#### LITERATURE CITED

1. Burley, J., Burrows, P.M., Armitage, F.B. and R.D. Barnes (1966)  
Progeny testing designs for *Pinus patula* in Rhodesia.  
*Silvae Genetica* 15, 166-173.

2. Endo, T.(1968) Indole acetate oxidase of horse-radish plant peroxidase isozymes. Plant and Cell Physiol. 9, 333-341.
3. Hattemer, H.H.(1963) Estimates of heritability published in forest tree breeding research. Proc. Consul. For. Gen. and tree Improvement.FAO. Rome Section 2a/3, 13pp.
4. Namkoong, G., Snyder, E.B. and R.W. Stonecypher(1966) Heritability and gain concepts for evaluating system such as seedling orchards. Silvae Genetica 15, 76-84.
5. Sakai, K.I., Y. Miyazaki and T. Matsuura(1970) Genetic studies in Natural Populations of Forest Trees. I. Genetic variability on the enzymatic level in natural forests of *Thujaopsis dolabrata*. Silvae Genetica (In press).
6. Sakai, K.I., S. Hayashi and K. Tomita(1970) Clone analysis and genetical study of quantitative characters in a natural forest of *Cryptomeria japonica*. Silvae Genetica(In press).
7. Smithies, O.(1955) Zone electrophoresis in starch gels : Group variations in the serum proteins of normal adults. Biochem. J. 61, 629-641.

#### 研究発表

1. Use of Zymography for Identification of A Clone in *Cryptomeria japonica*, (酒井共著), Vol. 51, No. 9, 1969.
2. ヒバ天然林の集団遺伝学的研究, (酒井共著), 育種学雑誌, 19巻, 別冊2, 1969.
3. Genetic Studies in Natural Populations of Forest Trees.  
I. Genetic variability on the enzymatic level in natural forests of *Thujaopsis dolabrata*. (酒井共著) Silvae Genetica( In press)
4. Genetic Studies in Natural Populations of Forest Trees.  
II. Family Analysis : A New Method for Quantitative Genetic Studies.(酒井共著). Silvae Genetica( In press ).