HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	数量分類報による Melilotus 属の解析
Author(s)	佐野, 芳雄; 喜多, 富美治
Citation	北海道大学農学部邦文紀要, 9(4), 286-302
Issue Date	1976-03-31
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/11879
Type	bulletin (article)
File Information	9(4)_p286-302.pdf

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

数量分類法による *Melilotus* 属の解析

佐野芳雄[1]・喜多富美治[2]
(北海道大学農学部作物育種学教室[1]
北海道大学農学部附属農場[2])

Analysis of the genus *Melilotus* by the methods of numerical taxonomy

Yoshio SANO[3] and Fumiji KITA[4]
(Plant Breeding Institute[3] and Agricultural Experiment Farm[4],
Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo, Japan)

Received January 31, 1975

I. 緒　　言

Melilotus 属 (Sweetclover) は地中海から西南アジアに起源したと考えられるマメ科牧草で，ヨーロッパを中心に北アフリカからアジア全般にわたり広く分布している。*Trifolieae* 族に含まれる *Melilotus* 属は *Medicago* 属や *Trigonella* 属に近縁であると考えられ (SUVOROV 1950) 古くより幾人かの分類学者によって分類が試みられてきた。D. SERINGE (1825) 以後，属内の多くの採集植物を供試した総合的な分類体系の確立は SHULZ(1901) の報告が最初である。SHULZ は *Melilotus* 属内に 22 種を認め *Eumelilotus* 亜属と *Micromelilotus* 亜属に大別した。その後も幾人かの分類学者によって 2･3 の種が変更されたけれども大まかには SHULZ の分類が維持されており，現在では形態的相異に加え交雑和合性や隔離機構による関係から約 20 の種に分類されている (SUVOROV 1950, ISELY 1954, SMITH and GORZ 1965, STEVENSON 1969)。しかしながら，STEVENSON (1969) は *Micromelilotus* 亜属に含まれる *M. segetalis* を *M. sulcata* の亜種として報告しており，また *M. elegans* の形態は *Eumelilotus* 亜属に含まれる種に類似することがしばしば認められてきた。このように若干問題のある種もいくつか存在し，さらには亜属間の関係および亜属内の種の相互関係については分類学者によってまちまちであり充分には説明されていない。本報においては，これら種の形態的分化状態をより客観的に解析する目的で数量分類法によって分析を試みた。

数量分類学 (Numerical taxonomy) の根元思想は 18 世紀の MICHEL ADANSON の原理に発すると言われ，電子計算機の発達とともに SOKAL and SNEATH (1963) により急速に発展した (MICHENER and SOKAL 1957, SOKAL and MICHENER 1958, SNEATH 1957, MORISHIMA and OKA 1960, DAGNELIE 1960, ROHLF and SOKAL 1962 etc.)。数量分類法では可能な限り多くの形質をもとにして分類群間の全体的な類似の程度を決めるが，これら諸形質を等しく重みづけることを特徴とし，これによって客観性と予測的価値の高い分類を確立しようとする考え方である。つまり主観的な考えを出来る限り排し異った分類学者でも同じ結果が得られ，さらに新しい形質が導入された場合にも分類体系が大きく変化することのない分類法の確立を目的としている。この方法論に関しては正統分類学からの批判もさまざな形で提起されているが，本報では数量分類法の適用結果と従来からの分類体系さらに著者らが既に行った交雑和合性や種々の隔離機構による種の関連性とを考え合わせ *Melilotus* 属の分類体系に関し総合的に理解することを目的としている。

なお本実験遂行にあたり，数々の御助言および御指導を賜わった北海道大学農学部教授高橋萬右衛門博士ならびに文部教官新関稔氏に対し深甚なる謝意を表するとともに，実際の試験遂行に当って種々御協力を戴いた文部技官渡会萬治・赤川昭爾・飛渡正夫の 3 氏に対しここに記して厚く感謝の意を表する次第である。

II. 材料および方法

供試した系統は 1 年生 14 種 50 系統，2 年生 9 種 37 系

統計87系統である。1年生14種の中には*Micromelilotus* 亜属に含まれるすべての種 (10種) に加え *Eumelilotus* 亜属の4種 (*M. alba, M. dentata, M. officinalis, M. suaveolens*) が含まれる。

形態的分化を数量化する場合に考慮しなければならないことのうち，生育習性とくに1年生と2年生系統間の比較が問題である。すなわち，2年生系統は1年目に栄養生長のみを行い，越冬前に根に多量の養分を貯え次年度旺盛な生育をして開花登熟するため，1年生系統が養分の貯えのない状態で生殖生長に移行することを考える

Table 1. List of characters investigated.

No.	character	unit	remark
1	flowering time	days	
2	period that all flowers on the first raceme bloom	days	
3	no. of flowers on the first raceme		
4	length from the basal flower to the tip on the first raceme	cm	shown in Fig. 1-a
5	the first raceme length	cm	do
6	the basal diameter of the first raceme	mm	do
7	main stem diameter	mm	
8	plant height (23th June)	cm	
9	do (7th July)	cm	
10	do (23th July)	cm	
11	do (6th August)	cm	
12	do (25th August)	cm	
13	no. of internodes till the first raceme		
14	no. of internodes below 0.5 cm		
15	no. of internodes below 1.0 cm		
16	maximum internode length	mm	
17	situation of maximum internode		
18	the first internode length	mm	shown in Fig. 1-b
19	the second internode length	mm	do
20	the third internode length	mm	
21	the 4th internode length	mm	
22	the 5th internode length	mm	
23	the 6th internode length	mm	
24	the 7th internode length	mm	
25	the 8th internode length	mm	
26	the 9th internode length	mm	
27	the 10th internode length	mm	
28	petiole length	mm	shown in Fig. 1-d
29	stalk length of the central leaflet	mm	do
30	the central leaflet length	mm	do
31	the central leaflet width	mm	do
32	situation of maximum width	mm	do
33	the lateral length	mm	do
34	the lateral width	mm	do
35	interval length of dentate teeth	mm	do
36	dentate teeth length	mm	do

No:	character	unit	remark
37	no. of dentate teeth		
38	pollen fertility		transformed to Arcsin $\sqrt{\%}$
39	pollen grain length	micron	
40	pollen grain width	micron	
41	standard length	mm	shown in Fig. 1-c
42	standard width	mm	do
43	wing length	mm	do
44	wing width	mm	do
45	keel length	mm	do
46	kell width	mm	do
47	pedicel length	mm	do
48	calyx length	mm	do
49	pistil length	mm	do
50	stamen length	mm	do
51	calyx width	mm	do
52	length between anther and stigma	mm	do
53	calyx teeth length	mm	do
54	pod length	mm	
55	pod width	mm	
56	seed length	mm	
57	seed width	mm	
58	no. of seeds per pod		
59	weight of 10 grains	mg	
60	seed fertility made not tripping		transformed to Arcsin $\sqrt{\%}$
61	seed fertility made tripping by hands		do
62	no. of flowers that bloom in a day		3/2*
63	density of flowers		3/4
64	raceme shape		5/4×100
65	relative length of petiole		28/30×100
66	relative length of the central leaflet stalk		29/30×100
67	leaflet shape 1		31/30×100
68	leaflet shape 2		32/30×100
69	sharpness of dentate teeth		36/35×100
70	density of dentate teeth		37/30×100
71	relative length of wing		43/41×100
72	relative length of keel		45/41×100
73	pod shape		54/55×100
74	seed shape		56/57×100
75	relative length of pod/seed		54/56×100
76	no. of stems		
77	no. of internodes above the first raceme		

*; character 3 divided by character 2

と，直接に比較を行うことは極めて困難であるからである。形態的分化として調査される形質は，生育後期の生殖器官がかなり大きな比重をしめるので，本実験では，1年生系統と2年生系統とに分けて，それぞれの中で系統間の関係を明らかにする方が望ましいと考えた。さらに2年生系統間の比較を行う場合，越冬性の及ぼす次年度への影響は明らかに種あるいは系統によって異ると考えられたので，その系統のもつ遺伝的差異を明らかにするためには，各系統が充分な遺伝的表現を発揮し得る条件で調査することが望ましい。本実験では，2年生系統の栽培に際し，長日処理（24時間照明）を行い，1年目にて各系統が生育を完了出来る条件にして調査した。但し1年生系統においては，自然日長で栽培した。詳しくは後述するが，数量分類法の基本的概念より長日条件という自然とは異った特殊な環境ではあるが，ある一定の環境において発現する顕著な形態上の差異は終局的には

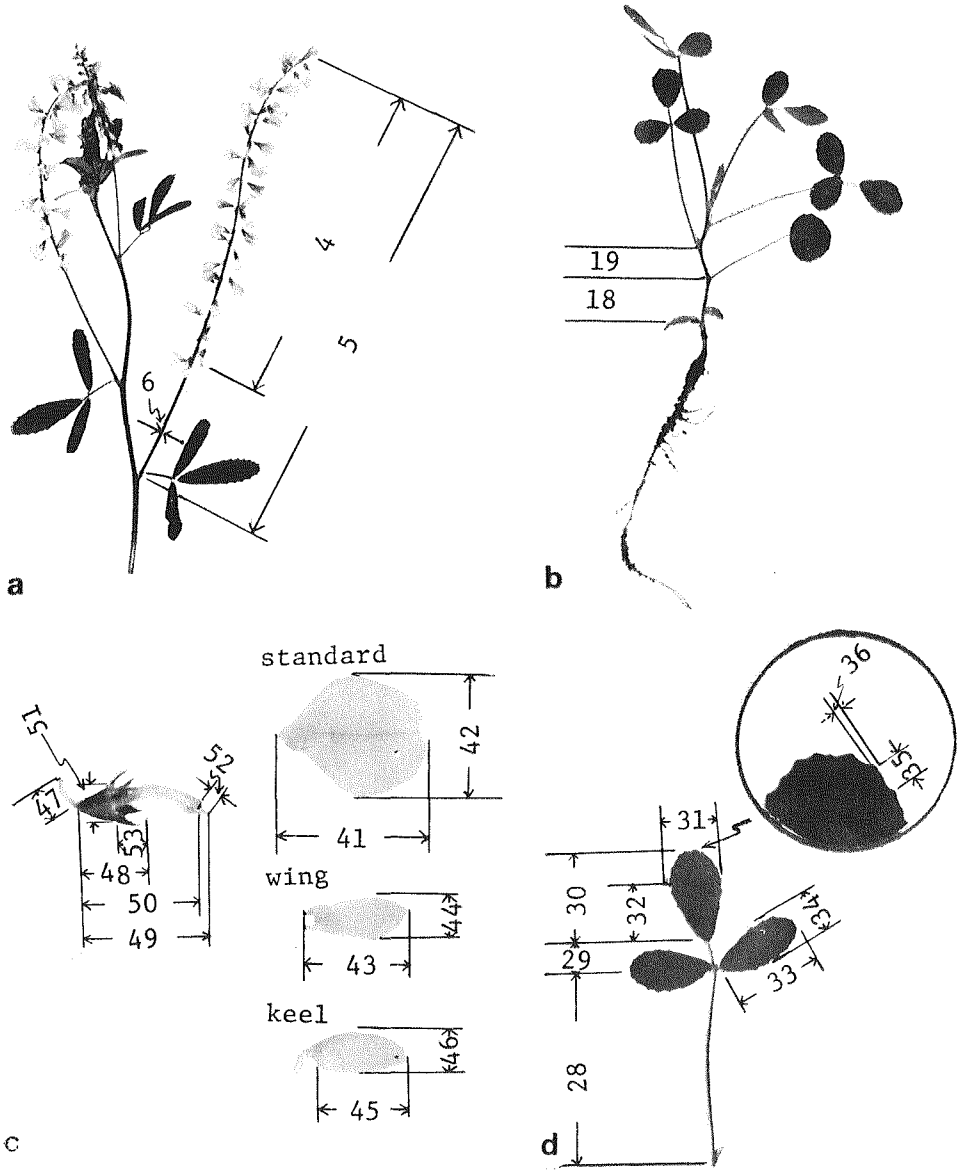

Fig. 1. Explanation of some characters investigated.
a. racemes b. a seedling c. a flower d. leaflets

遺伝的差異あるいは遺伝的分化を反映するものであるとの仮定にたって実験を計画した。栽培方法は実験精度を増す目的で鉢に個体植えとし，5個体2反復で調査は5個体の中から4個体を選んで行った。調査形質は一括してTable 1およびFig. 1に表示したが，生育全般にわたる量的形質で，かつ測定可能な出来る限り多くの形質という目標で行った。また特定の形質に調査が集中するということのないように考慮した。但し形質によっては観察数に若干の違いがあり，個体当りのサンプル数にも若干の違いがある。この場合，残った質的形質に関しては問題が残るが，例えば着色形質については花色を除いて概して個体間の変異が大きく数量化は困難であったが，他の形質については出来る限り数量化をとおして形態の差を表示しようと試みた。

相同な器官が種あるいは系統により存在しないといった形質でない限り，調査方法さえ考慮すれば量的形質として把えられ得ると考えた。また相同器官の有無にしても，1例は節間長であるが，この場合節間数の変異が大きく，かなり調査は困難であるが，節間長の変異のパターンの概略が理解出来れば全体的な比較は可能と考えた。つまりSweetcloverの各系統はいずれも下部節間より上部の節間にいくに従い，その長さを増し，一定の長さの節間が続いた後に再び長さが次第に減少するというパターンが見られたので，下部のいくつかの節間長，最大節間長節位および節間数について差を表示すれば，大まかな系統間の差を表現することが出来そうであった。また花の構造の比較でも生育日数が種あるいは系統により著しく異り，一定の時期にすべての系統を調査することは出来ない。植物の生育を調査する場合，発芽後の初期生育や草丈等に関して異った生育パターンを示す種間でもその差を比較することは容易に出来るけれども，一方，生殖器官等に関しては一定の生殖時期，つまり生育旺盛な開花初期に調査することによって各種の形態的差異を比較することが可能である。このように形質の比較は場合によって極めて困難な場合が少なからず存在する。従って，逆に調査形質を出来る限り増して，1つの形質に対する重みを少なくする必要がここにも考えられる。

以上のごとくして得られた形質を数量分類法の基礎概念の1つ，すなわち従来極めて主観的に決定されてきたkey characterのような形質に対する重みづけを排するという考えのもとに，形質ごとにまず規準化した。それよりSOKALら(1963)の方法に従って，まずクラスター分析(weighted variable group method)を行った。この方法は，相関の高いものから次々と順にクラスターを作成していくもので，qおよびQ個の群間の相関係数r_{qQ}は$r_{qQ}=\frac{\square qQ}{\sqrt{q+2\triangle q}\sqrt{Q+2\triangle Q}}$で与えられる。但し，$\square qQ$は2つの群の1つずつのメンバー間の相関係数の和，$\triangle q$および$\triangle Q$はそれぞれの群内のメンバー間の相関係数の和を示す。主成分分析は，互いに相関のある多数の観察値から，互いに無相関な少数個の総合特性値に要約することを目的としたものである。m個の主成分を求める係数$\{l_{ki}\}$$(k=1,2,\cdots,m;\ i=1,2,\cdots,p)$はもとの相関行列$\boldsymbol{R}$の固有方程式$f(\lambda)=|\boldsymbol{V}-\lambda\boldsymbol{I}|$のうち，とくに$f(\lambda)=0$の根として求めた固有値を大きい方から順に$m$個$(\lambda_1\geqq\lambda_2\geqq\cdots\geqq\lambda_m)$とり，対応する固有ベクトル$(\boldsymbol{a}_i;\ i=1,2,\cdots,p)$を充当すればよい。因子分析では，主成分分析とは異り共通な因子というものを仮想する。残差を特殊性あるいは誤差として取り扱うので，共通性(communality)の推定が最も困難なことの1つである。因子分析には種々の方法があるが，本報では，主として極めて客観的かつ便利な逐次セントロイド法(Itarative centroid method)を適用した。セントロイド法は主成分分析と若干異なり，主成分分析が因子負荷の平方和$\sum_i a_{ik}^2$を最大にする解であるのに対し，セントロイド法では，因子負荷の絶対値の和を最大ならしめる近似解である。さらに逐次セントロイド法では，計算された因子負荷より$h_j^2=\sum_{p=1}^{m}a_{jp}^2$として共通性を推定しなおし，この値が収束するまで反復計算する。そして抽出された分散が共通性の和を越える時，因子の抽出をやめる。従ってこの方法では，もっとも少ない数の因子で相関行列を説明するため共通性をいかなる値にすべきかをも同時に決めることが出来る。

得られた因子負荷は種々の変換を行ない，単純構造にすることによって解析した。直交回転では求める因子がそれぞれ独立であるという条件のもとで，回転後の因子負荷を$b_{jp}$$(j=1,2,\cdots,n;\ p=1,2,\cdots,m)$としたとき次のオーソマックス基準を最大とする解である。

$$U=\sum_{p=1}^{m}\sum_{j=1}^{n}b_{jp}^4-\frac{\omega}{n}\sum_{p=1}^{m}\left(\sum_{j=1}^{n}b_{jp}^2\right)^2$$

ここで$\omega=1.0$ならばバリマックス解であり，$\omega=0.0$ならコーティマックス解である。両者は極めて似た解となるが，一般にバリマックス解の方が分散をよく均一化する。さらに，求める因子が独立という条件を取ることによって斜交回転解が同じようにある基準を最小にするという条件のもとに求めることが出来る。ここではバイクォーティミン法を用いて斜交回転解を求めた(CARROL 1957, SEAL 1964, ROHLF and SOKAL 1962 etc.)。

なお，ここに報告するすべての計算は，北海道大学大型計算機センターにおいて行ったものである。

III. 実験結果

1. 2年生系統について

調査した75形質について，まず分散分析を行い，種間差あるいは系統間差を検討したところ，多くの形質において，種間・系統間ともに高い有意差が見い出された(Table 2)。種間に差の見られない形質は茎の太さ，草丈(後期)や節間に関するものが目立ち，このことは栄養生長時の形質は生殖器官に比べ，種間差がはっきりしないことを示唆すると考えられた。系統間に差のない形質は花粉稔性，花粉の長径・短径の3形質のみでほとんどの形質に関し種内に大きな変異が蓄えられていると思われる。またブロック間に差のあった形質は46形質中11形質であり，系統間差を問題にする場合，もっと個体数を増す必要も考えられた。さらに，分散分析の結果からは，種の関連性を論じる場合多くの系統あるいは多くの調査形質を用いた方がより重要であろうと考えられた。系統間に差の見られなかった3形質については，ともに種間には差が認められ，とくに花粉の大きさが種により一定であることは種内に遺伝的障害のないこと，および自由

Table 2. Variance analysis for 75 characters investigated in biennial strains.

factor	character														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
block	ns	ns	ns	ns	ns	ns	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
interspecies	**	**	**	*	*	*	ns	*	*	*	ns	ns	**	**	*
intraspecies	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**

factor	character														
	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
block	ns	ns	ns	ns	*	*	ns	ns	ns	ns	**	*	**	ns	*
interspecies	ns	ns	ns	*	ns	*	*	*	*	*	*	ns	**	**	**
intraspecies	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**

factor	character														
	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
block	**	ns	**	**	ns	ns	ns	—	—	—	—	—	—	—	—
interspecies	**	**	**	*	ns	**	**	*	**	**	**	**	**	**	**
intraspecies	**	**	**	**	*	**	**	ns	ns	ns	**	**	**	**	**

factor	character														
	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
block	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
interspecies	**	**	**	**	**	**	ns	**	**	**	**	**	ns	*	**
intraspecies	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	—

factor	character														
	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
block	—	ns	ns	ns	ns	ns	**	ns	ns	**	—	—	—	—	—
interspecies	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
intraspecies	—	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	—	—	—

ns; non-significant
*, **; significant at 5% and 1% levels, respectively

な遺伝子の交流と密接に関係していると考えられる。調査した75形質は，生育全般にわたる形態を表示するよう心がけたが，とくに測定しやすい形質というものが一部の形質群に高い相関をもつものを多く含んでいる可能性をみるため，いわゆるR技法とよばれる形質間相関行列（75×75）からの主成分分析によって抽出した4つの因子（累積寄与率64.7%）によって，形質間の関連性を検討した。4つの因子による各形質の散布図より，もし特に関連ある形質が多く調査されていると，その形質群がクラスターを形成するが，この分析方法からはそのような危険性は少なくともないと考えられた。ただ測定可能な多くの形質が，各系統の遺伝的背景を充分に反映するものかどうかの疑問は常に残る。以上のことから，一応75形質すべてより，系統間および種間の関連性を解析することが必要であろうと考えられた。

次にこれら形質の系統平均値を形質ごとに規準化し，すべての形質の重みを等しくおき，系統間相関行列（37×37）を求めた。この相関行列から同一の種内に含まれる

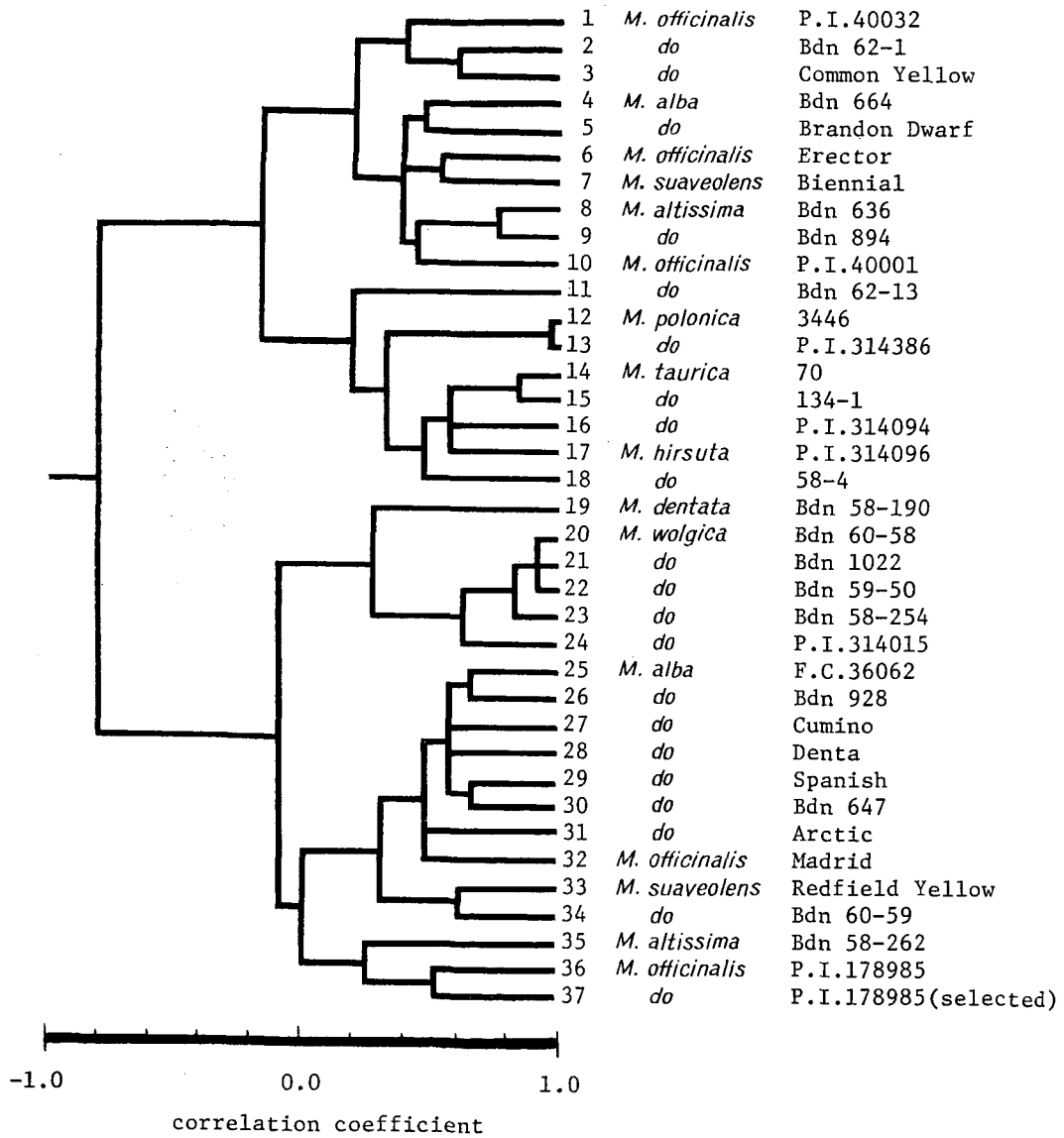

Fig. 2. Phenogram of biennial strains of the subgenus *Eumelilotus* based on the WVGM clustering procedure of 75 characters.

系統間の相関は他の種の系統に比べ高い傾向が見られたが，*M. officinalis* や *M. alba* の種内の系統間にはかなり低い相関を示すものも含まれ，種間の差を比較する上で1つの種から1つの系統を代表させることは極めて困難であるようであった。これら系統間の大まかな関係については，クラスター分析 (WVGM) の結果によく表われた (Fig. 2)。この分析では，高い相関のもとでクラスターが形成される程良く類似していると考えられるが，種が明瞭に他の種と区別しうるものは *M. polonica*, *M. dentata*, *M. wolgica* の3種のみであり，残りの種では同一の種に分類されている系統間の類似度が，お互いに高いものばかりであるとは限らなかった。中でも *M. officinalis* は各系統が極めて多岐にわたっており，他の色々な種に類似する系統を多く含んでいると思われた。また，*M. alba*, *M. altissima*, *M. suaveolens* も種内の系統が大きく分岐していた。このことは，このクラスター分析によって，従来種として分類されてきたものをクラスターに出来なかったことを示している。さらに上のような結果にともなって，クラスター間の相関のレベルが極めて低いことも注目された。

主観的・経験的な試行錯誤の結果導き出された key character によってはっきりと分類出来る種というものは，交雑不和合性や他の隔離機構の関係からも妥当性を得ているので，これらの種がこの方法によって認識出来ないことは極めて重要なことであり，次にこの原因について因子分析によってより詳しく系統間の関係を解析した。因子分析では多次元の観測ベクトルを少数の次元のベクトルで説明しようとする際に，共通性と共通因子数を仮想する。この方法では，共通な軸によって説明出来る要因のみを考え，残りは特殊性として取扱う。まず第1に問題ある点は共通因子数を決定する方法であり，さらには共通性の推定方法である。後述するように今のところ，これらに対する数理的かつ現実的な検定方法は無いので，便宜的な多くの解法が考案されている。逐次セントロイド法では因子抽出の基準としての非対角成分の平均平方の値を変動させることによって，因子数を増減させることが出来る。HORST (1965) は，この基準の値として観察数の逆数を用いることを一つの目安にしている。主成分分析における固有値の変動や，種々のことを考慮して逐次セントロイド法により因子抽出の基準の値に観察数の逆数に近い 0.01 を代入することによって，抽出された4つの因子（累積寄与率 52.2%）が適当であろうと考えた。4つ以上の多くの因子を抽出した場合，特定の系統の特殊な分化を表わす軸としてしか理解出来ないものが表われ，種間の関係を論ずる上では4つ位の因子数で考慮するのが適当であろうと考えられた。逐次セントロイド法によって抽出された因子は，まずバイクォーティミン法によって単純構造にするため斜交回転した。しかしながら，得られた因子間の相関は Table 3 のごとく，いずれも極めて低く解釈の容易さを考慮してクォーティマックス法によって直交回転を行った。回転後の因子負荷によって，各系統を散布すると Fig. 3 のごとくになった。この図より明らかなごとく，第 I 因子および第 II 因子は良く種を分散させている。すなわち，第 I 因子では，*M. polonica* が他の種より高い負の因子負荷をもち，*M. hirsuta*, *M. taurica* も残りの種からは区別されるようであった。第 II 因子では *M. wolgica* と *M. dentata* が他の種よりも高い負の因子負荷をもち，明瞭に他の種から区別された。第 I および第 II 因子からは *M. officinalis* と *M. alba* の間，*M. officinalis*, *M. suaveolens*, *M. altissima* の間，および *M. hirsuta*, *M. taurica* の間で類似性が示されたが，比較的同一種内の系統は似た因子負荷を持つと思われた。しかしながら，第 III および第 IV 因子からは種を区別出来るような解釈は出来なかった。つまり，*M. officinalis* と *M. alba* の種内の系統が極めて良く分散し，他の種の系統はそれら2種の変異の中に含有されるようであった。この関係を因子分析よりも，もっと客観的な手法である主成分分析によって調べるため，4つの主成分を抽出後バリマッ

Table 3. Factor correlation matrices obtained by itarative centroid method with oblique rotation.

biennial strains

factor	I	II	III	IV
I	1.000			
II	0.089	1.000		
III	−0.217	0.228	1.000	
IV	0.064	−0.122	−0.221	1.000

annual strains

factor	I	II	III	IV
I	1.000			
II	0.105	1.000		
III	−0.310	−0.008	1.000	
IV	0.039	0.117	0.060	1.000

クス法によって直交回転を行った。第Ⅰおよび第Ⅱ主成分からは，因子分析の結果程明瞭ではないが，種がよく分散する似たような散布図が得られ (Fig. 4)，第Ⅲおよび第Ⅳ主成分については，*M. officinalis* と *M. alba* の種内の系統が極めて顕著に分散することを強調していた。以上のことから，クラスター分析で種内のいくつかの系統が大きく分岐した原因が，因子分析における第Ⅲおよび第Ⅳ因子に表われたような *M. officinalis* と *M. alba* の大きな種内変異によって乱されたものと解釈される。次に，各因子の意味づけを行うべく因子スコアを算出したが，形質数が75にも及ぶため，特定の意味づけをすることは極めて困難であった。しかし，各系統の散布状態より判断する限り，第Ⅰと第Ⅱ因子は種の分化に寄与したと思われる変動軸であり，一方第Ⅲと第Ⅳ

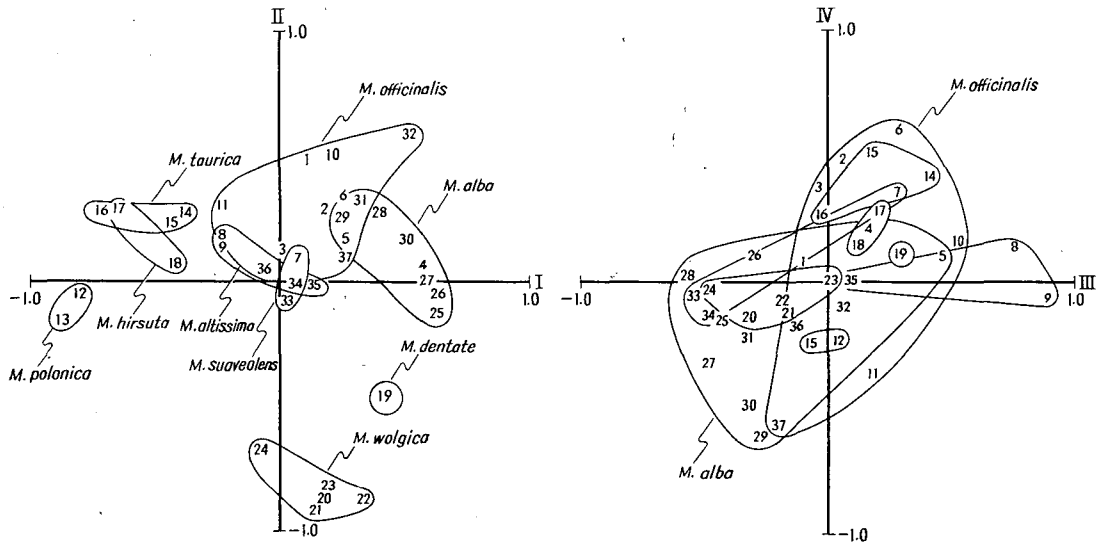

Fig. 3. Biennial strains of the subgenus *Eumelilotus* scattered by the first four vectors obtained from factor analysis with orthogonal rotation.

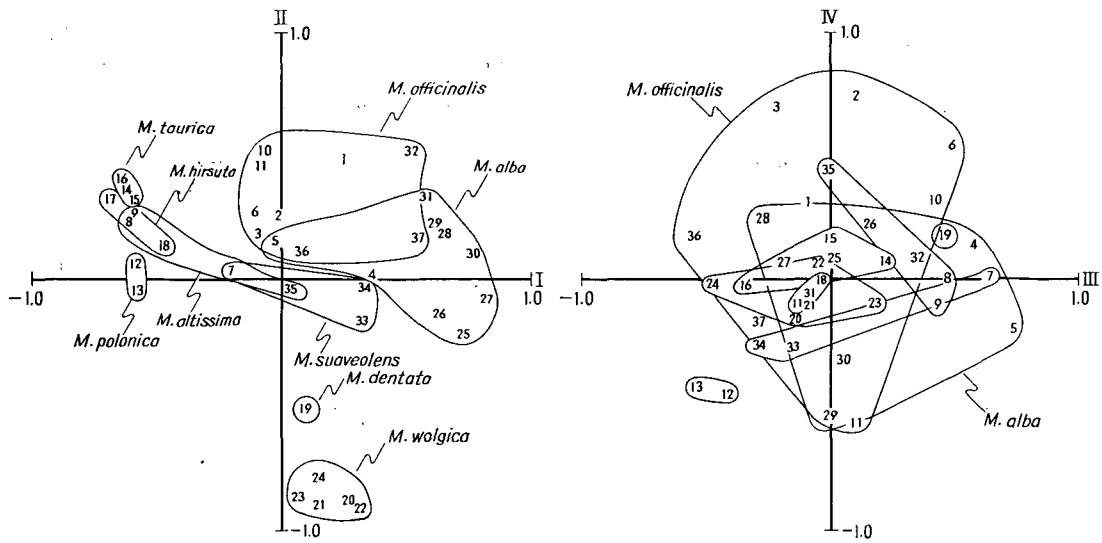

Fig. 4. Biennial strains of the subgenus *Eumelilotus* scattered by the first four vectors obtained from principal component analysis with orthogonal rotation.

因子は，種の分化にはあまり寄与しなかったと思われる変動軸として理解出来よう。このことは因子スコアからも第III および第IV 因子に対する高い因子スコアをもつものに，種間の差がないような形質，例えば各節間長等が含まれていることからも推察された。

2. 1年生系統について

供試した1年生50系統は *Micromelilotus* 亜属10種と *Eumelilotus* 亜属4種に分類されているものである。これら系統間の差異を表わすべく形質に関しては，前述の2年生系統間の比較よりも困難であった。まず，いくらかの種においてはある特定の相同器官が特異的に分化していることである。とくに節間数に関しての著しい差異は，それらの形質の比較を困難にした。例えば，下部の節間が全く伸長しない系統と節間数の著しく少ない系統とでは，正確な比較は出来なくなる。よってこの場合は，一応下部のいくつかの節間長・非伸長節間数・最大節間長・最大節間長節位・最初の花序迄の節間数およびそれより上部の伸長節間数を調査した。さらに種によっては，著しく草型の異なることが観察されたが，非伸長節間数の多い種は分枝の発達がよく，草型の相異を関接的に表現出来るであろうと考えられた。調査は生育全般にわたる計68形質に及んだ。

Table 4. Variance analysis for 68 characters investigated in annual strains.

factor	character														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
block	ns	ns	ns	*	**	*	**	**	**	**	**	**	ns	ns	*
interspecies	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
intraspecies	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**

factor	character														
	16	17	20	21	22	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37
block	**	ns	ns	*	**	ns	**	**	ns	**	*	ns	ns	ns	ns
interspecies	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
intraspecies	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**

factor	character														
	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	54
block	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
interspecies	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
intraspecies	ns	ns	ns	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**

factor	character														
	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69
block	—	—	—	—	—	—	—	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
interspecies	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
intraspecies	**	**	**	ns	—	—	**	**	**	**	**	**	**	**	**

factor	character							
	70	71	72	73	74	75	76	77
block	ns	—	—	—	—	—	ns	*
interspecies	**	**	**	**	**	**	**	**
intraspecies	**	**	**	—	—	—	**	**

ns; non-significant
*, **; significant at 5% and 1% levels, respectively

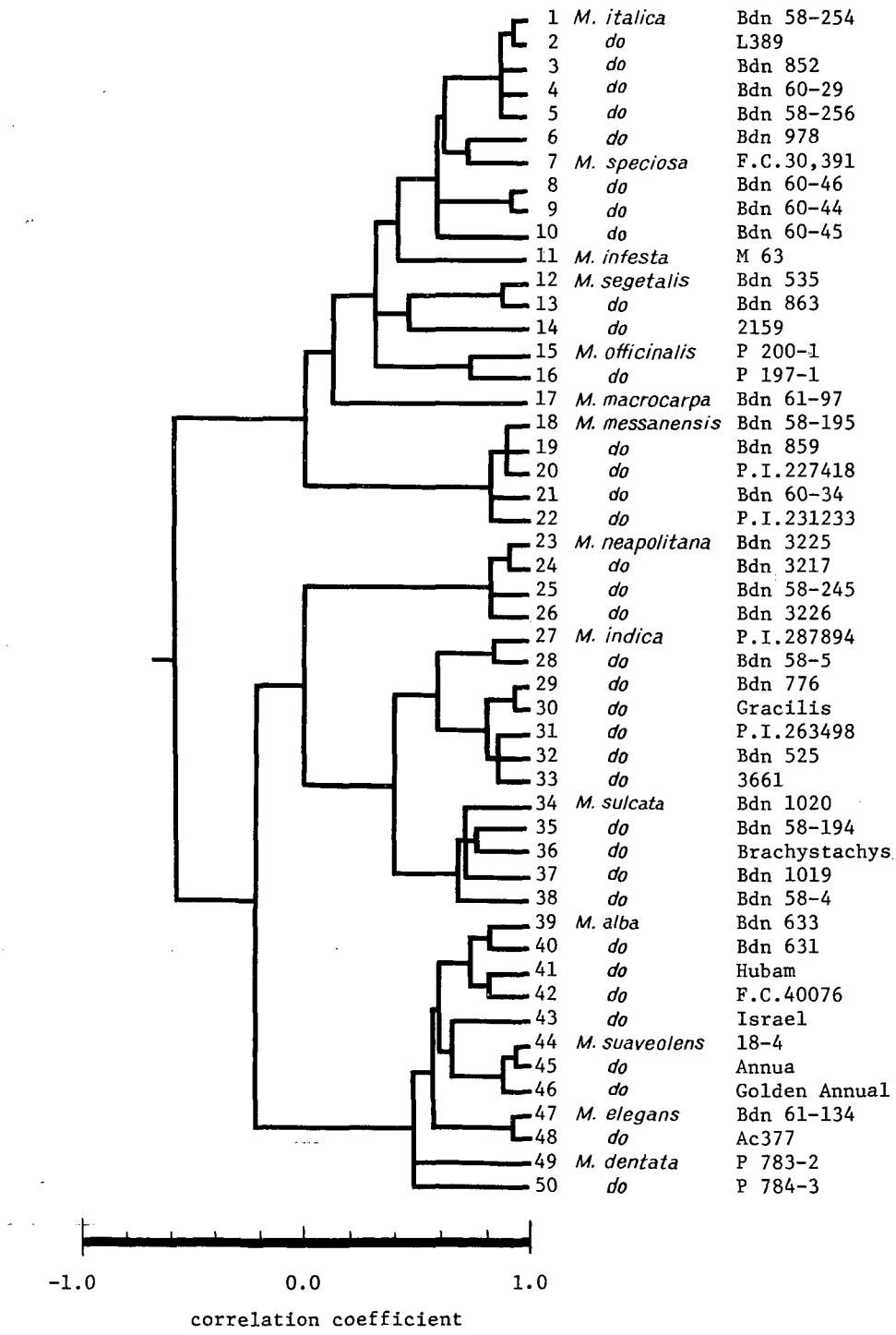

Fig. 5. Phenogram of annual strains of the genus *Melilotus* based on the WVGM clustering procedure of 68 characters.

すべての形質についてまず分散分析を行ったところ，ほとんどの形質において，種間・系統間共に有意差が認められた。花粉稔性・花粉の長径・短径および葯と柱頭との間の距離では種間には差が見られたが，系統間には差が認められなかった。花粉の形については2年生系統と同じ結果が得られ，この形質は倍数体が含まれる植物群の間における key character となる場合が多いが，同じ2倍体の種間にもこのようにはっきりと差異の出現することは極めて興味がもたれる。ブロック間における差異も2年生系統においてと同様かなりの形質で有意差が認められた (Table 4)。さらに，R技法により形質間の相関関係を見るため，主成分分析によって抽出した4つの因子 (累積寄与率62.2%) より考察した限りでは，特定の関連ある形質を多く抽出した形跡はないと考えられた。以上のことから，68形質すべてを用いて以下の分析を進めた。

Q技法に従って，系統間相関行列 (50×50) を求め，WVGMによりクラスター分析を行った (Fig. 5)。その結果，2年生系統間の分析とは異なり，いずれの種においても，同一の種内に含まれる系統は極めて高いレベルのもとによくクラスターを形成することが特徴的であった。とくに *M. messanensis*, *M. neapolitana*, *M. indica*, *M. sulcata*, *M. suaveolens* および *M. elegans* は他の種とは形態上極めて分化していると想像された。*Micromelilotus* 亜属内には，分類上若干問題のある種が存在することは既に述べた。*M. segetalis* は *M. sulcata* の亜種として分類されている報告もあるが，本法でははっきりと形態上分化しているようであった。また，*M. elegans* はその形態が *Eumelilotns* 亜属の種に類似することも既に報告されてきたが，*M. alba* や *M. suaveolens* と極めて類似すると考えられた。またこの分析で注目されるのは，形態的分化による類似性の観点から *Eumelilotus* 亜属に含まれる種を *Micromelilotus* 亜属の種より識別出来なかったことである。すなわち，*Eumelilotus* 亜属に含まれる *M. officinalis* が *M. segetalis*, *M. infesta*, *M. italica* および *M. spesiosa* によく類似すると思われることから，この2つの亜属への分類というものは極めて便宜的なものと考えられ，さらにより系統発生を反映する新しい解釈をする必要のあることが示唆された。これらの関係をより詳細に分析するため，逐次セントロイド法により4つの因子を抽出した。抽出した因子は，まず斜交回転を行ない，単純構造へと変換されたが，得られた因子はいずれもほぼ直交していたので (Table 3)，コーティマックス法により直交回転しその結果を Fig. 6 に図示した。累積寄与率は61.0% であったが，第Iと第II因子で，全分散のおよそ半分近い分散を示した。第Iと第IIの因子は14種に極めてよく分散させ，さらに第III因子は *M. neapolitana* をまた第IV因子は *M. italica*, *M. spesiosa*, *M. indica* の3種を他の種からよく分離した。これら因子軸の意味づけは因子スコアを求めたが複雑であり簡単な形質群の分化として説明出来ないが，いずれの軸も種の形態的分化を反映するものと思われた。

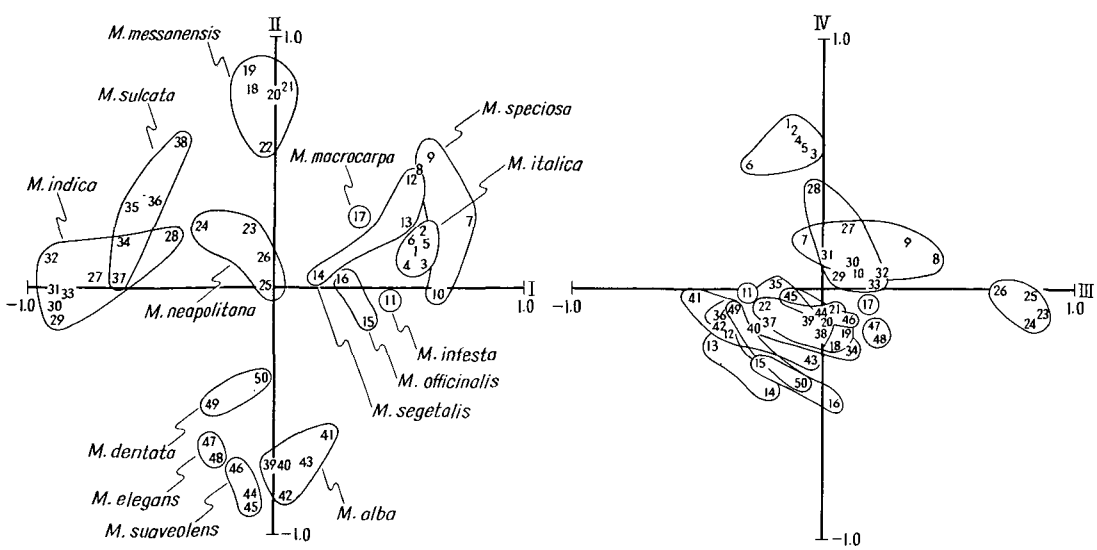

Fig. 6. Annual strains of the genus *Melilotus* scattered by the first four vectors obtained from factor analysis with orthogonal rotation.

3. 他殖性について

系統の分化を考慮する場合の重要な要因の1つに，他殖性があげられる。他殖率の推定は厳密には非常に困難である。特定の marker gene の分離より推定する方法や，分散分析より推定する方法等があるが，いずれにしても周囲の生物相や環境による変異および個体間差等が存在し，容易には推定されない。さらに多くの系統の他殖率が問題となる場合には，もっと簡易な方法がなければ有効ではない。Sweetclover では *Trifollium* 属や *Medicago* 属のように，他殖は主として自家不和合性の存在のもとに蜜蜂等による昆虫の媒介によってなされることから (BRINK 1934, SANDAL and JOHNSON 1953)，昆虫により隔離した状態および手でトリッピングした時の種子稔率より，自家不和合性の強弱や自殖の難易度が相対的に比較出来る。蜜蜂が充分に飛来する自然状態における各系統の種子稔性は，実験設計の困難さから充分な資料は得られなかったが，経験的にはいずれの種もかなり高い種子稔率を示す。とくに，自家不和合性の強い *M. officinalis* の各系統でさえ，自然状態では極めて高い種子稔率を示した。ハウス内で実際に交配していくつ

Table 5. Frequency of bees visiting a flowering plant and its variance analysis.

species		mean
M. alba	Bdn 647	5.042
M. altissima	Bdn 894	2.143
M. dentata	Ben 58-190	0.225
M. hirsuta	P. I. 314096	7.000
M. officinalis	P. I. 40001	7.417
M. polonica	P. I. 314086	1.143
M. suaveolens	Redfield Yellow	0.333
M. taurica	70	3.164
M. wolgica	Bdn 58-254	0.400

Variance analysis (transformed to $\sqrt{x+1}$)

factor	d.f.	variance	m.s.
total	170	99.6264	
species	8	52.7166	6.5896**
error	162	46.9098	0.2896

**; significant at 1% level

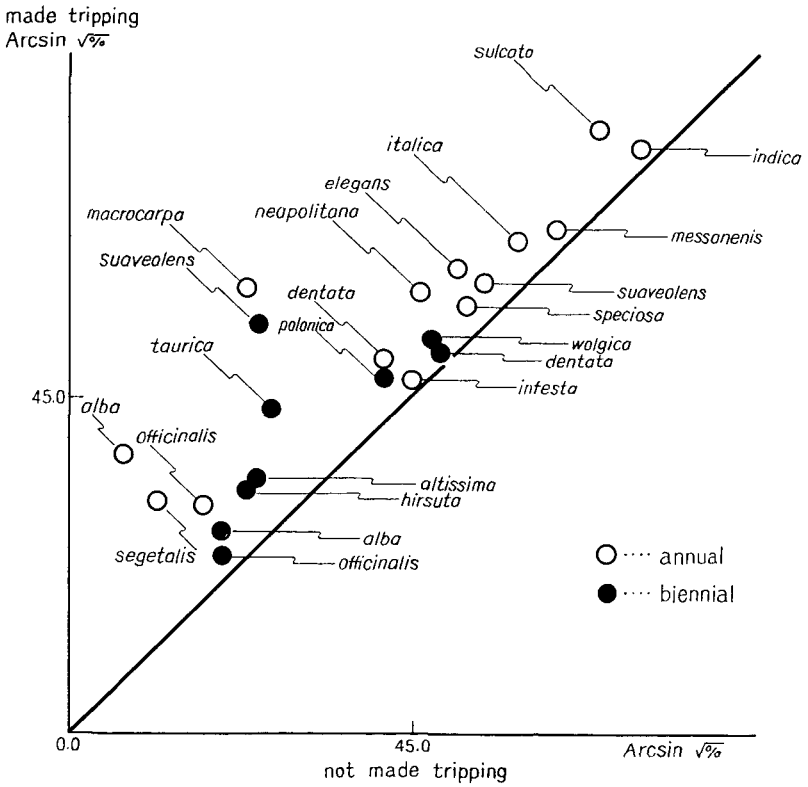

Fig. 7. Pod setting of species of the genus *Melilotus*.

かの種内で系統間雑種を作成したところ，*M. officinalis* でさえ約60%の種子稔率を示し，いずれの種でも極めて種子稔率は高かった。以上のことからも，他殖は主として自家不和合性の存在のもとで達成されるものと推察された。上述した2種の種子稔率からの自殖の難易度の推定が妥当かどうかを見る目的で，2年生系統について圃場での栽培条件で，蜜蜂の飛来頻度を合わせて調査した。調査は晴天・無風の日に時間を決めて1分間に訪花している数を飛来頻度とした。開花期が，種により多少異なるため調査は数回行った。Table 5に示されているように，種によって明らかに飛来頻度は異なり，統計的にも有意差が認められた。この飛来頻度と前述の蜜蜂から隔離した場合，および手でトリッピングした場合の種子稔率との関係を調べたところ，相関係数 −0.703 および −0.886 で，それぞれ5%と1%水準で有意であった (d.f.=7)。このことは，種子稔率より推定された他殖しやすいと思われる種が，極めて蜜蜂の飛来頻度の高いことから，実際にも昆虫の媒介によって他殖するものと思われる。この2種の種子稔率の値で，種の特性を図示したものがFig. 7である。縦軸は手でトリッピングした場合の種子稔率を表わすので，各々の種は斜線より高く位置するものはトリッピングさえすれば良く自家受粉することを示し，これらの種も昆虫によって運ばれる他の植物の花粉の飛来が遅延し，さらに少数であろうことを考えると，実際には高い自殖率をもつものと推察される。花器の構造には種間で著しい差のあることを考えると，その原因は花器の構造上のものであろうと考えられた。この図より明らかなごとく，*M. officinalis*, *M. alba*, *M. segetalis* を除く1年生の各種は2年生の種に比し極めて高い自殖率をもっと考えられる。そして，この3種は他の1年生の種に較べはるかに他殖的であると考えられることと，これらの種がいずれも形態的に多型であると考えられていること (STEVENSON, 1969) とよく一致した。また2年生の種の中では *M. officinalis*, *M. alba* は変異の大きな種と考えられてきたが，この2種も極めて他殖的であることが明らかであった。さらに，*M. alba* はトリッピングさえすればかなり稔性が回復することも今迄の経験的な評価と一致した。このことは，元来他殖的な系統が，まず自家不和合性をなくし，さらに昆虫の媒介しない状態において自殖可能な系統へと分化する方向性を示すものとして興味がもたれた。

IV. 考　　察

数量化によって生物を分類しようとする試みは極めて古くよりなされてきたが，数量分類学の理論的発展は，SOKAL・MICHENER 一派と SNEATH 一派によって独自に展開され，電子計算機の普及改良とともに急速に発展しつつある。形態分化の著しい昆虫や標本数の少ない化石に出現する古生物，微生物および高等動植物等多くの生物に適用されてきた (SOKAL and SNEATH 1963)。数量分類学の大きな功績の1つは，今迄の分類学が類型学から集団を単位とした系統分類へと進行してきた現状に対し，多くの反省と理論的考察を促したことであり，自然分類というものをより総合的に理解する必要を解いたことと考えられる。しかしながら，数量分類学が多くの批判や非難を浴びてきたことも事実である (MAYR 1965, SIMPSON 1964 etc.)。

著者らは，分類単位間の相異あるいは類似性の関係を追求するという立場にたって，現状では少なくとも次のような数量分類学の概念を認めざるを得ないと考えている。元来の分類は，多くの分類単位を特定の key character によってどれ丈合理的にその差を表わし，また合理的に区別するかであったと思われるが，分類単位間の関連性において，どれ程類似しているかを示す指標としては，元来の key character 丈では不充分であろうと思える。分類単位間の全体的な遺伝的差異の程度によって分類するという立場から，特定の形質に重みをかけるという key character の認識より，さらに特定の形質には多くの遺伝因子が関与することを仮定しなければならない。しかしながら，量的な形質を扱う限り，その遺伝因子の数を類推することは，ことに遠縁の分類単位間では不可能に近い。従って，現段階では一応各形質の重みを同一化して，形質を多く調査することによって，真の遺伝的差異の関連性を求めようとする方法は確率的にもより誤まりが少ないと言える。遺伝的差異を表わす指標としては，タンパク質やアミノ酸の相異，さらに遺伝子の1次産物であるアイソザイムによる相異をみるといった方法も発展しているが，生育全般に渡る多くの数を扱える利点を考えると，一定環境のもとでの形質の差異が，複雑な相互作用を有しながらも遺伝的差異を表現するものであるという仮定のもとでは，形態的差異による適用が最も有利であろう。

調査形質に関する妥当性の検討も重要であるが，分散分析の結果からほとんどの形質で種間あるいは系統間に差が見られ，多くの系統を扱う限り変異を示さない形質はないとさえ思われる。また，形質間の相関関係からは本報で扱った形質は無作為に抽出されたものと見てよいと考えられる。

1年生および2年生系統間に関するクラスター分析の結果は極めて対称的であった。つまり，1年生系統間の分析では，分類学者によって従来より同一の種に含まれてきた系統は極めて高いレベルで，よくクラスターを形成しており，形態上著しく分化していると思われた。しかしながら，2年生系統間におけるクラスター分析からは，系統間および種間の関係がはっきりと理解出来なかった。それ故2年生系統間については逐次セントロイド法の他に，種々の因子分析を試みた。因子分析においてセントロイド法は多用されてきた方法であるが，あくまで求めるモデルの近似解である。現在では既に若干の問題を残しながらも，新しい方法が発展している。そのうちLAWLEYによる因子負荷行列および残差行列の最尤推定による解を適用してみた。この方法ではBARTLETTによる因子数に関する漸近的なχ^2検定も行うことが出来る。この方法によって解を求めたところ，因子数15個を抽出した時でさえ，因子数の検定は極めて有意であったため，純粋に統計的な方法で共通因子数を決定することは実際的でないと考える一方，次に線型模型や分布型が問題であるかも知れない危険性を考慮した。形質によっては，形質間の関連が直線的でないものも若干みられ，この歪みは主として正規性からの歪みが原因しているように考えられた。従って，種々の変換によって正規性を満足するようにした後，前述のLAWLEYの方法で因子負荷行列を最尤推定し，因子数の検討をしたところ，ほとんど同じ結果となった。このことから，この方法で因子数が多く推定される原因が多変量正規分布や線型模型からの歪みが原因するのではなく，分析者が期待する各系統の特殊成分をも，共通因子に含めるからと考えられる。また，相関行列の対角成分に共通性として，重相関係数の逆数を代入したとき8つの因子が抽出されたが，この場合も因子の解釈からは明らかに多くの因子を抽出し過ぎていると考えざるを得なかった。このように現実的には主成分分析等によって共通因子がいくつ位であるのかを資料から求めようとする内容によって判断するのが最も適当であろうと思われる。その場合も，より客観的視野に立って，試行錯誤的に因子数を変化させることが望ましいものと思われる。

以上の観点より，適当と考えられる4つの因子の抽出された主成分分析および因子分析の結果より，種の分化に寄与した形態的変異と種の分化に寄与しなかった形態的変異の存在することが示唆され，後者の分散が比較的大きかったために，種を分離することに対しクラスター分析が有効ではなかったものと推察される。遺伝的浮動をともなって分化した種の間の類似性を考慮する場合，全形質の変動で種間の類似性を比較することには若干無理な場合がある。すなわち，種内の変異が重要であるという認識には，系統発生における2つの異なった相反する事実を含んでいる。一つは，種の形成時における種内への突然変異の蓄積および特異的な遺伝子系の発達であり，これらの相異の程度は，直接系統分化の考えにつながるが，他方，遺伝的浮動に原因する差異は，突然変異の蓄積といった遺伝的分化ではなく，系統発生的には，ジーンプールの大小が大きく貢献するものと思われる。ライト効果として知られように，分化した植物程ジーンプールは小さくなると考えられるが，種の分化に中立な変異は，機会的浮動により分化した集団程一般には小さくなる。以上の観点から，2年生系統における主成分分析・因子分析より抽出された第III・第IVの軸が，種の形成に関して中立な変異を表わすものとして見るならば，その変異は，いわゆる遺伝的浮動による結果と見なせるし，さらには種内に蓄積しているジーンプールの量的差異として考えることが出来る。これらの解釈は，*M. officinalis* と *M. alba* の2種が，他の種と比較してより他殖的であり，著しく多くの生態型をもつことや地理的分布も極めて広いこと (SUVOROV, 1950) によく一致する。2年生系統におけるクラスター分析でも，極めて形態的に分化していると思われる *M. wolgica*, *M. dentata* および *M. polonica* に関しては，はっきりとクラスターが形成されるようであるので，このクラスター分析の手法は，相同器官の有無が問題とならない範囲内では，より分化した分類単位間程明瞭に分析出来るものと考えられる。

さらに，変異が大きく最も他殖的な *M. officinalis* に属する1年生系統が *Micromelilotus* 亜属の *M. segetalis*, *M. infesta* 等によく類似することは，2つの亜属間の橋渡しとなる種として，系統発生上興味が持たれる。*Eumelilotus* 亜属内の種間では，交雑成功率がかなり高いことと *Micromelilotus* 亜属内では，一部の種で交雑が成功する以外は概して低いことを考えると，この2つの亜属に大別して分類する意味は，系統発生を反映するものではなく，むしろ便宜的なものであろうと思われる。しかしながら，本実験結果より示唆されることは，これら2つの亜属が形態的な分化程度の差を示すものと解釈するならば，交雑和合性・2年生と1年生・他殖性と自殖性・変異の大小・分布地域の広狭等一連の分化程度を示すと考えられる指標とともに，総括的にかなりよく説明出来るようである。

Melilotus 属に含まれる種の関係を数量分類法に従って解析してきたが，実際の場面でこのような多変量解析のみから新しい事実を見い出すことは少なく，他の多くの経験的・実験的資料を総合して解釈を求める場合が多い。とくに数量分類法の適用に当っては，分類学・遺伝学・生態学・生理学・形態学等の諸分野の資料を総合して解釈していく姿勢が常に要求される。本実験結果からも明らかなごとく，種内の変異を充分に比較し，慎重に取り扱うならば，この数量分類法は種間の関係を総合的に把握する上で極めて有効な分類の基礎資料を提供するものであろうと思われる。

V. 摘　　要

Melilotus 属 (Sweetclover) に含まれる19種87系統を供試して，形態上の分化状態を客観的に考察する目的で数量分類法を適用して解析した。生育習性の大きく異なる1年生系統 (50系統) と2年生系統 (37系統) に大別して，それぞれの間で分析を試み，さらに従来の分類や著者らが既に報告した種間の関係とを比較し，これらの関係を総合的に把握せんとしたものである。得られた結果を要約すると次のごとくである。

1. 2年生系統におけるクラスター分析 (WVGM) による結果から，*M. officinalis* や *M. alba* の種内に含まれる系統を中心に，各系統がクラスターを形成したが，種内の系統がまとまってクラスターを形成したものは *M. polonica* と *M. wolgica* のみであり，種内の系統のまとまりは必ずしも良くなかった。

2. 2年生系統における系統間の関係をさらに詳細に分析するため，逐次セントロイド法により因子分析を行った。抽出された4つの因子を直交回転したところ，第Iおよび第II因子では，いずれも種内の系統は似た因子負荷をもち，種間の差がかなり顕著に認められたが，第IIIおよび第IV因子では共に *M. officinalis* および *M. alba* の種内の系統間変異が大きく，他の種はこれら変異の中に含有されるようであった。

3. またこれらの関係は，主成分分析によっても明瞭に確認されたことから，種の分化に寄与した変異と種の分化に寄与しなかった変異とが存在するものと思われた。さらに，後者の分散が比較的大きかったことがクラスター分析を不明瞭なものにした原因であると推察した。

4. 1年生系統における分析結果は，クラスター分析・因子分析共に似た結果を示し，各種は形態上かなり分化しているものと考えられた。

5. 種子稔率によって他殖の難易度を推定したところ，1年生系統は概して2年生系統よりも自殖率が高いと考えられ，さらに1･2年生をとおして含有する変異が大きいと思われる種では高い他殖率をもつと考えられた。

6. *Eumelilotus* 亜属と *Micromelilotus* 亜属に大別する意味はかなり便宜的なものであろうと考えられたが，本実験結果からは，この2つの亜属が分化程度の差を表わすものとして解釈した方が，他の事実とも良く一致して理解出来ると考えられた。

7. *Melilotus* 属における充分に慎重な数量分類法の適用は，種の関連性を総合的に理解する上で極めて有効であろうと考えられた。

引 用 文 献

BRINK, R. A. (1934): Self-incompatibility in yellow-sweetclover, *Melilotus officinalis*. J. Amer. Soc. Agron. **26**; 307-312.

CAROLL, J. B. (1957): Biquartimim criterion for rotation to oblique simple structure in factor analysis. Science **126**; 1114-1115.

COOPER, D. C. (1933): Macrosporogenesis and embryology of *Melilotus*. Bot. Gaz. **95**; 143-155.

HORST, P. (1965): Factor analysis of data matrices. Holt, Rinehart & Winston.

ISELY, D. (1954): Keys to sweetclover (*Melilotus*). Proc. Iowa Acad. Sci. **61**; 119-131.

KITA, F. (1965): Studies on the genus *Melilotus* (sweetclover) with special reference to interrelationships among species from a cytological point of view. J. Fac. Agar. Hokkaido Univ., Sapporo **54**; 23-122.

MORISHIMA, H. and H. I. OKA (1960): The pattern of interspecific variation in the genus *Oryza*: Its quantitative representation by statistical methods. Evolution **14**; 153-165.

ROHLF, F. J. and R. R. SOKAL (1962): The description of taxonomic relationships by factor analysis. Syst. Zool. **11**; 1-16.

SANDAL, P. C. and I. J. JOHNSON (1953): Mechanisms of self- and cross-incompatibility in sweetclover, *Melilotus officinalis* Lam. Agron. J. **45**; 96-101.

SCHULZ, O. E. (1901): Monographie der gattung *Melilotus*. Bot. Jahrb. **29**; 660-753.

SMITH, W. K. (1954): Viability of interspecific hybrids in *Melilotus*. Genetics **39**; 266-279.

SMITH, W. K. and H. J. GORZ (1965): Sweetclover improvement. Advan. Agron. **17**; 164-231.

SOKAL, R. R. (1958): Thurstone's analytical method

for simple structure and a mass modification thereof. Psychometrika **23**; 237-257.

SOKAL, R. R. and P. H. A. SNEATH (1963): Principles of numerical taxonomy. Freeman, San Francisco.

STEVENSON, G. A. (1969): An agronomic and taxonomic review of the genus *Melilotus* Mill. Can. J. Plant Sci. **49**; 1-20.

STEVENSON, T. M. and L. E. KIRK (1935): Studies in interpecific crossing with *Melilotus*, and intergeneric crossing with *Melilotus*, *Medicago* and *Trigonella*. Sci. Agr. **15**; 580-589.

SUVOROV, V. V. (1950): In Flora of cultivated plants of the USSR, E. N. SINSKAYA, ed. Vol. **13**; 426-627. Trans. from Russian as OTS 60-51198. U.S. Dep.

Summary

The purpose of the study reported in this paper is to obtain an insight into the pattern of interspecific variations in the genus *Melilotus*. Ninteen species (87 strains) of the genus which were divided by growth habit into two groups, 50 annual strains (14 species) and 37 biennial strains (9 species), were studied by the methods of statistical taxonomy. The methods are based on an analysis of a matrix of species-x-species correlation coefficients (Q-type matrix) computed from a large number of characters for each strains. Then, the correlation matrices resulted were analysed, first by cluster analysis, and secondly by the technique of factor analysis with rotation to simple structure.

In annual strains, the diagrams showing interspecific relationship obtained from SOKAL's weighted variable group method and factor analysis (Itarative centroid method with rotation) appeared to be well comparable. It seemed that these species were well differentiated morphologically. In biennial strains, on the other hand, SOKAL's cluster analysis produced a different diagram from that obtained by factor analysis or principal component analysis. Though some interspecific relationships were not clear, 37 strains were divided into 9 species by the first two factors. However, the third and fourth factors appeared to be corresponded to the components representing intraspecific variations of two species, *M. officinalis* and *M. alba*. This indicates that these two species have greater gene pool than the other species. Furthermore, this also indicates that the more differentiated, the smaller gene pool the species might have by random drift, considering that the components are neutral to speciation. Empirical considerations by the other taxonomists support this assumption. Accordingly, it is considered that cluster analysis in biennial strains did not give so good results because the variance representing gene pool of each species was large relatively.

So far as examined by the methods of numerical taxonomy, annual strains used in this study could not be divided into two subgenera. It appeared that species of the subgenus *Micromelilotus* differentiated morphologically more than that of the subgenus *Eumelilotus*, which might be also realized from their high selfing rate estimated by the seed fertility tests. These considerations seemed to be compatible with the other facts which might indicate processes of speciation in the genus *Melilotus*.