形態形質の多変量解析による霧島山系野生ツツジ集団の評価

小林伸雄^{1*}・森中洋一¹・半田 高¹・高柳謙治¹・有隅健一²

¹筑波大学農林学系 305-8572 つくば市天王台

²鹿児島大学農学部 890-0065 鹿児島市郡元

Analysis of Wild Evergreen Azalea Populations of the Kirishima Mountains based on Multivariate Analysis of Morphological Characters

Nobuo Kobayashi^{1*}, Yoichi Morinaka¹, Takashi Handa¹, Kenji Takayanagi¹ and Kenichi Arisumi²

¹Institute of Agriculture and Forestry, University of Tsukuba, Tsukuba, Ibaraki 305-8572

²Faculty of Agriculture, Kagoshima University, Kagoshima 890-0065

Summary

To classify and estimate the wild evergreen azalea populations in the Kirishima Mountains, principal component analysis and cluster analysis were applied using morphological characteristics and compared with chloroplast DNA polymorphisms.

1. Wild azalea populations were divided into three clusters; *Rhododendron kiusianum*, *R. keampferi* and natural hybrids groups by cluster analysis. *R. kiusianum* and *R. keampferi* clusters were composed of individuals, which had chloroplast DNA patterns of each species and the natural hybrid cluster consisted of both DNA patterns.

2. On principal component analysis, the first principal component with a high contribution ratio expressed general morphologic characteristics of the wild azalea populations. This first principal component increased continuously from *R. kiusianum* at high altitude, natural hybrids, and to *R. keampferi* at the foot of mountain. The distribution of chloroplast DNA polymorphisms of azalea populations indicated correlation with this first principal component.

キーワード： クラスタ分析, ミヤマキリシマ, 自然雑種, 主成分分析, ヤマツツジ

緒 言

九州霧島山系の山頂域にはミヤマキリシマ (*Rhododendron kiusianum* Makino) が, 山麓域にはヤマツツジ (*R. keampferi* Planch.) が分布し, その中間帯には両種の自然雑種集団が分布している. これらの野生ツツジ集団は江戸キリシマをはじめとする常緑性ツツジ品種の成立に深く関与したものと考えられていることから, 形態や花色色素の分析が行われてきた (宮澤, 1918; 国重・田村, 1961; Sakata ら, 1993; 横川・堀田, 1995). 一方, Kobayashi ら (2000) は霧島山系の標高別集団の DNA 分析を行い, 葉緑体 DNA の rDNA16S 領域の PCR-RFLP パターンから, ミヤマキリシマとヤマツツジはそれぞれ異なる葉緑体 DNA を持ち, それらの中間帯に分布する花

色や形態の変異に富む雑種集団は両種いずれかの葉緑体 DNA を持つ個体が混在する集団であることを明らかにした. また, その際の形態調査では各集団間の形態や花色に関して標高に沿って連続的な変異を示すことも明らかとなった.

ところで, 形態形質を用いた多変量解析による園芸植物の分類の試みは, カンキツ (半田・大垣, 1985), サザンカ品種 (箱田・秋浜, 1988), ボタン品種 (浜田ら, 1989) およびブドウ (時本, 1991) 等において適用例がみられ, いずれも総合的評価法として有益な成果が得られている.

本研究は形態調査で得られた各調査項目について, 多変量解析法のうちクラスタ分析と主成分分析を適用して客観的に評価し, これを著者らがすでに報告した葉緑体 DNA 分析の結果と重ね合わせることによって, 霧島山系における標高別野生ツツジ集団の構造を両面から評価するものである.

2003年6月11日 受付. 2003年7月31日 受理.

*Corresponding author. E-mail: nkobayashi@life.shimane-u.ac.jp

現在: 島根大学生物資源科学部 690-8504 島根県松江市西川津町 1060

材料及び方法

霧島山系の標高別集団(第1図)について, Kobayashiら(2000)の形態学的調査で得られた各集団の計測データから, おもに1993年に収集した欠損値のない165個体を抽出し多変量解析に用いた。解析に用いた個体は各調査地点ごとに基本的に10個体とし, 形態変異が多いT-800 m地点では21個体を用いた。

第1図 霧島山系の概略図と野生ツツジ集団の調査地点
図中のアルファベットと数字は, 調査地点とその標高を示す

調査項目は葉長, 葉幅, 葉形比, 前年枝長, 花冠径, 樹高, 花色(RHSカラーチャート番号)およびブロッツの濃さの程度(無:0, 微:1, 中:2, 濃:3)の8項目を標準化して用いた。分析法はクラスター分析および主成分分析を用いた。

両分析で得られた結果は, Kobayashiら(2000)で得られた葉緑体DNAのPCR-RFLPパターンと比較検討した。このPCR-RFLPパターンは, 各調査個体の葉緑体DNAのrDNA16S領域を制限酵素Hha I処理した際に, ミヤマキリシマ型(1030, 420 bp)およびヤマツツジ型(950, 420, 80 bp)のバンドパターンの変異がみられたものである。

1. クラスター分析

クラスター分析は, Systat-FPU-5.2.1(Systat Inc.)のコンピュータプログラムを使用して行った。分析法としては群平均法を用い, 個体間の非類似度はユークリッド平方距離で表した。

2. 主成分分析

主成分分析は, StatView-J 4.02(Abacus concepts Inc.)のコンピュータプログラムを使用して行った。

結果および考察

1. クラスター分析

クラスター分析の結果より描かれる樹形図を第2図に示した。今回供試したツツジ集団は大きく三つのクラスターに分類されることがわかった。一つは高山域のミヤマキリシマを中心としたクラスター, 一つはヤマツツジ

第2図 霧島山系野生ツツジ集団の形態形質についてクラスター分析を行った際の樹形図

図中の記号は葉緑体DNAのRCA-REL Pパターンを示し, それに続くアルファベットと数字は第1図に示した調査地点の個体番号を表す

第1表 霧島山系の野生ツツジにおける各形態形質の相関行列²

	葉長	葉幅	葉長/葉幅	前年枝長	花冠径	樹高	花色	ブロッチの程度
葉長	1.000							
葉幅	0.953	1.000						
葉長/葉幅	-0.695	-0.478	1.000					
前年枝長	0.770	0.753	-0.488	1.000				
花冠径	0.856	0.801	-0.620	0.680	1.000			
樹高	0.828	0.770	-0.638	0.627	0.755	1.000		
花色	-0.801	-0.742	0.593	-0.680	-0.843	-0.695	1.000	
ブロッチの程度	0.725	0.697	-0.516	0.502	0.679	0.604	-0.655	1.000

² すべての相関係数は1%水準で有意である

を中心にしたクラスター、そして、もう一つは中間帯の自然雑種集団を中心にしたクラスターであった。これらのことから霧島山系の野生ツツジ集団は分析に用いた形態的特性より、ミヤマキリシマ集団、ヤマツツジ集団そして両種の自然雑種からなる3集団に大別できることがわかった。

第2図の各個体番号に付加した記号はPCR-RFLPパターンを示したものである。これをみるとミヤマキリシマとヤマツツジのクラスターはそれぞれ両種のパターンで占められており、自然雑種のクラスターは両種のパターンが混在していることが確認でき、既報(Kobayashiら, 2000)の葉緑体DNAの分析結果を形態的にも裏付けるものとなった。また、ミヤマキリシマを中心にして形成されているクラスターには、T1430-2, T1030-7, 9およびT800-14のようにヤマツツジ型のパターンを持つ個体が混入していた(第2図)。これらの個体は、形態データのクラスター分析からはミヤマキリシマ集団に分類されるが、ヤマツツジの葉緑体DNAを持っていることを意味しており、かつてヤマツツジとの交雑によって浸透交雑が起こっていることを示唆しているものと思われる(Kobayashiら, 1998)。

2. 主成分分析

各調査項目間の相関行列を第1表に、得られた各主成分の固有値、寄与率、固有ベクトルを第2表に示した。

まず、調査項目間の相関を見ると、すべての項目間に0.48以上で、1%水準で有意な、正または負の高い相関があることがわかった(第1表)。各主成分の固有値の採用基準として1未満は打ち切りにすると、固有値5.904の第1主成分のみが採用されることになり、この第1主成分の寄与率は0.738で、一つの主成分のみで全データの分散の約74%を説明していた。第1主成分における各調査項目の固有ベクトルをみると、正の方向には葉長、葉幅、前年枝長、花冠径、樹高、ブロッチの程度がそれぞれ0.3~0.4の値を示し、また、負の方向には葉形比、花色が-0.3前後を示しており、各調査項目が全体に高い値のベクトルを持っていた(第2表)。

第2表 霧島山系野生ツツジの形態形質について主成分分析を行った際の第3主成分までの固有値と寄与率、形態形質の固有ベクトル

	第1主成分	第2主成分	第3主成分
固有値	5.904	0.604	0.494
寄与率	0.738	0.075	0.062
累積寄与率	0.738	0.813	0.875
	固有ベクトル1	固有ベクトル2	固有ベクトル3
葉長	0.399	-0.052	-0.042
葉幅	0.375	-0.375	0.050
葉長/葉幅	-0.297	-0.832	0.239
前年枝長	0.331	-0.384	-0.523
花冠径	0.376	-0.015	0.044
樹高	0.356	0.124	-0.118
花色	-0.362	0.027	-0.025
ブロッチの程度	0.322	0.038	0.805

これらのことから、この第1主成分は霧島山系における野生ツツジ集団の形態的特性を表す値であると考えられる。葉、花、樹高等が小さい山頂域のミヤマキリシマではこの第1主成分の値は小さくなり、逆に全体に大きい山麓域のヤマツツジではこの値が大きくなる。またこの値は、花色やブロッチの程度の変化も示す値であるといえよう。

この第1主成分から描かれる主成分得点散布図を第3図に示した。横軸の正の方向に向かって、標高が高い調査地点から低い地点の個体を配置したところ、高山域のミヤマキリシマから中間帯の自然雑種集団、そしてヤマツツジにかけて、全体に正の相関をもって各集団が配置されることが明らかとなった。また、ミヤマキリシマの集団ではこの第1主成分の値が比較的収束しているのに対し、雑種からヤマツツジの集団においては分散している傾向がみられた。形態変異が少ない純系のミヤマキリシマ集団に対し、雑種集団やヤマツツジ集団では形態変異がみられるという各集団の形態形質からみた性状が推察され、各集団間の形態や花色に関して、標高に沿って観察される連続的な変異に対応するといえよう。

第3図 霧島山系野生ツツジ集団の形態形質について主成分分析を行った際の主成分得点散布図

記号によって葉緑体 DNA の PCA-RFLP パターンを付加した

さらに PCR-RFLP パターンを示す記号の散布状況を見ると、第1主成分の0以下にはミヤマキリシマ型が、1.5以上にはヤマツツジ型が集中し、それらの間の領域には両型が混在していた(第3図)。このことから、形態形質の総合的特性を表す第1主成分と葉緑体 DNA の変異との関連性が示唆された。

以上のクラスター分析と、主成分分析によって、形態調査の結果を客観的に評価することができ、また、DNA 分析の結果を併せてみることによって、霧島山系の野生ツツジ集団間の関係をより明らかにすることができた。ツツジ園芸品種にはいまだに成立に関わった野生種が不明なものが数多いが、今後は本研究の手法を適用し、形態的形質や DNA 分析結果を併せて、品種起源の解明に応用することが可能であろう。また、実際のツツジ育種における種間雑種の形態変異の幅や方向性の評価手法としての活用も期待される。

摘 要

九州霧島山系の標高別野生ツツジ集団について、形態調査で得られたデータをクラスター分析と主成分分析を用いて客観的に評価し、DNA 分析の結果を重ね合わせることによって、霧島山系における標高別野生ツツジ集団の構造をより明らかにした。

1. クラスター分析により、霧島山系の野生ツツジ集団はミヤマキリシマ、ヤマツツジおよび中間帯の自然雑種集団を中心にした3つのクラスターを形成した。葉緑体 DNA パターンの分布は、ミヤマキリシマとヤマツツジの

クラスターはそれぞれ両種のパターンで占められており、自然雑種のクラスターでは両種のパターンが混在した。

2. 主成分分析では、高い寄与率を示す第1主成分のみで霧島山系における野生ツツジ集団の形態的特性を表すことができ、標高別に配置すると、高山域のミヤマキリシマから中間帯の自然雑種集団、そして山麓域のヤマツツジにかけて連続的にこの第1主成分得点が増加した。また、葉緑体 DNA パターンの分布から、第1主成分と葉緑体 DNA の変異の関連性が示唆された。

引用文献

- 箱田直紀・秋浜友也. 1988. 主成分分析及びクラスター分析によるサザンカ品種の形態的分類. 園学雑. 57: 233-242.
- 浜田守彦・細木高志・稲葉久仁雄. 1989. 多変量解析によるボタン品種の形態的分類. 園学雑. 58: 697-704.
- 半田 高・大垣智昭. 1985. 形態形質の数量化によるカンキツ類の分類-多変量解析の4手法の適用-. 園学雑. 54: 145-154.
- Kobayashi, N., S. Kawashima, T. Handa, K. Takayanagi and K. Arisumi. 1998. Introgression in Japanese evergreen azaleas (*Rhododendron kiusianum* and *R. kaempferi*). Acta Hort. 454: 325-328.
- Kobayashi, N., T. Handa, K. Yoshimura, Y. Tsumura, K. Arisumi and K. Takayanagi. 2000. Evidence for introgressive hybridization based on chloroplast DNA polymorphisms and morphological variation in wild evergreen azalea populations in the Kirishima Mountains, Japan. Edinburgh J. Bot. 57: 209-219.
- 国重正昭・田村輝夫. 1961. 霧島地方に自生するつつじの変異について. 九州農業研究. 23: 157-158.
- 宮澤文吾. 1918. きりしまつつじノ起源. 植物学雑誌. 32: 318-331.
- Sakata, Y., I. Miyajima and K. Arisumi. 1993. Variations in some morphological and pigmental characteristics in *Rhododendron kaempferi* Planch., *R. kiusinum* Makino and their natural hybrids on Kirishima Mountain Mass. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 61: 925-932.
- 時本 異. 1991. 外観的形質の多変量解析によるブドウの分類. 園学雑. 60: 613-618.
- 横川水城・堀田 満. 1995. 西南日本の植物雑記. 霧島山系におけるミヤマキリシマ, キリシマツツジ, ヤマツツジ諸集団の形質変異. 植物分類, 地理. 46: 165-183.