

rbcL の塩基配列と裸子植物の系統

小藤 果美子・長谷部 光泰

陸上植物はコケ、シダ、裸子、被子植物に大別される。裸子植物の系統関係については今世紀はじめよりさまざまな議論が展開されてきたが、いまだに決着をみていない。

本稿では形態学のデータからこれまで何がわかってきたかをまず整理し、つぎに分子データから得られた結果を示した。リブローズニリン酸カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ (*RubisCO*) の大サブユニット遺伝子 (*rbcL*) の444アミノ酸配列データから構築した系統樹について議論した。その結果、現生の裸子植物は単系統であり、現生の被子植物と現生の裸子植物は石炭紀にすでに分化していたのではないかということが示唆された。また、形態的にお互いに非常に分化しているグネツム類は単系統で、裸子植物と単系統群となり、被子植物とは偽系統となることがわかった。

1. 現生の裸子植物

陸上植物はコケ、シダ、裸子、被子植物に大別することができる。裸子植物は胚珠が裸出している植物群の総称である。多くの化石種が知られており、現生の種は大きく四つのグループに分けられる。イチョウ、針葉樹類、ソテツ類、グネツム類である。イチョウの仲間は最古の化石が約30億年前から知られているが、現生のものはイチョウ (中国原産) 1種類だけであり、化石との形の類似から「生きた化石」と呼ばれることもある。針葉樹類は現存する

裸子植物の中で最も多様であるとともに、森林を構成する主要樹種であり、われわれに最も身近であり経済的価値も大きい。ソテツ類は恐竜のいたジュラ紀に全世界的に繁栄していたが、現在では熱帯を中心とした一部の地域にほそほそと生き長らえている。グネツム類は日本人には馴染みの薄い裸子植物である。現生のグネツム類は、グネツム、マオウ、ウェルウィッチア (和名は「奇想天外」) の3属から構成されている。グネツムは熱帯に分布し、低木かつ蔓性で被子植物のような葉をつける。マオウは乾燥地に生え一見針葉樹のような葉をしている。ウェルウィッチアはアフリカのナミブ砂漠にのみ成育し生涯を通して2枚の葉を伸ばし続ける。

2. 裸子植物研究の歴史

裸子植物が今日的意味合いで初めて認識されたのは18世紀はじめであった。今世紀になって、形態学的観察および化石資料から裸子植物は大きく二つのグループ、すなわちソテツ系と針葉樹系に分けられるようになった。

ソテツ系にはソテツ類と化石のみから知られるシダ種子類、針葉樹系には針葉樹類、イチョウ類、化石種のコルダイテス類が含まれる (グネツム類については後でふれる)。両者は材、種子の形質で大きく異なっている。前者は多髄質 (放射組織が多く軟らかい) の材をもち、おもに放射相称の種子をつける。一方、後者は多木質 (放射組織が少なく硬い) の材をもち、左右相称の種子をつける。

前述したように、胚珠が被子植物のように心皮で包まれずむきだしであること、シダ種子類はシダ植物に似た葉をつけるが孢子でなく種子を形成すること、さらには、ソテツ類とイチヨウはシダやコケ植物のように精子を形成すること、などから裸子植物は被子植物とシダ植物を結ぶ植物であろうと推測されていた。裸子植物が形態から大きく異なる二つのグループに分けられることも考え合わせて、裸子植物は単系統群ではなく、被子植物とシダ植物の間に位置するいくつかの分類群を人為的にまとめた偽系統群であろうという見解が主流を占めるようになってきた。単系統群とは祖先種とその子孫のすべてを含むグループとして定義される。図2のML法の系統樹で裸子植物は単系統として表わされている。なぜなら、イチヨウの枝の根元が裸子植物の祖先と考えると、その子孫は裸子植物だけであるからである。一方、偽系統群とは、祖先種とその子孫の一部のみを含むグループとして定義される。図1のクレインの系統樹で裸子植物は偽系統群である。ソテツ類の枝の根元が裸子植物の祖先と考えられるが、その子孫は裸子植物だけでなく被子植物も含んでいるからである。

1960年代になってベックは、デボン紀の層から発掘される、シダ状の葉に孢子をつけるが、材の解剖学的特徴は裸子植物とそっくりな木本植物の化石を研究した。つまり裸子植物と同じような幹をもっているが、種子でなく孢子をつける植物で、シダ植物と裸子植物の中間的な段階にある種であろうと予想された。このような化石はその後何種類か研究され、原裸子植物と呼ばれている。ベック自身は原裸子植物の中で多髄質と多木質の材をもつ種が分化していることから、この時点で裸子植物の二つの系統はすでに分かれていたと予想し、裸子植物が偽系統群であるという説を支持した。

グネツム類はいくつかの形態が被子植物と似ており、被子植物と裸子植物の間に位置する分類群で

はないかと考えられてきた。たとえば、花被状の器官を備えた複雑な花序をもつこと、導管をもつこと(裸子植物は仮導管のみをもつ)である。とりわけ、グネツム属は被子植物によく似た網状脈の葉もち、自生場所も被子植物によく似ている。しかし、その後の研究が進展するにつれ、被子植物の中で原始的だと考えられている植物の一部は導管をもたないこと、グネツム類の導管は解剖学的特徴が被子植物のものとは異なっていることから、導管は被子植物とグネツム類で平行的に進化したものであろうと今日では考えられている。また、グネツム類に含まれる3属は形態的に大きく分化していることから、単系統ではない、という主張もなされた。グネツム類というのは種子植物の中で最も訳のわからない植物であった。

3. 系統学の新しい展開

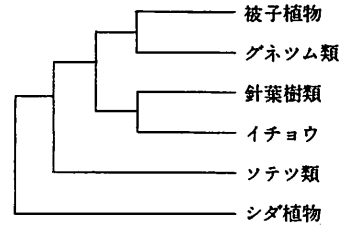
系統学においては、この30年ほどの間に大きな理論的、技術的進展があった。一つは、分岐系統学(クラディズム)の発達である¹⁾。分岐系統学では形質を2種類、すなわち原始形質と派生形質に分ける。生物の進化はそれまであった形質(原始形質)から新しい形質(派生形質)が生じる遺伝的变化によって引き起こされる。裸子植物から被子植物への進化は、胚珠がむきだしであるという原始形質から、子房に包まれるようになるという派生形質への突然変異によって引き起こされたと考えられる。したがって、現在、子房が胚珠を包むという派生形質をもつものたちは、突然変異を起こした個体の子孫の集り、すなわち、単系統であろうと推定される。一方、原始的形質を共有していることは必ずしも単系統性を意味しない。たとえば、被子植物と裸子植物は種子を作るという派生形質を共有しているから単系統であろうと推定できるが、他の植物(たとえばシダ植物、コケ植物、緑藻類)を孢子を作るという原始形質を根拠に単系統であると主張するのは誤りである。こ

れまでは形質を区別せず、似たもの同士は近縁であるという原則のもとに生物の系統関係を推定してきたため、原始形質の類似を重視し、間違った系統関係を推定してきた例も多くあった。

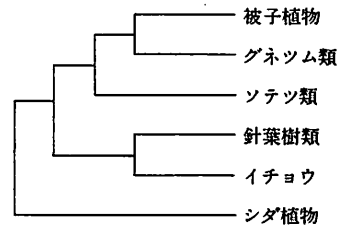
系統学の発展に貢献したもう一つの要因はコンピュータの発達である。形質を原始形質と派生形質に区別したあと、共通の派生形質をもつものが単系統になるように系統樹を構築していく。しかし、進化には平行進化や逆転という現象が必ずといっていいほど伴ってくる。平行進化というのは異なった系統で平行的に原始形質から派生形質への変化が起きることである。逆転というのは祖先形質から派生形質への変化が一度起きた後に再び派生形質から祖先形質への変化が起こることである。当然このような変化は系統推定の大きな障害となる。発生過程などを詳細に観察することによって平行進化を見破ることができる場合もあるが、多くの場合は見分けることが困難である。このようなときは平行進化や逆転が最も少なくなるようにして系統樹を構築してみる。このような方法を最節約法という。この方法は必ずしも進化が最小のプロセスで起こるということを仮定しているわけではないが、何回も平行進化などが起こると間違った系統関係を推定してしまう可能性がある。形質の中には経験的に平行進化が起りやすいものと起りにくいものがある。したがって、いろいろな形質を平行進化と考えたり、本当の派生形質として考えたりして系統樹を構築することが必要になる。以上のような操作は手作業ではほとんど不可能であり、コンピュータの手助けが必須となる。

1980年代に入って、分岐系統学的手法とコンピュータを用いた研究がいくつか発表されるようになり、種子植物系統学は新しい一歩を踏み出した。図1にいくつかの研究の結果推測された系統樹を示す。これらの研究はほとんど同じデータセットを用いているが、どの形質を平行進化と考えるかなど、形質の評価の仕方が異なるために違った系統関係を

クレイン(1985)



ドイルとドノーグ(1986)



ラコンテとスティーブンソン(1990)

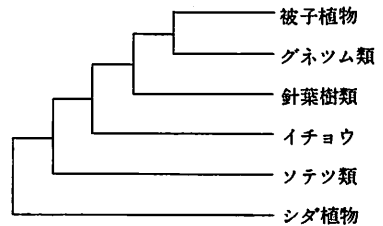


図1 形態データから分岐系統学的手法を用いて構築された系統樹。

推定しているのである。これらの系統樹に共通していることはグネツム類と被子植物が単系統群となっていること、針葉樹、ソテツ類、イチョウを含む裸子植物は単系統群ではなく偽系統群であるということである。

4. 分子系統学の導入

形態学的アプローチで系統推定を行なうためには、形質評価の精度を高めて、平行進化などによる系統推定における雑音を取り除く方向で研究を進めるべきである。一方、形態学的形質の数は限られている。系統関係はあくまで推定されるものであるから、データ量を増やすことによっても推定の精度を

上げることができる。しかし、ラコンテとスティーブンソン(図1)の用いた形質は39個であり、この後、形態学者がどんなに努力したとしても比較可能な形質を100個に増やすことは困難であろう。情報量を増やすという要求には分子系統学がうまく合致している²⁾。分子生物学の発達により、1000や2000のDNAの塩基配列を決定することはそれほどたいへんではなくなってきた。一つ一つの塩基配列がそれぞれ形質として扱えるのであるから形態学的研究とは^た桁違いなデータが得られる。そして、統計学の手法を用いて、推定した系統樹の信頼限界をも求めることができるようになるのである。

種子植物の分子系統学の草分け的な研究は、広島大学の堀寛らによって1985年に発表された³⁾。堀らは5SリボソームRNAの塩基配列を決定しUPGMA法という方法で系統樹を構築した。しかし、5SリボソームRNAはわずか121塩基ほどの短い分子であること、保存性が高く種子植物内ではあまり分類群間で変異がないことが短所としてあげられる。堀らの系統樹には枝の分岐点に分散が表示してあるために統計学的判断を下すことができる。堀らは裸子植物が単系統になると結論づけているが、残念ながらその系統樹ではそれぞれの分散が重なりあっており、統計的に有意に裸子植物が単系統であるとはいえない。旧ソ連のトロイツキーらは1991年にいくつかのリボソームRNAの塩基配列データから裸子植物の単系統性とグネツム類の偽系統性を主張したが、彼らは統計学的検定をまったくしておらず、議論のしようがない。また、解析方法にも問題があり、再検討が必要であろう。

このような状況で、筆者らは葉緑体DNAにコードされているリブプロースニリン酸カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼの大サブユニットの遺伝子(*rbcL*)の一部(1333塩基、遺伝子全体の約90%に当たる)の塩基配列を裸子植物の主要なグループについて決定し、系統関係を推定した⁴⁾。この酵素は光

合成の暗反応のカルビン回路で二酸化炭素を固定する働きをしている。*rbcL*は植物の系統推定に適した遺伝子であろうと考えられている。その理由は、(1)植物の遺伝子の中で最も多くの種類で塩基配列が決定されており他の種類と比較しやすい、(2)遺伝子の大きさが約1400塩基と比較的大きく多くの有用な情報を提供してくれる、(3)塩基置換率(進化速度:年あたり、塩基座位あたりの塩基置換数)が大きな分類群間の系統関係を推測するのに適している、(4)通常ゲノムあたり一遺伝子のみで、遺伝子族を形成しておらず、種間で遺伝子を比較するときと同じ遺伝子族内の相同でない遺伝子を比較してしまう心配がない、などである。

分子系統学で用いられる系統樹の構築方法には主として3種類の方法がある。距離行列法、最節約法、最尤法である。距離行列法は以前は進化速度の一定性を仮定したUPGMA法が主流であったため進化速度が変動する分類群間では誤った系統関係を推定してしまう可能性があった。しかし、国立遺伝学研究所の斎藤成也と米国の根井正利によって1987年に考案された近隣結合法(NJ法)は進化速度が分類群間で変動しても正確な系統関係を推定できることがシミュレーションを用いた実験から示された。米国のフェルゼンシュタインによって考案された最尤法は最も信頼性の高い方法であるが、計算に多大な時間を要することが問題点である。形態データから系統推定する場合は最節約法は有力な手段であった。しかし、塩基配列データは平行進化を起こしたり、同じ塩基座位で何回も置換が起きたりすることがあり、最節約法はあまり適した方法ではない(ただし、同じ分子データでも葉緑体DNAの制限酵素切断断片長多型(RFLPs)などで平行進化があまり起こらないデータを使うときは有効である)。とりわけ、分類群間で進化速度に差があるときはほとんど正確な系統推定ができないというシミュレーションの結果がある。筆者らはNJ法と最尤法で系統樹を

構築してみた。

データ処理でもう一つ問題になるのは、DNAの塩基配列データをそのまま使うか、アミノ酸配列に翻訳してその配列を用いるかである。陸上植物の *rbcl* の GC 含量 (遺伝子あるいはゲノムの塩基組成で G または C の占める割合) は 15% (ゼニゴケ) から 40% (ホウライシダ) まで変動し、系統推定においてこの影響がでる可能性がある。したがって筆者らはアミノ酸配列データを解析に用いた。その結果が図 2 である。系統樹の統計的精度を検定する方法にブートストラップ法がある。この方法は、たとえば *rbcl* のアミノ酸配列の場合 444 個のアミノ酸を比較しているので、この中から繰り返しを許して 444 個のアミノ酸を選び、新しいデータ (ブートストラップサンプル) として系統樹を構築してみる。NJ

法で求めた系統樹の各枝に示された数字は 1000 回ブートストラップサンプルを作り、系統樹を構築したときに、何回、各枝の種の組合せが支持されたかということを示している。図 2 下に示したのは最尤法系統樹 (最も可能性の高い系統樹) である。

この研究によりはっきりしたことは、グネツム類は単系統であるということである。ブートストラップによる検定はこの推定がきわめて確からしいことを示している。このことは形態データを分岐分類学的に解析した結果と一致している。グネツム類の 3 属は、外見上は大きく異なっているが共通祖先に由来した子孫同士であることが分子データによって支持された。一方、裸子植物が単系統、とりわけ、グネツム類が被子植物とは単系統とならず、裸子植物の中に含まれているが、この点は形態データからの結果と大きく異なっている。図 3 に化石として産出される原裸子、現生の裸子、シダ種子、被子植物の年代を示した。この年表からみるとイチョウの間とはっきり同定できる最古の化石は石炭紀の終りごろから発掘される。筆者らの推定が正しいとすれば、イチョウと他の現生の裸子植物が分化する前、すなわち石炭紀にはすでに現生の裸子植物と被子植物の祖先は分化していたことになる。現在地球上で最も繁栄している被子植物は、原裸子植物から種子植物が進化した直後に現生の裸子植物とはまったく違う経路で進化してきたと予想される。

現時点では分子系統学のデータはまだ不十分である。たとえば、グネツム類、針葉樹類、ソテツ類、イチョウの系統関係については *rbcl* のデータからだけでは確定的なことは言えない。なぜなら、NJ 法と最尤法で異なった系統樹が推定されたからである。今後塩基配列データがさらに蓄積されるとともに、系統樹構築法に関する研究が進展することにより、この問題は解決されることであろう。裸子植物の単系統性については 5S リボソーム RNA、

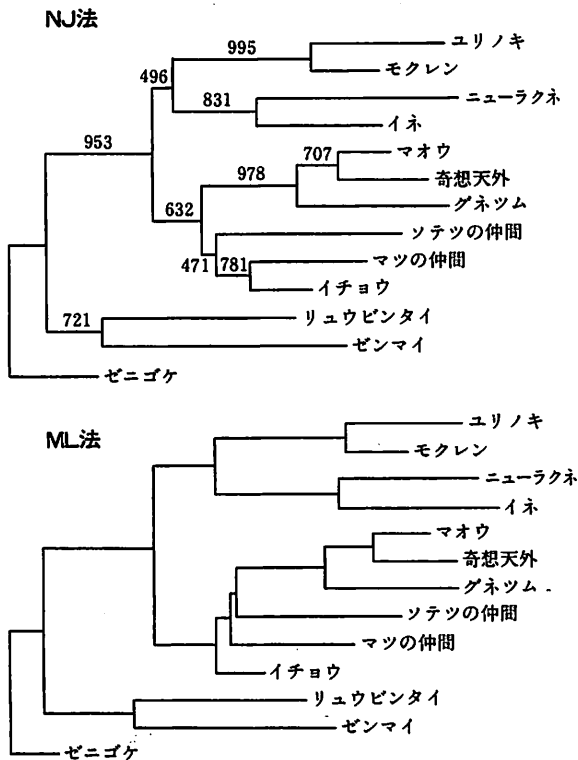


図 2 *rbcl* の塩基配列データを近隣結合法 (NJ 法), 最尤法 (ML 法) を用いて構築した系統樹。NJ 法の各枝の分岐点の数字はブートストラップ確率を示す (Hasebe *et al.*, 未発表)。

古生代			中生代			新生代
デボン紀	石炭紀	二畳紀	三畳紀	ジュラ紀	白亜紀	第三紀
原裸子植物						
			イチョウ類			
			針葉樹類			
			ソテツ類			
			グネツム類			
シダ種子植物						
			被子植物			

図3 種子植物の化石記録
(Crane, 1987より改変).

rbcL と二つの異なる遺伝子の塩基配列データから示唆されたが、ともに、統計的に有意に偽系統性を否定できていない。形態データをみる限りは裸子植物全部に共有される派生形質を見つけることは困難である。形態データと分子データの食い違い、いったい真実はどちらなのであろうか。現在の系統分類学の中で最も目の離せないトピックスの一つである。

文 献

- 1) ワイリー, E. O.: 系統分類学. 宮 正樹ほか 共訳, 文一総合出版 (1991).
- 2) 長谷部光泰: 日本植物分類学会会報, 8, 54-75 (1990).
- 3) 堀 寛: 生物の歴史. pp.25-60, 岩波書店 (1989).
- 4) Hasebe, M., R. Kofuji, M. Ito, M. Kato, K. Iwatsuki and K. Ueda: 投稿中.

(こぶじるみこ, 金沢大学 遺伝子実験施設;

はせべみつやす, 東京大学 理学部 附属植物園)

生物の科学 遺 伝

バックナンバーのご案内

46巻3月号 定価927円

●特集・環境問題に関する実験・観察●

環境問題と高校生物……………富樫 裕
カラースライドフィルムによる
土壌と水質の調査……………須永 智
スギ科空中飛来花粉の調査方法……………堀江延治
シミュレーションによる個体群の変動……………牧野彰吾
身近にいる野鳥に関心をもとう…高橋 守・牧野彰吾
自然観察会 事始め……………小林敏夫
世界の環境教育……………中山和彦

今月の解説

食肉の食味性とその向上……………松石昌典
ヒマラヤとアルプスの高山植物……………大場秀章
好熱性細菌の産生する
ブルラン分解酵素とその遺伝子解析…指原信廣

随想: 真理はどこでうそをつくか……………樋渡宏一

連載エッセイ: 自然と私

熱帯の林のなかで途方にくれる……………堀田 満
ヒトの体 (15): 体温調節の仕組み……………保志 宏