The Society for the Study of Species Biology

種生物学研究19：23－29，1995.

核遺伝子に基づく被子植物群の系統解析の有効性

小菅　桂子・傳田　哲郎
（神戸大学理学部）

分子系統学は生物共通に存在する遺伝子の塩基配列を直接比較することにより，これまで困難だった高次分類群の系統解析に新たな道を開いた．被子植物では葉緑体DNAの配列，とくにリブロースリン酸カルボキシラーゼRubiscoの大サブユニット遺伝子（*rbc* L）を使って大多数の科の系統関係が解析され，その膨大な成果はAnnals of the the Missouri Botanical Garden Vol.80 No. 3（1993）にまとめられている．しかし，この遺伝子は進化速度が遅く，被子植物の属レベル以下の系統解析には必ずしも有効ではない（Doebly *et al.*, 1990; Kim *et al.*, 1992）．低次分類群間の系統を解析するためには，より進化速度の速い遺伝子や遺伝子間の非コード領域を利用する必要がある．

葉緑体ゲノムはふつう母性遺伝をするため，遺伝子は単一で重複や組み替えを起こしておらず，系統解析に利用しやすい（Clegg, 1993; Clegg & Zurawski, 1991）．一方，核遺伝子は両性遺伝をするため遺伝様式も複雑で，系統解析に利用するにはさまざまな制約がある．とくに多くの核遺伝子は重複を起こしているため，系統解析に用いる場合には比較する配列が同一の遺伝子座に由来する（orthologous）ものか，種分化に先だって重複し，独立に進化した（paralogous）かを先に区別しなければならない．

被子植物の系統推定には，従来，葉緑体ゲノムの塩基配列がおもに利用され，核遺伝子はリボゾームRNA遺伝子群などに限られている．核遺伝子の進化速度は葉緑体遺伝子の4倍以上と速く（Wolfe *et al.*, 1987, 1989），近縁な群の系統解析には有効と予想される．そこで，本稿では核遺伝子のアルコール脱水素酵素遺伝子（*adh*）を用いたキンポウゲ科とキク科 *Brachyscome* 属の系統解析の結果をもとに，核遺伝子による系統解析上の問題点とその有効性について述べる．

解析に用いた *adh* 遺伝子断片

アルコール脱水素酵素（ADH）は根，種子や花粉などで発現する2量体の酵素で，多くの2倍体植物で2～3種類のアイソザイムが報告されている（Gottlieb, 1982）．遺伝子座の異なる分子種間でも2量体を形成することから，これらの遺伝子は重複により生じたとみなされている．イネ科では数種で2種類以上の遺伝子が報告され，種分化に先だって重複した遺伝子であることが示されている（Dennis *et al.*, 1984, 1985）．

adh 遺伝子のコード領域は全長約1.2 kbで，ふつう9カ所に約100-200 bpのイントロンが含まれている．遺伝子が重複しているため，PCR法を用いた場合，遺伝子座の異なる複数のDNA断片が増幅されることになる．そこで，欠失や挿入による長さの変異が起こりやすいイントロンをはさむように，エクソン3から4の一部を増幅した．長さの異なる2種類以上の増幅断片が得られたので，電気泳動法により各断片を分離し，さらに精製して塩基配列を決定した．キンポウゲ科で見いだされた偽遺伝子と推定される断片を除けば，増幅断片のエクソン塩基配列には挿入や欠失は認められない．えられたエクソンの塩基配列をもとにMEGA Ver.1.0（Kumer *et al.*, 1993）とPAUP Ver.3.0（Swofford, 1993）を用いて系統樹を作成した．

キンポウゲ科における系統解析

キンポウゲ科は被子植物のなかで比較的起源の古い群と考えられている．17属23種で *adh* 遺伝子断片の増幅を行ったところ，多くの種で分子量の異なる2種類の断片が増幅された．また，4倍体のタガラシ *Ranunculus sceleratus* L. とユキワリイチゲ *Anemone keiskeana* Maxim.，6倍体のアキカラマツ *Thalictrum minus* L. var. *hypoleucum*（Siebold et Zucc.）Miq.，センニンソウ *Clematis terniflora* DC. とトウゴクサバノオ *Dichocarpum trachyspermum*（Maxim.）W.T. Wang et Hsiaoでは3種類以上の断片が増幅された．その中にはエクソン配列に1～5個の挿入や欠失，あるいは終止コドンが含まれる断片があり，これらは機能を失った偽遺伝子と考えられる．

偽遺伝子を除く，26種類の増幅断片のエクソンでは273塩基部位中，97部位が系統解析に有効な変異であった．近隣結合法（図1），最短距離法や最大節約法により作成した系統樹は，いずれも基部で2つのクレードに

NII-Electronic Library Service

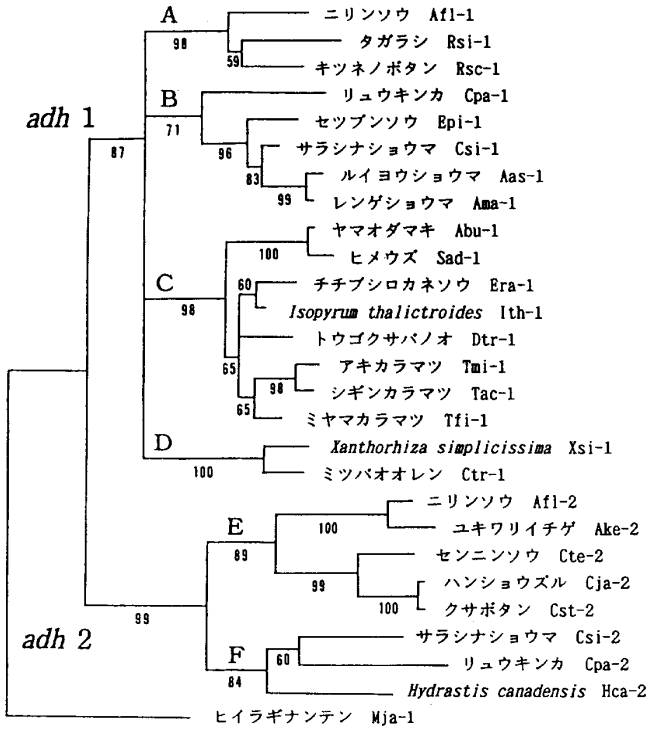

図1．キンポウゲ科における *adh* 遺伝子のエクソン系統樹（Kosuge *et al.*, 1995）．
数値は100回のブートストラップ値を示し，和名の後の略号は解析した増幅断片番号を示す．系統樹は異なる遺伝子座に由来する adh 1 と 2 のクレードに基部で大きく分かれ，それぞれのクレードはさらに4つの群（A，B，C，D）と2群（E，F）に分かれる．

大きく分かれた（Kosuge *et al.*, 1995）．2種類の配列を解析したリュウキンカ *Caltha palustris* L. var. *nipponica* Hara，サラシナショウマ *Cimicifuga simplex* Wormsk. とニリンソウ *Anemone flaccida* Fr. Schm. ではそれぞれの断片が両方のクレードに分かれて位置する．ユキワリイチゲで得られた2つの断片のうち，Ake－1と名付けた一方は，エクソン3の配列を決定していないので系統樹には含まれていないが，ニリンソウの Afl－1 に最も相同性が高い．Afl－1 と Ake－1 のイントロン3の塩基配列（図2）を比較すると，配列は14 bp の挿入（欠失）を除けばきわめて相同性が高く，同様に Afl－2 と Ake－2 のイントロン配列にも相同性が認められる．一方，Afl－1 と Afl－2 あるいは Ake－1 と Ake－2 を比べると，イントロン両端部の配列を除いて相同性は認められない．また，同一個体から得られたほかの2種類の増幅断片間でも同様にイントロン3の相同性は見いだされない．このようにエクソンの塩基配列に基づく系統樹の基部で大きく分岐する遺伝子間では，イントロンの相同性も認められないことから，これら2種類の増幅断片は種が分化する以前に重複によって生じた異なる遺伝子座に由来するものと考えられるので，*adh* 1 と *adh* 2 として区別した．

2つのクレードは，さらにいくつかの群に分かれるが，染色体の特徴や果実の形態に基づいて推定されたこれまでの系統関係（Gregory, 1941；Langlet, 1932；Tamura, 1966）にほぼ対応し，葉緑体遺伝子に基づく系統解析の結果（Hoot, 1995；Johansson, 1995；Johansson & Jansen, 1993）とも矛盾しない．すなわち，*adh* 1 で分岐した4つの群は，A: キンポウゲ亜科 Ranunculoideae，B: クリスマスローズ亜科 Helleboroideae，C: カラマツソウ亜科 Thalictroideae，D: オウレン亜科 Coptidoideae に相当し，

```
Abu-1 GTATGTACATTT-CAAGTACATTCGTTTTTATTGTCTTTGCTCACAGCTA TTT-AATATTA-----TGTAAC--GACAATAATATAGATTTCA-TTTATC
Sad-1 GTATGTACAT------------CGTTTTTACTGTCTTTGCTCACAGCTA TTT-AATATTAGGGGATGTAAC--GACAATAATATAGATTTCA-TTTATC
Era-1 GTATGTACATTTCCATGTACATTCATTTTTACTTTCATTGCCCGCAACTG TTC-GATGTTT-----TGTAAT--GACC-TAAA-TAGATTTCACTT----
Ith-1 GTATGTACATT-CCAAACACATTCATTCTTACTTTCAT-GCCTGCAACTA TTC-GATGTTT-----TGTAATCAGACC-TAAAATAGATTTCACTT----
Dtr-1 GTATGTACATTTCCAACTACATTCATTCTTACTTTCATTGCCTGCAACTA TTCGGATGTTT------GTAAT--GACC-TAAAAGAGATTTCACTT----
Tmi-1 GTATGTACATTTCCAAGTACATGCATTTTTACTTTCATTGGGCGCAACTG TTGGGATGTTT------ATAA---GACC-TAAAATAGATTTCACTTTATC
Tac-1 GTATGTACATTTCCAAGTACATGCATTTTTACTTTTATTACACGCAACTG TTGGGATGTGT-----TATAAC--GA----------------------
Tfi-1 GTATGTACATTTCCAAGTACATTCATTTTTAC---------CCGCAACTG TTGGGATGTTT-----TGTAAT--GACC-TAAAATAGATTTCACTT-ATC
      1                                                                    50
100

Abu-1 TTTCCTCTGTTCATTTCATTTATCTCT-TTTCTGTTTACTCA---AACCA TTTCAATCTGTTTGATGGTGTTTA-TTTGTAG (167 bp)
Sad-1 TTTCCTCTGTTCATTTCATTTATCTCT-CTTCTGTTTACTCA---AACCA TTTCAATCTGTTTGATGGTGTTTA-TTTGTAG (160 bp)
Era-1 ---------------------ATCTCT-CTTCTGTT-----AACTAA-CA GTTCAATTTGTTTGATGTTGTTGGGTCTGTAG (140 bp)
Ith-1 ---------------------ATCTCT-CTTCTGTT-----AACTAA-CA GTTCAATGTGTTTGATGTTGTTGG-TCTGTAG (140 bp)
Dtr-1 ---------------------ATCT-T-CTTCTGTT----TAACTAA-CA GTTCAATGTGTTTGATGTTGTTGG-TCTGTAG (142 bp)
Tmi-1 AATCATTTGT-CATT-CATATATT-C-GCTTATGTTTACATAACTAACCA GTTCGATTTGTTGGATGTTGTTGG-TCTTTAG (167 bp)
Tac-1 ----------------------------------------------TAACCA GTTCGAT----------TTGTTGG-TCTTTAG ( 96 bp)
Tfi-1 TTTCATTTCTTCATTTCATATATTTCTGCTTATGTTTACATAACTAACCA GTTCAATTGGTTGGATGTTGTTGG-TCTTTAG (163 bp)
      101                                                 150
```

図2．ニリンソウ属における *adh* 遺伝子イントロン3の塩基配列．
括弧内の数値は各イントロンの長さを示す．略号：図1参照

NII-Electronic Library Service

```
Afl -1  GTATGTACTAATA--------------TTTAATCTTTCTTTCCCTTAGTGTACAATTCAATTTGTTTAATTATGTTTGGTATTTAG (167 bp)
Ake -1  GTATGTACTAATACTATCATCCCATTATTTAATATTTATTTCACTTTGTATACAGTTCGGTTTGTTTAATTAAGTTGGGTATATAG (160 bp)

Afl -2  GTATGTAATCACGTACTACA-TTATTTCTCTGCATAACGGCCTGAA-TATTTGAAT--TCCATCTCTCAATTTTG-TC----TTG--TTTATTAG (167 bp)
Ake -2  GTATGTA---------TACTTTTAATT--------AACCACATACATTATTTATATACTCCAT-TC-----ATTGCTCATTATTGAGTTCATTAG (160 bp)
        1                            30                            60                         90
```

図３．カラマツソウ亜科における *adh* 遺伝子イントロン３の塩基配列（Kosuge *et al.*, 1995）.
括弧内の数値は各イントロンの長さを示す.

adh 2では E: キンポウゲ亜科, F: クリスマスローズ亜科と *Hydrastis* の２群に分かれる．イントロン配列はＦ群以外の各群内では相同性が高いが，異なる群間では配列の相同性が認められない．葉緑体遺伝子などの解析において，従来クリスマスローズ連 Helleboreae に入れられていたセツブンソウ *Eranthis pinnatifida* Maxim. は，サラシナショウマ連 Cimicifugeae のサラシナショウマ属 *Cimicifuga* Wernish. やルイヨウショウマ属 *Actaea* L. に近縁であることが示されており（Jensen *et al.*, 1995），本研究の *adh* 遺伝子の塩基配列に基づく系統樹もこれを支持した.

エクソンの塩基配列に比べてイントロンは進化速度も速く，より近縁な群での系統解析に有効と思われる．たとえば，Ｃ群のカラマツソウ亜科のイントロン３の配列は図３に示したように整列できる．ヤマオダマキ *Aquilegia buergeriana* Sieb. et Zucc. とヒメウズ *Semiaquilegia adoxoides* (DC.) Makino の配列（Abu - 1, Sad - 1）は２カ所の挿入と欠失を除けば，１塩基しか違いがない．また，チチブシロカネソウ *Enemion raddeanum* Regel, *Isopyrum thalictroides* L. とトウゴクサバノオの３種の配列（Era - 1, Ith - 1, Dtr - 1）はイントロン３に数個の１～２ bp の短い挿入や欠失があるだけで極めて類似し，エクソン配列の相同性も高いことより，これら３種は単系統群と考えられる．一方，カラマツソウ属 *Thalictrum* L. の３種の配列（Tmi - 1, Tac - 1, Tfi - 1）では，シギンカラマツ *Thalictrum actaefolium* Sieb. et Zucc. の配列（Tac - 1）に長い欠失部位が認められる．カラマツソウ亜科でのイントロン配列とエクソン系統樹の分岐より，この欠失はシギンカラマツの独立派生形質とみなされる.

Brachyscome 属における *adh* 遺伝子の解析

Brachyscome 属はオーストラレイシア地域に固有なキク科シオン連 Astereae の植物である．分布の中心であるオーストラリア大陸ではさまざまな生育環境に適応して形態や繁殖習性，染色体の数や構造などが幅広く変異し，約70種を越える種が認められる（Davis, 1948, 1949; Smith-White *et al.*, 1970; Watanabe & Short, 1992)．染色体数の変化を遺伝子レベルで捉えるため，葉緑体遺伝子の系統樹（傳田 未発表）と果実の

表１．*Brachyscome* 属における *adh* 遺伝子増幅断片（Denda *et al.*, 1995).

種名	染色体数 (n)	増幅断片	Intron 3 長さ (bp)	挿入配列 長さ (bp)	認識配列
B. aculeata (Labill.) Less.	9	Acu -1	248	—	—
		Acu -2	213	—	—
B. chrysoglossa F.Muell.	4	Chr -1	505	281	TACTTATAA
		Chr -2	353	90	CTTGTCTCGATT
		Chr -3	338	77	CTTGTCTCGATT
B. curvicarpa G.L.Davis	4	Cur -1	113	—	—
B. dentata Gaudich.	4	Den -1	548	278	TAAACTT
		Den -2	247	—	—
B. papillosa G.L.Davis	4	Pap -1	544	280	TAAACTT
		Pap -2	352	82	CTTGTCTCGATT
		Pap -3	260	—	—
B. tetrapterocarpa G.L.Davis	4	Tet -1	325	71	CTTGTCTCGATT

NII-Electronic Library Service

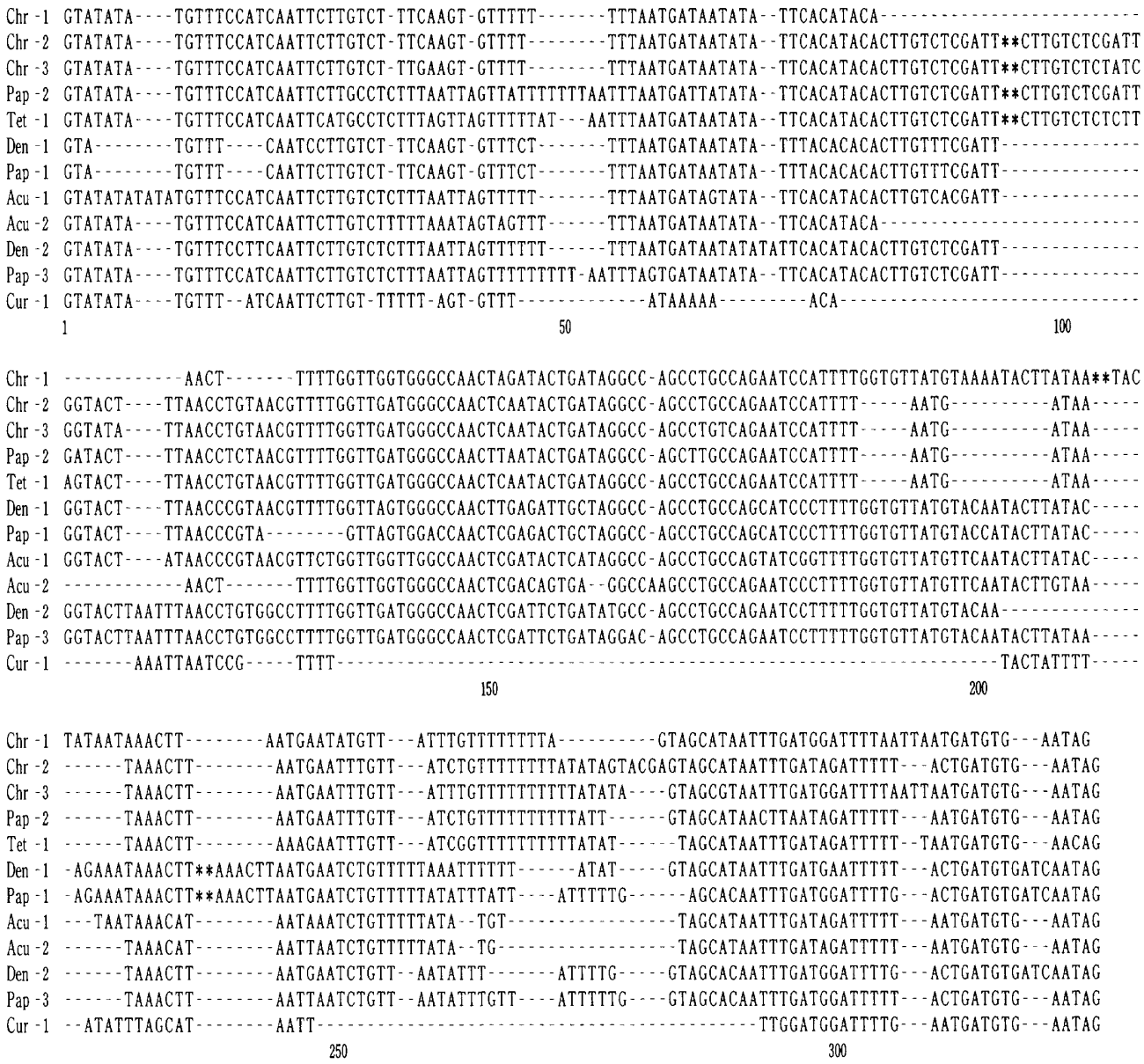

図４．*Brachyscome* 属における *adh* 遺伝子イントロン３の塩基配列（Denda *et al.* 1995）．
＊＊は挿入配列の位置を示す．増幅断片記号：表１参照

特徴より単系統性が認められた aculeata 群の６種（表１）において *adh* 遺伝子の解析を行った．

増幅によりそれぞれの種から１～３種類の *adh* 遺伝子断片が得られ，表１に分子量の大きいものから順に示した．イントロン３の大きさは113～548 bp でありキンポウゲ科と比べると長いものが多く，とくに *B. dentata, B. papillosa, B. chrysoglossa* では500 bp 以上であった．エクソン塩基配列は相同性が高く，系統解析に有効な変異は22部位であった．系統樹では遺伝子間や種間の関係は明確にはできないが，同じ長さのイントロンを持つ断片がそれぞれひとつのクレードにまとまる傾向が見られた．

イントロンの長さの突然変異は，微少な塩基の欠失，挿入や直列重複のコピー数の変化，あるいはレトロポゾンやトランスポゾンなどの転移因子の挿入などに起因する（斉藤　1994）．転移因子が関与する場合，挿入配列は比較的長く，挿入認識部位の配列は重複する（大坪 1991；岡田　1994 a）．*Brachyscome* 属のイントロン配列内には AT や T の数塩基対の短い挿入や欠失が多く含まれるが，数種の増幅断片では図４の＊＊印で示した位置に，71-281 bp の比較的長い挿入が認められた．これらの長い挿入配列の前後や内部には重複を示唆するような類似した配列の繰り返しはない．しかし，挿入配列の両側には数塩基対の直接反復配列が存在するため（図４，表１），これらは挿入因子に由来すると推定される（Denda *et al.*, 1995）．

図５に示したように挿入因子は，配列の相同性，挿入の位置と認識部位の配列より３種類に区別できる．*B. chrysoglossa* の Chr－1 の挿入因子では配列の前半部が植物の５ｓ RNA 遺伝子と高い相同性を示す．*B.*

NII-Electronic Library Service

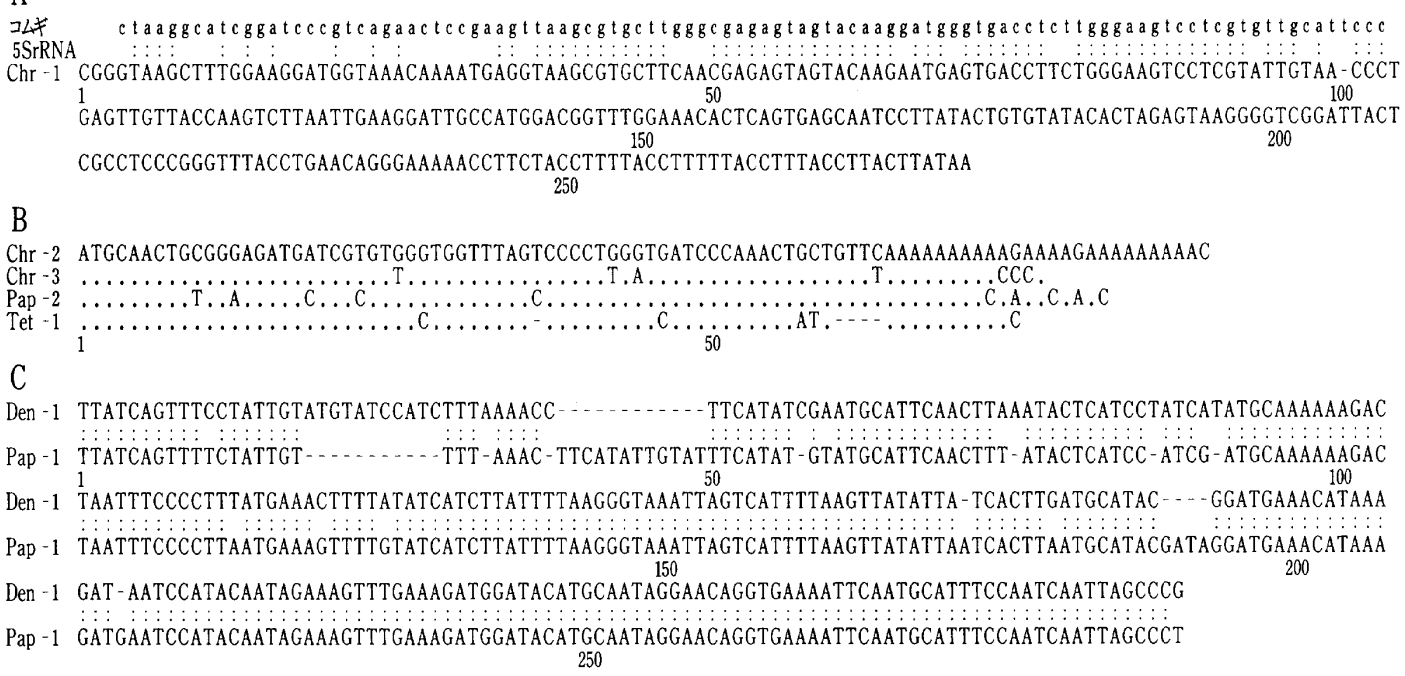

図５． *Brachyscome* 属における *adh* 遺伝子内の挿入因子配列（Denda *et al.* 1995）．
増幅断片記号：表１参照　A，B，C：本文参照

papillosa, B. chrysoglossa と *B. tetrapterocarpa* ではそれぞれ Pap－2，Chr－2，Chr－3 と Tet－1 において 3' 末端にポリ A 鎖をもつ挿入配列があり，これはレトロポゾンの一種，SINE（Short Interspersed Element）因子にみられる特徴である（Jagadeeswaran *et al.*, 1981）．また，*B. dentata*（Den－1）と *B. papillosa*（Pap－1）では約280 bp の挿入配列がみられるが，この配列には明確な特徴はない．一方，これら以外の増幅断片では，挿入因子は見いだされないが認識部位と同じ配列が存在する．したがって，いろいろな転移因子の挿入は遺伝子が重複した後に起こり，同じ種類の挿入因子を持つ遺伝子はそれぞれ同一の起源と考えられる．

Brachyscome 属では *aculeata* 群以外でも *adh* 遺伝子断片にトランスポゾン由来や異なる特徴を持つ挿入因子が見いだされた．このような挿入因子は，染色体数が n＝4 または 3 にまで減少した種には存在するが，n＝9 の種群では同じ挿入認識配列があるにも関わらず，見いだされていない．また，増幅される *adh* 遺伝子断片の数は，一般に n＝4 や 3 の染色体を持つ種群のほうが n＝9 を持つの種群よりも多い傾向にある．このように染色体数がより少ない種で *adh* 遺伝子について数や構造の多様化が認められすので，染色体数 n＝9 の種群から染色体数の減少した種が派生したと考えられる．

生物のゲノム中にはさまざまな種類の挿入因子が存在し，ゲノムの再編成に密接に関わっている（大坪 1991）．*Brachyscome* 属における多様な挿入因子の出現は，McClintock（1984）が推定しているように強い環境のストレスや染色体の構造変化がひきがねになって起こっているのか，それともこれらの因子の挿入が構造変化を引き起こす原因に成っているのか興味深い問題である．*Brachyscome* 属では挿入因子をもつ群で，染色体の数や形だけでなく，形態や繁殖習性の特殊化が起きている．このような派生的な特徴を持つ種群がおもに生育するオーストラリアの半乾燥帯では，洪水により植物体や種子が水面下に没する（渡邊　1975）．イネ科の *adh* 遺伝子には冠水状態など非常に嫌気的な条件下で主に発現するものがあり（Ricard *et al.*, 1986；Sachs & Freeling, 1978），*Brachyscome* 属の *adh* 遺伝子群についても発現機構や機能分化の面から調査する必要がある．

核遺伝子を用いた系統解析の有効性

塩基配列を用いた系統解析の有効性は，比較する遺伝子の種類だけでなく，解析する分類群の階層や種類によって左右される．葉緑体遺伝子に比べ，核遺伝子は遺伝子重複，イントロンの存在，配列保存部位が少ないなど，広範囲の生物群の系統解析を行うには不利な点が多い．核支配の adh 遺伝子断片を用いた解析では，比較したエクソン配列が短いにも関わらず，キンポウゲ科では系統樹上における遺伝子座の識別，属間や種間の系統解析が可能であった．しかし，キンポウゲ科に比べて分

NII-Electronic Library Service

The Society for the Study of Species Biology

化の歴史が比較的新しいと考えられるキク科 *Brachyscome* 属内では，増幅断片の配列からは明確に遺伝子座間や種間の関係を示すことはできない．

イントロンなどの非コード領域ではエクソンと比べて配列の進化速度が速く（Li & Grau, 1991），塩基置換だけでなく，欠失や挿入といったギャップが生じるなど複雑な機構で配列の変化が起こっている．キンポウゲ科のようにイントロンの相同性が高く，ギャップが短い場合は，配列を用いて系統樹を作成することや，短鎖のギャップを含む配列の解析法（Golengerg *et al.*, 1993；斉藤 1994）を応用することも可能である．しかし，*Brachyscome* 属のように，挿入配列の特徴を除いて，遺伝子間の相同性が高く，遺伝子座を特定し難い場合は，配列から直接，種の系統樹を作成できない．このような場合は同じ挿入因子を共有する種群が共通の祖先種より分化したと考え，サケ科の系統解析（岡田 1994 b）と同様に挿入因子の分布をもとに，遺伝子座の相同性や種間の関係を分岐学的に推定するのが適切であろう．

より正確な系統推定を行うためには，異なる遺伝様式を持つ葉緑体遺伝子と核遺伝子の両方を解析し，系統樹を総合的に判断することが必要である．核遺伝子にはエクソンとイントロンという進化速度と進化機構が異なる部位が含まれ，属間や属内といった近縁な群の系統解析には有効と考えられる．また，遺伝子を直接解析することにより，器官，発生段階や環境条件など特異的に発現する酵素遺伝子や機能を失った偽遺伝子も調べることができ，アイソザイム解析では困難であった倍数体形成や適応的な種分化を解明することにも活用されるであろう．

引 用 文 献

Clegg, M.T. 1993. Chloroplast gene sequences and the study of plant evolution. Proc. Nat. Acad. Sci. USA **90** : 363-367.

Clegg, M.T. & G. Zurawski 1991. Chloroplast DNA and the study of plant phylogeny: Present status and future prospects. *In*: P.S. Soltis, D.E. Soltis & J. J. Doyle (eds), Molecular Systematics of Plants. p. 1 -13. Chapman & Hall, New York.

Davis, G.L. 1948. Revision of the genus *Brachycome* Cass. Part I. Australian species. Proc.Linn.Soc.New South Wales. **73** : 142-241.

Davis, G.L. 1949. Revision of the genus *Brachycome* Cass. III. Description of three new Australian species, and some new locality records. Proc. Linn. Soc. New South Wales. **74** : 145-152.

Denda, T., K. Kosuge, K. Watanabe, M. Ito, Y. Suzuki, P.S. Short & T. Yahara 1995. Intron length variation of the *adh* gene in *Brachyscome* (Asteraceae). Pl.Mol.Biol. (in press).

Dennis, E.S., W.L. Gerlach, A.J. Pryor, J.L. Bennetzen, A. Inglis, D. Llewelyn, M.M. Sachs, R.J. Ferl & W.J. Peacock 1984. Molecular basis of the alcohol dehydrogenase (*Adh* 1) gene of maize. Nucleic Acids Res. **12** : 3983-40000.

Dennis, E.S., M.M. Sachs, W.L. Gerlach, E.J. Finnergan & W.J. Peacock 1985. Molecular analysis of the alcohol dehydrogenase 2 (*Adh* 2) gene of maize. Nucleic Acids Res. **13** : 727-743.

Doebley, J., M.L. Durbin, E. Golenberg, M.T. Clegg & D.P. Ma 1990. Evolutionary analysis of the large subunit of carboxylase (*rbc*L) nucleotide sequence among the grass (Gramineae). Evolution **44** : 1097-1108.

Golenberg, E.M., M.T. Clegg, M.L. Durbin, J. Doebley & D.P. Ma 1993. Evolution of a noncoding region of the chloroplast genome. Mol. Phylogen. Evol. **2** : 52-64.

Gottlieb, L.R. 1982. Conservation and duplication of isozymes in plants. Science **216** : 373-380.

Gregory, W.C. 1941. Phylogenetic and cytological studies in the Ranunculaceae Juss. Trans. Amer. Phil. Soc., n.s., **31** : 443-521.

Hoot, S.B. 1995. Phylogeny of the Ranunculaceae based on *atp*B, *rbc*L and 18S nuclear ribosomal DNA sequence data. Pl. Syst. Evol. (in press).

Jagadeeswaran, P., B.G. Forget & S.M. Weissman 1981. Short interspersed repetitive DNA elements in eucaryotes: transposable elements generated by reverse transcription of RNA pol III transcripts ? Cell **26** : 141-142.

Jensen, U., S.B. Hoot, J.T. Johansson & K. Kosuge 1995. Systematics and phylogeny of the Ranunculaceae - a revised family concept on the basis of molecular data. Pl. Syst. Evol. (in press).

NII-Electronic Library Service

The Society for the Study of Species Biology

Johansson, J.T., Jansen R.K. 1993. Chloroplast DNA variation and phylogeny of the Ranunculaceae. Pl. Syst. Evol. **187** : 29-49.

Johansson, J. T. 1995. A revised chloroplast DNA phylogeny of the Ranunculaceae. Pl. Syst. Evol. (in press).

Kim, K.J. , R.K. Jansen, R.S. Wallace, H.J. Michaels & J.D. Palmer 1992. Phylogenetic implications of *rbc*L sequence variation in the Asteraceae. Ann. Missouri Bot. Gard. **79** : 428-445.

Kosuge,K., K. Sawada, T. Denda, J. Adachi & K. Watanabe 1995. Phylogenetic relationships of some genera in the Ranunculaceae based on alcohol dehydrogenase genes. Pl. Syst. Evol. (in press).

Kumer, S., K. Tamura & M. Nei 1993. MEGA: molecular evolutionary genetic analysis, version 1.0. The pennsylvania State University, University Park.

Langlet, O. 1932. Über Chromosomenverhältnisse und Systematik der Ranunculaceae. Svensk Bot. Tidskr. **26** : 381-400.

Li, W.-H. & D. Grau 1991. Fundementals of Molecular Eolution. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

McClintok, B. 1984. The significance of responses of the genome to challenge. Science **226** : 792-801.

大坪久子 1991. トランスポゾンによるゲノムの再構成 細胞工学 **10** : 51-80.

岡田典弘 1994 a. レトロポゾンとゲノムの進化. 遺伝 **48** : 62-68.

岡田典弘 1994 b. 進化の時標としてのレトロポゾン. 蛋白質核酸酵素 **139** : 2724-2735.

Ricard, B., B. Mocquot, A. Fournier, M. Delseny & A. Pradet 1986. Expression of alcohol dehydrogenase in rice embryos under anoxia. Plant Pol. Biol. **7** : 321-329.

Sachs, M.M. & M. Freeling 1978. Selective synthesis of alcohol dehydrogenase during anaerobic treatment of maize. Mol. Gen. Genet. **161** : 111-115.

斉藤成也 1994. 塩基配列の挿入・欠失による進化と突然変異のメカニズム. 蛋白質 核酸 酵素 **139** : 2706-2714.

Smith-White, C.R. Carter, H.M. Stace 1970. The cytology of *Brachycome*.I. The subgenus *Eubrachycome*: A general survey. Aust. J. Bot. **18** : 99-125.

Swofford, D.L. 1993. PAUP: Phylogenetic analysis using parsimony ver. 3.1 . Illinois Natural History Survey, Champaign, Illinois.

Tamura, M., 1966. Morphology, ecology and phylogeny of the Ranunculaceae VI. Sci. Rep. Osaka Univ. **15** : 13-35.

Wolfe, K.H., W.-H. Li & P.M. Sharp 1987. Rates of nucleotide substitution vary greatly among plant mitochondrial, chloroplast, and nuclear DNAs. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **84** : 9054-9058.

Wolfe, K.H., P.M. Sharp & W.-H. Li 1989. Rates of synonymous substitution in plant nuclear genes. J. Mol. Evol. **29** : 208-211.

渡邊邦秋 1975. オーストラリア大陸にブラキスコーム（２ｎ＝４）をもとめて. 遺伝 **29** : 51-57.

Watanabe, K. & P.S. Short 1992. Chromosome number determinations in *Brachyscome* Cass. (Asteraceae: Asterae) with comments on species delimitatiom, relationships and cytogeography. Muelleria **7** : 457-471.

NII-Electronic Library Service