

# ヒノキ科針葉樹を用いた生物の分類と系統に関する教材の開発

富川 光・倉林 敦<sup>1</sup>・嶋村正樹

(2021年10月5日受理)

Development of Teaching Material on Taxonomy and Phylogeny Using  
Cupressaceae Conifers

Ko Tomikawa, Atsushi Kurabayashi<sup>1</sup> and Masaki Shimamura

**Abstract:** In this study, we developed teaching materials for learning the methods of taxonomy and phylogeny, using coniferous trees of the family Cupressaceae. Seven species of Cupressaceae—which are readily available and easy to identify based on leaf morphology—were selected as teaching materials. After presenting an example of classification based on leaf morphology, we introduced a method for phylogenetic analysis of Cupressaceae using DNA sequences registered in the DNA database. By integrating the results of morphological observation and molecular phylogenetic analysis, learners can recognize taxonomic groups based on phylogenetic relationships and consider the process of morphological evolution.

Key words: biodiversity, evolution, molecular phylogeny, morphological features

キーワード：生物多様性，進化，分子系統解析，形態形質

## はじめに

近年、生物教育において生物分類の基本となる考え方を身に着けることが重要視されるようになり、現行の学習指導要領では中学校1年の生物分野で生物の分類が中心に扱われている（文部科学省 2017）。ここでは、特に種多様性を理解するための分類学的思考力の習得が重要であると考えられている（名倉・松本 2019）。中学校での生物分類の学習を受けて、高等学校生物の「生物の系統と進化」の単元では、生物の遺伝情報に基づいて生物の系統が推定できることを理解することがねらいとされている（文部科学省 2018）。これまでに生物の分類や系統分野の教材開発に関する研究報告はいくつかあるものの、それらは形態情報に基づく種の同定や（e.g. Randler 2008; Jacquemart et al. 2016）、遺伝子データに基づく系統推定（e.g.

Zhang 2012）にとどまっており、形態観察に基づく分類と分子系統解析の結果を統合して考察する学習教材はほとんど見られない。

裸子植物のうち、針葉樹（球果類）と呼ばれるものは、大きくマツ科、ナンヨウスギ科、イヌマキ科、コウヤマキ科、ヒノキ科、イヌガヤ科、イチイ科などに分類されている。針葉樹は、建材や園芸などに利用されることが多く、人間生活に関わりの深い樹木である。そのうちヒノキ科は世界から7亜科約140種が知られており、日本にはヒノキ亜科8種およびスギ亜科1種が分布する。この他、スギ亜科のラクウショウ、セコイア亜科のセコイアやメタセコイアなどが街路樹として植栽されている。ヒノキ科は葉の形態や配列様式などの多様性が高いため、形態形質に基づく生物分類の学習教材として適していると考えられる。また、DNA塩基配列の比較による系統解析に関する知見も蓄積されており（Gadek et al. 2000; Kusumi et al. 2000; Liu et al. 2011; Pittermann et al. 2012）、葉の形

<sup>1</sup>長浜バイオ大学バイオサイエンス学部

態観察と分子系統解析を統合した系統分類の学習材料としても活用が期待される。そこで、本研究では葉の形態的多様性が観察しやすく、かつ生葉が比較的容易に入手できることを基準として、ヒノキ科のヒノキ、アスナロ、ネズミサシ、スギ、ラクウショウ、セコイア、メタセコイアを素材として取り上げ、主として高等学校生物の分類と系統の分野において活用できる教材の開発を行なった。各種の分類学的位置は次の通りである。

#### ヒノキ亜科

ヒノキ属ヒノキ・アスナロ属アスナロ・ビャクシン  
属ネズミサシ

#### スギ亜科

スギ属スギ・ヌマスギ属ラクウショウ

#### セコイア亜科

セコイア属セコイア・メタセコイア属メタセコイア

### 葉の形態の比較に基づく分類

#### 1. 葉の形態の多様性と共通性

本稿で扱う樹種の葉の形は、1) 針形、2) 鱗形、3) 線形の3つのタイプに分けることができる(表1)。

針形の葉は硬く細長い針状を呈し、ネズミサシとスギにみられる葉のタイプである(図1A, B)。針形の葉は針葉樹の名のもとになっている形状であるが、後述の通り全ての針葉樹がこのタイプの葉をもつわけではない。鱗形の葉は小さな鱗片状を呈し、ヒノキとアスナロにみられるタイプである(図1C, D)。鱗形の葉は針形の葉もしくは幅広い線形の葉から進化したと考えられている。ラクウショウ、セコイア、メタセコイアは細長い線形の葉をもち、これらが集まって羽状を呈する(図1E-G)。

一方、葉の配列様式は、1) 互生、2) 対生、3) 輪生に分けることができる(表1)。互生は、葉が茎に交互につく様式で、ラクウショウとセコイアにみられる(図1E, G, 2A)。スギの場合、らせん状に互生するというやや特殊な様式を示す(図1A, 2B)。対生は2枚の葉が向かい合って茎につく様式で、メタセコイアのように葉が同一平面上に位置するタイプ(図1F, 2C)と、ヒノキ、アスナロのように隣り合った葉の対同士が垂直に配置されるタイプ(図1C, D, 2D)があり、後者を特に十字対生という。輪生は茎の同じ場所から3枚以上の葉がつく様式で、ネズミサシがこれにあたる(図1B, 2E)。ネズミサシは1箇

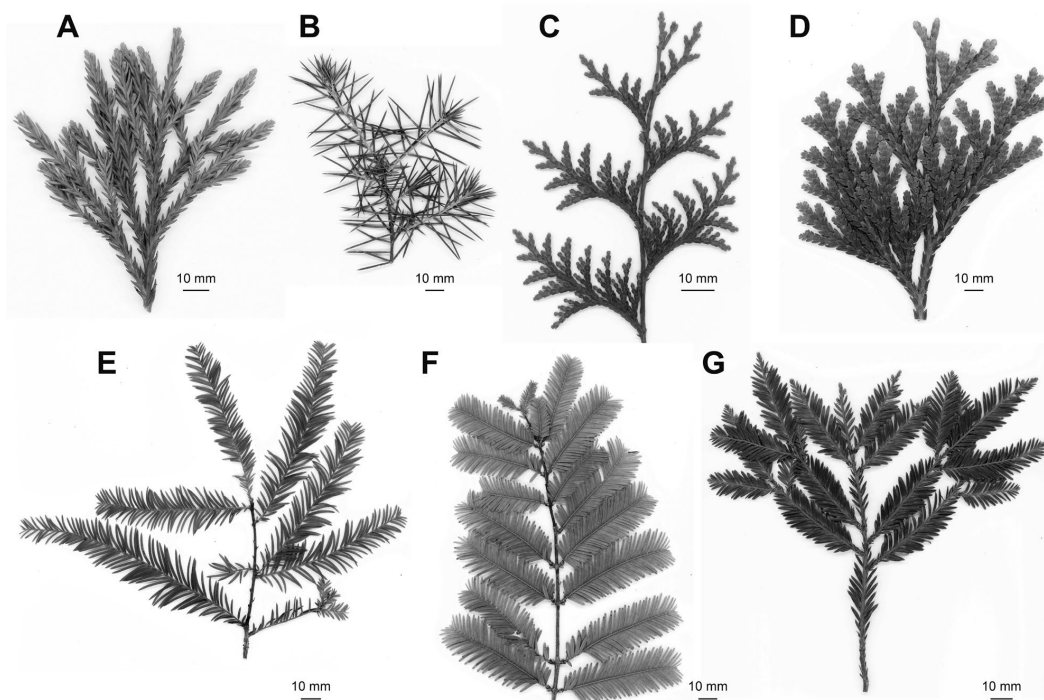


図1. ヒノキ科7種の葉の形態。A, スギ。B, ネズミサシ。C, ヒノキ。D, アスナロ。E, ラクウショウ。F, メタセコイア。G, セコイア。

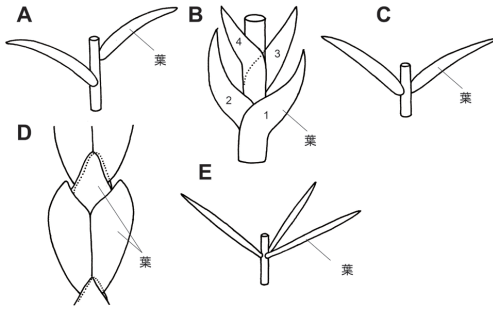


図2. 葉の配列様式. A, 互生. B, らせん状に互生(下方から上方に向かって1-4の順にらせん状に葉がつく). C, 対生. D, 十字対生. E, 輪生.

所から3枚の葉がでるため、3輪生とよばれる。

針葉樹は季節を問わず葉を茂らせているイメージがあるかもしれないが、常緑樹と落葉樹が存在する。本稿で扱う7種の中ではラクウショウとメタセコイアが秋に葉を落とす落葉樹で、それ以外の種は常緑樹である(表1)。

表1. 種ごとの葉の特徴

種名	葉形	配列様式	常緑/落葉
スギ	針形	らせん状に互生	常緑
ネズミサシ	針形	輪生	常緑
ヒノキ	鱗形	十字対生	常緑
アスナロ	鱗形	十字対生	常緑
ラクウショウ	線形(羽状)	互生	落葉
メタセコイア	線形(羽状)	対生	落葉
セコイア	線形(羽状)	互生	常緑

## 2. 葉の形態比較に基づく分類

生物分類では、1) 対象分類群の間の差異を見出して分けること、および2) 共有形質に基づいてまとめること、の2つを行う。ここでは、葉の形態的特徴に基づいたヒノキ科7種の分類の例を示す。

### 2-1. 形態的差異を見出す

標本もしくは写真などの資料を用いて、種間の相違点を見つける。前述の葉形や配列様式、落葉の有無(表1)は比較的分かりやすい形質であるが、これらの形質の組み合わせだけでは、ヒノキとアスナロを区別することができない。そこで、種を分けるためには、さらに細かい形質を検討する必要がある。ヒノキとアスナロの葉はよく似るが、裏面を観察することで容易に区別できる。すなわち、ヒノキの葉裏面にはY字形の気孔帯(白線)がある(図3A)のに対し、アスナロの気孔帯は非常に幅広くY字形にはならない(図

3B)。セコイアとラクウショウは落葉の有無で区別できるが、葉の形態や配列様式は酷似する。しかし、セコイアの葉は裏面に2本の気孔帯(比較的幅の広い白色の模様)がある(図3C)のに対し、ラクウショウは白色模様を欠く(図3D)ことで区別できる。これは、セコイアは表裏の区別が容易だが、ラクウショウは表裏が区別しにくいと言い換えることができる。また、セコイアの葉はラクウショウに比べて太短く葉同士が重なることが多い点も異なる。

このようにして形態的特徴に基づいて種の区別ができたなら、次のステップとして、似た特徴をもつ種同士をまとめる作業を行う。

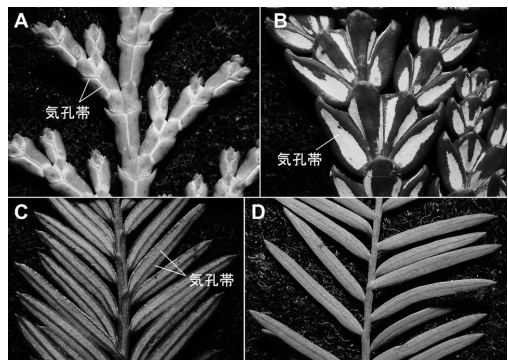


図3. 葉の裏面. A, ヒノキ. B, アスナロ. C, セコイア. D, ラクウショウ.

### 2-2. 共有形質に基づいてまとめる

葉の形態や配列様式の共通性に基づいて仲間分けを行う。ここでは、どの基準を用いるかによってグルーピングの結果が異なる場合があることに気づかせることが重要である。例えば、葉形の共有に基づいてまとめると、1) スギ+ネズミサシ(針形)、2) ヒノキ+アスナロ(鱗形)、3) ラクウショウ+メタセコイア+セコイア(線形)という3つのグループに分けることができる(図4A)。一方、葉の配列様式に基づくとはやり3つのグループに分けられるが、各グループの構成種は、葉形に基づいた結果とは異なる(図4B)。さらに葉形と配列様式、葉形と常緑/落葉といった2形質を組み合わせると、また異なったグルーピングの結果が得られる(図4C, D)。さらに組み合わせる形質の数を3つ、4つと増やしてグルーピングすることもできる。このようにして作成したグループが針葉樹の進化史を反映したものであるか否かを確認するために、次にDNA塩基配列の比較による系統関係の推定を行う。

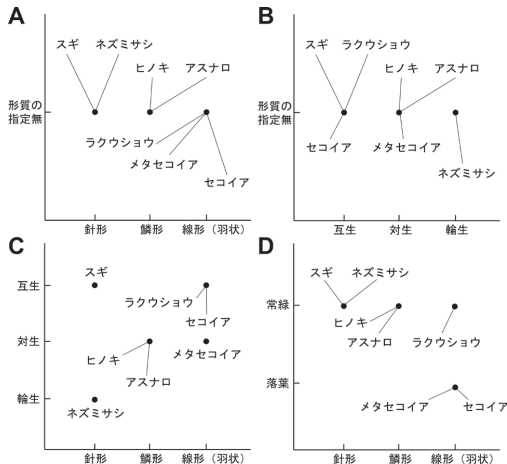


図4. 形質の共有に基づく仲間分けの例。A, 葉の形に基づく3つのグループに分かれる。B, 葉の配列様式に基づくAとは異なる3グループに分かれる。C-D, 2つの形質の組み合わせに基づくグルーピングの結果。

## DNA 塩基配列の比較による系統推定

系統解析には、フリーの系統樹推定プログラムMEGAを用いる。現在の最新版はMEGA Xで(Kumar et al. 2018), <https://www.megasoftware.net/> からダウンロードできる。系統推定には、植物のDNAバーコーディング領域として使用されている葉緑体遺伝子 *matK* の塩基配列を用いる。系統解析の外群には、イチイ科のイチイを選択する。本稿で解析対象としたヒノキ科の7種および外群として使用するイチイのDNA塩基配列登録番号を表2に示す。

表2. 分子系統解析に用いる種およびDNA塩基配列登録番号

種名	DNA 塩基配列登録番号	出典
スギ	AB030115	Kusumi et al. (2000)
ネズミサシ	AB030136	Kusumi et al. (2000)
ヒノキ	AB030133	Kusumi et al. (2000)
アスナロ	AB030134	Kusumi et al. (2000)
ラクウショウ	AB030121	Kusumi et al. (2000)
メタセコイア	AB030122	Kusumi et al. (2000)
セコイア	AB030123	Kusumi et al. (2000)
イチイ (外群)	HM591011	Liu et al. (2011)

## 1. 系統樹の作成方法

### 1-1. DNA 塩基配列データの取得

- ①MEGA を起動し、ALIGN から Query Databanks を選択するとNCBI (アメリカ国立生物工学情報センター) のホームページにリンクされる。
- ②検索窓に解析対象種のDNA塩基配列登録番号を入力し、検索をかけると遺伝子情報が表示される(検索窓の左のボックスにNucleotideが表示されていることを確認)ので、ページ右上のAdd To Alignmentをクリックし、塩基配列データを取得する(配列のラベル表示に関する問いかけが出るので、適宜必要な情報を選択する)。解析対象の全ての種について同様の操作を行い、塩基配列データを得る。
- ③塩基配列が表示された画面で、メニューバーのDataからSave Sessionを選択し保存する。

### 1-2. 塩基配列のアラインメント

*matK* 遺伝子は挿入や欠失(ギャップ)により種によって塩基配列の長さが異なる場合がある。そのため、相同領域を整列させて(アラインメント)比較する必要がある。

- ①メニューバーのEditからSelect Allをクリックすると全ての配列が選択された状態になる。
- ②メニューAlignmentからAlign by ClustalWを選択し、デフォルト設定でOKをクリックするとアラインメントが実行され結果が表示される。
- ③メニューDataのExport AlignmentからMEGA Formatを選択し保存する(MEGA形式で保存)。Titleは入力せずにOKをクリックして問題ない。Protein-coding nucleotide sequence data?と問われるのでYesをクリックする(*matK*はタンパク質をコードする遺伝子)。

## 2. 系統樹の作成

系統樹の推定方法には様々な方法があるが、ここではMEGAで解析可能な最尤法、最節約法、近隣結合法について解説する。なお、最尤法は計算に時間がかかるため、限られた時間内に系統樹推定を行う必要がある場合は、近隣結合法や最節約法の選択を勧める。

- ①最尤法で系統樹を作成する場合は、解析に適したモデルを計算して選択する必要がある。MEGA形式で保存されたデータを開いた状態でホーム画面のメニューMODELSからFind Best DNA/Protein Models (ML)...を選択し、デフォルト設定でOKをクリックするとモデル選択結果が表示される。通常、リストの一番上に表示されたモデルが解析に用いられる(本データセットではGTR+G+I)。近隣結合法、

最節約法では、この操作は不要である。

- ②MEGA 形式で保存されたデータを開いた状態でホーム画面の PHYLOGENY から Construct/Test ### Tree...をクリックする。近隣結合法なら ### の箇所は Neighbor-Joining, 最節約法なら Maximum Parsimony, 最尤法なら Maximum Likelihood となる。
- ③系統樹の分岐点における統計的信頼度を計算するためにブートストラップ値を計算する。PHYLOGENY TEST の Test of Phylogeny から Bootstrap method を選択し, No. of Bootstrap Replications に1000を入力する。
- ④塩基置換モデルを選択する。③と同じ画面で SUBSTITUTION MODEL からモデルを選択する。最尤法の場合は①で示されたモデルを, 近隣結合法では Model/Method から Maximum Composite Likelihood を選択し, OK をクリックすると系統樹が表示される。最節約法はモデルを選ばないので, そのまま OK をクリックする。
- ⑤外群を指定する。系統樹が表示された画面で外群(イチイ)の枝をクリックし, 左のツールバー上から2番目の Root the tree on the selected branch をクリックすると, イチイが系統樹の分岐の基部に移動する。

### 3. 分子系統解析の結果と解釈

*matK* 遺伝子を用いた分子系統解析の結果得られたヒノキ科の分子系統樹を図5に示す。最尤法, 最節約法, 近隣結合法のどの解析方法でも同様の樹形が得られ, 各分岐の統計的支持値(ブートストラップ値)も高いことから, 得られた系統関係の信頼度は高いと判断できる。

分子系統樹からは, 1) ヒノキ+ネズミサシ+アスナロ, 2) スギ+ラクウショウ, 3) メタセコイア+セコイアが単系統群を形成することが分かる。分類学的には, それぞれにヒノキ亜科, スギ亜科, セコイア亜科の分類群名が与えられている (Gadek et al. 2000)。得られた系統樹に各種の葉形, 配列様式, 落葉の有無をマッピングすることで, 各形質が系統を反映しているか否か, つまり自然分類を行なうために用いる形質として適しているかを考察する。

鱗形の葉はヒノキとアスナロの共有形質のひとつであり, 両種は同一グループのヒノキ亜科に含まれる。しかし, 分子系統樹上では, 針形の葉をもつネズミサシがヒノキと姉妹群(最も近縁な関係)になり, 鱗形の葉をもつヒノキとアスナロのみからなる単系統群は認められない。また, 針形の葉はスギとネズミサシの

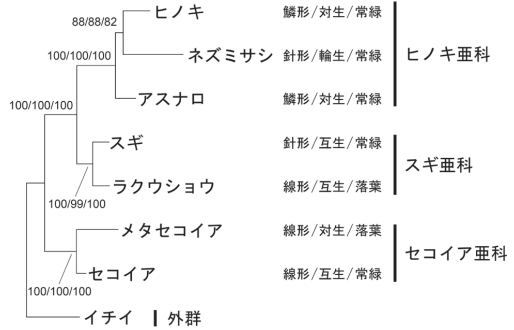


図5. ヒノキ科7種の分子系統樹。*matK* 遺伝子の1416塩基対の比較により最尤法で作成。分岐点付近の数値はブートストラップ値で, 最尤法/最節約法/近隣結合法における計算値を示す。

共有形質であるが, 分子系統樹上ではこれらの種も単系統群にならない。線形(羽状)の葉をもつメタセコイアとセコイアは同じグループ(セコイア亜科)にまとまる。しかし, 同じく線形の葉をもつラクウショウは針形の葉のスギのグループに含まれる。つまり, 線形の葉という形質を共有する3種は, 分子系統樹上では単系統群ではない。以上の結果から, 針形, 鱗形, 線形という形質は, 厳密には系統を反映していないことが分かる。

葉の配列様式についても同様の検討を行う。互生はスギ, ラクウショウ, セコイアの共有形質であるが, これら3種は単系統群を形成しない。対生はメタセコイア, ヒノキ, アスナロにみられるが, これらも単系統群にならない。つまり, 葉の配列様式も系統を反映した形質ではないことが分かる。落葉するのはラクウショウとメタセコイア, その他の種は常緑であるが, 落葉樹種, 常緑樹種ともに単系統にはならない。そのため, 落葉の有無も系統を反映していないことが分かる。

以上のように, 葉形, 配列様式, 落葉の有無は, それぞれ単独では自然分類に適した形質として使用することができないことが分かる。しかし, これら3形質を組み合わせることで自然分類に即したグルーピングが可能になる。すなわち, ヒノキ亜科の種は「針形の葉が輪生する」もしくは「鱗形の葉が対生する」, スギ亜科の種は「針形の葉が互生する」もしくは「落葉性の線形の葉が互生する」, セコイア亜科の種は「落葉性の線形の葉が対生する」もしくは「常緑性の線形の葉が互生する」と定義することで, 3分類群を認めることができる(図6)。

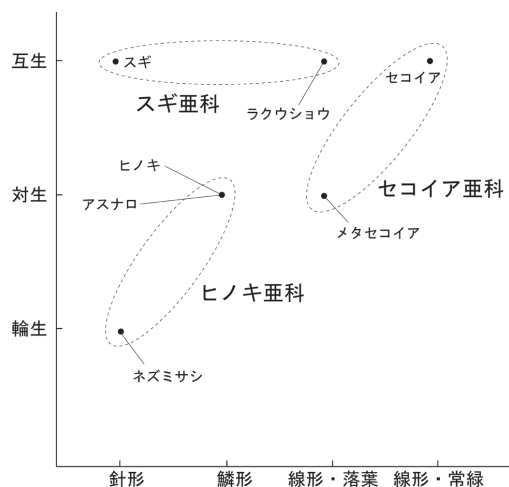


図6. 葉の形、配列様式、落葉の有無の3形質を組み合わせると、系統を反映した3つのグループを見いだすことができる。

## おわりに

針葉樹は林業による植林が盛んに行なわれてきたことや、公園樹や街路樹として多く利用されていることから、日本では身近な樹木であり、入手も容易である。また、常緑樹が多いため、季節を問わずに観察がしやすい。さらに乾燥に強い肉厚の葉をもつ種が多いため、葉の採集後、比較的長時間の観察に耐える。このような針葉樹の特徴は、教材生物として優れている点である。日本産の針葉樹の中で最も種多様性が高いのはマツ科で、23種が知られている(中川 1994)。しかし、マツ科の葉は針形あるいは固い線形で、形態的な多様性はヒノキ科と比較して小さい。一方、ヒノキ科は針形、鱗形、線形と葉の形態の多様性が著しく高い。そのため、葉の形態比較に基づく分類や系統の学習材料としては、針葉樹の中ではヒノキ科が適していると考えられる。

本研究では、形態の特徴が把握しやすく、時期を問わず(落葉樹は除く)に入手ができる点を重視して、葉の形態を用いた分類の例を紹介した。しかし、ヒノキ科では葉だけではなく、花や球果、樹皮、樹形なども重要な分類形質とされている。今後はこれらの形質についても分類や系統を学習するための教材としての利用が可能か、検討が必要である。

ヒノキ科は針葉樹の中で、生育場所と形態的な多様性が最も高い分類群である。ヒノキ科の葉の形態進化としては、幅広い線形の葉をもち湿潤な環境に生育していた祖先植物から、中生代以降の乾燥と二酸化炭素

濃度の低下に適応して針形や鱗形の葉が進化したと考えられている(Pittermann et al. 2012)。今回はヒノキ科の中の限られた種のみを分子系統解析に用いたため、形態形質の進化過程までは言及できなかった。しかし、今後、祖先形質復元の方法をマニュアル化するなどの工夫を行なうことで、気候変動にともなう形態形質の進化まで含めた教材の開発が可能になると考える。

## 引用文献

- Gadek PA, Alpers DL, Heslewood MM, Quinn CJ (2000) Relationships within Cupressaceae sensu lato: a combined morphological and molecular approach. *American Journal of Botany* 87: 1044–1057.
- Jacquemart A, Lhoir P, Binard F, Descamps C (2016) An Interactive Multimedia Dichotomous Key for Teaching Plant Identification. *Journal of Biological Education* 50: 442–451.
- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, and Tamura K (2018) MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution* 35:1547–1549.
- Kusumi J, Tsumura Y, Yoshimaru H, Tachida H (2000) Phylogenetic relationships in Taxodiaceae and Cupressaceae sensu stricto based on *matK* gene, *chlL* gene, *trnL-trnF* IGS region, and *trnL* intron sequences. *American Journal of Botany* 87: 1480–1488.
- Liu J, Möller M, Gao L, Zhang D, Li D. (2011) DNA barcoding for the discrimination of Eurasian yews (*Taxus* L., Taxaceae) and the discovery of cryptic species. *Molecular Ecology Resources* 11: 89–100.
- 文部科学省 (2017) 中学校学習指導要領 (平成29年告示) 解説理科編. [https://www.mext.go.jp/content/20210830-mxt\\_kyoiku01-100002608\\_05.pdf](https://www.mext.go.jp/content/20210830-mxt_kyoiku01-100002608_05.pdf) (2021年9月17日アクセス)
- 文部科学省 (2018) 高等学校学習指導要領 (平成30年告示) 解説理科編理科数編. [https://www.mext.go.jp/content/20210902-mxt\\_kyoiku02-100002620\\_06.pdf](https://www.mext.go.jp/content/20210902-mxt_kyoiku02-100002620_06.pdf) (2021年9月17日アクセス)
- 中川重年 (1994) 検索入門針葉樹. 保育社.
- 名倉昌巳・松本伸示 (2019) 中学校新入生に「生物多様性」の理解と「進化思考」を促す理科授業開発—「身近な生物」の観察における「分類・系統樹」思考を導入した学習指導を事例として—. 理科教育学

研究 60 : 397-407.

- Pittermann J, Stuart SA, Dawson TE, Moreau A (2012) Cenozoic climate change shaped the evolutionary ecophysiology of the Cupressaceae conifers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109: 9647-9652.
- Randler C (2008) Teaching Species Identification - A

Prerequisite for Learning Biodiversity and Understanding Ecology. *Eurasian Journal of Mathematics, Science and Technology Education* 4: 223-231.

- Zhang X (2012) Teaching molecular phylogenetics through investigating a real-world phylogenetic problem. *Journal of Biological Education* 46: 103-109.