

分子系統学の功罪

島本昌憲*

Strengths and weaknesses of molecular phylogenetic analysis

SHIMAMOTO, Masanori

Abstract

Molecular phylogeny is one of the important methods for understanding the pattern and process of biological evolution independently of morphological data. Molecular phylogenetic analysis, however, provides no sufficient information on phylogenetical changes of morphology throughout the geological time. It is generally difficult to select the most optimum tree among various kinds of molecular phylogenetic trees described with a variety of techniques, and is also difficult to demonstrate directly the phylogenetic relation between ancestors and descendants simply in molecular phylogenetic analysis. Therefore, the stratigraphical information and morphological one are indispensable for the evolutionary comprehension of morphological changes.

Key words : molecular phylogeny, morphological change, stratigraphical information, pattern and process of biological evolution

1. はじめに

生物進化を捉えるアプローチには、進化のメカニズムやプロセスを解明する方法と、進化のパターンを把握して時間発展の過程でどのような事象が生じたのかを記述する方法がある。古生物学にとって重要な課題のひとつは後者の方法に相当し、系統関係を正しく推定して、地質時代を通じてどのように生物の形態が変遷し、地理的な分布を拡大してきたかについて考察することである。

近代地質学や古生物学が発展するのに伴って、世界各地の地層から産出する化石生物が記載報告され、多くの生物群では化石種および現生種の生息時期と地理的分布が把握されて、地質時代を通じてどのような形態を持った生物種が生存していたのかは凡そ理解されていると言えよう。しかしながら、この場合の生物種の記載は当然ながら形態形質の特徴（形質状態）に基づいてなされ、これらの情報から種間の系統関係を推定する場合には、形質状態の共有関係など、形態の類似性にもとづいて考察されるのが一般的である。したがって、このようなアプローチから地質時代を通じた生物形態の時間的変遷を理解しようとする、形態の

類似性から生物の系統樹を推定し、その結果に基づいて形態変化のパターンを把握することになり、論理的トートロジーに陥ることにならざるを得ない。

一方、中立説（Kimura, 1968）を基礎とする分子進化の観点に立って分子時計にもとづく分子系統学的手法が大いに発展し、遺伝子の変異から遺伝的差異を定量化して生物種間の系統関係を推定する手法が確立された昨今では、形態的情報によらずに生物の系統関係を推定することが可能となり、多くの生物群で分子系統樹が提案されつつある。現時点では、遺伝子の情報からどのように生物の形態が形成されるかについてはその詳細は十分に理解されているとは言えないが、今のところ形態情報に依らずに生物系統を推定することが可能な方法として、分子系統学の成果は大いに期待される場所である。1990年代までにたくさんの系統解析法が提唱され、多くの生物群において多数の分子系統樹が報告されており、生物の系統関係を推定するにあたっては化石などの形態情報はもはや必要ないと言われることすらある。しかしながら、果たしてそうであろうか？ ヒトの起源に関する問題など、分子系統学的手法に基づいてこれまでの形態情報のみにも

2004年3月7日受付, 2004年5月10日受理

* 〒980-8578 仙台市青葉区荒巻字青葉 東北大学総合学術博物館

とづいた系統推定を大いに見直すことになったという成果をあげるまでもなく、分子系統学的手法の重要性は否定できない。しかし、形態情報はもはや必要ないという、遺伝子（分子系統）万能主義的言明を安易には受け入れられないいくつかの問題点が浮かび上がってきていることもまた事実である。

本論では、これまでに広く用いられている分子系統樹作成法の特徴を簡単に紹介し、生物進化を考察する場合の問題点を指摘した上で、形態的解析と分子系統学的解析のいずれが欠けても生物進化のパターンを正確に把握することが困難となることを述べたい。

2. 分子系統樹作成法の特徴と問題点

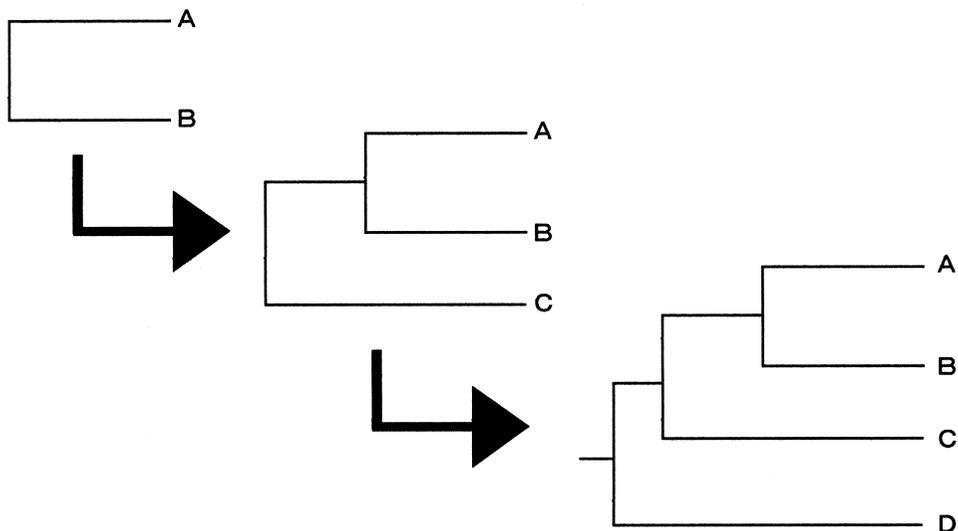
これまでに分子系統樹を作成するための多くの方法が開発されてきた。個々の作成法を詳しく述べることは本論の目的ではないので、主な方法の特徴とそれらの長所短所を簡単に紹介する。

分子系統樹の作成法を大きく分類すると、系統樹を作成するにあたって使用するデータによって、遺伝距離を用いる方法（距離行列法）と配列データそのものを用いる方法に大別され、さらに最終的に描かれる系統樹のうちどれが最適な樹形であるかを選ぶ基準によって、最大節約法、最小進歩法、最尤法などに区分される。また、最適な系統樹の樹形を探すやり方の違いによっても、段階法と網羅法とに分けられるなど、系統樹作成法にはそれぞれ特徴がある上、たくさんの計算アルゴリズムが開発されており、それらすべてを網羅的に比較することは容易ではない。そこで、本論では分子系統解析に現在広く用いられている代表的な

4つの作成法について概説する。4つの方法とは平均距離法（UPGMA）、近隣結合法、最尤法、最大節約法であり、前2者は遺伝距離を用いる距離行列法で、後2者は配列データにもとづく系統樹作成法である。

まず、平均距離法（UPGMA）は、系統樹作成法の中で最も簡便な方法の一つであるが、有根系統樹を作成することのできる数少ない方法である。本法は Sokal and Michener（1958）により開発された手法であり、距離行列法の中でも最も基本的な方法で、重心法によるクラスター分析である。本法では、遺伝距離的に最も近接したクラスターを合体させていき、最終的に一つのクラスターとしてまとめるという方法で系統樹が作成される（第1図）。本法によって得られる系統樹では、そのトポロジーが正しければ、作成される系統樹の枝の長さは進化速度一定の下で期待塩基置換数で計った枝の長さの最小2乗推定量になることが知られている。本法は遺伝子置換速度の「期待値」が一定、すなわち進化速度の一定性が仮定され、使われた遺伝距離が進化時間に正確に比例して誤差がない場合には正しい樹形と正しい枝長が得られることになる。したがって、遺伝子置換速度の期待値が進化系統によって異なる場合は、真の系統樹を復元するためには極めて有効な手法である。

同じく遺伝距離を用いる距離行列法の一つとして近隣結合法がある。本法は Saitou and Nei（1987）により開発されたもので、星形系統樹から近隣のクラスターを順次くり出していく、最終的に一つの無根系統樹を見出す方法である（第2図）。近隣となるクラスターを見出す方法は、系統樹全体の枝の長さの総和



第1図 平均距離法（UPGMA）による系統樹の作成法

を最小にするペアを最近隣のペアとして結びつけていくという方法（最小進化の原理）である。Cavalli-Sforza and Edwards (1967) は可能性のあるすべての樹形の中で、すべての枝の長さの総和が最小になるような樹形を選ぶという考えのもとで最小進化法を考案した。この方法は真の系統樹を復元するのに非常に有効ではあるが、計算方法が複雑で、OTU (operational taxonomic unit) の数が多いときには膨大な計算時間を必要とするという欠点があった。そこで、比較的簡単な計算で最小進化系統樹によく似た系統樹を得る方法として考案されたのが近隣結合法である。

系統樹を作成するにあたって、遺伝距離を用いる距離行列法として主に2つの方法を紹介したが、それぞれの長所短所については Tatenno *et al.* (1982), Blanken *et al.* (1982), Nei *et al.* (1983) などにより指摘されているので、簡単にまとめておく。

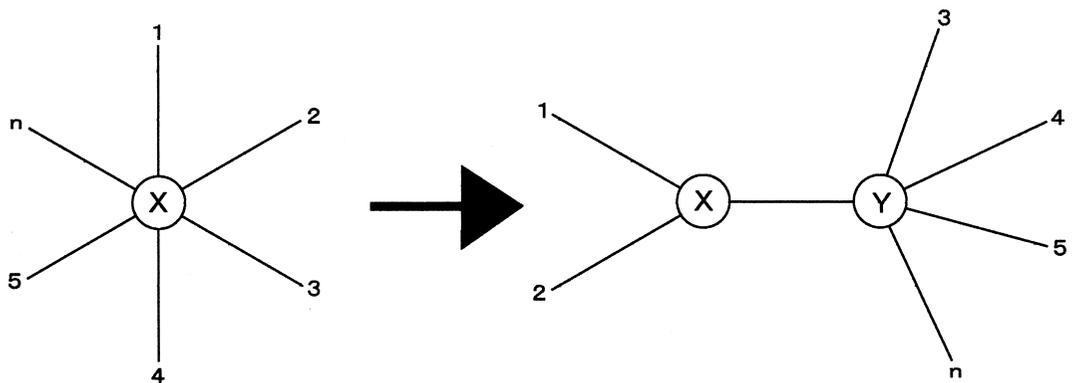
まず、進化速度の一定性が満たされ、遺伝距離に誤差を含まない場合には UPGMA は真の系統樹を描く可能性が高く、さらに、真の系統樹の枝長の期待値を推定することに関しては UPGMA が他の方法よりも一般的により成績を示すことが知られている。特に、遺伝子置換数に比例する遺伝距離が用いられる場合には有効である。しかし、進化系統間で置換速度が大きく異なるような場合には、真の樹形を復元する上で、UPGMA は他のどの距離行列法よりも劣っており、近隣結合法など他の方法のほうが良い系統樹を描くことが知られている。一般的に種系統樹を推定する場合に、UPGMA と近隣結合法の両方で同じ種系統樹が得られた場合には、遺伝的多型の影響がない限り、得られた系統樹の確からしさはかなり高いと判断してもよさそうである。

次に、配列データそのものを用いて系統樹を作成する方法として、最尤法と最大節約法についてそれぞれ

の特徴と問題点を述べる。

最尤法は、進化の過程で生じる塩基置換について、それを生じさせる仮説のもとで、ある一つの共通先祖から実際に観察される現在の配列データが実現する確率（尤度）を求めて、この尤度が最大になる系統樹を選び出すという方法である。DNA の塩基配列データから系統樹を推定するための最尤法は Felsenstein (1981) によって開発された。最尤法の長所としては次の点をあげることができる。進化における DNA の塩基置換は確率過程とみなすことができるが、最尤法ではそのことが明示的に取り入れられており、何を仮定して解析を行っているのかが明確である点である。すなわち、前提としている確率モデルがはっきりしているため、より良いモデルの選択、改良ができることである。DNA 塩基配列に基づく解析では、Kimura (1980) の2パラメータモデルや Tamura and Nei (1993) の TN93モデルなどが前提となるモデルとして用いられている。

最大節約法は、塩基置換などの進化的変化数の合計を最小にする（最も節約する）という最大節約原理のもとで系統樹を作成する。網羅的探索法の一つである。最大節約法は、DNA 塩基配列データばかりでなく、形態形質の形質状態などのデータにもとづいた分岐分析などでも利用されるアルゴリズムとしてよく知られている。本法は、Eck and Dayhoff (1966) によってアミノ酸配列データに用いられたが、Fitch (1971, 1977) などにより DNA 塩基配列データにも用いられるようになった。最大節約法は主に樹形を決定するために用いられる方法であり、一般的には枝長を求めることは困難である。また、ある特殊な場合を除いては、系統樹の根を無条件に与えることも不可能である。さらに、塩基置換数が非常に大きく、並行突然変異や復帰突然変異がかなりの頻度で起こっている場合には、置換速度が一定あるいはほとんど一定でな



第2図 近隣結合法による系統樹の作成法 (Saito and Nei, 1987より一部改変)

い限り、最大節約法は重大な誤りを犯す傾向がある。比較したアミノ酸や塩基数が少なく、並行突然変異や復帰突然変異が多いときには、置換速度が一定であっても最大節約法は誤った樹形を与える確率が高いことが知られている (Peacock and Boulter, 1975)。

以上述べてきたように、これまでに開発されてきた分子系統樹作成法にはそれぞれ特徴があり長所短所があるため、どの方法が最も優れた方法であるかを定めることは容易ではない。Sourdis and Nei (1988) および Saitou and Imanishi (1989) によれば、塩基サイトあたりの置換数が非常に小さく、しかも多数の塩基サイトが用いられたとき以外は、最大節約法は最小進化法や近隣結合法よりも真の系統樹を選ぶ効率が悪いことが指摘されている。また、最大節約法は計算に時間がかかるという欠点もある。しかしながら、最大節約法はサイトあたりの置換数が大きくない限り、どの塩基またはどのアミノ酸がどの枝でどう変化したのかについておおよその推定ができるという利点がある (Stewart *et al.* 1987)。Saitou and Imanishi (1989) によれば、最尤法はだいたいにおいて最大節約法より優れているが、真の系統樹を選ぶ効率は最小進化法や近隣結合法とはほぼ同様であり、最尤法が他の方法に比べてより優れているとは必ずしも言えないと述べられている。

このように、さまざまな方法によって得られた系統樹のいずれが真の系統樹であるかを簡単に判断することができないことが分子系統学の大きな問題点となる。それでは、得られた系統樹の確からしさを判断したり、検定するための方法はないのであろうか？ 残念ながら現在のところ、万能な方法は開発されていないが広く用いられる方法を紹介する。

3. 分子系統樹の確からしさを評価する方法

いろいろな方法によって得られた系統樹のうち、どれが真の系統樹であるかを判断するための方法や基準は現在のところ知られていない。しかし、樹形全体の中のある特定の分岐について、その確からしさを検定したり推定するための方法は知られている。その一つとして広く用いられる方法は、ブートストラップ法とよばれる方法である。この方法は、Felsenstein (1985) が最大節約法によって作成した系統樹に用いた方法である。本法の詳細については述べないが、この方法は m 個の塩基 (またはアミノ酸) 座位からなる n 個の配列データがある場合、この中から m 個の座位を重複を許して再抽出し、この新しいデータにもとづき系統樹を作成する。こうして作られるブートストラップ系統樹は元の系統樹と一部の分岐パターンだけが異なっていることが多い。したがって、このような再抽

出によって多数のブートストラップ系統樹を作成し、それらに繰り返し現われる分岐パターンは信頼性の高い分岐パターンであると考えられる。推定された系統樹の各分岐について、それらの再現率 (ブートストラップ確率) を調べることによって、得られた系統樹の確からしさを判断しようとするのがブートストラップ法である。この方法で注意しなければならないのは、ブートストラップ法はあくまで樹形の中のある特定の分岐パターンについての信頼性を調べているのであり、系統樹全体の樹形についての確からしさを判断している訳ではない点である。

もう一つの方法は、基本的には距離行列法による系統樹作成法に適用される方法であるが、得られた系統樹の内部にある枝の長さの標準誤差を計算し、各々の枝の長さが有意かどうかを調べる方法である。この方法は、Li (1989) によって開発され、Nei and Jin (1989) が近似的な標準誤差を求める計算アルゴリズムを提案している。

このような方法により、推定された系統樹の分岐パターンや枝の長さについてはある程度統計的な検定法によって、それらの確からしさに関してある程度の評価をすることが可能となる。しかしながら、分子系統学的解析において現在の最大の問題点は、推定された系統樹のいずれが真の系統樹に如何に近いのかを客観的に示す手段がないという点である。分子系統学的手法は、これまでの形態的情報にもとづくどの方法よりも、定量的であり、理論的背景についてもしっかりしており、他に替わる方法を見出すことが困難であることについては疑う余地はないといえよう。しかしながら、最終的に出力された系統樹のいずれが真の系統樹を最もよく反映したものであるのかを客観的に評価できないという点において、残念ながら万能とは言えないのである。

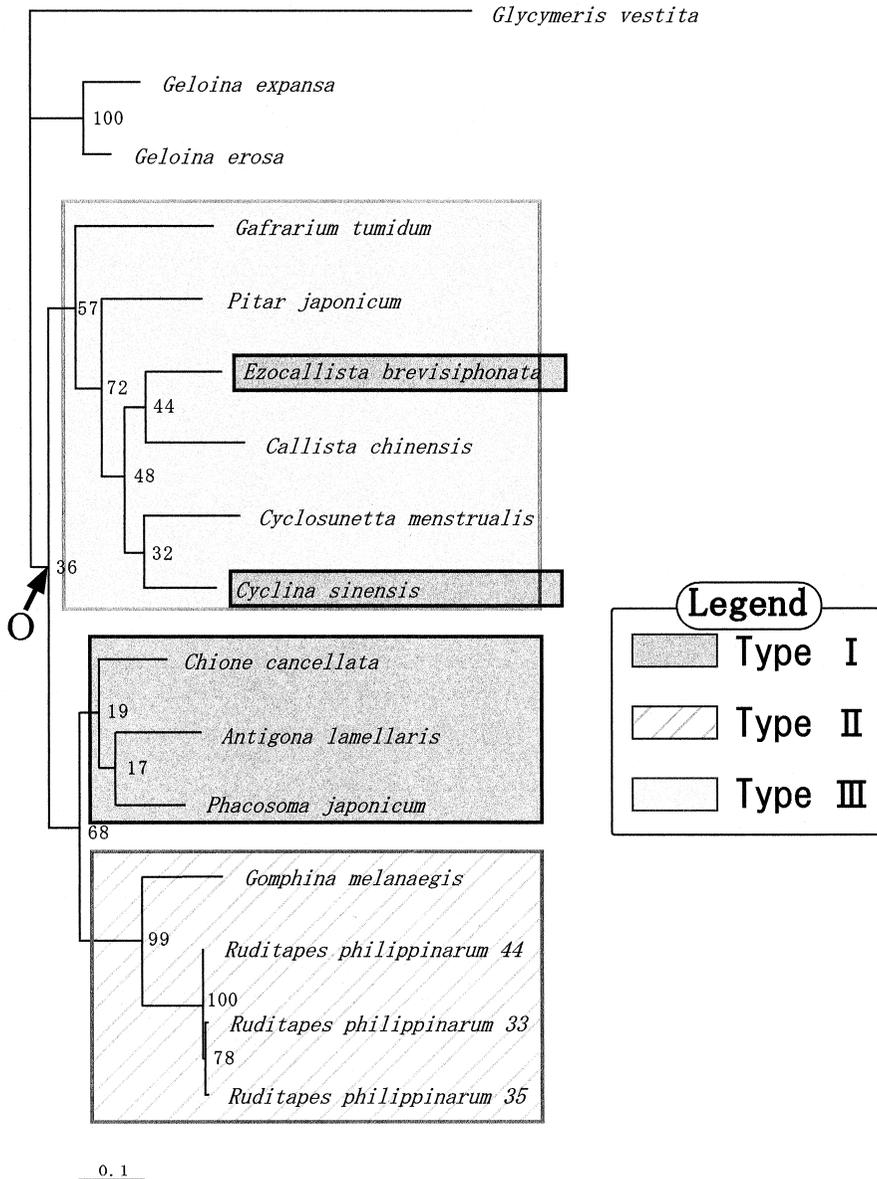
4. 分子系統学的解析にもとづいて得られる情報の限界

前述したように、分子系統学的手法にもその方法論としての弱点があり、決して万能ではないことがわかる。ここでは、もう一つの限界について述べたい。それは、分子系統学的分析法は OTU の系統的近縁性を定量的に把握して、それを系統樹という分岐パターンとして出力することには大なる効力を発揮するが、分子系統樹が種分化の経路を直接示すものではないという点である。

第3図に、二枚貝マルスダレガイ科の種群について、最尤法によって推定した分子系統樹を例として示す。この図を見てわかるように、分子系統学的手法により、マルスダレガイ科の種群はいくつかのクレード (単系統群) に分けることができ、それらは殻体構造

の特徴にもとづくグループ分けとおおよその対応づけが可能であるといえる(島本・日向野, 2001)。このように、分子系統学的方法によれば、近縁な種群を区分し、おのおののグループの分岐順序についてその前後関係については定量的に把握することができる。しかしながら、個々の種の系統関係を理解するためには、それぞれの種の間の子孫-先祖関係、すなわち、どの先祖種(あるいは共通先祖)からどの種(子孫

種)が派生したのかを直接的に把握したいのであるが、分子系統解析からはこの点については重要な情報を得ることはできないのである。第3図の例で言うならば、例えば殻体構造の Type I, II, IIIのいずれの種群が最も原始的で先祖群であったのかを一義的に推定することは困難なのである。この点が分子系統解析の大きな限界の一つであると考えられ、他の情報と組み合わせなければ解決できない問題点の一つである。



第3図 二枚貝マルスダレガイ科の分子系統樹(最尤法による)
Glycymeris vestita および *Geloina expansa* と *Geloina erosa* は分子系統樹を作成するにあたって外群として用いた種である(島本・日向野, 2001より)

5. 層位的情報および形態情報の大切さ

前述した分子系統解析の限界を解決する方法はあるのであろうか？ 残念ながら現在においては絶対的で確実な方法はないと言わざるを得ない。すなわち、どの種が先祖種で、どれがそれから派生した直接的な子孫種であるかを、客観的に指摘できる方法は、現時点では知られていない。現在取り得る最も直接的で、多くの情報が得られると考えられる方法としては、分子系統解析の結果に化石などにもとづく層位的情報と形態情報を加えることによって、具体的な分岐過程を推定するほかに方法はないと考えられる。化石から得られる種の生存期間や、形態形質の形質状態から先祖形質と子孫形質についての説得力を持つ情報が得られれば、分子系統解析から推定される系統樹に順序関係という制約を与えることができ、進化パターンを時間発展系の中で具体的に把握することが可能になると考えられる。また、化石の形態情報が分子系統解析で推定される共通祖先の具体的な形態像を示し得る唯一の方法であることは言うまでもない。

一例として、第3図の分子系統樹に形態情報や層位的情報などを加えて、分岐関係を推定する上でどのような制約を与えることができるのか、与えられる可能性があるのかについて考察を試みる。

二枚貝マルスダレガイ科の種群は殻体構造にもとづく3つのタイプに区分されることが知られている(Shimamoto, 1986)。これら3つのタイプの特徴は、Type Iの種群では殻体に交差板構造と混合稜柱構造とが共存するのに対し、Type IIの種群では殻体から交差板構造が消失し、Type IIIの種群では殻体から混合稜柱構造が消失している(Shimamoto, 1986)。また、これら3つに大別される種群はマルスダレガイ科の亜科～属のレベルでの分類群とおおよそ一致している。

では、第3図に示される分子系統樹において、殻体構造の3つのタイプに属する種群の分岐経路はどのように推定可能であろうか？ まず、殻体構造のType IIを持つ種群(主にリュウキュウアサリ亜科(Tapetinae)の種群から構成される)は単系統群として派生した可能性があることがわかるが、Type IとType IIIの種群については単系統群とはなっていない。このような分子系統樹上において、マルスダレガイ科の最も古い分岐点(第3図のO点)における殻体構造の形質状態がType I～IIIのいずれであったかを一義的には特定することは困難であり、いずれの可能性もあることになる(もちろん、これらいずれとも異なる可能性も否定できない)。ここで、マルスダレガイ科の化石記録を考慮すると、Type IIの種群は他の種群よりやや遅れて出現した可能性がある(Shimamoto, 1986)。

したがって、この化石記録が充分信頼性の高いものであれば、最も古い分岐点における殻体構造がType IあるいはType IIIであった可能性が高いことを指摘できることになる。では、Type IかType IIIのいずれの可能性が高いかを限定し得る他の情報はないだろうか？ 前述したように、Type IとType IIIの殻体構造の形質状態を比較すると、Type IIIでは殻体から混合稜柱構造が消失している。マルスダレガイ科と同じ上科に属して、マルスダレガイ科に近縁と考えられるイワホリガイ科の殻体構造がType Iと同様に交差板構造と混合稜柱構造が共存するような形質状態を示していることから判断すると、第3図においてマルスダレガイ科の最も古い分岐点における殻体構造がType Iであった可能性を指摘することができる。すなわち、マルスダレガイ科においては殻体構造の形質状態はもっとも原始的な種群において交差板構造と混合稜柱構造が共存するようなタイプであり、これらの先祖群から一方では混合稜柱層を消失させてType IIIのグループが派生し、他方では交差板構造を消失させてType IIのグループを派生させるような分岐過程を経たと推定する作業仮説を提唱し得ることになる。

もちろん、現在のところ上記のような作業仮説を直接的に検証できるような証拠は充分そろっていないばかりか、ひとつ間違えば論理的トートロジーに陥る可能性すら否定できない。したがって、充分慎重に議論を重ねる必要があることは言うまでもないが、分子系統樹の分岐パターンと形質状態や化石の層位記録などの情報を組み合わせることによって、分子系統樹だけでは推定することが困難な分岐過程について具体的な作業仮説を提示できる可能性はある。さらに大切なポイントとして、このような具体的な作業仮説の検証に向けての具体的な方向性を提示することによって、これまでない視点から形態を評価し得る可能性を付加できるという意味において、形態を扱う研究者にとっても有効なアプローチ方法となり得るのではないだろうか。

6. まとめ

生物進化パターンを古生物学的方法のような形態情報のみにもとづいて把握しようとする、当然の帰結として論理的トートロジーに陥ることになる。これを打開する上で分子系統学的解析方法の確立ほど大きな貢献はないといっても過言ではない。しかし、本論で述べたように、残念ながら分子系統学的手法もそれらが開発された当初に騒がれたほど万能ではなく、単独で進化パターンを解明するには限界があることがわかる。現時点でこの問題を本質的に解決できるアプローチ方法を見出すことは容易ではないが、分子系統学的

解析法が発達した現在だからこそ、古生物学的方法によって形態情報や層位学的情報のような重要な情報を分子系統樹に付加できる可能性が以前よりも増しているのではなからうか。分子系統学的解析法によって得られる分子系統樹に対してどのような制約条件を与えられるのかについて、古生物学的観点から考察を加えることが極めて大切な課題であると考えられる。

本論は、2003年11月29～30日に開催された化石研究会第120回例会での講演内容をまとめたものである。このような機会を与えてくださった滋賀県立琵琶湖博物館の高橋啓一氏はじめ、化石研究会役員および当日活発な討論に参加いただいた皆様に深甚の謝意を表します。

文献

- Blanken, R. L., Klotz, L. C. and Hinnebusch, A. G. (1982) Computer comparison of new and existing criteria for constructing evolutionary trees from sequence data. *Jour. Mol. Evol.*, 19, 9-19.
- Cavalli-Sforza, L. L. and Edwards, A. W. F. (1967) Phylogenetic analysis: Models and estimation procedures. *Amer. Jour. Hum. Genet.*, 19, 233-257.
- Eck, R. V. and Dayhoff, M. O. (1966) In *Atlas of Protein Sequence and Structure*. (Dayhoff, M. O. ed.) Natl. Biomed. Res. Found., Silver Spring, Maryland.
- Felsenstein, J. (1981) Evolutionary trees from DNA sequences: a maximum likelihood approach. *Jour. Mol. Evol.*, 17, 368-376.
- Felsenstein, J. (1985) Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution*, 39, 783-791.
- Fitch, W. M. (1971) Toward defining the course of evolution: Minimum change for a specific tree topology. *Syst. Zool.*, 20, 406-416.
- Fitch, W. M. (1977) On the problem of discovering the most parsimonious tree. *Amer. Natur.*, 111, 223-257.
- Kimura, M. (1968) Evolutionary rate at the molecular level. *Nature*, 217, 624-626.
- Kimura, M. (1980) A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Jour. Mol. Evol.*, 16, 111-120.
- Li, W.-H. (1989) A statistical test of phylogenies estimated from sequence data. *Mol. Biol. Evol.*, 6, 424-435.
- Nei, M. and Jin, L. (1989) Variances of the average numbers of nucleotide substitutions within and between populations. *Mol. Biol. Evol.*, 6, 290-300.
- Nei, M., Tajima, F. and Tateno, Y. (1983) Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. II. Gene frequency data. *Jour. Mol. Evol.*, 19, 153-170.
- Peacock, D. and Boulter, D. (1975) Use of amino acid sequence data in phylogeny and evaluation of methods using computer simulation. *Jour. Mol. Biol.*, 95, 513-527.
- Saitou, N. and Imanishi, T. (1989) Relative efficiencies of the Fitch-Margoliash, maximum-parsimony, maximum-likelihood, minimum-evolution, and neighbor-joining methods of phylogenetic tree construction in obtaining the correct tree. *Mol. Biol. Evol.*, 6, 514-525.
- Saitou, N. and Nei, M. (1987) The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.*, 4, 406-425.
- Shimamoto, M. (1986) Shell microstructure of the Veneridae (Bivalvia) and its phylogenetic implications. *Sci. Rep., Tohoku Univ., 2nd. Ser. (Geol.)*, 56(1), 1-39.
- 島本昌憲・日向野敦史 (2001) 二枚貝類マルスダレガイ科の系統進化と殻体構造の分化. *生物科学*, 53(3), 137-143.
- Sokal, R. R. and Michener, C. D. (1958) A statistical method for evaluating systematic relationships. *Univ. Kansas Sci. Bull.*, 28, 1409-1438.
- Sourdis, J. and Nei, M. (1988) Relative efficiencies of the maximum parsimony and distance-matrix methods in obtaining the correct phylogenetic tree. *Mol. Biol. Evol.*, 5, 298-311.
- Stewart, C.-B., Schilling, J. W. and Wilson, A. C. (1987) Adaptive evolution in the stomach lysozymes of foregut fermenters. *Nature*, 330, 401-404.
- Tamura, K. and Nei, M. (1993) Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Mol. Biol. Evol.*, 10, 512-526.
- Tateno, Y., Nei, M. and Tajima, F. (1982) Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. I. Distantly related species. *Jour. Mol. Evol.*, 18, 387-404.