

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 5 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K07466

研究課題名(和文) 湿地性針葉樹ヌマスギの水環境適応を担う遺伝子基盤の解明

研究課題名(英文) Transcriptome analysis of baldcypress (*Taxodium distichum*) in response to drought, salinity and flooding stress.

研究代表者

楠見 淳子 (KUSUMI, Junko)

九州大学・比較社会文化研究院・准教授

研究者番号：20510522

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は湿地性針葉樹ヌマスギ(*Taxodium distichum*)の水環境への適応に着目し、環境適応に関わる遺伝子の探索を行なった。5つの環境条件、乾燥、冠水、低塩(1 ppt, 5 ppt)高塩(10 ppt)においてヌマスギの稚樹を最大2週間生育し、根、葉組織のトランスクリプトーム解析を行なった。その結果、ストレス環境下では、転写因子、イオンチャネル、トランスポーター、酸化還元酵素の遺伝子の発現が即座に増加し、さらに1～2週間程度で、二次代謝産物合成、細胞壁構造の改変、老化促進、成長抑制に関わる遺伝子の発現増加および光合成や呼吸に関わる遺伝子の発現減少があることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、様々な環境下での遺伝子発現の経時変化の解析から、ヌマスギが季節的もしくは突発的におこる生息環境変化に対し、即時的な応答だけでなく、細胞の代謝活性抑制、二次代謝生成、細胞壁構造の改変、葉の老化など、漸次の応答を行い個体の生存を維持していることを遺伝子レベルで検証することができた。これは、これまであまり知られていない針葉樹の環境適応のメカニズムと適応的形質の進化過程を考えるうえで重要な知見となる。

研究成果の概要(英文)：In this study, we focused on the adaptation mechanisms of baldcypress (*Taxodium distichum*) to the various water environments. In order to identify genes responsible for the adaptation, we performed transcriptome analyses for root and leaf tissues of baldcypress seedlings grown up for 2 weeks under the five conditions, dry, flooding, low salt (1 ppt, 5 ppt), and high salt (10 ppt). The analyses revealed that the expression of genes for transcription factors, ion channels, transporters, and oxidoreductase have immediately increased under the environmental stress. Within two weeks, the up-regulation of genes for modification of cell walls, leaf senescence growth control and biosynthesis of secondary metabolites, and down-regulation of genes for photosynthesis and respiration were observed.

研究分野：進化生物学

キーワード：トランスクリプトーム 環境応答 *Taxodium*

1. 研究開始当初の背景

ヌマスギ (*Taxodium distichum*) は、北アメリカ東南部を中心に分布する落葉性ヒノキ科樹木である。主に海岸や河川沿いに広がる湿地帯や沼沢地に生息しており、分布域では優占種として生態系で重要な位置を占めている。なかでもヌマスギの1変種である、baldcypress (var. *distichum*) は、東海岸、フロリダ半島、メキシコ湾沿岸、ミシシッピ川の中流から下流域、テキサス中央部の乾燥地帯に至るまで広く分布しており、その生息環境(温度、湿度、水質、塩濃度、洪水による冠水等)は多様である。これは、ヌマスギの成長・繁殖には周辺の水環境が重要な役割を果たしているとともに、この種が多様な環境に適応していることを示している。本種については、集団遺伝学的解析からテキサス中央部、ミシシッピ沿岸、フロリダ半島の少なくとも3つの地域集団に分化していることが示されているが (Tsumura et al 1997, Likey and Walker 2002, Tanaka et al 2012, Ikezaki et al 2016)、観察された遺伝的分化に生息環境適応がどの程度寄与しているのかは明らかではない。また、集団内変異の解析や分子進化学的解析から、アンモニウムトランスポーター (AMT 遺伝子) や、水チャネルである Aquaporin 遺伝子に正の淘汰が働いている可能性が示されているが (Kusumi et al 2010, Kusumi and Tachida 2015)、これらの遺伝子が本当に水環境適応に寄与しているのか、ヌマスギがどのようなメカニズムで多様な水環境に適応しているのかは未だ明らかになっていない。

2. 研究の目的

本研究ではヌマスギの水環境への適応に着目し、1) 実生を用いた栽培実験系の確立、2) 遺伝子発現解析に必要な cDNA 配列データの収集し、研究の基盤となるデータ、実験系の整備を行うとともに、3) トランスクリプトームの比較解析により水環境の変化により発現パターンが変動する遺伝子を検出し、その機能の推定を行なった。また、発現変動遺伝子の中で近縁種の配列が得られた場合には、4) 分子進化学的解析により正の淘汰の検出を試みた。得られた結果は、針葉樹の環境適応の分子メカニズムの解明に大きく寄与することが期待できる。

3. 研究の方法

(1) ヌマスギ実生を用いた栽培実験系の確立

人工気象器を用い、乾燥、冠水、低塩濃度、高塩濃度の環境でヌマスギの実生の栽培を行った。それぞれの生育条件を表1に示す。環境条件は、Iwanaga et al(2011,2015)を参考に設定した。ヌマスギは冠水条件で数ヶ月生存することが確認されている (Iwanaga et al, 2011)。各条件下で最長2週間栽培し、経時的な変化を観察すると共に遺伝子発現解析を行った。

| 温度 明暗条件 | 条件 | 湿度 | 給水 |
|----------------------------------|------------|-----|---------------|
| 25 Light/16h 20 Dark/9h | コントロール | 70% | 1週間に2回程度 |
| | 乾燥 | 50% | 給水なし |
| | 冠水 | - | 植物をほぼ完全に水に浸す。 |
| | 低塩-1 ppt* | 70% | 地上部の半分を塩水に浸す。 |
| | 低塩-2.5 ppt | 70% | 地上部の半分を塩水に浸す。 |
| | 高塩 10 ppt | 70% | 地上部の半分を塩水に浸す。 |

表1: 植物の栽培条件 *ppt: parts per thousand, (汽水域の塩濃度は 0.5-30 ppt)

(2) cDNA 配列データの収集

ヌマスギ実生の葉と根組織から RNA を抽出し、次世代シーケンサー (HiSeq, Novaseq イルミナ社) による RNA-seq 解析を行った (シーケンス解析は業者委託)。得られたリードデータを Trinity プログラムを用いて de novo アセンブルを行い、コンティグ配列を生成した。得られたコンティグ配列は、TRAPID (http://bioinformatics.psb.ugent.be/trapid_02/) を用い、緑色植物のゲノムデータベース (Plaza <https://bioinformatics.psb.ugent.be/plaza/>) をもとにアノテーションを行った。

(3) 遺伝子発現パターンの解析と水環境適応に寄与する遺伝子の検出

(1)で示した生育条件下で10日間生育した成葉と根組織から RNA を抽出し、RNA-seq 解析を行った。(2)で得られた配列をリファレンス配列として用い、salmon プログラムを用いてマッピングとリードカウントデータを得た。次に、edgeR パッケージを用いてコントロールと各条件間での発現比較解析を行い、発現変動遺伝子を検出した。有意に発現変動が見られた遺伝子の GO を用いて、それぞれの条件下での発現変動遺伝子の機能カテゴリによるエンリッチメント解析を行った。次に、各条件下で3日、1週間、2週間生育した後に成葉のサンプリングを行い、これらについても同様に RNA-seq 解析を行い、遺伝子発現の経時変化を解析した。

(4) 正の淘汰の検出

(3)水環境の変化により発現パターンが変動する遺伝子において、近縁種の配列が得られた場合には、paml4.0 (Yang, 2007) により正の淘汰の検出を試みた。

4. 研究成果

(1) ヌマスギ実生を用いた栽培実験系の確立

乾燥、冠水、低塩-1 (1 ppt)、低塩-2 (5 ppt) (表 1 参照) の条件でそれぞれ 5 個体づつ 10 日間生育した。全く給水を行わなかった乾燥条件では、3 個体で葉の黄化や萎れが観察された (図 1 左)。一方で同じ乾燥条件でもコントロールとほぼ同じ状態のまま生育できる個体もあり (図 1 右)、個体間で乾燥耐性に顕著な差があることがわかった。低塩や冠水条件下の個体は、ほとんど傷害なく生育した (表 2)。

低塩-1、低塩-2 では顕著な傷害が観察されなかったため、低塩濃度では耐塩性に関わる遺伝子の検出を十分に行えない可能性もあると考え、高塩 (10 ppt) 条件下でも実験を行なった。その結果、1 週間程度で 5 個体中 2 個体で一部の葉がしおれ、2 週間後には 4 個体で傷害が観察された (表 2)。



図 1 2 週間乾燥条件に置いたヌマスギ実生 (左)葉が黄化ししおれる個体と(右)全く傷害が見られない個体が見られた。

図 2 高塩濃度では葉が萎れるなどの傷害が 1~2 週間後に生じた。

(2) cDNA 配列データの収集

乾燥、冠水、低塩-1、低塩-2、及びコントロールの条件で 10 日間生育した個体から葉と根から RNA を抽出した。葉組織は、個体の上部と下部に分けて解析を行った。RNA-seq 解析は hiseq, pair-end/100bp で行なった。十分なリード数が得られなかった乾燥条件下の上部の葉以外の全てのリードを使用して denovo アッセンブルを行なったところ、コンティグ配列の数は 40 万を超え、そのうち蛋白質をコードしている配列数は、138,489 であった。現在、針葉樹で最もゲノム解析が進んでいる *Pinus teada* の推定遺伝子配列が約 52,000 個であることを考慮すると、コンティグ配列には多くの isoform や不確かな配列が含まれている可能性が高い。また、発現変動解析を行うリファレンス配列として使用するには配列数が多すぎる。そこで、根と葉それぞれで再度 denovo アッセンブルを行い、コンティグ配列を得た。結果を表 2 に示す。得られた配列は TRAPID を用い、Dicots plaza 4.5 ゲノムデータベース (双子葉植物の 46 種、単子葉 2 種、Amborella 属 1 種、裸子植物 1 種、シダ植物 1 種、コケ植物 2 種、緑藻 2 種を含む) をもとにアノテーションを行った。その結果、根、葉から得られたコンティグ配列のうち、それぞれ 69,226, 98,041 の配列が既知の配列との相同性が認められた (表 3、閾値は E-05)。また、GO アノテーションが付いた配列は根で 69,796、葉で 98,221 となった。

| | 3日後 | 1週間後 | 2週間後 |
|------------|-----|------|------|
| コントロール | 0 | 0 | 0 |
| 乾燥 | 0 | 1 | 4 |
| 冠水 | 0 | 0 | 0 |
| 低塩-2 5 ppt | 0 | 0 | 0 |
| 高塩 10 ppt | 1 | 2 | 4 |

表 2 各条件での傷害が見られた個体数 (各 5 個体の経時変化を観察)

次に、salmon プログラムと corset プログラムを用いて、リードのマッピング及びマッピング情報に基づいたコンティグ配列のクラスタリングを行なった。その結果、それぞれのコンティグ配列は、根、葉それぞれ 70,478、50,501 個のクラスターにまとめられた。この数は *Pinus teada* の推定遺伝子配列の数により近づいており、少なくとも葉については、corset によるクラスタリングにより得られたクラスターのリードカウントデータは遺伝子ごとにまとめられているとみなせると考えられる。根については、抽出した RNA のクオリティが比較的悪く、質の良いリードデータが得られなかったため、コンティグ全体の配列長と推定 ORF 配列の平均長が短くなり、クラスタリングがうまくいかなかった可能性が考えられる。

| Contigs | Root | Leaf |
|-------------------------|--------|--------|
| Total number | 100819 | 177181 |
| Ave. ORF (bp) | 702.5 | 1307.4 |
| Putative Protein-coding | 67152 | 97463 |
| Putative RNA gene | 2617 | 766 |
| with GO | 69769 | 98229 |
| with InterPro domains | 69226 | 98041 |
| After corset clustering | 70478 | 50501 |

表 3 得られたコンティグ配列の内訳

(3) 遺伝子発現パターンの解析と水環境適応に寄与する遺伝子の検出

1. 根における遺伝子発現変動

各条件下で 10 日間生育したサンプルについて、コントロールに比べ発現変動がみられた遺伝子 (exact test, FDR < 0.005) の heat map を図 3 に示す。塩水 (Na1, Na5) に応答して発現誘導される遺伝子の数が最も多くなっていたこと、低塩濃度では顕著な傷害がみられないことを合わせて考えると、ヌマスギの根組織でもある程度の塩濃度に対抗できる機構を発達させている可能性が示唆された。一方で、乾燥条件 (DRY) では発現が抑制される遺伝子の割合が高く、乾燥に対して遺伝子発現の応答が弱い傾向が見られた。これは、少なくとも根組織では乾燥に対しての能動的な耐性機構が発達していないことを示唆しており、乾燥条件では地上部である程度傷害が見られたこととも一致する。冠水条件 (WAT) の場合も、発現誘導される遺伝子の数は少ないが、これは根組織では冠水状態とコントロールの間

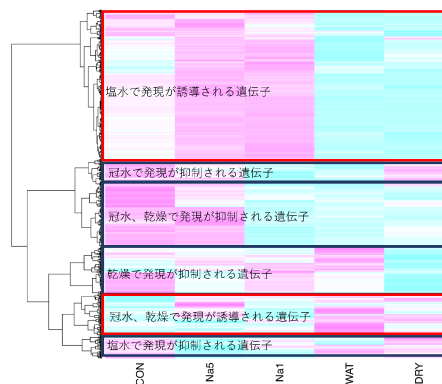


図 3 根で発現変動がみられた遺伝子のヒートマップ図

で環境が大きく変わらないためと考えられる。低塩-1 (Na1) は低塩-2 (Na5) と冠水 (WAT) のどちらにも類似する発現パターンが見られた。次に、発現変動が見られた遺伝子について、GO アノテーションに基づくエンリッチメント解析を行った。Biological process (BP) のGO について代表例を表4に示す。乾燥条件では、成長抑制に関わる遺伝子が誘導されており、乾燥に対してネガティブな応答が生じていることが示唆された。また、低塩、冠水の条件では、トランスポーター、ペルオキシド代謝、酸化還元に関わる遺伝子が誘導されており、浸透圧制御や酸化ストレス防御機構が機能していることが示された。

2. 葉における遺伝子発現変動

葉組織は、個体の上部 (T) 下部 (M) に分けて解析を行った。遺伝子の発現量 (cpm) に基づいてクラスタリング解析を行ったところ、コントロールでは上部と下部で類似した発現量パターンがみられたのに対して、塩水と冠水条件の場合、上部、下部それぞれでクラスタリングし、上部と下部の発現パターンが大きく異なっていた。上部の葉は水面から近いもしくは水に浸っていない場合もあり、完全に水面下に沈んでいる下部の葉とは全く異なる応答を行っているとされる。次に、コントロールに比べ発現変動がみられた遺伝子 (exact test, FDR < 0.005) の heat map を図4に示す。遺伝子の発現パターンによるクラスタリング解析を行ったところ、下部 (M) の発現パターンは生育条件の違いで説明できるクラスタリングが示された。下部の葉でみると、塩水、乾燥により発現が誘導される遺伝子の割合が多く、根と異なる応答が見られた。エンリッチメント解析の結果から、乾燥条件では、二次代謝産物生成経路に働く遺伝子の発現増加、光合成や呼吸の電子伝達に関わる遺伝子の発現減少がみられ、酸化ストレスを抑える機構が働いていると考えられる。塩水においても同様に光合成や呼吸の電子伝達に関わる遺伝子の発現減少がみられる。一方で、塩水で発現増加している遺伝子は主に細胞壁の構造分子で、塩水に浸された葉ではそれを物理的に防御する機構を有している可能性が示唆された。また、冠水と塩水条件では、色素の生合成に関わる遺伝子群の発現減少がみられた。さらに、冠水条件では葉の黄化に関わる遺伝子の発現増加がみられることから、葉を落葉させる応答を行っていると思われる。これは、冠水が長期に及ぶ場合、ヌマスギは葉を全て落とし休眠状態になることで生存を維持しており、2週間程度の冠水でもその準備を行っていないのではないかと考えられる。

3. 発現変動の経時変化

図5に低塩-2 (Na5) の条件において、葉組織で発現が誘導された遺伝子の3日後、1週間後、2週間後の発現パターンを heatmap で示す。経時的な発現変化パターンは個体間での違いが非常に大きいため、1個体のみを示す。発現が誘導されるパターンは大きく分けて3つあり、全ての期間でコントロールに比べて発現が高い場合、2週目に発現最も高い場合、期間内に増減のピークがある場合に分けられた。2週目に発現が最も高くなる遺伝子では、二次代謝産物生成や細胞壁の構造分子の生合成、成長制御に関わる機能分子が多数を占める一方で、1週目にピークを持つ遺伝子の機能は転写制御や R-gene などシグナル伝達に関わる分子が多くなっていった。高塩濃度 (10ppt) では、1週間目に発現増加のピークをもつ遺伝子の割合が高くなっており、塩濃度が高くなると遺伝子発現応答がより早く起こることが示唆された。乾燥条件の場合も低塩-2 と同様の傾向が見られ、3日目、1週目にピークをもつ遺伝子は転写因子、リン酸化酵素

| condition | GO | Enrichment (log2) | description |
|-----------|------------|-------------------|--|
| DRY_up | GO:0006950 | 1.513 | response to stress |
| | GO:0045826 | 5.377 | negative regulation of growth |
| | GO:1900641 | 7.508 | response to iron starvation |
| DRY_down | GO:0006102 | 6.186 | isocitrate metabolic process |
| | | | |
| Na5_up | GO:0006508 | 2.294 | proteolysis |
| | GO:1901684 | 4.807 | arsenate ion transmembrane transport |
| | GO:0006817 | 4.299 | phosphate ion transport |
| | GO:0010310 | 2.880 | regulation of hydrogen peroxide metabolic process |
| | GO:0010337 | 2.772 | regulation of salicylic acid metabolic process |
| Na5_down | GO:0010292 | 4.858 | auxin homeostasis |
| | GO:0009769 | 6.265 | photosynthesis, light harvesting in photosystem II |
| | | | |
| WAT_up | GO:0010101 | 3.854 | post-embryonic root morphogenesis |
| | GO:0006896 | 5.025 | Golgi to vacuole transport |
| | GO:0006277 | 2.957 | systemic acquired resistance |
| | GO:0055114 | 1.448 | oxidation-reduction process |
| WAT_down | GO:0015986 | 3.480 | ATP synthesis coupled proton transport |
| | GO:0006176 | 4.799 | dATP biosynthetic process from ADP |
| | GO:0006091 | 1.774 | generation of precursor metabolites and energy |

表4 根組織のエンリッチメント解析 代表例のみ示す

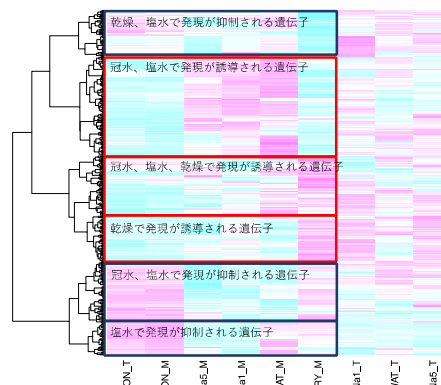


図4 葉で発現変動がみられた遺伝子のヒートマップ図

| condition | GO | Enrichment (log2) | description |
|-----------|------------|-------------------|---|
| DRY_up | GO:0042537 | 3.0596 | benzene-containing compound metabolic process |
| | GO:0009229 | 5.6266 | thiamine diphosphate biosynthetic process |
| | GO:0089712 | 6.6710 | L-asparagine transmembrane transport |
| DRY_down | GO:0022900 | 3.6980 | electron transport chain |
| | GO:0009772 | 6.1561 | photosynthetic electron transport in photosystem II |
| | GO:0071486 | 5.8268 | cellular response to high light intensity |
| Na5_up | GO:0031221 | 6.7578 | arabinoxylan metabolic process |
| | GO:0005992 | 5.6754 | trehalose biosynthetic process |
| | GO:0045493 | 5.2454 | xylan catabolic process |
| Na5_down | GO:1900039 | 6.1635 | positive regulation of cellular response to hypoxia |
| | GO:0010023 | 5.4712 | proanthocyanidin biosynthetic process |
| | GO:0009772 | 6.0271 | photosynthetic electron transport in photosystem II |
| WAT_up | GO:0009415 | 1.9162 | response to water |
| | GO:0009704 | 4.3856 | de-etiolation |
| | GO:0019220 | 3.6700 | regulation of phosphate metabolic process |
| WAT_down | GO:0010023 | 6.1786 | proanthocyanidin biosynthetic process |
| | GO:0006813 | 3.9101 | flavonoid biosynthetic process |
| | GO:0007033 | 5.0503 | vacuole organization |

表5 葉組織のエンリッチメント解析 代表例のみ示す

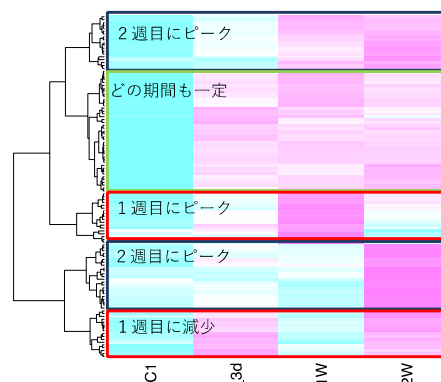


図5 低塩(5ppt)で誘導される遺伝子の経時変化

等の割合が高く、2週目にピークをもつ遺伝子は、酸化還元酵素、ペルオキシダーゼ、細胞壁の構造分子など、ストレスに直接対抗する機能を持つと考えられる遺伝子が多く見られた。また、これらの遺伝子は、被子植物においても乾燥や塩の耐性に関わることが示されており、ストレスに対抗するシステムは、裸子植物と被子植物で共通するものが多いと思われる。一方で、冠水への応答は、3日目、1週間後にピークを持つ遺伝子がほとんどを占めた(図6)。この中には、転写因子、酸化還元酵素、成長制御や葉の老化に関わるシグナル分子、細胞壁構造分子の生合成に関わる酵素などが含まれており、短期間にストレス応答を行なっている可能性が示された。ここには示していないが、別個体でも同様の傾向が見られることから、他のストレス応答に比べ、冠水への応答は短い期間で行われている可能性がある。冠水ストレスへの応答については、被子植物での知見は少ないが、細胞壁構造の変化や、葉の老化促進が起こることは知られている。被子植物のシステムとの類似性については今後詳細に検討を進める。一方で、環境ストレスにより有意な発現誘導が見られるものの、その機能が未知の遺伝子(植物のデータベースによる相同検索で全くヒットしない)が多く存在することから、ヌマスギ(もしくは裸子植物)独自の耐ストレス機構を有している可能性は否定できない。今後は、これら未知の蛋白質の機能について、分子進化学的手法及び分子生物学的手法の両面から解明したいと考えている。

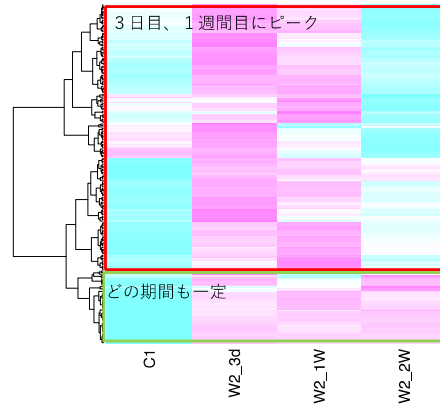


図6 冠水で誘導される遺伝子の経時変化

(4) 分子進化学的解析により正の淘汰の検出

発現比較解析により、多くの水環境ストレス応答遺伝子を検出することができたが、分子進化学的解析により、有意に正の淘汰が検出された遺伝子は今のところまだ無い。この原因としては、相同配列が得られる近縁種が限られていること、今回得られた配列は完全長が少ないことがあげられる。今後は、coasetによりクラスタリングされたコンティグ配列を組み合わせ、擬似的な完全長配列を作成し、解析を進める。

先行研究の pondcypress と baldcypress の交雑種を使ったトランスクリプトーム解析では、冠水や塩ストレス下での発現変動遺伝子として、転写因子のほかにイオンチャネルの遺伝子が多数検出されている(Yu et al. 2016; Qi et al. 2014)。本研究でも、同様にこれらの遺伝子での発現変動が検出されたが、その他にも細胞壁構造変化や、老化促進、成長制御、光合成や呼吸にか関わる遺伝子で発現変動があることを発見した。これは、ヌマスギが季節的もしくは突発的に起こる環境変化に対し、即時的な応答だけでなく、細胞の代謝活性制御、二次代謝産物の生成、細胞構造の改変など、漸次の応答を行い個体の生存を維持していることを遺伝子レベルで示した最初の報告である。

今後は、トランスクリプトーム解析で得られた結の再現性を検証するとともに、個体間の表現型の違いと遺伝子発現の違いをqPCR等を用いて検証する。さらに、本研究で明らかになった発現変動遺伝子を用いて、自然集団での変異のパターンを解析することにより、これらの候補遺伝子に働く自然淘汰を検証し、遺伝子レベルでの進化過程を明らかにしたいと考えている。得られた知見は、これまであまり知られていない針葉樹の環境適応のメカニズムと適応的形質の進化過程を考えるうえで重要な知見をもたらすことが期待できる。

< 引用文献 >

- Haas BJ, Papanicolaou A, Yassour M, et al. De novo transcript sequence reconstruction from RNA-seq using the Trinity platform for reference generation and analysis. *Nat Protoc.* (2013)8:1494-1512.
- Iwanaga F, Tanaka K, Nakazato I, Yamamoto F. Effects of submergence on growth and survival of saplings of three wetland trees differing in adaptive mechanisms for flood tolerance. *Forest Systems* (2015) 24:e001.
- Kusumi J., Tsumura Y., and Tachida H. Evolutionary rate variation in two conifer species, *Taxodium distichum* (L.) Rich var. *distichum* (baldcypress) and *Cryptomeria japonica* (Thunb. ex L.f.) D.Don (Sugi, Japanese cedar). *Genes & Genetic Systems*, (2015)90:305-315.
- Qi, B., Yang, Y., Yin, Y., Xu, M., Li, H. De novo sequencing, assembly, and analysis of the *Taxodium 'Zhongshanshan'* roots and shoots transcriptome in response to short-term waterlogging. (2014) *BMC Plant Biol.* 14: 1.
- Van Bel, M., Diels, T., Vancaester, E., Kreft, L., Botzki, A., Van de Peer, Y., Coppens, F., Vandepoele, K. PLAZA 4.0: an integrative resource for functional, evolutionary and comparative plant genomics *Nucleic Acids Res.* (2018) 46: D1190–D1196.
- Yang, Z. PAML 4: Phylogenetic Analysis by Maximum Likelihood. (2007) *Mol. Biol. Evol.* 24, 1586–1591.
- Yu, C., Xu, S., Yin, Y., Transcriptome analysis of the *Taxodium 'Zhongshanshan 405'* roots in response to salinity stress. *Plant Physiology and Biochemistry* (2016) 100, 156–165.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

| | |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名 Moriguchi Natsuki, Uchiyama Kentaro, Miyagi Ryutaro, Moritsuka Etsuko, Takahashi Aya, Tamura Koichiro, Tsumura Yoshihiko, Teshima Kosuke M., Tachida Hidenori, Kusumi Junko | 4. 巻 123 |
| 2. 論文標題 Inferring the demographic history of Japanese cedar, <i>Cryptomeria japonica</i> , using amplicon sequencing | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Heredity | 6. 最初と最後の頁 371-383 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） https://doi.org/10.1038/s41437-019-0198-y | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|--------------------|
| 1. 著者名 Yamamoto Haruki, Kusumi Junko, Yamakawa Hisanori, Fujita Yuichi | 4. 巻 7 |
| 2. 論文標題 The Effect of Two Amino acid Residue Substitutions via RNA Editing on Dark-operative Protochlorophyllide Oxidoreductase in the Black Pine Chloroplasts | 5. 発行年 2017年 |
| 3. 雑誌名 Scientific Reports | 6. 最初と最後の頁 2377 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-017-02630-2 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 - |

| | |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名 Ikezaki, Y., Y. Suyama, B.A. Middleton, Y. Tsumura, K. Teshima, H. Tachida, and J. Kusumi. | 4. 巻 103 |
| 2. 論文標題 Inferences of population structure and demographic history for <i>Taxodium distichum</i> , a coniferous tree in North America, based on amplicon sequencing analysis. | 5. 発行年 2016年 |
| 3. 雑誌名 American journal of botany | 6. 最初と最後の頁 1937-1949 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3732/ajb.1600046 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

| |
|---|
| 1. 発表者名 八木瞳、許傑、森口夏季、宮城龍太郎、森塚絵津子、佐藤衣里、須貝杏子、鈴木節子、西村尚之、山本 進一、高橋文、田村浩一郎、手島康介、楠見淳子、館田英典 |
| 2. 発表標題 イスノキ (<i>Distylium racemosum</i>) と近縁種シマイスノキ (<i>D. lepidotum</i>) の集団遺伝学的解析 |
| 3. 学会等名 日本遺伝学会第90回大会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|-------------------------------------|
| 1. 発表者名 澤崎裕太、御代川涼、北島薫、楠見淳子、佐竹暁子 |
| 2. 発表標題 ブナ科植物における開花遺伝子の種間比較と発現分析 |
| 3. 学会等名 第66回日本生態学会大会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 森口夏季、内山憲太郎、宮城竜太郎、高橋文、田村浩一郎、津村義彦、手島康介、楠見淳子、舘田英典 |
| 2. 発表標題 アンブリコンシーケンス解析による塩基配列多型データに基づく針葉樹スギ (<i>Cryptomeria japonica</i>) の集団史の推定 |
| 3. 学会等名 日本遺伝学会 第89回大会 |
| 4. 発表年 2017年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------|---|--|----|
| 研究分担者 | 岩永 史子 (IWANAGA Fumiko) (50548683) | 鳥取大学・農学部・講師 (15101) | |
| 研究分担者 | 飯塚 勝 (IIZUKA Masaru) (20202830) | 福岡女子大学・国際文理学部・学術研究員 (27103) | |