

令和 4 年 6 月 16 日現在

機関番号：17601
研究種目：若手研究
研究期間：2019～2021
課題番号：19K15875
研究課題名(和文)トランスクリプトーム解析による東南アジア熱帯の群集レベルのフェノロジー現象の解明

研究課題名(英文)Community-wide phenological study by transcriptome analysis in Southeast Asian tropical plant

研究代表者
徳本 雄史(Tokumoto, Yuji)

宮崎大学・キャリアマネジメント推進機構・准教授

研究者番号：60780153
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では東南アジア熱帯の林冠で見られるフタバガキ科、マメ科、カキ科の個体を対象として、フェノロジーと気象データ、そして発現遺伝子との関係から、種レベルかつ群集レベルのフェノロジー現象を明らかにすることを目的とした。調査期間中に降水量の低下と群集レベルの開花が起こり、調査対象の個体の多くが開花した。発現遺伝子の解析から、開花前に乾燥応答の遺伝子と低温応答の遺伝子のいずれかまたは両方の発現量が変化していた。これは同調開花のトリガーとされてきた乾燥と低温の2つが、複数の林冠樹種で発現遺伝子のレベルから確認されたことと、林冠樹種が機微な気象条件の変化で生物季節的な現象を起こしていることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では東南アジア熱帯で林冠に到達するフタバガキ科、マメ科、カキ科の3つの分類群の樹木を対象に、2019年に起きた降水量の減少やその後の展葉、群集レベルの同調開花の期間において、種レベル及び種間で共通の環境応答性が明らかになった。これまで観察ベースで明らかになっていた東南アジア熱帯の群集レベルの同調開花現象について、発現遺伝子レベルから明らかになった事例として非常に学術的な意義がある。さらに種間での環境応答性の違いも確認され、これらのデータが気候変動後の熱帯樹木の動態や将来予測などの基盤的データとなりうることから、社会的な意義も非常に高い。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to clarifying the species-level and community-level phenology phenomena from the relationship among phenology, meteorological data, and expressed genes in the trees of Dipterocarpaceae, Leguminosae, and Ebenaceae families in Southeast Asian tropical forest. During the study period, precipitation decreased, community-wide synchronous flowering occurred, and many of the targeted individuals flowered. The expressed genes analysis revealed that the expression levels of either drought response genes and cold response genes or both were changed before flowering. This suggests that the two flowering factors, drought, and low temperature, which have been discussed as the triggers for synchronized flowering, have been confirmed from the level of expressed genes in multiple canopy tree species. This study suggested that many of the canopy trees might respond to the subtle changes in weather conditions followed by causing the phenological phenomena.

研究分野：森林生態学

キーワード：フェノロジー 熱帯林 フタバガキ科 マメ科 カキ科

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

東南アジアの湿潤熱帯地域は、他の熱帯地域や温帯に比べて、乾季と雨季の違いが明瞭でないことや、長期～短期的に気象条件を変動させる要因が複数存在するため、気象条件が不規則に変化する。そのような熱帯の環境において、樹木は周期性が無く、不規則なタイミングで展葉や開花を起こす。特に開花に関しては、様々な分類群に属する樹種の 20%以上が同調して開花する「一斉開花現象」が知られている。これらの群集レベルでの展葉・開花フェノロジーに対する主な先行研究では、複数樹種の観察データと気象条件の関係を元に解析しており、それらのトリガーがいくつか報告されている。近年の分子生物学的な研究では、フタバガキ科樹木は短期の乾燥によって開花関連遺伝子の発現が誘導されることで開花が起こることが報告されている。これらの先行研究は、種・属レベルでは遺伝子発現データと気象条件との関連性に基づいて行われており、群集レベルでは展葉や開花の観察データと気象条件との関連性に基づいて研究が行われてきたが、分類群を跨いだ複数樹種のフェノロジーに関する遺伝子発現と気象条件との関連についての研究事例は現在のところなく、群集レベルの同調開花や展葉の分子メカニズムが不明であった。本研究では、複数の分類群の樹種を対象として、発現遺伝子レベルからフェノロジーを明らかにすることで、上記研究のギャップを埋め、種レベルかつ群集レベルの樹木の環境応答性についての統合的な理解を目指した。

2. 研究の目的

本研究では、複数の分類群の熱帯樹種を対象にして目視によるフェノロジー観察、RNA-seq による遺伝子発現量データ、そして気象データとの関係から、熱帯樹木の種レベルかつ群集レベルのフェノロジー現象と環境応答性を遺伝子レベルから明らかにすることを目的とする。熱帯樹木のフェノロジーのメカニズムについて、複数の分類群の共通性や種間差について明らかにする。

3. 研究の方法

本研究実施中に COVID19 による渡航制限や調査地への入境制限があったことから、当初の計画(1)から先行して調査をしていた調査地のサンプル解析(2)に切り替えた。当初の研究(1)を研究期間中に進めていたことから、下記(1)の説明を行い、その後(2)について記述する。

(1) 調査地と調査対象樹種の選定、フェノロジーの観察と葉芽のサンプリング

調査はマレーシア・サバ州、ダナムバレー保護地域内に設置されたツリータワーやキャノピーウォーク周辺で 2019 年 4 月に立ち上げた。調査対象としてフタバガキ科、マメ科、カキ科の樹種の計 15 種 45 個体を選定し、個体サイズや位置情報を取得した。選定した個体の展葉および開花フェノロジーを月 2 回のペースで、現地のアシスタントに観察してもらった。フェノロジー観察を行っている個体のうち樹冠に接触可能な個体について枝頂端の葉芽や葉を採取し、RNA 保存液(RNAlater)に浸し、現地の冷凍庫で保管した。2019 年の 5 月から群集レベルの同調開花が起こり、対象個体の一部も開花したことが確認された。定期的な観察とサンプリングを続けていたが、2020 年 3 月から COVID19 の影響によりアシスタントも含めて上記の調査地に立ち入ることができなくなったため、データに空白期間が生じた。それ以降の研究期間も研究者の立ち入りができない状態が続いていたため、研究目的の達成のため下記(2)の先行採取していたサンプルの解析を実施した。

(2) COVID19 による解析対象サンプルの変更と、その後の RNA-seq データ解析

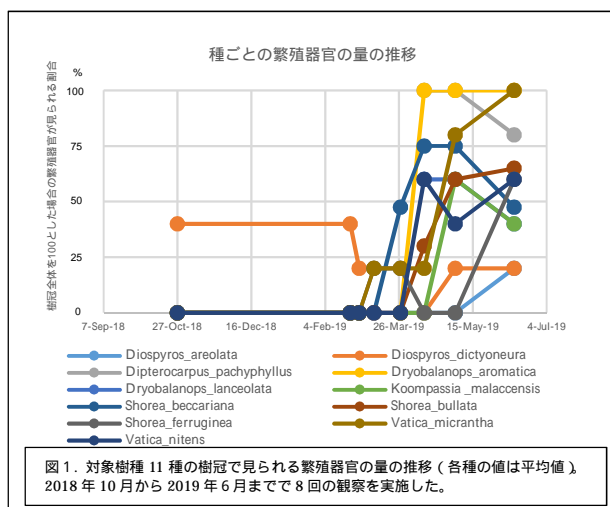
マレーシアの別の調査地(サラワク州ランビルヒルズ国立公園)でも上記と同様にフタバガキ科、マメ科、カキ科の 7 属 11 種 27 個体を対象に、発現遺伝子解析用の植物体のサンプリングと、樹冠部のフェノロジー観察を実施していた。実施回数や期間は本研究が開始する前の 2018 年から 2019 年 6 月までの計 8 回実施しており、この期間中に同国立公園でも群集レベルの同調開花が起こっていたため開花前後のサンプルが採取できていた。本研究の目的の達成にとって同国立公園のサンプルは適していたため、これらのサンプルの解析を進めた。RNA-seq はシーケンサーと解析設備が整っているチューリッヒ大学および Functional Genomic Centre (スイス連邦)で実施し、発現遺伝子の定量化を行なった。発現遺伝子量の比較解析と Gene Ontology 解析を中心としたデータ解析と、気象や目視フェノロジーデータとの関連性について解析を実施し、同種のサンプリング時点間や、同種の開花・非開花個体間の遺伝子発現パターンの違いや種間の共通性や差異について解析した。

4. 研究成果

ここではサンプルの解析が進んだ(2)について、成果を報告する。

2019 年 2~3 月に調査地周辺で降水量の減少が起き、その後群集レベルの同調開花が起こった。調査対象の 27 個体のうち 22 個体で開花が確認された(図 1)。同地で最も個体数の多いフ

タバガキ科の樹木では、種によって開花時期にずれがあり、開花が比較的早かった種 (*Vatica nitens*, *Shorea beccariana* など) から遅かった種 (*Shorea bullata*) まで、約2ヶ月の期間幅があった。遺伝子発現量の違いを解析すると、降水量が低下した2月末頃に乾燥および低温ストレスに応答する遺伝子の発現量が変化した。比較的開花が早かった種は開花関連遺伝子の発現量が同時に増加していたが、開花が遅かった種は乾燥および低温ストレスへの応答が同時期に確認されたものの、開花関連遺伝子の発現量はそこから1~2ヶ月ほど遅れて変化していた。これはストレス応答後の花芽形成までのタイムラグに種間差がある可能性が示唆された。個体数の最も多いフタバガキ科の *Shorea beccariana* の開花した個体と開花していない個体の発現遺伝子群の比較を行うと、花芽の形成前に硝酸輸送およびリン酸関連の遺伝子発現量が有意に増加していた。窒素およびリンの両方が熱帯樹木の開花に重要であることが示唆された。



同調開花について、環境要因(乾燥や低温)だけでなく、他の樹木の開花に影響を受けて開花が誘導される可能性を検証するために、発現遺伝子の中から植物ホルモンのエチレン関連の遺伝子発現量の変化を確認した。開花前にはエチレン関連の遺伝子群の発現量の変化は見られなく、開花後の結実期に変動していた。今回の結果からは他樹種の開花によって樹木の開花が誘導される可能性は見つけられなかった。開花後に変動する理由については種子食者等への応答などが考えられるが、依然として不明であるため、引き続き現地での観察や追加での解析が必要である。

フタバガキ科の樹木以外に解析対象としたマメ科とカキ科についても同様の解析を実施した。マメ科の樹木については、2月の降水量が減少した後に落葉が起き、その後展葉と同時に花芽も展開し開花が確認された。発現量に差があった遺伝子群について確認すると乾燥や低温関連の遺伝子は有意な変化は確認できなかった。このマメ科樹木はゲノムが解読されているマメ科植物から系統的に離れており、遺伝子のアノテーションがうまく行かなかった可能性がある。対象とする分類群のゲノム解析など、より進んだ解析が今後必要であると考えられた。カキ科樹木については2月の降水量が減少した後に乾燥に応答する遺伝子の発現量が変化していた。その後結実が確認されたことから、乾燥と開花の関連性が示唆された。

以上のことから、今回対象とした樹木は乾燥または低温ストレスが開花のトリガーになっていることが確認されたとともに、群集レベルの同調開花については環境による影響が非常に大きいことが示唆された。今回取得したデータについては、今後モデル植物との比較など植物生理学的な踏み込んだ研究への一歩となりえる。さらに植物の環境応答という観点からだけでなく、本研究対象の樹木を利用する野生動物にとって、彼らの餌となる新葉の出現時期や開花・結実期の予測にとって重要な知見となった。

今後の課題としては、本研究期間中に樹木が枯死する程度の強度の乾燥といった極端な環境ストレスが起きていなかったため、どのような応答を示すのかや、それらに耐性があるのかが明らかになっていない。気候変動後の各樹種のさらなる挙動予測や、今後の森林動態予測に利用される基礎的な情報を強化するためにも、本研究のような分子生態学的なモニタリングを継続することが重要である。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 4件）

1 . 発表者名	Yuji Tokumoto, Masaki J Kobayashi, Masaomi Hatakeyama, Yuta Inoue, Daisuke Todaka, Tomoaki Ichie, Tohru Nakashizuka, Michiko Nakagawa, Kentaro K. Shimizu
2 . 発表標題	Effects of artificial rainfall exclusion on gene expression of tropical emergent tree <i>Dryobalanops aromatica</i> (Dipterocarpaceae)
3 . 学会等名	Frontiers in plant environmental response research: local signaling, long-distance communication and memory for developmental plasticity (国際学会)
4 . 発表年	2019年

1 . 発表者名	Kentaro K. Shimizu, Eri Yamasaki, Jianqiang Sun, Toshiaki Tameshige, Yuji Tokumoto, Jun Sese
2 . 発表標題	Machine learning of transcriptome data in natura: drought as a trigger for flowering in aseasonal tropics
3 . 学会等名	SwissPLANT annual symposium 2020 (国際学会)
4 . 発表年	2020年

1 . 発表者名	Yuji Tokumoto, Masaki J Kobayashi, Masaomi Hatakeyama, Yuta Inoue, Yayoi Takeuchi, Daisuke Todaka, Tomonori Kume, Tomo'omi Kumagai, Tomoaki Ichie, Tohru Nakashizuka, Michiko Nakagawa, Shoko Sakai, Kentaro K Shimizu
2 . 発表標題	Effects of rainfall exclusion on tropical emergent tree in Southeast Asian tropics
3 . 学会等名	World Biodiversity Forum 2020 (国際学会)
4 . 発表年	2020年

1 . 発表者名	Chongmeng Xu, Yuji Tokumoto, Kentaro K Shimizu
2 . 発表標題	Comparative molecular phenology of tropical plants in South-east Asia
3 . 学会等名	World Biodiversity Forum 2020 (国際学会)
4 . 発表年	2020年

1. 発表者名 徳本雄史
2. 発表標題 森林群集の生物季節と各種の機能性への理解
3. 学会等名 2021年度三学会合同宮崎例会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 徳本雄史、永井信、久米朋宣、清水健太郎
2. 発表標題 東南アジアのフェノロジーの理解に向けたmulti-species トランスクリプトーム解析
3. 学会等名 第69回日本生態学会大会
4. 発表年 2022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

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
マレーシア	Universiti Malaysia Sabah			
スイス	University of Zurich			