

## ハイマツ内生菌 *Lophodermium* の生態とその系統地理

○三村琢磨(筑波大・生命環境科学研究科), 下野綾子(筑波大・遺伝子セ), 広瀬大(日本大学), 廣田充(筑波大・生命環境系)

### 【背景と目的】

葉圏内生菌は植物の葉の初期分解過程に重要な役割を担っており、物質循環の重要な要素となっていると考えられている。マツ科マツ属の生葉にはリテイズマ科 *Lophodermium* が高頻度で内生しており、落葉後の初期分解に寄与していることが知られている。一方、日本の高山帯の主要な優先樹種であるハイマツ (*Pinus pumila*) の内生菌としては *Lophodermium pinastri* 他数種が報告されているが、その多様性の詳細な実態は明らかにされていない。低温・短い生育期間で特徴づけられる高山帯ではその環境に適応した系統が内生しているとも考えられる。

また、ハイマツとこの菌類の関係が密接なものであれば、その系統地理も類似したものになることが推測される。これは、菌類と宿主の相互関係を考察する上で重要な要因になると推測される。既往研究によると、ハイマツは過去の氷期・間氷期に拡大・縮小を繰り返した結果、東北地方を境に北と南に大きく系統が分かれていることが報告されている。

本研究ではハイマツに内生する菌類である *Lophodermium* の多様性を明らかにするとともに、山岳間の比較を行い宿主と対応した系統地理構造が見られるかを検討する。

### 【方法】

ハイマツ葉を国内の高山帯(北海道大学中川研究林・分水嶺、パンケ山、余市岳、焼石岳、木曾駒ヶ岳、光岳)で各地域 8-20 個体ずつ採取し、洗浄及び表面殺菌後、DNeasy により DNA を抽出した。木曾駒ヶ岳サンプルの一部は麦芽寒天培地において内生菌の培養に用いた。培養した菌糸から、CTAB 法による DNA 抽出を行った。また、焼石岳と木曾駒ヶ岳でハイマツ葉リターを回収し、葉の表面にある菌類の子嚢胞子あるいは子嚢果からも同様に DNA を抽出した。抽出した DNA は、PCR 法によって rDNA ITS1-ITS2(或いは ITS1-LSU)領域を増幅した。PCR 産物は 3500 Genetic Analyzer (ライフテクノロジーズ) により配列情報を決定し、MEGA6 ソフトウェアを用い NJ 法によって系統樹を作成した。合わせて DDBJ の BLAST 検索を行い、遺伝子配列の相同値が 97%以上という基準値で生物種を同定した。

### 【結果と展望】

菌類の種同定作業は現在も継続して行っているが、ハイマツの葉内には少なくとも *Lophodermium nitens* と *L. pinastri* が存在していることがわかった。他には、*Exophiala pisciphila*, *Allantophomopsis lycopodina* 等も出現していた。しかしこれらは子嚢果の表面に付着していた菌を拾ってしまった可能性が考えられる。

現在、各山域ごとの葉内菌類組成を求め、主要な *Lophodermium* 種についてその系統解析を行っているところである。