

立山の異なる積雪条件下で生育するアオノツガザクラの 根内生息菌類の多様性比較

○広瀬大(日大・薬), 下野綾子(筑波大・遺伝子実験センター), 高橋宏瑛(筑波大・生命環境)

ツツジ科植物(ドウダンツツジ亜科, シャクゾウソウ亜科, イチゴノキ亜科を除く)は, hair root と呼ばれる非常に細かい根を発達させ, その根圏に生息する菌類のエリコイド菌根菌や根内生菌(根内生息菌類)と共生関係を築いている. 本邦にはツツジ科植物が緯度・標高問わず様々な土壌環境に幅広く生育しているが, これまで生育環境の違いと根内生息菌類の多様性との関係は 殆ど明らかにされてこなかった. そこで本邦におけるツツジ科植物の根内生息菌類の多様性にみられるパターンを明らかにすることを最終的な目的とした研究を進めている. 本研究プロジェクトにおいては, 高山帯に生育するツツジ科植物を対象とした多様性研究を進めている. 本報告会では, 異なる積雪条件下で生育するアオノツガザクラ (*Phyllodoce aleutica*) を材料とした研究を報告する.

2011年9月に富山県立山の室堂付近(標高2540-2590m)のアオノツガザクラ自生地で根の採取を行った. 積雪条件が異なる2箇所(岩礫地と雪田跡地)で各5個体の細根を約10cm採取し, 実験室に持ち帰った. 持ち帰った根は, 界面活性剤による洗浄, 塩化水銀による表面殺菌を行った. これらの根に生息する菌類の検出は, 分離培養法と環境DNA法により行った. 分離培養法では, CMA培地入りのマイクロプレート(24穴)上に細分化した根を静置し培養, 根から培地上に成長してきた菌糸を新たな培地上に移植することで菌株を確立した. 得られた菌株について, 形態的特徴とrDNAのITS領域と28S rDNA D1-D2領域の塩基配列から種同定を行った. 環境DNA法においては, 表面殺菌を行った根からDNA抽出を行い, rDNAのITS1領域とITS2領域, 28S rDNA D1-D2領域の合計3領域を対象としたPCR後, 第二世代シーケンサー(ロシユGS Jr.)を用いた分析を行った. また, 洗浄した根の一部は, 軟化, 脱色, 染色を行った後, 光学顕微鏡下でエリコイド菌根菌と根内生菌の定着の有無を確認し, それぞれの菌の感染率を算出した.

分離培養法により, 根内から合計151株が分離された. 岩礫地と雪田跡地の間で分離頻度に有意な差はみられなかった. 分離株の多くは子囊菌のビョウタケ目に属する菌であった. 環境DNA法では, いずれの領域においても培養法では検出されなかった担子菌が確認されたが, 高頻度で検出された種の多くは培養法と同様にビョウタケ目に属する菌であった. 岩礫地と雪田跡地での種構成を比較した結果, *Oidiodendron maius* や *Phialocephala fortinii* のように両サイトで高頻度に出現する種がいる一方, 岩礫地で高頻度に出現する *Helotiales* 13 や雪田跡地で高頻度に出現する *Helotiales* 1 があることが検出方法によらず明らかになった. 菌の感染率を算出した結果, 根内生菌の感染率は両サイトで有意な差はみられなかったが, エリコイド菌根菌の感染率は岩礫地で有意に高かった. これらの結果から, 積雪条件により異なる根内生息菌類群集が成立している可能性が示唆された.