

## 積雪条件によるアオノツガザクラの根内生息菌類の変化

### Variations in mycorrhizal fungi of *Phyllodoce aleutica* between alpine fellfield and snowbed habitats

○下野綾子(筑波大・遺伝子セ), 広瀬大(日本大学)

貧栄養・低温といった厳しい環境である高山帯では、根系で共生する菌類が植物の生育を大きく規定していると推測される。陸上植物の多くは、土壤中に存在する菌類と共生し、菌根と呼ばれる共生体を形成している。菌根菌は、根外土壤中にも菌糸を張り巡らし土壤中に存在する無機養分などを根よりも効率的に宿主植物へ運ぶ。そのため、一般的に植物の根に菌根が形成されると宿主植物の生育が促進されることが知られている。その関係は環境条件によって大きく変わることも考えられる。

多雪で特徴づけられる日本の高山帯では、雪の積もり方によって、生育期間、温度条件、水分条件、栄養条件など様々な環境条件が狭い範囲内で変化する。そこで本研究では、積雪環境によって根内生息菌類が変化するのかを明らかにすることを目的に、幅広い積雪環境に生育するアオノツガザクラ(ツツジ科ツガザクラ属)の根内生息菌類についてメタゲノム解析を行った。

雪解けの早い場所と遅い場所からそれぞれ5個体(計10個体)の細根を約20cm採取し、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。そのうち半分は菌根菌の培養に、もう半分はメタゲノム解析に用いた。この細根よりDNAを抽出し、PCRによってrDNA ITS1領域を増幅した。各個体のPCR産物を識別するためにタグ配列を付加後、第二世代シーケンサーGS Junior(ロシュ社)により80Mbp(リード長平均390bp、リード数208,600)の配列情報を得た。塩基配列アセンブラ「Assams」を用いて、リード長300bp以上の配列を対象に信頼度27以上の配列を抽出し、キメラ配列を除去後、配列の97%類似度でクラスタリングしコンティグを得た。5リード未満の低出現頻度配列のコンティグは除去し、得られたコンティグをOTU(Operational Taxonomic Unit)として進化的に同一の菌種とみなした。その後「Claident」を用いてBLAST検索を行い、菌類近隣既知配列群の所属分類群に基づいて生物同定を行った。

各サンプルのリード数は約24,000から68,000で、194のOTUが得られた。これらの1/3は雪解けの早い場所にも、1/3は雪解けの遅い場所にも検出された。ただし、これらの約半分のOTUは1サンプルでのみ検出されており、サンプルによる違いが大きいと考えられた。これらのデータを用いて主成分分析(PCA)を行うと、第一軸で雪解けの早い場所と遅い場所が大きく分けられることが示された(図)。

194OTUのうち62OTUは分類群が同定できなかった。門レベル以上同定できた分類群を見ると、Helotialesに属するものが優占しており、これはこれまでツツジ科の根内生息菌の培養法による調査結果と一致する。

今後はクラスタリングの際の類似度を変えた場合、OUTの数がどの程度変わるのかを解析するとともに、培養法およびメタゲノム法の比較を行う予定である。

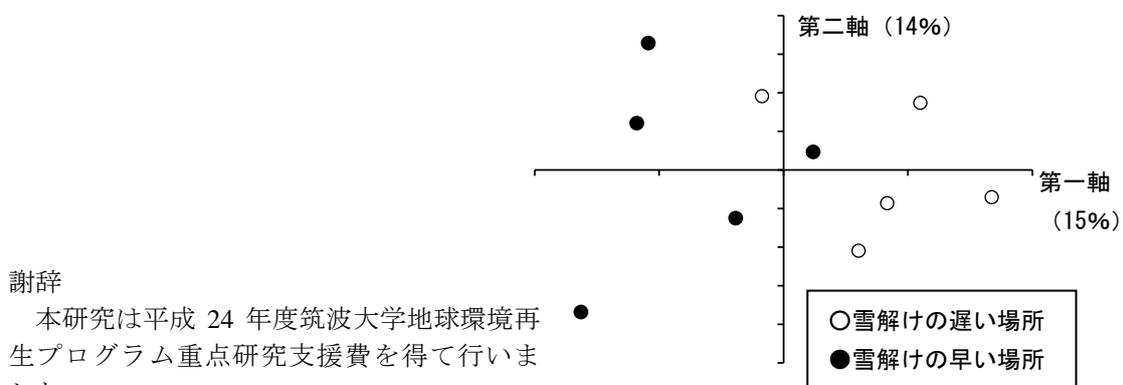


図. 主成分分析(PCA)の結果.