

Ⅲ. 4. 7 DNA 分析法を用いた森林土壌中からのマツタケ検出技術の検討

平成 23 年度 その他

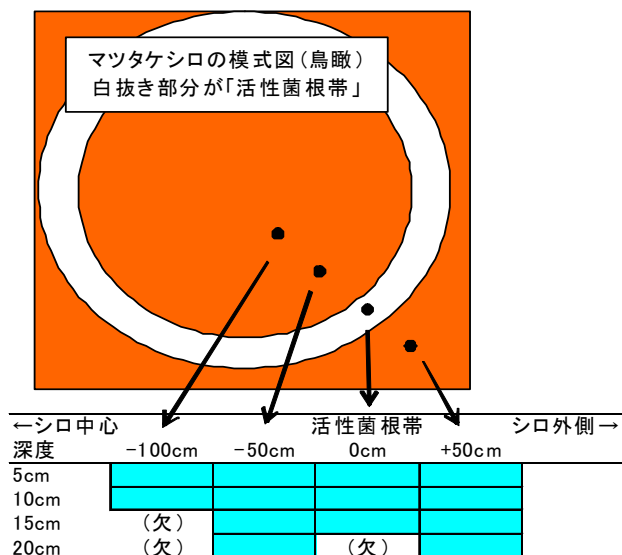
微生物 G (協力 オホーツク総合振興局西部森林室, 北海道大学)

はじめに

マツタケの林地栽培にはマツタケの生育に適した環境条件の把握が必要であり, 本州ではアカマツ林の豊富な事例が蓄積されている。一方, 北海道のマツタケは, アカマツと生態的に異なる幅広い宿主植物 (ハイマツやアカエゾマツ, トドマツなど) と共生しているが, 具体的事例が乏しいためアカマツ林のように環境条件が把握されていない。

環境条件把握のためには, より多くの林分を検証することが必要であり, 土壌中に存在するマツタケのコロニー (シロ) を簡便に検出できれば, マツタケ子実体が発生していない時期でも調査が可能となる。

本研究では, マツタケシロの存在を見分ける方法の開発を目指し, DNA 分析を用いた森林土壌中のマツタケ検出技術の可否を明らかにすることを目的とする。



第 1 図 マツタケシロを含む土壌試料の概要

活性菌根帯 (0 cm) からシロの外側 50 cm, シロの内側 50 cm, 同 100 cm の地点それぞれで土壌サンプラー (直径 5 cm) を用いて地表面 ~ 5 cm, 5 ~ 10 cm, 10 ~ 15 cm, 15 ~ 20 cm の土壌コアを採取した。

研究の内容

第 1 図に示すようにマツタケシロを含む土壌試料を採取した。土壌試料からの DNA の抽出方法を 2 種類, 抽出した DNA の検出方法としてマツタケ検出用として提案されている「プライマー (マーカーとなる DNA 断片)」3 種類 (A, B, C) を検討した。

まず, DNA の抽出は「林産試従来法」で行い, DNA の検出ではプライマー A を用いて PCR (DNA の目的部位を増幅する操作) を繰り返し行うことで「活性菌根帯, 深度 10 ~ 15 cm」の土壌のみからマツタケを検出することが出来た。しかし, 再現性が低いため, 前記条件 (抽出方法および検出方法) とその組み合わせを検討した。

その結果, 抽出を「土壌 DNA 抽出キット」で行い, DNA 検出は汎用されているユニバーサルプライマーとプライマー A を順次用いて PCR を繰り返し行う方法が最善の条件と判断した。

改善後の条件では, 第 2 図に示すように活性菌根帯よりも内側の土壌からもマツタケを検出した。すなわち DNA 分析法を用いることで, 目視よりも広範囲でマツタケの存在を検出できることが示された。

まとめ

シロを含む土壌試料からの DNA 抽出方法およびその検出方法を検討して, 活性菌根帯以外のシロ内側からもマツタケを検出できることを確認した。

今後, マツタケ検出が可能なシロの部位をより明確にするためシロの調査数を増やす予定である。それらの結果をマツタケのシロ分布調査と組み合わせることで, 調査地でのマツタケ検出の精度を向上させることが可能になる。

| ←シロ中心 深度 | 活性菌根帯 | | | | シロ外側→ |
|-------------|--------|-------|-----|-------|-------|
| | -100cm | -50cm | 0cm | +50cm | |
| 5cm | × | × | × | × | |
| 10cm | × | ○ | ○ | × | |
| 15cm | | ○ | ○ | × | |
| 20cm | | ○ | | × | |

第 2 図 土壌試料からのマツタケ検出結果 (条件改善後)
○: 検出, ×: 非検出