DNAマーカーで森林土壌中のマツタケ菌を探す

微生物グループ 官寿次盛生 利用部

【はじめに】 マツタケの子実体(きのこ)が出ている 土壌表面を剥がすと「シロ」と呼ばれるマツタケ菌のコ ロニーが見えます(図1)。

マツタケが出ていなくてもシロの有無が分かれば、マツ タケが発生する場所を予測できるはずです。

これまで報告のある「マツタケ特異的プライ マー(注;DNAマーカー)」を用いて、シロおよび周辺 の土壌から、マツタケのDNAを簡便に再現性良く検出で きるのかどうかを検討しました。



図1 マツタケ菌のシロ(活性菌根帯)の 先端部 (矢印)

【方法】 (1) 土壌試料の採取

コアサンプラー(直径5cm x 深さ5cm x 4本)を使い、 目視で確認できる「活性菌根帯」の内外4か所から土 壌を採取しました(図2)。

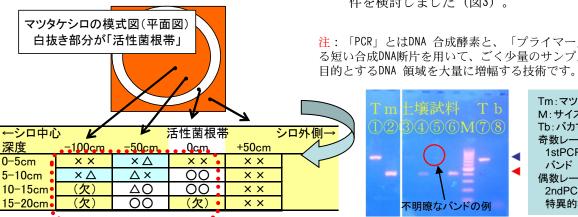


図2 土壌試料の採取箇所およびマツタケ検出結果

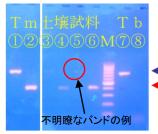
各セルは、左が1回目、右が2回目の結果。

○: 明瞭なバンド有り、 △: 不明瞭なバンド有り、 ×: バンド無し、 (欠):コアサンプル無し

【結果】 活性菌根帯だけでなく内側 (<100cm) の土壌からもマツタケを検出できました(図2)。

いろいろなものが混じっている土壌試料から、 「DNAを抽出する方法」やマツタケのDNAを再現よ く検出するための「PCR反応(注)」について条 件を検討しました(図3)。 注:「PCR」とはDNA 合成酵素と、「プライマー」と呼ばれ る短い合成DNA断片を用いて、ごく少量のサンプルDNA から

(2) マツタケDNA検出方法の検討



がる!」ということです。

Tm:マツタケ菌糸 M: サイズマーカー Tb:バカマツタケ菌糸 奇数レーン&青矢印 1stPCRで検出される 偶数レーン&赤矢印 2ndPCRのマツタケに 特異的なバンド

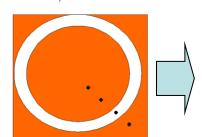
土壌試料からのマツタケ検出例 図3 (電気泳動像)

すなわちDNAマーカーを用いると、下図のよ

うに「マツタケの検出可能範囲が大きく広

【今後の課題】

- (1) 今よりも「非破壊的」に土 壌試料を採取する方法を検討す る必要があります。
- (2) 土壌試料を採取する間隔な どを検討する必要があります。



【現在】表土を剥ぎ取っ て、目視でシロを検出



【将来】土壌を採取し て、DNAでシロを検出