

マツタケの個体識別が可能に - 多様性をふまえた栽培技術開発への着実な第一歩 -

個々のマツタケ菌株を識別することが初めて可能になりました。この技術を用いれば、人工栽培法の開発に適した菌株の選抜が可能になるとともに、共生する樹木との相性、菌株ごとに適したマツタケの生育環境などを明らかにすることも可能です。この度、開発した個体識別法によって、多様性に目を向けたマツタケの人工栽培技術の開発に可能性が開けたのです。



シロから群生しているマツタケ

【マツタケの栽培技術開発に多様性解析が必要】

マツタケは、マツタケ菌糸がマツの根の細胞間隙に宿り、「菌根」と呼ばれる植物 - 菌糸の共生体を作って生きています。このマツ - マツタケ菌根がマツの根圏でマツタケ気中菌糸と共に発達し、塊状になった集落「シロ」を作ります。このシロの成長過程で子実体（きのこ）が発生しますが、その人工栽培法は未だ開発できていません。その要因の一つとして、これまでマツタケの個体識別方法が確立されていなかったため、個々のマツタケ菌株の特性が把握できなかったことがあげられます。つまり、どのマツタケも同じ個体として扱われ、菌株間の違いについてはいわば闇雲に人工栽培技術の開発が行われていました。通常、農作物では、遺伝資源の収集、個々の遺伝資源の特性解明、栽培化に適した優良系統の選抜、育種という流れを経て栽培が可能な品種を作製します。個体識別が出来ることにより、今まで一括りにされていたマツタケ遺伝資源の中から栽培化に向けた菌株を見つけだし、系統として押さえることが可能になります（図1）。

【遺伝子マーカーとしてレトロトランスポゾンに着目】

森林総合研究所は、マツタケの染色体上に数多く存在する「レトロトランスポゾン」という遺伝子に着目し、この遺伝子に連鎖する染色体領域を調べることによって、マツタケ菌での個体識別に成功しました。レトロトランスポゾンは、どの真核生物の染色体にも存在しますが、生物種の間で異なるレトロトランスポゾンを有します。特定の生物種の染色体進化に深く関わったレトロトランスポゾンは、非常に多くのレトロトランスポゾンのコピーを染色体上に残します。つまり、レトロトランスポゾンは、種特異的な遺伝子マーカーです。と同時に、同一生物種でも、個体間で生育環境の違いなどから異なる染色体進化がおこるため、レトロトランスポゾンの存在する染色体部位（=レトロ

トランスポゾンに連鎖する染色体領域)が異なってきます。つまり、レトロトランスポゾンは個体識別にも有効な遺伝子マーカーです。

【レトロトランスポゾンを使った個体識別法】

今回開発した手法は、*marY1* と名付けられたマツタケが特異的に有するレトロトランスポゾンを標識にして、2つの *marY1* に挟まれた染色体領域をポリメラーゼ連鎖反応(PCR)法で増幅し、増幅したDNA断片を電気泳動で多型解析する方法です。電気泳動解析の結果、70種類以上の異なるDNA断片を示すバンドが見られたことから、2つの異なる個体を誤って同一と認識する確率は、 9×10^{21} 分の1以下という非常に精度の高いものです(= 2^{70} 分の1; バンドの有無の2通りの可能性が70通り以上あることからこの計算が成り立ちます)。そして、マツタケが遺伝的に多様な生物種であることが明らかになってきました。また、この手法は、わずかなDNAサンプルがあれば検定可能であり、かつ現在のところ、マツタケとアメリカマツタケの2種のみで遺伝子増幅が可能なので、種々の微生物や植物が混在する野外で採集した「シロ」のサンプルなどでも検定が可能です(図2)。

【波及効果】

マツタケの個体識別ができることによって、その人工栽培法の開発に適した菌株の選抜が可能になるとともに、共生関係にあるマツとの相性、菌株ごとに適したマツタケの生育環境などを明らかにすることができるようになりました。つまり、マツタケの多様性に目を向けた、新たな人工栽培技術の開発の可能性が開けたと考えられます。また、人工栽培法の開発試験ではマツタケ菌糸をマツに接種しますが、できたシロが人工接種した菌株なのかを判定することも可能になったことで、マツタケ人工栽培法の開発が一歩前進したといえます。

本広報の関係論文要旨は、マイコライザ(Mycorrhiza(菌根)、シュプリングァーフェルラーク出版)電子版に2004年9月16日付けで掲載されました。

独立行政法人 森林総合研究所 理事長 田中 潔

研究推進責任者：森林総合研究所 きのこ・微生物研究領域長 石原光朗

Tel：029-873-3211 内線 457

研究担当者：森林総合研究所 きのこ・微生物研究領域きのこ研究室 村田 仁

Tel：029-873-3211 内線 459

広報担当者：森林総合研究所 企画調整部研究情報科長 杉村 乾

Tel：029-873-3211 内線 225 Fax：029-873-0844

【用語解説】

遺伝子マーカー：染色体上にあり、特定の生物種や系統を識別する上で標識となる遺伝子。

系統：生物における世代の連携。ひいては生物種の進化の経路。

菌根：植物の根に菌類が侵入して形成される構造。

個体識別：同一生物種内で各個体を識別すること。ここでは、子実体や菌糸を含めた個々のマツタケ菌株の識別を意味する。

シロ：マツタケの根圏集落。菌根と気中菌糸が根圏で発達して出来た塊。

染色体：動植物細胞内の有糸分裂の際に観察される塩基性色素で染まる棒状の構造体。

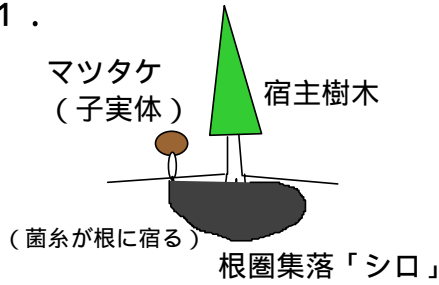
多様性：系統・分類学的には、生物が多く種の種に分化し、その類似の程度が一様でない現象。

DNA:デオキシリボ核酸の略。遺伝子の本体。

レトロトランスポゾン:染色体上のある位置における DNA がいったん RNA に転写され、RNA が逆転写酵素の働きで相補的 DNA に写しかえられて染色体上の他の位置に再挿入される場合の、この転移する DNA の総称。

図 マツタケの栽培技術開発に多様性解析が必要

1.



マツタケは、宿主樹木の根と共生して生きている。人工栽培は未だ不可能。

農作物の栽培化では、
遺伝資源の収集、
各遺伝資源の特性解明、
優良系統の選抜、
育種
を経て栽培可能な品種を作製
することから始まる。

個体識別ができることにより：
マツタケの菌株レベルでの多様性の解明が可能になる。
栽培化に向けた菌株を見つけだし、系統として押さえることが
可能になる。
接種や栽培実験での追跡調査が個体レベルで可能になる。

図 遺伝子マーカーとしてレトロトランスポゾンを使った個体識別法

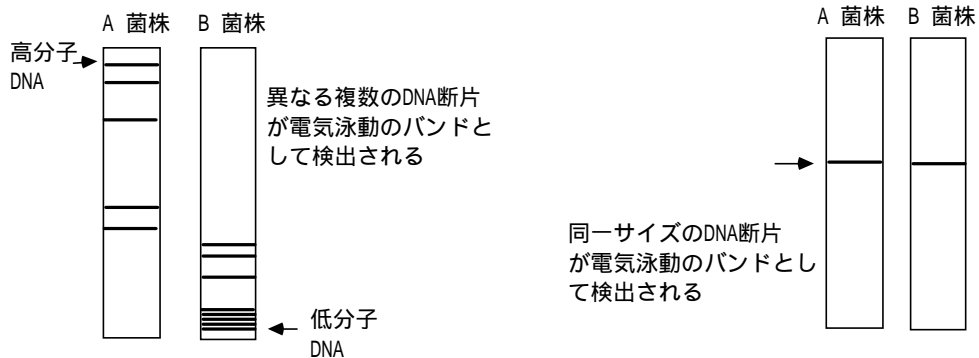
2.



— レトロトランスポゾン — レトロトランスポゾンに連鎖する染色体領域

レトロトランスポゾンに連鎖する染色体領域を使うことにより個体識別が可能。
(AとBでレトロトランスポゾンの挿入数と挿入部位が異なる)

× レトロトランスポゾンそのものを使っても個体識別はできない。
(AとBで個々のレトロトランスポゾンの大きさは同じ)



ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) 法でレトロトランスポゾンに挟まれた連鎖する染色体領域を増幅し、電気泳動することで、個体ごとの染色体構造の違いが分かる。つまり、個体識別が可能。