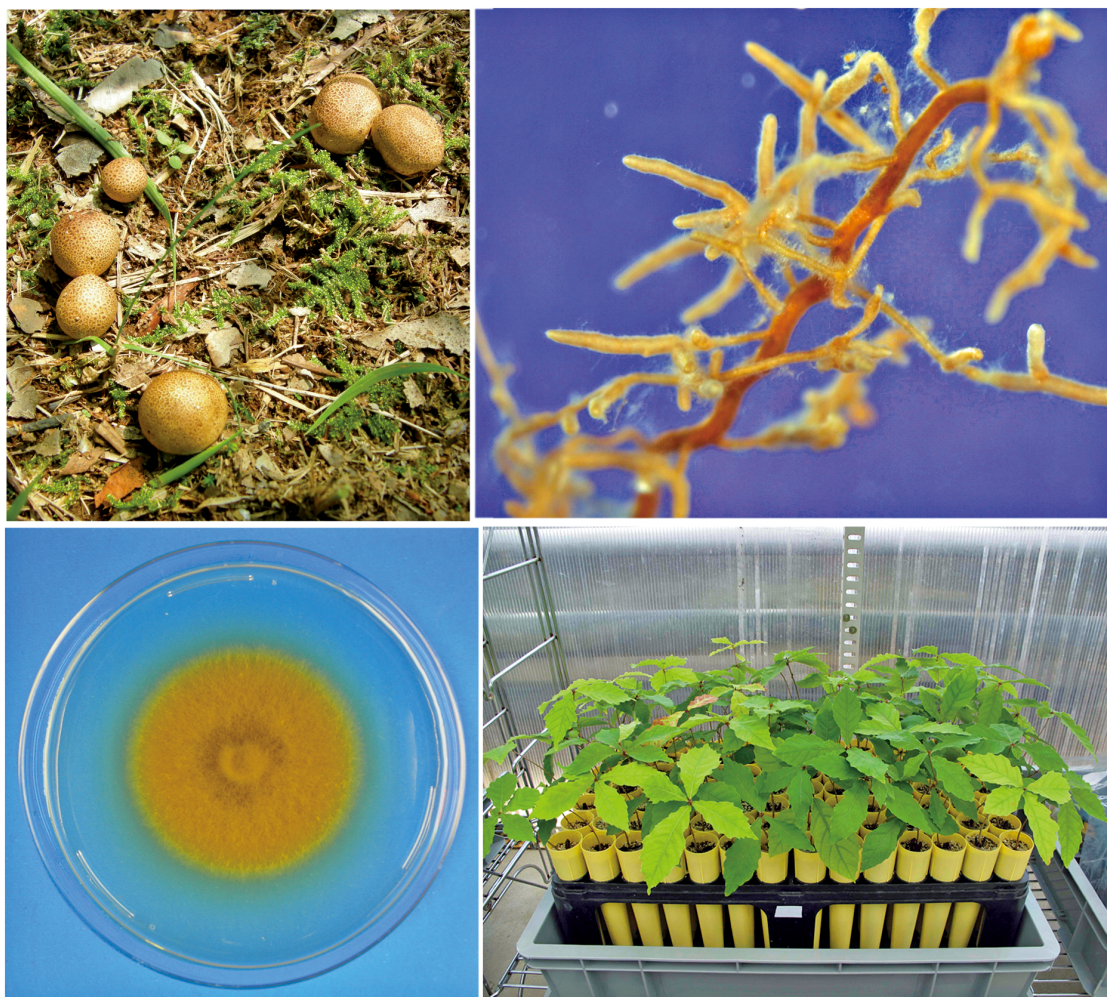


ISBN 978-4-902606-63-8

「森林総合研究所 第2期中期計画成果15（安全・安心－7）」

森林の早期回復に貢献する

菌根形成・管理マニュアル



独立行政法人 森林総合研究所

はじめに

野外で生育する樹木の根には、植物の成長を助ける菌が感染して「菌根」(詳細は後述)を作ります。これら菌根を形成する菌は菌根菌と呼ばれ、土壌中に普通に存在しており、植物の根に容易に感染します。しかし、自然災害などの影響を受けて土壌中の菌根菌が消失している場合には、防災のために植栽した苗に菌根が形成されず、苗の生育や定着が不良になるなどの問題が生じる場合もあります。そのようなとき、人為的に菌根菌を感染させた苗を用いる方法によって、植物の生育を画期的に向上させることが可能になります。

これまで我が国においては、鹿児島県桜島や長崎県雲仙普賢岳、東京都三宅島などの火山噴火被災地で菌根菌感染苗の植栽試験が行われ、菌根菌の感染により苗木の定着と成長量が向上しました。また、滋賀県田上山の斜面崩壊地では、菌根菌の感染によって定着率が高くなりました。京都府京丹後市の海岸では、菌根菌を感染させた苗木を用いて造成した砂防林が砂防機能を十分に発揮しています。海外においても、アメリカの鉱山跡の荒廃地、モンゴルの森林火災跡地さらに中国の荒廃地での植生の回復に菌根菌感染苗の活用による効果が認められています。このように菌根菌の機能を活用することによって、森林の再生や植生の回復が早期に達成され、地域住民にとって安心で安全な生活を確保することができます。

一方、菌根の形成には施設が必要で経費もかかりますし、地域における生物多様性保全の観点から、樹種や菌根菌の選択にも配慮が必要です。無用なコストをかけず、安易な方法による失敗をなくして、実際の現場で利用できる菌根菌感染苗を生産するためには、都道府県の試験研究機関等を中心にした取り組みが必要です。

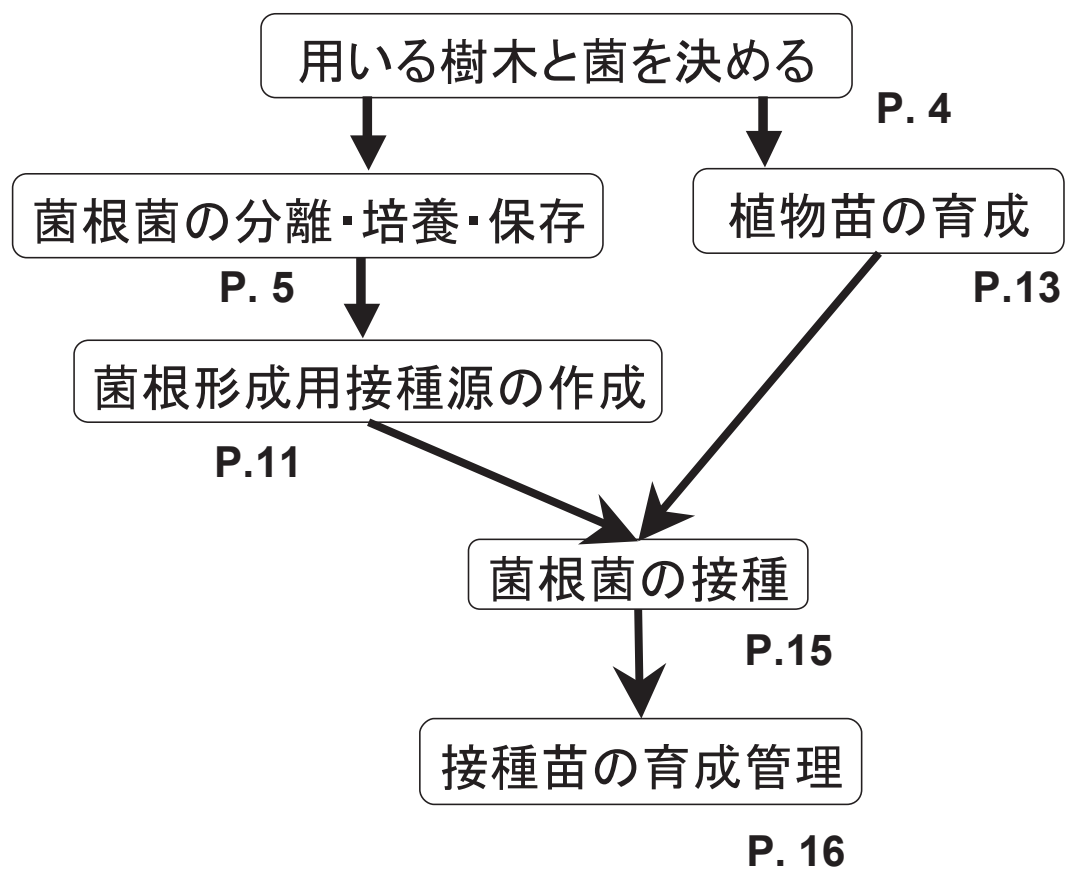
以上のことから、本マニュアルは、現場で植生回復事業に関わられる、都道府県研究機関の研究者の方に活用していただくことを目的に作成しました。そして各地域で生存してきた種を利用することを重視し、菌根菌を現場から採集し、分離して保存する方法から樹木に接種して菌根を形成させるまでを説明しました。



菌根菌(*Ambispora callosa*)が感染した植物を現場に移植した2年後の様子。植生回復への菌根菌の有効性が認められた。

本マニュアルでは、以下の順に述べます。

- ①用いる樹木と菌を決める
- ②菌根菌の分離、培養および保存
- ③菌根形成用の接種源の作成
- ④植物苗の育成
- ⑤菌根菌の接種
- ⑥接種苗の育成管理



表紙の写真

左上：コニセショウロ子実体

右上：コナラに形成されたウラムラサキ菌根

左下：コツブタケ菌糸

右下：コナラ実生苗

菌根とは

野外で生育する樹木の根には、微生物の一種である菌根菌が感染して、菌根という構造物を作ります(表紙写真右上)。菌根を形成した樹木は、菌根から広がる菌糸を根の一部として、土壌中から栄養分や水分を効率的に集めることが可能になるなど、菌根菌は樹木の生育に有効に働きます。

マツ科、ブナ科、カバノキ科などの樹木の根には、根の表面を覆う(外生)菌根菌が感染します。これらの多くは、キノコをつくる菌です。食用菌であるマツタケやショウロはマツ林に発生する外生菌根菌です。海外における高価な食用きのこであるトリュフもクリやナラ類の樹下で発生する外生菌根菌であり、これらの木を植栽した人工栽培も行われています。さらに、外生菌根菌は、荒廃地緑化や樹種転換の事業への活用も期待されています。

外生菌根菌の研究は、野外での生態調査のほか、樹木や菌の生理的特性を解明するため、菌の分離培養および樹木への接種試験が行われてきています。そして菌根形成苗の荒廃地緑化試験も行われています。これらの実験手法は、研究対象である菌や樹木の特性、用途、さらに研究設備に応じて様々です。当所微生物生態研究室では、これまで数多くの菌の分離を試み、多数の菌株を保存しています。また、その一部を用いて、菌の成長への影響要因や、栄養要求性などの様々な生理的特性の解明の研究を行ってきました(赤間ら、2008)。

この印刷物は、重点課題アイb「水保全機能の評価及び災害予測・被害軽減技術の開発」による成果です。

森林微生物研究領域 微生物生態研究室
赤間慶子, 山中高史

1. 用いる樹木と菌を決める

まず初めにどのような樹木と菌を使うのかを決める必要があります。

【樹木】

緑化を行う場所にもともと育っている樹木を用いることが必要です。そのため、過去のデータから、または実際に現場において植生を調べます。外生菌根を作る樹木には、マツ科、ブナ科、カバノキ科などがあり、これらの樹種が植生データに記載されていたり、現場周辺に育っていたりすれば、それらを選択します。そしてその種子を集めておきます。

【菌根菌】

樹木の種に基づいて、菌根菌の種を決めます。

菌根菌と樹木との関係については、次のようなことがわかっています。

- ①発生する樹種が限られた菌もあれば、様々な樹種の森林で発生する菌もある。
- ②森林の遷移の早い時期から現れる菌や、遷移の遅い時期に現れる菌がある。

植生回復には、①様々な樹種の森林で、②遷移の早い時期から現れる菌が適しています。さらに、菌根作成には菌糸の成長の早い菌が適しています。コツブタケ、ツチグリ、キツネタケ属菌およびニセショウロ属菌はこれらの特徴を有しており利用に適しています。この他、マツを用いた海岸林の場合、ショウロやヌメリイグチ属菌も適しています。

これらの菌は、通常梅雨の頃から秋に、キノコを発生させます。その時期に、現場周辺の林で採取します。また、菌の種類は一種よりも様々な種類があったほうがよいので、現地での採取で複数種のキノコが得られれば、それらを1種に絞る必要はありません。

《メモ》 緑化に利用できる樹種と菌根菌の組み合わせの例

樹 種	菌 根 菌					
	コツブタケ	ツチグリ	キツネタケ属	ニセショウロ属	ショウロ	ヌメリイグチ属
アカマツ	○	○	○	○		○
クロマツ	○	○	○	○	○ ¹	○
コナラ・ミズナラ						
スダジイ・コジイ・シラカシ	○	○	○	○		
ヤシャブシ・ヤマハンノキ				○		

¹海岸林として植栽する場合

選択した樹種と菌を使い、以降の手順に従い菌根形成苗を作ります。

2. 菌根菌の分離

菌根菌の分離は、①野外からキノコを採取し、②そこから組織を切りとり、培地上に置き、③菌糸の出現を観察することからなります。

2. 1. キノコ採取

用意するもの

紙袋(①), ティッシュペーパー(②)またはキッチンタオル(③), ビニール袋(④), ピンセット(⑤), 土壌採取コテ(⑥)

方法

①必要に応じて採取地の土地所有者の許可を得る。

②できるだけ新鮮なキノコを探す。

③土や落ち葉などのゴミが付着してこないように注意しながらキノコ全体を採取する。キノコが埋もれているときは、コテやピンセットなどで周囲の土壌や有機物を取り除いて、採取する。

④採取したキノコは、分離の時まで乾燥しないように、それぞれ紙袋に入れるか、ティッシュペーパーやキッチンタオル等で包んで、ビニール袋に入れる。

④濡れていると分離の時に雑菌が混入しやすいので、できるだけ雨天時には採集しない。

⑤採取の記録(採取地、採取日、採取者(同定者)、林(植生)の種類、地形および土壌の特徴)を残しておく



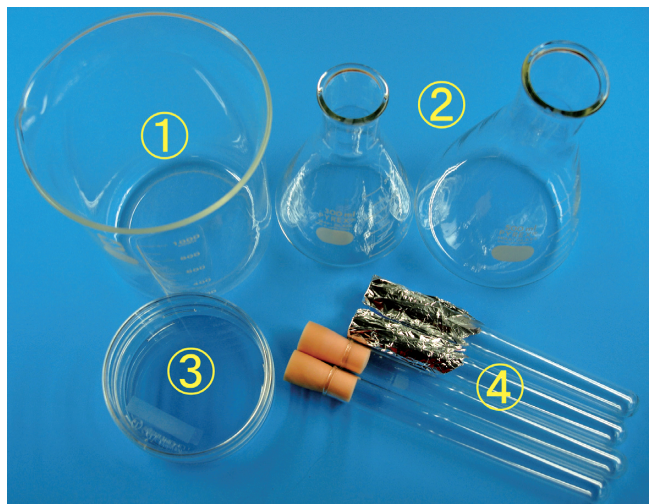
コニセショウロ子実体

2. 2. 培地の作成

分離培養を行うために、寒天培地(培地成分を寒天で固めたもの)を準備します。

用意するもの:

ビーカー(1L) (①), 三角フラスコ(300～500 mL) (②), 滅菌済みペトリ皿(市販の殺菌済みプラスチック製ペトリ皿、もしくはオートクレーブ殺菌や乾熱滅菌したガラス製ペトリ皿)(径90mm) (③), 試験管(シリコ栓やアルミホイルで蓋をする)(径18mm) (④), 分液ロートまたは連続分注器, もしくは駒込ピペットとゴム帽, 培地用試薬, 蒸留水



方法

(1) 平板培地

① 外生菌根菌生育用培地(培地数種の組成を次ページに示す)の試薬を秤量し、ビーカーや三角フラスコ内で蒸留水に溶かし、培地容量の1.5%の寒天を加え、アルミホイルを2枚重ねて容器の口を覆い、121℃で20分間オートクレーブ滅菌をする。培地の作成量は、オートクレーブする間にフラスコ内の培地が突沸しないように、フラスコの容量の半分程度にする。

② 作業はクリーンベンチ内で行う。寒天が溶けている間に滅菌済みのペトリ皿に20～40mlずつ分注し、蓋をして固める。

(2) 斜面培地

① 平板培地同様に調製した培地を寒天が完全に溶けるまで、湯煎または電子レンジで加熱する。液状の培地を分液ロートまたは連続分注器で試験管に分注し、シリコ栓またはアルミホイルで蓋をする。大量に分注するときは、分液ロートや連続分注器を使うと簡単に速やかに行うことができるが、駒込ピペットで分注してもよい。

② 平板培地と同様にオートクレーブで滅菌した後、寒天が溶けている状態で試験管を斜めに寝かせて置き寒天を固める。その時試験管の口に培地が付着しないよう置き方に注意する。立てたまま固めた状態よりも培地の表面積が大きくなるため、菌のコロニーを大きくすることができ、その後の観察が容易になる。

《メモ》

- * 馬鈴薯煎汁・ブドウ糖寒天培地(PDA)や麦芽エキス・ブドウ糖寒天培地(MA)などが、糸状菌用培地として使われています。菌根菌用の培地としては、炭素源や窒素源の量が多く含まれているので菌糸の成長が旺盛になるものも多いのですが、一方、培地中に菌の代謝産物を多く排出するため菌糸の伸長が抑制されてコロニーが堅くなったり、菌糸の活性の低下が早くなったりする場合があります。
- * キノコからの分離の際、細菌の成長を抑えるには、抗生物質(30～50 ppm のクロラムフェニコールやテトラサイクリンなど)を加えるか、培地の pH を酸性にします。一般に培地の pH は、1N の塩酸および 1N の水酸化ナトリウムで調製します(pH4.5～5.5 の範囲が多い)。また、培地に微量の殺菌剤(ベノミル剤など)を加えると、子のう菌や不完全菌類の生育を抑えて担子菌類を選択的に分離できる場合があります。

一般的な外生菌根菌分離培養用培地の組成

数値は1 Lあたりの量(g)

	Hagem	Yeast	KO	MMN	Ma/2
ブドウ糖	5	10	10	10	10
麦芽エキス(Difco)	5			3	10
バクト ペプトン(Difco)		2			1
酵母エキス(Difco)		2			
塩化アンモニウム	0.5				
酒石酸アンモニウム			1		
リン酸2アンモニウム				0.25	
リン酸2水素カリウム	0.5	1	1	0.5	
硫酸マグネシウム7水和物	0.5	0.5	0.5	0.15	
塩化鉄(1%溶液)	0.5(ml)			1.2(ml)	
塩化カルシウム2水和物			0.0555	0.05	
塩化ナトリウム				0.025	
クエン酸鉄			0.005		
硫酸亜鉛7水和物			0.0044		
硫酸マンガン4水和物			0.005		
ニコチン酸			0.0005		
葉酸			0.0005		
チアミン塩酸塩			0.0001	0.0001	

(赤間ら(2008))

2. 3. 分離

採取したキノコから組織や胞子を取り出して、培地上に置き、菌糸を伸長させます。

用意するもの

平板培地または斜面培地(①), 70%アルコール含浸脱脂綿(②), メス(③), ピンセット(④), 径 90mm 滅菌ペトリ皿, 白金線と白金耳(ニクロム線で代用できる)(⑤), ハサミ(⑥), アルミホイル(⑦), バーナー,



方法

(1)組織からの分離

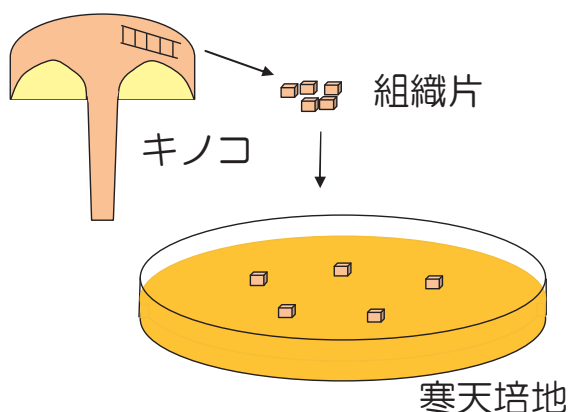
①分離はキノコ内部の組織のみを使い、

外表部は入らないようにする。作業はクリーンベンチ内でアルミホイルを敷いた上で行う。

②キノコの表面に付いている土や落葉などの大きなゴミをピンセットで取り除いた後、70%アルコールを含浸させた脱脂綿で傘の表面を拭く。

③バーナーなどの炎で焼いて殺菌したメスで傘に切り込みを入れ、キノコを裂いて内部を出す。

④裂いた傘の断面から、焼いたメスで内部の組織を切り取り、滅菌したピンセットで培地上に置く(右図)。キノコの大きさや内部の虫の食痕の有無に応じて、3~7mmの大きさにする。



⑤軸から組織を切り取る時は、ハサミを使う方が便利な場合がある。

⑥傘が開く前のキノコでは、内部のヒ

ダからも分離することができる。このときは、ヒダの基部をメスで切り取るか、またはピンセットでヒダの端をつまみ取って、培地上に置く。

⑦平板培地に置く場合、ペトリ皿1枚につき4～5片置く。

⑧斜面培地に置く場合は、組織片をペトリ皿などの滅菌容器に切り出しておき、試験管1本につき1～2片を置く。

⑨残ったキノコは標本として残しておく(下写真)。

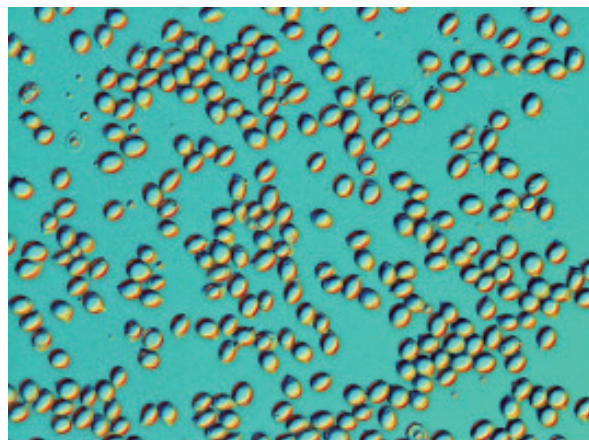


分離後の乾燥標本. 左, チチアワタケ; 右, ニセショウロ

(2) 孢子からの分離

①キノコは軸を切り取り、滅菌したペトリ皿に傘を伏せ、一晩置く。

②傘を取り除き、落ちた孢子(右写真)は滅菌した白金耳(バーナーで焼いて殺菌し、寒天培地に差し込んで温度を下げる。そのとき寒天が音を立てて溶ける程度に加熱して滅菌する必要がある)でかきとり、培地上に塗る。



イボテングタケの担子孢子

《メモ》

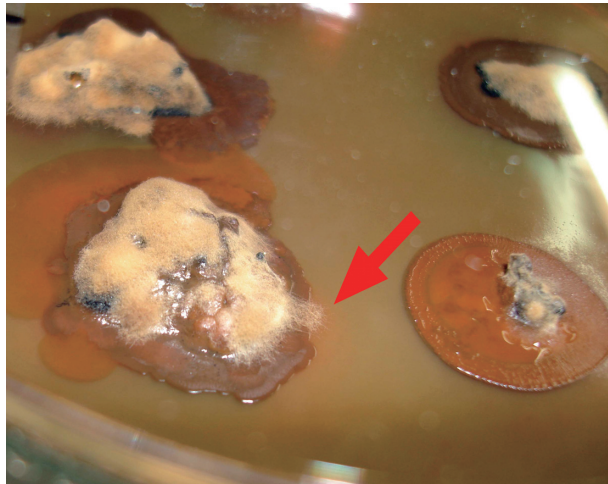
* 上記の方法は、複数の孢子が同時に発芽する場合もあり、この場合、多核の菌糸となります。育種や交配試験を行う場合は、一個の孢子からの発芽による単核の菌糸を得ることが必要となります。このときは、ペトリ皿のふたの内側にキノコを培地片やラノリンを使って貼り付けてふたをし、一晩くらいそのままにして培地上に直接孢子を落下させます。その後、キノコを取り除き、実態顕微鏡下で一個の孢子からの発芽が確認された菌糸を培地ごと切り取って(単孢子分離)、新しい培地に移します。

* 菌根からの分離

野外から採取した菌根には根圏微生物や土壌動物が混入している場合があります。菌根菌だけを分離することは手間がかかる上に難しくなります。菌根から分離する場合には、キノコからの菌糸のつながりを確認しながら、新しい菌根を集め、表面殺菌を行って直ちに分離を行います。また菌根から分離された菌株については、DNA を調べて種の確認を行っておく必要があります (Yamada et al., 2001)。

(3)分離の確認

- ①約 25℃の恒温器に入れた後、1週間くらいは毎日確認する。昆虫、細菌や目的としない糸状菌が混入していた場合は、そのペトリ皿や試験管を廃棄する。複数個の切片を置いていて、汚染されていない組織片がある時は、それを新しい培地に移植する。一般に外生菌根菌は生育が遅いので、1週間以内に培地表面に大きく広がったり、分生子を作るような糸状菌は外生菌根菌ではない可能性が高いので、廃棄してよい。



細菌コロニーより外側に伸長した菌糸

- ②細菌が混入していても、それらが分離源として置いた組織片の周囲にのみ広がっているとき、その後に菌糸が生育してくる場合(上写真、赤矢印)もあるので、しばらく置いておく(最低2ヶ月)。
- ③菌糸が伸長していない場合であっても、培地が乾燥しないようにテープなどを巻いて、最低2ヶ月は置いておく。
- ④廃棄するときは、オートクレーブにかけて殺菌する必要がある。

2. 4. 培養と保存

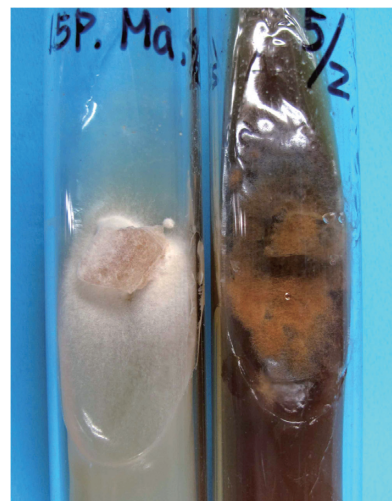
分離菌は、菌株として保存します。

方法

①分離に成功した菌のコロニーの外縁部から、火炎滅菌したメス、白金線あるいはコルクボーラーなどを用いて、菌体を培地ごと1辺あるいは径4～10mm程度の大きさに切り取って、平板培地または斜面培地に置く(1個／枚あるいは本)。

②20～25℃の恒温器内で培養する。適時観察し、細菌や他の糸状菌に汚染されていないかを確認する。コロニーの動きが見られない場合でも2ヶ月程度は様子を見る。

③分離した菌は、寒天培地上で育てて4℃で保存し(右写真)、一定期間(1年)ごとに植え継いで維持する。また、長期保存法としては、10%グリセリン水溶液に浸漬し-40℃以下で保存する凍結保存法などがある。いずれの方法によっても、活性が低下したり、死滅したりすることがある。また、これらの保存状態下にあった菌を実験に用いる際には、事前に20～25℃の温度で培養して菌糸伸長の様子を確認する必要がある。



保存用斜面培地。左、ハイカグラテングタケ; 右、ツチグリ

3. 菌根苗の作成

菌根合成には、接種源の菌と、菌根化させる樹木の苗を用意します。

3. 1. 接種源の作成

植物への菌の接種は、寒天培地上を拡がる菌体を寒天ごと切り取ってそのまま苗の根の近くに置く方法が最も簡単です。しかし無菌でない状態では、寒天片に雑菌が混入し、目的とした接種菌の成長が抑制される場合があります。その点を考慮し、液体培養した菌体を滅菌水で洗浄して接種したり、滅菌した土壌などの担体で培養した菌体を接種する方法があります。

(1)液体培養

用意するもの

1)容器

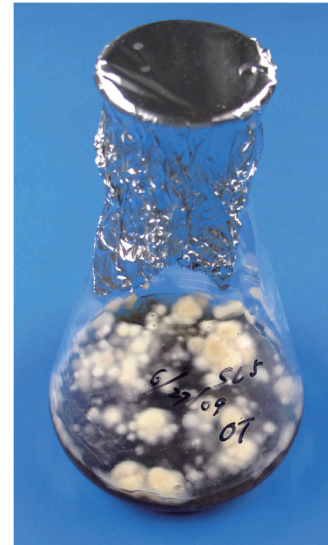
サンプル瓶, 三角フラスコ, 滅菌済みプラスチック製円筒容器(蓋付きで容量 70~120ml のもの。市販の容器がある)など

方法

①寒天を含まない分離培養用培地(P.5参照)を容器に入れ(容量の 1/5~1/2)、オートクレーブ滅菌をする。滅菌済み円筒容器の場合は、フラスコなどのガラス容器に培地を入れてオートクレーブ滅菌した後、滅菌済みの分注器やピペットで分注する。

②保存用菌株を一旦平板培地で1ヶ月間くらい培養したものから、菌体を切り取り植える(容器の大きさに応じて3~5個)。

③25℃前後で培養する。培養期間 2~4 週間程度が接種後の菌の伸長が速い。2 週間目あたりに、液体培養菌体を無菌的にミキサーやブレンダーで攪拌し、菌糸を断片化する。これにより、菌糸が塊状になるのを防ぐことができる(右上写真)。



コニセシヨウロ培養菌体。接種後1ヶ月目。接種後2週間目に菌糸を断片化した

900mL培養瓶におけるヌメリイグチ培養。左：鹿沼土・パーライト混合土壌(3:2, 500 mL), 菌接種後92日目;右：鹿沼土・パーライト混合土壌(3:2, 500 mL)+AK培地50mL, 菌接種後48日目。



(2)固体培養

土壌(上写真)やセルローススポンジ(次頁写真)などの担体に液体培地を含ませ、菌を

培養して、接種源として用います。この場合、接種後、菌の伸長開始が早くなります。

用意するもの

1) 容器

キノコ栽培容器(袋), サンプル瓶, 三角フラスコ, 試験管, 滅菌済みコンテナなど

2) 担体

赤玉土, 鹿沼土, セルローススポンジなど



方法

①容器に担体を入れる。土壌は液体よりも滅菌しにくいので、事前に滅菌缶などで約 30 分間オートクレーブにかけ、1 日以上時間を空けたものを使う。

セルローススポンジを用いた接種源作成。左：ニセシヨウロ; 右：チャニガイグチ。セルローススポンジ500mL+Ma/2培地80mL, 菌接種後183日目。

②担体容量の 10~20%の液体培地を加えて、オートクレーブで 20 分間滅菌する。菌を接種して、25℃で培養し、担体に菌を蔓延させる。接種した菌によっては土壌など担体の種類によって菌糸の伸長に適さないものもあるので、予備的に検討しておく。

3. 2. 植物苗の育成

菌の接種には、無菌苗、もしくは無菌根の状態の苗が必要になります。無菌苗は密閉した容器内において無菌条件下で育てた植物苗です。これは、マツ・モミ・カンバなど小さい種子からは容易に作成することができます。一方、シイ・カシなどの大型の種子(ドングリ)は無菌化することが困難な場合があります(右写真)。また、密閉容器内は過湿になり、植物の成長に適さない場合があります。この場合は、根系への目的外の菌根菌の自然感染が起こらないように注意しながら、滅菌土壌で育てた苗を用います。

樹木の種子。左上, ケヤマハンノキ;
右上, アカマツ; 下, コナラ。



用意するもの

殺菌剤(過酸化水素水, 次亜塩素酸ナトリウム(アンチホルミン)など), 滅菌水, 寒天培地(素寒天培地、植物育苗用培地), 培養瓶, コンテナ, 培養土

方法

(1)種子の殺菌

- ①ドングリなどの堅果類は外皮を剥く。小さな種子はそのままビーカーなどに入れ、ガーゼで蓋をして種子が流れ出ないようにして流水下に置く。
- ②30%過酸化水素水や 10%次亜塩素酸ナトリウムに 10~20 分間攪拌しながら浸漬して表面殺菌をしたのち、滅菌水で洗浄する(3~4回)。
- ③無菌苗用には、殺菌種子を素寒天培地や植物育苗用培地などに置いて雑菌の感染の無いことを確認する。感染している場合は、培地上に細菌や糸状菌が現れる。

(2)培養土の殺菌

無菌苗用には、培養瓶や三角フラスコなどオートクレーブ滅菌可能な密閉容器に、土壤容量の 10~20%の蒸留水を加えた土壌を入れて(容器容量の 1/3~1/2)滅菌する。無菌根苗用には、土壌をオートクレーブ滅菌した後、ポットやコンテナにつめる。必要に応じて、窒素やミネラル類を添加する。このとき糖を含まないムラシゲ・スクーグ培地など調合された植物育成用の液体培地が簡便に使うことができる。培養土の 10~20%添加する。

(3)発芽種子の移植

無菌苗は上記培地上で発芽した種子を、無菌条件下で土壌に植える。無菌根苗用には、滅菌した後、直ちにポットに入れた滅菌土壌に播種してもよい(右写真)。

植物苗。左、コナラ無菌根苗；
右、アカマツ無菌苗



3. 3. 菌の接種

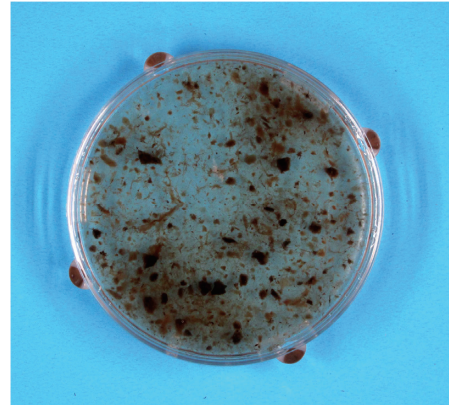
(1) 液体培養菌体

用意するもの

ミキサーまたはブレンダー, 滅菌した濾紙や漏斗,
遠沈管, 駒込ピペット, 滅菌水

方法

- ①液体培養で増殖した菌体を無菌的にミキサーやブレンダーで攪拌し、菌体を断片化させる。
- ②菌体断片を濾紙で濾過するか、または遠心分離を行い菌体を集める。続いて、滅菌水を用いて菌体を洗浄する。無菌条件下が望ましい。
- ③滅菌水に再懸濁した菌体(上写真)を、駒込ピペットで一定量(1～3ml, 菌体の量、接種する植物体の大きさや苗数、発根状況に応じて決める)をとり、育成していた無菌苗または無菌根苗の土をどけて細根を露出させ、細根にかかるように接種する。



ツチグリ菌糸断片液

(2) 固体培養菌体

用意するもの

スパーテル(薬さじ), ピンセット, 滅菌土壌, 滅菌水

方法

1) ポット

- ①菌の増殖した担体(右写真)を一定量(1～3cm³, 接種条件に応じて決める)とり、無菌根植物の細根に接触させるように置く。
- ②土壌をかぶせた後、十分に水をやり、できるだけ培地成分を流し出すようにする。



日向土上を拡がるコツブタケ菌糸

2)コンテナ・鉢

- ① 使用する容器に深さ 1/3 程度滅菌土壌をつめ、中程に固体培養菌体を敷き詰め(厚さ1～3cm), その上を滅菌土壌で薄く覆う。
- ②そこに無菌根植物を植える。もしくは表面殺菌処理した種子を播く。滅菌土壌で被覆する。
- ③十分に水をやり、できるだけ培地成分を流し出すようにする。滅菌水が望ましい。

4. 菌根接種苗の育成管理

- ①植物は菌根菌を接種した後、菌根を形成するまで、温度や水分が管理できる温室などで育成する(右下写真)。
- ②2週間に一度など定期的に低濃度(窒素量は2～20mM 程度)の肥料(液肥)を与える。
- ② 菌根は早いものでは約2週間で形成されるものもある。1～2ヶ月間育てた後に植物体を掘り出して菌根の形成を確認する(下写真)。



コナラ苗



コナラに形成されたコソブタケ菌根(矢印)と黄色のヒモ状をした菌糸束

* 現場への植栽

このようにして菌根を形成した苗は、そのまま土ごと植え付けます。植栽時期は、樹木根が伸び始める直前が適しています。一般に植栽時には大量の施肥は必要ありません。今回は、植生回復に樹木を用いていますが、緊急に裸地をなくす必要があるときなどは、別種の菌根菌を接種した草本類を併せて用います。

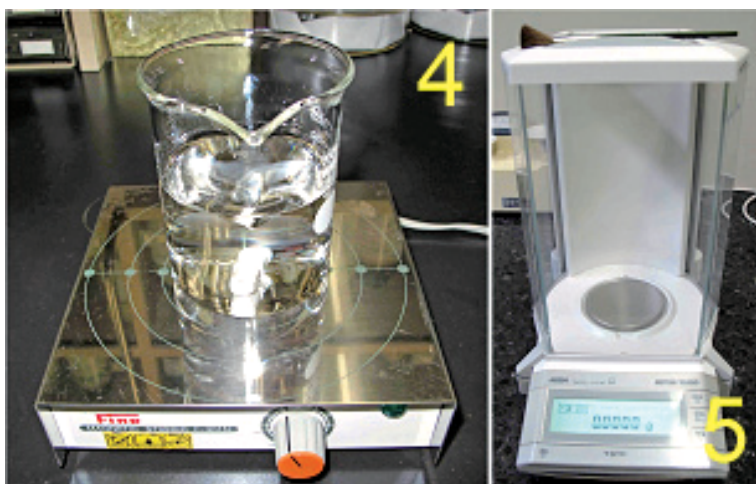
* 必要な施設および機器

一連の作業に必要な主な施設と機器を以下にまとめました。

- クリーンベンチ(無菌実験台:写真1):無菌操作を行う。
- オートクレーブ(写真2):加圧水蒸気で培地などを殺菌する。



- 乾熱滅菌器:使用時にぬれていては困るものを加熱殺菌する。
- 遠心分離器:接種菌体を集める(写真3)。
- マグネットスターラー(写真4):培地の調製などに用いる。ビーカーやフラスコの中の液体中に、スターラーバー(白色をした棒)を入れ、磁力によりそのバーを回転させて水流を生じさせ、試薬を溶かす。



- 電子天秤(写真5):試薬を秤量する。
- 蒸留水製造装置:培地の調製や滅菌水に用いる水を精製する。
- 恒温器:一定の温度条件下で菌を培養する。
- ガラス室(温室):無菌根苗や菌根菌接種苗の育成に用いる。

参考文献

1) 培地の組成や培養

赤間慶子・岡部宏秋・山中高史（2008）様々な培地上における外生菌根菌の成長様式. 森林総合研究所研究報告 7 : 165-181.

2) 菌根からの分離

Yamada, A., Ogura, T., Degawa, Y., and Ohmasa, M. (2001) Isolation of *Tricholoma matsutake* and *T. bakamatsutake* cultures from field-collected ectomycorrhizas. *Mycoscience* 42: 43-50.

3) 菌株の保存

土壤微生物研究会編（1992）新編土壤微生物実験法. 411pp, 養賢堂, 東京.

Norris, J.R., Read, D.J., and Varma, A.K. (1991) *Methods in Microbiology*, vol. 23 *Techniques for the Study of Mycorrhiza*. 480 pp, Academic Press, London.

4) 菌根の解説

Smith, S.E. and Read, D.J. (2008) *Mycorrhizal Symbiosis*, 3rd ed. 787 pp, Academic Press, London.

独立行政法人森林総合研究所では、第2期中期計画の成果として下記の重点分野ごとに成果集を刊行しております。

地球温暖化対策に向けた研究(温暖化対策)

森林と木材による安全・安心・快適な生活環境の創出に向けた研究(安全・安心)

社会情勢変化に対応した新たな林業・木材利用に関する研究(林業・木材利用)

新素材開発に向けた森林生物資源の機能解明(生物機能)

森林生態系の構造と機能の解明(生態系解明)

森林の早期回復に貢献する 菌根形成・管理マニュアル
森林総合研究所第2期中期計画成果

独立行政法人 森林総合研究所

Forestry and Forest Products Research Institute

〒305-8687 茨城県つくば市松の里1番地

TEL.029-873-3211

FAX.029-874-3720

URL [http : //www.ffpri.affrc.go.jp/](http://www.ffpri.affrc.go.jp/)

発行日 平成 22 年 3 月 30 日

編集発行 独立行政法人 森林総合研究所

※本誌掲載記事及び写真の無断転載を禁じます。