

令和 4 年 6 月 21 日現在

機関番号：15101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06088

研究課題名(和文)凍結保存が困難な菌根性担子菌培養株の長期保存法の開発

研究課題名(英文) Developing long-term preservation method for hard-to-cryopreserve ectomycorrhizal basidiomycete cultures

研究代表者

中桐 昭 (NAKAGIRI, Akira)

鳥取大学・農学部・教授

研究者番号：70198050

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)： 難保存性の菌根性担子菌培養株を対象にして、凍結・復元後に高い生残率、菌糸成長速度および菌根形成能を維持できる凍結保存法の開発・改良に取り組んだ。菌根形成能を評価するための菌根合成実験では、復元後の菌株をアカマツ実生苗に接種して形成させた合成菌根では野外菌根の形態的特徴が再現されていること、凍結保存による傷害の程度は菌根化率で評価できることが分かった。様々な前培養法を比較した結果、パーミキュライトを培養基剤に用いるシャーレ法は従来のチューブ法よりも生残率と菌糸成長速度維持の点で優れた前培養法であること、一方、菌根化率の維持の点ではシャーレ法よりも寒天ディスク法が優れていることが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果は、生態学的にも経済的にも重要な菌群である菌根性担子菌類の培養株を長期間安定的に保存する方法の開発・改良に貢献するものである。これまで本菌群は分離・培養が難しいだけでなく、その培養株の保存が困難なために、世界の菌株保存機関でもわずかな菌株が保存されているのみで、入手が困難なため活用されることが少なかったが、菌株の性状を維持できる凍結保存法を開発することによって、様々な研究分野において本菌群の多種多様な培養株を生物資源として活用することが可能になる。

研究成果の概要(英文)： This research aimed to develop and improve a useful cryopreservation method for cultures of mycorrhizal basidiomycetous fungi achieving high survival rates and maintaining hyphal growth rates and mycorrhiza forming ability in revived cultures. Our mycorrhiza synthesis method successfully generated artificial mycorrhizae on the root tips of *Pinus densiflora* seedlings and reproduced normal morphological characteristics identical to those of natural mycorrhizae, and the damage levels on fungal cultures caused by cryopreservation were assessed by the mycorrhiza formation rates on the root tips. Comparing and evaluating various preculturing methods for cryopreservation, we found "the Petri dish method" using vermiculites as culture substrate is more effective in achieving high survival rates and hyphal growth rates of revived cultures than the original "Tube method", whereas "the Agar disc method" is more efficient than "the Petri dish method" for maintaining mycorrhiza formation rates.

研究分野： 水界に生息する菌類の分類と生態に関する研究、および、菌株保存法の開発

キーワード： 菌株保存 凍結保存 菌根性担子菌 難保存性培養株 菌根形成 多孔性培養基剤

## 1. 研究開始当初の背景

植物の根と菌根を形成して共生する菌根性担子菌類は、マツタケなど食用価値の高い菌種を多数含むため、生態学的に、また経済的にも重要な菌群である。しかし、本菌群は人工地による分離・培養が難しく、しかも菌株の長期保存が困難な菌種が多いため、世界の遺伝資源保存機関を見ても、保存されている菌種、菌株は少ない。そのため、本菌群の菌株は研究資源として有効に利用できていないのが現状である。近年、Sato et al. (2019, 2020, 2021) の研究により、凍結前の前培養時にパーライトやパーミキュライトなどの多孔性鉱物に液体培地を染み込ませて培養基剤として用いるパーライト法 (PP) およびパーミキュライト法 (VP) が開発された。PP および VP は、凍結前の前培養の際に凍結チューブ (2ml 容) の中にパーライトまたはパーミキュライトなどの多孔性培養基剤と液体培地を入れて、その中で菌株を培養する方法 (チューブ法) であり、これまで凍結保存の成績が不調だった本菌群のかなりの種の菌株を凍結保存できることが示された。しかし、PP および VP のチューブ法を様々な菌株に適用する中で、菌種・菌株によっては生残率が低いものがあった。その要因として、培養が数カ月及び場合のチューブ内の酸素欠乏による生育不良や接種源の活性度合 (菌糸伸長力) の違いによると思われるチューブ間での不揃いな生育などが考えられた。このように、PP および VP のチューブ法で保存できない菌根性担子菌株が未だ存在するため、菌根性担子菌類の資源化には、多種多様な菌種・菌株に適用できる長期保存法の開発・改良が求められている。

凍結保存された菌株の品質の確認は、一般には凍結復元後の菌株の生残性や保存前後の菌糸成長速度の比較のほか、栽培きのこの場合には子実体形成能の比較などにより行われており (Maekawa et al., 1988, 1990) 菌株の性状を維持できる保存法としての有効性が評価されている。菌根性担子菌類の場合では、生残性などのほかに本菌群にとって最も重要な性状ともいえる菌根形成能など宿主植物と共生関係を構築する能力が保存されているかどうかで評価されるべきと考えられるが、凍結保存後の菌株の品質が菌根形成能に基づいて評価された事例は僅かにしかなく (Crahay et al., 2013; 小長谷・山中, 2020) その手法の確立が望まれている。このように、保存後の生残性、菌糸成長速度、そして菌根形成能の維持に注目して総合的に保存法の有効性を評価する手法に基づいて、真に有効な保存法を開発・改良していく必要がある。

## 2. 研究の目的

より汎用性の高い凍結保存法を開発することを目指し、菌根性担子菌類の凍結保存株の保存性を評価する方法を確立して、それを適用して有効な保存法を開発するために以下の 2 点を目標とした。

### (1) 多様な菌根性担子菌株を保存できる凍結保存法開発のための前培養法の改良

これまでに有効性が示されているパーミキュライトを多孔性培養基剤として用いて、凍結用チューブではなくシャーレを用いた前培養法を考案・試行する。まずは保存後の菌株の生残率と菌糸成長速度の維持に注目して、菌株の保存性を比較評価することにより前培養法の改良を行う。

### (2) 菌根性担子菌株の凍結保存後の保存性評価法の確立

凍結保存後の菌株の保存性を評価するために、復元後の菌株の生残率、生育速度に加えて菌根形成能を調べる手法を検証する。菌根形成能については、凍結保存前および保存後の菌株を用いて、無菌植物実生苗との共培養により菌根形成能を比較評価し、手法の有効性を評価する。具体的な菌根形成能の評価対象として、菌根化率 (菌根を接種した苗木の根端の総数に占める菌根化した根端数の割合) および菌根組織の形態に注目し、菌株の保存方法間での差異を検証するとともに、菌株保存後の保存性評価法として確立する。また、この評価法を用いて、生残性と菌糸成長を維持できるだけでなく、菌根形成能も良好に維持できる凍結保存法を明らかにする。

## 3. 研究の方法

### (1) パーミキュライトを培養基剤とする凍結保存法改良のための各種前培養法の比較

鳥取大学農学部附属菌類きのこ遺伝資源研究センター (FMRC) が保有する菌根性担子菌培養株 8 属 10 種 10 株を供試菌とし (表 1) パーミキュライトを用いる前培養法として、チューブ法のほかにシャーレ法 (パーミキュライト培地をシャーレに敷き詰めた上に菌を接種して培養) サンド法 (シャーレの寒天平板培地の上にパーミキュライト培地を薄く敷いて菌を接種し、その上にパーミキュライト培地をかぶせる様に敷いて培養) 埋め込み法 (シャーレにパーミキュライト培地を薄く敷き詰め、その上から融かした寒天培地を流し込み固化させた後に菌を接種して培養) の 4 方法、および比較のために、寒天平板培地での培養 (寒天ディスク法) の 5 方法で前培養を行った後に、Sato et al. (2019) によって有用性が示された凍結保護剤 [5% DMSO (v/v) + 10% Trehalose (w/v)] 入りの凍結用チューブにサンプルを入れて、4°C で 48 時間置いてからプロ

グラムフリーズ(冷却速度  $-1^{\circ}\text{C}/\text{min}$  で、 $-40$  まで冷却)し、液体窒素気相タンク(約 $-180^{\circ}\text{C}$ )で保管した。復元は、一晚液体窒素気相タンクに保管した後に $30^{\circ}\text{C}$ 温水浴により急速解凍して、液体培地で $20^{\circ}\text{C}$ 、2週間培養した後に寒天平板培地に移して培養した。各前培養法で10本または5本ずつの凍結チューブからの復元率を復元培養期間1週間ごとに5週まで観察を継続して生残率として算出した。また、復元後の培養菌糸を接種源として新たな寒天培地に接種し、 $20^{\circ}\text{C}$ で培養して菌糸成長速度を調べた。また、比較のために凍結前の菌糸体の菌糸成長速度も同様に調べた。

菌株番号	学名	培地
TUFC 101346	<i>Amanita citrina</i>	MNC
TUFC 101350	<i>Amanita ibotengutake</i>	MNC
TUFC 101220	<i>Boletus reticulatus</i>	2%MA
TUFC 101124	<i>Entoloma aprile</i>	MNC
TUFC 101368	<i>Hydnum albidum</i>	MNC
TUFC 101477	<i>Hydnum albomagnum</i>	MNC
TUFC 101127	<i>Lactarius akahatsu</i>	1/4YMG
TUFC 101239	<i>Russula amoena</i>	YGA
TUFC 101480	<i>Sarcodon asperatus</i>	MNC
TUFC 101479	<i>Tricholoma pessundatum</i>	MNC

## (2) 菌株保存後の菌根形成能の維持に注目した凍結保存法の評価法の確立

アカハツ菌株(TUFC 101127 *Lactarius akahatsu*)を上記(1)で用いた3種類の前培養法(シャーレ法、サンド法、埋め込み法)を適用して凍結保存した後に復元培養した菌株を用いて、アカマツ実生苗との菌根合成実験を図1のように行った。まず寒天培地(1/4YMG 寒天平板; 蒸留水1Lあたり、酵母抽出物1g、麦芽抽出物10g、ブドウ糖10g)に培養したコロニーから寒天ディスクをストローで打ち抜き、液体培地(1/4YMG)で $20^{\circ}\text{C}$ 、2週間培養した。パーミキュライトとミズゴケを混合してMNC液体培地を加えた菌根合成培地に、アカマツ無菌実生苗と液体培地から取り出した寒天ディスクを接種し、 $20^{\circ}\text{C}$ 、明期16時間、暗期8時間の光周期(白色LED光)で、途中2ヵ月目に灌水して4ヵ月間培養した。その後、アカマツの根系を掘り出して、実態顕微鏡下で総根端数と菌根化している根端数を数えて菌根化率を算出した。また、菌根の縦断切片および横断切片を作製して、菌鞘の厚さ、根の細胞間隙へのハルティヒネットの侵入程度、菌鞘内部の乳管菌糸などの菌根形態を顕微鏡で観察した。また、野外においてアカハツがクロマツおよびゴヨウマツと形成している菌根(野外菌根)の形態を観察して、凍結保存後の菌株の場合と比較し、野外菌根で見られる性状が人工的に合成した菌根でも再現されるのか、また、菌根のどのような形質において保存方法による違いがみられるかを検証した。

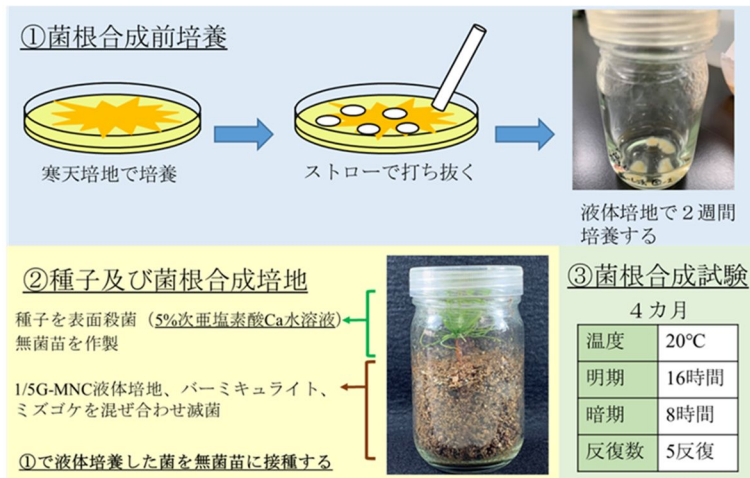


図. 1 菌根合成試験の手順

## (3) 菌根形成能に対する凍結保存法の影響

分離後に継代培養で維持されており未凍結のアカハツ菌株(*L. akahatsu*: TUFC 101760, 101761)およびハツタケ菌株(*L. hatsudake*: TUFC 10770)の3菌株を用いて、それらの凍結前の菌株および寒天ディスク法またはシャーレ法による凍結後に2ヵ月間液体窒素気相タンクで保管して復元した菌株を用いて、上記(2)の方法で菌根合成実験を行った。アカマツ実生苗と4ヵ月間の培養後に菌根合成培地から掘り出した根系を観察して菌根形成率および菌根形態を調べ、凍結前後および凍結保存方法間での違いを検証した。

## 4. 研究成果

### (1) 各種前培養法を用いた凍結保存法の有効性

パーミキュライトを用いる前培養法としてチューブ法、シャーレ法、サンド法、埋め込み法と腐生菌に一般的に用いられる寒天ディスク法の5つの前培養法を用いて凍結した菌根性担子菌培養株10種10株菌株の生残率および菌糸成長速度を調べた。生残率の調査結果は、復元培養5週目までに寒天ディスク法で10株中7株が90%以上の生残率を、また、チューブ法では9株中5株が100%、シャーレ法で凍結した7株全てが100%、サンド法で8株中6株が80%以上、埋め込み法で8株中6株が100%の生残率を示した。シャーレ法は他の前培養法に比べて復元にかかる時間が短く、2週目には7株全てが100%の生残率を示した。菌株によって有効な前培養法が異なる場合があったが、特に *Amanita ibotengutake* は復元率が寒天ディスク法では20%、チューブ法で0%、サンド法で20%、埋め込み法で10%であったが、シャーレ法では100%であった(表2)。

表2. 各種前培養法で凍結保存後の生残率

菌名	寒天ディスク法	チューブ法	シャーレ法	サンド法	埋め込み法
<i>Amanita citrina</i>	100	100	100	100	60
<i>Amanita ibotengutake</i>	20	60	100	40	0
<i>Boletus reticulatus</i>	100	40	—	40	100
<i>Entoloma aplile</i>	10	—	—	—	—
<i>Hydnum albidum</i>	100	100	100	100	100
<i>Hydnum albomagnum</i>	100	100	100	100	100
<i>Lactarius akahatsu</i>	90	0	100	80	100
<i>Russula amoena</i>	0	0	—	—	—
<i>Sarcodon aspratus</i>	90	100	100	100	100
<i>Tricholoma pessundatum</i>	100	100	100	100	100

横線：前培養の不調により凍結できなかった菌株

生残率：復元培養5週間後の、菌が復元した凍結チューブ数/凍結した凍結チューブ数（寒天ディスク法は10、他の方法は5）から算出

凍結前後の菌糸成長速度の変化に着目すると、凍結後に成長速度が低下する傾向がみられたが、比較できた7株中6株において、パーミキュライトを用いた4つの前培養方法のうち特にチューブ法での凍結後の菌糸成長速度が凍結前と比べて有意に低下した。また、前培養方法間で復元後の菌糸成長に大きな違いが見られる菌株があり、特に大きな差が見られた *Amanita ibotengutake* および *Lactarius akahatsu* の菌糸成長速度はシャーレ法を用いた場合には凍結前後での変化が最も小さかった（図2）。なお、寒天ディスク法で凍結・復元した場合には、比較できた9株中5株で凍結前よりも有意に成長速度が低下した。以上の結果から、生残率や凍結前後の菌糸成長速度の変化量など総合的に評価すると、パーミキュライトを用いる方法では従来のチューブ法よりもシャーレ法が有効と判断された。なお、本研究では寒天ディスク法で予想外に良好な生残率が得られたが、これは解凍後の洗浄に従来の滅菌水ではなく、液体培地を使用したためと考えられ、凍結菌株の復元には液体培地を用いることが有効であることが示唆された。

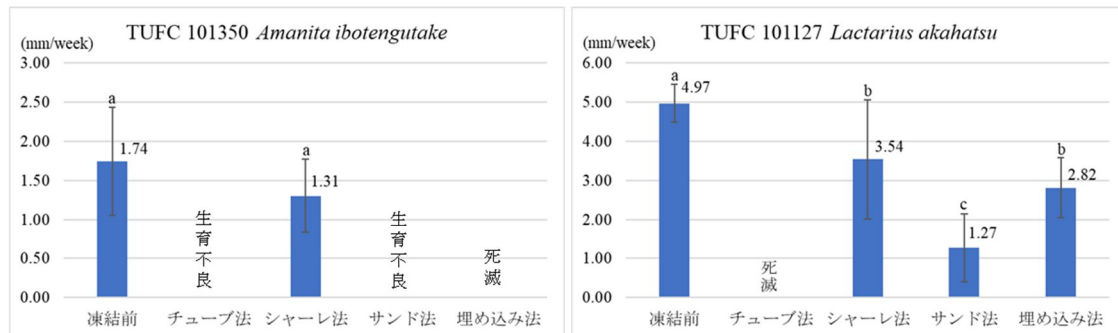


図2. 凍結前および各種前培養法で凍結復元後の菌糸成長速度  
凍結前の菌株の成長速度との有意差の有無を記号で示した  
(死滅：凍結後に復元しなかったため試験不可；生育不良：復元はできたが、菌糸成長が悪く観察不可)

## (2) 保存復元後のアカハツ株による合成菌根

アカマツ実生苗を用いた菌根合成により形成された菌根は、外部形態および菌鞘の厚さ、組織構造、菌鞘内部の乳管の形態、そして、根の皮相細胞間隙に侵入するハルティヒネットなどの微細形態も、野外の菌根とほぼ同じ形態を示した（図3）。パーミキュライトを用いた3つの前培養法（埋め込み法、シャーレ法、サンド法）での菌根化率を調べた結果、図4のように平均7~23%の菌根化率が得られ、サンド法が埋め込み法よりも有意に菌根化率が高かった。また、有意差はないものの、埋め込み法よりもシャーレ法、また、シャーレ法よりもサンド法で菌根化率が高い傾向が見られた。また、菌根の微細形態である菌鞘の厚さ、菌鞘内部に見られる乳管の太さには3方法間で有意な差はなく、すべて野外菌根で観察される範囲に入った。また、ハルティヒネットの根組織への侵入状況を比較したが、いずれも野外菌根と同様に根の皮層の細胞間隙に伸長して内皮まで達しており、違いはなかった。これらのことから、今回用いた方法による菌根合成実験

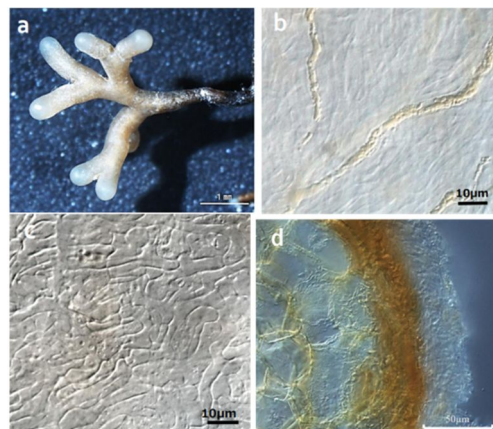


図3. アカハツ菌株(TUFC101127)の合成菌根。a: 外部形態、b: 乳管  
c: 菌鞘内層、d: ハルティヒネット。

は、野外菌根の形態的特徴をほぼ再現しており、菌根形成能を検証する方法として有効であると判断された。また、菌株保存法の違いによる菌株に与える傷害の大きさの違いは、菌根の形態の質的な性状ではなく、量的な特徴である菌根化率で評価できると考えられた。

### (3) 菌根形成能による凍結保存法の評価

アカハツ菌株 (TUFC 101760, 101761) およびハツタケ菌株 (TUFC 10770) の凍結前の菌株、および寒天ディスク法またはシャーレ法による凍結・復元後に菌根合成を行った結果、図 5 のように、凍結前の菌株に比べて凍結後に菌根化率は低下する傾向が見られること、寒天ディスク法に比べてシャーレ法での凍結菌株の菌根化率の低下が大きい傾向があることが示された(図 5)。また、ハツタケ菌株では、シャーレ法による凍結・復元株の 5 反復実験の 3 反復で菌根合成が見られなかった。一方、寒天ディスク法での凍結・復元株では菌根化率が比較的高く維持されていた。なお、3 菌株の合成された菌根の形態、特に菌鞘の厚さと菌層構造、乳管の形態、ハルティヒネットの分布状態について観察したが、保存法に関わらず差異はなく、野外菌根と同様な菌根形態が観察された。

以上のことから、(1) で、凍結後の生残率と菌糸成長速度の維持の点から、パーミキュライトを用いたシャーレ法の有用性が示されたが、菌根形成能の維持の点では、シャーレ法は凍結保存後の菌株に菌根化率のかなりの減少をもたらすことが分かった。一方、寒天ディスク法による凍結保存後の菌株において菌根化率が比較的高く維持されることが分かった。これらのことは、今後より多様な菌種菌株を用いて検証することが必要だが、寒天ディスク法の有用性を示すものと考えられる。

本研究では、凍結保存後の菌根性担子菌培養株の性状として、生残率、菌糸成長速度および菌根形成能に注目して、それらを指標として保存法の評価を行った。今回用いた菌根合成実験法で人工的に合成した菌根は、野外菌根の形態的特徴をほぼ再現しており、菌根形成能を検証する方法として有効であること、また、菌株保存法の違いによる菌株に与える傷害の大きさの違いは、菌根化率で評価できることを明らかにした。これらの評価手法を用いて、考案した様々な凍結保存法の評価・比較を行ったが、凍結保存後の生残率、菌糸成長速度の維持、菌根化率の維持のすべてを達成できる理想的な凍結保存法の特定・開発には至らなかった。今後は、本研究で示唆された保存法と菌株性状の保存性との関係をより多様な菌株で検証して、その結果から最も有望な保存法を特定し、その改良に取り組んでいく必要がある。

### <引用文献>

- Crahay, C., Wevers, J., Munaut F., Colpaert, J.V., Declerck, S. 2013. Cryopreservation of ectomycorrhizal fungi has minor effects on root colonization of *Pinus sylvestris* plantlets and their subsequent nutrient uptake capacity. *Mycorrhiza* 23: 463-471.
- Maekawa, N., Fukuda, M., Arita, I., Komatsu, M. 1988. Cryopreservation of edible basidiomycetous fungi in liquid nitrogen. *Rep. Tottori Mycol. Inst.* 26: 15-28.
- Maekawa, N., Fukuda, M., Arita, T., Komatsu, M. 1990. Effects of liquid-nitrogen cryopreservation on stock cultures of three cultivated basidiomycetous fungi. *Rep. Tottori Mycol. Inst.* 28: 227-232.
- 小長谷 啓介、山中 高史、液体窒素凍結保存がマツタケの菌糸伸長および菌根形成能に与える影響、森林総合研究所研究報告 19 巻 2020、349-356.
- Sato, M., Inaba, S., Sukenobe, J., Sasaki, T. Inoue, R., Noguchi, M., Nakagiri, A. 2019. Modified perlite protocol with a mixed dimethyl sulfoxide and trehalose cryoprotectant improves the viability of frozen cultures of ectomycorrhizal basidiomycetes. *Mycologia* 111: 161-176. DOI: 10.1080/00275514.2018.1520035
- Sato, M., Inaba, S., Noguchi, M., Nakagiri, A. 2020. Vermiculite as a culture substrate greatly improves the viability of frozen cultures of ectomycorrhizal basidiomycetes. *Fungal Biology* 124: 742-751. DOI: 10.1016/j.funbio.2020.05.002
- Sato, M., Inaba, S., Okazaki, N., Nakagiri, A. 2021. Long-term cryopreservation of basidiomycete strains with Homolka's perlite protocol followed by storage in an ultra-low-temperature freezer and vapor-phase liquid nitrogen tank. *Microb. Resour. Syst.* 37: 13-20.

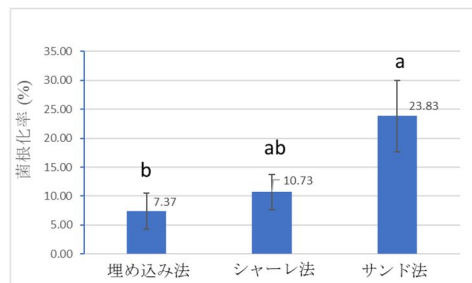


図 4. アカハツ菌株 (TUFC 101127) の 3 つの前培養法による凍結・復元後の菌株を用いた菌根合成実験における菌根化率。

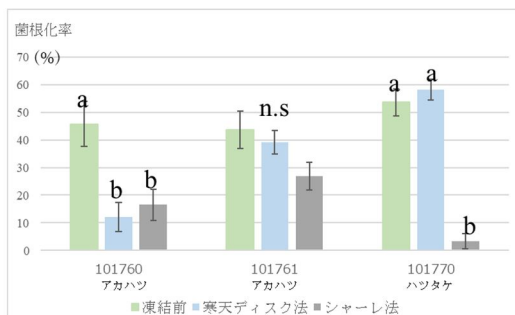


図 5. 凍結前および 2 方法での凍結保存後の菌株による菌根化率。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Sato, M., Inaba, S., Noguchi, M., Nakagiri, A.	4. 巻 124
2. 論文標題 Vermiculite as a culture substrate greatly improves the viability of frozen cultures of ectomycorrhizal basidiomycetes.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Fungal Biology	6. 最初と最後の頁 742-751
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.funbio.2020.05.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shishikura, M., Takemura, Y., Sotome, K., Maekawa, N., Nakagiri, A., Endo, N.	4. 巻 31
2. 論文標題 Four mycelial strains of Entoloma clypeatum species complex form ectomycorrhiza-like roots with Pyrus betulifolia seedlings in vitro, and one develops fruiting bodies 2 months after inoculation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Mycorrhiza	6. 最初と最後の頁 31 ~ 42
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00572-020-00994-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 中桐 昭	4. 巻 5
2. 論文標題 きのこ遺伝資源の保存	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 アグリバイオ	6. 最初と最後の頁 1022 ~ 1026
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sato, M., Inaba, S., Okazaki, N., Nakagiri, A.	4. 巻 37
2. 論文標題 Long-term cryopreservation of basidiomycete strains with Homolka's perlite protocol followed by storage in an ultra-low-temperature freezer and vapor-phase liquid nitrogen tank	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Microbial Resources and Systematics	6. 最初と最後の頁 13 ~ 20
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sugawara Ryo, Sotome Kozue, Maekawa Nitaro, Nakagiri Akira, Endo Naoki	4. 巻 31
2. 論文標題 Mycorrhizal synthesis, morpho-anatomical characterization of mycorrhizae, and evaluation of mycorrhiza-forming ability of <i>Hydnum albidum</i> ?like species using monokaryotic and dikaryotic cultures	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Mycorrhiza	6. 最初と最後の頁 349 - 359
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00572-021-01024-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sato Masanori, Inaba Shigeki, Sukenobe Junji, Sasaki Tomomi, Inoue Ryutaro, Noguchi Mariko, Nakagiri Akira	4. 巻 111
2. 論文標題 A modified perlite protocol with a mixed dimethyl sulfoxide and trehalose cryoprotectant improves the viability of frozen cultures of ectomycorrhizal basidiomycetes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Mycologia	6. 最初と最後の頁 161 - 176
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/00275514.2018.1520035	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件(うち招待講演 1件/うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Shishikura Manami, Sugawara Ryo, Takemura Yoshihiro, Sotome Kozue, Maekawa Nitaro, Nakagiri Akira, Endo Naoki
2. 発表標題 Success in artificial root colonizations and fruit body formations of <i>Entoloma clypeatum</i> with <i>Pyrus betulaefolia</i>
3. 学会等名 The 10th International Workshop on Edible Mycorrhizal Mushrooms (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sugawara Ryo, Yamada Akiyoshi, Kawai Masataka, Sotome Kozue, Maekawa Nitaro, Nakagiri Akira, Endo Naoki
2. 発表標題 Ectomycorrhization of monokaryotic and dikaryotic strains of hedgehog mushrooms ( <i>Hydnum</i> L.) with pine seedlings in vitro
3. 学会等名 The 10th International Workshop on Edible Mycorrhizal Mushrooms (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nakagiri Akira
2. 発表標題 Collection and Preservation of Mushroom Cultures
3. 学会等名 The 4th International Workshop on Mushroom Biology and Technology, On-line, LIPI Indonesia (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 麻生 侑希、北岡 静、山本 樹、前川二太郎、中桐 昭、遠藤 直樹
2. 発表標題 Lactarius akahatsu 菌株の凍結保存に有効なパーミキュライト法の開発
3. 学会等名 日本微生物資源学会第27回大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	遠藤 直樹  (ENDO Naoki)  (20776439)	鳥取大学・農学部・助教    (15101)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 協力者	上田 祥子  (Ueta Sachiko)	鳥取大学・農学部・研究補助職員   (15101)	
研究 協力者	北岡 静  (KITAOKA Shizuka)	鳥取大学・農学部・生物資源環境学科   (15101)	



6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	麻生 侑希  (ASO Yuki)	鳥取大学・持続性社会創生科学研究科・農学専攻  (15101)	
研究協力者	中野 竜太郎  (NAKANO Ryutaro)	鳥取大学・農学部・生命環境農学科  (15101)	
研究協力者	溝端 涼香  (MIZOHATA Ryoka)	鳥取大学・農学部・生命環境農学科  (15101)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関