

【技術分類】 1－5 基本栽培方法／菌糸体培養

【技術名称】 1－5－1 固体培養

【技術内容】

わが国では、古来より様々な醸造技術を活用した清酒、味噌、醤油、納豆、鰯節、漬物等の発酵食品があったためか、きのこの菌糸体培養においても、早くから固体培地を利用した麴法が発達していた¹⁾。一般的な微生物の固体培養は、図1に示すように、静置培養、通気培養（堆積培養）、流動培養に分けることができる²⁾。

固体培地は、液体培地における雑菌混入の分かりにくさを改良しようと、ロベルト・コッホの元で考案されたとされているが、大量に増殖させる場合などでは、操作が繁雑になり、扱いづらい。その点では、液体培地は優れているので、工業的に培養が必要な場合など、液体培地を用いることが多い³⁾。

きのこの菌糸体培養基としては、現在では様々な固体培養基が使用されているが、液体培養基に寒天やゼラチンを加えて加熱溶解させて固結させたもの、オガクズや腐植等の植物体に栄養を添加したもの、土やその他の固体に栄養を添加したもの等がある（表1）⁴⁾。また、これらの培養基は、構成成分の性質から、合成培地、半合成培地、天然培地に大別される⁵⁾。

【図】

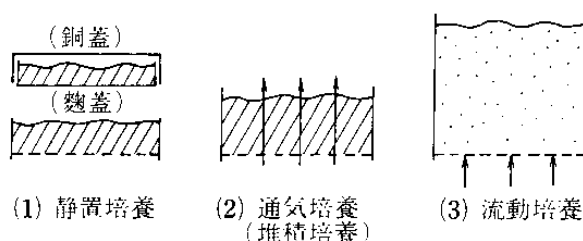
表1 代表的なきのこ用固体培地の組成

培地名称	組成	利用可能なきのこ
1 ポテト・デキストロース寒天培地 (PDA 培地)	ジャガイモ 200－400g、グルコース 20g、寒天 15g	腐生菌
2 ペプトン・デキストロース寒天培地	ポリペプトン 5g、グルコース 20.0g、酵母エキス 2.0g、 MgSO ₄ ・7H ₂ O 0.5g、KH ₂ PO ₄ 1.0g、寒天 20.0g、蒸留水 1,000ml、(pH5.0).	腐生菌
3 ペプトン・デキストロース・イースト寒天培地 (PGY 培地)	グルコース 20.0g、酵母エキス 2.0g、ポリペプトン 0.2g、 MgSO ₄ ・7H ₂ O 0.5g、KH ₂ PO ₄ 0.5g、寒天 20.0g、蒸留水 1,000ml、(pH5.5).	腐生菌
4 エビオス・ショ糖寒天培地	エビオス 5.0g、ショ糖 20.0g、寒天 20.0g、蒸留水 1,000ml、 pH を 5.1－5.2	菌根菌
5 浜田寒天培地	エビオス 5.0g、グルコース 20.0g、寒天 20.0g、水道水 1,000ml、1N HCl 1.6ml、(pH5.1－5.2).	マツタケ、きのこ全般
6 MMN 培地 (改変メーリン・ノル克蘭培地に同じ)	CaCl ₂ 0.05g、NaCl 0.025g、KH ₂ PO ₄ 0.5g、 (NH ₄) ₂ HPO ₄ 0.25g、MgSO ₄ ・7H ₂ O 0.15g、FeCl ₃ (1%液) 1.2ml、チアミン HCl 100.0μg、麦芽エキス (ペースト) 3.0g、 ショ糖 10.0g、寒天 (Bact) 15.0g、蒸留水 1,000ml	菌根菌
7 酵母エキス・麦芽エキス寒天培地 (MYA 培地)	酵母エキス 0.4g、麦芽エキス 1.0g、寒天 15.0g、蒸留水 1,000ml または酵母エキス 0.2%・麦芽エキス 2%、(青野 MY 培地)	
8 酵母エキス・グルコース寒天培地 (GY 培地)	酵母エキス 2.5g、グルコース 10.0g、寒天 15.0g、蒸留水 1,000ml	
9 麦芽エキス寒天培地	麦芽エキス 20.0g、寒天 15g、水 1,000ml	ヒダナシタケ目きのこの菌糸体
10 MYP 培地	麦芽エキス 7.0g、ソイトーン 1.0g、酵母エキス 0.5g、寒	

	天 15.0g、蒸留水 1,000ml	
11 トウモロコシ煎汁寒天培地	トウモロコシ煎汁 400ml、ショ糖 10-30g、水 600ml、 寒天 10-20g	腐生菌
12 バレイショ煎汁寒天培地	バレイショ煎汁 200ml、ショ糖 10-30g、水 800ml、寒 天 10-20g	腐生菌
13 馬糞培地、馬糞煎汁寒天培地	馬糞 100~200g、水 1,200ml	マッシュルーム
14 オガコ培地	オガコ 700~800g、米ヌカ 200~300g、水 1,500ml	腐生菌（木材腐朽菌）
15 富永マツタケ土壌培養基	鹿沼土 1,000g、フスマ(麴)300g、 添加液（水 800ml ブドウ糖 30g、エビオス 6g、1N-HCl1.3ml）	マツタケ

出典：本標準技術集のために株式会社流通システム研究センターが作成（なお、本表を作成するにあたっては、【出典／参考資料】に挙げた諸文献の情報を参照している。）

図1 固体培養の諸形成



出典：「こたいばいよう 固体培養」、バイオテクノロジー事典、1986年10月9日、遠藤勲著、バイオテクノロジー事典編集委員会編、株式会社シーエムシー発行、427頁、図 固体培養の諸形成

図2 オガコ培地の作り方



出典：本標準技術集のために作成

図3 ジャガイモ蔗糖寒天培地の作り方



出典：本標準技術集のために作成

【出典／参考資料】

- 1) 「3 きこの培養 1ーきこの液体培養」、きのこの生物学シリーズ1 きこの利用、1988年12月15日、河合正允著、築地書館株式会社発行、46ー59頁
- 2) 「こたいばいよう 固体培養」、バイオテクノロジー事典、1986年10月9日、遠藤勲著、バイオテクノロジー事典編集委員会編、株式会社シーエムシー発行、427頁
- 3) 「液体培地と固体培地」、フリー百科事典『ウィキペディア (Wikipedia)』検索日 2006年1月23日、<http://ja.wikipedia.org/wiki/%E5%9F%B9%E5%9C%B0>
- 4) 「9.きのこの純粋培養 9.4 培養基」、キノコの事典、1982年2月25日、富永保人著、中村克哉編、株式会社朝倉書店発行、114ー117頁
- 5) 「3.きのこの基礎編 7.2 培養基」、きのこハンドブック、2000年1月20日、鈴木彰著、衣川堅二郎・小川眞編、株式会社朝倉書店発行、382ー384頁
- 6) 「付録4 培地組成、染色液処方、核染色法、その他 4.1 培地組成」、きのこハンドブック、2000年1月20日、鈴木彰著、衣川堅二郎・小川眞編、株式会社朝倉書店発行、417ー418頁
- 7) 「付表 培地組成一覧表」、野生きのこのつくり方 林業改良普及双書110、1992年3月16日、小川眞編著、社団法人全国林業改良普及協会発行、168ー169頁
- 8) 「[付] キノコの培養菌株に関する一般知識」、きのこの化学・生化学、1992年1月25日、土居祥兌著、水野卓・川合正允編、株式会社学会出版センター発行、355ー359頁
- 9) 「処方集、菌類図鑑(下)」、1978年4月20日、宇田川俊一・堀江義一著、講談社サイエンティフィック編、株式会社講談社発行、1276ー1286頁
- 10) 「付 培地組成一覧」、菌類研究法、1983年6月1日、青島清雄・椿啓介・三浦宏一郎編、共立出版株式会社、393ー408頁
- 11) 「6 培養基の作り方ー8 おもな培養基組成」、きのこの生物学シリーズ2 きこの実験法 培養を主として、1988年12月20日、衣川堅二郎著、築地書館株式会社発行、46ー75頁
- 12) 「わかりやすい林業研究解説シリーズ No.105 森づくりと菌根菌」、1997年3月、岡部宏秋著、

財団法人林業科学技術振興所発行、18－21 頁

13) 「きのこ栽培の基礎」、図解よくわかるきのこ栽培、2004 年 4 月 1 日、財団法人日本きのこセンター編、14－34 頁

14) 「付録 微生物用培地一覧表」、新版微生物学実験法、1999 年 3 月 20 日、杉山純多・渡辺信・大和田紘一・黒岩常祥・高橋秀夫・徳田元編、株式会社講談社発行、303－312 頁

【技術分類】 1－5 基本栽培方法／菌糸体培養

【技術名称】 1－5－2 液体培養

【技術内容】

きのこの菌糸体を培養するための培地に液体を使用する方法が液体培養である。この方法では、糖類、有機または無機の含窒素化合物、無機塩類、その他微量栄養素等のきのこの生育に必用な物質混合した水溶液中で、空気を吹き込みながら菌糸を増殖させる。大量に培養するときは通気攪拌型あるいは気泡塔型大型発酵槽を用いる¹⁾。このような液体培養において大量の菌糸体培養を行う手法を液体深部培養法という。きのこの菌糸体の深部培養は1948年にアメリカで検討されたのが最初であるが、以後多くの研究が行われている²⁾。

深部培養は、図1に示すように、原菌から分離し純粋培養した菌株を種菌として大規模培養にスケールアップする方法である。微生物培養の基本的操作は、雑菌の混入を防ぎつつ、適度な温度、pHを保ち、酸素供給が不十分にならないように攪拌と通気を制御することである。液体深部培養においては、培養液中の状態が他の微生物にとっても増殖しやすい条件にあるので、雑菌の混入を完全に遮断するとともに、使用する培地や器具類を培養開始前に加熱殺菌する必用がある¹⁾。

深部培養を行う発酵槽には、通気攪拌型と気泡塔型があるが、通気攪拌型は微生物の発酵に広く利用されているもので、酸素供給を行う空気送入管と槽内の気泡を分散させ液体をかき混ぜるための攪拌翼を備えており、温度を制御するための熱交換に必用なコイルやジャケット、蒸気供給ラインを備えている。一方、気泡塔型の発酵槽は機械的な攪拌を伴わないもので、槽の底部に空気を送り、酸素供給を行うとともに、気泡の上昇流によって液体の混合攪拌を行うようになっている¹⁾。気泡塔には、図2に示すように、構造が最も単純な標準型(a)と気液混相の上昇流部分と液を循環させるための下降流部分を有するエアリーフト型(b)＝内部循環型エアリーフト塔、(c)＝外部循環エアリーフト塔がある。

【図】

表1 GPY 培地を用いた日本産きのこの深部培養能

菌 種	酵母エキスとポリペプトン			硫酸アンモニウム			酒石酸アンモニウム		
	増殖*	形 態	香	増殖*	形 態	香	増殖*	形 態	香
〔ツキヨタケ菌〕									
ツキヨタケ-青島	卅	球形菌糸塊	+	+	球形菌糸塊	-	卅	球形菌糸塊	-
ツキヨタケ-16	卅	"	+	+	"	-	+	"	+
ツキヨタケ-186	卅	"	+	+	"	-	+	"	-
〔シイタケ菌〕									
シイタケ徳1	卅	"	+	+	"	+	卅	"	+
シイタケ-T	卅	"	+	+	"	+	+	"	+
〔ナラタケ菌〕									
ナラ林 100	卅	"	-	+	"	-	+	"	-
ナラ林 107	卅	不定形菌糸塊	-	±	不定形菌糸塊	-	+	"	-
ナラ林 114	卅	"	-	-	"	-	卅	不定形菌糸塊	-
ナラ林 117	卅	"	-	±	"	-	+	"	-
ナラ林 125	+	球形菌糸塊	-	-	"	-	-	"	-
ナラモド林 106	卅	不定形菌糸塊	-	+	球形菌糸塊	-	+	"	-
ナラモドアヤ	+	"	-	±	不定形菌糸塊	-	+	"	-
ナラナモダシ	+	球形菌糸塊	-	+	球形菌糸塊	-	+	球形菌糸塊	-
ナラカシラゲ	+	"	-	±	不定形菌糸塊	-	±	不定形菌糸塊	-
〔マツタケ菌〕									
M-12 F	-			-			-		
M-37 F	-			-			-		
M-90 S	-			-			-		
M-9 S-S	-			-			-		
〔マツタケモドキ菌〕									
R meak	-			-			-		
R.O.B.S.	+	球形菌糸塊	+	+	球形菌糸塊	+	+	球形菌糸塊	+
〔エノキタケ菌〕	+	"	±	±	"	+	±	"	+
〔マッシュルーム〕	+	不定形菌糸塊	±	±	不定形菌糸塊	-	±	不定形菌糸塊	-
〔ヌメリツバタケ菌〕	卅	球形菌糸塊	+	+	"	-	+	球形菌糸塊	-

* - : 増殖しない。± : 0～10mg/10mL + : 10～50mg/10mL

卅 : 50～100mg/10mL 卅 : 100～mg/10mL

出典：「きのこ類の深部培養とその利用（その1）」、醗酵協会誌 24 巻 7 号、1966 年 7 月、吉田敏臣、寺本四郎著、醗酵協会発行、294 頁、第 2 表 日本産きのこの深部培養能

表2 きこの深部培養に用いられる代表的な培地の例

No.	成 分 (%)					使用菌株例
	グルコース	N-成分	KH ₂ PO ₄	(pH)	そ の 他 の 成 分	
1	5	KNO ₃ -0.2	0.1		MgSO ₄ 0.05%, Ca(NO ₃) ₂ 0.05% NaCl 0.01 %	<i>Agaricus blazei</i> ⁵⁰⁾
2	5	尿素-0.3	0.087	(4.5)	MgHPO ₄ 0.04%, CaCl ₂ 0.037% 2 N-H ₂ SO ₄ 5.1 ml/l 微量塩類溶液 * 20ml	<i>Agaricus campestris</i> ⁴⁵⁾
3	1	N-0.012	0.15	(5.0~5.5)	MgSO ₄ 0.05%, チアミン 10 ⁻⁴ % 微量塩類溶液 **	種々の菌種 ⁴⁴⁾
4	2.5	(NH ₄) ₂ HPO ₄ -0.4	0.1	6.5	微量塩類溶液 *** 10ml	{ <i>Morchela crassipes</i> <i>Morchela esculenta</i> } ⁵¹⁾
5	2.4			6.5	(NH ₄) ₂ HPO ₄ 0.2% CSL 1 %	

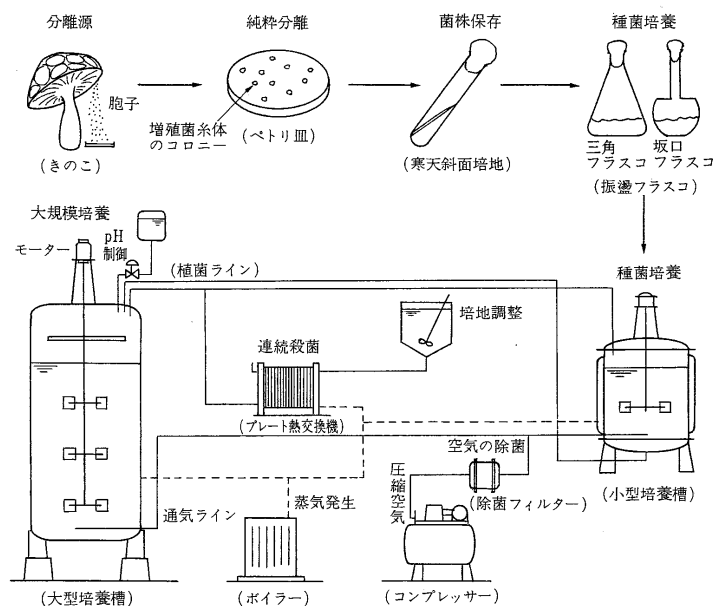
* FeCl₃・6H₂O 0.5g, MnCl₂・4H₂O 0.36g, ZnCl₂ 0.2g, CuSO₄ 0.05g/l-微量塩類溶液

** B 0.10mg, Cu 0.01mg, Fe 0.05mg, Mn 0.01mg, Mo 0.01mg, Zn 0.07mg/l-培地

*** MgSO₄・7H₂O 100g, NaCl 20g, CaCl₂ 2g, MnSO₄・H₂O 5g, FeCl₃・6H₂O 0.5g, CuSO₄・5H₂O 0.005g, ZnCl₂ 0.15g/l-微量塩類溶液

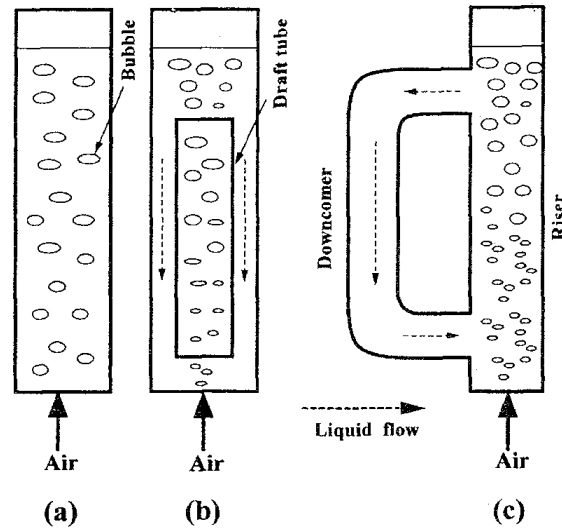
出典：「きのこ類の深部培養とその利用（その1）」、醗酵協会誌 24 巻 7 号、1966 年 7 月、吉田敏臣、寺本四郎著、醗酵協会発行、295 頁、第 3 表 きこの深部培養に用いられる代表的な培地の例

図1 きこの菌糸体培養のスケールアップ



出典：「7 章 菌糸体生産」、きのこ学、1992 年 7 月 1 日、吉田敏臣著、古川久彦編、共立出版株式会社発行、193 頁、図 7・3 きこの菌糸体培養のスケールアップ

図2 気泡塔型培養層のタイプ



出典:「気泡塔型培養装置によるきのこ菌糸の大量培養技術」、日本応用きのこ学会誌 8巻 1号、
2000年4月30日、河越幹男著、日本応用きのこ学会発行、3頁 Fig.1 Types of bubble column :
(a)standard bubble column ; (b)internal-loop airlift column ; (c)external-loop airlift column

【出典／参考資料】

- 1) 「7章 菌糸体生産」、きのこ学、1992年7月1日、吉田敏臣著、古川久彦編、共立出版株式会社発行、185-203頁
- 2) 「3 きのこの培養 1-きのこの液体培養」、きのこの生物学シリーズ1 きのこの利用、1988年12月15日、河合正允著、築地書館株式会社発行、46-59頁
- 3) 「気泡塔型培養装置によるきのこ菌糸の大量培養技術」、日本応用きのこ学会誌 8巻 1号、2000年4月30日、日本応用きのこ学会発行、河越幹男著、1-11頁
- 4) 「9.きのこの純粋培養 9.4 培養基」、キノコの事典、1982年2月25日、富永保人著、中村克哉編、株式会社朝倉書店発行、114-117頁
- 5) 「3.きのこの基礎編 7.2 培養基」、きのこハンドブック、2000年1月20日、鈴木彰著、衣川堅二郎・小川眞編、株式会社朝倉書店発行、382-384頁
- 6) 「きのこ類の深部培養とその利用(その1)」、醗酵協会誌 24巻 7号、1966年7月、吉田敏臣、寺本四郎著、醗酵協会発行、293-304頁