

事項	デルフィニウム「フォルカフリーデン」の組織培養による大量増殖法（改訂）																																																												
ねらい	本法については、平成12年度に指導参考資料として参考に供したが、増殖培養培地に添加する糖の種類をしょ糖からぶどう糖に変更することによって、増殖率が大幅に向上することが明らかになったので、培地組成を改訂して参考に供する。																																																												
指導参考内容	<p>1 増殖培養培地組成 改訂後（平成16年度指導参考資料）</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>基本培地</th> <th>BA</th> <th>糖類</th> <th>PVP</th> <th>固化剤</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>MS</td> <td>2mg/ℓ</td> <td>ぶどう糖 18g/ℓ</td> <td>0.5g/ℓ</td> <td>ジェランガム 3g/ℓ</td> </tr> </tbody> </table> <p>改訂前（平成12年度指導参考資料）</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>基本培地</th> <th>BA</th> <th>糖類</th> <th>PVP</th> <th>固化剤</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>MS</td> <td>2mg/ℓ</td> <td>しょ糖 30g/ℓ</td> <td>0.5g/ℓ</td> <td>ジェランガム 3g/ℓ</td> </tr> </tbody> </table> <p>（注） 培養条件：20℃、$60\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$、16 時間明期 PVP（ポリビニルピロリドン：平均分子量 40,000）</p> <p>2 初代培養及び発根培養培地組成については、平成12年度指導参考資料のとおりで変更はない。</p> <p>3 培養手順 増殖培養は、3週間11回継代／8か月（平成12年度）から4週間8回継代／8か月（平成16年度）に変更。</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>（期 間）</th> <th>（増殖効率）</th> <th>（備考）</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>初代培養</td> <td>2か月</td> <td>生存率90%</td> <td></td> </tr> <tr> <td>↓</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>増殖培養</td> <td>4週間毎に継代 8か月</td> <td>増殖率3.4倍 8回継代</td> <td>改訂前 3週間毎に継代 (8か月で11回)</td> </tr> <tr> <td>↓</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>発根培養</td> <td>1か月</td> <td>発根率90%</td> <td></td> </tr> <tr> <td>↓</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>順 化</td> <td>1か月</td> <td>順化率100%</td> <td></td> </tr> <tr> <td>↓</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>成 苗</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	基本培地	BA	糖類	PVP	固化剤	MS	2mg/ℓ	ぶどう糖 18g/ℓ	0.5g/ℓ	ジェランガム 3g/ℓ	基本培地	BA	糖類	PVP	固化剤	MS	2mg/ℓ	しょ糖 30g/ℓ	0.5g/ℓ	ジェランガム 3g/ℓ		（期 間）	（増殖効率）	（備考）	初代培養	2か月	生存率90%		↓				増殖培養	4週間毎に継代 8か月	増殖率3.4倍 8回継代	改訂前 3週間毎に継代 (8か月で11回)	↓				発根培養	1か月	発根率90%		↓				順 化	1か月	順化率100%		↓				成 苗			
基本培地	BA	糖類	PVP	固化剤																																																									
MS	2mg/ℓ	ぶどう糖 18g/ℓ	0.5g/ℓ	ジェランガム 3g/ℓ																																																									
基本培地	BA	糖類	PVP	固化剤																																																									
MS	2mg/ℓ	しょ糖 30g/ℓ	0.5g/ℓ	ジェランガム 3g/ℓ																																																									
	（期 間）	（増殖効率）	（備考）																																																										
初代培養	2か月	生存率90%																																																											
↓																																																													
増殖培養	4週間毎に継代 8か月	増殖率3.4倍 8回継代	改訂前 3週間毎に継代 (8か月で11回)																																																										
↓																																																													
発根培養	1か月	発根率90%																																																											
↓																																																													
順 化	1か月	順化率100%																																																											
↓																																																													
成 苗																																																													
期待される効果	形質の揃った苗をこれまでより大量に増殖できる。																																																												
利用上の注意事項	ぶどう糖溶液は0.2μmのメンブレンフィルターでろ過滅菌して培地に加える。																																																												
担 当	青森県農林総合研究センターフラワーセンター21あおもり 栽培開発部 対象地域 県下全域																																																												
発表文献等	平成15年度 フラワーセンター21あおもり花き試験成績概要集																																																												

【根拠となった主要な試験結果】

表1 増殖培養培地に添加する糖の種類が増殖率に及ぼす影響 (平成15年 青森農林総研フラワーセ)

品 種	糖の種類	添加量		継代	2回目	3回目	4回目	5回目	平 均	増殖株数
				1回目(倍)						
フォルカ フリーデン	マンニトール	100mM	(18g/ℓ)	3.60	3.00	2.80	3.25	2.75	3.08	277
	ぶどう糖	100mM	(18g/ℓ)	3.78	3.40	2.78	3.80	3.63	3.48	507
	果糖	100mM	(18g/ℓ)	4.08	3.35	3.08	3.33	2.88	3.34	416
	麦芽糖	100mM	(36g/ℓ)	2.43	1.53	1.55	0.72	1.00	1.44	6
	しょ糖	100mM	(34g/ℓ)	2.98	2.43	2.28	2.78	2.73	2.64	127

(注) 増殖株数：1シュートを平均増殖率で5回継代した場合の推定値

増殖株数の試算

増殖スケジュールを初代培養2か月、増殖培養8か月、発根誘導1か月、順化1か月と想定すると、生長点1個から増殖を開始した場合、1年間では、

(1) これまでのしょ糖 (30g/ℓ) の場合 (平成12年度指導参考資料)

- ・ 1生長点 × 0.9 (初代培養再生率) × 2¹¹ (平均増殖率 2.0 倍 (≒2.3) / 3 週間、11 回継代) × 0.9 (発根率) × 1 (順化率) = 1,659 株
- ・ 理論的には、約 1,600 倍の増殖が可能である。

(2) ぶどう糖 (18g/ℓ) の場合

- ・ 1生長点 × 0.9 (初代培養再生率) × 3.4⁸ (平均増殖率 3.4 倍 (≒3.48) / 4 週間、8 回継代) × 0.9 (発根率) × 1 (順化率) = 14,465 株
- ・ 理論的には、約 14,400 倍の増殖が可能である。

参考：糖の価格

	増殖1回あたり使用量	価 格
しょ糖	30g/ℓ	60円
ぶどう糖	18g/ℓ	56円