

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4009685号

(P4009685)

(45) 発行日 平成19年11月21日(2007.11.21)

(24) 登録日 平成19年9月14日(2007.9.14)

(51) Int. Cl.		F I	
<b>AO1H</b>	<b>4/00</b>	<b>(2006.01)</b>	AO1H 4/00
<b>AO1G</b>	<b>1/00</b>	<b>(2006.01)</b>	AO1G 1/00 302Z

請求項の数 1 (全 7 頁)

(21) 出願番号	特願2004-109495 (P2004-109495)	(73) 特許権者	592029256
(22) 出願日	平成16年3月6日(2004.3.6)		福井県
(65) 公開番号	特開2005-245424 (P2005-245424A)		福井県福井市大手3丁目17番1号
(43) 公開日	平成17年9月15日(2005.9.15)	(72) 発明者	数馬 俊晴
審査請求日	平成17年2月17日(2005.2.17)		福井県三方郡美浜町久々子 福井県園芸試験場内
		(72) 発明者	岩本 祐佳
			福井県三方郡美浜町久々子 福井県園芸試験場内
		(72) 発明者	下野 和彦
			福井県三方郡美浜町久々子 福井県園芸試験場内
		審査官	坂田 誠
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 電子レンジとポリエチレン袋を用いた低コスト植物無菌培養方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

常法により調整した植物培養用培地を電子レンジにより一定時間加熱滅菌した後、この培地を無菌条件下でポリエチレン袋に所定量を分注して固化させ、固化した培地に無菌条件下で常法で育成した無菌植物を植え付け、植え付けの後に袋口を折り曲げて封止し、封止した袋口に被覆針金を巻き付けて結束すると共に吊り下げ用の端部を形成し、しかるのち、このようにして作成された前記吊り下げ用の端部を、培養室内に架線された針金に引っ掛けて吊り下げ、前記培地に植え付けた植物を培養することを特徴とする電子レンジとポリエチレン袋を用いた低コスト植物無菌培養方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は植物を無菌的に培養する方法に関する。

【背景技術】

【0002】

従来の植物無菌培養では、培地の滅菌は、120 で15分間行うため、滅菌のため高圧蒸気滅菌器(オートクレーブ)を必要とし、ガラス容器等耐熱性のある容器や高圧滅菌に耐える樹脂容器を用いて培養することが必要である。また、培養容器は、ガラス容器等の成形されたものであるため、床面や棚面に置かねばならなかった。

【発明の開示】

10

20

## 【発明が解決しようとする課題】

## 【0003】

従来、植物体を無菌的に培養するためには、植物の生育に必要な栄養分を含んだ培地を滅菌して、かつ細菌や菌類などの雑菌が増殖しないようにガラス製等の密閉できる容器の中に充填することが必要である。このように作成した培養容器の中に無菌植物体を植え付けたり、消毒した種子を無菌播種し、蛍光灯や空調機で環境制御された室内で培養することにより、短期間で効率的に植物を培養・育成することが可能となる。

## 【0004】

ところが、これら従来の植物無菌培養では高圧蒸気滅菌器のような滅菌用の高価な専用の機器が必要である。また培養容器はガラス容器等の作られたものであるため、床面や棚面に置かなければならず、培養施設の利用効率が低く、さらに培養苗を出荷する場合には、培養容器が嵩張るうえに培養容器を回収する必要が生じる。この発明は、上記のような従来技術に存在する課題に着目してなされたものである。

10

## 【課題を解決するための手段】

## 【0005】

上記の課題を解決するために、常法により調整した植物培養用培地を電子レンジにより一定時間加熱滅菌した後、この培地を無菌条件下でポリエチレン袋に所定量を分注して固化させ、固化した培地に無菌条件下で常法で育成した無菌植物を植え付け、植え付けの後に袋口を折り曲げて封止し、封止した袋口に被覆針金を巻き付けて結束すると共に吊り下げ用の端部を形成し、しかるのち、このようにして作成された前記吊り下げ用の端部を、培養室内に架線された針金に引っ掛けて吊り下げ、前記培地に植え付けた植物を培養することを特徴とする電子レンジとポリエチレン袋を用いた低コスト植物無菌培養方法という手段を採用したことを特徴とするものである。

20

## 【発明の効果】

## 【0006】

本発明は、培地の滅菌は電子レンジを用いることが可能であるため、高圧蒸気滅菌器のような滅菌用の高価な専用の機器が不必要となる。また、培養容器として安価なポリエチレン袋を利用できる。さらに培養期間中に吊り下げ方式で培養できることから培養施設の空間利用効率が高まる。培養苗を出荷する場合、培養容器がガラス瓶に比較して軽量で嵩張らない、容器を回収する必要がないなど出荷経費も安くおさえることができるため、生産した培養苗を遠距離輸送、例えば輸出するような場合は頗る有利である。

30

## 【0007】

上述したように本法は、従来一般的に行われている培養方法に比較して著しいコスト低減が可能な簡易植物培養方法である。本法を用いることにより、一般国民が無菌培養を手軽に行えたとともに、我が国で育成した優秀な品種の無菌培養苗を輸出する際のコスト低減が図られるなど、我が国の種苗産業の発展にも貢献できる。

## 【発明実施の形態】

## 【0008】

図1に示すように、培地を作成し、電子レンジで滅菌し、無菌条件下でポリ袋に分注し、無菌植物を植え付け、培養室内で吊り下げて培養する。

40

## 【実施例】

## 【0009】

次に実施例により本発明の詳細を説明する。

## 【0010】

## 実施例1

2003年8月10日にMS培地(植物無菌培養用の代表的培地)1リットルを電子レンジ(550w)で20分間加熱殺菌し、クリーンベンチ内で滅菌したピペットを用い、6号ポリエチレンビニール袋(厚さ0.03mm、幅100mm、長さ210mm)に30ccづつ分注した。分注後に袋の口を二重に折りたたみ輪ゴムで縛った後、その状態で室内に移し培地が固化するまで静置した。ポリ袋培地の滅菌状況を確認するため、植物を

50

移植しないで培地のみで3週間後に調査したところ、240袋すべてで細菌および菌類による汚染は確認されなかった。さらに6か月間放置しても細菌および菌類による汚染はなかった。

【0011】

実施例2

電子レンジの培地加熱時間と雑菌汚染の関係を調査するため、加熱時間を10、15、18、20および25分間と変えて調査したところ、25分間加熱で完全に滅菌できたが、18分間以上加熱することにより実用的な滅菌が可能であった(表1)。

【0012】

【表1】

10

電子レンジによる培地加熱時間と雑菌汚染との関係

表1 電子レンジによる培地加熱時間と雑菌汚染との関係

加熱時間	試験袋数	雑菌汚染袋数		雑菌汚染率 (%)
		細菌	菌類	
10分間	130	108	0	83.1
15分間	127	44	0	34.6
18分間	126	7	0	5.6
20分間	127	3	0	2.4
25分間	128	0	0	0.0
対照	98	0	0	0.0

20

※ 分注後14日目に調査

※ 対照は高圧蒸気滅菌15分間

※ 加熱時間は電子レンジ500wで培地1リットル当たり

30

【0013】

実施例3

培地に使用する水を蒸留水と水道水を用い菌汚染状況を調査した結果、使用する水の種類の違いが雑菌汚染に対する影響は認められなかった(表2)。

【0014】

【表2】

培養用水の種類と電子レンジ加熱による滅菌の関係

表2 培養用水の種類と電子レンジ加熱による滅菌の関係

加熱時間	試験袋数	雑菌汚染袋数	雑菌汚染率
蒸留水	65	1	1.5
水道水(福井市)	66	0	0.0
水道水(美浜町)	64	2	3.1

40

※加熱時間は培地1リットル当たり20分間

※電子レンジの加熱出力は500W

【0015】

実施例4

培養コストを試算したところ、ポリ袋1袋当たりの経費は約5円であり、従来のガラス

50

培養容器培養の1瓶155円に比べて、約30分の1のコストであった。

【0016】

実施例5

2003年10月15日にMS培地(植物無菌培養用の代表的培地)1リットルを電子レンジ(500W)で20分間加熱殺菌し、クリーンベンチ内で滅菌したピペットを用い、6号ポリエチレンビニール袋に30ccずつ分注した。分注後に袋の口を折り曲げて封止し輪ゴムで縛った後、培養室内に移し培地が固化するまで放冷した。ポリ袋培地の滅菌状況を確認するため、植物を移植しないで培地のみで3週間後に調査したところ、159袋中2袋で細菌による汚染が確認された。菌類による汚染はなかった。さらに4か月間放置しても細菌および菌類による汚染はなかった。

10

【0017】

実施例6

実施例2と同様な方法で2003年12月10日にポリ袋培地を155袋作成し、3週間後に調査したところ、2袋で細菌による汚染が確認された。菌類による汚染はなかった。作成したポリ袋培地にユリ鱗片、ユリ実生苗、サギソウ実生苗およびエビネ実生苗を植え付けて、苗の生育状況を調査した結果、従来のオートクレーブ滅菌、瓶培養に比較して生育は劣らなかった(表3)。また吊り下げ方式培養は従来の床置き静置培養に比べて劣らなかった(表4)。

【0018】

なお、吊り下げの方法は、吊り下げて培養する場所に12番程度の太さのビニール被覆針金を張った。これにポリ袋の口を折り曲げて封止し10cmの長さのビニール被覆針金で巻き付けて縛った際に吊り下げるために巻き付けずに残した端から出た3~4cmのビニール被覆針金で吊り下げた。培養環境は従来のガラス容器等での培養に準じた。

20

【0019】

【表3】

培地滅菌方法の違いが培養植物の生育に及ぼす影響

表3 培地の滅菌方法の違いが培養植物の生育に及ぼす影響

培地滅菌方法	ユリ		サギソウ	
	葉長mm	子球重mg	葉長mm	球重mg
高圧蒸気滅菌(慣行)	75	102	36	207
電子レンジ滅菌	82	98	37	212

30

※ユリは置床2か月目、サギソウは置床4か月目に調査

※ユリはリン片、サギソウは無菌発芽苗を置床

【0020】

【表4】

ポリ袋の吊り下げ培養が雑菌汚染および培地減量に及ぼす影響

表4 ポリ袋の吊り下げ培養が雑菌汚染および培地減量に及ぼす影響

培養方法	雑菌汚染割合 (%)						減量割合	
	ユリ			サギソウ			(重量割合%)	
	菌類	細菌類	計	菌類	細菌類	計	2ヶ月目	6ヶ月目
床置き (慣行)	1.3	0	1.3	0.4	2.1	2.5	87.0	66.9
吊り下げ	0.9	0	0.9	1.1	1.8	2.9	85.6	64.2

10

※雑菌汚染割合はユリは4か月間、サギソウは6か月間培養の累積

※減量割合は培養開始時の袋の重量を100としたときの値

【図面の簡単な説明】

【0021】

【図1】培養方法の流れ図である。

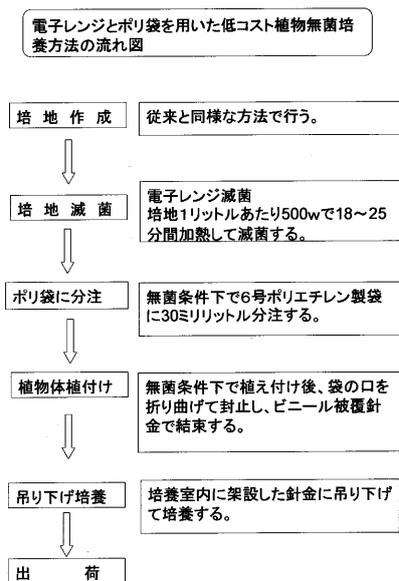
【図2】ポリ袋を用いた培養の模式およびビニール被覆針金を用いたポリ袋の口の閉じ方

20

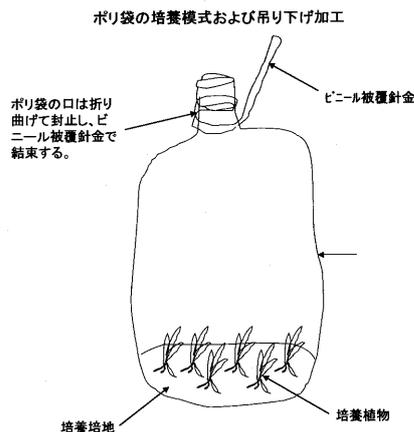
および吊り下げ加工法を示したものである。

【図3】ポリ袋の吊り下げ培養法を示したものである。

【図1】

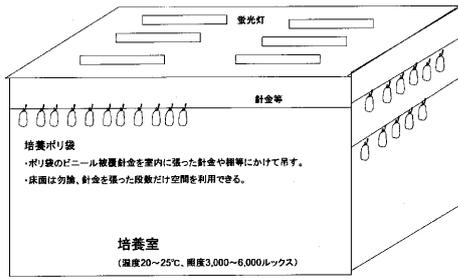


【図2】



【 図 3 】

ポリ袋吊り下げ培養の模式図



---

フロントページの続き

- (56)参考文献 特開2002-17826(JP,A)  
特開平6-292710(JP,A)  
特開昭63-291571(JP,A)  
特開2001-190267(JP,A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A01H	4/00
A01G	1/00
A61L	2/12