

## 9. 植物用培地組成一覧

今泉（安楽）温子  
農業生物資源研究所・生理機能研究グループ  
onko@nias.affrc.go.jp

### Fåhraues medium ( )内はストック液の濃度

CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O	(100mg/ml)	1	ml
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	(120mg/ml)	1	ml
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	(100mg/ml)	1	ml
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	(150mg/ml)	1	ml
Fe citrate	(5mg/ml)	1	ml
(Trace Elements)			
MnSO <sub>4</sub>	(0.2mg/ml)	1	ml
CuSO <sub>4</sub>	(0.2mg/ml)	1	ml
ZnSO <sub>4</sub>	(0.2mg/ml)	1	ml
H <sub>3</sub> B <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	(0.2mg/ml)	1	ml
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub>	(0.2mg/ml)	1	ml
D.W.		990	ml
		1000	ml

### Fåhraues medium の使用用途について

植物培養用の培地で、スライドカルチャーは特にこの培地がよい。ヤンセン培地と比べ、透明なので観察しやすいのが利点。尚、液体培地で使用する場合、CaCl<sub>2</sub> 2H<sub>2</sub>O, MgSO<sub>4</sub>7H<sub>2</sub>O, Fe citrate は、オートクレーブ後、溶液が冷えてから加えること（沈澱が生じるため）。

### B&D Nitrogen-free nutrients (for *Lotus japonicus*)

Stock sol.	Chemical	Stock sol. Conc.	
A	CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	2.0 M	1 ml
B	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.0 M	1 ml
C	Fe-citrate	0.02M	1 ml
D	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.5 M	
	K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.5 M	
	MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	2.0 mM	
	H <sub>3</sub> B <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	4.0 mM	
	ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	1.0 mM	
	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0.4 mM	
	CoSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.2 mM	
	Na <sub>2</sub> MoO <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	0.2 mM	1 ml

2000 ml

(Adjust to pH 6.8)

**1/2 Nitrogen-free nutrients (Nifal)**

Stock sol.	Chemical	Stock sol conc.	
1	CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	2.0 M	1 ml
2	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.0 M	1 ml
3	Fe-EDTA	0.02 M	1 ml
4	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.5 M	
	K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.5 M	
	MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	2 mM	1 ml
5	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	4 mM	
	ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	1 mM	
	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0.4 mM	
	CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0.2 mM	
	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0.2 mM	1 ml
	DW		4000 ml

## 10 . 根粒菌用培地組成一覽

内海俊樹

鹿児島大学理学部生命化学科  
uttan@sci.kagoshima-u.ac.jp

大和田琢二

帯広畜産大学生物資源科学科  
taku@obihiro.ac.jp

### TY medium(pH 6.8-7.0)

Trypton	5.0 g
Yeast extract	3.0 g
CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0.83 g
<hr/>	
D.W.	1000 ml

(Reference)

Beringer, J. E. R-factor transfer in *Rhizobium leguminosarum*. J. Gen. Microbiol. 84, 188-198 (1974).

### LB medium (pH 7.0)

Trypton	10.0 g
Yeast extract	5.0 g
NaCl	5.0 g
<hr/>	
D.W.	1000 ml

### YM medium

Stock solution

Solution A (100ml)	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	10.0 g
	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	10.0 g
	NaCl	2.0 g
	NH <sub>4</sub> Cl	5.0 g
<hr/>		
Solution B (100ml)	MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	1.8 g
<hr/>		
Solution C (100ml)	CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	1.3 g
<hr/>		
Solution A		10 ml
Solution B		10 ml
Solution C		10 ml
Yeast extract		1.0 g
Mannitol		10.0 g
<hr/>		
D.W.	Total	1000 ml

**\*注意** 液体培地を作成する場合は、イーストエキスとマンニトールの混合液を準備しオートクレーブする。Soln. A, B, C はそれぞれ別にオートクレーブし、冷却してからイーストエキス・マンニトール混合液に添加する。熱いうちに添加すると沈殿が生じる。

(Reference)

Keele, B. B., Hamilton, P. B., and Elkan, G. H. Glucose catabolism in *Rhizobium japonicum*. *J. Bacteriol.* **97**, 1184-1191 (1969).

### YEM medium

K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.5	g
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.2	g
NaCl	0.1	g
Mannitol	5.0	g
Na-Gluconate	5.0	g
Yeast Extract	0.5	g
<hr/>		
DW	1000	ml

Adjust to pH6.9

Cool, add 1ml of 16% CaCl<sub>2</sub> stock sol.

### Sherwood のMinimal medium ( )内はストック液の濃度

Sodium succinate	(135mg/ml)	10	ml
Sodium glutamate	(110mg/ml)	10	ml
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	(220mg/ml)	1	ml
MgSO <sub>4</sub>	(100mg/ml)	1	ml
FeCl <sub>3</sub>	(220mg/ml)	100	ul
CaCl <sub>2</sub>	(440mg/ml)	100	ul
Thiamine HCl	(1mg/ml)	100	ul
Biotin	(0.2mg/ml)	1	ml
<hr/>			
DW		Total 1000	ml

(Sodium glutamate は添加しなくてもよい)

(Reference)

Sherwood, M. T. Improved synthetic medium for the growth of *Rhizobium*. *J. Appl. Bacteriol.* **33**, 708-713 (1970).

## B - medium (Minimal medium)

本培地における M. loti MAFF303099 株の増殖に関する詳細なデータは、帯広畜産大 大和田 まで。

Trace elements	MnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	0.609 g	1000 ml
(400 x):	ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.1 g	Store at RT
	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	1.27 g	
	NaMoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.4 g	
	CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.04 g	
Vitamine stock	Biotin	0.05 g	250 ml
(1000 x):	Thiamine.HCl	1.25 g	Filter sterilize
			Store at 4°C
0.1M K-phosphate (pH7.2)	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	5.0 g	500 ml
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.5 g	Autoclave, store RT
Fe(III)-Na-EDTA (x 1000)		33.0 g	1000 ml
			Store at RT

### 1) Dissolve:

Mannitol	5 g
Na-Gluconate	5 g
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.55 g
KNO <sub>3</sub>	0.55 g
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	1.3 g
Trace elements stock	2.5 ml
Fe-EDTA stock	1.0 ml
DW	Total 1000 ml

(autoclave)

### 2) Cool, add:

0.1M K-phosphate buffer	10 ml
Vitamine stock	1 ml

### 根粒菌の継代培養に関する注意

1. スラントまたはプレートを用いる。根粒菌は YM 培地、大腸菌は LB 培地でそれぞれ適当な抗生物質を加えたものに植え継ぐ。

2. 植え継ぎは、少なくとも月に1回の割合で行なうのがよい。根粒形成率が落ちた場合は、根粒からの再分離を行う。

3. 根粒菌を凍結保存する場合は、適当な培地（抗生物質入り）で培養し、20% となるようにグリセリンを添加してよく混合した後、-80 で保存する。

4. 凍結保存菌株を起こすときには、滅菌されている注射針（disposable type）で凍ったままの根粒菌 suspension をプレートに塗布する。プレート上のコロニーを適当量を液体培地に懸濁し、培養したものから使用する。