

# 亜熱帯果樹アボカド 苗木生産技術の確立について

岐阜県立岐阜農林高等学校 生物工学科3年

Gifu Senior High School of Agricultural and Forestry:Biotechnology course

## ～課題研究～

# 学びの発展

### 《授業の目標》

- (1) 農業の各分野について体系的・系統的に理解するとともに、相互に関連付けられた技術を身に付ける。
- (2) 農業に関する課題を発見し、農業や農業関連産業に携わる者として解決策を探求し、科学的な根拠に基づいて創造的に解決する力を養う。
- (3) 課題を解決する力の向上を目指して自ら学び、農業の振興や社会貢献に主体的かつ協働的に取り組む態度を養う。



# Bio-Technology

# 生物工学科

### 1. 概要 summary

現在、岐阜県では地球温暖化の影響により気温が上昇傾向にある。これの影響により、岐阜地域の特産品である富有柿の品質低下が問題となっており、気温が上昇する中での栽培が厳しい状況となっている。そこで、富有柿に代わる新たな特産品として、亜熱帯果樹であるアボカドの導入を検討している。今年度は、接ぎ木と挿し木の技術の確立、ホルモン添加による継代培養、岐阜大学と協力したPCR法による耐寒性遺伝子CSPの発現の有無の調査、柿の耕作放棄地と休耕地へのアボカド苗の移植を行った。

### 2. 実験① 耐寒性遺伝子の発現量比較

#### (1)準備

アボカドの葉(4℃にさらしたもの・25℃でさらしたもの)、Buffer(プライマー、DNAポリメラーゼ、DNAの材料)、サーマルサイクラー 電気泳動装置

#### (2)方法

- アボカドの葉からRNAを抽出し、抽出したRNAを逆転写することでcDNAを合成する。
- 合成したcDNAを鋳型としてPCRで複製する。
- 電気泳動を10分間行い、バンドの濃さで発現量の差を判断する。

#### (3)結果



写真1 RNAの抽出

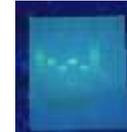


写真2 電気泳動結果

4℃と25℃でバンドの濃さに差は見られなかった。

4℃と25℃で耐寒性遺伝子の発現量の差は確認できなかった。

### 3. 実験② 耕作放棄地、休耕地への移植

#### (1)準備

アボカド苗  
卓球台、園芸廃棄培土

#### (2)方法

- アボカド苗を学校から休耕地へ運ぶ
- アボカド苗を園芸廃棄培土の入った板を組み合わせて作ったプランターへ移植する。
- 灌水には雨水を使用。

#### (3)結果

耕作放棄地に  
樹高147cmの6年生のハス種  
樹高136cmの6年生のハス種を移植した。  
同様に休耕地には6年生のハス種2本を定植し現在越冬試験を実施中。

### 4. 実験③ 苗の増殖に向けた接ぎ木技術

#### (1)準備

アボカド穂木、接ぎ木ナイフ、接ぎ木テープ

#### (2)方法

- 幹が同じくらい太さのアボカドを選び、割り接ぎを行う。
- 接いだところを接ぎ木テープで固定し、その上に袋をかぶせて湿度を保つ。

#### (3)結果

岐阜県でアボカドの栽培を行っている澤井さんに技術指導をして頂き30本中2本成功した。



写真4 接ぎ木成功

### 5. 実験④ 苗木生産技術の確立(組織培養)

#### (1)準備

継代培養したカルス(品種:メキシコラ)、1/2MS培地  
植物ホルモン(2.4-D、BA)

#### (2)方法

- 2.4-D、BAを添加したMS培地をそれぞれ作る。
- 継代培養したカルスをそれぞれの培地に置床する。
- 植物ホルモンの違いによる各部位の発現の変化を観察。

#### (3)結果

2.4-D、BA添加した培地からは小さい仮根の形成が見られた  
BAを添加した培地の方が生育速度がわずかに早い。



写真5 継代培養

### 6. 考察

- PCRで増幅させる際に、サイクル数が多すぎたため、最大限までDNAを増幅させてしまい、4℃・15℃の差が確認できなかった。
- アボカドの苗が大きくなるまでは冬はビニールを張り、温度・湿度を一定に保つ必要がある。
- 花壇上の苗は日の当たるところに置いていたため、高温の状態が続き生育が弱くなったが、柿の耕作放棄地へ移植した苗は元気に生育していた。
- 継代培養したものの順化を行い苗生産へ繋げる必要があると考える。



写真3 耕作放棄地

# 鉄還元菌の窒素固定反応による低窒素肥料水稻生産

岐阜県立岐阜農林高等学校 生物工学科3年

Gifu Senior High School of Agricultural and Forestry:Biotechnology course

## 1. 概要 summary

現在、農業の分野において農作物の生産に使われる化学肥料が使用され、生産時に多くの化石燃料が使用されている。そこで発生した二酸化炭素や施用した土壌からの亜酸化窒素の発生など、様々な環境問題を起こし、地球温暖化に大きな影響を与えている。

そこで本実験は「鉄還元菌の窒素固定反応による低窒素肥料水稻生産」により、化学肥料の使用量を減らした農作物生産を目指した取り組みを行った。

## 2. 実験 鉄還元菌の窒素固定反応による

### 低肥料窒素水稻

(1) 試料・試薬・器具

① 稲 (品種 'にじのきらめき') ② 純鉄粉 ③ 肥料 (PK化成・ハイエムコート 500)

④ SPAD計

(2) 実験方法

① 試験区の設定

Fe500/N10, 5, 0 kg/反  
Fe250/N10, 5, 0 kg/反  
Fe0/N10, 5, 0 kg/反

対照区

計10個の試験区で実験を行った。

② 3月に純鉄粉を設置した区に散布し、酸化させた。

③ 5月に窒素肥料を散布し、田植えを行った。

④ 生育調査

草丈、稈長、穂長、穂数、葉色を調査した。  
草丈、稈長、穂長はものさしを用いて計測した。  
葉色はSPAD計を用いた。

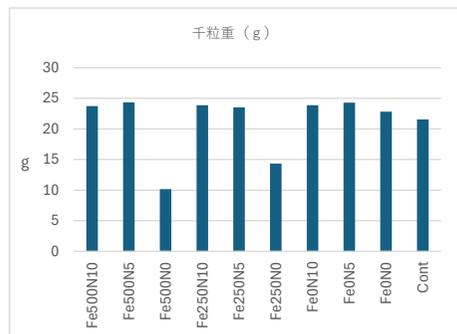
⑤ 収穫・収量調査

各試験区を坪刈単収で比較



図1 生育調査

(3) 実験結果



- ・穂数は窒素肥料10kg/反の区が全体的にみるとほかの区より多かった
- ・稈長は窒素肥料による影響が大きく見られたが、鉄粉の散布量を多くすれば大きくなるのが分かった。
- ・稈長を除いて稲の生育調査を行った項目では鉄粉による影響がみられなかったが、窒素肥料による影響は大きくていた。
- ・収量は窒素肥料10kg/反、5kg/反、0kg/反の順に多くなつた。
- ・鉄粉を500kg散布した区と鉄粉を散布しなかった区での収量の変化はなかった。
- ・鉄も窒素肥料も一切与えなかった区と比べると鉄・窒素肥料どちらも加えた区も生育はよかつた。

## 3. 考察

- ・'にじのきらめき'は多肥性の品種であるため、窒素肥料の量による影響が多かつた。
- ・今回行った生育調査の結果としては、基本的にNを多く施肥した区の生育が良く、鉄粉による鉄還元菌の働きは見られなかった。
- ・試験をしている土壌は前々からの実験で使用しており、土壌中に窒素肥料がおおく含まれていることから鉄還元菌の働きがなくても稲に窒素がいくため鉄粉による影響が少なくなつたからだと考えられる。
- ・これより鉄還元菌の働きを最も活用するには水稻栽培を終えた土地で麦などの作物を栽培し土壌の栄養状態を低くするなどの方法があるのではないかと考えた。

## 4. 今後の課題

- ・あぜに雑草が多く生えており、実験に少し影響が出たと考えられるためあぜの管理も必要である。
- ・今回の結果では鉄還元菌の働きを見られなかったため、こうなつた原因を研究する必要がある。

## 5. 出典

- ・農業組合法人おおが
- ・土壌圏科学研究室 - 東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命化学専攻 (u-tokyo.ac.jp)

# シアノバクテリア属 ノストコプシスとインクラゲの培養

岐阜県立岐阜農林高等学校 生物工学科3年

Gifu Senior High School of Agricultural and Forestry:Biotechnology course

## 1. 概要 summary

地球温暖化による食料不足が深刻化している現代。私たちは、有用微生物を大量増殖することで食料源確保を研究テーマとした。タイのメコン川やナン川上流に生息する水生藍藻類ノストコプシス群は、水中の汚れを分解して水を浄化する作用があると考えられている。現地タイでは美容食としても人気がある。私たちは、ノストコプシスの培養と継続研究中のネンジュモ属インクラゲの2種類の培養に取り組むことにした。培養個体のノストコプシスは、岐阜市内の企業、マイクロアルジェコーポレーション (MAC) の代表取締役・竹中裕行先生から提供していただき指導助言をいただいた。

## 2. 実験① ノストコプシスの培養

(1) 準備

BG11培地組成【 NaNO<sub>3</sub> K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>・3H<sub>2</sub>O MgSO<sub>4</sub>・7H<sub>2</sub>O CaCl<sub>2</sub>・2H<sub>2</sub>O Citric acid Ferric ammonium citrate Na<sub>2</sub>EDTA-Mg Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> Trace metal mixA<sub>5</sub>+Co Distilled water 】

試薬を量り、BG11 液体培地 (60) 作成

(2) 方法

- ① BG11 培地を用意
- ② ノストコプシスを計量
- ③ ペットボトルに培地を 10ずつ分注
- ④ ノストコプシスを3等分して入れる
- ⑤ エアレーションをかけて培養

①～⑤の工程を1か月に1回行う

(3) 結果

ノストコプシスの質量の増加を確認。

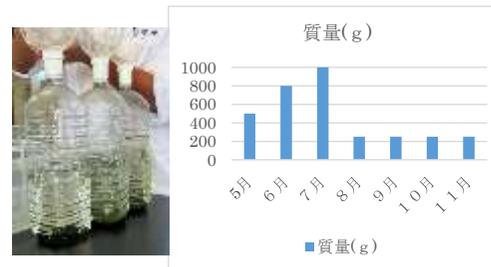
## 3. ノストコプシスの質量の変化

(1) 方法

実験①より、①～⑤を行う際にノストコプシスの重量を測定

(2) 結果

8月では、1ヶ月に250gずつ増加していたが、9月以降は250gまで減少し、その後質量は変化しなかった。



グラフ1 ノストコプシスの質量変化(5月～11月)

図3 ノストコプシスの培養 本校実験室



左図4 ノストコプシスの状態 12月

←現在(12月 右図)

- 明らかに小さくなつた。
- 今年の猛暑が影響した。

## 4. 実験② インクラゲ 次亜塩素酸ナトリウムで殺菌

(1) 準備

BG11培地組成【 NaNO<sub>3</sub> K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>・3H<sub>2</sub>O MgSO<sub>4</sub>・7H<sub>2</sub>O CaCl<sub>2</sub>・2H<sub>2</sub>O Citric acid Ferric ammonium citrate Na<sub>2</sub>EDTA-Mg Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> Trace metal mixA<sub>5</sub>+Co Distilled water 】

BG11 培地に寒天 15g/L を入れ、固形培地にする。50ml 三角フラスコ 50本に20mlずつ分注する。培地にオートクレーブをかける。

(2) 方法

- ① インクラゲを次亜塩素酸ナトリウムに10分間浸す
- ② 取り出した後、すすぎ水で洗うことを3回繰り返す
- ③ シャーレの中でインクラゲを3mm四方に切断
- ④ 3片を培地に置床

(3) 結果

通常の培養と比べ大きな変化は見られなかったが、コンタミネーションの発生が大幅に減つた。

## 5. 実験③ 培養フラスコを逆にする

(1) 準備

BG11 培地に寒天 15g/L を入れ、固形培地にする。50ml 三角フラスコ 50本に20ml分注。

培地にオートクレーブをかける。

(2) 方法

- ① 三角フラスコにインクラゲを置床
- ② 三角フラスコを上下逆にして静置
- ③ 培養室で培養

(3) 結果

どの個体も通常培養した個体と状態は変わらなかつた。

## 6. 考察

ノストコプシスは、8月の猛暑期間が増殖に多大な影響を及ぼした。夏休み期間で培養液を交換できなかった。

インクラゲは実験②より、従来のアルコール殺菌より殺菌力が高い次亜塩素酸を使用したことで、ほとんどの菌を死滅させることができ、順調に増殖している。



図1 ノストコプシスの培養



図2 培養の様子



図5 インクラゲの培養



図6 逆さにして培養



図7 順調に増殖するインクラゲ

# 有用微生物の新たな利用方法の確立

岐阜県立岐阜農林高等学校 生物工学科3年

Gifu Senior High School of Agricultural and Forestry:Biotechnology course

## 1. 概要 summary

持続可能な未来を目指してSDGsの目標を身近なもので解決できないかを考えた。近年では川の水質汚染や食品ロスが問題視されており、現在の状況が続くと生態系にまで被害が出る可能性がある。水質改善と食品ロス改善に向けて身近で使用しやすい納豆菌と乳酸菌を使用した新たな利用方法の確立をテーマに研究を行った。廃棄された食品を使い、植物の成長や水質にどのような影響を及ぼすのか実験をした。最終的に人間に有用な微生物を使用した商品開発を目標としている。

## 2. 実験① 納豆菌によるハツカダイコンの成長作用

### (1)準備

納豆パック、圃場の土壌、ハツカダイコンの種、ガスバーナー、ペットボトル、三脚、すり鉢、乳房、ビーカー、ガラス棒、温度計、プランター、スプレー、水

### (2)方法

1 納豆液肥 A・B を作成する。

【納豆液肥 A】 ①納豆をすりつぶす ②すりつぶした納豆を水に加える。

③ペットボトルにいれ数日間培養する。

【納豆液肥 B】 ①ビーカーに80℃のお湯を8分目まで入れる。 ②納豆を

1/2 パック入れる。 ③ガラス棒で白く濁るまでかき混ぜる。

2 ハツカダイコン、大葉をプランターで栽培する。

3 成長過程を観察し、比較する。

図1 納豆液肥の試験区

対象区	肥料なし（水のみ）
試験区1	納豆液肥A
試験区2	納豆液肥B



写真1 納豆液肥 A・B

### (3)結果

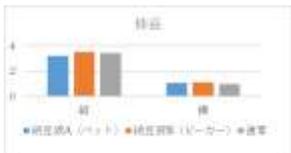


図2 ハツカダイコンの生育結果



写真2 大葉の生育

納豆菌②のほうが一番伸び、納豆菌①は対象区より伸びなかった。また、納豆菌を加えたほうがハツカダイコンの葉が大きかった。

## 3. 実験② 菌の固定化と水質改善

### (1)準備

pHメーター、市販の納豆、ヨーグルト、1ビーカー(50ml、500ml)、水切りゴミ袋、注射筒、アルギン酸ナトリウム、純水、メートルグラス、ガスバーナー、四脚、薬さじ、ガラス棒、マグネチックスターラー

### (2)方法

(1)納豆を純水49ml入った試験管に入れ、納豆混濁液を作る。

(2)アルギン酸ナトリウム1g+純水49mlを混ぜ、無色透明

になるまで加熱溶解をする。

(3)塩化カルシウム1g+純水49mlを混ぜる。

(4)納豆混濁液1g+純水9mlを混ぜる。

(5)(2)と(4)を混ぜ攪拌する。

(6)(5)を注射筒に20ml入れ、マグネチックスターラー

を使い(3)に滴下し、酵母を固定化する。

(7)同じように乳酸菌の混濁液も作る。

(8)川の水に固定化した菌を投入し、水質に変化があるか調べる。

### (3)結果

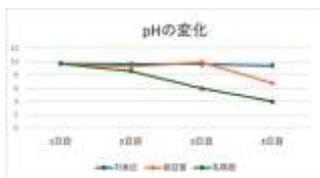


図3 水質の変化(pH)

・納豆菌と乳酸菌を入れた水はどちらも、pHが下がった。

・納豆菌よりも乳酸菌の方が大きく値が変化した。

## 4. 実験③ 納豆による食用油の分解

### (1)準備

市販の納豆、食用脂、100mlビーカー、200mlビーカー、水切りゴミ袋、アルギン酸ナトリウム、純水、ガスバーナー、四脚、ガラス棒、マグネチックスターラー

### (2)方法

(1)バイオリアクターと納豆だけの区を作る。

(2)バイオリアクターと食用油を混ぜる。

(3)水切りゴミ袋の中に納豆を入れ食用油の中に入れる。

### (3)結果

分解されていたか測定不能

## 5. 考察

納豆菌をすりつぶし水を加えた納豆菌①より温めたお湯に納豆菌を混ぜた納豆菌②のほうがハツカダイコンが伸びたことから、すりつぶしたことで納豆菌が働きにくくなったと考える。納豆菌にはpHを下げる働きはあるが上げる働きはない。しかし、藻の有無でもとのpHの値が違ったため、植物の光合成が関係していると考えられる。これによりpHを上げる方法が課題である。また、乳酸菌より納豆菌のほうがpHを下げるため、酸素や空気など環境により油が分解されていくのではと考察した。



写真3 菌の固定化



写真4 油の分解

# 近未来を見据えた水耕栽培の有用性

岐阜県立岐阜農林高等学校 生物工学科3年

Gifu Senior High School of Agricultural and Forestry:Biotechnology course

## 1. 概要 summary

近年、地球温暖化の影響を受け気温は上昇傾向にある。また、その影響による気候変動が要因となり農作物の安定した生産・収穫が困難となり農家にダメージを与えている。日本における農家の高齢化も悩まれる中、これらが原因で農業を続けていくのは難しく新規担い手確保も困難になると考える。そこで、簡易的な方法で栽培可能な水耕栽培を確立させて、外に出なくても手軽に誰でも農業を始められるようにしたいと考え、水耕栽培に取り組むことにした。

## 2. 実験① アイコの生育

### (1)準備

種子(アイコ 品種アイコ)、微粉ハイポネックス、水道水、スポンジ、メス、容器(ペットボトル)

### (2)方法

(1)ウレタンスポンジを縦横2~3cmの立方体の形に切り、中心に

メスで十字の切込みを入れ、そこにトマトの種を数粒播種する。

(2)ペットボトルを半分に切って、上半分を逆さにかぶせ、

飲み口にあたる部分にスポンジをはめこむ。

(3)水で1000倍希釈させたハイポネックス溶液を、ペットボトルの

下半分に注ぎ入れる。

(4)段ボールで仕切りを作り光の量を調節できるようにし、

インキュベータの中で栽培した。

※週に2回ハイポネックス溶液を新しいものと交換した。

### (3)結果

ある程度までの大きさになる生育はできた

が莖や枝の誘引が上手くいかず、倒れて

しまった。原因としてインキュベータの風の

影響で、乾燥気味となり葉や莖に水気がな

く全体的に乾いた状態であったことから、

萎れてしまったことで誘引に繋がらなかつ

たと考える。



図1 萎れたトマト苗の様子

## 3. 実験② ラディッシュ&サニーレタスの生育

### (1)準備

種子(ラディッシュ、サニーレタス)、容器(タッパー)、水、スポンジ、微粉ハイポネックス

### (2)方法

(1)ウレタンスポンジを縦横2~3cmの立方体の形に切り、中心に

メスで十字の切込みを入れ、そこにサニーレタスとラディッ

シュの種を数粒播種する。

(2)そのスポンジをタッパーに入れ水を浸してインキュベータの

中で栽培する。

(3)週に2回、水を1000倍希釈させたハイポネックス溶液に交換。

### (3)結果

最初は順調に生育し平均的に芽が出

始めたが、実験①と同様の原因で生

育が上手くいかなかったと考える。

また、葉の色が薄めだったことから日

照不足が考えられるため、インキュベ

ータの光だけでなく、太陽光にも当て

る必要があると考える。

## 4. 実験③ サニーレタスの生育(太陽光栽培)

### (1)準備

種子(サニーレタス)、容器(タッパー)、水、スポンジ、微粉ハイポネ

ックス、

### (2)方法

(1)ウレタンスポンジを縦横2~3cmの立方体の形に切り、中心に

メスで十字の切込みを入れ、そこにサニーレタスの種を数粒

播種する。

(2)タッパーに微粉ハイポネックスを薄めた水を入れ週間ごとに

変えて観察した。

### (3)結果

現在栽培中のため結果はまだ明確で

はないが、太陽光に当てても葉の色が

少し薄く感じるため、何か他の要因が

あると考える。



図2 スポンジでの栽培の様子



図3 太陽光栽培のサニーレタス

## 5. 考察

### 【実験①】

ある程度の大きさまでは苗が成長したため、肥料や日照条件の点

は問題なかったと考える。風による水分の蒸発や苗の乾燥が課題。

### 【実験②】

発芽はしたが苗状態にはならなかったため、苗になるための栄養

面の課題、定期的な観察と日光に当てるのが課題。

### 【実験③】

根腐れ気味なため、与える水分量と日光に当てる光量の調節と、

酸素供給のためにエアレーション等の導入を検討する。