

亜熱帯果樹アボカド 苗木生産技術の向上について

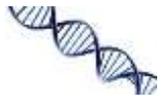
Gifu Senior High School of Agricultural and Forestry:Biotechnology course

～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

近年、地球温暖化による年平均気温の上昇により、岐阜県では特産品である富有柿の着色不良や商品価値の低下という課題を抱えている。そこで、富裕柿に代わる新たな特産品として、アボカドの栽培技術確立を目指し研究を行っている。今年度は、接ぎ木と挿し木の技術の向上、ホルモンを用いた初代培養・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を行った。

2. 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、RNA すいすい-R)
サーマルサイクラー、電気泳動装置

(2) 方法

1. 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。
2. 合成した cDNA を鋳型として PCR で複製する。
3. 電気泳動を15分間行い、バンドの濃さで発現量の差を判断する。

(3) 結果

4℃と25℃、どちらもバンドを見ることはできなかった。



写真1 RNAの抽出



写真2 電気泳動



写真3 電気泳動結果

3. 苗の増殖に向けた接ぎ木技術の確立

(1) 準備

アボカド台木・穂木、接ぎ木ナイフ、接ぎ木テープ

(2) 方法

1. 幹の太さが同じくらいの太さのアボカドを選び、割り接ぎを行う。
2. 接ぎ木テープで、接いだところから穂木の上まで巻き、接いだところを、ビニールテープで固定する。

(3) 結果

21本中6本(3割)が成功した。

4. 苗の増殖に向けた挿し木技術の確立

(1) 準備

オキシベロン(500倍希釈)、ルートン(粉末)、
KMnO₄(0.1M)、HB101(1000倍希釈)、
NAA(2,3mg/23ml)+BA(1,3mg/13ml)、メネデル
(500倍希釈)

(2) 方法

1. 穂木は葉を2枚残し、15cmに先端を斜めに切断する。
2. 対照区・温水区・過マンガン酸カリウム区・オキシベロン区
ルートン区・HB101区、NAA(23ml)+BA(13ml)区の
8区用意し、赤玉土を入れたポットを用意する。

3. ルートン区・対照区は挿し木し、液体処理区は17時間浸漬した後挿し木する。

4. 湿度を保つため、挿し木にビニールで覆う

(3) 結果

太い枝が生じやすいことが分かったが、発根はせず、全滅した。

5. 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:メキシコーラ)、MS培地、培養容器(マヨネーズビン)

(2) 方法

1. MS培地を作る。

2. 継代培養したカルスを、条件を変えてMS培地に置床する。(通常通り、大きな葉のみ、小さな葉のみ、根付きの葉、置床位置狭め、置床位置広め、根のみ)

3. それぞれの条件に合った培養方法をとる。(培養容器をアルミホイルで覆う)

4. 置床条件・培養条件による、生育の違いを観察。

(3) 結果

- ・ 葉の大きさ、葉の置床位置による生育の違いは見られなかった。
- ・ 小さな葉、根付きの葉は生育良好だった。
- ・ 培養容器をアルミホイルで覆ったものからは、仮根の形成が見られた。
- ・ 根のみのものは、緑の細胞に分化した。

6. 考察

- ・ RNAを抽出する際に、アボカドの葉をきれいにすりつぶすことが出来ていなかったため、RNAの抽出がうまくいかなかった。
- ・ 接ぎ木は成功率が上がったが、灌水をしっかりと行わないと、枯死してしまうため、忘れずに行うことが必要であり、暑さ対策も必要だと考える。
- ・ 挿し木は、発根が見られなかったため、発根させるために条件等を変えていく必要があると考える。
- ・ 継代培養を続け、カルスを残していくとともに、継代培養したものを順化させて、苗木生産につなげていく必要があると考える。

写真4 接ぎ木

インクラゲの培養と活用

Gifu Senior High School of Agricultural and Forestry:Biotechnology course



1. 概要 summary

地球温暖化による食料危機の問題は、年々深刻化しており、早急な対策が求められている。これまで作られてきた農産物は、生産量や品質の低下に悩まされている。この先も地球温暖化が進めば、農産物を生産できなくなるかもしれない。そこで、地球温暖化対策、または新たな食料資源を確保することが必要となる。インクラゲは栄養価の高い新たな食料資源として注目されており、抗酸化作用やコレステロール抑制作用などの機能性を持っている。これらの研究を進めることは、新たな食料資源の確保につながる一歩だと考える。

1. 実験① インクラゲ 継代培養

(1)準備

BG11培地組成:【 NaNO₃ K₂HPO₄・3H₂O MgSO₄・7H₂O CaCl₂・2H₂O Citric acid Ferric ammonium citrate szxNa₂EDTA-Mg Na₂CO₃ Trace metal mixAs + Co Distilled water p.4 】 計 27 本作成
培養容器:三角フラスコ、アルミホイル

(2)方法

- ①BG11培地に寒天 15g/mlを入れ、インクラゲを3~5mm四方に調整したものを用意
- ②無菌状態で置床
- ③その後約20℃に保たれた培養室で直接日光の当たらない棚で培養する。週に2日観察
- ④培地をオートクレーブにかける

(3)結果

夏休み前まではコンタミの数が0だった。全体的に見ても、着実に成長していた。

2. 実験② インクラゲシート 制作 その1

(1)準備

インクラゲ 75g (学校に生息するもの使用)

(2)方法

- ①インクラゲを棒で砕く
- ②イネ科の雑草と混ぜ、美濃和紙の要領でシート状にする
- ③自然乾燥する

(3)結果

シート状にするには成功したが、乾燥が足りなかったのか、インクラゲから独特の臭いが強く食用の海苔の状態には程遠かった。またインクラゲの強度が弱かったためか、ぼろぼろと落ちてきてしまう状態になってしまった。

(4)考察

雑草を加えたことによって、乾燥する中で腐敗臭や蒸れて発酵することで臭いが発生したと考えられる。また、インクラゲの独特の臭いが出てしまったのは、学校に生息しているインクラゲを使用したのが原因だと考えられる。



写真 5月16日

3. 実験③ インクラゲシート制作 その2

(1)準備

インクラゲ75g (学校で生息しているものを使用)
オクラ3本 水(オクラに対して1.5倍) 紙すきセット

(2)方法

- ①インクラゲをはさみで細かく切る
- ②切ったインクラゲとオクラの粘性成分を加え、紙すきセットで海苔に近い状態にする
- ③自然乾燥する
- ④オクラの粘性成分の抽出方法
オクラを切り、水を加える麺棒で混ぜる



写真:6月27日

(3)結果

海苔の状態に近づけることが出来たが、インクラゲの独特な臭いは残ってしまった。一方でオクラを加えたことにより強度が増し、更に海苔に近い状態に近づけることが出来た。

(4)考察

紙すきセットを用いたことで海苔の状態に近づけることが出来たと考えられる。また、オクラの粘性成分を加えたことにより強度が増し、ぼろぼろとはがれることがなくなったと考えられる。

4. 実験④ インクラゲシート 制作 その3

(1)準備

インクラゲ75g (宮古島のあたらす市場から取り寄せ)
オクラ3本 紙すきセット

(2)方法

- ①インクラゲを湯煎
- ②ミキサーにかける
- ③紙すきセットで海苔に近い状態にする
オクラの粘性成分も加える
- ④乾熱減菌で乾かす (50℃)

(3)結果

インクラゲを湯煎したことで、においが消えた。また、乾熱減菌を用いたことで更に海苔に近い状態にすることが出来た。

(4)考察

インクラゲを湯煎することで、臭いの原因物質をアクとして除去できた為、臭いを軽減する事ができたと考える。



写真10月29日

土壌小動物の糸状菌摂食による亜酸化窒素排出抑制

Gifu Senior High School of Agricultural and Forestry:Biotechnology course

1. 概要 summary

近年、温室効果ガスの排出量が増加しており、それに伴って地球温暖化も進んでいる。その中でも畑地土壌の糸状菌から排出される亜酸化窒素発生は二酸化炭素の約300倍の温室効果を持っており、地球温暖化に大きな影響を与えている。そこで糸状菌を摂食する性質を持つ土壌小動物であるササラダニを利用して亜酸化窒素排出量を減少させることを目的に研究活動を行った。本研究では、エダマメ栽培農家と連携して、栽培時にココナッツハスクとともに菜種油粕を畑地に散布して糸状菌が増殖しやすい環境を整え、ササラダニを誘引した。2週間の資材埋設の後、採取した土壌中のササラダニ生息数調査を行い、亜酸化窒素排出に関して調査を行った。

2. 目的

畑地土壌等に生息する土壌小動物ササラダニが、亜酸化窒素を排出する糸状菌を摂食する性質を利用することにより亜酸化窒素の排出量を削減し、農業生産による地球温暖化を防止することを目的とした。

3. 試料・試薬

ココナッツハスク (ベラボン)・移植ごて・パーク堆肥 (花ちゃんパーク)・菜種油粕 (撒き餌)・プラシャーレ・ツルグレン装置 (白熱電球)・双眼実体顕微鏡

4. 方法

- ①移植ごてで深さ10cm、土が柔らかくなるまで掘り、試験区ごとにココナッツハスクを250g/m²および500g施用する区と施用しない区を設定した。また、そのすべての区において菜種油粕50g/m²の施用区、非施用区を組み合わせて設定した。
- ②これらの資材を散布して2週間後に掘り上げた。
- ③ツルグレン装置を用いてササラダニを落としたりした。装置には400gの土を置き、6時間放置した。
- ④双眼実体顕微鏡を用いてササラダニ、土壌小動物の個体数を計測した。



図1 ササラダニ

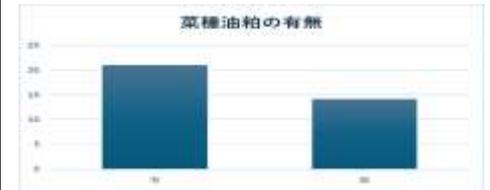


図2 ツルグレン装置

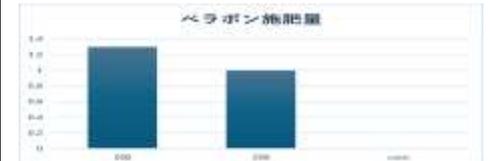
5. 調査(エダマメ圃場)

エダマメ圃場については4の①に記したココナッツハスクと菜種油粕に加えてパーク堆肥を施用した。試験区は地力増進法に基づく表示に記された施用量に対して0倍区、1倍区、2倍区を設置し各試験区内におけるココナッツハスクと菜種油粕の施用面積は5-1の1ヶ所あたり1/8m²として12区ずつ、合計36ヶ所の試験区画を設定した。

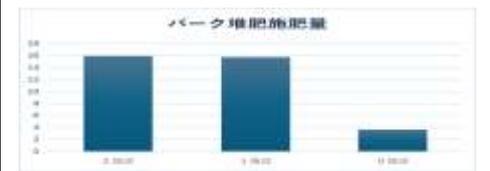
6. 結果



・菜種油粕の有無を比較すると有の区が土壌小動物の生息数が多い結果となった。



・ベラボンの施肥量を比較すると500gの区が一番多い結果となった。



・パーク堆肥の施肥量を比較すると2倍区、1倍区が

7. 考察・今後の課題

- ・今回行った実験の結果よりササラダニの生息数は菜種油粕を撒きココナッツハスク、パーク堆肥の量が多ければ多いほど増えると考えられる。
- ・今回の実験で照射時間を2時間のばしたときにササラダニが確認できたため照射時間を増やすとより多くのササラダニが増えると考えられる。

8. 出典

- ・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)
- ・國井農園 (エダマメ)

アメリカザリガニの駆除と有効利用

Gifu Senior High School of Agricultural and Forestry:Biotechnology course

1. 概要 summary

現在、日本では多くの外来生物によって生態系が破壊され続けており、アメリカザリガニもその一つである。ウシガエルやカサネエの養殖用の餌として日本に輸入されたが、逃げ出したり、放流されたりしたことにより、日本の生態系に入り込んだ。強い繁殖力と高い環境適応能力を持ち、農作物への被害や生態系への影響が問題となっており、条件付特定外来生物に指定されている。一方で、その体にはカルシウムやチキン質などの有用な成分が含まれており、廃棄せずに有効活用する方法を検討することに意義があると考えた。そこで私たちは、アメリカザリガニを食料や肥料として活用する可能性を調べることを目的とした。

2. 捕獲

アメリカザリガニの性質上、夜間に捕獲する。

・場所

①本校の農場

②黒野城跡



図1 捕獲の様子

3. 実験① 食料としての有効利用

①氷水でしめる。



図2 氷水でしめる様子

②沸騰したお湯で20分茹でる。
→寄生虫の心配がある為

③殻を剥く

(2)結果

- ・エビのような食感と味だった。
 - ・殻が固く取り出すのに手間がかかる。
 - ・可食部分が少ない
- 海外でもザリガニを食料としている国もある。
→日本で食用とされない理由だと考える。



図3 アメリカザリガニの肉

4. 実験② 肥料としての有効利用①

(1)準備

- ・ザリガニの殻・・・30g
- ・種まき培土・・・30
- ・ソイル・・・30
- ・プランター
- ・サニーレタスの種



図4 実験の様子

(2)方法

①4つの区分を用意し、比較試験を行う。

- 区分① 種まき培土
- 区分② ザリガニの殻入り種まき培土
- 区分③ ソイル
- 区分④ ザリガニの殻入りザリガニ飼育時ソイル



図5 サニーレタス

(3)結果

それぞれ培養土とソイルの区分でザリガニの殻入りとそうでないのでは特に変化は見られなかった。

5. 実験③ 肥料として有効利用②

(1)準備

- ・ザリガニの殻15g
- ・オガコ34.2g
- ・米粉9.4g
- ・栄養剤14.4g
- ・水 20ml
- ・マイクロール S H 1ml
- ・水和剤 0.05g
- ・ヒラタケの種菌



図5 培地調整の図

(2)方法

- ・瓶にオガコ8割、米粉1割、栄養剤1割の割合で入れる。
- ・オートクレーブで121℃15分殺菌する。
- ・クーラーベンチで冷まし、種菌を入れる
- ・20mlの水に1%の水和剤、マイクロールをそれぞれ混ぜる。
- ・恒温機に入れ、1週間に1回水を与える

(3)結果



図6 観察の様子

2週間後 マイクロール S を使用した培地は菌糸が回っていたが、それ以外の培地は菌糸が回っていない。

6. 考察

Caは微量元素であり、生育実験では結果に表れにくかったと考える。また、短期的な実験のためザリガニの殻の分解が進んでなかった可能性がある。肥料としての効果が、植物への直接的な栄養というより、土壌の改良・病害抑制が主な効果である可能性があり、土壌のpH調整などの用途への利用を来年に期待している。

キノコ栽培は難しいので、キノコ栽培にアメリカザリガニの殻を使用しないほうが良いと考える。

本校でのシンビジウムの培養法の確立

Gifu Senior High School of Agricultural and Forestry:Biotechnology course

1. 概要 summary

私たちは「本校でのシンビジウムの培養法の確立」というのをテーマに活動しました。シンビジウムは本校の園芸科学科で栽培、販売したり卒業式のコーサージュにしたりしています。しかし、大量に苗を買って栽培しているという現状があるため、生物工学科で無菌的に増殖して、その苗を用いて園芸科学科が栽培するというシステムを作り、より効率的な栽培を目指します。その上で、本校に適したより良い培養法がないか再検証しています。

2. 実験① シンビジウムの茎頂培養

(1)準備

斜面培地【1/4H,1/2H,H,2H,1/4MS,1/2MS,MS,2MS,シヨ糖のみ】各100ml (10本)

園芸科学科のシンビジウムのわき芽

(2)方法

① わき芽の粗調整・除菌

1. 外葉を取り除き、基部から3~5cmの長さに切る
2. 中性洗剤で除菌・洗浄
3. 水道水の流水ですすぐ
4. 殺菌済みシャーレに入れ、パスボックスを通して無菌室に移す



図1 わき芽の外葉を取り除いた部分

② 殺菌操作

1. 70%アルコールで10秒殺菌
2. 滅菌水で1回水洗い
3. 0.5%次亜塩素酸ナトリウムで10分殺菌
4. 滅菌水で3回水洗い

③茎頂摘出

1. わき芽の基部と基部の両端にメスを入れて切り落とす
2. メスの背の部分を使い、先端部から基部に向かって軽く押し出す
3. 2の操作を繰り返し、茎頂を露出・摘出する

④置床

1. できるだけ茎頂の切口が培地に接触するように置床
2. 茎頂露出から摘出・置床までは、組織が乾かないうちにかつ正確に行う

⑤培養

(3)結果

グラフより、1/4H,1/2H,1/4MS,1/2MSはコンタミネーションしなかったが、PLB形成の割合は小さかった。



3. 実験② PLBの増殖

(1)準備

H培地【NH₄-N NO₃-N H₂PO₄ Water soluble potassium NaOH HCl Distilled water】

試験区(培地の濃度) 1/4 1/2 1/1 2/1

MS培地【NH₄NO₃ CaCl₂·2H₂O MgSO₄·7H₂O

MgSO₄·5H₂O KH₂PO₄ KNO₃ NaOH HCl

Distilled water】

試験区 1/4 1/2 1/1 2/1

回転培養のため液体培地で行う。

各試験区に10本に20mlずつ分注する。

培地をオートクレーブにかける。



図2 PLB

(2)方法

- ①培養中の培地からPLBをシャーレに移す。
- ②PLBを切り分けて、分化が活発な部分を2分割する。
- ③取り出した試験区の条件と同様の培地に定植する。

(3)結果

PLBの増殖に成功した。成功確率はH培地が60%、1/4MS培地で77%であった。この二つが最も増殖する確率が高かった。そして、通常の濃度のMS培地は、42%、H培地は60%の確率で生長した。

4. 考察

実験①のシンビジウムの茎頂培養の結果から、培地の濃度が小さいと、菌の繁殖に必要な栄養分が少なく、コンタミネーションが起りにくいが、PLB形成に必要な栄養分が不足してしまい、PLB形成の割合が小さくなると考えられる。

実験②のPLBの増殖では1/2倍と1/4倍のMS培地、通常の濃度のH培地での増殖が効果的であった。それらの培地はPLBの増殖に適切な栄養と適切な量であったと考えられる。

図3 実験中の様子



図4 回転培養

