

題名：大分県産イチゴ「ゆふおとめ」メリクロン苗の生産並びに普及活動について

報告者：大分県立大分東高等学校 教諭 池永 博好

平成 29 年度

指導者：教諭 池永 博好

課題名：「イチゴ品種ゆふおとめの茎頂培養について」

研究者：園芸デザイン科植物バイオ専攻、氏名 木村悠卑 川野百合

1 目的

平成 28 年 3 月大分県中部振興局イチゴチームからイチゴ「ゆふおとめ」のウイルスフリー苗の増殖依頼を受けたことからこの研究が始まる。

本校に依頼があった理由は、イチゴ新品種として「ゆふおとめ」の登録申請をしたが国から新品種としての認可が下りず、研究の継続ができなくなったためである。一度、認可が下りない品種を再申請しても、認められることは限りなく低い。

ただ、県試験場新品種での研究が終了しても、県内でも大分市西寒多に「ゆふおとめ」を生産する農家がある。各生産者がイチゴ株の増殖のために、ランナーの増殖に取り組んでいる。ただ、ここ数年ウイルスの発生株が多数確認できるようになる。そのため、外部団体にイチゴの増殖を考えるようになった。しかし、県内にイチゴの培養をする施設がなく、県外のバイオ企業に増殖を依頼する場合は流出のおそれがあり、また依頼料も高額のため本校に増殖の依頼を受ける。

今年度は 2 年目として、10 月以降のハウス内に定植後の農家で余ったイチゴ苗廃棄分を増殖用として用い、今回の調査を行うことになった。

2 材料および方法

(1) 供試品種 ゆふおとめ (大分 5 号)

「とちおとめ」と「さがほのか」の交配によって誕生した品種

英名：Strawberry

学名：Fragaria × ananassa

特徴：可食部は花托の発達したものであり、表面に分布する粒々がそれぞれ果実である。



写真 1：ランナー苗育成



写真 2：中部 JA イチゴ担当 三浦さん

(2) 試験期間

1年目：平成29年4月19日～平成30年2月1日

2年目：平成30年4月20日～平成30年12月21日

(3) 試験場所 園芸科学実験室（バイオ室、恒温恒湿室）

2号温室(プランタ栽培、ランナー採取)



写真3：園芸科学実験室室内（バイオ室）



写真4：園芸科学実験室室内（恒温恒湿室）



写真5：2号温室(プランタ栽培、ランナー採取)

(4) 実験方法

①ゆふおとめ茎頂培養の手順確認

肉眼で見える範囲の穂の葉をピンセットで剥がし、ある程度剥がせたら顕微鏡で覗きながらメスなどを使い生長点を出していく。この時器具を置く前に1度火であぶると殺菌がよりできる。

生長点を摘出したらメスを使い、0.3mm程度で切り取り培地の中央部に植え付ける。植え付け後にアルミで蓋をする。

②培地の成分

1000m l

	分量 (g)
寒天	7.5
シヨ糖	30
ハイポネックス	2.5

pH 5.7

3cm試験管：10ml注入、作成本数：33本

(5) 栽培管理概要

ア 栽培実績

栽培実績 (作型及び主要管理) (調査期間 平成 29 年 4 月 19 日 ~平成 30 年 2 月 1 日)																											
月	4 月			5 月			6 月			7 月			8 月			9 月			10 月								
	上	中	下	上	中	下	上	中	下	上	中	下	上	中	下	上	中	下	上	中	下						
作型									ゆふおとめの受け取り			ランナー採取、定植															
主な作業内容	計画立案			培地作成			観察・調査開始 (茎頂培養)			ゆふおとめを提供していた だく・かん水			プランター定植			生育状況確認			生育状況確認			生育状況確認			分割、生育状況確認		
月	11 月			12 月			1 月			2 月																	
	上	中	下	上	中	下	上	中	下	上	中	下															
作型																											
	ゆふおとめの受け取り																										
主な作業内容	育成、生育状況確認			課題まとめ			研究発表会			論文提出																	

イ 施肥設計

① 寒天培地（試験管：茎頂培養用）

施肥設計（500ml 1 当り）					単位：g		
材 料 名	総 量	使 用 量			成 分 量		
		1 回 目	2 回 目	3 回 目	N	P	K
寒天	11.2	3.75	3.75	4.2			
ショ糖	45	15	15	15			
ハイボネックス	3.75	1.25	1.25	1.25			

※500ml 当たり 1 本 10ml 48 本作成

② ランナー採取（プランタ栽培：株培養用、ランナー採取）

施肥設計（1 プランタ当り）					単位：g			
肥 料 名	総 量	元 肥	追 肥			成 分 量		
			1 回 量	回 数	総 数	N	P	K
バーク堆肥	110					0.28	0.06	0.04
IB 化成	10					6	6	6
エコロングトータル 180 日	2					13	9	11

※1 プランタ並びに 1 株あたり

図 1：プランタに使用した天領バーク成分表と原料

■天領エコバーク/40L ・肥料分が少なく、肥料設計が容易・マルチング材としても可



肥料設定が容易。樹皮（杉皮）を堆積し、自己加熱を促進した後、不純物除去を行い、大型粉砕機で粉砕。

<分析項目> <分析値/現物当たり>

水分(%)	63.18
pH (1:10)	6.47
EC (1:10) (mS/cm)	0.14
CEC (me/100g)	43.6
全窒素 (%)	0.28
全リン酸 (%)	0.06
全加里 (%)	0.04
全石灰(%)	0.75
全銅(ppm)	2.4
全亜鉛 (ppm)	12.6
C/N比	58.2

※袋詰商品の他、バラ売りもしております。

ウ 病害虫防除実績

①寒天培地

病害虫防除実績		
病害虫名	症状及び発生原因	防除実績
黒カビ	・結露や湿気が多いため菌が発生。	・無菌操作を行う。
細菌（粘質）	・培地の表面に薄い膜が観察される。 ・手順の間違いや省略。	・無菌操作を行う。 ・抗生物質の使用。

②ランナー

病害虫防除実績		
病害虫名	症状及び発生原因	防除対策
うどん粉病	・葉に灰色の斑点が発生。 ・葉に水がかかったため。 ・乾燥した気象や5～10月頃で気温が25℃前後の時に発生。	・株元にかん水をする。 ・底面給水を行う。 ・乾燥をさせ過ぎないようにする。 ・病変を切り取る。
アブラムシ	・窒素分の多い肥料の与えすぎ。(アミノ酸を好むため) ・株間が狭く密植状態のため。	・元肥には窒素肥料を過剰に与えないように注意する。 ・密植を避ける。
ハダニ	・株間が狭く密植状態のため。	・密植を避ける。



写真6: うどん粉病
(平成29年10月12日)



写真7: ハダニ
(平成29年7月12日)



写真8: アブラムシ
(平成29年7月12日)

③無農薬の防除方法

うどん粉病：食用の重曹を水で500～1000倍に薄め、よく混ぜたものをうどん粉病が発生している部分に噴きかける。※発生初期に使う程度にとどめる。

アブラムシ、ハダニ：手動タイプは粘着力の弱いテープ（強いと植物を傷めてしまうため）や歯ブラシで軽めにこすり落とす（強いと植物を傷めてしまうため）。晴れた日に牛乳と水を1：1で割ったものを散布するとアブラムシやハダニが窒息する。使用後は水できれいに洗い流す。

不要な枝葉を摘みとって、風通しと日当たりをよくする。

天敵利用：アブラムシにはテントウムシ、ハダニにはケシハネカクシが有効。

エ 防除実績

月日	対象病虫害	農薬名	倍率（倍）	作成量
10月26日	うどん粉病	ベンレート	1000倍	1ℓ



写真9: ベンレート



写真10: ベンレート投入



写真11: ベンレート散布

オ 活動実績

- 6月22日 ゆふおとめの苗受け取り、農家見学
- 7月8日 園芸科学実験室前：ゆふおとめの定植（プランタ：40鉢、苗：120個）
- 7月12日 園芸科学実験室前：ゆふおとめの定植
- 9月25日 園芸科学実験室：培地作成（500ml）
- 10月26日 園芸科学実験室前：農薬（ベンレート）うどん粉病効果なし
- 10月30日 園芸科学実験室：培地作成（500ml）
- 11月1日 園芸科学実験室：培地作成（500ml）
- 11月2日 園芸科学実験室：ゆふおとめの茎頂培養・無菌操作
- 11月8日 ゆふおとめの苗受け取り
- 11月13日 2号温室前：ゆふおとめの定植（プランター）
- 11月15日 花壇：ゆふおとめの定植
園芸科学実験室：ゆふおとめの茎頂培養
- 11月17日 花壇：ゆふおとめの定植
- 11月22日 園芸科学実験室：ゆふおとめの茎頂培養

3 結果

ア 文献調査

イチゴの培養方法について

①ランナー苗の採取

穂を 3~4cm の長さに切りそろえ、※アルコールで 10 秒ほど殺菌し、滅菌水で水洗いする。

さらに、次亜塩素酸ナトリウムで 10 分間殺菌処理をする(※を 2~3 回行う)。

殺菌が終了したら、クリーンベンチ内で滅菌水を使い 3 回すすぐ。

肉眼で見える程度、メスとピンセットを用いて葉を剥いていく。

ある程度剥がせたら実体顕微鏡を用いて、茎頂点をむきだす。

生長点をむきだせたら培地に被せているアルミをはずし、確認できた生長点をメスで 0.3mm 程度に剥離し培地に植え付け、アルミを被せガスバーナーで火熱処理し完成。

②培地の作成方法手順について

培地作成時に失敗原因を考え、原因は手際の悪さだと思い、2 回目に手際をよくした
が失敗。寒天の分量が少ないと思い、寒天の量を少し増やしてみる。寒天が固まり成
功。500m l の寒天培地を作成する際は、寒天を 1000m l の半分の量 3.75 g ではなく、
約 1.2 倍の 4.5 g で作成すると植え付けがしやすくなる。

シヨ糖 15 g、ハイポネックス 1.25g、寒天 4.5g の分量で培地を作成する。

イ イチゴ生産農家見学

① 現地視察 [6月22日/11月8日実施]

イチゴの生産農家(阿南さん)の状況や思いを聞いて感じたことは、現在の状況とし
ては、ランナーの増殖に取り組んでいる。ただ、ここ数年でウイルスの発生株が多数確
認されるようになり、高校生にぜひウイルスフリー苗の増殖を成功させてほしいと願
いされ、10月以降のハウス内に定植後の農家で余ったイチゴ苗廃棄分を増殖用として譲
渡されました。



写真 12:阿南さん(大分市西寒多)



写真 13:JA 担当三浦さん(大分市植田)

ウ 県普及員来校並びに技術指導について

大分県農林水産研究指導センター農業研究部花きグループ花きチーム（バイオ担当）深蔵知花研究員からの技術指導と培養方法、育成方法について、質疑応答を行う。

ホルモン処理を行うと、花芽分化への影響が強くなるため、使用をしないほうが良いのではないかという助言をいただく。理由はカルス形成時にホルモン剤の作用により、組織への影響が出ているのではないかという回答であった。



写真 16：指導後の記念撮影

エ 培養用のランナー採取について

プランタ定植〔11月13日実施〕を行った。手順としては、次の通り行った。

プランタに鉢底ネットを置き、ふち1cm程度までエコバークを敷く。

拳一つ分ほどの穴をあける。

その穴にエコロングトータルを2g入れる。

そこに、苗を置き上から株もとに向け、エコバークを敷きます。

最後にかん水をし、完成。

1プランタあたりイチゴの苗を3株ずつ、株間約10cm



写真 14:プランタ定植に使用したもの



写真 15:プランタ定植用土つめ

オ デザイン科の総合実習実施状況について

生産状況としては、各農家や各団体の協力から計画的な取り組みを行うことができた。

ゆふおとめ(イチゴ) 平成29年度 実施状況

1年目(2年目以降も同様)					1年目			
月	旬	生産農家 (育苗)	生産農家 (圃場)		主な活動	本校 3年	2年	1年
4月	上	育苗		収穫				
	中	↓		↓		さがほのか培地作成 さがほのか培養練習	ユリ継代培地作成	オリエンテーション
	下	↓		↓		↓	↓	施設説明・諸注意
5月	上	1段階終了		↓		↓	↓	↓
	中	↓		↓		↓	↓	↓
	下	↓		↓		↓	ユリ継代培養	↓
6月	上	採苗開始		収穫終了		さがほのか順化準備・観察	↓	器具・器材の洗浄方法
	中	↓		片付け		↓	↓	↓
	下	↓		片付け		↓	↓	↓
7月	上	↓				↓	菌床培地作成	↓
	中	採苗終了		土壌消毒		↓	↓	無菌播種培地作成
	下	↓		↓		↓	↓	無菌播種培地作成
8月	上	↓		↓				
	中	↓						
	下	↓				ゆふおとめ培地作成 ゆふおとめ培養練習	菌床培地作成	無菌播種培地作成
9月	上	↓				↓	菌床植付	無菌播種培地作成
	中	定植	定植開始	次年度へ		↓	↓	無菌播種
	下		↓		選抜苗10株提供	↓	↓	↓
10月	上		マルチ張		選抜株培養開始	研究論文・スライド作成	↓	↓
	中		天井被服		↓	↓	ゆふおとめ培地作成 ゆふおとめ培養練習	↓
	下	親株確保			↓	↓	↓	無菌播種観察 カーネーション茎頂培養
11月	上	↓		電照開始	親株廃棄提供	↓	↓	↓
	中	↓			↓	↓	↓	↓
	下	↓		収穫開始	↓	↓	↓	↓
12月	上	↓		↓	↓	↓	↓	ゆふおとめ培地作成
	中	↓		↓	↓	↓	↓	↓
	下	↓		↓	※その後、定期連絡			
1月	上	↓		↓	育苗は生産農家へ			
	中	↓		↓	余り苗は本校生産	研究論文・スライド作成	菌床・ゆふおとめ観察	ゆふおとめ培地作成
	下	↓		↓	用として、	研究発表・論文提出	↓	↓
2月	上	↓		↓		仮卒	↓	ゆふおとめ培養練習
	中	↓		↓			↓	↓
	下	↓		↓			苗選抜	↓
3月	上	↓		収穫			選抜苗運搬	↓
	中	親株移植		↓			次年度へ	次年度へ
	下	育苗		↓				

カ 寒天培地作成

① 培地の作成方法

1. 蒸留水 500m l にハイポネックス、ショ糖を投入。(沸騰寸前まで加熱。約5分)
2. かくはん機で、かくはんする。(完全に溶けるまで加熱、かくはんを繰り返す。)
3. pH測定(5.7)。 数値上げる(N a OH) 数値下げる(HC l)
4. 素手で持てないくらい加熱。 約5分
5. 寒天を投入し、かくはんする。
6. 試験管に 10m l ずつ、33本、ビン 11本に注ぐ。(途中で加熱、かくはんすること)
7. アルミ箔(蓋)をし、オートクレーブに入れ、滅菌する。
8. 滅菌が完了したらアルミ箔をぴんと張る。
9. 斜面培地にする。(写真:13)
10. 寒天が完全に固まったら、クリーンベンチの中に入れ、アルコールスプレーをかけ殺菌をする。

② 寒天培地作成

9月25日培地作成分

(ショ糖 15g, ハイポネックス 1.25g, 寒天 3.75g [PH 5.7]) 失敗。

10月30日培地作成分

(ショ糖 15g, ハイポネックス 1.25g, 寒天 3.75g [PH 5.7]) 失敗。

11月1日培地作成分 33本作成

(ショ糖 15g, ハイポネックス 1.25g, 寒天 4.2g [PH 5.7]) 成功。



写真 16:培地計量中の様子



写真 17:作成した培地 33本、ビン 11本



写真 18:斜面培地作成

キ ゆふおとめ茎頂培養

① 11月2日培養 放課後作成 1本あたりの作成時間 25分

1回目：実施した茎頂培養 11本とも失敗。



写真 19: 茎頂点取り出し時の様子



写真 20: 茎頂点植え付け後の培地

② 11月15日培養 5～7限作成 1本あたりの作成時間 25分

2回目：実施した茎頂培養 5本とも失敗。



写真 21: 茎頂点植え付け後の培地

③ 11月22日培養 5～7限作成 1本あたりの作成時間 22分

3回目：実施した茎頂培養 10本中1本成功。



写真 22: 茎頂点植え付け後の培地 (このうち1本成功)

表 1: 培養結果

日付	作成本数 (本)	成功本数 (本)
11月2日	11	0
11月15日	5	0
11月22日	10	1

表の通りの結果となった。成功数も少なかったが、習熟度が増すごとに作成時間も短くなった。

4 考察

今回のゆふおとめの茎頂培養を行い、次のことが分かった。

1 回目(11月2日)は次亜塩素酸の希釈方法もわからず、時間をかけすぎてしまい、焦って作業を行なってしまった。そのため、メスやピンセットをあぶり忘れたことがあり菌が混入したと考えられる。

2 回目(11月15日)はメスなどの使用機材を加熱殺菌し過ぎ、生長点を焼いてしまった。

3 回目(11月22日)は手早く丁寧に作業を行なったため、10本中1本成功させることができた。

長時間の作業で大変だったが1本成功したので、少し達成感を得た。

1 枚ずつ不要な葉を剥ぎ取る時にメスやピンセットを使い早く丁寧に行う。よって次の作業がしやすくなる。

表2：各茎頂培養での失敗原因

日付	失敗原因
11月2日	黒カビ
11月15日	生長点の乾燥
11月22日	生長点の乾燥及び手順の悪さ

5 まとめ及び今後の課題

ハイポネックス培地を利用する方法を早く導き出すべきだった。なぜなら、素材の入手・調合が容易で安価であるためである。

カビや細菌が発生しやすいため、念入りに殺菌しておくこと成功しやすい。

ゆふおとめの穂についた土をよく水で洗い流し、ハサミを使い、土に触れていた黒い部分の側面を切るによりアルコール殺菌する際、土が混入するのを防ぐことができる。

茎頂培養の1回目は1本作成するのに20分かかり作成時の手順と材料の配分が悪く、時間をかけすぎた。そのため、茎頂培養をするまでにかなりの時間を要した。

培養する際に用いる、親株または子株の穂の部分切り揃え、1回目にアルコールと次亜塩素酸での殺菌を一度しか行わず菌が残ったまま茎頂培養をしてしまい、失敗した。

2回目では生長点を取り出す際に時間がかかったため生長点が乾燥してしまった。

3回目は今までの反省点を見直し、殺菌、生長点を取り出す作業を丁寧かつ早くした。

今後は3回目と同様に作業し、用意した本数すべて成功できるように努力していきたいと思う。そして、茎頂培養の習熟度で、うまくなり、成功することが多くなった。

来年度はこの論文を有効活用し、課題研究に存分に取り組んでもらいたいと思う。

6 活動生徒個人感想

①今回の研究を行なってみて…

1 回目に阿南さんから受け取ったゆふおとめにうどん粉病が発生した時に、ベンレート（農薬）を水に溶かして撒いたが、効果がなく、植物も人間と同じく繊細であることを再確認できました。

ランナーから生長点を切り出すのが難しく、取り出せても自分自身に菌がついていたらしく、培養を成功させることができなかったです。

イチゴについてあまり知識がなかったのですが、今回の研究でイチゴの葉に水をかけるとうどん粉病が発生してしまうことや、ランナーができると、そのランナーからまたイチゴの株を増やすことができることや、イチゴは結実してからあまり放置し過ぎるとゴキブリに食べられてしまうこと、うまく受粉しないと結実しないことなど多くのことを学ぶことができました。

茎頂培養を行うときに、ゆふおとめの穂と自分の手の殺菌、除菌が重要なのだとわかりました。生長点を切り取る際に、切り取りが下手だったり、葉を取る時に一緒に中の部分まで取ってしまって難しかったです。

②課題研究発表会（活動報告）における質問内容と回答まとめ

質問：コンタミネーションは初歩的なミスですが、なぜ発生し、失敗したのか。

答：実験に使用するイチゴの株を十分に殺菌することができなかったのが、一番の理由だと考えられる。また、初回は使用する器具の十分な滅菌ができず、雑菌が混入したと考えられる。

質問：増殖依頼を受け、茎頂培養を行なってきたと思うのですが、何か身に付いたことはありますか。

答：培地作成に時間をかけすぎてしまい、3回しか実施できなかったのが習熟度が足りないと感じました。

7 指導担当者より

全学年担当：池永博好

全学年での総合実習では、申請どおりの取り組みができた。特に、今回の活動を通して、生徒が目的意識を持って行動でき、それに班員が協力を惜しむことなく、率先して参加してくれたことには大変感謝している。また、学年を通した活動を行うことができ、生徒も目標を持つことで、意欲的に取り組んだ生徒が多くなった。

平成 30 年度

指導者:教諭 松本 安弘

課題名:イチゴの茎頂培養における品種の違いによる生育の変化について

研究者:園芸デザイン科植物バイオ専攻 板井 一、小村 翔護、實延 和也

1 目的

私たちは昨年度の課題研究発表会で「イチゴの茎頂培養の研究」を見て大変興味を持ちました。茎頂培養で苗を作成するとウイルスフリー苗ができることについて知りました。現在ウイルス病は治療する手段がなく、植物が発病すると枯死してしまいます。そこで私たちはイチゴの2品種を用いウイルスフリー苗の増殖に関する研究に取り組むことにしました。研究後は、この苗をどのように生かせるか、あわせて検討することにしました。

2 材料について

(1) 供試品種：ユフオトメ、サガホノカ

(2) 材料の特性

1.) ユフオトメ：平均して形はなで肩の円錐形で種のくぼみはやや深い。へたの部分、がくの部分が離れ気味である。

2.) サガホノカ：果実の大きさは比較的に大きめで、ややスリムな円錐形をしている。果皮の色は、鮮紅色で艶がある。果肉は全体に白く色はついておらず、中心部の空洞はできにくく、詰まっているものが多い。

3 試験方法

(1) 試験区：①ユフオトメ区
②サガホノカ区

(2) 試験場所：組織養実験室

(3) 試験方法

ア) 実験手順の調査

イ) 生育調査

2品種イチゴの茎頂をMS培地に植えつけ、週1回程度生育調査を実施し、生育差を調査する。(調査は試験管に定規をあて草丈と最大幅を計測する。)

ウ) 生存率調査

実験を数回実施し、今回の実験における生存率を算出する。

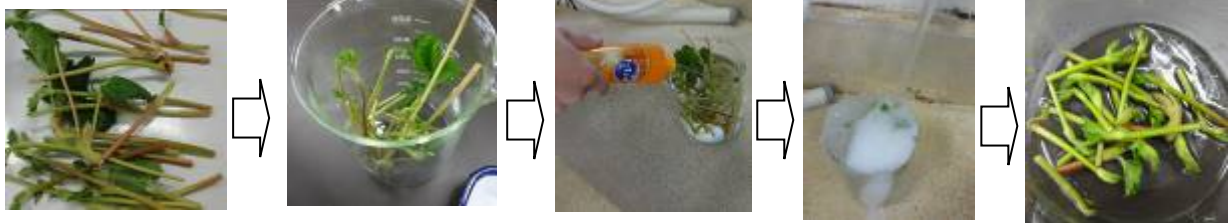
○今回使用した培地：MS培地

培地材料(10当たり)：MSインスタント4.41g、スクロース30g、寒天10g

4 試験結果

ア) 実験手順

●前処理



①ランナー採取

②ビーカーに入れる③中性洗剤で洗う

④流水

⑤4 cmに切る

●無菌処理



① 次亜塩素酸ナトリウムで殺菌

②滅菌水ですすぐ

③70%エタノールに浸す取る



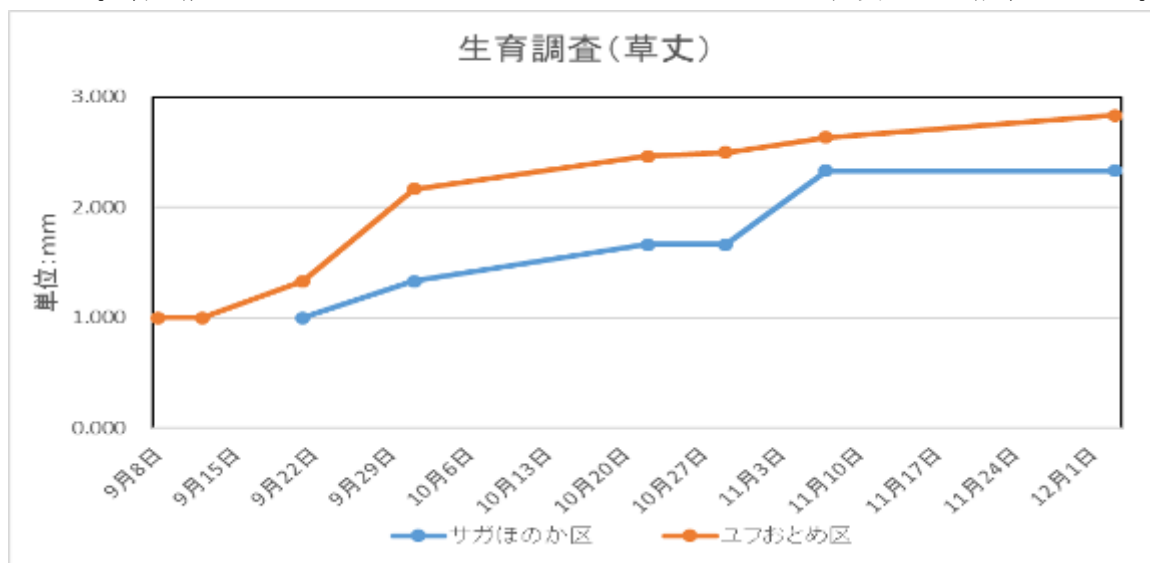
④ろ紙で水分を給水する。

●茎頂培養

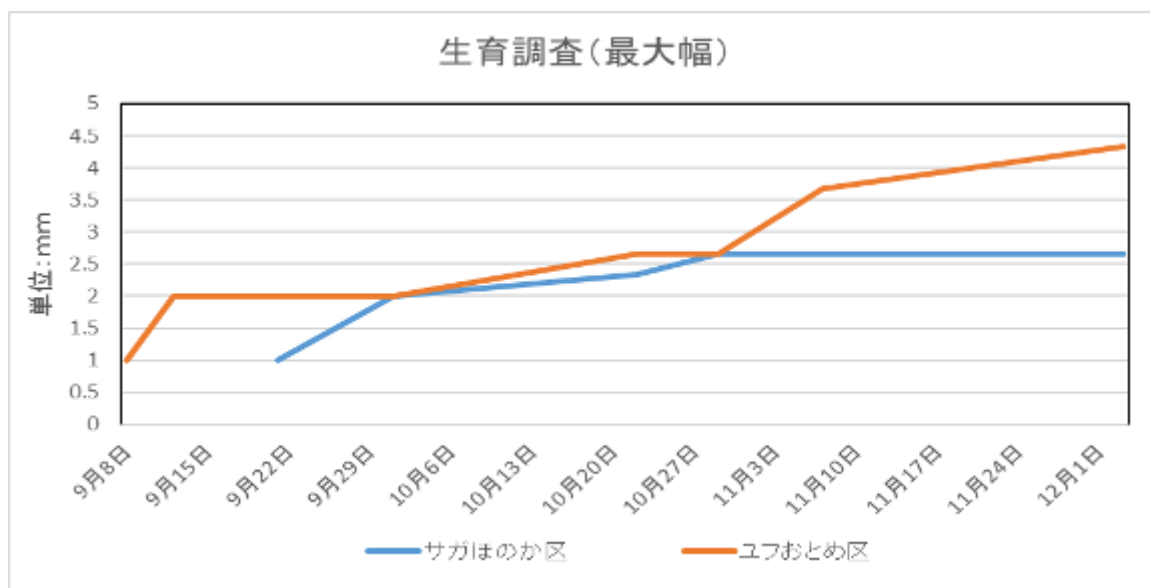
1. はかま・葉を取り除く
2. 葉・二次のランナーを除去する
3. 茎頂付近の毛の除去
4. 葉原基を取り除き、茎頂部を摘出する
5. メス先端の刃幅で大きさを確認してカットする
6. 培地に 1/2 程度埋め込むようにして置床

イ) 生育調査

茎頂培養後より生育調査を週一回程度実施した。その結果、茎頂については両品種とも培養開始後三か月後の生育が良好であり、2.3～2.6 mmとなった。両品種の差はあまりない結果になった。最大幅についてはユフオトメがサガホノカに比べ1 mm程度大きい結果となった。



グラフ 1：草丈生育状況



グラフ 2：生育最大幅

ウ) 生存率調査

6月まで茎頂培養の予備実験を11回程度実施した。7月13日・18日に第一回目の茎頂培養、9月12日に第二回目の茎頂培養を実施した。その結果第一回お目においては培養数40本に対し生存数は8本で成功率は20%であった。第二回目は、ユフオトメ、サガホノカそれぞれ7本培養し、生存数はいずれも4本で成功率は57.1%であった。茎頂培養1本にかかる時間は1回目実験時平均で15分程度であり、2回目は平均で13分程度かかった。枯死の大半は黒カビや白カビなどが試験管内に発生した。

平成30年度担当3年生並びに1年活動実績

ゆふおとめ(イチゴ) 平成30年度 実施状況

2年目以降

月	旬	本校	
		3年	1年
4月	上		
	中	ゆふおとめ培地作成 ゆふおとめ培養練習	オリエンテーション
	下	↓	施設説明・諸注意
5月	上	↓	↓
	中	↓	↓
	下	↓	↓
6月	上	ゆふおとめ順化準備・観察	器具・器材の洗浄方法
	中	↓	↓
	下	↓	↓
7月	上	↓	↓
	中	↓	無菌播種培地作成
	下	↓	無菌播種培地作成
8月	上		
	中		
	下	ゆふおとめ順化・観察	無菌播種培地作成
9月	上	↓	無菌播種培地作成
	中	↓	無菌播種
	下	↓	↓
10月	上	研究論文・スライド作成	↓
	中	↓	↓
	下	↓	無菌播種観察 カーネーション茎頂培養
11月	上	↓	↓
	中	↓	↓
	下	↓	↓
12月	上	↓	ゆふおとめ培地作成
	中	↓	↓
	下		
1月	上		
	中	研究論文・スライド作成	ゆふおとめ培地作成
	下	研究発表・論文提出	↓
2月	上	次年度へ	ゆふおとめ培養練習
	中		↓
	下		↓
3月	上		↓
	中		次年度へ
	下		

4 考察

事前の調査学習により、イチゴの前処理や無菌処理については順調に行えた。しかし、茎頂培養実験結果からもわかるが実験の成功率（生存率）は20%～57.1%と低く、培養の難しさが分かった。原因として考えられることは、一つ目は、イチゴの茎頂部分には非常に沢山の毛が多く茎頂の摘出が難しいこと。二つ目はイチゴの植物体にはタンニンという成分があり、切り口が褐変し、活着が不良になること。三つ目はイチゴの茎頂は非常に小さく素早く作業しないと枯死することなどが考えられる。今回ユフオトメが12個体、サガホノカが2本枯死せず生育をしているが、そのうち1個体のみが6cmの茎長となっている。そのため今回の品種間の茎頂培養による生育の違いについて比較することが出来なかった。

5 まとめ及び今後の課題

平成30年度

- 1.) イチゴの茎頂の摘出は非常に難しく、摘出時間も早くしなければ、成功率が低くなるため事前に多くの時間を費やし練習をした方がよいと思われる。
- 2.) 今回期間が短かったため、茎頂培養後の順化や栽培実験が十分に出来なかったため今後実施する時は、良い実験になると思う。
- 3.) 今回は1種類の培地で実験を行ったが、他の培地を利用し実験すると良いと思う。



茎頂培養の様子



培地作成の様子



今年度成功したユフオトメ



サガホノカ

6 指導担当者より

3年・1年担当：松本 安弘

3学年の課題研究では、「サボテンの生育方法の検討について」「ブドウの茎頂培養に関する研究」「イチゴの茎頂培養における品種の違いによる生育の変化について」について1年間を通し、実験調査、まとめを実施してきた。サボテンの培養については、実験回数を重ねるたびに成功率は向上したが、ブドウ、イチゴに関しては成功率が非常に低い結果となった。

1年生の実習では、器具・機器の使用目的や使用方法、顕微鏡の使用目的や使用方法、培地の作成、無菌播種、器官培養、カルスからの再分化実験など、基礎実験を1年間通して学習してきた。

2年生総合選択については、器具・機器の使用目的や使用方法、顕微鏡の使用目的や使用方法、培地の作成、無菌播種、器官培養、カルスからの再分化実験、ナデシコの茎頂培養を実施した。

全学年を通し、実験を重ねるたびに、操作が早くなったり成功率が向上したりし、生徒の学習の成果が顕著に見られた。また、培養後の観察を通し、生徒が成功したときの達成感を味わうことができたと感じている。今後は継続した実験と新たな培養について実施していきたいと思う。

平成 30 年度

指導者: 教諭 藤川 郁雄

1. 総合実習 2 年生活動実績

日時	授業 (時間)	実習内容	取り組んだ目的や結果
4 月 23 日 (月)	5~6 限	オリエンテーション	実習の内容確認と年間活動内容を伝える。
5 月 21 日 (月)	5~6 限	イチゴの茎頂の観察	イチゴの茎頂がどれくらいの大きさ、形、色を知ることができた。
5 月 28 日 (月)	5~6 限	イチゴの茎頂の観察	イチゴの茎頂がどれくらいの大きさ、形、色を知ることができた。
6 月 11 日 (月)	5~6 限	イチゴの茎頂の観察	イチゴの茎頂がどれくらいの大きさ、形、色を知ることができた。
9 月 10 日	5~6 限	イチゴの茎頂の観察	イチゴの茎頂がどれくらいの大きさ、形、色を知ることができた。
10 月 1 日	5~6 限	DNA をとりだす。	DNA は白い糸状のもので、ねばねばしていることがわかった。
10 月 22 日	5~6 限	DNA をとりだす。	DNA は白い糸状のもので、ねばねばしていることがわかった。
10 月 29 日	5~6 限	DNA をとりだす。	DNA は白い糸状のもので、ねばねばしていることがわかった。
11 月 12 日	5~6 限	DNA をとりだす。	DNA は白い糸状のもので、ねばねばしていることがわかった。
11 月 19 日	5~6 限	MS 培地の作成	基本的な培地の作成方法を学んだ。
12 月 10 日	5~6 限	MS 培地の作成	基本的な培地の作成方法を学んだ。
12 月 17 日	5~6 限	MS 培地の作成	基本的な培地の作成方法を学んだ。

2. 結果

ア イチゴの茎頂の観察

(1) 採穂と穂の調整

5 月から 6 月に発生してくるランナーの先端部を利用し、先端部 3~4 cm を利用する。

(2) 摘出

実体顕微鏡で葉原基 1 枚をつけた 0.3 mm 程度の茎頂を摘出する。茎頂が白いことを確認する。

イ DNA を取り出す。

(1) 抽出液を作成

① コップに食塩を小さじ 1 杯半と食器洗い用洗剤を小さじ 1 杯入れる。

② そこに水 100 cc をいれて、よくかき混ぜる。

(2) ブロッコリーをすりつぶす

③ ブロッコリーのつぼみの部分を削り取る。茶こし 1 杯くらいつくる。

④ ③ のブロッコリーをビニール袋にいれて、冷凍庫に 1~2 時間入れて凍らせる。

⑤ 凍らせたブロッコリーをすり鉢ですり潰す。少しねばりけがでてくるまで行う。

⑥ ② で作った抽出液をすり鉢にいれ、30 分ほどそのままにしておく。

⑦ガラスコップの上に茶こしをおいてブロッコリーを移す。しばらくすると、緑の液がコップにたまる。

(3) DNAをとりだす

⑧エタノール100ccを緑の液の上にわりばしをつたわせながら注ぐ。

⑨そっとしておく、エタノールと緑の液とは間に白い糸状のものがうかんでくる。白い糸状のものがDNAである。

ウ MS培地の作成

(1) MS培地とは

植物の組織培養用に開発された基本培地であり、培地の中で広く利用されている。名前は開発者のムラシゲとスクーグからきており、その頭文字をとってMS培地という。

(2) 器具の洗浄

洗剤で洗浄後、しっかりすすぎを行う。その後、蒸留水で3回すすぎ、乾燥させる。

(3) 培地の作成

MSインスタント培地 1.32g ショ糖 9g 寒天 3g

・準備する物

500ml ビーカー スターラー アルミホイル 鍋 電子レンジ PHメーター
試験管 10メスシリンダー 薬さじ 培地分注器 カセットコンロ
容器(広口フラスコ) 蒸留水 試験管キャップ

・材料

MSインスタント培地 1.32g ショ糖 9g 寒天 3g

・手順

- ① インスタントMS培地を電子天秤で計量する。
- ② ショ糖を電子天秤で計量する。
- ③ 蒸留水をビーカーの3分の2程度入れる。
- ④ ③のビーカーをマグネチックスターラーの上へのせ、攪拌しながら①②で計量した物を入れて溶かす。
- ⑤ ①②が完全に溶けた溶液をメスシリンダーに入れて作成する容量に蒸留水を入れて調節する。
- ⑥ 寒天(アガー)を電子天秤で計量する。
- ⑦ ⑤の溶液を新しいビーカーに移して⑥の寒天を入れる。
- ⑧ 寒天が溶けたら鍋に移して、寒天が透明になり、気泡が鍋の底に付くくらいに熱する。
- ⑨ 熱した溶液を新しいビーカーに移し、ホットスターラーで冷めないようにする。
- ⑩ 分注器で試験管に分注する。
- ⑪ 試験管にふたをしてオートクレイフで121℃、15分滅菌する。
- ⑫ 滅菌後取り出し、冷えて培地が固まれば完了。

3. 指導担当者より

2年担当：藤川 郁雄

2年の総合実習では、イチゴの茎頂の観察をおこなった。9月以降のランナーは、先端部分にある茎頂が花芽分化をしていることが多いので、利用できないため、DNAを取り出す実験を実施した。また、培地の作成をしてなかったので、MS培地の作成をおこなった。生徒はイチゴの茎頂と葉原基の形や色が観察することができた。DNAを取り出す実験を通して、DNAが糸状のもので触るとねばねばしていることがわかった。MS培地の作成を通して、来年度の課題研究の培地作成に役立つと思われる。

活動での使用文献

①バーク堆肥について

日田資源開発事業協同組合（エコバーク）

<http://www.hitasigen.com/index.html>

②病害虫の調査について

黒カビ

<http://www.kabi.jp/kind/cladosporium/>

うどん粉病の治療と対策

<http://yasaitosyokubutsubyoukitaisaku.com/gaityuunosyurui/hadani.html>

うどん粉病写真

<http://www.yasaizukuri.net/kaikaseki/kaikaseki.html>

アブラムシの対策と駆除・退治

<http://yasaitosyokubutsubyoukitaisaku.com/gaityuunosyurui/aburamushi.html>

ハダニの対策と駆除

<http://yasaitosyokubutsubyoukitaisaku.com/gaityuunosyurui/hadani.html>