

微生物学的資源の発掘・探索  
～環境人間キャンパスの植生からの酵母の分離～

有満秀幸、小川春菜、齊藤優季、森友花  
(環境人間学部 食環境栄養課程)

## 【はじめに】

微生物には**細菌、真菌（カビ、酵母）、ウイルス**があります  
（それぞれ、似ているようで大きさや構造の全く異なる生物）

### 【微生物が及ぼす影響】

#### ① 感染症や食中毒（“悪い方”の影響）

細菌　：結核、コレラ、腸管出血性大腸菌（O-157）など  
ウイルス：インフルエンザ、ノロウイルス、新型コロナウイルスなど  
真菌　：皮膚疾患（水虫など）、肺炎など

#### ② 食品製造（“良い方”の影響）

細菌　：ヨーグルト（乳酸菌、ビフィズス菌）、納豆（納豆菌）など  
真菌　：酒、醤油、味噌（麹菌、酵母）など

その他、抗生物質の産生、環境浄化にも関わる微生物もあります

## 【本研究の2つの目的】

### ① 環境人間キャンパスの植生より、有用な酵母を得る (酵母とは？)

- ・ 細菌と似ているが、カビと同じ**“真菌”**と言われる菌の仲間
- ・ あらゆる環境（動植物、土壌、河川などの環境）に生息
- ・ 発酵により**アルコール**と**炭酸ガス**を産生  
**ある種のものはアルコール(酒)、味噌、パンなどの製造に利用**  
→ 新規**“県大ブランド”**の発掘のタネの探索

### ② 学生の研究への早期体験とリサーチマインドの涵養

実習とは異なる**“結果の保証されない”**研究に、3年生の時点で  
“自由研究的に”触れながら卒業研究の考え方を養い、研究の  
面白さを感じてもらう

- ・ 研究計画（調査、実験の計画、時間管理）
- ・ 実験の遂行（微生物取り扱い手技の習得）
- ・ 結果のアウトプット（自ら発表）

## 【方法】

① キャンパス内の植物から実や葉を採取して、YPD培地に接種

### 【YPD培地】

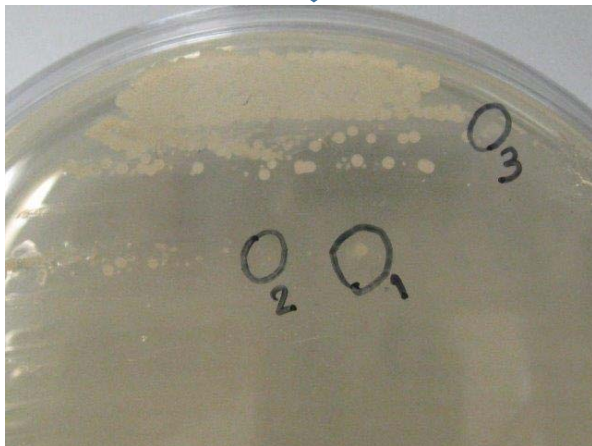
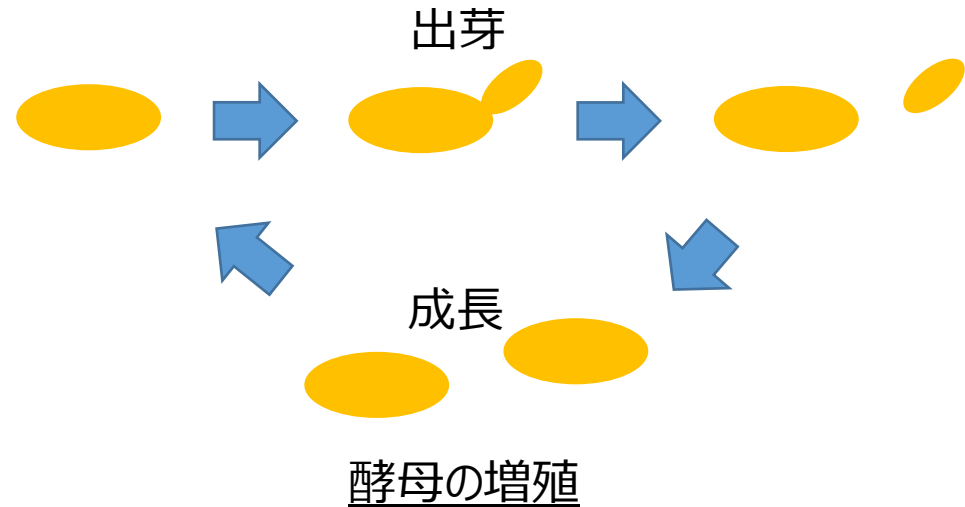
- ・ 酵母エキス、ペプトン、ブドウ糖（栄養源）
- ・ クロラムフェニコール

（一緒に混入する細菌の増殖を抑制する抗生物質）



増殖すると、液体に濁りが出る

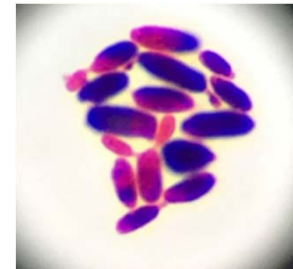
② YPD培地に増殖した菌液をYPD寒天培地に塗り広げ、単一の菌を得る



寒天上で増殖を繰り返して“コロニー”と呼ばれる目に見える塊になる

スライドグラスに塗って染色し、顕微鏡で観察

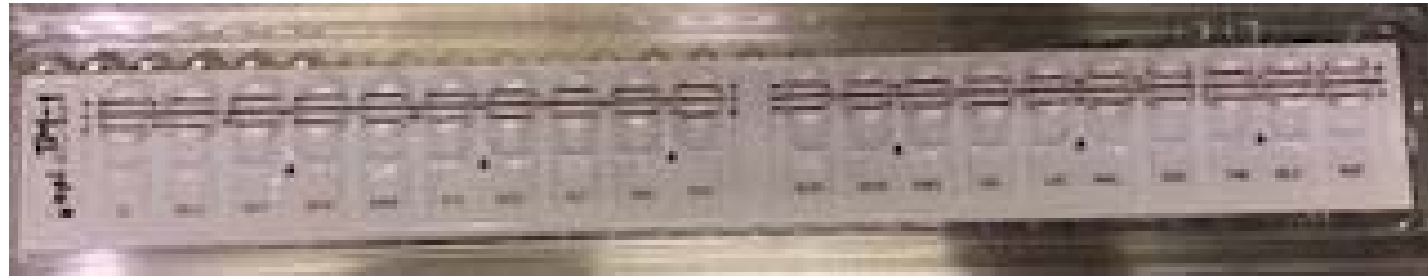
- 大きさ  
(細菌よりかなり大きい)
- 形態  
(濃染部分があるなど細菌とは明らかに異なる)



### ③ 採取した菌株の種類同定

アピCオクサノグラム (メオビリュー・ジャパン社製;47菌種の同定可)

→ 酵母が増殖に利用できる糖が、菌の種類によりパターンが異なることを利用



専用の溶媒に溶いた菌液を、各種糖（19種）の入ったカップの中に入れて培養



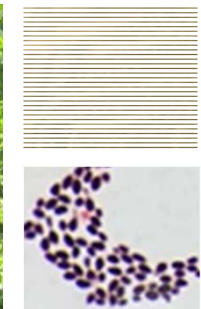
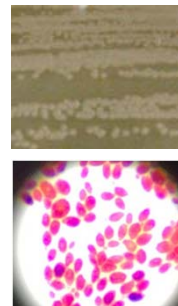
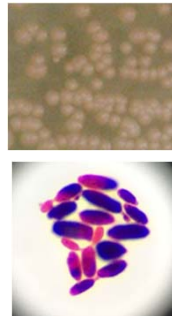
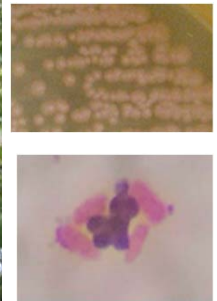
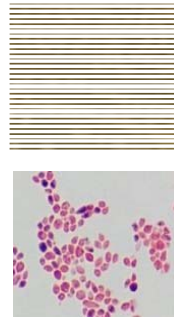
増殖の見られたカップのパターンから数値化し、専用ソフトウェア（アピウェブ）で菌種を判定

# 得られた酵母の結果例

由来植物

コロニーの形態や色調

菌体の染色像 (グラム染色)



## 分離された酵母の同定結果

分離由来植物 (分離数)	可能性の高い菌
アベリア (5)	<i>Candida lusitaniae</i> 4つ <i>Candida thermophila</i> (H/PH - の場合)
カエデ (1)	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>
クワ (3)	<i>Cryptococcus albidus</i> <i>Cryptococcus laurentii</i> <i>Kloeckera</i> spp. (H/PH - の場合)
サルスベリ (1)	<i>Candida lusitaniae</i>
ザクロ (1)	<i>Candida lusitaniae</i> (H/PH - の場合)
アジサイ (2)	<i>Cryptococcus laurentii</i> <i>Cryptococcus albidus</i>

表に“H/PH”の記載があるものは、今回観察をしていない“**仮性菌糸**”と呼ばれるものを作るか否かにより同定結果が変わる結果となったため、可能性の高い方を表示した



# 【学生の取り組み】

3年生の専門ゼミナール（火曜日5限目）、授業や実習の空き時間を利用して、研究実施計画や方法を検討・立案



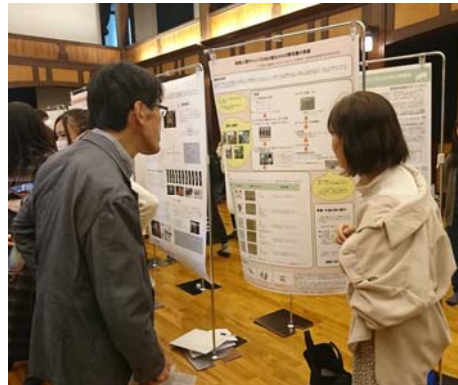
材料採取と実験を行い、解析結果から、菌種の同定



環境人間学フォーラムで発表するためのポスター作成



発表



**環境人間キャンパス内の植生からの酵母菌の単離**  
小川春菜, 齊藤優季, 森友花, 上谷さき, 有満秀幸 (食環境栄養課程 微生物研究室)

**背景及び目的**  
酵母は味噌や醤油などの発酵食品の他、醸造、パンの製造等に広く用いられている。自然界のあらゆる環境に存在し、植物からも採取可能である。ここでは専門ゼミの中で、環境人間キャンパス内の植生からの酵母菌の採取に取り組みたい。将来的にはパンやアルコール製造などの発酵で利用可能な酵母菌を単離することを目的としているので、現在まで行った取り組み結果を紹介する。

**方法**

- ① YPD液体培地の作製  
酵母エキス 1%  
ポリペプトン 2%  
グルコース 2%  
クロラムフェニコール100 µg/mL
- ② YPD培地に植物片を入れ、30℃で培養  
液体培地の中で培養し、増殖後の濁りを確認した。
- ③ YPD寒天培地 (①に寒天を1.5%加えたもの)に②の培養液を塗布
- ④ 30℃で培養 (1日)
- ⑤ グラム染色で形態観察
- ⑥ 純培養  
酵母培養基と確認されたコロニーをピックアップし、YPD寒天培地に塗布した。
- ⑦ 30℃で培養
- ⑧ 酵母菌種の同定  
アビオウェブプログラムを使用 (ビオメテュー・ジャパン株式会社製。同定可能菌種数47種) アビオウェブで酵母菌を同定した。

**採取した植物**  
カエデ, アベリア, クリ, サルスベリ, ザクロ

**結果**  
グラム染色の結果、これら5つのコロニーはすべて酵母菌であることが分かった。コロニーの様子と同定結果は以下の表に示す。

植物名	グラム染色	培養したコロニー	同定結果
サルスベリ	(紫) 円形 (色) 白色	(紫) 円形 (色) 白色	Candida lusitanae 99.9% (H/PH +) Candida lusitanae 99.9% (H/PH -)
クリ	(紫) 星形に伸びて広がったものもあり (色) 赤褐色	(紫) 星形に伸びて広がったものもあり (色) 赤褐色	Cryptosporidium albidus 99.9% (H/PH +) Cryptosporidium albidus 99.9% (H/PH -)
ザクロ	(紫) 厚みも小さい (色) 白色	(紫) 厚みも小さい (色) 白色 増殖が薄くなった	Candida tropicalis 72.2% (H/PH +) Candida lusitanae 62.4% (H/PH -)
アベリア	(紫) 円形 (色) 白色	(紫) 円形 (色) 白色	Candida lusitanae 99.9% (H/PH +) Candida lusitanae 99.9% (H/PH -)
カエデ	(紫) 円形 (色) 赤褐色	(紫) 円形 (色) 赤褐色	Rhodotorula medagastri(?) (H/PH +) Rhodotorula medagastri(?) (H/PH -)

植物菌糸 (H/PH) の有無で判定している。(%) はこのキットの正確性を示している。

**考察・今後の取り組み**  
現在分離されている酵母菌はどれも発酵での利用に適さないものばかりである。  
●今後の取り組みとして  
●今回採取した植物以外からの酵母の採取  
●発酵食品に適した酵母の単離のためのプロビオテノロジーの導入  
●有用酵母菌が持つ菌種の追加を検討したい。  
引き続き、目的に合う酵母菌の採取を目指していきたい。  
**頑張ります!!**

**ふりかえり 関連するスキル**  
現時点では期待された結果を得ることができていないが、実験を進めていくうえで、試行錯誤を繰り返す必要があることを学んでいる。  
失敗することで新たな疑問が生まれることもあり、それを解決するために先ず行動を始めたが、自分たちでも調べることが出来るようになってきている。  
本取り組みは公益財団法人京産大学科学技術後援財団の助成を受け、また学部特色化プロジェクト事業の一環として実施しています。

## 【まとめ】

- キャンパス内の植生から複数種の酵母が得られたが、現在食分野に応用できそうな種の物は得られていない
- しかしながら参加学生はこの過程で、実験計画、実施、解析、発表の一連の過程を実践的に経験することにより、成果を出して人にわかりやすく伝える難しさを感じてもらおうとともに、卒業研究に対する意識付けができたのではないかと考える



今後も3年生の研究への導入教育としながら、有用酵母を得る取り組みを継続していきたい

〔本課題は環境人間学部特色化プロジェクト「多様性・学際的視点からの地域支援とその知財化～くらし×らしさのデザインプロジェクト～」の一環としても参加しています〕