

20. 植物に生息する天然酵母の種類とその特性

学校法人 静岡理科大学 静岡北高等学校 科学部酵母②班

1 動機・研究目的

私達は、周囲に多くの菌類がいるにもかかわらず身近な植物から抽出した天然酵母を含め、利用されている酵母菌が現在 [*Saccharomyces cerevisiae*] 1 種とされていることを知り、利用している酵母は何種にもわたっているのではないかという疑問を持った。このため植物上に微生物がどのような群集を作っているかを明らかにすることを目的とした。



Saccharomyces cerevisiae

2 実験・観察方法

本研究で使用した酵母は下記の 19 種類の植物から抽出して、培養した。

リンゴ、ブドウ（デラウェア）、ブルーベリー、スイカ、イチジク、ナシ、モモ、茶、レモン、スルガエレガント（柑橘類：ナツミカン）、ナツミカン（柑橘類）、ボンカン（柑橘類）、デコポン（柑橘類）、ミカン（柑橘類）、ピーマン、ナス、キュウリ、トマト、カボチャ
〔植物から酵母を抽出する方法〕

煮沸消毒したビンに市販の蒸留水と、洗浄して切った植物を入れ、数日間直射日光の当たらないところで保管した。植物は、葉・果実など部位、産地の違いによってそれぞれ別々に抽出し、発酵させた。

糖度による違いを調べるために 1 部の果物、野菜は糖度も測った。植物をビンの中に入れてから、3～5 日後、寒天培地(完全培地：YPD) にビンの中の発酵した液を塗り、30℃に調節したインキュベーターの中で培養した。培養後、コロニーの一部をかきとり、プレパラートを作り、酵母等の微生物の主に形態の観察をおこなった。

観察は、特に下記の 4 つの観点①～④に注目しておこなった。

- ① 植物の種類や品種による違い
- ② 植物の部位による違い（使用部位；葉・実）
- ③ 同じ品種内での地域の違い
- ④ 果実の糖度による違い

また、植物（リンゴ、ブドウ、ミカン）から抽出した天然酵母を利用し発酵食品に使用できるかを検証した。対照実験として、通常のワッフルの発酵に使用されるドライイーストを使いワッフルを作った。

3 結果

19 種類の植物に付着していた微生物は図 3 でみられるように形態によって 4 タイプに分けられた。この 4 タイプの形態的特徴は、下記の A～D のようになっていた。

A：核を持った丸い単細胞の真核生物。出芽しているところが観察されている。出芽酵母と考えられる。大きさ約 5 μm

B：核を持った楕円形の単細胞の真核生物。細胞分裂している様子が観察され、分裂酵母と考えられる。大きさ約 5～8 μm

C：非常に細長い細胞。枝分かれしているものがあり、菌糸と思われる。

D:1 μm ほどの小さな細胞である。核はなく細菌と考えられる。

以上、大きく4タイプの微生物に分けられたが、それぞれのグループ内でも形態の違いがみられるものがあり、今後異なる種に分類される可能性がある。

コロニーの型は、その特徴から6つの型に分けることができた。(図4参照)植物を発酵させた発酵液を寒天培地にうつして培養すると、微生物の形成するコロニーが得られる。醗酵液中に多くの種類の微生物が共存していると思われるが、できるコロニーの形態は、1種類の型の場合が多い。そして、培地内に生息する微生物は、図1で示したA~Dタイプまでの様々な微生物がみられ、コロニーの形態からは、また、培地内にみられるコロニーも1種類のことが多いが、1つのコロニーの中で微生物の種類や組み合わせを特定できなかった。

図1 微生物の形態によるタイプ

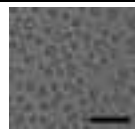
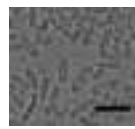
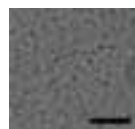
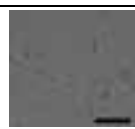
タイプ	微生物の特徴	
A		出芽酵母 丸い
B		分裂酵母 楕円形
C		菌糸
D		細菌 [スケール10 μm]

図2 特徴から分けられるコロニーの型

	コロニーの特徴	
1型		表面上に特徴的なしわがある：表面がしわ状になっており、丸いコロニーがひろがっている。表面が少し乾燥しているように見える。
2型		丸型：円形のコロニー。中央が盛り上がるように高くなっている。
3型		ハナ型：花形のコロニー。2型と似ているが、違いは、ふちがギザギザになっており全体的に花形になっている。
4型		広がっている丸いコロニーがひろがってコロニー同士が接している。1型と似ているが、非常に水分が多い。
5型		薄い：コロニーの厚みが非常に薄く、透き通っている。丸く小さいコロニーである。
6型		薄い・丸い薄く透き通ったコロニーと、丸いコロニーが重なっている。2型と5型が共に存在しているように見える。

① 植物の種類・品種間の微生物群集とコロニーの形態

植物の種類、品種の違いで、付着している微生物に違いがみられるかを調べた結果は、図3のようになった。また、リンゴとスルガエレガントは同じ産地である場合、培地で微生物を培養させた時、コロニーの形態は変わらなかった。植物の種類では、コロニーは12種類中、7種類、ほぼ半数が円型の2型であった。これら円型のコロニーであっても、植物によって微生物群集を構成している生物種は、酵母・菌類・細菌類と少しずつ異なっていた。また、同じ型のコロニーでも、コロニーを形成する微生物の種類が明らかに異なっているものがあった。

② 植物の部位の違いによる微生物物群集とコロニーの形態。(使用した部位；葉・実)

植物の部位によって生息する微生物に違いがあるかを調べた(図4)。植物の葉と実では、図4で見られるように、ブルーベリーは、コロニーも微生物群集も、実と葉共に同じ型、タイプであったが、それ以外の植物は、コロニーの型も微生物群集も実と葉では異なっていた。このことから、多くの植物では部位によって、生息している微生物群集の種構成、コロニーの形態共に異なっている

と考えられる。

- ③ 異なる地域に産する同種の植物上の微生物群集とコロニーの形態。

異なる地域に生息した同じ種類の植物では、付着する微生物に違いがあるかを調べた。長野県産のスイカについては発酵液を使い寒天培地において微生物を培養しようとしたが、コロニーを形成せず培養できなかった。産地が異なる同種の植物を見ていると、同じ部位に生息する微生物が作るコロニーの型、微生物の群集共に異なっていた。

図3 12種類の植物にみられた微生物とコロニーの型

植物	リンゴ	茶	レモン	スルガエレガント
コロニー	2 型	5 型	2 型	2 型
微生物	A・B	C・D	A・B	A・B
植物	デコボン	ナツミカン	ボンカン	ブドウ
コロニー	2 型	1 型	3 型	2 型
微生物	D	B・C	B・C	A・B
植物	スイカ	ミカン	イチジク	ブルーベリー(実)
コロニー	2 型	1 型	1 型	2 型
微生物	A・B	A・B・C	B	A・C

図4 植物の部位の違いでみられた微生物とコロニーの型

植物(産地)	ミカン(佐賀県) (ハウスミカン)	ミカン(静岡県) (ハウスミカン)	スイカ(山形県)	スイカ(長野県)
コロニー	4 型	1 型	2 型	できなかった
微生物	A	A	A	
植物(産地)	ナシ(静岡県)	ナシ(茨城県)	ブドウ(山形県)	ブドウ(山梨県)
コロニー	1 型	6 型	4 型	4 型
微生物	A・B	A・D	A	A

図5 産地が異なる植物に生息する微生物とコロニーの型

植物(部位)	イチジク(実)	イチジク(葉)	ブドウ(実)	ブドウ(葉)	スイカ(実)	スイカ(葉)
コロニー	1 型	6 型	1 型	3 型	2 型	5 型
微生物	A・B・C・D	C・D	B・D	A・B	D	A・D
植物(部位)	リンゴ(実)	リンゴ(葉)	ブルーベリー(実)	ブルーベリー(葉)		
コロニー	2 型	1 型	2 型	2 型		
微生物	A・B	A	B	D		

- ③ 糖度の違いと微生物群集とコロニーの形態。

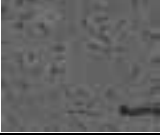
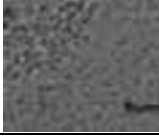
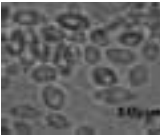
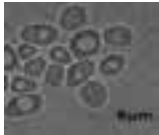
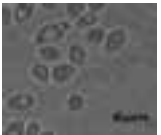
①～③の結果より私たちは、地域差や部位による違いのほかに、糖度による違いもあるのでないかと考え、糖度の低い野菜も加え果物と共に調べてみた。

糖度が異なる植物で調べると、糖度が高い植物には酵母が多く見られ、糖度が低い植物には酵母が見られず細菌や菌糸が多く見られた。しかしカボチャは糖度が高いのに酵母が見られず、細菌が多く見られた。

＊ 天然酵母が発酵食品に使用できるか、検証を行った。

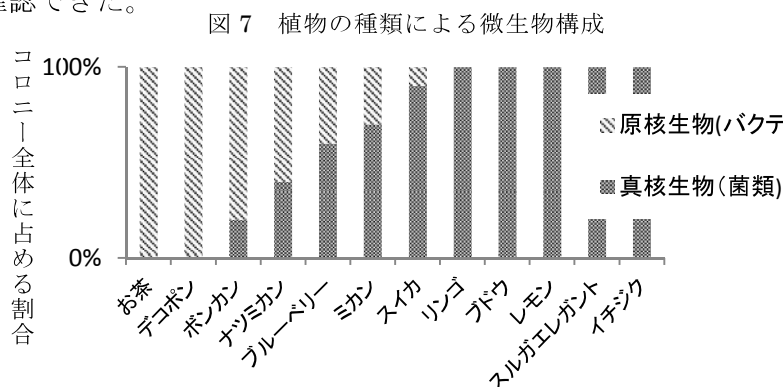
リンゴ・ミカン・ブドウから作った酵母液を使ってワッフルを作り、それぞれの発酵速度の違いや味の違いについて調べた。乾燥酵母は、普通のワッフルと抽出した天然酵母で作ったワッフルとの違いを比べるため用いた。その結果、種類の違う果物から抽出した酵母で作ったワッフルは味や

風味、色なども少しずつ違い、使った果物の風味がした。甘味も糖度計で測ってはいないが天然酵母の方が甘いと感じた。また、ミカンから抽出した酵母のワッフルは、ミカン独特の風味がありおいしいと評判で色、味、風味共に普通のワッフルとは異なり、商品化への可能性があると考えた。

野菜	キュウリ	トマト	ナス	ピーマン	カボチャ
コロニー	4型	4型	4型	4型	5型
微生物	C・D 	D 	D 	D 	D 
糖度(%)	3.3~3.4	4.7~4.8	5.0~5.1	6.1~6.2	16
果物	ナシ	リンゴ	モモ	ブドウ	図 6 糖度が異なる植物に生息する微生物とコロニーの型 [スケール：コロニー1cm 微生物 6~10 μm]
コロニー	2型	6型	6型	2型	
微生物	A・C 	A・D 	A 	A 	
糖度(%)	10.9~11.0	11	15.0~15.1	20.7~20.8	

4. 考察

果物等植物の表面に生息する微生物の種類を調べた結果、4タイプに大きく分けることができた。そして①から植物の種類によって生息する微生物の種類や、生物群集の構成が異なるということが確認できた。



また、植物の部位の違いによる微生物群集とコロニーの形態を観察結果から、同じ種の植物であっても、植物体の部位や生息地域によって、形成するコロニーの形態、群集を構成する微生物にも違いが見られた。

これらから、植物に生息する微生物の種類は同じだが微生物群集としてみたとき、構成する組み合わせが異なるということがそれぞれの地域によっても、種類によっても、また、部位によっても違いがあり、酵母をはじめとして、微生物にも生息する植物上で酵母や、様々な細菌、菌類などの微生物の多様性があるということがわかった。

同じ種類の植物に生息する微生物は、産地が同じであると、ほとんど同じ型のコロニーを形成している。そして、産地が異なると、コロニー・生息する微生物共に異なっていた。これは、各産地の気候条件が異なっている事が大きく影響しているのではないかと考えた。

また、リンゴの実と葉などでは、同じ種類の微生物でも、条件が異なると形成するコロニーの形態(型)に変化が見られた。そして、同じ植物でも、部位が異なると、多くの場合コロニーの形態・

生息する微生物の構成が異なっていた。これは、栄養等の条件の違いによるものではないかと推測した。

糖度の実験では、果物の糖度は高く、果物から抽出した微生物には酵母が多くみられた。また、野菜からとった微生物は野菜の糖度の低いものも、高いものも共に酵母を確認することはできなかった。その結果から野菜には酵母を阻害する阻害物質があると考えた。調べてみると、糖化の際副産物として生じる発酵阻害物質バニリン等が酵母の働きを阻害することがあるのが分かった。このため、バニリン等の酵母の阻害物質が野菜には多く含まれているのではないかと考えた。

また、果物には糖類を含め、酵母が生きていくために必要な物質が存在し、野菜には酵母が生きていくために必要な物質が欠乏している可能性もあるのではないかと考えられる。

5. 今後の展望

植物には、多くの微生物が生息し微生物群集を形成し豊かな多様性を有しているということが分かってきた。しかし、様々な植物上に生息している微生物は、形態が非常に似ているため、種名がよくわからない、という大きな問題があった。今後は、微生物の種の特定をしていきたい。

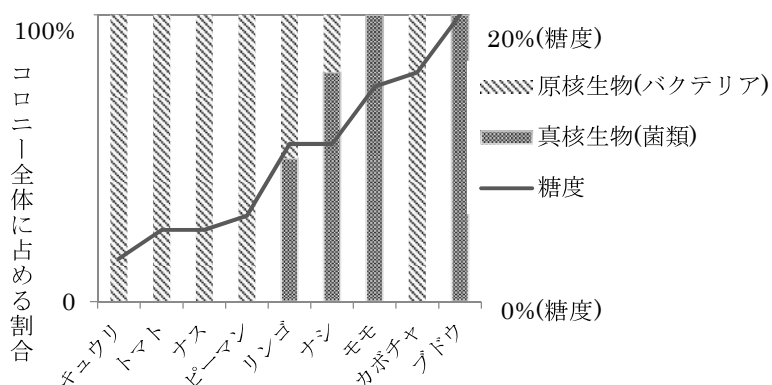


図8 植物の糖度による微生物構成

また、私たちは酵母の働きを阻害するバニリン等の物質があり、植物によって存在している可能性があることが分かった。このため今後、各植物に阻害物質が含まれているかを調べ、それらの植物に酵母が存在しているか植物と菌類の関係を調べていく必要があると考えられる。

謝辞

研究にあたり、静岡大学理学部生物学科の丑丸教授から多大なご協力とアドバイスをいただいたことに感謝いたします。

参考文献

- (1) 菌類の辞典 (2014) 日本菌学会編 朝倉書店
- (2) 酵母のすべて (2007) 大隅良典、下田親 シュプリンガー・ジャパン
- (3) 微生物の世界 (2006) 宮道慎二 他 筑波出版会
- (4) 大矢 貞一 木質系バイオマスに由来する阻害物質の標的固定 (2013)
- (5) www.naro.affrc.go.jp/org/nfri/yakudachi/.../091207_2_10.pdf (2014 11.12)
- (6) toshitsuseigen.com/.../the-list-of-the-percentage-of-carbohydrate... (2014 11.12)
- (7) www.yasainavi.com/eiyou/eiyouhyou/level=1 (2014 11.12)
- (8) <http://vegetable.alic.go.jp/eiyou/eiyou30.htm> (2014 11.12)
- (9) <http://www.akita-pu.ac.jp/bioresource/dbt/BREW/acquaintance.html> (2014 11.22)
- (10) <http://xn--kc7a.com/ichiran/seibun.html> (2014 11.22)
- (11) <http://www.human-sb.com/tryptophan/food.html> (2014 11.22)
- (12) http://www2.memenet.or.jp/yukine/mokumoku/bread/bread_tubo.html (2014 11.22)