

令和2年度筑波大学山岳科学センター機能強化推進費（重点研究・個別調査研究）報告書

1. 課題名 : 山国信州東信地域の発酵食品生産のための有用微生物菌株コレクションの確立

2. 代表者名 : 出川洋介 所属・職名 : MSC菅平高原実験所・准教授

3. 参画者名 : 出川洋介 所属・職名 : MSC菅平高原実験所・准教授
: 高島勇介 所属・職名 : 日本学術振興会・PD特別研究員
: 参輪佳奈 所属・職名 : 生命環境科学研究科・M2
: 細野天智 所属・職名 : 生命環境科学研究科・M2
: 吉橋佑馬 所属・職名 : 生命環境科学研究科・M2

4. 研究・事業の目的

1. 長野県下東信地域の山岳環境や山岳に囲まれた盆地環境において生産されている様々な発酵食品や、山岳の自然環境下に生息する有用微生物の分離培養、同定を行い、培養株のコレクションを作成して地域の山業振興のための基盤となる資産を作ること。
2. 本学大学院生の参画によるアウトリーチ活動の推進、授業への反映、市民講座による社会還元と連携することでMSCとしての教育活動の推進をすること。

5. 研究・事業の成果の概要

1. 山業振興基盤の資産作り
菅平発酵関連菌株コレクション (SFC: Sugadaira Fermentatin fungal Collection) として本年度、計155菌株の真菌を収集した。内訳は、酵母が55株、糸状菌のうちケカビ門（接合菌類）が73株、子囊菌門に属す不完全世代の糸状菌が27株であった。得られた菌株について2名を雇用し、凍結保存作業、データベース整備を進めた。

1) 発酵食品からの分離菌株: 全菌株のうち、約70株弱は、長野県下の発酵食品（主に味噌やその他）関連基質から分離されたものである。一部は、2020年2月に山岳科学学位プログラム 奥西宏太氏によりまとめられた修士論文「信州の味噌蔵で発酵熟成される「味噌玉」に関わる真菌相の解明および真菌類を活用した大豆発酵食品の開発」において分離同定された菌株を含んでいる。大豆を蒸煮したのちに円筒形や直方体もしくは球状に固めて、塩や麴を加えて味噌を仕込む前に一定期間放置するものを「味噌玉」と称するが、長野県では、春季（3～6月）に、味噌玉を作り、味噌蔵内の棚に1～2週間ほど静置してカビの発生を促す。高山村での情報によれば、かつて養蚕に用いた棚に置く例や、居間に並べたという例もあったという。放置期間中に、様々な菌類が発生するが、奥西（2020）によりその優占種はケカビ門のケカビ属と子囊菌門のアオカビ属であることが把握された。本事業により県下4社の味噌業者において生産された味噌玉から分離されたこれらの菌株も奥西氏の再確認作業を経て凍結保存することができた。

本研究事業を進める途上、俳人小林一茶が江戸時代文化年間に「秋風や軒さえあれば味噌の玉（文化五六句記）」という句を残していることに気付いた。当時、一茶が江戸と信州柏原の生家を行き来する途上でこの句を詠んだと考えられる。ここで「秋風や」とあるように、味噌玉を仕込んだ時期が秋で、それが軒から吊るされていたという2つの点は注目に値する。木曾郡、松本市、須坂市、高山村における味噌玉はいずれも静置型で、また仕込みの時期も春である。近現代の長野県下での味噌仕込みにおいて、秋に、吊るし型の味噌玉を作るという記録は確認できず、味噌仕込みのスタイルが江戸時代以後のどの時点かで大きく変革した可能性がある。他方、北下半島など青森県では現在も吊るし型の味噌玉生産がおこなわれており（八戸工業大学 星野氏私信）、韓国における類似品「メジュ」の生産も寒冷期に吊るし型で実施されている。長野県における味噌玉生産については、今後、本事業のような微生物学的調査に加えて、聞き込みや文献による歴史や文化などの人文科学的側面からの調査も併せて進められると興味深い。

2) 自然環境からの分離菌株: 全菌株のうち、約80株は、長野県下の山岳および盆地等の自然環境下、半自然環境下から採集したサンプルより分離培養したものである。

- ・ **酵母**: 約30株の酵母の菌株は、菅平高原を中心としてフィールドや果樹園などから採集した種々の植物の果実より分離した。まず、これらの果実を3%ショ糖水溶液に浸漬し、25mlもしくは50mlのガラス瓶に入れて密閉し、数日間室温でインキュベートして、いわゆる“天然酵母種（天然サワー種もしくは天然発酵種とも）”を誘導した。近年インターネットの普及等により家庭でも天然酵母種を作成してパンを作るなどして楽しむ人が増えている。このような天然酵母種の中には、種々の酵母や細菌、一部の糸状菌などの微生物が混群をなしているが、本事業では、この中から複数の酵母の純粋培養菌株を確立した。発酵能の検証と実用的応用については別途、検討中であるが、高い発酵能を持ち官能試験で高評価を得れば、発酵食品生産に利用可能な有用菌株として企業等に提供する予定である。
- ・ **腸内外生菌類・ケカビ類**: 約10株程度の酵母や糸状菌は、クサカゲロウ目、バッタ目、コガネムシ目などをはじめとした様々な昆虫など小動物の消化管より分離されたものである。このようにして小動物の消化管より得られるケカビ門、トリモチカビ門の糸状菌には、嫌気条件下で酵母状増殖を示すものがあり、消化管の内外で、糸状菌と酵母

の二相をとるという特性を持ち、産業上の有用性が想定されることから、本事業では、主にケカビ門のケカビ属を収集した。2020年9月、10月に実施された筑波大学新技術発表会、産学連携シンポジウムにおいて、このような菌群について紹介をしたところ、数社の企業より問い合わせを受け、現在、サプリメントなどを生産している一社と共同研究を進める準備をしている。

・クモノスカビ：約20株はケカビ門のクモノスカビ属のコレクションである。クモノスカビ属の中でも特に高温適性を示す *Rhizopus microsporus*, *R. oryzae* は、インドネシアなど東南アジアにおいて、テンペという大豆の発酵食品の生産に用いられる有用菌である。テンペには、リノール酸などの不飽和脂肪酸が多く含まれる他、様々な大豆の栄養価を高める発酵食品として大きな注目を集めてきた。これは、自然界の多様な基質から分離され、一部は前述の味噌玉からも分離された。しかし、安定してこれらの菌が得られる微小生息地が明確にはわかっていなかったのだが、今回、茅葺民家の古い屋根から高頻度に分離されることが判明した。長野県上田市菅平高原自然館の水車小屋、塩田平の安楽寺、中禅寺、千曲市の智識寺の本堂などの茅葺屋根、さらに千曲市の森將軍塚古墳、立科町の大庭古墳などの復元竪穴式住居の茅葺屋根、さらにMSC重点課題と共同で一部、茨城県石岡市の茅葺民家でも調査を実施した。この結果、これらのサンプルのうち8割からクモノスカビを得た。茅葺屋根は直射日光に晒されるため局所的に高温に達し、極端な乾湿を繰り返すなど特殊な物理環境にある立地と考えられ、これらが、高温性クモノスカビを選択的に集積する要因となっている可能性があるが、詳細な検討が必要である。野外から得た菌株は、内生細菌の有無を確認すれば安全に食品生産に利用できるため、今後、集中的にクモノスカビをスクリーニングするための指針が確立できた。本事業の調査より、前述の吊るし型の味噌玉は、茅葺民家などで一定期間味噌玉を軒先に吊るしていたものだと考えると、屋根由来のクモノスカビが関与していた可能性もあると新たに着想されたが、今後、検証を進めたい。

2. 教育活動の推進：本事業の推進には、大学院生が多いに貢献した。各々の専門とする分類群の研究と平行して、天然からの有用菌株のスクリーニング技術も習熟してもらうことで、アウトリーチ活動とすると同時に、社会還元ができる手腕を身に付けてもらうという目的が達成された。また、本事業の成果は、山岳科学学位プログラムの授業、および、市民講座に活用し、教育的、社会的に還元することができた。個々の成果については次項に述べる。

5. 研究業績・事業実績

【修士論文】山口絢平(2021). 菌類学習授業の実践と改善 ―発酵食品による教材開発を通して― 筑波大学大学院教育研究科理科教育コース令和2年度修士論文(主査:戒能洋一、副査:山本容子、出川洋介)

【学術論文】岩瀧大樹・出川洋介・山口絢平・小島司. 群馬県における地域リソースを活用した「食育」の実践事例―「手前味噌づくり」から家庭での「発酵食品への意識」を把握する―. 教職研究第36号(2021年3月, 投稿中)

【授業】山岳科学学位プログラム「山岳微生物学」(2021年2月24・25日、菅平高原実験所にて対面式で実施)の授業にて、本研究成果の一部を適用。山辺こうじ店(上田市国分)にて6代目の店主山辺哲雄氏(筑波大学体育0B)から説明頂き、山辺氏のご指導で、実習期間中に、菅平高原実験所大明神寮にて、東信地方独特のスタイルによる味噌仕込み実習を実施した。これは、蒸煮した大豆で輪っかを作り、その中に麴と塩を入れ、よく混ぜたのちに球形に固めて、2手に分かれ、半分ずつを交代、を3回繰り返して塩分濃度を均一にするという手法である。このほか、本事業で得られたクモノスカビ菌株を用いたテンペの生産、甘酒作りなども実施。呉羽先生、山下先生による上田市まちなかキャンパスでの講座「上田市ってどんな地域?」を視聴ののち、上田市柳町の発酵食品店舗などの見学を行った。

【社会貢献事業】2019年度に実施した上田市まちなかキャンパスの市民講座「発酵食品の世界」を2020年度も予定していたが、コロナ禍のために全面中止となった。2021年度の社会貢献プロジェクトとして筑波大学公開講座の申請を行い、採択を受けたことから、次年度に本事業の成果を踏まえた市民講座を実施する予定である。

【その他地域連携、産学共同等の山活用的成果】

・山岳科学学位プログラム一期生の奥西宏太氏が、修士論文研究課題において、調査をさせて頂いていた須坂市の「塩屋醸造」に2021年3月より就職した。今後、本事業の成果も活かした味噌および新規大豆発酵食品の共同開発に取り組む予定である。

・上田市発酵文化ネットワークへの参加、地元企業との本事業による分離菌株を用いた発酵食品生産に関する提携に向けた協議を開始(Mother bio、日なた堂など)。

・信州大学名誉教授金勝廉介先生より池田町でのテンペ味噌生産情報を伺い、調査を予定したが、コロナ禍で現地調査は中止となり、サンプルの入手のみを実施。

・長野大学環境ツーリズム学部 古田睦美氏(上田東信地域の振興)、上田市教育委員会 古平明尚氏(発酵食品の普及)、長野県農業試験場 吉田太郎氏(大豆の有機栽培等)、群馬県立自然史博物館 姉崎智子氏(発酵食品文化の普及発信)、農研機構動物衛生研究所 花房泰子氏(酵母の系統解析)、北里大学大村記念研究所微生物資源研究センター 野中健一氏(薬理活性スクリーニングへの菌株提供)、群馬大学教育学部・立教大学文学部学校社会教育講座 岩瀧大樹氏(発酵食品の食育)、八戸工業大学 星野保氏(味噌玉の菌類相)らとは、今後も共同研究を継続し、共同で外部資金の獲得に努めるなどしていく予定である。

