

イナワラのダイレクトアルコール発酵によるバイオエタノール生産技術の開発

大阪府立園芸高等学校 バイオ研究部 桑田瑞穂

研究の背景と目標

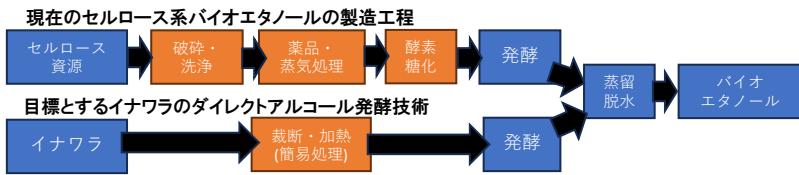


図1. 目標とするイナワラのダイレクトアルコール発酵技術

- ①イナワラから還元糖が直接溶出する現象について糖の起源や溶出の条件について明らかにする。
- ②イナワラから直接得られる糖をバイオマス資源として利用し、コストのかからないバイオエタノールを生産する技術を開発する。

実験1 イナワラ中の還元糖の分布

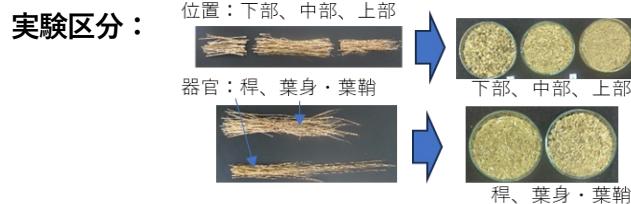


図2. 実験に使用したイナワラ各部と調整した状態

方法：イナワラの部位を各区分ごと5mm切片とし、各区分4gの切片をフラスコ内に入れ60mlの水を加えた。オートクレーブ121°Cで15分加熱し、ソモギーネルン法で還元糖量を測定した。

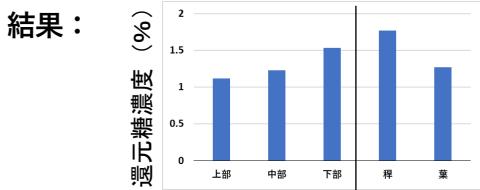


図3. イナワラ各部の溶出還元糖の比較

イナワラの位置別では下部から多くの糖が得られた(図3)。器官別では稈部からとても多くの糖が得られた。顕微鏡写真では、稈の下部を見ると糖の粒のようなものが確認できた(写真1)。

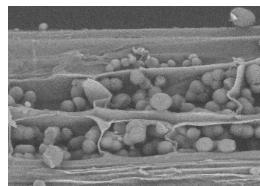


写真1. 走査型電子顕微鏡で観察したイナワラ稈の組織内部

実験2 イナワラからの還元糖の溶出条件

実験区分：イナワラ切片：粉体、5mm長、20mm長
 加熱時間：無加熱、15min、1hour、3hour

方法：イナワラを所定の長さに切り、水を加えてオートクレーブで所定時間加熱した。糖度測定はソモギーネルン法を用いた。

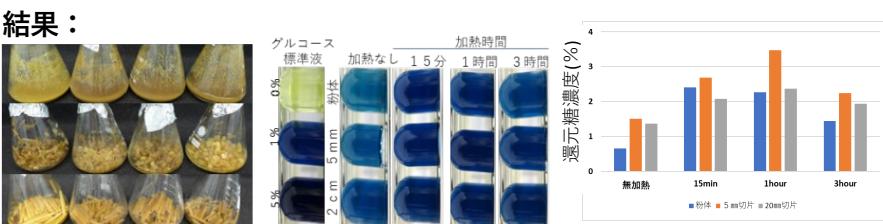


図4. イナワラ各部の溶出還元糖量の比較

実験3 イナワラ糖液のpHおよびEC(電気伝導度)の測定

実験区分：イナワラ位置：上部、中部、下部
 イナワラ切片：粉体、5mm長、20mm長

方法：各部位、大きさの切片を120°C、15分オートクレーブで加熱しpH、ECを測定した。

結果：pH・・5.3~5.7 EC・・3.0~4.0でありアルコール発酵の条件として適切であると判断した

実験4 イナワラ糖液のアルコール発酵試験

実験区分：糖質抽出源：稈部、葉身・葉鞘部

方法：イナワラ糖液に酵母菌体を添加し、30°Cで1日発酵させた。発酵液中のアルコール濃度をガスクロマトグラフィーで測定した。



図5. イナワラ糖液の酵母発酵で得られたアルコール濃度

実験5 イナワラダイレクトアルコール発酵実証実験

実験条件 表1. 実証実験の実施条件

実験	ワラ量	前処理		糖溶解	アルコール発酵	
		裁断	水和		酵母量	温度・時間
1回目	250g	10cm長	ミキサー 水5L	煮沸30min	150mL菌液 (50mL菌液X3)	30°C、2日間
2回目	1200g (下部のみ)	3~5cm長	一晚浸漬 水15L	オートクレーブ 60min	750mL菌液 (50mL菌液)	30°C、9日間

方法：ワラの量、前処理、糖溶解、アルコール発酵の条件を調整し2回行った。



写真5. 2回目の実証試験の各段階の様子

結果：表2. 実証実験で得られたバイオエタノール

実験	発酵前糖液		発酵後糖液		蒸留後	
	液量(L)	糖濃度(%)	アルコール濃度(%)	アルコール濃度(%)	アルコール量(mL)	
1回目	4.0	1.51	2.5	35.7	0.13	
2回目	11.3	1.94	1.1	77.9	39.9	

実証成果

1年間で廃棄されるイナワラ 900万トン
 50%を使用
 バイオエタノール 1.2万キロリットル
 1.8万世帯の一年間の電気使用量

実験6 イナワラからのデンプン検出

実験区分：イナワラ：上部、中部、下部、稈、葉身・葉鞘

方法：各部切片を121°C、15分加熱し、ヨウ素液でデンプンの有無を調べた。また、稈部はホモジナイザーで破碎した上でも確認した。

結果：



実験7 イナワラ中のデンプン糖化

材料 イナワラ下部

方法：水に米麴を懸濁し、ろ過したものを酵素液とした。オートクレーブで加熱したイナワラ糖液に酵素液を加えて3時間反応させた。



図8. 麴で糖化したイナワラ糖液の糖度

実験6 イネ科雑草やインディカ米イナワラ等の糖量の比較

実験区分 イネ科雑草：イヌムギ、メヒシバ、エノコログサ、シバ
 イナワラ：朝日(水稲古品種)、Nerica4(アフリカ系統と日本米の交雑種)
 サリークイーン(インディカ米と日本米の交雑種)
 イナワラ(日本米現行品種：稈、葉身・葉鞘)

方法：各植物を5mmに切り、水とイナワラを10対1の割合で加えてオートクレーブで所定時間加熱した。糖度測定はソモギーネルン法を用いた。

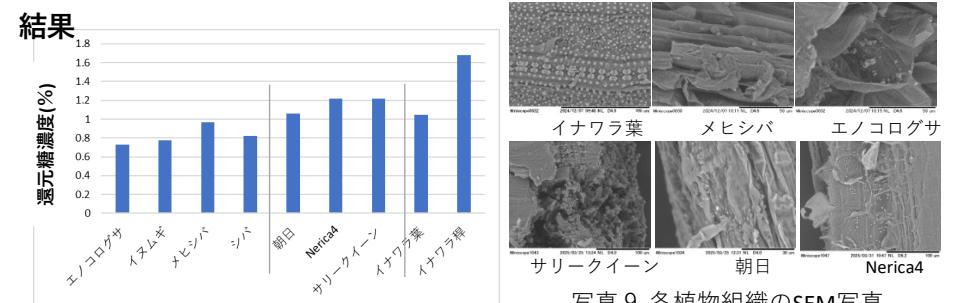


図9. 各植物の抽出糖液の糖度

成果：イナワラから容易に還元糖を得て、バイオエタノールを生産できた。国内で廃棄されるイナワラだけではなく、海外で栽培されているイネやイネ科雑草植物もダイレクトアルコール発酵のバイオマスとして高いポテンシャルを確かめることができた。

参考文献

- 農産廃棄物循環利用バイオエタノール製造システムの構築(第二報)、第24回廃棄物資源循環学会研究発表講演論文集、p.375-376、(2013) 生物生産系廃棄物の有効利用について、堀津浩章、廃棄物学会誌 vol.2, pp.131-142,1991
- 竹中沙也香、大阪府立園芸高等学校バイオサイエンス科卒業論文。(2024)坂西欣也、バイオエタノールの研究動向と今後の展望、廃棄物資源循環学会誌、Vol.32, No.4, pp.264-271 (2021) 国産稲わらの利用の促進について、農林水産省 徳安健(2020)、多糖資源活用のための生物変換研究、応用糖質化学10巻、p13-23北口俊博ら(2013)

化学再生繊維・銅アンモニアレーヨン（キュプラ）分解条件の探索

—微生物酵素活性の条件探索—

バイオ研究部 3年 徳岡羽妙

〈目的〉

以下の実験は、化学再生繊維・銅アンモニアレーヨン（キュプラ）が園芸高校内の池土壌で激しく分解された要因を明らかにすること。

〈微生物分解耐性の調査〉

園芸高校内4か所から採取した土壌に繊維を埋め、30°Cで1週間培養した結果、池土壌中でキュプラの激しい分解が見られた。(図1,表2)。

表1.本研究における電子顕微鏡観察時の繊維の分解尺度

尺度	繊維分解の状態
-	全く分解されていない
±	わずかに分解されている
+	やや分解されている
++	分解されている
+++	強く分解されている

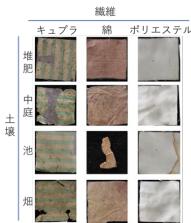


図1.デジタルマイクロスコープによる埋土1週間後の各繊維の様子を観察像

表2.土壌に埋土して1週間後の繊維の状態

場所	キュプラ	綿	ポリエステル
堆肥	±	-	-
中庭	+	++	-
池	+++	±	-
畑	++	++	-

表3.分離細菌の分解能評価実験の結果

菌株	キュプラ	綿布	ポリエステル
Control	±	±	±
1-A	±	±	±
1-B	±	±	±
1-C	±	±	±
1-D	±	±	±
2-A	±	±	±
2-B	±	±	±

〈分解要因の探索〉

池土壌と畑土壌から分離した微生物を用いた分解実験の結果、繊維を特異的に分解する微生物は見られなかった。

また、pHの違う水溶液中での分解実験でも、繊維目立った分解は確認できなかった(図2,表3,表4)。

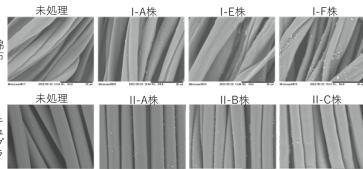


図2.培養1週間後の様子の電子顕微鏡による観察像

表4. pHの違いによる分解実験の結果

水溶液	キュプラ	綿布	ポリエステル
硫酸	-	-	-
酢酸	-	-	±
アンモニア	-	-	-
NaOH	-	-	-

〈キュプラ埋土実験〉

庭園池4か所から土壌を採取し、オートクレーブで30分間殺菌した土壌と無殺菌の土壌にキュプラを埋め、30°Cで1週間培養したものを走査型電子顕微鏡で観察したところ、無処理の区分で繊維の分解が確認できた。(図3,表5)。このことから、繊維の分解は土壌中の微生物によるものだと考えられる。

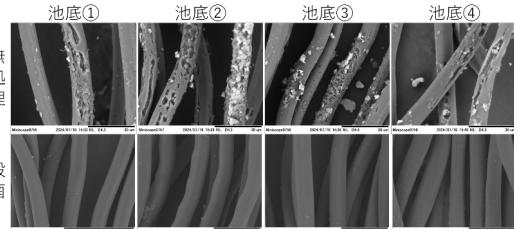


図3.埋土1週間後のキュプラの分解状態

表5.埋土1週間後のキュプラの状態

場所	無処理	殺菌
池底①	±	±
池底②	±	±
池底③	±	±
池底④	±	±

〈キュプラ分解菌の特定〉

キュプラを分解した微生物を特定するために、池土壌に懸濁液を細菌培養用培地に塗抹し、好気的条件下と袋内にCO₂ガスを充満させた嫌気的条件下で30°C 4日間培養を行い、発生したコロニーから微生物を純粋分離した。得られた分離微生物を121°Cで30分間殺菌した池土壌にそれぞれ1白金耳分入れ、キュプラを埋土した結果、下図の4株でキュプラの分解が見られた。(図4)。

好気①-4株 好気④-3株 好気④-5株 嫌気③-6株

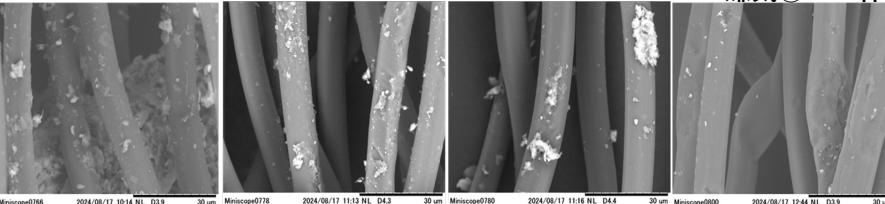


図4.特に激しく分解されたキュプラの状態

〈キュプラ分解菌の同定と形態観察〉

キュプラ分解菌のDNAを抽出し、16SrRNA領域についてダイレクトシーケンシングで塩基配列を求め、NCBIサイトのBLAST検索で同定した(表5)。また分解菌の形態を走査型電子顕微鏡で観察を行った結果、右の表の細菌だということ分かった。(図5)。

表5.キュプラを分解した微生物の16SrRNA領域の塩基配列データからNCBIのBLAST検索で得られた同定結果

Sample	Query Length	Taxonomy (分類)	Score	Query cover	Percent	Evalue
#1-4	1396	Bacteria, Phyllobacteriaceae, Ambibacter, unclassified	2595	100%	Max 98.87%	0.0
#4-5	1395	Bacteria, Phyllobacteriaceae, Ambibacter, unclassified	2519	100%	Max 98.81%	0.0
#4-3	1461	Bacteria, Bacillales, Lysinibacillus, unclassified	2638	100%	Max 98.78%	0.0
#3-6	747	Bacteria, Bacillales, Bacillus, unclassified	1375	100%	Max 98.87%	0.0

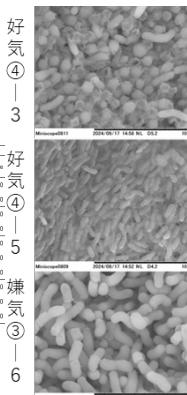


図5.走査型電子顕微鏡による細菌の観察像

〈キュプラ分解条件の探索〉

キュプラ分解菌の培養液を好気条件下では細菌用平板培地に塗抹後上からキュプラ片を乗せ、嫌気条件下では同培地の寒天固化前に混釈し、培地に埋設し、30°Cで1週間培養した結果、嫌気条件下で分解活性を發揮するということがわかった。(図6)。

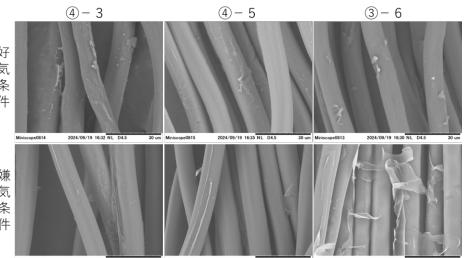


図6.各培地でのキュプラの分解の様子

〈化学再生繊維の分解〉

化学再生繊維のリヨセル、ビスコースレーヨン、ポリノジックをキュプラ分解菌とともに細菌培養用培地に混釈し、30°Cで1週間培養した結果、#3-6株が最も広く繊維を分解し、リヨセルが最も分解されやすいということが分かった。(表6)。

表6.培養1週間後の化学再生繊維の状態

繊維	#3-6	#4-3	#4-5
ビスコースレーヨン	±	-	-
ポリノジック	±	-	-
リヨセル	±	±	±

〈補酵素の探索〉

細菌培養用培地に、1mM、0.1mM、0.01mMに調整した硫酸銅、硫酸亜鉛、硫酸マンガン、硫酸マグネシウム、リン酸二水素カリウム、硫酸鉄(II)をそれぞれ添加し、キュプラ分解菌、キュプラと綿布を混釈し、30°Cで1週間培養した(表7)。また、EDX機能を持つSEMを用いて池の泥に埋設したキュプラに付着している元素の分析を行った結果、亜鉛やカリウムを添加した区分などで分解の促進が見られた(図7,図8)。

このことから、金属元素はキュプラ分解菌の補酵素として働いていると考えられる。

表7.金属元素添加培地で分解実験の結果

菌株	濃度	#3-6	#4-3	#4-5
Control	-	±	±	±
Cu	低	±	-	+
	中	-	±	-
	高	-	±	+
Zn	低	++	+++	+
	中	++	+	+++
	高	++	+	+++
Mn	低	-	-	±
	中	+	±	+
	高	±	-	+
Mg	低	-	±	±
	中	+	+	+
	高	±	±	±
K	低	±	±	±
	中	++	+++	±
	高	±	+	+
Fe	低	±	±	±
	中	±	-	±

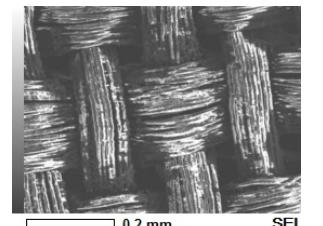


図7.解析したキュプラのSEM画像

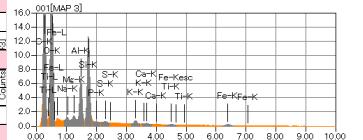


図8.キュプラに付着している金属元素の解析結果

〈まとめ〉

キュプラのセルロースを分解する細菌を確認することができ、市の細菌の分解活性の發揮条件や、分解する繊維の種類を確かめることができた。また、キュプラの分解には土壌中の微量な金属元素が補酵素としてかかわっており、キュプラ分解菌の補酵素となる金属元素とその濃度を確かめることができた。

キュプラは容易に分解されず頑健でありながら、自然界では微生物によって自然分解される可能性を持つ繊維であることが分かった。

〈今後の展望〉

微生物同士の組み合わせなどで、分解の速度が変わるのか検証したい。効率的な分解方法について探索していきたい。

〈参考文献〉

- ・井上國世 (2016) 初めての酵素化学 シーエムシー出版 P.41~52
- ・京都大学農学部 応用微生物学実験 実験書 2004年度版
- ・SUSTAINABLE FASHION 環境省
- ・中島千恵, 2017. シリーズ「日本の化学繊維の発展と消費科学」8. キュプラ繊維について
- ・銅アンモニアレーヨンの合成 愛知県総合教育センターHP. 2023年9月参照
- ・Michael T. Madigan他著, 室伏きみ子, 関啓子監訳『Brock微生物学』オーム社, 2003.
- ・Berry, Colin (2012-01-01). "The bacterium, *Lysinibacillus sphaericus*, as an insect pathogen". Journal of Invertebrate Pathology. 109 (1): 1–10.
- ・KRYCH, VIRGINIA K.; JOHNSON, JOHN L.; YOUSTEN, ALLAN A. (1980). "Deoxyribonucleic Acid Homologies Among Strains of *Bacillus sphaericus*". International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 30 (2): 476–484.
- ・Changling Gu, Xiaojun Guo, Jia Li, Xiaoyu Zhao, Baocheng Zhu. Identification of a fibrinolytic enzyme producing *Bacillus pseudomycoides* and purification and characterization of the enzyme. Wei Sheng Wu Xue Bao 2009 Apr; 49(4):492-7.

マゴケの大量増殖法の開発 ～有機物の培地添加の効果～

バイオサイエンス科バイオ研究部3年 長野 琥太郎

【はじめに】

バイオ研究部では種類が約2500種と豊富であり、園芸材料として注目されているコケについて研究を進めてきた。2022年、バイオ研究部の安原の研究により、マゴケの共生糸状菌の破砕液がマゴケの生長を促進させることが確かめられた。これを安原はマゴケの共生糸状菌に成長調節物質があるためと予想した。

一方、これまで洋ランなどの無菌培養培地にバナナやジャガイモなどの天然物の添加で成長を促進することが知られている。そこで私は、入手が容易な天然物の添加によるマゴケの成長促進効果を確認する実験を行った。

【実験計画】

実験1：マゴケ茎葉体の破砕液添加実験

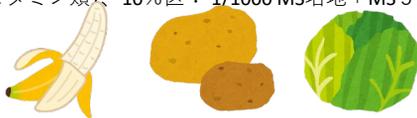
- 対照区：1/1000 MS培地
- マゴケ1%区：1/1000 MS培地+茎葉体破砕液1%量
- マゴケ10%区：1/1000 MS培地+茎葉体破砕液10%量

実験2：バナナ・ジャガイモ・キャベツジュース添加実験

- 対照区：1/1000 MS培地
- バナナ1、10%区：1/1000 MS培地+バナナジュース (v/v)
- ジャガイモ1、10%区：1/1000 MS培地+ジャガイモジュース (v/v)
- キャベツ1、10%区：1/1000 MS培地+キャベツジュース (v/v)

実験3：ペプトン・可溶性デンプン・ビタミン類添加実験

- 対照区：1/1000 MS培地
- ペプトン1%区：1/1000 MS培地+ペプトン (w/v)
- デンプン1、10%区：1/1000 MS培地+デンプン (w/v)
- ビタミン類1、10%区：1/1000 MS培地+MS 5液 (v/v)



実験4：孢子嚢培養における培地添加剤の効果検証実験

- 対照区：1/1000 MS培地
- デンプン1%区：1/1000 MS培地+デンプン (w/v)
- ジャガイモ10%区：1/1000 MS培地+ジャガイモジュース (v/v)
- キャベツ10%区：1/1000 MS培地+キャベツジュース (v/v)

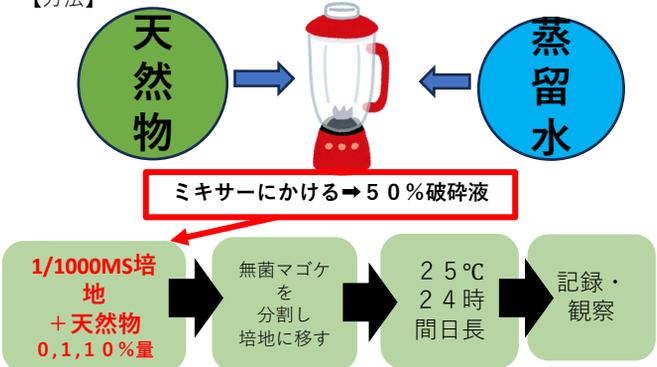
<MS 5液成分と濃度：1Lあたり>
 ミオイノシトール 20g ニコチン酸 100mg
 塩酸ピリドキシン 100mg 塩酸チアミン 20mg
 グリシン 400g

【材料】

園芸高校敷地内から採取し、バイオ研究部で継代培養されてきた無菌状態のマゴケを使用した。



【方法】



【結果】

実験1：マゴケ茎葉体の破砕液添加実験

・培地中にマゴケ茎葉体の破砕液を添加量が増えるに従って、マゴケの成長が旺盛になった。

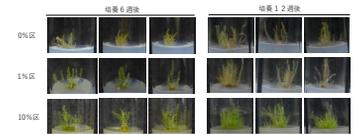
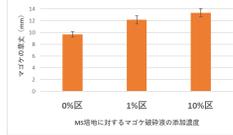


図1. マゴケ破砕液添加濃度の違いによる草丈の比較

図2. マゴケ破砕液添加培地で無菌培養したマゴケ茎葉体

実験2：バナナ・ジャガイモ・キャベツジュース添加実験

・バナナ、ジャガイモ、キャベツのジュースを10%量を添加した培地で、マゴケの草丈の成長が促された。
 ・ジャガイモ10%量培地で、株の広がりが良好であった。

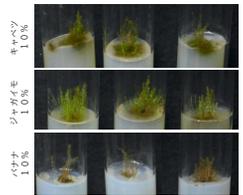
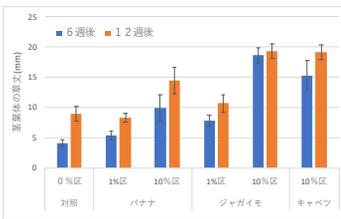


図3. バナナ・ジャガイモ・キャベツジュース添加培地で無菌培養したマゴケ茎葉体の草丈

図4. バナナ・ジャガイモ・キャベツジュース添加培地で無菌培養したマゴケ茎葉体の培養12週目状態

実験3：ペプトン・可溶性デンプン・ビタミン類添加実験

・可溶性デンプンの10%添加区およびビタミン類の1%添加区で対照区より草丈が大きくなった。

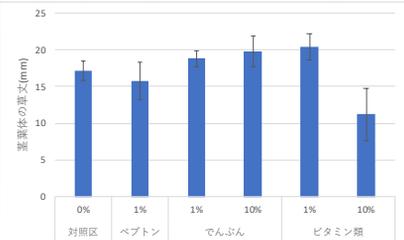


図5. ペプトン、デンプンおよびビタミン類 (MS 5液) を添加した培地で無菌培養したマゴケ茎葉体の培養6週目の草丈

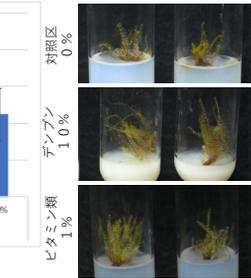


図6. デンプン10%およびビタミン類1%の添加培地で無菌培養したマゴケ茎葉体の培養6週目状態

実験4：孢子嚢培養における培地添加剤の効果検証実験

・ジャガイモ10%区培地でのみ孢子の発芽の傾向が見られた。



図7. 発芽が見られた培地の断面の状態



図8. 培地表面の拡大写真

【結論】マゴケ共生糸状菌の破砕液の添加がマゴケの成長に効果があったことは、成長調整物質の存在ではなく、デンプンやビタミン類などの有機物の効果の可能性はある。

難防除雑草ハマスゲの研究

大阪府立園芸高等学校バイオサイエンス科バイオ研究部 仲 秋吾

〈ハマスゲ(浜菅)とは〉

ハマスゲ (*Cyperus rotundus*) は、カヤツリグサ科カヤツリグサ属の多年草です。名前の通り、砂の土壌でも増えることが可能な難防除雑草です。

ハマスゲが難防除雑草と言われている理由は、地下に根茎、塊茎にあります。塊茎には高い繁殖力があります。ハマスゲは、1つの親塊茎から1か月で4次塊茎、2か月で6次塊茎を形成します。4か月で140個以上に増えます。ハマスゲの塊茎は掘り起こした際、切断するとさらに増殖し、「ゾンビ雑草」という人もあります。

一方、このハマスゲは、「香附子(こうぶし)」という生薬となる薬草としても知られており、芳香性健胃、浄血、通経、沈痼の効能があるとされています。

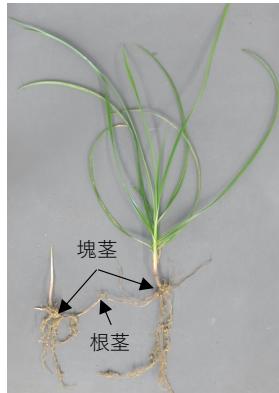


図1. バイオ研究部の畑で掘り起こしたハマスゲ



図2. ハマスゲの校内での繁殖地



図3. ハマスゲの校内での自生の様子

〈研究の目標〉

効率的な防除法を検討するためのハマスゲの生育について特性について実験により確かめる。実施した2つの実験を報告します。

- ① 種子の発芽特性
- ② 塊茎の出芽特性

〈実験Ⅰ：ハマスゲの種子の低温処理実験〉

1. 種子の採取

ハマスゲの種子を採取するため、バイオ研究部の畑に生えているハマスゲから種子から採取しました。



図4. 種子の採取方法と得られた種子

2. 方法

- ①小穂1～5から5個ずつ種子を採取し、それぞれ水で濡らした濾紙を入れたシャーレに入れ、5℃の低温処理を0、2、4、6、8週間それぞれ行った。
- ②所定期間経過後、25℃の定温培養室に入れ観察を行った。

3. 結果

・低温処理8週間まで発芽促進効果は認められなかった。

対照区(低温なし) 低温2週間処理 低温4週間処理 低温6週間処理 低温8週間処理



図5. 5℃の低温処理期間が処理後2週目における種子発芽に及ぼす影響

〈実験Ⅱ：ハマスゲの塊茎の低温処理実験〉

1. 塊茎の採取

- ①スコップを使い、ハマスゲを掘り起こした。
- ②掘り起こしたハマスゲの塊茎を根から切断し、採取した。

2. 方法

- ①採取した塊茎の5グループにわけた。(1グループ20個)
- ②4つの培養ポットを用意し、ポット内にバーミキュライトをいれ、4つの塊茎のグループを1ポットに1グループ埋めた。
- ③ポットの蓋にガムテープを張り、取り出す日、低温処理の週数を書いた。
- ④4つの培養ポットを冷蔵庫で保管した。
- ⑤ポリポットを用意し、そこに培養土をいれ、塊茎1個を定植した。
- ⑥各区分塊茎23個を定植し低温処理の週数が分かるラベルをさした。
- ⑦冷蔵庫で保管している塊茎を取り出す日になったら、冷蔵庫から取り出し、⑤～⑥の動作を行った。



図6. 培養ポット

3. 結果

・無処理の塊茎にくらべ低温処理した塊茎は、出芽は早まる傾向が認められた。

表1. ハマスゲ塊茎の低温処理が処理後の出芽率に及ぼす影響

実験区分	定植後の出芽率(%)					
	1週後	2週後	4週後	5週後	6週後	7週後
無処理区(9/9定植)	4.3	13.0	17.4	17.4	87.0	100.0
2週処理区(9/23定植)	13.0	21.7	78.3	100.0		
4週処理区(10/7定植)	No DATA	52.2	65.2			
6週処理区(10/21定植)	0.0					



図7. 塊茎の低温処理後のポット栽培の様子

〈実験Ⅲ〉種子発芽適温実験

方法

・試験管に寒天を固化した培地を用意し、10℃、15℃、20℃、25℃の4区分にわけ、実験1で使用した種子を5個ずついれ、8週間観察した。

結果

・6週目までに25℃と20℃の区分から2個ずつ発芽が見られた。

〈実験Ⅳ〉酸アルカリ耐性実験

方法

- ①5個の園芸用培養土を入れた3号ポリポットに塊茎を植え、発芽させた。
- ②対照区、クエン酸1g区、同10g区、重曹1g区、同10g区を設け、各ポリポットにクエン酸、重曹をまいて観察を始めた。

結果

・クエン酸をまいた塊茎のほうが弱っている様子が見られた。



〈まとめ〉

この研究で、ハマスゲの生育に関して基礎的な知見を得ることができた。今後は、防除に活かせる特性の調査が待たれる。

水耕栽培における微生物発酵液が植物の生長に及ぼす影響

バイオサイエンス科バイオ研究部3年 中田 大

背景 近年、地球温暖化により作物特有の必要な環境条件が乱れ、従来の作物損失や土壌の変化が起きている。多くの時間や労力を懸けて育てた農作物が天候不順の被害で廃棄せざるを得ない状況が起っており、そのことが勿体ないと感じた。

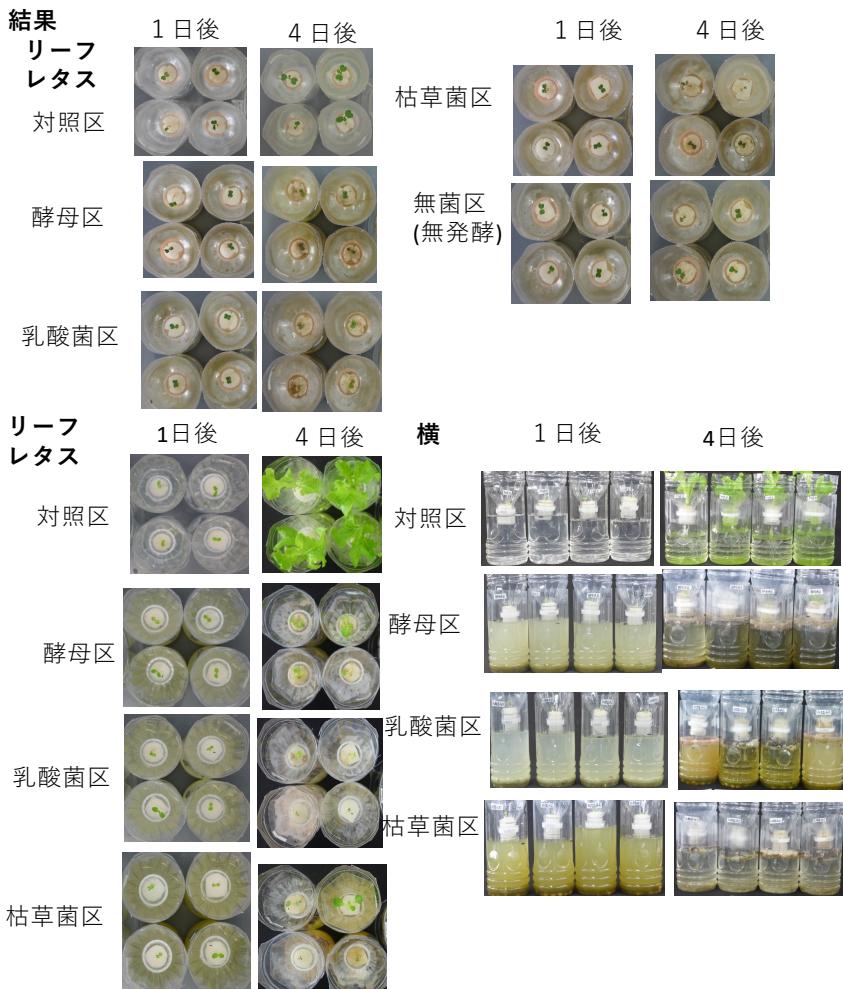
目的 生育不良になった農作物を処分せず、微生物を投入することで少しでも農産物の付加価値を上げることのできる製品の開発を目指したいと考え、実験と検証を行った。

実験1 ルッコラとリーフレタスを用いた水耕液実験

材料: ルッコラ、リーフレタスの種子、園芸高校内の圃場処分場から拾った野菜くず、ペットボトル ハイポネックス(対照区) 水耕栽培用スポンジ

供試菌株: イースト(スーパーカメリア)、市販納豆、市販ヨーグルト

実験区分 ・対照区(ハイポネックス液0.1%) ・酵母区(スーパーカメリア)
・乳酸菌区(市販ヨーグルト) ・枯草菌区(市販納豆)
・無菌区(無発酵)



・1日後はまだどの区分も発芽が見られたが、4日後は対照区以外は全体的に枯れていた。
・また4日の時点でペットボトルの側面にカビのようなものが生えており、培養液は濁っていた。
・リーフレタスは全体的に生長が見られなかった。

実験2 ルッコラを用いた水耕液実験と根っこの観察

材料: ルッコラの種子、園芸高校内の圃場処分場から拾った野菜くず、ペットボトル ハイポネックス液デジタルマイクロスコープ 水耕栽培用スポンジ イースト(スーパーカメリア)

実験区分

・対照区(ハイポネックス液0.1%) 1000倍
・野菜破砕液区(無発酵1%)
・野菜破砕液区(無発酵5%)
・発酵液区1%
・発酵液区5%

手順

播種と野菜破砕液作成は実験1と同じ手順で行った。対照区(ハイポネックス液)と発酵液の作成を行ったあとに酵母を発酵液用の野菜破砕液へ移した。次に野菜破砕液、発酵液をペットボトルへ入れ、25°C定温培養室で4日間培養した。4日後スポンジをペットボトルから取り出し、デジタルマイクロスコープで観察をした。

結果



対照区は少し緑色の物質がついているが、根がはっきりと見える。一方、野菜破砕液区や発酵区では根にカビのような物質が生えていたり、途中で根の伸びが停止している。

実験3 水耕液と土壌実験

材料: ルッコラの種子、園芸高校内の圃場処分場から拾った野菜くず、ペットボトル、ハイポネックス、土壌改良土(パーミキュライト)、ポリポット

供試菌株: イースト(スーパーカメリア)

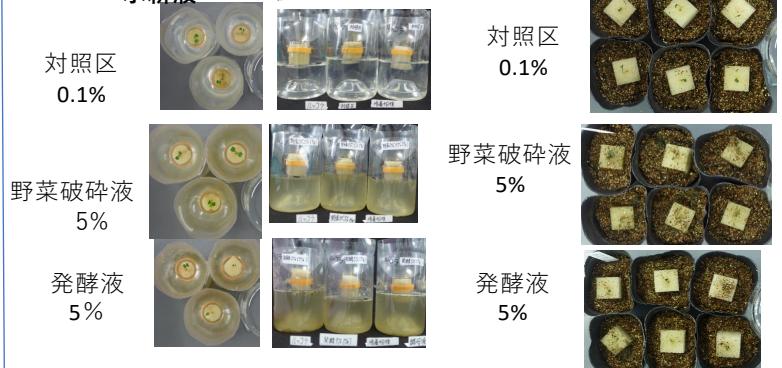
実験区分

水耕液	土壌
・対照区(ハイポネックス液0.1%)	・対照区(ハイポネックス液0.1%)
・野菜破砕液区5%	・野菜破砕液区5%
・発酵液区5%	・発酵液区5%

手順

水耕液の区分は実験1と2の手順と同じ操作を行った。野菜破砕液と発酵液はポリポットのに入った土壌に入れ、廊下で4日間培養した。

結果



水耕液の対照区は発芽したが、実験2の考察にも記した通り、根っこしか培養液に浸っておらず枯れてしまったので実験3はスポンジまで浸るようにしたら、枯れずに発芽した。

考察: 全体的に野菜破砕液の廃棄野菜がルッコラの生長を阻害したと考えられる。

参考文献

研究者名: 久保 幹
所属機関: 立命館大学生命科学部生物工学科
土壌微生物量の定量法確立から高付加価値農業の展開へ

リグニン資化真菌とセルロース資化真菌の並行発酵による木質セルロースの糖化

大阪府立園芸高等学校 バイオ研究部2年 林千結

背景・目的

効率的なバイオエタノール生産技術を開発するためバイオ研究部では、セルロース木質資源の糖化研究に取り組んできた。本研究では、木質セルロースの糖化効率を改善するため校内の庭園などから純粋分離したリグニン資化菌とセルロース資化菌を用い並行発酵させるオカグズの糖化技術の開発に取り組んだ。

実験計画

- 実験1.リグニン・セルロース資化真菌の選抜
- 実験2.リグニン・セルロース資化真菌の並行発酵によるオカグズ糖化実験
- 実験3. 選抜資化真菌のDNA分析による同定

実験1 リグニン・セルロース資化真菌の選抜

<材料>炭素源とリグニンとした培地で分離したリグニン資化真菌5株と炭素源をセルロースとした培地で分離したセルロースシケ真菌15株を使用した。

<方法>

- ①オカグズ3gに炭素源を除いた真菌用培地(表1)10mLを添加し、オートクレーブで滅菌した。
- ②リグニンおよびセルロース資化性の真菌を植菌し30°C6日間培養した。
- ③培養物を水100mLを混和し、50°Cで7日間静置し、発酵糖化させた。
- ④静置1日後と7日後のサンプル中の還元等量をソモギーネルソン法で測定した。

表1リグニン・セルロース資化性真菌の選抜に使用した炭素源除去培地組成

炭素源除去真菌用培地	
酵母ナイトロジャンベース	0.67%
酵母エキス	0.05%
カザミノ酸	0.05%
寒天	2%
pH	5.8

<結果>

リグニン資化真菌
・#R3株と#R6株の2株を選抜した(図1)。
セルロース資化真菌
・#S7-2株と#R6株の2株を選抜した(図2)。

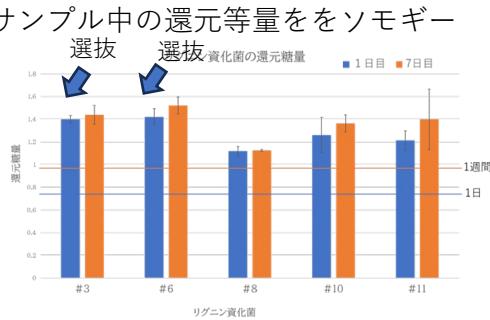


図1.リグニン資化性真菌で糖化したオカグズから得られた還元糖濃度

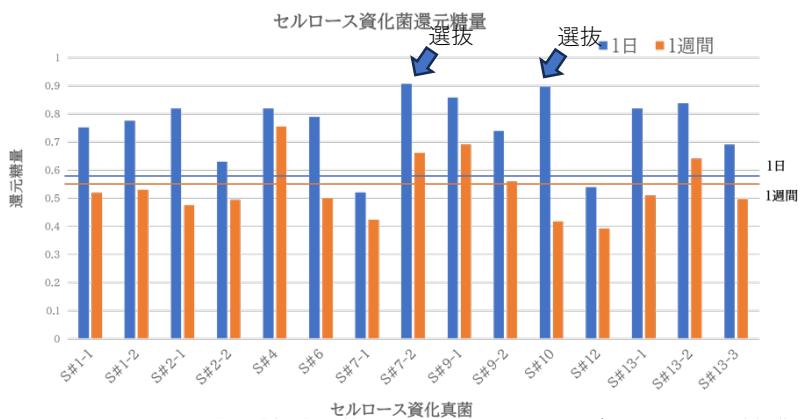


図2 セルロース資化性微生物で得られたオカグズからの還元糖濃度

実験2 リグニン・セルロース資化真菌の並行処理

<材料>実験1で選抜したリグニン資化真菌2株とセルロース資化真菌2株を使用した(図3)。

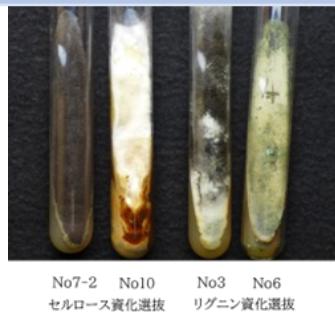


図3 選抜したリグニン・セルロース資化真菌

<方法>

- ① 実験1と同様にオカグズを炭素源としてリグニン資化菌2株とセルロース資化菌2株をそれぞれ6日間培養した。
- ② ①で得られた培養物を単独または組み合わせて混和し、水100mLを入れ、50°Cで7日間静置し、発酵糖化させた。
- ③静置1日後と7日後のサンプル中の還元等量をソモギーネルソン法で測定した。

<結果>

・単独株による発酵よりリグニン資化菌とセルロース資化菌の並行発酵の方が還元糖量が増加した

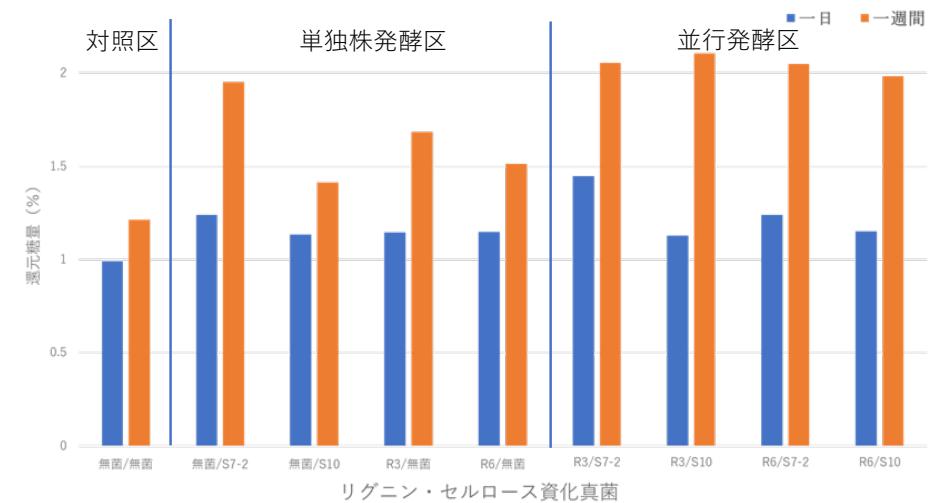


図4リグニン・セルロース並行処理で得られたオカグズからの還元糖量

実験3 選抜資化真菌のDNA分析による同定

<材料>実験1で選抜したリグニン資化真菌2株・セルロース資化真菌2株を材料に実験を行った。

<方法>

- ①リグニン・セルロース資化真菌に対して園芸高校バイオサイエンス科の実習常法に従いDNA16SrRNA領域の塩基配列を決定した。
- ②決定した塩基配列を米国NCBIサイトでBLAST検索を実施し、種同定を行った。

<結果>

表2. 得られたリグニン資化菌2株とセルロース資化菌2株から得られたITS領域塩基配列に基づくNCBIサイトのBLAST検索を用いた同定結果とその特徴

分離実験	ITS Query Length (照会長)	Taxonomy(分類)					Descriptions(概要)			特徴・有用性
		ドメイン	科名	属	種小名	和名	Score	Query-cover	Per ident	
リグニン資化菌	#R3	fungi (菌界)	Hypocreaceae ボタタケ科	<i>Trichoderma</i>	<i>hamatum</i>	ツチアオカビ	1153	100%	99.84%	有機物の分解能力 土壌病害防除資材
	#R6	fungi (菌界)	Aspergillaceae アスペルギルス科	<i>Aspergillus</i>	<i>niger</i>	クロコウジカビ	1120	100%	99.84%	有機酸や各種酵素 剤の製造に用いられる
セルロース資化菌	#S7-2	fungi (菌界)	Aspergillaceae アスペルギルス科	<i>Aspergillus</i>	<i>aculeatus</i>	—	1062	99%	99.49%	多量のセルラーゼ・ ヘミセルラーゼを分泌
	#S10	fungi (菌界)	Nectriaceae ベニアワツバケ科	<i>Fusarium</i>	<i>incarnatum</i>	—	1018	99%	99.82%	植物病原菌

Score: 一致塩基に+5、不一致塩基に-4

まとめ

- ・木質セルロース資源の糖化についてその阻害要因となっているリグニンをその資化菌を用い並行発酵することで糖化効率を上げられることを証明できた。
- ・利用できる資化菌について同定することができた。

参考文献

- 微生物利用、中西載慶著、2014年、実教出版
 応用微生物学実験 実験書 2004 年度版、京都大学農学部
 橋本ルイコラ、*Aspergillus niger* とその近縁種黒麹菌のマイコトキシン産生性及び系統解析、Mycotoxins, 63 (2), 179-186 (2013)
 片岡良太、多彩な機能を有する土壌糸状菌Trichoderma属菌の農業利用、日本農薬学会誌 47(2), 121
 國武絵美、*Aspergillus aculeatus* におけるセルラーゼ・ヘミセルラーゼ遺伝子の発現制御機構に関する分子生物学的研究、大阪府立大学博士(応用生命科学) 学位論文 2012 年
 外側正之、植物病原菌としての*Fusarium*属菌、アグリフォーレ・レポート創刊号静岡県立農林環境専門職大学 生産環境経営学部

アカザカズラ (*Anredera cordifolia*) の人工環境での栽培

大阪府立園芸高等学校 バイオサイエンス科バイオ研究部 2年 内田蓮人

研究の背景と目的

アカザカズラ (*Anredera cordifolia*) : 別名おかわかめ、ツルムラサキ科のつる性多年草
南アメリカ原産の野菜で、観賞用にも栽培、中国の雲南地方では「百薬」といわれている。沖縄では民間薬・食用として用いられている。



写真1. アカザカズラ

バイオ研究部では、2024年から赤字経営の多い植物工場での収益性の改善について取り組んでいる。そこで価値の高い野菜としてこのアカザカズラを導入するための基礎的研究を開始した。

【実験1：水挿し発根による育苗の可能性】

目的：人工環境通年栽培を実現するため水挿し発根能を確かめる。

実験区分：・節の有無

・肥料濃度 水、H2000倍液、H1000倍液、H500倍液

材料：バイオ研究室で育てているアカザカズラのツタ。

方法：

- ①アカザカズラからツタを節が2つ残るように切った。
- ②植物工場用のスポンジ培地に茎の上下を維持して貫通させ各濃度区分にスポンジを浮かせた。

結果：

表1. 実験開始10日目におけるアカザカズラつるの発根の状態

実験区分	実験区分	植付け	発根数	発根率	根の長さ (cm)	節あり
①	②	つる数		(%)	平均±標準誤差	
対照区	10	9	90.0	7.0±0.9	節あり	
H2000倍	10	6	60.0	10.3±2.4	節あり	
H1000倍	10	8	80.0	12.7±1.5	節あり	
H500倍	10	7	70.0	11.4±1.4	節あり	
対照区	10	4	40.0	1.5±0.5	節なし	
H2000倍	10	2	20.0	0.9±0.1	節なし	
H1000倍	10	0	0.0		節なし	
H500倍	10	0	0.0		節なし	

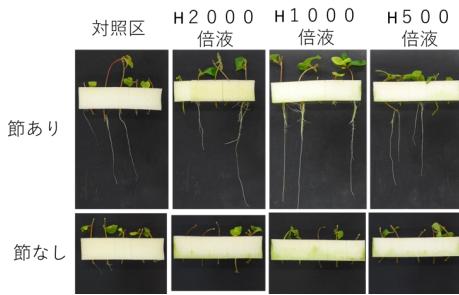


写真2. アカザカズラの水挿しによる育苗実験10日目の様子

【実験2：LED照明下での育成条件による成長の比較】

実験区分：・植物工場ユニット (液肥は初期設定のまま使用)

・3号ポリポット (野菜用培養土)

・250mLフラスコ水耕栽培 (H1000倍液)

写真3. 実験2で行った各実験区分の様子



方法：

- ①実験1で得た発根したツタを実験区分に従って移植した。
- ②ポリポットと水耕栽培は1週間毎に追肥または液肥交換を行った。

結果：

新鮮重量も乾物重いずれも植物工場ユニットで栽培した株の成長が良好であった。

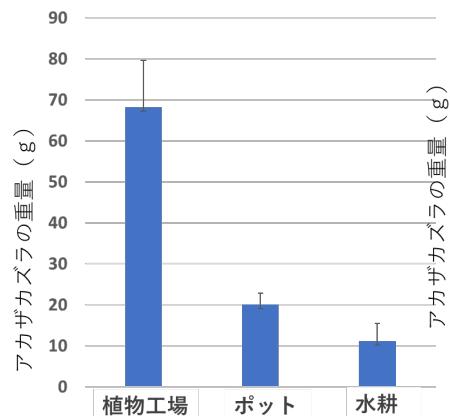


図1. アカザカズラの栽培方法による栽培25日目の生重量。

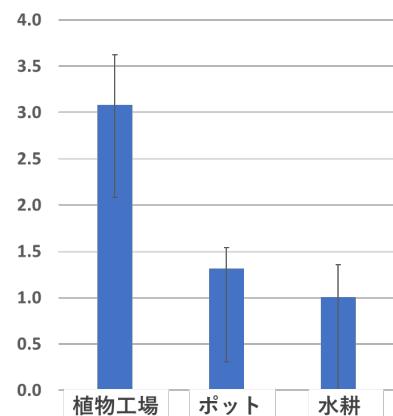


図2. アカザカズラの栽培方法による栽培25日目の乾物重

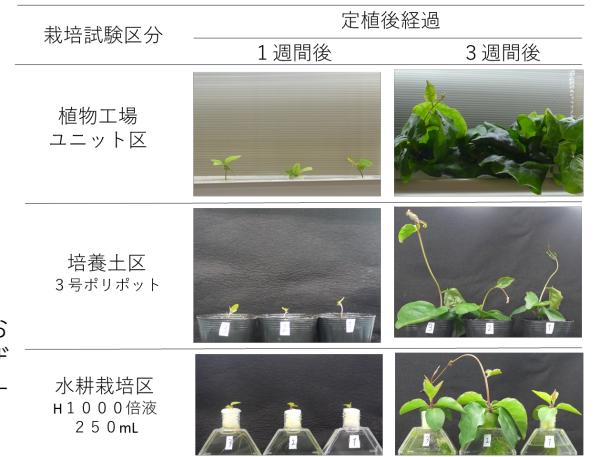


写真4. 人工環境における栽培方法がアカザカズラの成長に及ぼす影響

【実験3：人工環境で発生した生育障害の検証】



写真5. 人工環境での栽培時に発生した生育障害

<実験3-1 黒色病斑の感染性の検証>

方法：

- ① 実験区に冷凍庫に保管していた黒色病斑サンプルを針で突いて、健全な葉に穿孔した。
- ② 対照区に滅菌した針で穿孔した。
- ③ 3週間観察を行った。

結果：

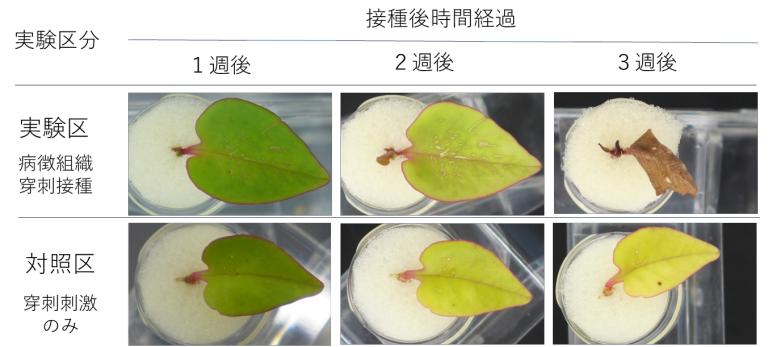


写真6. アカザカズラ人工環境で発生した黒色病徴の感染性確認試験結果

<実験3-2 黄色病斑の生理障害の可能性>

方法：

- ① 隔離状態で病徴のない水耕株を13株準備した。
- ② 隔離状態のままH1000倍液を用い、病斑の発生の経過を観察した。
- ③ 病斑の出た株はその都度除去した。

結果：



図3. 黄色病斑の発生試験における斑点発生数の推移

写真7. 黄色病斑の発生試験における斑点発生株と未発生株の状態

研究の成果：

- ・アカザカズラの植物工場への適応性の高さが確かめられた。
- ・野外では発生しない感染症、生理障害への注意が必要であることを示すことができた。

茎頂培養によるソメイヨシノの再生

バイオサイエンス科バイオ研究部3年丸山葵生

〈研究目標〉日本の春の景観を代表するソメイヨシノは、平均寿命が約60~80年で、接ぎ木による繁殖しか出来ず、現存しているソメイヨシノは最初の1本のクローンと言われており、遺伝子的多様性が乏しく、「病害虫や環境変化によって、一斉に個体数が減って絶滅してしまうのではないかと心配する人が増えている。そこで、剪定によって切られた枝から茎頂を採取し無菌状態によって、病原体のないクローン苗の生産する方法を確立させることを目標に本研究を開始した。

〈材料〉園芸高校内に植栽されているソメイヨシノの茎頂部分を使用した。



(写真)ソメイヨシノの成長点

〈研究の経過〉

実験1 ベンジルアデニン (BA) 濃度

- 1) BA濃度の違う1/2MS斜面培地の作成：サクラはバラ科の植物なので、植物ホルモンはBAを使用した。培養用培地は、MS斜面培地で植物ホルモンBAの濃度を0、0.01、0.1、1.0mg/Lの4区を設定し、作成した。
- 2) 桜の茎頂の採取：園芸高校敷地内で生育しているソメイヨシノから枝を採取した。
- 3) BA濃度別茎頂培養：桜の枝を準備し、先端部分を切り離し、殺菌した。クリーンベンチ内に材料等を準備し、殺菌済みの桜枝先から茎頂を摘出し、各濃度区分の培地植え付けた。開始後、3週間で成長の最も良い培地区分 (BA濃度0.01 mg/L) を確定した。

実験2 温度条件・光条件

- 1) BA濃度0.01mg/Lの1/2MS斜面培地を作成した。
- 2) 実験1と同じ手順で培地に成長点を植え付けた。
- 3) 次の各条件で実験を開始した。
温度条件：15、20、25°Cの3区分
光条件：LED (強光) と蛍光灯 (普通光) の2区分

実験3 成長点採取時期 (季節変化)

- 1) 実験2で使用した培地を用い、落葉後2週ごとに茎頂を採取し、採取時期が成長点の成長速度に影響を及ぼすのを観察した。

実験4 基本培地の検討 (WPM培地の有効性)

- 1) 樹木の組織培養・茎頂培養用に特化して開発されたWPM (Woody Plant Medium) 培地と実験1~3で使用した1/2MS斜面培地を調整した。
- 2) それぞれの培地を使用して8週間培養した。

〈結果〉

実験1 BA濃度

- 0、0.1%濃度区分において成長点が1番生長していた。

結果1：植物ホルモン濃度4区分別による培養の結果

培養期間	培養6週目	培養8週目	培養10週目
植物ホルモン濃度			
1			
0.1			
0.01			
0			

実験2 温度条件・光条件

- 温度条件は25°C、光条件は蛍光灯下が良好に成長した。

結果2:温度条件による桜の茎頂の成長結果

培養期間	培養4週目	培養5週目	培養6週目
培養温度 (°C)			
15°C			
20°C			
25°C			

結果3:光条件による桜の茎頂の成長結果

培養期間	培養5週目	培養6週目	培養7週目	培養温度 (°C) 植物ホルモン濃度 (%)
光条件				
普通 (蛍光灯)				25°C 0.01%
強い (LED)				

実験3 成長点採取時期 (季節変化)

茎頂の成長速度にそこまで影響しないことが分かった

結果1：季節変化が及ぼす茎頂の生長 (隔週2週間ごとに植え付け)の結果

培養期間	培養2週目	培養4週目	培養6週目	培養8週目
区分				
A				
B				
C				
D				
E				

5) WPM培地と1/2MS培地の茎頂に及ぼす影響の比較

WPM培地の方が茎頂の色が濃い緑をキープしており途中で枯れていなかった。

	WPM培地	2/1MS培地D
2週		
3週		
4週		
5週		
6週		

〈考察〉実験を通して1/2MS培地で茎頂がある程度のところまで育ったらWPM培地に移しかえある程度の栄養を補填し、1/2MS培地に移し変えることによって発芽までもっていけるのではないかと考えた。

〈参考文献〉

- 教科書「食品微生物」
- 教科書「植物バイオテクノロジー」
- 教科書「図解植物バイオテクノロジー」
- 道総研ホームページ2025年6月閲覧
- 住友林業ホームページ2025年8月閲覧

水耕栽培培養液中の水生微生物の純粋分離

大阪府立園芸高等学校バイオ研究部 2年 植村陽梨

摘要：水耕栽培における肥料液に発生した複数種が混在する水生微生物を統計的希釈と栄養要求性を組み合わせた手法で純粋分離を試みた。その結果、いくつかの藻類などの純粋分離に成功した。

【研究の背景】

バイオ研究部では2024年度より植物工場ユニットの効率的運用について研究を開始した。コスト低減のために水耕栽培培養液を全更新せず継ぎ足して長期間使用すると野菜の生育不良が頻発した。培養液を顕鏡すると多くの水性微生物が繁殖していた。

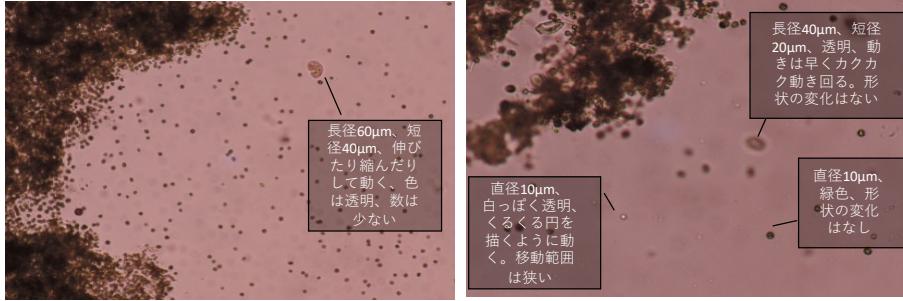


写真1、水耕栽培培養液に自然発生した水性微生物相顕鏡写真とメモ

【研究の目的】

水耕栽培における水性微生物と植物の生育障害との関連について実験に取り組む基礎技術として水性微生物の純粋分離法を確立する。

【実験の計画】

水性微生物は、酵母や細菌のような平板培地塗沫法による純粋分離は困難である。また、1微生物をつまみ上げるマイクロマニピレータのような装置も利用できる範囲にない。そこで、統計的希釈と栄養要求性を組み合わせた手法を考案し実施した。

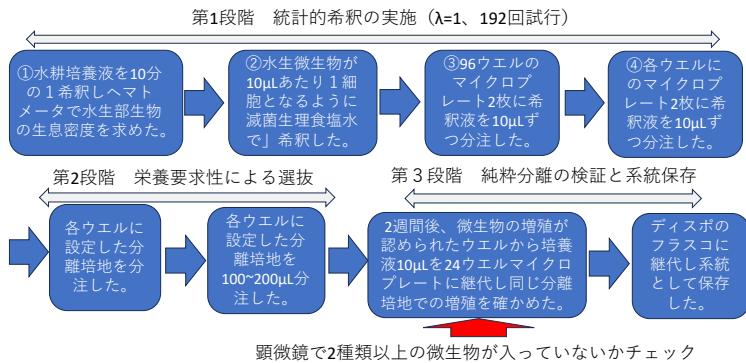


図1、水生微生物の統計的希釈と栄養要求性による純粋分離実験の手順

<分離実験1>水耕栽培肥料液から分離培地を構成

【方法】

- ①図1に示す通り、ヘマトメータで微生物数を計数後、1細胞/10µLになるように生理食塩水で希釈した。
- ②リザーバーに希釈液を入れ、12チャンネルマイクロピペットを用い、96ウエルマイクロプレートに10µLずつ分注した。
- ③表1の分離培地をそれぞれ2枚のマイクロプレートに100µL注いだ。
- ④25℃、蛍光灯照明下で2週間培養した。

表1、水生微生物の統計的希釈と栄養要求性による純粋分離実験で用いた分離培地とその設定意図1

分離培地	Codo	設定意図
ハイボネックス1000倍液	H	無機窒素・リン酸・カリからなる独立栄養性に対応する分離培地
H+ペプトン0.01%	HP	独立栄養性に加えタンパク質を消化分解して得られるペプチド・アミノ酸および微量の糖・核酸・ビタミン類の混合物
H+グルコース0.05%	HG	植物的な独立栄養性に加え単糖添加の効果
H+アミノ酸混合物0.05%	HA	植物的な独立栄養性に加えアミノ酸添加の効果
H+大腸菌1白金耳/100mL	HE	植物的な独立栄養性に加え細菌依存性の検証

<分離実験2>微生物培養液と光条件の組み合わせから分離培地を構成

表2、水生微生物の統計的希釈と栄養要求性による純粋分離実験で用いた分離培地とその設定意図2

分離培地	Codo	設定意図
煮干し1g/L・照明下	NL	微生物全般の餌として設定
稲わら1g/L・照明下	WL	クラミドモナス、ゾウリムシ適性培地
煮干し1g/L・照明なし	ND	光合成藻類発生を抑制した微生物全般の餌として設定
稲わら1g/L・照明なし	WD	光合成藻類発生を抑制したクラミドモナス、ゾウリムシ適性培地

【結果】表2、水生微生物の統計的希釈と栄養要求性による純粋分離実験における微生物発生状況1

分離培地	Codo	希釈液分注ウエル数	微生物発生ウエル数	分離株数
ハイボネックス1000倍液	H	192	1	1
H+ペプトン0.01%	HP	192	31	6
H+グルコース0.05%	HG	192	0	—
H+アミノ酸混合物0.05%	HA	192	0	—
H+大腸菌1白金耳/100mL	HE	192	160	6

無機塩類のみで生育できる独立栄養性の微生物は少ない

オートクレーブ滅菌後の大腸菌菌体はとも栄養分が豊富で繁殖できる細菌依存性微生物数が多い

分離実験2では煮干し1g/L・明条件 (NL分離培地) として1ウエル (F6) で微生物の発生が認められた。

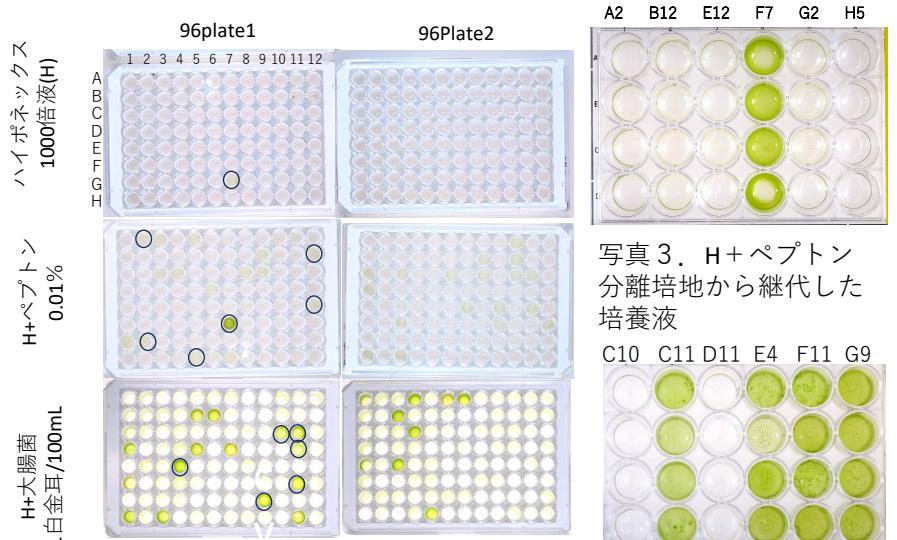


写真2、分離実験1で96ウエルプレートに発生した微生物の濁り

写真3、H+ペプトン分離培地から継代した培養液

写真4、H+大腸菌体分離培地から継代した培養液

○ :24ウエルプレートに継代し分離

写真5、H単体およびNL分離培地から継代した培養液

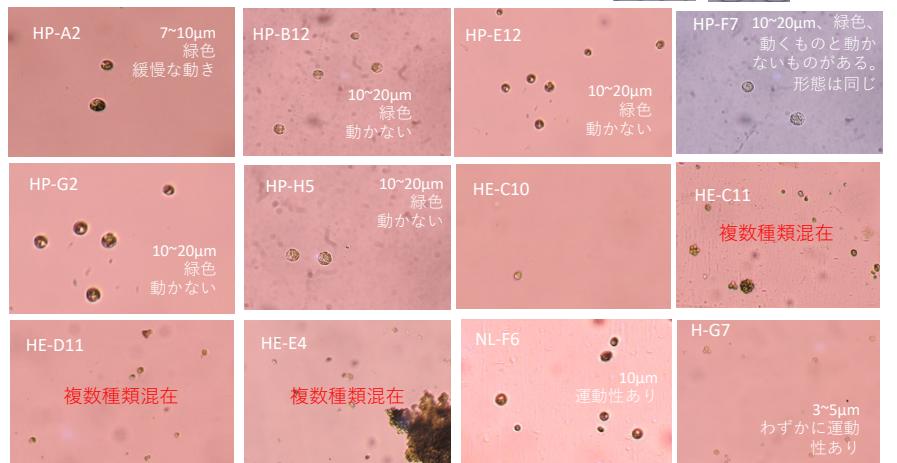


写真6、分離培養で得られた水性微生物の顕微鏡写真

【まとめ】

- <分離実験1>水耕栽培肥料液から調整した分離培地について
 - ・H液単体から発生したウエルはすくない→独立栄養性微生物はわずか。
 - ・ペプトンで増殖する→アミノ酸や微量糖、ビタミン類を要求している。
 - ・大腸菌菌体で増殖する→細菌依存性の水性微生物が多い。
- <分離実験2>微生物培養液と光条件の組み合わせ
 - ・反応が全般に弱く、純粋分離用として再検討が必要である。

【今後の計画】

- ・分離培養培地を工夫し、大型の原生生物の分離を成功させたい。
- ・純粋分離できた微生物のDNA分析による同定に取り組みたい。

参考文献：

Isolation and Culturing Axenic Microalgae: Mini-Review, Saúl Fernandez-Valenzuela et,al.THE OPEN MICROBIOLOGY JOURNAL • 10 Nov 2021 • REVIEW ARTICLE • DOI: 10.2174/1874285802115010111

「アクアポニックスの有用性実験」

近年、健康志向が高まっておりオーガニック野菜や無農薬栽培野菜を求める人が増えている。また、環境保全型農業や都市型農業など農業の形も少しずつ変わってきている。

今回は都市型農業の代表である植物工場に似たアクアポニックスに注目した。アクアポニックスとは水産養殖と水耕栽培を掛け合わせた農業で、魚の排泄物を微生物が分解し植物がそれを栄養として吸収、浄化された水が水槽に戻るといった循環型の農業である。

【目的】

アクアポニックスの有用性を水耕栽培の生育水を変えて実験を行い、魚等を飼育している水が野菜栽培に効果があるのか確かめる。また、アクアポニックス装置を作成し、導入にかかる費用や時間を確かめ導入しやすいのか考える。生物数の増減による植物の成長促進の有無を考える。

【方法】

実験 1

水道水、純水、カルキ抜きを入れた水（カルキ水）、ヌマエビ用のエサを入れた水（エサ水）、校内で捕獲したメダカとヌマエビを入れた水槽の水（飼育水）の5種類の水を用意する。切れ目を20個入れたスポンジにサニーレタスの種子を1つずつ播種し20℃設定の照明付き恒温機に入れて3週間水耕栽培した。飼育水にはカルキ水とエサが使われている。

実験 2

1週間水道水で水耕栽培（0週目）し発芽したサニーレタスを6つずつに分けて、実験①同様の5種類の水を20℃設定の照明付き恒温機に入れて3週間水耕栽培した。飼育水にはカルキ水とエサが使われている。

実験 3

飼育水の違いが植物の成長に影響を与えるのかを調べるために異なる飼育水を使ったアクアポニックス栽培（サニーレタスを栽培）を各5株ずつ行っ

た。生物種はニシキゴイ、ヒメダカ、マドジョウ、ミナミヌマエビを飼育した。

週に一回水替え（3分の1程度）と記録を取り、エサはメダカの餌で統一した。

実験 4

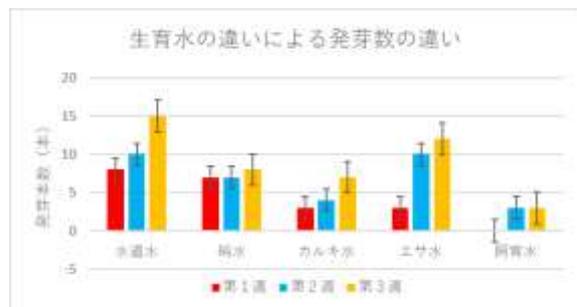
実験3のアクアポニックスから生物数が異なる飼育水を3つ用意してそれぞれ鯉を0匹と1匹と2匹の飼育水にわけて実験した。

週に一回水替え（3分の1程度）と記録を取り、エサはメダカの餌で統一した。

【結果】

実験 1

水道水が15本発芽しており1番発芽数が多かった。エサ水の1週目は少なかったが2週目以降に発芽数が増え、緑藻も生えてきて緑色になっていった。飼育水は3週間経っても3本しか発芽しなかった。しかし、発芽したサニーレタスの成長は1番良かった。〈グラフ1〉



〈グラフ1 生育水の違いによる発芽数の違い〉

実験 2

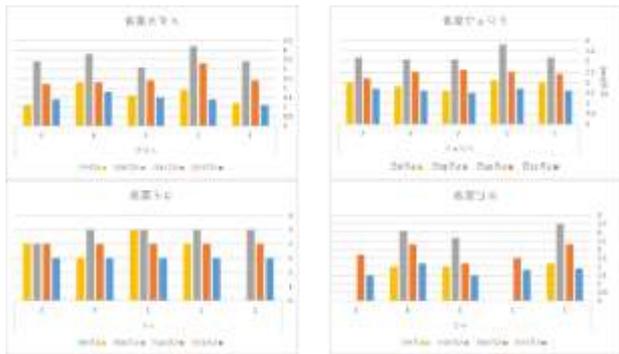
水道水、純水、カルキ水はサニーレタスが段々と赤色に変色していき、あまり成長の様子は見られなかった。エサ水、飼育水は成長を続けていき、特に飼育水の草丈が他と比べると大きく成長した。〈グラフ2〉



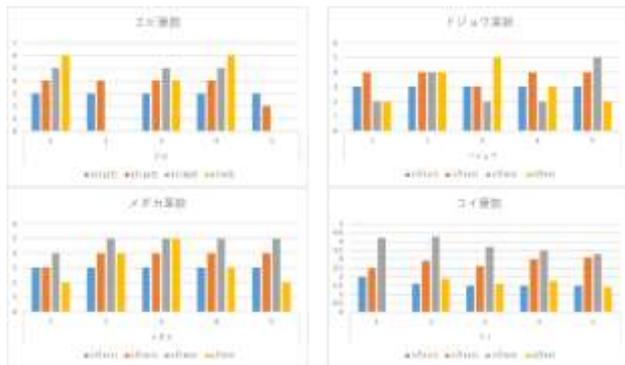
〈グラフ2 第3週目の成長記録〉

実験3

葉身、葉数と共にコイ>エビ>ドジョウ>メダカの順に生育がよく、主に（栽培3週目）の生育がよいことがわかった。<グラフ3> <グラフ4>



<グラフ3 生物の葉身の変化について>



<グラフ4 生物の葉数の変化について>

実験4

最終的な根の長さは最長と平均共に生物数が1匹のところが一番よかった。最短の長さは生物数が0匹のところだった。しかし、今回の実験は日当たりのよさなどの関係で枯れてしまっている植物も見つかったためちゃんとした実験結果ではなかったと思われる。<図6><図7>



<図6 収穫時の葉と根の様子 上から0、1、2匹区分>



<図7 実験の様子 >

【まとめ】

実験1、2より、植物を発芽させるのに適した水は水道水で、成長を促進させる水は飼育水ということが分かった。実験3、4で私達が作成したアクアポニックスで飼育する生物種は生命力が強く、よく餌を食べフンをするコイがよく、数は1匹で日当たりの良い場所がいいことが分かった。

以上のことから、アクアポニックスの有用性があると言える。また、栽培方法や使用に適した生物種の確立が出来たと言える。さらなる実験をこれからも続けていき、より良いアクアポニックスが出来るようにしていきたいと思う。

【参考文献】

株式会社アクポニ

「インビトロひまわりの培地条件検討」

【背景】

夏の代表的な花であるひまわりを、より誰でも手軽に見ることができ、プレゼントなどでも渡せるようにしたいと考え、ミニヒマワリのインビトロ化を目標に、培地の検討や発芽温度条件、植物ホルモン、光の種類などについて調べた。

【目的】

夏の代表的な花であるひまわりを、より身近に楽しめる植物として改良するために、ミニヒマワリのインビトロ化を行った。発芽や発育に最も適した条件を明らかにし、培地の種類や植物ホルモン、光の影響などが成長にどのように関わるのかを調べること、家庭でも簡単に育てられ、鑑賞用やプレゼントとしても利用できるミニヒマワリの生育方法を確立することを目的とした。

【実験1】

培地の検討をするために、MS培地と1/2MS培地、H培地にミニひまわりの種を1粒ずつ15ビンに無菌播種し8週間培養し、1週間ごとに草丈を記録した。

【結果1】

それぞれの区分を計測し、平均草丈を表1に示し、1番生育のよかったものを表2に示した。1週間ではH培地が1番生育していたが、2週間以降は、1/2培地が1番生育していた。また、発芽本数も1番多かった。しかし、開花はどれもしなかった。(図1)

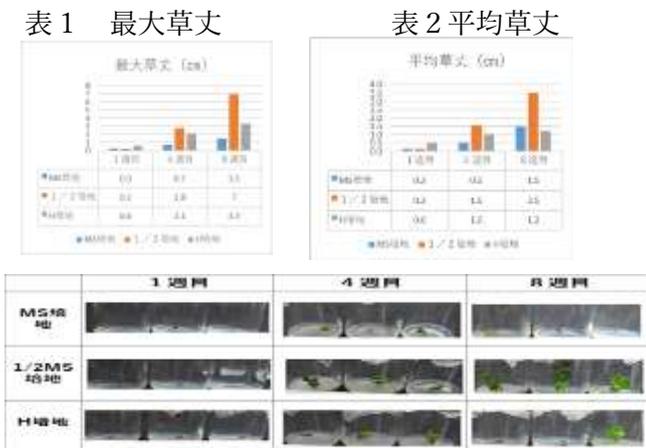


図1 ミニひまわりの生育状況

【考察1】

MS培地は栄養がかなり豊富で、H培地は園芸用肥料ベースで栄養は比較的優しめなので1/2MS培地が一番成長率がよかったのは、栄養の量が多すぎると根が弱くなり、少なかったら成長が遅くなるので間の1/2MS培地が一番成長率がよかったと考えた

【実験2】

培地の検討で発芽本数が多く、生育が良好だった1/2培地で、最適な発芽温度条件について検討するために、インキュベーターを用いて30℃、25℃、20℃、15℃の4つの区分で各20ビンに種子を1粒ずつ無菌播種し、4週間培養した。1週間ごとに草丈と発芽本数を記録した。

【結果2】

それぞれの区分を計測し、平均草丈を表3に示し、発芽本数を表4に示した。30℃と15℃はあまり生育しなかったが、30℃は1本だけ他の区分よりも成長して個体があった。25℃と20℃は1週目から生育が良好だった。発芽本数にあまり差は見られなかったが、25℃と20℃は19本と1番多い結果となった。4週目以降も様子を見たが、開花はどれもしなかった。(図2)

表3 平均草丈

表4 発芽本数



図2 温度条件の成長率記録

【考察 2】

ひまわりは温暖な気候好む植物なので、25°C付近が光合成や呼吸に関わる酵素の働きに最も適した温度であったから 25°Cが一番成長率よかったと考えた。

【実験 3】

培地の検討で発芽本数が多く、生育が良好だった 1/2 培地と、最適な発芽温度条件で 1 番発芽本数が多く見られた 25°Cで、1 番開花しやすい植物ホルモンを、2,4-D、NAA、ジベレリン、カイネチンの 4 種類を 0.1、1、10 の 3 つの濃度の区分で各 10 ビンに種子を 1 粒ずつ無菌播種し、8 週間培養した。1 週間ごとに草丈を記録した。

【結果 3】

2,4-D の結果で、0.1 の発芽本数は 10 本で、10 の一番草丈が成長したのは、3.5cm だった。
NAA の結果で、1 の発芽本数は、5 本で、0.1 の一番草丈が成長したのは、6.7cm だった。
ジベレリンの結果で、10 の発芽本数は 9 本で、0.1 の一番草丈が成長したのは、9.3cm だった。
カイネチンの結果で、1 の発芽本数は 10 本で、1 の一番草丈が成長したのは、7.5cm だった。
結果より総合的に一番良かったのは、ジベレリンだったが開花はしなかった。

【実験 4】

培地の検討で発芽本数が多く、生育が良好だった 1/2 培地と、最適な発芽温度条件で 1 番発芽本数多く見られた 25°Cで一番生育のいい光の強さを 10000lux、2800lux、1900lux の 3 つの区分で各 12 ビンに種子を 1 粒ずつ無菌播種し、8 週間培養した。1 週間ごとに草丈と発芽本数を記録した。

【結果 4】

結果を下の図で示した。発芽本数も草丈も、1900lux が一番育っていた。(図 3)
実験の結果で、1900lux の発芽本数は 6 本で、一番草丈が成長したのは、7.7cm だった。
しかし開花はしなかった。

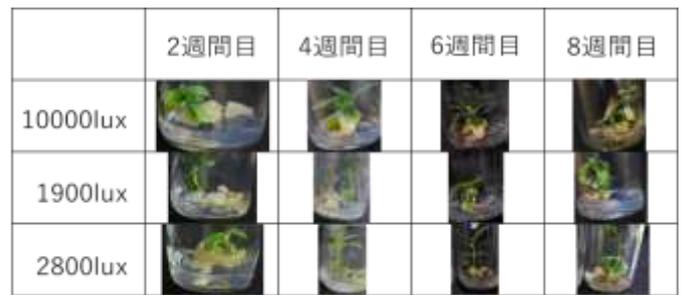


図 3 ミニひまわりの生育状況

【考察 4】

実験の結果より、ひまわりの生育にはあまり強いライトは適していないと考えた。

【まとめ】

ミニひまわりのインビトロ化に適した条件は

- ・培地は 1/2MS 培地が適している。
- ・25°Cでの培養が適している。
- ・ジベレリンで成長が促進される。
- ・ライトは少し弱めのほうが良い。

である。しかし、開花までには至らなかった。

【参考文献】

実教出版 植物バイオテクノロジーの教科書
甘草の大量増殖技術の開発
成長調整物質等を用いたクローバーの四つ葉誘導

天然酵母の分離と性質の探求

大阪府立園芸高等学校 バイオサイエンス科 微生物部

目的：身近な素材から天然酵母を分離し、性質について調べる。

はじめに：科目「食品微生物」で校内に咲く花びらから天然酵母を分離する実験を経験した。その応用編として、私たちは、入手した果実から酵母を分離し、その性質を調べた。アルコール発酵性の高い酵母（パン製造に適用）を分離できたので報告する。

天然酵母の培養

材料：5種果実



ブドウ
チリ産



メロン
熊本産



リンゴ
長野産



イチゴ
長崎産



オレンジ
和歌山産

培養開始

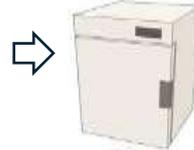
オレンジを例



150g



水道水 300ml
砂糖 150g



25°C 7日間
培養

培養後 液性変化

1. 気泡発生、アルコール臭
2. 糖度減少 (25% → 20%)
3. pH 低下 (6.0 → 3.0)

アルコール発酵現象
酵母など微生物生育
乳酸菌増殖

天然酵母の分離

生菌数検査結果
例：ブドウ
10⁷/ml
レベルの細胞数



10万倍希釈 100万倍希釈

アルコール発酵性



5.2 3.5 1.8 0.2 4.6 3.4 (cm)

パン生地膨張測定

左からブドウ、メロン、
リンゴ、イチゴ、
オレンジ、市販酵母

走査電子顕微鏡による細胞観察

酵母細胞の
形状：球形、
楕円
大きさ：は 3~7 μm



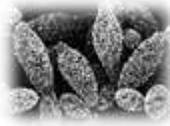
ブドウ



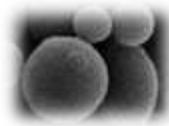
メロン



リンゴ



イチゴ



オレンジ

まとめ

天然酵母で製パン

ホームベーカリー
で製パン



ブドウ種 オレンジ種

天然酵母 分離源	系統	細胞形状	アルコール発酵性
ブドウ	A	卵形	強い
メロン	A	卵形	強い
リンゴ	B	レモン形	弱い
イチゴ	B	レモン形	弱い
オレンジ	A	卵形	強い

考察：

スーパーマーケットで手にいれた5種の果実から酵母を分離したが、2種類の酵母(A、B)に分かれた。Aはアルコール発酵性が強く細胞が卵形でBは発酵性が弱くレモン形であった。A系統の酵母を使用して製パンを行ったが膨張性に富み製パンの機能が発揮された。現在、市販されている製パン用酵母も出出しは多くの分離した酵母から製パンに有能な株を選んだと想像できる。

市販発酵乳生産菌の抗生物質耐性に関する研究

大阪府立園芸高等学校 バイオサイエンス科 微生物部

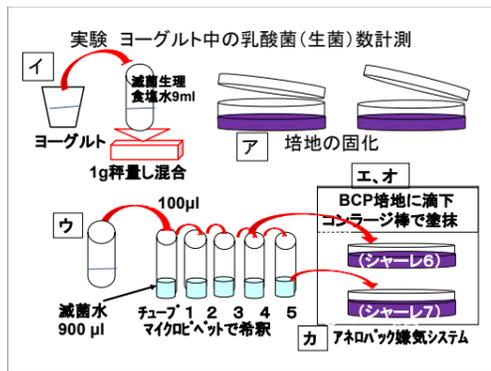
北村 夢風 坂原 一夏 喜納 明日華

はじめに：抗生物質は腸内細菌の変化をもたらし、その服用者に下痢・軟便の副作用を誘発することが多く見られる。抗生物質に起因する下痢予防・治療に乳酸菌製剤が併用されている。乳酸菌製剤の多くは乳酸菌、ビフィズス菌を含有し、腸内で抗生物質耐性の機能を発揮すると考えられている。市販発酵乳生産菌9種類について、乳酸菌製剤の可能性を検討するべく抗生物質感受性試験を試みた。試料は9種類の発酵乳生産菌前培養液と、既に市販されている乳酸菌製剤に含まれる2種類の乳酸菌 (No.10、No.11) も併せて試験した。

準備

- 1) 材料：9種類市販発酵乳 No.1 A社(I) No.2 A社(II) No.3 B社 No.4 C社 No.5 D社 No.6 E社 No.7 F社 No.8 A社(III) No.9 G社
- 2) 分離の方法は実験チャートに準じて進めた。

なお、想定される乳酸菌はNo.1、2、4、6、7、9で想定されるビフィズス菌はNo.3、5、9で培養培地として乳酸菌用はBCP寒天、ビフィズス菌用にTOSプロピオン寒天を使用した。



- 3) 試料は9種類の発酵乳生産菌前培養液と、既に市販されている乳酸菌製剤に含有する2種類の乳酸菌No.8、10、No.11も併せて試験した。

なお、市販乳酸菌製剤製造所(H社)により公表されている乳酸菌のうち、No.10の双球菌はフェーカリス菌、No.11の長桿菌はアシドフィルス菌と想定した。

- 4) 使用した抗生物質の調製

細菌に対する作用(合成阻害)の異なる抗生物質^{※1}としてアンピシリン(ABPC)とテトラサイクリン(TE)を選定した(下図)。



使用した抗生物質
左: ABPC 右: TE

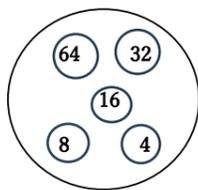
※1 アンピシリンはβ-ラクタム系抗生物質の1種で、細菌の細胞壁を作るために必要なペプチド転移酵素のDD-トランスペプチダーゼを拮抗阻害し、最終的に溶菌させる細胞壁合成阻害により、テトラサイクリンは広範囲抗菌性抗生物質で、30Sリボソームサブユニットに作用し、蛋白合成初期複合体の形成を阻害する。(抗生物質の基本的知識: 日本臨床麻酔学会誌 Vol. 37 2017 引用)

抗生物質 0.1g を

秤量し、蒸留水 10ml に溶き、無菌濾過後 128 μg/ml に希釈して調整し、冷凍保存した。

方法：ペーパーディスク法

抗生物質(アンピシリン、テトラサイクリン)の希釈液を調製し感受性試験を試みた。試験に使用する抗生物質濃度は常知られている細菌の発育阻止濃度を基準として作成し、保存した調製液(128 μg/ml)を滅菌純水で2倍列希釈を行い、濃度を64、32、16、8、4 μg/mlとした。



- 1) シャーレに 55°C に保った MRS 寒天培地 20ml を入れた。
- 2) 固化後、試料 (11 種培養液) を 100 μl 培地に撒きコンラージ棒で塗抹した。あらかじめ用意したペーパーディスク(薄手φ8mm)に ABPC と TC の希釈液 (64、32、16、8、4 μg/ml) を 30 μl 含ませた。
- 3) 滅菌済のピンセットを使用して培地表層にディスクを上図のように置床した。
- 4) 35°C で 24~48 時間嫌気培養した。

結果：培養後、ディスクの周囲に形成された阻止円の有無、その直径(mm)を計測し3回の測定値の平均値を MIC 値(μg/ml) ^{※2} として判定した(図1、2 表1)。

※2 MIC 値 (Minimum Inhibitory Concentration : 最小発育阻止濃度) は、薬剤感受性試験を実施した際、細菌の発育を阻止できる最小薬剤濃度を表し、数値が低いほどその抗生物質の効果は高い(感受性)という解釈になり、逆にその数値が高いほど効果が低い(耐性)となる。(参考) 臨床検査学会誌 Vol. 64 No. 7 2020年07月号

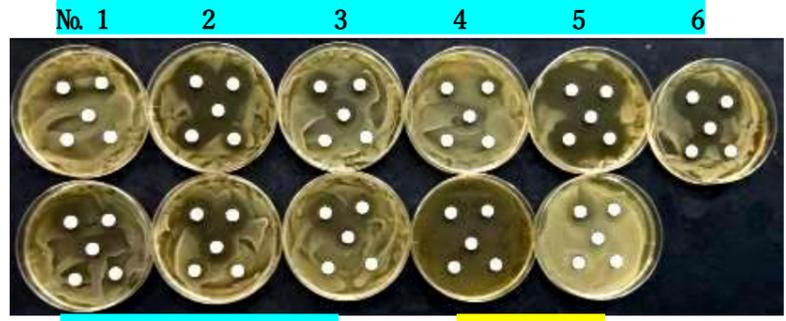


図1 市販発酵乳生産菌と乳酸菌製剤由来乳酸菌のアンピシリン感受性試験(培養例)

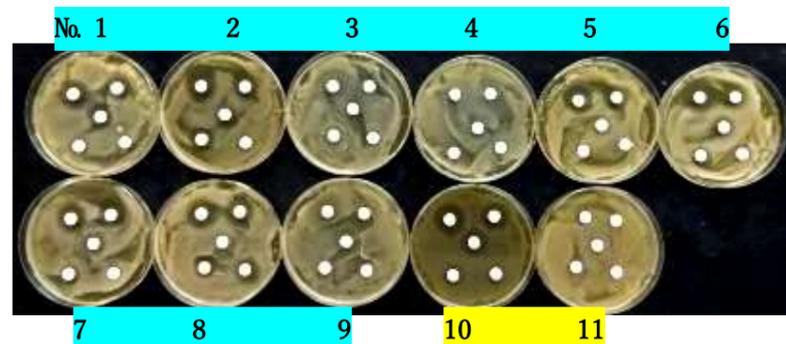


図2 市販発酵乳生産菌と乳酸菌製剤由来乳酸菌のテトラサイクリン感受性試験(培養例)

表1 市販発酵乳生産菌と乳酸菌製剤由来乳酸菌の抗生物質感受性試験(阻止円直径 mm)

試料 No.	64	32	16	8	4	MIC 値
1 ABPC	19	13	11	9	-	8
1 TE	19	14	12	10	-	8
2 ABPC	28	24	22	20	16	<4
2 TE	18	14	12	12	9	4
3 ABPC	18	14	14	9	-	8
3 TE	19	13	12	10	9	4
4 ABPC	13	13	11	-	-	16
4 TE	12	10	9	-	-	16
5 ABPC	38	30	30	28	19	<4
5 TE	18	15	11	9	-	8
6 ABPC	28	21	16	13	10	<4
6 TE	20	12	11	10	9	4
7 ABPC	15	13	12	11	-	8
7 TE	18	17	14	11	10	4
8 ABPC	20	19	19	13	9	4
8 TE	16	16	10	13	12	<4
9 ABPC	20	14	12	9	-	8
9 TE	18	14	10	9	-	4
10 ABPC	16	15	13	10	-	8
10 TE	20	17	14	12	10	4
11 ABPC	14	12	10	-	-	16
11 TE	12	11	9	-	-	16

抗生物質耐性試験において 16g/ml の MIC 値を□で記載した。

考察：

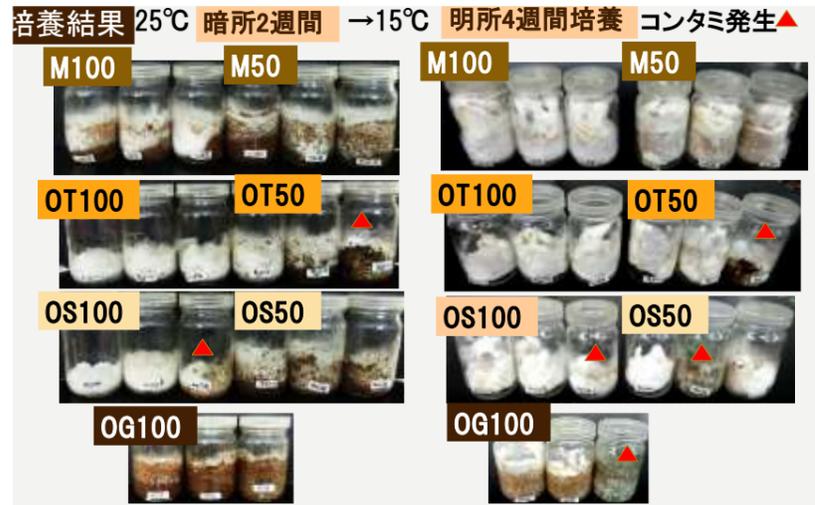
試料 (11 種) の抗生物質耐性を比較すると、アンピシリンに感受性の弱い (高耐性: MIC 値 16) No.4、11 と感受性の強い (低耐性: ≤ 4) No.2、5、6、8 と、中程度 (MIC 値 8) の No.1、3、7、9、10 に、テトラサイクリンでは感受性の弱い (高耐性) No.4、11 と感受性の強い (低耐性) No.2、3、6、7、8、9、10 と、中程度の No.1、5 に分かれた。市販発酵乳生産菌の多くは、MIC 値が <4 から 8 であったが、No.4 のように市販発酵乳生産菌、いわゆるヨーグルト生産菌においても製剤と同等の耐性を有したのもあった。No.4 は人工消化液 (胃液、腸液) にも高い耐性を示していたので、乳酸菌製剤として利用できる可能性を秘めているが、実際には、ヒト試験で効果が得られなければプロバイオティクスにはならない。アンピシリン作用機序は細胞壁合成阻害を特徴としているので、グラム陽性菌の乳酸菌には感受性を強く示し、タンパク質合成阻害かつ広域作用を特徴としているテトラサイクリンはアンピシリンより感受性が弱く作用すると思われるが、大きな差は見られなかった。今回の実験は市販発酵乳生産菌 9 菌種と 2 種類の抗生物質の組み合わせであったが、市販発酵乳生産菌と抗生物質、それぞれの種類を増加させて、今回の結果に加えて全体の傾向を探りたい。抗生物質感受性試験法について、ペーパーディスク法で行ったが、データのバラツキや再現性を求めて 3 回の実験が必要であった。阻止円の測定については、測定者により測定値が微妙に異なった。より精密なデータを作成するために、MIC 値前後のより細かな抗生物質濃度試験 (1/4 希釈など) が求められる。また、別法の微量液体希釈法も試して比較したい。

モルト粕含有培地による食用きのこ栽培の可能性

大阪府立園芸高等学校 バイオサイエンス科 微生物部 森 一太 大西 蓮 山根優大

はじめに

本研究部では、エノキタケやエリンギなど食用きのこの人工栽培に取り組んでいる。きのこの人工栽培に使用される培地に廃棄材料であるコーヒー抽出滓や竹チップ、モルト粕などがきのこの菌糸栽培に利用されていることを知り、興味をもった。廃棄材料がきのこ培地に利用できれば、生産コストの低減と環境問題の解決につながると考えた。2023年からコーヒー抽出滓、竹チップ、2024年からモルト粕が人工栽培の培地として可能性について調べた。特にモルト粕の人工栽培において良好な成績を残したので、2025年はモルト粕の添加培地でのきのこの人工栽培に着手した。

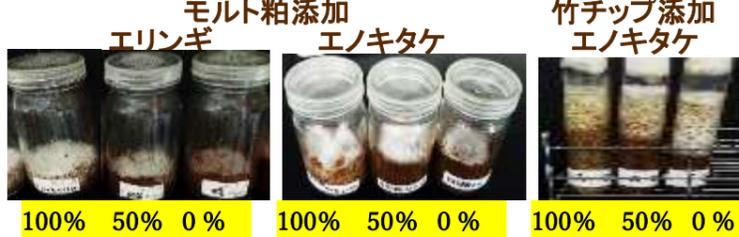


昨年度まとめ

食用きのこ人工栽培に廃材(竹チップ、モルト粕)を培地に添加した結果、利用可能であることが判明した。

菌糸生育: **モルト粕添加 → 強化**

竹チップ添加 → 同等



今年度の目標

- **モルト粕のきのこ人工栽培用培地の適正検証**
他の麦類(オートミール、押し麦)と比較
子実体形成に関する効果(重点項目)
- **ねらい**: モルト粕含有培地によるきのこ人工栽培において、生産コストの低減化と環境問題解決につながる。

モルト粕とは

ビールの原料 = 麦芽 ⇒ 糖分抽出残渣(モルト粕) ⇒ 醸造所排出 ⇒ 「農業用の堆肥」や「動物のエサ」など利用

⇒ **きのこの栄養成分に利用**

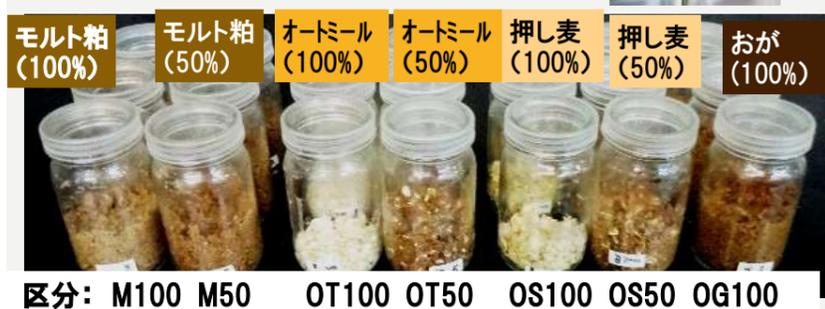


クラフトビール醸造所
マザーツリーより提供

エリンギ人工栽培(麦培地の影響)

エリンギ菌糸アガーピース(φ8mm)を7区分(3セット)の培地に置床

25°Cで暗黒下培養を開始



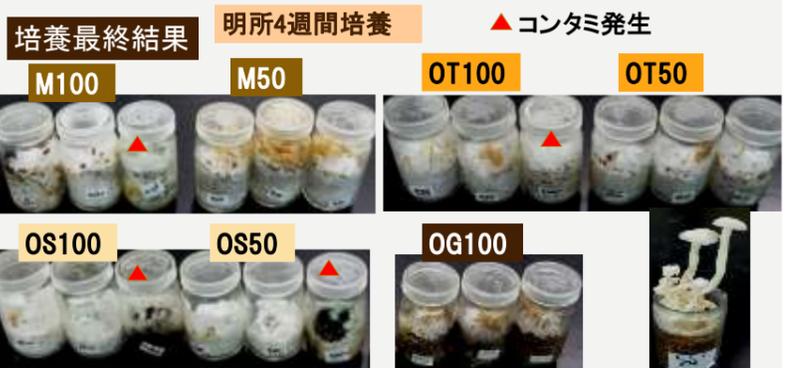
エリンギの人工栽培(培地の影響)

培地区分	菌糸生育状況 (2週間後)	子実体形成状況 (4週間後)
モルト粕100%	80%を菌糸覆う	20mm以上5本 優秀!
モルト粕50%	80%菌糸覆う	20mm以上5本
オートミール100%	100%菌糸覆う	20mm以上3本
オートミール50%	80%菌糸覆う	20mm以上3本
押し麦100%	100%菌糸覆う	20mm以上4本
押し麦50%	80%菌糸覆う	20mm以上4本
おが100%	50%菌糸覆う 菌糸叢薄い	20mm以上3本

エノキタケ人工栽培(麦培地の影響)

25°C 暗所2週間後 → 15°C

エリンギと同様の
方法で試験



エノキタケの人工栽培(培地の影響)

培地区分	菌糸生育状況 (2週間後)	子実体形成状況 (4週間後)
モルト粕100%	60%を菌糸覆う	20mm以上5本 優秀!
モルト粕50%	60%菌糸覆う	20mm以上20本
オートミール100%	100%菌糸覆う	20mm以上5本
オートミール50%	60%菌糸覆う	20mm以上5本
押し麦100%	100%菌糸覆う	20mm以上2本
押し麦50%	60%菌糸覆う	20mm以上0本
おが100%	40%菌糸覆う 菌糸叢薄い	20mm以上7本

まとめ

1. きのこ菌糸の生育培地はオートミールと押し麦100%区が良好であった。
 2. 子実体形成は、エリンギの場合モルト粕100%、50%区が良好で、エノキタケは区が最良であった。
- 以上の結果は麦類の栄養素に関係すると思い、使用した麦類の栄養成分表から考察した。菌糸生育に有効な栄養成分は糖質であり、オートミールと押し麦が考えられる。子実体形成に有効な栄養源はタンパク質と繊維と考えられ、モルト粕が該当する。結論として、おがくずにモルト粕を添加することで、きのこ子実体の生育に有効であり、きのこの栽培収量のアップが期待される。

PDA培地を赤く染める謎の微生物

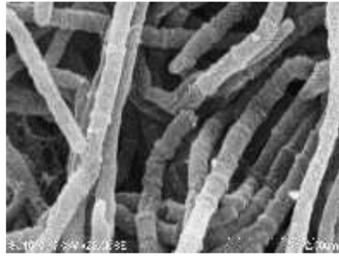
大阪府立園芸高等学校 バイオサイエンス科 微生物部

坂原一夏 北村夢風 喜納明日華

はじめに: 普段、部活で使用している実験室には多種多様な微生物が培養されている。放置された PDA 寒天培地に赤く染まっているものがあった。微生物が試験管内に混入し、その微生物が赤色物質を生産したと考えた。昨年度は微生物の特定を走査電子顕微鏡で観察した結果、放線菌の一種であることが判明した。この放線菌を X 株と名づけて研究を進めた。



赤く染まった PDA 培地



走査電子顕微鏡による未知放線菌細胞像(×10K)

(昨年度まとめ)

走査電子顕微鏡(SEM)観察

PDA 寒天に生育した X 株コロニーを切り取り試料を作成して細胞像を 1 万倍まで拡大して観察した。観察画像の菌糸幅が 1 μm 程度でかびの菌糸幅が 10 μm 程度であることから、放線菌の可能性が高いと考えられた。

赤色物質の生産に関与する培地成分の検討

未知放線菌を X 株と呼び実験を進めた。赤色生産に関与する培地成分を特定するために数々の培養試験を試みたが、成分の詳細な解明は困難であった。まとめとして、PDA 培地を赤く染める要因として、ポテトエキス成分(さつまいもやバナナも可)とブドウ糖が関与し、ブドウ糖に代替する糖の存在(ガラクトース、キシロース、マンニトールなど)や培地の弱酸性(pH4~5)が明らかになったが決定的な成分の特定に至らなかった。

赤色物質の生産に関与する培地成分の研究(継続):

(カルシウム成分添加培地の培養)

別のクラブ員が行っている実験(コンクリートのひび割れを修復する微生物の実験)で乳酸カルシウムを含有する培地(1%の乳酸カルシウム、0.5%窒素源)に X 株を接種し、培養したところ、培地が赤色に染まった(右図)。この培地はポテトエキスとブドウ糖を含まない培地であるので、カルシウム化合物が赤色物質の生産に関与する成分と考えた。ちなみにポテト 100g 中のカルシウム成分の含有量は食品成分表から 19 mg であり、カリウムの 410 mg に比べて少ない。1%の乳酸カルシウム(培地 pH6.5)と 1%の塩化カルシウム(pH5.8)、1%の酢酸カルシウム(pH7.5 から 6.5 に調整)に 1%相当の窒素源を添加した培地 3 区分に X 株を接種し、培養した。培養後、赤色を染める乳酸カルシウム含有培地に対して塩化カルシウムと酢酸カルシウム含有培地は赤色を呈さなかった(下図)。



X 株の乳酸カルシウムから炭酸カルシウム生成実験

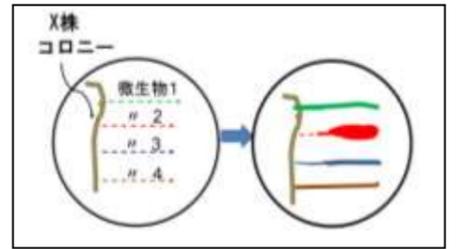
含有 Ca: 乳酸カルシウム 塩化カルシウム 酢酸カルシウム



図 15 X 株のカルシウム含有培地の培養試験

X 株の抗菌性試験:

放線菌は抗生物質を生産するものが多く、製品の約 2/3 が放線菌由来であると知られている。X 株の抗菌性を調べるべく細菌等の感受性試験(交差画線法)を試み判定した。



放線菌に対する X 株の感受性試験を上記のように想定した。交差画線法は放線菌コロニー(画線)に対して細菌等を直角方向に画線接種し(X 株と被検菌に 1mm の空白)、培養後に細菌等の形成されたコロニーの形から放線菌に対する感受性を調べる方法である。被検菌は大腸菌(G-)、枯草菌(G+)、コクリア菌(G+)、市販の製パン用酵母、検定用酵母、市販米麹由来コウジカビ、クモノスカビの 7 種類の感受性を調べた。なお、コクリア菌(*K. rhizophila*)は抗生物質の力価試験等に広く用いられている細菌である(nite 資料を参考)。



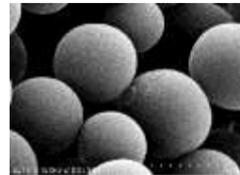
大腸菌(NBRC3301)



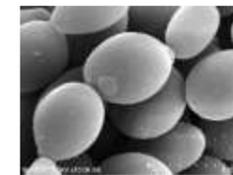
枯草菌(NBRC3134)



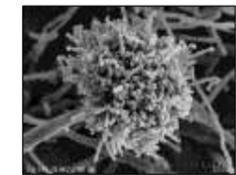
コクリア菌()



市販製パン用酵母

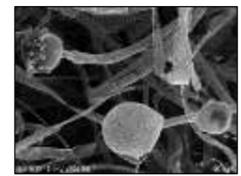


検定用酵母(NBRC10217)



市販コウジカビ(米麹由来)

方法: あらかじめ、放線菌 X 株をワックスマン寒天培地(成分: グルコース 1%、ペプトン 0.5%、肉エキス 0.5%、NaCl 0.3%)の左部に画線接種し、形成されたコロニー



クモノスカビ(NBRC31005)

(バンド)を作成し、7 種被検菌をコロニーに対して直角に画線接種し 30°C で 3 日間培養した。

結果と考察: 培養後の観察(下図)から枯草菌とクモノスカビのコロニーは狸の尻尾の様な形で放線菌コロニー近辺ではコロニーが薄く、遠ざかるにつれて太くなっている。確実に感受性有すると判定できる。他の菌種は感受性は見られなかった。被検菌の種類により抗菌性を発揮すると考えられる(表参照)。また、X 株コロニーと真菌類コロニーの接触近辺において培地が赤く染まっていた。仮説として、放線菌 X 株と真菌類の複合培養により、X 株の色素生産能力の変化が原因かも知れない。



図 X 株に対する 7 種微生物の感受性試験
被検菌-シャーレ上部からの順
左: 大腸菌、枯草菌、コクリア菌、製パン用酵母
右: 検定用酵母、コウジカビ、クモノスカビ

表 X 株に対する細菌等の感受性試験結果判定

No.	被検菌	感受性	抗菌性
1	大腸菌	無	-
2	枯草菌	やや有	+
3	コクリア菌	無	-
4	製パン用酵母	無	-
5	検定用酵母	無	-
6	コウジカビ	無	-
7	クモノスカビ	やや有	+

課題と展望: PDA 培地を赤く染める要因に乳酸カルシウムの存在、他菌種の複合培養が浮上し解明に向けて取り組むとともに、放線菌 X 株の DNA 分析を行いよりはっきりとした種類を特定し、後の実験の参考にしたい。

藍生葉染色の酵素反応条件に関する研究(25年度版)

～蓼植物の紫染めに関して(考察)～

バイオサイエンス科 課題研究 (バイオ生産専攻A)

北村夢風 喜納明日華 坂原一夏 大西蓮 森一太 山根優大

はじめに

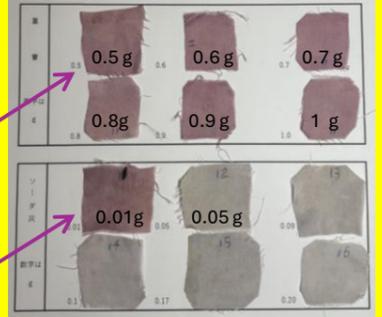
私達は2年間、課題研究(バイオ生産山下班)において工芸教育に長年携わってこられた桑田芳治先生(前神戸芸術工科大学特任教授・元本校校長)に藍生葉染色に関する実験の指導を受けてきました。圃場で栽培し刈り取った蓼藍生葉を材料に実験に取り組みました。取り組んだ実験は絹ポケットチーフ、ストール、綿Tシャツ(叩き染め)などの生葉染めなど多岐に渡りました。その中でも超難関である紫染を2年間挑戦し、成功に至る反応条件を検討してきた結果を報告します。



紫染めに使うアルカリ剤の量と効果の確認

重曹には緩衝作用があり使い勝手がよい。粉末の量が多くなるので錠剤のように固形化できればOKである。染料液40mlでの量 g

ソーダ灰は最も少量ですむので良いが計量できる機器が限定されているのが難点。染料液40mlでの量 g



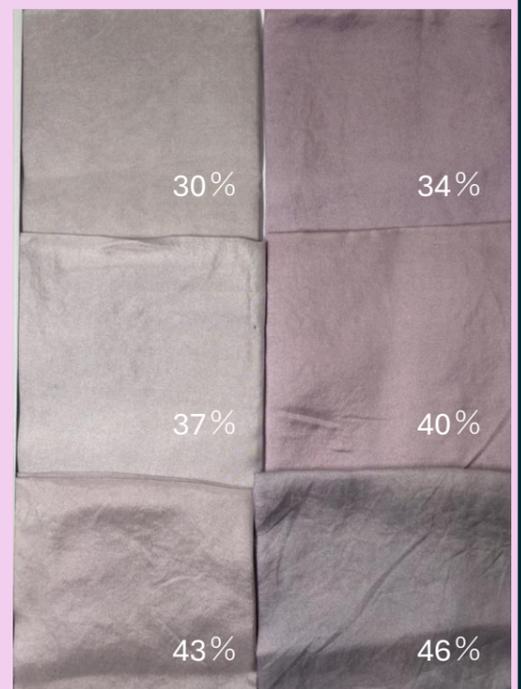
生葉を電子レンジで高温乾燥し酵素を失活させた葉と自然乾燥してインジゴを作り酵素を残した葉による紫染め

①の写真は牛田先生の「蓼藍の生葉による紫染め」にあるエタノールの使用と絹の染まりがよくなるようソーダ灰液を事前に布に含ませ絞らず乾燥させる方法に習って染めたものです。生葉は使えなかったため高温乾燥葉と自然乾燥葉は乾燥後の同重量を使用しました。インジガンは沸騰5分、葉の量は生葉換算で布の5倍量です。酵素は葉を細かく砕き水出しで8時間経過後、葉を濾し取って、エタノールを加えたインジガン液に酵素液を加えて30分反応を待ち、染色開始しました。授業の終了時刻が迫ってきたため60℃程度まで加熱しています。日が経つうちに少し赤みが増えたように思われます。



写真①

②の写真は3年生最後の授業での紫染めです。①の結果からエタノールが酵素の働きを抑制する為に使われていると考え、自然乾燥葉の重量を高温乾燥葉の30%から46%の6段階とし赤色と青色の濃淡が現れることを期待しました。右下のが青みが強いのは納得のいく結果です。中断と上段の右側の2枚は赤みが強く左側の2枚との違いは加温時間や温度の違いによるものかなと考えています。この実験では絹布をソーダ灰液には浸していません。また、日が経つうちに少し赤みが増えたように思われます。



写真②

藍染めについて

日本で藍染に使われている植物はタデアイとリュウキュウアイです。蓼藍は青森でも育つ草です。琉球藍は名の通り沖縄の気候で育つ低木です。室内で育ててみましたが冬越しが出来ませんでした。染色に使われない東洋蘭のエビネにも根を除く葉、茎、花の細胞に藍染ができるインジカンとそれを分解する酵素があります。インジガンは細胞内の液胞に、分解酵素は細胞内の葉緑体の中にあり、葉が切り取られ細胞が潰される以外に両物質が接触することはありません。藍染に使われる染(すくも)は乾燥した蓼藍の葉を発酵させたもの、琉球藍の葉を水中で発酵させ葉を除去し沈んだインジゴを含む泥が泥藍です。

蓼藍、琉球藍の生葉染め

インジカンとそれを分解する酵素が接触するとインジガンはインドキシルとグルコースに分解され、インドキシルは別のインドキシルと結合してインジゴとなります。インジゴは青色ですが水に溶けないので、そのまま布を染めることはできません。しかし絹や羊毛のようなタンパク質繊維にはインドキシルを繊維上に留めることができる部分が無数あり、染料液中に浮遊するインドキシルが繊維に留まっているインドキシルと結合して青色に染まります。綿や麻のような植物繊維にはインドキシルを繊維上に留める部分がないため、蓼藍などの生葉ジュースに浸して染めるような方法では染めることが出来ません。生葉染めの最も手取り早い方法は、蓼藍の葉をミキサーにかけて生葉ジュースを作りその中に絹布を入れて15分ほど待てばOKです。布の重さの10倍ほどの生葉で爽やかな青に染まります。

「蓼藍による紫染め」がテーマになった経緯

琉球藍の生葉染めに使った染料液を加熱すると容易にインドキシルが酸化してイサチンとなります。イサチンとインドキシルの結合でインジルビンという赤い物質ができます。蓼藍の生葉ジュースでは加熱してもイサチンができるまでに時間がかかるようです。蓼藍の生葉ジュースは中性ですが、琉球藍は弱アルカリ性であるという情報を見つけ、蓼藍の生葉ジュースを弱アルカリにしてみると見事に美しい赤紫の絹布を手にすることができました。美しい赤紫色を安定的に再現する技法研究をバイオサイエンス科の研究課題にしないかと桑田先生から話があり、特別非常勤講師として取組んでいただくことになりました。

蓼藍による紫染め

生葉による紫色の染色はインドキシルとイサチン(染液中に浮遊しているインドキシルが酸化したもの)が結合することで出来るインジルビンの赤色とインジゴの青色が混ざった色です。インジルビンも、水には殆ど溶けない色素で絹布への染着はインジゴと同じです。武庫川女子大学の牛田先生の「蓼藍の生葉による紫染め」で使用したエタノールはインジカンを加水分解する酵素の働きを抑制するためと考えました。予めソーダ灰を絹布に染み込ませたのは被染布に近いインドキシルをイサチンに変化させるたというヒントを得た試行の報告です。

謝辞:

藍の実験・研究を進めるにあたり、実験準備や材料の提供など大変お世話になりました。最終目的である藍の紫染にも成功し終えることができました。2年間のご指導、ありがとうございました。厚く感謝申し上げます。



コンクリートのひび割れを修復する微生物の研究

大阪府立園芸高等学校 バイオサイエンス科 微生物部

兵坂虹汰 大澤歩夢 北中宏幸 岡本瀬漣 下田泰士

はじめに

ふと見たテレビに驚いた。その内容は「pH11、ひび割れが勝手に直るコンクリート！秘密は練り込まれた微生物に！？」で不思議に思えてネット検索して調べてみた。なんと、数年前から微生物によるコンクリートひび割れ修復技術が利用されていた。コンクリート修復技術材料の分野では、微生物代謝機能を活用した「自己治癒コンクリート」がシェアを拡大しているという。微生物がひび割れを修復する原理は、微生物が材料に含まれる乳酸カルシウムを摂取し、炭酸カルシウムを排出することで、この炭酸カルシウムがひび割れを埋めることにある。化学式は以下の通りである。



微生物部では、実験に使用する多種類の微生物（細菌、酵母、かび、キノコなど）を保存している。これらの保存株が乳酸カルシウムを分解し、炭酸カルシウムを排出する可能性を調査した。その結果を報告する。

実験1. 乳酸カルシウムを消費する微生物のスクリーニング(資化性試験)

資化性とは：微生物が利用することを資化といい、微生物が栄養源として利用することが主な意味になる。

試験用培地の作成

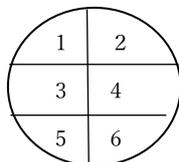
1%の栄養剤（No.1 乳酸カルシウム、No.2 ブドウ糖の2区分）、1.5%の寒天、5%の窒素源基本成分（酵母ニトロゲンベース 10%、酵母エキス 0.1%、カザミノ酸 0.1%の無菌濾過液）を **試薬：乳酸カルシウム** 含む培地を pH 6.0、7.0、8.0 の3区分に調整した。



試験する微生物種類 18 種 (No.)

- A 班：1. コクリア菌 2. 大腸菌 3. 枯草菌 4. 納豆菌
1(宮城野) 5. 納豆菌 2(あづま) 6. 納豆菌 3 (おかめ)
B 班：1. 乳酸菌(ピスコ) 2. 酢酸菌 3. 未知分離放線菌
4. 製パン用酵母 5. 天然酵母(チーズ由来) 6. 天然酵母(ブドウ由来) C 班：1. コウジカビ 2. クモノスカビ
3. きのこと (エリンギ) 4. きのこと (エノキタケ)
5. きのこと (靈芝) 6. きのこと (ヤコウタケ)

試験方法：作成した平板培地（内径 9cm のシャーレ）の指定位置に微生物保存株（コロニー）の 1 白金線を接種した。30°C で 1 週間培養した。観察は接種した微生物コロニーの大きさ（直径 0.5mm 単位）を定規で計測し、乳酸カルシウム培地のコロニー **微生物の接種位置** の周囲に形成された炭酸カルシウム（仮定）量にも注目した。



試験結果：培養後、接種した 18 種類の微生物のうち 11 種類 (A1, 2, 3, 4, 6 B3, 4, 5, 6 C1, 2 **黄色字**) はコロニーを形成したので、乳酸カルシウムを栄養源（エネルギー源）として利用できることが判明した。また、コロニーの大きさから判定すると、乳酸カルシウムはブドウ糖と同等かそれ以上消費される結果となった（図 1）。さらに、乳酸カルシウム培地を栄養源として利用できる微生物はコロニーの周囲に物質を析出した。培地 pH による大きな影響は見られなかった。

pH 6.0 7.0 8.0

乳酸カルシウム含有

ブドウ糖含有



図 1 微生物の乳酸カルシウム資化試験(例 C 班) シャーレを 6 分割し、上部左にコウジカビ、右上にクモノスカビ、中央左にエリンギ、右上にエノキタケ、下部左に靈芝、右上にヤコウタケを接種

こうじかびやクモノスカビ、枯草菌、製パン用酵母、チーズ由来天然酵母は特に析出量が多かった。コウジカビなどは菌糸生育と連動して同心円状に物質が形成され（アウターバンド）、酵母は生育したコロニーの周囲に不定形な物質を形成した。なお、培養後のシャーレには他の微生物や雑菌（コンタミネーション）の影響で観察結果が十分でなかったため、該



図 2 微生物単体の乳酸カルシウム資化試験 (例 左: 枯草菌 中央: チーズ天然酵母 右: コウジカビ) を単体で培地に接種し、完成した析出像を得ることができた(図 2)。

実験 2. 走査電子顕微鏡による乳酸カルシウム分解物の確認

試料は接種した A3 枯草菌、B5 チーズ由来天然酵母、C1 コウジカビが乳酸カルシウムを分解した培地をメスで寒天ごと切り取り、試薬を使用して固定、脱水、乾燥を施して作成し観察した。析出部位を 100 倍で撮影後、1000 倍に拡大して観察した(図 3)。

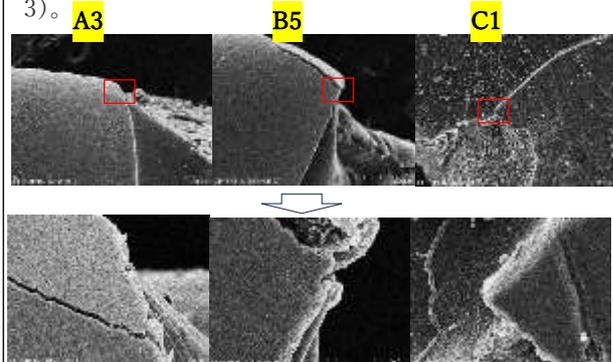


図 3 走査電子顕微鏡による乳酸カルシウム分解物の観察(画像上部: ×100 下部: ×1.0K)

培地寒天の上部に物質が析出したのは、微生物の働きと考えられる。析出物質が不溶性であることから、炭酸カルシウムと推定できる。

今後の展開 乳酸カルシウムを炭酸カルシウムに変換できた微生物を高アルカリ栄養培地の資化性を試験し、優良な菌種について、実際にコンクリートのひび割れ修復試験を行い、その効果について検討したい。

インビトロエリンギの人工栽培の条件検討

大阪府立園芸高等学校 バイオサイエンス科
微生物部 森 一太 大西 蓮 山根優大

はじめに：

微生物部の先輩は24年度の記念祭発表や卒業発表でインビトロエリンギを披露した。きのこの人工栽培において子実体の形成が容易な品種はエリンギで子実体形成に苦労した報告を受けた。私たちはエリンギの生育条件について一から再検討したいと考えた。



エリンギとは

□学名 = *Pleurotus eryngii*
□分類 = ヒラタケ科ヒラタケ属 担子菌類、食用キノコ
□原産 = イタリア、フランスなど地中海性気候地域を産地とし、主にセリ科ヒゴタイサイコ属（エリンギウム）の植物エリンギウム・カンペストレの枯死した根部を培地として自生することから命名

□形態 = 子実体の傘の直径は4~5cm、軸は長さ10cm
胞子は楕円（SEM観察で確認）



□利用 = シャキシャキした歯応えがあり、香りはなく料理の材料に使用（要加熱）

実験：エリンギの人工栽培条件の検討

一般に、冬きのこ（エリンギやエノキタケなど）の生育条件、例えば、温度条件：菌糸 25℃、子実体 15℃、培地 pH: 5.5~6.5といわれている。人工気象機での栽培において最適な生育条件を検討するために実験を開始した。

実験1：培養温度によるエリンギの菌糸伸長に及ぼす影響

温度設備：15℃、20℃、25℃、30℃設定のインキュベーター
種菌：エリンギ（継代培養株）

方法：PDA培地をシャーレに採り固化しあらかじめ培養した各きのこ菌糸をコルクボーラー（口径6mm）で打ち抜きそのアガーピースをPDA培地中央に置床した。各温度で培養（10日間培養）し3、5、10日後に観察し、菌糸の伸長を測定した。

結果

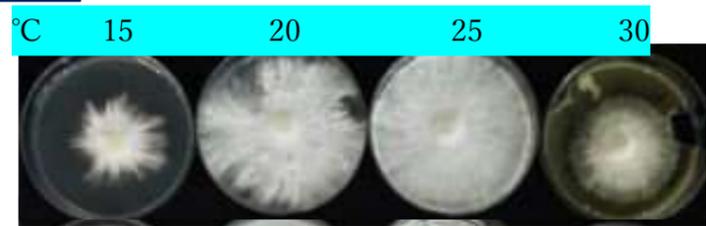


図1 培養温度によるエリンギの菌糸生育(10日後)

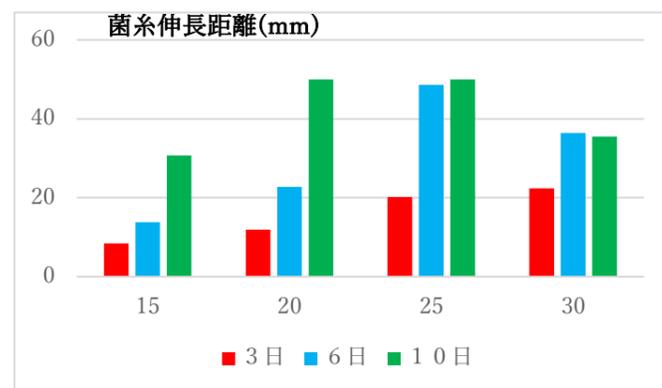


図2 エリンギの菌糸生育温度(経過)

実験2：培地 pH によるエリンギの菌糸伸長に及ぼす影響

試験区分：pH 区分 5.0 5.5 6.0 6.5 7.0 7.5 8.0

方法：実験1と同様にシャーレ(各区分)の培地中央に置床し培養温度を暗黒下、25℃で10日間培養し菌糸伸長を測定した。

結果

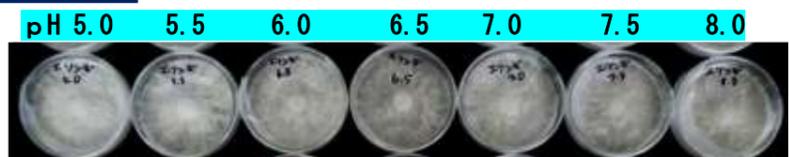


図3 培地 pH によるエリンギの菌糸生育(10日後)

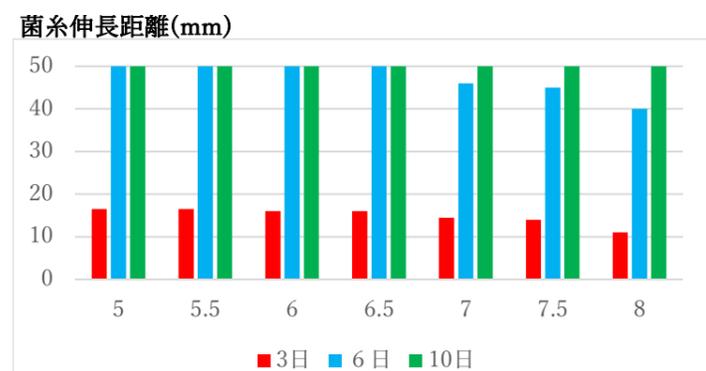


図4 培地 pH によるエリンギの菌糸生育(経過)

まとめ：

- 菌糸培養の最適温度は25℃程度が多く想定どおりであった。
- 培地 pH において弱酸性（5~6）の範囲で最大の生育速度を示した。

今後に向けて：エリンギの栽培条件を踏まえて子実体大量増殖法の検討に着手する。

イカから分離した発光細菌の研究(その4)

大阪府立園芸高等学校バイオサイエンス科 微生物部 岡田峻聖

はじめに：2021年、当時、微生物部の先輩は、果実など身近な植物から酵母の分離以外に海洋資源のイカや魚に付着している微生物を研究材料にしたいと考えた。イカや魚に付着している発光細菌の純粋分離、分離後の発光細菌の性質を調べたのがそもそもの始まりである。今では、その発光細菌を使用してイベントなどに利用している。具体的には、「イカ発光細菌でお絵描き」を企画し、年間3~4回のイベントを実行してきた。今年度は8月の大阪産業教育フェア、11月の記念祭、同じ11月の中学生体験入学で、延べ約100名にバイオアートを体験してもらった。



大阪府産業教育フェアの様子

○ 研究課題：

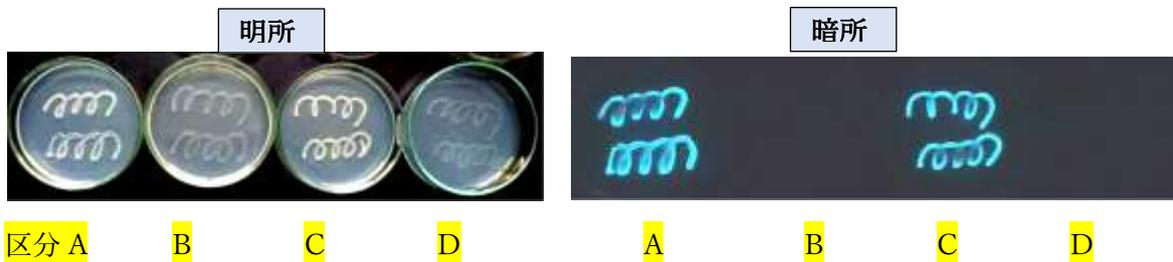
背景としてイカ発光細菌は多くの実験者によりイカなど海洋魚介類から分離されている。園芸高校でも5年前からイカ発光細菌を分離し培養してきた。課題として発光する時間が2~3日で発光時間の持続があげられる。これまでの研究では、食塩を主とする培養培地（栄養成分）にはグリセリンの添加が増殖を促す要因であった。昨年度、グリセリンは糖アルコールの一種なので、他の糖アルコール（キシリトール エリスリトール マンニトール ソルビトール）について発光量増大の効果を調べたが不調に終わった。今年度は、イカなどの体内成分である2-アミノエタンスルホン酸の添加培地についてまだ実験していないので試みる。

実験方法：培地の作成は4区分（A、B、C、D）として基本培地の人工海水、ペプトン、酵母エキスとグリセリン0.3%と2-アミノエタンスルホン酸0.3%、寒天2%分に設定した。区分Dははコントロール(c)とした。培地の固化後、発光細菌元株を綿棒で塗抹し接種した。20℃で24時間培養し明所、暗所で観察しコロニーの生育状況と発光量を調べた。

基本培地成分	
人工海水	3.6%
ペプトン	0.25%
酵母エキス	0.05%

培地区分 成分	基本	グリセリン	2-アミノエ タ ンスルホン酸
A	○	○	
B	○		○
C	○	○	○
D (フリー)	○		

結果：培養して24時間後の観察



考察：

24時間後の比較では区分A、Cに強い発光が見られ、コロニーの生育量と発光量において、区分AとCが他を凌駕した。2-アミノエタンスルホン酸の効果は見られなかった。今後も、発光細菌の増殖量と発光量の要因を調べるべく研究に取り組んでいきたい。

生分解性プラスチックを分解する微生物の探索

大阪府立園芸高等学校 バイオサイエンス科 微生物部
兵坂虹汰 大澤歩夢 北中宏幸 岡本瀬漣 下田泰士

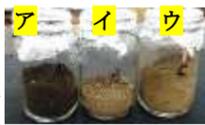
はじめに

プラスチックは安価で腐らない特徴からさまざまな分野で利用されてきた。一方、自然環境下で分解されにくい性質があるために、使用後の処理に困難を伴い環境問題の原因となっている。近年、プラスチックの環境汚染は地上だけでなく海洋でも起こっており生物被害例が多く報告されている。プラスチックのうち環境にやさしいプラスチック、いわゆる生分解性プラスチックが利用されてきた。自然界ではゆっくりと分解していくが、もっと速やかに分解することができる微生物を利用することが期待されている。そのような微生物を分離したいと思い、参考文献*を基に本校の土壌から生分解性プラスチック分解菌の分離を試みた。なお、生分解性プラスチックはPLA(ポリ乳酸)粉末を使用した。

分解菌の分離

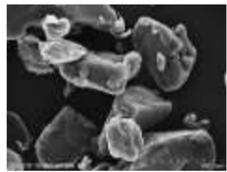
方法

1. 供試土壌と試料
分離源の土壌は、校内3ヶ所(ア:バイオ科実習農場、イ:実習庭園、ウ:バイオ科東実習農場)から採取した。培養は細菌と放線菌に分け、区分は細菌用として3種類、放線菌分離用として1種類の培地を調製した。PLAは台湾製100メッシュ粉末を使用した。



培地成分配合例(250ml)

PLA 粉末 1.5g
細菌用 A (50倍濃縮)
KH₂PO₄ 0.1%
K₂HPO₄ 0.1%
(NH₄)₂SO₄ 0.1%
酵母エキス 0.01%
細菌用 B (100倍濃縮)
NaCl 1g
CaCl₂·2H₂O 0.2g/100ml
細菌用 C (100倍濃縮)
MgSO₄·7H₂O 2g
FeSO₄·7H₂O 0.1g /100ml
放線菌用 デンブン 1%
NH₄Cl 0.025%
K₂HPO₄ 0.025%
寒天 1.5%



PLA 粉体のSEM像(×1.0K)

2. 分離方法の手順

滅菌水 9ml の入った培養試験管に土壌を 1g 入れよく振り混ぜて静置
↓
滅菌済の専用培地を加熱溶解して、シャーレに注ぎ平板化
↓
培地の固化後、土壌懸濁後の上清の希釈液 (10⁴、10⁵) 10 μl を培地に撒きコンラージ棒にて塗布

30°Cで7日間培養

結果

培地上にハローを形成したコロニー(図1)をPLA分解候補菌としてマークした(図1)。分離源土壌(ア、イ、ウ)より分離された候補菌を表1にまとめた。マークした候補菌の純粋分離を目的として継代培養を行った(図2)。

表1 土壌由来PLA分解菌のスクリーニング

No.	菌名	分離源・培地	希釈濃度	コロニー数・表層色(中心色)	スケール(mm)コロニー・ハロー
1	アB	ア B	10 ⁴	3 灰	4・6
2	アC	C	10 ⁴	灰(暗緑)	7・9
3	アD	デンブン	10 ⁴	2 黄緑	2・4
4	イA	イ A	10 ⁴	2 灰白	2・3
5	イB	B	10 ⁴	2 黄褐	3・5
6	イC	C	10 ⁴	5 黄褐	4・6 (unclear)
7	イD	デンブン	10 ⁴	8 灰	4・5 (unclear)
8	ウA	ウ A	10 ⁴	2 褐	3・4
9	ウC	C	10 ⁵	4 暗灰	8・10
10	ウD	デンブン	10 ⁴	10 淡赤	2・4

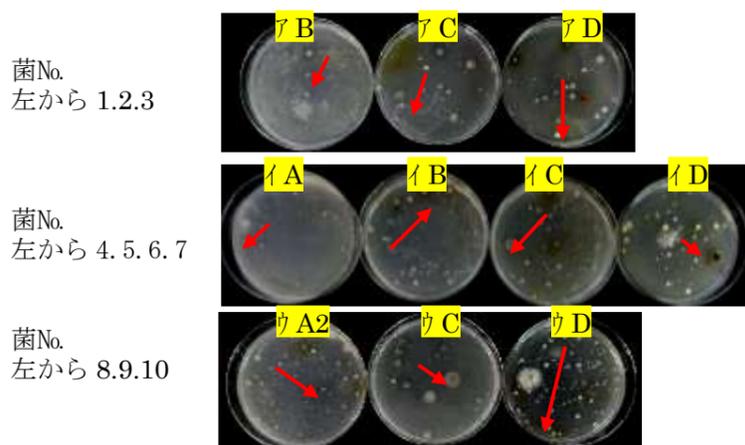


図1 土壌由来PLA分解菌のスクリーニング(プレートの上段はア、中段はイ、下段はウの土壌由来で、培地は細菌用をA、B、C、放線菌用をDと区別)

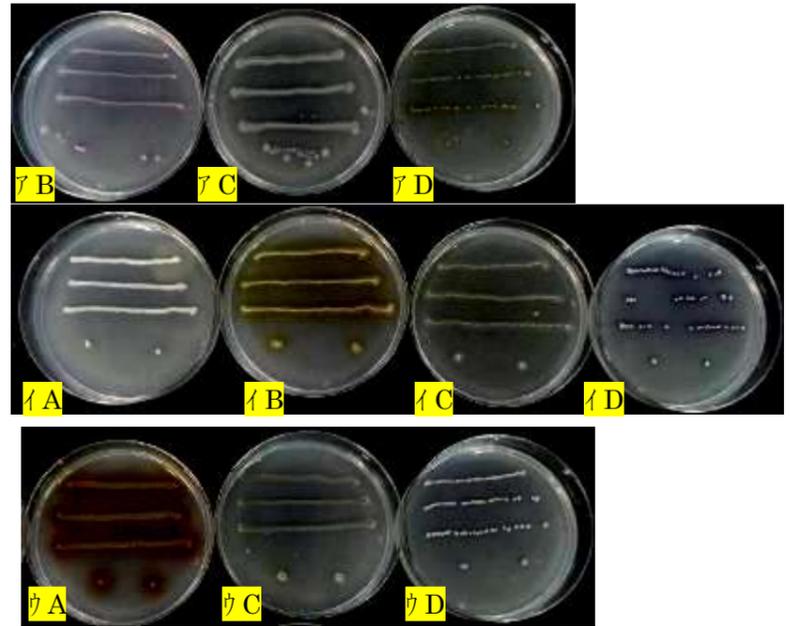


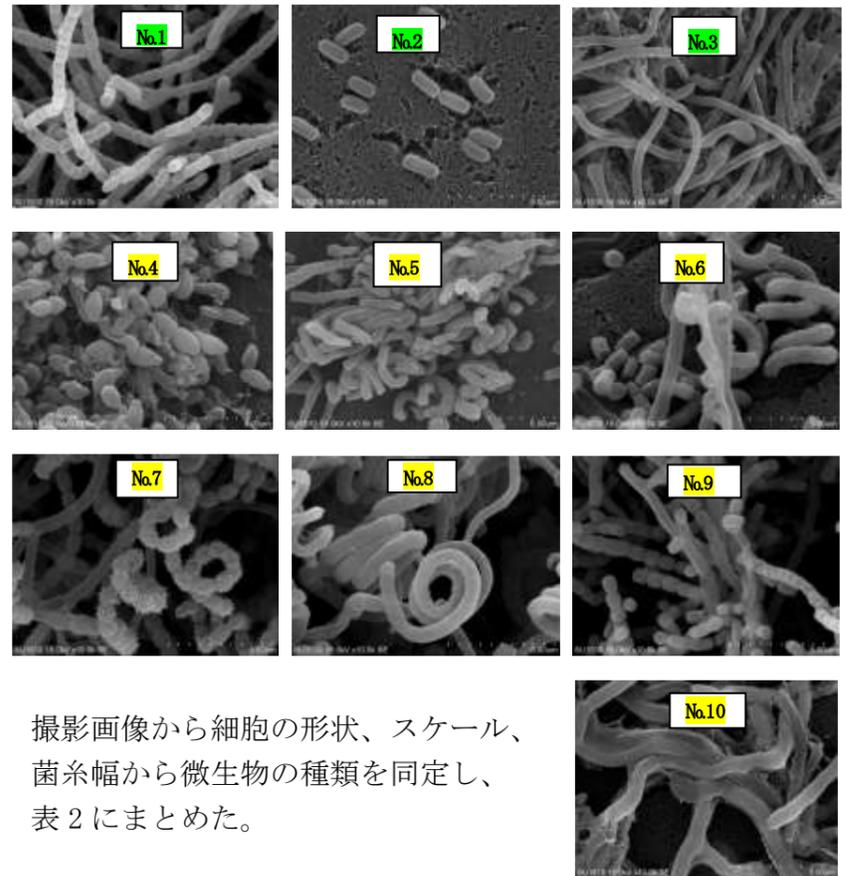
図2 PLA分解菌の純粋分離

培養培地区分:細菌用(A、B、C)、放線菌用(D)

10種類のPLA分解候補菌の純粋分離に成功した。候補菌コロニーの周囲には、明瞭にハローが形成された。

分解菌の微生物種同定

走査電子顕微鏡によるPLA分解候補菌細胞を調べることで菌種を同定した。画像は10.0Kの倍率で撮影した。



撮影画像から細胞の形状、スケール、菌糸幅から微生物の種類を同定し、表2にまとめた。

表2 土壌由来PLA分解菌の微生物同定

菌No.	形状	スケール・菌糸幅(μm)	微生物種類
1	菌糸状(孢子連鎖状)	菌糸幅 0.89	放線菌
2	桿状	2.56×1.23	細菌
3	菌糸状	菌糸幅 0.65	放線菌
4	短桿状	1.56×1.11	細菌
5	菌糸状	菌糸幅 0.79	放線菌
6	菌糸状	菌糸幅 0.98	放線菌
7	菌糸状(累線)	菌糸幅 0.88	放線菌
8	菌糸状	菌糸幅 1.02	放線菌
9	菌糸状	菌糸幅 0.82	放線菌
10	菌糸状	菌糸幅 1.232	放線菌

土壌より分離したPLA分解候補菌は放線菌と細菌で圧倒的に放線菌が多かった。今後、これらの分離菌の他の生分解性プラスチックの分解性について検討したい。

参考文献

土壌における各種生分解プラスチック分解菌の定量(技術報告) 福田和弘(徳島県立工業技術センター)

第20回全国高校生パンコンテスト入賞をめざして

2年課題研究食品製造班

今年で20回目を迎える静岡県伊豆の国市で開催される全国高校生パンコンテストの入賞を目指して、バイオサイエンス科2年生の課題研究食品製造班の生徒が作品を応募した。

今年度は、「カリフォルニアレーズン部門」「カリフォルニアクルミ部門」「伊豆の国トマト部門」「地産地消部門」の4つの部門があり、本専攻の生徒21名がそれぞれの部門に作品を出品した。

結果としては、全国241点の作品の中から、1名の生徒が書類審査を通過し1月17日～18日に静岡県伊豆の国市実施された実技審査に出場し、特別賞（日清製粉賞）を受賞した。

【応募作品に一例】



【コンテストの様子】



第2回豆料理・スイーツ日本一決定戦に向けて

2年課題研究食品製造部

相愛大学管理栄養学科が主催する第2回豆料理・スイーツ日本一決定戦の入賞を目指して、バイオサイエンス科2年生の課題研究食品製造部の生徒が作品を応募した。

結果としては、予選を通過した2チームが2025年8月17日（日）に相愛大学で開催された本戦に出場し、学園長賞とアイディア賞を受賞した。

【本戦に出場した作品】



大豆おはぎ



大豆キャラメル

【本戦の様子】



農産物の有効利用 Part VIII

バイオサイエンス科 3年農産加工班

【はじめに】

農産加工班では、専用の圃場で栽培した各種野菜や他科より譲り受けた廃棄農産物を使い、その有効利用法の研究に取り組んできた。それらの経験をもとに、本年度は日持ちの悪い野菜をいかに有効に利用するかポイントを絞り取り組みを行った。

【計画と経過】

1. 新たな漬物にチャレンジ

漬物は日本古来の野菜保存法として生み出され、日本各地で様々な種類の漬物が製造、販売されている。農産加工班でも栽培したダイコン、カブ、葉物野菜を使用し、数種類の漬物を製造し販売を行っており、地域にも広く知られるようになった。

本年は3年生の1チームが今までに無い新しい漬物製造に取り組んだ。それは、オクラを使用したものであり、エノキやニンジンともコラボを試した斬新なものであった。



2. 野菜パウダーの利用

多くの野菜の最大の弱点は日持ちの悪さである。そこで、食品ロスを目標に野菜を乾燥させ、パウダー化し利用することに取り組んだ。



<野菜パウダー化流れ>

★マカロン (ハウレンソウ使用)



★チュロス (ニンジン使用)



3. モルト粕利用

(シリアルバー・乾パン)



食育活動 Part VIII

バイオサイエンス科 3年農産加工班

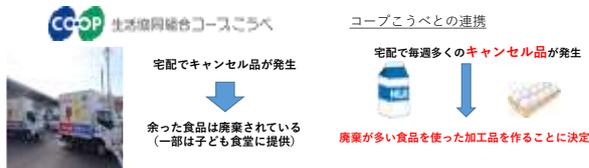
【はじめに】

農産加工班では、以前より専用の圃場を使用し、近隣保育園児や近隣の子供たちを対象に食育活動を展開してきた。

本年度はCOOPこうべと連携し、キャンセルなどで廃棄になる食材を提供いただき、それを使用した食品製造に取り組んだ。またそれを地域のこども食堂へ提供することで、食品ロスを削減するとともに、子供たちに食の大切さを伝えることを目標にした活動も展開した。

【計画と経過】

1. COOP こうべ



2.

加工品の決定

- ・ 廃棄の多い牛乳、卵を使う
- ・ 子ども食堂に寄付をしてもあまり使われなく、余ってしまったコーヒーを使う

* コーヒープリンに決定



3. 試作1

材料①

コーヒー	100cc
牛乳	500cc
卵	3個
砂糖	大さじ4
ゼラチン	10g

改善すること

- ・ゼラチン、砂糖、コーヒーの量を多くする
- ・見た目をコーヒープリン、ゼリーの二層構造にする



4. 試作2 (完成レシピ)

材料②

プリン		ゼリー	
コーヒー	200cc	コーヒー	400cc
牛乳	500cc	砂糖	大さじ4
卵	3個	ゼラチン	10g
砂糖	大さじ5		
ゼラチン	15g		



5. こども食堂への提供

子ども食堂



【まとめ】

・ COOP こうべとの連携を通して、廃棄などで無駄になる食品を有効に利用することができた。

・ こども食堂との交流を通して、食の大切さを伝えることができた。

園芸高校における蝶の種類数の変化と保全活動

環境緑化科 バタフライガーデン班

【はじめに】

森林伐採や都市化の影響で昆虫の生息地が減少しており昔に比べ昆虫が減ったと言われている。本当に「蝶が減っているのか？」と疑問に思い、2024年4月から調査を開始した。2024年は校内でルートセンサス調査を計16回行い、種類数が25種類、個体数が386匹確認できた。五月丘小学校に移動式バタフライガーデンを設置した。

【2025年の活動報告】

- ① 校内でルートセンサス調査を行い、6科11種224匹のチョウを観察することができた。
- ② 環境学習を大日イオンでのワークショップで行い、参加者が昆虫へ興味を持つきっかけを作ることができた(図1、2)。
- ③ 移動式バタフライガーデンを五月山児童文化センターとアルビス緑ヶ丘の2箇所に設置することができた。開花直前のフジバカマ苗を設置したが、水やり頻度が少なかったため、開花しなかった(図3)。
- ④ 本校のサンクンガーデンにてアサギマダラを5年ぶりに観察できた。アサギマダラの羽にマーキングを行い・放蝶を行うことができた(図4)。
- ⑤ 環境教育を池田市立緑が丘小学校の児童や地域の方々に対して行い、参加者が昆虫へ興味を持つきっかけを作ることができた(図5、6)。

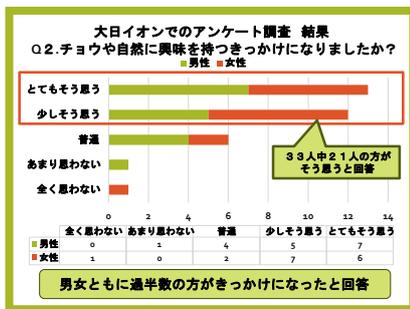


図1 アンケート結果



図2 ワークショップの様子



図3 五月山児童文化センター



図4 マーキングしたアサギマダラ



図5 環境教育の様子1



図6 環境教育の様子2

【テーマ】 イグサの栽培調査と知名度の向上

【目的】 イグサの知名度を上げる

【内容】 イグサの栽培調査と商品化

調査① 令和7年度4月～9月

イグサをフネに植え替えをし、温室前にて栽培



調査② 令和7年4月～9月

赤玉土とピートモス、真砂土を1:1:1で入れたフネを3つ用意し、その内2つにバーク堆肥と腐葉土をそれぞれ入れたフネで成長の差を比較する

調査③ 令和7年6月～9月

緑のセンターの水場にイグサを設置

②で使った土をそれぞれ鉢に入れ、成長を見る
イグサは全て19cmに揃えた

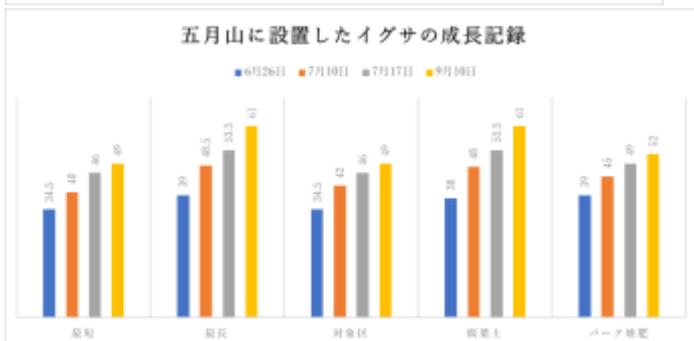
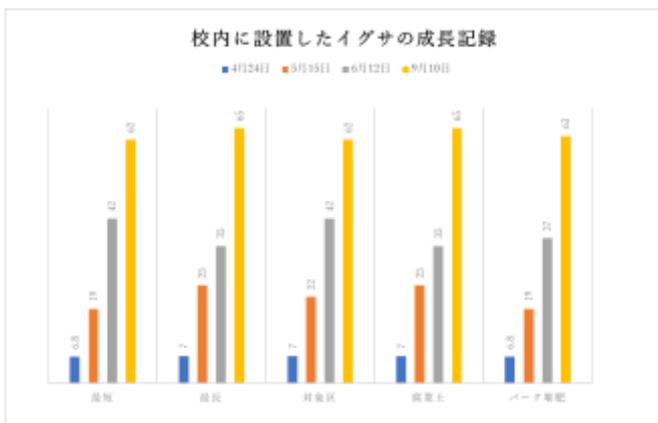


【結果】

緑のセンターの成長記録では、夏休み前までは順調に成長していたが、その後成長が止まった。

校内での成長記録では、夏休み後でも順調に成長していた

校内、緑のセンター共に腐葉土が1番成長を確認できた



商品化① 香り箱

木箱に乾燥させたイグサを入れ、香りを楽しめるようにした

→匂いはよかったが微量だったため商品化には至らなかった

商品化② イグサキャンドル

生のイグサ、炒めたイグサ、すり潰したイグサ、乾燥させたイグサをそれぞれ切り刻みキャンドルに封入し、灯をともしたときにイグサの匂いを楽しめるようにした。

→匂いが蠟に負けてしまいほとんどしなかったため商品化には至らなかった。



商品化③ イグサの人形

針金に乾燥させたイグサを巻き付け、キーホルダーとして使えるように作成した

→生産量が少ないため商品化には至らなかった

【考察】

販売には至らず、直接知名度を高めることはできなかった。しかし、緑のセンターに看板を設置させていただいたことで、イグサがどのような植物であるかは理解してもらえたと考える。また、園芸フェスタでは、試作品を配布し、アンケート調査を行い、知名度を上げた。

校内と緑のセンターの成長記録データを比較してみると、最長はあまり差が見られなかったが、最短は緑のセンターのほうが短く、13cmの差があった。どちらの試験区でも腐葉土とバーク堆肥が対象区より成長したのは、最初に有機物を入れることによって土が団粒化し、通気性、保肥性のバランスが向上し、根が健康に育ったためだと考えられる。また、肥料持ちもよくなり微生物の活発化にもつながるなど土が団粒化して、理想的な土壌環境を作ることができたと考えられる。

【展望】

製造が容易で需要のある商品を作ることができなかったため、アンケート調査などを行い、需要のある商品開発を行う必要がある。それに伴い、大量生産が見込める生育の方法を模索するべきである。また、腐葉土が一番成長した理由の裏付けもしていきたい。

活動テーマ：TS（トータルステーション）を使った、校内地図の作成

機械測量班：大島 千夏・狩俣 零・川合 志歩・辻野 大樹・西村 陽人・吉田 碧月

活動概要：TS（トータルステーション）とCADを用いて、校内の数値地図を作製した。

サンクンガーデンと枯山水式庭園の実測平面図を作成した。「課題研究」実習と課外実習で作業を行った。

- 活動
- 1) 測量練習：測量器具の取り扱いと、測量原理についての学習。
 - 2) 測量地域の踏査、測点の設置作業
 - 3) 骨格測量作業
 - 4) 細部測量作業
 - 5) CADによる数値地図の作成・編集作業。



TSによる座標観測



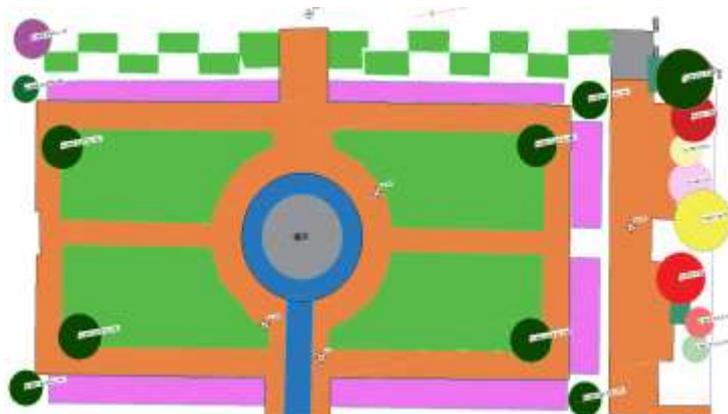
電子野帳によるデータ記録



地形細部測量



CADによる図化作業



測量成果品（左 サンクンガーデン、右 枯山水庭園）



本課題研究は今年の9月から始まり、測量の基礎基本から始まり、トータルステーションの高度な利用技術まで習熟できた。とくに、グループワークである測量作業を通じて、精度の高い測量図面を完成させることができた。

実習庭園および周辺環境における生物調査・管理について

ビオトープ部

大西哲平

1. 目的

私が担当するビオトープ部の研究班では、実習庭園および周辺環境における生物調査・管理を行った。本校の実習庭園には、条件付き特定外来生物にあたるアメリカザリガニの繁殖により、生態系への影響が危惧されている。そこで、一昨年度からの取り組みであるアメリカザリガニの駆除を継続するとともに、実習庭園池内における生物調査を主な目的とした。また、人と池田・自然の会の今城さんにご協力いただき、管理圃場である周辺環境の調査および管理を行った。

2. 方法および活動内容

取り組み① 実習庭園内の調査・管理

実習庭園池内に9ヵ所の調査区にもんどりを設置し、月1回(変動あり)の生物調査を行った。また、生物を収集後、アメリカザリガニを捕獲した場合は、適切に駆除を行った。その他の生物を捕獲した場合は、記録後に池へ戻した。

取り組み② 周辺環境の調査・管理

人と池田・自然の会の今城さんにご協力いただき、圃場①では、月1回モリアオガエルの調査へ、圃場②では、ヒメタニシの採集を行った。

3. 結果

取り組み① 実習庭園内の調査・管理

アメリカザリガニの捕獲数は、昨年度と比較し、1/5程度の捕獲数となり、生息数が年々減少していることが明らかとなった。また、モクズガニ等の昨年確認されなかった生物も確認できたことから、単一的な生態系の改善が見込まれる。

取り組み② 周辺環境の調査・管理

圃場①では、1年間を通じて、圃場の環境整備に取り組み、今後の生物の変容を確認できるデータを収集することができた。

圃場②では、数匹のヒメタニシを採集し、実習庭園池内に放流することができた。



実習の様子①



実習の様子②



実習の様子③

季節の花を用いた大型空間ディスプレイの制作

フラワーファクトリ科

3年 草花A班

1、目的

花業界で求められる人材はフラワー装飾に関する技術を幅広く持っていることであり、従来の西洋から伝わったフラワーアレンジメントの知識や技術だけでなく、日本古来より継承されてきた華道の技術を持っていることが有効である。本研究では、長年花業界に携わってきた専門家の方から講義および指導を受け、実際に制作することを通して広い空間を飾る大型ディスプレイの制作技術を身につけることを目的としており、1年時より3年間継続して実施している内容である。また、華道としての装飾だけでなく、フラワーアレンジメント技術を用いた空間装飾の手法についても学びを深めたい。

2、実施内容

回数	実施時期	実習内容	場所	制作単位
1	平成5年度 秋	剣山方式	本校 農業管理棟	個人
2	令和6年度 秋	投げ入れ方式	本校 農業管理棟	個人
3	令和6年度 冬	投げ入れ方式（大作）	本校 玄関ホール	1～2名 1組
4	令和7年度 春	入学式の舞台装飾	本校 体育館	個人
5	令和7年度 春	投げ入れ方式	池田城跡公園本校	個人
6	令和7年度 秋	ハロウィン装飾	本校 玄関ホール	合作
7	令和7年度 冬	クリスマス装飾	本校 玄関ホール	合作
8	令和7年度 冬	投げ入れ方式（大作）	本校 玄関ホール	1～2名 1組

3、作品写真

令和7年4月8日 本校入学式 / 6月13日 池田城跡公園 / 12月4日 本校玄関ホール



4、生徒感想（一部抜粋）

・花にとらわれずに空間を大きく使い、広く大きく彩るには時間がかかるが、私はその時間が好きだと思いました。去年の作品写真を見て、一年間で成長したなと感じました。やはり花の持つ力は目に見えない美しい心や景色が広がっていると思いました。

・最初はどうなるんだろうと思ったけど、無事に完成できて良かった。園芸がここまでハイレベルなものを作れるとは思わなかった。本当に完成度が高い！そしてみんなで色んなものを作ってそれが一つの作品になるのっていいなと思った。

・2年間でみんなめっちゃくちゃ上手になっていて、しかも掃除も早くきれいになっていて成長を感じました。卒業式の装飾も頑張ります！

フラワーアレンジコンテストでの入賞をめざして

大阪府立園芸高等学校
フラワーファクトリ科 草花A班

1、目的

フラワーファクトリ科草花A班では、授業の一環として校内で栽培した草花を利用し、フラワー装飾に関する技術の向上を目指している。本研究では普段学校で栽培している草花だけでなく、栽培していない草花、そして特殊な資材を使用し、年間様々な場所で行われている大会出場に向けての練習、そして本番を通して、個々のフラワー装飾技術の向上をめざすことを目標としている。

2、今年度の大会出場歴

5月31日	第5回高校生花生けバトル 全国選抜大会	3名出場
8月30日	花いけBOOT CAMP2025 夏	6名出場
10月 5日	第9回全国高校生花生けバトル 近畿大会	8名出場
10月17日～20日	第68回技能五輪全国大会 (職種：フラワー装飾)	2名出場
10月25・26日	第35回全国産業教育フェア 福島大会	1名出場
1月24日	大阪府フラワー装飾技能士会主催 第37回技能向上コンテスト	1名出場
1月25日	第9回全国高校生花いけバトル 全国大会	2名出場

3、結果

(入賞したもの)

8月	花いけBOOT CAMP2025 夏	準優勝
10月	第9回全国高校生花いけバトル 近畿大会	優勝・3位
1月	大阪府フラワー装飾技能士会主催 第37回技能向上コンテスト	5位



4、まとめ

年間を通じて、様々なコンテストに出場しフラワー装飾技術の向上を図ってきた。大会を通して、普段の授業だけでは得られない技術、そして学年を超えた友情を深めることができた。また今年8月に開催された「花いけBOOT CAMP2025 夏」では全国各地から集まってきた目標を同じくする同年代と3日間の合宿を通して繋がることで、都道府県を超えた友人関係を築くことができた。

次年度は今年度の経験を基に知識や技術そして人間関係などを構築し、今年度以上の結果を残すことができるように頑張っていきたい。

環境制御システムを利用したカーネーション栽培

大阪府立園芸高等学校
フラワーファクトリ科 草花A班

1、目的

令和4年3月末、本校に環境制御型プラスチックハウスが設置された。令和5年7月より本施設においてカーネーションの栽培を始め、今回が3期目（～6月まで）および4期目（8月～）の栽培となる。過去2期分の実験から摘心位置の違いによって収穫本数が変わることが分かり、5、6、7節の中では7節で摘心することが望ましいことが分かった。そのため3期目では新たに8節での摘心区、また4期目では9節での摘心区を設け、最適な摘心位置の検証を行うことを目的としている。また栽培したカーネーションの利用として母の日での販売を通して今後収益を上げるためにはどうしたら良いのかなど検証していきたい。

2、栽培管理について（一部抜粋）

令和6年

- 8月 9日 3期目の苗の定植（スタンダード系2品種、スプレー系1品種を100本ずつ定植） …写真1
9月 5日 1品種のみ摘心 6節、7節、8節位置での摘心区画を設置

令和7年

- 1月28日 収穫開始 …写真2
5月10日 母の日に向けて校内販売 …写真3
8月 7日 4期目の苗の定植（スタンダード系2品種、スプレー系1品種を100本ずつ定植）
9月 8日 3品種について摘心 各品種とも7節、8節、9節位置での摘心区画を設置



写真1



写真2



写真3

3、結果および考察

3期目の栽培では猛暑などの影響を受けたことで2品種の苗が上手く育たず、1品種に関して調査を進めた。その結果、どの節においても収穫時の草丈は70cm以上の良質であり、6月までの収穫本数は6節が66本、7節が108本、8節が166本と明らかに8節区の収穫本数が多くなった。また収穫時期についても8節で摘心したものが最も早い1月28日から収穫を開始することができ、以降どの月においても収穫本数が全区画の中で一番多かった。このことから、更に摘心位置を上げた9節での摘心区画を設置し、4期目として現在調査中である。

またカーネーションの利用においては、花束として準備した65束が全て完売し、また一緒に販売した他の花束の売れ行きも好調であった。このことから、母の日を初め、卒業式や入学式など花の需要が高まる時期に開花本数が増えるように、定植や摘心時期などを検証することが収益向上に繋がると考えられる。今後も後輩に引き継ぎ、この研究を進めていって欲しい。