

2. CZAPEK-agar (NaNO_3 1.0%)+椿灰 (0%~1.0%) (Tab. VI)

CZAPEK 成分の中, NaNO_3 の量を増して前の試験と同様に行う。

Tab. VI Influence of ash (*Camellia japonica* L.)...(b)

added ash %	Initial pH	Culture days	2	3	4	5
0	6.0	color, conidia mycelia	SfG(W) 1.5 132.3	DC 11.4 100.0	SO 13.1 92.3	BO 12.5 88.1
0.01	6.6	color, conidia mycelia	CY 3.8 124.4	BC 12.7 88.4	SO 11.4 85.6	BO 13.1 77.7
0.1	6.8	color, conidia mycelia	W 0.2 136.4	BC 5.5 104.7	BC 15.8 95.1	IC 14.6 100.8

IC=Isabella color.

この結果によれば, 期待した効果は得られず, 胞子の色調, 及び生成量共に劣っていた。

む す び

麴菌の胞子形成を各種の培養基について比較し, 次の結果を得た。

1. 各種人工合成培地の中で, CZAPEK's medium に優るものは見出されなかつた。
2. 天然物を用いた培地の中で, CZAPEK 培地と同程度か, 或は稍々優ると認められるものに次のものがあつた。

(i) CZAPEK 培地に麴5%を混和したもの。

(ii) 麴浸出液 (水: 麴=100:10~15)。

(iii) CZAPEK 培地に椿灰0.01%を混和したもの。

3. 第1~4報を通じて, 最もよい sporulation medium は CZAPEK 培地に於てN-源として酒石酸アンモニウム0.5%を用いたもので, これに次で硝酸アンモニウム0.1~0.2%のものがよかつた³⁾。

終りに, 実験に助力した新見治君の勞を謝す。

文 献

1) 根平武雄: 本誌, **32**, 355 (1954).

2) 根平武雄: 本誌, **32**, 451 (1954).

3) 根平武雄: 本誌, **33**, 255 (1955).

(昭和30, 4, 22受理)

産膜酵母菌に関する研究 (第2報) *Pichia* 属* (2)

小玉 健吉・京野 忠司・小玉正次郎 (小玉醸造株式会社醸酵研究室)

著者等は第1報¹⁾に引續き *Pichia* に屬するもの47株を検索したる結果について報告する。最近 T. LODDER 等²⁾ はその著書中に世界各地より蒐集した44株の *Pichia* について報告して居るが, 同氏等が供試菌株の中には長年貯藏された結果胞子の形成力を失いその他の諸性質についても必ずしも原著者の記載と一致しないものもあるので, 著者等は貯藏標本には重點をおかず分離してから日の浅い新鮮な野生株を対象としその胞子の形成力を失わないうちに菌學的諸性質を検討しモノグラフを試みた。又 LODDER 等は分類にあたり糖類の醗酵及び同化等の生理的性質を胞子の形状等の形態學的性質より優先して分類の主要條件に採用して居るが, 著者等の見解では *Pichia* 属のものは一般に葡萄糖等の單糖の他は醗酵及び同化能が極めて従弱で前培養條件や試験方法の相違等に依り土の判定自身困難なる場合が屢々認められるので *Pichia* 属に就ては形態學的性質 (特に胞子の形状を重視して) を主要條件とし前述の生理的諸性質を附帶條件として分類を試みた。試験方法は發育及び胞子形成最

* 本報は菌株の分類の部の(A) *Pichia* 属及び *Zygopichia* 属に関する第2報であるが, 第2報以下は J. LODDER の提唱に依り *Pichia* 属(2)とした。

(318) (小玉, 京野, 小玉) 産膜酵母菌に関する研究 (第2報)

高限界温度, 亜硝酸鹽同化等特に脚註に明示したるもの以外は LODDER のそれに準じた。

菌 株 の 分 類

e. Pichia membranaefaciens var. *mandshurica* (SAITO) comb. nov. Syn. *Pichia mandshurica* SAITO
Zygoichia chevalieri (GUILLIERMOND) KLÖCKER

I 分離資料及び方法

資料を次の表に示す。方法は第(1)報に準じた。

菌種 番 號	分 離 試 料	菌種 番 號	分 離 試 料
No.14	酒精粕(新潟縣, 中越酒造KK)	No.29	酒精粕(福島縣, 耶麻酒造KK)
No.15	酒精廢液(新潟縣, 中越酒造KK)	No.30	土壤 No. 9 (新潟縣)
No.16	酒精醪(富山縣, 若鷗酒造KK)	No.31	味噌(北海道, 函館市市販)
No.17	酒精廢液(富山縣, 若鷗酒造KK)	No.32	味噌(北海道, 函館市市販)
No.18	酒精粕(鹿児島縣, 日本酒類KK加治木工場)	No.33	葡萄酒(高知縣)
No.19	酒精粕(鹿児島縣, 日本酒類KK加治木工場)	No.34	麥芽粕(熊本縣, 日本酒類KK)
No.20	ライ麥(北海道, 女満別)	No.35	酒精廢液(熊本縣, 日本酒類KK)
No.21	酒精粕(秋田縣, 秋田縣釀酵KK)	No.36	酒精廢液(鹿児島縣, 日本酒類KK加治木工場)
No.22	土壤(神戸市郊外)	No.37	米穀堆肥(鹿児島縣)
No.23	<i>P. membranaefaciens</i> group by YOKOTUKA & GOTO ¹⁾ (WF85)	No.38	酒精粕(福島縣, 國華酒造KK)
No.24	土壤 No. 3 (新潟縣)	No.39	土壤(福島市)
No.25	土壤 No. 8 (新潟縣)	No.40	土壤(會津若松市)
No.26	土壤 No. 6 (新潟縣)	No.41	土壤(會津若松市)
No.27	土壤(福島縣)	No.42	土壤(鹿児島縣)
No.28	酒精粕(福島縣, 耶麻酒造KK)		

II 實驗及び結果

(A) 細胞の形状, 大さ(麴汁乃至麥芽汁, 25°C, 2~3日)

菌株番號	形 状	大 さ	菌株番號	形 状	大 さ
No.14	橢圓形, 長橢圓形, 稀に稍々長形~球形	7.2~4.4×4.4~2.8 (4.4) ² ~(3.3) ²	No.22	橢圓, 長橢圓形, 稀に長形	6.6~4.4×4.4~3.3 14.3~7.7×3.9~2.0
No.15	同 上	7.7~5.0×3.9~2.8 (4.4) ² ~(3.3) ²	No.23	長橢圓形乃至延長形	10.5~5.0×4.4~3.3
No.16	長橢圓形, 橢圓形, 卵圓形, 稀に球形	7.7~4.4×4.3~3.3 (4.3) ² ~(3.3) ²	No.24	橢圓, 長橢圓形, 稍々長形	5.6~4.9×4.2~3.7 8.3~6.6×4.2~3.3
No.17	橢圓形, 長橢圓形, 稀に短かい胡瓜形, 單獨又は2ヶ連結	6.6~5.0×4.9~3.3 7.7~6.6×3.9~3.3	No.25	主として橢圓乃至長橢圓形	7.7~4.4×4.4~3.2
No.18	主として長橢圓形, 橢圓形之につぐ, 稀に球形	8.2~4.4×5.0~2.2 (3.7) ² ~(2.2) ²	No.26	主として短橢圓, 橢圓, 稀に稍々長形	6.5~4.4×5.5~3.3 6.6~4.7×3.3~2.2
No.19	主として長橢圓形乃至胡瓜形	8.8~5.5×3.3~2.2	No.27	長橢圓形, 橢圓形, 典型的な延長形	6.1~5.0×3.3~2.2
No.20	橢圓, 稍々長橢圓形稀に延長形	7.2~3.3×4.4~2.8 8.2~6.6×3.2~2.7	No.28	長橢圓, 橢圓形	8.8~7.1×3.3~3.1 7.7~5.5×5.5~2.9
No.21	橢圓, 稍々長橢圓形稀に延長形	7.2~3.3×4.4~2.8 8.2~5.6×3.2~2.7	No.29	小橢圓形, 長橢圓形	6.6~4.4×4.4~3.3

No.30	橢圓形, 長橢圓形	7.7~5.4×4.2~3.3	No.37	長橢圓, 稀に延長形乃至球形	6.6~5.5×4.4~2.2 7.7~5.5×3.4~2.2 (4.4) ² ~(2.2) ²
No.31	橢圓形, 稀にやや長橢圓形乃至球形	6.6~4.6×4.2~3.3 8.8~6.6×4.4~3.4 (3.5) ² ~(3.3) ²	No.38	小橢圓乃至長橢圓形延長形をかく	6.2~4.4×3.9~2.9
No.32	長橢圓形, 稀にやや長形乃至球形	8.8~5.5×5.0~3.3 (3.8) ² ~(3.5) ²	No.39	長橢圓形, 稀に少々長形	7.7~5.5×3.9~3.3
No.33	橢圓, 卵圓, 球形, 屢々延長形	7.7~5.5×6.1~3.5 (5.5) ² ~(4.4) ² 8.3~7.1×4.4~3.0	No.40	小橢圓, 稀に長橢圓形, 典型的な延長形を欠く	5.5~4.4×3.3~2.8
No.34	橢圓, 卵圓, 稀に延長形乃至球形	7.7~4.4×5.2~3.3 8.8~5.5×4.4~2.2 (5.5) ² ~(4.5) ²	No.41	小橢圓形, 稀にやや細長形	6.3~4.4×3.9×3.3 5.5~5.3×2.4~2.2
No.35	主として長橢圓, 少々延長形, 橢圓, 卵圓之に次ぐ	8.8~7.7×4.4~3.3 7.7~5.5×4.4~3.3	No.42	長橢圓形乃至少々長形	8.8~4.4×3.8~3.1
No.36	長橢圓乃至橢圓形	7.7~5.0×5.1~2.2			

(B) 液體培養

麴汁及び加糖馬鈴薯汁*……各菌株を通じて濕潤, 灰白色, 平滑か稀に微かに褶皺のある極めて菲薄な皮膜をつくり管壁に上昇するが日を経るも肥厚しない。醱酵に依る氣泡の發生を認めず, 液は透明 (Smooth Type).
麥芽汁……上記麴汁及び加糖馬鈴薯汁に比して更に菲薄な皮膜をつくるのみ。

(C) 劃線培養

麥芽汁寒天(17°C, 1ヶ月)……各菌株を通じ濕潤鈍光灰黄乃至灰赤褐色 (Pale olive-Buff, Pale Pinkish Buff 乃至 Tilleule Buff) 平滑 (稀に微かに粗褶皺を有するものもある) 概ね扁平に發育し周緣整正か僅かに鋸齒狀。

(D) 假菌糸の生成 (Slide culture)

延長形乃至長橢圓の細胞連結し, 樹枝狀の假菌糸を形成し, blastospores (≡ Pseudomycelial cells と全く區別し得ないか又は少々短く長橢圓形乃至橢圓形を呈する。

(E) 胞子の形狀及び子嚢形成時に於ける接合の有無

一般に各種培地**に No.14~No.32の19株は單性生殖に依り又 No.33~No.42の10株は單性又は異胎接合に依り形成良好, 胞子は次に示す様な各種の形狀を示す。

a型……半球~底邊の微かにふくれた半球形

b型……底邊がゆるい波狀に突出した半球乃至扇形

c型……圓弧の一部が角形をなすもの

d型……圓弧の一部が弦によつて切られた類圓形乃至不整類圓形

即ち各菌株を通じて a, b, c, d 各種の形狀のものがあり (附圖參照), 大さは $3.3\sim 2.2\times 2.8\sim 1.5\mu$, $(3.3)^2\sim (2.2)^2$, 毎子嚢中普通2ヶ, 稀に3~4ヶ, 胞子の中央には屢々1ヶの油滴を有する。

* LODDER は麥芽汁培地における皮膜の狀態 (Wrinkled or Smooth) は同一菌株でも外圍の條件に依つて大きく影響されると述べて居るが, 第1報¹⁾に於て既報の様に著者等は麥麴汁及び LODDER の Slide culture に用うる Potato agar と同様に調製した2%葡萄糖添加馬鈴薯汁に25~26°C, 3~4日培養すれば本菌株群に就ては明かに Wrinkled or Smooth の特徴を示すので本菌株群の分類上の1條件として採用する事にした。其の後横塚, 後藤氏⁴⁾等も「日本産葡萄酒産膜酵母菌」に就いて同様の事實を認めて居る。

** 胞子の形成試験は主として水浸=ンジン片, ゴロドコワ氏寒天, 麴汁寒天, 葡萄糖ペプトン寒天, V-8寒天, 水浸及 $\frac{1}{2}$ VANTHOFF 氏液浸石膏塊, 新たに葡萄糖添加馬鈴薯汁寒天 (LODDER の Slide culture の培地) 又 WICKERHAM⁵⁾氏提唱の麥芽汁寒天, 小田氏⁶⁾等の酵母自己消化液寒天等を用い, 25, 30°Cに3~7日放置して形成しないものは約1ヶ月放置した陳久培地について觀察した。菌株により培地による多少形成の難易があるが一般に形成良好で特定の培地に選擇的に形成されるものは特に附記する事とした。本報以下之に準ずる。

(320)

(小玉, 京野, 小玉) 産膜酵母菌に關する研究 (第2報)

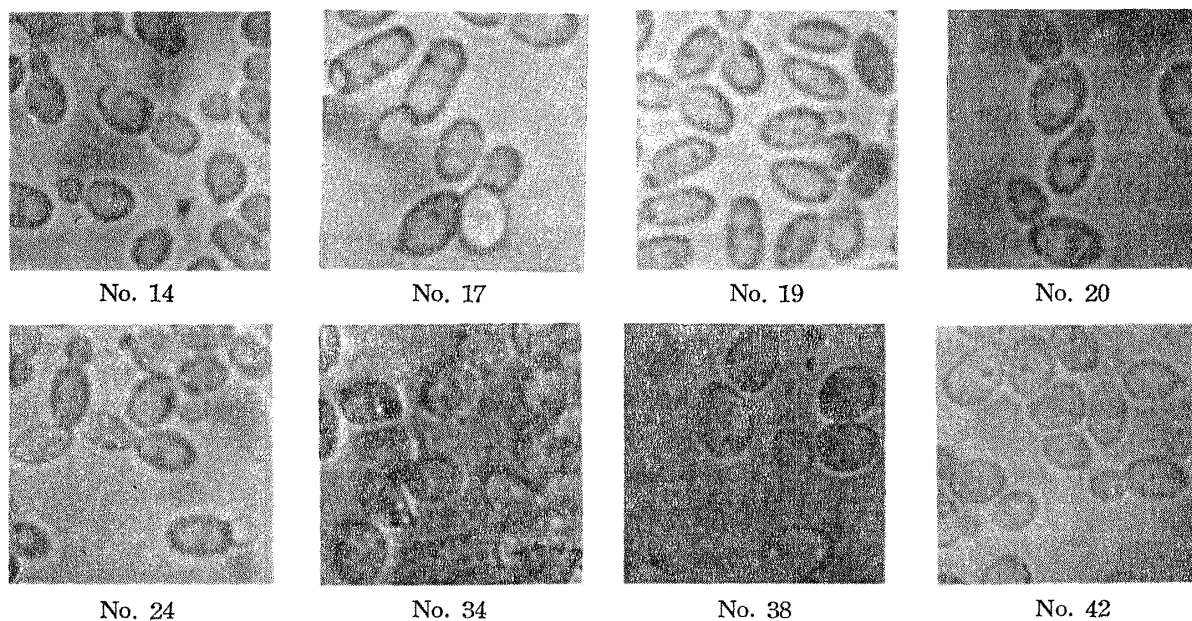


Fig. 1. Cells in malt extract ($\times 1000$)

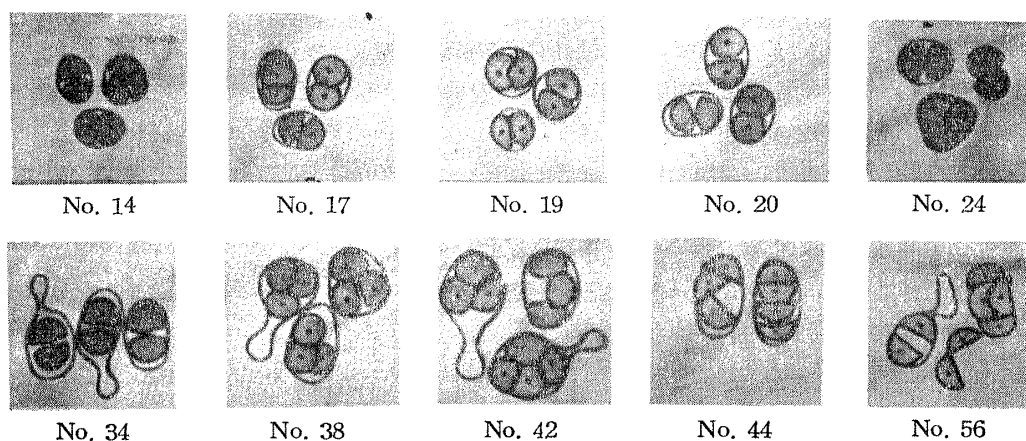


Fig. 2. Ascus and ascospores ($\times 1000$)



Fig. 3. Various shapes of ascospores in *P. membranaefaciens*

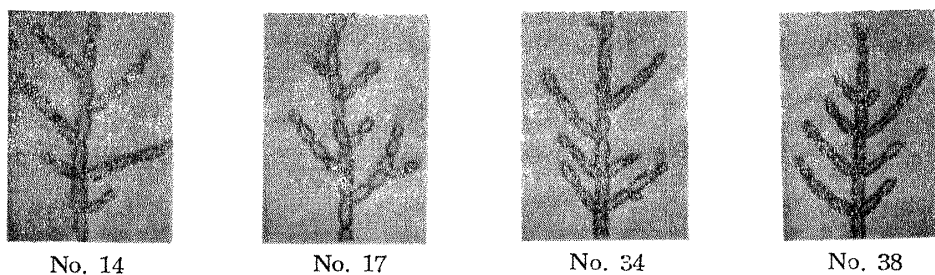


Fig. 4. Slide culture on Potato agar ($\times 400$)

菌株番號	形 状	大 小, 数 (μ)	菌株番號	形 状	大 小, 数 (μ)
No.14	主にc, 稀にa	$2.8 \times 2.2, (2.5)^2$ 普通2ケ	No.29	a	$3.1 \sim 2.3 \times 2.2 \sim 2.0$ 普通2ケ
No.15	同 上	$3.3 \sim 2.7 \times 2.7 \sim 2.2$ $(2.8)^2 \sim (2.5)^2$ 普通2ケ	No.30	a, d	$3.2 \sim 2.9 \times 2.5 \sim 2.4$ 普通2ケ
No.16	a, b, c混在	$3.3 \sim 2.7 \times 2.7 \sim 2.2$ $(3.3)^2 \sim (2.2)^2$ 2~3ケ	No.31	a, d	$3.3 \sim 3.0 \times 2.8 \sim 2.7$ 普通2ケ
No.17	同 上	同 上	No.32	b, a	$3.3 \sim 3.2 \times 2.2 \sim 2.1$ 普通2ケ
No.18	a, まれにc	$3.1 \sim 2.8 \times 2.5 \sim 2.0$ 普通2ケ, 稀に3ケ	No.33	a, d	$2.7 \sim 2.2 \times 2.0 \sim 1.5$ 普通3~4ケ
No.19	a, c, 稀にb	$3.3 \sim 2.5 \times 2.8 \sim 2.2$ 普通2ケ, 稀に3ケ	No.34	a, d	$3.1 \sim 2.8 \times 2.2 \sim 2.0$ 普通2ケ
No.20	b, a, c	$(3.3)^2 \sim (2.5)^2$ $3.0 \sim 2.7 \times 2.5 \sim 2.2$ 普通2ケ, 稀に1ケ	No.35	a, d, 稀にb	$3.0 \sim 2.5 \times 2.5 \sim 1.8$ $(2.5)^2 \sim (3.0)^2$ 普通2ケ, 稀に4ケ
No.21	a, 稀にc	$(2.7)^2 \sim (2.3)^2$ $2.8 \sim 2.2 \times 2.2 \sim 2.0$ 普通4ケ	No.36	a, 稀にb	$3.3 \sim 2.8 \times 2.2 \sim 1.8$ 4~3ケ, 稀に2ケ
No.22	a, d, 稀にc	$(2.7)^2 \sim (2.3)^2$ $2.8 \sim 2.2 \times 2.2 \sim 2.0$ 普通4ケ	No.37	a, 稀にb	$2.8 \sim 2.2 \times 2.2 \sim 1.8$ 2~3ケ, 稀に4ケ
No.23	a, d	$3.3 \sim 3.0 \times 2.7 \sim 2.6$ 普通2ケ	No.38	a, 稀にd	$3.1 \sim 2.6 \times 2.2 \sim 2.0$ 2~3ケ, 稀に4ケ
No.24	b, c	$3.2 \sim 3.0 \times 2.7 \sim 2.4$ 普通2ケ	No.39	a	$3.1 \sim 2.8 \times 2.2 \sim 1.8$ 3~4ケ, 稀に2ケ
No.25	b, d, a	$3.3 \sim 3.0 \times 2.5 \sim 2.2$ 普通2ケ	No.40	a	$2.6 \sim 2.0 \times 2.2 \sim 1.8$ 3~4ケ
No.26	a, d	$3.0 \sim 2.5 \times 2.2 \sim 1.7$ 3~4ケ	No.41	a	$3.0 \sim 2.7 \times 2.2 \sim 1.7$ 3~4ケ
No.27	a, d	$2.8 \sim 2.2 \times 2.0 \sim 1.8$ 3~4ケ, 稀に2ケ	No.42	a, 稀にb	$3.3 \sim 2.7 \times 2.7 \sim 1.8$ 3~4ケ
No.28	b	$3.2 \sim 2.8 \times 2.4 \sim 2.2$ 普通2ケ, 稀に3ケ			

(F) 發育最高限界溫度*

各菌株について試験したる結果41~43°Cに位する。

(G) 胞子形成の限界溫度**

* 發育の限界溫度は STELLING-DEKKER⁷⁾ 以前の諸家により, 胞子形成のそれと同様分類上の1條件として重視されて居たが著者等の試験に依れば特に最高限界溫度は之等の諸家と同様分類上價值ある事を再認識し得た。最高限界溫度の決定には, 麥芽汁寒天及び麴汁寒天培地を用いたが豫備試験的に35°C, 40°C, 45°C ($\pm 0.5^\circ\text{C}$) の各溫度に同時に静置し發育の有無に依り, 更に狭い溫度範圍について接種後30日間同溫度に静置し, 發育の有無は一直線に極少量 (1白金耳, 徑1mm程度) 接種したる部分を肉眼的に觀察し判定したので嚴密には繁殖限界溫度という意味である。この場合寒天培地は高温に依り水分蒸發し菌株の發育に不適當な環境になることを防止する爲菌を接種する前に豫め固化した斜面下部に麥芽汁乃至麴汁1cc程度を無菌的に添加した。

** 胞子形成限界溫度特に最高限界溫度は前述發育限界溫度と同様 STELLING-DEKKER 以前 GUILLIER-MOND, HANSEN, KLÖCKER, SAITO 等の諸家により分類上の1條件として重視されて居たが, 著者等も *Pichia* 及び *Hansenula* 屬の多くの菌株に就いて試験の結果, 之等の諸家と同様分類上の價值のある事を再認識し得た。而してその決定に當つては

- 1) その菌株の形成適溫に於て最も形成良好な培地を用いた。
- 2) 菌株によつては分離後標本貯藏中胞子形成能を失うか, 又は著しく退化する場合があるので本試験は分離純化後直ちに實施した。
- 3) 豫備試験的に30°C, 35°C, 40°C (± 0.5) の各溫度及び對照として多くの菌株の形成適溫である25~26°Cに於て試験した。即ち同一前培養 (麥芽汁乃至麴汁25~26°C, 2日後の皮膜細胞) より同時に接種しこれらの各溫度に静置し, 菌の發育後時々檢鏡し對照區分には必ず形成する事を確認しつつ, 更に狭い溫度範圍に於て30日間放置し形成の有無を確認し限界溫度を決定した。又菌株に依つては前培養の皮膜細胞の中に形成する場合もあるので前培養には胞子形成のない事を豫め檢鏡に依り確認した後供試した。
- 4) ゴロドマワ氏寒天, 葡萄糖ペプトン寒天, 馬鈴薯汁寒天, V~8寒天等の固體培地を用いる場合には比較的高溫に長時間静置されるので培地の水分が蒸發し胞子形成に不適當な環境になる事を防ぐため豫め固化した試験管入斜面下部に菌接種前に寒天を加えない夫々の液體培地1~2cc程度を無菌的に添加した。

(322)

(小玉, 京野, 小玉) 産膜酵母菌に関する研究 (第2報)

各菌株を通じて37~38°Cに位する。

(H) 糖類の醗酵性*

總ての糖類を醗酵しないか葡萄糖を極めて微弱(±)に醗酵するのみ。

(I) 糖類の同化**

總ての菌株を通じ Glucose を同化し, Galactose, Saccharose Maltose, Lactose は何れも同化しない。

(J) 硝酸鹽及び亜硝酸鹽の同化***

陰性。

(K) エチルアルコールの同化****

エチルアルコールを同化し灰白濕潤の平滑な皮膜をつくる。

(L) アルブチン分解

陰性。

(M) エステル様芳香生成*****

陰性。

Ⅱ 類縁及び考察

本菌群は何れも硝酸鹽及び亜硝酸鹽を同化せず、醗酵性微弱乃至全く欠き、葡萄糖のみを同化するから *Pichia* に屬しその中 No.14~No.32の19株は從來の分類に従えば單性生殖に依つて各種形狀の混在した胞子を形成し、各種液體培地上概ね平滑菲薄な皮膜をつくり、發育及び胞子形成の最高限界溫度が夫々41~43°C, 37~38°Cの高溫にある事等より *Pichia mandshurica* SAITO¹⁰⁾に、又 No.34~No.43の11株は主として異胎接合によつて同様の胞子を形成するから *Zygopichia* に屬しその他の諸性質より *Zygopichia chevalieri* (GUILLIERMOND⁷⁾) KL-ÖCKER に夫々固定される。然るに最近 LODDER²⁾は胞子形成時に於ける榮養細胞の接合性の有無に依る屬の區別を廢し *Pichia*, *Zygopichia* を一括して *Pichia* としている。この見地より接合性を無視すれば、*Pichia mandshurica* と *Zygopichia chevalieri* とは原著者の記載及び著者等の菌株群に就いて比較検討するに他の菌學的諸性質はよく一致するので同一菌種と見做される。更に LODDER²⁾は上述2菌種を一括して *Pichia membranaefaciens* と全く同一種として居るが著者等の様に多數の新鮮なる野生株に就いて検討するに *Pichia membranaefaciens* HANSEN⁷⁾の原著者の記載及び之等とよく一致する第1報¹⁾に於て著者等が同種として發表した原糖型のものと比較すれば胞子の形狀は各種混合型で原種と同様であるが原種型のものは麴汁、麥芽汁及び加糖馬鈴薯

* 糖類の醗酵試験法は主として LINDNER の小醗酵試験法に依つたが Ballg 12[°] の麥芽汁乃至麴汁に2日培養した皮膜より麥芽汁寒天乃至麴汁寒天に25°Cに2日間培養した新鮮菌苔を少々多量に採取し供試糖液は約5%溶液とし、25°C、1日後の結果を示す。但し氣泡の大きさ(徑)0.5mm以下のものは再三反覆して確認したが、かゝる醗酵性の微弱で決定し得ないものは±として示した。

** LODDER²⁾の試験方法に準じ、主としてビタミン混液を用いた液體培地による結果を示す。以下之に準ずる。

*** 硝酸鹽の同化試験には STELLING-DEKKER⁷⁾の培地を、亜硝酸鹽のそれには坂口、王氏⁸⁾の培地(炭素源として葡萄糖3.16%を含むもの)を夫々使用した。尚何れの場合にもビタミン混液を添加した。

**** 本試験は LODDER²⁾の方法に準じ、ビタミン混液を用いたのであるが同時にビタミンを添加しない合成培地に就いてアルコール同化試験を試みた處、本菌株群中には原株同様ビタミン要求菌で全く發育を認められないものがあつた。この點 STELLING-DEKKER⁷⁾が *Pichia* のモノグラフに於て *P. mandshurica* がエチルアルコールをC源として皮膜をつくらないとしているがこれは同女史がビタミン混液を用いないで試験した誤認であると考えられる。

***** エステル様芳香生成の有無は Ballg 12[°] の米麴汁及び10%の蔗糖を含む ハイダツク氏液に25~26°Cにて7日培養したものに就いて試験した。生成の有無は官能的にも檢知し得るが、正確を期するため井上、野田兩氏⁹⁾が脂肪酸のエステル類のペーパークロマトグラフに依る檢出に利用した反應即ち各種脂肪酸のエステルが中性下でヒドロオキシルアミンと作用して生ずるヒドロオキサム酸が鹽化第2鐵に依つて深紅色を呈する鋭敏なる反應を採用した。これに就いては生理の部に於て詳述する。

汁等に於て發育良好, 乾燥性白色乃至は乾燥性灰白色の著しい褶皺ある皮膜を形成し日を経るに従つて肥厚し, 之等の固體培地上著しく褶皺ある隆起性菌苔をつくる所謂 "Wrinkled" type であるのに比し, 本菌群は發育不良, 概ね濕潤殆んど平滑な極めて菲薄な皮膜をつくり日を経るも決して肥厚せず又固體培地上平滑偏平に發育する所謂 "Smooth" type である。更に發育及び胞子形成の最高限界温度に就いては LODDER²⁾等は全く追試されて居ないが著者等の試験結果は原種型に於て夫々37~39°C, 33~34.5°Cにあるのに比し本菌群は何れも夫々41~43°C, 37~39°Cの著しく高温に位しこの點原著者に依り半耐熱性菌種として發表された *Pichia mandshurica* SAITO 及び *Zygopichia chevalieri* GUILLIERMOND の原種の記載とよく一致する。依つて著者等は胞子の形状は原種と同様各種混合型であるが Smooth type で而も發育及び胞子形成の最高温度の原種より高温に位する本菌群を原種の一變種と見做し *Pichia membranaefaciens* var. *mandshurica* (SAITO) comb. nov. と命名したい。

本菌群は Streak culture 及び pellicle 共に Smooth type である點のみからすれば著者等が既に第1報¹⁾に報告した Wrinkled type である原種と異なる Smooth type の一品種 *Pichia membranaefaciens* forma α と類似するが forma α 型のものは本菌群に比し發育及び胞子形成の最高限界温度が夫々原種同様著しく低温にあるので明らかに區別される。その後, 横塚, 後藤兩氏等も「葡萄酒産膜酵母の研究」³⁻⁴⁾に於て多數の *Pichia membranaefaciens* type の菌株群を, 胞子の形状を考慮に入れずに Streak culture, Giant colony 及び Pellicle の形状に依り, Wrinkled, Smooth 及びその中間型の3つの Group に大別して居るが若し同氏等の様に, 肉眼的培養性状のみから分類するとすれば著者等の胞子の形状が各型混合型である前述の forma α 型及び今回發表した var. *mandshurica* 型の2菌株群は同氏等の Smooth type group I に該當するものと考えられる。

次に第1報¹⁾に於て發表した Wrinkled type の *Pichia belgica* (LINDNER), DEKKER 及び *Zygopichia chevalieri* var. *membranaefaciens* KODAMA et KYONO も上述の LODDER の提唱に従つて胞子形成時の接合性の有無に依る屬の區別を廢し, 一括し *Pichia* とする見地からすればこの二菌種は原著者の記載及び著者等の菌株群に就いて菌學諸性質はよく一致するので全く同一種と見做される。更に LODDER に依れば *Pichia belgica* も葡萄糖のみを同化し硝酸鹽同化, アルブチン分解共に陰性とする *Pichia membranaefaciens* HANSEN と全く同一種と見做して居るが著者等の見解に依れば *Pichia belgica* はその胞子の形状が不著明な帽子型乃至底邊厚膜の整正な半球形で前述の原種型や *Pichia mandshurica* type の様に同一株の胞子が各種型を混在しない事は著しい相違點でこの事實は之等の類菌群が戦前の諸家に依りその胞子の形状に依り *Willia belgica* LINDNER, *Hansenula belgica* (LINDNER) SYDOW として發表されその後 STELLING-DEKKER⁷⁾に依り硝酸鹽同化陰性を主たる理由として *Pichia* に編入した場合もこの不著明なる帽子形を有する菌種を *Pichia belgica* (LINDNER) DEKKER と改名し *Pichia membranaefaciens* と區別している。その後著者等も第1報に於いて發表後次に示す試料より同型の菌株を多數分離した。即ち *Pichia belgica* type のものとしては

菌株番號	分離試料	菌株番號	分離試料
No. 43	リンゴ No. 9 (青森縣)	No. 49	酢容器 (愛知縣, 中埜酢店)
No. 44	リンゴ No. 11 (青森縣)	No. 50	ゆづの實
No. 45	リンゴ No. 20 (青森縣)	No. 51	酒精廢液 (東京都, 神谷酒造 KK)
No. 46	リンゴ No. 35 (青森縣)	No. 52	土壤 (岩手縣)
No. 47	酢醗 (愛知縣, 中埜酢店)	No. 53	酒精粕 (岩手縣, 氣仙酒造 KK)
No. 48	酢醗 (愛知縣, 中埜酢店)	No. 54	酒精粕 (秋田縣, 小玉釀造 KK)

の12株

又 *Zygopichia chevalieri* var. *membranaefaciens* KODAMA et KYONO. type のものとしては

菌株番號	分離試料	菌株番號	分離試料
No. 55	酢醗 (愛知縣, 中埜酢店)	No. 58	イチゴ (秋田縣)
No. 56	酢容器 (愛知縣, 中埜酢店)	No. 59	レモン (産地不明)
No. 57	リンゴ (弘前市外)	No. 60	櫻桃 (秋田縣)

の6株で之等の菌株群の菌學的諸性質は第1報に報告したものと酷似して居るので記載は省略するが, 胞子はす

(324)

(小玉, 京野, 小玉) 産膜酵母菌に関する研究 (第2報)

べて第1報の菌株群同様不著明な帽子形か底邊の厚膜な整正半球形で原種型の様に各種の不整形を混在しない事を再確認し得た (附圖参照)。

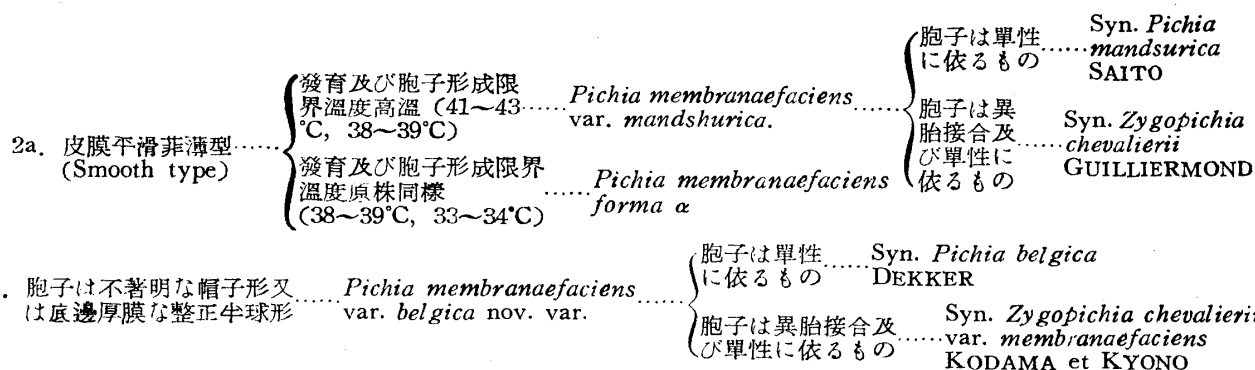
而して第1報に於て報告した *Pichia belgica* 及び著者等の *Zygopichia chevalieri* var. *membranaefaciens* として発表した Wrinkled type の變種を今回新たに分離した上述の夫々12株及び6株と併せて、之等を孢子形成時の接合性に依る區別を廢する LODDER の提唱に従つて *Pichia membranaefaciens* Orig. type と、孢子の形狀に依つて明らかに區別される新たな一變種と見做し *Pichia membranaefaciens* var. *belgica* (DEKKER) comb. nov. と命名したい。

以上第1報及び第2報に發表した60株の菌株群は LODDER に依れば總て *Pichia membranaefaciens* HANSEN group に包含されるが、しかし之を孢子の形狀、液體培地に於ける皮膜及び劃線培養の狀貌、發育及び孢子形成限界溫度等に依り更に變種乃至品種として細分されるものと考えられる。上述の試験結果を綜合した著者等の分類表を次に示す。

Pichia membranaefaciens group の分類表

a. 孢子は各種混合型

- 1a. 皮膜有皺肥厚型.....*Pichia membranaefaciens* HANSEN (orig. type)
(Wrinkled type)



總 括

第2次に檢索した47株を次の2新變種に分類した。

e. *Pichia membranaefaciens* var. *mandshurica* (SAITO) comb. nov.

f. *Pichia membranaefaciens* var. *belgica* (DEKKER) comb. nov.

終りに臨み終始御指導を賜はりつゝある阪大小田先生に厚く感謝の意を表し、又貴重なるビタミンその他試薬を御分與下された佐藤喜吉先生、東大高橋雅弘氏、山梨大醸研後藤氏並びに分離試料を御惠送下された日本酒類KK常務取締役中村榮一氏始め全國の各位に衷心より感謝の意を表する。

(本報の概要は昭和29年10月大阪醸造學會講演會に於て發表した。)

文 献

- 1) 小玉, 京野: 本誌, 3, 8 (1952).
 - 2) J. LODDER & N.J.W. KREGER-VAN RIJ: The yeasts (1952).
 - 3) 横塚, 後藤: 日農化, 29, 39 (1955).
 - 4) 横塚, 後藤: 日農化, 29, 44 (1955).
 - 5) WICKERHAM L.J.: Tech. Bull. No.1029, U.S. Dep. Agric. Washington D.C.
 - 6) 小田, 若林, 吉田: 本誌, 33, 80 (1955).
 - 7) STELLING-DEKKER.: Die sporogenen Hefen (1931).
 - 8) 坂口, 王: 日農化, 10, 459 (1934).
 - 9) 井上, 野田: 日農化, 23, 294 (1950).
 - 10) SAITO K.: Rep. Central Lab. S. Manchuria. R. Co. 1: 1 (1914).
- (昭和30, 6, 30 受理, 經費著者負擔)