

(4) (小玉健, 小玉順, 京野) 産膜酵母菌に関する研究 (第1報)

産膜酵母菌に関する研究 (第1報)

Pichia 属及び Zygosaccharomyces 属 (1)

小玉 健吉・小玉順一郎・京野 忠司

(小玉醸造株式会社醸酵研究室)

(昭和 26.9.4 受理)

緒 言

含糖液に培養するとき速かに乾燥皮膜を作る産膜酵母菌を分類學上より見れば, *Hansenula*, *Zygosaccharomyces*, *Pichia*, *Zygosaccharomyces* 属の外に *Debaryomyces* 及び *Zygosaccharomyces* 属の或種類を含んだ有胞子性の酵母菌と, *Mycoderma* 属及び *Torulopsis* 属の若干種の如き無胞子性酵母菌とに區別される. 而してその中で有胞子性属の種類に就いては STELLING-DEKKER,¹⁾ 無胞子性属の種類に就いては LODDER²⁾ のモノグラフが最も重要な文献として知られてゐる.

産膜酵母菌の大多數は醸酵工業上多少程度の差があるとしても, 大體に於て有害作用を呈する種類に属するものであるが, また清酒醸造上硝酸還元作用³⁾, 又後熟作用⁴⁾ に與る *Hansenula anomala* や, 泡盛醸造上(酸糖化アミロ法に依る)特有の風味を附與する *Mycoderma* sp. No. 306 NAKAZAWA⁵⁾ の如く有益なるものも知られてゐる.

斯くの如く産膜酵母菌はその種類の多きのみならず, また實地上にも關係の深いものであるから, 著者等は先づ有胞子性の種類を対象として廣く醸造物, 果實, 蔬菜, 漬物, 穀類, 土壤等より新たに分離したものと學名不確定乃至未知の既存標本とを合せて數十株を選び, 一々その性質を吟味し, 以てそれらの種名を決定することにした. 本第1報は分離菌株中で *Pichia* 属及び *Zygosaccharomyces* 属に編入すべき種類に関する第1次報告である.

菌株を分離するには 12 Ballg. の麴汁又は麥芽汁に試料の少量を投入し, 25°, 30° 及び 35°C に夫々保ち集殖した. 又場合により直接に或は稀薄したる試料を以て平板培養し, 更に分離困難なる試料については豫めベトリ氏皿に固體培養基を流し込み, 固化後試料を表面に塗布し, 好氣性菌株群を選択的に集殖したものもある. 又培養基も麴汁, 麥芽汁の外, 硝酸加里を窒素源, 又は酒精を炭素源とする人工集成培養基をも併用した. 集殖したものは更に數回平板培養を反覆して純化し, 供試菌株とした.

菌株の分類

(A) *Pichia* 属及び *Zygosaccharomyces* 属a. *Pichia belgica* (LINDNER) DEKKERSyn.: *Willia belgica* (LINDNER) HANSEN*Hansenula belgica* (LINDNER) SYDOW

菌株番號	分離試料
No. 1	生甘藷搾汁 (栃木縣)
No. 2	"
No. 3	粕酢醗 (京都市)
No. 4	清酒醗 (山梨縣) (秋田縣)

(A) 細胞の形状, 大きさ

主として楕圓形, 長楕圓形乃至胡瓜形にして單獨又は數個連結する (第1圖).

大きさは

楕圓形……2.5~3.5×4.0~5.0 μ

長形……2.5~5.0×6.0~10.0 μ

(B) 液體培養

麴汁……灰白乳皮狀の皮膜を作り, 次第に肥厚し, 乾燥性縮緬狀の皺襞を生ずる. 醱酵による氣泡の發生はなく, 液は透明で濁濁しない.

麥芽汁……麴汁に比し發育不良, 薄い灰白乳皮狀の皮膜を作るが, 左程肥厚せず, 僅かに皺襞を生ずるのみ.

A液*)…酒精を炭素源とすれば薄い灰白, 平滑蠟様, 濕潤なる皮膜を作るが肥厚しない.

(C) 糖類に對する醱酵性

葡萄糖, 果糖, マンノーゼを極く微かに醱酵するが, 他の糖類を醱酵しない (No.3は全く醱酵しない).

(D) 發育限界溫度

菌番號	最 高	最 低
No. 1	36~37°C	2~3°C
No. 2	37~37.5°C	//
No. 3	35~36°C	//
No. 4	35~36°C	//

即ち最高35~37.5°C, 最低2~3°Cに位する.

(E) 胞子の形狀及び子囊形成時に於ける接合の有無

麴汁寒天及びゴロドコワ氏寒天上單性生殖により胞子を形成し, 麴汁寒天はその際屢々赤褐色の菌苔となる. 胞子は半球形にして底邊は屢々厚く, 輪片の不著明な帽子形を呈するが *Hansenula* 屬の如く明瞭でない (第2圖).

胞子の大きさは

2.3~2.5×2.5~2.8 μ

毎子囊中普通3~4個の胞子を有し, 子囊は破れ易く, 胞子を游離するものがある.

(F) 胞子形成の限界溫度

各菌株を通じ最高31~32°C, 最低6~7°Cに位する.

(G) 硝酸鹽同化: 陰性.

(H) エステル様芳香生成: なし.

(I) 劃線培養

(1) 麴 汁 ゼ ラ チ ン

菌番號	色	隆起性	表面の狀態	周縁	ゼラチン液化
No. 1	灰白色	隆起性菌苔	劃線に直角の方向に緻密な小皺を有し周縁に至る	概ね整正	ゼラチン液化認められず (2ヶ月後)
No. 2	灰白色後赤褐色を呈するに至る	//	//	//	ゼラチン液化力強く菌苔は深く陥没するに至る (1ヶ月後)
No. 3 No. 4	No. 2 に酷似する				

*) 3%酒精, 0.1%硫酸, 0.1%KH₂PO₄, 0.05%MgSO₄を水道水に溶かす, 以下同様.

(6) (小玉健, 小玉順, 京野) 産膜酵母菌に関する研究 (第1報)

(2) 麴汁寒天

菌番號	色	隆起性	表面の状態	周縁
No. 1	半乾燥灰白色	少々隆起性の菌苔	緻密なる小皺を有する	概ね出入少なくかすかに鋸齒狀
No. 2	半乾燥黄白色 後少々赤褐色	隆起性の菌苔	著しく皺を有する	"
No. 3 No. 4	No. 2 に酷似する			

(J) 巨大聚落

菌番號	色	傾斜	火口	同心圓	放射狀線及び褶皺の有無	周縁	ゼラチン液化
No. 1	灰白色後少々黄褐色を呈する	緩く傾斜し中央部丘狀に突出する	なし	なし	中心より放射狀の緻密なる皺を有する	概ね整正類圓形	ゼラチン液化殆んどしない
No. 2	灰白色後少々赤褐色を呈する	中央部緩く隆起する	"	"	"	"	次第に液化する(1ヶ月後)
No. 3 No. 4	No. 2 同様						

類縁

本菌群の胞子は輪片の不著明なる帽子形を呈し、むしろ半球形の圓弧又は底邊が極めて僅かに突出する程度に過ぎないから *Hansenula* 屬よりもむしろ *Pichia* 屬に入れる方が適當である。また發育及び胞子形成の最高溫度が夫々35~37.5°C, 31~32°Cにして少々低溫なること、其の他の諸性質によつてこれを *Pichia belgica* (LINDNER) DEKKER と認めた。

なお本菌群と同型の菌株は嘗て高粱酒醪⁶⁾及び梅漬生薑⁷⁾よりも分離されてゐる。

b. *Pichia membranaefaciens* HANSEN

" " FORMA α

菌株番號	分離試料
No. 5	梨子酒醪 (秋田縣)
No. 6	葡萄酒醪 (秋田縣)
No. 7	粕酢配 (京都市)
No. 8	クワス酒 (長西教授分離)
No. 9	米酢醪 (長西教授分離) (尾道市)

(A) 細胞の形狀, 大きさ

主として橢圓形, 卵圓形乃至長橢圓形にして屢々胡瓜形を呈し, 單獨又は數個連結する (第3圖)。大きさは

橢圓形……2.5~4.0×3.0~6.0 μ

長形……2.0~3.5×6.0~9.0 μ

(B) 液體培養

麴汁……No. 5及びNo. 6は白色乾燥性皮膜を作り, 次第に肥厚して著明なる褶皺を生じ, 屢々赤褐色を呈する。醱酵による氣泡の發生はなく, 液は透明で濁濁しない。

No. 7, No. 8及びNo. 9は濕潤灰白色, 平滑なる皮膜を形成し, 後少々褶皺を生ずるも肥厚しない。醱酵による氣泡なく, 液も透明で濁濁しない。

麦芽汁……麴汁に比し, 發育不良, 薄い灰白色, 平滑の半乾燥性の皮膜を生ずる。

A液……酒精を炭素源として發育し, 麦芽汁の場合と同様の皮膜を生ずる。

(C) 糖類に対する醗酵性

葡萄糖, 果糖, マンノースのみを極く微かに醗酵する.

(D) 發育限界温度

菌番號	最高温度	最低温度
No. 5	38.5~39.0°C	2~3°C
No. 6	38.0~38.5°C	〃
No. 7	38.0~38.5°C	〃
No. 8	38.0~38.5°C	〃
No. 9	38.0~38.5°C	〃

即ち最高38~39°C, 最低2~4°Cに位する.

(E) 胞子の形状及び子嚢形成時に於ける接合の有無

麴汁寒天, ゴロドコワ氏寒天, 葡萄糖ペプトン寒天又はニンゲン片上良く單性胞子を形成する. また麴汁寒天上の菌苔には赤褐色を呈するものが多い. 胞子は主として半球形又は球形に近い半球形にして稀に球形を呈する (第4圖).

胞子の大きさ

半球形又は類圓形.....1.5~2.0×2.0~2.5 μ

球形.....(2.0)²~(2.5)² μ

毎子嚢中普通3~4個の胞子を有し, 稀に2~6個のものもある.

(F) 胞子形成の限界温度

麴汁寒天, ゴロドコワ氏寒天及びニンゲン片上にて各株共に最高34~35°C, 最低7~8°Cに位する.

(G) 硝酸鹽の同化: 陰性.

(H) エステル様芳香生成: なし.

(I) 劃線培養

(1) 麴 汁 ゼ ラ チ ン

菌番號	色	隆 起 性	表面の状態	周 縁	ゼラチン液化
No. 5	乾燥黄白色後次第に赤褐色となる	隆起性	腸様褶襞を有する	僅かに小波瀾状	ゼラチン液化殆んどしない(2ヶ月後)
No. 6	半乾燥白色次第に稍々赤褐色となる	稍々隆起性	著しい褶襞を有する		ゼラチン液化殆んどしない(2ヶ月後)
No. 7	濕潤黄白色後稍々黄褐色	偏平に發育する	平滑にして褶襞を有せず	整 正	液化力強く菌苔は次第に陥没する(1ヶ月後)
No. 8	濕潤黄白色後黄褐色となる	偏平に發育する	平滑にして褶襞を有せず	整 正	ゼラチン液化力強く次第に陥没する
No. 9	濕潤黄白色後黄褐色となる	偏平に發育する	中央部平滑にして褶襞を有せず	僅かに小皺を有する	ゼラチン液化殆んどしない(2ヶ月後)

(2) 麴 汁 寒 天

菌番號	色	隆 起 性	表 面 の 状 態	周 縁
No. 5	乾燥白色後次第に赤褐色を呈する	著しく隆起性の菌苔を形成する	著しい褶襞を有する	概ね整正
No. 6	半乾燥白色後帶黄褐色を呈する	稍々隆起性の菌苔	緻密なる小褶襞を有する	〃
No. 7	濕潤黄白色後黄褐色を呈する	隆起せず偏平なる菌苔	平滑にして褶襞を有しない	〃
No. 8	稍々濕潤灰白色後稍々黄褐色を呈する	大して隆起しない偏平な菌苔	平滑にして褶襞を有しない	概ね整正なるも僅かに鋸齒状
No. 9	灰黄白色後黄褐色を呈する	No. 8 同様		

(8) (小玉健, 小玉順, 京野) 産膜酵母菌に関する研究 (第1報)

(J) 巨大聚落

菌番號	色	傾 斜	火 口	同心圓	放 射 狀 線 及 び 褶 襞 の 有 無	周 緣	ゼラチン 液 化
No. 5	灰黄色後赤褐色を呈する	少々隆起性類圓形の菌苔を形成する	なし	なし	放射狀の襞を有する	整正	殆んどなし (2ヶ月後)
No. 6	灰黄色後黄褐色を呈する	〃	中央に小さき噴火口を有する	なし	中心より多數の緻密なる放射狀の皺を有する	〃	〃
No. 7	濕潤帶黄褐色	レンズ型に緩く隆起する	なし	なし	なし	〃	〃
No. 8	濕潤黄褐色	菌苔を形成する	なし	なし	なし	〃	〃
No. 9	No. 8 同様						

類 縁

本菌群中の中で No.5, No.6 は既知種中 *Pichia membranaefaciens* HANSEN と同定される。その麴汁培養上の皮膜は肥厚し、又麴汁寒天には褶襞の著しい菌苔を作り、巨大聚落もまた有皺性である。反之、No.7, No.8, No.9 は産膜性弱く、麴汁寒天上濕潤、暗黄褐色乃至灰褐色にして殆んど平滑なる菌苔を作り、巨大聚落も亦平滑、レンズ形を呈するによつて、これらを原株の變型と見做し、Forma α と名けた。

本菌群のものは高粱酒醪⁶⁾ 及び醱酵せる椰子樹液⁷⁾ より分離されてゐる。

c. *Zygopichia chevalieri* var. *membranaefaciens* nov. var.

菌株番號	分離試料
No. 10	甘露醪汁 (栃木縣)
No. 11	山葡萄液 (秋田縣)
No. 12	米酢醪 (秋田縣)
No. 13	夏みかん (愛媛縣)

(A) 細胞の形狀、大さ

主として短橢圓、卵圓乃至橢圓形を呈し、稀に球形乃至短胡瓜形である (第5圖)。

大さは

卵圓、橢圓形……2.5~6.0×2.0~4.5 μ

短 胡 瓜 形……7.0~8.0×2.0~3.5 μ

(B) 液體培養

麴汁……發育極めて良好にして白色乾燥の著しく褶襞ある皮膜を作り、次第に肥厚し、暗赤色を呈するに至る。醱酵による氣泡の發生は認められず、液は透明で、濁濁しない。

麥芽汁……麴汁に比し、發育不良にして、薄い灰白色乳皮狀の皮膜を作るも、左程肥厚しない。

A液……酒精を炭素源として發育し、薄い灰白色、平滑、濕潤なる皮膜を作るが、餘り肥厚しない。

(C) 糖類に對する醱酵性

本菌群は總ての糖類を醱酵しない。

(D) 發育限界溫度

菌番號	最高溫度	最低溫度
No. 10	38~39°C	3~4°C
No. 11	37~38°C	〃
No. 12	37.5~38°C	〃
No. 13	37.5~38°C	〃

即ち最高37~39°C, 最低3~4°Cに位する。

(E) 胞子の形状及び子嚢形成時に於ける接合の有無

麴汁寒天, ゴロドコワ氏寒天, 葡萄糖ペプトン寒天及び麴汁に培養せるときの皮膜には何れも良く胞子が形成する。胞子形成菌苔は赤褐色を呈する。子嚢は2個の細胞の異胎接合又は極めて稀に同胎接合によつて生じ, 更に単性生殖によるものもある。

胞子は輪片の不著明な帽子形乃至半球形を呈し, その大きさは1.5~2.0×2.5~2.8. 毎子嚢中2~4個の胞子を有する (第6圖)。

(F) 胞子形成の限界温度

菌番號	最高温度	最低温度
No. 10	33.5~34°C	5~6°C
No. 11	33.5~34°C	6~7°C
No. 12	33.0~34°C	"
No. 13	33.0~34°C	"

即ち最高33~34°C, 最低5~7°Cに位する。

(G) 硝酸鹽の同化: 陰性。

(H) エステル様芳香生成: なし。

(I) 劃線培養

(1) 麴汁ゼラチン

菌番號	色	隆起性	表面の状況	周 縁	ゼラチン液化
No. 10	灰白色後赤褐色を呈するに至る	扁平に發育	極めて緻密なる皺を有する	概ね整正なるも平行せる緻密なる小皺を有する	液化力強く菌苔は全く陥没するに至る (1ヶ月後)
No. 11	灰白色後帯黄褐色	稍々隆起性	"	"	"
No. 12					
No. 13					

(2) 麴汁寒天

菌番號	色	隆起性	表面の状況	周 縁
各株を通じて	乾燥白色後次第に赤褐乃至紅褐色を呈するに至る	稍々隆起性	著しく緻密なる皺を有する	概ね整正なるも僅かに鋸齒状

(J) 巨大聚落

菌番號	色	傾 斜	火 口	同心圓	放射狀線及び皺の有無	周 縁	ゼラチン液化
No. 10	暗赤褐色	扁平に擴大し隆起せず	なし	なし	中心より放射狀線及び褶襞を有する	細かき波状	次第に液化し陥没する
No. 11	初め黄褐色次第に赤褐色となる	僅かに隆起する	火口なきも中央部傾かに陥没する	なし	不規則な放射狀線及び褶襞を有する	不規則な波状	ゼラチン液化おそく陥没せず
No. 12 No. 13	初め暗白色次第に赤褐色となる	レンズ型に隆起する	なし	なし	放射線なきも僅かに褶襞を有する	整正	No. 10同様ゼラチン液化する

類 縁

本菌群は *Zygopichia chevalieri* に酷似するも, 發育並びに胞子形成の最高温度に於て原株が夫々41~43°C, 37~38°Cなるに比し, 本菌群は夫々37~39°C, 33~34°Cの低温にあり。又原株標本 (廣島大學保存) と比較したところによれば, 麴汁に於て原株は濕潤, 殆んど平滑, 灰白色の薄い皮膜を作るが, 本菌群は發育良好にして乾燥で著しく褶襞のある厚い皮膜を作る點, 更に麴

(10) (小玉健, 小玉順, 京野) 産膜酵母菌に関する研究 (第1報)

汁寒天斜面培養に於て原株が濕潤, 灰黄色の殆んど平滑なる菌苔を作るに對し, 本菌群は乾燥性の著しく褶襞を有する菌苔を作るなど相違する點があるから新たに1變種として *Zygopichia chevalieri* var. *membranaefaciens* nov. var. とした。

本菌群に屬する菌株には樹幹の粘液流及びフレブ液 (樺太産コケモモ液)⁸⁾ より *Zygosaccharomyces chevalieri* GUILL. (現今では *Zygopichia*) 及び醗酵せる椰子樹液, 火落清酒滓から *Z. chevalieri* var. *fermentati* SAITO^{9, 10} が本邦で知られた。恐くは分布の廣い種類であらう。

尙入江氏¹¹⁾ が酒母より分離した *Zygopichia chevalieri* は麴汁上濕潤臘白色の皮膜を作り, 麴汁寒上には灰白色の菌苔を作るも決して赤褐色を呈しない點に於て原株に近いが, 一方發育の最高溫度が37.5°Cの低溫にあることは本變種に近く, 原株と本變種との中間型と認められる。

總 括

第1次に検索決定した13株は次の4類に分類された。

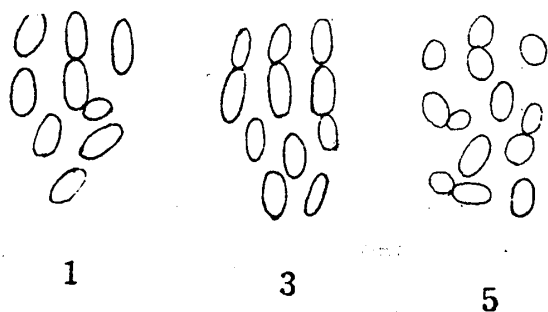
- (a) *Pichia belgica* (LINDNER) DEKKER
- (b) *Pichia membranaefaciens* HANSEN
- (c) *Pichia membranaefaciens* HANSEN Forma α
- (d) *Zygopichia chevalieri* (GUILL.) KLÖCKER *membranaefaciens* nov. var.

終りに臨み菌株の分與を頂いた東北大學植村先生に厚く感謝の意を表する 尙實驗に助力された大地茂君の勞を多とする。

(本報の概要は昭和26年6月17日日本農藝化學會東北支部大會に於て發表した。)

文 獻

- 1) STELLING-DEKKER: Die sporogenen Hefen (1931).
- 2) LODDER: Die anascosporogenen Hefen, I (1934).
- 3) 齋藤, 小田: 本誌, 12, 159~174 (1934).
- 4) 高橋, 佐藤: Journ. Coll. Agric., Imp. Univ. Tokyo, 1, 227 (1911).
- 5) 中澤: 日農化, 11, 573 (1938).
- 6) 齋藤: 滿鐵中試報 (歐文) 1, 33 (1914).
- 7) 大谷: 本誌, 10, 14 (1932).
- 8) 齋藤, 大谷: 本誌, 9, 8 (1931).
- 9) 齋藤: 本誌, 10, 11 (1932).
- 10) 長西: 本誌, 19, 28 (1941).
- 11) 入江: 本誌, 11, 385 (1933).



- 1~2, *Pichia belgica* (No. 1)
 3~4, *P. membranaefaciens* (No. 6)
 5~6, *Zygopichia chevalieri* var. *membranaefaciens* (No. 9)
 1, 3, 5 は皮膜細胞 (×約740)
 2, 4, 6 は子囊と胞子 (×約1200)

