

時間を測定したのに對し、本法では時間を一定となし、ヨード染色液の透過率から反應終點に至る時間をグラフによつて算出する方法である。

更に本法に於ける計算の基準となるグラフについて検討を加え、この標準曲線は反應する pH 7.0~4.0, 温度 40~10°C では不變であることを認めた。又酵素液の種類については清酒醸造用麴に関する限り大差ないことを認めた。

終りに臨み、御指導、御便達を賜りました、照井、寺本兩教授、小田助教授並びに研究室の佐瀬、橋田氏に深く感謝致します。又本嘉納商店研究室の方々、豊澤酒造米崎氏の御援助を謝し、この發表を公にすることをお許し頂いた當社社長安福武之助氏に謝意を表します。

文 献

- 1) T. MUNSEY BACK, W. H. STARK and ROBERT E. SCALE: Anal. Chem. 20, 56 (1948).
 - 2) 北原, 村田: 本誌, 31, 349 (1953).
 - 3) 松島欽一: 本誌, 28, 91 (1950).
 - 4) 二國二郎: 澱粉化學, 331.
 - 5) 北原: 本誌, 27, 1 (1949).
- (昭和 29, 9, 7 受理)

麴菌の胞子形成に関する研究 (第2報) CZAPEK 改變培地について(1)

根 平 武 雄 (廣島大學工學部)

ま え が き

私は前報¹⁾で、麴菌の胞子形成に關しての基本條件として、種植條件、培養温度、養基量を検討した。本報では、更にCZAPEK-agar を基礎とした改變培地について、胞子形成の試験を行つた結果について報告する。

I. pH の 影 響

CZAPEK-agar は前報の處方では pH 6 附近となるが、pH 2~9 に調製して、sporulation に對する影響を見た。(Tab. I) pH は殺菌後ペトリ皿に分け固める直前に HCl 及び K₂CO₃ で調節した。其他の試験方法は前報に準ずる。

Table I. Sporulation at pH 2~9.

pH	dates of incubation	2	3	4	5	6
2.0	color, conidia	SfG 2.4	MG 15.3	KG 20.1	KG(DC)22.8	DC(KG)16.1
	mycelia	118.3	79.4	74.5	59.7	59.9
	total	127.4	137.2	150.5	145.9	120.8
3.0	color, conidia	PGG 12.1	MG 29.8	KG 32.5	DC(KG)30.9	YO,OC 31.3
	mycelia	124.2	85.5	72.3	65.2	60.6
	total	169.9	198.1	195.2	182.0	178.9
4.0	color, conidia	DSfG 5.2	KG 30.1	KG 32.4	DC(KG)30.9	YO(SO)29.1
	mycelia	130.5	86.8	74.5	69.3	64.8
	total	150.2	200.6	197.0	186.1	178.8
5.0	color, conidia	PGG 8.3	MG 38.2	KG 31.8	DC(KG)27.8	YO,SO 25.3
	mycelia	126.8	86.4	81.4	74.7	63.5
	total	158.2	230.8	201.6	179.8	159.1
6.0	color, conidia	SfG 4.3	MG 26.7	KG 27.9	DC 24.7	SO 24.2
	mycelia	141.9	118.2	99.4	89.6	81.6
	total	158.2	219.1	204.9	183.0	173.1
7.0	color, conidia	SfY 1.0	MG 25.0	KG 26.2	DC(YO)25.4	SO(YO)24.3
	mycelia	141.2	120.3	98.2	90.8	85.0
	total	145.0	214.8	197.2	186.8	176.8

(452)

(根平) 麴菌の孢子形成に関する研究 (第2報)

8.0	color, conidia	W	0.2	MG	25.6	KG	23.6	DC(YO)	22.3	SO(YO)	20.6
	mycelia		113.0		113.4		88.2		80.2		74.6
	total		113.8		210.2		177.4		164.5		152.5
9.0	color, conidia	W	0.1	MG	9.7	KG	21.3	DC(YO)	16.8	YO(SO)	17.1
	mycelia		78.6		117.0		92.0		84.6		77.3
	total		79.0		153.7		172.5		148.1		142.9

Units: conidia— 10^8 , mycelia—mg, total—(conidia+mycelia) mg.

SfG=Sea-foam Green, PGG= Pale Glass Green, DSfG=Deep Sea-foam Green, SfY=Sea-foam Yellow, W=White, MG=Mi-gnonette Green, KG=Kronberg's Green, DC=Dull Citrine, YO=Yellowish Olive, OC=Olive Citrine, SO=Saccardo's Olive.

この結果によれば sporulation に對する好適 pH は幅が廣く、3.0~6.0の範圍にあり、7.0~8.0に於ては初め(2晝夜)は少々劣るが、3日以降では遜色がない、pH 2.0及び9.0は明かに劣る。

菌體生成に對する好適 pH は3.0~8.0で大體3日で最高に達し、以後漸減する。

從來の研究はすべて液體培養によつたものであるが、次の様な結果が報告されている。黒野、藤田兩氏²⁾は、麴菌の菌糸及び孢子形成の最適 pH は7.3であり、pH 5.2以上の酸性は菌糸及び孢子形成何れにも不適であるといつてゐる。田宮氏³⁾によれば麴菌糸の發育はその等電荷點(pH 5.5)を境として、その兩側(pH 3.5及び7.0)に好適點を有するものであるが、培養液に種々の鹽類を加えると好適點に變動を來すものである。又孢子形成はpH 6以上のアルカリ側に於て微弱となる。高田氏⁴⁾によれば、麴菌の繁殖し得られる pH の限界は極めて廣く、pH 1.8~9.0の範圍にあり、繁殖の最適 pH は4.5(4.4~4.7)附近と5.6(5.5~6.0)附近の2箇所にある、これが培養液の狀況によつてpH 4.5或は5.6の何れかに好適點が出現すると推定される。例えばN-源が鹽化アンモニウムの場合はpH 5.7、硝酸カリのときはpH 4.6及び5.5、硝酸アンモニウムのときはpH 4.7、尿素のときはpH 4.4に好適點が出現する。

I. 土壤エキスの影響

CZAPEK-agar をつくる場合、用いる水の10%を土壤エキスと置きかえて、その影響を観察した。(Tab I)

Table I. Influences of soil extract

media	dates of incubation	2	3	4	5	7
Czapek-agar (control)	color, conidia	CG 7.7	KG 21.8	RG 21.8	YO 20.5	BO 18.2
	mycelia	114.7	98.2	80.1	65.6	67.3
	total	143.8	180.6	162.5	143.1	136.1
" (-10% water +10% soil ex.)	color, conidia	LYO 12.4	KG 20.7	KG 22.3	YO 21.1	SO 19.3
	mycelia	110.6	93.9	86.1	68.0	59.5
	total	157.5	172.1	170.4	147.8	132.5

CG=Chrysolite Green, LYO=Light Yellowish Olive, RG=Roman Green, BO=Buffy Olive.

この結果によれば、土壤エキスの影響は認められない。

II. K_2HPO_4 の影響

CZAPEK-agar における K_2HPO_4 を0.05~1.0%の範圍に變えてその影響を見た(Tab. II) この場合 pH は5.6~6.6に變わるが、調整しなかつた。

Table II. Influences of K_2HPO_4

K_2HPO_4 %	dates of incubation	2	3	4	6	7
0.05	color, conidia	SfG(W) 1.8	MG,KG 21.0	KG 27.6	YO 27.1	SO(DC)24.8
	mycelia	143.8	106.7	92.0	79.8	74.6
	total	150.6	186.1	196.3	181.9	168.3

0.1	color, conidia	CY	5.4	MG, KG	24.5	KG(MG)	23.9	YO	25.5	SO(DC)	24.7
	mycelia		149.9		107.9		93.3		77.9		69.5
	total		163.3		200.5		183.6		174.3		162.9
0.2	color, conidia	W	1.7	MG	20.5	KG(MG)	24.3	DC	23.6	SO(DC)	23.5
	mycelia		163.1		134.0		114.8		100.0		96.8
	total		169.5		211.5		206.6		189.2		185.6
0.3	color, conidia	W(CY)	1.5	MG(KG)	26.4	KG(MG)	24.5	DC	26.3	SO	28.1
	mycelia		160.0		114.8		101.5		77.5		77.3
	total		165.7		214.6		194.1		176.9		183.5
0.4	color, conidia	W(SfG)	2.7	MG(KG)	19.5	KG, MG	26.2	OC	24.3	SO	27.0
	mycelia		145.8		113.5		101.9		80.3		77.7
	total		156.0		187.2		200.9		172.1		179.8
0.5	color, conidia	PGG(MG)	6.3	MG, KG	24.6	JG, KG	25.0	OC	22.5	SO	20.6
	mycelia		145.7		100.3		91.4		81.4		71.8
	total		169.5		193.3		185.9		166.5		149.7
1.0	color, conidia	W(MG)	3.0	MG, KG	17.5	DC(KG)	24.8	OC	26.9	SO	19.7
	mycelia		148.2		105.6		93.2		68.0		74.8
	total		159.5		171.8		186.9		169.7		149.3

CY=Chartreuse Yellow. JG=Jade Green.

この結果によれば K_2HPO_4 の含有量に、この程度の開きがあつても sporulation には影響がない。

IV. 炭素源の影響

A. CZAPEK-agar において炭素源として saccharose, glucose, fructose, maltose, lactose, soluble starch を夫々 3% 使用して試験した結果は Tab. IV の通りである。

Table IV. Influences of various C-sources.

C-sources 3%	dates of incubation	2	3	4	5	6	7
Saccharose	color, conidia	W(DSfG) 8.1	MG(KG) 18.8	MG, LYO 23.4	YO, OC 25.3	SO 25.9	
	mycelia	132.0	95.8	92.4	84.3	80.8	
	total	162.6	166.9	180.9	179.8	178.7	
Glucose	color, conidia	W(PGG) 2.5	DSfG 13.3	MG 12.9	DC 15.6	SO 16.6	
	mycelia	130.8	105.2	94.1	89.2	88.6	
	total	140.3	155.5	142.8	148.2	171.3	
Fructose	color, conidia	SfG(W) 3.4	MG 19.6	MG, LYO 33.1	LYO, YO 27.4	SO 24.3	
	mycelia	123.5	89.5	78.8	77.4	76.5	
	total	136.4	163.7	203.9	181.0	168.3	
Maltose	color, conidia	DSfG 7.5	MG 19.5	LYO 31.0	SO 25.5	SO 24.1	
	mycelia	130.0	97.2	92.3	88.1	85.7	
	total	158.4	170.9	209.5	184.5	176.8	
Lactose	color, conidia		LTG 1.2	GG 7.9	OL 9.5	BC 18.1	BC, SO 16.5
	mycelia	no growth	25.3	52.2	56.7	75.3	75.2
	total		68.8	82.1	92.6	143.7	137.6

(454)

(根平) 麹菌の孢子形成に関する研究 (第2報)

Soluble Starch	color, conidia	SfG 4.7	MG 19.8	MG, LYO 23.1	SO 22.8	SO 20.2	
	mycelia	114.7	94.1	87.3	77.4	62.2	
	total	132.5	168.9	174.8	163.6	138.6	

LTG=Light Turtle Green, GG=Grape Green, OL=Olive Lake, BC=Buff Citrine.

この結果によれば saccharose, fructose, maltose, soluble starch は大した差はないが, glucose は少々劣り, lactose は著しく劣っている。

B. saccharose の量を1~20%に変えて, その影響を見た。(Tab. V)

Table V. Influences of saccharose contents (1~20%)

saccharose %	dates of incubation	3	4	5	6
1	color, conidia	OL 15.1	BC 15.8	BC 13.7	DOB 14.1
	mycelia	38.9	36.1	33.2	29.0
	total	96.0	96.8	85.0	82.0
2	color, conidia	BC 19.3	BC 22.0	SO 25.5	BC 24.6
	mycelia	63.2	60.6	59.4	46.7
	total	136.2	143.8	155.8	139.7
3	color, conidia	KG, MG 25.0	KG 24.6	KG 30.3	YO 28.2
	mycelia	116.5	108.8	90.6	86.0
	total	211.0	201.8	205.1	192.6
4	color, conidia	RG 21.6	JG 22.3	HG, JG 20.0	HG 20.6
	mycelia	142.9	114.2	99.3	96.8
	total	224.5	198.5	174.9	174.7
5	color, conidia	LCG 23.0	JG 24.5	EG 27.5	HG 22.4
	mycelia	173.6	141.5	139.6	134.2
	total	260.5	234.1	243.6	218.9
6	color, conidia	LCG 25.7	JG 23.5	HG 27.0	HG 27.5
	mycelia	156.0	140.3	139.2	121.1
	total	253.1	229.1	241.3	225.1
10	color, conidia	MG 14.5	RG 21.3	HG 20.1	HG 23.9
	mycelia	146.7	150.8	150.6	154.4
	total	201.5	231.3	226.6	244.4
15	color, conidia	OY 12.2	LYO, SG 20.6	SG 24.5	SG 24.1
	mycelia	139.9	130.3	128.0	140.4
	total	186.0	208.2	220.6	231.5
20	color, conidia	YC 18.3	LYO, SG 21.9	SG 25.4	SG 22.6
	mycelia	109.1	116.2	106.3	102.6
	total	178.3	199.0	202.7	188.0

RG=Rainette Green, LCG=Light Cress Green, OY=Olive Yellow, YC=Yellowish Citrine, SG=Serpentine Green, HC=Hellebore Green, EG=Elm Green, DOB=Dark Olive Buff.

この結果によれば, sporulation は1%のものは明かに劣るが, 2~6%では差は認められず, 10%以上のものは遅れる傾きがある。菌糸量, 及び菌體量は1~5%では糖量に従って増加するが6%以上では増加しない。

C. glucose を3~25%の範囲に変えて試験した結果は次の通りである Tab. (VI)

Table VI. Influences of glucose contents (3~25%)

glucose %	dates of incubation	2	3	4	5	7
3	color, conidia	IY 1.2	LYO 17.2	YO 22.0	SO 27.2	BO 25.6
	mycelia	177.4	83.4	72.3	75.2	71.6
	total	181.9	148.0	155.5	178.0	168.4
5	color, conidia	IY 1.2	KG 15.6	JG 21.0	IG 19.6	HG, JG 28.0
	mycelia	201.4	139.8	123.9	116.4	96.5
	total	205.9	198.7	201.3	190.5	202.4
6	color, conidia	IY 3.1	LHG 33.1	HG 34.8	HG, CG 33.7	EG 29.0
	mycelia	161.1	185.5	163.7	144.9	117.9
	total	172.8	310.7	295.3	272.3	227.5
7	color, conidia	IY 2.0	MG 16.3	KG 19.6	KG 30.6	LHG, JG 28.1
	mycelia	155.7	178.1	274.4	178.4	197.6
	total	163.3	239.7	348.5	294.1	303.8
8	color, conidia	IY 2.5	MG 18.2	JG 27.4	LEG 26.0	HG 32.4
	mycelia	147.9	205.8	220.4	231.2	184.3
	total	157.4	274.2	324.0	329.5	306.8
10	color, conidia	IY 2.6	MG 16.2	KG 28.0	KG 30.6	EG 31.0
	mycelia	130.9	162.3	152.5	233.7	160.7
	total	140.7	223.1	258.4	349.4	277.9
15	color, conidia	IY 2.1	MG 21.9	SG 29.0	RG 25.5	KG 31.2
	mycelia	121.6	140.5	163.3	190.1	226.1
	total	129.5	223.2	272.9	286.6	344.1
20	color, conidia	IY 1.2	OY 19.0	LYO 21.6	LYO 22.7	MG 21.0
	mycelia	120.2	156.8	181.1	210.5	268.0
	total	124.7	228.6	262.8	296.3	347.3
25	color, conidia	IY 1.3	OY 17.5	LYO 21.2	LYO 27.0	
	mycelia	117.4	149.6	182.8	199.9	
	total	124.3	215.7	262.9	302.0	

IY=Ivory Yellow, LHG=Light Hellebore Green, IG=Ivy Green, CG=Ceder Green, LEG=Light Elm Green, RG=Rainette Green.

この結果によれば、sporulation については3~25%の範囲では、大きな差は認めないが、6%がわずかによいようである。菌糸及び菌體量は3~7%では糖量に従って増加するが、7%以上では増加しない。又菌糸量については glucose 5%以下では2日で最高を示すが糖濃度が高くなるに従って、階段的に最高がおそくなるのは興味深い。

V. 培地濃度の影響

CZAPPEK 液の濃度を0.5~5倍に変えて、寒天培地をつくり、試験した結果は Tab. VIIの通りである。

Table VII. Sporulation on various concentrations of the medium.

Medium conc. (times)	dates of incubation	2	3	4	5	6	7	9
×0.5	color, conidia	PCY 7.5	MG 9.6	MG 20.4	YO 24.1	DC 23.2		
	mycelia	60.5	46.6	39.7	35.7	39.0		
	total	88.9	82.9	116.7	126.8	126.7		

(456)

(根平) 麴菌の孢子形成に関する研究 (第2報)

× 1	color, conidia	PGG(W) 5.4	MG, KG 20.8	MG(KG) 20.5	YO 18.7	YO 32.1		
	mycelia	126.7	89.3	79.8	68.2	58.1		
	total	147.1	167.9	157.3	138.8	179.4		
× 2	color, conidia	W 0.1	W(MG) 6.5	MG(KG) 17.1	LYO(YO)30.2	DC(OC) 28.7		
	mycelia	188.8	222.5	203.1	163.9	147.3		
	total	189.2	247.1	267.7	278.1	255.8		
× 3	color, conidia	W 0.05	W 0.3	SfY 4.1	PY 9.5	DC, OL -	BC 33.2	
	mycelia	175.4	248.8	284.0	214.1	-	210.4	
	total	175.6	249.9	299.5	250.0	-	335.9	
× 3	color, conidia	W 0.01	W 0.01	W -	MY 8.8	OB -	DOB 28.9	DOB 27.6
	mycelia	162.6	232.2	-	273.3	-	245.4	239.6
	total	163.0	232.6	-	306.5	-	354.6	343.8
× 5	color, conidia	W 0.02	W 0.01	W -	W(MY) 3.2	PY -	DOB 24.5	DOB 27.1
	mycelia	150.9	233.9	-	323.0	-	287.1	234.9
	total	151.7	234.3	-	335.2	-	379.7	337.2

PCY=Pale Chalcedony Yellow, PY=Primrose Yellow, MY=Marguerite Yellow.

この結果によれば、基本培地そのまゝのものが sporulation に對し好適で培地濃度が高い程 sporulation がおくれるがその最高孢子数には差が認められない。又、培地が濃い程、菌糸及び菌體生成量は多くなるが、その最高に達する日数はおそくなる。

む す び

CZAPEK-agar を基本培地として、その一部の成分比率を變えて、その sporulation に對する影響を試験した。

1. sporulation に對する最適 pH は3.0~6.0である。
2. 試薬純度1級程度の培養基質では、土壤エキス中に存在すると想像される微量土壤成分の影響は認められない。
3. 磷酸加里の影響も0.05~1.0%の範囲では認められない。
4. 炭素源としては、蔗糖、果糖、麥芽糖、可溶性澱粉が優れ、ブドウ糖は少々劣り、乳糖は著しく劣る。sporulation に對する蔗糖の最適濃度は2.0~6.0%である。ブドウ糖の最適濃度は6%附近で認められるが、3~25%の範囲では、大きな差がない。
5. 基本濃度のものが sporulation 培地として好適で、濃度が高い程、sporulation がおくれる。

終りに御鞭撻、御校閲をいただいた長西教授及び種々御助力を得た教室の諸君に感謝の意を表す。

文 献

- 1) 根平武雄：本誌，32，355 (1954)。
- 2) 黒野勸六，藤田英：醸協，21，(7)6，(9)12，(10)21，(11)18，(12)39 (1926)；22，(1)51 (1927)。
- 3) TAMIYA, H.: Acta Phytochimica, 3, 51 (1927)；4, 77 (1928)；4, 227 (1929)。
- 4) 高田亮平：工化，32，911，1026 (1929)。

(昭和29, 9, 10受理)