

- 4) 梅津: 本誌, **32**, 267 (1954); **33**, 349 (1955). 5) 山田: 醸造学研究法, **1**, 143 (1949). 6) BLOCK, R.J.: A Manual of Paper chromatography and Paper Electrophoresis, 84 (1955). 7) 山田: 醸造分析法, 128 (1936). 8) RAGIN: J. Biol. Chem., **80**, 543 (1928).

産膜酵母菌に関する研究 (第12報) *Hansenula* 属 (6)

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)

本報は分類の部 (B) *Hansenula* 属に関する第6報である。実験方法その他すべて前報¹⁾に準じた。

菌株の分類

f. *Hansenula anomala* var. *Ciferrii* LODDER et KREGER-VAN RIJ

Syn. *Hansenula ciferrii* LODDER

I 分離試料及び方法

分離試料を次の表に示す。

菌株番号	分離試料	菌株番号	分離試料
No. 287	生甘藷皮(和歌山県, 日高郡)	No. 289	山麴酛(秋田県, 北鹿酒類第2工場)
No. 288	山麴酛(青森県, 八戸酒類第3工場)	No. 290	〃 (秋田県, 渡辺彦兵衛商店)

II 実験及び結果

(A) 細胞の形状, 大きさ(麦芽汁25~26°C, 3~4日)

菌株番号	形状	大きさ(μ)
No. 287	主として楕円形, 稀に少々長楕円形	7.9~4.2×4.3~3.0
No. 288	主として楕円形, 卵円形, 稀に球形, 乃至少々長楕円形, 長卵円形	6.4~4.0×5.1~3.0, (5.7) ² ~(3.7) ²
No. 289	主として短楕円形, 短卵円形, 稀に球形を呈し延長形を全く欠く	7.3~3.2×4.8~2.7, (4.8) ² ~(3.2) ²
No. 290	主として短楕円形, 短卵円形, 次いで球形を呈し延長形を全く欠く	6.4~3.7×4.3~3.0, (4.3) ² ~(2.2) ²

即ち各菌株を通じ, 主として楕円形・卵円形次いで球形にして, 典型的な延長形を欠く(附図参照)。

(B) 液体培養: 麴汁及び麦芽汁上, 各菌株を通じ産膜性弱く, 25~26°C, 3~4日後微かに器壁に上昇し, 極めて菲薄な皮膜の痕跡を認められるのみ, 約1週間後漸く灰白色の極めて菲薄平滑な皮膜を形成するが, (No. 287, No. 290の2株は完全な皮膜を形成しない場合が多い。)日を経るも決して肥厚しない。醸酵に依る気泡の発生を認め, エステル様芳香を放ち, 液は始め濁独するが後沈澱酵母を生ずるに至り少々透明となる* (附図参照)。

(C) 劃線培養:

麦芽汁寒天(17°C, 1カ月)……各菌株を通じ黄白色乃至帯黄褐色, 湿潤光沢のある平滑扁平な菌苔をつくる。周縁は概ね単調, 僅かに細かい鋸歯状に出入し, 屢々毛状を呈する。

* 本菌株群の産膜性の微弱なる事は, 分類上注目すべき性質であるが, 本菌株群同様麴汁及び麦芽汁上皮膜形成極めて微弱乃至不完全な *Hansenula ciferrii* LODDER (NRRL-Y1322), *Hansenula subpelliculosa* BEDFORD (NRRL-Y1683) の2株を本菌株群と共に, 次の組成培地に培養した処, すべての菌株を通じ25~26°C, 3~4日後既に明らかに管壁に上昇し, 麴汁乃至麦芽汁に比して少々發育良好で, 菲薄乍ら平滑乃至微褶皺のある皮膜を形成する事を認めた。

エチル・アルコール…3%, (NH₄)₂SO₄…0.5%, カザミノ酸…0.5%, トリプトファン…0.005%, KH₂PO₄…0.1%, MgSO₄7aq…0.05%, ビタミン混液…LODDERの濃度。(以下 assimilation media と略称する)

麴汁寒天 (25°C 3 ~ 4 日)……麦芽汁寒天培地に酷似する。

(D) 仮菌糸の生成 (Slide cultures) : 一般に仮菌糸の伸び良好, 長形の細胞の連結部及びその附近より 1 ~ 3 ケの少々短形の Blastospore を生じ “Mycotoruloides” type を呈するが, 又菌糸の伸び少々悪く, 長形の細胞数ケ連結し, 尖端少々膨大し棍棒状を呈するものもある (附図参照)。

(E) 胞子の形状及び子嚢形成時に於ける接合の有無 : 各種培地に単性生殖に依り帽子形の胞子を形成し, 毎子嚢中普通 2 ~ 3 ケ, 稀に 1 又は 4 ケの胞子を有し, 子嚢は破れ易く屢々遊離胞子を認む。大きさは輪片を除き $3.3 \sim 2.1 \times 2.2 \sim 1.4 \mu$ (附図参照)。

(F) 発育最高限界温度 : 各菌株を通じ 37 ~ 39°C に位する。

(G) 胞子形成の最高限界温度 : 各菌株を通じ 31 ~ 33°C に位する。

(H) 糖類の醗酵性 : 各菌株を通じ Glucose, Galactose (弱), Saccharose, Raffinose を醗酵するが, Maltose は醗酵しないか又は極めて微弱である。

(I) 糖類の同化 : 各菌株を通じ Glucose, Saccharose, Maltose を明らかに同化し, Galactose は微弱乍ら同化し, Lactose を全く同化しない。

(J) 硝酸塩及び亜硝酸塩の同化 : 各菌株を通じ陽性。

(K) エチル・アルコールの同化 : エチル・アルコールを同化し, 明らかに発育するが, 極めて菲薄な皮膜をつくり, 液は濁独する。

(L) アルブチン分解 : すべての菌株を通じ陽性。

(M) エステル様芳香生成 : すべての菌株を通じて陽性。

(N) ビタミン類の要求 : すべての菌株を通じてビタミン類を添加していない合成培地に発育するからビタミン要求のない事が認められる。

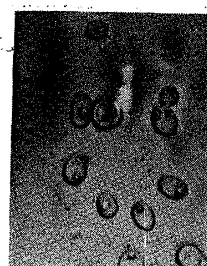
II 類縁及び考察

本菌株群はすべて硝酸塩及び亜硝酸塩を同化し, 糖類の醗酵性強く, アルブチン分解, エステル様芳香生成共に陽性で, その胞子が特有の帽子形を呈する等の諸性質より明らかに *Hansenula* 属の菌株であるが, 麴汁乃至麦芽汁等の液体培地上産膜性微弱で, 25 ~ 26°C 約 1 週間の後極めて菲薄にして屢々不完全な平滑な皮膜をつくるに過ぎず, Glucose, Saccharose, Raffinose を醗酵し, Maltose は同化するがその醗酵性を全く欠くか微弱であるから, LODDER 等²⁾ の分類に従いその類縁を求めれば *Hansenula anomala* var. *ciferrii* LODDER と *Hansenula subpelliculosa* BBDFORD がある。而して同氏等の分類表に於いては, *H. anomala* var. *ciferrii* を b 項の Fermentation of glucose, galactose, saccharose, maltose and raffinose に属する *H. anomala* の産膜性の遅く且つ弱い一変種としている。一方 WICKERHAM³⁾ は *H. anomala* var. *ciferrii* に就いて追試した結果, 著者等の分離した野生株に於ける実験結果と同様に Maltose is fermented very weakly or not at all と述べ, 更に糖同化及びビタミン要求を分類上の要件と見做し, *H. anomala* var. *ciferrii* を Rhamnose を同化することに依つて *H. anomala* と区別し, LODDER の分離当初の学名 *H. ciferrii* LODDER を採用している。

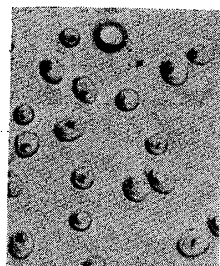
又 *H. subpelliculosa* に就いては, LODDER はこれを d 項の Fermentation of glucose, saccharose and raffinose, maltose is assimilated but very weakly or not fermented に属するものとしたが, 上述 WICKERHAM の醗酵性試験から見れば *H. anomala* var. *ciferrii* と余り相違がない。しかし WICKERHAM は *H. subpelliculosa* を External source of vitamin required の項に編入し「産膜性の微弱なる事」を species の分類条件として重視して居ない事は BBDFORD⁴⁾ と異つている。

著者等は自ら分離した菌株と共に *H. subpelliculosa* (NRRL, Y-1683) 並びに *H. ciferrii* LODDER (NRRL, Y-1322) の原株に就いて比較検討した結果, *H. subpelliculosa* のみビタミン要求種で, 他の菌株はすべて普通の *H. anomala* 種同様ビタミン要求性のないことを再確認した。

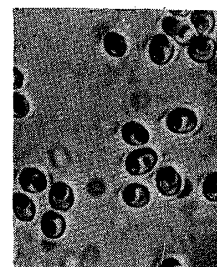
斯くの如く *H. subpelliculosa* と *H. ciferrii* とは胞子の形状, 産膜性の極めて弱い点, 糖類の醗酵及び同化性等に於いて酷似するが, 唯前者がビタミン要求菌で Rhamnose を同化せず, 後者がビタミンを要求せず Rhamnose を同化する点等に於いて相違する。この点から見れば著者等が分離した菌株は *H. ciferrii* に近縁のものであるが, これらの菌株は代表的な天然培地である麴汁乃至麦芽汁培地上 *H. anomala* に属する他の strain と明らかに異り, その産膜性の極めて微弱なる事は LODDER や BBDFORD の提唱する如く分類上の一標徴とする



No. 287



No. 289



No. 290

Fig.I Cells in malt extract ($\times 500$)



No. 287

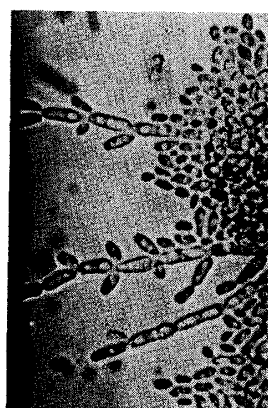


No. 289

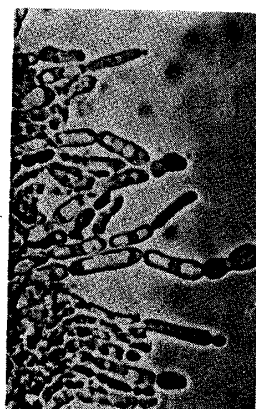


Fig.290

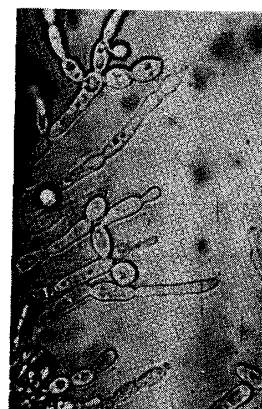
Fig.II Ascus and ascospores ($\times 1,000$)



No. 287

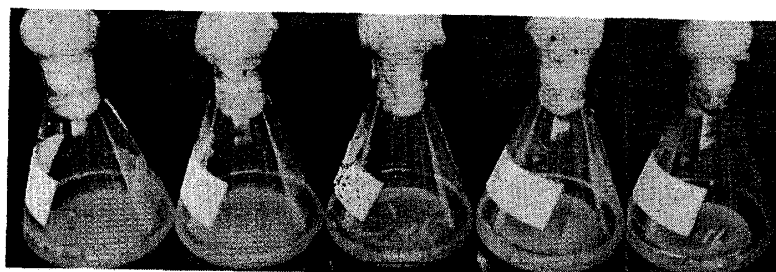


No. 289



No. 290

Fig.III Slide culture on potato agar ($\times 500$)



No. 289

No.288

H. anomala
var. *ciferrii*

H. anomala
var.

No. 287

subpel'iculasa
(NRRL, Y-1322), (NRRL, Y-1683)

Fig.IV. Pellicle formation on koji extract

(328)

(小玉, 京野, 小玉) 産膜酵母菌に関する研究 (第12報)

を妥当と認め著者等も独立した一種とせず LODDER の提唱に従つて, 本菌株群のものを *Hansenula anomala* var. *ciferrii* LODDER et KREGER-VAN RIJ とした. 本菌株群のものは本邦に於いて従来報告されて居らないものである.

総 括

第11次に検索した菌株4株に就いて, 菌学的諸性質を吟味した結果, 麹汁及び麦芽汁上産膜性を欠くか又は極めて微弱な性質を重視し

Hansenula anomala var. *ciferrii* LODDER et KREGER-VAN RIJ

に同定した.

終りに臨み, 終始御指導を賜つた小田先生に厚く感謝の意を表する. 又御校閲を賜わり, 種々御教示を戴いた斎藤先生, 照井先生に衷心より感謝の意を表する. 又 WICKERHAM より菌株標本分譲の御高配を戴いた醸酵研究所長谷川武治氏に謝意を表する.

(本報の1部は昭和32年3月, 小田教授退官記念講演会に於て発表した).

文 献

- 1) 小玉, 京野: 本誌, **34**, 444 (1956).
 - 2) LODDER, J. & N.J.W. KREGER-VAN RIJ, : The yeasts (1952).
 - 3) WICKERHAM, L.J. : Tech. Bull., No. 1029, U.S. Dept. Agric., Washington, D. C. (1951).
 - 4) BEDFORD, C.L. : Mycologia, **34**, 628 (1942).
- (昭和 32, 7, 25 受付, 経費著者負担)

産膜酵母菌に関する研究 (第13報)

Hansenula 属 (7) 分離検索した菌種の分類

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 *Pichia* 属に引続き, 新たに分離した *Hansenula* 属の野生株及び WICKERHAM¹⁾, BEDEORD²⁾ の命名した数株等併せて238株に就いて, *Pichia* 属に於けると同様 STELLING-DEKKER³⁾, LODDER⁴⁾及び WICKERHAM¹⁾等の分類方針を検討しつつ分類を試みた,

LODDER 等は *Pichia* 属に就いては, 胞子の形状を全く無視し, 糖類の同化性を主要条件とする分類方針を採つたが, 本属に就いては胞子の形状を分類上の第一条件として居る事は, 本属の胞子が夫々特徴ある形状を呈する事実より適切なる分類方針と考えられる. しかし著者等の様に同属中の多数の野生株に就いて検索した結果より考察すると, DEKKER, LODDER の両氏共その胞子の形状に就いての観察が不適確である事が認められる. 即ち LODDER 等は本属の分類表に於いて, 胞子の形状に依つて 1a. Spores Saturn-shaped, 1b. Spores of different shape に大別した後, 更に糖類の同化及び醸酵性に依り各菌種に分類して居るが, LODDER 等の 1b. Spores of different shape (DEKKER の 1a 項に該当する) に属する菌種群に就いて, その胞子の形状を検討すると, *H. anomala* group を始め大多数の品種が特有の帽子形を呈し, 唯 *H. suaveolens* の1種のみ KEÖCKER⁵⁾ の記載に依る "Spherical or somewhat flattened" のものであり, DEKKER, LODDER 両氏共大多数の species の胞子が帽子形を呈し, 唯1種のみ異つた形状を呈するものを1群とし, different shape とする事を妥当でないと考えられる. 而も両氏共 *H. suaveolens* の貯蔵標本に就いて追試した結果, 該種は既に胞子の形成力を失つて居り, 何れも原著者 KLÖCKER の記載に依り推載検討しているに過ぎない. しかし著者等が多数の新鮮な野生株に就いて再検討した結果, LODDER 等も指摘し居る様に *H. suaveolens* は *H. saturnus* と多くの菌学的性質に於いて一致して居るが, 唯胞子の形状に於いて *H. saturnus* は典型的な土星形で, 中央に大油滴と共に明らかな一環帯を有するが, *H. suaveolens* は各種培地を通じ, 著者等が先に発表した⁶⁾ b・c・d 型で決して一環帯を認められない. この点 WICKERHAM は新に分離した *H. suaveolens* NRRL, Y-1725 に就いて, 胞子の形状を *H. saturnus* のそれと比較した結果, *H. suaveolens* 種は一環帯が極めて薄いので油浸装置でも認める事が出来ないが, apiculate appearance である事は環帯の存在を暗示する旨述べ, 両菌種を Ascospores Saturn-shaped or spheroidal without ring の group に一括している. この点著者等が多くの野生株及び上述 *H. suaveolens* NRRL, Y-1725 に就いて再検討した結果, 検鏡の場合に於ける子囊の方向によつて, b・c・d 型を呈する様に観察され