日本産葡萄酒産膜酵母に関する研究 (第 1 報補遺)

有孢子産膜酵母の分類, *Pichia membranaefaciens*

横塚 勇, 後藤昭二 (山梨大学醸酵研究所)

昭和 29 年 9 月 10 日 受 理

Studies on Japanese Wine Film Yeasts. Part 1. Supplement. A Taxonomy
of Sporulating Film Yeasts, On *Pichia membranaefaciens*By Isami YOKOTSUKA and Shôji GOTO (Research Institute of
Fermentation, Yamanashi Univ.)

緒 言 前報⁽¹⁾に於て著者等は葡萄酒等より産膜酵母を分離して LODDER 等⁽²⁾の方式に従つて分類を行ない、*Pichia membranaefaciens* 129, *P. farinosa* 2, *Hansenula anomala* 1, *Sporobolomyces salmonicolor* 4 及び *Sacch. fermentati* 1 株を得た。この中 *P. memb.* が形態観察に於いて大分差のある事は前報で少し触れたが、ここに streak culture, giant colony 及び pellicle の形状に依り 2, 3 の Group に分け得たので報告する。

I. 実 験 方 法

Cell Malt ext. (Brix. 10°, pH 5.6) に 3 日間培養後観察した (temp. 25°).

Pellicle Malt ext. に於て 7 日間観察した (temp. 25°).

Streak culture : Malt agar 上 20° にて 1 カ月後観察した。

Giant colony Koji gelatin 上にて 50 日間 (20°) 培養後観察した。

Spore : 石膏, GORODKOWA agar, 馬鈴薯, 人参及び胡瓜片を使用し 20~30° にて 2~50 日間観察した。

II. 結 果 及 び 考 察

実験結果は Table 1~3 に示した。なお次報に写真を掲げる。

Table 1. Strain of *P. membranaefaciens*.

Group	Typical strains	Strains closely resembling.	Distinctive features (by streak Culture)
1	WF 23 22		pale olive-buff to deep olive-buff, smooth over the whole surface.
	" 98		
	" 115	9, 103, 117, 118, 120, 122, 156.	
	" 124	94, 96, 99, 104, 105, 106, 119, 127.	
	" 175	173	
2	" 7	6, 192.	pale olive-buff to deep olive-buff, slightly netted.
	" 77	111.	
	" 80	100.	
	" 114		
	" 132	48, 134, 157, 160, 180.	
3	" 85	83, 86.	sea-foam green, netted.
4	" 152		cream-buff, roughly netted.
	" 186	185, 189.	
5	" 1	3, 53.	tilleul-buff to pale-vinaceous-buff, roughly netted.
	" 20	19.	
	" 42	44, 45, 46, 47, 49, 50, 54, 55, 57, 58, 59, 60, 62, 66, 67, 68, 78.	
	" 113	121, 122.	
	" 162	75, 135, 150, 155, 178, 179, 138, 161.	
	" 71	4, 32, 40, 69, 70, 72, 73, 74, 77, 78, 79, 89, 90.	
	" 170	129, 130, 141, 154.	
6	" 2		vinaceous-buff, roughly netted.
	" 30	168.	
	" 110	43.	
	" 133	151, 173, 182, 190.	
	" 163	143, 159.	
7	" 131	125, 137, 139, 148, 166, 180, 183.	light cinnamon to cinnamon drab, roughly netted.
	" 146	136, 145, 165.	
8	" 30	34, 36, 37, 51, 52	drab grey to ecrudr ^u drab, roughly,
9	" 109		pinkish-buff, roughly.

Table 2. Wort Culture.

Strain No.	Cell	Film	Strain No.	Cell	Film
WF 98	r-o, (2.5~6)×(4~10)	br, rh-sm.	WF 42	lg., (2.5~5)×(6~16)	wh-gy, wr
" 115	o-lg, (4~6)×(8~10)	yl-gy, "	" 113	o-cy., (3~5)×(5~14)	" "
" 124	lg, (4~6)×(6~12)	" "	" 162	r-o, (3~4.5)×(6~10)	" "
" 175	lg-cy, (4~6)×(6~14)	" "	" 71	r, o, cy, (2.5~4)×(4.5~8)	" "
" 7	" (3~6)×(6~14)	wh., rh.	" 170	lg, cy, (2.5~4)×(4~10)	" "
" 77	lg-cy, (2.5~4)×(4~6)	yl-gy, "	" 2	o-lg., (3~4)×(8~16)	" "
" 80	" (5~12)	" "	" 30	" (4~5)×(6~10)	wh-gy, rh.
" 114	r, o-lg, (2~4)×(3~9.5)	br-gy, "	" 110	o, lg-cy., (4~6)×(6~8)	br-gy, wr.
" 132	" (2.5~4)×(3~10)	" "	" 133	o-lg, (2.5~4)×(6~10)	" "
" 85	lg-cy, (4~5)×(6~10)	" "	" 163	" (3~5)×(5.5~12)	" "
" 152	o-lg, (2.5~6)×(4~10)	yl-gy, "	" 131	" (2.5~5)×(4~10)	" "
" 186	cy, (3~4.5)×(6.5~20)	" wr,	" 146	o, (2.4~)×(4~10)	br. "
" 1	o, lg-cy, (2.5~8)×(8~10)	br. "	" 39	o-lg, (2.5~5)×(6~16)	" "
" 20	r-o, (4~4.5)×(4.5~6.5)	wh-gy, "	" 109	" (2~4)×(4~12)	br-gy. "

r-round, o-oval, lg long-oval, cy cylindrical; sm smooth, rh-rough, wr-wrinkled; wh-white, br-brown, yl yellow, gy-grey.

Table 3 Streak Culture and Giant Colony

Streak culture					Giant colony.				
Strain No.	Color	Elevation	Border	Surface	Color	Elevation	Diameter (m.m)	Border	Surface
WF 98	ol., vn-bf.	ub.	et.	mt., sy., sm.	ol.-bf.-po-bf.	ft.	11	et.	mt., dl., sm.
" 115	ol.-bf.	"	"	"	br.	cx.	6	"	"
" 124	"	"	er.	"	ol.-bf.	ft.	12	er.	"
" 175	po.-bf.	ft.	et.	"	tl.-bf.	"	8	et.	"
" 7	"	ub.	er.	"	gy.	cx.	9	"	dy, dl., rh.
" 77	"	cx.	"	dy., dl., nt.	po.-bf.; tl.-bf.	"	12	er.	mt, dl, rh.
" 80	"	pt.	"	"	ol.-bf.; tl.-bf.	"	12	et.	mt. pw.
" 114	"	ft.	"	dy., dl., rh.	ol.-bf.	ft.	11	"	mt., dl., sm.
" 132	"	ub.	"	mt., rh.	"	cx.	9	"	"
" 85	s-g.	"	ud.	mt., dl., rh.	ol.-bf.	"	7.5	rp.	"
" 152	po.-bf.	cx.	er.	dy., dl., nt.	ol.-bf.; po.-bf.	"	11	et.	"
" 186	"	pt.	"	dy., dl., wr.	yl.; po.-bf.	"	12	"	"
" 1	tl.-bf.	"	"	"	gy.	rs.	17	rb.	dy., dl., c-c, r-r.
" 20	"	cx.	"	mt., sy, wr.	db.; gy.	cx.	9	et.	dy., dl., rh.
" 42	"	pt.	"	dy, dl, rh-nt.	db., ol.-bf.	rs.	13	rp.	dy., dl., pw.
" 113	"	cx.	lb.	"	vn.-bf.	cx.	10	et.	dy., dl., sm.
" 162	"	ub.	"	"	ol.-bf.; po.-bf.	"	11	"	mt., dl., sm.
" 71	vn-bf.	cx.	et.	"	ci.-bf.	ft.	12	"	"
" 170	tl.-bf.	"	er.	"	yl-gy.; db.	cx.	12	ud.	"
" 2	vn-bf.	pt.	"	"	vn.-db.	"	13	lb.	"
" 30	"	"	ud.	mt., sy, wr.	vn.-bf.	ft.	8	et.	mt., dl., sm.
" 110	"	"	lb.	dy, dl., rh-nt.	ci.-db., vn-bf.	cx.	10	"	mt., dl., rh.
" 133	"	cx.	er.	"	" db-gy.	ft.	12	"	mt., dl., rh., pw.
" 163	"	pt.	"	dy, dl, rh.	ol.-bf., vn.-bf.	"	9	"	mt., dl., sm.
" 131	av.	cx.	"	"	ci.-db.; ol.-bf	cx.	13	er.	dy., dl., rh., c-c.
" 146	ci.-db.	"	lb.	"	br.; db.	"	13	ud.	"
" 39	db-gy.	ub.	er.	"	ci.-db.	"	14	rp.	dy, dl., nt.
" 109	pk.-bf	"	"	"	db., gy.	"	12	"	dy., dl., pw.

ol-olive, bf-buff, vn-vinaceous, po-pale olive, s-g-sea foam green, tl-tilleul, av-avellaneous, ci cinnamon, db-drab, gy-grey, pk-pinkish, br-brown, yl-yellow, ub-umbonate, ft-flat, cx-convex, pt-pulvinate, rs-raised; et-entire, er-erose, ud-undulate, lb-lobate, rp-repand; mt-moist, dy-dry, sy-shiny, dl dull; rh-rough, nt-netted, wr-wrinkled, sm-smooth. pw-powdery, c-c-concentric circle, r-r-radiant rays.

Streak culture, giant colony に於ける color, 表面の形状と pellicle の color 及び形状との間には関連した一定の傾向が見られるようである。即ち streak culture の表面の smooth なもの及び giant colony の smooth なものとは大体一致し、その pellicle も又 smooth である。逆に roughly netted 又は wrinkled の streak culture と giant colony も一致し、pellicle は wrinkled 又は heavy wrinkled である。又 streak culture の色についていえば前者は主に pale olive-buff to olive-buff であり、後者は vinaceous-buff を主調とした色である。又この両者に入らない group もある。即ち pellicle は smooth と rough の両者があり又 streak culture 及び giant colony の形状も smooth から rough までの delicate なものである。色調は種々あるが不安定で時間と共に変化する場合が多かつた。これらの事からこの group を中間体と考えて見た。

Cell は個々の株によつて差はあるものの type が多過ぎて分けるに困難であり、又 pellicle や streak cul-

ture 等との間に関連性を持たすには至らない。胞子に於いても同様個数及び形成の難易等に差はあるが、形態的な差と関連性を持たすのは困難であつた。即ち大部分の株は石膏上に胞子を 1~2 個或いは 1~4 個（形は主に半円及び楕円）形成し、1 個或いは 1~3 個等のもの及び形成困難なものは少なかつた。

著者等は先ず streak culture の形状によつて Table 1 のように 129 株を 9 groups に分ち、その上 giant colony 及び pellicle の形状によつて更に 3 群、Group I, II 及び III に大別を試みた。各 Group の形態的標徴は下記したが、Table 1 に於ける group 1~2 は Group I に、group 5, 6 及び 7 は II に、そして group 3, 4, 8 及び 9 を中間体と考えて III に入れた。

Group I: Streak culture; moist, shiny to dull shiny, pale olive-buff to olive-buff and unchangeable, slightly convex to flat, undulate to entire at the margin, and smooth over the whole surface. Giant colony; slightly moist, round, flat, entire at the margin and smooth surface. Pellicle; a smooth thin pellicle on malt ext..

Group II: Streak culture; dry, dull, convex to umbonate or pulvinate, erose to lobate, of ten plumose at the border, and usually roughly netted over the entire surface. Giant colony; usually wrinkled or netted, seldom smooth. Pellicle; wrinkled, most of them always develop a wrinkled film on malt ext. or EtOH medium.

Group III: Streak culture; dry, dull, convex to umbonate or pulvinate, erose to lobate, often plumose at the border, and usually roughly netted over the entire surface. Giant colony; usually wrinkled or roughly netted, seldom smooth, either partly or over the entire surface. Pellicle; wrinkled film on malt ext. and EtOH medium.

以上のように著者等は独断によつて分離した *P. memb.* を 3 群に分けたが、形状の smooth type のものは STELLING-DEKKER⁽³⁾ による *P. mandshurica* type 又 wrinkled type のものは *P. memb.* HANSEN type を主体としたもののうにも考えられる。詳細なる分類学的事実については更に今後の研究に待たねばならない。

要 約

葡萄酒より分類した *P. membranaefaciens* 129 株を形態的な差、即ち streak culture, giant colony 及び pellicle 等の形状より I, 形状 smooth で色調 pale olive-buff, II, wrinkled で色調 vinaceous-buff を主調とするもの及び両者の中間体と考えられる 1 群の、3 群に分類した。

終りに御指導下さいました東大農学部坂口、朝井両教授に深謝致します。

- (1) 横塚 勇, 後藤昭二 農化, 29.39(1955).
 (2) LODDER, J. and N. J. W. KREGER VAN-RIJ. : The Yeasts. (1952).

- (3) STELLING-DEKKER : Die Sporogene Hefen. (1931).

Summary

129 strains of *P. membranaefaciens* isolated from wines are grouped by morphological differences of streak culture, giant colony and pellicle, into 3 groups as follows; I. morphological smooth and pale olive-buff to olive-buff color II. wrinkled and vinaceous-buff; III. as intermediate type.