に依る *Torulopsis inconspicua* nov. sp. と同定出来た。

LODDER 等⁽²⁾に依ると *Cand. krusei* は cells の形状によつて 3 group に分けているが、吾々の分離菌にもその傾向が見られる。又 streak culture 及び giant colony でも表面の smooth 又は rough, その他色調、形状で差があるようである。*Cand. mycoderma* についても前報⁽¹⁾で吾々が *P. memb* について述べたような形態的差異を LODDER 等⁽²⁾は認めたが、著者等も同様に認めた (Table 1~3 参照)。いずれにしてもこれらの事象については将来の詳細な分類学的研究に待たねばならないだろう。

要 約

前報に於ける葡萄酒等 443 資料より分離撰択した無孢子産膜酵母 33 株を LODDER 等の方式で分類し *Candida mycoderma* 21, *Cand. krusei* 10, *Cand. tropicalis* 1 及び *Torulopsis inconspicua* 1 株を得た。

終りに御指導下さいました東大坂口、朝井両先生及び研究に御助力下された滝千代子嬢に深謝致します。

(1) 横塚 勇, 後藤昭二: 農化, 29 39 (1955).

RIJ: *The Yeasts* (1952).

(2) LODDER, J. and N. J. W. Kreger VAN

Summary

33 cultures of non-sporulating wine film yeasts were collected by the selection from 443 samples of wine and grape musts, and were classified by LODDER's method as follow.

21 strains of *Candida mycoderma*, 10 of *C. krusei*, 1 of *C. tropicalis* and 1 of *Torulopsis inconspicua*.

日本産葡萄酒産膜酵母に関する研究 (第 3 報)

産膜及び葡萄酒酵母の分類

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 3. A Taxonomy of Film and Wine Yeasts

By Isami YOKOTSUKA and Shōji GOTO (Research Institute
of Fermentation, Yamanashi Univ.)

緒 言

第 1, 2 報^(1,2)に於ては山梨県下の葡萄酒等より *Pichia*, *Hansenula*, *Devariomyces*, *Sporobolomyces*, *Saccharomyces*, *Candida* 及び *Torulopsis* を産膜酵母として分離した。本報では立地条件の多少異なる長野県塩尻地方のナイアガラ及びコンコード種を原料とする数十種の葡萄酒より産膜酵母及び葡萄酒酵母を分離。その typical strains を LODDER 等⁽³⁾の分類方式に従つて検索した結果 *Pichia*, *Sacharomyces*, *Candida* 及び *Torulopsis* 等を得たので報告する。

I. 資料及び分離方法 塩尻地方の醸造場 3 カ所のナイアガラ及びコンコード酒 (新酒及び古酒等) 38 資料 (Table 1)。

Strain No.	Region	Variety of wine	分離方法は第 1 報に同じ。上記資料より 75 株を分離し、35 株に整理の上更に typical strains 13 を撰んだ。
H 1, 5, 20, 27	Shiojiri, Nagano-ken	Niagara, 3 years old.	
H 3, 6, 9, 12, 21, 22, 26.	"	Niagara or Concord, 1 year old.	
H 7, 17.	Kikyogahara, Sōka	Niagara, 1 year old.	

II. 実験及び結果 実験方法は第 1 報に同じく LODDER 等⁽³⁾の方法に従つた。結果は Table 2~5 及び写真参照の事 (各表の記号は第 1 報其の 1⁽⁴⁾を参照の事)。

III. 類縁考察 H 1, 3, 5, 6, 7, 9 及び 12 は酸酵性なく、glucose のみを資化、KNO₃ を資化せず又 arbutin を分解しないので、明かに *P. membranaefaciens* に属す。しかし各株は cell, spore の形成, pellicle 及び streak culture 等に差があり、先の著者の grouping によれば⁽⁴⁾ H 1, 3, 5 及 6 は streak culture が roughly netted 又は wrinkled で, pellicle も wrinkled 故 Group II に, H 7, 9 及び 12 は streak culture

Fig. 1. Cells in malt extract after 3 days at 25°. ($\times 875$)

Fig. 2. Streak cultures on malt agar slant after 1 month at 20°.

Fig. 3. Giant colonies on koji gelatine after 50 days at 20°.

Fig. 4. Slide cultures, potato agar. ($\times 875$)

Table 2. Wort Culture at 25°

Strain No.	Cell after 3 days (μ)	Pellicle or ring after 2 weeks
H 1	o.-lg., cy., (3~4) $\times$ (7~12), (5 $\times$ 20)	wh.-gy., wr.-p.
" 3	o.lg., (3~3.5) $\times$ (7.5~15)	" "
" 5	cy., (3.5~4) $\times$ (10~15)	" "
" 6	lg.-cy., (3~3.5) $\times$ (6.5~12)	" "
" 7	o., (4~7) $\times$ (7~10)	wh.gy., sm.-p.
" 9	o., (3~5) $\times$ (6~9)	" "
" 12	o.-lg., (3~5.5) $\times$ (6~15)	" "
" 17	r.-o., (3.5~6) $\times$ (4~6.5)	" "
" 20	" (3.5~6) $\times$ (3.5~7)	rg., i.
" 21	o., (lg.), (3~3.5) $\times$ (3.5~7)	
" 22	o.-lg., (3~6) $\times$ (6~10)	gy., p.
" 26	r.-o., (3.5~6) $\times$ (3.5~7)	rg.
" 27	" "	"

rg-ring, i-islets, p-pellicle

Table 3. Streak Culture and Giant Colony at 20°

Strain No.	Streakculture on malt agar after 1 month.				Giant colony on malt gelatine after 50 days.				
	Color	Elevation	Border	Surface	Color	Elevation	Diameter (m.m)	Border	Surface
H 1	vn.-bf.	ub.	er.	mt., dl., rh-nt.	m,	ub.	12 $\times$ 10	er.	dy., dl., r-r, c-c.,
" 3	tl.-bf.	pt.	"	"	yl., rd-wh.	"	11	"	"
" 5	ol.-bf.	"	"	"	br., yl.-wh.	"	9 $\times$ 8	rp.	"
" 6	po.-bf.	"	"	mt., sy., wr.	yl., rd.-gy.	"	10	"	mt., dl., sm.-rh.
" 7	ol.-bf.	ft.	ud.	mt., dl., sm.	b., wh.	ft.	7	er.	dy., dl., r-r.
" 9	"	cx.	et.	"	ci.-db.	"	8 $\times$ 6	rp.	mt., dl., sm.
" 12	"	rs.	et.	"	"	"	10	et.	"
" 17	cm.-bf.	cx.	ud.	"	cb., -gy., cm	"	12.5	er.	dy., dl., r-r, c-c.
" 20	po.-bf.	ub.	et.	mt., sy., sm.	wh.	rs.	6	rp.	dy., dl., r-r.
" 21	"	pt.	"	"	ol.-bf., po.-bf.	pt.	3 $\times$ 2.5	et.	dy., dl., sm.
" 22	cm.-bf.	"	ud.	mt., sy., rh.	tl.-bf., wh.	ub.	6 $\times$ 5.5	pm.	dy., dl., r-r.
" 26	po.-bf.	ub.	et.	mt., sy., sm.	br., cm.-bf.	ft.	6.5	et.	dy., dl., sm.
" 27	"	"	"	"	"	"	6.5 $\times$ 5.5	rp.	dy., dl., r-r.

m.-maroon, rd.-reddish, b-bronzed.

Table 4. Sporulation, at 25°

Strain No.	On gypsum block (2~7 days)	On Gorodkova agar (1~4 weeks)	On carrot plug (1~4 weeks)	On potato plug (1~4 weeks)
H 1	o., ag., 1~4	—	—	—
" 3	—	—	—	—
" 5	hs., o., ag., 1~2	o., ag., 1~2	o., 1~2	o., 1~2
" 6	—	—	—	—
" 7	—	—	—	—
" 9	ag., o., hs., 1~2	—	o., 1~2	o., 1~2
" 12	hs. o., ag., 1~4	—	o., ag., 1~2	o., ag., 1~2
" 17	—	—	—	—
" 20	r.-o., 1~4	r.-o., 1~4	—	—
" 21	—	—	—	—
" 22	—	—	—	—
" 26	r.-o., 1~4	r.-o., 1~3	—	—
" 27	" "	r.-o., 1~4	—	—

o-oval, ag.-angular, hs.-hemispherical, r.-round, —no formation.

Table 5. Physiological Properties

Strain No.	Fermentation						Sugar assimilation				
	glucose	galactose	saccharose	maltose	lactose	raffinose	glucose	galactose	saccharose	maltose	lactose
H 1~12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
" 17	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
" 20	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
" 21	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
" 22	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
" 26	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
" 27	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

KNO₃, assimilation

EtOH medium

Arbutin

Litmus milk

aluc
"

及び pellicle 共に smooth, color は pale olive-buff to olive-buff 故 Group 1 に属す H 20 は sporulation が接合に依らず, 又 galactose を醗酵しない点が, LODDER 等⁽³⁾の記載の稀な部位に入るだけで, *Sacch. mellis* と同定出来る。H 26 は streak culture が多少 *Sacch. rosei* と異なる。即ち H 26 は pale-olive-buff color に反し *S. rosei* は greysh to brownish cream-colored である。しかし他の諸性質の合致する所から sporulation が no-conjugation (稀に conjugation tube を突出する) type の *S. rosei* と同定した。H 27 は *Sacch. rouxii* と諸性質一致し, 唯 sporulation は接合に依らず (稀に conjugation tube 突出), no-conjugation type の *S. rouxii* と同定した。

H 17 は非常に薄い皮膜を malt ext. に作り又極く primitive な pseudomycelium を作る点が *Torulopsis globosa* と異なる。即ち *T. globosa* は ring のみを形成, 又 pseudomycelium は作らない。しかし glucose, saccharose, maltose 及び raffinose を醗酵し, 更に KNO_3 を資化, arbutin を分解する等他の諸性質が *Torulopsis globosa* と合致するので H-17 を同菌と同定した。

H-21 及び 22 は film の形成能に差のあるのみで他の性質は合致している。この 2 株の所属すると考えられる standard strain には *Candida tropicalis* がある。本菌と供試株との差は前者は tough な streak culture で又 malt ext. 上には ring のみを形成, raffinose 醗酵性は LODDER に依れば (+), (-) の両者がある。後者は soft smooth な streak culture で H-22 のみ薄い皮膜を作り, H-21 には ring も出来なかつた。又 raffinose 醗酵性は H 21 及び 22 共 (-) 型である。しかし litmus milk を青変させる事, glucose を良く醗酵し galactose, saccharose 及び maltose を弱く遅く醗酵する点, KNO_3 を資化せず又 pseudomycelium が mycelical になる等諸性質が *C. tropicalis* と合致するので供試 2 株を同菌と同定した。

要 約

長野県塩尻地方の葡萄酒 38 資料より産膜酵母及び葡萄酒酵母 75 株を分離, typical strains 13 を撰択して LODDER 等の分類方式に依り検索した結果, *P. membranaefaciens* 7, *Sacch. mellis* 1, *Sacch. rosei* 1, *Sacch. rouxii* 1, *Torulopsis globosa* 1 及び *Candida tropicalis* 2 を得た。

終りに御指導戴きました東大坂口, 朝井両教授及び実験の 1 部を担当された林昌弘君に深謝致します,

- (1) 横塚 勇, 後藤昭二: 農化, 29, 119(1955). RIJ The Yeasts (1952).
 (2) " " : 農化, 29, 123(1955). (4) 横塚 勇, 後藤昭二: 農化, 29, 132(1955).
 (3) LODDER, J. and N. J. W. KREGER VAN

Summary

Thirteen typical strains were selected from 75 cultures isolated from 38 wines samples collected near the Shiōjiri in Nagano Prefecture.

They included 7 strains of *Pichia membranaefaciens*, 1 of *Saccharomyces mellis*, 1 of *Sacch. rosei*, 1 of *Sacch. rouxii*, 1 of *Torulopsis globosa* and 2 of *Candida tropicalis*.