市販輸入チーズの微生物学的研究 (第2報)

輸入チーズから分離した酵母の同定

(昭和 52 年 2 月 23 日受理)

中瀬 崇^{*1} 後藤 昭二^{*2} 小山洋之介^{*3}
駒形 和男^{*4} 飯塚 広^{*5}

Microbiological Studies on Cheese (II)

Determination of Yeasts found in Cheese Imported
from Europe and North America

Takashi NAKASE^{*1}, Shoji GOTO^{*2}, Yonosuke KOYAMA^{*3},
Kazuo KOMAGATA^{*4} and Hiroshi IIZUKA^{*5}

(^{*1}Central Research Laboratories, Ajinomoto Co., Inc.: 1-1, Suzuki-cho, Kawasaki;

^{*2}Research Institute of Fermentation, Yamanashi University: Kitashin, Kofu;

^{*3}Calpis Food Industry: 2-20-3, Ebisu-Nishi, Shibuya-ku, Tokyo; ^{*4}The

Institute of Applied Microbiology, University of Tokyo: Bunkyo-ku

Tokyo; ^{*5}Institute of Applied Biological Science, Science Univer-

sity of Tokyo: Higashi-Kameyama, Yamazaki, Noda)

Two hundred and fifteen isolates of yeasts obtained from 21 samples of cheese imported from Europe and North America were studied taxonomically and were identified with 15 species belonging to 9 different genera. More than a half of the isolates (134) were *Debaryomyces hansenii*, and followed by *Candida lipolytica* (27), *Candida zeylanoides* (14), *Torulopsis candida* (13), *Cryptococcus albidus* (11), *Kluyveromyces lactis* (3), *Torulopsis sphaerica* (3), *Cryptococcus luteolus* (2), *Rhodotorula rubra* (2), *Saccharomyces italicus* (1), *Sporobolomyces roseus* (1), *Candida intermedia* (1), *Candida kefyr* (1), *Rhodotorula minuta* (1), and *Trichosporon cutaneum* (1).

One hundred and thirty-four isolates of *D. hansenii* were divided into 4 subgroups by assimilation of lactose, formation of a pellicle, and colonial characteristics. More than a half of the isolates (61%) belonged to *D. hansenii*-type (assimilates lactose, and forms a pellicle and rough colony), and followed by *D. subglobosus*-type (34%, assimilates lactose, and not forms a pellicle, and smooth colony), *D. nicotianae*-type (3%, not assimilates lactose, and forms a pellicle, and smooth colony), and *D. kloockeri*-type (2%, not assimilates lactose, and not forms a pellicle, and rough colony). The subgrouping has little taxonomic value since several isolates showed intermediate characteristics but has a value from an ecological point of view.

Isolates belonging to *Cr. albidus* showed characteristics resembled those of *Cr. albidus* var. *albidus* and *Cr. albidus* var. *diffluens* but could not be clearly separated into these

^{*1} 味の素(株)中央研究所: 川崎市川崎区鈴木町 1-1.

^{*2} 山梨大学工学部発酵化学研究施設: 甲府市北新 1-13-1.

^{*3} カルピス食品工業(株): 東京都渋谷区恵比寿西 2-20-3.

^{*4} 東京大学応用微生物研究所: 東京都文京区弥生 1-1-1.

^{*5} 東京理科大学応用生物科学科: 野田市山崎東亀山 2641.

two varieties because some isolates showed intermediate properties between the varieties. These two varieties should be combined.

(Received February 23, 1977)

緒 言

前報¹⁾において著者らは各種輸入チーズの酵母フローラを調べ、チーズから分離される酵母は特定の菌種に限定されていることを報告した。すなわち、量的に多く存在する菌種は *Debaryomyces hansenii* とその不完全型の *Torulopsis candida*, *Candida lipolytica* および *Candida zeylanoides* であった。チーズの種類と分離される酵母の菌種には関連があり、金内ら²⁾、姜ら³⁾が報告しているように、ある種のチーズの熟成には酵母が関与していることが推定された。チーズの熟成中には多数存在することが報告されているラクトース発酵性酵母^{2),4)}は市販輸入チーズには少なく、流通過程における酵母フローラの変化が示唆された。本報においては、これらの酵母の同定について述べる。

実験方法

1. 供試菌株

前報¹⁾で報告した各種輸入チーズ11点より分離した167株の酵母と、同様の方法により10点の輸入チーズより2回にわたって分離した48株の酵母を用いた。後者はコロニーの性状の異なったものを肉眼的に判定して釣菌した。第1回の分離は1959年12月に、第2回の分離は1963年2月に行った。

2. 同定実験

同定実験は主として Wickerham⁵⁾により記載された方法を用いた。ビタミン要求性と最高生育温度は駒形ら⁶⁾の方法により決定した。また、炭素化合物資化性は5週間の培養を行った後に判定した。培養期間を5週間に延長したのは *Debaryomyces hansenii* と *Cryptococcus albidus* のラクトース資化性を確認するためである。脂肪の分解は Sierra⁷⁾の方法に従って調べた。

二、三の菌株については血清学的性状とDNA塩基組成についても検討した。血清学的性状はスライド凝集反応により調べ、大部分の因子血清はヤトロン(株)(東京)より入手した。因子血清24は Tsuchiya ら⁸⁾の抗原式に従って作製した。DNA塩基組成は Nakase ら⁹⁾の記載した方法により測定した。

結果と考察

各種輸入チーズから分離された215株の酵母は9属15種に同定された (Table 1)。供試菌株の生理、生化学的性状は Table 2 と Table 3 に示した。形態学的性状は J. Lodder 編 The Yeasts, a Taxonomic Study 第2版 (1970) の各菌種の標準記載と大差ない場合が多かったので省略し、必要なものに限りそのたびごとに言及した。

1) *Debaryomyces hansenii* (Zopf) Lodder et

Kreger-van Rij

菌株: 134株 (Table 4)

本菌種に同定した134株のうち、126株がラクトース資化性菌株であった (Table 4)。ラクトース資化性株には、コロニーが rough 型で産膜性を有するもの (*D. hansenii* 型) が多く、本菌種に同定された菌株の61% (82株) に達した。smooth 型で産膜性を欠く菌株 (*D. subglobosus* 型) は34% (45株) であった。ラクトース資化性を欠く菌株は7株にすぎず、4株は産膜性を示し (*D. nicotianae* 型)、3株は非産膜性であった (*D. kloeckeri* 型)。

D. hansenii—*D. subglobosus* 型の菌株のラクトース資化は菌株により著しく異なっており、資化性試験培地に接種後、数日間で顕著な生育を示す菌株から、4~5週後に初めて弱い生育が観察される菌株まで種々の段階のものが認められた。この菌種においては、ラクトース非資化菌もラクトースを含む培地に長期間培養することにより、ラクトース資化性を獲得すると考えられる。

D. hansenii—*D. nicotianae* 型の菌株の産膜性は顕著である場合が多かったが、時に不完全な皮膜を形成する菌株も認められ、*D. subglobosus* 型および *D. kloeckeri* 型との区別は必ずしも明確ではなかった。

The Yeasts, a Taxonomic Study 初版 (1952) において、Lodder ら¹⁰⁾はラクトース資化性と産膜性に基づき、*D. hansenii*, *D. subglobosus*, *D. nicotianae*, および *D. kloeckeri* の4種を区別した。しかし、自然界からは中間的な性状を示す菌株がしばしば分離され、これらの菌種を明確に区別することは困難な場合が少なくない。Kreger-van Rij¹¹⁾はラクトース資化性と産膜性により、これら4種を区別することが困難であることを認め、これらを *D. hansenii* に統合した。この分類は The Yeasts, a Taxonomic Study 第2版 (1970) に採用された。一方、Tsuchiya ら¹²⁾は *D. subglobosus* と不完全型の *Torulopsis candida* は *D. hansenii*, *D. nicotianae*, *D. kloeckeri*, およびこれらの不完全型である *Torulopsis famata* の有する抗原の他に、独自の抗原 (抗原33) を有することを認め、両者を区別した。また、著者ら¹⁴⁾は冷凍食品より分離した *Torulopsis candida* の性状を示す菌株¹⁵⁾が *D. hansenii* (*D. subglobosus*, *D. nicotianae*, および *D. kloeckeri* を含む) およびその不完全型より6%も高いGC含量を有することを見いだした。ラクトース資化性と産膜性により、*D. hansenii* を更に細かく区別することは困難であり、この点において Kreger-van Rij の主張は妥当である。しかし、種としての *D. hansenii* の単一性については

Table 1. Yeasts Isolated from Various Kinds of Imported Cheese

Type of cheese		Year of isolation	<i>D. hansenii</i>	<i>K. lactis</i>	<i>S. italicus</i>	<i>Sp. roseus</i>	<i>C. intermedia</i>	<i>C. kefyr</i>	<i>C. lipolytica</i>	<i>C. zeylanoides</i>	<i>Cr. albidus</i>	<i>Cr. luteolus</i>	<i>R. rubra</i>	<i>R. minuta</i>	<i>T. candida</i>	<i>T. sphaerica</i>	<i>Trich. cutaneum</i>	Total
Very hard	Parmezan	1959	1															1
Hard	Emmental A	1963	1							1								2
	" B	1959	2							1								3
	Baby Edam	1964	2				1				1							4
	Cheddar	"									2	2						4
	Esrom	1963	1						1									2
	Samsøe	"	2							3								5
Semi-soft	Superzola	1964	18			1				3	1				1			24
	Plumrose	"	9												2			11
	St. Clemens	"	1											1				2
	Roquefort A	"	30								2				9			41
	" B	"	2							1			1					4
	Valencay	"	36	3	1			1							1			42
	Blue A	1963	1							1								2
	" B	"	3															4
	" C	1959	2								1					1		3
	Semi-soft	"	5							4								9
Soft	Camembert A	1964									1							1
	" B	1959	12													2	1	15
	Cream	1964	1															1
	Viola	"									3		1					4
	Geror	"	5						26									31
Total			134	3	1	1	1	1	27	14	11	2	2	1	13	3	1	215

検討の余地があろう。なお、AJ 4248 および 4383 の GC 含量はいずれも37%であった¹⁴⁾。

2) *Kluyveromyces lactis* (Dombrowski) van der Walt

菌株: AJ 4071, 4072, 4073 (Valencay cheese)

AJ 4072 および AJ 4073 の菌学的性状は van der Walt¹⁶⁾ の標準記載に一致していた。AJ 4071 はアスコスポアを形成せず、この菌株の不完全型の *Torulopsis sphaerica* に相当する。しかし、この菌株の偽菌糸形成は顕著であり、*Torulopsis* 属の定義からはずれていたため *K. lactis* として取り扱った。なお、この菌株にはガラクトース発酵性は認められなかった (Table 2)。

3) *Saccharomyces italicus* Castelli

菌株: AJ 4099 (Valencay cheese)

AJ 4099 の菌学的性状は van der Walt¹⁷⁾ の標準記載に一致していたが、この菌株の GC 含量は39%であ

り、*Saccharomyces sensu stricto* の GC 含量の分布範囲にあった¹⁸⁾。

4) *Sporobolomyces roseus* Kluyver et van Niel
菌株: K-31 (Superzola cheese)

K-31 の菌学的性状は Lodder ら¹⁰⁾ の標準記載に一致していた。

5) *Candida intermedia* (Ciferri et Ashford)
Langeron et Guerra

菌株: AJ 4070 (Baby Edam cheese)

AJ 4070 の菌学的性状は van Uden ら¹⁹⁾ の標準記載にはほぼ一致していたが、メレチトースの資化性は認められなかった (Table 3)。しかし、この菌株は抗原 1, 4, 6, および24を持ち、Tsuchiya ら¹³⁾ の報告した *C. intermedia* の抗原式と一致していた。GC 含量も44%で *C. intermedia*²⁰⁾ と同一であった。

6) *Candida kefyr* (Beijerinck) van Uden et Buckley

Table 2. Physiological Characteristics of Yeasts Isolated from Cheese (1)

Species	Number of isolates	Fermentation ^{a)}						Max. growth temperature (°C)	Vitamins required ^{b)}	Assim. of nitrate	Split of arbutin ^{c)}	Liq. of gelatin ^{c)}	Prod. of riboflavin	Hydrolysis of urea	Pellicle formation ^{a)}	Ester formation	Hydrolysis of fat	Starch formation ^{a)}
		Glucose	Galactose	Saccharose	Maltose	Lactose	Raffinose											
<i>D. hansenii</i>	134	W, B, - +	-	W, B, - +	B, -	-	W, -	30-37	B	-	+, W	-	+, -	-	+, W, -	-	/	-
<i>K. lactis</i>	3	+	+	+	-	+	B	37-39	B, N	-	+	W, -	-	-	-	-	/	-
<i>S. italicus</i>	1	+	+	W	+	-	-	38-39	B, P, T	-	-	-	-	-	-	-	/	-
<i>Sp. roseus</i>	1	-	-	-	-	-	-	/	NR	+	+	-	-	+	+	-	/	-
<i>C. intermedia</i>	1	+	+	+	-	+	-	35-36	B	-	+	-	-	-	+	-	/	-
<i>C. kefyr</i>	1	+	+	+	-	+	B	40-41	B, N	-	-	-	-	-	W	-	/	-
<i>C. lipolytica</i>	27	-	-	-	-	-	-	36-37	T	-	-	+	-	+	+	-	+	-
<i>C. zeylanoides</i>	14	-	-	-	-	-	-	34-37	B	-	-	-	-	-	-	-	/	-
<i>Cr. albidus</i>	11	-	-	-	-	-	-	31-36	T	+	+	W, -	-	+	-	-	/	+
<i>Cr. luteolus</i>	2	-	-	-	-	-	-	31-34	T	-	+	-	-	+	-	-	/	+
<i>R. rubra</i>	2	-	-	-	-	-	-	36-38	T	-	+	-	-	+	-	-	/	-
<i>R. minuta</i>	1	-	-	-	-	-	-	37-38	PABA, T	-	W	-	-	+	-	-	/	-
<i>T. candida</i>	13	-	-	-	-	-	-	34-37	B	-	+, W	-	+, -	-	+, -	-	/	-
<i>T. sphaerica</i>	3	+	+	+	-	+	+	34-35	B, N	-	+	-	-	-	-	-	/	-
<i>Trich. cutaneum</i>	1	-	-	-	-	-	-	35-36	T	-	W	/	-	+	+	-	/	W

^{a)} W, weak; B, bubbles of gas. ^{b)} B, biotin; N, niacin; P, Ca pantothenate; T, thiamine; PABA, *p*-aminobenzoic acid; NR, not required.

^{c)} Results are varied with different strain.

Table 3. Physiological Characteristics of Yeasts Isolated from Cheese (2). Assimilation of Carbon Compounds

Species	Number of isolates	Glucose	Galactose	Saccharose	Maltose	Lactose	L-Sorbose	Cellobiose	Trehalose	Melibiose	Raffinose	Melezitose	Inulin	Soluble starch	D-Xylose	L-Arabinose	D-Arabinose	D-Ribose	L-Rhamnose	Ethanol	Glycerol	Erythritol	D-Ribitol	D-Galactitol	D-Mannitol	D-Glucitol	α -Me-D-Glucoside	Salicin	K Glucuronate	Ca 2-Ketoglucuronate	DL-Lactic acid	Succinic acid	Citric acid	Inositol
<i>D. hansenii</i>	134	+	+	+	+	+	+	+	+	V	+	+	V	-	+	+	+	V	+	+	+	+	V	+	+	+	+	+	+	+	+	+	V	-
<i>K. lactis</i>	3	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	L	-	-	-	-	+	+	-	L ^{e)}	-	+	+	+	+	+	-	+	+	W	-
<i>S. italicus</i>	1	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	
<i>Sp. roseus</i>	1	+	+	+	+	-	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	+	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
<i>C. intermedia</i>	1	+	+	+	+	+	+	+	+	-	L	-	-	-	+	-	-	L	-	+	+	-	L	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
<i>C. kefyi</i>	1	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	L	-	+	+	+	-	-	-	-	-	
<i>C. lipolytica</i>	27	+	+	-	- ^{d)}	-	L	-	- ^{d)}	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>C. zeylanoides</i>	14	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
<i>Cr. albidus</i>	11	+	+	+	+	+	+	+	+	V	+	+	- ^{b)}	+	+	+	V	L	V	+	V	-	V	V	V	V	+	+	+	+	+	+	V	+
<i>Cr. luteolus</i>	2	+	-	+	+	-	-	- ^{b)}	+	-	+	+	-	L	+	+	L	L	W	+	+	L	-	L	-	+	+	+	+	+	+	+	LW	+
<i>R. rubra</i>	2	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	L	-	L	+	+	+	+	+	-	L	L	+	L
<i>R. minuta</i>	1	+	L	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	W	-
<i>T. candida</i>	13	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	L ^{e)}	+	V	+	+	+	+	- ^{b)}	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>T. sphaerica</i>	3	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	LW ^{e)}	-	+	-	-	-	-	+	+	-	V	-	V	V	+	+	+	-	+	+	W	-
<i>Trich. cutaneum</i>	1	+	+	+	+	+	L	+	+	+	+	+	L	L	+	+	L	+	+	+	+	L	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+, positive; -, negative; V, variable; L, latent; LW, latent and weak; W, weak.

^{a)} Often latent or latent and weak. ^{b)} Sometimes latent or weak. ^{c)} Sometimes latent. ^{d)} Sometimes negative.

Table 4. Type of *Debaryomyces hansenii* Isolated from Imported Cheese

Year of isolation	Type of <i>D. hansenii</i> Cheese	<i>D. hansenii</i> lactose + rough pellicle	<i>D. nicotianae</i> lactose — rough pellicle	<i>D. subglobosus</i> lactose + smooth no pellicle	<i>D. kloockeri</i> lactose — smooth no pellicle
Dec., 1959	Parmezan			CH-30	
	Emmental B			CH-15, CH-32	
	Blue C	CH-22			CH-23
	Semi-soft	CH-3, CH-11			CH-4, CH-31
Feb., 1963	Camembert B	CH-1, CH-2, CH-2-1, CH-2-2, CH-7, CH-10		CH-12, CH-13, CH-34	
	Blue A	AJ 4190			
	" B	AJ 4187, 4188, 4383			
	Esrom	AJ 4186			
	Cream	AJ 4191			
	Samsøe	AJ 4189		AJ 4243	
Feb., 1964	Emmental C	AJ 4192			
	Bady Edam			AJ 4251, 4253	
	Supersola	K-68, K-69, K-70, K-72, K-73, K-74, K-76, K-85, K-88, K-89, K-92, K-95, K-157	K-71, K-75, K-87, K-93	K-91	
	Plumrose	K-96, K-98, K-101, K-102, K-103, K-104, K-106		K-99, K-100	
	St. Clemens	AJ 4195			
	Roquefort A	K-53, K-82, K-83, K-86, K-110, K-111, K-120, K-122, K-123, K-125, K-130		AJ 4264, 4247, K-51, K-52, K-77, K-78 K-79, K-80, K-81, K-84, K-107, K-108 K-113, K-114, K-116, K-117, K-118, K-129, K-131	
				AJ 4248	
	Roquefort B	AJ 4393		K-54, K-56, K-62, K-64, K-137, K-148, K-152	
		K-55, K-57, K-58, K-59, K-60, K-61, K-63, K-65, K-67, K-132, K-133, K-134, K-136, K-138, K-139, K-140, K-141, K-142, K-143, K-144, K-145, K-146, K-147, K-149, K-150, K-151, K-153, K-154, K-155			
	Geror	AJ 4193, 4194		AJ-4249, 4250, 4252	

菌株: AJ 4660 (Valencay cheese)

本菌株はパントテン酸を要求せず (Table 2), セロビオースも資化しない (Table 3) 点で van Uden ら¹⁹⁾の *Candida kefyr* の記載とは異なっていたが, その他の菌学的性状は一致していたので上記のように同定した。

7) *Candida lipolytica* (Harrison) Diddens et Lodder

菌株: AJ 4553, 4554, 4555, 4556, 4557, 4558, 4559, 4560, 4561, 4562, 4563, K-161, K-162, K-163, K-164, K-165, K-166, K-167, K-168, K-169, K-170, K-171, K-172, K-173, K-174, K-175 (Geror cheese), AJ 4550 (Esrom cheese) .

The Yeasts, a Taxonomic Study 第2版 (1970) において, van Uden ら¹⁹⁾は *Candida lipolytica* に2変種を設定した。すなわち, β -グルコシダーゼ活性を欠き, 最高生育温度が33°以上の菌株を *Candida lipolytica* var. *lipolytica* とし, β -グルコシダーゼ活性を示し, 最高生育温度が29~32°の菌株は新変種 *C. lipolytica* var. *deformans* にまとめた。チーズから分離された27株の菌学的性状は前者に一致していた (Table 2, 3)。この菌種は適切な mating type と接合することにより, アスコスポアを形成することが報告されており²¹⁾, その完全世代は最初 *Endomyces* 属におかれたが²¹⁾, 命名上の理由により *Saccharomyces* 属に移された²²⁾。Heslot*¹ は *C. lipolytica* におかれたこの2変種が接合してアスコスポアを形成することを認めている。また, 著者は *C. lipolytica* var. *deformans* の GC 含量が50%であり, *C. lipolytica* var. *lipolytica* の GC 含量²⁰⁾と一致することを認めた*²。これらの変種は区別されるべきではない。なお, Heslot*¹ によれば AJ 4550, 4553, 4555, および4560は mating type A に属する。

8) *Candida zeylanoides* (Cast.) Langeron et Guerra

菌株: AJ 4745 (Blue cheese A), AJ 4746, 4747, 4748 (Samsoe cheese), AJ 4749 (Emmental cheese A), AJ 4751 (Roquefort cheese B), AJ 4750, K-90, K-94 (Superzola cheese), CH-16, CH-25, CH-26, CH-28 (Semi-soft cheese), CH-29 (Emmental cheese B)

分離株の菌学的性状は van Uden ら¹⁹⁾の標準記載に一致していた。AJ 4745 のガラクトース資化は遅延した (Table 3)。

9) *Cryptococcus albidus* (Saito) Skinner

菌株: AJ 4318 (Bady Edam cheese), AJ 4319, K-158 (Roquefort cheese A), AJ 4320, 4336 (Cheddar cheese), AJ 4321, 4322, 4335

(Viola cheese), K-20 (Superzola cheese), K-66 (Camembert cheese A), CH-24 (Blue cheese C)

The Yeasts, a Taxonomic Study 第2版 (1970) においては *Cryptococcus albidus* には3変種が設定されている。Phaff ら²³⁾はラクトース, ガラクトース, α -メチルグルコシドおよびメレチトースの資化性により, *Cr. albidus* var. *diffuens* と *Cr. albidus* var. *albidus* を区別した。分離株のうち, 2株 (AJ 4335, 4336) は前者に相当し, 残り9株は後者に相当すると考えられたが, 両者を明確に区別することはできなかった。*Cryptococcus* 属においては種の区別が適切でない場合が少なくないことが DNA 塩基組成の面から示されており^{24), 25)}, このような種をラクトース資化性のような不明確な指標により更に変種にまで区別することは妥当ではないと考える。著者は分離株を変種に区別せず, 単に *Cr. albidus* に同定した。

10) *Cryptococcus luteolus* (Saito) Skinner

菌株: AJ 4328, 4329 (Cheddar cheese)

分離株の菌学的性状は Phaff ら²³⁾の標準記載に一致した。なお, AJ 4329 の GC 含量は52%であり, *Cryptococcus* 属のなかでは比較的低値であった²⁰⁾。

11) *Rhodotorula rubra* (Demme) Lodder

菌株: AJ 4857 (Viola cheese), AJ 4858 (Roquefort Cheese B)

分離株の菌学的性状は Phaff ら²³⁾の標準記載に一致した。

12) *Rhodotorula minuta* (Saito) Harrison

菌株: AJ 4873 (St. Clemens cheese)

分離株はラクトースを資化し (Table 3), その菌学的性状は *R. minuta* var. *texensis*²⁶⁾ に一致していた。しかし, *Rhodotorula* 属においてはラクトースの資化性は誘導的であり²⁷⁾, ラクトース資化性を特徴とするこの変種の設定は適切ではないと考える。著者は単に *R. minuta* とした。この菌株の GC 含量は51%であり, *Rhodotorula* 属のなかでは最も低い群 (第4群) に含まれた²⁵⁾。

13) *Torulopsis candida* (Saito) Skinner

菌株: K-97, K-105 (Plumrose cheese), K-135 (Valencay cheese), K-109, K-112, K-119, K-121, K-124, K-126, K-127, K-128 (Roquefort cheese A), K-136 (Superzola cheese)

分離株の菌学的性状は van Uden ら²⁸⁾の標準記載に一致した。

14) *Torulopsis sphaerica* (Kloemer et Krumbholz) Lodder

菌株: AJ 4398 (Blue cheese B), CH-8, CH-9 (Camembert cheese B)

分離株はアスコスポアを形成しなかったが, その他の

*1 私信

*2 未発表

菌学的性状は *Kluyveromyces lactis*¹⁶⁾ に一致したので、その不完全型の本菌種に同定した。

15) *Trichosporon cutaneum* (De Beurm, Gougerot et Vaucher) Ota

菌株: CH-17 (=AJ 4815, Camembert cheese B)

分離株の菌学的性状は Do Carmo Sousa²⁰⁾ の標準記載にはほとんど一致していたが、イヌリンは遅延するも資化した。Do Carmo Sousa の記載では資化性試験に用いた31種類の炭素化合物のうち、26化合物が陽性または陰性と表示されており、最高生育温度も 29~41° と広く分布して、この菌種の不均一性が示唆されている。分離株の GC 含量は 63% であり³⁰⁾、冷凍食品から分離された菌株¹⁵⁾ より高値を示した。この菌種は分類学的にかなり不均一の菌株より構成される。

要 約

21点の欧米産輸入チーズより分離した 215 株の酵母の分類学的研究を行い、9 属 15 種に同定した。134 株が *Debaryomyces hansenii* であり、以下、*Candida lipolytica* (27 株)、*Candida zeylanoides* (14 株)、*Torulopsis candida* (13 株)、*Cryptococcus albidus* (11 株)、*Kluyveromyces lactis* (3 株)、*Torulopsis sphaerica* (3 株)、*Cryptococcus luteolus* (2 株)、*Rhodotorula rubra* (2 株)、*Saccharomyces italicus* (1 株)、*Sporobolomyces roseus* (1 株)、*Candida intermedia* (1 株)、*Candida kefyr* (1 株)、*Rhodotorula minuta* (1 株)、および *Trichosporon cutaneum* (1 株) であった。

D. hansenii に属する134株はラクトース資化性、産膜性およびコロニー性状により4型に区別された。*D. hansenii* 型(ラクトース資化、産膜性、rough 型コロニー)が最も多く61%に達し、*D. subglobosus* 型(ラクトース資化、非産膜性、smooth 型コロニー)がこれにつぎ34%を占め、*D. nicotianae* 型(ラクトース非資化、産膜性、rough 型コロニー)と *D. kloockeri* 型(ラクトース非資化、非産膜性、smooth 型コロニー)は少なく、それぞれ3%と2%であった。

Cryptococcus albidus に属する分離株の性状は、*Cr. albidus* var. *albidus* または *Cr. albidus* var. *diffluens* に類似していたが、両変種の中間的な性状を示す菌株が認められ、厳密に区別することは困難であった。この2変種は統合されるべきであろう。

Rhodotorula minuta に同定した1株はラクトースを資化し、*R. minuta* var. *texensis* の記載に一致していた。しかし、*R. minuta* とその類似菌種においてはラクトースの資化性は誘導的であり、この変種の設定は妥当ではない。

本研究の一部は日本農芸化学会関東、東北支部大会(新潟、1961年)で発表した。

文 献

- 1) 中瀬 崇, 駒形和男: 食衛誌. 18, 00 (1977).
- 2) 金内稔郎, 吉岡八洲男, 浜本典男: 日畜会報. 33, 147 (1962).
- 3) 姜 國熙, 上野川修一, 山内邦男: 同上, 47, 18 (1976).
- 4) 金内稔郎, 吉岡八洲男, 浜本典男: 同上, 32, 104 (1961).
- 5) Wickerham, L.J.: Taxonomy of Yeasts, U.S.D.A. Tech. Bull., No. 1029 (1951).
- 6) 駒形和男, 中瀬 崇: 食衛誌. 8, 53 (1967).
- 7) Sierra, G.: Antonie van Leeuwenhoek, 23, 15 (1957).
- 8) Tsuchiya, T., Fukazawa, Y., Taguchi, M., Nakase, T., Shinoda, T.: Mycopathol. Mycol. Appl., 53, 77 (1974).
- 9) Nakase, T., Komagata, K.: J. Gen. Appl. Microbiol., 14, 345 (1968).
- 10) Lodder, J., Kreger-van Rij, N.J.W.: "The Yeasts, a Taxonomic Study," p. 279, 348 (1952), North-Holland Publ. Co., Amsterdam.
- 11) Kreger-van Rij, N.J.W.: "A Taxonomic Study of the Yeast Genera *Endomycopsis*, *Pichia*, and *Debaryomyces*," p. 162 (1964), Thesis, Leiden University.
- 12) Kreger-van Rij, N.J.W.: "Genus *Debaryomyces* Lodder et Kreger-van Rij, In The Yeasts, a Taxonomic Study," p. 129 (1970), Lodder, J., North-Holland Publ. Co., Amsterdam.
- 13) Tsuchiya, T., Fukazawa, Y., Kawakita, S.: Mycopathol. Mycol. Appl., 26, 1 (1965).
- 14) Nakase, T., Komagata, K.: J. Gen. Appl. Microbiol., 17, 43 (1971).
- 15) 駒形和男, 中瀬 崇: 食衛誌. 8, 58 (1967).
- 16) van der Walt, J.P.: "Genus *Kluyveromyces* van der Walt, In The Yeasts, a Taxonomic Study," p. 316 (1970), Lodder, J., North-Holland Publ. Co., Amsterdam.
- 17) van der Walt, J.P.: Genus *Saccharomyces* Meyen, *ibid.*, p. 555 (1970), Lodder, J., North-Holland Publ. Co., Amsterdam.
- 18) Nakase, T., Komagata, K.: J. Gen. Appl. Microbiol., 17, 227 (1971).
- 19) van Uden, N., Buckley, H.: "Genus *Candida* Berkhout, In The Yeasts, a Taxonomic Study," p. 893 (1970), Lodder, J., North-Holland Publ. Co., Amsterdam.
- 20) Nakase, T., Komagata, K.: J. Gen. Appl.

- Microbiol., 17, 259 (1971).
- 21) Wickerham, L.J., Kurtzman, C.P., Herman, A.I.: "Recent Trends in Yeast Research," p. 81 (1970), Ahearn, D. G., Georgia State Univ., Atlanta.
- 22) Yarrow, D.: *Antonie van Leeuwenhoek*, 38, 357 (1972).
- 23) Phaff, H.J., Fell, J.W.: "Genus *Cryptococcus* Kützing, *In The Yeasts, a Taxonomic Study*," p. 1088 (1970), Lodder, J., North-Holland Publ. Co., Amsterdam.
- 24) Storck, R., Alexopoulos, C.J., Phaff, H.J.: *J. Bacteriol.*, 98, 1069 (1969).
- 25) Nakase, T., Komagata, K.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 17, 121 (1971).
- 26) Phaff, H.J., Ahearn, D.G.: Genus *Rhodotorula* Harrison, *In The Yeasts, a Taxonomic Study*, p. 1187 (1970), Lodder, J., North-Holland Publ. Co., Amsterdam.
- 27) Hasegawa, T.: *Ann. Rept. Inst. Fermentation*, Osaka, 1, 1 (1965).
- 28) van Uden, N., Vidal-Leiria, M.: "Genus *Torulopsis* Berlese, *In The Yeasts, a Taxonomic Study*," p. 1235 (1970), Lodder J., North-Holland Publ. Co., Amsterdam.
- 29) Do Carmo-Sousa, L.: Genus *Trichosporon* Behrend, *ibid.*, p. 1309 (1970).
- 30) Nakase, T., Komagata, K.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 17, 363 (1971).

two varieties because some isolates showed intermediate properties between the varieties. These two varieties should be combined.

(Received February 23, 1977)

緒 言

前報¹⁾において著者らは各種輸入チーズの酵母フローラを調べ、チーズから分離される酵母は特定の菌種に限定されていることを報告した。すなわち、量的に多く存在する菌種は *Debaryomyces hansenii* とその不完全型の *Torulopsis candida*, *Candida lipolytica* および *Candida zeylanoides* であった。チーズの種類と分離される酵母の菌種には関連があり、金内ら²⁾、姜ら³⁾が報告しているように、ある種のチーズの熟成には酵母が関与していることが推定された。チーズの熟成中には多数存在することが報告されているラクトース発酵性酵母^{2),4)}は市販輸入チーズには少なく、流通過程における酵母フローラの変化が示唆された。本報においては、これらの酵母の同定について述べる。

実験方法

1. 供試菌株

前報¹⁾で報告した各種輸入チーズ11点より分離した167株の酵母と、同様の方法により10点の輸入チーズより2回にわたって分離した48株の酵母を用いた。後者はコロニーの性状の異なったものを肉眼的に判定して釣菌した。第1回の分離は1959年12月に、第2回の分離は1963年2月に行った。

2. 同定実験

同定実験は主として Wickerham⁵⁾により記載された方法を用いた。ビタミン要求性と最高生育温度は駒形ら⁶⁾の方法により決定した。また、炭素化合物資化性は5週間の培養を行った後に判定した。培養期間を5週間に延長したのは *Debaryomyces hansenii* と *Cryptococcus albidus* のラクトース資化性を確認するためである。脂肪の分解は Sierra⁷⁾の方法に従って調べた。

二、三の菌株については血清学的性状とDNA塩基組成についても検討した。血清学的性状はスライド凝集反応により調べ、大部分の因子血清はヤトロン(株)(東京)より入手した。因子血清24は Tsuchiya ら⁸⁾の抗原式に従って作製した。DNA塩基組成は Nakase ら⁹⁾の記載した方法により測定した。

結果と考察

各種輸入チーズから分離された215株の酵母は9属15種に同定された (Table 1)。供試菌株の生理、生化学的性状は Table 2 と Table 3 に示した。形態学的性状は J. Lodder 編 The Yeasts, a Taxonomic Study 第2版 (1970) の各菌種の標準記載と大差ない場合が多かったので省略し、必要なものに限りそのたびごとに言及した。

1) *Debaryomyces hansenii* (Zopf) Lodder et

Kreger-van Rij

菌株: 134株 (Table 4)

本菌種に同定した134株のうち、126株がラクトース資化性菌株であった (Table 4)。ラクトース資化性株には、コロニーが rough 型で産膜性を有するもの (*D. hansenii* 型) が多く、本菌種に同定された菌株の61% (82株) に達した。smooth 型で産膜性を欠く菌株 (*D. subglobosus* 型) は34% (45株) であった。ラクトース資化性を欠く菌株は7株にすぎず、4株は産膜性を示し (*D. nicotianae* 型)、3株は非産膜性であった (*D. kloeckeri* 型)。

D. hansenii—*D. subglobosus* 型の菌株のラクトース資化は菌株により著しく異なっており、資化性試験培地に接種後、数日間で顕著な生育を示す菌株から、4~5週後に初めて弱い生育が観察される菌株まで種々の段階のものが認められた。この菌種においては、ラクトース非資化菌もラクトースを含む培地に長期間培養することにより、ラクトース資化性を獲得すると考えられる。

D. hansenii—*D. nicotianae* 型の菌株の産膜性は顕著である場合が多かったが、時に不完全な皮膜を形成する菌株も認められ、*D. subglobosus* 型および *D. kloeckeri* 型との区別は必ずしも明確ではなかった。

The Yeasts, a Taxonomic Study 初版 (1952) において、Lodder ら¹⁰⁾はラクトース資化性と産膜性に基づき、*D. hansenii*, *D. subglobosus*, *D. nicotianae*, および *D. kloeckeri* の4種を区別した。しかし、自然界からは中間的な性状を示す菌株がしばしば分離され、これらの菌種を明確に区別することは困難な場合が少なくない。Kreger-van Rij¹¹⁾はラクトース資化性と産膜性により、これら4種を区別することが困難であることを認め、これらを *D. hansenii* に統合した。この分類は The Yeasts, a Taxonomic Study 第2版 (1970) に採用された。一方、Tsuchiya ら¹²⁾は *D. subglobosus* と不完全型の *Torulopsis candida* は *D. hansenii*, *D. nicotianae*, *D. kloeckeri*, およびこれらの不完全型である *Torulopsis famata* の有する抗原の他に、独自の抗原 (抗原33) を有することを認め、両者を区別した。また、著者ら¹⁴⁾は冷凍食品より分離した *Torulopsis candida* の性状を示す菌株¹⁵⁾が *D. hansenii* (*D. subglobosus*, *D. nicotianae*, および *D. kloeckeri* を含む) およびその不完全型より6%も高いGC含量を有することを見いだした。ラクトース資化性と産膜性により、*D. hansenii* を更に細かく区別することは困難であり、この点において Kreger-van Rij の主張は妥当である。しかし、種としての *D. hansenii* の単一性については

Table 1. Yeasts Isolated from Various Kinds of Imported Cheese

Type of cheese		Year of isolation	<i>D. hansenii</i>	<i>K. lactis</i>	<i>S. italicus</i>	<i>Sp. roseus</i>	<i>C. intermedia</i>	<i>C. kefyr</i>	<i>C. lipolytica</i>	<i>C. zeylanoides</i>	<i>Cr. albidus</i>	<i>Cr. luteolus</i>	<i>R. rubra</i>	<i>R. minuta</i>	<i>T. candida</i>	<i>T. sphaerica</i>	<i>Trich. cutaneum</i>	Total
Very hard	Parmezan	1959	1															1
Hard	Emmental A	1963	1							1								2
	" B	1959	2							1								3
	Baby Edam	1964	2				1				1							4
	Cheddar	"									2	2						4
	Esrom	1963	1						1									2
	Samsøe	"	2							3								5
Semi-soft	Superzola	1964	18			1				3	1				1			24
	Plumrose	"	9												2			11
	St. Clemens	"	1											1				2
	Roquefort A	"	30								2				9			41
	" B	"	2							1			1					4
	Valencay	"	36	3	1			1							1			42
	Blue A	1963	1							1								2
	" B	"	3															4
	" C	1959	2								1					1		3
	Semi-soft	"	5							4								9
Soft	Camembert A	1964									1							1
	" B	1959	12													2	1	15
	Cream	1964	1															1
	Viola	"									3		1					4
	Geror	"	5						26									31
Total			134	3	1	1	1	1	27	14	11	2	2	1	13	3	1	215

検討の余地があろう。なお、AJ 4248 および 4383 の GC 含量はいずれも37%であった¹⁴⁾。

2) *Kluyveromyces lactis* (Dombrowski) van der Walt

菌株：AJ 4071, 4072, 4073 (Valencay cheese)

AJ 4072 および AJ 4073 の菌学的性状は van der Walt¹⁶⁾ の標準記載に一致していた。AJ 4071 はアスコスポアを形成せず、この菌種の不完全型の *Torulopsis sphaerica* に相当する。しかし、この菌株の偽菌糸形成は顕著であり、*Torulopsis* 属の定義からはずれていたため *K. lactis* として取り扱った。なお、この菌株にはガラクトース発酵性は認められなかった (Table 2)。

3) *Saccharomyces italicus* Castelli

菌株：AJ 4099 (Valencay cheese)

AJ 4099 の菌学的性状は van der Walt¹⁷⁾ の標準記載に一致していたが、この菌株の GC 含量は39%であ

り、*Saccharomyces sensu stricto* の GC 含量の分布範囲にあった¹⁸⁾。

4) *Sporobolomyces roseus* Kluyver et van Niel
菌株：K-31 (Superzola cheese)

K-31 の菌学的性状は Lodder ら¹⁰⁾ の標準記載に一致していた。

5) *Candida intermedia* (Ciferri et Ashford)
Langeron et Guerra

菌株：AJ 4070 (Baby Edam cheese)

AJ 4070 の菌学的性状は van Uden ら¹⁰⁾ の標準記載にはほぼ一致していたが、メレチトースの資化性は認められなかった (Table 3)。しかし、この菌株は抗原 1, 4, 6, および24を持ち、Tsuchiya ら¹³⁾ の報告した *C. intermedia* の抗原式と一致していた。GC 含量も44%で *C. intermedia*²⁰⁾ と同一であった。

6) *Candida kefyr* (Beijerinck) van Uden et Buckley

Table 2. Physiological Characteristics of Yeasts Isolated from Cheese (1)

Species	Number of isolates	Fermentation ^{a)}						Max. growth temperature (°C)	Vitamins required ^{b)}	Assim. of nitrate	Split of arbutin ^{c)}	Liq. of gelatin ^{c)}	Prod. of riboflavin	Hydrolysis of urea	Pellicle formation ^{a)}	Ester formation	Hydrolysis of fat	Starch formation ^{a)}
		Glucose	Galactose	Saccharose	Maltose	Lactose	Raffinose											
<i>D. hansenii</i>	134	W, B, - +	-	W, B, - +	B, -	-	W, -	30-37	B	-	+, W	-	+, -	-	+, W, -	-	/	-
<i>K. lactis</i>	3	+	+	+	-	+	B	37-39	B, N	-	+	W, -	-	-	-	-	/	-
<i>S. italicus</i>	1	+	+	W	+	-	-	38-39	B, P, T	-	-	-	-	-	-	-	/	-
<i>Sp. roseus</i>	1	-	-	-	-	-	-	/	NR	+	+	-	-	+	+	-	/	-
<i>C. intermedia</i>	1	+	+	+	-	+	-	35-36	B	-	+	-	-	-	+	-	/	-
<i>C. kefyr</i>	1	+	+	+	-	+	B	40-41	B, N	-	-	-	-	-	W	-	/	-
<i>C. lipolytica</i>	27	-	-	-	-	-	-	36-37	T	-	-	+	-	+	+	-	+	-
<i>C. zeylanoides</i>	14	-	-	-	-	-	-	34-37	B	-	-	-	-	-	-	-	/	-
<i>Cr. albidus</i>	11	-	-	-	-	-	-	31-36	T	+	+	W, -	-	+	-	-	/	+
<i>Cr. luteolus</i>	2	-	-	-	-	-	-	31-34	T	-	+	-	-	+	-	-	/	+
<i>R. rubra</i>	2	-	-	-	-	-	-	36-38	T	-	+	-	-	+	-	-	/	-
<i>R. minuta</i>	1	-	-	-	-	-	-	37-38	PABA, T	-	W	-	-	+	-	-	/	-
<i>T. candida</i>	13	-	-	-	-	-	-	34-37	B	-	+, W	-	+, -	-	+, -	-	/	-
<i>T. sphaerica</i>	3	+	+	+	-	+	+	34-35	B, N	-	+	-	-	-	-	-	/	-
<i>Trich. cutaneum</i>	1	-	-	-	-	-	-	35-36	T	-	W	/	-	+	+	-	/	W

^{a)} W, weak; B, bubbles of gas. ^{b)} B, biotin; N, niacin; P, Ca pantothenate; T, thiamine; PABA, *p*-aminobenzoic acid; NR, not required.

^{c)} Results are varied with different strain.

Table 3. Physiological Characteristics of Yeasts Isolated from Cheese (2). Assimilation of Carbon Compounds

Species	Number of isolates	Glucose	Galactose	Saccharose	Maltose	Lactose	L-Sorbose	Cellobiose	Trehalose	Melibiose	Raffinose	Melezitose	Inulin	Soluble starch	D-Xylose	L-Arabinose	D-Arabinose	D-Ribose	L-Rhamnose	Ethanol	Glycerol	Erythritol	D-Ribitol	D-Galactitol	D-Mannitol	D-Glucitol	α -Me-D-Glucoside	Salicin	K Gluconate	Ca 2-Ketoglucuronate	DL-Lactic acid	Succinic acid	Citric acid	Inositol	
<i>D. hansenii</i>	134	+	+	+	+	+	+	+	+	V	+	+	V	-	+	+	+	V	+	+	+	V	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	V	-	
<i>K. lactis</i>	3	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	L	-	-	-	-	+	+	-	L ^{e)}	-	+	+	+	+	+	-	+	+	W	-	
<i>S. italicus</i>	1	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-		
<i>Sp. roseus</i>	1	+	+	+	+	-	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	+	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
<i>C. intermedia</i>	1	+	+	+	+	+	+	+	+	-	L	-	-	-	+	-	-	L	-	+	+	-	L	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
<i>C. kefyi</i>	1	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	L	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	
<i>C. lipolytica</i>	27	+	+	-	- ^{d)}	-	L	-	- ^{d)}	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
<i>C. zeylanoides</i>	14	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
<i>Cr. albidus</i>	11	+	+	+	+	+	+	+	+	V	+	+	- ^{b)}	+	+	+	V	L	V	+	V	-	V	V	V	V	+	+	+	+	+	+	V	V	+
<i>Cr. luteolus</i>	2	+	-	+	+	-	-	- ^{b)}	+	-	+	+	-	L	+	+	L	L	W	+	+	L	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	LW	LW	+
<i>R. rubra</i>	2	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	L	-	L	+	+	+	+	+	-	L	L	+	L	-
<i>R. minuta</i>	1	+	L	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	W	-
<i>T. candida</i>	13	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	L ^{e)}	+	V	+	+	+	+	- ^{b)}	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>T. sphaerica</i>	3	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	LW ^{e)}	-	+	-	-	-	-	+	+	-	V	-	V	V	+	+	+	-	+	+	W	-	-
<i>Trich. cutaneum</i>	1	+	+	+	+	+	L	+	+	+	+	+	L	L	+	+	L	+	+	+	+	+	L	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+, positive; -, negative; V, variable; L, latent; LW, latent and weak; W, weak.

^{a)} Often latent or latent and weak. ^{b)} Sometimes latent or weak. ^{c)} Sometimes latent. ^{d)} Sometimes negative.

Table 4. Type of *Debaryomyces hansenii* Isolated from Imported Cheese

Year of isolation	Type of <i>D. hansenii</i> Cheese	<i>D. hansenii</i> lactose + rough pellicle	<i>D. nicotianae</i> lactose — rough pellicle	<i>D. subglobosus</i> lactose + smooth no pellicle	<i>D. kloockeri</i> lactose — smooth no pellicle
Dec., 1959	Parmezan			CH-30	
	Emmental B			CH-15, CH-32	
	Blue C	CH-22			CH-23
	Semi-soft	CH-3, CH-11			CH-4, CH-31
Feb., 1963	Camembert B	CH-1, CH-2, CH-2-1, CH-2-2, CH-7, CH-10		CH-12, CH-13, CH-34	
	Blue A	AJ 4190			
	" B	AJ 4187, 4188, 4383			
	Esrom	AJ 4186			
	Cream	AJ 4191			
	Samsøe	AJ 4189		AJ 4243	
	Emmental C	AJ 4192			
Feb., 1964	Bady Edam			AJ 4251, 4253	
	Supersola	K-68, K-69, K-70, K-72, K-73, K-74, K-76, K-85, K-88, K-89, K-92, K-95, K-157	K-71, K-75, K-87, K-93	K-91	
	Plumrose	K-96, K-98, K-101, K-102, K-103, K-104, K-106		K-99, K-100	
	St. Clemens	AJ 4195			
	Roquefort A	K-53, K-82, K-83, K-86, K-110, K-111, K-120, K-122, K-123, K-125, K-130		AJ 4264, 4247, K-51, K-52, K-77, K-78 K-79, K-80, K-81, K-84, K-107, K-108 K-113, K-114, K-116, K-117, K-118, K-129, K-131	
				AJ 4248	
	Roquefort B	K-55, K-57, K-58, K-59, K-60, K-61, K-63, K-65, K-67, K-132, K-133, K-134, K-136, K-138, K-139, K-140, K-141, K-142, K-143, K-144, K-145, K-146, K-147, K-149, K-150, K-151, K-153, K-154, K-155		K-54, K-56, K-62, K-64, K-137, K-148, K-152	
		AJ 4393			
		AJ 4193, 4194		AJ-4249, 4250, 4252	
	Geror				

菌株: AJ 4660 (Valencay cheese)

本菌株はパントテン酸を要求せず (Table 2), セロビオースも資化しない (Table 3) 点で van Uden ら¹⁹⁾の *Candida kefyr* の記載とは異なっていたが, その他の菌学的性状は一致していたので上記のように同定した。

7) *Candida lipolytica* (Harrison) Diddens et Lodder

菌株: AJ 4553, 4554, 4555, 4556, 4557, 4558, 4559, 4560, 4561, 4562, 4563, K-161, K-162, K-163, K-164, K-165, K-166, K-167, K-168, K-169, K-170, K-171, K-172, K-173, K-174, K-175 (Geror cheese), AJ 4550 (Esrom cheese) .

The Yeasts, a Taxonomic Study 第2版 (1970) において, van Uden ら¹⁹⁾は *Candida lipolytica* に2変種を設定した。すなわち, β -グルコシダーゼ活性を欠き, 最高生育温度が33°以上の菌株を *Candida lipolytica* var. *lipolytica* とし, β -グルコシダーゼ活性を示し, 最高生育温度が29~32°の菌株は新変種 *C. lipolytica* var. *deformans* にまとめた。チーズから分離された27株の菌学的性状は前者に一致していた (Table 2, 3)。この菌種は適切な mating type と接合することにより, アスコスポアを形成することが報告されており²¹⁾, その完全世代は最初 *Endomycopsis* 属におかれたが²¹⁾, 命名上の理由により *Saccharomycopsis* 属に移された²²⁾。Heslot*¹ は *C. lipolytica* におかれたこの2変種が接合してアスコスポアを形成することを認めている。また, 著者は *C. lipolytica* var. *deformans* の GC 含量が50%であり, *C. lipolytica* var. *lipolytica* の GC 含量²⁰⁾と一致することを認めた*²。これらの変種は区別されるべきではない。なお, Heslot*¹ によれば AJ 4550, 4553, 4555, および4560は mating type A に属する。

8) *Candida zeylanoides* (Cast.) Langeron et Guerra

菌株: AJ 4745 (Blue cheese A), AJ 4746, 4747, 4748 (Samsoe cheese), AJ 4749 (Emmental cheese A), AJ 4751 (Roquefort cheese B), AJ 4750, K-90, K-94 (Superzola cheese), CH-16, CH-25, CH-26, CH-28 (Semi-soft cheese), CH-29 (Emmental cheese B)

分離株の菌学的性状は van Uden ら¹⁹⁾の標準記載に一致していた。AJ 4745 のガラクトース資化は遅延した (Table 3)。

9) *Cryptococcus albidus* (Saito) Skinner

菌株: AJ 4318 (Bady Edam cheese), AJ 4319, K-158 (Roquefort cheese A), AJ 4320, 4336 (Cheddar cheese), AJ 4321, 4322, 4335

(Viola cheese), K-20 (Superzola cheese), K-66 (Camembert cheese A), CH-24 (Blue cheese C)

The Yeasts, a Taxonomic Study 第2版 (1970) においては *Cryptococcus albidus* には3変種が設定されている。Phaff ら²³⁾はラクトース, ガラクトース, α -メチルグルコシドおよびメレチトースの資化性により, *Cr. albidus* var. *diffluens* と *Cr. albidus* var. *albidus* を区別した。分離株のうち, 2株 (AJ 4335, 4336) は前者に相当し, 残り9株は後者に相当すると考えられたが, 両者を明確に区別することはできなかった。*Cryptococcus* 属においては種の区別が適切でない場合が少なくないことが DNA 塩基組成の面から示されており^{24), 25)}, このような種をラクトース資化性のような不明確な指標により更に変種にまで区別することは妥当ではないと考える。著者は分離株を変種に区別せず, 単に *Cr. albidus* に同定した。

10) *Cryptococcus luteolus* (Saito) Skinner

菌株: AJ 4328, 4329 (Cheddar cheese)

分離株の菌学的性状は Phaff ら²³⁾の標準記載に一致した。なお, AJ 4329 の GC 含量は52%であり, *Cryptococcus* 属のなかでは比較的低値であった²⁵⁾。

11) *Rhodotorula rubra* (Demme) Lodder

菌株: AJ 4857 (Viola cheese), AJ 4858 (Roquefort Cheese B)

分離株の菌学的性状は Phaff ら²³⁾の標準記載に一致した。

12) *Rhodotorula minuta* (Saito) Harrison

菌株: AJ 4873 (St. Clemens cheese)

分離株はラクトースを資化し (Table 3), その菌学的性状は *R. minuta* var. *texensis*²⁶⁾ に一致していた。しかし, *Rhodotorula* 属においてはラクトースの資化性は誘導的であり²⁷⁾, ラクトース資化性を特徴とするこの変種の設定は適切ではないと考える。著者は単に *R. minuta* とした。この菌株の GC 含量は51%であり, *Rhodotorula* 属のなかでは最も低い群 (第4群) に含まれた²⁵⁾。

13) *Torulopsis candida* (Saito) Skinner

菌株: K-97, K-105 (Plumrose cheese), K-135 (Valencay cheese), K-109, K-112, K-119, K-121, K-124, K-126, K-127, K-128 (Roquefort cheese A), K-136 (Superzola cheese)

分離株の菌学的性状は van Uden ら²⁸⁾の標準記載に一致した。

14) *Torulopsis sphaerica* (Kloemer et Krumbholz) Lodder

菌株: AJ 4398 (Blue cheese B), CH-8, CH-9 (Camembert cheese B)

分離株はアスコスポアを形成しなかったが, その他の

*1 私信

*2 未発表

菌学的性状は *Kluyveromyces lactis*¹⁶⁾ に一致したので、その不完全型の本菌種に同定した。

15) *Trichosporon cutaneum* (De Beurm, Gougerot et Vaucher) Ota

菌株: CH-17 (=AJ 4815, Camembert cheese B)

分離株の菌学的性状は Do Carmo Sousa²⁰⁾ の標準記載にはほとんど一致していたが、イヌリンは遅延するも資化した。Do Carmo Sousa の記載では資化性試験に用いた31種類の炭素化合物のうち、26化合物が陽性または陰性と表示されており、最高生育温度も 29~41° と広く分布して、この菌種の不均一性が示唆されている。分離株の GC 含量は 63% であり³⁰⁾、冷凍食品から分離された菌株¹⁵⁾ より高値を示した。この菌種は分類学的にかなり不均一の菌株より構成される。

要 約

21点の欧米産輸入チーズより分離した 215 株の酵母の分類学的研究を行い、9 属 15 種に同定した。134 株が *Debaryomyces hansenii* であり、以下、*Candida lipolytica* (27 株)、*Candida zeylanoides* (14 株)、*Torulopsis candida* (13 株)、*Cryptococcus albidus* (11 株)、*Kluyveromyces lactis* (3 株)、*Torulopsis sphaerica* (3 株)、*Cryptococcus luteolus* (2 株)、*Rhodotorula rubra* (2 株)、*Saccharomyces italicus* (1 株)、*Sporobolomyces roseus* (1 株)、*Candida intermedia* (1 株)、*Candida kefyr* (1 株)、*Rhodotorula minuta* (1 株)、および *Trichosporon cutaneum* (1 株) であった。

D. hansenii に属する134株はラクトース資化性、産膜性およびコロニー性状により4型に区別された。*D. hansenii* 型(ラクトース資化、産膜性、rough 型コロニー)が最も多く61%に達し、*D. subglobosus* 型(ラクトース資化、非産膜性、smooth 型コロニー)がこれにつぎ34%を占め、*D. nicotianae* 型(ラクトース非資化、産膜性、rough 型コロニー)と *D. kloockeri* 型(ラクトース非資化、非産膜性、smooth 型コロニー)は少なく、それぞれ3%と2%であった。

Cryptococcus albidus に属する分離株の性状は、*Cr. albidus* var. *albidus* または *Cr. albidus* var. *diffuens* に類似していたが、両変種の間隔的な性状を示す菌株が認められ、厳密に区別することは困難であった。この2変種は統合されるべきであろう。

Rhodotorula minuta に同定した1株はラクトースを資化し、*R. minuta* var. *texensis* の記載に一致していた。しかし、*R. minuta* とその類似菌種においてはラクトースの資化性は誘導的であり、この変種の設定は妥当ではない。

本研究の一部は日本農芸化学会関東、東北支部大会(新潟、1961年)で発表した。

文 献

- 1) 中瀬 崇, 駒形和男: 食衛誌. 18, 00 (1977).
- 2) 金内稔郎, 吉岡八洲男, 浜本典男: 日畜会報. 33, 147 (1962).
- 3) 姜 國熙, 上野川修一, 山内邦男: 同上, 47, 18 (1976).
- 4) 金内稔郎, 吉岡八洲男, 浜本典男: 同上, 32, 104 (1961).
- 5) Wickerham, L.J.: Taxonomy of Yeasts, U.S.D.A. Tech. Bull., No. 1029 (1951).
- 6) 駒形和男, 中瀬 崇: 食衛誌. 8, 53 (1967).
- 7) Sierra, G.: Antonie van Leeuwenhoek, 23, 15 (1957).
- 8) Tsuchiya, T., Fukazawa, Y., Taguchi, M., Nakase, T., Shinoda, T.: Mycopathol. Mycol. Appl., 53, 77 (1974).
- 9) Nakase, T., Komagata, K.: J. Gen. Appl. Microbiol., 14, 345 (1968).
- 10) Lodder, J., Kreger-van Rij, N.J.W.: "The Yeasts, a Taxonomic Study," p. 279, 348 (1952), North-Holland Publ. Co., Amsterdam.
- 11) Kreger-van Rij, N.J.W.: "A Taxonomic Study of the Yeast Genera *Endomycopsis*, *Pichia*, and *Debaryomyces*," p. 162 (1964), Thesis, Leiden University.
- 12) Kreger-van Rij, N.J.W.: "Genus *Debaryomyces* Lodder et Kreger-van Rij, In The Yeasts, a Taxonomic Study," p. 129 (1970), Lodder, J., North-Holland Publ. Co., Amsterdam.
- 13) Tsuchiya, T., Fukazawa, Y., Kawakita, S.: Mycopathol. Mycol. Appl., 26, 1 (1965).
- 14) Nakase, T., Komagata, K.: J. Gen. Appl. Microbiol., 17, 43 (1971).
- 15) 駒形和男, 中瀬 崇: 食衛誌. 8, 58 (1967).
- 16) van der Walt, J.P.: "Genus *Kluyveromyces* van der Walt, In The Yeasts, a Taxonomic Study," p. 316 (1970), Lodder, J., North-Holland Publ. Co., Amsterdam.
- 17) van der Walt, J.P.: Genus *Saccharomyces* Meyen, *ibid.*, p. 555 (1970), Lodder, J., North-Holland Publ. Co., Amsterdam.
- 18) Nakase, T., Komagata, K.: J. Gen. Appl. Microbiol., 17, 227 (1971).
- 19) van Uden, N., Buckley, H.: "Genus *Candida* Berkhout, In The Yeasts, a Taxonomic Study," p. 893 (1970), Lodder, J., North-Holland Publ. Co., Amsterdam.
- 20) Nakase, T., Komagata, K.: J. Gen. Appl.

- Microbiol., 17, 259 (1971).
- 21) Wickerham, L.J., Kurtzman, C.P., Herman, A.I.: "Recent Trends in Yeast Research," p. 81 (1970), Ahearn, D. G., Georgia State Univ., Atlanta.
- 22) Yarrow, D.: *Antonie van Leeuwenhoek*, 38, 357 (1972).
- 23) Phaff, H.J., Fell, J.W.: "Genus *Cryptococcus* Kützing, *In The Yeasts, a Taxonomic Study*," p. 1088 (1970), Lodder, J., North-Holland Publ. Co., Amsterdam.
- 24) Storck, R., Alexopoulos, C.J., Phaff, H.J.: *J. Bacteriol.*, 98, 1069 (1969).
- 25) Nakase, T., Komagata, K.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 17, 121 (1971).
- 26) Phaff, H.J., Ahearn, D.G.: Genus *Rhodotorula* Harrison, *In The Yeasts, a Taxonomic Study*, p. 1187 (1970), Lodder, J., North-Holland Publ. Co., Amsterdam.
- 27) Hasegawa, T.: *Ann. Rept. Inst. Fermentation*, Osaka, 1, 1 (1965).
- 28) van Uden, N., Vidal-Leiria, M.: "Genus *Torulopsis* Berlese, *In The Yeasts, a Taxonomic Study*," p. 1235 (1970), Lodder J., North-Holland Publ. Co., Amsterdam.
- 29) Do Carmo-Sousa, L.: Genus *Trichosporon* Behrend, *ibid.*, p. 1309 (1970).
- 30) Nakase, T., Komagata, K.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 17, 363 (1971).