北太平洋海域の海水から分離した酵母に関する研究

信 濃 晴 雄

(1962 年 8 月 6 日受理)

STUDIES ON YEASTS ISOLATED FROM VARIOUS AREAS OF
THE NORTH PACIFIC

Haruo SHINANO*

A large number of samples, water for the study of microorganisms, were obtained on the occasions of the cruises of the "Ryofu Maru" and "Oshoro Maru" in the North Pacific extending to the Bering Sea, Aleutian region, east off the Japan Proper Island, south off the Japan Proper Island and East China Sea during the years 1959-60.

A total of 801 samples which were taken from various depths down to about 3000 meters were placed to this study. For isolation of marine yeasts the medium adopted was ZOBELL 2216-E, and the classification of yeasts was made according to the method of LODDER and VAN RIJ. In this paper are reported species of yeasts identified, their distribution with geographical areas and depths, and the results of experiments on their growth in relation to the salinity, pH value and temperature conditions.

One hundred forty-four isolates comprised of species belonging to genera, *Rhodotorula*, *Torulopsis*, *Cryptococcus*, *Saccharomyces*, *Sporoboromyces* or *Candida*. Among them species belonging to *Rhodotorula* were most abundantly and widely distributed. The number of isolated was larger than elsewhere at the layers of 0 m, 100-150 m and 750 m depths, while it was very small below 1000 meters. There was no difference of growth between marine and terrestrial strain at low saline media (0-5%), but the marine species grew better than in terrestrial strains at high saline media (7-9%).

The marine species did not grow better than in terrestrial strains at low pH value (pH 2), but no difference of growth between them at high pH value (pH 4-12). There was a tendency to inhibition of growth by high temperature (37°C.) in marine strains, compared with terrestrial strains.

緒 言

従来、海洋環境から分離された酵母に関する分類学的研究は甚だ少ないようで、著者は現在まで寡聞にして二、三の報告^{1,2)}を知るにすぎない。

著者の属する研究室では 1958 年以来海洋細菌に関する研究を継続しているが、たまたま海水中の正常菌叢を研究する目的で海水を培養し目下検索を続けている多数の分離菌株中に相当数の酵母菌株が含まれていることを認めたので、これら海水由来の酵母について、主として LODDER および KREGER-VAN RIJ (1952)³⁾ の方法に準拠して分類学的検索を行なうとともに、分類された各菌種につき、海水からの検出率、海域および水深差による分布状況などを検討し、また、これら海水由来酵母の発育におよぼす食塩濃度、pH および温度などの影響についても二、三の実験を試みたので、以上の結果をあわせて報告する。

実 験 方 法

1. 供試菌株の由来

* 北海道大学水産学部微生物学教室 (Microbiol. Lab., Fac. Fish., Hokkaido Univ., Hakodate, Hokkaido, Japan).

実験に供した酵母は、Table 1. に示すごとく北太平洋・ベーリング海 (1959, 1960), 三陸沖 (1959), 本邦南方海域・東支那海 (1960) などの洋上における合計 81 の採水点で、水面から水深 3000 m の間の種々の深度から、J・Z 式細菌検査用採水器⁴⁾を用いて採水した合計 801 件の海水を、採水後直ちに船内実験室において ZoBELL 2216-E 寒天培地⁵⁾を分離培地として、各 1 ml 宛 2 枚の平板に混積培養し (25°C, 7 日間)、発生した集落をできる限り多数釣菌し、純粋培養を繰り返して分離し得た菌株中から、酵母と確認されたもののみを選び出し、さらに同一検体から分離されかつ全く同一の性状を有する菌株を整理した計 144 株の酵母である。なお、この場合同一検体から分離し、かつ同一菌種と同定されたものであつても、形態学的ならびに生化学的性状において若干でも差異が認められるものについては別個の菌株として取扱つた。

Table 1. Origin of isolates from sea-waters.

Cruise	Year	Sea-area	No. of stations	No. of samples	No. of stations and samples with yeasts		No. of isolates (yeast)
					Station	Sample	
I	1959 (June-July)	North Pacific (Bering Sea and Aleutian region)	22	253	19 (86.4%)	45 (17.8%)	53
II	1959 (Nov.)	East off the Japan Proper Island (Sanriku-Oki)	4	25	3 (75.0)	4 (16.0)	4
III	1960 (June-Aug.)	North Pacific (Bering Sea and Aleutian region)	35	353	13 (37.1)	17 (4.8)	18
IV	1960 (Oct.-Nov.)	South off the Japan Proper Island and East China Sea	20	170	16 (80.0)	49 (28.8)	69
	Total		81	801	51 (63.0)	115 (14.4)	144

2. 分類学的検査法

供試菌はすべて、あらかじめブドウ糖ポテト寒天平板培地上の定型的単独集落の釣菌培養を繰り返した後、以下の実験に供した。なお、ブドウ糖ポテト寒天培地は、ポテト 250 g を水洗、剥皮、細割後 1 l の蒸留水で 1 時間煮沸浸出し、汙過後補水して全量を 1 l とし、寒天 15 g をを加え加温溶解し、ブドウ糖 20 g を加えてよく混和した後フラスコに分注、3 日間の間歇減菌を行なつたものである。

(1) 形態学的性状の観察

各供試菌について麦芽汁寒天画線培養、麦芽汁培養およびブドウ糖ポテト寒天培地での slide culture を 25°C で行ない、細胞の大きさ、形状、発育の状態、菌糸の有無、栄養増殖の方法などについて、4~7 日および 30 日後の状態を観察した。

(2) 胞子形成試験

あらかじめ麦芽汁寒天斜面に前培養 (25°C, 3 日) を行なつた供試菌を石膏、GORODOKOWA 氏寒天およびポテト培地上に培養し、7~30 日間にわたり胞子形成の有無、胞子の形状および数などについて鏡検観察した。

(3) 糖類酸酵試験

5% の酵母浸出液にグルコース、ガラクトース、シュクロース、マルトース、ラクトースおよびラフィノースの 6 種の糖類を 2% の割合に添加し、ダルハム管を入れた試験管に分注、3 日間間歇減菌、無菌試験を行なつた後供試菌の大量を接種、25°C で培養し、2 週間にわたりガス発生の有無を観察した。

(4) 糖類同化試験

LODDER の auxanograph 法⁸⁾にしたがいグルコース、ガラクトース、シュクロース、マルトースおよびラクトースの 5 種の糖類に対する同化性を試験した。なお、この試験に用いた基礎培地の組成は (NH₄)₂SO₄ 0.5%, KH₂PO₄ 0.1%, MgSO₄·7H₂O 0.05%, 寒天 2% である。

(5) 硝酸塩同化試験

糖類の同化試験と同様 auxanograph 法を採用し、硝酸塩としては KNO₃ を用いた。この試験に用いた

基礎培地の組成はグルコース 2%, KH_2PO_4 0.1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05%, 寒天 2% である。

(6) エタノール利用試験

基礎培地として $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.1%, KH_2PO_4 0.1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05% の組成のものを使用, これに少量の 5% 酵母浸出液および 3% の割合にエタノールを添加, 25°C で 7~30 日培養し, エタノール非添加の対照と発育状態を比較してエタノール利用性を試験した。

(7) 澱粉様物質の検出試験

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.1%, KH_2PO_4 0.1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05%, グルコース 1%, 寒天 2% の組成からなる基礎培地に少量の 5% 酵母浸出液を添加して平板を作製し, 供試菌を塗抹, 25°C で 2 週間培養後ルゴール液を培地面に注加し, 澱粉様物質の反応を検査した。

Table 2. Key to the species of the genus *Rhodotorula*.

- KNO_3 is assimilated.
 - Glucose, galactose, sucrose, and maltose are assimilated.
 - No fermentation.
 - Cells are oval, multilateral budding.
 - A primitive pseudomycelium consisting of tree-like formation is occasionally formed.
 - The color of streak culture is red to orange.
 -*Rhodotorula glutinis* (FRES.) HARRISON.
 - Cells are round to short oval, multilateral budding.
 - Mostly no pseudomycelium.
 - The color of streak culture is red to orange.
 -*Rhodotorula glutinis* (FRES.) HARRISON var. *rubescens* (SAITO) LODDER.
- KNO_3 is not assimilated.
 - Glucose, galactose, sucrose and maltose are assimilated.
 - No fermentation.
 - Cells are short-oval or oval, multilateral budding.
 - Generally no pseudomycelium; occasionally primitive development occurs.
 - The color is red.
 -*Rhodotorula mucilaginosa* (JORG.) HARRISON.
 - Glucose, galactose and maltose are assimilated.
 - No fermentation.
 - Cells are oval, multilateral budding.
 - Occasionally a primitive pseudomycelium.
 - The color is orange to red.
 -*Rhodotorula minuta* (SAITO) HARRISON.

Table 3. Key to the species of the genus *Cryptococcus*.

- KNO_3 is assimilated.
 - Glucose, galactose, sucrose, maltose and lactose are assimilated.
 - No fermentation.
 - No pseudomycelium is formed.
 - Cells are round or short-oval, and surrounded by a capsule. Under appropriate conditions "starch" is formed in this capsule.
 -*Cryptococcus albidus* (SAITO) SKINNER.
- Glucose, galactose, sucrose and maltose are assimilated; lactose is not assimilated.
 - No fermentation.
 - No pseudomycelium is formed.
 - Cells are round or oval, and surrounded by a capsule. Under appropriated conditions "starch" is formed in this capsule.
 -*Cryptococcus difluens* (ZACH) nov. comb.

3. 供試菌の發育におよぼす食塩濃度, pH および温度の影響

供試菌を各種の食塩濃度および pH に調製したブドウ糖ポテト寒天培地に 25°C, 3 日間, また常用のブドウ糖ポテト寒天培地に 4, 25 および 37°C で同様 3 日間培養してその發育度を觀察し, 対照菌の發育度と比較した。対照菌としては研究室保存の 7 株を供試した。

Table 4. Key to the *Sporoboromyces salmonicolor* and *Torulopsis candida*.

KNO₃ is assimilated.

Glucose, sucrose are assimilated; galactose is weakly or not assimilated.

Cells are oval, long-oval to elongate, mycelial hyphae and cells bearing sterigmata and spores may occur.

True mycelium is formed. The tips of the filaments may bear spores. Occasionally trees of elongate cells occur. The streak culture is pink to salmoncolored, powdery, tough, raised and wrinkled.

Spores are developed and discharged; occasionally the discharging mechanisms may be lacking. The spores are kidney-shaped.

.....*Sporoboromyces salmonicolor* (FISCHER et BREBECK) KLUYVER et VAN NIEL.

KNO₃ is not assimilated.

Glucose, galactose, sucrose, maltose and lactose are assimilated.

No fermentation.

Cells are round to short-oval and thick ring is formed.

Spore is not formed.

.....*Torulopsis candida* (SAITO) LODDER.

Table 5. Key to the species of the sugar fermenting yeasts.

Glucose, galactose, sucrose, maltose and lactose are assimilated.

Glucose, galactose, sucrose and lactose are fermented.

1/3 Raffinose is fermented. KNO₃ is not assimilated.

Cells are round, multilateral budding. Pseudomycelium is not formed.

Ascospores are not formed....*Torulopsis spherica* (HAMMER et CORDES)

Glucose, galactose, sucrose and maltose are assimilated. LODDER.

Glucose, galactose and sucrose are fermented.

1/3 Raffinose is fermented. KNO₃ is not assimilated.

Cells are round to oval. Pseudomycelium may be formed.

Round ascospores are formed....*Saccharomyces fructuum* LODDER et VAN RIJ.

Glucose and sucrose are fermented.

Raffinose is not fermented. KNO₃ is not assimilated.

Cells are round to short-oval, multilateral budding. Pseudomycelium may not be formed.

Spores are not formed....*Torulopsis dattila* (KLUYVER) LODDER.

Glucose is fermented.

Raffinose is not fermented. KNO₃ is not assimilated.

Cells are small, round or oval. Pseudomycelium may not be formed.

Spores are not formed....*Torulopsis famata* (HARRISON) nov. comb.

Glucose is fermented weakly.

Raffinose is not fermented. KNO₃ is not assimilated.

Cells are creeping pellicle is formed on liquid media.

Spore is not formed....*Candida reukaufii* (GRÜSS) DIDDENS et LODDER.

Glucose, galactose and sucrose are fermented.

Raffinose is not fermented. KNO₃ is not assimilated.

Cells are round to oval, multilateral budding. Pseudomycelium is not observed.

Thin dry creeping pellicle is formed on liquid media.

Spore is not formed....*Candida solani* like.

なお、酵母の分類についてはその形態学的特性はもちろんであるが、近年糖類ならびに硝酸塩などに対する生化学的性状もかなり重要視され^{1,2)}、LODDER ら⁸⁾の分類も種 (species) は大体糖類の醗酵性、同化性および硝酸塩の同化性を基盤とし、これに各種形態学的特性を加味して分類を行なっている。著者はこのような観点に立つて LODDER らの記載をとりまとめ Table 2~5 に示すような Key を作製し、これにしたがって分類を行なった。またこの Key のうちで醗酵性を有する酵母に関しては、同じような観点から佐々木・吉田^{6,7)}により作製されたものをそのまま引用した。

結 果

1. 供試菌の同定

(1) genus *Rhodotorula*

供試菌 144 株中、著名な赤色、橙赤色およびピンク色の色素を産生し、醗酵性、孢子形成能ともになく、明らかに genus *Rhodotorula* と認められたものは 111 株で供試菌の大部分 (77.1%) を占めている。また、これらの種別は Table 6 に示すごとく *R. mucilaginosa* (46 株), *R. glutinis* (7 株), *R. glutinis* var. *rubescens* (44 株), *R. minuta* (10 株) および *R. sp.* (4 株) である。すなわち *R. mucilaginosa* および *R. glutinis* var. *rubescens* はそれぞれ genus *Rhodotorula* の 40% 前後を占め、ついで *R. minuta*, *R. glutinis* の順に検出率が高い。また species を決定し得なかつた 4 株中の 3 株は、生化学的性状において硝酸塩の同化性を認めず、グルコース、ガラクトースおよびシュクロースの同化性は認めるも、ラクトース

Table 6. Classification of isolates.

cruise	I	II	III	IV	total
species					
<i>Rhodotorula</i>					
<i>mucilaginosa</i>	25* (24)**	3	1	17 (15)	46 (43)
<i>glutinis</i>	5	—	—	2	7
<i>glutinis</i> var. <i>rubescens</i>	6	—	—	38 (28)	44 (34)
<i>minuta</i>	2	—	7	1	10
<i>sp.</i>	2	—	—	2	4
	40 (39)	3 (3)	8 (8)	60 (48)	111 (98)
	15.4%***	12.0%	2.3%	28.2%	12.2%
<i>Torulopsis</i>					
<i>dattila</i>	6	—	6	—	12
<i>famata</i>	—	—	2	—	2
<i>spherica</i>	1	—	1	—	2
<i>candida</i>	—	1	—	—	1
	7 (7)	1 (1)	9 (9)	0	17 (17)
	2.8%	4.0%	5.3%	—	2.1%
<i>Cryptococcus</i>					
<i>albidus</i>	3	—	—	1	4
<i>diffuens</i>	—	—	—	2	2
	3 (3)	0	0	3 (3)	6 (6)
	1.2%	—	—	1.8%	0.7%
<i>Saccharomyces</i>					
<i>fructum</i>	2 (2)	—	—	4 (2)	6 (4)
	0.8%	—	—	1.2%	0.5%
<i>Sporoboromyces</i>					
<i>salmonicolor</i>	—	—	1 (1)	—	1 (1)
	—	—	0.3%	—	0.1%
<i>Candida</i>					
<i>reukaufii</i>	—	—	—	2	2
<i>solani</i> like strain	1	—	—	—	1
	1 (1)	0	0	2 (2)	3 (3)
	0.4%	—	—	1.2%	0.4%

* : No. of strains.

** : No. of samples with yeast.

***: Percentage of detection to total samples in each cruise.

およびマルトースの同化性を認めない点など *R. minuta* と同一性状を示すが、形態学的に細胞の大きさがかなり大きく、また、他の1株は上記3株と糖の同化性においては同一態度を示すが、硝酸塩の同化性が認められ、かつ細胞の大きさもさらに大きく、むしろ *R. rubra* に近い形状を示し、これら4株は LODDER らの分類方式による7種、1変種より成る genus *Rhodotorula* 中のいずれとも同定し得なかつた。

(2) genus *Cryptococcus*

本属のもつとも特徴的な性状は、細胞がカプセルによつて覆われ、その細胞中ならびに培地中に澱粉様物質を産生することである。供試菌中本属と認められたものは6株で、すべて硝酸塩を同化し、糖の酸酵性はない。また糖の同化性については、6株中の4株は試験された5種の糖類全部を同化し（うち3株のラクトース同化性はきわめて微弱）、その他の性状から明らかに LODDER らの *Cryptococcus albidus* に一致するが、他の2株はラクトースの同化性がまったく認められず、その他の生化学的ならびに形態学的性状から *Cryptococcus diffluens* と同定された。

(3) genus *Sporoboromyces*

本属の特性は、菌苔が赤色または紅鮭色 (salmon pink) を呈し細胞より突出する sterigma の先端に形成される ballistospore は特徴ある腎臓形または鎌状の形状を示す。また pseudomycelium, true mycelium を形成するものがある。供試菌中本属と認められたものは1株のみで、硝酸塩の同化性を認め、糖の同化性はグルコース、ガラクトース、シュクロースに認められるもマルトース、ラクトースに認めず、かつ糖の酸酵性は認められない。以上の性状に一致する species としては *Sp. salmonicolor* および *Sp. odoratus* の2種が記載されているが、この2種間の最大の相異点は true mycelium の形成いかにあり、本菌株は明らかに true mycelium の形成を認め、また、その他の諸性状からも明らかに LODDER らの記載による *Sp. salmonicolor* と同定された。

(4) genus *Torulopsis*

糖の酸酵性および同化性、硝酸塩に対する態度、澱粉様物質形成能、pseudomycelium などの有無から供試菌中本属と認められたものは17株で、そのうち2株はグルコースのみ酸酵、ラクトースの同化性は認められないが、その他の糖類を同化し、硝酸塩の同化性を認めず、また形態学的性状については孢子を形成せず、細胞はほとんど円形かつ pseudomycelium の形成が認められない点など LODDER らの *Torulopsis famata* に一致した。その他の15株中7株は生化学的ならびに形態学的諸性状から完全に *Torulopsis dattila* に一致し、さらにその他の5株も細胞の大きさはやや小さいが、グルコース、シュクロース、およびラフィノース（かなり遅れる）を酸酵し、ラクトースを除く他の糖類を同化するも硝酸塩を同化せず、かつ孢子形成能、pseudomycelium 形成能ともに認められない点などから、これら5株も同様に *T. dattila* と考えるのが至当と思われる。残り3株中の2株はマルトースを除く全糖類に対し酸酵性を有し、試験された5種類の全糖類に対し同化性が認められるもガラクトース、ラクトースの酸酵性およびラクトースの同化性がきわめて弱く、硝酸塩の同化性を認めず、かつ細胞はほとんど円形、孢子形成能および pseudomycelium 形成能ともになく、液体培地において薄い皮膜を形成する点などからこの2株は *T. spherica* と同定され、残りの1株は糖の酸酵性は全く認められず、5種の糖類全部を同化するも硝酸塩は同化せず、細胞の形はほとんど円形、孢子形成能、pseudomycelium 形成能ともになく、増殖形式は多面出芽で、液体培地で厚い環および沈澱を生ずる点などから *T. candida* と同定された。

(5) genus *Saccharomyces*

生化学的ならびに形態学的諸性状から本属と認められたものは供試菌中7株で、そのうちの5株は明らかに *Sacch. fructuum* と同定され、他の2株も細胞の大きさはいくらか小さいが、その他の諸性状が LODDER らの記載に一致するところから同様に *Sacch. fructuum* と同定された。

(6) genus *Candida*

供試菌中本属と認められたものは2株で、そのうちの1株は孢子形成能なく、pseudomycelium はよく発達、細胞は卵円または長卵円形、多側面出芽により増殖、液体培地においてきわめて薄い皮膜を形成、グル

コースのみを僅かに醗酵, ラクトースを除く他の糖類を同化し, 硝酸塩を同化しない点など, *C. reukaufii* に完全に一致するが細胞の大きさは僅かに小さいようである。他の1株は生化学的性状において硝酸塩を同化せず, エタノールを同化, グルコース, シュクロースおよびガラクトース (きわめて微弱) を醗酵し, ラクトースを除き他の糖類を同化, また液体培地で管壁を登るきわめて薄い皮膜を形成する点など, *C. solani* に一致するが, pseudomycelium の形成が認められない点で *C. solani* と同定するに, やや疑義がもたれる。

2. 海水よりの酵母検出率と菌種別分布

Table 1 に示すごとく, 外洋における海水からの酵母の検出率は意外に高率であり (14.4%), とくに検出率の低かつた 1960 年度のベーリング海, アリューシャン海域にまたがる北太平洋の場合 (4.8%) を除き他の場合の検出率は 16% 以上で, 本邦南方海域・東支那海の場合では 28.8% の高率を示した。なお, 1960 年度のベーリング海, アリューシャン海域にまたがる北太平洋の場合は単に酵母に限らず一般の海洋細菌においても同様の結果が得られている⁸⁾が, その原因については不明である。また, 三陸沖の場合 (Cruise II) は他に比し検体数がきわめて少ないが, これは航海中台風に遭遇したことによるものである。つぎに, これら海水から分離された酵母の分類結果は Table 6 に示すごとく *Rhodotorula*, *Torulopsis*, *Cryptococcus*, *Saccharomyces*, *Candida* および *Sporoboromyces* の 6 属に分類され, とくに genus *Rhodotorula* は供試菌 144 株中の 111 株を占め (77.1%), 全検体 (海水 801 件) 中の 12.2% (98 件) から分離された。ついで genus *Torulopsis*, genus *Cryptococcus* の検出率が高く, その他若干の属, すなわち *Saccharomyces*, *Candida* および *Sporoboromyces* などが検出された。これらの属については米国マイアミ大学の FELL ら¹⁾の報告に大体類似しているが, 著者の場合では *Candida* の検出率がきわめて低かつた。Species については, *R. mucilaginosa* および *R. glutinis* (*R. glutinis* var. *rubescens* を含む) の検出率もつ

Table 7. Distribution of species by depths.

depth(m)	0	10	20	30	50	75	100	150	200	500	750	1000	1500	3000	total	%*
species																
<i>R. mucilaginosa</i>	4	2	4(3)	5(4)	4(3)	3	6	7	2	4	3		1	1	46(43)	5.4
<i>R. glutinis</i>		1	2	1	1		1		1						7	0.9
<i>R. glutinis</i> var. <i>rubescens</i>	5	4(2)	6(5)	5(3)	5(4)	5(4)	5(4)	2	7(5)						44(34)	4.2
<i>R. minuta</i>	3	1			1		1	1	1		2				10	1.2
<i>R. sp.</i>	1	1			1			1							4	0.5
<i>T. dattila</i>	2		1				1	3	1	1	2	1			12	1.5
<i>T. famata</i>	1											1			2	0.2
<i>T. spherica</i>								1			1				2	0.2
<i>T. candida</i>					1										1	0.1
<i>Cry. albidus</i>			1	1			1			1					4	0.5
<i>Cry. diffluens</i>	1					1									2	0.2
<i>Sacch. fructuum</i>		2			1	3(1)									6(4)	0.5
<i>Sp. salmonicolor</i>					1										1	0.1
<i>C. reukaufii</i>				1			1								2	0.2
<i>C. solani</i> like											1				1	0.1
No. of isolates.	17	11	14	13	15	12	16	15	12	6	9	2	1	1	144	
No. of samples with yeast	17	8	9	10	11	7	13	14	9	5	9	1	1	1	115	
No. of samples.	80	74	78	72	86	75	67	70	53	51	47	29	18	1	801	
%**	21.3	10.8	11.5	13.9	12.8	9.3	19.4	20.0	17.0	9.8	19.1	3.4	5.6	(100.0)		

* : Percentage of detection to total samples (801).

** : Percentage of detection by depths.

とも高く、これらの species は広く一般海洋に常在するものであろうことが推察される。なお、南方海域 (cruise IV) の場合、北方海域 (cruise I, III) に比し *R. glutinis* var. *rubescens* の検出率が高く、かつ *Torulopsis* の検出されなかつたことは興味ある点である。

Table 8. Species used for tests of salinity, pH and temperature.

Origin	Species	No. of strains
Marine	<i>R. mucilaginoso</i>	12
	<i>R. glutinis</i>	1
	<i>R. glutinis</i> var. <i>rubescens</i>	9
	<i>R. minuta</i>	3
	<i>R. sp.</i>	3
	<i>T. dattila</i>	2
	<i>T. famata</i>	1
	<i>T. spherica</i>	2
	<i>T. candida</i>	1
	<i>Cry. albidus</i>	3
	<i>Cry. diffluens</i>	1
	<i>Sacch. fructuum</i>	5
	<i>Sp. salmonicolor</i>	1
	<i>C. reukaufii</i>	1
	<i>C. solani</i> like	1
	total	46
Terrestrial	<i>Sacch. cerevisiae</i> (Rasse II)	1
	<i>Sacch. marxianus</i> HANSEN	1
	<i>Torula utilis</i> HENNEBERG	1
	<i>Hansenula anomala</i> (HANSEN) SYDOW	1
	<i>Schizosacch. japonicus</i> YUKAWA et MAKI (BAUMPLUSS)	1
	<i>Torulasporea delbrueckii</i> LINDNER	1
	<i>Pichia membranaefaciensis</i> HANSEN	1
	total	7

Table 9. Comparative results of growth-rate between marine and terrestrial strains to salinity, pH and temperature.

Origin of strains	Growth	Salinity (%)					pH					Temp.(°C.)		
		0	3	5	7	9	2	4	6	8	10	12	4	25
Marine	—					8	21						46	46
	±				2	2	10	2						
	+			1	11	9	15	9				5		
	++		10	18	15	25		21	4		4	29		
	+++	46	36	27	18	2		14	21	46	42	12	46	
Terrestrial	—				2	5					1	7	2	
	±				2	1	2							
	+		1	5	2	1	3	1			2			
	++		5	1	1		2		1		1	4	2	
	+++	7	1	1				6	6	7	6	7	3	

つぎに各 species の垂直分布は Table 7 に示すとおりであるが、各 species ともに少くも水深 750 m 位までにおいて各層から検出され、species と水深との間に特異的関係は認められなかつた。しかし酵母の検出率については、水面、水深 10~50m, 150 m 前後、750 m などにおいて高率な層が存在し、またこれらの層の間には検出率の低い層が認められ、かつ 1000 m 以上において急激に低下することは、諸家^{9,10,11,12,13}の海洋細菌の場合の菌数垂直分布の成績とよく一致する。

3. 海水由来の酵母と保存菌株の発育におよぼす食塩濃度、pH および温度の比較試験

つぎに以上の海水より分離した酵母 144 株中、形態学的ならびに生物学的性状が全く同一である菌株を整理して得られた 46 株と教室保存酵母 7 株につき、発育におよぼす食塩濃度、pH および温度の影響を比較した。すなわち海水由来酵母および対照菌株の内訳および試験結果は Table 8、Table 9 に示すとおりである。すなわち食塩濃度に関しては、海洋株、対照株ともに低濃度の場合大した発育差は見られないが、濃度が高くなるにつれて対照株では発育不良ないし発育しない菌株が多くなるのに対し、海洋株では、このような傾向が顕著でなく、食塩に対する抵抗域が広いようである。この場合海洋株で食塩の高濃度 (9%) でとくに発育を阻害される菌種は *R. minuta*、*T. candida*、*Sp. salmonicolor* および *R. sp.*

(3 株中の 2 株)、*Cry. albidus* (3 株中の 2 株)、*R. glutinis* var. *rubescens* (9 株中の 1 株) など供試株 46 株中の 10 株であつたが、対照株では *Hansenula anomala* を除く他の 6 株がすべて発育を著明に阻害された。pH については、4 以上では海洋株、対照株とも著明な発育差は見られないが pH 2 においては海洋株では 46 株中の 31 株が発育不良ないし発育せず、これに対し対照株では 7 株中の 2 株が発育不良であつた。すなわち低い pH 値に対する

発育阻害度は海洋株の方が大きいようである。この場合 pH 2 に対しやや抵抗する菌種は、海洋株では *R. mucilaginosa* (12 株中の 11 株), *Sp. salmonicolor* および *R. sp.* (3 株中の 1 株), *R. glutinis* var. *rubescens* (9 株中の 2 株), *Sacch. fructuum* (5 株中の 1 株) などの 15 株, 対照株では *Schizosacch. japonicus*, *Torulasporea delbrueckii* を除く他の 5 株が相当の抵抗性を示した。なお pH 12 においては対照株の *Pichia membranaefaciensis* が発育を阻止された外, 他の菌株においては著明な発育阻害は認められなかった。つぎに発育温度については, 4°C, 25°C では海洋株, 対照株ともにまったく差は認められなかったが, 37°C においては海洋株全株が発育しないのに対し, 対照株では *Hansenula anomala*, *Pichia membranaefaciensis* を除く 5 株がかなり旺盛な発育を示した。以上の二, 三の実験結果は菌株由来の環境に関連し興味あることと考える。

(附記) 本研究に供された酵母は, 海洋細菌を対象として考案された ZOBELL 2216-E 培地を分離培地として海水を培養し, 分離し得た多数の海洋由来の分離菌株中からたまたま検出され得たものであり, もとより海洋酵母を対象とする場合にはさらに適当なる培地を使用する必要があることはもちろんである。今後適当な培地を考案し, さらに多くの菌株を分離し研究を継続するつもりである。

要 約

北洋およびその他の清浄海域で採取した 801 件の海水から 144 株の酵母を検出し, これらについて分類学的検索を行なうとともに二, 三の性状について非海洋株との比較試験を試みた。その結果はつぎのごとくである。

1. 海水からの酵母の検出率は想像以上に高率で平均 14.4% を示した (Table 1)。
2. 分離菌 144 株は *Rhodotorula*, *Torulopsis*, *Cryptococcus*, *Saccharomyces*, *Sporoboromyces* および *Candida* の 6 属に分類された (Table 6)。
3. genus *Rhodotorula* に属するものは 144 株中の 111 株で分離菌の大部分を占め, これらはさらに 4 species および species の同定できない *R. sp.* (4 株) に分類され, 同様に genus *Torulopsis* は 4 species, *Cryptococcus* 2 species, *Saccharomyces* および *Sporoboromyces* 各 1 species, *Candida* は, 1 species と *C. solani* 類似の菌株 (1 株) に分類された (Table 6)。
4. 各 species 中とくに検出率の高いのは *R. mucilaginosa* および *R. glutinis* (*R. glutinis* var. *rubescens* を含む) であり, 南方海域では北方海域に比し, *R. glutinis* の検出率が高くかつ *Torulopsis* は検出されなかった (Table 6)。
5. 酵母の検出率は水面, 水深 10~50 m, 150 m 前後, 750 m の水層において高く, その中間層および 1000 m 以上において低い。このことは諸家の海洋細菌の菌数垂直分布の成績に一致する。しかし菌種と水深との間には特異的関係は認められなかった (Table 7)。
6. 海水由来酵母と教室保存酵母の発育におよぼす食塩濃度, pH および温度などの影響について比較試験を試みた結果, 海水由来酵母は対照株に比し, 高濃度の食塩に抵抗し, 低い pH 値 (2) に対し発育阻害度が大きく, また高温度 (37°C) で発育が阻害される傾向を認めた (Table 9)。

本研究を行なうに当り終始懇切なる指導と校閲を賜わった坂井稔教授ならびに検体採取に際し種々協力を頂いた木村喬久助手に深甚なる謝意を表し, また本研究中において, 種々適切な助言を賜わった北海道大学農学部佐々木西二教授ならびに吉田忠助手に厚く御礼を申し上げる。なお, 本研究の一部は文部省科学研究費によった。ここに附記して謝意を表する。

文 献

- 1) FELL, J. W., AHEARN, D. G., MEYERS, S. P., and ROTH, F. J., JR.: *Limnol. Oceanog.* 5 (4), 366 (1960).
- 2) DONALD G. AHEARN, FRANK J. ROTH, JR., and SAMUEL P. MEYERS: *Can. J. Microbiol.* 8,

- 1217(1961).
- 3) LODDER, J. and KERGER-VAN RIJ, N. J. W.: *The yeasts. A taxonomic study*. North Holland Publishing Co., Amsterdam, Holland. 1952.
 - 4) MORITA, R. and ZOBELL, C. E: *Deep-Sea Res.* **3**, 66 (1955).
 - 5) CLAUDE E. ZOBELL: *J. Mar. Res.* **4**, 173 (1941).
 - 6) 佐々木西二・吉田 忠: 北海道大学農学部邦文紀要. **3**, (2), 151 (1959).
 - 7) —————: —————. **3**, (2), 163 (1959).
 - 8) *Data Res. Oceanogr. Obs. Expl. Fish* (Hokkaido Univ.), **5**, 117 (1961).
 - 9) A. E. KRISS: *Deep-Sea. Res.* **6**, 88 (1960).
 - 10) ———, M. N. LEBEDEVA and I. N. MITZKEVICH: ——— **6**, 173 (1960).
 - 11) ———, S. S. ABYZOV and I. N. MITZKEVICH: ——— **6**, 335 (1960).
 - 12) V. CVIČ: *Izvješća-Reports.* **4**, 1 (1955).
 - 13) 坂井 稔・木村喬久・信濃晴雄: 日本水産学会秋季大会報告 (1959).