

水産発酵食品の酵母に関する研究：（第5報）無胞子酵母菌の形態学的特徴に就て

銭谷，武平
九州大学農学部水産学教室

<https://doi.org/10.15017/21335>

出版情報：九州大学農学部学藝雑誌. 14 (4), pp. 589-594, 1954-09. 九州大学農学部
バージョン：
権利関係：



水産醱酵食品の酵母に関する研究

(第5報) 無孢子酵母菌の形態学的特徴に就て

銭 谷 武 平

Yeasts occurring in fishery-fermentation products Part 5. On the morphological characteristics of asporogenous yeasts

Buhei Zenitani

緒 言

先に真正酵母菌の種類に就て報告¹⁾したが、本報では無孢子酵母菌の形態学的特徴に就て述べる。従来、農産醱酵食品から分離された無孢子酵母菌は *Torula*, *Monilia* (醬油醱),²⁾ *Torulopsis*, *Pseudomycoderma*, *Pseudomonilia* (味噌),³⁾ *Mycoderma*,³⁾ *Candida*, *Brettanomyces* 及び *Kloeckera* (*Pickles*)⁴⁾ の諸属で、水産醱酵食品からはすべて *Torula* 属⁵⁾ であつた。然し分類法の進歩により種・属の改廃が多く、前記酵母の中には整理・統合すべきものもあると考えられる。

無孢子酵母の *Pseudomycel*, *Blastospore* 及び *Arthrospore* 形成等の無性増殖の特徴は分類上極めて重要な意義があるにも拘わらず既往の報告のうちにはこれらの形成試験を欠くか或は記載が不十分で比較同定できぬものがあるので、それ等の形成試験に重点を置いて研究した。その結果、大多數の菌株が仮菌糸および胞子器を形成し、無孢子酵母の *Candida* 属に該当することを確かめ水産醱酵食品中の酵母は菌相上、他の醱酵食品とは異なる著しい特異性をもつことを明らかにした。

実 験 の 部

1) 供試菌株 (無孢子酵母の認定)

供試酵母が無孢子酵母であると決定することは極めて困難な問題であるが、既報¹⁾の13種の試験法により Lodder⁷⁾の如く5週間後に形成しないものを無孢子酵母とした。然し細胞内容等の状態変化から胞子形成が予想される場合は適宜に試験期間を延長した。かくして胞子を生産しない *D*₁, *O*₂, *K*₁, *M*_{1,2}, *N*₂ 及び *S*_{1,2} の8菌株を無孢子酵母と認定した。

2) 無孢子酵母の無性増殖の特徴

供試酵母はすべて出芽増殖し、更にその特徴である仮菌糸や胞子器などの形成能否を決

定するために普通の Talice 法を採用した。然しこの試験法の上に依存し得ないことを確かめたので種々の試験方法に就て検討した。

試験方法：一 従来、仮菌絲形成の試験培養基として馬鈴薯汁、玉蜀黍粉寒天、葡萄糖ペプトン寒天、米糠汁寒天、加糖馬鈴薯寒天、人糞寒天及び特殊培養基として小林氏⁹⁾のニコチン培養基が報告されている。著者は試験方法として 1) 馬鈴薯汁 (Talice 法: Lodder⁷⁾ により調製し 1 週間培養し仮菌絲を形成せぬ時は 2 回反復試験する), 2) 玉蜀黍粉寒天 (Benham 法: Martin¹⁰⁾ により平板培養した), 3) 葡萄糖ペプトン寒天⁷⁾: 接着培養, 30°C, 4) 米糠汁寒天¹¹⁾, 5) 加糖馬鈴薯寒天並びに人糞寒天 (Diddens & Lodder 法)¹²⁾ に穿刺培養した。

Table 1. Summarized results of the tests of pseudomycelium- and blastospore-formation.

Strain	PM.	BS.	AS.	Methods	Note
D ₁ ...	+	+	-	Adhesion culture with Lodder medium.	BS are small, usually oval or ellipsoid. Chlamydospore rare. See figure and photograph.
	+	+	-	Corn meal agar.	
K ₁ ...	+	+	-	Wort or Gorodkowa agar.	PM are observed in both media. BS are oval or ellipsoid or of some other forms.
	+	+	-		
M ₃ ...	+	+	-	Adhesion culture with Lodder medium.	No difference between the cells of pseudomycelium and blastospore. "Mycotoruloides type" in mature mycelia.
	+	+	-	Rice bran agar stab culture.	
	+	+	-	Corn meal agar.	Generally "Mycocandida type," and the chain of oval cells frequently observed.
	+	+	-	Carrot agar stab culture.	
	+	+	-	Potato agar stab culture.	
N ₂ ...	+	+	-	Ad. culture with Lodder medium.	"Mycocandida type" in mature mycelia. "Mycocandida-Mycotoruloides type." The development of PM not abundant.
	+	+	-	Rice bran agar stab culture.	
	+	+	-	Carrot agar stab culture.	
	+	+	-	Potato agar stab culture.	
	+	-?	-	Corn meal agar.	
S ₁ ...	(+)	-?	-	Glucose-peptone agar.	
S ₅ ...	+	+	-	Ad. culture with Lodder medium.	"Blastodendrion type."
	+	±	-	Rice bran agar stab culture.	
	+	-?	-	Corn meal agar.	

Note: PM...pseudomycelium, BS...blastospore, AS...arthrospore. Ad. culture...adhesion culture.

Lodder medium consists of 2% glucose, 1% peptone and 2% agar.

試験結果及び観察事項：一結果の概要は Table 1 に表示した。即ち、1) 法では殆ど仮菌糸形成が認められず、2) 法でも若干の菌株が不十分な発育をしたにすぎず、3) 法では多数の菌株に仮菌糸又は *Blastospore* の形成を認めた。然し接着培養では同一株でも寒天膜の厚薄、接種量の多少により発育形態が著しく違い(例えば D_1)、分類学的見地から仮菌糸に着生する *Blastospore* の配置状態を確めるには常に同様な形態の特徴を示し難い。4) 法は何れの方法よりも仮菌糸形成が容易に行われ、簡易にして略々同一条件を保持し易く分類上の有効な試験方法であると思う。Diddens & Lodder 法と比較検討したが、米糠汁寒天を用いる穿刺法は前者に比し遜色のないことが確められた。次に数例を Figure 1 と 2 に図示した。

M_2 は 3) と 4) 法で全く発育状況を異にし、接着培養では孢子器に相当する細胞が仮菌糸細胞間に輪生又は群生し仮菌糸細胞と区別し難いが、4) 法では "*Mycotoruloides*" 型の配列を示した。又 S_5 は特有の細胞が "*Blastodendron*" 型の状態を示した。特に D_1 は *Chlamydospore* と考えられる厚膜細胞を形成したが、*Chlamydospore* は Lodder & van Rij の検索⁸⁾ によつても稀に *Candida albicans* のみが形成するものである。

3) 増殖細胞の形態とその大きさ

試験方法：一常法に従い新鮮培養から麦芽汁 (15° Bllg.) に接種し 25°C に於て 6 日間培養しその沈澱酵母に就て観察した。なお Sabouraud 寒天に就ても同様に観察した。

Table 2. Vegetative cell of asporogenous yeasts.

Strain	Form	Size (μ)			Note
		Round	Oval or ellipsoid	Elongate	
D_1	Generally ellipsoid, some round or elongate.	3.2~4.0	2.4~3.2 × 4.0~5.6	2.0~3.2 × 6.4~9.6	Homogeneous, one vacuole and one dancing body.
K_1	Generally oval or long pseudomycelial cells.		2 × 3	2.0~2.5 × 11.0~16.0	Pseudomycelia are formed.
M_1	Predominantly ellipsoid.		3.2~4.0 × 4.0~4.8		Budding chains abundant. Homogeneous, one vacuole.
M_2	Predominantly ellipsoid, some round.	4.8~5.4	4.0~4.8 × 4.8~5.6		Homogeneous and clear.
N_2	Ditto.	4.8~5.4	3.2~4.8 × 4.8~6.4		Homogeneous or one oily drop.
O_2	Predominantly oval, some round.	3.2~4.0	3.2~4.8 × 4.0~5.6		Budding chains and one dancing body.
S_1	Generally round, some of other forms.	4.0~5.5			Some cells having wart at both terminals, one oily drop.
S_5	Ellipsoid, cucumber-shaped, and of other forms.		2.4~3.2 × 3.2~5.6	1.6~2.4 × 11~16	Polymorphous, pseudomycelia are formed.

Wort-culture (15° Bllg.) six days at 25°C.

試験結果：—麦芽汁培養の試験結果のみを Table 2 に表示した。

一般に塩辛中の他の真正酵母にくらべて種々の形態を示し大きさも比較的小さい。麦芽汁培養中に既に仮菌絲様の発育をした細胞が認められる菌株もあり、特に S_4 では特異な円錐状の細胞も認められた。又 Sabouraud 寒天培では O_2 は巾広き出芽部をもち *Pityrosporum* 属の如きフラスコ状の細胞を認め、 S_1 は表面に突起をもつレモン状又は金米糖類似の細胞も観察されたことは興味ある事実と思う。

考 察 並 に 総 括

上記の形態学的特徴を基にして、Lodder & van Rij の分類法⁹⁾ により同定すれば *Cryptococcaceae* 科の *Cryptococcoideae* 亜科に入る。仮菌絲、Blastospore を形成し Arthrospore を形成せず *Candida* 属に所属する。但し M_1 と O_2 は共にそれ等を形成せず *Torulopsis* 属に該当する。仮菌絲は単に普通の Talice 法では形成せず *Torulopsis* 属等に編入される恐れがあるから無性増殖の特徴は種々の方法に就て検討すべきである。各種試験法の内、富安・著者の米糠汁寒天穿刺法は仮菌絲形成試験法として Didens & Lodder 法 (Lodder & van Rij 法も同様) に劣らぬ方法であることが確められた。なお水産醗酵食品中の無孢子酵母の殆んどすべてが *Candida* 属 (M_1 と O_2 は *Torulopsis* 属であるが、後報で述べる如く *Debaryomyces* 属の imperfect form と見做される) であることは他の醗酵食品とは異なる菌相上の著しい特徴であると思う。

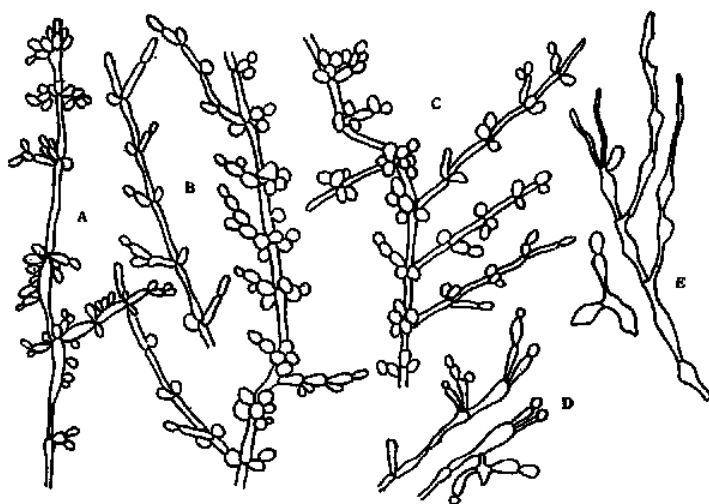
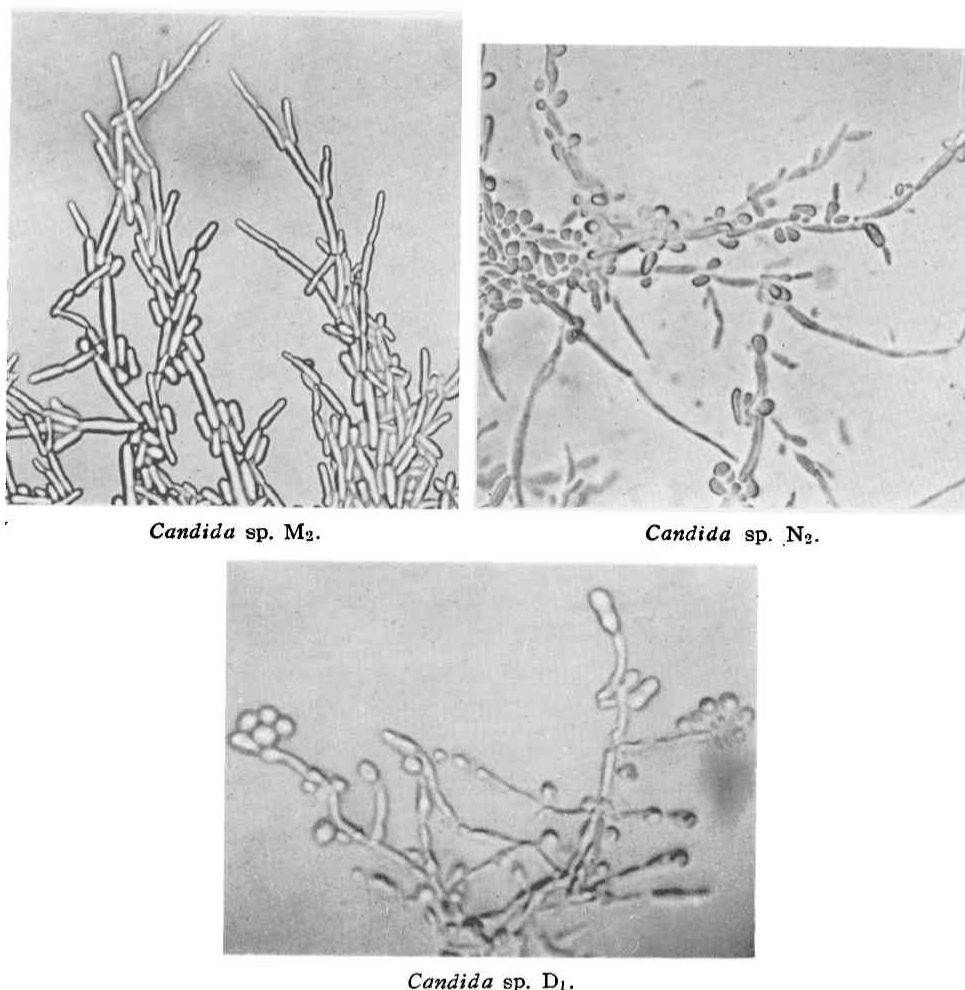


Figure 1. Characteristics of the vegetative reproduction, showing the various types of pseudomycelia- and blastospores-formation.

A...*Candida* sp. D₁...adhesion culture with Lodder's medium,
B...*C. sp. M₂* and C...*C. sp. N₂* stab culture in rice bran agar,
D...*C. sp. S₅* adhesion culture with Lodder's medium and E...
C. sp. S₅ stab culture in rice bran agar.



Candida sp. M₂.

Candida sp. N₂.

Candida sp. D₁.

Figure 2. *Candida* sp. M₂, N₂ and D₁, showing appearance of pseudomycelia as seen in an adhesion culture with Lodder's peptone-glucose agar.

本研究は九大農学部水産化学教室で実施したものであつて、終始懇篤な御指導を賜つた富安教授に深謝の意を表する。なお文部省科学研究費（富安教授）によつた。

参 考 文 献

- 1) 錢谷武平：九大農・学芸雑誌，**14**，301（1953）。
- 2) 茂木正利：農学，**3**，92（1949）。
- 3) Mrak, E. M. and Bonar, L.: Zentral. Bakt., II, **100**, 289 (1939).
- 4) Etchells, J. L. and Bell, T. A.: Food Tech., **4**, 77 (1950), Farlowia, **4**, 87 (1950).
- 5) 喜多源逸：工化，**15**，151（1911），木村・小谷：水講報告，**22**，292（1927）。

- 6) 錢谷武平：九大農・学芸雑誌, 12, 247 (1952).
- 7) Lodder, J.: Die anascosporogenen Hefen, 1 Hälfte (1934).
- 8) Lodder, J. and N. J. W. K. van Rij: The Yeasts, a taxonomic study (1952).
- 9) 小林達吉：昭和 24 年度科研費による研究集録, 農学編, p. 91 (1950).
- 10) Martin, D. S. *et al.*: J. Bact., 34, 99 (1937).
- 11) 宮安・錢谷：農化, 25, 406 (1952).
- 12) Diddens, H. A. und Lodder, J.: Die anascosporogenen Hefen, Zweite Hälfte (1942).

Résumé

In this paper, observations on the morphological properties of eight asporogenous yeasts, the characteristics of the vegetative reproduction, and the shape or the size of the vegetative cells are described.

The pseudomycelia were not produced in 1) potato juice, and their formation was not sufficient on 2) corn meal agar plate. They were formed considerably by 3) adhesion culture with glucose-peptone agar medium. However, from the taxonomic viewpoint, method 3) seems to be unsuitable, because the growth form varies remarkably with the thickness of agar medium and the amount of inoculation. Stab culture methods in 4) rice bran extract agar or 5) potato agar and carrot agar gave good results. The author considers method 4) especially suitable as the routine diagnostic test of pseudomycelium formation. The results of these tests are summarized in Table 1, and the various types of pseudomycelium are indicated in Figure 1 and 2. The shape and the size of vegetative cells of asporogenous yeasts tested are shown in Table 2.

Since almost all of the asporogenous yeasts of "Shiokara" belong to *Candida*, a yeast flora of it must be considered to be different from those of the other fermentation products.