

海洋酵母に関する研究II : *Thalassiosira subtilis* (海産の硅藻) の腐敗中に出現する酵母

末広, 澄夫
九州大学農学部

<https://doi.org/10.15017/21609>

出版情報 : 九州大学農学部学藝雑誌. 20 (1), pp.101-105, 1962-10. 九州大学農学部
バージョン :
権利関係 :



海洋酵母に関する研究 II

Thalassiosira subtilis (海産の硅藻) の
腐敗中に出現する酵母

末 広 澄 夫

Studies on the marine yeasts II
Yeasts isolated from *Thalassiosira subtilis*
(marine Diatom) decayed in flasks

Sumio Suehiro

緒 言

既に報告したように,¹⁾ ある種の海藻を腐敗させると、その腐敗中に多数の酵母の増殖が見られる。そこでプランクトン、殊に植物プランクトンを腐敗させれば、同様に酵母が検出されるだろうと思い、いろいろ試みたが酵母が増殖することは稀であつた。

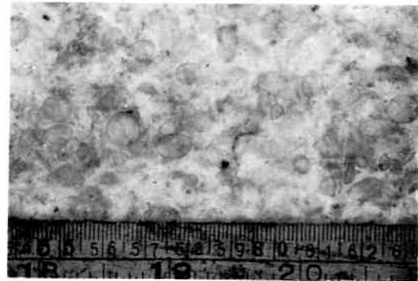
1959年12月上旬から翌60年3月中旬にかけて、福岡県津屋崎の沿岸では *Thalassiosira subtilis* が異常に発生した。即ち、この生物の最盛期(2~3月上旬)には、径1mの稚魚採集用ネットを1ノットの速力で5分間曳くと、ほとんど *T. subtilis* のコロニー (Fig. 1, 後述) のみを5l以上も採集し得る程であつた。このコロニーをフラスコの中に放置したところ、数日後には常に多数の酵母が検出されたので、その際の酵母数、細菌数の増減及び分離した酵母を同定した結果等について述べる。

実 験

1. *Thalassiosira subtilis* の形態及び生態

T. subtilis は Centrales (同心目), Discineae (盤状亜目) 中の *Thalassiosira* 属に属する植物プランクトンである。細胞は厚い円盤状で直径 16~22 μ の大きさを有し、膠質塊中に埋入している。²⁾ 津屋崎の沿岸では例年12月初めから見られるが、1月の半ば頃まではコロニーを形成しない。その頃から Fig. 1 に見られるような、直径5~10mmのやや緑がかった黄褐色の球形のコロニーを形成し始め、3月の終りから4月の

始めにかけて凋落し始めてコロニーはくずれる。コロニーの内容物は大部分が膠質状の物質であるが、外側の膜は強じんで、そのためにコロニーを乳鉢ですりつぶすのに、かなりの困難を感じる程である。

Fig. 1. Colonies of *T. subtilis*.

2. 実験方法

採集地点は Fig. 2 に示す場所、陸地から約 2 km 離れた所である。なお、津屋崎付近には大きな河川がなく、従つてこの近海は陸水の影響が少ない。

プランクトンネットに陸生の酵母が付着していることを考えて、プランクトンを採集する前に、採集地点でネットの底にあるバケットの口を開いて、4~5ノットで5分間曳いてネットを十分に洗つたのち、直ちにバケットの口を閉じて水面下約 10 m の所を、1ノットで5分間曳いて採集した。採集物はネットから直接、殺菌綿栓フラスコに移して実験室に持ち帰り 20°C に放置した。その日から毎日フラスコ中の酵母数、細菌数を平板培養法によつて測定した。酵母数測定用の培地としては、モルトエキス (Difco) 3% 海水溶液に 1.5% の寒天を加えたもの (pH 6.8) を使用した。平板

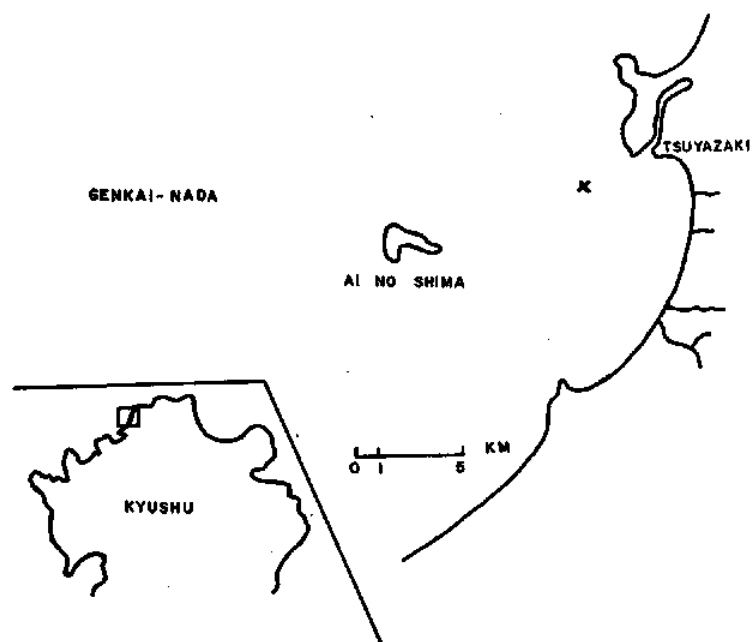


Fig. 2. Map of the part of Genkai-nada, Fukuoka, with collection station.

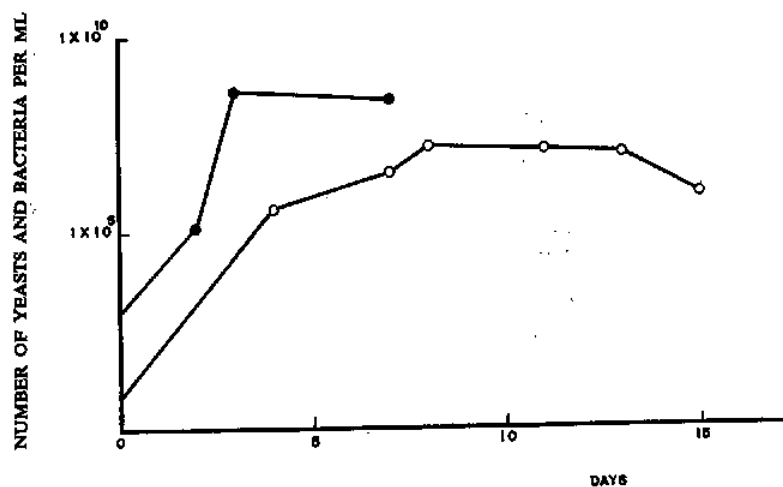


Fig. 3. Number of yeasts and bacteria developing in *T. subtilis* stored at 20°C.

—●—: bacteria, —○—: yeasts

培養の際に、細菌の増殖を抑えるために予めシャーレーにクロールテトラサイクリンを 50 p.p.m. 添加した。細菌数測定用の培地としては、ポリペプトン（大五栄養化学製）0.5% 海水溶液に 1.5% の寒天を加え、pH を 7.5 に調整したものを使用した。集落の計数は接種後 20°C で 7 日間培養した後に行なつた。又その際に現われた異種の酵母の集落を釣菌して斜面培地に移し

たのちに、小滴培養法によつて純離して各種の培養試験に供した。

3. 結 果

Fig. 3 で見られるように酵母数は採集後 10 日で最大となり、その数は $1.7 \sim 1.8 \times 10^7$ /ml であつた。一方、細菌数は 4 日後に最大となりその数は $2 \sim 3 \times 10^6$ /ml

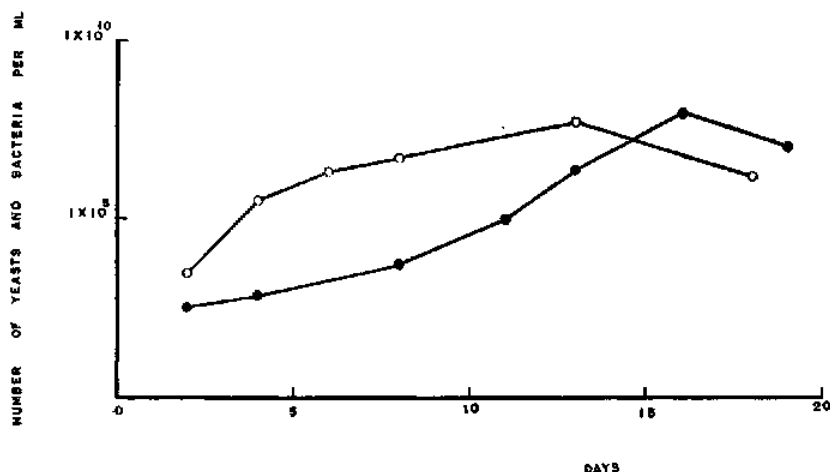


Fig. 4. Number of yeasts and bacteria developing in *T. subtilis* which was stored at 5°C and then transferred to 20°C. The number was counted after transferred to 20°C.

—●—: bacteria, —○—: yeasts

であつた。採集後約 10 日間は腐敗臭は全くなく、磯の香のような匂いであつたが、約 2 週間後から腐敗臭が感じられるようになり、それ以後はますます悪臭が激しくなつた。

上記の実験に供した採集物の一部を、先ず 5°C に 1 週間放置した後に、20°C に移してから細菌数、酵母数の測定をした結果を Fig. 4 に示してある。この図に示してある菌数は、採集物を 20°C に移した日から測定したものである。これが Fig. 3 に示してある実験結果と異なる点は、最初の 13 日間は酵母数が細菌数よりも多いことである。これは細菌の方が酵母よりも温度の変化に対する感受性が強いために、低温に放置中に大部分の細菌が死滅したり、活力が衰えたりしたためであろう。³⁾⁴⁾

酵母数は採集後 (Fig. 3) あるいは 20°C に移してから (Fig. 4) 約 2 週間後からかなり急激に減少したが、それは下記の 2 原因によるものと考えられる。先ず第 1 の原因は酵母数が減少し始めた時期と、腐敗臭が生じ始めた時期とが一致することから、細菌の代謝生産物のために酵母が死滅したのではないかということである。勿論、細菌数は 4 日後には最大となり (Fig. 3) その代謝生産物はその時にはかなりの濃度になっている筈である。しかし、上に述べたようにその時期には腐敗臭は全くなく、従つてその時の生産物は酵母の増殖を抑制する作用はなく、2 週間以後の腐敗臭を放つそれとは異質のものと考えられる。腐敗臭

を放つ生産物は、初期の生産物を作つた細菌とは別種のものによつて作られたものか、又は始めの生産物に変化して生じたものかは不明である。海藻の腐敗中に酵母が検出される場合には腐敗臭はなく、海藻が腐敗臭を放つような場合には酵母は全く見られなかつたが、これも上記と同様の理由によるものと考えられる。酵母数が減少した第 2 の原因として考えられることは、酵母が同時に発生した原生動物の餌料となつたのではないかということである。著者は、原生動物の中には、酵母のみを餌料として増殖し得るものがあることを知つた。⁵⁾ その際、原生動物の増殖量が極大値に達するのは、その種類にもよるが、接種後およそ 7 日から 12 日であつた。従つてこの場合も、原生動物の少ない頃はその食害の影響は小さくて、その数の大きくなつた 10 日以後あたりから、その影響が大きく現われて来たものと考えられる。

なお、4 月以降においても引き続き *T. subtilis* の採集を行なつたが、既にその頃から急激に凋落が始まり、代つてウミタルの 1 種 *Doliolum* sp. を主とする動物プランクトン群が卓越して来た。これらを採集してフラスコの中に放置すると、1~2 日後にはすでに腐敗臭は激しくなり、酵母は 2 日後に 1,000~3,000/ml 検出されたが、以後その数は減り 5 日後には酵母は全く見られなくなつた。これも上記の理由によるものであろう。しかし海洋中では *T. subtilis* の分解中に酵母が増殖し得るものと思われる。何故ならば、この生物が未だ凋落を始めず、コロニーが完全な状態であ

る 2~3 月上旬に採集して、直ちにそれに付着している酵母数を測定したところ、その数は 0~10/ml であつたのに対して、4 月以降この生物が凋落を始め、くづれたコロニーが多く採集されるようになると、その酵母数は 50~200/ml であつたからである。なお、この事実から酵母は生きている *T. subtilis* を分解するものではなくて、枯死して分解を始めたものから栄養を得ているものと推定される。

Fig. 3 について細菌数、酵母数のそれぞれ極大値を比較すると、前者は後者の約 20 倍となるが、菌体量ではどうであろうか。ここで仮りに酵母を半径 2 μ の球、細菌を 0.5 μ の球とすると、その体積（比重を同じとすれば菌重量）からいえば酵母は細菌の 64 倍となる。この関係を上の菌数と結び合わせて考えると、

T. subtilis の分解中に現われる酵母の菌体量は、細菌のその 3 倍以上になるわけであつて、この生物の分解における酵母の役割は極めて大きいものだと言えよう。

4. 分離した酵母の同定

Fig. 3, 4 の実験で 16 株の酵母を分離した。それらはすべて子囊胞子を生ぜず無胞子酵母に属している。それらを Lodder et Kreger-van Rij⁶⁾ に拠つて同定した結果を Table 1 に示してある。

Table 1. Yeasts collected from *T. subtilis* decayed in flasks.

Taxon	Number of isolates
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	1
<i>Candida parapsilosis</i> var. <i>intermedia</i> ...	6
<i>C. lipolitica</i>	3
<i>Cryptococcus laurentii</i>	3
<i>Torulopsis inconspicua</i>	3

これらの酵母は一樣に現われるのではなくて、採集

後 3~5 日までは *Rhodotorula mucilaginosa*, *Cryptococcus laurentii* 等が大部分を占め、7 日以後には *Candida parapsilosis* var. *intermedia*, *C. lipolitica*, *Torulopsis inconspicua* 等が大部分を占めた。

終りに終始懇篤な御指導、御校閲を賜つた恩師宮安教授に謹んで深謝の意を表する。また本研究を行なうに当つて、有益な御助言を頂いた田中教授に謹んで深謝の意を表する。

要 約

1) *Thalassiosira subtilis* を 20°C に放置すると、10 日後には $1.7 \sim 1.8 \times 10^7$ /ml の酵母が出現した。同時に培養した細菌は 4 日後にはその数は最大となり、 $2 \sim 3 \times 10^8$ /ml の細菌が検出された。

2) *T. subtilis* を採集して、5°C に 7 日間放置した後に 20°C に移して分解させると、その後約 12 日間は酵母数が細菌数よりも多かつた。

3) *T. subtilis* が凋落して動物プラクトンが多くなつた時のプラクトン採集物を腐敗させても、上記のような大量の酵母の増殖は見られなかつた。しかし海洋中ではこの生物の分解中に、かなりの量の酵母が増殖しているものと考えられる。

4) *T. subtilis* の腐敗液から 4 属、5 種からなる 16 株の酵母を分離した。

文 献

- 1) 末広澄夫, 1960. 九大農芸誌, 16: 601.
- 2) 小久保清治, 1955. 浮遊性藻類.
- 3) Hess, E., 1934. J. Biol. Bd. Can., 1: 95.
- 4) Kiser, J. S., 1942. Food Res., 7: 255.
- 5) 末広澄夫, 未発表.
- 6) Lodder, J. and N. J. W. Kreger-van Rij, 1952. The yeasts, a taxonomic study.

Résumé

In the sea near Tsuyazaki, a remarkable development of *Thalassiosira subtilis* (marine Diatom, Fig. 1) was observed from November 1959 to March 1960. It was able to collect the organism more than five litres with plankton net (dia. 1 m) at one knot in five minutes. Many yeasts were detected in it after the organism had been stored in a flask at 20°C for several days. Then the present investigation was carried out to find out the population and the species of the yeasts developing in the stored *T. subtilis*.

Collections of the organism were made at the station (Fig. 2). At first at the collection station, the bucket of the plankton net was opened and the net was thoroughly washed with sea water to check the contamination by terrestrial yeasts. Then the bucket was shut and the net was towed at 10 m depth at one knot for five minutes and as soon as the net was brought to the surface, the organism collected were transferred directly to two sterilized cotton-plugged

flasks from the net. The flasks were transported to the laboratory and immediately one of them was stored at 20°C and the other at 5°C. After seven days the latter was transferred to 20°C. Experiment I was made with the former and Experiment II with the latter.

Each flask was sampled at 24 hr intervals during 480 hr storage period. With the former, sampling was begun on the day of collecting, and with the latter, it was begun on the day when the flask was transferred to 20°C. The culture medium for the isolation of yeasts consisted of 3% Malt Extract (Difco) and 1.5% agar, and was prepared with sea water. Before inoculation for the selective isolation of yeasts, the culture medium was treated with chlortetracycline (50 p.p.m.). The medium for bacteria consisted of 0.5% Polypeptone (Wako comp.) and 1.5% agar, and was prepared with sea water, and pH of the medium was adjusted to 7.5. Suitable dilutions were inoculated to those media. Replicate platings were made at each sampling.

The plates were incubated at 20°C for seven days and the colonies of the yeasts were picked to agar slants. Taxonomic procedures used for the yeasts were similar to those of Lodder and Kreger-van Rij.

The results of Experiment I are given in Fig. 3. The number of the yeasts became maximum after seven to ten days and it was $1.7-1.8 \times 10^7$ per ml. The number of the bacteria became maximum after four days and it was $2-3 \times 10^8$ per ml. The results of Experiment II are given in Fig. 4. The number of the yeasts was more than that of the bacteria during 12 days. In both cases, no putrefactive odour was detected during 12 days, but after that the putrefactive odour became detectable.

Sixteen cultures of yeasts were isolated in both experiments. Their taxonomic positions are given in Table 1. *Rhodotorula* and *Cryptococcus* were dominantly detected during the first two days. But after seven days *Candida lipolitica*, *C. parapsilosis* var. *intermedia* and *Torulopsis inconspicua* predominated.

In April, *Thalassiosira subtilis* rapidly decayed and *Doliolum* sp. developed dominantly. Samples collected in that time were stored and tested on the development of yeasts. The yeasts were observed to be 1,000-3,000 per ml after two days and after five days no yeasts were detected. And putrefactive odour was remarkable after two days. The growth of the yeasts appeared to be checked by the metabolic products of bacteria that emitted the putrefactive odour. But since in the sea there is not sufficient amount of the products to prevent the growth of the yeasts, they may grow in decaying *T. subtilis*, as is shown by the fact that in February and March, the number of yeasts, detected in the organism on the day of collecting, was 0-10 per ml, but in April, when the organism begins to decay, the number was 50-200 per ml. As a result, it can be said that the yeasts do not decompose the living organism but grow in the decaying organism.