

海洋酵母に関する研究III : 干潟の酵母

末広, 澄夫
九州大学農学部

<https://doi.org/10.15017/21621>

出版情報 : 九州大学農学部学芸雑誌. 20 (2), pp.223-227, 1963-01. 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 III

干潟の酵母

末 広 澄 夫

Studies on the marine yeasts III
Yeasts isolated from the mud of tideland

Sumio Suehiro

海藻¹⁾ プランクトン²⁾等に付着している酵母については既報した。本報では干潟から酵母の分離を試み、併せて干潟の泥による酵母の吸着について調べた結果等について記載する。

実 験

I. 酵母の分離

採集地点は福岡市今津の瑞梅寺川の河口の干潟にある。

干潟の泥約 1g を秤量した 殺菌綿栓試験管に取り、実験室に持ち帰って秤量した後に、殺菌海水を 5 ml 加えてよく振盪し、その懸濁液中の酵母を平板培養法によつて分離し、菌数を測定した。培地としては 3% 含塩麦芽汁寒天 (10° Bllg.) を使用し、平板培養の際に細菌の増殖を抑えるため、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。干潟の泥 1g 中に存在する酵母数は Table 1 に示すようであった。この表から判るように、泥の種類によつて酵母数にはかなりの差が認められた。有機物の少ない砂質土に酵母が少ないのは当然である。また、泥の表面からのみならず、表面から 10 cm の深さの所からも酵母が検出された。泥の表面の酵母の中には陸地から飛来したものもあるが、少なくとも泥の中のものはそこに土着のものと考えてよいであろう。同一の泥についても菌数の幅がかなり大きい、これは時を変えて数回分離を行なつた結果をまとめたもので、時期によつて泥中の酵母数はかなり変化するものと思われる。泥から分離した酵母は、整理した結果 16 株となつた。それらを Lodder et Kreger-van Rij³⁾ に拠り同定した結果を Table 2 に示す。

II. 干潟の泥による酵母の吸着

干潟の酵母は、その多くは泥に吸着されて存在しているものと思われる。しかし海泥による細菌の吸着については報告されているが^{4,5)} 酵母についての報告は見当たらないので、吸着率及び吸着率に影響を及ぼす各種の要因について調べた。

1. 実験方法

酵母の懸濁液を濾紙 (東洋濾紙 No. 2) で濾過して菌のかたまりを除き、2 個のフラスコに分注して、一方のフラスコにはよく乾燥させた泥を加えて、両者を 1 分間振盪してから 30 分間放置した。両者の上澄液中の酵母数を平板培養法によつて求めた。その際の吸着率を下記のようにして求めた。

$$\text{ここで} \quad \text{吸着率} = 1 - \frac{Y'}{Y}$$

Y' : 泥を加えたフラスコ中の酵母数

Y : 泥を加えないフラスコ中の酵母数

供試菌として下記の 5 株を使用した。 *Saccharomyces cerevisiae*, *Hansenula anomala*, *Candida brumptii*, *Trichosporon cutaneum*, *Geotrichum candidum* これらはすべて干潟から分離した菌である。供試した泥は干潟及び海底から採集したもので、その粒子組成は Table 3 に示すようなものであつた。

2. 吸着率に影響を及ぼす因子

a. 吸着剤 (泥) の粒子組成と量

先ず泥の量が吸着率に及ぼす影響を調べた。No. 2 以下は粒子が大きくて見かけ上よく似ていた No. 2 をその代表として、No. 1 と共に *C. brumptii* を使用して泥の量を変えて実験を行なつた。その結果を Table 4 に示してある。

Table 1. Number of yeasts detected in 1 g of the mud of tideland.

Samples	Black mud	Under 1 cm from surface of the black mud	Sandy mud	Under 2 cm from surface of the sandy mud	Under 10 cm from surface of the sandy mud
Number of yeasts	100-2,000	50-600	20-500	0-150	0-30

Table 2. Yeasts collected from the mud of tideland.

Taxon	Strain
<i>Saccharomyces exiguus</i>	Strain No. 1
<i>S. cerevisiae</i>	Strain No. 14
<i>S. delbrueckii</i>	Strain No. 16
<i>Hansenula anomala</i>	Strain No. 10
<i>Candida mycoderma</i>	Strain No. 17
<i>C. intermedia</i>	Strain No. 7
<i>C. tropicalis</i>	Strain No. 31
<i>C. guilliermondii</i>	Strain No. 34
<i>C. brumptii</i>	Strain No. 2
<i>Trichosporon cutaneum</i>	Strain No. 32
<i>Tr. pullulans</i>	Strain No. 22
<i>Kloeckera apiculata</i>	Strain No. 30
<i>Cryptococcus laurentii</i>	Strain No. 35
<i>Rhodotorula muciliginosa</i>	Strain No. 36, 38
<i>Geotrichum candidum</i>	Strain No. 4

Table 3. Particle constitution of marine tested muds.

Mud	Dia. of particle of the mud. (mm)	2.0-1.0	1.0-0.5	0.5-0.25	<0.25
Mud of tideland (No. 1)		0 %	1 %	17 %	82 %
Sandy mud of marine bottom (No. 2)		2	13	35	50
Sandy mud of tideland (No. 3)		1	5	33	61
Sand (No. 4)		1	43	41	15

Table 4. Effect of the amount of mud on adsorption.

Amount of mud (g)	0.2	0.5	1.0	2.0	4.0
Mud					
No. 1	86.4 %	99.0 %	99.5 %	99.5 %	— %
No. 2	—	4.0	10.0	31.3	40.0

Table 5. Adsorption rate of yeasts by marine muds.

Yeast	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4
Mud				
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	99.5 %	40-70 %	60-90 %	0 %
<i>Hansenula anomala</i>	99.5	50-60	70-90	0
<i>Trichosporon cutaneum</i>	99.5	70-95	80-98	0
<i>Candida brumptii</i>	99.5	20-35	30-40	0
<i>Geotrichum candidum</i>	99.5	75-95	80-99.5	0

これによると泥の量が多いほど吸着率は高くなった。また、粒子の小さい No. 1 では 10 ml の酵母懸濁液に 1 g 加えればその吸着率は最大となったが、粒子の大きい No. 2 では 4 g も加えて漸く最大となった。そこで次には No. 1 は 1 g, No. 2 以下は 4 g を

それぞれ用いて各供試菌の懸濁液 10 ml に加えて吸着率を求め、Table 5 に示すような結果を得た。

この表から判るように細胞の大きい *G. candidum*, *Tr. cutaneum* はよく吸着され、それよりも細胞の小さい *H. anomala*, *S. cerevisiae* は少しく劣り、細胞の

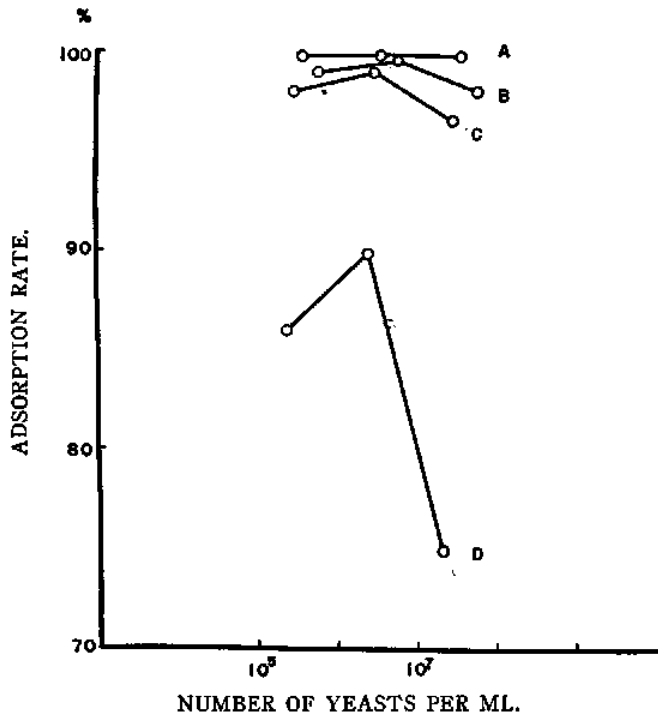


Fig. 1. Relationship among adsorption, number of yeasts and amount of mud.

A: 1g of tested mud in 10 ml of yeast suspension.

B: 0.5 g/10 ml, C: 0.2 g/10 ml, D: 0.1 g/10 ml.

最も小さい *C. brumptii* は No. 2 以下では吸着率は非常に低下した。

b. 懸濁液の菌濃度

上記の吸着率は懸濁液の菌濃度を変えて数回行なった実験結果をまとめたもので、吸着率のパラッキは恐らく菌濃度の差によるものと考え、No. 1 と *C. brumptii* とを組合せて泥の量、菌濃度を変えて吸着率に及ぼす影響を調べた。その結果は Fig. 1 に示す通りであった。

これによると酵母数は多すぎても少なすぎても吸着率は低下し、この組合せでは菌濃度が 1 ml 当り数百万の時に吸着率が最大である。

3. 吸着された酵母の生存力

吸着された酵母は、果してどの程度に生存し得るかを調べた。その方法は、殺菌綿栓試験管に殺菌した泥 (No. 1) を入れ、それに酵母の懸濁液を加えてよく振盪して 30 分間放置し、その上澄液を捨て去り、底に水を張ったガラス槽に入れて蓋をして室温に放置した。30 日毎に少量の泥をとり出して麦芽汁 (10^6 Bllg.)

に接種して 20°C 、10 日間培養して菌の生存の有無を調べた。実験期間中の温度範囲は $12\sim 36^{\circ}\text{C}$ であった。供試菌は前記の 5 株を使用した。その結果、各菌株とも 120 日間は生存し得ることが判った。特に *Tr. cutaneum*, *G. candidum* は 180 日以上も生存し得た。

終りに終始懇篤な御指導、御校閲を賜った恩師留安教授に謹んで深謝の意を表する。

要 約

1) 干潟の泥から酵母の分離を試みたところ泥の種類、時期によつて酵母数にかなりの差のあることが認められた。

2) 酵母は泥の表面からのみならず、約 10 cm の深さの所からも検出された。

3) 分離した酵母は整理した結果 8 属 15 種となつた。

4) 泥による酵母の吸着率に影響をあたえるものの

中で、菌に関することでは菌体の大きさと菌濃度であつて、菌体は大きい程よく吸着され、菌濃度は高すぎても低すぎても吸着率は低下した。次に泥に関することでは、泥の粒子組成と泥の量であつて、粒子の小さいほど、そして泥の量が多いほど吸着率は高かつた。

5) 泥に吸着させた供試菌はすべて室温で 120日間 は生存し得た。 *Tr. cutaneum*, *G. candidum* に属する 2 株は 180日以上も生存し得ることが判つた。

文 献

- 1) 末広澄夫, 1960. 九大農芸誌, 16: 601.
- 2) ———, 1963. 九大農芸誌, 20: 101.
- 3) Lodder, J. and N. J. W. Kreger-van Rij, 1952. The yeasts, a taxonomic study.
- 4) Rubentsov, L., M. B. Roisin and F. M. Riel-jansky, 1936. J. Bact., 32: 11.
- 5) Waksman, S. A. and U. Vartiomaara, 1938. Biol. Bull., 74: 56.

Résumé

The present investigation was carried out to find out the population and the species of the yeasts in the mud of tideland, and to measure the adsorption of yeasts by the mud.

Collections of the mud were made at two stations. Mud was put into a sterilized cotton-plugged test tube with a sterilized spoon and the test tube was transported to the laboratory. Then sterilized sea water was poured into the test tube and the test tube was shaken well. The medium for the isolation of yeasts was 10% Balling wort agar containing 3% NaCl. The sea water of the test tube was inoculated to the medium, and before inoculation for the selective isolation of yeasts the medium was treated with chlortetracycline (50 p.p.m.). Replicate platings were made at each sampling. The plates were incubated for seven days and colonies were picked to agar slants. Taxonomic procedures used were similar to those of Lodder and Kreger-van Rij.

The results are given in Table 1, and the taxonomic positions of the isolates are given in Table 2.

Adsorption of yeasts by the mud was measured as follows: Yeast suspension was filtered with filter paper to eliminate the clump of yeast and the filtrate was poured into two flasks. Well dried mud was put into one of them and both flasks were shaken for one minute and stood for 30 min. Then suitable dilutions of the supernatant of the flasks were inoculated to the medium containing chlortetracycline. The plates were incubated at 20°C for five days. Adsorption rate was determined as follows:

$$\text{Adsorption rate} = 1 - \frac{Y'}{Y}$$

Y': Number of yeasts in the flask with mud.

Y: Number of yeasts in the flask without mud.

The cultures tested were *Saccharomyces cerevisiae*, *Hansenula anomala*, *Trichosporon cutaneum*, *Candida brumptii* and *Geotrichum candidum* which had been all isolated from the muds. The particle constitution of the muds tested is given in Table 3.

It was determined how much mud was necessary to get maximal adsorption rate. Tested muds were No. 1 and No. 2, and tested culture was *C. brumptii*. The results are given in Table 4.

The weights of tested muds were 1g (No. 1), 4g (Nos. 2, 3, 4) per 10 ml of yeast suspension, and then their adsorption rates were measured. The results are given in Table 5. The cultures of *G. candidum* and *Tr. cutaneum* were well adsorbed. The adsorption rate of *H. anomala* and *S. cerevisiae* were less than the former and that of *C. brumptii* was the least. It may be due to the size of cells. It seems that adsorption rate varies according to cell concentration of the suspension.

Relationship among amount of mud, cell concentration and adsorption rate was determined. Tested mud and culture were No. 1, *C. brumptii*. The results are given in Fig. 1. The adsorption rate was low when the concentration was too high or too low. When the concentration was several million per ml, the adsorption rate was maximum.

It was determined how many days adsorbed yeasts were able to be alive. The method was

as follows: Two grams of sterilized mud (No. 1) was put into a sterilized cotton-plugged test tube containing 10 ml of yeast suspension and the test tube was shaken for one minute and stood for 30 min. The supernatant was decanted and the test tube was put into water tank containing a little water to prevent the mud from drying. The tank was kept at room temperature (12-36°C). The mud in the test tube was sampled at 30 days intervals during 180 days storage period. It was found that all the tested cultures were able to be alive for 120 days and the cultures of *G. candidum* and *Tr. cutaneum* more than 180 days.