

〔山梨大発研報告 16 35~38 1981〕

ノ ー ト

ワイン酵母のホモタリズムについて

山崎 豊彦・石川 貴・野々村英夫

Homothallism in Wine Yeasts.

TOYOHICO YAMAZAKI, TAKASHI ISHIKAWA, and HIDEO NONOMURA

Depart. of Fermentation Technology, Faculty of Engineering,
Yamanashi University, Kofu 400

Data suggesting the occurrence of homothallism in four of the five wine yeast strains used were described. The tested strains showed a high frequency of four-spored ascus formation (10-30%), except one strain which formed a trace of two-spored asci. Spore clones from the four strains shown a high sporulation rate had a self-sporulation ability. In tetrad analysis of the four strains and their spore cultures, the full tetrads were recovered with a frequency of 83 to 100 percent and their sporulation ability showed 4 Spo⁺:0 Spo⁻ segregation.

近年の微生物遺伝学における技術革新は、醸造微生物の育種改良に大きな影響を与えている。このことはワイン酵母においても例外ではなく、その遺伝学的基礎知識が漸次集積されつつある^{1, 2)}。そこで我々は、研究室保存のワイン酵母16株に関する知見を得る目的で、その分類学的並びに遺伝学的性質につき種々検討中であるが、とりあえずその内の5株 (Table 1) について、いずれも *Saccharomyces* 属酵母であり、内4株がホモタリズム株であることを示唆する結果を得たので報告する。

供試株は、以前に国内外から集められ、ワイン酵母として年一回麦芽寒天斜面に植継がれ、4℃に保存されて来たものである。1965年小原が、ドイツ、ガイゼンハイム研究所から分譲を受けた Champagne eperay 1936-1 以外の株は R I F Y (山梨大学発酵研究所) の整理番号で保存されていたが、その詳細な由来は不明である。また、これら保存株の分類学上の位置は、後藤ら³⁾により *Saccharomyces cerevisiae* に同定された Charente fine champagne (R I F Y 148), Cruess 66 (R I F Y 7149) 以外の株につい

ては、さだかではない。そこでまず、保存株を2回の麦芽寒天稀釈平板培養法により純化し (実用酵母における純化操作の可否は不問) たのち、分類同定試験を Lodder⁴⁾ の方法に準じて行った。また、種 (species) の同定には至らないが、いずれの株も多極出芽で増殖する球形又は楕円形の細胞より成り、2%酢酸カリウム寒天培地上 (25℃ 7日間培養) で、球形または長楕円形の胞子を、1子のう当り1~4個形成した。ブドウ糖を強く発酵し、硝酸塩は資化しない (結果の標示は種の同定試験結果と併せて後報で行う予定)。これらの結果から、供試酵母はいずれも *Saccharomyces* 属酵母と考えた。無胞子酵母 (*Torulopsis*) とされていた⁵⁾ Jerég-5 (R I F Y 7129) は、低頻度 (1 ascus/3~4 × 10³ cells) であるが、2胞子性子のうの存在を Möller 法で染色確認した。

そのほかの4株は高い胞子形成率 (10~30%) を示し、その単胞子培養株もまた子のうを形成した。そこで、これら4株を二世代にわたり四分子分析を繰返した。すなわち、Sherman 型の顕微解剖器を用い、snail gut juice (カタツムリの腸管を採取し調整) で

Table 1. Origin and sporulation ability of the wine yeast strains used.

Strain ^{a)}		Origin	Frequency of ascus formation ^{b)} (%)	Remarks
No.	Common name			
RIFY* 7129	Jerez-5	Stock cultures with RIFY number.	Trace*	<i>Saccharomyces</i> sp.
RIFY 7148	Charente fine champagne		10	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ³⁾
RIFY 7149	Cruess 66		15	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ³⁾
RIFY 7187	OC-2		30	<i>Saccharomyces</i> sp.
G-18**	Champagne epernay 1936-1	Obtained from the Forschungsanstalt, Geisenheim, Germany in 1965.	10	<i>Saccharomyces</i> sp.

a) *RIFY is an abbreviation of the Research Institute of Fermentation, Yamanashi University, Kofu, Japan. **G-18 is our collection number. These wine yeast strains have been transferred onto malt agar slant at intervals of one year, and kept at 4°C

b) To induce sporulation, one loopful of cells precultured on malt agar was inoculated on 2% potassium acetate agar. After incubation for 7 days at 25°C, frequency of four-spored ascus formation was determined by scoring at least 2,000 cells of each sample under microscope. *One ascus was detected per several fields. The asci contained one to two spheroidal or prolate ellipsoidal ascospores.

処理（室温で約30分間）した子のうから分離した四分子の、生存率（四分子回収率）と胞子形成能を調べた。その結果（Table 2），解析したクローンはいずれも83～100%の四分子回収率を示し、その胞子形成能はすべて4 Spo⁺:0 Spo⁻に分離した。この結果は、供試ワイン酵母がホモトリズム株または高次倍数体（RIFY7148, G-18は少なくとも六倍体、他2株は八倍体以上）であることを示唆する。ところが、実用酵母における高次倍数体の存在は Emeis⁶⁾や高野ら⁷⁾により指摘されているが、高次倍数体のうちで最も一般的な倍数体は四倍体であり、それ以上の倍数体は人工的交配により造成されると考えられている⁸⁾。また、高次倍数体の子孫には不規則分離による異数体の出現、胞子生存率の低下（四倍体で約30%⁹⁾）が示唆されている。したがって、ここで観察したワイン酵母とその子孫である単胞子培養株の示す高い四分子回収率と胞子形成能は、供試ワイン酵母のホモトリズムに起因すると考えた。この結果は、南アフリカ Stellenbosch のブドウ・ブドウ酒研究所の5株、ガイゼンハイム研究所の2株のワイン酵母がホモトリズム株であったとする Thornton¹⁰⁾らの結果を支持する。なお、原ら¹¹⁾は

OC-2からランダム胞子分離法により、安定な接合型を示す一倍体を分離しており、ここで供試した株とは異なるものと考えられる。

Saccharomyces 酵母のホモトリズムは、大鳴らの一連の研究に基づき提唱された controlling element: cassetteモデル¹²⁾により分子遺伝学的に説明されている。また、このホモトリズム遺伝子を利用して、実用酵母の工業的適性が倍数性の面から検討されはじめようとしており¹³⁾、すでに報告¹⁴⁾もある。供試ワイン酵母の倍数性については、種の同定試験と共に目下検討中である。

要 旨

供試した5株のワイン酵母（Jerez-5, RIFY 7129, Charente fine champagne RIFY7148, Cruess 66 RIFY 7149, OC-2 RIFY 7187, Champagne epernay 1936-1）は、いずれも *Saccharomyces* 属酵母であり、内4株がホモトリズム株であることを示唆する結果を得た。

Table 2. Tetrad analysis of the wine yeast strains (P) and their spore cultures(S).

Strain ^{a)}	Genera- tion	No. of asci		Recovery(%)of full tetrads (B/A)	Segregation of sporulation ability ^{c)} Spo ⁺ : Spo ⁻
		dissected (A)	recovered ^{b)} (B)		
RIFY 7148	P	6	6	100	4 : 0
-1A	S	20	20	100	4 : 0
RIFY 7149	P	12	12	100	4 : 0
-1A	S	6	6	100	4 : 0
-1B		6	6	100	4 : 0
-1C		6	5	83	4 : 0
-1D		6	6	100	4 : 0
RIFY 7187	P	24	23	96	4 : 0
-1A	S	7	7	100	4 : 0
-1B		7	6	86	4 : 0
-1C		7	7	100	4 : 0
-1D		7	6	86	4 : 0
G-18	P	6	6	100	4 : 0
-4A	S	6	5	83	4 : 0
-4B		6	6	100	4 : 0

a) Tetrads derived from the wine yeast strains (e.g. G-18) are represented as G-18-4A, where G-18 is the number of the strain, 4 is the number of an ascus and A is the symbol of a spore.

b) Asci in which all four tetrad clones were recovered are listed.

c) Spo⁺ : Spo⁻ indicate positive : negative sporulation ability.

2 胞子性子のうを痕跡的にしか形成しない Jerez-5 を除く、他の4株(4胞子性子のう形成率10~30%)の単胞子培養株は、子のうを形成した。これら4株のワイン酵母とその単胞子培養株は、四分子分析で83%以上の四分子回収率を示し、その四分子における胞子形成能の分離パターンは4 Spo⁺ : 0 Spo⁻であった。

5) 横塚 勇, 後藤昭二: 山梨大学醸酵研報告, 9, 99 (1962)

6) Emeis, C. C. : Europ. Brew. Conv. Proc. Congress, Vienna 1961, p. 205 (1961)

7) 高野 勇, 吉栖 肇, 寺島 豊: 醸工, 44, 150 (1966)

8) Mortimer, R. K., Hawthorne, D. C. : The yeasts (Rose, A. H., Harrison, J. S., eds.) Vol. 1., Academic Press Inc., New York, pp. 385~460 (1969)

9) Takahashi, T. : Genetics, 43, 249 (1958)

10) Thornton, R. J., Eschenbruch, R. : Antonie van Leeuwenhoek, 42, 503 (1976)

11) Hara, S., Iimura, Y., Otsuka, K. : Am. J. Enol. Vitic., 31, 28 (1980)

12) Herskowitz, I., Oshima, Y. : The Molecular Biology of the Yeast *Saccharomyces* (Broach, J. R., Jones, E. W., Strathern,

文 献

1) Cummings, J., Fogel, S. : J. Inst. Brew., 84, 267 (1978)

2) Snow, R. : Am. J. Enol. Vitic., 30, 33 (1979)

3) 後藤昭二, 横塚 勇: 醸工, 34, 537 (1956)

4) Lodder, J. (ed.) : The Yeasts, a Taxonomic Study, 2nd., North-Holland Pub. Co., Amsterdam-London, pp. 34~120, 555 (1970)

- J. N. eds.), Cold Spring Harbor Laboratory, New York, in press (1981)
- 13) 大嶋泰治: 醸工, **56**, 413 (1978)
- 14) Takano, I., Oshima, T., Harashima, S., Oshima, Y. : *J. Ferment. Technol.*, **55**, 1 (1977)