

[J. Inst. Enol. Vitic. Yamanashi Univ. 17 1~10 1982]

ワイン酵母の分類・倍数性及びタリズム

山崎 豊彦・石川 貢・野々村英夫

Taxonomic Characteristics, Ploidy and
Thallism of Wine Yeasts

TOYOHICO YAMAZAKI, TAKASHI ISHIKAWA, and HIDEO NONOMURA

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

Eleven wine yeast strains were studied and classified as follows :

I. *Saccharomyces cerevisiae*

(A) Homothallic diploid strain.

(A₁) Sporulation abundant : OC-2, Cruess 66, Charente fine champagne.(A₂) Sporulation poor, segregates Spo- spore clone : Montrachet, Heimersheimer (Roth).

(B) Heterothallic diploid strain. Sporulation abundant : Kyokai-1

(C) Homothallic polyploid strain. Sporulation abundant. Segregates Spo- spore clone : Champagne epernay 1938-3.

(D) Thallism unknown, polyploid. Spore usually non-viable : Waldenburg.

II. *Saccharomyces bayanus*(A) Homothallic polyploid strain. Segregates Spo- spore clone :
Champagne epernay 1936-1.(B) Thallism unknown, polyploid strain. Spore usually non-viable :
Jerez-5, Champagne epernay 1938-2.

緒 論

ワイン発酵で主要な酵母は *Saccharomyces cerevisiae* と *S. bayanus* (旧名 *S. oviformis*) である。著者ら¹⁾ はそれを生態学的に解明し、以前に報告している。ただし、分類種が同じでも醸造学的性質は菌株によって大きく相違するので種々な特徴を持つ実用菌株がある。ワイン酵母の望ましい特徴としてはアルコール発酵が早く且つ強力で収率が良いこと、揮発酸の生成が少ないこと、SO₂耐性があること、H₂S、SO₂などの生成が少ないこと、清澄が早いこと、製品に特殊な香味を与えぬことなどがあげられるが、

その他必要に応じて、低温でも発酵が早い株、泡なし株、キラー因子の導入された株などもある。これらの多くは自然発酵から撰択されたものであるが、変異及び交配による少数の例もある。

最近、微生物遺伝学が著しく発達して来たので、ワイン酵母においても前述の様な有用な性質に関与する遺伝子の組換えや増強、或いは導入などの研究が一層期待されている。遺伝的研究には、実用されているワイン酵母株のタリズムや倍数性についての知見がまず必要となる。Thorntonら(1976)²⁾ は7株のワイン酵母の内5株は確実に、また2株は多分ホモトリックであったと報告した。また、Snow(1979)³⁾

Table 1. Wine yeast strains.

No.	Common name	Remarks
1	OC-2	RIFY 7187←FAT WH5-2
2	Jerez-5	RIFY 7129←FAT AY2-7
4	Cruess 66	RIFY 7149←FAT WH1-7
5	Heimercheimer (Roth)	RIFY 7153←FAT WH2-1
6	Montrachet	Tsukamoto (1968)
9	Charente fine champagne	RIFY 7148←FAT WH1-6
16	Champagne eprenay 1936-1	G-18
17	Champagne eprenay 1938-2	G-19
18	Champagne eprenay 1938-3	G-20
19	Wardenburg	G-24
20	Kyokai No.1	RIFY ←RIB

Abbreviations of the authentic culture collection are as follows :
 RIFY, Research Institute of Fermentation, Yamanashi University, Kofu.
 FAT, Faculty of Agriculture, University of Tokyo, Tokyo. RIB, National
 Research Institute of Brewing, Tax Administration Agency, Tokyo.

Table 2. Laboratory yeast strains (*S. cerevisiae*)*

Strain no.	Genotype	Ploidy
D-13-1A(H)	<i>a ho trp1 his3</i>	Haploid(n)
DK-13D(H)	<i>a ho trp1 his3 leu2</i>	
YS-1	<i>a ho trp1 his3 LEU2</i> <i>α ho trp1 his3 len2</i>	Diploid(2n)
D-13-1A(D)	<i>a ho trp1 his3</i> <i>a ho trp1 his3</i>	

* Strains were obtained from Dr. Y. Oshima (Osaka University, Osaka), except YS-1. YS-1 was prepared by the crossing of strains, D-13-1 A (H) and DK-13D (H). The crossing was carried out with the mass mating method. Genotype of this hybrid was determined from the tetrad data (Table 6) obtained with a micromanipulator. The symbols and nomenclature used for genetic markers followed the ones made by the Genetic Nomenclature Committee for yeast (Plishke, et al. 1976).

Table 3. Media.

1. Nutrient medium (YEPD medium)	4. Minimal medium
Glucose 40g	Modified Wickerham's (1946) ⁸⁾
Peptone 10g	Glucose 10.0g
Yeast extract 5g	(NH ₄) ₂ SO ₄ 1.0g
KH ₂ PO ₄ 5g	CaCl ₂ ·2H ₂ O 0.1g
MgSO ₄ ·7H ₂ O 2g	Salt I* 10.0g
Distilled water 1000ml	Salt II** 1.0g
pH 5.5 (Not adjusted)	Vitamin solution*** 10.0ml
2. Media for taxonomic study	Distilled water 1000 ml
As prescribed in The Yeasts (1970) ¹¹⁾	pH 5.5 (Not adjusted)
3. Sporulation medium (Snow1979) ³⁾	5. Conjugation medium
K-acetate 20g	Modified Lindegren's (1949) ⁹⁾
Agar 20g	Glucose 30.0g
Distilled water 1000ml	Peptone 3.5g
pH 6.5 (Not adjusted)	Yeast extract (Difco) 10.0g
	KH ₂ PO ₄ 2.0g
	MgSO ₄ ·7H ₂ O 1.0g
	CaCl ₂ ·2H ₂ O 0.3g
	Vitamin solution*** 10.0ml
	Distilled water 1000 ml
	pH 5.5

* Salt I consists of 8.75g KH₂PO₄, 1.25g K₂HPO₄, 5.00g MgSO₄·7H₂O, 1.00g NaCl and 100ml of distilled water.

** Salt II consists of 10mg KI, 7mg ZnSO₄·7H₂O, 5mg FeCl₃·6H₂O, 1mg CuSO₄·5H₂O, 1mg H₃BO₃ and 100ml of distilled water.

*** Vitamin solution consists of 60mg inositol, 12mg thiamin, 12mg pyridoxine, 12mg niacin, 12mg Ca-pantothenate, 3ml biotin (20μg/ml), 6mg riboflavin, 6mg PABA and 100ml of distilled water.

はUCD (University of California, Davis) に保存のワイン酵母71株について研究し, その多くがホモタリズム株であったと報告している. 更に最近では, Kusewicz ら (1930)⁴⁾ やその他⁵⁾ のワイン酵母の遺伝解析や改良についての試みもある.

本報では, 研究室保存のワイン酵母11株につきその種の確認, タリズム, 倍数性を検討した結果を報告する.

実験材料と方法

1. 供試菌株と使用培地

Table 1 には, 供試ワイン酵母11株の一般名称と入手経路を示した. No.1, 2, 4, 9, 16の5株は既報⁶⁾ でその属の同定及びタリズムを検討した株であり, これら供試株の保存法及び純化操作法も既報⁶⁾ に示した.

遺伝研究用菌株(Labo株)の遺伝子組成と倍数性を

Table 2 に示した. 遺伝標識の記載は酵母遺伝子記号命名委員会の提案⁷⁾ に従った. YS-1 株以外は全て大阪大学大鳴研究室からのヘテロタリズム(*ho*)分譲株である. 二倍体のYS-1株は, 一倍体の接合型(*a/a*)標準株としたD-13-1A(H) (*a ho trp1 his3*)とDK-13D(H) (*a ho trp1 his3 leu2*)を集団接合法で交配, 育成したものである. これらLabo株は主として倍数性判定用標準株として利用した.

主に使用した培地組成をTable 3 に示した. 栄養要求性判定に用いた最少培地は, Wickerham⁸⁾ の培地を基本培地とし, 必要に応じて各種アミノ酸(50mg/1)又は核酸塩基(10mg/1)を加えて補足培地とした. また, Lindegren⁹⁾ の培地を基本培地とした井口ら¹⁰⁾ の培地を接合培地として用いた.

2. 実験方法

1. 菌学的性質試験法

Table 4. Morphological characteristics of wine yeast strains.

Strain	Cells in malt ext. ^{a)}		Pellicle on malt ext.	Pseudomycelium on potato agar	Ascospore ^{b)} formation
	Size (μm)	Shape			
1	(3.5-6.2) × (4.4-8.4)	OV	none	fairly well	1-4 R-OV
2	(5.5-8.7) × (7.0-11.6)	OV	ring	very primitive	1-4 R-OV
4	(5.1-6.8) × (5.7-8.1)	OV	none	not tested	1-4 R-OV
5	(4.5-7.5) × (5.6-9.3)	OV	none	not tested	1-4 R-OV
6	(4.5-8.1) × (5.5-8.3)	S.OV	ring	not tested	1-4 R-OV
9	(4.5-6.8) × (5.1-8.7)	OV	none	not tested	1-4 R-OV
16	(5.0-8.9) × (6.3-10.9)	OV	none	primitive	1-4 R-OV
17	(5.7-9.0) × (6.7-9.5)	S.OV	ring	fairly well	1-4 R-OV
18	(4.0-7.7) × (6.2-11.5)	L.OV	ring	not tested	1-4 R-OV
19	(4.6-7.9) × (5.2-9.8)	OV	none	not tested	1-4 R-OV

a) The short and long axes of at least 30 cells on a photomicrograph were measured. Width by length $\times 100 = 66 \sim 75$ are indicated as L.OV (long oval); 76 \sim 89, OV (oval) and 90 \sim 92, S.OV (short oval).

b) R-OV indicates round to oval. On 2% potassium acetate agar. For frequency of ascus formation, see Fig. 1.

Table 5. Physiological characteristics of wine yeast strains.

Group (Strain)	Fermentation Assimilation										Arbutin split	Vitamin require-ment	Cycloheximide resistance	
	Gl	Ga	Sa	Ma	La	Ra	Me	St	So	KNO ₃				
A														
(1, 4, 5, 6)	+	+	+	+	-	1/3	-	-	-	-	-	-	+	-
(9, 18, 19)	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-
B														
(2, 16, 17)	+	-	+	+	-	1/3	-	-	-	-	-	-	+	-
	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-

Gl indicates glucose; Ga, galactose; Sa, saccharose; Ma, maltose; La, lactose; Ra, raffinose; Me, melibiose; St, soluble starch; So, L-sorbose.

From the results shown in Tables 4 and 5, seven strains of group A were identified as *Saccharomyces cerevisiae* and three strains of group B as *S. bayanus*.

Table 6. Tetrad segregation in asci from hybrid YS-1.

Strain no.	Combination (genotype)	Total asci dissected	Phenotype*	No. of asci	
				0:4	2:2
YS-1	D-13-1A (H)	4	a/α	0	4
	(a ho trp1 his3)		Leu ⁺ /Leu ⁻	0	4
	×		Trp ⁺ /Trp ⁻	4	0
	DK-13D (H)		His ⁺ /His ⁻	4	0
	(α ho trp1 his3 leu2)				

The resultant genotype of strain YS-1 is $\frac{a\ ho\ trp1\ his3}{\alpha\ ho\ trp1\ his3\ leu2} +$

* Phenotype of leucine-requiring spore clones is indicated as Leu⁻, and that of non-requirement as Leu⁺.

Lodder¹¹⁾の方法に従った。種の同定に必要な生理的性質は、各試験項目毎に適宜標準株を定め比較検討した。なお、テストした炭素源の種類は、供試株の分類に必要な限度にとどめた。

2. 細胞の体積, 乾燥重量, DNA含量測定法

次に挙げる点以外は, Yamazaki & Oshima (1979)¹²⁾の方法に従った。細胞の体積, 乾燥重量測定用菌体は, 三角フラスコ(100ml容)に入れた50mlの麦芽汁, (Bllg. 15°, 必要に応じトリプトファン50mg/lを添加)で30°C 3日間静置培養し, 小型芽細胞は計数しなかった。DNAの抽出は, YEPD培地で振とう培養(坂口フラスコ, 150cycle/min, 振巾5cm)した菌体を用い, 改変 Shneider 法¹³⁾(脂質区分は除去せず, 0.5N-HClO₄で70°C 15分間, 3回抽出)に従った。芽族の多い株は超音波処理(20KHz, 32W, 15s)した。DNAの複製は出芽前に開始されるので, 微小な芽も一細胞として数えた。

3. 遺伝解析法

接合法及び四分子分析法は, *Saccharomyces*酵母で特記すべき事項のみを記述し, その他の点は既報¹⁴⁾に従った。集団接合は, α, α両菌株の培養(YEPD培地30°C 3日間静置), 各3滴宛を接合培地(1ml)に混合接種し25°Cで24時間静置して行なった。四分子分析法及び孢子形成能(Spo⁺/Spo⁻)判定は既報⁶⁾の通りである。接合型(a/α)は標準株[α型: D-13-1A(H), α型: DK-13D(H)]との接合体形成を前記集団接合法により確認して判定した。

結 果

I. 菌学的性質と分類検索

分類学的試験の結果はTable 4と5にまとめて示した。ガラクトースの発酵性・資化性の有無(+/-)で供試10株は2大別される。グループAの7株は, サッカーロース, マルトースを発酵・資化し, ラフィノースを $\frac{1}{2}$ 発酵, ラクトースと可溶性デンプンの発酵性・資化性及びアルブチンの分解能がなく, 栄養細胞は他の細胞核と接合することなく(以下“単独で”と記す)子のうを形成したので, いずれも*S. cerevisiae*に同定した。一方, グループBの3株はサッカーロース, マルトースを発酵・資化し, ラフィノースは $\frac{1}{2}$ 発酵するが, ラクトースの発酵性・資化性及びメリビオース, ソルボースの資化性がなく, (5.0×9.0)×(6.3~11.6)μmの細胞が単独で子のうになる(*S. fermentati*との違い)ので, *S. bayanus*に同定した。

II. 倍数性

遺伝標識のない供試ワイン酵母の倍数性は, その細胞体積, 乾燥重量, DNA含量を倍数性標準株と比較し, また, 孢子形成率, 発芽率を補助資料として判定した。倍数性標準株には, Table 2に示した遺伝子組成を持つLabo株を用いた。育成したYS-1株の遺伝子組成と倍数性は, 四分子分析結果(Table 6)に基づいて判定した。これら倍数性標準株の細胞体積, 乾燥重量及びDNA含量を測定し, 一倍体相当値(3株の平均値±標準偏差値: 体積56±5μm³, 乾燥重量1.8

Table 7. Standard cellular characteristics used for investigation of the ploidy of *Saccharomyces* yeast cells.

<i>S. cerevisiae</i> strain ^{a)}	Ploidy	Cell volume ^{b)} (μm^3)	Volume ^{c)} Ploidy	Dry weight ^{b)} (mg/10 ⁸ cells)	Dry wt ^{c)} Ploidy	DNA content ^{b)} (mg/10 ¹¹ cells)	DNA ^{c)} Ploidy
D-13-1A(H)	n	53		1.9		1.49	
YS-1	2n	125	56 \pm 5	3.5	1.8 \pm 0.08	3.46	1.65 \pm 0.11
D-13-1A(D)	2n	104		3.3		3.43	

- a) The strains are Laboratory ones (see Table 2), ploidy of which was estimated from the results obtained by genetic analysis, e.g. mating potency, sporulation ability, tetrad analysis.
- b) For the determination of cellular volume and dry weight, cells were prepared with standing-cultivation in 50 ml malt extract (B11g. 15^o, supplemented with 50 mg/l tryptophan) in a 100 ml Erlenmeyer flask at 30°C for 3 days. Volume of cells was calculated from measurement of the short and long axes of cells on a photomicrograph. To determine the dry weight of the cells, approximately 5 \times 10⁸ cells were dried at 105°C to obtain the constant weight. Cells used for the determination of DNA content were cultivated on a shaker for 3 days at 30°C in 50 ml YEPD medium in a 500 ml Sakaguchi flask. They were harvested, washed twice and suspended in distilled water at approximately 2 \times 10⁹ cells/ml. DNA was extracted by the modified Schneider method, involving three extractions with 0.5 N HClO₄ at 70°C for 15 min, from 5 ml cell suspension without elimination of lipid materials. DNA content was determined by the diphenylamine method of Burton. For the estimation of the DNA content and dry weight, the cell number in each sample treated by slight sonication (Sonifier B-12, Branson Co., Ltd.; 20 KHz, 23W, for 15s) was counted with a Thoma haemocytometer. A small bud cell was counted as one cell in the determination of DNA content, and was counted as none in that of dry weight.
- c) Mean value with standard deviation. These values were used as the standards for investigating the ploidy of the wine yeast strains.

$\pm 0.08\text{mg}/10^8\text{cells}$, DNA含量 $1.65\pm 0.11\text{mg}/10^{11}\text{cells}$ を求めた (Table 7). これらの値は文献値 (郡家¹⁵⁾ 高野,^{16,17)} Mortimar¹⁸⁾) と大差なく, また倍数性にほぼ比例した値 (各測定値における, 供試3株の標準偏差が平均値の9%以下である) と考え, これらを倍数性判定用基準値として採用した。

各供試ワイン酵母の細胞体積, 乾燥重量, DNA含量の測定値と, これら基準値を基に算出した倍数度及び四分子分析で求めた胞子発芽率 (Fig. 1 参照) を Table 8 に示し, 胞子形成率の結果 (Fig. 1) と併せて供試株の倍数性を検討した. 特に胞子形成率 (52~84%), 発芽率 (98~100%) 共に高く, 平均倍数度 2.0~2.3 を示した No.1, 4, 9 の3株と, 胞子形成率,

発芽率は低いが, 細胞体積, 乾燥重量, DNA含量が一定した値 (平均倍数度 $2.3\pm 0.06\sim 0.08$) を示した No.5, 6 の合計5株は二倍体と判定した. ただし, No.9 のDNA含量 ($4.44\text{mg}/10^{11}\text{cells}$) は, 三倍体相当値 (倍数度 2.7) を示し, 平均倍数度の偏差値を大きく (2.3 ± 0.26) している. 残りの5株の倍数度は, いずれも 3.0 以上を示し, 胞子発芽率が極端に低く (0~0.5%), 異数体と考えられる¹⁹⁾ 株 (No.2, 19) もあったが, 逆に発芽率の高い (93~100%) 株 (No.16, 18) があり, これら5株を三倍体以上の高次倍数体と判定することにとどめた. なお, Kyokai-I は四分子分析の結果 (Table 9) から2倍体と推定できた.

III. タリズム

Table 8. Cellular characteristics and degree of ploidy in wine yeast strains.

Strain	Ascospore ^{a)} germination rate (%)	Cell volume ^{b)} (μm^3)	Dry weight ^{b)} (mg/10 ⁸ cells)	DNA content ^{b)} (mg/10 ¹¹ cells)	Degree of ploidy ^{c)}				Inferred ^{d)} Ploidy
					Volume	Dry wt.	DNA	Average	
<i>S. cerevisiae</i>									
1	98	120	4.4	3.24	2.1	2.4	2.0	2.2±0.17	Diploid
4	100	110	4.1	2.92	2.0	2.3	1.8	2.0±0.19	Diploid
5	40	127	4.3	3.68	2.3	2.4	2.2	2.3±0.08	Diploid
6	67	130	4.0	3.87	2.3	2.2	2.3	2.3±0.06	Diploid
9	100	118	3.9	4.44	2.1	2.2	2.7	2.3±0.26	Diploid
18	93	164	5.7	4.73	2.9	3.2	2.9	3.0±0.14	Polyploid
19	0.5	189	6.3	5.74	3.4	3.5	3.5	3.5±0.06	Polyploid
<i>S. bayanus</i>									
2	0	199	6.5	6.27	3.6	3.6	3.8	3.7±0.10	Polyploid
16	100	220	7.5	7.01	3.9	4.2	4.2	4.1±0.14	Polyploid
17	5	205	6.5	7.17	3.7	3.6	4.3	3.9±0.31	Polyploid

- a) Frequency of ascospore germination was tested on the spores isolated with a micromanipulator (see Fig. 1).
- b) These data were determined in accordance with the procedures described in footnotes of Table 7.
- c) Degrees of ploidy for cellular volume, dry weight and DNA content were calculated using the data of the Laboratory strains (see Table 7). Mean value with standard deviation.
- d) Ploidies of wine yeast strains were inferred from the following data: frequency of ascospore formation (Fig. 1), ascospore germination rate, cellular volume, dry weight and DNA content.

結果をFig.1に図解した。予報⁶⁾したNo.1,4,9,16の4株とNo.5,6,18の合計7株は、二世代(PとF₁)の単孢子培養株が胞子を形成したので、いずれもホモタリズム株と判定した。特に、四分子の回収できた子のうがすべて4 Spo⁺:0 Spo⁻に分離した3株(No.1,4,9)はHO型である。残りの3株(No.2,17,19)は四分子共に回収できた子のうがなく(%, 1/3, 1/6), No.19からの1株が胞子を形成したので、その1子のうを解析したが発芽する子のうはなかった。従って、これら3株のタリズムは判定できなかった。

Kyokai-1はOC-2由来のSO₂耐性株として一般に実用されている菌株であるが、OC-2(WH5-2)と異なり全く典型的なヘテロタリズムを示した(Table 9)。

考 察

分類名について シェリー酒酵母として知られている Jerez No.5は横塚ら²⁰⁾によって *Torulopsis*

*colliculosa*に同定され、Snow³⁾により *S. cerevisiae*と想定されていたものであるが、著者らの試験で、この菌株は *S. bayanus* であることが明らかとなった。また、Champagne epernayは横塚ら²⁰⁾により *S. oviformis* (*bayanus*)に分類されているが、供試株には同名で菌株番号の異なる株が3株あり、その内No.1938-3は *S. cerevisiae*に同定された。OC-2, Cruess 66, Heimersheimer (Roth), Charente fine champagneは後藤ら²¹⁾の、またMontorachet, WaldenburgはSnow³⁾の分類に一致して *S. cerevisiae*であった。なおKyokai-1はOC-2(*S. cerevisiae*)由来とされており、今回は分類試験をしなかった。

倍数性について 遺伝標識のついていない実用酵母菌株の倍数性の決定は困難であるが、細胞体積、乾燥重量、DNA含量、四分子分析、胞子形成率、胞子の発芽能力等を、遺伝解析から倍数性の判明している標準株と比較することによって推定される。OC-2,

Table 9. Tetrad segregation data for two strains maintained under the name "wine yeast OC-2" in different culture collections.

Strain ^{a)}	Genera- tion ^{b)}	No. of asci dissected	No. of asci with the following tetrad type			
			Sporulation (Spo ⁺ :Spo ⁻) ^{c)}		Mating type (a:α:n) ^{d)}	
			4:0	0:4	2:2:0	0:0:4
Kyoka-1	P	22	0	22	22	0
WH5-2	P	23	23	0	0	23
-7A	F ₁	11	11	0	0	11
-7B		11	11	0	0	11
-7C		11	11	0	0	11
-7D		6	6	0	0	6

- a) Kyokai-1 has been regarded as a SO₂ resistant strain derived from OC-2. Tetrad spore clones derived from the strain WH5-2 are represented as WH5-2-7A, where 7 is the ascus no. and A is the symbol for a spore of the tetrad.
- b) P indicates the wine yeast strains and F₁, their spore cultures.
- c) Sporulation on 2% potassium acetate agar.
- d) Mating types were determined by observing the formation of zygotes with strains D-13-1A(H) and DK-13D(H). n, indicates non-mater, unable to mate with any of these standard testers.

Cruess66, Charente fine champagneの3株は典型的な二倍体で胞子形成率も高く、Montrachetと Heimercheimer (Roth)は二倍体であるが胞子形成率が低く、また四分子には胞子形成能のないものもあった。また、Kyokai-1は四分子分析の結果から二倍体と推定された。その他の株は三倍体以上の高次倍数体と推定され、また異数体の存在も推測された。醸造用酵母に高次倍数体が多く存在することは一般に知られている事実であり、遺伝子集積効果があると考えられている。

タリズムについて 酵母にはヘテロタリズムとホモタリズムがあり、ホモタリズムには更に HO, Hq, Hp の各型が知られている²²⁾。清酒酵母はヘテロタリズムであり²³⁾、ワイン酵母はホモタリズムが多いとされている³⁾。

供試ワイン酵母では、11株中7株がホモタリズムを示し、他の3株は高次倍数体で且つ異数体であろうか、その胞子は発芽力がないか、発芽してもその培養には胞子形成力がなく、これらのタリズムは不

明であった。残り1株はヘテロタリック株であった。供試株の内3株は Snow³⁾の報告にも含まれ、その内Montrachetは結果が一致するが、Jerez-5と Wardenburgは単胞子培養株がほとんど得られない菌株であり、Snowのようにホモタリズム株であるとは判定できないものであった。

Kyokai-1 (ワイン酵母, 日本醸造協会1号)はOC-2からSO₂耐性株として分離されたものと云われているが、OC-2 (WH5-2) がホモタリックであるのに反し、Kyokai-1は明らかなヘテロタリズムを示した点は、この菌株の由来について問題が生ずる。Kyokai-1は最近、竹田ら²⁴⁾がビオチン不要、イーストサイジン耐性、清酒もろみで高泡形成、K欠培地で生育、33°Cでメレチトースを利用せず、細胞表面の性質が相違するとの点を挙げていわゆるOC-2とは異なり、清酒酵母型であると報告している。これらの事実に加えてタリズムまでが明らかに異なるということは、OC-2から変異した結果であると簡単には説明できないと考えられる。この問題については更に将来実験

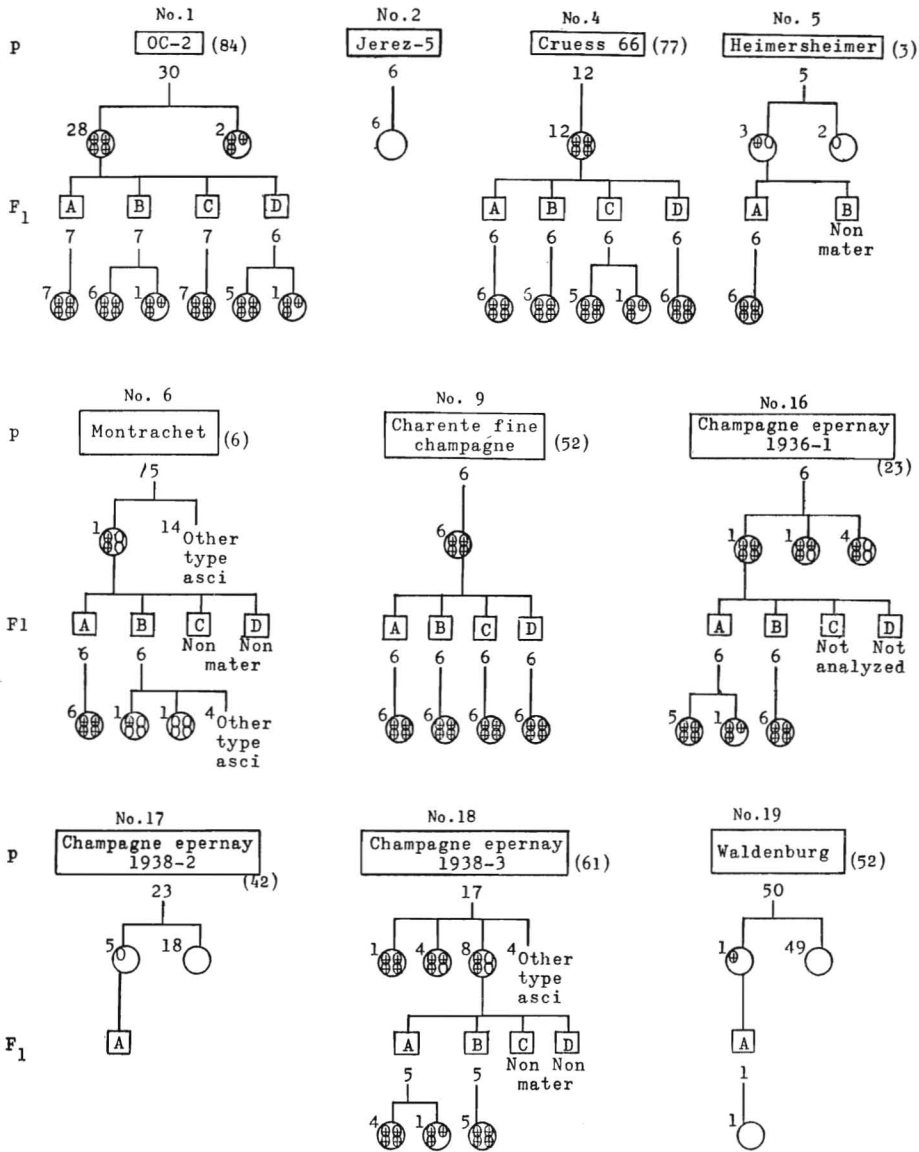


Fig. 1. Segregation of sporulation ability in tetrads of the wine yeast strains (P) and their spore cultures (F₁). Tetrads were isolated with a micromanipulator. Number of asci dissected is indicated by the figures in bold type. Spore formation of the tetrads was performed on 2% potassium acetate agar. The tetrads with sporulation ability (Spo⁺) are shown by ellipsoids

with cross marks. After incubation for 7 days at 25°C on the medium, the frequency of spore formation was determined by scoring at least 2,000 cells of each sample under a microscope. Sporulation rate (%) is shown in parenthesis. One ascus per several fields under a microscope is indicated as rare frequency (R).

的な解明が必要であろう。

要 旨

研究室保存のワイン酵母11株について、交配改良の遺伝学的基礎資料を得るため、それらの分類学上の種の確認試験、倍数性及びタリズムをしらべた。その結果供試株は次のように分類された。

I. *Saccharomyces cerevisiae*

(A) ホモトリック二倍体。(A₁) 胞子形成率が高い：OC-2 (WH5-2), Cruess 66, Charente fine champagne. (A₂) 胞子形成率は低く、胞子は胞子形成能のないコロニーとなるものもある：Montrachet, Heimercheimer (Roth).

(B) ヘテロトリック二倍体株、胞子形成率が高い：Kyokai-1.

(C) ホモトリック高次倍数体で胞子形成率が高い。胞子は胞子形成能のないコロニーとなるものもある：Champagne epervay 1938-3.

(D) タリズム不明の高次倍数体で胞子は通常生育しない：Wardenburg.

II. *Saccharomyces bayanus*

(A) ホモトリック高次倍数体で、胞子は胞子形成能のないコロニーとなるものもある：Champagne epervay 1936-1.

(B) タリズム不明の高次倍数体で胞子は通常生育できない：Champagne epervay 1936-2, Jerez-5.

終りに、貴重な菌株を分譲していただいた大阪大学大嶋泰治教授、山梨大学後藤昭二教授、並びに実験の一部を担当された田中恒君に感謝いたします。

文 献

- 1) 野々村：醸協，57，61 (1962).
- 2) Thornton, R. J., Eshenbruch, R. : *Antonie van Leeuwenhoek, J. Microbiol. Serol.*, 42, 503 (1976).
- 3) Snow, R. : *Am. J. Enol. Vitic.*, 30, 33 (1979).
- 4) Kusewicz, D., Johnston, J. : *J. Inst. Brew.*, 86, 25 (1980).
- 5) Jhonston, J. R., Obermen, H. : *Prog. Indust. Microbiol.*, (Bull, M. J.), Vol. 15, 175, Elsevier Sci. Publ. Co., Amsterdam-Oxford-New York (1979).

- 6) 山崎, 石川, 野々村 : 山梨大発研報, 16, 35 (1981).
- 7) Prishke, M. E., von Borstel, R. C., Mortimer, R. K., Chon, W. E. : *Handbook of biochemistry and molecular biology, Nucleic acids* (Fasman, D. C.), Vol. 11. Chemical Rubber Co. Press, Cleveland and Ohio (1976).
- 8) Wickerham, L. J. : *J. Bacteriol.*, 52, 293 (1946).
- 9) Lindegren, C. C. : *The yeast cell, its genetics and cytology*. p.10-3, Educational Publ., Inc., Saint Louis (1949).
- 10) 井口, 大信 : 茨城大学文理学部紀要, 第10号, 99 (1959).
- 11) Lodder, J. : *The yeast, a taxonomic study*. 2nd ed. (Lodder, J.), North-Holland Publ. Co., Amsterdam and London (1970).
- 12) Yamazaki, T., Oshima, Y. : *J. Gen. Microbiol.*, 111, 271 (1979).
- 13) Herbert, D., Phipps, P. J., Strange, R. E. : *Methods in Microbiology*, (Norris, J. R., Ribbons, D. W.), Vol. 5B, 209, Academic Press, New York (1971).
- 14) Yamazaki, T., Ohara, Y., Oshima, Y. : *J. Bacteriol.*, 125, 461 (1976).
- 15) Gunge, N., Nakatomi, Y. : *Genetics*, 70, 41 (1972).
- 16) Takano, I., Oshima, T., Harashima, S., Oshima, Y. : *J. Ferment. Technol.*, 55, 1 (1977).
- 17) 高野, 吉栖, 寺島 : 醸工, 44, 150 (1966).
- 18) Mortimer, R. K. : *Rad. Res.*, 9, 312 (1958).
- 19) 高橋 : *Jap. J. Genetics*, 34, 392 (1959).
- 20) 横塚, 後藤 : 山梨大発研報, 9, 99 (1962).
- 21) 後藤, 横塚 : 醸工, 34, 537 (1956).
- 22) Herskowitz, I., Oshima, Y. : *The Molecular Biology of the yeast Saccharomyces*, (Broach, J. R., Jones, E. W., Strathern, J. N.), 189, Cold Spring Harbor Laboratory, New York (1981).
- 23) 中里, 竹田, 塚原 : 日本農芸化学会大会要旨集 p. 290 (1976).
- 24) 竹田, 五関, 中里, 塚原 : 東農大創立90周年記念論文集, p. 125 (1980).

(昭57. 8. 31受付)