

[J. Inst. Enol. Vitic. Yamanashi Univ. 18 27~32 1983]

ノート

山ブドウから分離した酵母の同定*

後藤 昭二・小栗 博幸

Identification of the Yeasts isolated from Wild Grapes.

SHOJI GOTO and HIROYUKI OGURI

The Institute of Enology and Viticulture, Yamanashi
University, Kofu 400

One hundred and six isolates of yeasts and yeast-like fungi obtained from wild grapes (*Vitis coagnitiae*) were studied taxonomically and were identified with 17 species belonging to 8 different genera. The dominant groups were *Kloeckera apiculata*, *Aureobasidium pullulans*, and *Cryptococcus laurentii* var. *flavescens* and the minor yeasts were *Rhodotorula fujisanensis*, *R. rubra*, *Saccharomyces cerevisiae*, *S. rosei*, *Pichia ohmeri*, *Candida agrestis*, *C. krusei*, *C. montana*, *C. parapsilosis*, *Torulopsis cantarellii*, *T. colliculosa*, *T. dattila*, *T. kruisii*, and *T. stellata*.

著者らは先に、甲府盆地周辺の約1,200~1,500mの山地5個所に自生する山ブドウ (*Vitis coagnitiae*)における酵母相を1976, 1978, 1979年の3カ年間にわたって研究し *Kloeckera apiculata*, *Aureobasidium pullulaus*, *Cryptococcus laurentii* var. *flavescens* が優勢な菌群であり、その他劣勢酵母として5属, 14種が分布すること、および優勢酵母群の分布も地域差、年度差などのあることを報告した¹⁾ また、本研究中に分離した2酵母はそれぞれ *Candida* 属の新種と認められたので *C. agrestis* sp. n. および *C. montana* sp. n. として報告した²⁾

本報は山ブドウから分離した酵母106菌株の同定実

験の結果について報告する。

実験方法

供試菌株 前報¹⁾で報告したように1976, 1978, 1979の3カ年間甲府盆地周辺の5地点のうちの酵母が検出された3地点、御坂、広瀬、嵯峨塩各地区の山ブドウから分離した106菌株を供試した。

実験方法 同定実験は *The Yeasts* (1970)³⁾、飯塚、後藤⁴⁾、後藤⁵⁾らの方法に準じて行った。Coenzyme Q system は Yamada, Kondo⁶⁾、DNase は Sen Komagata⁷⁾、DNA base composition (%GC) は Nakase, Komagata⁸⁾、Diazonium Blue B (DBB) 呈色反応は van der Walt, Hopsu Havu⁹⁾の方法によった。

結果および考察

形態的特徴と有性生殖の結果が *The Yeasts*

* Supplement of "Yeast flora in wild grapes from mountainous places around the Kofu Basin of Central Japan"¹⁾

(1970)³⁾の記載と大差ないものについては説明を省略した。生理的、生化学的性質の結果は Table 1 に、炭素源資化性の結果は Table 2 に菌種ごと一括して表示した。同定は The Yeasts (1970)³⁾, Barnettら¹⁰⁾, The Fungi (vol. IV A, 1973)¹¹⁾, von Arx¹²⁾の分類, 同定検索書に従って行った。

1) *Kloeckera apiculata* (Reess emend. Klocker) Janke

菌株 : No. 610, 615, 617, 618, 620~623, 625, 807~811, 837, 839, 840, 840, 842~846, 869, 901~915.

子のう胞子を形成しない。両極出芽のレモン形細胞。No. 908, 912, 913, 914の4菌株は仮性菌糸を形成する。生理的、生化学的性質は The Yeasts および Barnettらの記載 (*Hanseniaspora uvarum*) と一致した。

本菌種は栽培ブドウ¹³⁾におけると同様、山ブドウにおいても最も優勢な酵母群の一つであった。

2) *Aureobasidium pullulans* (de Bary) Arnaud

菌株 : A-1, A-4, A-27, A-28, A-33, A-37

子のう胞子, 射出胞子, teliospore を形成しない。若いコロニーは酵母状, 次第に淡黒色化し表面がやや固くなる。菌糸は次第に黒褐色に変わり厚膜となり, septate した菌糸側面上の短い菌状突起突上に多数の分生子を形成する。分生子は透明, 平滑, 楕円形, 単細胞。これらのことから供試菌株を本菌種と同定した。

本菌種は優勢群の一つであった。しかし, 広瀬地区からの山ブドウからは3カ年とも分離されなかった。

3) *Cryptococcus laurentii* (Kufferath) Skinner var. *flavescens* (Saito) Lodder et Kreger-van Rij

菌株 : No. 601~605, 812, 815, 818, 820, 824, 828, 830, 833, 835, 849, 850~854, 917~923, 916.

子のう胞子, 射出胞子, teliospore を形成しない。球形細胞。仮性菌糸を形成しない。粘性のコロニー。その他, 生理的, 生化学的性質から供試酵母を本菌種と同定した。ただし, 炭素源資化性のうち Barnettら¹⁰⁾によって“variable”とされている trehalose, starch, D-ribose, glycerol, ribitol, dulcitol, D-mannitol, α -methylglucoside, salicin は (+), L-sorbose, D-arabinose は (-) であった。

本菌種も優勢群の一つであり, 11試料中8試料から分離された。

4) *Rhodotorula fujisanensis* (Soneda) Johnsen et Phaff

菌種 : No. 870

子のう胞子, 射出胞子, teliospore を形成しない。淡紅黄色コロニー, 長楕円形細胞。原始的な仮性菌糸を形成する。18°C以下でのみ生育。GC 含量63.4mol %, CoQ 9, Urease および DNase 活性は (+), DBB で赤色反応を呈する。その他の生理的性質から本菌種と同定した。ただし, 資化性において Barnettら¹⁰⁾によって“variable”とされている galactose は (+), D-ribose は (-) であった。

本菌種は1978年の広瀬試料から1菌株分離された。

5) *Rhodotorula rubra* (Demme) Lodder

菌株 : No. 701, 702, 703

形態的特徴, 生理的, 生化学的性質とも標準記載と一致し, 本菌種と同定された。ただし, 資化性において Barnettら¹⁰⁾によって“variable”とされている galactose, L-sorbose, cellobiose, L-, D-arabinose, D-ribose, glycerol, ribitol, D-mannitol, sorbitol, α -methylglucoside, salicin は (+), lactose, L-rhamnose, galactitol は (-) であった。本酵母は広瀬試料 (1976) から分離された。

6) *Saccharomyces cerevisiae* Hansen

菌株 : No. 606

1~4個の球形子のう胞子を形成, 仮性菌糸を形成する。Barnettら¹⁰⁾の記載のうち, 発酵性“variable”な galactose, sucrose, maltose, raffinose は (+) 資化性“variable”な galactose, sucrose, maltose, trehalose, raffinose, melezitose, D-ribose, glycerol, mannitol, D-glucitol, α -methylglucoside はいずれも (+) であった。

本菌種は御坂試料 (1976) からのみ分離された。

7) *Saccharomyces rosei* (Guilliermond) Lodder et Kreger-van Rij

菌株 : No. 607, 619

1~2個の球形子のう胞子を形成。仮性菌糸を形成しない。Barnettら¹⁰⁾ (*Torulasporea delbrueckii*) によって発酵性“variable”とされた galactose, maltose は (-), sucrose, raffinose は (+) であった。資化については galactose, maltose, melibiose, melezitose, D-xylose, ribitol, α -methyl glucoside は (-), L-sorbose, sucrose, trehalose, raffinose, inulin, glycerol, D-mannitol, sorbitol は (+) であった。本菌種は広瀬試料 (1976) から分離された。

8) *Pichia ohmeri* (Etchells et Bell) Kreger-van Rij

菌株 : No. 841, 861, 864

galactose, sucrose, maltose, raffinose を発酵

しない。DNA の GC 含量 43.4mol%，CoQ 9 であった。その他の生理的、生化学的性質から本菌種と同定した。

本菌種は御坂 (1978) と広瀬 (1978) の試料から分離された。

9) *Candida agrestis* Goto et Oguri

菌株 : No. 611, 616, 624

新種として記載、報告²⁾したように子のう菌系の無孢子酵母である。広瀬試料 (1976) から分離された。

10) *Candida krusei* (Castellani) Berkhout

菌株 : No. 945

形態のおよび生理的性質は The Yeasts (1970)³⁾, Barnett ら (*Pichia kudriavzevii*)¹⁰⁾ の標準記載に一致したので本菌種と同定した。広瀬試料 (1979) から分離された。

11) *Candida montana* Goto et Oguri

菌株 : No. 865, 868

新種として記載、報告した²⁾ように子のう菌系の酵母である。広瀬試料 (1978) から分離された。

12) *Candida parapsilosis* (Ashford) Langeron et Talice

菌株 : No. 925, 929, 934, 939, 944

形態的特徴、生理的、生化学的性質が標準記載と一致したので本菌種と同定した。ただし、Barnett ら¹⁰⁾によって発酵性 “variable” とされた galactose は (+), sucrose, maltose は (-) であり、また資化性 “variable” の L-sorbose は (+), D-ribose は (-) であった。

本酵母は1979年の御坂、広瀬両試料から分離された。

13) *Torulopsis cantarellii* van der Walt et van Kerken

菌株 : No. 940, 943

形態的性質、生理的、生化学的性質とも標準記載と一致したので本菌種と同定した。広瀬試料 (1979) から分離された。

14) *Torulopsis colliculosa* (Hartmann) Saccardo

菌株 : No. 946, 947, 948

形態的特徴、生理的、生化学的性質が標準記載と一致したので本菌種と同定した。ただし、Barnett ら¹⁰⁾により発酵性 “variable” とされた galactose, raffinose は (-), sucrose, maltose は (+) であった。また、資化性については galactose, melibiose, raffinose, inulin, ribitol は (-), L-sorbose, sucrose, maltose, treharose, melezitose, D-xyl-ose, ethanol, glycerol, D-mannitol, sorbitol, α -methylglucoside は (+) であった。

本酵母は御坂試料 (1979) から分離された。

15) *Torulopsis dattila* (Kluyver) Lodder

菌株 : No. 609

形態的性質、生理的、生化学的特性が標準記載と一致したので本菌種と同定した。Barnett ら¹⁰⁾により (*Kluyveromyces thermotolerans*) 発酵性 “variable” とされた galactose, maltose は (-) であった。資化性において L-sorbose, inulin, ethanol, glycerol, sorbitol は (+), ribitol は (-) であった。

本酵母は御坂試料 (1976) から分離された。

16) *Torulopsis kruisii* Kockova-Kratochvilova et Ondrusova

菌株 ; No. 933, 935

形態的特徴は原報⁴⁾に、また生理的性質は Barnett ら¹⁰⁾ の記載に類似していた。唯し、galactose を発酵せず、また Barnett ら¹⁰⁾ により資化性 “variable” とされた D-ribose は (-), 他方 “+” とされた ribose, α -methylglucoside, salicin は (-) であった。DNA の GC 含量は 43.9mol%，CoQ 9 であった。

本酵母は御坂試料 (1979) から分離された。

17) *Torulopsis stellata* (Kromer et Krumbholz) Lodder

菌株 : No. 608, 631, 632, 633

形態的特徴、生理的、生化学的性質が標準記載と一致したので本菌種と同定した。Barnett ら¹⁰⁾ により “variable” とされた raffinose の発酵性は (+) であった。本酵母は御坂試料 (1976) から分離された。

要 旨

甲府盆地周辺の1,200~1,500mの山地に自生する山ブドウから分離した酵母106菌株の同定を行ったところ8属、17種であった。

優勢酵母群は *Kloeckera apiculata*, *Aureobasidium pullulans*, *Cryptococcus laurentii* var. *flavescens*, また劣勢酵母群は *Rhodotorula fuji-sanensis*, *R. rubra*, *Saccharomyces cerevisiae*, *S. rosei*, *Pichia ohmeri*, *Candida agrestis*, *C. krusei*, *C. montana*, *C. parapsilosis*, *Torulopsis cantarellii*, *T. colliculosa*, *T. dattila*, *T. kruisii* および *T. stellata* であった。

本研究中 DNA の GC 含量、Coenzyme Q の測定その他についてご助言、ご協力下さいました東京大学応用微生物研究

所 駒形和男教授および発酵化学研究施設 青野力三助教授
に感謝致します。

文 献

- 1) Goto, S., Oguri, H.: *Trans. mycol. Soc. Japan*, **24**, 151 (1983).
- 2) Goto, S., Oguri, H. : *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **29**, 85 (1983).
- 3) Lodder, J.(ed.) : *The Yeasts, a taxonomic study*, 2nd ed., North Holland Publ. Co. Amsterdam (1970).
- 4) 飯塚, 後藤 : 酵母の分類同定法, 第3版, 東大出版会 (1980).
- 5) 後藤 : 酵母の分類と同定 (1), 長谷川編, 微生物の分類と同定, 67, 東大出版会 (1975).
- 6) Yamada, Y., Kondo, K.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **19**, 59(1973)
- 7) Sen, K., Komagata, K. : *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **25**, 127 (1979).
- 8) Nakase, T., Komagata, K. : *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **14**, 345 (1968).
- 9) Van Der Walt, J.P., Houps-Havu, V, K.: *Antonie van Leeuwenhoek*, **42**, 157 (1976).
- 10) Barnett, J.A., Payne, R. W., Yarrow. D.: *A guide to identifying and classifying yeasts*, Cambridge Univ. Press, Cambridge (1979).
- 11) Ainsworth, G.C., Sparrow, F. K., Sussman, A. S. (eds.): *The Fungi. Vol. IV A*, Academic Press, New York-London (1973).
- 12) Von Arx, J. A. : *The Genera of Fungi Sporulating in Pure Culture*, Verlage von J. Cramer-3301 Lehre (1970).
- 13) Goto, S., Yokotsuka, I. : *J. Ferment. Technol.*, **55**, 417 (1977).
- 14) Kockova-Kratochvilova, A., Ondrusova, D. : *Biologia* (Bratislava), **26**, 477 (1971).

(昭和58・8・31受付)