

(J. Inst. Enol. Vitic. Yamanashi Univ. 27, 7~11 1992)

ワイン酵母のタリズム、倍数性およびキラー性について

篠原 隆、柳田藤寿、後藤昭二

山梨大学工学部発酵化学研究施設
〒400, 甲府市北新1-13-1

On thallism, ploidy and killer property of wine yeasts

TAKASHI SHINOHARA, FUJITOSHI YANAGIDA, and SHOJI GOTO

(Institute of Enology and Viticulture, Yamanashi University,
Kofu, Yamanashi 400, Japan)

Thallism, ploidy, and killer property of wine yeasts (forty eight strains), that are collected from several Wine Research Institutes in the World, are investigated. They are reidentified as *Saccharomyces cerevisiae*, and classified into six groups based on utilization of the main sugars. Thirty nine yeasts are decided as homothallic strains. Other four yeasts are determined as a mixture of homothallic and heterothallic. Three of above four yeasts are mating type α and other one yeast is a mixture of mating type a and α . Diploid of thirty nine yeasts and polyploidy of eight yeasts are estimated from the results in this examination. Only one yeast may be haploid. The killer of K2 type is detected in twelve yeasts. Twenty three yeasts has weak killer of KHS type. Weak killer of KHR type is only detected in the superior Japanese wine yeast, W3. The majority of wine yeasts are strains of homothallic, diploid, and K2 type and KHS type killers.

従来、優良ワイン酵母はブドウや発酵マスト等から分離、選択されてきた。近年、醸造的にそれぞれ特徴をもつ優良酵母菌株間の交雑や細胞融合、変異処理などによる育種、造成が進められつつある。このような時、優良ワイン酵母の生物学的基礎データをうることは育種、造成を進めるうえで極めて重要なことである。当研究室では従来から、世界の主要なワイン研究機関から収集したワイン酵母の醸造特性と各種の特徴を有する優良菌株の育種の研究を進めている。本報では収集菌株の再同定の結果およびこれら菌株のタリズム、倍数性、キラー性と

いった基礎的な性質に関する研究の結果を報告する。

実験方法

1. 供試酵母

Table 1 に示したように、わが国の代表的な優良酵母OC-2, W-3 および世界各国の研究機関から収集した46菌株の合計48菌株を供試した。なお、これらの菌株はそれぞれの研究機関において *Saccharomyces cerevisiae*, *S. bayanus*, *Saccharomyces* sp. とラベルされてきたものである。

Table 1. Wine Yeast Strains and Sources used in This Study.

Strain No.	Yeast group ^{a)}	RIFY	Source
W 3	I	1001	RIFY (Yokotsuka et al)
OC 2	I	1022	IAM 4274
YM 01	I	1029	AWRI 1A65
YM 02	II	1032	AWRI 2A70
YM 03	I	1033	AWRI 3A77
YM 04	III	1069	AWRI 4A797
YM 05	III	1070	AWRI 5A
YM 06	V	1062	AWRI 6A384
YM 07	I	1035	AWRI 7A94
YM 08	I	1034	AWRI 8A95
YM 09	IV	1068	AWRI 9A5
YM 10	I	1036	AWRI 10A81
YM 11	II	1052	S-1, ENSA Montpellier
YM 12	I	1053	S-2, ENSA Montpellier
YM 13	V	1054	S-3, ENSA Montpellier
YM 14	V	1058	VORI WE 14
YM 15	I	1057	VORI WE 372
YM 16	I	1059	VORI WE 432
YM 17	V	1067	VORI WE 452
YM 18	I	1061	VORI WE 460
YM 19	I	1060	VORI WE 500
YM 20	I	1055	ITV Tours L 246
YM 21	V	1066	ITV Tours L 255
YM 22	I	1056	ITV Tours L 275
YM 23	I	1025	UCD 13
YM 24	I	1026	UCD 51(Burgundy)
YM 25	I	1027	UCD 514(Geisenheim)
YM 26	I	1028	UCD 529(Steinberg)
YM 27	VI	1071	UCD 530
YM 28	I	1037	FAG, Champagne Epernay S-2
YM 29	I	1038	FAG, Champagne Ay
YM 30	I	1039	FAG, Epernay Champagne
YM 31	I	1040	FAG, Steinberg
YM 32	V	1076	FAG, VORI WE 452
YM 33	V	1063	FAG, BC, Uvaferm
YM 34	II	1041	FAG, Irgaferm
YM 35	I	1051	FAG, Hefix 2000, Erboloe
YM 36	V	1047	FAG, Geisenheim 74
YM 37	I	1064	FAG, I.O.Champagne, Lalvin
YM 38	I	1046	FAG, Champagne 1118, Lalvin
YM 39	I	1044	FAG, Montpellier 1116, Lalvin
YM 40	I	1042	FAG, NS Freiburg, Lalvin
YM 41	V	1065	FAG, 71B, Lalvin
YM 42	I	1043	FAG, Montrachet 1107, Lalvin
YM 43	I	1045	FAG, Wadenswil, 27, Lalvin
YM 44	I	1048	FAG, Siha-1, Siha
YM 45	I	1049	FAG, Siha-2, Siha
YM 46	I	1050	FAG, Siha-3, Siha

Abbreviations: RIFY=Institute of Enology and Viticulture, Yamanashi University, Japan; IAM=Institute of Applied Microbiology, University of Tokyo, Japan; AWRI=Australian Wine Research Institute, Glen Osmond, Australia; ENSA=Ecole Nationale Supérieure Agronomique, Montpellier, France; VORI=Viticulture and Oenological Research Institute, Stellenbosch, South Africa; ITV=Prefecture d'Indre-et-Loire Laboratoire Départemental d'Analyses et de Recherches, Tours, France; UCD=University of California, Davis, USA; FAG=Institut für Mikrobiologie und Biochemie, Forschungsanstalt Geisenheim, Germany.
a): see Table 2.

2. 生理的性質

主要な糖類の発酵、資化性および窒素源資化性試験は“The Yeasts, 3rd ed.”¹⁾の方法によって行った。

3. 子嚢胞子形成、タリズム、接合型

胞子形成試験にはMcClary's培地を使用した。形成した単胞子はMicromanipulatorを使用して分離し、YM培地で発芽状況を観察した。また、各単胞子株は標準 mating testers, YM61(a)およびYM62 (α) との間での接合の有無を観察して接合型の判定を行った

4. プロイデー

DNA含量、細胞容積、UV照射による生存曲線の各データーから倍数性を推定した。^{2~4)}

5. キラー性

各ワイン酵母と既知キラー標準菌株との間の殺しあいの結果から判定した。KHSおよびKHR型のキラー性は、pH4.2およびpH6.2における *Candida glabrata* IFO 0622に対するキラー活性によって判定した。

主要な糖類の発酵、資化能および窒素源資化能の結果をTable 2に示した。供試48菌株は発酵、資化能から6グループに分けられた。

胞子形成能の結果をTable 3に示した。YM13を除きいずれも1-4個の球ないし楕円形の胞子を形成した。これらの結果から、各菌株はThe Yeasts 3rd ed.¹⁾に従い *S. cerevisiae* と同定された。また、糖類の発酵、資化性に基ずくThe Yeasts, 2nd ed.⁵⁾の分類に従えば、*S. cerevisiae* 32菌株、*S. bayanus* 9菌株、*S. italicus* 3菌株、*S. chevalieri* 2菌株、*S. capensis* と *S. uvarum* 各1菌株と同定される。

タリズムおよび接合型

単胞子株の胞子再形成能試験の結果、胞子を形成し、ホモタリック株と判定された菌株は、W3ほか38菌株であった。YM06, YM36, YM45の3菌株はホモタリックとヘテロタリックとの混合型であり、ヘテロタリックの接合型はαタイプであった。YM35もホモタリックとヘテロタリックとの混合型であったが、ヘテロタリックの接合型はaとαとの混合型であった。YM09, YM13, YM19, YM27, YM42は、胞子の発芽能が極めて悪く、タリズムを決定することが出来なかった。

倍数性

DNA含量、細胞容積、UV照射生存曲線の各結果から、W3ほか38菌株は2倍体株、YM13ほか7菌

結果および考察

再同定

Table 2. Utilization of carbon sources, nitrate, and ethyl amine by *Saccharomyces* wine yeasts

Yeast groups	Carbon sources														Assimilation of KNO_3 or Ethyl amine	Species ^{a)}				
	Galactose		Sucrose		Maltose		Lactose		Raffinose		Melibiose		Melezitose				Starch			
	F	A	F	A	F	A	F	A	F	A	F	A	F	A			F	A		
I	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>S. cerevisiae</i>	
II	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>S. italicus</i>
III	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>S. chevalieri</i>
IV	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>S. capensis</i>
V	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>S. bayanus</i>
VI	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	<i>S. uvarum</i>

a) by The Yeasts, 2nd ed., 1972(2).

F: fermentation, A: assimilation.

Table 3. Sporulation, Thallism, Ploidy, and Killer activity of Wine Yeasts

Strain No.	Yeast group ^{a)}	Ascospore (%)		Thallism and mating type	Ploidy	Killer activity		
		For. ^{b)}	Germ. ^{c)}			I ^{g)}	II ^{h)}	III ⁱ⁾
W 3	I	0.1	46	Ho ^{d)}	2n	-	-	+
OC 2	I	20	45	Ho	2n	-	-	-
YM 01	I	52	33	Ho	2n	-	-	-
YM 02	II	60	0.1	Ho	2n	-	-	-
YM 03	I	38	89	Ho	2n	K ₂	+	-
YM 04	III	71	74	Ho	2n	K ₂	+	-
YM 05	III	34	0.1	Ho	2n	-	+	-
YM 06	V	42	66	Ho, He(α) ^{e)}	2n	-	+	-
YM 07	I	15	86	Ho	2n	-	+	-
YM 08	I	68	4	Ho	2n	-	-	-
YM 09	IV	0.1	0.01	Ho	n	-	-	-
YM 10	I	50	0.1	-	2n	K ₂	-	-
YM 11	II	33	65	Ho	2n	-	-	-
YM 12	I	60	85	Ho	2n	K ₂	+	-
YM 13	V	trace	0	Ho	p ^{f)}	-	-	-
YM 14	V	79	67	-	2n	K ₂	+	-
YM 15	I	43	90	Ho	2n	K ₂	-	-
YM 16	I	45	17	Ho	2n	-	±	-
YM 17	V	52	25	Ho	2n	-	-	-
YM 18	I	53	0.1	Ho	2n	-	-	-
YM 19	I	0.1	0	Ho	p	-	-	-
YM 20	I	66	3	-	2n	-	+	-
YM 21	V	53	32	Ho	2n	K ₂	+	-
YM 22	I	54	4	Ho	2n	-	-	-
YM 23	I	88	98	Ho	2n	-	-	-
YM 24	I	78	92	Ho	2n	-	±	-
YM 25	I	4	85	Ho	2n	-	±	-
YM 26	I	2	0.1	Ho	2n	-	±	-
YM 27	VI	2	0.1	Ho	2n	-	-	-
YM 28	I	16	25	Ho	p	-	-	-
YM 29	I	1	27	-	p	-	-	-
YM 30	I	0.01	0.1	Ho	p	-	+	-
YM 31	I	6	0.5	Ho	p	-	+	-
YM 32	V	49	36	Ho	2n	-	-	-
YM 33	V	60	3	Ho	2n	-	-	-
YM 34	II	33	75	Ho	2n	-	-	-
YM 35	I	66	57	Ho, He(α , α)	p	-	+	-
YM 36	V	8	29	Ho, He(α)	2n	K ₂	+	-
YM 37	I	50	25	Ho	2n	K ₂	+	-
YM 38	I	47	82	Ho	2n	K ₂	+	-
YM 39	I	26	97	Ho	2n	K ₂	+	-
YM 40	I	34	5	Ho	2n	-	+	-
YM 41	V	50	43	Ho	2n	K ₂	+	-
YM 42	I	0.01	-	-	2n	-	-	-
YM 43	I	8	2	Ho	p	-	-	-
YM 44	I	3	4	Ho	2n	-	-	-
YM 45	I	13	10	Ho, He(α)	2n	-	-	-
YM 46	I	30	73	Ho	2n	-	-	-

a): See Table 2, b): formation rate, c): germination, d): homothallic, e): heterothallic, f): polyploidy, g): killer type, h) and i): killer activities on *Candida glabrata* IFO 0622 at pH4.2 and pH6.2; + and -: positive and negative activities.

株は高次倍数体、YM09は1倍体株と推定された。

キラー性

キラー性を有する菌株は12菌株で、いずれもK2タイプであった。KHSタイプのキラーをもつ菌株は22菌株、KHRタイプのキラー株は1菌株(W3)のみであった。

ワイン酵母は一般にホモタリック、2倍体株の多いことが報告されている^{2,4,6,7)}。また、キラー性はK2タイプが多いことも知られている⁸⁾。本研究に供試した菌株も、従来の報告とほぼ同様の結果であった。W3がKHR型のキラーをもつことは前報の通りであった⁹⁾。なお、ヘテロタリックとホモタリックの混合株、さらにはヘテロタリック株では接合型 α と α の両タイプの混合型が見出されたことは興味がある。

文 献

- 1) Van der Walt, J.P. and Yarrow, D.: In *The Yeasts, a taxonomic study*, 3rd ed., ed. by Kreger-van Rij, N.J.W., Elsevier, Amsterdam, p.45-104(1984).
- 2) Goto, S., Maejima, Y., and Shinohara, T.: *Bull. JFCC*, **5**, 76-79(1989).
- 3) Takano, I., Yoshizumi, H., and Terashima, Y.: *Nihon Hakkokogakukaishi*, **44**, 150-157(1966).
- 4) Yamazaki, T., Ishikawa, T. and Nonomura, H.: *J. Inst. Enol. Vitic., Yamanashi Univ.*, **17**, 1-10(1982).
- 5) Van der Walt, J.P.: *The Yeasts, a taxonomic study*, 2nd ed., ed. by Lodder, J., North-holland Publ.Co., Amsterdam, p.555-718(1970).
- 6) Snow, S.: *Am. J. Enol. Vitic.*, **30**, 33-37(1979).
- 7) Thornton, R.J.: *Am. J. Enol. Vitic.*, **36**, 47-49(1985).
- 8) Shimizu, K., Adachi, T., Kitano, K., Shimazaki, T., Totsuka, A., and Hara, S.: *J. Ferment. Technol.*, **63**, 421-429(1985).
- 9) Goto, S., Kitano, K., and Shinohara, T.: *J. Ferment. Bioeng.*, **73**, 70-72(1992).