

***Rhizopus* の乳酸醗酵に関する研究 (第2報)**

分離菌の分類学的位置の検索

蟹江松雄・出来三男

Lactic Acid Formation by a Fungus of the Genus *Rhizopus* :

2. Morphological and Physiological Characteristics of the Isolated *Rhizopus*

Matsuo KANIE and Mitsuo DEKI

(Laboratory of Applied Microbiology)

著者達の分離した *Rhizopus* の一菌株は振盪培養において乳酸生成率の大なることは既に報告したところである¹⁾。本報においてはこの菌の分類学的観察を記載する。この菌は下記の如く *Rhizopus oryzae* に属すると思われるので醗酵研究所から分譲を受けた数種の *Rhizopus oryzae* (I. F. O. 4771, 5378, 4707, 4697) と比較観察を行い、殊にその中の No. 5378 に近似するので、多くの場合この菌の観察結果を併せ記載した。

1. 由来及び分離

第1報において使用した菌は鹿児島駅倉庫内の菜種を試料とし、これを滅菌水に懸濁して充分攪拌したのち殺菌麴汁に一定量を加え、30°C で約10時間培養した後、麴汁寒天を用いて扁平培養により分離した。この菌は数代の累代培養によつてもその性質に変化が見られなかつた。

2. 器管の形態及び大きさ

麴汁寒天・麴汁・馬鈴薯汁寒天・パン・肉汁寒天・麦芽汁寒天・麦芽汁・Pfeffer 寒天培地に移植して 30°C で7日間培養したものを顕微鏡にて観察した。

A. 孢子囊柄 長く、基頂部同大か或はやや大きく、膨大部なし。麴汁寒天で pale yellow orange,*面平滑でやや曲る。蒸米では長く、基頂部やや大きく、面平滑、不透明、僅かに曲る。パン上では長く、pale yellow orange で、やや曲り、内容僅かに顆粒体あり、基頂部やや大きい。麦芽汁寒天では長く、やや曲るものもあり、基頂部大きく、面平滑。麦芽汁では分岐するものあり、yellowish brown で直立、極めて長く (845~2340 μ)、基頂部大、内容粒状。肉汁寒天では pale yellow, 面平滑、分岐するものあり、基頂部大きく、内容不透明。馬鈴薯汁寒天では長く、yellow gray, 同大で直立。麴汁寒天では pale yellow, 長く、直立、同大、面平滑、内容粒状。

B. 孢子囊 球形で形成極めて良好、表面に針状の棘或は結晶を有し、破れ易く、dark brownish gray 乃至 brownish black。麴汁寒天では針状の棘を有し、表面複雑な起伏あり、破れ易く、球形で大きさが一定せず、馬鈴薯汁寒天、麦芽汁でも同一形状を示し、前者は brownish black, 後者は黒色。肉汁寒天では olive brown。蒸米では黒色で球形、破れ易く、表面が粒状 (結晶状)。パン、麦芽汁寒天では brownish black で、表面に針状の棘を有す。

C. 中軸 横軸やや長い扁球形で面平滑、支囊の発達良好、pale yellow 乃至 brilliant yellow。

*色の名称は「色の標準」：日本色彩研究所 (昭和29年) に従つた。

麴汁上で円形, pale yellow, 面平滑, 支囊の発達やや良好. パン上で球形, pale yellow, 支囊の発達やや良好, 面平滑. 麦芽汁上で球形, 支囊の発達良好, pale yellow, 面平滑. 肉汁寒天上で支囊の発達良好, brilliant yellow で球形. 馬鈴薯汁寒天上で球形又は扁球形, pale yellow, 支囊の発達やや良好. 麴汁寒天上で球形, やや大きく, brilliant yellow, 平滑, 支囊の発達良好.

D. 孢子 卵形で角があり, 大きさは一定でなく, 表面に明瞭な皺線あり, 内容不透明. 麴汁寒天上で卵形, 皺やや不明瞭, 大小がある. 蒸米, パン, 麦芽汁寒天, 麦芽汁上で卵形, 角あり, 皺は明瞭. 肉汁寒天上では大きやや小さい.

E. 芽子 比較的少く楕円形で硬く, 内容粒状, silver gray. 肉汁寒天上では多い.

F. 仮根 各種培地上で形成不良, 孢子囊柄と同色, 同大或はやや太くて短く, 面平滑で内容粒状のものもある. 麴汁では比較的多く認められる. 普通2~4本形成する.

G. 菌糸 普通無色, 内容粒状のものもあり, 一般に面平滑. cream yellow 乃至 yellowish gray に着色するものもある.

H. 各器管の大きさ 種々の培地上における各器管の大きさを測定した結果を Table 1 に示す.

Table 1. Size of organs

	Sporangium	Sporangiophore		Columella		Spore		Chlamydospore		Rhizoid	
	D. (μ)	L. (μ)	W. (μ)	L. (μ)	W. (μ)	L. (μ)	W. (μ)	L. (μ)	W. (μ)	L. (μ)	W. (μ)
Limit	42.9~ 143.0	429~ 1216	5.7~ 10.0	57.2~ 69.4	40.2~ 58.6	3.5~ 11.4	2.0~8.6	15~33	18~24	50~160	4.0~6.0
Normal	86~ 100.0	250~700	8.6~ 10.0	62~65	40~52	7.0~9.0	5.7~6.5	16~30	19~21	69~130	5.0~5.5

L. : Length; W. : Width; D. : Diameter.

3. 各種培地上における繁殖状態

100 ml 容三角フラスコに各種培養基 20 ml (pH 5.8) を入れ, 殺菌したのち該菌を移植し, 30°C で培養, その生育状況を肉眼的に観察した.

A. 麴汁寒天培地 (麴汁 Brix 10°, 寒天 2.5%)

i) P-1*

3日目: 菌叢密生, grayish white, 高さ 1.5 cm. 孢子囊密で表面のみに着生, dark gray.

6日目: 菌叢高さ 1.5 cm. 孢子囊 dark gray, 上層のみ.

10日目: 菌叢高さ 1.5 cm. 密生, 上部 grayish black. 下部は grayish brown となり, 孢子囊全層に着生.

15日目: 菌叢 grayish black. 孢子囊 dark brownish gray で全層に着生.

ii) I. F. O. 5378

3日目: 菌叢白色で孢子囊表面のみに密に着生, 黒色で高さ 1.0 cm.

6日目: 菌叢高さ 1.5 cm.

10日目: 菌叢高さ 1.5 cm. やや密生. 孢子囊 grayish black で全面に広がる.

15日目: 菌叢高さ 1.8 cm. grayish white で密生, 孢子囊 light brownish gray で全層に着生.

B. 麴汁培地 (Brix. 10°)

* 以下著者達の分離した菌を便宜上 P-1 と記す.

i) P-1

- 3日目：菌叢高さ 2.0 cm. 全面白色. 胞子囊なし. ガス発生：＋
 6日目：菌叢高さ 3.5 cm. 白色で下部 pale yellow. 胞子囊なし. ガス発生：＋
 10日目：菌叢高さ 3.5 cm. 白色で下部 pale yellow. 胞子囊わずかに点在.

ii) I. F. O. 5378

- 3日目：菌叢発育良好で高さ 1.0 cm. 胞子囊なし. ガス発生：＋
 6日目：菌叢白色で高さ 2.0 cm. 胞子囊なし. ガス発生：＋
 10日目：同 上

C. 馬鈴薯汁寒天培地

馬鈴薯を磨碎搾汁して、汁液を取り、グルコース 3% を添加した.

i) P-1

- 3日目：菌叢密生白色で高さ 1.0 cm. 胞子囊の着生, 全層に密.
 6日目：菌叢高さ 1.0 cm. 胞子囊 dark gray, 全層に着生.
 10日目：菌叢高さ 1.0 cm.
 15日目：菌叢高さ 1.0 cm. grayish white で密生. 胞子囊 brownish black で全層に密.

ii) I. F. O. 5378

- 3日目：菌叢生育良好. 器壁に沿って気菌糸伸びる. 高さ 1.5 cm. 胞子囊 brownish black で全層に着生.
 6日目：菌叢高さ 2.0 cm. 白色. 胞子囊 dark brownish gray で全層に着生. 上面の菌糸倒れる.
 10日目：菌叢高さ 2.0 cm.
 15日目：菌叢高さ 2.5 cm. dark brownish gray で密生. 胞子囊の上面に白色菌糸層を作る.

D. パン培地

パンを磨碎したのち 10 g を三角フラスコに入れ殺菌した.

i) P-1

- 3日目：菌叢高さ 2.2 cm. 白色で全面に密生. 胞子囊なし.
 6日目：菌叢高さ 3.0 cm. 密生, 上面 olive black. 下部は yellowish gray. 胞子囊を生じ, 菌糸層と二層に分れる.
 10日目：菌叢高さ 3.5 cm. 二層に分れ菌糸層白色.
 15日目：菌叢高さ 4.0 cm. 密生, 下部白色, 中部 brownish white, 上部 brownish black. 胞子囊 brownish black で密生.

ii) I. F. O. 5378

- 3日目：菌叢高さ 1.2 cm, 白色で全面に密生. 胞子囊なし.
 6日目：菌叢高さ 2.5 cm, brownish gray. 表面に grayish black の胞子囊を着生.
 10日目：菌叢高さ 4.5 cm, 胞子囊 grayish black で全面に着生.
 15日目：菌叢高さ 6.0 cm, 密生. 胞子囊 brownish black で全層に着生.

E. 蒸米培地

外碎米 5 g を 100 ml 容三角フラスコにとり, 水 10 ml を加え殺菌した.

i) P-1

- 3日目：菌叢白色で密生, 高さ 1.5 cm, 全表面に着生. 胞子囊なし.

- 6日目：菌叢高さ 2.5 cm. 孢子囊全層に点在し, grayish black. 米粒 ivory yellow となる.
 10日目：菌叢高さ 3.0 cm. grayish white. 孢子囊表面に密で grayish black.
 15日目：菌叢高さ 3.5 cm, 密生, grayish white. 孢子囊黒色で表面のみに顕著.

ii) I. F. O. 5378

- 3日目：菌叢部分的に生え, 高さ 0.5 cm, 白色. 孢子囊なし.
 6日目：菌叢粗生, 白色. 米粒 cream となる.
 10日目：菌叢高さ 2.5 cm, grayish black の孢子囊を表面のみに着生.
 15日目：菌叢高さ 3.5 cm, 密生, grayish white. 孢子囊黒色で表面のみに密に着生.

F. 肉汁寒天培地

肉汁1%に寒天を加え殺菌した.

i) P-1

- 3日目：菌叢高さ 0.5 cm. 孢子囊 light brownish gray で全層にわずかに点在する.
 6日目：同 上
 10日目：菌叢高さ 0.5 cm, 粗生. 孢子囊 olive brown で全層に僅かに点在する.
 15日目：同 上

ii) I. F. O. 5378

- 3日目：菌叢高さ 1.0 cm, 孢子囊わずかに点在する.
 6日目：同 上
 10日目：菌叢高さ 1.0 cm, 粗生, 白色. 孢子囊は olive brown でわずかに全層に点在する.
 15日目：菌叢 1.0 cm, 密生, 白色. 孢子囊わずかに点在する.

G. 麦芽汁寒天培地 (Brix. 10°)

i) P-1

- 3日目：菌叢高さ 2.0 cm. 孢子囊 dark brownish gray で表面のみ孢子囊着生. 菌糸層と区別さる.
 6日目：菌叢の高さ 2.0 cm. 孢子囊全層に広がり, 菌糸層との区別なし. 上部 grayish black, 下部は light brownish gray.
 10日目：菌叢高さ 2.0 cm. 密生. 全層に孢子囊着生, brownish black で下層僅かに cream yellow の菌糸層あり.

ii) I. F. O. 5378

- 3日目：菌叢高さ 1.0 cm, 孢子囊表面のみに着生し dark brownish gray.
 6日目：菌叢高さ 2.0 cm, 密生し, brownish black. 孢子囊全層に着生, 粗, dark gray.
 10日目：菌叢高さ 2.0 cm, 密生, brownish black. 孢子囊同上

H. 麦芽汁培地 (Brix. 10°)

i) P-1

- 1日目：菌叢白色で表面に粗生.
 5日目：菌叢高さ 2.5 cm, 白色で密生, 長い気菌糸を形成する. 表面に孢子囊点在す.
 ガス発生：+
 8日目：菌叢高さ 3.0 cm, 密生. 孢子囊黒色で表面に着生, 菌糸層と区別される. 菌叢の中央くぼむ.
 10日目：菌叢高さ 3.3 cm, 密生し, cream yellow の菌糸層と黒色の孢子囊層に区別される. 中

央くぼむ。

ii) I. F. O. 5378

- 1日目：白色菌糸表面に粗生。
 5日目：菌叢高さ 1.0 cm, 白色で密生, 表面に大きな起伏を生ず。胞子嚢なし。
 8日目：菌叢高さ 1.0 cm. 密生, 白色でやや短い。胞子嚢わずかに表面に点在す。
 10日目：菌叢高さ 2.5 cm, 白色で密生。胞子嚢わずかに表面のみに点在し黒色を呈す。

I. 牛乳培地

脱脂乳を常法通りコッホ殺菌した。

i) P-1

- 2日目：菌叢高さ 0.5 cm. 白色。胞子嚢黒色。牛乳を消化, 凝固する。
 3日目：菌叢高さ 1.0 cm, grayish white. 胞子嚢黒色。
 5日目：菌叢高さ 1.0 cm, grayish white で密生。胞子嚢は黒色で全層に広がる。
 10日目：菌叢高さ 1.2 cm, grayish brown. 胞子嚢 brownish black.

ii) I. F. O. 5378

- 2日目：僅かに繁殖し, 白色菌糸粗生。牛乳を消化凝固しない。
 3日目：菌叢粗生。胞子嚢なし。牛乳を消化, 凝固する。
 5日目：菌叢高さ 2.5 cm. 密生。胞子嚢を着生, grayish black。
 10日目：菌叢高さ 2.5 cm, grayish white で密生。胞子嚢全層に着生。

J. Pfeffer 寒天培地

i) P-1

- 3日目：菌叢高さ 0.8 cm, 生育良好, grayish white. 胞子嚢表面に着生, 黒色。
 5日目：菌叢高さ 1.5 cm. 胞子嚢 brownish black, 密で中層まで着生。
 10日目：菌糸層少く, 胞子嚢層多く, 二層に分れる。

ii) I. F. O. 5378

- 3日目：菌叢高さ 0.9 cm, 生育良好, grayish white. 胞子嚢表面に点在し黒色。
 5日目：菌叢高さ 1.4 cm, grayish white. 胞子嚢は brownish black ではほぼ全面に着生。
 10日目：下層僅かに菌糸層あり。胞子嚢層 brownish black。

以上の結果から P-1 は麴汁寒天, 馬鈴薯汁寒天及び牛乳上では胞子嚢全層に着生し, 菌糸層との区別は見られないが, パン, 蒸米, 麦芽汁, Pfeffer 寒天上では二層に分れ, 殊に Pfeffer 寒天上では胞子嚢層が多く, 肉汁寒天, 麴汁では胞子嚢が僅かに点在するにすぎない。
 又菌叢の高さは, パン, 蒸米, 麴汁, 麦芽汁上で高く, 馬鈴薯汁寒天, 牛乳, 麴汁寒天上では低く, 肉汁寒天上で最も低い。I. F. O. 5378 は胞子嚢形成が麴汁上では認められず, パン上では全層に着生し, 菌叢の高さでは麴汁においてあまり高くなく, 且つ菌糸が着色しない。これらの点は P-1 と異なる点である。

4. 生育温度

各種培地に該菌を移植, 所定の温度で7日間培養したのち肉眼的に繁殖状態を観察した。

Table 2 から繁殖の最適温度は P-1, I. F. O. 5378 共に 30°C 乃至 32~33°C 近辺にあり, 又胞子嚢形成最適温度は両者共に 30°C 前後であつた。P-1, I. F. O. 5378 共に 10°C 乃至 40°C で生育可能であり, 胞子嚢形成は馬鈴薯汁寒天上では 15°C 乃至 40°C で僅かに認められた。

Table 2. Effect of temperature on growth and sporangium formation

			5°C	10°C	15°C	20°C	25°C	30°C	35°C	40°C
Koji extract agar	P-1	Gr.	—	±	+	+	卍	卍	卍	+
		Sp.	—	—	—	+	+	卍	+	±
Koji extract agar	I. F. O. 5378	Gr.	—	±	+	+	卍	卍	+	+
		Sp.	—	—	—	—	+	卍	卍	±
Potatoe juice agar	P-1	Gr.	—	±	+	+	+	卍	卍	+
		Sp.	—	—	+	+	+	卍	+	±
Potatoe juice agar	I. F. O. 5378	Cr.	—	±	+	+	+	卍	卍	+
		Sp.	—	—	+	+	+	卍	+	±
Malt extract agar	P-1	Gr.	—	+	+	+	+	卍	卍	+
		Sp.	—	—	—	+	+	卍	+	—
Malt extract agar	I. F. O. 5378	Gr.	—	+	+	+	卍	卍	卍	+
		Sp.	—	—	—	+	+	卍	+	±

Gr.: Growth; Sp.: Sporangium formation.

5. 死滅温度の測定

麴汁 (Brix. 10', pH 5.5) を殺菌後, それぞれ所定の温度に保持したものに, 器壁に孢子が付着しないように注意深く該菌を移殖, 更に同温度に15分間保つた後, ただちに冷却して30°Cで5日間培養して, 繁殖の有無を試験した. Table 3からわかるように, P-1は55°C, 15分間で死滅し, I. F. O. 5378は60°C, 15分間で死滅した.

Table 3. Dead temperature

	Temperature (C)			
	50°	55°	60°	65°
P-1	+	—	—	—
I. F. O. 5378	+	+	—	—

+: Growth; —: No growth.

6. 生育至適 pH

麴汁 (Brix. 10') を HCl, 及び NaOH でそれぞれ所定の pH とし, これに該菌を移殖して7日間30°Cで培養, その繁殖状態を観察した.

Table 4. Effect of pH of medium on growth and sporangium formation

		1.8	2.4	3.0	3.5	4.0	4.5	5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	Optimum pH
P-1	Gr.	+	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	+	3.5~5.5
	Sp.	—	—	+	+	+	卍	卍	卍	+	—	—	
I.F.O. 5378	Gr.	±	+	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	3.0~5.0
	Sp.	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

Gr.: Growth; Sp : Sporangium formation.

即ち, Table 4 から P-1 の最適 pH は 3.5~5.5 であり, I. F. O. 5378 のそれは 3.0~5.0 である. P-1 は pH 2.4 及び 7.0 で生育可能であるが孢子嚢形成は 3.0~6.0 の間でのみ認められた.

7. 各種炭水化物上での生育状態

Pfeffer 培地より蔗糖を除いたものに, 各種糖類を5%宛添加し, pH 5.5として, 30°Cで10日間

Table 5. Growth on the various carbohydrates

Carbohydrates		P-I	I. F. O. 5378	Carbohydrates		P-I	I. F. O. 5378
Lactose	Gr. Sp. Col. H.	— — — —	— — — —	Dextrin	Gr. Sp. Col. H.	‡‡‡ ‡‡ grayish white 1.2 cm.	‡‡‡ ‡‡ grayish white 1.1 cm.
Fructose	Gr. Sp. Col. H.	‡ E — white	‡‡‡ — white 0.5 cm.	Raffinose	Gr. Sp. Col. H.	‡‡‡ ‡‡ grayish white 0.9 cm.	‡‡‡ ‡‡ grayish white 1.1 cm.
Mannit	Gr. Sp. Col. H.	— — — —	+ + grayish white 0.1 cm.	Arabinose	Gr. Sp. Col. H.	‡‡ ‡‡ grayish white 0.2 cm.	‡‡ ‡‡ grayish white 0.4 cm.
Maltose	Gr. Sp. Col. H.	‡‡‡ ‡‡ grayish white 0.1 cm.	‡‡‡ ‡‡ grayish white 1.0 cm.	Trehalose	Gr. Sp. Col. H.	‡‡‡ ‡‡ grayish white 0.8 cm.	‡‡‡ ‡‡ grayish white 1.0 cm.
Inulin	Gr. Sp. Col. H.	+ E — white	+ E — grayish white	Starch	Gr. Sp. Col. H.	‡‡‡ ‡‡ grayish white 1.2 cm.	‡‡‡ ‡‡ grayish white 1.4 cm.
Xylose	Gr. Sp. Col. H.	‡‡‡ ‡‡ grayish white 1.5 cm.	‡‡‡ ‡‡ grayish white 1.1 cm.	Sucrose	Gr. Sp. Col. H.	‡‡‡ ‡‡ grayish white 1.5 cm.	‡‡‡ ‡‡ grayish white 1.4 cm.
Galactose	Gr. Sp. Col. H.	‡‡ + white 0.6 cm.	‡‡‡ ‡‡ light brownish gray 1.0 cm.	Glucose	Gr. Sp. Col. H.	‡‡ + grayish white 0.9 cm.	‡‡ + grayish white 1.4 cm.

Gr.: Growth; Sp.: Sporangium formation; Col.: Colour; H.: Height of mycelial felt; E.: Submerged growth.

培養して繁殖状態を観察した。

Table 5 の結果から、P-1 は使用糖類の中、ラクトース、マンニットを除いた全部に繁殖が認められるが、果糖、イヌリンでは孢子嚢形成が認められなかった。I. F. O. 5378 はラクトースでの繁殖は殆んど認められないがマンニットでは僅かに繁殖及び孢子嚢形成も認められた。

8. 各種炭水化物に対する醗酵能

Pfeffer 培地の蔗糖の代りに各種糖類 5% を添加し、ホールオブジェクトグラスにて小滴培養

Table 6. Fermentation of the various carbohydrates

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N
P-I	—	+	+	+	+	—	+	+	—	—	+	+	+	+
I. F. O. 5378	—	+	+	+	+	—	+	+	±	—	+	+	+	+

A: Lactose; B: Fructose; C: Mannit; D: Maltose; E: Inulin; F: Xylose; G: Galactose; H: Dextrin; I: Raffinose; J: Arabinose; K: Trehalose; L: Starch; M: Sucrose; N: Glucose.

+ : Gas formation; — : No gas.

し、2~3日後、該菌が増殖したのち、新しく各種糖類の培養基を添加して気泡の残らないようパラフィンで密封し、30°C で培養、ガス発生の有無を試験した。(Table 6 参照)

即ち、両菌株共に、果糖、マンニット、麦芽糖、イヌリン、ガラクトーズ、デキストリン、トレハロース、澱粉、蔗糖、グルコースを醗酵した。I. F. O. 5378 はラフィノースの醗酵を僅かに認めた。

9. 各種窒素質物上での生育状態

Pfeffer 培地より硝酸アンモンを除き、各種窒素化合物を1.5%宛添加し pH 5.5 とした培地に移殖、30°C で培養、10日後の繁殖状態を観察した。その結果を示すと Table 7 の通りである。

Table 7. Growth on the various N-substances

N-substances		P-I	I. F. O. 5378
Ammonium nitrate	Gr. Sp. Col. H.	+ E — grayish white	+ E — grayish white
Ammonium sulphate	Gr. Sp. Col. H.	+ E — grayish white	+ E — grayish white
Glycine	Gr. Sp. Col. H.	≡≡≡ ≡≡ grayish white 1.1 cm.	≡≡≡ ≡≡ grayish white 2.1 cm.
Asparagine	Gr. Sp. Col. H.	≡≡ — white 0.2 cm.	≡≡ — white 0.2 cm.
Ammonium phosphate	Gr. Sp. Col. H.	≡≡ ≡≡ grayish white 0.3 cm.	≡≡ + grayish white 0.4 cm.
Ammonium chloride	Gr. Sp. Col. H.	± —	— —
Peptone	Gr. Sp. Col. H.	≡≡ — cream 0.7 cm.	≡≡ — cream 0.8 cm.
Sodium nitrate	Gr. Sp. Col. H.	— —	— —
Potassium nitrate	Gr. Sp. Col. H.	— —	— —

Gr.: Growth; Sp.: Sporangium formation; Col.: Colour; H.: Height of mycelial felt.

即ち、両者何れも硝安、硫酸、グリシン、アスパラギン、燐安、ペプトンによく生育し、そのうち硝安、硫酸、アスパラギン、ペプトンでは孢子嚢形成が見られなかつた。

10. ゼラチンの液化及び牛乳に対する作用

A. ゼラチンの液化

ゼラチン 15% をとがした水道水を蒸気殺菌し、該菌を移殖、液化に要する日数をしらべた。

Table 8 から、P-1 は 5 日で、I. F. O. 5378 は 6 日で液化が完了した。

B. 牛乳に対する作用

脱脂乳を常法通り殺菌し、これに該菌を移殖して、牛乳の液化及び凝固、繁殖状態を観察した。(Table 9 参照)

即ち、P-1 は 2 日で生育、孢子形成、牛乳の凝固及び僅かに消化が見られたが、I. F. O. 5378 では、培養後 3 日で認められた。

Table 8. Liquefaction of gelatine

	Days for liquefaction
P-1	5
I. F. O. 5378	6

Table 9. Culture on skimmed milk

	2 days				3 days				5 days				10 days			
	Gr.	Sp.	Coag.	Dig.	Gr.	Sp.	Coag.	Dig.	Gr.	Sp.	Coag.	Dig.	Gr.	Sp.	Coag.	Dig.
P-1	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
I. F. O. 5378	±	-	-	-	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Gr.: Growth; Sp.: Sporangium formation; Coag.: Coagulation; Dig.: Digestion.

11. 静置培養における醗酵生産物

A. 麴汁培地及びグルコース培地における醗酵生産物

Brix 10%, pH 5.5 の麴汁に該菌を移殖、30°C で培養した培養濾液について酸、アルコール、残糖を定量した。尚グルコース培地は Pfeffer 培地の蔗糖をグルコース (3%) に代えたものである。又酸はフェノールフターレンを指示薬とし、100 ml 中の N NaOH の滴定数として表し、アルコールは酸化法²⁾により定量した。糖は Hanes 法を用いて定量した³⁾。(Table 10 参照)

B. 蒸米培地における醗酵生産物

外米を磨砕し、その 10 g を 100 ml 容三角フラスコに入れ、水 20 ml を添加、殺菌後該菌を移殖、30°C に培養、一定時間後に取出し、乳鉢にて磨砕して、水 250 ml で抽出、定量した。但し使用白米の澱粉含量 79.2%, 水分 12% であつた。(Table 11 参照)

Table 10. Fermentation products

		Sugar				Acid formed		Alcohol formed		
		Initial sugar	After 40 hrs.	After 83hrs.	%*	40hrs.	88 hrs.	40 hrs.	88 hrs.	%**
Koji extract	P-1	(g) 5.1	(g) 3.0	(g) 1.52	68.2	(ml) 2.6	(ml) 6.0	(g) 0.006	(g) 0.002	0.038
	I.F.O. 5378	5.1	3.0	1.54	67.8	2.0	2.8	0.006	0.002	0.045
Glucose	P-1	3.0	0.80	0.38	87.3	3.5	8.5	0.004	0.002	0.038
	I.F.O. 5378	3.0	0.93	0.68	77.3	2.5	3.5	0.0045	0.003	0.047

* $\frac{\text{Consumed sugar}}{\text{Initial sugar}} \times 100$

** Fermentation ratio : $\frac{\text{Determined value}}{\text{Theoretical yield}} \times 100.$

Table 11. Fermentation products of Rice

	Acid (% as lactic acid)		Reducing sugar		Residual starch		Alcohol formed	
	40 hrs.	88 hrs.	40 hrs.	88 hrs.	40 hrs.	88 hrs.	40 hrs.	88 hrs.
P-I	12.2	14.4	(%) 12.0	(%) 3.6	(%) 58.0	(%) 13.0	(%) 0.12	(%) 0.19
I. F. O. 5378	7.2	9.0	12.8	4.4	58.0	14.4	0.12	0.20

Table 10 及び Table 11 でわかるように、何れの培地でも、アルコールの生成は極めて僅かである。酸の生成は P-1 は I. F. O. 5378 に較べて、何れの培地でも高かつた。

12. 類 縁

胞子に線状明らかなこと、及び匍匐岐に厚膜胞子を生じ、胞子嚢が小型 (86~100 μ) である点、更に胞子嚢形成が良好であること、又胞子嚢柄が分岐し、胞子の大きさが変化多い点から伊藤⁵⁾及び山本⁶⁾の分類表に従えば *Rhizopus oryzae* に属することを知る。又生育限界温度、最適温度、胞子形成温度もよく合致し蔗糖、グルコース、麦芽糖、デキストリン、果糖及びトレハロースを醗酵する点もよく一致し又ゼラチン液化、牛乳の凝固、澱粉質物によく生育し、硝安で胞子嚢の形成がないこと及び酸、アルコールを作る点も等しい。武田⁶⁾の分類に従つても、Pfeffer 寒天培地で10日培養により、胞子嚢及び菌糸層共によく形成され、胞子嚢層が菌糸層より多く、イヌリンを醗酵することから、*Oryzae-Oryzae untergruppe* に属することも明らかである。トレハロースの醗酵能を有する点だけは武田の *Rhizopus oryzae* WENT et PR. GEERLIGS と異なる。しかし、I. F. O. 5378 (*Rhizopus oryzae* WENT et PR. GEERLIGS, Iowa State College, 14) とは繁殖及び生理試験の結果が近似し、トレハロースの醗酵能を有することも一致するので、*Rhizopus oryzae* WENT et PR. GEERLIGS と断定出来る。

13. 総 括

著者達の菜種より分離した乳酸生成能の大きい *Rhizopus* の一菌株は各器管の形態、大きさ、繁殖状態及び生理試験の結果 *Rhizopus oryzae* WENT et PR. GEERLIGS に属することを明らかにした。

文 献

- 1) 蟹江松雄・出来三男：鹿大農学術報告, 5, 127 (1956).
- 2) FRIEDMAN, T. E. and KLAAS, R.: *J. Biol. Chem.*, 115, 47 (1941).
- 3) 蟹江松雄・木佐貫操：日農化誌, 27, 712 (1953).
- 4) 伊藤誠哉：大日本菌類誌, 1, 246 (1936).
- 5) YAMAMOTO, Y.: *J. Fac. Agr. Hokkaido Imp. Univ.*, 28, 1 (1936).
- 6) 武田義人：日農化誌, 11, 845 (1935).

R é s u m é

A strain of *Rhizopus* which had been isolated from the rape-seed and verified as a strong former of lactic acid was known to come under *Rhizopus oryzae* WENT et PR. GEERLIGS.

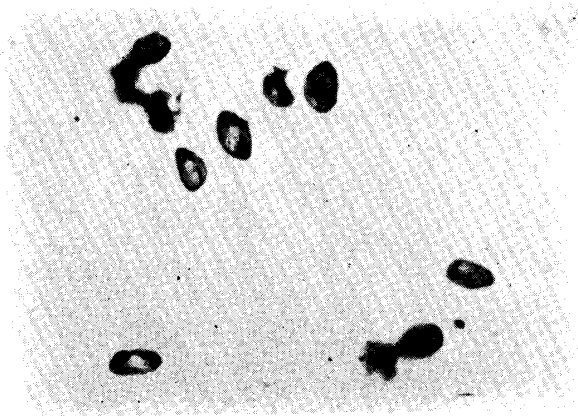


Fig. 1. Spore

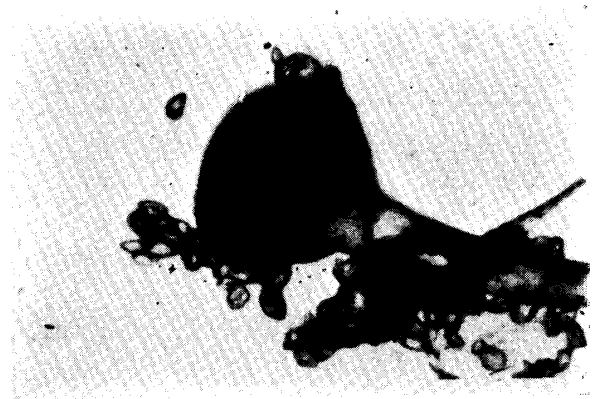


Fig. 2. Columella

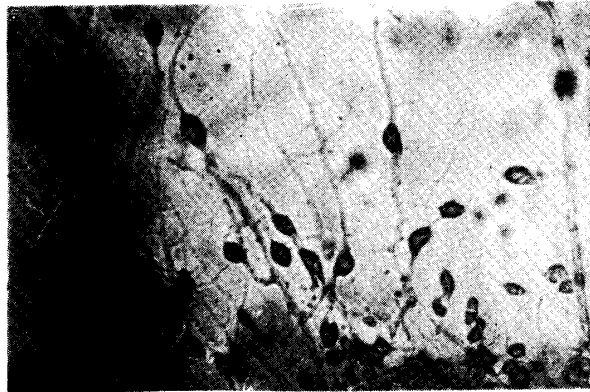


Fig. 3. Chlamydospore

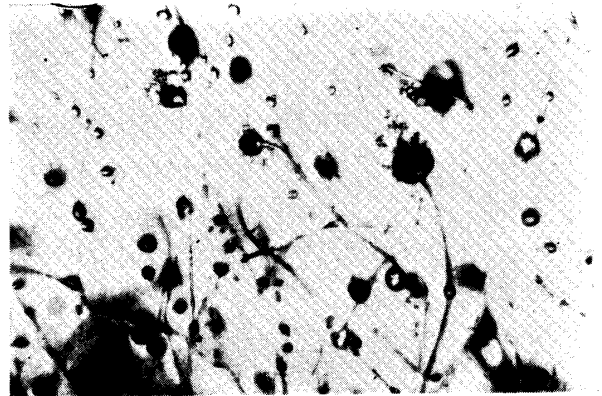


Fig. 4. Sporangiphore