

酿酒酵母属的分类学研究进展

白 逢 彦

(中国科学院微生物研究所真菌地衣系统学开放研究实验室 北京 100080)

关键词: 酵母菌, 酿酒酵母属, 分类

中图分类号: Q93 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654(2000)02-0139-04

由于酵母菌的巨大经济价值, 国内外对这类微生物从基础到应用各方面的研究一直都非常活跃, 而其中最基础的学科, 酵母菌分类学, 亦经历了巨大变化。

了解当前最具有经济重要性的酿酒酵母菌的属种概念

收稿日期: 1999-02-20, **修回日期:** 1999-03-01

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>

及其分类方法,无疑对更好地掌握和利用这类酵母菌具有重要意义。

1 酿酒酵母属的建立及其早期分类学研究

酿酒酵母属(*Saccharomyces* Meyen ex Reess)的分类学研究历史可追溯到一个半世纪以前,Meyen于1838年首次提出了*Saccharomyces*这一属名,并将啤酒酵母命名为*Saccharomyces cerevisiae*,1870年Reess对酿酒酵母属作了更精确的定义:简单子囊菌,无真菌丝,细胞通过重复出芽而繁殖,有些细胞发育为子囊,含有1~4个子囊孢子。他把发酵果汁的酵母与啤酒酵母区别开,命名为椭圆酵母(*Saccharomyces ellipsoideus*)。Hansen(1883, 1888)发展并完善了Pasteur的纯培养技术,获取了酿酒酵母菌的纯培养,并对其进行了形态和生理特征的研究。Hansen将*Saccharomyces cerevisiae*这一种名应用于上层发酵酵母,而将底层发酵酵母命名为卡尔酵母(*Saccharomyces carlsbergensis*)。

2 酿酒酵母属分类系统的演变

Stelling-Dekker在其1931年出版的有关产子囊孢子的酵母菌的分类学专著中,在*Saccharomyces*属中收录了23个种^[1]。在1952年出版的第一本由Lodder和Kreger-van Rij合著的综合性酵母菌分类学专著《酵母菌的分类学研究》(*The Yeasts, a Taxonomic Study*)中,*Saccharomyces*的概念发生了很大变化,她们把接合酵母属(*Zygosaccharomyces*)内的所有种,有孢圆酵母属(*Torulaspora*)的3个种和德巴利酵母属(*Debaryomyces*)的个别种都归入*Saccharomyces*属中。尽管她们扩大了*Saccharomyces*属的界限,但在该属中只包含了30个种,在将许多种进行合并的同时,又描述了15个新种^[2]。

*Debaryomyces*属原来的主要区别特征为子囊孢子壁有疣状纹饰,Lodder和Kreger-van Rij认为该性状在光学显微镜下有时不清楚甚至看不到,不足以做为属的鉴别特征。她们修改了该属的定义,只包括发酵能力弱或无的种,而把具有强发酵能力的菌种移入*Saccharomyces*属。

*Saccharomyces*属的特征为营养细胞主要是双倍体的,子囊由双倍体营养细胞直接转化而来。*Torulaspora*属和*Zygosaccharomyces*属的营养细胞主要是单倍体的,前者以子母细胞结合的方式形成子囊,后者以两个

营养细胞结合的方式形成子囊。Lodder和Kreger-van Rij发现*Torulaspora*属内的种亦产生单胞孢子囊,而*Zygosaccharomyces*属代表*Saccharomyces*的单倍体阶段,在一定条件下可能转化为双倍体而与后者难以区别。

在1970年出版的由Lodder主编的《酵母菌的分类学研究》第二版中,van der Walt建立了一个新的*Saccharomyces*属分类系统^[3]。van der Walt基本上接受了Lodder和Kreger-van Rij对*Saccharomyces*属的界定,依然将*Torulaspora*属和*Zygosaccharomyces*属并入该属内,但对属下种的界定更细,将种数增加至41个。

然而,在1984年出版的由Kreger-van Rij主编的《酵母菌的分类学研究》第三版中,Yarrow却将*Saccharomyces*属的种数降至7个,他把该属内狭义酿酒酵母组(*Saccharomyces sensu stricto*)中的21个种合并为一个种:*Saccharomyces cerevisiae*。一些著名的种,包括卡尔酵母(*Saccharomyces carlsbergensis*),糖化酵母(*Saccharomyces diastaticus*),椭圆酵母(*Saccharomyces ellipsoideus*),脆壁酵母(*Saccharomyces fragilis*)和葡萄汁酵母(*Saccharomyces uvarum*)等均被降为*Saccharomyces cerevisiae*的异名^[4]。

*Saccharomyces*属内种数的减少,可以归结为下列原因:1) *Torulaspora*属和*Zygosaccharomyces*属的重新确立。van der Walt和Johannsen于1975年重新定义了*Torulaspora*属,并承认*Zygosaccharomyces*为一独立的属,将二者从*Saccharomyces*属中分离出来。2)种间杂交、DNA碱基组成和血清型研究。Yarrow和Nakase也于1975年发表了他们对*Saccharomyces*属进行的一系列研究的结果,包括种间杂交和DNA碱基组成。他们发现*Saccharomyces cerevisiae*与另外17个种,包括贝酵母(*Saccharomyces bayanus*),薛瓦酵母(*Saccharomyces chevalieri*),*Saccharomyces diastaticus*和*Saccharomyces uvarum*等之间没有区别,而另外18个种应分别移入*Zygosaccharomyces*和*Torulaspora*属内。Fukazawa等(1980)的血清型研究也得出了相似的结论。

根据上述研究结果,Yarrow建立了*Saccharomyces*属的7种系统,并因该系统被1984年出版的《酵母菌的分类学研究》第三版所接纳而对*Saccharomyces*属以后的分类学研究产生了巨大影响。但在应用研究领域,却存在不同观点,主要出于商业上的考虑,许多工业微生物

物研究者坚持将底层发酵酵母称为 *Saccharomyces carlsbergensis*, 将可水解淀粉的酵母称为 *Saccharomyces diastaticus* 等。

3 分子生物学技术对酿酒酵母属分类学研究的影响

传统的酵母菌分类所依据的形态和生理生化特征, 包括对碳水化合物的发酵和同化能力, 都是表型性状, 而有些表型性状是不稳定的。Scheda 和 Yarrow^[5] 比较研究了 *Saccharomyces* 属几个种的冷冻干燥保藏菌株和斜面保藏菌株的发酵和同化性状, 发现经过长期的麦芽汁斜面保藏以后, 有些菌株可以获得发酵或同化蔗糖、麦芽糖、绵子糖和半乳糖中的一种或几种糖类的能力。根据发酵或同化性状, 有时甚至可将同一菌株的冷干管保藏株和经过多次转接的斜面保藏株鉴定为不同的种。为了弥补传统分类方法的不足, 新的分类技术, 尤其是分子生物学技术, 不断被应用于酵母菌的分类学研究中。近年来 DNA-DNA 同源性、脉冲电泳 (PFGE) 核型分析和 rRNA / rDNA 序列分析等的应用, 对酿酒酵母属的分类产生了重大影响。

DNA-DNA 同源性研究, 大体上肯定了 Yarrow 的 7 种系统内大多数种的划分的合理性, 但发现 *Saccharomyces cerevisiae* 是一个非自然种。在 Yarrow 界定的 *Saccharomyces cerevisiae* 种内, 至少存在 4 个遗传上独立的种, 它们是: 贝酵母 (*Saccharomyces bayanus*), 酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*), 奇异酵母 (*Saccharomyces paradoxus*) 和巴氏酵母 (*Saccharomyces pastorianus*)^[6-8]。因此, 在 Barnett 等于 1990 年出版的《酵母菌: 特征与鉴定》(Yeasts:

Characteristics and Identification) 一书中, *Saccharomyces* 属由 7 种增加至 10 种^[9]。

Vaughan-Martin^[9] 等用钳位均匀电场 (contour-clamped homogeneous electric field, CHEF) 脉冲电泳系统研究了 *Saccharomyces* 属 10 个种的分子核型, 估测了每个种模式菌株的染色体条数和基因组大小 (表 1), 并发现 PFGE 核型的相似程度与 DNA-DNA 同源率之间具有一定的正相关性^[10]。

但是, PFGE 核型分析也发现, *Saccharomyces* 属的种间在脉冲电泳核型上存在差异的同时, 也存在种内染色体组成多态性 (chromosomal polymorphisms), 即同一种内不同菌株的 PFGE 核型有一定程度的差异, 表现为染色体条数或同一条染色体的大小不尽相同。Cardinali 和 Martini^[11] 研究了经过 DNA 同源性确定证的狭义酿酒酵母组内 4 个种大量菌株的 PFGE 核型, 发现同种不同菌株的染色体 DNA 分子带数的变异幅度分别为: *S. cerevisiae*, 12~14 条; *S. bayanus*, 14~17 条; *S. pastorianus*, 11~13; *S. paradoxus*, 12~14 条。我们应注意到, 在 PFGE 核型上显示的染色体 DNA 分子带数并不一定反映真实的染色体条数, 因为分子量相同或相差不大的不同染色体不能被分开, 不同的脉冲电泳条件也可能得出不同的带谱 (比较文献 [10] 和 [11] 给出的数字)。但这类研究所显示的菌株间的相对差异, 却是出乎意料的, 酵母菌遗传学研究中常用的 *S. cerevisiae* 实验菌株具有 16 条染色体^[12], 在 PFGE 核型分析中也可显示出 15~16 条带, 而来自生产和自然环境中的 *S. cerevisiae* 菌株之间及其与实验菌株之间在基因组组成上确实存在很大差异^[11-13], 这一现象为酵母菌的分类学研究提出了新的课题。

James 等^[14] 根据 18S rRNA 基因序列, 对酿酒酵母属及其相关属, 包括 *Kluyveromyces*, *Torulaspora* 和 *Zygosaccharomyces* 进行了分子系统学分析。结果显示, 在系统树上狭义酿酒酵母组内的 4 个种形成一独立的分支, 表明其间具有非常近缘的系统演化关系, 但该属的其它种却分散在不同的分支中, 并与 *Kluyveromyces*, *Torulaspora* 或 *Zygosaccharomyces* 属的某些种聚合在一起。分子系统学研究表明, 以形态和生理生化特性界定的酿酒酵母属及其相关属均是同源性的非自然属, 应进行进一步的分类学调整。

主要根据 DNA-DNA 同源性和 PFGE 核型分析结

表1 *Saccharomyces* 属各个种模式菌株的基

基因组组成 ^[10]		
种名	染色体条数	基因组大小(kb)
<i>S. bayanus</i>	17	14,630
<i>S. castellii</i>	8	9,415
<i>S. cerevisiae</i>	12	11,085
<i>S. dairensis</i>	6	7,920
<i>S. exiguus</i>	11	10,800
<i>S. kluyveri</i>	7	9,550
<i>S. paradoxus</i>	15	13,105
<i>S. pastorianus</i>	14	11,750
<i>S. servazzii</i>	9	10,430
<i>S. unisporus</i>	11	11,375

果, Vaughan-Martini 及其同事于近几年发表了 3 个酿酒酵母属新种, 并将曾经独立为属 (*Pachytichospora*) 的一个种 *Saccharomyces transvaalensis* 重新划归酿酒酵母属中。因此在 1998 年出版的《酵母菌的分类学研究》第四版中, 酿酒酵母属的种数增加至 14 个^[15]。如果加上 James 等于 1997 年根据 18S rRNA 基因序列分析结果发表的未得及被收录进上述新版专著的另 2 个新种, 酿酒酵母属现在共包括 16 个种。

4 工业酿酒酵母及其鉴别

与工业生产关系最密切的 4 个种构成了 *Saccharomyces* 属内的狭义酿酒酵母组 (*Saccharomyces sensu stricto*), 它们是: *S. bayanus*, *S. cerevisiae*, *S. paradoxus* 和 *S. pastorianus*。大量的生态和生物技术方面的研究表明, *S. cerevisiae* 是酒精生产和果汁发酵酿酒的主要菌种, 传统的名称, 如 *S. ellipsoideus*, *S. oviformis*, *S. cheresiensis*, *S. chevalieri* 等代表 *S. cerevisiae* 种下具有不同技术性能的株系。Vaughan-Martini 和 Kurtzman^[6]发现 *S. bayanus* 和 *S. cerevisiae* 之间的 DNA 同源率很低, 只有 10%, 而 *S. pastorianus* (*S. carlsbergensis*) 与前二者之间的 DNA 同源率都很高, 为 58%~70%, *S. cerevisiae*, *S. bayanus* 和 *S. pastorianus* 的基因组相对大小为 1:1.15:1.46, 因此他们认为 *S. pastorianus* 是由 *S. bayanus* 和 *S. cerevisiae* 杂交产生的部分异源多倍体 (allopolyploid) 演化而来。他们研究的还发现啤酒生产中应用的菌株大多属于 *S. pastorianus*^[6, 15]。 *S. paradoxus* 只存在于自然环境中, 从生产环境中很少分离到, 根据 DNA 杂交试验和遗传分析, 有人推测应用于工业生产的酿酒酵母菌株可能是由 *S. paradoxus* 驯化而来^[15]。

上述 4 个种在形态和生理生化等表型性状上非常相似, *S. bayanus* 和 *S. paradoxus* 可分别以在无维生素培养基中的生长能力和对甘露醇的同化能力而区别于 *S. cerevisiae* 和 *S. pastorianus*, 后二者之间的区别更模糊, 一般来说, 属于 *S. pastorianus* 的菌株不能在高于 34℃ 的温度下生长, *S. cerevisiae* 菌株的最高生长温度

虽是多变的, 但大多数可在 37℃ 或更高的温度下生长。

参 考 文 献

- [1] Stelling-Dekker N M. Die sporogenen Hefen. Verh. Kon. Ned. Akad. Wetensch., Afd. Natuurk., Sect. II, 1931, 28:1~547.
- [2] Lodder J, Kreger-van Rij. The Yeasts, a Taxonomic Study. Amsterdam: North-Holland Publishing Company, 1952.
- [3] van der Walt J P. Genus 16. *Saccharomyces* Meyen emend. Reess. In Lodder J ed. The Yeasts, a Taxonomic Study, 2nd edn. Amsterdam: North-Holland Publishing Company, 1970, 555~718.
- [4] Yarrow D. Genus 22. *Saccharomyces* Meyen ex Reess. In Kreger-van Rij N J W ed. The Yeasts, a Taxonomic Study, 3rd edn. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B. V., 1984, 379~395.
- [5] Scheda R, Yarrow D. Arch Mikrobiol, 1968, 61: 310~316.
- [6] Vaughan-Martini A, Kurtzman C P. Int J Syst Bacteriol, 1985, 35:508~511.
- [7] Vaughan-Martini A, Martini A. Antonie van Leeuwenhoek, 1987, 53:77~84.
- [8] Vaughan-Martini A. Syst Appl Microbiol, 1989, 12: 179~182.
- [9] Barnett J A, Payne R W, Yarrow D. Yeasts: Characteristics and Identification, 2nd edn. Cambridge: Cambridge University Press, 1990.
- [10] Vaughan-Martini A, Martini A, Cardinali G. Antonie van Leeuwenhoek, 1993, 63:145~156.
- [11] Cardinali G, Martini A. Int J Syst Bacteriol, 1994, 44:791~797.
- [12] Gerring S L, Connelly C, Hieter P. Meth Enzymol, 1991, 194:57~77.
- [13] Bai F Y, Jia J H. Mycosystema, 2000, 19:69~71.
- [14] James S A, Cai J, Roberts I N et al. Int J Syst Bacteriol, 1997, 47:453~560.
- [15] Vaughan-Martini A, Martini A. *Saccharomyces* Meyen ex Reess. In Kurtzman C P, Fell J W ed. The Yeasts, a Taxonomic Study, 4th edn. Amsterdam: Elsevier Science B. V., 1998, 358~371.