

啤酒酵母两个品系孢子形成特性的观察

徐志彦 王敏

(杭州师范学院生物系, 浙江杭州)

摘要 本项研究利用啤酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 正常品系 2558 和呼吸缺陷突变体 2558-1, 通过正常的孢子形成培养条件、改变孢子形成培养温度及细胞密度等多项试验, 观察子囊形成率的变化及品系间差异。不同品系在上述试验条件下孢子形成特性的明显变异与细胞生活周期中减数分裂受影响有关。

关键词 啤酒酵母; 呼吸缺陷突变体; 孢子形成

啤酒酵母孢子形成期间基因的作用及其表达, 国外已有报道^[1]。并且在环境致变物检测中已引入酵母菌有丝分裂重组和突变的方法^[2]。本项研究试图在环境致变物检测中引入孢子形成性状, 建立以该性状为主要检测指标的微生物体系。

本文报道了啤酒酵母菌 (*Saccharomyces cerevisiae*) 正常品系和呼吸缺陷突变体 2558-1, 在正常培养条件和改变了的培养条件下孢子形成特性的观察。

材料和方法

(一) 菌株

2558 是野生型二倍体品系。2558-1 是用溴化乙锭 (20 μg/ml) 处理 2558 选到的一个呼吸缺陷突变体 (简称 RD)。

(二) 培养基

酵母孢子形成预培养基; 正常的成分是每升含酵母膏 8g, 蛋白胨 3g, 葡萄糖 100g。酵母孢子形成培养基 (SPM): 正常的成分是每升含醋酸钾 10g, 酵母膏 1g, 葡萄糖 0.5g, 琼脂 20g。

(三) 酵母孢子形成的预培养和培养

按 Robert^[3] 介绍的方法进行。

(四) 子囊形成率计算

菌株培养两天后, 定期取样, 在光镜下观察孢子形成的情况。计数时, 随机取 3 个视野, 分别计数含孢子的子囊和不产生孢子的细胞, 按

下列公式计算子囊形成率:

$$\text{子囊形成率 \%} = \frac{\text{3 个视野中形成孢子的子囊总数}}{\text{3 个视野中形成孢子的子囊总数} + \text{不产生孢子的细胞总数}} \times 100\%$$

实验结果

本试验设计了不同温度、不同营养条件、不同细胞密度等项实验处理。各项处理的实验结果分别见表 1—4。从结果可见:

表 1 不同温度对酵母孢子形成的影响

品系	温度 (°C)					10 和 40
	30					
子囊形成率 (%)	培养时间 (天)					3—7
	3	4	5	6	7	
2558	5.88	24.19	40.63	54.84	70.27	0
2558-1	0	0	<0.2	0.36	1.80	0

1. 无论在正常培养条件下还是在改变的培养条件下, 就子囊形成率及孢子出现的时间来说, 2558 与 2558-1 之间存在明显差异。2558 的子囊形成率比 2558-1 高, 孢子出现的时间早 2—3 天。

参加本项研究的还有方颖、芦民同志。

表 2 改变酵母孢子预培养基成分对孢子形成的影响

处理	时间(天)	两种品系的子囊形成率(%)	
		2558	2558-1
以蔗糖代替葡萄糖	3	3.70	0
	4	7.69	0
	5	7.81	<0.1
	6	14.94	0.54
	7	20.00	1.18
无蛋白胨	3	2.38	0
	4	5.00	0.41
	5	9.52	0.93
	6	13.23	1.09
	7	16.33	1.76
无酵母膏	3	0	0
	4	<0.10	0
	5	0.27	<0.1
	6	1.33	<0.1
	7	1.66	<0.1
正常培养基(对照)	3	8.70	0
	4	37.59	0
	5	48.28	0.29
	6	58.68	1.09
	7	63.64	1.11

表 3 改变酵母孢子形成培养基成分对酵母孢子形成的影响*

处理	时间(天)	两种品系的子囊形成率(%)	
		2558	2558-1
磷酸二氢钾代替醋酸钾	3-7	0	0
无酵母膏	3	0	0
	4	0	0
	5	<0.1	0
	6	<0.1	0
	7	<0.3	0
葡萄糖增至 0.5%	3	0	0
	4	0	0
	5	0	0
	6	<0.1	0
	7	<0.3	0
葡萄糖减至 0.01%	3	0	0
	4	0.51	0
	5	1.38	0
	6	1.55	0
	7	3.57	0

* 对照组同表 2, 此表略。

表 4 不同细胞密度对酵母孢子形成的影响

处理(细胞/ml)	时间(天)	两种品系的子囊形成率(%)	
		2558	2558-1
10^5	3	0.81	0
	4	2.44	0
	5	3.83	<0.2
	6	10.11	<1
	7	12.75	<0.9
10^7	3	8.70	0
	4	37.59	0
	5	48.28	0.29
	6	58.68	1.09
	7	63.64	1.11
10^9	3	0.38	0
	4	2.93	0
	5	4.99	0
	6	5.54	<0.3
	7	6.55	<0.2

2. 孢子形成的最适温度是 30℃, 而在 10℃ 和 40℃ 都不形成孢子。

3. 改变预培养基成分能使 2558 和 2558-1 都有孢子形成, 但子囊形成率都比对照组下降。

4. 改变酵母孢子形成培养基的成分对酵母细胞形成孢子的影响更大。在以磷酸二氢钾代替醋酸钾的培养基上, 完全没有形成孢子。改变其它成分也明显地降低 2558 的子囊形成率。在这组处理中, 2558-1 都不能形成孢子。

5. 当预培养基上的细胞密度为 10^7 时, 把培养的细胞转入 SPM 进行孢子培养, 子囊形成率最高。当细胞密度为 10^5 或 10^9 时转入 SPM, 都会降低子囊形成率。

讨 论

酵母细胞的孢子形成是生活周期中减数分裂的结果, 往往先经历减数分裂前 DNA 的合成。合成 DNA 和减数分裂都以提供能量为条件。呼吸缺陷突变体只能通过糖酵解, 而不是通过氧化磷酸化途径生成 ATP^[4], 因而能量有限, 孢子形成较困难。

无论是 2558 还是 2558-1, 在 10℃ 和 40℃ 都不产生孢子, 其原因可能是酵母细胞内多种

酶的活性发生了变化。据报道,孢子形成期间,蛋白酶 A^[5] 和核糖核酸酶^[6] 的活性都增加。这些酶对于酵母孢子形成是必需的。因此,温度的升降间接地影响了孢子形成^[7]。

从改变营养成分的实验结果可以看出,当酵母孢子形成预培养基的某一成分缺少或被取代时,都会降低子囊形成率。若改变酵母孢子形成培养基的成分,影响则更大。因为减数分裂形成孢子的最初步骤是由酵母孢子形成培养基诱发的^[5]。因此,酵母孢子形成培养基的某一成分缺少或被取代时,都会影响减数分裂,最终影响孢子形成。

值得注意的是,在酵母孢子形成培养基中,若以磷酸二氢钾代替醋酸钾,会使 2558 和 2558-1 都不产生孢子。这可能涉及到形成孢子要求适宜的 pH。磷酸二氢钾的电离常数比醋酸钾高,所以溶液的 pH 较低。虽然酵母细胞可以生活在偏酸性 (pH3—6) 的环境下^[8],但在低 pH 的环境下是不能形成孢子的。在孢子形成最初的 3—5 小时,把酵母孢子形成培养基的

pH 由 7 提高到 9 是必需的。这条件还可能与下列因素有关,形成孢子所涉及的酶都需要有适宜的 pH, 过高或过低的 pH 都会影响酶活性,从而间接影响孢子形成。

在上述实验条件下,当 2558 和 2558-1 的孢子形成性状发生变异时,有关的酶活性的变化还有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Dawes, I. W.: In J. F. T. Spencer et al. (eds.), *Yeast Genetics*, 29—64, 1983.
- [2] Zimmermann, F. K.: In B. J. Kilbey et al. (eds.) *Handbook of Mutagenicity Test Procedures*, 119—134, 1977.
- [3] Robert, C.K.: In "Handbook of Genetics, Vol. 1. 365—366, 1974.
- [4] 四川大学译:微生物生物学,人民教育出版社,300—302, 1980.
- [5] Simchen, G. et al.: *Exp. Cell. Res.* 75: 207—218, 1972.
- [6] Esposito, M. S. et al.: In "Method in Cell Biology, Vol. XI Yeast Cell" (ed. by David M. Prescott), Academic Press, 303—327, 1975.
- [7] 施达屏:微生物学通报, 9(6): 291—294, 1982.
- [8] 李明霞:微生物学通报, 1(2): 25—29, 1974.