

研究简报

云南热泉酵母菌的初步调查研究*

李绍兰 陈有为 方霭祺

(云南省微生物研究所, 昆明)

A PRELIMINARY INVESTIGATION OF THE YEAST IN THE HOT SPRINGS IN YUNNAN

Li Shaolan Chen Youwei and Fang Aiqi

(Yunnan Institute of Microbiology, Kunming)

关键词 热泉, 酵母菌, 耐热酵母菌

Key words Hot spring, Yeast, Thermotolerant yeast

酵母菌是人类开发利用的第一种微生物, 也是最有经济价值的微生物之一。但是, 目前国内对于能在 37℃ 以上生长的耐热酵母菌 (thermotolerant yeast) 开发利用还比较少。

云南系我国的地热地震活动频繁的地区, 热泉遍及全省各地, 是分离好热微生物的理想场所。云南省境内热泉约 654 处, 一般都出露在河谷及山麓地带, 大部分沿深大断裂带、断裂密集带出露, 有规律的呈南北向、东北向和北西向带状排列。所处构造部位和构造活动程度制约, 呈现分带(分区)现象。各带的释热量、地温梯度由西向东呈波状递减。大部分热泉成因与深部循环地下水有关, 少量与火成岩有关。水温以 20—60℃ 为多, 在出露点大部分与地表水、潜水混合并降温。水质以 HCO_3^- -Na, HCO_3^- -Ca, HCO_3^- -Na、Ca, $\text{HCO}_3^- \cdot \text{SO}_4$ -Ca 和 $\text{HCO}_3^- \cdot \text{SO}_4$ -Na、Ca 五种类型为主。矿化度一般小于 1 克/升, 含一定量的 H_2S 、 CO_2 , 极少数含稀有元素。pH 值一般为 6.5—8, 但也有少数为 9—10。

我们从 1984 年开始对云南省热泉酵母菌进行调查, 现初报如下:

材料与方 法

样 品

根据云南省地热分区与温泉分布图, 我们对滇西中-高温热水区及滇中、滇东低-中温热水区内 32 个温泉进行了调查, 共采集不同水温、水质、pH 及沉积物样品 175 个, 其中泉水样品 39 个, 沉积物样品 124 个。

方 法

水样采集用无菌取水样瓶直接采样, 沉积物用采样钎进行采样; 样品用系列稀释法稀释后涂平皿^[1](培养基: YPD), 置 28℃、42℃、45℃ 培养 72 小时后进行观察记录。

酵母的分类鉴定采用 Kreger-Van Rij (1984) 的方法^[2]; DBB 反应参照乐静珠的方法^[3]; 尿素酶活性测定参考 Lodder (1970) 的方法^[4]。

生物量测定用比浊法; 乙醇含量测定用气相色谱内标标准曲线法。

$$\text{出现频率}(\%) = \frac{\text{分离到酵母菌的样品数}}{\text{样品总数}} \times 100$$

$$\text{分得率}(\%) = \frac{\text{分离到酵母菌的株数}}{\text{样品总数}} \times 100$$

* 参考了云南省水文地质公司编写的“云南省水文地质报告”。

1989 年 7 月 10 日收到。

结果与讨论

热泉中酵母菌的分布

1. 不同温度样区酵母菌株的数量

酵母菌可以生存的温度界限比细菌低,也比某些高等丝状真菌低,而且随不同种类而异^[1]。我们对不同温度的热泉及同一热泉的不同温度样区进行了酵母菌的分离筛选,共得酵母菌 122 株(表 1)。

2. 不同栖息场所的酵母菌

热泉中微生物的栖息场所主要是泉水和沉积物,但由于泉水的有机物含量低,特别是缺少酵母菌生长繁殖所必须的碳源,所以很少有酵母菌生长。而沉积物中的有机质比泉水丰富,故酵母菌

也较多(表 2)。

热泉中酵母菌的区系特征

1. 泉水

在泉水中分离到 6 株酵母菌都属于隐球酵母属 (*Cryptococcus*)。

2. 沉积物

沉积物中分离到 114 株酵母菌。其中以假丝酵母属 (*Candida*)、红酵母属 (*Rhodotorula*) 和隐球酵母属 (*Cryptococcus*) 占优势。其他属的菌株较少,看来热泉中的酵母菌区系较单纯的优势属明显(表 3)。

热泉中酵母菌的耐热特性

从不同温度的 32 个热泉中分离到的 122 株酵母菌中,有 30 株(24.59%)是在 42℃ 的培养下

表 1 不同温度样区酵母菌出现的频率和分得率

Tab. 1 The frequency and yield of the yeasts in the plots with different temperature

样区温度(℃) Temperature plot	样品数量 Total sample	酵母菌出现频度(%) Frequency of yeast occurrence	酵母菌株数量 Number of yeast strains	酵母菌率(%) Yield
26—40	25	32	34	136.0
41—60	99	31.3	78	78.8
61—80	43	11.6	10	23.3
81—90	5	0	0	0

表 2 不同栖息场所酵母菌的分得率(%)

Tab. 2 The yield of yeasts in different habitats

栖息场所 Habitat	样品数量 Total sample	酵母菌株数 Number of yeast strains	酵母菌得率(%) Yield
泉水 Spring	39	6	15.4
漂浮物 Floatage	9	2	22.2
沉积物 Diluvium	124	114	91.9

表 3 不同温度样区内沉积物中酵母菌的种类

Tab. 3 The yeasts from diluvium in plots with different temperatures

样区温度(℃) Temperature plot	酵母菌的数量(株) Number of yeast strains					
	样品数量 Total sample	总数 Total	<i>Candida</i>	<i>Rhodotorula</i>	<i>Cryptococcus</i>	其他
26—40	15	32	19	2	0	11
41—60	74	72	29	14	11	18
61—80	33	10	3	4	1	2
81—90	2	2	—	—	—	2

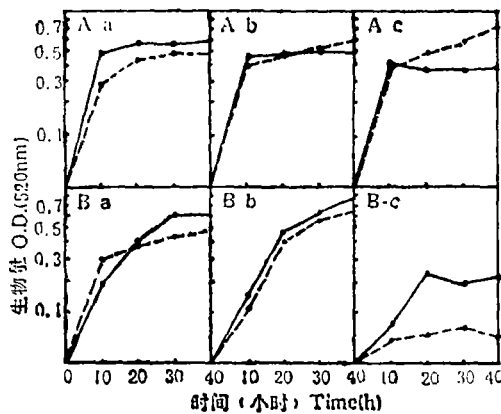


图1 A: 两个不同属菌株 C_{28} (*Saccharomyces cerevisiae*) ●——● 和 C_{35} (*Candida* sp) ○——○, 在不同温度条件下静止培养 40 小时的生长曲线 A-a 28°C, A-b 40°C, A-c 42°C
B: 同属但不同种的两个菌株 C_{32} (*Candida* sp) ●——● 和 C_{35} (*Candida* sp) ○——○, 在不同温度条件下静止培养 40 小时的生长曲线 B-a 28°C, B-b 43°C, B-c 46°C

Fig. 1 The growth curve of different strains under different temperature conditions.
A: The growth curve of the two strains belonging to different genera C_{28} (*Saccharomyces cerevisiae*) ●——● and C_{35} (*Candida* sp) ○——○. A-a 28°C, A-b 40°C, A-c 42°C
B: The growth curve of the two strains belonging to different species of the same genus, C_{32} (*Candida* sp) ●——● and C_{35} (*Candida* sp) ○——○. B-a 28°C, B-b 43°C, B-c 46°C

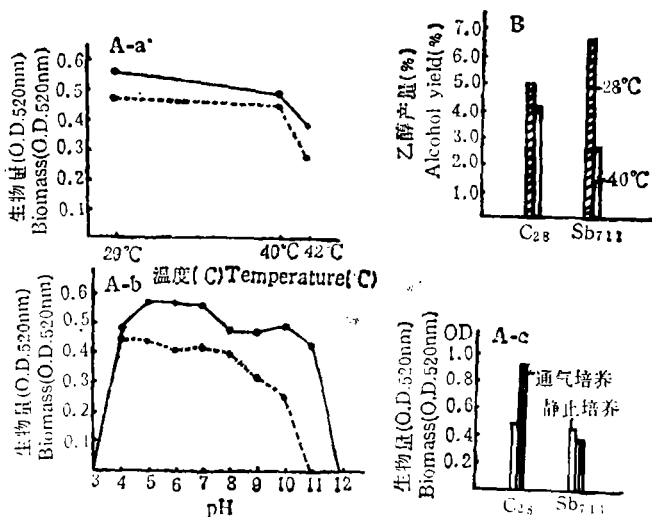


图2 不同条件下 C_{28} 和 Sb_{711} 的生物量及酒精产量的比较
A: 不同条件下 C_{28} ●——● 和 Sb_{711} ○——○ 生物量的比较, A-a 温度(°C), A-b pH, A-c 培养方式
B: 不同温度条件下 C_{28} 和 Sb_{711} 的酒精产量

Fig. 2 Comparison of the biomass and the alcohol yield of C_{28} with Sb_{711} under different conditions
A: Comparison of the biomass of C_{28} (*Saccharomyces cerevisiae*) ●——● with Sb_{711} (*Saccharomyces cerevisiae*) ○——○ under different conditions. A-a temperature (°C), A-b pH, A-c mode of cultivation
B: Comparison of the alcohol yield of C_{28} with Sb_{711}

得到的,还有 22 株(18.03%)是在 45℃ 培养条件下得到的。另外 70 株(57.38%)是在 28℃ 分得的,其中有 31 株可以在 40℃ 以上生长繁殖。所以能在 40℃ 以上生长繁殖的耐热酵母菌共有 83 株,占从热泉中分到酵母菌的 65.35%。

1. 热泉中不同种类耐热酵母菌的生长繁殖和温度的关系

能在 40℃ 以上生长的 83 株酵母菌中,除了 1 株隐球酵母 (*Cryptococcus* sp) 1 株酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 1 株红酵母 (*Rhodotorula* sp)、2 株地霉 (*Geotrichum* sp) 外,假丝酵母属 (*Candida* sp) 的菌株有 78 株,占 93.98%。

我们将从汤池 60℃ 热泉中分到的不同属的两株酵母菌 C_{28} (*Saccharomyces cerevisiae*) 和 C_{33} (*Candida* sp) 以及同属于假丝酵母属 (*Candida*) 不同种的两个菌株 C_{32} 和 C_{35} , 在不同温度条件下的生长速度作了比较,看出虽然在同一温度条件下生长的菌株,由于生物学特性的不同,对不同温度条件的反应有明显的差异^[4] (图 1)。

2. 耐热酵母菌温度驯化的初步研究

对于微生物生长繁殖的温度是否可以通过驯化而提高,这个问题至今仍有争议^[3]。我们对同属于酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 的两个不同来源菌株 C_{28} (来自汤池 60℃ 热泉的好热酵母菌)、 Sb_{711} (酒精生产中温酵母菌)作了不同温度、不同 pH 值、不同培养条件下生物

量的比较,以及不同温度条件下酒精发酵力的比较。明显可看出 C_{28} 的耐热性优于 Sb_{711} , 对 pH 的适应范围也略宽,如果在通气条件下培养,其生物量比静止培养高一倍。从产酒率的比较可见 C_{28} 在发酵温度 40℃ 和 28℃ 时产酒率变化不大,而 Sb_{711} 在发酵温度 40℃ 时比 28℃ 产酒率下降了 75% (图 2)。

应该说明的是酵母菌在自然界的生长温度与实验室人工培养的生长温度界限有较大的差异,我们从 32 个温泉中分离筛选到的 122 株酵母菌中没有一株可以在 50℃ 以上进行人工培养。

参考文献

- [1] 乐静珠, 1983. 酵母各属间颜色反应、尿素酶活性和发酵力的比较. 真菌学报, 2(1): 41—49.
- [2] 陈绍铭、郑福寿, 1985. 水生微生物学实验法. 141—144 页. 海洋出版社.
- [3] 大岛泰郎, 1978. 好热性细菌. 11—12 页. 东京大学出版社.
- [4] Cooney, D. G. and Emerson, R., 1964. Thermophilic Fungi, pp. 106—107. W. H. Freeman and Co.
- [5] Kreger-Van Rij, 1984. The yeast: A taxonomic study, pp. 45—97, 967—973. Elsevier Science Publishers B. V. 3rd ed.
- [6] Lodder J., 1970. The yeasts: A taxonomic study. North Holland Publishing Co. 2nd ed.
- [7] Phaff, H. J., Miller, M. W. and Mrak, E. M., 1978. The life of yeast. pp. 172—174. Harvard University Press. 2nd ed.