

# 絮凝性强的优良面包酵母菌株的选育

刘春秀 何秀萍 蒋思欣 曲 娜 张博润\*

(中国科学院微生物研究所 北京 100080)

**摘 要** 通过初筛、单倍体分离、DES 诱变、絮凝基因的克隆表达及杂交等育种技术成功构建了高生物量、耐高糖、强絮凝的优良面包酵母菌株(*Saccharomyces cerevisiae*) ZLTH-58(*MATa/α*, *leu*, *FLO1*)。菌株 ZLTH-58 具有双亲的优良性状,遗传性状稳定。对其生物量、耐高糖能力、絮凝特性进行了检测,结果表明,菌株 ZLTH-58 的生物量是原始亲株 BL56 的 1.21 倍,耐高糖能力优于原始亲株 BL61,絮凝性能明显优于原始亲株 BL56 和 BL61。对其培养条件进行了优化,在优化的培养条件下,生物量可以达到 83.06g/L,为初始培养条件下的 1.35 倍。

**关键词** 面包酵母菌 絮凝基因表达 杂交 耐高糖 生物量

中图分类号:Q815 文献标识码:A 文章编号:0001-6209(2003)05-0659-07

面包酵母菌在食品工业方面占有重要地位,广泛应用于面包、糕点和面点的制作<sup>[1]</sup>。面包酵母的耐高糖能力和生物量是评价菌种优劣的重要标准<sup>[2,3]</sup>,国内生产中使用的面包酵母存在耐高糖能力较差、生物量偏低的问题<sup>[4]</sup>。尤其是酵母细胞的絮凝性较弱,给后处理带来困难。为此,本研究采用基因表达及杂交技术构建了耐高糖、高生物量、强絮凝的优良面包酵母菌株,并对其培养条件进行了优化。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验菌株

82 株不同来源的工业用面包酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*),为实验的初筛菌株,编号为 BL1 ~ BL82,标准交配型菌株 A364(*MATa*)和 ZW-21(*MATα*)为本组保存;重组质粒 YCp50:FLO1 为本组构建<sup>[5]</sup>。

### 1.2 培养基

YEPD 培养基:酵母粉 10g,蛋白胨 20g,葡萄糖 20g,加水定容至 1L。YEPM 培养基:酵母粉 10g,蛋白胨 20g,麦芽糖 20g,加水定容至 1L。McClary 生孢培养基:醋酸钾 9.8g,葡萄糖 1g,酵母粉 2.5g,琼脂粉 8g,加水定容到 1L。YNB 培养基配方参见文献[6],YNB 选择培养基(YNB 培养基中根据需要添加氨基酸或其它营养物质)。糖蜜培养基:含糖量约 48%的蔗糖糖蜜 50g,加 200mL 自来水,煮沸 30min,冷却后离心去沉淀,加 1mL 磷酸,调 pH 至 7.0,定容至 1L。

### 1.3 培养条件

**1.3.1 耐高糖发酵** 从新鲜斜面接一环菌体于 1mL 无菌水中,饥饿 4 ~ 6h 后,接一环菌悬

\* 通讯作者。Tel 86-10-62637679; Fax 86-10-62637679; E-mail: zhangbr@sun.im.ac.cn

作者简介:刘春秀(1976-),女,山东德州人,硕士,研究方向为酵母菌分子遗传与育种。E-mail: liuspring1976@tom.com

收稿日期 2002-11-18,修回日期:2003-05-30

液至装有 3mL 不同糖浓度的 YEPM 培养基的试管中( 试管中放有倒置的杜氏管 , 用来测发酵产气量 ) , 28℃ 静止培养 , 每 24h 观察记录。

**1.3.2 摇瓶发酵培养 :** 从新鲜斜面接种于 3mL YEPD 培养基中 , 28℃、200r/min 培养 16h , 以 10% 的接种量接到糖蜜发酵培养基中 , 其他条件由发酵实验具体确定。

#### 1.4 群体杂交

单倍体的分离、硫酸二乙酯( DES ) 诱变及杂交等按文献 [ 7 8 ] 所述方法进行。

#### 1.5 酵母转化

参考文献 [ 9 ]。

#### 1.6 细胞生物量的测定

取一定体积发酵液 3500r/min 离心 5min , 水洗两次 , 收集菌体 , 称重 , 换算成 1L 发酵液的菌体量 , 即为细胞生物量( 湿重 , 含水量约为 80% )。

#### 1.7 菌体絮凝性能的鉴定

按文献 [ 10 ] 进行。

#### 1.8 杂交子遗传稳定性的分析

按文献 [ 8 ] 进行。

#### 1.9 菌株发酵力的测定

杂交子及亲株的高糖面团发酵力的测定分析参照文献 [ 4 ] : 面粉 20.0g , 蔗糖 5.0g , 鲜酵母 2.0g , 30℃ 水 15mL , 揉成面团 , 由此面团称取 3 个 10g 的小面团 , 搓成小球( 无裂缝 ) , 放入 30℃ 水中 , 立即开始计时 , 记录 3 个小球浮起时间 , 取平均值作为实验结果。

## 2 结果

### 2.1 菌株选育

**2.1.1 初筛和复筛结果 :** 对 82 株不同来源的工业用面包酵母菌的生物量和耐高糖性能进行了测定 , 通过筛选 , 获得 5 株耐高糖能力较强、生物量较高的菌株 , 部分结果列于表 1。

表 1 不同面包酵母菌株生物量及耐高糖能力的比较

Table 1 Comparison of biomass and high-sugar-tolerance among different baker's yeast strains

Strains	Biomass( g/L )	30% maltose	40% maltose	50% maltose	Mating type	Sporulation
BL61	64.8	+++	+++		<i>MATa/α</i>	Good
BL56	50.9	+++	+++	+++	<i>MATa/α</i>	Good
BL26	56.3	++	+	+	<i>MATa/α</i>	Low
BL36	48.2	+++	+++	+	<i>MATa/α</i>	Good
BL81	41.0	+++	+++	+++	<i>MATa/α</i>	Good

+ . Low fermentation ability ; ++ . Common fermentation ability ; +++ . High fermentation ability .

**2.1.2 单倍体分离 :** 从上述菌株中选出生物量高的二倍体菌株 BL61 和耐高糖能力强的二倍体菌株 BL56 , 按常规方法进行单倍体分离 , 分别获得 200 多株单倍体菌株 , 对单倍体菌株的生物量和耐高糖性能进行检测 , 选出生物量较高的单倍体菌株 RI61-11( *MATa* ) 和

耐高糖性能较强的单倍体菌株 BL56-84( *MAT $\alpha$*  )。

**2.1.3 诱变** :用硫酸二乙酯( DES )对单倍体菌株 BL61-110 和 BL56-84 进行诱变 ,筛选营养缺陷型突变株。通过测定营养缺陷型、细胞生物量和耐高糖性能 ,从营养缺陷型突变株中选出生物量较高的营养缺陷株 BL61-110-1( *MAT $\alpha$*  , *ura* , *leu* )和耐高糖性能较强的营养缺陷株 BL56-84-1( *MAT $\alpha$*  , *ura* , *leu* )作为后续研究菌株。

**2.1.4 酵母完整细胞转化** :将本组构建的携有絮凝基因( *FLO1* )的重组质粒 YCp50 :: *FLO1* 通过酵母完整细胞转化法转入耐高糖性能较强的单倍体 BL56-84-1( *MAT $\alpha$*  , *ura* , *leu* )中 ,得到 30 多株转化子 ,根据耐高糖能力和絮凝能力测定 ,选出性状优良的转化子 T56-84-1-1( *MAT $\alpha$*  , *leu* , *FLO1* )。

**2.1.5 杂交** :将具有不同交配型、不同优良性状的两种单倍体菌株 BL61-110-1( *MAT $\alpha$*  , *ura* , *leu* )和 T56-84-1-1( *MAT $\alpha$*  , *leu* , *FLO1* )进行群体杂交 ,得到 100 多个杂交子 ,根据生物量、耐高糖和絮凝检测 ,筛选出一株性状优良的菌株 ZLTH-58( *MAT $\alpha$ / $\alpha$*  , *leu* , *FLO1* )。

## 2.2 菌株 ZLTH-58 的生物学特性分析

**2.2.1 菌株 ZLTH-58 遗传稳定性的检测** :参照文献 [7] 的方法 ,将杂交子 ZLTH-58 及其亲株分别传代 30 次以后 ,划线分离单菌落。用牙签各挑 100 个单菌落至无菌水中 ,饥饿 4 ~ 6h ,用接种环将菌悬液分别接种到 YNB、YNB + 尿嘧啶( *Ura* )、YNB + 亮氨酸( *Leu* )、YNB + 尿嘧啶 + 亮氨酸( *Ura* + *Leu* )、YEPD 平皿及生孢培养基斜面上 ,28℃ 培养 2 ~ 5d ,观察生长情况。结果表明(表 2)单倍体亲株 T56-84-1-1( *MAT $\alpha$*  , *leu* )为亮氨酸缺陷型 ,在 YNB 和 YNB + 尿嘧啶( *Ura* )平皿上不生长 ,只能在 YNB + 亮氨酸( *Leu* )、YNB + 尿嘧啶 + 亮氨酸( *Ura* + *Leu* )及 YEPD 平皿上生长 ,不生孢 ;单倍体亲株 BL61-110-1( *MAT $\alpha$*  , *ura* , *leu* )为尿嘧啶和亮氨酸缺陷型 ,在 YNB、YNB + 亮氨酸( *Leu* )和 YNB + 尿嘧啶( *Ura* )平皿上不生长 ,只能在 YNB + 尿嘧啶 + 亮氨酸( *Ura* + *Leu* )及 YEPD 平皿上生长 ,不生孢 ;杂种菌株 ZLTH-58( *MAT $\alpha$ / $\alpha$*  , *leu* , *FLO1* )为亮氨酸缺陷型 ,在 YNB 和 YNB + 尿嘧啶( *Ura* )平皿上不生长 ,能在 YNB + 亮氨酸( *Leu* )、YNB + 尿嘧啶 + 亮氨酸( *Ura* + *Leu* )及 YEPD 平皿上生长 ,具有良好生孢能力。实验结果证明菌株 ZLTH-58 遗传稳定。在 30 次传代遗传稳定的基础上 ,在后继工作中对菌株 ZLTH-58 的优良性状进行了检测。

表 2 菌株 ZLTH-58 及亲株的遗传稳定性

Table 2 Genetic stability of strain ZLTH-58 and parent strains

Strains	Numbers of colonies on different media					Sporulation	Flocculation
	YNB	YNB + <i>Ura</i>	YNB + <i>Leu</i>	YNB + <i>Ura</i> + <i>Leu</i>	YEPD		
BL56( <i>MAT<math>\alpha</math>/<math>\alpha</math></i> )	100	100	100	100	100	Good	Slow
BL56-84-1( <i>MAT<math>\alpha</math></i> , <i>ura</i> , <i>leu</i> )	0	0	0	100	100	No	Slow
T56-84-1-1( <i>MAT<math>\alpha</math></i> , <i>leu</i> , <i>FLO1</i> )	0	0	100	100	100	No	Good
BL61( <i>MAT<math>\alpha</math>/<math>\alpha</math></i> )	100	100	100	100	100	Good	Slow
BL61-110-1( <i>MAT<math>\alpha</math></i> , <i>ura</i> , <i>leu</i> )	0	0	0	100	100	No	Slow
ZLTH-58( <i>MAT<math>\alpha</math>/<math>\alpha</math></i> , <i>leu</i> , <i>FLO1</i> )	0	0	100	100	100	Good	Good

**2.2.2 菌株 ZLTH-58 与亲株生物量的比较** :在相同发酵条件下,菌株 ZLTH-58 生物量是原始亲株 BL56 与 BL61 的 1.21 倍和 0.95 倍,是杂交亲株 T56-84-1-10 与 BL61-110-16 的 1.58 和 1.35 倍(图 1)。表明菌株 ZLTH-58 获得了原始亲株 BL61 的高生物量性能。

**2.2.3 菌株 ZLTH-58 耐高糖能力分析** :用高浓度麦芽糖对菌株 ZLTH-58 及其亲株的发酵能力进行了分析,结果表明(表 3)菌株 ZLTH-58 的耐高糖能力明显优于原始亲株 BL61,与原始亲株 BL56 相当,表明菌株 ZLTH-58 获得了亲株 T56-84-1-10 的耐高糖性能。

表 3 菌株 ZLTH-58 与亲株耐高糖发酵比较

Table 3 Comparison of fermentation ability in high-sugar among strain ZLTH-58 and parent strains

Strains	30% Maltose	40% Maltose	50% Maltose
BL61( <i>MATa</i> / $\alpha$ )	+++	++	+
BL61-110-16( <i>MATa</i> , <i>ura</i> , <i>leu</i> )	+++	++	+
BL56( <i>MATa</i> / $\alpha$ )	+++	+++	+++
BL56-84-1( <i>MATa</i> , <i>ura</i> , <i>leu</i> )	+++	+++	+++
T56-84-1-10( <i>MATa</i> , <i>leu</i> , <i>FLO1</i> )	+++	+++	+++
ZLTH-58( <i>MATa</i> / $\alpha$ , <i>leu</i> , <i>FLO1</i> )	+++	+++	+++

+ . Low fermentation ability ; ++ . Common fermentation ability ; +++ . High fermentation ability .

**2.2.4 菌株 ZLTH-58 絮凝能力测定** :对菌株 ZLTH-58 及其亲株的絮凝性能进行检测,结果表明菌株 ZLTH-58 絮凝能力明显强于亲株 BL61-110-16,但略差于亲株 T56-84-1-10;表明菌株 ZLTH-58 获得了亲株 T56-84-1-10 的絮凝特性(图 2)。

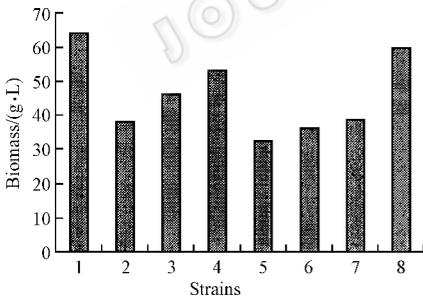


图 1 菌株 ZLTH-58 及亲株生物量比较

Fig.1 Comparison of biomass among strain ZLTH-58 and parent strains

1. BL61 ;
2. BL61-110 ;
3. BL61-110-16 ;
4. BL56 ;
5. BL56-84 ;
6. BL56-84-1 ;
7. T56-84-1-10 ;
8. ZLTH-58 .

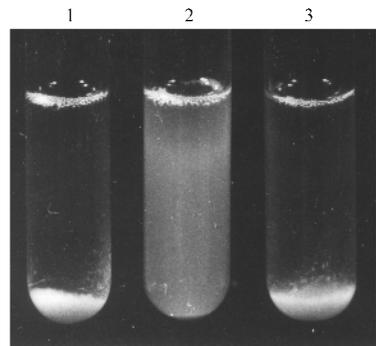


图 2 菌株 ZLTH-58 与亲株絮凝性能比较

Fig.2 Comparison of flocculation ability among strain ZLTH-58 and parent strains

1. T56-84-1-10( *MATa* , *leu* , *FLO1* ) ;
2. BL61-110-16( *MATa* , *ura* , *leu* ) ;
3. ZLTH-58( *MATa* /  $\alpha$  , *leu* , *FLO1* ) .

**2.2.5 菌株 ZLTH-58 及亲株发酵力检测** :对菌株 ZLTH-58 及亲株高糖面团发酵力进行检测,结果表明菌株 ZLTH-58 的发酵力优于单倍体亲株,略优于原始亲株(表 4)。

表 4 菌株 ZLTH-58 与亲株高糖面团发酵力比较

Table 4 Comparison of fermentation ability in high-sugar dough among strain ZLTH-58 and parent strains

Strains	T56-84-1-10	BL61-110-16	BL56	BL61	ZLTH-58
<i>t</i> /min	81	75	51	49	48

2.2.6 菌株 ZLTH-58 及亲株细胞 DNA 含量测定:提取菌株 ZLTH-58 及亲株的总 DNA,对其细胞 DNA 含量进行比较,二倍体细胞 DNA 含量约为单倍体细胞 DNA 含量的 2 倍(表 5),进一步证明 ZLTH-58 为二倍体杂交菌株。

表 5 菌株 ZLTH-58 和亲株细胞的 DNA 含量比较

Table 5 Comparison of DNA content of each cell among strain ZLTH-58 and parental strains

Strains	Number of cells	DNA content in each cell/ $\mu\text{g}$	Ploidy
T56-84-1-10	$2 \times 10^{10}$	$2.2 \times 10^{-9}$	n
BL61-110-16	$2 \times 10^{10}$	$2.3 \times 10^{-9}$	n
BL56	$2 \times 10^{10}$	$4.1 \times 10^{-9}$	2n
BL61	$2 \times 10^{10}$	$4.9 \times 10^{-9}$	2n
ZLTH-58	$2 \times 10^{10}$	$4.8 \times 10^{-9}$	2n

2.2.7 重组质粒 YCp50::FLO1 在菌株 ZLTH-58 细胞中的稳定性测试:为了解在非选择培养条件下菌株 ZLTH-58 中重组质粒的稳定性,将菌株 ZLTH-58 分别在有选择压力(YNB+Leu)及无选择压力(YEPD)的液体培养基中连续传代培养 10d,每天取样检测质粒的丢失情况(图 3)。从图 3 可以看出,在有选择压力条件下,重组质粒很稳定;而在无选择压力条件下,随着传代次数增加,重组质粒的丢失率也相应增加,传代培养 10d 后丢失 60% 左右的重组质粒。但面包酵母生产周期较短(48~60h),使用选择培养基(YNB+Leu)保存菌种,菌株 ZLTH-58 的重组质粒稳定性问题便可避免。

### 2.3 菌株 ZLTH-58 的培养条件优化

鉴于菌株 ZLTH-58 是由两株具有不同优良特性单倍体菌株杂交获得的,对其培养条件进行了优化实验。

2.3.1 碳源的影响:以 YEPD 培养基配方为基础,分别选择葡萄糖、蔗糖、麦芽糖和糖蜜作为碳源,发

酵 24h 后测定生物量。结果表明,碳源的种类对杂交菌株 ZLTH-58 的生长有一定的影响。在以上几种碳源中,以糖蜜的效果最好,这说明菌株 ZLTH-58 能够很好的利用糖蜜这一廉价的碳源,在大规模的生产中可节约成本。进一步试验了不同糖蜜浓度对菌株 ZLTH-58 生物量的影响,在 10% 的糖浓度时生物量达到最高,糖浓度再提高时,细胞的生长受到明显的抑制,因此选择 10% 的糖浓度进行后续试验。

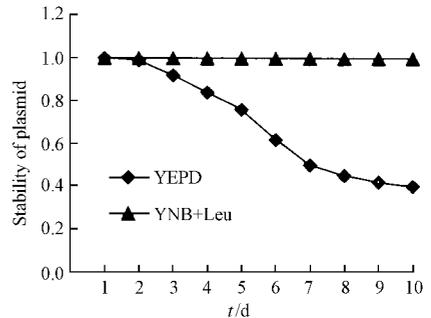


图 3 菌株 ZLTH-58 中质粒的稳定性

Fig. 3 Stability of plasmid in strain ZLTH-58

**2.3.2 氮源的影响** :以 10% 糖蜜培养基为基础,研究不同氮源如  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、 $\text{NH}_4\text{Cl}$  和尿素对菌株 ZLTH-58 生物量的影响。结果表明,尿素对细胞生物量提高作用明显,当尿素浓度为 0.75% 时,生物量最高。因此确定发酵培养基中添加 0.75% 的尿素作为氮源。

**2.3.3 培养基初始 pH 的影响** :试验了培养基初始 pH 对菌株 ZLTH-58 的生物量的影响。

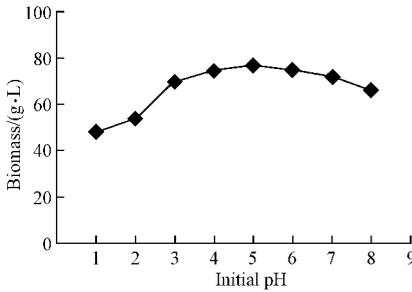


图 4 培养基初始 pH 对菌株 ZLTH-58 生物量的影响

Fig. 4 Effect of medium initial pH on the biomass of strain ZLTH-58

由图 4 可以看出,当初始 pH 值在 6.0~8.0 时,生物量能保持在较高的水平,其中在 pH 7.0 时生物量最高。选择初始 pH 为 7.0 进行后续试验。

**2.3.4 装液量的影响** :研究了不同的装液量对菌株 ZLTH-58 生物量的影响。结果表明随着装液量的增加,生物量呈逐渐下降的趋势。装液量少时,供氧充足,菌体生长旺盛,菌体生物量较高。装液量超过 50mL,生物量明显下降。确定装液量为 30mL/250mL 三角瓶。

**2.3.5 培养时间的影响** :比较了发酵时间对菌株 ZLTH-58 的生物量影响,结果发现随着发酵时间的延长,生物量逐渐增加,在 40h 左右达到最高值,40h 以后

开始缓慢下降。

**2.3.6 接种量的影响** :试验了不同接种量的影响,结果表明接种量对生物量影响不大,一般选用 10% 接种量。通过上述实验,确定菌株 ZLTH-58 的优化培养条件。培养基组成:每升含 100g 糖蜜,7.5g 尿素,1g 磷酸,pH 7.0;10% 接种量,装液量 30mL/250mL 三角瓶,在 28℃、200r/min 振荡培养 40h。在优化培养条件下,菌株 ZLTH-58 生物量比原始发酵条件下的生物量提高了 1.35 倍。

## 3 讨论

单纯通过自然筛选或诱变,很难筛选到既具有高生物量、耐高糖能力又具有强絮凝特性的面包酵母菌株。而通过杂交和分子育种等技术可以解决这一问题。我们首先通过单倍体分离、DES 诱变获得生物量较高的单倍体 BL61-110-1C ( $MAT\alpha$ ,  $ura$ ,  $leu$ ) 和耐高糖性能较强的单倍体 BL56-84-1C ( $MAT\alpha$ ,  $ura$ ,  $leu$ )。然后将本组构建的携有絮凝基因( $FLO1$ ) 的重组质粒 YCp50 : $FLO1$  通过酵母完整细胞转化法转入耐高糖性能较强的单倍体 BL56-84-1C ( $MAT\alpha$ ,  $ura$ ,  $leu$ ) 中,从获得的转化子选出具有耐高糖能力和絮凝能力较强的转化子 T56-84-1-1C ( $MAT\alpha$ ,  $leu$ ,  $FLO1$ )。最后将具有不同交配型、不同优良性状的两种单倍体 BL61-110-1C ( $MAT\alpha$ ,  $ura$ ,  $leu$ ) 和 T56-84-1-1C ( $MAT\alpha$ ,  $leu$ ,  $FLO1$ ) 进行群体杂交,根据生物量、耐高糖和絮凝特性等测定,从得到的杂交菌株中筛选出一株具有高生物量、耐高糖和絮凝性强的优良面包酵母菌株 ZLTH-58 ( $MAT\alpha/ura$ ,  $leu$ ,  $FLO1$ )。研究结果表明,菌株 ZLTH-58 具有双亲的优良性状,遗传性状稳定,有良好的工业应用价值。

## 参 考 文 献

*rob Technol* ,1990 ,12 989 ~ 993.

- [ 2 ] Higgins V J , Bell P J L , Dawes I W , *et al.* Generation of a novel *Saccharomyces cerevisiae* strain that exhibits strong maltose utilization and hyperosmotic resistance using nonrecombinant techniques. *Applied and Environmental Microbiology* ,2001 ,67 ( 9 ) 4346 ~ 4348.
- [ 3 ] Bell P J L , Higgins V J , Attfield P V. Comparison of fermentative capacities of industrial baking and wild-type yeast of the species *Saccharomyces cerevisiae* in different sugar media. *Letters in Applied Microbiology* 2001 ,33 ( 4 ) 224 ~ 229.
- [ 4 ] 刘 涓 ,肖东光 ,代丽昕. 耐高糖面包酵母的研究. *食品与发酵工业* 2001 27 ( 5 ) :12 ~ 16.
- [ 5 ] 郭文洁 ,何秀萍 ,铁翠娟 ,等. 絮凝基因的克隆和在工业啤酒酵母菌株中表达. *微生物学报* ,2002 42 ( 1 ) :110 ~ 113.
- [ 6 ] 贾盘兴 ,蔡金科 ,马德钦 ,等. 微生物遗传学实验技术. 北京 :科学出版社 ,1992. 408 ~ 409.
- [ 7 ] Sanchez S , Demain A L. Enrichment of auxotrophic mutants in *Hansenula polymorpha*. *European J Appl Microbiol* ,1977 4 : 45 ~ 49.
- [ 8 ] He X , Huai W , Tie C , *et al.* Breeding of high ergosterol-producing yeast strains. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 2000 25 39 ~ 44.
- [ 9 ] 毛小洪 ,蔡金科. 酵母完整细胞快速高效转化法. *生物工程学报* ,1990 6 ( 2 ) :102 ~ 107.
- [ 10 ] 张博润 ,陈 蔚 ,铁翠娟 ,等. 酵母菌絮凝的分型及其生理生化特性的研究. *微生物学报* ,1999 39 ( 6 ) 527 ~ 532.

## Breeding of Excellent Baker 's Yeast Strain with Good Flocculation

Liu Chunxiu He Xiuping Jiang Sixin Qu Na Zhang Borun\*

( *Institute of Microbiology , Chinese Academy of Sciences , Beijing 100080 , China* )

**Abstract** : An excellent baker 's yeast strain ZLTH-58 ( *MATa/α leu- , FLO1* ) with high biomass , high-sugar-tolerance and good flocculation was constructed by primary screening , isolation of haploid , mutagenesis , cloning and expression of *FLO1* gene and hybridization. The results showed that strain ZLTH-58 had excellent properties of the parental strains BL56 and BL61. The biomass of strain ZLTH-58 was 1.21 times of the parental strain BL56 ; The ability of high-sugar-tolerance of strain ZLTH-58 was higher than the parental strain BL61. The ability of flocculation of strain ZLTH-58 was better than the parental strains BL56 and BL61. The factors that affected the biomass of strain ZLTH-58 were also detected. Biomass reached 83.06g/L under the optimal fermentation conditions , having a 1.35-fold improvement. Strain ZLTH-58 is also stable in genetics characters by analysis of genetic stability and it has the potential for use in industrial processes.

**Key words** : Baker 's yeast , Hybridization , Expression of *FLO1* gene , Biomass , High-sugar-tolerance

\* Corresponding author. Tel 86-10-62637679 ; Fax 86-10-62637679 ; E-mail zhangbr@sun.im.ac.cn

Received date :11-18-2002