

中国红酵母新种*

李明霞

(中国科学院微生物研究所, 北京)

本文研究了自北京冷库病梨分离的红色芽裂酵母 L-82。它具有耐低温的特性, 二端芽裂(bipolar budfission), 不形成子囊孢子与掷孢子, 但能形成厚垣孢子。老或幼的细胞均可能萌发形成具横隔的芽管, 甚至发展为粗菌丝。长期低温培养 4 个月以上, 于局部菌落形成棕色菌丝菌落, 此菌落由细菌丝组成, 并形成大量棕色椭圆形、梨形或尖形厚垣孢子。此菌能产生类淀粉, 同化肌醇, 并能合成类胡萝卜素。

此菌在很多方面与属于担子菌的黑粉菌之情况很相似, 说明它与担子菌有一定关系; 与红色冬孢酵母 (*Rhodospordium*) 既有类似又有其特点。由于目前对 L-82 的有性阶段尚不完全明确, 虽看到一些现象, 但在有些方面还有待进一步研究。根据其产类胡萝卜素, 不形成掷孢子, 有菌丝与厚垣孢子等特性, 暂时将 L-82 归在红酵母属 (*Rhodotorula* <Harrison>), 作为一个新种, 定名为中国红酵母 (*Rhodotorula sinensis* Lec sp. nov.) L-82。

本菌株从北京冷库病梨梨心分离到, 编号 L-82 (下称 L-82), 因较耐低温, 但低温时生长缓慢, 菌量较少, 所以在 15°C 培养一个月左右才能分离到。该菌是从梨心之病变组织上分得, 因此曾以无菌操作, 将 L-82 接种在健康鸭梨的梨心, 15°C 培养 17 天后, 观察到在接种的部位变褐, 并引起软腐, 此现象虽与其原先之病症不完全相同, 但与梨病可能有一定关系。又因 L-82 在分类上有许多特征, 因而进行了研究, 报告如下。

材料与方 法

一、菌种

共包括六个属, 红酵母属 (*Rhodotorula*)、红色冬孢类酵母属 (*Rhodospordium*)、隐球酵母属 (*Cryptococcus*)、掷孢酵母属 (*Sporobolomyces*)、类酵母属 (*Saccharomycodes*) 和克勒克酵母属 (*Kloeckera*) 与自病梨梨心分离的 L-82。各属的种名与菌号见各有关试验部分。

二、培养基和生理特性测定

观察形态特征与培养特征所用的培养基为: 麦芽汁琼脂、麦芽汁液体、玉米粉培养基、土豆汁培养基^[1]。合成培养基成分为: 葡萄糖 0.5%、 KH_2PO_4 0.1%、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05%、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.5%、酵母膏 0.02%、水洗琼脂 2%、用蒸馏水配制, 8 磅 30 分灭菌。

各项生理测定之培养基与方法基本上均按 Lodder^[1]方法进行。类胡萝卜素的测定参考应用微生物学实验法^[2]。

三、细胞核染色

以新鲜的幼龄菌体涂片, 空气干燥后于 Carnoy 固定液^[3]中固定约 2 小时, 用 1N HCl 60°C 酸解 10—13 分钟, 再用 Giemsa 染液 (临用时装)^[4]染 4 小时以上, 用自来水略冲洗后镜检。

试验结果

一、温度

1. 最适温度

* 本文曾得到王云章、方心芳同志的鼓励, 齐祖福、余永年、赵继鼎、乐静珠、徐浩、韩若芳等同志曾给予支持与帮助, 电子显微镜照片曾得到中国科学院生物物理研究所等单位协助, 一并致谢。

本文 1974 年 4 月 26 日收到。

将 L-82 接种于麦芽汁斜面, 培养于 0—32℃。在 22—25℃ 生长最快。超过 25℃ 时生长速度很快下降, 28℃ 时生长较弱, 33℃ 死亡。

2. 耐低温特性

L-82 之最适温度虽然不低, 但它有显著的耐低温的特性。接种于麦芽汁斜面上, 于不同温度培养, 在一个月內作连续观察。在 0—2℃ 一个月內, L-82 生长趋势呈直线上升。温度愈高生长曲线愈弯曲, 32℃ 培养时即不能生长。说明 L-82 适应低温性强, 低温时生长虽然缓慢, 但生活力强盛。

L-82 与红色冬孢类酵母和红酵母之

菌株作对比。在 8℃ 培养 2 周后, L-82 的生长速度也显著地快于其他菌。

3. 培养特征

将 L-82 接种于上述各种培养基之平皿上, 置不同温度 (0—33℃) 培养, 培养 4 天、1 周、2 周观察菌落之增长、颜色、质地等的变化。培养 1 周的结果如表 1。(1) L-82 号菌在麦芽汁琼脂上生长最好。(2) 在各种培养基上于不同温度培养, 菌落都呈红色, 仅在合成琼脂上, 培养 2 周后红色渐退。(3) 菌落质地通常在低温时粘质光亮, 温度升高逐渐变暗。菌落表面光滑, 边缘整齐。

表 1 L-82 培养特征

温度 (°C)	麦芽汁琼脂			土豆汁琼脂			玉米粉琼脂			合成琼脂		
	生长	颜色	质地	生长	颜色	质地	生长	颜色	质地	生长	颜色	质地
0—2	3.8*	浅粉红	粘亮	2	浅粉红	粘亮	2	浅粉红	粘亮	2	黄红	暗光
10—12	6.5	”	”	2.8	红黄	”	3.5	粉红	光亮	3	红黄	”
22	8	”	暗光	3.5	”	光亮	3.5	”	”	3.5	”	”
25	8	”	”	3.5	”	暗光	4	”	”	3.5	”	”
28	5	粉红	暗光较干	2	红黄略褐	暗光较干	3	”	”	2	粉红	暗光较干
33	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

* 按平皿上菌落之平均宽度 (mm)

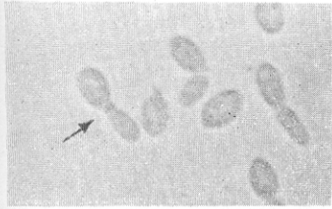
二、L-82 的细胞形态

1. 28℃ 培养三天的形态特征

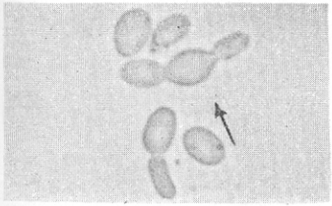
L-82 接种到麦芽汁琼脂 28℃ 培养 3 天后, 有一端、二端芽裂现象。细胞除长椭圆形外, 有不少瓶形细胞, 也有二端平的细胞 (图 1-1、1-2, 图 3-1、3-2), 一般为 3.4—5.6 × 4.6—11.4 微米。常形成芽管 (图 4), 芽管可在细胞的任何方向伸出。芽管上有横隔 (图 1-4), 横隔侧旁可有一个芽细胞

(图 1-3), 芽管末端可形成梨形的大细胞, 其壁增厚多脂肪颗粒, 形成厚垣孢子 (图 1-7)。芽管偶而也可分枝, 形成有横隔的粗菌丝 (图 1-8)。培养 1 周以上, 老细胞的壁普遍增厚, 均转变为厚垣孢子, 并有脱膜现象 (图 1-5)。某些厚垣孢子萌发后伸出芽管 (图 1-6) 个别老细胞可出现明显的“领”(Collar) (图 5-1 的 d. e)。

25℃ 培养时细胞略小, 芽管少而且不



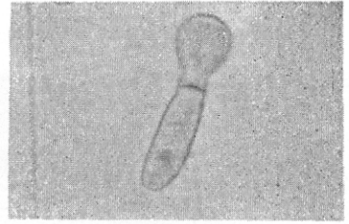
1-1 一端芽裂



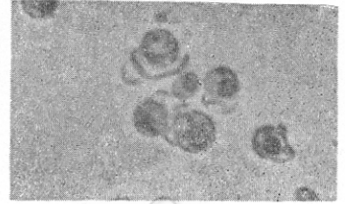
1-2 二端芽裂



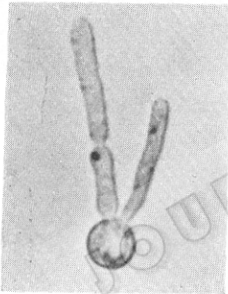
1-3 厚垣孢子或营养细胞萌发



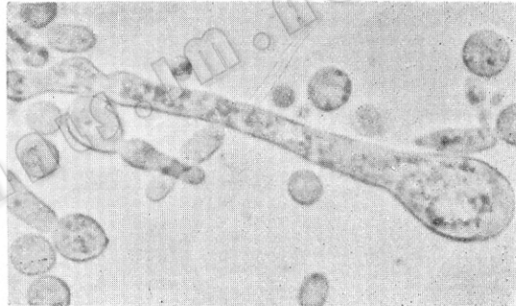
1-4 具有横隔的芽管



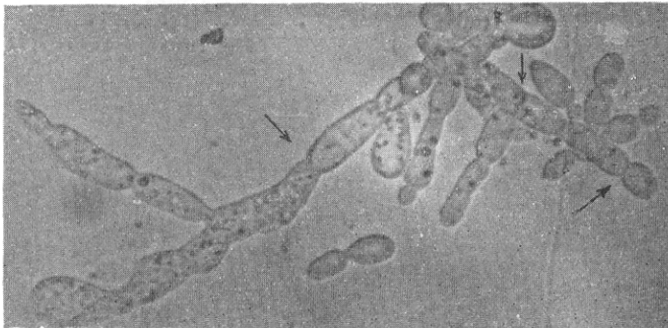
1-5 老细胞脱膜



1-6 厚垣孢子萌发出芽

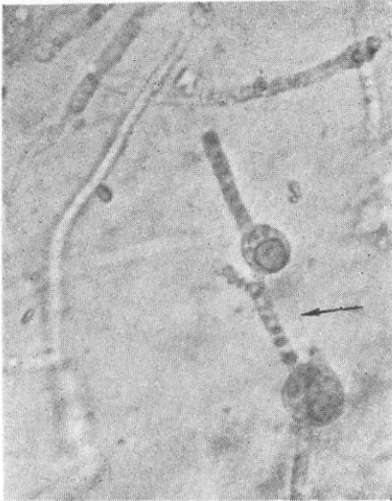


1-7 梨形大细胞

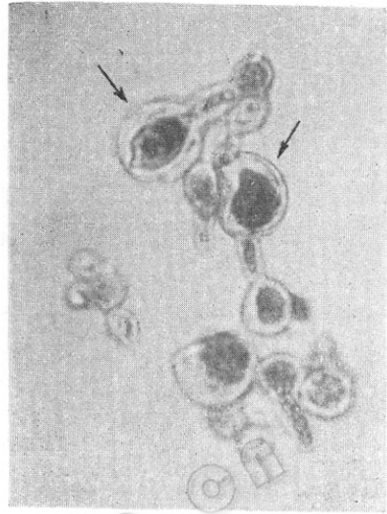


1-8 具有横隔的粗菌丝

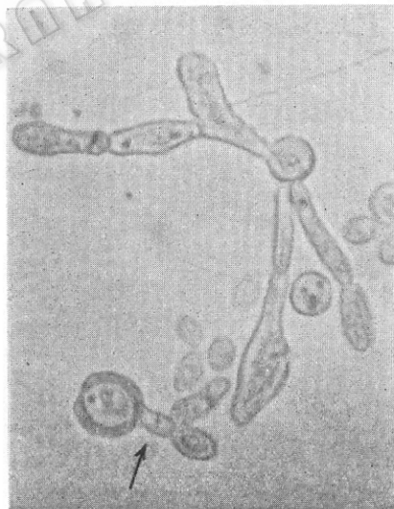
图1 L-82 28℃ 培养形态 2,000×



2-1 细菌丝与棕色厚垣孢子(4℃ 4 个月以上棕色菌落的菌体)

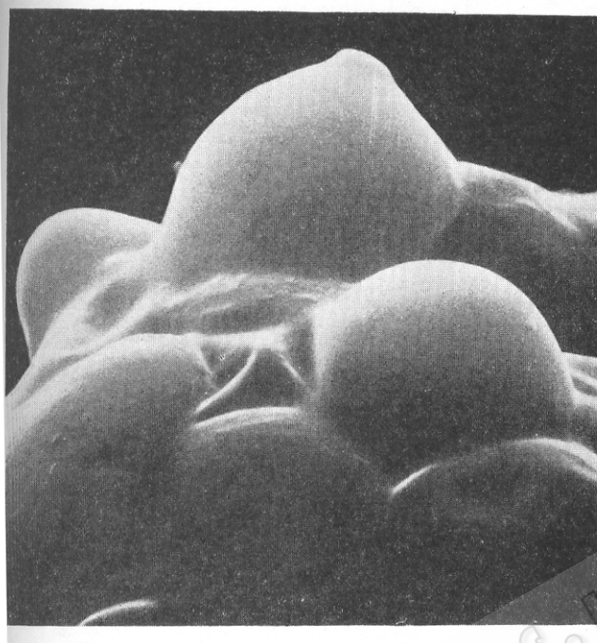


2-2 具特厚厚壁的厚垣孢子(合成培养基 28℃ 1 个月以上的菌体, Giemsa 染色)

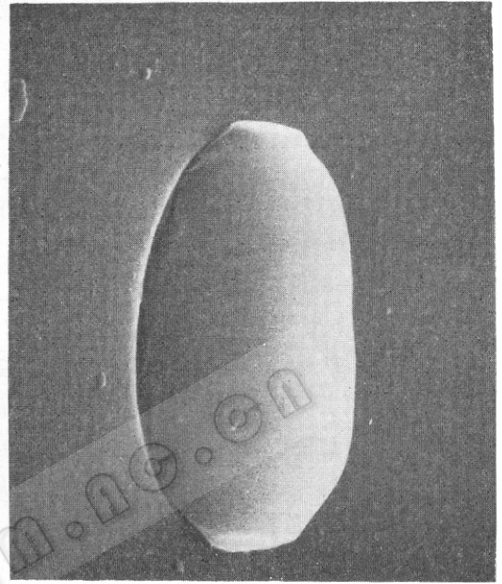


2-3 厚垣孢子或营养细胞萌发(合成培养基)

图 2 L-82 的厚垣孢子 2,000×



3-1 28°C 培养 3 天的细胞似有荚膜, 并有芽痕



3-2 二端芽裂后形成的二端平的细胞

图 3 扫描电子显微镜的细胞观察 10,000×

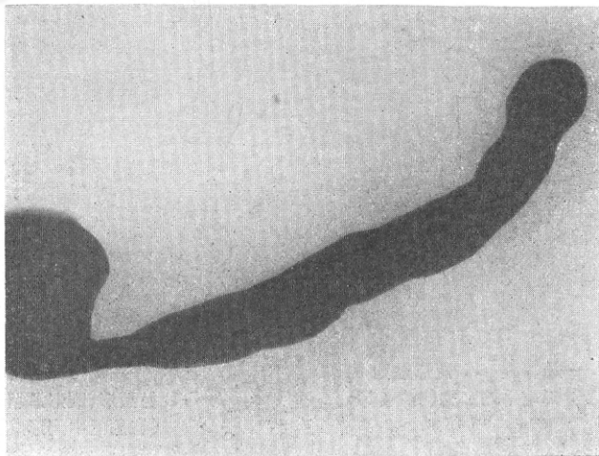


图 4 老菌体的芽管电子显微镜观察 12,000×

发达。在 13℃ 培养时细胞更小，无芽管。由此可见 L-82 的细胞形态、大小与温度有密切关系。从低温到 28℃，随着温度的升高，不仅细胞由小变大，芽裂现象也随着更为典型。麦芽汁上 25℃、28℃ 培养是一般酵母鉴定的标准条件，因此 L-82 在 28℃ 表现明显芽裂现象，是其无性繁殖的显著特点。

L-82 在不同培养基上均未见到形成子囊孢子与掷孢子。

2. L-82 28℃ 培养时的生活周期

L-82 接种到麦芽汁培养基上，于 28℃ 培养，在 3—7 天，连续观察形态上之变化情况。培养初期由图 5-1 可见多数为单个酵母，细胞之一端或二端芽裂，图 5-2 培养 7 天后酵母细胞壁变厚，内多颗粒，说明由酵母细胞形成了厚垣孢子，图 5-4 的厚垣孢子可脱膜，并长出新芽，发展为酵母状细胞。图 5-3 表明 L-82 有时还可由厚垣孢子伸出芽管，其芽管末端可再形成厚垣孢子，图 5-5、5-6，说明不论是厚垣孢子或是较老的酵母状细胞，都可形成具有横隔的

芽管，在横隔旁可再生出芽细胞，此芽细胞断落后，即成为单个的酵母状细胞。

3. 老菌体形成棕色厚垣孢子

L-82 接种在麦芽汁斜面上，冰箱 (5℃ 左右) 保存 4—5 月，在斜面的背面可出现大量菌丝，埋在培养基内，有时在菌落之边缘沿培养基表面出现局部的浅棕色菌丝菌落 (图 6)。镜检菌丝菌落时，看到大量有分枝、有横隔的细菌丝 (宽 2 微米左右)，在菌丝之末端、中间或侧旁可有很多梨形、椭圆形或尖形的棕色厚垣孢子。老的厚垣孢子可以再生厚垣孢子 (图 2-1, 图 7)。

此情况有些类似红色冬孢酵母的厚垣孢子 (冬孢子)。L-82 的棕色厚垣孢子，曾用红色冬孢类酵母之厚垣孢子的萌发方

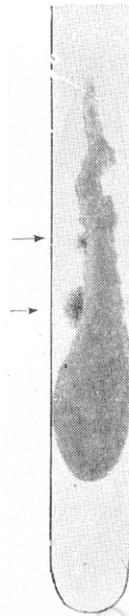
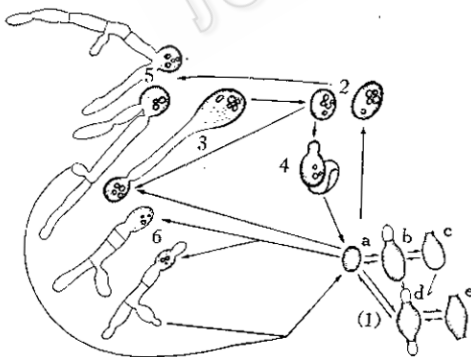


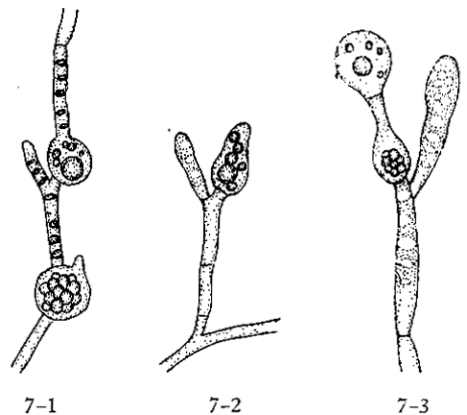
图 6 L-82 之棕色菌丝菌落



5-1 芽裂现象

- a. 单个酵母细胞 b. 一端芽裂 c. 瓶形细胞
- d. 二端芽裂 (有“领”) e. 二端平的细胞 (有“领”)
- 5-2 厚垣孢子
- 5-3 芽管末端之厚垣孢子
- 5-4 厚垣孢子之脱膜现象
- 5-5 厚垣孢子之芽管以及横隔旁之芽细胞
- 5-6 老的酵母状细胞之芽管以及横隔旁之芽细胞

图 5 L-82 的生活周期



7-1 椭圆形、梨形厚垣孢子 (在菌丝中间形成)

7-2 尖形厚垣孢子 (在菌丝侧面形成)

7-3 厚垣孢子上可再生出厚垣孢子 (在菌丝末端形成)

图 7 L-82 之棕色厚垣孢子

法^[7], 在蒸馏水中长期浸泡后, 接种在水琼脂等多种培养基上培养, 均未能观察到萌发。

上述细菌丝和厚垣孢子, 在加盖片的土豆汁培养基上, 28℃ 培养 17 天后也能看到, 但数量不太多。

用合成培养基培养时特别是镜检培养 1—2 个月以上之斜面划线的上端可见到特大、特厚的厚垣孢子, 大小可达 18—20 微米, 壁厚 3—5 微米(图 2-2)。其形成的方式可有多种, 由老的酵母状细胞本身变厚形成, 或者由芽管末端、中间的细胞膨大变厚形成(图 8)。有些厚垣孢子可萌发伸出细而短的芽管, 少数厚垣孢子之芽管也有横隔(图 2-3、图 9)。

三、L-82 细胞核染色

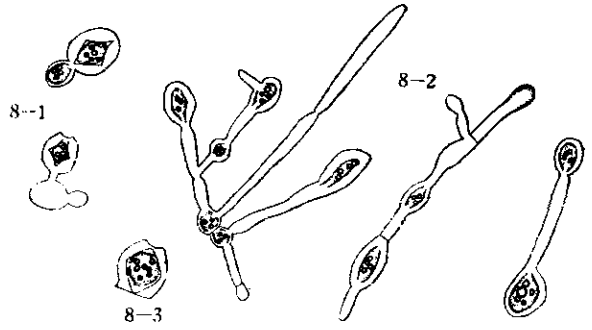
经核染色后观察, 细胞多数为单核, 芽管由横隔分成几个细胞后, 大部分细胞也只有一个核。但偶尔也看到二个核的情况(图 10), 这种双核细胞可能是细胞有丝分裂过程中的双核阶段, 另一可能是构成二倍体的厚垣孢子前期^[5]。这一问题还有待深入研究。

L-82 有些细胞有类似接合的现象, 经核染色后观察, 未见细胞核移动靠拢, 进行核配对的现象(图 11)。所以目前对该菌按无性世代来讨论它的分类地位。今后如能观察到有性阶段, 再重新考虑其分类地位。

四、生理特性

1. 一般生理特性

生理测定培养在 25℃, 测定结果如下:



8-1 由酵母状老细胞变厚形成
8-2 芽管之末端或中间膨大形成厚垣孢子
8-3 断裂下来的单个厚垣孢子

图 8 L-82 特厚的厚垣孢子

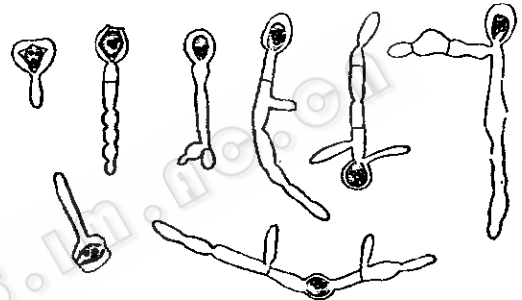
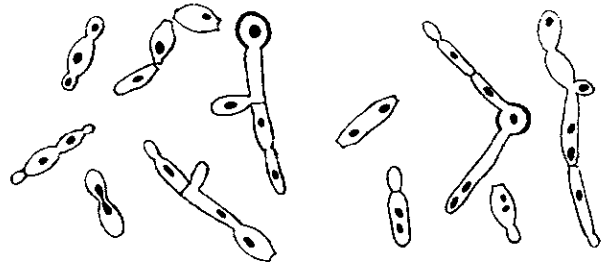


图 9 L-82 特厚之厚垣孢子的萌发



10-1 多数细胞为一个核 10-2 细胞或芽管内偶见有二个核

图 10 L-82 细胞核染色

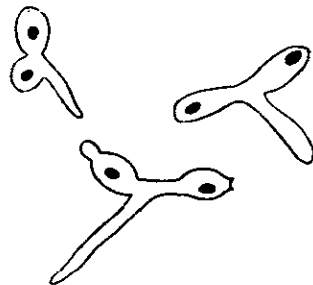


图 11 类似核接合的细胞

测定项目		测定结果	测定项目		测定结果	测定项目		测定结果
发 酵		-				产生类淀粉化合物		+
同 化 碳 源	葡萄糖	+	同 化 碳 源	菊 糖	-	在无维生素培养基		-
	麦芽糖	+		可溶性淀粉	-	中之生长能力		-
	半乳糖	+		L-山梨糖	+	碳酸钙琼脂上产酸		-
	蔗糖	+		D-木糖	+	明胶液化		-
	乳糖	-		甘油	+	脂肪酶		-
	棉子糖	+		核糖醇	-	尿素酶		+
	D-蜜二糖	-		甘露醇	+	温 度	0—2℃	生长慢， 呈直线生长。
	海藻糖	+		D-山梨醇	+		22—25℃	最适宜， 生长快。
	赤藓糖	-		肌 醇	+		26℃	生长差
	L-阿拉伯糖	+		水杨甙	+		>33℃	死亡
	D-阿拉伯糖	+		柠檬酸	+			
	D-核糖	-或弱		延胡索酸	-			
	L-鼠李糖	+		乳 酸	-			
	纤维二糖	+或弱		同化硝酸钾 乙醇为唯一碳源		慢、弱		
松三糖	+	分解杨梅甙		+				

2. 生理对比试验

L-82 有同化肌醇的主要特点，并能产生类淀粉，为要进一步了解与有关属种之间的关系，进行了对比试验。

(1) 产类淀粉

采用液体培养基 25℃ 培养，结果只有 L-82 号菌与二株隐球酵母有类淀粉反应，其他菌株均无反应(表 2)。L-82 在 5℃ 培养 20 天后，也有类淀粉反应。

表 2 产生类淀粉的对比试验

菌号	菌 名	遇碘反应
L-82		+
2.114	劳伦隐球酵母 <i>Cryptococcus laurentii</i>	+
L-112	” ” ”	+
2.1389	圆红色冬孢类酵母 <i>Rhodospiridium toruloides</i>	-
2.167	深红酵母 <i>Rhodotorula rubra</i>	-
2.282	” ” ”	-
2.277	小红酵母 ” <i>minuta</i>	-
2.280	澄黄红酵母 ” <i>aurantica</i>	-
2.499	粘红酵母 ” <i>glutinis</i>	-
2.109	酿酒酵母 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-

(2) 同化肌醇

用生长谱法测定，结果只有 L-82 号菌

能同化肌醇，其他菌虽能同化葡萄糖，但却不能同化肌醇(表 3)。

表 3 同化肌醇的对比试验

菌号	菌 名	同 化 葡萄糖	同化 肌醇
L-82		+	+强
2.167	深红酵母 (<i>Rhodotorula rubra</i>)	+	-
2.277	小红酵母 (” <i>minuta</i>)	+	-
2.280	澄黄红酵母 (” <i>aurantica</i>)	+	-
2.282	深红酵母 (” <i>rubra</i>)	+	-
2.499	粘红酵母 (” <i>glutinis</i>)	+	-

(3) 尿素酶

有些作者认为，某些与担子菌纲亲缘较近的酵母，也常产生尿素酶^[6]。因而用隐球酵母属、红色冬孢类酵母属、红色掷孢酵母属、红酵母属，并从二端芽殖的酵母克勒克酵母属与类酵母属中选用了几个种，与 L-82 一起测试。结果指出，除了后二个属外，其他属都有尿素酶活性(表 4)。说明 L-82 在产尿素酶这一点上，与接近担子菌纲的酵母具有相同的特性。

(4) 在含油和甘牛胆酸钠培养基的反应

由于 L-82 有一端芽裂之性状，并形成

瓶形细胞, 这一点较象瓶形酵母属 (*Pityrosporum*), 因而用瓶形酵母最适宜的含油和甘牛胆酸钠培养基进行试验。结果表明, L-82 在此培养基上生长很差。镜检时有很多细胞生出芽管, 有粗菌丝, 形成的厚垣孢子壁也特厚, 这现象正是 L-82 遇到不良环境时的表现特征。说明 L-82 与多数瓶形酵母不同。

表 4 产生尿素酶的对比试验

菌号	菌名	产生尿素酶
L-82		+
2-114	劳伦隐球酵母 <i>Cryptococcus laurentii</i>	+
2.1389	圆红色冬孢类酵母 <i>Rhodospiridium toruloides</i>	+
2.167	深红酵母 <i>Rhodotorula rubra</i>	+
2.282	” ” ”	+
2.277	小红酵母 ” <i>minuta</i>	+
2.280	澄黄红酵母 ” <i>aurantica</i>	+
2.499	粘红酵母 ” <i>glutinis</i>	+
2.261	鲑粉色掷孢酵母 <i>Sporobolomyces salmonicola</i>	+
2.193	柠檬形克勒克酵母 <i>Kloeckera apiculata</i>	-
2.243	鲁氏类酵母 <i>Saccharomyces ludwigii</i>	-
空白对照		-

(5) 同化 N 源

用液体法测试, KNO_3 对 L-82 有促进生长作用, 培养一月以上的结果更为明显。说明 L-82 能利用 KNO_3 , 但生长比较弱且缓慢。 $(NH_4)_2SO_4$ 对它似乎有抑制作用, 表现为生长差, 颜色淡, 甚至比不加 N 源的对照更差, 这也与用生长谱法测得的结果相符。

(6) 产类胡萝卜素

为要了解 L-82 与有关属、种产类胡萝卜素的关系, 测定结果证明, 此菌分泌的红色色素确是类胡萝卜素。

讨 论

一、L-82 与有关属的比较

L-82 的芽殖方式、形态、培养特征和生理特性, 与 Lodder 系统中近似的属都不同^[1], 表 5 按菌落颜色、芽裂方式与生理三类进行比较。

表 5 第一类为红色类群的酵母。这类酵母彼此间关系密切, 很多作者认为在系统进化关系上与担子菌有关。卵孢酵母属 (*Oosporidium*) 的红色色素不是类胡萝卜素, 能发酵, 与 L-82 不符。至于掷孢酵母属 (*Sporobolomyces*) 与锁合掷孢酵母属 (*Sporidiobolus*), 这二个属为产掷孢子的掷孢酵母, L-82 用多种培养基长期观察, 均不产生掷孢子。因此只与红酵母属和红色冬孢类酵母属有些相近。后面将作进一步讨论。

表中第二类为一端、二端芽殖或芽裂的酵母。其中大都能发酵, 有的属产子囊孢子, 与 L-82 不同。克勒克酵母属 (*Kloeckera*) 虽不能发酵, 不生子囊孢子, 但芽基无横隔, 无性生殖不是芽裂方式, 也不符合。瓶形酵母属 (*Pityrosporum*) 为白色, 虽有一端芽裂, 但没有二端芽裂性状, 这个属多数种需加油类物质促进生长, 而 L-82 生长不需要油类物质。裂芽酵母属 (*Schizoblastosporion*) 虽为二端芽裂, 不能发酵, 但不产生类胡萝卜素, 无假菌丝、真菌丝, 该属只有一个种, 为灰棕色, 与 L-82 也不相同。

表中第三类是能产生类淀粉, 又能同化肌醇的酵母, 如隐球酵母属 (*Cryptococcus*)。但这一属没有明显的红色色素; 形态上也没有真菌丝、假菌丝、厚垣孢子; 其无性繁殖也不是芽裂方式, 与 L-82 不同。但生理上比较相近, 将作进一步讨论。

二、与红色冬孢酵母属、红酵母属和

表 5 L-82 号菌与有关各属之对比

类别	属名	产类胡萝卜素	形 态				生 理				备 注				
			无性繁殖	子囊孢子	其他孢子	假菌丝	真菌丝	生长温度	发酵	同化 KNO ₃		产类淀粉	同化肌醇	无 Vit. 之生长	生 酸
I (红色)	I-82 号菌	+	二端或一端芽裂	—	厚垣孢子	+	+	+	弱慢	+	—	—	—	—	—
	红酵母属 <i>Rhodotorula</i>	+	多端芽殖	—	偶有厚垣孢子状细胞	+	+	+	弱慢	—	—	—	—	—	—
	卵孢酵母属 <i>Oosporidium</i>	—	多端芽殖 (有横隔)	—	有内生孢子	+	+	+	慢	+	—	—	—	—	—
	红色冬孢类酵母属 <i>Rhodospiridium</i>	+	多端芽殖	—	冬孢子担孢子	+	+	+	正常	+	—	—	—	—	—
	孢孢酵母属 <i>Sporobolomyces</i>	+	多端芽殖	—	掷孢子	+	+	+	—	+	—	—	—	—	—
	轴合孢孢酵母属 <i>Spiruobolus</i>	+	多端芽殖	—	掷孢子	+	+	+	—	+	—	—	—	—	—
	瓶形酵母属 <i>Pityrosporum</i>	—	一端芽裂	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
II (芽裂)	裂芽酵母属 <i>Schizoblastosporion</i>	—	二端芽裂	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	克勒克酵母属 <i>Clackera</i>	—	二端芽殖	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—
	魏克汉酵母属 <i>Wickerhamia</i>	—	二端芽裂	运动帽形	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—
	类酵母属 <i>Saccharomycodes</i>	—	二端芽裂	子囊孢子合偶柄结合	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—
	纳酒酵母属 <i>Nadsonia</i>	—	二端芽裂	子囊孢子多脂防	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—
III	有孢汉酒酵母属 <i>Hanseniaspora</i>	—	二端芽殖	子囊孢子帽形、柄形	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—
	隐球酵母属 <i>Cryptococcus</i>	—	多端芽殖	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—

(按 Lodder 1970 年系统整理)

隐球酵母属的比较

L-82 与红色冬孢类酵母^[1,7-9]有二点相似。(1) 在酵母状菌落的周围可出现棕色菌丝菌落。(2) 有大量细长的有横隔、分枝的真菌丝, 在菌丝末端或侧旁能形成棕色厚垣孢子。但 L-82 的有性生殖目前尚不完全清楚, 有些营养细胞虽象接合现象, 但核染色时未见到核的移动过程。因此这一段生活史尚不清楚, 暂不宜归入此属。

红色冬孢类酵母属近年来资料报道有四个种^[1,10]。该属的出芽方式都是多边芽殖, 其无性阶段都是与红酵母属相似。还没有看到红色冬孢类酵母属有二端芽裂的出芽方式的报道。再说 L-82 的棕色厚垣孢子形状及生理性状, 与红色冬孢类酵母属的四个种都不同。因此, L-82 是一株具有特殊特征的菌株。

关于红酵母属与隐球酵母属的分类依据, 也存在一些问题。Hasegawa^[11]把隐球酵母属中能产生类胡萝卜素的种, 全并入红酵母属中。这样红酵母属就包括了能同化肌醇和产生类淀粉、胡萝卜素的种。而 Phaff 与 Spencer^[1]则只按能否同化肌醇作隐球酵母属分类的标准。将同化肌醇有显著红色色素的种, 都从红酵母属抽出来, 归入隐球酵母属。

根据 L-82 的特征, 表现为: 能产生多量类胡萝卜素, 有明显红色; 能同化肌醇; 产生类淀粉; 形态上有假菌丝、真菌丝、有棕色厚垣孢子, 同时具有二端芽裂的特点。该菌既不同于红酵母属, 也不同于隐球酵母和红色冬孢酵母; 与一些二端芽裂的酵母属也不相同(见表 5)。因此 L-82 与 Lodder 1970 系统中任何一属都不相同。目前, 因该菌有性生殖还不清楚, 根据其产生类胡萝卜素, 不形成掷孢子, 有厚垣孢子等性状, 较为接近于红酵母属, 暂时将 L-82 归入红酵母属中。

三、与红酵母属有关种的比较

被 Phaff 归入隐球酵母属的几个同化肌醇的红色酵母即: *Cryptococcus imfirmominiatius* (Okunuki) Phaff et Fell、浸渍隐球酵母(*Cryptococcus macerans* (Frederiksen) Phaff et Fell)、黄色隐球酵母(*Cryptococcus flavus* (Saito) Phaff et Fell)、匈牙利隐球酵母(*Cryptococcus hungaricus* (Zsolt) Phaff et Fell)。劳伦隐球酵母黄色变种(*Cryptococcus laurentii* (Kuff) Skinner var. *flavescens* (Saito) Lodder et Kreger-van Rij)。这些菌都产生多量类胡萝卜素, 有明显的红色或黄色, 具有红酵母的主要特征, 有的还有真菌丝与厚垣孢子, 它们有一系列的异名都是在红酵母属内。

将 L-82 与上述五个同化肌醇的种对比, 首先 L-82 有芽裂现象, 所以在芽殖方式上不同, 生理上在同化碳源方面也有不少差异。L-82 与红酵母属内现有的 9 个种相比, 虽然都产生类胡萝卜素, 在某些生理上如同化碳源与氮源上与粘红酵母大连变种(*Rhodotorula glutinis* var. *dairensis*) 有些接近。但 L-82 在同化肌醇和产生类淀粉这些主要性状都不相同。而且出芽方式也根本不同^[1]。为此 L-82 暂时归入红酵母属, 并定为中国红酵母新种(*Rhodotorula sinensis* Lee sp. nov.)。

中国红酵母新种

接种麦芽汁液体培养基, 28°C 培养 3 天, 细胞有一端、二端芽裂现象, 芽基有明显横隔, 细胞形状为长椭圆形、长卵形或瓶形, 也有二端平的细胞, 少数为腊肠形或柠檬形。一般为 3.4—5.0 × 5.0—13.6 微米, 有个特别大的大细胞。有些老细胞有明显的芽痕(Scar)。细胞可萌发形成芽管。芽管上有一至几个横隔, 横隔旁通常只有一个芽细胞。芽管末端有时能发展为梨形大

细胞,内多油滴。28℃液体培养3天后,红环较弱,不发酵,移入室温(13—15℃)2月后红环宽,有岛,沉淀增多。

麦芽汁琼脂28℃培养3天后,芽裂现象以一端芽裂为主。细胞比液体中略长,有四个细胞以上的链。芽管较液体中长,芽管偶而能发展成有分枝的粗菌丝(宽3—7微米)。培养一周以上的老菌体,多数转为圆形、厚壁、多油滴的厚垣孢子,并有脱膜现象。28℃培养3天之斜面为粉红色(Shrimp pink)*,暗光、表面光滑,移入室温(13—15℃)2个月后,色略深(Strawberry pink)*、表面有大小不一的圆形子菌落。

在麦芽汁斜面上,5—8℃培养4月以上,在菌落的局部曾见到棕色菌丝菌落。其细菌丝(宽2微米)之末端、中间或侧旁形成不少棕色厚垣孢子,形状为椭圆形、梨形或尖形,此棕色厚垣孢子的人工萌发尚未看到,有性阶段不明确。

在加盖片的土豆汁琼脂上,28℃培养5—17天后,有时局部可有分枝很密的假菌丝。也有伸得很长的菌丝,其末端可有梨形厚垣孢子。如果用营养差的合成培养基培养,更易观察到厚垣孢子。

L-82具有耐低温特性,在0—2℃能持续生长。生理性状同前所述。

分离自北京冷库病梨。1972年3月,李明霞 No. L-82(模式)。保存于中国科学院微生物研究所(北京)。

Rhodotorula sinensis Lee

sp. nov.

In medio liquido maltoso (28℃) cellulae ellipsoideae, elongato-ovoideae aut pyriformes $3.42-5.02 \times 5.02-13.68 \mu$. In propagatione vegetativa gemmae polariter formantur. Pseudomycelium et mycelium adsunt. Chlamydosporae globosae

aut pyriformes, guttulatae. Ascosporae et ballistosporae nullae.

Post unum mensem ad 17℃ sedimentum atque annulus formati sunt; color roseus vel ruber.

Cutura: Opt. temp. 22—25℃. Fermentatio: nulla. Assimilatur: glucosum, maltosum, gatactosum, suerosum, raffinose, trehalosum, L-arabinosum, D-arabinosum, rhamnosum, cellobiosum, melezitose, L-sorbosum, D-xylosum, glycerolum, mannitolium, sorbitolum, inositolium, salicinum, acidum citricum, sed non assimilatur Lactosum, D-melibiosum, erythritolum, ribosum (non aut parum), amylosum, inulinum, adonitolium, acidum fumaricum, acidum lacticum. Assimilatio Kaliumnitratu: Adest. Amylum formatur. Ad crescentem vitaminam externam necessariam sunt.

Typus: Cultura No. L-82, isolata ex piro, in Instituto Microbiologico Academiae Sinicae, Peking. Conservatus est.

近年来在无孢子酵母和掷孢酵母,如红酵母属、隐球酵母属^[12]、假丝酵母属(*Candida*)^[13,14,15]、红色掷孢酵母属^[15,16]中均发现了类似担子菌的有性世代。又有一些作者进一步从细胞的超显微结构^[17],DNA碱基组成^[6],胞外DNA酶和尿素酶等各个方面,直接与间接地证明了它们与担子菌纲的关系,特别是与黑粉菌之生活史最相似。L-82能出现棕色厚垣孢子和菌丝,其老细胞和厚垣孢子之萌发情况与担子菌中黑粉菌之情况有很多相似之处。酵母菌通常是在一定条件下按子囊菌的有性过程形成子囊孢子,至于按担子菌的有

* Ridgway 1912 Plate 1.

性过程形成类似黑粉菌之冬孢子和担孢子,近年来也陆续发现,至今报道的还不是很多。L-82 有此迹象,这对于进一步研究酵母菌与担子菌之间的关系,提供了新的资料。虽也有作者认为黑粉菌是寄生菌,不能与腐生菌相提并论。然而在自然中微生物之寄生与腐生的过渡是有联系的,有其演化发展的过程。在腐生菌中发现有类似黑粉菌的生活史,这可能是反映了从寄生到腐生的演化迹象,说明它慢慢地脱离了寄主也能完成其整个生活史。

在出芽繁殖方面, L-82 在 28℃ 培养时,细胞有二端芽裂性状,但在低温(13℃ 以下)培养时,芽裂就不明显,我们暂未以芽裂方式作为 L-82 定属的主要依据。随着培养温度之逐渐下降, L-82 反映了从芽裂到一般芽殖的过渡,也反映了此菌从形成有横隔的菌丝到只形成无菌丝的单细胞的过渡。看来芽裂现象与菌丝的出现有关。酵母菌与丝状真菌在形态上的演化,有人曾认为有如下的过程: 菌丝 → 菌丝 + 芽细胞 → 芽细胞 → 芽细胞 + 假菌丝。并认为这可能就是酵母进化的迹象,但没有与芽裂现象联系起来。L-82 在不同条件下能表现出不同的形态变化,而且体现了芽裂现象与形成菌丝的相关性。所以我们认为深入研究 L-82 可能对酵母的进化提供资料。

参 考 资 料

- [1] Lodder, J.: The yeast. A taxonomic study. Amsterdam: North Holland Publishing Co., 1970.
- [2] 方心芳: 应用微生物实验法 P. 35 中国财政经济出版社, 1962.
- [3] Gray, P.: Handbook of basic microtechnique p73. McGraw-Hill Book Co. Inc. New York, Toronto London, 1958.
- [4] Robinow, C. F.: *J. Biophys. Biochem. Cytol.* **9**:879, 1961.
- [5] Fischer, G. W. and Holton, C. S.: (刘锡瑾等译)黑粉菌生物学及其防治 p. 193—252, 科学出版社, 1963.
- [6] Nakase, T. and Komogata, K.: *J. Gen. Appl. Microbiol.* **17**(5):363—369, 1971.
- [7] Banno, I.: *J. Gen. App. Microbiol.* **13**: 167—169, 1967.
- [8] Banno, I. and Mikata, K.: Annual report of the institute for fermentation Osaka No. 4. p. 53—59, 1969.
- [9] Newell, S. R. and Fell, J. W.: *Mycologia* **62**:272—281, 1970.
- [10] Newell, S. Y. and Hunter, I. L.: *J. Bact.* **104**(1):504, 1970.
- [11] Hasegawa, T.: Annual report Institute for fermentation Osaka p. 1, 1965.
- [12] van der Walt, J. P.: *Antonie van Leeuwenhoek* **33**:246—256, 1967.
- [13] Fell, J. W. et al.: *Antonie van Leeuwenhoek* **35**:433—462, 1969.
- [14] van der Walt, J. P.: *Antonie van Leeuwenhoek* vol. **35**., supplement: Yeast Symposium A. 1, 1969.
- [15] van der Walt, J. P.: *Antonie van Leeuwenhoek* **35**:227—231, 1969.
- [16] van der Walt, J. P.: *Antonie van Leeuwenhoek* **36**:49—55, 1970.
- [17] Johnson-Reid Jo Anne and Moore, R. T.: *Antonie van Leeuwenhoek* **38**:417—435, 1972.

A NEW SPECIES OF YEAST: *RHODOTORULA SINENSIS* LEE SP. NOV.

LEE MING-HSIA

(*Institute of Microbiology, Academia Sinica, Peking*)

This is a report on the study of a new species of yeast, *Rhodotorula sinensis*, isolated from diseased pears taken from a cold storage in Peking. This red bipolar budding yeast is resistant to low temperature. It has distinct morphological and physiological features as well as its peculiar "budding-fission" (i. e. a bipolar budding with cross wall formation for bud separation). It does not form ascospores or ballistospores but chlamydospores. A prolonged incubation period for four months or more under low temperature (5°C) would lead to the formation of brown mycelial colony. This colony consists of fine hyphae and brown chlamydospores which are formed terminally or intercalarily on the hyphae and are either ellipsoidal, pear-like or acute in shape. The mode of germination of many chlamydospores of *Rhodotorula sinensis*

reveals a close resemblance to some basidiomycetes (e.g., *Ustilago* spp.), suggesting the possible involvement of a similar sexual process, to which special attention will be directed in our further study. This yeast produces starch-like compound and carotinoid pigment, and assimilates inositol supplied as its sole carbon source for growth. Although the morphological and biochemical characteristics of this species are quite different from any genus in Lodder's system (1970), yet it shows affinities to *Rhodotorula* in several respects, we therefore put it provisionally under this genus.

Detailed description is given in the report; and the type specimen of this species is deposited in the Institute of Microbiology, Academia Sinica, Peking, China.