

红曲霉属的一个新种

李 钟 庆

(中国科学院微生物研究所,北京)

本文报告了从安徽省望江酒厂大曲中分离到的红曲霉属 (*Monascus van Tieghem*) 的一个新种——橙色红曲霉 *Monascus aurantiacus* Li sp. nov. AS 3.4384。该菌株不仅具有很强的糖化酶活力,而且在形态上与红曲霉属的已知种有较明显的差异。对这个新的分类单位作了汉文和拉丁文描述,并讨论了定为新种的理由。

1980年5月间,安徽省望江酒厂在培制的大曲中出现红心曲,其糖化力特别强,达1000—1200毫克葡萄糖/克曲、小时;致使大曲酒的出酒率呈现高峰。我们将曲样进行分离、鉴定,观察是否红曲霉的作用。分离出的这株红曲霉菌株,成熟后为橙色,而且与文献中记述的该属中各种在形态上有着明显差异,乃是一个新种,定名为 *Monascus aurantiacus* Li sp. nov.。

本文描述和讨论了这个新种,还列出将该菌株与我所保藏的糖化酶活力强的红曲霉对比实验的结果。其酶活力超过对比的4株红曲霉。

材 料 和 方 法

(一) 菌种

AS 3.4384 分离自安徽省望江酒厂大曲的红心部分;本所保藏的红色红曲霉 (*M. ruber*) AS 3.549 (无糖化力),红曲红曲霉 (*M. anka*) AS 3.554、AS 3.972,锈色红曲霉 (*M. rubiginosus*) AS 3.978,后3株菌为糖化酶活力较强的菌株。

(二) 分离培养与测定

分离:取15°Brix 麦芽汁用乳酸调pH3,分装入150ml三角瓶,每瓶20ml,8磅灭菌30分钟。在大曲样品红心部分取一小粒(绿豆大小)投入已灭菌的培养基中,压碎,于35℃培养2天后,将浮于液面的小菌落移入另一瓶培养基中,如此2次即得纯培养。

培养与观察:形态学的观察是用15°Brix 麦

芽汁斜面于35℃培养3—10天的培养物。色泽的描述是以 Ridgway^[1] 的色谱为根据的。酶活力的测定是将麸皮5g装入250ml三角瓶,加1%乳酸7ml,拌匀,15磅灭菌30分钟,接种后于35℃培养4天,加蒸馏水95ml,搅拌,于30℃浸1小时,过滤,作为酶液,测其酶活力。

糖化酶活力的测定:取2%可溶性淀粉液10ml入20ml定量带塞试管中,加0.2M pH4.5的醋酸缓冲液9ml,于50℃恒温水浴中预热5分钟,加酶液1ml,总体积为20ml,保温30分钟,于水浴中煮沸10分钟,停止反应。冷却后取反应液5ml,加0.1N 碘液5ml,0.15N NaOH 5ml,于室温暗处静置15—20分钟,加2N H₂SO₄ 2ml,用0.05N Na₂S₂O₃ 标准液滴定(即Willstaller-Schudel 定糖法^[2])。并以水解1%可溶性淀粉,每小时产生1mg葡萄糖为1个酶活力单位计算酶活力。

结 果

(一) 形态特征与新种描述

橙色红曲霉 新种

Monascus aurantiacus Li sp. nov.

形态:在麦芽汁琼脂上,于32—35℃生长良好,菌落初为白色,3天后逐渐呈现橙粉红色(Orange pink, Plate II),7天后则变为橙铬色(Orange chrome, Plate II),

本文于1980年8月6日收到。
郭芳同志协助工作。

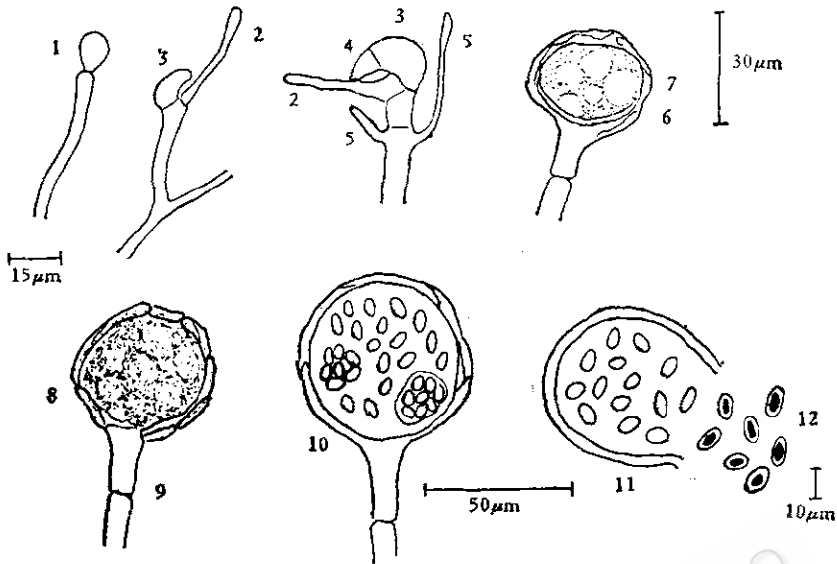


图1 橙色红曲霉的形态特征: 1.分生孢子梗和分生孢子; 2.雄器; 3.产囊体; 4.受精丝; 5.不育菌丝; 6.原子囊壳; 7.子囊; 8.近成熟的子囊壳; 9.柄; 10.子囊壳纵剖面图; 11.子囊壳破裂; 12.子囊孢子。

Fig. 1 The morphological character of the *Monascus aurantiacus* sp. nov.: 1. Conidiophore and conidium; 2. Antheridium; 3. Ascogonium; 4. Trichogyne; 5. Sterile hypha; 6. Properithecium; 7. Ascus; 8. Maturescent perithecium; 9. Pedicel; 10. The drawing of a perithecium in longitudinal section; 11. Split perithecium; 12. Ascospores.

表1 五株红曲霉糖化酶活力的对比

Table 1 The Comparison of the Amylase Activity of Five Strains of *Monascus*

菌种名称 Name of cultures	菌号 Strain number	酶活力(单位/毫升酶液) Enzyme activity (Units/ml of the cultural extract)
<i>Monascus aurantiacus</i>	AS 3.4384	8.33
<i>Monascus anka</i>	AS 3.554	8.22
<i>Monascus anka</i>	AS 3.972	5.62
<i>Monascus rubiginosus</i>	AS 3.978	7.36
<i>Monascus ruber</i>	AS 3.549	0.99

背面红褐色;菌丝体具分隔分枝,无色或象牙黄色 (Ivory yellow, Plate XXX) 或淡肉桂粉红色 (Pale cinnamon pink, Plate XXIX) 或珊瑚样粉红色 (Coral pink, Plate XIII);基内菌丝直径 5—8 (—12) μm , 含油滴和液泡;气生菌丝直径 3—6.5 μm , 含油滴;分生孢子梨形,单生, 8—10 \times 10—12.5 μm , 较罕见;子囊壳球形,具柄,淡黄色或淡红色,直径 30—60(—75) μm ;子囊 5—9

(—12)个,球形,直径 10—18 μm ,成熟后解体;子囊孢子 8个,卵形或卵椭圆形,象牙黄色或浅绿黄色 (Light green yellow, Plate V), 4—5.5 \times 6—7.5 μm 。

生理:糖化酶呈现极强的活力。

模式菌种: AS 3.4384 于1980年7月5日从安徽省望江酒厂大曲中分离出,保存在中国科学院微生物研究所,北京。

Monascus aurantiacus Li sp. nov.

Morphologia: Cultura colonia in agarum maltatum ad 32—35°C prino albae tum demum aurantiaca, rufobrunnea in inversa; mycelina septata et ramificato, hyalina vel eburnea vel incarnata; hyphae substratarum 5—8 (—12) μm diam., vacuolata et oleosa; hyphae aerobiae 3—6.5 μm diam., oleosa; conidia pyriformia, solitaria, 8—10 \times 10—12.5 μm , infrequens; perithecia sphaerica, pedicellata, flavida vel rubeola, 30—60 (—75) μm diam.; asci 5—9 (—12), globosi, 10—18 μm diam., evanesco post maturo; ascosporae 8, ovalae vel ovato-ellipsoideae, eburneae vel galbinae, 4—5.5 \times 6—7.5 μm .

Physiologia: Fermentum amylaceus vehementer actuosus.

Typus: Cultura AS 3.4384, isolata ex tritici zymogenus in Wangjiang, provinciae Anhui Sinae, in Instituto Microbiologico, Academiae Sinicae, Beijing Sinae, conservatus est.

(二) 糖化酶活力

橙色红曲霉 AS 3.4384 的糖化酶活力与原保藏的 4 株红曲霉对比实验的结果列于表 1。由表中数据可知该新种的酶活力高于原保藏的菌种。表中 *Monascus ruber* AS 3.549 是原先已知没有糖化力的菌种,但是它代表红曲霉属的一个种群,在演化上它接近橙色红曲霉。另外 3 株都是已知酶活力较强的菌种。

讨 论

红曲霉属是 van Tieghem^[3] 于 1884 年建立的属,命名为 *Monascus*, 其意即单孢子菌。实际上这个名称是不确切的,原因是他所观察的是成熟的子囊壳,其中的子囊壁解体,只存留着子囊孢子,故误认为只含有一个子囊。经 Barker (1903)^[4]、Olive (1905)^[5]、Dangeard (1907)^[6]、Schikorra

(1909)^[7]、Young (1931)^[8]、作者^[9]等一系列的研究,证实这属菌子囊壳中不仅含有一个子囊,而是含多个子囊,且每一子囊中容有 8 个子囊孢子,成熟后子囊壁解体,子囊孢子保留在子囊壳中,所以往往只看到含有许多子囊孢子的子囊壳。我们在研究烟色红曲霉 (*Monascus fuliginosus* Sato) 的生活史时,曾注意到在每一个子囊壳中,各子囊成熟的时间极不一致,一些子囊壁已解体,有些子囊才开始形成^[9]。橙色红曲霉的发育过程符合上述情况,故属于该属的一个种,无须质疑。

红曲霉属的生态环境是红曲或大曲作坊、酿酒醪液、青贮饲料、泡菜、淀粉厂等场所,它们是腐生菌,嗜酸,特别是乳酸,耐高温,耐乙醇,多出现在乳酸自然发酵的基物上。橙色红曲霉的栖居地——大曲,正是上述的生态条件。

红曲霉属自 1884 年建立后,近百年来文献中曾记述过 19 种。其中 Sato^[10-15] 在三十年代从中国各地和朝鲜等各种基物上分离、鉴定而命名的红曲霉有 13 种。它们的名称是: *Monascus albidus* Sato, *Monascus albidus* var. *glaber* Sato, *Monascus anka* Nakazawa et Sato, *Monascus anka* var. *rubellus* Sato, *Monascus araneosus* Sato, *Monascus fuliginosus* Sato, *Monascus major* Sato, *Monascus pilosus* Sato, *Monascus pubigerus* Sato, *Monascus rubiginosus* Sato, *Monascus rubropunctatus* Sato, *Monascus serorubescens* Sato 和 *Monascus vitreus* Sato。这 13 种红曲霉的子囊壳直径都在 25—40 μm 之间,只有红曲霉淡红变种 (*Monascus anka* var. *rubellus* Sato) 的子囊壳直径为 20—50 μm , 子囊孢子椭圆形 3 \times 5 μm , 菌落色泽呈淡桃色。而橙色红曲霉的子囊壳直径为 30—60 (—75) μm , 子囊孢子为 4—5.5 \times 6—7.5 μm , 菌落为橙铬色,明显地有别于

这 13 种红曲霉。

红色红曲霉 (*Monascus ruber* van Tieghem) 与橙色红曲霉比较接近, 但是前者的子囊壳直径为 40—54 μm , 菌落色泽为朱红色 (Cinnabar red) 或鲜红色 (Scarlet red), 属于这个种群的菌株无糖化酶活力^[16]。因此二者在形态和生理上的差异也很显著。

紫红曲霉 (*Monascus purpureus* Went) 菌落呈紫红色; 巴克红曲霉 (*Monascus barkeri* Dangeard) 呈黑褐色; 烟灰色红曲霉 (*Monascus fuliginosus* Sato) 呈黑灰色; 毛霉状红曲霉 (*Monascus mucoroides* van Tieghem) 已无模式菌株, 根据文献中的记述该种的子囊壳直径为 60—70 μm , 子囊孢子圆形, 直径 8 μm , 分生孢子球形, 直径 15—18 μm ; 高粱红曲霉 (*Monascus kaoliang* Lin et Iizuka)^[17] 是 1975 年我国台湾省林庆福和日本学者饭塚从高粱酒曲中分离出, 但未作合格发表。因而我们新分离出的菌株将不考虑属于上述红曲霉中的任何一种。

作者从六十年代初期至今将近 20 年, 就我们所保藏的 167 株红曲霉的长期观察, 多数菌株已移植 80 余代次, 它们在 15°Brix 麦芽汁琼脂上, 不同菌株的菌落色泽是稳定的。另外, 不同的种生理生化性状也存在着差别, 如烟灰色红曲霉、红色红曲霉麦角固醇含量都较高, 而其糖化酶活力却极弱^[16]; 红曲红曲霉 (*Monascus anka*)、紫红曲霉麦角固醇含量都较低, 而其糖化酶活力却很强。因此, 色泽可作为区分红

曲霉中不同种的一项依据, 生理生化可作为参考性状。此外, 根据子实器官的大小与其他种的差异, 将新分离的菌株 AS 3.4384 定为新种并命名为橙色红曲霉, 是符合国际植物学命名法规中发表新种所规定的要求的。

参 考 文 献

- [1] Ridgway, R.: Color Standards and Color Nomenclature, pp. 1—43, Colored Pls. 1—L111, Washington, D. C. 1912.
- [2] Willstätter and Schudel: In Browne and Zerban (Ed.) Physical and Chemical Methods of Sugar Analysis, 3rd Ed. p. 896, John Wiley & Sons, Inc. 1941.
- [3] Van Tieghem: *Bull. Soc. Bot. Fr.*, 31: 226—230, 1884.
- [4] Barker, B. T. P.: *Ann. Bot.*, 17: 167—236, 1903.
- [5] Olive, E. W.: *Bot. Gaz.*, 39: 56—60, 1905.
- [6] Dangeard, P. A.: *Le Botaniste*, 10: 1—177, 1907.
- [7] Schikorra, W.: *Zschr. f. Bot.*, 1: 379—410, 1909.
- [8] Young, E. M.: *Am. Jour. Bot.*, 18: 499—517, 1931.
- [9] 中国科学院微生物研究所: 《常见与常用真菌》, 科学出版社, 北京, 22—25页, 1973。
- [10] Sato, K.: *Bull. Agr. Chem. Soc. Japan*, 12: 583—586, 1936.
- [11] Nakazawa, R. and K. Sato: *Bull. Agr. Chem. Soc. Japan*, 6: 352, 1930.
- [12] Sato, K.: *Bull. Agr. Chem. Soc. Japan*, 6: 957—963, 1930.
- [13] ———: *J. Osaka Ferm. Technol.*, 10: 544, 1932.
- [14] ———: *J. Osaka Ferm. Technol.*, 11: 493—500, 1933.
- [15] ———: *J. Osaka Ferm. Technol.*, 12: 439—444, 1934.
- [16] 李钟庆等: 微生物学报, 11(4): 488—492, 1965.
- [17] Lin, C. F. and H. Iizuka: *Proc. Ann. Meet. Agr. Chem. Soc. Japan*, p. 268, 1975.

A NEW SPECIES OF THE GENUS *MONASCUS*

Li Zhongqing

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

A strain of *Monascus* populated in a leaven (Daqu) made by Wangjiang brewery, Anhui China, was isolated and identified on July 5, 1980.

This organism to cause red puncta in leaven is a new taxon of the genus *Monascus*, because it differs from other species in cultural and morphological characteristics reported in literature. The isolated and purified culture shows orange chrome in color when maturity; thus it was named *Monascus aurantiacus*.

The reason for erecting this new taxon is discussed.

The diagnoses for the new species are as following:

Morphology: Culture colony in malt agar at 32—35°C, white at first, then turned to orange chrome; mycelia sep-

tate and branched, hyaline or ivory yellow or coral pink; substrate hypha 5—8 (—12) μm in diam., vacuolate, filled with oil drops; aerial hypha 3—6.5 μm in diam., filled with oil drops; conidia piriform, singly, 8—10 \times 10—12.5 μm , rare; perithecia spherical, pedicellate, yellowish or reddish in color, 30—60 (—75) μm in diam.; asci 5—9 (—12), globose, 10—18 μm in diam., disappered when maturity; ascospore 8, oval or oval-ellipsoidical, ivory yellow or greenish yellow, 4—5.5 \times 6—7.5 μm .

Physiology: Amylase of this strain is active strongly.

The type culture of this species, AS 3.4384 is deposited in the Institute of Microbiology, Academia Sinica, Beijing, China.