

1955

中国科学院北京微生物研究室編輯

应用微生物学参考資料

(第二集)

科学出版社

中国科学院北京微生物研究室編輯

应用微生物学参考資料

(第二集)

科 学 出 版 社

1958年2月

內 容 提 要

应用微生物学参考资料是一种普通及实用微生物学的綜合性刊物，登載有关微生物分类变异、生理生化、生态保藏以及有关工农业微生物学的著作及譯文。本編共蒐集國內外論文 14 篇，內容以發酵工業中最重要的菌类酵母及放線菌的分类問題为主，並涉及某些工業發酵的历史和現狀及霉腐菌类的試驗方法等。

本刊可供微生物学的研究工作者、高等学校生物系教师和学生、以及从事於微生物工業生产有关的技术人員参考。

应用微生物学参考资料（第二集）

中国科学院北京微生物研究室編輯

*

科学出版社出版（北京朝陽門大街 117 号）

北京市書刊出版業營業許可證出字第 061 号

中国科学院印刷厂印刷 新华書店总經售

*

1958 年 2 月第 一 版

書号：1035 印張：9 3/4

1958 年 2 月第一次印刷

开本：787×1092 1/16

（京）0001—1,750

字数：184,000

定价：（10）1.50 元

目 录

生孢子酵母分类的几个問題·····	方心芳(1)
再論放線菌的分类和鑑定·····	閻遜初(16)
麴蘖的起源与發展·····	方心芳(26)
清涼茶糖發酵·····	王大相(31)
發酵科学的展望·····	坂口謹一郎(44)
酵母的分类与系統上的一些問題·····	小林义雄(46)
分类学对微生物选种的意义·····	В. И. Кудрявцев (59)
日本工業标准中霉腐菌試驗方法的起草經過·····	飯塚 廣(65)
輪生放線菌的形态培养特征和拮抗性·····	Н. К. Соловьева 等(77)
放線菌的生理·····	Т. А. Таусон (82)
酵母的酯(乙酸乙酯)發酵 关于其条件及酶系統·····	馬場为二(101)
評 J. Lodder 等著“酵母 分类的研究”·····	В. И. Кудрявцев(109)
評 В. И. Кудрявцев 著“酵母分类学”·····	М. К. Хохряков(116)
最近外国文献中一部分放線菌新种的描述·····	閻遜初(122)

生孢子酵母分类的几个問題

方 心 芳

酵母是工業微生物学内的重要菌类，解放以前我曾写过几篇有关酵母的形态、生理、分类及鑑定的文章，陸續發表於“黃海發酵与菌学”双月刊。近几年来国外酵母分类的傑作連續出版，使我們比較全面的知道了各国学者的見解。各家意見，愈趋分歧，有必要加以介紹，並附己見，以求正於同道。

一. 菌絲与酵母分类

一般的酵母在普通的培养情况下，菌体多是圓形、卵形或橢圓形的細胞，所以大家把这些形狀的細胞称为酵母形細胞。在老培养中或特别的培养情况下，很容易見到酵母細胞連接成仙人掌似的芽树或藕节似的長鏈 (Scherr, 1953)。酵母分类学的始祖 Hansen (1904) 把成長鏈的細胞称为菌絲，所以他說有少数的酵母形成菌絲，Guilliermond 等常叫这种組織为原始菌絲 (rudimentary mycelium)，其他的学者多叫作假菌絲 (pseudomycelium)。

酵母形成假菌絲是普遍的現象，可是假菌絲在生孢子酵母分类内毫無地位可言，这似乎是不合理的。

不少人認為最發达的酵母菌体为假菌絲，生真菌絲的微生物一般叫作霉菌(molds)，換言之，真菌絲是酵母与霉菌的分界線。1920年 Guilliermond 說酵母菌是單細胞的真菌，1954年 Кудрявцев 更創立單細胞菌目 (Unicellomycetales) 容納各种不生真菌絲的酵母，把真菌絲在酵母分类上的重要性推到了最高峯。

霉菌与酵母都是普通名詞，不是分类学上的范疇，因为它們之間的界限在理論上早被 Guilliermond (1909) 消除了，他在 1920 年所說的話是自相矛盾的，Dekker (1931) 的书出版后他就不再提酵母菌是單細胞真菌的說法 (Guilliermond, 1936B)。

在实际分类上，Klöcker (1924) 首先打破酵母与霉菌的界線，把生真菌絲的霉菌与不生菌絲的酵母編为一屬。他以孢子具有双層細胞壁为根据，將生真菌絲的内孢霉 *Endomyces fibuliger*, *E. Lindneri*, *E. hordei* 等菌改隶於原来不生真菌絲的 *Saccharomycopsis*。翌年 Zender (1925) 提出了一个革命式的分类。他特別提出真菌絲在酵母分类上的地位不是那么重要，他以孢子的形狀与文飾作科屬的区别根据，把霉菌和酵母数个屬的种类重新編排，不少屬内的成員具有生真菌絲与不生真菌絲的区别

(*Endomyces*, *Williopsis*, *Schwanniomyces*), 真菌絲降为种与种之間的界限了。近来 Wickerham (1951) 研究 *Hansenula* 的报告, 以同化硝酸鹽为根据, 把一种生真菌絲的 *Endomyces bisporus* 列入此屬, 改名为 *H. Beckii*。

另外一些学者認為酵母与霉菌的关系十分密切, 酵母不能在分类上成为一个独立的范畴, 但是仍旧坚持酵母是不生真菌絲的菌类的傳統思想。在这个自相矛盾的情况下, Guilliermond (1920) 先提出了一个脱离进化系統的分类(把裂殖酵母隶於酵母科中), Dekker (1931) 按着酵母亲緣关系把酵母与霉菌混合編制成了不同的亞科及族 (Tribe), 但是典型的酵母各屬中沒有生真菌絲的菌类, 以前 Zender 及 Klöcker 的建議都沒有被接受。Dekker 这个意見为傳統的权威酵母分类学家所同意, 並且 Lodder (1952) 进一步在酵母分类著作中不录生真菌絲的内孢霉。苏联的兩位酵母分类学家更趋極端。Красильников (1954) 又恢复了 Guilliermond (1920) 的不合理的老分类法, 把裂殖酵母屬移回不生真菌絲的酵母科中, 且把历来放入酵母范畴内的生真菌絲的 *Nematospora* 移置於内孢霉科中。Кудрявцев (1954) 更是登峯造極, 把真菌絲列为目与目的区别根据, 使酵母提高到完全脱离生真菌絲的霉菌而自成一目, 否定了 Guilliermond 的为大家承認的酵母分类系統, 真菌絲在酵母分类上的重要性达到了顶点。

我們認為把真菌絲在酵母分类上提得太高是不合理的, 它只能是种或屬間区别的依据。Кудрявцев 創立的單細胞菌目要不得, 还是 Guilliermond 的酵母分类系統較為正确。

二. 有性繁殖与酵母分类

酵母生成的内孢子, Reess 正确的断定为子囊孢子, 即有性生成的孢子, 所以生孢子酵母都具有性繁殖的能力。本节要談的不是有性繁殖的有無, 而是性行为在酵母生活中出現的时期問題。

1891 年 Hansen 見到他以后定名为 *Saccharomycodes Ludwigii* 的孢子發芽时經常双双融合后再行無性增殖。1901 Barker 見到一种酵母由营养細胞接合生成子囊, 所以他叫作接合酵母 (*Zygosaccharomyces*)。以后有不少人看見 *Saccharomyces* 屬菌类的孢子發芽时也有接合的, 像酵母 *Johannisberg II* 的孢子接合現象就很普遍。中国醬醪中的酵母孢子發芽时也多接合(魏喆寿、方心芳, 1931)。

酵母的接合現象, Guilliermond 研究的很多, 他也特別重視这一特性在分类上的价值(1912, 1920, 1928 及 1936)。Guilliermond 早期(1920)認為 *Schizosaccharomyces* (裂殖酵母屬)、*Zygosaccharomyces* (接合酵母屬)、*Nadsonia* (納氏酵母屬) 等是異形或同形接合生成孢子, *Torulaspora* (孢球酵母屬)、*Schwanniomyces* (施氏酵母屬) 是具有接合形跡的單性生子囊, 啤酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 是單性类型菌, *Saccha-*

romycodes Tudwigii (魯氏半裂殖酵母)是孢子之間接合的單性类型菌。这就是酵母有性生孢子的能力由於演化或尚未知道的环境条件逐渐退化的途徑。裂殖酵母,接合酵母等形成孢子时都有或多或少的营养細胞不經過接合作用直接生成孢子,也是由有性生殖退化为單性生殖的类型之一。Guilliermond 的这个單性生成孢子的学說曾風行一时,但不久为 Winge 的發現所动摇。

Kruis 及 Satava (1918) 用捷文报告 *Saccharomyces* (酵母屬) 菌孢子發芽形成的营养細胞能相互接合,然后再行繁殖。因文字所限制未能为世界学者所注意,埋沒了17年。丹麦有名的 Carlsberg 研究室的 Winge 於1935年重新發現了这一現象,並給与恰当的解釋。Winge 报告 *Saccharomyces* 屬菌孢子發芽有三种現象:第一是像 *Saccharomycodes* 屬菌孢子發芽时即行接合,然后生成双倍体 (diploid) 酵母細胞;第二是孢子單獨發芽,生成單倍体 (haploid) 酵母細胞;第三是孢子單獨發芽生成單倍体酵母細胞,这些單倍体細胞进行接合作用成接合子,然后生殖双倍体的酵母細胞。因此 *Saccharomyces* 屬的菌株一般是單倍体細胞与双倍体細胞的混合类型。双倍体細胞可以直接生成子囊,單倍体細胞須要接合成双倍体后才能生成子囊。Guilliermond 等的 *Saccharomyces* 屬菌的單性生成子囊的学說被 Winge 的这一發現所动摇了。

Winge 說 *Saccharomyces* 的單倍体酵母細胞較短,团聚不散,且易失去生孢子能力变成 *Torulopsis*, 这說明了一部分酵母失去生孢子能力的原因。双倍体酵母細胞較長大,排列疏散,易生孢子。Wickerham 等(1951)研究汉氏酵母屬 (*Hansenula*) 各菌种更以單倍体細胞与双倍体細胞的比例排列出各种的演化关系。Wickerham 指出双倍体酵母細胞較大,形成假菌絲或真菌絲,合成生長素,發酵糖类較多且較强大,但單倍体酵母恰恰相反。我的經驗(1937)是双倍体細胞較大,不見得都較長。

Winge 等 (1935,1937) 說有的菌种是純質的 (homozygous), 另一些酵母是異質的 (heterozygous), 后者同一子囊內的單孢子菌株特性相異, 所以我們普通分离的單营养細胞菌株, 不見得是“純种”, 因为它可能是異質双倍体細胞。

Winge 的發現公布后, Guilliermond 研究室又深入的研究了各类酵母的有性繁殖及細胞学問題, 結果使他改变了一些以前的观点。譬如說 Guilliermond 承認 *Zygosaccharomyces*、*Torulaspora*、*Saccharomyces* 三屬的亲緣关系可能相近, 並且承認了孢子接合是真正的有性作用(1936), 但他同时見到少数 *Saccharomyces* 菌有双核期現象, 这与 *Taphrina* (外子囊菌屬) 的双核期近似, 所以他說單倍体酵母可能与 *Taphrina* 有亲緣关系(1936), 这样又恢复了 Reess (1870) 的酵母来自外囊菌 (*Exoascus*) 的主張。Guilliermond 的这个二元論 (双倍体酵母来自內孢霉, 單倍体酵母来自外囊菌), 荷蘭学派反对甚力。

丹麦的 Klöcker (1924) 及荷蘭的 Dekker (1931) 都輕視接合作用出現於子囊形

成前后的問題,所以把 *Zygosaccharomyces* 列为 *Saccharomyces* 的亞屬。Winge 發現 *Saccharomyces* 屬菌是双倍体与單倍体混合生物給与这种主張一个学理根据。Dekker 的同事 Lodder (1947) 研究了 *Zygosaccharomyces marxianus* (馬克斯接合酵母) 及 *Saccharomyces macedoniensis* (馬其頓酵母) 兩种酵母在特別按排的条件下接合作用的情况,更認為接合酵母屬是 *Saccharomyces* 的双倍体期,不能成屬或亞屬,因此在她最近(1952)的著作中就取消了接合酵母屬的名称。

从前認為是試探接合的 *Torulaspora*, Krumbholz (1933)認為与接合酵母屬关系很近,他(1931)研究了 *Zygosacch. globiformis* (球形接合酵母)發現此菌形成孢子型式多种,除異形、同形、中間形外,还有生試探接合管 (protuberances) 的,生一或多条試探管的細胞都能生成孢子。除此之外,不生試探管的細胞也可以生孢子。因此他認為 *Torulaspora* 及 *Zygosaccharomyces* 無實質的差別,应取消 *Torulaspora* 的名称。Nickerson 等 (1943) 报告黑麴霉的老培养液中有一种对 *Zygos. acidifaciens* (产酸接合酵母) 的接合促进素 (conjugation-promoting principle), 並知道維生素 B_2 及戊二酸 (glutaric acid) 有同样的作用。Nickerson (1943) 变更培养基的碳氮比例能阻碍接合管的融合,微量的維生素 B_2 及戊二酸能部分的克服这种阻碍作用。这試驗說明接合現象的是否成功与培养基的成分有关。Lodder (1952) 說見到一个标签上写着 *Torulaspora rosei* (紅色孢球酵母) 的菌,除有接合細胞之外还有試探管,且二者均生子囊孢子。由於这些原因, Lodder (1952) 說 *Torulaspora* 与 *Zygosaccharomyces* 無甚差異,而后者又与 *Saccharomyces* 相同,故將三屬合而为一,統称 *Saccharomyces*。Bessey (1950) 等同意此說。但是 Кудрявцев (1954) 及 Красильников (1954) 等都不贊成这个意見,仍維持三类酵母成独立的三个屬。並且 Кудрявцев 除維持 *Zygopichia* (接合皮氏酵母屬) (Lodder 等取消了) 外,又創立了 *Zygofabospora* (接合豆孢酵母屬) (营养細胞接合成子囊生腎形孢子), *Zygowillia* (接合魏氏酵母屬) (营养細胞接合成子囊生礼帽形孢子), *Zygowilliopsis* (接合拟魏氏酵母屬) (营养細胞接合成子囊生土星形孢子) 等三个屬。Красильников 以細胞接合作用存在为理由維持他从前 (Nadson, 1928) 創立的 *Guilliermondella* 屬,以同一理由創立了 *Zygorenospora* 屬 (生腎形孢子), *Zygothansenula* 屬 (生礼帽形孢子), *Zygowillia* 屬 (生半圓形孢子)。由此可知苏联的学者比巴黎学派走的还要远,因为 Guilliermond 同意把 *Zygopichia* 列为亞屬並取消 *Guilliermondella* 屬,他們与荷蘭学者各走了兩個極端。

酵母是極下等的真菌,生理与形态的特性特征易於改变,人为的使接合作用在生活史中前后移动很早就發現了。Hansen (1902) 曾將酵母 Johannisberg II (*Saccharomyces* 屬的一种) 的孢子种入麦芽汁中 4 小时后孢子吸水膨大,有的开始接合,3 到 5 小时后孢子膜破裂成一接合子,移入含硫酸鈣的麦芽汁中 3 到 6 天,接合子中生成了孢子。这

种孢子接合即生孢子的現象是不平凡的。Guilliermond (1903)把 *S. Ludwigi* 及 *Willia saturnus* (土星形魏氏酵母)的孢子种植在胡蘿卜条上,孢子很快發芽,但几天后就停止繁殖,开始生成子囊,但是有些軟弱的孢子無能力發芽生成营养細胞,它們發芽后即行接合生子囊形成孢子,与接合酵母及裂殖酵母的接合形成子囊的情况一样。Guilliermond (1931)也能使酵母的营养菌体时期縮小到几乎沒有。他把八孢子裂殖酵母的孢子培养在 Gorolkowa 琼脂上,孢子吸培养液膨大,两个膨大的孢子即行接合,在这类接合子中可以生成孢子。Winge 的工作公布后,Guilliermond (1936)又詳細的研究了一种有性繁殖看来是不正常的酵母 *S. paradoxus* (奇異酵母) (Nadson 及 Krass. 1925),結果是这种酵母的生孢子情况与其他 *Saccharomyces* 屬菌近似,並無反常現象。它的孢子可以直接結合然后生营养細胞,也可以先生营养細胞,有的营养細胞接合成双倍体,繼續繁殖。若把孢子先培养在麦芽汁中待膨大欲萌發时移於石膏塊上,膨大的孢子即行接合生子囊形成孢子,与接合酵母孢子形成的情况类似。由此可見人工的特別处理可以使双倍体酵母的菌体接合后即生子囊,也可以使單倍体酵母孢子發芽时接合。

我們認為分类的根据應該是正常情況下出現的特性特征,異常情況下的特性特征只可当作亲緣关系的暗示。如果說这个見解是对的話,那就須要把單倍体酵母与双倍体酵母分开独立各成分类羣(屬或亞屬)。

單性生孢子 (parthenogenesis) 現象在真菌中是普遍存在的,酵母中的試探接合形成子囊 (*Torulaspora*),应視為單性生孢子,与接合酵母的双性結合生孢子有本質的不同,似以維持兩屬 (*Torulaspora* 及 *Zygosaccharomyces*) 独立地位为妥。至於 *Saccharomyces* 屬菌中有單倍体細胞的存在,这是事实,但單倍体細胞多趋死亡或退化为不育型。所以在正常的情况下, *Saccharomyces* 总能維持他双倍体酵母的特征——营养細胞直接变成子囊,或在实验室的条件下逐漸失去生孢子能力,最終細胞变为全不育性,而成 *Torulopsis* 型,可是总沒有見到有單倍体酵母特征的出現——营养細胞接合后即生子囊。*Zygosaccharomyces* 屬菌細胞中有無双倍体型还是問題,Guilliermond (1920)所报告的裂殖酵母屬及接合酵母屬的营养細胞一部分直接形成子囊为單性生殖,在沒有証明直接形成子囊的营养細胞是双倍体之前,他的說法还是可信的。*Zygosaccharomyces* 屬比較上是不稳定的,久研究酵母的人都能諳悉。也許有可能此屬的退化是經過 *Torulaspora* 型 (試探接合) 或 *Saccharomyces* 型 (营养細胞直接生子囊) 最后到 *Torulopsis* 型 (無孢子),但是还没有足够的材料确定这些过程,現在只能肯定 *Zygosaccharomyces*,是容易失去生孢子能力变为 *Torulopsis* 的。人工的培养指出 *Saccharomyces* 像是 *Zygosaccharomyces* 的双倍体期足証這兩屬酵母有很近的亲緣关系。Guilliermond (1936) 依有似双核期的細胞說双倍体酵母与外囊菌 (*Taphrina epiphylla* 等) 接近的意

見也不足取,还是把 *Saccharomyces* 及 *Zygosaccharomyces* 分别独立成属或亚属为妥当。同一理由,我們认为一羣酵母中有营养細胞接合生子囊的及孢子接合或其后嗣接合(但不直接生成子囊)的都可分别独立成属或亚属,但是若只有接合生子囊现象,而無其他接合作用的羣,还是合为一属好,因为很可能無接合作用的菌是接合生子囊菌的退化型。

Кудрявцев (1954)把一种 *Saccharomycodes*(半裂殖酵母)独立成 *Saenkia* 属,鑑別特征在孢子發芽时不接合,似乎过分重視了这一特征。况且他的圖 92 (*Saenkia bispora* 的孢子發芽)中不少近於三角形的細胞,有点像接合子的样子,所以这个新属是否能够成立,大有討論余地。

三. 孢子在酵母分类上的地位

孢子在酵母分类学内的地位,有的人提得太高了,另一些人重視不够。依生孢子与否,把酵母分为两大类:生孢子的酵母归於子囊菌类,不生孢子的酵母置於不完全菌类,是不太合理的。类似的孢子形状及文飾有关亲緣关系者甚大,可是有些分类学家把生不同形状或文飾孢子的菌类归於一属似乎也不合於自然分类法。

权威的分类学家, Hansen, Guilliermond, Dekker, Lodder 等都把酵母分为生孢子酵母与不生孢子酵母两大类,在酵母的鑑定上有它的方便处,可是这样把有些亲緣相近的酵母分置於两个很远的羣中了。因为酵母的生孢子能力容易失去,而且有需要特別条件才生孢子的酵母,人們不容易見到它的孢子,这样就常被誤認作不生孢子的酵母。

研究酵母的人,自 Hansen 以来,都熟悉有些生孢子酵母在实验室内培养日久便不再产生孢子, Lodder (1952)的著作中敘述了许多实例。如 120 株啤酒酵母中有 28 株不生孢子,巴斯德酵母二株之一不生孢子, 33 株 *S. Rouxii* (魯氏酵母——原来为接合酵母菌)中 29 株失去生孢子能力, *S. bailii* (原来为接合酵母)不生孢子了。由此可知生孢子能力的失去是普遍的,但因酵母种属的不同,有难易之差罢了。最近小田等 (1955)更用实验証明了酵母生孢子能力的失去与恢复。

酵母形成孢子有关菌种的营养及老幼情况,基質的是否合适及其他环境条件,各类酵母的要求也不一致 (Phaff 及 Mrak, 1948 及 1949)。例如 *Saccharomyces* 属各菌易在 Gorodkova 琼脂及石膏塊上形成孢子, *Pichia* (皮氏酵母属)易在胡蘿卜及 V8 (八种菜湯)上生孢子, *Debaryomyces* (德氏酵母属)易在 V8 上生孢子等。Hartelius (1953)的洋灰塊上易生 4 个孢子的子囊,甚多的酵母在 Fowell (1952)的醋酸鈉培养基上丰产子囊 (Kleyn, 1954)。若得不到适当的条件,酵母不生孢子,作鑑定时就須要把它放在不完全菌类中。

酵母的一部分是異宗接合的生物,自 Lindegren (1945) 提出后已有不少人加以証明。例如清酒酵母(*Sacch. sake*)的某些品种是異宗的(小田稚夫及若林謙太郎, 1955)。異宗菌类,若‘+’株与‘-’株不在一塊生活,就無法生成孢子,分类时被置於不完全菌类中。Wickerham (1954)的工作正好說明这个事实。他証明 *Candida Guilliermondii* var. *membranaefaciens* (季氏假絲酵母)及 *C. Chalmeri* (卡氏假絲酵母)是 *Endomycopsis Ohmeri* (欧氏芽絲酵母)的不完全型。

以上所談都指出以能否見到孢子为根据把不生孢子的酵母归於不完全菌类是不妥当的。應該照近来的麴霉屬与青霉屬的分类,把形态生理近似的菌收在一屬内,較為合理。

孢子的形狀及文飾在分类上的地位,各家意見頗不一致,茲分述於后。

Hansen (1904)創立 *Pichia* 及 *Willia* 二屬的区别是 *Pichia* 的孢子为半圓形,不整形及多角,不發酵;而 *Willia* 的孢子則为礼帽形或土星形,發酵。可是 Hansen 說 Willi 及 Lindner 研究的几种酵母概亦可归 *Pichia* 屬。我們知道 Willi (1892)的 *Saccharomyces membranaefaciens* II (产膜酵母)生圓形或稍扁圓的孢子, Lindner (1894)的 *Saccharomyces hyalospora* 及 *S. farina* (粉狀酵母)的孢子都是圓形或卵形,因此 Hansen 虽未明言,但事实上他承認 *Pichia* 的孢子可能是圓形或扁圓。所以 Klöcker (1912)研究的 4 种生圓形孢子的酵母,也隶於 *Pichia* 屬 [*Pichia polymorpha* (多形皮氏酵母)、*P. suaveolens* (果香皮氏酵母)等],並改了 *Pichia* 的界說:*Pichia* 不但能生圓形孢子並且能微弱發酵。Guilliermond (1920 及 1936)同意 Klöcker 的分类。Dekker (1931)增加了鑑別兩屬的依据:*Pichia* 不同化硝酸鹽,不能或微弱分解 Aesculin,而 *Hansenula* (汉氏酵母屬)(= *Willia*)同化硝酸鹽並分解 Aesculin,因此把生礼帽形孢子的 *Willia chodati* (柯氏魏氏酵母)[= *Endomyces Chodati* (柯氏内孢霉) Zender] 等菌归入 *Pichia* 屬内,而把生圓及半圓孢子的 *Pichia suaveolens* Klöcker (果香皮氏酵母)改隶 *Willia* 屬内。这样 *Pichia* 屬内有了礼帽形孢子菌, *Willia* 屬内添加了圓形及半圓形孢子菌。Bessey (1950)基本上仍贊成 Klöcker 的分类, Lodder (1952)同意 Dekker 的分类,但苏联学者 (Кудрявцев 及 Красильников, 1954) 有不同的意見。Кудрявцев 的 *Hansenula* 屬内有三个种,一不同化硝酸鹽 [*H. kluyveri* (克氏汉氏酵母)]一生圓形孢子 [*H. suaveolens* (果香汉氏酵母)],他的 *Zygowillia* (接合魏氏酵母屬)内三个种,倒是均生礼帽形孢子。他的 *Pichia* 及 *Zygopichia* 的界說与 Klöcker 者类似。Красильников 的 *Hansenula*, *Pichia* 与 *Zygopichia* (接合皮氏酵母屬)大致也与 Klöcker 的分类相同,可是后二屬有生礼帽形孢子的 *Pichia fermentans* Lodder (發酵皮氏酵母)及 *Zygopichia Pastori* (巴斯德接合皮氏酵母) [= *Zygosacch. pastori* Guillier. (巴斯德接合酵母)]。最近研究 *Hansenula* 屬的 Wicher-

ham (1951), 研究 *Pichia* 屬的小原及野野村(1954)基本上同意 Dekker。

關於生凸線孢子的分類, 還有另外一些主張。首先提出意見的是 Zender (1925)。他把生凸線孢子的內孢霉及酵母分為三屬, 凸線長在邊緣, 使孢子成禮帽形的菌統稱為內孢霉 (*Endomyces*), 因此把 *Hanseniaspora valbyensis* Klöcker, *Zygosacch. pastori* Guillier., *Hansenula anomala* Hans. (異形漢氏酵母) 等都改為 *Endomyces* 的成員了; 凸線生於中間使孢子成土星形且孢子壁光滑者統稱 *Williopsis* (擬魏氏酵母屬), 此屬包含原來的 *Endomyces capsularis* (雙壁內孢霉) 及 *Hansenula saturnus* (土星形漢氏酵母); 最後把生痣面的土星形孢子的 *Endomyces javanensis* (爪哇內孢霉) 改求 *Schwanniomyces* (施氏酵母屬)。權威的酵母分類學家多不贊成 Zender 的意見, 但他的 *Williopsis* 屬為數家所接受 (Clements; Кудрявцев; Красильников)。Кудрявцев 且創 *Zygo-williopsis* 屬容納接合生光面土星形孢子的菌 (*Zygo-hansenula californica* Lodder)。

生腎形孢子的 *Sacchar. marxianus* Hansen 被 Guilliermond 等改為 *Zygosacch. marxianus*, 1939 及 1942 年 Diddens 及 Lodder 研究的 1 種生腎形孢子的酵母定名為 *Sacch. macedoniensis* (馬其頓酵母), Кудрявцев (1954) 以這兩個種分別作為模式菌創立了兩個屬: *Fabospora* (豆孢酵母屬) 及 *Zygo-fabospora* (接合豆孢酵母屬)。生腎孢子能發酵乳糖的 *S. fragilis* Jörgensen 成了 *Fabospora fragilis* (脆弱豆孢酵母)。Красильников (1954) 則創立 *Zygorenospora* 屬容納接合生子囊的腎孢子酵母 [*Zygosacch. marxianus* Guilliermond, *Saccharom. fragilis* Jörgensen (?) (脆弱酵母)] 並且反對他以前創立的 *Guilliermondella* 歸併於 *Endomycopsis* (Dekker, 1931), 以它生腎孢子且接合生子囊的特徵主張應仍獨立為屬。Кудрявцев 說八孢子裂殖酵母的孢子為腎形, 因之創立 *Octosporomyces* (八孢酵母屬) 以區別於 *Schizosaccharomyces* (裂殖酵母屬)。其實文獻內並沒有人說八孢子裂殖酵母的孢子為腎形, 倒是 Nakazawa (中澤亮治, 1914) 從台灣糖分離並鑑定的一種名為 *Schizosaccharomyces hokkoensis* 的孢子為腎形, 所以若要創立新屬的話, 按理應稱為北港酵母屬, 或稱中澤氏酵母屬。

Lodder (1952) 輕視孢子表面光滑或痣點的特徵, 把 *Debaryomyces* 的一些種移入 *Saccharomyces* 屬內是不妥當的, 不少的分類學家不贊成, 我們將於下節述之, 於此不贅。

Schionning 以孢子的細胞膜為雙層的特徵創立的 *Saccharomycopsis* (雙壁酵母屬), 原有兩個種, 但 Guilliermond 認為 *S. capsularis* (雙壁酵母) 能生真菌絲, 改求 *Endomyces* 屬內, 可是 Klöcker (1924) 覺得孢子雙壁較真菌絲為重要反把數種 *Endomycopsis* 改屬 *Saccharomycopsis* 內。Dekker (1931) 忽視孢子雙壁特徵, 不贊成 Klöcker 的意見, 且把 *Saccharomycopsis* 屬取消了。Lodder (1952) 認為在沒有研究清楚之前還是保留屬名為妥, 是正確的處理。

依孢子的形狀及文飾分类我們以为是正确的,但有一个問題須要解决,微生物同化硝酸鹽的性能在系統史内所处的地位如何? 不少的分类学家把这一性能的重要性提得甚高,是否正确,似有問題,須要深入的研究才能确定它合适的地位。至於 Aesculin 的分解,据 Barnett (1956) 的研究与 Dekker 及 Lodder 的結果也有出入。有的酵母分类学家以孢子的数目創立屬名,如 Кудрявцев 的 *Issatchenkia* (伊氏酵母屬),我們認為不妥当,因为每囊生孢子的数目与培养条件大有关系。至於生長孢子的酵母及近来 Lodder 及 Кудрявцев 等报告的生許多孢子的酵母似乎均須要更充分的研究才能确定它們的系統。

四. 無性繁殖与分类

普通的酵母都是發芽增殖的,所以人們都把芽殖作为一般酵母的繁殖法。分裂增殖的酵母比較少,多产於熱帶及亞熱帶。酵母分类学的鼻祖 Hansen (1904) 認為裂殖酵母是另一羣的生物,不能列入酵母科中。Guilliermond (1909) 明确的指出兩羣酵母都是 *Fremasius* 屬的远亲,但芽殖酵母类通过發芽繁殖的内孢霉类 (*Endomyces*) 演化而来,裂殖酵母类則通过裂殖的内孢霉类演化而来。Dekker (1931) 贊成这个意見,並把内孢霉屬的定义改过,只包含裂殖的内孢霉类,把芽殖的内孢霉統归於一个新屬 (*Endomycopsis*)。这个切合实际的分类法已为許多学者所接受。虽然苏联的兩位研究酵母的学者不同意这种分类法(Кудрявцев, 1954 及 Красильников, 1954),但他們对芽殖与裂殖的重視不減於他人。Кудрявцев 把裂殖酵母与芽殖酵母並列为二科,Красильников 恢复了 Guilliermond 1920 年的主張,將裂殖酵母放入酵母菌科,成为一个屬。我們認為这样处理芽殖酵母与裂殖酵母的方法,不大妥当,还是 Guilliermond-Dekker 的分类合乎自然演进的系統。

另一类酵母兩極發芽,芽細胞与母細胞的接合处(基部)相当的寬广,有时生一較短的横膜,这种繁殖法介於芽殖及裂殖之間。Hansen 及 Guilliermond 都注意到 *Saccharomycodes* (半裂殖酵母屬) 發芽时基部較寬,但沒有加以重視。Dekker (1931) 見到 *Saccharomycodes*、*Hanseniaspora* 及 *Nadsonia* 三屬酵母都是兩極發芽繁殖,芽子基部頗寬广,她認為这个特征相当重要,故將以上三屬合为一族(Tribe) 隶於酵母科下。Guilliermond (1936) 及 Lodder (1952) 都同意 Dekker 的意見。但是 Кудрявцев 創半裂殖酵母科(*Saccharomycodaceae*),与酵母菌科及裂殖酵母菌科三足鼎立於單細胞菌目下。此科除包含 Dekker 族所隶三屬外,还增加了一个新屬(*Saenkia*)。此新屬与 *Saccharomycodes* 極為相似,区别只在孢子發芽时不接合而已。学者中也有不贊成把这些半裂殖酵母合起来成族或科的人,像 Bessey (1950), Красильников (1954) 等是。我們覺得 *Nadsonia* 营养細胞接合后發芽生子細胞,后者变成子囊的現象十分別致,是否

与营养細胞無性形成子囊的 *Saccharomyces* 为同一近祖, 分化而成, 确有可討論处, 現在把它們列为一族或一科, 人为的成分不小, 也就是說, 对兩極發芽及芽細胞基部广寬的特征, 似乎過於重視了。

五. 發酵性能与酵母分类

酵母是發酵之母, 發酵是酵母重要特性之一, 这是一般的說法。事实上也有一些酵母是無發酵能力的, 也就是說它們沒有分解糖类生成酒精及 CO_2 的能力。因此我們可以把酵母分成兩大类: 發酵型酵母与非發酵型(同化型或氧化型)酵母。依酵母的系統發育史看, 發酵性与酵母形菌体都是适应环境的产物。原来生菌絲的內孢霉类在含糖的溶液中菌絲逐漸退化成酵母型菌体, 这些酵母型菌体在某些适宜於液体表面生長成膜的汁液中, 生成膜, 仍維持它原来的氧化作用成为氧化型酵母。另一部分酵母型菌体在不适宜於液面繁殖的汁液中生長, 即在液內繁殖。液內空气少, 氧气用完之后, 只得用另外一种方法(發酵)取得能, 天長日久就变成了發酵型酵母(生長於液內的氧化型酵母, 如 *Cryptococcus* (隱球酵母屬)等, 那是另一种情况下演化的結果)。因此同一祖先的菌类, 所处的环境不一样, 可以演化成發酵型与氧化型兩個羣, 像 *Debaryomyces* 屬那样。Lodder (1952) 把 *Debaryomyces* 屬的發酵型菌类移於 *Saccharomyces* 屬內, 長西(1956)等不贊成这种作法是正确的, 我們認為合理的处理是把 *Debaryomyces* 屬下分为發酵型与氧化型二羣(也許可称亞屬)。

Hansen (1888) 曾研究 40 株酵母及生酵母形細胞的菌类發酵四种糖(葡萄糖、蔗糖、麦芽糖及乳糖)的情况。他用測定乙醇量的方法, 判定各种菌类是否發酵及强弱發酵这些糖类。他用这个方法鑑定出了發酵葡萄糖及蔗糖的酵母 [*S. marxianus* (馬克斯酵母) 及 *S. exiguus* (少孢酵母)] 与發酵葡萄糖、蔗糖、麦芽糖的酵母 [*S. cerevisiae* (啤酒酵母) 等六种], 其他的生孢子与不生孢子的酵母及 *Monilia* (念珠菌屬)、*Mucor* (毛霉)、*Oospora lactis* (乳卵孢菌) 等都加檢定, 是早期有价值的工作。在酵母分类上 Kluyver-Dekker (1931) 的研究工作最为重要, 他們測驗了許多酵母, 得到了几个規律: 凡具發酵性的酵母, 都能發酵葡萄糖; 凡發酵葡萄糖的酵母都發酵果糖及甘露糖; 發酵麦芽糖的酵母不發酵乳糖, 反过来也是一样。Dekker 的生孢子酵母一書內利用七种糖(除 Hansen 用的四种糖外, 加上半乳糖、蜜二糖及棉子糖) 鑑別各种酵母, 使酵母鑑定工作簡化了許多。她以發酵作用把 *Saccharomyces* 屬內的种分为十羣, 由形态的不同区划羣內各种。Lodder (1952) 同意这种作法。Кудрявцев (1954) 則全以糖發酵区别各种, 似有偏差。过去有些糖不易买到, 不少的学者只用少数的糖鑑定酵母, 受到了局限。Красильников (1954) 区划酵母的种只用五种糖类(葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、棉子糖及乳糖), 所以不能把 *S. cerevisiae*、*S. ellipsoideus* (葡萄酒酵母) 及 *S. carlsbergensis*

(卡尔斯伯酵母)明显的区别开。

依发酵糖的不同区分酵母的种别,是各国学者所同意的,但使用糖的种类各家意见尚未一致。糖类过少或过多都不相宜,糖类过少不能把明显有区别的种类分开,例如不用蜜二糖(Melibiose)无法区划 *S. cerevisiae* 及 *S. carlsbergensis*, 不用麦芽三糖(maltotriose)无法区别 *S. cerevisiae* 及 *S. ellipsoideus*。但是使用过多的糖类,購置不易,使許多試驗室無法进行酵母的鑑定工作,也是不妥当的。我們認為应该依靠糖发酵在生理及实践上的重要性如何,决定使用那几种糖类作为鑑定酵母的依据,並注意糖类的普遍性,及檢驗方法的簡易。由此而論,以用以下的十种糖为妥:葡萄糖、半乳糖、蔗糖、麦芽糖、棉子糖、蜜二糖、乳糖、麦芽三糖、阿戊糖及木戊糖。棉子糖多量存在於甜菜中,蜜二糖的区划力强,理应作为鑑定酵母的糖类,这两种糖在市場已比較地容易买到,或用我們最近發表的紙層分离法測驗棉子糖的發酵液,以决定蜜二糖的是否發酵也頗簡便(李明霞及方心芳,1957)。麦芽三糖存在於某些糖化液中,酵母对它的發酵性因种而異,这种糖的發酵与否在生理及实践上都有意义,且用紙層分离法鑑定糖类簡單明确。两种戊糖的多膠体普遍存在於自然界內,但是能發酵戊糖的菌类極少,不能像六碳糖似的充分应用,所以我們应该随时注意寻求發酵戊糖的酵母。因为半乳糖与三單糖(葡萄糖、果糖及甘露糖)的結構很相近,虽然不像三單糖具有發酵一致的性質,但是極易为某些酵母适应發酵。这样不太固定的發酵特性是否能够作为分类根据,尚有討論的余地。Кудрявцев 將半乳糖發酵性依产地的不同分作稳定的及不稳定的二类,应用於具体工作中,頗有困难。一般的說,酵母發酵各种糖类的特性是相当固定的,这种特性的表现常常頗为明显,所以分类学家都喜欢用它来作酵母各种的区别根据。不过我觉得不要过分輕視形态等性能,單靠糖發酵特性来鑑別各种,势难合乎自然演化形成各种的实际情况。

六. 棲地与酵母分类

与其他生物一样,酵母的遺傳特征特性是它过去所处的生活环境条件造成的,所以棲地与酵母性能有不可分割的关系。Кудрявцев 在酵母分类时十分注意棲地是有道理的。但是一種結果可由数种不同的原因造成,同一原因,依生物的种型相異,可以造成不同的性能,因此同种酵母可由兩地得到,同一处所可以分离出一个种型以上的酵母。遺傳性与环境条件錯綜复杂的演化,形成現有的生物性能形体,不能用太簡單的眼光去硬性的加以联系。

过去研究酵母的人也都注意酵母的来历,但是專門研究酵母生态学或把棲地列为分类根据的不多。近来不断有人注意研究酵母生态学是一件很有意义的事情(Mrak 及 Phaff, 1948; Lund, 1956)。Кудрявцев 十多年来一直研究环境与酵母遺傳性的关

系,近来又提出生产选种法(1951),在某种条件下,有它一定的价值。他提議用麦芽三糖鑑別啤酒酵母及葡萄酒酵母(*S. cerevisiae* 及 *S. ellipsoideus*) 我們認為是一个切合实际的意見。但是他把發酵半乳糖的酵母(*S. paradoxus* 与 *S. casei*, *S. vini* 与 *S. cartilaginosus*, 1954 年, 144 頁), 用棲地来区分是不妥当的。产地可能为酵母性能形成的因素,但它本身不能代表性能。酵母由某地分离出,不一定是土生土長在該处的,因为酵母不像某些病菌特化性强,只能生長於一定处所。因此我們認為棲地不能作为酵母分类的根据,只可作为分类的参考。

七. 結 束 語

Guilliermond 的生孢子酵母进化系统是合理的。我們可以想像酵母的形态生理大致以下列进程演化:

菌 类: *Endomyces* → 酵母
 营养菌体: 真菌絲 → 假菌絲 → 單細胞
 有性繁殖: 子囊生於菌絲之中或頂 → 子囊由假菌絲或單細胞生成
 生 理: 氧化 → 氧化及發酵 → 發酵及氧化

酵母的进化,以較長的时间說是渐进的,以較短的时间說是躍进的。所以我們常見到中間类型,使分类上增加許多困难,各分类学家意見的分歧也多在此点。但是以通俗名字“酵母”(yeast)的性能来混淆真菌分类,是不妥当的,不能把酵母孤立於單細胞菌类中。

与高等真菌及植物一样,生孢子酵母的分类也应该以生殖器官为基础。换言之,酵母的接合作用,孢子的形狀及文飾应为分类的主要性質。霉菌及酵母能生产类似孢子的种类,在亲緣系統上也許有关系(Красильников, 1935; Mrak 及 Phaff, 1948)。例如生礼帽形孢子的 *Endomycopsis bisporus* 及 *Endomycopsis javanensis* (爪哇芽絲酵母) 与 *Hansenula*, *Endomycopsis selenospora* (鐮孢芽絲酵母) 与 *Zygosaccharomyces marxianus* (馬克斯接合酵母) 等等。但是不少的分类学家不重視生殖器官的特征,就是像 Кудрявцев 基本上以孢子形狀文飾分屬的酵母学家,在种的區別上都过分重視生理特性,他們的理由是生理特性不易改变(Lodder, 1952)。研究酵母較久的人确实都有这么一个經驗,酵母的有性生殖特征易改变,而生理特性(糖發酵)不易改变。以生物学家承認的“較稳固的性質为古代进化的分歧”論,糖發酵性質較接合作用及孢子形狀与文飾的特征形成較早是对的嗎? 我們認為是不对的。酵母的遺傳規律異乎生物的遺傳規律嗎? 不是的。問題在於一定的环境对不同的遺傳特性可能起相異的作用——巩固或动搖。研究植物与微生物一个普通的最大区别是微生物在实验室内特定环境下培养,而植物多在地球上生殖。实验室内环境与大地者相差甚大。較稳定的性質为

古代进化的分歧是在大地内得到的规律,野生的酵母也是符合此规律的。但是酵母进入实验室后,在麦芽汁或麴汁培养基内不断的移植培育,酵母就按着新的环境进化。新的环境(麦芽汁等)对糖发酵起巩固作用,所以不少酵母在实验室内培养数十年而糖发酵特性不变。但新环境不适宜于孢子的形成,因此不少的酵母到实验室后孢子形成的能力逐渐减退,有些孢子文饰(如痣点凸线等)也逐渐减少。在人为的条件下酵母性能的消长与在大地内性能消长的情况,自然有所不同。分类学家必须了解此点对酵母的亲缘系统才能有较合理的安排。

Кудрявцев 特别重视适应性状而忽视无关性状(坡尔扬斯基,1954)似乎也有问题。在菌体组织简单的微生物方面说,谈不到无关性状。若以对生活的重要与否说,当然生理第一,形态第二,像麴霉的菌核,酵母孢子的文饰等也许可称为对生活的无关性状。可是也就是因为生理特性易起变异,在分类上不能过于重视,像半乳糖发酵能力的获得过于容易,我认为它在分类上的价值大有问题。Кудрявцев 的酵母分类学中各种的区分全靠生理,有时加上生态,完全忽视形态,而属的区分完全忽视生理等也有问题。

参 考 文 献

- [1] 小田稚夫及若林謙右郎, 1955. 关于酵母菌变异的研究, 第三报, 发酵工学杂志, 33: 80—85.
- [2] 小田稚夫及若林謙右郎, 1955. 关于酵母菌变异的研究, 第五报, 发酵工学杂志, 33: 441—447.
- [3] 小原岩及野村英夫, 1954. 本邦产酵母分类学的研究, 日本农化会志, 28: 160—164.
- [4] 方心芳, 1937. Etude de quelques levures isolées des levains chinois, *Revue de Mycologie*, 2: 169—177.
- [5] 方心芳, 1940. 酵母菌孢子之形成、发芽及其在分类上的重要性, 黄海发酵与菌学双月刊, 2: 35—62.
- [6] 方心芳, 1942. 酵母细胞之成分, 黄海发酵与菌学, 4: 19—34.
- [7] 方心芳, 1942. 酵母之氮化合物养料, 黄海发酵与菌学, 3: 153—164.
- [8] 方心芳, 1942. 酵母之碳水化合物养料, 黄海发酵与菌学, 4: 77—85.
- [9] 方心芳, 1943. 酵母之无机物养料, 黄海发酵与菌学, 4: 110—116.
- [10] 方心芳, 1945. 酵母生长素, 黄海发酵与菌学, 6: 77—84, 90—110.
- [11] 方心芳, 1944. 酵母之鉴定, 黄海发酵与菌学, 6: 16—24, 32—42, 48—62.
- [12] 方心芳, 1949. 生孢子酵母, 黄海发酵与菌学, 10: 75—114.
- [13] 方心芳, 1949. 无孢子酵母, 黄海发酵与菌学, 10: 135—164.
- [14] 中澤亮治, 1914. 台湾产发酵菌类的研究, 中澤亮治论文集, 1938, 47—53.
- [15] 李明霞及方心芳, 1957. 用纸上层析法判断糖发酵鉴定酵母试验, 科学通报, 1: 17.
- [16] 坡尔扬斯基等, 1954. 论适应性状在分类学上的意义, 关于植物分类学的问题, 1956年, 科学出版社.
- [17] 魏尚寿及方心芳, 1931. 中国酱醪中之数种酵母菌, 新农通讯, 2卷2期, 2—11页.
- [18] Barnett, J. A., Ingram, M. and Swain, T., 1956. Use of B-Glucosides in Classifying Yeasts, *J. Gen. Microbiol.*, 15: 529—555.
- [19] Bessey, E. A., 1950, *Morphology and Taxonomy of Fungi*, London.
- [20] Clements, F. and Shear, C. L., 1931, *The Genera of Fungi*, New York.
- [21] Dekker, N. M., 1931, *Die Sporogenen Hefen*, Amsterdam.
- [22] Fowell, R. R., 1952, Na acetate agar as a sporulation medium for yeast, *Nature*, 170: 578.