

# 嗜杀酵母的生物学特性及应用展望

赵静静<sup>1</sup>, 李艳<sup>1,2</sup>

(1.河北科技大学生物科学与工程学院,河北 石家庄 050018;2.河北省发酵工程技术研究中心,河北 石家庄 050018)

**摘要:**嗜杀酵母能够分泌嗜杀毒素杀死特定的微生物。将嗜杀酵母作为工业生产用菌株,可以有效防止生产过程中的杂菌污染,净化发酵体系,保证发酵的正常进行。嗜杀毒素还可以制备成为抗真菌剂,用以抵制病原酵母及类酵母等微生物的侵染。综合论述了嗜杀酵母的分类学地位及生物学特性,嗜杀毒素产生和作用的机理,并阐述了环境因素对嗜杀酵母菌自身及其分泌嗜杀毒素的影响。

**关键词:**微生物;嗜杀酵母;毒素;嗜杀活力;研究进展

中图分类号:TS261.1;Q93-3 文献标识码:A 文章编号:1001-9286(2010)09-0068-05

## Biological Properties of Killer Yeast and Its Application

ZHAO Jing-jing<sup>1</sup> and LI Yan<sup>1,2</sup>

(1. College of Bioscience and Bioengineering, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang, Hebei 050018;

2. Hebei Fermentation Engineering R&D Center, Shijiazhuang, Hebei 050018, China)

**Abstract:** Killer yeast could secrete protein toxin which is lethal to certain microorganism. The use of killer yeast as industrial strains could effectively prevent the contamination of bacteria, purify fermentation system, and ensure normal fermentation. At the same time, killer toxin also could be prepared as anti-fungal agent to prevent pathogenic microorganisms and yeast-like organisms infection. In this paper, the taxonomic position and biological characteristics of killer yeast, and the production and the mechanism of killer toxins were elaborated. Besides, the effects of environmental factors on killer yeast and killer toxin secretion were also analyzed.

**Key words:** microbe; killer yeast; toxin; killer activity; research advance

嗜杀酵母(Killer Yeast)是指在其生长繁殖过程中能够向体外分泌蛋白或者糖蛋白毒素,对某些微生物产生致命性作用的一类酵母。产生的毒素称为毒蛋白或嗜杀毒素。一种嗜杀毒素能够杀死某些特定的微生物,被杀死的微生物对毒素敏感,称为敏感菌。有些微生物既不能产生嗜杀毒素,也不能被其他嗜杀酵母产生的毒素所杀死,称为中性菌。嗜杀酵母对自身分泌的嗜杀毒素具有免疫功能。在发酵过程中应用嗜杀酵母能够抑制杂菌的生长,净化发酵体系,获得优质的发酵产物。同时,利用嗜杀毒素作用的特异性,将嗜杀毒素制备成为抗真菌剂来抵抗病原酵母及类酵母微生物的侵染成为研究的热点。

### 1 嗜杀酵母的分类学地位

自从1963年,Bevan等人在培养啤酒酵母菌(*Saccharom cerevisiae*)时,首次发现嗜杀酵母的存在,人们便开始了对嗜杀酵母的探索<sup>[1]</sup>。嗜杀酵母从许多环境中都

能筛选得到,包括河流、湖泊、水果、蔬菜和许多食品与饮料的发酵过程中。

近50年来,共发现了分属于9个属的酵母具有嗜杀活性。其分类学地位分别是属于真菌门、子囊菌纲、原子囊菌亚纲、内孢菌目、酵母科的酿酒酵母属(*Saccharomyces*)、克鲁维酵母属(*Kluyveromyces*)<sup>[2]</sup>、汉逊酵母属(*Hansenula*)<sup>[3]</sup>、毕赤酵母属(*Pichia*)<sup>[4]</sup>。属于真菌门、半知菌纲、芽孢菌纲、隐球酵母目、隐球酵母科的假丝酵母属(*Candida*)<sup>[5]</sup>、球拟酵母属(*Torulopsis*)<sup>[6]</sup>、接合酵母属(*Zygosaccharomyces*)<sup>[6]</sup>、拟威尔酵母属(*Williopsis*)<sup>[7]</sup>、隐球酵母属(*Cryptococcus*)<sup>[8]</sup>。其中,酿酒酵母属的菌对于各种酒类饮料的生产起到重要作用。

### 2 嗜杀酵母的生物学特性

从各类介质中分离嗜杀酵母的方法有很多,常用的方法是在YEPD-MB培养基中,首先接种敏感酵母菌,待其浓度到达 $10^5$ 个/mL后接种待测菌株。由于次甲基

基金项目:河北省2009年科技支撑计划课题,课题编号:092210003D。

收稿日期:2010-07-14

作者简介:赵静静(1985-),女,在读硕士研究生。

通讯作者:李艳(1958-),女,教授,从事传统发酵工程创新技术研究,主研葡萄酒方向。

兰在具有活性的酵母的新陈代谢作用下,会由蓝色氧化型转变为无色的氧化型,因而借助于次甲基兰的褪色作用可以筛选得到嗜杀酵母菌<sup>[9]</sup>。

环境因素对嗜杀酵母的生长和繁殖具有很大的影响。例如,温度对嗜杀酵母的影响表现在:①影响酶活性:温度变化影响酶促反应速率,最终影响细胞合成;②影响细胞膜的流动性:温度高,流动性大,有利于物质的运输,反之亦然。因此,温度变化影响营养物质的吸收与代谢产物的分泌;③影响物质的溶解度:温度高时,利于营养物质的溶解,对酵母生长有益。

环境 pH 值也是影响微生物生长的重要因素,pH 值对酵母菌的影响体现在:①影响细胞膜表面电荷的性质及膜的通透性,进而影响细胞对营养物质的吸收能力;②改变酶活性,以及酶促反应的速率和改变代谢途径;③环境 pH 值还影响培养基中营养物质的离子化程度,从而影响营养物质吸收,或有毒物质的毒性。一般酵母菌生长的 pH 值范围为 3~8。

培养基组成不仅影响酵母菌自身的生长,还影响其分泌毒素和嗜杀毒素的活性。发酵培养基配方是影响微生物发酵的重要因素之一。只有在最适培养基组成和最适培养条件下培养,才能在最短的时间达到最大的生物量,同时产生最多的所需代谢产物。

### 3 嗜杀毒素的产生机理

嗜杀酵母主要通过分泌毒素蛋白对敏感的微生物起到嗜杀作用。嗜杀毒素包括不同的种类,研究其本质和机理发现,酵母嗜杀因子的嗜杀活性除了与 dsRNA 有关外,还与质粒 DNA 及染色体 DNA 相关。典型的嗜杀酵母的嗜杀系统见表 1。

#### 3.1 dsRNA 编码毒素蛋白

嗜杀酵母中含有多种 dsRNA,但其嗜杀活性仅与分子量为  $1.0 \times 10^6$  Da ~  $1.7 \times 10^6$  Da 的 M-dsRNA 和分子量为  $2.5 \times 10^6$  Da ~  $3.0 \times 10^6$  Da 的 L-dsRNA 2 种类型的 dsRNA 有关<sup>[10]</sup>。不同的嗜杀酵母菌株中含有不同的 M-dsRNA 质粒,编码合成和分泌不同的毒素蛋白,表现出不同的嗜杀表型。M-dsRNA 质粒只能从具有嗜杀活性的酵母细胞中检出,敏感酵母及嗜杀现象消除的菌株中均不存在 M-dsRNA 质粒,M-dsRNA 质粒的存在是嗜杀酵母产生嗜杀毒素不可缺少的细胞质遗传物质。L-dsRNA 的作用是编码自身以及 M-dsRNA 质粒的主要外壳蛋白。这类毒素如 K1、K2 和 K28 等。

例如 K1 嗜杀毒素是由 M1 dsRNA 编码的,由两种非糖基化亚基(9.5 kd 的  $\alpha$  亚基和 9.0 kd 的  $\beta$  亚基)通过二硫键连接而成的大小为 19 kd 的蛋白质分子。首先,毒素在细胞中以无活性的糖基化前体蛋白形式存在,包含  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 、 $\delta$  4 个亚基,在细胞内经过合成和修饰之后,肽酶切去 4 个亚基,然后分泌到细胞外,形成成熟的、有活性

表 1 典型嗜杀酵母的嗜杀系统<sup>[8]</sup>

基因编码	嗜杀酵母	编码基因	基因大小(Kbp)	毒素结构	毒素大小(Kbp)	受体
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>						
	K1	M1	1.8	$\alpha$ $\beta$ 二聚体	19.0	$\beta$ -1,6-D-葡聚糖
	K2	M2	1.5	$\alpha$ $\beta$ 二聚体	21.5	$\beta$ -1,6-D-葡聚糖
	K28	M28	1.9	$\alpha$ $\beta$ 二聚体	21.5	$\alpha$ -1,3-甘露糖
<i>Ustilago maydis</i>						
dsRNAs	P1	M1/M2	1.4	$\alpha$ $\beta$ 二聚体	19.0	—
	P4	M2	0.98	单体	11.1	—
	P6	M2	1.2	$\alpha$ $\beta$ 二聚体	17.7	—
<i>Hanseniaspora uvarum</i>						
		M	—	—	—	—
<i>Zygosaccharomyces bailii</i>						
		M	—	—	—	—
<i>Phaffia rhodozyma</i>						
		M	—	—	—	—
线性质粒	<i>Kluyveromyces lactis</i>	pGKL1, L2	8.8~13.4	$\alpha$ $\beta$ $\gamma$ 三聚体	156.5	几丁质
dsDNA	<i>Pichia inositovora</i>	Ppin1-1, 1-3	18~10	—	>100	—
	<i>Pichia acaciae</i>	Ppin1-1, 1-2	13.6~6.8	三聚体	~190	几丁质
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>						
	KHR	KHR	0.9	单体	20	—
	KHS	KHS	2.1	单体	75	—
<i>Pichia kluyveri</i>						
		—	—	单体	—	—
核基因	<i>Pichia farinose</i> KK1	SMK1	0.6	$\alpha$ $\beta$ 二聚体	—	—
<i>Williopsis mrakii</i>						
	HM-1	HMK	0.85	单体	10.7	细胞壁 $\beta$ -葡聚糖
	K-500	—	—	单体	1.8~5.0	细胞壁 $\beta$ -葡聚糖
	<i>Pichia anomala</i> WC 65	—	—	单体	83.3	细胞壁 $\beta$ -葡聚糖

注:“—”为暂不清楚。

的毒素<sup>[8]</sup>。

### 3.2 质粒 DNA 编码毒素蛋白

乳酸克鲁维酵母(*Kluyveromyces lactis*)分泌的毒素可抑制大量敏感酵母菌的增长(包括 *Candida*、*Kluyveromyces*、*Saccharomyces*、*Torulopsis*、*Zygosaccharomyces*)，对非嗜杀型的乳酸克鲁维酵母也有嗜杀作用<sup>[11]</sup>。这种酵母的嗜杀活性与质粒 DNA 相关。

这类嗜杀菌株的细胞中都包含有 pGKL1(分子量为 8874 kp)和 pGKL2(分子量为 13447 kp)2 个线性质粒。pGKL1 有 4 个蛋白质编码区(ORF)，其中 2 个编码嗜杀毒素亚基的前体物，另外，2 个分别与嗜杀毒素的免疫功能和编码 DNA 合成酶相关。pGKL2 的作用是负责 2 种质粒的自我复制和性状的维持，缺乏 pGKL 的酵母无嗜杀活性。

毕赤酵母属(*Pichia*)中的 *Pichia inositovora*、*Pichia pastoris* 等菌株的嗜杀活性也与质粒 DNA 相关<sup>[12]</sup>。

### 3.3 染色体 DNA 编码毒素蛋白

由染色体 DNA 编码的毒素出现在 *Williopsis mrakii*、土生隐球酵母(*Cryptococcus humicola*)和几乎所有条件致病酵母菌中，例如 *Candida*、*Cryptococcus* 以及 *Torulopsis*<sup>[13]</sup>。这类嗜杀酵母包括 KHR、KHS、HM-1 等毒素。例如，KHR、KHS 两种毒素是染色体 IX 的左臂(888 bp)和染色体 V 的右臂(2124 bp)分别编码产生的，且与其他嗜杀基因没有相似的关系。产生的 KHR 和 KHS 2 种毒素都是单体蛋白，分子分别为 20 kDa 和 75kDa<sup>[8]</sup>。

*Williopsis mrakii* 分泌的嗜杀毒素 HM-1 由 88 个氨基酸组成，其中包含 10 个半胱氨酸，有较强的耐热性和 pH 值稳定性，在 100 °C 加热 10 min 或在 pH2~11 的环境中均不被破坏。HM-1 毒素基因存在于染色体 DNA 中，通过抑制  $\beta$ -1,3-D-葡聚糖合成酶的活性抑制敏感酵母细胞壁的合成，从而导致细胞溶解死亡<sup>[13]</sup>。

## 4 嗜杀毒素的作用机理

嗜杀酵母的毒素蛋白是一种糖基化蛋白，能有效作用于葡聚糖，表现出  $\beta$ -葡聚糖酶的活性，抑制敏感细胞壁  $\beta$ -葡聚糖合成，使敏感菌细胞壁功能受损，导致细胞死亡<sup>[14]</sup>。敏感菌细胞壁的主要成分  $\beta$ -1,6-D-葡聚糖是毒素蛋白的主要受体。经过对 K1 型嗜杀毒素的动力学研究表明，敏感细胞有两个毒素结合位点。首先，毒素蛋白以低亲和力和高速度与敏感菌细胞壁上的受体  $\beta$ -1,6-D-葡聚糖相结合，然后再以提供能量为前提，以高亲和力、低速率形式被转移结合在细胞膜上，与细胞膜上受体结合并发生耗能反应，最终导致对敏感细胞的致死作用<sup>[15]</sup>。

嗜杀毒素通过破坏敏感细胞分裂周期的 G1 相

(DNA 合成前期)，阻止细胞分裂导致敏感细胞逐渐死亡。毒素蛋白有 3 个亚基( $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ )， $\gamma$  亚基是破坏 G1 相阻止敏感细胞分裂的主要物质，它作用于敏感细胞的 3 种 tRNA，导致其结构断裂而破坏分裂周期促使细胞死亡。 $\alpha$  亚基具有壳多糖酶的活性，毒素作用于敏感细胞时，与细胞壁上的糖类受体如壳多糖发生交互作用，或是降解细胞壁上的糖类物质，便于使毒素蛋白进入到敏感细胞中发挥嗜杀作用。据研究， $\beta$  亚基可能同  $\alpha$  亚基一起参与毒素与敏感细胞的结合以及毒素分子的跨膜移位过程，便于毒素蛋白进入到敏感细胞后通过  $\gamma$  亚基发挥嗜杀作用<sup>[16]</sup>。

K2 型嗜杀毒素的作用机理与 K1 型毒素基本一致。其他的嗜杀毒素，例如 K28 型嗜杀毒素是在分子水平上阻碍 DNA 的合成，通常是在生长周期的 G1 期和 S 期表现出抑制作用，从而杀死敏感菌<sup>[17]</sup>。

姆拉克拟威尔酵母 IFO 0895 产生的 HM-1 嗜杀毒素通过抑制  $\beta$ -1,3-D-葡聚糖合成酶的活性抑制敏感酵母细胞壁的合成，从而导致细胞溶解死亡。毒素蛋白具有一个广泛的嗜杀光谱，稳定的 pH 和温度范围都很广<sup>[18]</sup>。

姆拉克汉逊酵母分泌的嗜杀毒素纯化后用 Con A 活化检测后鉴定为一种分子量为 10700 Da 的多肽。包括 88 个氨基酸残基，不含碳水化合物。许多酵母对这种毒素都敏感。这类毒素在敏感菌的胞内或胞外能够选择性地抑制  $\beta$ -葡聚糖的合成，尤其是  $\beta$ -(1,3)-葡聚糖的合成<sup>[19]</sup>。

## 5 影响嗜杀毒素活力的因素

### 5.1 温度

嗜杀毒素是一种蛋白或者糖蛋白，因此也有其最适温度范围。一般毒素的最适温度为 25 °C，过高的温度会使蛋白变性，同时搅拌或添加蛋白酶都能够使嗜杀毒素失活。王贵双等人利用酵母菌的生长曲线特征对嗜杀酵母的生理特性进行研究表明，嗜杀酵母产生的嗜杀毒素经过 37 °C 处理 90 min 和 40 °C 处理 45 min 后嗜杀活性完全丧失；经过 38 °C 处理 60 min 后嗜杀酵母完全失活。将培养温度设为 25 °C，不仅有利于酵母菌生长繁殖，同时也有利于其毒素的分泌<sup>[17]</sup>。

### 5.2 pH 值

嗜杀酵母产生的嗜杀毒素对 pH 值也有一定要求。毒素在 pH 值为 3.8~4.6 时具有活力，并在 pH 值为 4.2 时活力最高。K1 型嗜杀毒素的最适 pH 值范围为 4.6~4.8；K2 型嗜杀毒素的最适 pH 值范围为 4.2~4.4<sup>[20]</sup>。有些毒素，例如姆拉克汉逊酵母分泌的嗜杀毒素具有较宽

的 pH 值范围,是 4.0~9.0<sup>[19]</sup>。

### 5.3 培养基

嗜杀毒素是由嗜杀酵母分泌的一种蛋白质或糖蛋白,培养基中的氮源会诱导嗜杀毒素的产生及分泌,因此当培养基的氮源发生变化时必然会影响到菌的嗜杀活力的大小。经试验<sup>[20]</sup>,嗜杀毒素活力在蛋白胨含量为 2%或酵母膏含量为 1%时达到最大值。除少数菌株外,乙醇、葡萄糖、NaCl 对嗜杀毒素的活力基本没有影响。

## 6 嗜杀酵母的研究现状

在国外,将已知的嗜杀酵母的双链 RNA 运用基因导入法转化到对嗜杀毒素敏感的酿酒酵母和 *S. carlsbergensis* 体内,能够得到具有强烈或微弱嗜杀活性的融合子。另外,研究表明,发酵迟缓和发酵停滞都受到嗜杀酵母和敏感酵母的相互作用的影响。

Marta Goretti 等人将拟威尔酵母产生的具有活性的嗜杀毒素在细胞外进行纯化后,对能够导致食物腐败的 14 个属 21 个种的 310 株酵母进行了实验。结果表明,有 65% 的酵母在嗜杀毒素浓度小于 32  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时,生长受到抑制;不同种类的酵母对嗜杀毒素、3-羟基苯甲酸乙酯、焦亚硫酸钾及山梨酸钾的敏感程度不同<sup>[21]</sup>。

Shao-Quan Liu 等人在实验室水平上将能够产生嗜杀毒素的拟威尔酵母应用于乳酪生产。接种量为  $10^3$  CFU/g 的酿酒酵母 VL1(只能发酵半乳糖不能发酵乳糖)和接种量为  $10^3\sim 10^4$  FU/g 克鲁维酵母(既能发酵半乳糖又能发酵乳糖)在嗜杀酵母的接种量为  $10^6$  CFU/g 时的生长都会受到抑制。因此,将嗜杀酵母应用于奶酪生产能够抑制杂菌的生长,得到优质产品<sup>[22]</sup>。

在国内,利用核融合缺陷细胞融合技术或原生质体电融合法都能够将嗜杀质粒转移到筛选得到的优良酵母体内,得到的融合子具有双亲的优良性能,能够提高发酵产品的生物稳定性,对于提高其品质有重要作用。

2007 年,王贵双等人对筛选得到的 S1 嗜杀酵母进行了生长特性研究,优化了苹果酒生产工艺,确定了将其应用于苹果酒发酵的最适环境:嗜杀毒素在温度为 25  $^{\circ}\text{C}$ 、pH 值为 4.2 时活力最高。这对于将嗜杀酵母应用到工业生产有显著的推动作用<sup>[23]</sup>。

## 7 应用前景

基于嗜杀酵母的排他性,嗜杀酵母可以应用于各种发酵过程中。在酿造过程中,防止杂菌(包括野生酵母和细菌)对发酵的侵染是非常重要的。而嗜杀酵母能够作为工业生产的起始菌株,可以有效地防止这些杂菌的污染。但是嗜杀菌素仅对某些特定的微生物有毒害作用,因此需创造具有嗜杀范围广且性质稳定的菌株为生产

所用。另外,嗜杀酵母产生嗜杀毒素的基因位于线粒体上,如果能够将这些基因用遗传育种的方法转移到生产的优良菌株中去,不但能够杀死杂菌,净化发酵体系,保证发酵正常进行,还可以提升发酵产品质量,提高工厂的生产效益。

由于酵母菌对不同嗜杀毒素的免疫力不同,利用这个性质能够进行特定酵母菌株的鉴定(或称为指纹识别)。目前,这种技术已经被建议用来作为酵母生物型鉴定的补充办法<sup>[24]</sup>。

经过人们对嗜杀酵母的不断研究,发现嗜杀酵母产生的嗜杀毒素对许多真核和原核生物也具有致死性作用。因此,将嗜杀菌素制备成为一种抗真菌剂是发展的必然。然而由于嗜杀酵母的稳定 pH 值和温度与人体的生理环境不符,这种抗真菌剂的开发仍然存在许多待解决的问题<sup>[26]</sup>。

### 参考文献:

- [1] Bevan E A, Makower M. The physiological basis of the killer character in yeast[J]. Proceeding of the 2th International Conference on Genetics. 1963, 1: 203.
- [2] Gunge N, Tamaru A, Ozawa F et al. Isolation and characterization of linear deoxyribonucleic acid plasmids from *Kluyveromyces lactis* and the plasmid-associated killer character [J]. Journal of Bacteriology. 1981, 145: 382-390.
- [3] Tetsuya Kimura, Noriyuki Kitamoto, Ken Matsuoka. Isolation and nucleotide sequences of the genes encoding killer toxins from *Hansenula mrakii* and *H. saturnus* [J]. 1993, 137(2): 265-270.
- [4] Middelbeek E J, Hermans J M, and Stumm C. Production, purification and properties of a *Pichia kluyveri* killer toxin [J]. Antonie van Leeuwenhoek. 1979, 45: 437-450.
- [5] E J Middelbeek, J M Hermans, C Stumm. High incidence of sensitivity to yeast killer toxins among *Candida* and *Torulopsis* isolates of human origin [J]. Antimicrob Agents Chemother. 1980, 17(3): 350-354.
- [6] Radler, F., S. Herzberger, I. Schonig, and P. Schwarz. Investigation of a killer strain of *Zygosaccharomyces bailii* [J]. Gen. Microbiol. 1993, 139: 495-500.
- [7] Valerie J. Hodgson, Graeme M. Walker, David Button. A rapid colorimetric assay of killer toxin activity in yeast [J]. FEMS Microbiology Letters. 1994, 120(1-2): 201-205.
- [8] ALTER MAGLIANI, STEFANIA CONTI, MARA GERLONI. Yeast killer systems [J]. American Society for Microbiology. 1997, 10(3): 369-370.
- [9] Giselle A. M. Soares, Hé lia H. Sato. Killer toxin of *Saccharomyces cerevisiae* Y500-4L active against fleischmann and itaiquara commercial brands of yeast [J]. Revista de Microbiologia. 1999, 30: 253-257.

- [10] Wickner R B. Double-stranded and single stranded RNA virus of *S.cerevisiae* [J]. Annual Review in Microbiology. 1992, 46: 347-375.
- [11] PEREZ F, RAMIREZ M. Influence of killer yeast strains of *Saccharomyces cerevisiae* on wine fermentation [J]. Int J Gen Mol Microbiol, 2001, 79: 393-399.
- [12] Hirendra nath Banerjee and Mukesh Verma. Search for a novel killer toxin in yeast *Pichia pastoris* [M]. Academic Press, 2000, 43: 181-183.
- [13] Tetsuya Kimura, Noriyuki Kitamoto, Yuzuru Iimura. Production of HM-1 killer toxin in *Saccharomyces cerevisiae* transformed with the PDR4 gene and  $\delta$ -sequence-mediated multi-integration system [J]. Journal of Fermentation and Bioengineering. 1995, 80(5): 423-428.
- [14] IZGU F, ALTINBAY D, SERTKAYA A. Enzymic activity of the K5-type yeast killer toxin and its characterization [J]. Biosci Biotech Biochem. 2005, 69: 2200-2206.
- [15] 王贵双, 张柏林. 嗜杀酵母的筛选及其在苹果酒发酵中的应用 [C]. 北京: 北京林业大学, 2006. 11-12.
- [16] VADASZ A, SFRANKEN D B. Properties of a wine yeast an-agonist, *Saccharomyces cerevisiae* T206 [J]. S Afr J Enol Vitic. 2002, 23: 39-47.
- [17] 王贵双, 张柏林, 梁学军. 嗜杀酵母的生物学功能及其应用 [J]. 生物技术通报, 2006, (S1): 100-105.
- [18] Tetsuya Kimura, Noriyuki Kitamoto. Production of HM-1 killer toxin in *Saccharomyces cerevisiae* transformed with the PDR4 gene and  $\delta$ -sequence-mediated multi-integration system [J]. Journal of Fermentation and Bioengineering. 1995, 80(5): 423-428.
- [19] Teturo Yatnamoto, Tamio Hiratani, Hajime Eratat. Application of monoclonal antibodies to the isolation and characterization of a killer toxin secreted by *Hawtsenula mrakii* [J]. Federation of European Biochemical Societies. 1986, 195: 253-257.
- [20] 王贵双, 张柏林. 嗜杀苹果酒酵母的筛选与鉴定 [J]. 食品与发酵工业, 2005, 31(12): 35-39.
- [21] Marta Goretti, Benedetta Turchetti, Morena Buratta. In vitro antimycotic activity of a *Williopsis saturnus* killer protein against food spoilage yeasts [J]. International Journal of Food Microbiology. 2009, 131: 178-182.
- [22] Shao-Quan Liu, Marlene Tsao. Inhibition of spoilage yeasts in cheese by killer yeast *Williopsis saturnus* var. *saturnus* [J]. International Journal of Food Microbiology. 2009, 131: 280-282.
- [23] 王贵双, 张柏林, 梁学军. 嗜杀酵母发酵苹果酒的研究 [J]. 酿酒科技, 2007, 159(9): 79-82.
- [24] Kishida, M. Tokunaga, M. Katayose, Y. Yajimao. Isolation and genetic characterization of pGKL killer-insensitive mutants (iki) from *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. 1996, 60(5): 798-80.

## 历届全国评酒会酱香型名优酒名单

第一届: 1952 年在北京举行, 共评出 8 种国家名酒, 其中名白酒 4 种, 酱香型名酒 1 种。

茅台酒(贵州茅台酒厂)。

第二届: 1963 年在北京举行, 共评出国家名酒 18 种, 国家优质酒 27 种。其中国家名白酒 8 种, 国家优质白酒 9 种。名优白酒中, 酱香型名优白酒各 1 种。

国家名白酒: 茅台酒(贵州茅台酒厂);

国家优质白酒: 龙滨酒(黑龙江哈尔滨)。

第三届: 1979 年在辽宁大连举行, 共评出国家名酒 18 种, 国家优质酒 47 种。其中国家名白酒 8 种, 国家优质白酒 18 种。名优白酒中, 酱香型名白酒 1 种, 酱香型优质白酒 3 种。

国家名白酒: 茅台酒(贵州茅台酒厂);

国家优质白酒: 古蔺郎酒(四川古蔺郎酒厂)、常德武陵酒(湖南常德酒厂)、廊坊迎春酒(麸曲, 河北廊坊酒厂)。

第四届: 1984 年在山西太原举行, 共评出国家名白酒 13 种, 国家优质白酒 27 种。其中, 酱香型名白酒 2 种, 酱香型优质白酒 5 种。

国家名白酒: 茅台酒(飞天牌、贵州牌, 大曲酱香, 贵州茅台酒厂)、郎酒(郎泉牌, 大曲酱香, 四川古蔺郎酒厂);

国家优质白酒: 武陵酒(武陵牌, 大曲酱香, 湖南常德武陵酒

厂)、特制龙滨酒(龙滨牌, 大曲酱香, 哈尔滨市龙滨酒厂)、迎春酒(迎春牌, 麸曲酱香, 河北廊坊市酿酒厂)、凌川白酒(凌川牌, 麸曲酱香, 辽宁凌川酒厂)、老窖酒(辽海牌, 麸曲酱香, 辽宁大连酒厂)。

第五届: 1989 年在安徽合肥举行, 共评出国家名白酒 17 种(金质奖), 国家优质白酒 53 种(银质奖)。其中, 酱香型名白酒 3 种(金质奖), 酱香型优质白酒 8 种(银质奖)。

国家名白酒(金质奖): 茅台酒(飞天牌、贵州牌, 大曲酱香 53 %vol, 贵州茅台酒厂)、郎酒(郎泉牌, 大曲酱香 53 %vol, 39 %vol, 四川古蔺郎酒厂)、武陵酒(武陵牌, 大曲酱香 53 %vol, 48 %vol, 湖南常德武陵酒厂);

国家优质白酒: 特酿龙滨酒(龙滨牌, 大曲酱香 55 %vol, 50 %vol, 39 %vol, 哈尔滨市龙滨酒厂)、迎春酒(迎春牌, 麸曲酱香 55 %vol, 河北廊坊市酿酒厂)、凌川白酒(凌川牌, 麸曲酱香 55 %vol, 辽宁锦州市凌川酒厂)、老窖酒(辽海牌, 麸曲酱香 55 %vol, 辽宁大连市白酒厂)、习酒(习水牌, 大曲酱香 52 %vol, 贵州习水酒厂)、珍酒(珍牌, 大曲酱香 54 %vol, 贵州珍酒厂)、筑春酒(筑春牌, 麸曲酱香 54 %vol, 贵州省军区酒厂)、黔春酒(黔春牌, 麸曲酱香 54 %vol, 贵阳酒厂)。(小雨整理)