

①
87-89

紫红曲的原生质体紫外线诱变育种* Protoplast UV-Mutagenic Breeding of *Monascus anka*

湛 斌

Chen Bin

(广西师范大学计算测试中心 桂林 541004)

(Computer Analysis and Testing Center, Guangxi Normal Univ., Guilin, 541004)

Q949.327.1
TS264.4

摘要 对紫红曲原生质体进行不同时间紫外线照射诱变, 实验表明: 采用紫外线 (UV) 照射 60 s, 可获得高产突变株, 该突变株 M1-1 的红曲色素产量是亲本株的红曲色素产量的 2.27 倍。说明用原生质体进行诱变处理是简单易行的较好方法。

关键词 紫红曲 原生质体 紫外线诱变 红曲色素

中图分类号 Q 93

育种

Abstract The feasibility of the protoplast uv-mutagenesis for increasing *Monascus* pigment was studied on *Monascus anka* strain. The experiments showed that the high mutant was obtained by uv-irradiation of the protoplasts for 60 seconds. The *Monascus* pigment content of the mutant was 2.27 times of that of the parent strain. The results indicate that the protoplast mutagenesis is a better approach to increase *Monascus* pigment yield of *Monascus anka*.

Key words *Monascus anka*, protoplast, uv-mutagenesis, *Monascus* pigments

红曲色素是一种天然的红色色素, 在食品、医药、化妆品、保健品上有广泛应用, 是目前推广应用为数不多的天然色素, 代表了色素未来发展的方向^[1]。民间主要以固体发酵培养红曲米的方式来获得, 但影响到被染食品的质量, 并且操作不方便^[2]。近年发展起来的液体发酵培养法是生产红曲色素较为理想的方法, 具有工艺简单、生产周期短、节约大米等优点^[2], 不过该方法存在着色素得率低、提取成本高等不足, 影响推广^[3,4]。筛选出色素产量高的菌种是解决这些问题的途径, 本文报道利用紫外线进行紫红曲原生质体诱变育种的結果。

1 材料与方 法

1.1 亲本菌体

紫红曲 (*Monascus anka*) , 引自于中国科学院微生物研究所。

1998-11-02 收稿。

* 广西师范大学青年基金项目资助。

1.2 培养基

(1) 斜面培养基(%)：牛肉浸膏 0.3，蛋白栋 0.5，NaCl 0.5，葡萄糖 1.0，琼脂 1.5~2.0，pH 值 7.0，蒸馏水。

(2) 菌丝生长培养基 GM (%)：酵母膏 0.5，葡萄糖 1.0，琼脂 2.0。

(3) 基础摇瓶培养基 (%)：酵母膏 0.5，葡萄糖 1.0，蒸馏水。

(4) 原生质体再生培养基 RM：GM 中加入 0.7 mol/L NaCl 稳定剂。

1.3 原生质体制备

(1) 渗透压稳定剂：0.2 mol/L 磷酸缓冲液配制的 0.7 mol/L NaCl 溶液。

(2) 酶液配制：用上述稳定剂配制 5% 纤维素酶溶液备用。

(3) 原生质体制备和再生^[5]。

以 1.0% 纤维素酶，0.7 mol/L NaCl 为渗透压稳定剂，菌龄 40 h，30℃ 振荡酶解 2.5 h，得到了 5.5×10^6 个/mL 的原生质体产量。重复实验表明原生质体的平均再生率为 25%。

1.4 原生质体-紫外线诱变处理

取制备好的原生质体 (10^6 个/mL) 10 mL 放于无菌的 9 cm 平皿内，15 W 紫外灯（事先预热 30 min），距离 30 cm 照射不同时间，取 1 mL 样品适当稀释至不同浓度，取 0.1 mL 涂平板，黑暗闭光 30℃~35℃ 温箱培养，待平板长出菌落后，菌落计数，转斜面培养，并计算原生质体再生率和紫外线致死率。诱变后的斜面菌株，30℃~35℃ 培养 6 d 后，进行摇瓶发酵测定。

1.5 摇瓶发酵培养与菌体收获

从培养 6 d 的诱变菌种斜面挑取菌丝块，接入装有 75 mL 摇瓶培养基的 500 mL 三角瓶中，30℃~35℃，98 r/min 往复摇床振荡培养 7 d。

1.6 红曲色素提取及其含量测定^[3,6]

色价 (U/mL) = OD 值 × 稀释倍数

以亲株产生红曲色素色价为对照确定正变株和负变株。

2 结果与讨论

紫外线诱变对红曲色素产量的影响，结果见表 1。

表 1 紫外线对紫红曲原生质体的影响

照射时间 (min)	存活率* (%)	测定菌株数	正变率 (%)	负变率 (%)	变异株摇瓶色价 (U/mL)
1	3.2	35	41.5	58.5	2.967 (M1-1)
15	1.9	30	32.3	67.8	1.328 (M15-4)
30	1.2	34	28.6	71.4	1.344 (M30-6)

* 为原生质体经 UV 照射后的再生率；亲株的摇瓶色价为 1.305 U/mL。

通过表 1 可以看出，照射 1 min，正变的频率最高，其高产变株 M1-1 的红曲色素色价是亲株的 2.27 倍。该高产变异株经 5 次传代后产色素能力较稳定。

原生质体化的细胞是单细胞，对各种诱变因子比较敏感，诱变剂易于透过细胞膜和细胞质，直接作用于细胞核 DNA，从而诱变基因发生突变，从中可筛选到我们需要的正突变株。原

生质体的形成和再生过程也能引起一些遗传性状的变化,因而原生质体是一种较为理想的诱变育种材料,目前已经取得了不少成功的例子^[7-11]。我们的实验再次证明了这一点,经过原生质体紫外线诱变的突变株其色素产量都比其亲株有不同程度的提高,如果能结合其他的诱变方法,诱变效果可能会更理想。总之,紫红曲原生质体的紫外线诱变育种是一条简单易行的育种方法。

参考文献

- 1 金时俊. 食品添加剂—现状、生产、性能、应用. 上海: 华东化工学院出版社, 1993.
- 2 吴大康. 液体发酵法生产红曲色素的研究. 中国调味品, 1991, (6): 12~18.
- 3 李金生. 液体红曲色素. 粮油食品科技, 1993, (3): 29.
- 4 傅金泉. 我国红曲生产与应用的现状及发展前景. 食品与发酵工业, 1995, (5): 76~79.
- 5 谌斌, 刘爱英, 梁宗琦. 布氏白僵菌和藤仓赤霉的原生质体融合研究. 贵州农学院丛刊, 1996, (33): 101~110.
- 6 傅亮, 周卫兵, 高孔荣. 红曲色素高产菌株发酵特性的研究. 食品科学, 1996, 17 (3): 6~9.
- 7 贺建超, 石国昌. 侧耳属原生质体诱变的研究. 食用菌, 1992, 14 (2): 7.
- 8 何惠霞, 朱平, 李焕葵. α -麦角隐亭产生菌的原生质体诱变育种. 真菌学报, 1996, 15 (3): 215~219.
- 9 李明春, 邢来军. γ -亚麻酸产生菌的原生质体诱变育种. 微生物学通报, 1998, 25 (1): 9~12.
- 10 曹军卫, 陈澈源. 利用紫外线对纤维素酶产生菌黑曲霉原生质体进行诱变的研究. 武汉大学学报(自然科学版), 1987, (4): 91~95.
- 11 Hohzoh, Toshiro W et al. Intergeneric hybridization between *Monascus anka* and *Aspergillus oryzae* by Protoplast fusion. Appl Microbiol Biotechnol, 1990, (33): 671~676.

(责任编辑: 邓大玉)

法国科学家证实癌症与饮食有关

法国医学家经过一系列调查后证实, 30%的癌症病例与饮食结构有直接关系, 他们要求全社会对此予以重视, 并建议大众为自身保健, 合理改善饮食结构。

法国医学科学院在5月11日公布的《饮食与癌症》调查报告中指出, 高脂肪食品以及全脂奶、肉等饱和脂肪酸食品容易引发心血管疾病和多种癌症, 尤其是结肠癌和直肠癌。他们建议大众少食脂类及腌、熏、烤等含致癌物质的食品, 多食水果、蔬菜。为了保护大众健康, 医学家建议法国实行在食品上注明脂肪含量制度。如果这一制度一时难以全面实行, 至少先要求餐饮业及医疗卫生部门在提供的所有食品上标明脂肪含量, 以提醒消费者注意脂肪摄入量。该调查报告同时指出, 保证食用新鲜和无污染食品也是预防癌症的重要因素。专家建议大众选用分格式冰箱, 保证在0℃~4℃的恒温下储藏易腐食物。他们强调说, 温度的细微变化容易令病菌大量繁殖。他们特别建议冰箱制造商抓紧提高冰箱的制冷和恒温技术, 为大众提供好的保鲜设备。(卢苏燕)

(摘自《科学时报》1999年5月13日第2版)