

西藏曲拉和云南乳饼中酵母菌的鉴定及其生物多样性

卿蔓君, 白梅, 张勇, 刘文俊, 孙志宏, 张和平, 孙天松*

(内蒙古农业大学, 乳品生物技术与工程教育部重点实验室, 呼和浩特 010018)

摘要:【目的】探讨西藏曲拉和云南乳饼中酵母菌的生物多样性及其分布特征, 为我国传统乳制品中酵母菌资源的利用提供基础数据。【方法】从西藏和云南分别采集的 5 份曲拉样品和 8 份乳饼样品中分离出 41 株酵母菌, 利用 26S rDNA D1/D2 区域序列分析对这些菌株进行了分类鉴定。【结果】曲拉和乳饼样品中酵母菌的总数分别在 $10^6 - 10^7$ cfu/g 和 $10^2 - 10^6$ cfu/g 之间, 曲拉样品的酵母菌平均数比乳饼样品中的高 34 倍。共鉴定出 10 属 12 种, 其中西藏曲拉的优势菌株为发酵毕赤氏酵母 (*Pichia fermentans*) 和酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*); 云南乳饼的优势菌株为类筒假丝酵母 (*Candida zeylanoides*) 和喜仙人掌毕赤氏酵母 (*Pichia cactophila*)。毕赤氏酵母属 (*Pichia*) 是曲拉和乳饼的共同优势属。【结论】西藏曲拉和云南乳饼中的酵母菌都具有丰富的生物多样性, 但其差异性很大。

关键词: 曲拉; 乳饼; 酵母菌; 26S rDNA D1/D2 区; 生物多样性

中图分类号: Q939 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2010) 09-1141-06

曲拉(藏语, 指奶干渣), 是青藏高原地区牧民制作的一种传统乳制品, 是牧民将牦牛乳脱脂后(制酥油后)经自然发酵使酪蛋白凝结风干而制成的。曲拉不仅是藏族储藏食品的重要手段, 而且是某些地区制作酸奶的发酵剂^[1]。乳饼是云南的一种传统乳制品, 是云南西北各民族常吃的一种乳酪(cheese), 主要以山羊奶为原料, 也有用牛奶制成的。乳饼就是将新鲜奶煮沸后加食用酸点制, 待凝结后压出水分而制成, 乳饼的口味和营养与国际上的奶酪相近, 并耐储存, 当地人将其密封于瓦罐中可放数月不变质^[2]。传统的乳饼由山羊奶制作, 营养丰富, 风味独特, 鲜香可口, 富含人体所需的各种营养素, 且含各种微量元素, 其中钙、磷含量较高, 是理想的补充钙的优质营养食品^[3-4]。

乳制品中的微生物主要是乳酸菌, 但一些酵母菌在干酪生产的成熟阶段对产品风味和组织状态产生作用, 以及在发酵乳(如: 开菲尔)和马奶酒的生

产中起作用^[5]。Kurtzman 和 Robnett 通过对酵母菌 26S rDNA D1/D2 区域的多态性分析, 发现同种酵母菌株在这一区域的差异通常小于 1%, 用这段序列可以将绝大部分种区别开, 因不同种酵母菌株的差异通常远远大于 1%^[6-7]。本研究从曲拉和乳饼样品中分离酵母菌, 通过对 D1/D2 区域(500-600)的碱基序列分析来确定各菌株的归属。以期揭示西藏曲拉和云南乳饼中酵母菌的生物多样性, 为我国传统乳制品中酵母菌资源的利用提供基础数据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 样品来源: 5 份曲拉样品采集于西藏自治区那曲县桑雄乡(2 份)、当雄县龙仁乡(3 份)。8 份山羊乳饼样品采集于云南省剑川县金华镇文华行政村(3 份)、甸南镇朱柳村(2 份)、甸南镇龙们村(3 份)。样品存放于灭菌采样瓶中, 置于 4℃ 恒温箱中

基金项目: 国家自然科学基金项目(30660135, 30800861); 现代农业产业技术体系项目

* 通信作者。Tel: +86-471-4308629; Fax: +86-471-4307205; E-mail: sts9940@sina.com

作者简介: 卿蔓君(1985-), 女, 四川成都人, 硕士研究生, 主要从事乳品微生物及分子生物学研究。E-mail: qingmanjun1985@126.com

收稿日期: 2010-03-08; **修回日期:** 2010-04-22

存放,直至运回实验室。

1.1.2 参考菌株:乳酸克鲁维酵母 (*Kluyveromyces lactis*) AS2.1494 购自中国科学院微生物研究所。

1.1.3 培养基:酵母菌的分离、计数用培养基参照文献[8]中方法制备。

1.1.4 主要试剂和仪器:梯度基因扩增仪 PTC-200 购自美国 MJ 公司,引物 NL1 和 NL4 由上海桑尼生物技术有限公司合成。

1.2 酵母菌的计数

酵母菌计数采用涂布法,将不同稀释度的样品涂布于酸化 PDA (Potato Dextrose Agar, Gibco) 琼脂培养基上,25℃ 培养 48 h 后计数^[8]。

1.3 酵母菌的分离

从计数培养基上挑取不同形态的单个菌落进行酵母菌的分离,然后进行编号、形态观察、划线纯化并于 4℃ 保存备用。

1.4 26S rDNA D1/D2 区域 PCR 扩增和序列测定

提取待测菌株和参考菌株 AS2.1494 基因组,方法参照文献[9]。酵母菌 26S rDNA D1/D2 区域的扩增引物 NL1 和 NL4^[10] 为 NL1: 5' - GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG - 3'; NL4: 5' - GGTCCGTGTTTCAAGACGG - 3'。扩增条件: 94℃ 1 min, 53.5℃ 1 min, 72℃ 2 min, 36 个循环; 72℃ 延伸 10 min。纯化后的 PCR 产物交由上海桑尼生物技术有限公司进行测序。

1.5 序列分析及系统发育树的构建

测序结果用 DNASTAR 软件序列图谱人工校对。校正后的待测菌株的 D1/D2 区域序列在 GenBank 数据库中进行同源序列搜索 (BLAST), 比较供试菌株与已知酵母菌株之间的亲缘关系及其系统地位。根据同源序列搜索结果, 下载相关模式菌种的 D1/D2 区域序列, 与供试菌株的序列一起用 Clustal X 软件进行序列校准排齐, 用 Mega 4.0 软件的 Neighbor-Joining 方法, 进行 1000 次 Bootstrap 检验后构建系统发育树。

2 结果和分析

2.1 酵母菌的计数与分离

西藏曲拉和云南乳饼样品中酵母菌的计数结果见表 1。5 份牦牛乳曲拉样品中, 酵母菌的总数在 $10^6 - 10^7$ cfu/g 之间, 其中 3 份酵母菌数为 $(5.55 - 8.45) \times 10^6$ cfu/g, 2 份酵母菌数为 $(1.02 - 3.12) \times 10^7$ cfu/g。8 份山羊乳饼样品中, 酵母菌的总数在 $10^2 - 10^6$ cfu/g 之间, 其中 2 份酵母菌数为 $(1.00 -$

$5.10) \times 10^2$ cfu/g, 1 份酵母菌数为 6.50×10^3 cfu/g, 1 份酵母菌数为 3.65×10^4 cfu/g, 3 份酵母菌数为 $(1.85 - 7.10) \times 10^5$ cfu/g, 1 份酵母菌数为 1.42×10^6 cfu/g。曲拉样品的酵母菌平均数比乳饼样品中的高 34 倍。

表 1 西藏曲拉和云南乳饼样品的酵母菌计数

Table 1 Counts of the yeasts of Qula in Tibet and milk cake in Yunnan

Samples	Yeasts/(CFU/g)	Samples	Yeasts/(CFU/g)
XZA	5.55×10^6	YNC	1.42×10^6
XZB	3.12×10^7	YND	3.65×10^4
XZC	8.45×10^6	YNE	1.00×10^2
XZD	1.02×10^7	YNF	5.10×10^2
XZE	8.15×10^6	YNG	1.85×10^5
YNA	6.50×10^3	YNH	7.10×10^5
YNB	4.85×10^5		

XZA - E, Samples from Qula in Tibet; YNA - H, Samples from milk cake in Yunnan.

2.2 26S rDNA D1/D2 区域序列比较分析

试验分离得到的 41 株酵母菌, 其中 21 株分离自曲拉, 20 株分离自乳饼。分析这些供试菌株的 26S rDNA D1/D2 区域序列。将待测菌株的 D1/D2 区域序列在 GenBank 核酸序列数据库中进行同源序列搜索, 结果显示: 40 株供试菌株与相应的模式菌株同源率为 99.23% - 100%。另外, IMAU6Y136 (GU565214) 与地霉属 (*Galactomyces sp.*) 的相似率为 97.43%, 两者在 D1/D2 区域存在 14 个碱基的差异, 只能初步归为 *Galactomyces sp.*, 所以需要进一步研究来鉴定这株菌至种级水平。采用 MEGA4.0 软件分析供试菌株和相关模式菌株的 26S rDNA D1/D2 区域序列并绘制系统发育树 (图 1)。多重序列分析已将伊萨酵母属 (*Issatchenkia*) 归入 *Pichia* 属^[11], 这两个属菌株的亲缘关系较近, 因此东方伊萨酵母 (*Issatchenkia orientalis*) 在 *Pichia* 属的主分枝上。同一个属的不同种的 D1/D2 区域的序列具有明显差异, 它们就构成了主分枝内的亚分枝。

根据酵母菌同一菌种内不同菌株间在 D1/D2 区域的碱基差异不大于 1%^[6-7], 因此 41 株酵母菌经鉴定归为 10 属 12 种 (图 1), 其中 *Saccharomyces cerevisiae* 6 株, *Pichia fermentans* 8 株, 马克斯克鲁维酵母 (*Kluyveromyces marxianus*) 3 株, *Issatchenkia orientalis* 2 株, 戴尔有孢圆酵母 (*Torulasporea delbrueckii*) 2 株, *Galactomyces sp.* 1 株, *Candida zeylanoides* 5 株, 葡萄牙棒孢酵母 (*Clavispora lusitanae*) 3 株, 胶红酵母 (*Rhodotorula mucilaginosa*) 3 株, *Cryptococcus albidosimilis* 2 株, 弯曲隐球酵母 (*Cryptococcus curvatus*) 2 株, *Pichia cactophila* 4 株。

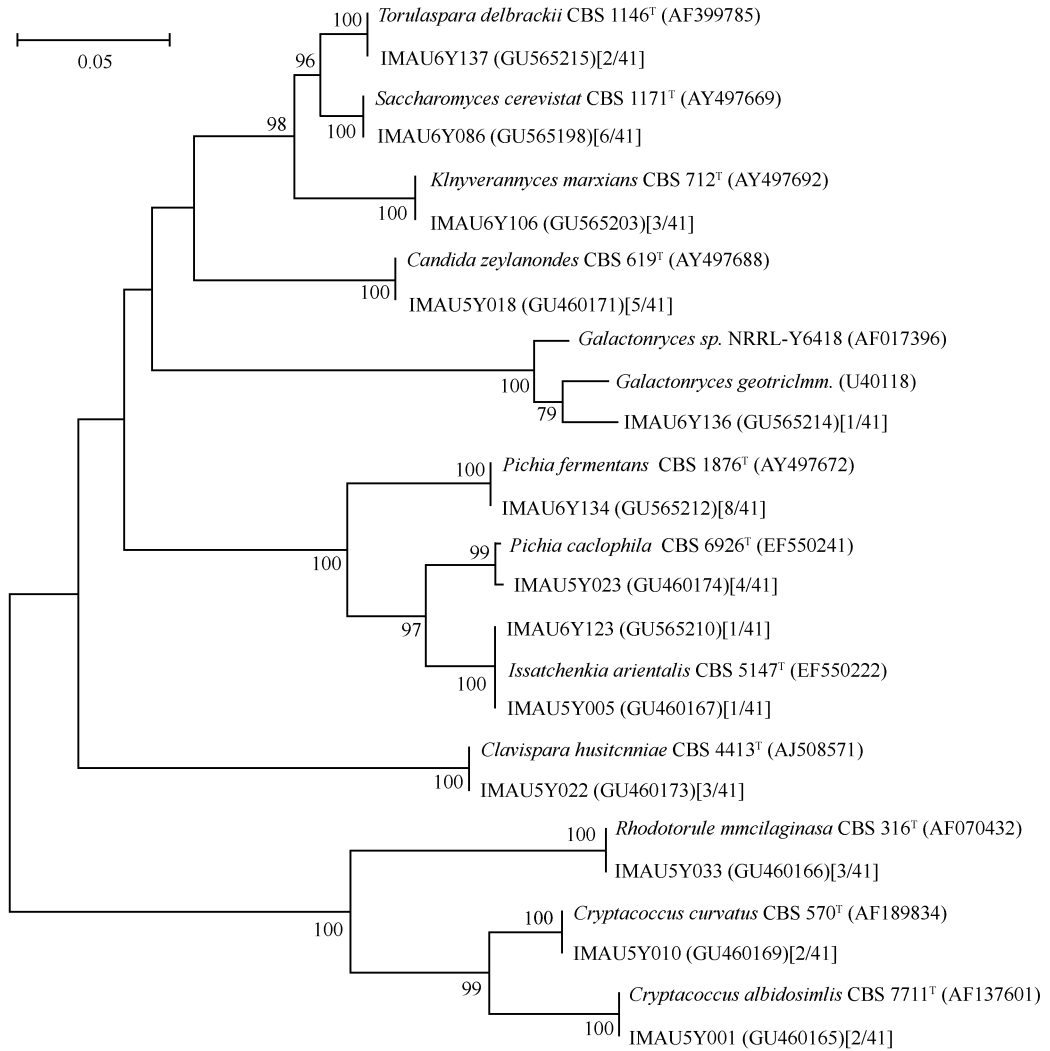


图 1 基于 26S rDNA D1/D2 区域序列和 Neighbor-Joining 分析绘制的系统树

Fig. 1 Phylogenetic tree drawn from neighbor-joining analysis based on the 26S rDNA D1/D2 domain sequence alignment. Numbers in parentheses represent the sequences' accession number in GenBank. Numbers in square brackets indicate the isolate number out of the total isolates' number. The number at each branch points is the percentage supported by bootstrap. Bar, 5% sequence divergence.

2.3 西藏曲拉和云南乳饼中酵母菌的分布特点

从西藏曲拉和云南乳饼中分离到酵母菌的数量及其鉴定结果见表 2。由表 2 可知,41 株分离株被鉴定为 10 属 12 种,曲拉分离株占 6 种,乳饼分离株

占 7 种,其中只有 *Issatchenkia orientalis* 在曲拉和乳饼中均有。说明曲拉和乳饼中酵母菌的种类有较大差异。

表 2 西藏曲拉和云南乳饼中酵母菌分离株数量

Table 2 Numbers of strains belonging to different species isolated from Qula in Tibet and milk cake in Yunnan

Species	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Total
Qula	6	8	3	1	2	1	0	0	0	0	0	0	21
Milk cake	0	0	0	1	0	0	5	3	3	2	2	4	20
Total	6	8	3	2	2	1	5	3	3	2	2	4	41

1, *Saccharomyces cerevisiae*; 2, *Pichia fermentans*; 3, *Kluyveromyces marxianus*; 4, *Issatchenkia orientalis*; 5, *Torulaspora delbrueckii*; 6, *Galactomyces sp.*; 7, *Candida zeylanoides*; 8, *Clavispora lusitanae*; 9, *Rhodotorula mucilaginosa*; 10, *Cryptococcus albidosimilis*; 11, *Cryptococcus curvatus*; 12, *Pichia cactophila*.

3 讨论

西藏曲拉与云南乳饼中的酵母菌种类差异很大,只有一个种的菌株 *Issatchenkia orientalis* 是两种样品共有的。分离得到的 41 株酵母菌中只有一株鉴定到属 (*Galactomyces* sp.), 其余 40 株都准确鉴定到种。由表 2 可知, 曲拉的优势菌株为 *Pichia fermentans* (38.1%) 和 *Saccharomyces cerevisiae* (28.6%); 乳饼的优势菌株为 *Candida zeylanoides* (25%) 和 *Pichia cactophila* (20%); *Pichia* 属是西藏和云南两地的共同优势属。本研究结果与 Roostita R^[12] 等, Prillinger H^[13] 等, Lopandic K^[14] 等的研究结果类似: *S. cerevisiae* 是 Camembert、Blue-veined 奶酪^[12], 以及意大利奶酪^[13] 中的优势菌株, 而 *C. zeylanoides* 是新鲜奶酪和酸凝乳干酪中的优势菌株^[14]。

发酵乳制品在生产加工过程中, 起主要作用的是乳酸菌的乳酸发酵, 酵母菌可作为副发酵剂用于奶酪的制作, 能增加奶酪成熟过程中风味物质的产生, 乳酸菌和酵母菌之间可能存在某种相互作用以共同影响产品的品质, 不管这种相互作用是积极的还是消极的, 对于产品的质量都是重要的^[15-16]。新鲜奶酪中常分离出 *C. zeylanoides*、*K. marxianus*、解脂耶罗威亚酵母 (*Yarrowia lipolytica*)、而链状假丝酵母 (*Candida catenulata*)、汉逊德巴利酵母 (*Debaryomyces hansenii*)、*K. marxianus*、白地霉 (*Geotrichum candidum*) 是酸凝乳干酪中常见的酵母菌。这些菌种对蛋白质和脂肪都有很强的水解作用^[14]。*R. mucilaginosa* 是 Manteca 中的优势菌株, 并且也从中分离出 *C. zeylanoides*。*R. mucilaginosa* 在 Cheddar 奶酪的制作和成熟期间来自周围的环境, 例如墙壁, 地面, 器械设备的表面^[17]。Fleet 和 Mian 以及 Welthaagen 和 Viljoen 都报道了红酵母属 (*Rhodotorula*) 的菌株产生的胞外脂肪酶对脂肪有很强的水解作用^[18-19]。在乳制品制作环境中报道的常见酵母菌属有: 假丝酵母属 (*Candida*)、隐球酵母属 (*Cryptococcus*)、德巴利酵母属 (*Debaryomyces*)、地霉属 (*Galactomyces*)、克鲁维酵母属 (*Kluyveromyces*)、*Pichia*、酵母属 (*Saccharomyces*)、丝孢酵母属 (*Trichosporon*)^[20]。

从西藏和云南样品中都没有发现奶酪的常见典型分离菌株 *D. hansenii* 和 *Y. lipolytica*^[21]。Nahabieh 和 Schmidt 研究发现酵母菌组成在不同的奶酪里是不同的, 例如 *Y. lipolytica* 和间型假丝酵母

(*Candida intermedia*) 在山羊乳奶酪中的出现率明显高于牛乳奶酪^[22]。本研究分离得到的酵母菌的种类和数量关系存在较大差异, 具有明显的地域特色。传统方法制作的乳制品中微生物的组成及含量受当地的环境、气候、制作方法、发酵温度、酸凝乳剂的添加量等因素的影响^[23]。青藏高原地处中国西北地区, 平均海拔 4000 m 以上, 冬季干冷夏季温凉, 年均温度全国最低。云南省剑川县靠近滇藏高原, 属南温带冬干夏湿季风气候类型。两地均属于特殊的生态学区域, 具有生物的广泛性和特殊性, 从而对曲拉和乳饼中的微生物区系和典型风味的形成产生一定的影响^[1]。5 份曲拉和 8 份乳饼样品的平均 pH 值分别为 4.19^[24] 和 5.41^[25]。由于奶酪有低的酸度、湿度、贮存温度, 以及高的盐浓度, 导致了酵母菌在奶酪中的频繁出现^[5]。pH 的增加会促进微生物对蛋白质的水解能力, 所以奶酪中 pH 的增加对于奶酪的制作十分重要, 而酵母菌的碱化能力可能会引起 pH 的变化^[22]。

试验所采集到的曲拉样品和乳饼样品都是采用传统方法制作而成, 含有丰富的微生物。如果干酪是利用原料乳通过传统工艺制作, 那么在干酪发酵的过程中环境中的微生物起着重要的作用^[1]。本文是国内首次同时对西藏和云南地区传统发酵乳制品 (曲拉和乳饼) 中的酵母菌分类进行了系统的对比研究, 为研究和开发自然发酵乳制品中的酵母菌资源奠定了良好的基础。

4 结论

本研究从西藏和云南分别采集到 5 份曲拉样品和 8 份乳饼样品, 从中分离出 41 株酵母菌。曲拉和乳饼样品中酵母菌的总数分别在 $10^6 - 10^7$ cfu/g 和 $10^2 - 10^6$ cfu/g 之间, 曲拉样品的酵母菌平均数比乳饼样品中的高 34 倍。这些酵母菌经鉴定归为 10 属 12 种, 其中 *Saccharomyces cerevisiae* 6 株, *Pichia fermentans* 8 株, *Kluyveromyces marxianus* 3 株, *Issatchenkia orientalis* 2 株, *Torulaspora delbrueckii* 2 株, *Galactomyces* sp. 1 株, *Candida zeylanoides* 5 株, *Clavispora lusitaniae* 3 株, *Rhodotorula mucilaginosa* 3 株, *Cryptococcus albidosimilis* 2 株, *Cryptococcus curvatus* 2 株, *Pichia cactophila* 4 株。西藏曲拉的优势菌株为 *Pichia fermentans* (38.1%) 和 *Saccharomyces cerevisiae* (28.6%); 云南乳饼的优势菌株为 *Candida zeylanoides* (25%) 和 *Pichia cactophila* (20%)。*Pichia* 属是曲拉和乳饼的共同优

势属。

参考文献

- [1] 段宇珩, 谈重芳, 王雁萍, 蔡义民, 霍裕平. 牦牛乳曲拉中微生物及乳酸菌特性及菌群构成的研究. 中国乳品工业(*China Dairy Industry*), 2008, 36(4): 27-30.
- [2] 李永祥. 乳扇·乳饼. 美食(*Delicious Food*), 2006, (1): 21-22.
- [3] 张以芳, 夏凤毅, 刘旭川. 乳饼制品中乳杆菌分离鉴定及其发酵性能试验. 中国乳品工业(*China Dairy Industry*), 1999, 27(3): 22-24.
- [4] 吴少雄, 王宝兴, 郭祀远, 李琳, 殷建忠. 云南撒尼族乳饼研制. 中国乳品工业(*China Dairy Industry*), 2005, 33(7): 18-19.
- [5] Fleet GH. Yeast in dairy products. *Journal of Applied Bacteriology*, 1990, 68(3): 199-211.
- [6] Kurtzman CP, Robnett CJ. Identification and phylogeny of ascomycetous yeasts from analysis of nuclear large subunit (26S) ribosomal DNA partial sequences. *Antonie Leeuwenhoek*, 1998, 73(4): 331-371.
- [7] Kurtzman CP, Robnett CJ. Identification of clinically important ascomycetous yeasts based on nucleotide divergence in the 5' end of the large subunit (26S) ribosomal DNA gene. *Journal of Clinical Microbiology*, 1997, 35(5): 1216-1223.
- [8] Kurtzman CP, Fell JW. The Yeasts, A Taxonomic Study. 4th eds. Amsterdam; Elsevier, 1998: 77-100.
- [9] 白逢彦, 贾建华, 梁慧燕. 假丝酵母属疑难菌株大亚基 rDNA D1/D2 区域序列分析及其分类意义. 菌物系统(*Mycosystema*), 2002, 21(1): 27-32.
- [10] 陆惠中, 王启明, 贾建华, 白逢彦. 秦岭地区子囊菌酵母物种多样性研究. 菌物学报(*Mycosystema*), 2004, 23(2): 183-187.
- [11] Kurtzman CP, Robnett CJ, Basehoar-Powers E. Phylogenetic relationships among species of *Pichia*, *Issatchenkia* and *Williopsis* determined from multigene sequence analysis, and the proposal of *Barnettozyma* gen. nov., *Lindnera* gen. nov. and *Wickerhamomyces* gen. nov. *FEMS Yeast Research*, 2008, 8(6): 939-954.
- [12] Roostita R, Fleet GH. The occurrence and growth of yeasts in Camembert and Blue-veined cheeses. *International Journal of Food Microbiology*, 1996, 28(3): 393-404.
- [13] Prillinger H, Molnár O, Eliskases-Lechner F, Lopandic K. Phenotypic and genotypic identification of yeasts from cheese. *Antonie van Leeuwenhoek*, 1999, 75(4): 267-283.
- [14] Lopandic K, Zelger S, Bánszky LK, Eliskases-Lechner F, Prillinger H. Identification of yeasts associated with milk products using traditional and molecular techniques. *Food Microbiology*, 2006, 23(4): 341-350.
- [15] 庞晓娜, 韩北忠, 陈晶瑜, 杨葆华, 金玲. 西藏牦牛发酵乳中乳酸菌及酵母菌的特性与相互作用. 中国酿造(*China Brewing*), 2007, (11): 23-26.
- [16] Ferreira AD, Viljoen BC. Yeasts as adjust starters in matured Cheddar cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 2003, 86(1-2): 131-140.
- [17] Suzzi G, Schirone M. Yeasts associated with Manteca. *FEMS Yeast Research*, 2003, 3(2): 159-166.
- [18] Fleet GH, Mian MA. The occurrence and growth of yeasts in dairy products. *International of Food Microbiology*, 1987, 4(2): 145-155.
- [19] Welthagen JJ, Viljoen BC. The presence of yeasts in different types of cheese // Nærhus J, Viljoen BC. Proceedings of the symposium 'Yeasts in the dairy industry: positive and negative aspects'. Copenhagen (Denmark): I. D. F. F. I. L., 1998: 78-87.
- [20] 杨清香, 王哲. 酵母菌在自然界中的生态分布及功能. 环境科学与技术(*Environmental Science & Technology*), 2009, 32(4): 86-91.
- [21] Laurenčík M, Sulo P, Sláviková E, Piecková E, Seman M, Ebringer L. The diversity of eukaryotic microbiota in the traditional Slovak sheep cheese — Bryndza. *International Journal of Food Microbiology*, 2008, 127(1-2): 176-179.
- [22] Pereira-Dias S, Potes ME, Marinho A, Malfeito-Ferreira M, Loureiro V. Characterisation of yeast flora isolated from an artisanal Portuguese ewes' cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 2000, 60(1): 55-63.
- [23] Viljoen BC, Khoury AR, Hattlingh A. Seasonal diversity of yeasts associated with white-surface mould-ripened cheeses. *Food Research International*, 2003, 36(3): 275-283.
- [24] 艾日登才次克. 西藏部分地区传统发酵乳中微生物和化学组成分析及乳酸菌的分离鉴定. 内蒙古农业大学硕士学位论文, 2009.
- [25] 赵树平, 董成, 刘红霞, 孙天松, 张和平. 云南剑川县山羊乳饼化学组成与微生物学分析. 中国乳品工业(*China Dairy Industry*), 2007, 35(12): 19-21.

Identification and biodiversity of yeasts from Qula in Tibet and milk cake in Yunnan of China

Manjun Qing, Mei Bai, Yong Zhang, Wenjun Liu, Zhihong Sun, Heping Zhang, Tiansong Sun*

(Key Laboratory of Dairy Biotechnology and Engineering, Ministry of Education, Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot 010018, China)

Abstract: [**Objective**] To analyze the biodiversity and distribution of the yeast species of Qula in Tibet and milk cake in Yunnan, and to provide essential data for the utilization of yeasts in the traditional dairy products of China. [**Methods**] Forty-one yeast strains were isolated from 5 samples of Qula in Tibet and 8 samples of milk cake in Yunnan. The isolates were identified by the large-subunit (26S) rDNA gene D1/D2 domain sequences analysis. [**Results**] The population of yeast in Qula varied from 10^6 cfu/g to 10^7 cfu/g. The content of yeast ranged from 10^2 cfu/g to 10^6 cfu/g in milk cake. The average population of yeast in Qula was higher than milk cake for 34 folds. These strains were grouped in 12 species belonging to 10 genera. The dominant species in Qula were *Pichia fermentans* and *Saccharomyces cerevisiae*, but *Candida zeylanoides* and *Pichia cactophila* were major population in milk cake. The results showed that *Pichia* was the dominant genera both in Qula and milk cake. [**Conclusion**] There existed that yeasts of great biodiversity both of Qula in Tibet and milk cake in Yunnan, but quite different from each other.

Keywords: Qula; milk cake; yeast; 26S rDNA D1/D2 region; biodiversity

(本文责编:王晋芳)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (30660135, 30800861) and the Earmarked Fund for Modern Agro-Industry Technology Research System of China

* Corresponding author. Tel: +86-471-4308629; Fax: +86-471-4307205; E-mail: sts9940@sina.com

Received: 8 March 2010/ Revised: 22 April 2010

《微生物学报》对摘要的写作要求

1. 研究报告摘要:基本要素包括研究目的、方法、结果和结论,并要求在文中给出“【目的】、【方法】、【结果】和【结论】”等字样。具体地讲就是研究工作的主要对象和范围,采用的手段和方法,得出的结果和重要结论。在结果和讨论中应写明本文的创新之处。
2. 综述摘要:包括论述内容的发展水平、自己的评论及展望。
3. 英文摘要的撰写要点:英文摘要的内容应与中文摘要一致,但比中文摘要更详尽。要求在文中按照[Objective]、[Methods]、[Results]、[Conclusion]顺序分项撰写。英文摘要完成后,务必请英文较好且专业知识强的专家审阅定稿后再返回编辑部。凡不符合要求的,即使学术上可以达到刊出的水平,本刊也将推迟发表。
 - (1)在英语摘要中,不要使用任何汉字字符,包括标点、括号、温度、希腊字母等。
 - (2)建议使用第一人称,以此可区分研究结果是引用文献的还是作者的。
 - (3)建议用主动语态,被动语态表达拖拉模糊,尽量不用,这样可以免好多长句,以求简单清晰。
 - (4)摘要应当使用过去时态,语法正确,句子通顺。
 - (5)摘要中不用缩写语,除非是人人皆知的,如:DNA、ATP等。
 - (6)句子的开头处最好不要使用数字。