



## 云南高原湖泊杞麓湖冬季可培养酵母菌多样性分析

董明华<sup>1</sup>, 李治滢<sup>1</sup>, 周斌<sup>1</sup>, 周巧<sup>2</sup>, 严亚萍<sup>1</sup>, 晋方佑<sup>1</sup>, 李云霄<sup>1</sup>, 杨丽源<sup>1</sup>, 李绍兰<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> 云南大学云南省微生物研究所, 云南 昆明 650091

<sup>2</sup> 昆明理工大学生物工程技术研究中心, 云南 昆明 650000

**摘要:** 【目的】探究云南杞麓湖酵母菌群落结构及其与环境因子的相互关系。【方法】采用原位培养方法对杞麓湖14个水样进行酵母菌分离, 应用26S rDNA D1/D2区域序列分析, 并结合形态及生理生化指标将对分离获得的酵母菌进行鉴定, 运用软件bio-dap和Canoco分析酵母菌类群的丰富度及其与环境因子间的相互关系。【结果】从杞麓湖中分离得到321株酵母菌, 鉴定为14个属27个种和1个潜在的新类群。*Rhodosporidium kratochvilovae*和出芽短梗霉(*Aureobasidium pullulans*)是优势种, 分别为总菌株数的29.6%和16.8%。水体总磷含量是影响产色素红冬孢酵母属(*Rhodosporidium*)分布的重要环境因子, 而pH为隐球酵母属(*Cryptococcus*)分布的一个重要选择条件。【结论】杞麓湖酵母菌具有较为丰富的群落多样性。

**关键词:** 杞麓湖, 酵母菌, 多样性, 环境因子

酵母菌存在于许多类型的淡水系统中, 如湖泊、河流、地下水、冰川及冰川融水等。包含酵母菌在内的微生物在水生生态系统的物质循环和能量流动中起着重要的作用<sup>[1-2]</sup>。在湖泊生态系统的酵母菌多样性研究中, 不同生境条件的湖泊, 酵母菌群落结构和多样性存在明显差异<sup>[3-6]</sup>。Brandão等研究发现, 富营养化湖泊的酵母菌类群多样性高于贫营养类型湖泊, 属水平的酵母菌类

群丰度与总氮、总磷具有很强的相关性<sup>[6]</sup>。紫外线同样会对湖泊酵母菌落结构产生一定的影响<sup>[7]</sup>。酵母菌类群在水生生态系统中易受环境影响, 是系统中生物量的重要组成部分; 在生态修复过程中, 酵母菌的丰度、群落结构及多样性可以作为湖泊生态特征的重要指标<sup>[8-11]</sup>。因此, 研究湖泊的酵母菌群落结构对了解湖泊生态系统的健康和稳定具有重要的意义。

基金项目: 国家自然科学基金(31160006); 云南省科技条件平台建设计划项目(2009DA002); 国家微生物资源平台专项-面向微生物教学实验的专题服务项目(NIMR-2014-8)

\*通信作者。Tel: +86-871-65033540; Fax: +86-871-65034621; E-mail: shlli@ynu.edu.cn

收稿日期: 2015-06-16; 修回日期: 2015-09-06; 网络出版日期: 2015-09-29

杞麓湖位于云南高原西南边缘的玉溪市通海县境内，属富营养型湖泊，水质污染以有机污染和氮、磷污染为主。目前对杞麓湖酵母菌研究未见有报道。对杞麓湖酵母菌多样性进行研究，可以探讨酵母菌群落在湖区的分布及其与理化因子的相关性，以期富营养化湖泊生态系统的监测与修复机制提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 样品采集

杞麓湖的冬季平均气温为6–18 °C，年平均水温为15.6 °C。2012年12月11日，采用GPS定位取样点，根据杞麓湖的周围环境和水体特征设置14个采样点(QW1–QW14)(图1)，共采集14个样

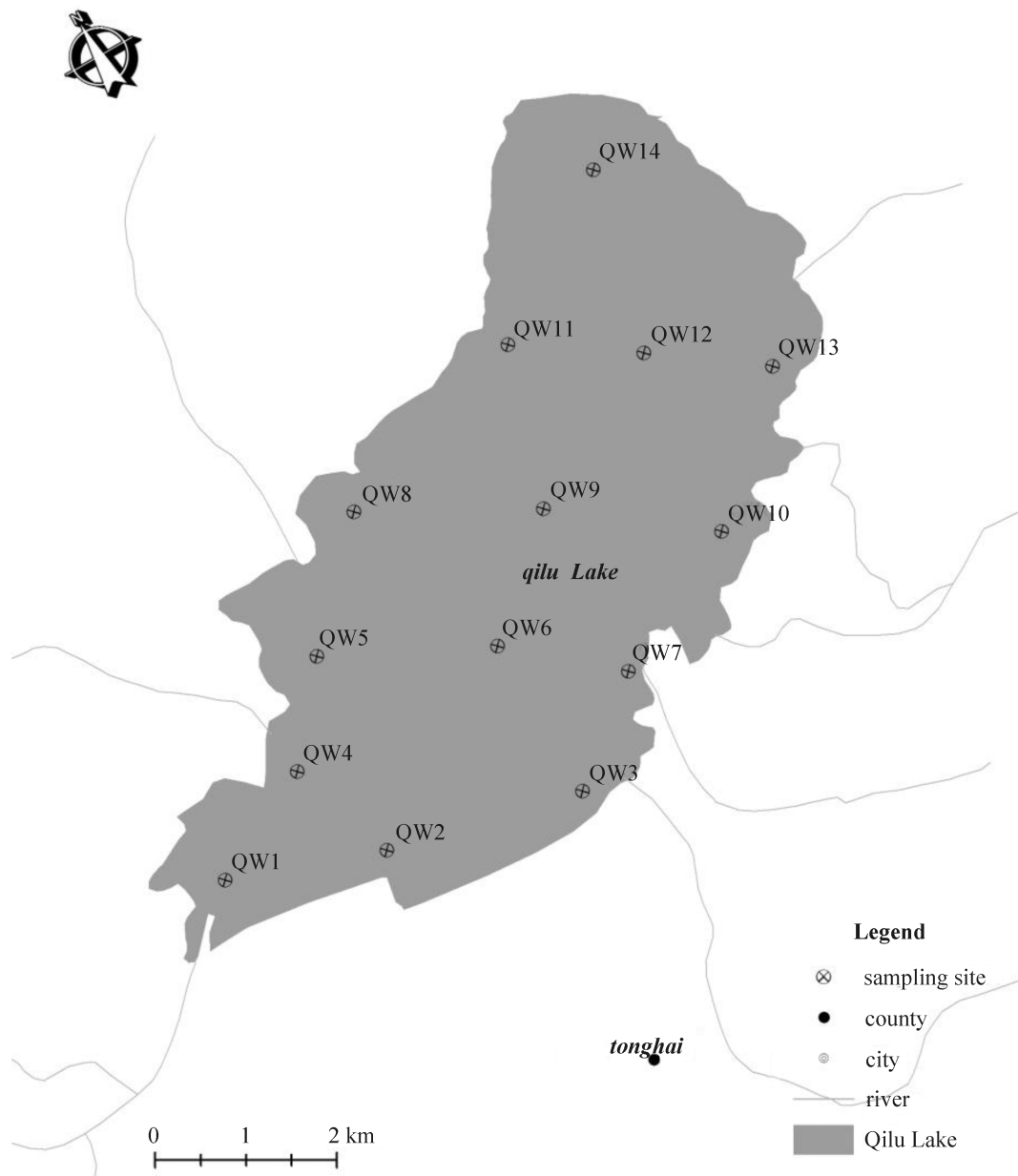


图 1. 杞麓湖采样位点分布图

Figure 1. Distribution of sample sites in Qilu Lake.

品。使用采水器在水表面下约30 cm进行水样采集, 每个样点共采集3 L, 放在无菌的收集瓶里。样品采集完带回实验室立即处理。

## 1.2 理化指标测定

委托昆明绿岛环境科技有限公司测定各点水样的总有机碳(TOC)、总氮(TN)、总磷(TP)和总硬度。用Orion 5 star (Thermo Scientific)测定各点水样的水温、pH值和电导率; 浊度用TN100浊度仪(Eutech Instruments Pte Ltd.)进行测定。

## 1.3 酵母菌分离

分离培养基为酸化YM培养基(酵母膏0.3%, 蛋白胨0.5%, 麦芽汁0.3%, 葡萄糖1.0%, 琼脂2%, 倒皿前按100 mL培养基加入1 mol/L的盐酸0.7 mL)、RBCH培养基(蛋白胨0.5%, 葡萄糖1%, 磷酸氢二钾0.1%, 硫酸镁0.05%, 孟加拉红0.005%, 琼脂2%, 倒皿前加青霉素80 U/mL)和PDA培养基(马铃薯20%, 葡萄糖2%, 琼脂2%, 倒皿前加青霉素80 U/mL), 所有的培养基都用杞麓湖湖水配制。湖水用孔径大小为0.45  $\mu\text{m}$ , 直径47 mm的醋酸纤维素滤膜过滤, 每张滤膜过滤50 mL湖水, 滤膜平置于培养基上; 每个样点过滤1.5 L (每种培养基过滤0.5 L), 原位培养。置于室温培养3-7 d, 挑取单菌落, 划线纯化, 获得纯培养物。所有分离纯化的酵母菌菌株采用冷冻干燥和甘油管法保藏于云南省微生物研究所。

## 1.4 酵母菌的鉴定

**1.4.1 形态和生理生化指标:** 形态和生理生化测试主要参照文献[12]。形态主要包括菌落颜色、形状、质地, 细胞形状、大小和芽殖方式等。生理生化测试选取了5个指标: 葡萄糖发酵, 脲酶反应, 无维生素生长测试, 淀粉类似物的形成, 高渗透测试。

**1.4.2 DNA的提取和PCR扩增:** 对所有分离得到的酵母菌株进行DNA的提取, DNA的提取参照文献[13]的方法进行。26S rDNA D1/D2区域序列的

PCR扩增和测序参照文献[14]的方法并稍作改动进行。引物NL1(5'-GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG-3'), NL4(5'-GGTCCGTGTTTCAAGACGG-3')。PCR扩增程序为: 94  $^{\circ}\text{C}$  5 min; 94  $^{\circ}\text{C}$  45 s, 56  $^{\circ}\text{C}$  45 s, 72  $^{\circ}\text{C}$  60 s, 30个循环; 72  $^{\circ}\text{C}$  10 min。扩增产物在1% 琼脂糖凝胶上电泳检测, 送上海生物工程有限公司进行测序。

**1.4.3 序列分析:** 对酵母菌的26S rDNA D1/D2进行序列分析<sup>[15]</sup>。采用DNASar软件对酵母的26S rDNA D1/D2序列进行分析, 对序列进行人工校对, 序列在GenBank核酸序列数据库中进行同源序列搜索, 选取与菌株亲源关系较近的模式菌株, 应用Clustal X进行序列比对, 用MEGA 5.0软件的邻接法构建系统发育树进行系统进化分析<sup>[16-18]</sup>。

## 1.5 数据处理

应用Bio-Dap计算多样性指数分析各样点酵母菌的多样性和丰富度<sup>[19]</sup>。运用生物统计学软件Canoco 5进行主成分分析(PCA), 研究各个采样点中酵母菌与环境因子间相关性<sup>[20]</sup>。

## 2 结果和分析

### 2.1 杞麓湖理化性质及酵母菌数量

杞麓湖冬季采样当天的气温为8  $^{\circ}\text{C}$ , 水表面下30 cm的平均水温为13  $^{\circ}\text{C}$ 。杞麓湖不同样点的湖水总磷和总氮含量变化明显。QW2的总磷含量最高, 其次是QW1和QW3, 最低的是QW6(表1); 总氮含量最高的是QW13(3.0 mg/L), 最低的为QW1 (0.2 mg/L); 总硬度在179.1-315.9 mg/L之间变化。所有样点的总有机碳、浊度和电导率均高, 但样点之间变化不大。各样点的酵母菌数量变化明显, 从56-2145 CFU/L, 样点QW1、QW2和QW3的酵母菌数量明显高于其它样点的酵母菌数量, 同时从表1可以观察到这3个样点的总磷、总有机碳和电导率也相对较高。

表 1. 杞麓湖各水样理化因子和酵母菌数量

Table 1. Physical and chemical characteristics and CFU of the Qiluhu Lake samples

Sites	pH	c (TP)/ (mg/L)	c (TN)/ (mg/L)	c (TOC)/ (mg/L)	c (Total hardness)/(mg/L)	Turbidity/ (NTU)	Conductivity/ ( $\mu$ S/cm)	Yeast counts/ (CFU/L)
QW1	9.3	0.37	0.2	190	311.9	49	1232	1497
QW2	9.1	0.47	2.2	193	179.1	50	1218	2145
QW3	9.1	0.22	1.8	183	234.4	80	1241	1780
QW4	9.4	0.17	1.3	177	209.2	40	1056	625
QW5	9.3	–	–	–	–	29	1057	563
QW6	9.4	0.09	2.4	179	211.3	69	1034	236
QW7	9.3	0.13	0.7	179	241.4	57	1037	193
QW8	9.4	0.13	0.6	165	269.6	68	1046	71
QW9	9.4	0.12	0.9	162	209.2	57	1040	56
QW10	9.4	0.13	1.2	172	213.3	52	1035	153
QW11	9.4	0.10	0.9	143	315.9	55	1035	120
QW12	9.3	0.16	0.8	171	279.7	51	1042	58
QW13	9.3	0.11	3.0	152	305.8	53	1033	123
QW14	9.4	0.13	1.8	168	263.6	65	1041	90

–: not measured.

## 2.2 杞麓湖酵母菌多样性

从杞麓湖14个水样中共分离得到321株酵母菌，经在GenBank数据库中比对后确定其分类地位，共14属27个种和1个潜在的新类群(表2)。对27个种进行系统发育分析发现，杞麓湖酵母菌分布在担子菌酵母、子囊菌酵母和类酵母出芽短梗霉中(图2)。担子菌酵母共得到213株，占总数的66.4%，是杞麓湖的主要酵母菌类群。在担子菌酵母类群中，共有5个属：红冬孢酵母属(*Rhodospiridium*)2个种97株占总数的30.2%，为该湖的主要优势属；隐球酵母属(*Cryptococcus*)6个种46株(14.3%)，红酵母属(*Rhodotorula*)4个种50株(15.6%)，丝孢酵母(*Trichosporon*)2个种4株(1.2%)，*Hannaella* 2个种16株(5.0%)。子囊菌酵母有54株，鉴定为8个属10个种和1个潜在的新类群，占总酵母数的16.8%；其中毕赤酵母(*Pichia*)2个种、假丝酵母(*Candida*)有2个种和1个潜在

的新类群、*Zygowilliopsis*、威克汉姆酵母(*Wickerhamomyces*)、德巴利酵母(*Debaromyces*)、*Meyerozyma*、地霉属(*Geotrichum*)和有孢汉逊酵母(*Hanseniaspora*) 分别有1个种。类酵母出芽短梗霉(*Aureobasidium pullulans*)有54株(16.8%)。在所有分离到的菌株中*Rhodospiridium kratochvilovae*是优势种，共分离到95株(29.6%)，其次是出芽短梗霉(*Aureobasidium pullulans*)54株。本研究对各个样品的酵母菌群多样性进行分析，结果显示(表2)，不同样品的多样性存在差异。其中，QW14的多样性指数最高，指数为2.38，QW3样品最低，指数为0.83。

## 2.3 酵母菌类群与环境因子相关性

主成分(Principal components analysis, PCA)分析结果表明杞麓湖酵母类群分布与环境因子存在着密切联系(图3)。红冬孢酵母属(*Rhodospiridium*)、丝孢酵母属(*Trichosporon*)和假丝酵母属(*Candida*)

表 2. 云南杞麓湖酵母菌类群数量分布  
Table 2. Distribution of yeasts isolated from Qilu Lake samples

Species	QW1	QW2	QW3	QW4	QW5	QW6	QW7	QW8	QW9	QW10	QW11	QW12	QW13	QW14
<b>Basidiomycetous</b>														
<i>Cryptococcus albidus</i>														3
<i>Cryptococcus flavescens</i>						2		1				2	2	
<i>Cryptococcus foliicola</i>					1			9	5		4	2	3	4
<i>Cryptococcus uzbekistanensis</i>									2					
<i>Cryptococcus victoriae</i>				4										
<i>Cryptococcus taibaiensis</i>														2
<i>Rhodotorula glutinis</i>											1			
<i>Rhodotorula graminis</i>				1	1		6	5	3	3	3	2		1
<i>Rhodotorula ingeniosa</i>						3							5	2
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	3				6				1				2	2
<i>Rhodospiridium diobovatum</i>												1	1	
<i>Rhodospiridium kratochvilovae</i>	21	21	11	14	11	6	1	2		3	2	1	1	1
<i>Trichosporon montevidense</i>		2												
<i>Trichosporon multisporum</i>					2									
<i>Hannaella luteolus</i>							4							
<i>Hannaella zeae</i>	1						3		2	6				
<b>Ascomycetous</b>														
<i>Candida pseudolambica</i>		5											2	1
<i>Candida solani</i>				1										
<i>Candida sp.</i>	1													
<i>Debaryomyces fabryi</i>	2												1	
<i>Geotrichum silvicola</i>			1											
<i>Hanseniaspora uvarum</i>									1					
<i>Meyerozyma guilliermondii</i>								2						
<i>Pichia kudriavzevii</i>	4				1		3		5	5	3	1	3	1
<i>Pichia onychis</i>														2
<i>Zygowilliopsis californica</i>	3												2	
<i>Wickerhamomyces anomalus</i>								3		1				
<b>Yeast-like</b>														
<i>Aureobasidium pullulans</i>	2	5	13		4		2	5	4	7	1	4	6	1
<b>Shannon diversity</b>	1.39	1.03	0.83	0.87	1.56	0.99	1.67	1.74	1.93	1.66	1.67	1.82	2.23	2.28

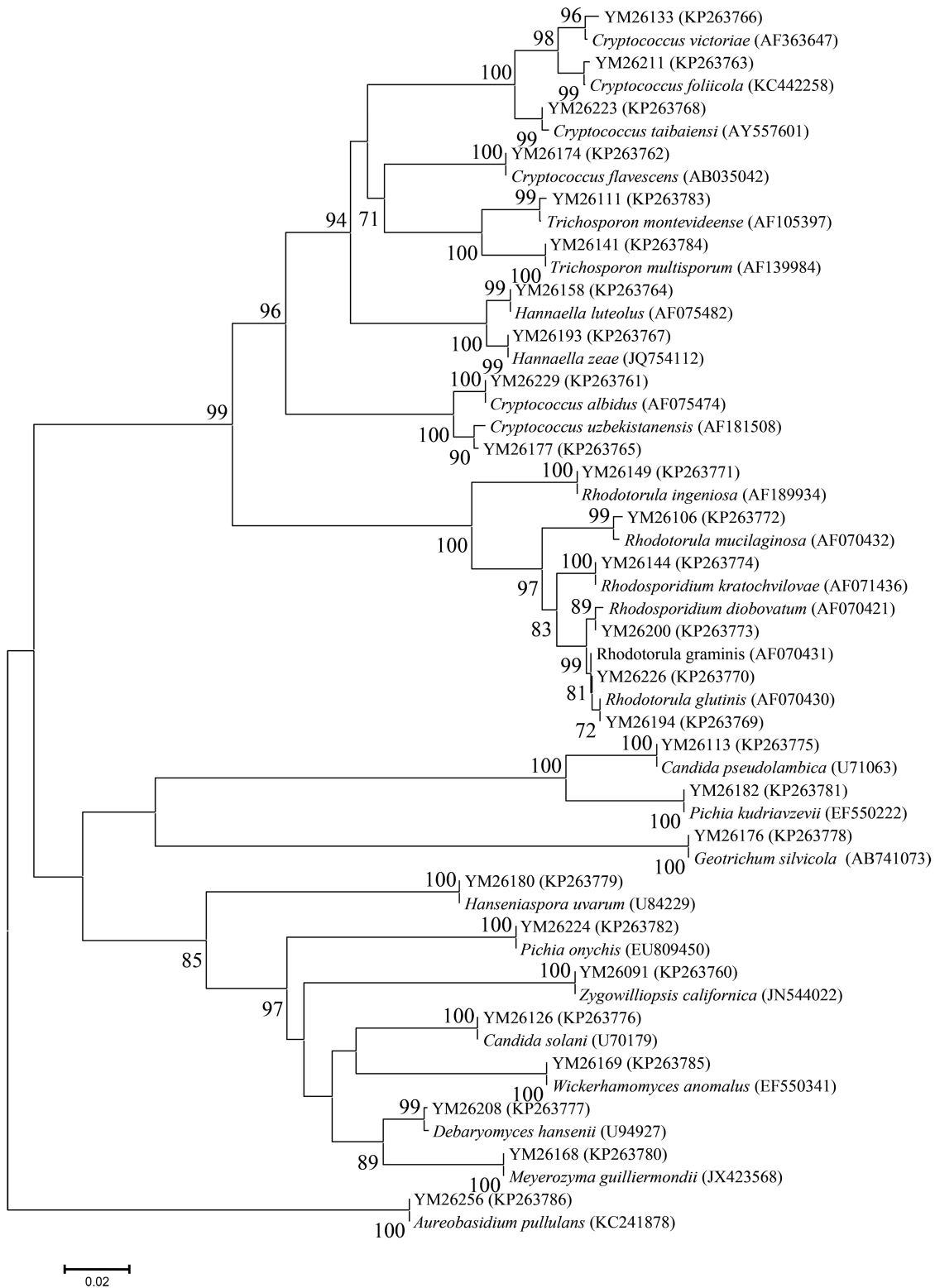


图 2. 基于26S rDNA D1/D2区域序列和Neighbor-Joining构建的系统树

Figure 2. Phylogenetic tree drawn from Neighbor-Joining analysis based on the 26S rDNA D1/D2 domain sequence alignment.

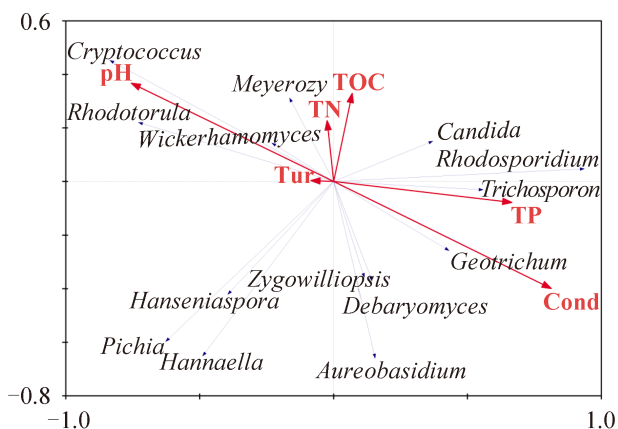


图 3. 杞麓湖中非生物因子对酵母菌群落的影响

Figure 3. PCA analysis the environmental factors affected on yeasts community in the Qilu Lake. TP: total phosphorus; TN: total nitrogen; TOC: total organic carbon; Cond: conductivity; Tur: turbidity.

与湖水的总磷有密切的联系；隐球酵母属 (*Cryptococcus*) 和红酵母属 (*Rhodotorula*) 的分布与 pH 直接相关；电导率影响地霉属 (*Geotrichum*) 的分布。

### 3 讨论

#### 3.1 环境因子对杞麓湖酵母菌的影响

对云南高原湖泊杞麓湖的酵母菌进行调查, 共分离得到 321 株酵母菌, 分 14 个属 27 个种和 1 个潜在的新类群。酵母菌数量从 56-2145 CFU/L, 酵母菌数量在不同湖区存在差异, 营养的分布特征可能是造成酵母密度发生变化的原因。杞麓湖湖水中各样点总有机碳、总硬度、浊度和电导率变化不大, 总磷和总氮差异较大。杞麓湖的 3 个样点 (QW1、QW2 和 QW3) 酵母菌的数量 (CFU/L) 明显高于湖中其它样点, 同时这 3 个样点的总磷、总有机碳和电导率也相对于其它样点的较高; 杞麓湖的西南面有 6 条河流, 东北面有 2 条, 而西南面 (QW1-QW7) 的酵母菌数量明显高于东北面 (QW8-QW14)。杞麓湖西南面的酵母菌数量明显高于东

北面, 由于西南面的入湖河流多, 营养来源广, 受杞麓湖营养盐空间分布特征的影响<sup>[21]</sup>。

主成分 (Principal components analysis, PCA) 分析结果表明杞麓湖酵母分布与环境因子存在着密切联系。假丝酵母属 (*Candida*) 的生长分布与水体的总磷含量直接相关<sup>[22]</sup>。假丝酵母属 (*Candida*) 能够对污染环境起到一定的指示作用, 可以利用引起富营养化的硝酸盐或磷酸盐进行生长, 吸附利用重金属离子, 代谢某些难降解的复合物<sup>[23-24]</sup>。本研究发现, 除假丝酵母 (*Candida*) 外, 红冬孢酵母属 (*Rhodospordium*)、丝孢酵母属 (*Trichosporon*) 也与湖水的总磷直接有密切的联系, 推测这些酵母菌类群可能参与了湖水中磷的消除, 并且对于这一富营养化环境中磷循环具有重要作用。另外, 由于磷在湖水中是监测富营养化的一个重要指标, 而这些酵母类群的生态分布, 对于评估水体富营养化程度具有重要影响, 因而非常值得对其进一步研究。最近研究发现, 隐球酵母 (*Cryptococcus*) 生存分布与人为活动的影响密切相关, 并且存在于各类水体环境中, 表明其具有多种代谢及生理生化特征, 但其生态功能仍是未知的, 有待于进一步研究<sup>[25-26]</sup>。对杞麓湖, 阳宗海, 阿根廷巴塔哥尼亚淡水湖和阿根廷巴里洛切高纬度湖中酵母菌类群组成进行比较分析发现, 隐球酵母 (*Cryptococcus*) 在 pH 值较高的杞麓湖和阳宗海的多样性高于阿根廷巴塔哥尼亚淡水湖和阿根廷巴里洛切高纬度湖 (表 3)<sup>[6,27-28]</sup>, 同样我们在偏碱性的云南高原湖泊洱海中分离到较为丰富的隐球酵母 (*Cryptococcus*)。这些结果表明水生环境中的 pH 值影响隐球酵母 (*Cryptococcus*) 的分布, 也说明在长期的进化选择中, 隐球酵母 (*Cryptococcus*) 已经适应偏碱性的高原湖泊环境。杞麓湖酵母菌结构分布变化主要是受人为活动影响的水体营养发生变化, 使酵母菌类群分布产生差异, 影响群落结构。

表 3. 杞麓湖湖水中酵母菌与其它4种水环境中酵母菌的比较  
Table 3. Comparison of yeasts species isolated from Qilu Lake and other aquatic environments

Species	Qilu Lake	Oligotrophic Lake (Patagonia, Argentina)	High-altitude Lakes (Bariloche, Argentina)	Yangzonghai Lake
<i>Cryptococcus albidus</i>	+	-	+	+
<i>Cryptococcus flavescens</i>	+	-	-	+
<i>Cryptococcus foliicola</i>	+	-	-	-
<i>Cryptococcus uzbekistanensis</i>	+	-	-	+
<i>Cryptococcus victoriae</i>	+	+	-	+
<i>Cryptococcus taibaiensis</i>	+	-	-	-
<i>Rhodotorula glutinis</i>	+	-	-	+
<i>Rhodotorula graminis</i>	+	-	-	+
<i>Rhodotorula ingeniosa</i>	+	-	-	-
<i>Rhodotorula mucilaginoso</i>	+	+	+	+
<i>Rhodospiridium diobovatum</i>	+	+	+	+
<i>Rhodospiridium kratochvilovae</i>	+	-	-	-
<i>Trichosporon montevideense</i>	+	-	-	-
<i>Trichosporon multisporum</i>	+	-	-	-
<i>Hannaella luteolus</i>	+	-	-	+
<i>Hannaella zeae</i>	+	-	-	+
<i>Candida pseudolambica</i>	+	-	-	+
<i>Candida solani</i>	+	-	-	-
<i>Debaryomyces fabryi</i>	+	-	-	-
<i>Geotrichum silvicola</i>	+	-	-	-
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	+	+	-	+
<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	+	-	-	+
<i>Pichia kudriavzevii</i>	+	-	-	+
<i>Pichia onychis</i>	+	-	-	-
<i>Zygowilliopsis californica</i>	+	-	-	-
<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	+	-	-	+
<i>Aureobasidium pullulans</i>	+	+	+	+

+: Present; -: Absent.

### 3.2 杞麓湖酵母菌群落结构的特点

酵母菌在不同湖泊态系统中具有不同的群落结构。研究表明(表2), 杞麓湖酵母菌群落以

红冬孢酵母属(*Rhodospiridium*)为主, 其次为短梗霉属(*Aureobasidium*)、隐球酵母属(*Cryptococcus*)和红酵母属(*Rhodotorula*), 这与其他水体环境分



离得到的结果相似<sup>[29]</sup>。杞麓湖与云南阳宗海、阿根廷一个寡营养淡水湖和一个高纬度湖湖水中酵母菌群落结构比较, 结果表明杞麓湖的酵母菌群落多样性与其他3种水环境存在较大差异(表3)。胶红酵母(*Rhodotorula mucilaginosa*)和出芽短梗霉(*Aureobasidium pullulans*)在4种水环境中都有存在, 与同一水系的云南阳宗海湖相比, 有15个相同的种, 与寡营养湖和高纬度湖相比, 分别只有5个和4个种相同。也就是说, 不同富营养化程度可能是导致杞麓湖与这些湖泊酵母菌群落结构差异的主要原因。产红色的酵母菌红冬孢酵母属(*Rhodospiridium*)、红酵母属(*Rhodotorula*)和出芽短梗霉(*Aureobasidium pullulans*)在各采样点分布较为广泛, 可能是由于红色酵母能产生一种良好的抗氧化剂类胡萝卜素, 短梗霉属(*Aureobasidium*)产生黑色素, 同样能够抵御UV的伤害, 使得产色素的酵母类群能够在高紫外线下的高原湖泊中繁殖, 成为优势种属<sup>[27,30]</sup>。杞麓湖有11个种是其它3个湖没有分布, 其中的*Rhodospiridium kratochvilovae*是杞麓湖的优势种, *Cryptococcus foliicola*在7个样点都有分布, 与其它3个湖泊的酵母菌群落相比, 杞麓湖酵母菌有自己独特的类群组成。据文献报道, *Rhodospiridium kratochvilovae*、胶红酵母(*Rhodotorula mucilaginosa*)和禾本红酵母(*Rhodotorula graminis*)是常见类胡萝卜素的产生菌, 由此可见杞麓湖的酵母菌具有潜在的应用价值<sup>[31]</sup>。

## 4 结论

本研究发现云南杞麓湖的酵母菌和类酵母具有丰富的多样性, *Rhodospiridium kratochvilovae*和出芽短梗霉(*Aureobasidium pullulans*)是优势种; 同时环境因子分析结果表明总磷是影响产色素红冬孢酵母属(*Rhodospiridium*)分布的重要环境因子, 而pH为隐球酵母(*Cryptococcus*)分布的一个重要选择条件。

## 致谢

感谢杞麓湖保护管理局、云南亚美湖泊水质治理有限公司和吴程同学在工作上的大力支持。

## 参考文献

- [1] Nagahama T. Yeast biodiversity in freshwater, marine and deep-sea environments//Péter G, Rosa C. Biodiversity and Ecophysiology of Yeasts. Berlin Heidelberg: Springer, 2006: 241–262.
- [2] Baker BJ, Sheik CS, Taylor CA, Jain S, Bhasi A, Cavalcoli JD, Dick GJ. Community transcriptomic assembly reveals microbes that contribute to deep-sea carbon and nitrogen cycling. *The International Society for Microbial Ecology*, 2013, 7(10): 1962–1973.
- [3] Zhou XL, Li ZY, Yang LY, Dong MH, Li SL. Identification of yeasts isolated from Chenghai Lake, a plateau lake in Yunnan province. *Acta Microbiologica Sinica*, 2010, 51(4): 547–553. (in Chinese)  
周新丽, 李治滢, 杨丽源, 董明华, 李绍兰. 云南程海湖酵母菌多样性及应用. *微生物学报*, 2010, 51(4): 547–553.
- [4] Medeiros AO, Missagia BS, Brandão LR, Callisto M, Barbosa FAR, Rosa CA. Water quality and diversity of yeasts from tropical lakes and rivers from the Rio Doce basin in Southeastern Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2012, 43(4): 1582–1594.
- [5] Russo G, Libkind D, Sampaio JP, van Broock MR. Yeast diversity in the acidic Rio Agrio-Lake Caviahue volcanic environment (Patagonia, Argentina). *FEMS Microbiology Ecology*, 2008, 65(3): 415–424.
- [6] Brandão LR, Libkind D, Vaz ABM, Espírito Santo LC, Moliné M, de García V, van Broock M, Rosa CA. Yeasts from an oligotrophic lake in Patagonia (Argentina): diversity, distribution and synthesis of photoprotective compounds and extracellular enzymes. *FEMS Microbiology Ecology*, 2011, 76(1): 1–13.
- [7] Libkind D, Pérez P, Sommaruga R, Diéguez MC, Ferraro M, Brizzio S, Zagarese H, van Broock M. Constitutive and UV-inducible synthesis of photoprotective compounds (carotenoids and mycosporines) by freshwater yeasts. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 2004, 3(3): 281–286.
- [8] Cotner JB, Biddanda BA. Small players, large role: microbial

- influence on biogeochemical processes in pelagic aquatic ecosystems. *Ecosystems*, 2002, 5(2): 105–121.
- [9] Chen K, Li GB, Li DH, Shi LP, Wang GH, Hu CX, Liu YD. Water quality improvement and algal inhabitation by *Wolffia arrhiza*, *Schizosaccharomyces* and *Rhodospirillum*. *Ecological Science*, 2007, 26(5): 428–431. (in Chinese)  
陈坤, 李根保, 李敦海, 师丽萍, 王高鸿, 胡春香, 刘永定. 无根萍、酵母菌和红螺菌的水质净化和抑藻作用. *生态科学*, 2007, 26(5): 428–431.
- [10] Niewolak S, Korzeniewska E, Gotkowska-Płachta A. Filamentous and yeast-like fungi in water and bottom sediments of the Czarna Hańcza River as bioindicators of pollution. *Woda Środowisko Obszary Wiejskie*, 2009, 9(27): 107–122.
- [11] Ye QW, Wang ZP, Yu XJ, Ding C, Cai WM. Inhibition of algae with yeast in effective micro-organisms (EM) and their active extracellular matters. *Ecology and Environmental Sciences*, 2009, 18(6): 2033–2038. (in Chinese)  
叶秋雯, 王志平, 于晓娟, 丁丛, 蔡伟民. 有效微生物群(EM)中抑藻酵母及其活性物质特性. *生态环境学报*, 2009, 18(6): 2033–2038.
- [12] Kurtzman CP, Fell JW, Boekhout T. The yeast: a taxonomic study. 5th ed. London: Elsevier Science, 2011: 1–107.
- [13] Nisioutou AA, Spiropoulos AE, Nychas GJE. Yeast community structures and dynamics in healthy and botrytis-affected grape must fermentations. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(21): 6705–6713.
- [14] Kurtzman CP, Robnett CJ. Identification and phylogeny of ascomycetous yeasts from analysis of nuclear large subunit (26S) ribosomal DNA partial sequences. *Antonie van Leeuwenhoek*, 1998, 73(4): 331–371.
- [15] Fell JW, Noekhout T, Fonseca A, Scorzetti G, Statzell-Tallman A. Biodiversity and systematics of basidiomycetous yeasts as determined by large-subunit rDNA D1/D2 domain sequence analysis. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2000, 50(3): 1351–1371.
- [16] Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 1987, 4(4): 406–425.
- [17] Larkin MA, Blackshields G, Brown NP, Chenna R, McGettigan PA, McWilliam H, Valentin F, Wallace IM, Wilm A, Lopez R, Thompson JD, Gibson TJ, Higgins DG. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics*, 2007, 23(21): 2947–2948.
- [18] Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*, 2011, 28(10): 2731–2739.
- [19] Thomas G, Clay D. BIODAP-ecological diversity and its measurement. Alma, New Brunswick, Canada: Fundy National Park, 2005.
- [20] Lai JS. Canoco 5: a new version of an ecological multivariate data ordination program. *Biodiversity Science*, 2013, 21(6): 765–768. (in Chinese)  
赖江山. 生态学多元数据排序分析软件Canoco 5介绍. *生物多样性*, 2013, 21(6): 765–768.
- [21] Wu XH, Qin J, Wu B, Zhao B, Wang Q, Guo H. Spatiotemporal distribution characteristics of surface sediments nutrients in Qiluhu Lake and their pollution status evaluation. *Journal of Environmental Engineering Technology*, 2012, 2(4): 296–302. (in Chinese)  
吴献花, 秦洁, 吴斌, 赵斌, 王泉, 郭红. 杞麓湖表层底质营养盐的时空分布特征及评价. *环境工程技术学报*, 2012, 2(4): 296–302.
- [22] Zhang YY, Zheng SK, Yang ZF. Yeast microaerobic treatment of high-strength organic wastewater. *Environmental Science & Technology*, 2006, 29(11): 96–98. (in Chinese)  
张燕燕, 郑少奎, 杨志峰. 高浓度有机废水酵母菌低氧处理技术初探. *环境科学与技术*, 2006, 29(11): 96–98.
- [23] Dynowska M. Yeast-like fungi possessing bioindicator properties isolated from the Lyna River. *Acta Mycologica*, 1997, 32(2): 279–286.
- [24] Saunders AM, Oehmen A, Blackall LL, Yuan Z, Keller J. The effect of GAOs (glycogen accumulating organisms) on anaerobic carbon requirements in full-scale Australian EBPR (enhanced biological phosphorus removal) plants. *Water Science & Technology*, 2003, 47(11): 37–43.
- [25] Xu CD, Li SL, Yang LY, Zhou B, Li ZY, Zhang Q, Chen YW. The study of several Yunnan wild *Cryptococcus* strains. *Journal of Yunnan University*, 2004, 26(1): 75–79. (in Chinese)  
许超德, 李绍兰, 杨丽源, 周斌, 李治滢, 张琦, 陈有为. 几株云南野生隐球酵母菌的分类研究. *云南大学学报(自然科学版)*, 2004, 26(1): 75–79.
- [26] Van Wyk DAB, Bezuidenhout CC, Rhode OHJ. Diversity and characteristics of yeasts from water sources in the North West Province, South Africa. *Water Science & Technology Water Supply*, 2012, 12(4): 422–430.
- [27] Libkind D, Moliné M, Sampaio JP, van Broock M. Yeasts from

- high-altitude lakes: influence of UV radiation. *FEMS Microbiology Ecology*, 2009, 69(3): 353–362.
- [28] Yan YP, Li ZY, Dong MH, Zhou Q, Jin FY, Yang LY, Li SL. Yeasts from Yangzonghai Lake in Yunnan (China): diversity and extracellular enzymes. *Acta Microbiologica Sinica*, 2013, 53(11): 1205–1212. (in Chinese)
- 严亚萍, 李治滢, 董明华, 周巧, 晋方佑, 杨丽源, 李绍兰. 云南阳宗海酵母菌种群结构及产胞外酶测试. *微生物学报*, 2013, 53(11): 1205–1212.
- [29] Gadanho M, Libkind D, Sampaio JP. Yeast diversity in the extreme acidic environments of the Iberian Pyrite Belt. *Microbial Ecology*, 2006, 52(3): 552–563.
- [30] Zalar P, Gostinčar C, de Hoog GS, Uršič V, Sudhadham M, Gunde-Cimerman N. Redefinition of *Aureobasidium pullulans* and its varieties. *Studies in Mycology*, 2008, 61: 21–38.
- [31] Mata-Gómez LC, Montañez JC, Méndez-Zavala A, Aguilar CN. Biotechnological production of carotenoids by yeasts: an overview. *Microbial Cell Factories*, 2014, 13(1): 1–11.

## Diversity of cultivable yeast in Qilu Lake in winter

Minghua Dong<sup>1</sup>, Zhiying Li<sup>1</sup>, Bin Zhou<sup>1</sup>, Qiao Zhou<sup>2</sup>, Yaping Yan<sup>1</sup>, Fangyou Jin<sup>1</sup>, Yunxiao Li<sup>1</sup>, Liyuan Yang<sup>1</sup>, Shaolan Li<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Yunnan Institute of Microbiology, Yunnan University, Kunming 650091, Yunnan Province, China

<sup>2</sup> Biotechnology Research Center, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650000, Yunnan Province, China

**Abstract:** [Objective] To investigate yeasts diversity in Qilu Lake and analyze the influence of environmental factors on yeast diversity. [Methods] Yeasts were isolated by in-situ cultivation and analyzed for the D1/D2 domain of large subunit (26S) ribosomal DNA and morphological characterization. We analyzed yeast species richness and species distribution in the Qilu Lake. [Results] In total 321 isolated yeasts were identified to 14 genera and 27 species. *Rhodospiridium kratochvilovae* and *Aureobasidium pullulans* were the dominating species in the lake, representing 29.6% and 16.8% of the total strains, respectively. Principal component analysis (PCA) showed that the total phosphorus was an important environmental factor affecting the distribution of *Rhodospiridium* and the pH affected *Cryptococcus* yeasts distribution. [Conclusion] There was a high diversity of yeasts community in the Qilu Lake.

**Keywords:** Qilu Lake, yeast, diversity, environmental factors

(本文责编: 李磊)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31160006), the Yunnan Provincial Sciences and Technology Department (2009DA002), National Infrastructure of Natural Resources for Science and Technology Program of China (NIMR-2014-8)

\*Corresponding author. Tel: +86-871-65033540; Fax: +86-871-65034621; E-mail: shlli@ynu.edu.cn

Received: 16 June 2015; Revised: 6 September 2015; Published online: 29 September 2015