



西藏拉鲁湿地水体酵母菌多样性及其与理化因子相关性

郭小芳, 德吉*, 龙琦炜, 白斌锦, 王豪杰, 曹亚璞

西藏大学理学院, 西藏 拉萨 850000

摘要:【目的】开展拉鲁湿地水体酵母菌多样性研究, 探究理化因子与酵母菌群落结构的相互关系。【方法】采用原位培养法从拉鲁湿地 11 个水样中分离酵母菌, 应用 26S rRNA D1/D2 区域序列分析, 并结合经典分类法对获得的菌株进行分类鉴定, 运用 SPSS 和 CANOCO 软件分析酵母菌多样性及其与环境因子相关性。【结果】从拉鲁湿地水体中分离得到 169 株酵母菌, 鉴定分属为 15 个属 31 个种。优势种为 *Ustilentyloma graminis* 和 *Filobasidium magnum*, 优势属为 *Naganishia*、*Ustilentyloma*、*Filobasidium* 和 *Cystofbasidium*。统计分析结果表明, 化学需氧量(COD)是影响拉鲁湿地水体酵母菌数量的显著因素, 另外, 此理化因子是影响 *Ustilentyloma* 分布的重要环境条件。【结论】西藏拉鲁湿地酵母菌资源比较丰富, 且存在明显的空间异质性。

关键词: 青藏高原, 拉鲁湿地, 酵母菌, 多样性, 理化因子

酵母菌存在于许多类型的淡水系统中, 如湖泊、河流、地下水、冰川融水等, 酵母菌及其他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^[1]。目前, 国内水体酵母菌的研究主要侧重于湖泊, 尤其是高原湖泊。严亚萍等^[2]研究了云南阳宗海酵母菌种群结构, 并简单分析了环境因子对该区域酵母菌种群分布的影响。董明华等^[1]探究了云南杞麓湖酵母菌群落结构及其与环境因子的相互关系。郭小芳等^[3]采用多元统计方法定量分析了云南抚仙湖酵母菌空间分布特征

及其与理化因子之间的关系, 发现抚仙湖湖水总有机碳含量与酵母菌丰度显著正相关。云南大学微生物研究所学者对云南程海湖湖水酵母菌进行了分离及鉴定^[4-5]。

湿地是地球上特殊过渡类型生态系统, 具有多种生态功能和社会经济价值^[6]。微生物在湿地生态系统物质循环、能量流动和系统稳定性维持等方面具有重要作用^[7]。拉鲁湿地是目前我国城市范围内面积最大的天然湿地, 在保持地区生物多样性、维持城市生态平衡、改善城市环境质量等方

基金项目: 西藏自治区自然科学基金(2016ZR-15-11); 2016 年度西藏大学珠峰学者人才发展支持计划(藏大宇[2016]141 号)

*通信作者。Tel: +86-891-6405210; E-mail: shwdj2004@qq.com

收稿日期: 2017-06-22; 修回日期: 2017-09-15; 网络出版日期: 2017-11-10

面起着重要的作用^[8]。然而由于受地域等条件的限制, 该区域微生物多样性的研究起步较晚, 先前的几篇文献也仅局限于对拉鲁湿地土壤微生物的研究^[9-11], 对于拉鲁湿地水体微生物尤其是酵母菌的研究尚未见报道。开展高原湿地水体酵母菌多样性分析, 能够为青藏高原微生物多样性研究提供理论依据, 并为其特殊酵母菌资源的开发和利用提供有价值的资源和参考。

拉鲁湿地(91°03'48.5"-91°06'51.4"E, 29°39'46.3"-29°41'05.5"N)位于拉萨市西北角, 是世界海拔最高的位于城市内面积最大的天然湿地, 海拔 3645 m, 湿地总面积 620 hm², 占拉萨市总面积的 11.7%^[12]。拉鲁湿地属于芦苇泥炭沼泽, 湿地内野生植物以芦苇群落和中生型莎草科植物为主, 主要土壤类型为泥炭沼泽土和泥炭土^[13]。来自夺底、娘热两

大沟的河流(流沙河)、大气降水和纳金电站的尾水为该湿地的主要补给水源^[12]。

拉鲁湿地水体采集样点分布如图 1 所示。

1 材料和方法

1.1 水样采集

2016 年冬季根据湿地水体分布情况, 结合地理位置和生境差异, 在拉鲁湿地选择 11 个样点进行水样采集。用无菌采集器在水表面约 100 cm 进行水样采集。每个样点共采集 5 L 水样, 分别装入 2 个无菌塑料桶中。1 份水样立刻送至拉萨净源科技有限公司测定水体理化因子(总氮、总磷、氨氮、溶解氧和化学需氧量), 另 1 份带回实验室立即进行酵母菌分离。pH、温度、总溶解固体量、电导率和盐度的测定则直接在采样地进行。



图 1. 拉鲁湿地水体采样点分布图

Figure 1. Distribution of water samples in Lhalu Wetland.

1.2 水体酵母菌的分离及纯化

采用原位培养法分离拉鲁湿地水体酵母菌。将 0.45 μm 醋酸纤维素滤膜放置于抽滤瓶上, 取 30 mL 水样进行抽滤, 然后将滤膜正置于培养基平板上进行培养。分离培养基为酸性 PDA 培养基、酸性 YM 培养基以及 RBCH 培养基, 培养基组成成分等见文献[2]。每个处理设 3 个重复。

1.3 酵母菌形态观察

观察并记录酵母菌在 YM 固体培养基上的菌落颜色、形状、质地等, 并用光学显微镜观察酵母菌的细胞形状和大小等。

1.4 酵母菌的分子鉴定

采用 26S rRNA D1/D2 区域序列分析进行酵母菌鉴定。

1.4.1 DNA 提取及扩增: DNA 提取参照文献[14]进行。26S rRNA D1/D2 区域序列的 PCR 扩增和测序参照文献[15]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 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 56 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 72 $^{\circ}\text{C}$ 1.5 min, 35 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 10 min。1%琼脂糖凝胶检测扩增目标产物后送生工生物工程(上海)股份有限公司测序。

1.4.2 序列分析: 供试菌株 26S rRNA D1/D2 测序结果人工校对后在 GenBank 核酸序列数据库中进行同源性搜索, 与已知酵母菌菌株序列相似度为 99%以上的, 确定为同一种。供试菌株的序列上传至 NCBI 的 GenBank 核酸序列数据库, 登录号为 MF446404-MF446408、MF448255-MF448336、MF462732-MF462813。

1.5 拉鲁湿地水体理化因子测定

pH、温度(Temp)、总溶解固体量(TDS)、电导

率(EC)和盐度(Salt)测定仪器为多功能参数仪(Multi-Parameter PCSTestrTM35)。总氮、总磷等 6 个理化指标交由拉萨净源科技有限公司进行测定, 其中氨氮($\text{NH}_4^+\text{-N}$)、总磷(TP)和总氮(TN)均使用 TU-1901 紫外可见分光光度计进行测定, 方法分别为纳氏试剂分光光度法、钼酸铵分光光度法和碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法; 溶解氧(DO)采用电化学探头法测定; 重铬酸盐法用于测定化学需氧量(COD)。

1.6 数据处理与分析

采用 Excel、SPSS 等软件进行数据分析与处理。Shannon-Wiener 多样性指数、Simpson 多样性指数和 Pielou 均匀度指数的计算采用 Excel 进行, 差异性分析采用 SPSS 19.0 软件的 Duncan 检验法进行, 相关性分析采用 Pearson 相关性系数法和 PCA 分析。

2 结果和分析

2.1 拉鲁湿地水体酵母菌多样性分析

2.1.1 拉鲁湿地水体酵母菌群落组成特征:(1) 拉鲁湿地水体不同种酵母菌分布状况。

表 1 结果显示, 拉鲁湿地水体中共分离到 15 个属 31 个种的酵母菌, 其中 7 种酵母菌属于囊菌纲, 24 种酵母菌属担子菌纲。出现频率和相对丰度表明, 担子菌纲酵母菌为拉鲁湿地水体主要酵母菌, 这类酵母菌的出现频率为 100%, 相对丰度超过 80%。

15 个属酵母菌种群结构显示(表 1): *Naganishia*、*Filobasidium*、*Candida* 及 *Rhodotorula* 等 4 个属的酵母菌分离到 3 个以上种, *Hanseniaspora*、*Pichia*、*Cryptococcus*、*Cystofibasidium* 及 *Udeniomyces* 等 5 个属均分离到 2 种, 其他 6 个属的酵母菌则均仅分离到 1 种。

表 1. 拉鲁湿地水体不同种酵母菌分布状况

Table 1. Distribution of yeasts isolated from water samples in Lhalu Wetland

Species	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Occurrence frequency/%	Relative abundance/%
Ascomycetes		2				6			7	5	7	45.45	16.0
<i>Candida oleophilla</i>											1	9.09	0.6
<i>Candida Zeylanoides</i>						2					2	18.18	2.4
<i>Candida sake</i>		1				1				3	4	36.36	5.3
<i>Hanseniaspora uvarum</i>						1				1		18.18	1.2
<i>Hanseniaspora meyeri</i>						1						9.09	0.6
<i>Pichia nakasel</i>		1										9.09	0.6
<i>Pichia fermentans</i>						1			7	1		27.27	5.3
Basidiomycetous	18	12	4	7	26	6	11	14	21	9	14	100.00	84.0
<i>Cryptococcus oeirensis</i>								1				9.09	0.6
<i>Cryptococcus victoriae</i>									1			9.09	0.6
<i>Cystofibasidium infirmominiatum</i>							2	1		1		27.27	2.4
<i>Cystofibasidium macerans</i>	1	4		1	1		1	2	3	2		72.72	8.9
<i>Filobasidium elegans</i>					1							9.09	0.6
<i>Filobasidium magnum</i>	1	1	1	1	8		1	3		2		72.72	10.7
<i>Filobasidium stepposum</i>		1										9.09	0.6
<i>Filobasidium wieringae</i>									1			9.09	0.6
<i>Holtermanniella takashimae</i>					1		1	1	3			36.36	3.6
<i>Naganishia adeliensis</i>								2				9.09	1.2
<i>Naganishia albida</i>										1		9.09	0.6
<i>Naganishia albidosimillis</i>					1							9.09	0.6
<i>Naganishia friendimannii</i>	4	4			1	1	1		4			54.54	8.9
<i>Naganishia globosa</i>	6		1			1	1		2		1	54.54	7.1
<i>Papiliotrema flavescens</i>				1								9.09	0.6
<i>Rhodospordiobolus colostri</i>										1		9.09	0.6
<i>Rhodotorula graminis</i>		1				1		1	1		1	45.45	3.0
<i>Rhodotorula kratochvilovae</i>						1						9.09	0.6
<i>Rhodotorula mucilaginoso</i>		1	1			1			1		2	45.45	3.6
<i>Sporidiobolus metaroseus</i>	1							3				18.18	2.4
<i>Udeniomyces puniceas</i>									1			9.09	0.6
<i>Udeniomyces pyricola</i>					1							9.09	0.6
<i>Ustilentyloma graminis</i>	5			4	12	1	4		4	2	10	72.72	24.9
<i>Vishniacozyma tephrensii</i>			1									9.09	0.6

分析不同种酵母菌出现频率可知, *Cystofibasidium macerans*、*Filobasidium magnum* 及 *Ustilentyloma graminis* 出现频率最高, 在 8 个水样中被分离到, 其次为 *Naganishia globosa* 和 *Naganishia friendimannii*, 出现频率为 54.54%。*Candida oleophilla*、*Hanseniaspora meyeri* 等 17 个

种的酵母菌仅分离到 1 株。相对丰度表明, 31 种酵母菌中, *Ustilentyloma graminis* 相对丰度最高 (24.9%), 其次为 *Filobasidium magnum* (10.7%), *Cystofibasidium macerans*、*Naganishia friendimannii* 和 *Naganishia globosa* 相对丰度也比较高, 均超过 5%, *Candida oleophilla*、*Hanseniaspora meyeri* 等

16 种酵母菌均仅分离到 1 株。综合分析相对丰度与出现频率可知, 拉鲁湿地水体酵母菌优势种主要为 *Ustilentyloma graminis* 和 *Filobasidium magnum*。

(2) 拉鲁湿地水体不同属酵母菌分布状况。

为更深入分析酵母菌群落组成特征, 整理结果见表 2。数据显示, 从拉鲁湿地水体中分离的酵母菌经分子鉴定后被归为 15 个属, 其中 *Naganishia* 出现频率最高, 超过 90%, 其次为 *Filobasidium* (分布于 9 个样点), *Cystofibasidium* 和 *Ustilentyloma* 这 2 个属在拉鲁湿地水体中分布也比较广泛, 出现频率达 72.72%。相对丰度显示, *Ustilentyloma* 数量最多, 其次为 *Naganishia*, *Filobasidium* 和 *Cystofibasidium* 2 个属酵母菌相对丰度也较高, 均超过 10%; *Papiliotrema*、*Rhodospordiobolus* 和 *Vishniacozyma* 这 3 个属酵母菌仅分离到 1 株, 相对丰度仅为 0.6%。本研究实验结果表明, 拉鲁湿地水体中酵母菌优势属为 *Naganishia*、

Ustilentyloma、*Filobasidium* 和 *Cystofibasidium*。

2.1.2 拉鲁湿地各样点水体酵母菌组成相似性分析: (1) 拉鲁湿地各样点水体酵母菌种水平组成相似性分析。

为了解拉鲁湿地不同样点水体酵母菌群落组成相似性, 分别计算了各样点酵母菌种水平和属水平 Jaccard 相似度系数。表 3 数据表明, 拉鲁湿地各样点水体酵母菌种类相似度系数范围为 0.06–0.62; 1 号样点与 7 号样点间、5 号样点与 7 号样点间、6 号样点与 11 号样点间达中等相似 (0.50–0.75), 中等相似度比例为 5%; 22 组样点间相似度系数为 0.25–0.50, 为中度不相似, 比例为 40%; 30 组样点间酵母菌种类相似度系数为 0–0.25, 为极度不相似, 比例为 55%, 其中 6 号和 8 号、5 号和 11 号、4 号和 6 号、3 号和 5、8、10 号样点间 Jaccard 相似度系数不到 0.10。总体而言, 拉鲁湿地水体各样点间酵母菌种类存在较大差异。

表 2. 拉鲁湿地水体不同属酵母菌分布状况

Table 2. Distribution of yeasts of different genera isolated from water samples in Lhalu Wetland

Genera	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Occurrence frequency/%	Relative abundance/%
<i>Candida</i>		1				3				3	7	36.36	8.3
<i>Hanseniaspora</i>						2				1		18.18	1.8
<i>Pichia</i>		1				1			7	1		36.36	5.9
<i>Cryptococcus</i>								1	1			18.18	1.2
<i>Cystofibasidium</i>	1	4		1	1		3	3	3	3		72.72	11.2
<i>Holtermanniella</i>					1		1	1	3			36.36	3.6
<i>Filobasidium</i>	1	2	1	1	9		1	3	1	2		81.81	12.4
<i>Naganishia</i>	10	4	1		2	2	2	2	6	1	1	90.90	18.3
<i>Papiliotrema</i>				1								9.09	0.6
<i>Rhodospordiobolus</i>										1		9.09	0.6
<i>Rhodotorula</i>		2	1			3		1	2		3	54.54	7.1
<i>Sporidiobolus</i>	1							3				18.18	2.4
<i>Udeniomyces</i>					1				1			18.18	1.2
<i>Ustilentyloma</i>	5			4	12	1	4		4	2	10	72.72	24.9
<i>Vishniacozyma</i>			1									9.09	0.6

表 3. 拉鲁湿地各样点水体酵母菌种类 Jaccard 相似度系数

Table 3. Jaccard coefficient of yeasts among different sites in Lhalu Wetland

Sites	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	1										
2	0.27	1									
3	0.25	0.20	1								
4	0.38	0.20	0.14	1							
5	0.40	0.23	0.09	0.33	1						
6	0.21	0.27	0.15	0.07	0.12	1					
7	0.62	0.25	0.22	0.38	0.50	0.20	1				
8	0.27	0.23	0.09	0.20	0.23	0.06	0.36	1			
9	0.31	0.29	0.15	0.15	0.27	0.31	0.38	0.19	1		
10	0.25	0.29	0.08	0.30	0.21	0.25	0.33	0.21	0.18	1	
11	0.18	0.25	0.22	0.10	0.07	0.50	0.17	0.07	0.29	0.14	1

(2) 拉鲁湿地各样点水体酵母菌属水平群落组成相似性分析。

表 4 为拉鲁湿地各样点水体酵母菌属水平相似度系数。数据显示, 研究区域酵母菌属 Jaccard 相似性系数为 0.14–0.83; 5 号和 7 号样点间达极度相似(0.83), 11 组样点间相似度系数介于 0.50 和 0.75 之间, 中等相似比例为 20%; 31 组样点间相似度系数为 0.20–0.50, 中等不相似比例为 56%; 12 组样点间为极度不相似, 比例为 22%。可以算出, 拉鲁湿地各样点水体酵母菌属水平不

相似度高达 78%, 由此可知拉鲁湿地各样点水体间酵母菌属水平也存在较大差异。

2.1.3 拉鲁湿地水体酵母菌多样性指数计算: 表 5 数据为拉鲁湿地水体酵母菌多样性指数。从表 5 可以看出, 拉鲁湿地 6 号、9 号水样酵母菌种数最多, 其次为 10 号, 2 号、5 号和 8 号水样酵母菌种数也较多, 相对而言, 3 号和 4 号水样酵母菌种类最少, 仅为 4 种。数据表明, 9 号水样酵母菌属数最多, 其次为 10 号、8 号, 3 号、4 号和 11 号水样属数相对比较少, 均为 4 个属。

表 4. 拉鲁湿地各样点水体酵母菌属类 Jaccard 相似度系数

Table 4. Jaccard coefficient of yeasts of different genera among different sites in Lhalu Wetland

Sites	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	1										
2	0.38	1									
3	0.14	0.43	1								
4	0.50	0.22	0.14	1							
5	0.43	0.33	0.25	0.43	1						
6	0.22	0.50	0.25	0.11	0.20	1					
7	0.67	0.38	0.29	0.50	0.83	0.18	1				
8	0.38	0.44	0.38	0.22	0.50	0.18	0.50	1			
9	0.40	0.50	0.30	0.30	0.56	0.36	0.56	0.60	1		
10	0.44	0.44	0.20	0.33	0.40	0.45	0.44	0.25	0.42	1	
11	0.29	0.29	0.33	0.14	0.25	0.67	0.29	0.22	0.30	0.33	1

表 5. 拉鲁湿地水体酵母菌多样性指数

Table 5. Diversity index of yeasts isolated from water samples in Lhalu Wetland

Sites	Species number	Genera number	Yeast counts/ (CFU/L)	Pigmented yeast counts/ (CFU/L)	Non-pigmented yeast counts/ (CFU/L)	Pigmented yeasts/%	Simpson index (<i>D</i>)	Shannon index (<i>H'</i>)	Pielou evenness index (<i>J'</i>)
1	6	5	4609de	759ef	3850d	16.47	0.63	0.98	0.20
2	8	6	4125ef	1078e	3047de	26.13	0.77	1.69	0.35
3	4	4	1474h	561fg	913g	38.06	0.73	1.19	0.32
4	4	4	26730a	8580a	18150a	32.10	0.68	1.35	0.20
5	8	6	10329b	3531b	6798b	34.19	0.59	0.69	0.13
6	11	6	6314c	3113c	3201de	49.30	0.87	2.11	0.40
7	7	5	9350b	1980d	7370b	21.18	0.83	1.83	0.33
8	8	7	5632cd	682efg	4950c	12.11	0.83	1.55	0.30
9	11	9	2651gh	495fg	2156ef	18.67	0.86	2.07	0.48
10	9	8	2013gh	308g	1705fg	15.30	0.87	2.11	0.51
11	7	4	3168fg	748ef	2420ef	23.61	0.69	1.27	0.28

The data marked with different alphabets indicated that difference between sites was significant ($P < 0.05$).

为对拉鲁湿地酵母菌多样性进行深入分析, 记录并计算了红色酵母、非红色酵母以及酵母菌总丰度, 并采用 SPSS 19.0 软件进行了不同样点微生物总丰度差异性分析。从表 5 可见, 4 号水样酵母菌总丰度最高, 其次为 5 号和 7 号水样, 3 号水样酵母菌总丰度除与 9 号和 10 号水样没有显著性差异, 明显低于其他 8 个样点($P < 0.05$); 红色酵母菌总丰度数据表明, 4 号水样总丰度最高, 其次为 5 号、6 号、7 号水样, 10 号水样红色酵母菌总丰度最低, 且明显低于除 3 号、8 号及 9 号以外的其他水样($P < 0.05$); 非红色酵母菌在不同水样中数量的分布趋势与红色酵母菌基本一致, 4 号水样仍最高, 其次为 5 号和 7 号样点, 3 号水样中该值则最低($P < 0.05$)。红色酵母菌所占比例显示(表 6), 6 号样点红色酵母菌比例最高, 其次为 3 号样点, 8 号样点红色酵母菌比例最低(12.11%)。

Simpson 多样性指数、Shannon-Wiener 多样性指数和 Pielou 均匀度指数显示(表 5), 6 号和 10 号水样 *D* 值最高, 其次为 9 号水样, 7 号和 8 号水样 *D* 值也比较高, 5 号水样 *D* 值则最低; 6 号和 10 号 2 个水样 *H'* 值最高, 其次为 9 号水样,

5 号水样 *H'* 值则最低。可以看出, Simpson 多样性指数和 Shannon-Wiener 多样性指数基本一致, 这 2 个指数综合表明, 6 号和 10 号 2 个水样酵母菌丰富度和多样性较高。均匀度指数变化趋势则不同, 从表 5 可以看出, 10 号样点酵母菌分布最均匀, 其次为 9 号水样, 相对而言 1 号和 4 号水样中酵母菌分布最不均匀。

2.2 拉鲁湿地水体理化因子与酵母菌多样性相关性分析

2.2.1 拉鲁湿地水体理化因子差异性分析:

为了探讨理化因子与酵母菌多样性的关系, 测定了拉鲁湿地水体 11 个理化指标数据, 如表 6 所示。可见拉鲁湿地 11 个水样间理化指标存在不同程度的差异。就 pH 而言, 数据显示采集的水样均呈偏碱性(7.42–9.12), 其中 1 号样点 pH 最高, 7 号样点 pH 值最低, 11 个水样间 pH 值基本都存在显著差异($P < 0.05$); 就 EC、TDC 和 Salt 而言, 11 个水样值变化趋势一致, 11 和 10 号水样明显高于其他水样, 6 号水样值最低(与除 3、4、5 号水样以外的水样间均存在显著差异), 其中 EC 为(213–362) $\mu\text{s}/\text{cm}$, TDS 为(151–257) mg/L , Salt 为(98–168) mg/L ; 总

氮和氨氮测定结果表明，拉鲁湿地水体总氮范围为(2.30–6.70) mg/L，氨氮范围为(1.57–19.40) mg/L，其中6号样点这2个值最高($P<0.05$)，8号样点总氮值最低，10号样点氨氮值最低；11号样点总磷值最高，3、7、8、9号样点则最低，总体范围为(0–0.23) mg/L；悬浮物值分析表明，7号样点悬浮物值最高，其次为4号样点，其他样点间则没有明显差异；拉鲁湿地水体溶解氧范围为(4.45–7.75) mg/L，8号样

点溶解氧最高，7号则最低；化学需氧量测定范围为(76.75–95.28) mg/L，4号样点该值最高，10号水样的化学需氧量最低。

2.2.2 拉鲁湿地各样点水体理化因子间相关性分析：从表7可以看出，EC、TDS以及Salt 3个理化因子两两间呈极显著正相关(相关性系数为1) ($P<0.01$)；TN与TP间呈显著正相关($P<0.05$)；TSP与DO间呈极显著负相关($P<0.01$)；COD与EC、

表 6. 拉鲁湿地水体理化因子差异性分析

Table 6. Difference analysis of environmental factors of water samples in Lhalu Wetland

No.	pH	EC/ ($\mu\text{s}/\text{cm}$)	TDS/ (mg/L)	Salt/ (mg/L)	Temp/ $^{\circ}\text{C}$	TN/ (mg/L)	$\text{NH}_4^+\text{-N}/$ (mg/L)	TP/ (mg/L)	TSP/ (mg/L)	DO/ (mg/L)	COD/ (mg/L)
1	9.12a	272.00cd	193.33cd	125.67cd	11.20c	4.60d	3.50def	0.20b	4.67c	6.97c	85.24g
2	8.65b	246.00de	174.67de	113.33cde	11.33c	4.00f	2.70g	0.10cd	4.33c	7.09c	82.38i
3	8.27e	236.33ef	168.00ef	109.33ef	11.60b	4.00f	3.40ef	0.00e	2.67c	7.02c	88.10e
4	8.20e	241.00def	171.33def	111.67def	11.83a	4.60d	8.50b	0.20b	19.33b	5.91g	95.28a
5	8.45d	231.00ef	164.33ef	107.17ef	11.67ab	3.80g	4.93c	0.07d	4.67c	6.53f	88.73c
6	8.56c	213.67f	151.67f	98.53f	11.00d	6.70a	19.40a	0.13c	3.00c	7.42b	93.37b
7	7.42j	289.33c	205.67c	132.67c	10.07g	4.10e	4.00d	0.00e	103.67a	4.45h	85.75f
8	7.69i	271.33cd	193.33cd	125.00cd	9.70h	2.30i	3.70de	0.00e	2.00c	7.75a	82.73h
9	7.78h	258.33cde	183.33de	118.33cde	10.37f	3.33h	3.03fg	0.00e	6.00c	6.82e	76.84k
10	8.06f	323.00b	229.33b	148.67b	10.57e	5.80b	1.57h	0.23b	10.33c	7.45b	78.41j
11	7.96g	362.33a	257.00a	168.00a	10.97d	5.30c	3.50def	0.30a	5.00c	7.03c	76.75k

EC: electric conductivity; TDS: total dissolved salt; Temp: temperature; TN: total nitrogen; $\text{NH}_4^+\text{-N}$: ammonia nitrogen; TP: total phosphorus; TSP: total suspended solids; DO: dissolved oxygen; COD: chemical oxygen demand. The data marked with different alphabets indicated that difference was significant ($P<0.05$).

表 7. 拉鲁湿地水体理化因子间 Pearson 相关性系数

Table 7. Pearson correlation coefficient of environmental factors of water samples in Lhalu Wetland

Factors	pH	EC	TDS	Salt	Temp	TN	$\text{NH}_4^+\text{-N}$	TP	TSP	DO	COD
pH	1										
EC	-0.386	1									
TDS	-0.388	1.000**	1								
Salt	-0.373	1.000**	1.000**	1							
Temp	0.674*	-0.391	-0.394	-0.371	1						
TN	0.341	0.139	0.134	0.145	0.301	1					
$\text{NH}_4^+\text{-N}$	0.237	-0.512	-0.514	-0.508	0.187	0.567	1				
TP	0.366	0.527	0.525	0.541	0.337	0.678*	0.086	1			
TSP	-0.536	0.172	0.174	0.159	-0.360	-0.052	-0.081	-0.269	1		
DO	0.372	-0.005	-0.006	0.001	-0.005	0.096	0.070	0.212	-0.893**	1	
COD	0.333	-0.721*	-0.720*	-0.711*	0.522	0.207	0.676*	-0.095	0.094	-0.269	1

EC: electric conductivity; TDS: total dissolved salt; Temp: temperature; TN: total nitroge; $\text{NH}_4^+\text{-N}$: ammonia nitrogen; TP: total phosphorus; TSP: total suspended solids; DO: dissolved oxygen; COD: chemical oxygen demand; *: There was a significant correlation at the 0.05 level; **: There was a significant correlation at the 0.01 level.

TDS 以及 Salt 3 个理化因子间呈显著负相关 ($P < -0.05$), 而与水体 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 间呈显著正相关 ($P < 0.05$); pH 与 Temp 间呈显著正相关 ($P < 0.05$); 其他理化因子两两间则没有显著相关性。

2.2.3 拉鲁湿地各样点水体酵母菌多样性指数间相关性分析: 表 8 数据表明, 拉鲁湿地水体酵母菌种数与 D 、 H' 以及 J' 间呈显著正相关 ($P < 0.05$), 与属数间呈极显著正相关 ($P < 0.01$), 酵母菌属数与 J' 间也呈现显著正相关 ($P < 0.05$); 酵母菌总丰度、红色酵母菌总丰度以及非红色酵母菌总丰度两两间呈极显著正相关 ($P < 0.01$); D 、 H' 以及 J' 两两间

也呈极显著相关性 ($P < 0.01$)。

2.2.4 拉鲁湿地各样点水体理化因子与酵母菌多样性指数间相关性分析: 从表 9 可以看出, 化学需氧量与酵母菌总丰度以及非红色酵母菌总丰度间呈显著正相关 ($P < 0.05$), 相关性系数分别为 0.681 和 0.621, 与红色酵母菌总丰度呈极显著正相关 ($P < 0.01$); Simpson 多样性指数 D 与 Temp 间呈显著负相关性 ($P < -0.05$); 红色酵母菌比例与 EC、TDS 以及 Salt 间呈显著负相关 ($P < -0.05$), 而与氨氮和化学需氧量间呈显著正相关 ($P < 0.05$); 其他参数间则没有明显相关性。

表 8. 拉鲁湿地水体酵母菌多样性指数间 Pearson 相关性系数

Table 8. Pearson correlation coefficient of yeast diversity index of water samples in Lhalu Wetland

Index	Species number	Genera number	Yeast counts	Pigmented yeast counts	Non-pigmented yeast counts	Simpson index (D)	Shannon index (H')	Pielou evenness index (J')
Species number	1							
Genera number	0.799**	1						
Yeast counts	-0.424	-0.380	1					
Pigmented yeast counts	-0.345	-0.388	0.968**	1				
Non-pigmented yeast counts	-0.454	-0.367	0.992**	0.929**	1			
Simpson index (D)	0.607*	0.600	-0.335	-0.329	-0.330	1		
Shannon index (H')	0.631*	0.578	-0.221	-0.196	-0.228	0.954**	1	
Pielou evenness index (J')	0.605*	0.653*	-0.515	-0.476	-0.523	0.896**	0.908**	1

*: There was a significant correlation at the 0.05 level; **: There was a significant correlation at the 0.01 level.

表 9. 拉鲁湿地水体理化因子与酵母菌多样性指数间 Pearson 相关性系数

Table 9. Pearson correlation coefficient between yeast diversity index and environmental factors of water samples in Lhalu Wetland

Factors	Species number	Genera number	Yeast counts	Pigmented yeast counts	Non-pigmented yeast counts	Pigmented yeasts/%	Simpson index (D)	Shannon index (H')	Pielou evenness index (J')
pH	-0.126	-0.230	-0.028	0.083	-0.084	0.338	-0.511	-0.406	-0.348
EC	-0.027	-0.018	-0.301	-0.408	-0.239	-0.619*	0.065	0.086	0.198
TDS	-0.030	-0.018	-0.299	-0.408	-0.237	-0.623*	0.065	0.084	0.195
Salt	-0.041	-0.036	-0.293	-0.398	-0.233	-0.608*	0.044	0.066	0.178
Temp	-0.484	-0.546	0.374	0.505	0.299	0.615*	-0.698*	-0.563	-0.507
TN	0.176	-0.189	-0.004	0.155	-0.084	0.475	0.113	0.283	0.240
$\text{NH}_4^+\text{-N}$	0.285	-0.142	0.305	0.472	0.213	0.760**	0.18	0.241	-0.005
TP	-0.121	-0.282	0.137	0.179	0.113	-0.029	-0.291	-0.102	-0.099
TSP	-0.134	-0.185	0.239	0.122	0.293	-0.148	0.209	0.213	0.018
DO	0.322	0.35	-0.497	-0.404	-0.533	-0.016	0.129	0.061	0.254
COD	-0.364	-0.496	0.681*	0.767**	0.621*	0.711*	-0.279	-0.255	-0.489

EC: electric conductivity; TDS: total dissolved salt; Temp: temperature; TN: total nitrogen; $\text{NH}_4^+\text{-N}$: ammonia nitrogen; TP: total phosphorus; TSP: total suspended solids; DO: dissolved oxygen; COD: chemical oxygen demand; *: There was a significant correlation at the 0.05 level; **: There was a significant correlation at the 0.01 level.

2.2.5 拉鲁湿地水体酵母菌群落排序: 上述分析尽管能够说明理化因子与酵母菌多样性指数间的关系, 然而酵母菌与环境因子、酵母菌间以及不同样点酵母菌群落差异等尚未得到直观反映。为此, 本文采用 CANOCO 软件对不同属酵母菌与环境因子间的关系进行了排序。为确定合理的排序模型, 先进行去趋势对应分析。DCA 分析结果显示第 1 排序轴的梯度长度值为 2.264, 因此选择线性模型中的主成分分析进行排序。PCA 结果表明, 第一排序轴对响应变量的解释比例为 41%, 第二排序轴为 19%, 二者总和达到 60%, 表明该排序结果能够有效反映拉鲁湿地水体环境因子与酵母菌间的关系。

样点分布状况显示(图 2), 2 号、3 号、9 号以及 10 号样点排序距离较近, 4 号、5 号和 7 号样点

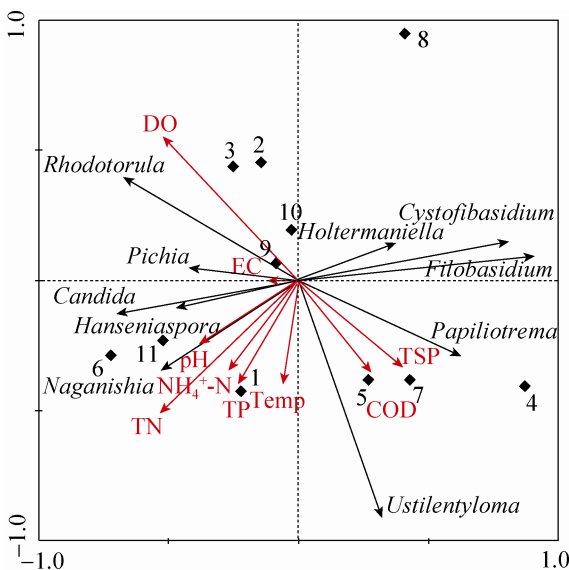


图 2. 拉鲁湿地水体酵母菌群落与理化因子 PCA 分析排序图

Figure 2. PCA ordination diagram of yeast community associated with environmental factors in Lhalu Wetland. EC: electric conductivity; Temp: temperature; TN: total nitroge; $\text{NH}_4^+\text{-N}$: ammonia nitrogen; TP: total phosphorus; TSP: total suspended solids; DO: dissolved oxygen; COD: chemical oxygen demand.

聚在一起, 另外, 1 号、6 号和 11 号样点间排序距离也较近, 而 8 号样点与其他样点间差异较大。

从图 2 可以看出, 通过设定物种适合度排除与排序图的解释参考价值不高的种群后, 10 个属的酵母菌在排序图中被展示出来。拉鲁湿地水体优势酵母菌属在图中的分布显示, *Filobasidium* 和 *Cystofibasidium* 间呈正相关性, *Ustilentyloma* 与其他 3 个属酵母菌基本没有相关性。另外, 3 个子囊菌纲酵母菌属(*Hanseniaspora*, *Candida*, *Pichia*)间相关性较强。

环境因子间相关性在排序图中得到有效的展现。从图中可以看出 COD 与 TSP 相关性系数较高, 而这两者与 DO 呈现负相关。TN、TP 以及 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 间呈现正相关性, 它们与 pH 和 Temp 间的相关性系数也较高。

与 Pearson 相关性分析比较而言, 主成分分析排序图中直观地展现了理化因子与酵母菌多样性间的对应相关性。从图中可以看出, COD、TSP、Temp 与 *Ustilentyloma* 呈正相关性, 而 *Naganishia* 与 pH、TN、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、TP 存在正相关, 另外, *Rhodotorula* 与 DO 间则呈现较强的正相关性。

3 讨论和结论

结果显示, *Ustilentyloma graminis* 在拉鲁湿地水体中的分布和数量都呈明显优势, 一方面可能由于 *Ustilentyloma graminis* 耐低温性能比较强, 杨昭杰等^[16]研究表明, *Ustilentyloma graminis* (*Rhodotorula glutinis*) 的低温生长适应性可能是通过提高多不饱和脂肪酸合成相关基因的表达水平, 增加膜脂中多不饱和脂肪酸含量, 维持低温条件下细胞膜的流动性来形成的。*Ustilentyloma graminis* (*Rhodotorula glutinis*) 可能具有的耐低温

特性使其在冬季拉鲁湿地水体环境中广泛分布。樊竹青等^[17]研究发现担子菌酵母产类胡萝卜素的能力高于子囊菌酵母,并筛选出 1 株产类胡萝卜素活性较强的 *Ustilentyloma graminis* (*Rhodotorula glutinis*)。类胡萝卜素是重要的光合色素,能够帮助菌体抵抗紫外辐射等,由此推测, *Ustilentyloma graminis* (*Rhodotorula glutinis*)对紫外线的抗性可能是其广泛分布于高海拔环境的另一原因。然而,为了准确解答以上问题,还需要对该实验分离的菌株进行产类胡萝卜素能力、抗紫外能力以及耐低温生长特性的系统研究。文献[18]表明利用 *Ustilentyloma graminis* (*Rhodotorula glutinis*)处理高 COD 淀粉废水,生产微生物油脂的同时降低淀粉废水的 COD,可实现废水的资源化利用,并且解决生物油脂生产原料问题,钟娜等^[19]经多次驯化筛选出 1 株耐高浓度 COD、高产油脂的粘红酵母菌株,而本实验结果也表明 COD 与 *Ustilentyloma graminis* 之间存在正相关性,因而,该环境中高 COD 含量可能也是导致 *Ustilentyloma graminis* 优势存在的原因之一。

拉鲁湿地水体与土壤酵母菌种类^[11]比较结果表明,水体中分离的酵母菌属数为 16,种数为 31,土壤中分离的酵母菌属数为 5,种数为 16,共同分布的酵母菌有 8 种,分别为 *Candida sake*、*Cryptococcus victoriae*、*Cystofibasidium infirmominiatum*、*Cystofibasidium macerans*、*Filobasidium magnum*、*Naganishia friendimannii*、*Rhodotorula mucilaginosa* 和 *Ustilentyloma graminis*,两者之间酵母菌 Jaccard 相似性系数为 21%。分析酵母菌数量可知,拉鲁湿地土壤酵母菌总丰度平均值为 2.32×10^4 CFU/g,水体酵母菌总丰度平均值为 6.95×10^3 CFU/L,可以看出湿地水体酵母菌总丰度虽然略低于土壤,然而也是酵母菌生存的主要生境,而且水体中酵母

菌丰富度胜于土壤。因此,开发和利用水环境尤其是青藏高原水环境酵母菌资源具有广阔的前景。

由于未查阅到国内湿地水体酵母菌多样性研究相关文献,因而分析了国内其他淡水环境(高原湖泊)中酵母菌群落组成特征,并与本实验结果进行简单比较。结果显示(表 10),拉鲁湿地水体酵母菌属数为 15,仅次于抚仙湖,种数相对居中;拉鲁湿地水体中酵母菌数量远远多于高原湖泊;4 个云南高原湖泊与拉鲁湿地水体间酵母菌 Jaccard 相似度系数为 0.10–0.13,均为极度不相似;高原湖泊与拉鲁湿地水体共有酵母菌为 *Naganishia albida* (*Cryptococcus albidus*)、*Ustilentyloma graminis* (*Rhodotorula glutinis*)和 *Rhodotorula mucilaginosa*;相对于 4 个高原湖泊,拉鲁湿地水体特有酵母菌有 17 个种,其中 *Holtermanniella takashimae*、*Papiliotrema flavescens*、*Rhodosporeidiobolus colostri* 和 *Vishniacozyma tephrensensis* 所在属为特有属。总之,拉鲁湿地水体与 4 个高原湖泊酵母菌群落组成存在较大差异,一方面可能由于湿地和湖泊生境的差异,另一方面,也与拉鲁湿地自身特殊的地理位置和生态环境密切相关。

Pearson 分析表明,抚仙湖湖水总有机碳浓度与酵母菌丰度呈显著正相关^[3],本研究没有测定拉鲁湿地水体中总有机碳,而测定了能够反映水体总有机质含量的化学需氧量,结果显示 COD 与酵母菌总丰度、红色酵母菌总丰度以及非红色酵母菌总丰度间均存在显著相关性,另外,文献[20–21]表明水体 COD 与 TOC 之间存在显著或极显著正相关性,因此可知水体中有机质含量水平是影响酵母菌数量的主要因素之一。为更深入探究 COD 对酵母菌群落组成的影响,进行了主成分分析。分析结果可以看出, COD 与拉鲁湿地水体中相对丰度最高的酵母菌属 *Ustilentyloma* 呈明显的正相

表 10. 拉鲁湿地水体与云南高原湖泊酵母菌比较

Table 10. Comparison of yeast community between Lhalu Wetland and plateau lakes in Yunnan province

Places	Specis number	Genera number	Yeast counts/ (CFU/L)	Jaccard coefficient with Lhalu Wetland	Common yeast species with Lhalu Wetland
Yangzonghai Lake ^[1]	48	15	124	0.13	<i>Cryptococcus victoriae</i> 、 <i>Filobasidium magnum</i> 、 <i>Naganishia albida</i> 、 <i>Naganishia friendimannii</i> 、 <i>Hanseniaspora uvarum</i> 、 <i>Pichia fermentans</i> 、 <i>Rhodotorula graminis</i> 、 <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> 、 <i>Ustilentyloma graminis</i> (<i>Rhodotorula glutinis</i>)
Qilu Lake ^[2]	27	14	551	0.12	<i>Cryptococcus victoriae</i> 、 <i>Hanseniaspora uvarum</i> 、 <i>Naganishia albida</i> 、 <i>Rhodotorula graminis</i> 、 <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> 、 <i>Ustilentyloma graminis</i>
Fuxian Lake ^[3]	52	22	259	0.12	<i>Cystofibasidium macerans</i> 、 <i>Filobasidium elegans</i> 、 <i>Naganishia albida</i> 、 <i>Naganishia friendimannii</i> 、 <i>Naganishia globosa</i> 、 <i>Rhodotorula graminis</i> 、 <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> 、 <i>Udeniomyces pyricola</i> 、 <i>Ustilentyloma graminis</i> (<i>Rhodotorula glutinis</i>)
Chenghai Lake ^[5]	22	14	189	0.10	<i>Cryptococcus oeirensis</i> 、 <i>Filobasidium magnum</i> 、 <i>Naganishia albida</i> 、 <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> 、 <i>Ustilentyloma graminis</i> (<i>Rhodotorula glutinis</i>)
Lhalu wetland	31	15	6950	—	—

关性。此结果从一定程度上解释了 COD 与酵母菌总丰度尤其是红色酵母菌总丰度呈显著正相关的原因，而拉鲁湿地水体酵母菌总丰度最高的 3 个样点(4 号、5 号和 7 号)与排序图中表示 COD 的射线的近距离又进一步说明 COD 是影响拉鲁湿地水体酵母菌数量的主要因素。

理化因子差异性分析结果表明，不同样点理化因子差异比较明显，如 pH、DO 以及 COD 等。造成差异的原因一方面由于湿地生境中的水体几乎不流动，另外，水体在湿地中的分布呈现不规则的区域分隔状态，再则湿地不同区域植被类型和土壤类型的差异很大程度上影响了该区域水体的理化因子，并进一步导致酵母菌群落组成的差异。

地表水环境质量标准基本项目标准限值显示，I-V 类水质化学需氧量标准限值为(15–40) mg/L，氨氮、总氮标准限值分别为(0.15–2.00) mg/L、(0.2–2.0) mg/L，本实验测得的这 3 种理化因子数据均超过限值，而溶解氧、总磷等数据却显示拉鲁湿地水质为较清洁或清洁程度。分析数据矛盾的原因，可能由于冬季拉鲁湿地很多样点水体缺乏补给，水位偏低，用采样器进行取样时无法仅采集到表层水，往往将底泥混入水体，所以导致一些理化因子数据受到影响而不符合地表水环境质量标准限值，因此本实验理化因子数据无法真实反映拉鲁湿地水体清洁程度。但是作为酵母菌多样性的影响指标而言，这些数据具有评价和分析意义。

采用原位培养法分离了采自拉鲁湿地的 11 份

水样中的酵母菌, 并对获得的酵母菌菌株进行了分子鉴定。结果显示, 拉鲁湿地水体 169 株酵母菌归为 15 个属 31 个种, 其中 24 个种为担子菌纲酵母菌, 7 个种为子囊菌纲酵母菌; 出现频率和相对丰度表明, 拉鲁湿地水体酵母菌优势种为 *Ustilentyloma graminis* 和 *Filobasidium magnum*, 优势属为 *Naganishia*、*Ustilentyloma*、*Filobasidium* 和 *Cystofbasidium*; 拉鲁湿地水体理化因子和酵母菌多样性指数相关性分析结果显示, 化学需氧量与酵母菌总丰度以及非红色酵母菌总丰度间呈显著正相关, 与红色酵母菌总丰度呈极显著正相关, Jaccard 系数表明拉鲁湿地水体酵母菌种群结构存在明显的空间异质性。

参考文献

- [1] Dong MH, Li ZY, Zhou B, Zhou Q, Yan YP, Jin FY, Li YX, Yang LY, Li SL. Diversity of cultivable yeast in Qilu Lake in winter. *Acta Microbiologica Sinica*, 2016, 56(4): 603–613. (in Chinese)
董明华, 李治滢, 周斌, 周巧, 严亚萍, 晋方佑, 李云霞, 杨丽源, 李绍兰. 云南高原湖泊杞麓湖冬季可培养酵母菌多样性分析. *微生物学报*, 2016, 56(4): 603–613.
- [2] 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.
- [3] Guo XF, Li ZY, Dong MH, Zhou B, Yang LY, Li SL. Spatial dynamics of yeast community and its relationship to environmental factors in Lake Fuxian, Yunnan province. *Journal of Lake Sciences*, 2016, 28(2): 358–369. (in Chinese)
郭小芳, 李治滢, 董明华, 周斌, 杨丽源, 李绍兰. 云南高原湖泊抚仙湖酵母菌空间分布及其与环境因子的关系. *湖泊科学*, 2016, 28(2): 358–369.
- [4] 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*, 2011, 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*, 2011, 51(4): 547–553.
- [5] Li ZY, Zhou XL, Zhou B, Dong MH, Wang YX, Yang LY, Li SL. Diversity and extracellular enzymes of yeasts from Chenghai Lake in winter. *Mycosystema*, 2017, 36(2): 177–185. (in Chinese)
李治滢, 周新丽, 周斌, 董明华, 王永霞, 杨丽源, 李绍兰. 云南程海湖冬季酵母菌多样性及胞外酶活性研究. *菌物学报*, 2017, 36(2): 177–185.
- [6] Zhang YL, Wang CL, Bai WQ, Wang ZF, Tu YL, YangJaen DG. Alpine wetlands in the Lhasa River Basin, China. *Journal of Geographical Sciences*, 2010, 20(3): 375–388.
- [7] Liu YY, Li F, Sun QY, Xie YH. Review on the study of soil microorganisms in wetland ecosystems. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*, 2013, 19(3): 547–552. (in Chinese)
刘银银, 李峰, 孙庆业, 谢永宏. 湿地生态系统土壤微生物研究进展. *应用与环境生物学报*, 2013, 19(3): 547–552.
- [8] Huang W, Chen XT. Ecological service function and degradation reason analysis of Lhalu Wetland. *Journal of West China Forestry Science*, 2008, 37(3): 41–45. (in Chinese)
黄薇, 陈叙图. 拉鲁湿地的生态服务功能及其退化原由的分析. *西部林业科学*, 2008, 37(3): 41–45.
- [9] He JQ, Zhang GJ, Yue HM. Diversity and bioactivity analysis of actinomycetes isolated from Lhalu Wetland nature reserve. *Journal of Microbiology*, 2009, (4): 6–10. (in Chinese)
何建清, 张格杰, 岳海梅. 拉鲁湿地自然保护区放线菌组成分析及生物活性测定. *微生物学杂志*, 2009, (4): 6–10.
- [10] De J, Wu XN, Suolang DQ, Duoji ZM, Wei EX. Study on diversity of soil bacteria in Lhalu Wetland. *Journal of Tibet University (Natural Science)*, 2014, 29(2): 44–50. (in Chinese)
德吉, 吴小妮, 索朗德庆, 多吉卓玛, 韦恩喜. 拉鲁湿地土壤细菌多样性初探. *西藏大学学报(自然科学版)*, 2014, 29(2): 44–50.
- [11] Guo XF, Xiong N, Hao Z, Liang ZP, La B. Analysis on the correlations between yeast diversity, extracellular enzyme activity and physicochemical factors of soil in Lhalu Wetland, Lhasa. *Journal of Tibet University (Natural Science)*, 2014, 29(2): 44–50.

- Science*, 2016, 31(2): 1–9. (in Chinese)
- 郭小芳, 熊宁, 郝兆, 梁泽鹏, 拉巴. 拉鲁湿地土壤理化因子与酵母菌多样性及产胞外酶活性相关性分析. *西藏大学学报(自然科学版)*, 2016, 31(2): 1–9.
- [12] Ba S, Huang X, Pu B, Ma ZX. Community characteristics of sarcodines and flagellates and water environment evaluation in Lhalu Wetlands. *Wetland Science*, 2014, 12(2): 182–191. (in Chinese)
- 巴桑, 黄香, 普布, 马正学. 拉鲁湿地肉鞭虫群落特征及其水环境评价. *湿地科学*, 2014, 12(2): 182–191.
- [13] Liu XM, Zhuang DF, Qu R, Wan HW, Li J, Gao YH, Xiao T. Change of Lahu Wetlands from 1989 to 2009 based on remote sensing data. *Wetland Science*, 2013, 11(4): 433–437. (in Chinese)
- 刘晓曼, 庄大方, 屈冉, 万华伟, 李静, 高彦华, 肖桐. 基于遥感数据的1989–2009年拉鲁湿地变化研究. *湿地科学*, 2013, 11(4): 433–437.
- [14] Nisiotou AA, Spiropoulos AE, Nychas G-JE. Yeast community structures and dynamics in healthy and *Botrytis*-affected grape must fermentations. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(21): 6705–6713.
- [15] 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.
- [16] Yang ZJ, Li LY, Hu BB, Lin LB, Wei YL, Ji XL, Zhang Q. Correlation between polyunsaturated fatty acids and cold adaptation of *Rhodotorula glutinis*. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*, 2014, 20(2): 233–237. (in Chinese)
- 杨昭杰, 李凌彦, 胡彬彬, 林连兵, 魏云林, 季秀玲, 张琦. 多不饱和脂肪酸与粘红酵母低温适应性的关系. *应用与环境生物学报*, 2014, 20(2): 233–237.
- [17] Fan ZQ, Li ZY, Dong MH, Zhou B, Ouyang YX, Yang LY, Li SL. Carotenoid-producing yeasts resources in Fuxian Lake, Yunnan. *Microbiology China*, 2017, 44(2): 296–304. (in Chinese)
- 樊竹青, 李治滢, 董明华, 周斌, 欧阳一星, 杨丽源, 李绍兰. 云南抚仙湖产类胡萝卜素酵母菌的资源调查. *微生物学通报*, 2017, 44(2): 296–304.
- [18] Qiao FJ, Li JS, Ouyang YX, Li YY, Huang YH, Sun YJ, Chang R, Li BS. Progress in microbial oils produced by *Rhodotorula glutinis*. *Science and Technology of Food Industry*, 2014, 35(11): 391–395. (in Chinese)
- 乔凤杰, 李炯书, 欧阳亚旭, 李意颖, 黄永虹, 孙宜君, 常蓉, 李博生. 利用粘红酵母生产微生物油脂研究进展. *食品工业科技*, 2014, 35(11): 391–395.
- [19] Zhong N, Zhang ZP, Zhang H, Zhang X, Tan TW. Domestication and screening of *Rhodotorula glutinis* with resistance to high chemical oxygen demand (COD) starch wastewater for lipid production. *Journal of Beijing University of Chemical Technology (Natural Science Edition)*, 2013, 40(1): 84–88. (in Chinese)
- 钟娜, 张志平, 张华, 张栩, 谭天伟. 耐高COD淀粉废水的高产油脂粘红酵母的驯化和筛选. *北京化工大学学报(自然科学版)*, 2013, 40(1): 84–88.
- [20] Yuan M, Dong DM, Hua XY, Zhang LH. Comparison of Correlations between COD and TOC, PV and TOC, COD and PV of different river systems in Jilin province. *Scientia Geographica Sinica*, 2008, 28(2): 286–290. (in Chinese)
- 袁懋, 董德明, 花修艺, 张立辉. 吉林省不同水系的高锰酸盐指数、化学需氧量和总有机碳的相关关系比较. *地理科学*, 2008, 28(2): 286–290.
- [21] Dong DM, Song X, Hua XY, Yuan M, Liang JH, Guo ZY, Liang DP. Relationship between COD and TOC of typical wasterwaters in Jilin province and mechanism and main influencing factors. *Journal of Jilin University (Earth Science Edition)*, 2012, 42(5): 1446–1455. (in Chinese)
- 董德明, 宋兴, 花修艺, 袁懋, 梁建海, 郭志勇, 梁大鹏. 吉林省典型废水COD与TOC的相关关系及其形成机制和影响因素. *吉林大学学报(地球科学版)*, 2012, 42(5): 1446–1455.

Spatial dynamics of yeast community and its relationship with environmental factors in Lhalu Wetland, Tibet

Xiaofang Guo, De Ji*, Qiwei Long, Binjin Bai, Haojie Wang, Yapu Cao

School of Sciences, Tibet University, Lhasa 850000, Tibet Autonomous Region, China

Abstract: **[Objective]** We studied the yeast diversity in Lhalu Wetland and analyzed the influence of environmental factors on yeast community. **[Methods]** Yeasts were isolated by *in-situ* cultivation and analyzed by the D1/D2 domain of large subunit (26S) ribosomal RNA and morphological characterization. **[Results]** In total 169 yeast isolates were identified to 15 genera and 31 species. *Ustilentyloma graminis* and *Filobasidium magnumgenus* were the dominating species in the wetland. Moreover, *Naganishia*, *Ustilentyloma*, *Filobasidium* and *Cystofbasidium* were the dominating genera. COD was significantly positive related to yeast abundance, and it had significant influence on *Ustilentyloma*. **[Conclusion]** Yeasts were abundant and diverse among various sites in Lhalu Wetland.

Keywords: Qinghai-Tibet plateau, Lhalu Wetland, yeast, diversity, environmental factors

(本文责编: 李磊)

Supported by Natural Science Foundation of Tibet Autonomous Region (2016ZR-15-11) and by the Tibet University Mount Everest Scholars Talent Development Project ([2016]141)

*Corresponding author. Tel: +86-891-6405210; E-mail: shwdj2004@qq.com

Received: 22 June 2017; Revised: 15 September 2017; Published online: 10 November 2017