

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*
51(3):326–331; 4 March 2011
ISSN 0001–6209; CN 11–1995/Q
<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>

产甘油假丝酵母 (*Candida glycerinogenes*) 染色体倍性分析

宋保平, 诸葛斌*, 方慧英, 诸葛健

工业生物技术教育部重点实验室, 江南大学工业微生物与生物反应工程研究中心, 无锡 214122

摘要:【目的】产甘油假丝酵母作为一株优良高产甘油菌株, 已成功应用于工业生产 15 年。近年来由于产甘油假丝酵母染色体倍性尚不明确, 限制了对其进行遗传改造的研究进展, 因而我们对产甘油假丝酵母染色体倍性进行研究, 分析确定其染色体倍性。【方法】选用酿酒酵母细胞进行生孢, 制备酿酒酵母单倍体细胞作对照, 并选用热带假丝酵母作为二倍体酵母细胞对照, 利用血球计数板得到热带假丝酵母、产甘油假丝酵母、单倍体及二倍体酿酒酵母细胞数, 提取染色体, 通过二苯胺检测法测定 DNA 含量。由于在相同紫外照射条件下单倍体细胞比二倍体细胞更容易死亡, 因而进行紫外照射试验进行进一步验证。【结果】通过筛选得到所需的酿酒酵母单倍体细胞, 并测定得到以上 4 种酵母单位细胞染色体 DNA 的含量, 通过分析得出单细胞产甘油假丝酵母的染色体 DNA 含量为单倍体酿酒酵母细胞的 1.82 倍, 为二倍体酿酒酵母的 0.848 倍, 为热带假丝酵母的 0.97 倍, 因而初步确定产甘油假丝酵母为二倍体; 通过紫外照射进一步得到验证其为二倍体。【结论】本文通过测定细胞染色体 DNA 含量并经紫外照射验证分析得出 *Candida glycerinogenes* 细胞为二倍体, 为对其进行进一步研究和改造奠定了一定的遗传学基础。

关键词: 产孢条件, 单倍体, 产甘油假丝酵母, 染色体倍性

中图分类号: Q933 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2011) 03-0326-06

产甘油假丝酵母是目前生产甘油的优良菌株, 已经成功应用于工业生产^[1-2]。目前对于产甘油假丝酵母的研究主要集中在高产甘油代谢机理^[3]及关键酶 3-磷酸甘油脱氢酶和 3-磷酸甘油磷酸酶的研究^[4-5], 并运用穿梭载体已经构建了产甘油假丝酵母质粒基因文库^[6], 通过遗传互补的方法克隆得到产甘油假丝酵母的乳清苷酸脱羧酶基因 (*Ura3*) 并测序^[7], 对 3-磷酸甘油脱氢酶和 3-磷酸甘油磷酸酶进行 PCR 扩增, 并成功在酿酒酵母中表达^[8]。但对于产甘油假丝酵母染色体倍性的研究还没有开展。

目前, 对植物及水生生物细胞染色体倍性的测定方法主要有染色体计数法、流式细胞仪测定法等; 而对于酵母的染色体倍性的研究, 主要是通过测定细胞 DNA 含量来确定菌种染色体倍性, 使用的方法主要是流式细胞仪测定法, 它可以直接测定细胞的 DNA 含量, 并对细胞进行计数, 从而可以快速分析鉴定出细胞染色体倍性, 但需要模式细胞作为对照, 其中对水生生物进行鉴定时, 一般采用鸡血细胞作对照^[9], 植物细胞一般以其单倍体细胞作为对照^[10], 而对酵母菌来说, 从已见报道可知以酿酒酵母单倍体细胞作为对照^[11-12]。其中对假丝酵母染

基金项目: 国家“863 计划”(2006AA020103, 2009AA02Z210)

* 通信作者。Tel: +86-510-85928109; E-mail: bzhuge@yahoo.com.cn

作者简介: 宋保平 (1985-), 男, 山东济宁人, 硕士研究生, 研究方向: 工业微生物育种。E-mail: bpsong711@yahoo.cn

收稿日期: 2010-11-02; **修回日期:** 2010-11-29

染色体倍性的研究主要以白假丝酵母为主^[12-13]。

由于酵母染色体倍性的研究是酵母遗传学和育种工作极为关键的一步,也是酵母细胞性状遗传分析所必需的。因而本文针对流式细胞仪价格昂贵、无法广泛应用的特点,旨在确定出一种适用广泛的测定细胞染色体倍性的方法,测定产甘油假丝酵母的染色体倍性,为以后对产甘油假丝酵母进行遗传学改造生产1,3-丙二醇及3-羟基丙酸等奠定一定的基础。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌株 产甘油假丝酵母(*Candida glycerinogenes*)由江南大学工业微生物研究室分离及保藏。热带假丝酵母S103、酿酒酵母(二倍体)由江南大学工业微生物研究室保藏。

1.1.2 试剂及培养基:YEPD培养基(g/L):葡萄糖20、蛋白胨20、酵母粉10。McClary培养基、SPM培养基、Kleyn培养基及马铃薯培养基^[14]。二苯胺试剂:使用前称取1g重结晶二苯胺,溶于1000mL分析纯的冰乙酸中,再加入10mL过氯酸(60%以上),混匀待用。临用前加入1mL浓度为1.6%乙醛溶液。鲑鱼精DNA(sigma公司)。

1.2 酿酒酵母单倍体细胞的制备

1.2.1 菌体前培养和诱导生孢子:取经纯化的酿酒酵母斜面菌种一环,接于装有25mLYEPD液体培养基的250mL三角瓶中,31℃,220r/min培养24h。取1mL培养液接于装有25mLYEPD液体培养基的250mL三角瓶中,31℃,220r/min培养24h。3000r/min,10min离心处理收集菌体,用生理盐水离心洗涤2次,挑取菌泥接种于生孢子培养基斜面上,25℃培养3-4d。

1.2.2 酵母菌子囊孢子染色^[15]:对生孢培养基上的酵母进行染色,在显微镜下观察子囊孢子形成的情况。

1.2.3 单倍体细胞的分离:酶解子囊壁:从生孢培养基中取适量已形成子囊的菌体,转入1mL浓度为1mg/mL Zymolyase酶液中,30℃处理40-50min,在显微镜下观察子囊壁的水解情况。

单倍体细胞的分离:待子囊壁去除后,将全部菌液转移到装有9mL生理盐水和玻璃珠的100mL三角瓶中,58℃水浴处理5min,之后加入2mL无菌液

体石蜡,激烈震荡40-60min,使子囊孢子充分散开,离心,取石蜡层,适当稀释后,涂布,28℃培养2-4d,挑取个体较小的菌落于完全培养基斜面保存,待鉴定用。

1.2.4 单倍体生孢能力的确认:单倍体细胞不具有生成子囊孢子的能力,在生孢培养基上不形成子囊。因此,将待鉴定的菌株按前述诱导生孢子的方法,在生孢培养基平板上测定其生孢能力。一般在25℃-28℃条件下,培养14d以上,镜检不生孢子的菌株可确认为单倍体。

1.3 DNA含量标准曲线的测定

二苯胺染色法^[11,16]。

1.4 产甘油假丝酵母细胞染色体的制备及浓度测定^[11]

计数细胞——将培养过夜的25mL稳定期产甘油假丝酵母培养液离心,沉淀物重悬于200mL冷的生理盐水(0.9%NaCl),置0℃保存。取悬液中的一部分吸入血球计数板,计数。

DNA提取及浓度测定:取合适体积的产甘油假丝酵母菌悬液,离心后去除上清液,加入2mL0.5mol/L的高氯酸并混合均匀,混合液在4℃,间歇摇振20min,然后离心,重复3次,加入2mL1.5mol/L的高氯酸并混合均匀,混合液在65℃,间歇摇振60min,离心取上清液,冷却至室温,加入4mL二苯胺试剂摇匀,于65℃水浴锅中保温24h,冷却后于595nm处进行比色测定。

1.5 其它酵母染色体的制备及测定

同1.2.3。

1.6 紫外致死曲线的绘制

(1)将菌种培养液以3000r/min离心5min,倾去上清液,将菌体打散加入无菌生理盐水再离心洗涤。

(2)将菌悬液放入一已灭菌的、装有玻璃珠的三角瓶内用手摇动,以打散菌体。一般处于浑浊状态的细胞液含细胞数应达 10^8 /mL左右,作为待处理菌悬液。

(3)取5-10mL制备的菌液加到直径9cm培养皿内,放入一无菌磁力搅拌器,然后置磁力搅拌器上、15W紫外线下30cm处。在正式照射前,应先开启紫外线10min,让紫外灯预热,然后开启皿盖正式在搅拌下照射15s。操作均应在红灯下进行,或外用黑纸包住,避免白炽光。

(4)取未照射的制备菌液和照射菌液各 0.5 mL 进行稀释分离涂布,计数活菌细胞数。

致死率(%)

$$= \frac{\text{未照射菌液菌数} / \text{mL} - \text{照射菌液菌数} / \text{mL}}{\text{未照射菌液菌数} / \text{mL}}$$

2 结果和分析

2.1 不同产孢培养基对孢子形成的影响

由于任何一种产孢培养基均不能适于所有酵母产孢,因而选择 McClary 培养基、SPM 培养基、Kleyn 培养基及马铃薯培养基等 4 种产孢培养基对酿酒酵母进行产孢实验,在 28℃ 下培养 7 d,镜检观察酿酒酵母在各种产孢培养基下的产孢情况,计算酵母产孢率。结果如表 1 所示。

表 1 不同产孢培养基中酿酒酵母的产孢率

Table 1 The sporulation rate of *Saccharomyces cerevisiae* in different medium

Culture medium	Sporulation rate	
	4 d	7 d
McClary	35.3%	53.7%
SPM	19.6%	27.3%
Kleyn	-	5.5%
PDA	26.8%	35.6%

- :almost no spores

由表 1 可知,酿酒酵母在 McClary 培养基上产孢率最高,在马铃薯培养基上产孢率次之,而在 Kleyn 培养基上生长缓慢,且产孢率最低。因而选择 McClary 培养基作为酿酒酵母以后产孢分离使用。

2.2 单倍体的获得

将在生孢培养基上形成子囊的菌体进行酶解处理,58℃ 水浴杀死营养细胞,适当稀释并涂布,30℃ 培养 2 d 后,根据单倍体细胞的形态和菌落比双倍体小的特点,挑取菌落形态较小的细胞进行保存。由于单倍体酵母细胞在镜检时具有比二倍体酵母细胞个体小,且容易聚成团等特点^[17],因而通过挑取双倍体酿酒酵母细胞及保存的疑似单倍体酿酒酵母细胞接种于 YEPD 培养基中,培养 18 h 后,镜检细胞形态,结果如图 1 所示。

在相同培养条件下,根据单倍体与二倍体酿酒酵母细胞形态的差异,由镜检结果初步筛选得到 3 株单倍体菌株。

2.3 单倍体细胞的验证

利用单倍体细胞在产孢培养基上不能产生孢子的特点^[17],将初筛得到的单倍体细胞及二倍体酿酒酵母

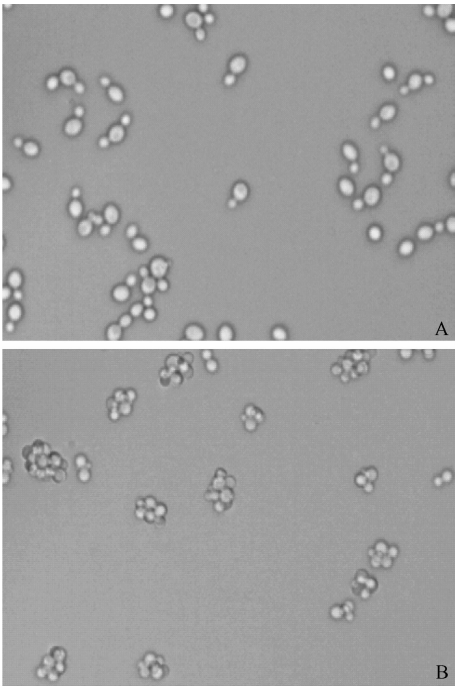


图 1 酿酒酵母双倍体细胞及单倍体细胞形态

Fig.1 The morphology of haploid and diploid *S. cerevisiae*. A: the morphology of diploid *S. cerevisiae*; B: the morphology of haploid *S. cerevisiae*.

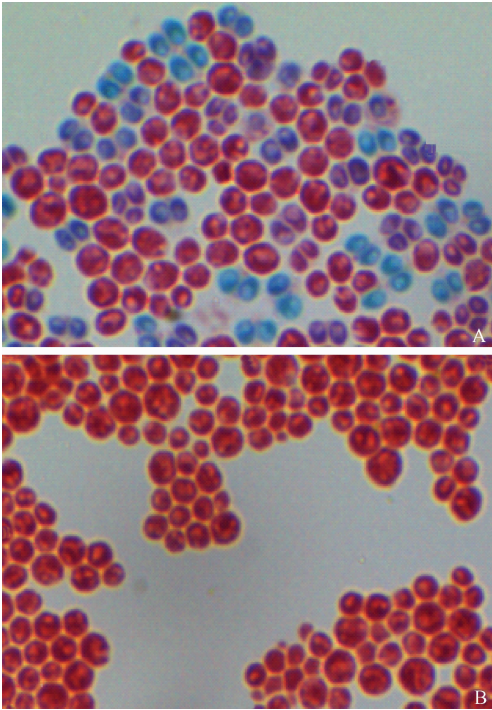


图 2 酿酒酵母双倍体及单倍体细胞培养 7 d 后产孢情况

Fig.2 The haploid and diploid of *S. cerevisiae* spores after 7 d culture. A: the diploid of *S. cerevisiae* produces ascospores after 7 d culture, the diploid cells are red after being stained, and the ascospores are purple green; B: the haploid of *S. cerevisiae* doesn't produce ascospores after 7 d culture, the haploid cells are red after being stained, and it doesn't produce ascospores.

细胞接种到产孢的 McClary 培养基上,培养 7-14 d,挑取菌落进行子囊孢子染色,其结果如图 2 所示。

由于二倍体酿酒酵母细胞在产孢培养基上培养时,产生子囊孢子,对其进行染色,结果如图 2 中 A 所示,由子囊孢子染色结果可以看出,二倍体酿酒酵母产生的孢子多为 2 孢或 3 孢,4 孢非常少,这可能是由酿酒酵母的二倍体或准备体特性造成的;而单倍体酿酒酵母并不产生子囊孢子,因而染色后结果如图 2 中 B 所示。通过二倍体与单倍体酿酒酵母细胞在产孢培养基中培养 7 d 后,对菌体进行子囊孢子染色,由染色结果分析最终筛选确认初筛得到的 3 株菌均为单倍体菌株。

2.4 产甘油假丝酵母染色体倍性的测定

酵母细胞染色体倍性的研究一般是通过测定

DNA 的含量来进行的,但从理论角度来说,由于酵母菌中存在线粒体 DNA,一般占细胞总 DNA 含量的 5% - 10%^[11],因而会对我们测定染色体倍性带来一定的干扰,但由于酵母细胞中普遍存在线粒体 DNA,因而在提取染色体过程中线粒体 DNA 对染色体 DNA 的影响也是相似的,所以我们在对产甘油假丝酵母染色体倍性研究过程中忽略了线粒体 DNA 对染色体 DNA 的影响。

根据以上理论基础,我们将单倍体酵母细胞、酿酒酵母、热带假丝酵母、产甘油假丝酵母等 4 株菌接种至 YEPD 培养基中培养 18-20 h,通过血球计数板计数,并提取细胞染色体 DNA,经二苯胺法测定染色体 DNA 含量,其结果如表 2 所示。

表 2 各菌株单细胞染色体含量
The chromosome content of a single cell

Strain name	Determination of project	Sample1	Sample 2	Sample 3	Average
Haploid of <i>S. cerevisiae</i>	The cell number/mL	2. 74 × 10 ⁹	2. 66 × 10 ⁹	2. 60 × 10 ⁹	2. 67 × 10 ⁹
	OD/A ₅₉₅	0. 226	0. 219	0. 204	0. 216
	Mass concentration(μg/mL)	66. 564	64. 769	60. 923	64
	Content of chromosome in a single cell(μg)	2. 43 × 10 ⁻⁸	2. 44 × 10 ⁻⁸	2. 34 × 10 ⁻⁸	2. 4 × 10 ⁻⁸
Diploid of <i>S. cerevisiae</i>	The cell number /mL	1. 96 × 10 ⁹	1. 98 × 10 ⁹	1. 86 × 10 ⁹	1. 93 × 10 ⁹
	OD /A ₅₉₅	0. 357	0. 358	0. 347	0. 354
	Mass concentration(μg/mL)	100. 154	100. 41	97. 59	99. 385
	Content of chromosome in a single cell(μg)	5. 11 × 10 ⁻⁸	5. 08 × 10 ⁻⁸	5. 24 × 10 ⁻⁸	5. 14 × 10 ⁻⁸
<i>Candida tropicalis</i>	The cell number /mL	4. 05 × 10 ⁹	4. 19 × 10 ⁹	4. 04 × 10 ⁹	4. 09 × 10 ⁹
	OD /A ₅₉₅	0. 681	0. 700	0. 676	0. 686
	Mass concentration(μg/mL)	183. 231	188. 103	181. 949	184. 513
	Content of chromosome in a single cell(μg)	4. 52 × 10 ⁻⁸	4. 49 × 10 ⁻⁸	4. 50 × 10 ⁻⁸	4. 51 × 10 ⁻⁸
<i>Candida glycerinogenes</i>	The cell number /mL	4. 03 × 10 ⁹	3. 97 × 10 ⁹	3. 89 × 10 ⁹	3. 96 × 10 ⁹
	OD /A ₅₉₅	0. 654	0. 633	0. 631	0. 639
	Mass concentration(μg/mL)	176. 308	170. 923	170. 41	172. 462
	Content of chromosome in a single cell(μg)	4. 37 × 10 ⁻⁸	4. 31 × 10 ⁻⁸	4. 38 × 10 ⁻⁸	4. 36 × 10 ⁻⁸

由表 2 可以看出二倍体酿酒酵母单位细胞染色体 DNA 含量为单倍体酿酒酵母细胞含量的 2. 14 倍,这也进一步验证了所筛选得到的酵母细胞为单倍体酿酒酵母细胞。而热带假丝酵母单位细胞染色体 DNA 含量为单倍体酿酒酵母含量的 1. 88 倍,由于已知热带假丝酵母为二倍体^[18],这也进一步说明了此方法对于研究酵母细胞染色体倍性具有一定的可行性。由测定结果分析可知产甘油假丝酵母单位细胞染色体 DNA 含量为热带假丝酵母的 0. 97 倍、单倍体酿酒酵母的 1. 82 倍,二倍体酿酒酵母的 0. 848 倍,因而可初步确认产甘油假丝酵母为二倍体。

2.5 产甘油假丝酵母染色体倍性的验证

根据资料可知存在这样一个假说:其一,单位长度的 DNA 其发生致死突变的可能性也是恒定的;其二,同一功能的基因片段,其拷贝数越多,在相同剂量诱变剂诱变条件下,达到同样致死率所需的时间较长^[12],因而对单倍体酿酒酵母、酿酒酵母、热带假丝酵母及产甘油假丝酵母进行紫外诱变,作致死曲线如图 3 所示。

由图 3 可以看出在相同致死时间的条件下单倍体酿酒酵母细胞的致死率明显高于产甘油假丝酵母及其他对照酵母细胞,由于已知酿酒酵母及热带假丝酵母均为二倍体,而产甘油假丝酵母在相同条件

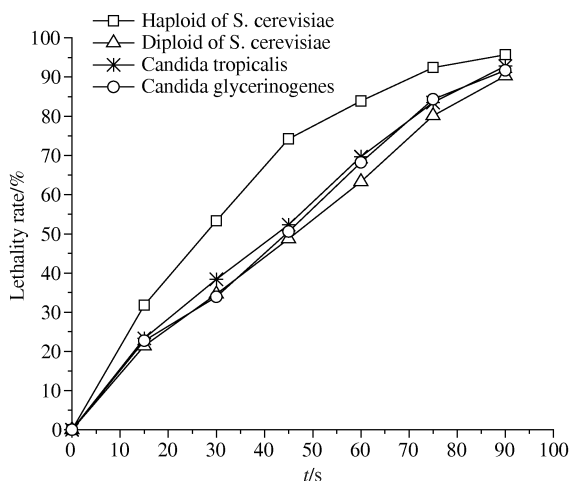


图3 酵母紫外致死曲线

Fig. 3 The UV lethal dose curves of yeast.

下致死率与二倍体酿酒酵母细胞非常相近,因而从紫外致死率可以进一步验证产甘油假丝酵母为二倍体细胞。

3 结论

由于对酵母细胞染色体倍性的研究主要是通过测定细胞中染色体 DNA 的含量来进行,而流式细胞仪是分析细胞染色体倍性的一个重要工具,但由于价格昂贵,因而无法广泛应用。本文基于流式细胞术研究细胞倍性的原理,根据产甘油假丝酵母不产子囊孢子的特点,因而选择了酿酒酵母进行生孢,分离得到单倍体酿酒酵母菌株,作测定产甘油假丝酵母染色体倍性的对照菌株。首先通过对适于酿酒酵母生孢的产孢培养基筛选,得出 McClary 培养基是适合于酿酒酵母的最佳培养基,酿酒酵母在其上培养 7 d 后产孢率可达 53.7%。然后将酿酒酵母在 McClary 培养基上培养,杀死营养细胞,涂布筛选,通过筛选并对细胞形态及其在产孢培养基上进行产孢验证,从而得到 3 株酿酒酵母单倍体细胞。将产甘油假丝酵母、热带假丝酵母、单倍体酿酒酵母、二倍体酿酒酵母在相同条件下培养,通过细胞计数及二苯胺染色法测定 DNA 的方法得到了单位细胞染色体 DNA 的含量,由于已知热带假丝酵母为二倍体,而由测定结果分析得出热带假丝酵母单位细胞染色体 DNA 含量为酿酒酵母单倍体细胞的 1.88 倍,因而说明此方法对测定细胞染色体倍性具有可行性。通过结果分析得出产甘油假丝酵母的单位细

胞染色体 DNA 含量为单倍体酵母细胞的 1.82 倍,为二倍体酿酒酵母的 0.848 倍,为热带假丝酵母的 0.97 倍,由此可推断出产甘油假丝酵母为二倍体,由于存在单倍体细胞在相同诱变剂剂量、相同时间下致死较快这一假说,因此通过紫外照射,测定细胞致死率,最终分析确定产甘油假丝酵母为二倍体菌株。本文通过研究得到产甘油假丝酵母为二倍体细胞,从而为以后对产甘油假丝酵母进行进一步研究,利用基因改造得到以甘油为底物发酵生产 1,3-丙二醇及 3-羟基丙酸等三碳化合物的工程菌及对产甘油假丝酵母基因组学的研究奠定了一定的基础。

参考文献

- [1] 诸葛健,方慧英. 利用产甘油假丝酵母突变株好氧发酵生产甘油的方法. 中国专利:CN99111308.X,1999.
- [2] 王正祥,诸葛健,方慧英. 耐高渗透压产甘油的一个假丝酵母新种——产甘油假丝酵母. 微生物学报 (*Acta Microbiologica Sinica*),1999,39(1):68-74.
- [3] 谢涛. 产甘油假丝酵母产甘油的发酵代谢机理. 江南大学博士学位论文,2006.
- [4] 王正祥,诸葛健. 产甘油假丝酵母胞浆 3-磷酸甘油脱氢酶编码基因的克隆. 微生物学报 (*Acta Microbiologica Sinica*),1999,39(4):321-326.
- [5] 王正祥,诸葛健,曹钰,陈珺,方慧英. 产甘油假丝酵母甘油代谢关键酶的研究. 微生物学报 (*Acta Microbiologica Sinica*),2000,40(2):180-187.
- [6] 王正祥,诸葛健. 运用穿梭载体建立产甘油假丝酵母质粒基因文库. 生物技术 (*Biotechnology*),1998,8(2):9-11.
- [7] Li Y L, Shen W, Wang Z X, Liu J Q, Rao Z M, Tang X M, Fang H Y, Zhuge J. Isolation and sequence analysis of the gene *Ura3* encoding the orotidine-5'-phosphate decarboxylase from *Candida glycerinogenes* WL2002-5 an industrial glycerol producer. *Yeast*, 2005, 22(6):423-430.
- [8] 赵有玺,饶志明,沈微,方慧英,诸葛健. 产甘油假丝酵母产甘油关键酶基因在酿酒酵母中的表达. 中国生物工程杂志 (*China Biotechnology*),2006,26(1):38-41.
- [9] 尹洪滨,孙中武,孙大江,葛彦龙,马爱芝. 小体鲟染色体核型及倍性的细胞遗传学研究. 水产学杂志 (*Chinese Journal Fisheries*),2009,22(3):32-35.
- [10] 魏爱民,杜胜利,韩毅科,张历. 植物细胞染色体倍性鉴定方法. 天津农业科学 (*Tianjin Agricultural Sciences*),2001,7(2):41-43.

- [11] Aigle M, Erbs D, Moll M. Determination of brewing yeast ploidy by DNA measurement. *J. Inst. Brew.* 1983, 89 (2): 72-74.
- [12] Olaiya AF, Sogin SJ. Ploidy determination of *Candida albicans*. *Journal of Bacteriology*, 1979, 12: 1043-1049.
- [13] Jones T, Federspiel NA, Chibana H, Dungan J, Kalman S, Magee B. B, Newport G, Thorstenson YR, Agabian N, Magee P. T, Davis RW, Scherer S. The diploid genome sequence of *Candida albicans*. *PNAS*, 2004, 101 (19): 7329-7334.
- [14] 李华, 刘丽丽, 李娟. 酿酒酵母产孢培养基的筛选及单倍体的分离. 酿酒科技. (*Liquor-making Science & Technology*), 2008, 168 (6): 22-27.
- [15] 沈萍, 范秀荣, 李广武. 微生物学实验. 第三版. 北京: 高等教育出版社, 2005, 43-44.
- [16] 牛建章, 李继刚, 吴琛, 廖祥儒. 实用分子生物学实验指南. 河北保定: 河北大学出版社, 2005, 35-39.
- [17] 诸葛健, 沈微, 诸葛斌, 方慧英, 饶志明. 工业微生物实验与研究技术. 北京: 科学出版社, 2007, 243-245.
- [18] 周建芬, 曾绍清, 高元钢, 余知和. 真菌基因组数据库概况. 微生物学通报 (*Microbiology*), 2008, 35 (8): 1311-1318.

Analysis of the chromosome ploidy of *Candida glycerinogenes*

Baoping Song, Bin Zhuge^{*}, Huiying Fang, Jian Zhuge

The Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education and the Research Centre of Industrial Microbiology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China

Abstract: [**Objective**] To determine the chromosome DNA ploidy of *Candida glycerinogenes*. [**Methods**] We screened the haploid cell of *Saccharomyces cerevisiae* and the diploid of *Candida tropicalis* as the reference cell to identify the ploidy of *Candida glycerinogenes*. The concentrations of chromosome DNA extracted from both haploid and diploid cells were determined by the diphenylamine reaction method. Meanwhile, the cell number of *Candida tropicalis*, *Candida glycerinogenes*, *Saccharomyces cerevisiae* and its haploid were accounted by hemocytometer measurement method, respectively. Because in the same UV irradiation conditions, the haploid cells was more easy died than diploid cells, so we used the UV irradiation test to further verification. [**Results**] The results of the content of chromosome DNA in a single cell showed that *Candida glycerinogenes* was a diploid cell. Moreover, it was also further confirmed because the haploid cell of *Saccharomyces cerevisiae* was more sensitive than *Candida glycerinogenes* under UV treatment. [**Conclusion**] By this study, we confirmed that *Candida glycerinogenes* was a diploid cell.

Keywords: sporulation, haploid, *Candida glycerinogenes*, ploidy

(本文责编: 张晓丽)