



异龙湖湿地修复后可培养酵母菌的多样性及其与理化因子的相关性

王海雁^{1#}, 孙远宁^{1#}, 王留英¹, 王永霞¹, 崔晓龙¹, 肖炜¹, 孔德平², 李绍兰^{1*}, 李治滢^{1*}

1 云南大学云南省微生物研究所, 云南 昆明 650091

2 云南省生态环境科学研究院, 云南 昆明 650034

王海雁, 孙远宁, 王留英, 王永霞, 崔晓龙, 肖炜, 孔德平, 李绍兰, 李治滢. 异龙湖湿地修复后可培养酵母菌的多样性及其与理化因子的相关性. 微生物学报, 2022, 62(5): 1722–1739.

Wang Haiyan, Sun Yuanning, Wang Liuying, Wang Yongxia, Cui Xiaolong, Xiao Wei, Kong Deping, Li Shaolan, Li Zhiying. Diversity of culturable yeasts and its correlation with environmental factors in Yilong Lake after wetland restoration. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(5): 1722–1739.

摘 要:【目的】研究湿地修复后异龙湖中可培养酵母菌多样性及其与理化因子的相关性。

【方法】对异龙湖湖水中可培养酵母菌进行 DNA 提取和测序, 通过分析 26S rRNA 基因的 D1/D2 区域和形态以及生理生化特征对酵母菌进行鉴定, 测定各个水样点的总有机碳(TOC)、总氮(TN)、总磷(TP)、总硬度(TH)和电导率(Cond), 运用 R 4.0.5、Canoco 5 软件来分析异龙湖湖水中可培养酵母菌多样性和与理化因子的相关性。【结果】从湿地修复后的异龙湖湖水中分离获得 519 株可培养酵母菌, 鉴定为 24 个属 42 个种和 1 个潜在的新种, 胶红酵母(*Rhodotorula mucilaginosa*)、皮肤皮状新丝孢酵母(*Cutaneotrichosporon dermatis*)以及产黑色素梗霉(*Aureobasidium melanogenum*)是异龙湖中的优势种, 分别分离到了 320 株(52.29%)、40 株(7.71%)和 37 株(7.13%)。【结论】湿地修复后的异龙湖具有丰富的可培养酵母菌资源, 其群落结构较湿地修复前有了明显的变化, 湖区西北部的可培养酵母菌多样性要比湖区东南部丰富。TN 与异龙湖中可培养酵母菌多样性呈现负相关关系, 与优势类群呈正相关关系, 是影响异龙湖中可培养酵母菌种群分布的主要理化因子。

关键词: 高原湖泊; 异龙湖; 湿地修复; 酵母菌; 多样性; 理化因子

基金项目: 国家自然科学基金(31160006); 云南省重大科技专项(生物资源数字化开发应用) (202002AA100007)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31160006) and by the Major Science and Technology Projects of Yunnan Province (Digitalization, Development and Application of Biotic Resource) (202002AA100007)

[#]These authors contributed equally to this work.

*Corresponding authors. E-mail: LI Shaolan, shlli@ynu.edu.cn; LI Zhiying, zyli@ynu.edu.cn

Received: 3 September 2021; Revised: 10 December 2021; Published online: 23 February 2022

Diversity of culturable yeasts and its correlation with environmental factors in Yilong Lake after wetland restoration

WANG Haiyan^{1#}, SUN Yuanning^{1#}, WANG Liuying¹, WANG Yongxia¹, CUI Xiaolong¹, XIAO Wei¹, KONG Deping², LI Shaolan^{1*}, LI Zhiying^{1*}

¹ Yunnan Institute of Microbiology, Yunnan University, Kunming 650091, Yunnan, China

² Yunnan Research Academy of Eco-Environmental Sciences, Kunming 650034, Yunnan, China

Abstract: [Objective] To investigate the diversity of culturable yeasts and the correlation with environmental factors in Yilong Lake after wetland restoration. [Methods] The DNA of culturable yeasts in Yilong Lake was extracted and sequenced. Based on the D1/D2 domains of 26S rRNA gene, morphological characteristics, and physiological and biochemical properties, the yeasts were identified. The total organic carbon (TOC), total nitrogen (TN), total phosphorus (TP), total hardness (TH), and conductivity (Cond) of each water sample were determined. R 4.0.5 and Canoco 5 were used to analyze the diversity of culturable yeasts, and the correlation with environmental factors. [Results] A total of 519 culturable yeast isolates were obtained from Yilong Lake after wetland restoration, which belonged to 1 potential new specie and 42 species in 24 genera. *Rhodotorula mucilaginosa* (320 strains, 52.29%), *Cutaneotrichosporon dermatis* (40, 7.71%), and *Aureobasidium melanogenum* (37, 7.13%) were the dominant species in Yilong Lake. [Conclusion] Culturable yeast resources were abundant in Yilong Lake after wetland restoration, and its community structure had changed greatly after the restoration. The diversity of culturable yeasts was higher in the northwest of the lake than in the southeast. TN showed a negative correlation with the diversity of culturable yeasts and a positive correlation with the dominant groups in Yilong Lake and it is the main environmental factor affecting the distribution of culturable yeasts in Yilong Lake.

Keywords: plateau lake; Yilong Lake; wetland restoration; yeast; diversity; environmental factors

酵母菌是一类重要的生物资源, 在多种环境中都有分布, 它们的用途广泛, 可用于食品、医疗、工业和生物技术等多个领域。各种水环境也是酵母菌的重要栖息地, 无论是在海洋中、淡水湖中或是极端寒冷的南极冰水等环境中都存在着不同类群的酵母菌, 研究不同生态环境中的酵母菌群落对了解其所处的生态环境及保护具有重要的意义。国内外都有学者对高原湖泊中酵母菌的多样性进行研究, 研究酵母菌多样性有助于更好地为湖泊环境的保护与资源利用提供建议。

异龙湖位于云南省红河州石屏县内, 是云南省九大高原湖泊之一, 属珠江流域南盘江水系, 海拔为 1 414.20 m, 最大水深为 5.71 m, 平均水深为 2.75 m^[1]。由于有机物污染等多种因素, 2003–2013 年, 全湖处于中度富营养状态, 水质类别为劣 V 类^[2]。2011 年, 本研究室李治滢等对处于污染严重期, 生态破坏、湖面锐减的异龙湖水体中的可培养酵母菌进行了分离, 并对其多样性及产胞外酶和产油脂活性菌株进行研究^[3]。2014 年, 云南省重大科技项目课题组在异龙湖西岸湖滨带构建了规模约

40 hm² 的由水生植物、湿生植物和陆生植物构成的复合植被结构生态湿地示范工程^[4]。2018 年, 研究室对生态湿地修复后的异龙湖湖水进行样品采集和可培养酵母菌的分离, 以期获得湿地修复后异龙湖湖水中可培养酵母菌的空间分布特征、多样性及其与理化因子的相关性, 通过比较湿地修复前后可培养酵母菌种群结构特别是具有环境指示性作用的酵母菌来预示水质的变化, 不仅能够为更好地保护异龙湖提供一定的思路和建议, 还可以对高原湖泊的保护及资源利用有所启发。

1 材料与方法

1.1 样品收集

异龙湖湖水样品采集于 2018 年 12 月 20 日, 从西北到东南方向沿湖心选取了 9 个采样点 1[#]–9[#](图 1)进行采样, 采样深度为水面下 30 cm。1[#]样点紧邻石屏县城, 在异龙湖国家湿地公园附近, 9[#]样点在坝心镇附近, 采样点间的距离约为 1 200 m, 每个样点采集 2 份水样, 每份水

样采集 1 500 mL, 分别装在无菌的塑料容器中, 采样当天 1 份送往云南省生态环境科学研究院环境分析测试中心测定水体理化因子, 1 份带回实验室用于酵母菌的分离。

1.2 主要仪器

水质分析仪(HQ-40d 美国 Hach 公司); 紫外分光光度计(DR4000 美国 Hach 公司); PCR 扩增仪(PTC-200 美国 MJ Research 公司); 凝胶成像仪(SYDR/1305 美国 Syngene 公司); 离心机(美国 Thermo 公司)。

1.3 酵母菌的分离和保藏

采用 0.45 μm 直径 50 mm 的醋酸纤维素滤膜过滤湖水样品, 每片滤膜过滤水样 30 mL, 滤膜分别平置于酸化 YM 培养基、RBCH 培养基和 PDA 培养基上^[3], 所有培养基都用异龙湖的湖水配制; 每个水样每种培养基处理 210 mL (7 皿), 每个水样共处理 630 mL (21 皿), 于 25 °C 恒温培养箱中静置培养 3–5 d; 挑取单菌落, 划线纯化, 得到纯培养物。纯化的菌株采用真空冷冻干燥和甘油管保存。



图 1 异龙湖湖水的采样点

Figure 1 Sampling sites of Yilong Lake water.

1.4 理化指标测定

委托云南省生态环境科学研究院环境分析测试中心测定异龙湖各个水样点的电导率(Cond)、总磷(TP)、总氮(TN)、总有机碳(TOC)和总硬度(TH)。Cond、TP、TN、TOC 和 TH 的测定分别参照电导率法《水和废水监测分析方法》(第四版)国家环保总局(2002 年)、钼酸铵分光光度法 GB11893-89、碱性过硫酸钾消解-紫外分光光度法 HJ636-2012、燃烧氧-非分散红外吸收方法 HJ501-2009 和 EDTA 滴定法 GB7477-87 进行测定。

1.5 酵母菌的鉴定

1.5.1 形态指标

记录异龙湖湖水中分离所得可培养酵母菌菌落颜色、质地、细胞形状和大小等^[5]。

1.5.2 分子生物学检测

(1) 26S rRNA 基因 D1/D2 区域序列的扩增: 对酵母菌进行 DNA 的提取和 26S rRNA 基因 D1/D2 区域序列的扩增。DNA 的提取方法为裂解液与少量菌体混合于 PCR 管中并在 PCR 仪中于 80 °C 条件下加热 15 min, 加热完成后 3 500 r/min 离心 2 min, 然后取上清液冷藏保存。26S rRNA 基因 D1/D2 区域序列的 PCR 扩增体系 50 μ L (ddH₂O 17 μ L, 2 \times Power Taq PCR Master Mix 25 μ L, 引物 NL1 (10 pmol/L) 2 μ L, 引物 NL4 (10 pmol/L) 2 μ L, DNA 上清液 4 μ L)。引物 NL1 序列为(5'-GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG-3'), 引物 NL4 序列为(5'-GGTCCGTGTTTCAAGACGG-3')。PCR 扩增程序为: 94 °C 5 min; 94 °C 1 min, 56 °C 1 min, 72 °C 1.5 min, 35 个循环; 72 °C 10 min。扩增产物在 1%琼脂糖凝胶上电泳检测后送至生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。

(2) 系统发育树进化分析: 菌株的 26S rRNA 基因 D1/D2 区域的测序结果采用 BioEdit 共享

软件进行初步的人工校对, 之后将校对好的序列在 NCBI 核酸序列数据库中进行同源性搜索(BLAST search), 将与实验菌株相似性较高的已知酵母菌模式菌株的 26S rRNA 基因 D1/D2 区域序列与实验菌株的序列应用 Clustal X 软件进行序列比对, 用 MEGA X 软件的邻接法(neighbor-joining)构建系统发育树进行系统进化分析, 并利用矢量绘图软件 Adobe illustrator 2021 做进一步的美化。

1.5.3 菌株鉴定

结合 26S rRNA 基因 D1/D2 区域分析以及酵母菌的菌落形态和生理生化特性, 对酵母菌进行鉴定^[5-8]。异龙湖湖水中 42 株已鉴定到种水平和 1 株潜在新种的可培养酵母菌代表菌株的 26S rRNA 基因 D1/D2 区域序列已上传至 NCBI 的 GenBank 核酸序列数据库, 登录号为 MZ540813-MZ540854、OK576868。

1.6 数据处理

依据生物统计原理计算酵母菌的 Shannon-Wiener 多样性指数、Simpson 多样性指数、Pielou 均匀度指数和 Margalef 丰富度指数来分析各样点酵母菌群落的 α 多样性, 利用分离频率比较得出异龙湖中酵母菌的优势类群, 利用 R 4.0.5 进行 jaccard 相似度指数和 pearson 相关性系数的分析以及绘制相关图片。使用 Canoco 5 软件对可培养酵母菌类群分布与环境理化因子进行主成分分析(principal component analysis, PCA)。

2 结果与分析

2.1 异龙湖可培养酵母菌种群结构

从异龙湖湖水的 9 个样点中共分离到 519 株可培养酵母菌。结合形态学、生理生化测试和 26S rRNA 基因 D1/D2 区域序列分析, 将异龙湖分离得到的 519 株可培养酵母菌鉴定为 24 个属 42 个种和 1 个潜在的新种(表 1)。选取异龙

表 1 异龙湖各样点可培养酵母菌的分布

Table 1 Distribution of culturable yeasts among different sites in Yilong Lake

Species	Sampling sites									Subtotal	Isolation frequency
	1 [#]	2 [#]	3 [#]	4 [#]	5 [#]	6 [#]	7 [#]	8 [#]	9 [#]		
Ascomycetous											
<i>Candida pseudolambica</i>									2	2	0.38
<i>Candida solani</i>	1									1	0.19
<i>Debaryomyces hansenii</i>							1			1	0.19
<i>Galactomyces citri-aurantii</i>	3									3	0.58
<i>Galactomyces candidum</i>	7									7	1.35
<i>Hanseniaspora opuntiae</i>			7							7	1.35
<i>Kazachstania bulderi</i>	4									4	0.77
<i>Pichia kudriavzevii</i>		11							1	12	2.31
<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	1									1	0.19
<i>Yarrowia lipolytica</i>	1									1	0.19
Basidiomycetes											
<i>Apiotrichum laibachii</i>	1									1	0.19
<i>Bullera alba</i>						1				1	0.19
<i>Cutaneotrichosporon dermatis</i>								40		40	7.71
<i>Cryptococcus</i> sp.				1						1	0.19
<i>Cystobasidium minutum</i>							1			1	0.19
<i>Filobasidium elegans</i>										1	0.19
<i>Filobasidium floriforme</i>			1							1	0.19
<i>Filobasidium magnum</i>									1	1	0.19
<i>Filobasidium uniguttulatum</i>								1	1	2	0.38
<i>Hannaella kunmingensis</i>								2	1	3	0.58
<i>Hannaella pagnoccae</i>								2		2	0.38
<i>Hannaella phetchabunensis</i>									1	1	0.19
<i>Hannaella phyllophila</i>				1						1	0.19
<i>Hannaella sinensis</i>				2						2	0.38
<i>Naganishia albida</i>									2	2	0.38
<i>Papiliotrema aurea</i>			1							1	0.19
<i>Papiliotrema flavescens</i>		2			1				1	4	0.77
<i>Papiliotrema pseudoalba</i>						1				1	0.19
<i>Rhodosporeidiobolus ruineniae</i>	2									2	0.38
<i>Rhodotorula diobovata</i>		19	1					1		21	4.05
<i>Rhodotorula glutinis</i>			2							2	0.38
<i>Rhodotorula graminis</i>	8	1							1	10	1.93
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>		87			61	34	45	47	46	320	61.66
<i>Rhodotorula taiwanensis</i>	1									1	0.19
<i>Sampaiozyma vanillica</i>		2				1				3	0.58
<i>Sporobolomyces japonicus</i>				2						2	0.38
<i>Sporobolomyces koalae</i>		1	1							2	0.38
<i>Sporobolomyces phaffii</i>		2		1						3	0.58
<i>Sporidiobolus pararoseus</i>	1		2	1		2				6	1.16
<i>Vishniacozyma carnescens</i>							1			1	0.19
Yeast-like											
<i>Aureobasidium melanogenum</i>		4	1	8	6	7	3	6	2	37	7.13
<i>Aureobasidium namibiae</i>					1	1		1		3	0.58
<i>Aureobasidium pullulans</i>					1					1	0.19
Total	30	129	16	16	70	47	51	100	60	519	1.00

湖湖水中 42 株可培养酵母菌的代表菌株(即代表已经鉴定到物种水平的 42 个种)与模式菌株的 26S rRNA 基因 D1/D2 构建系统发育树(图 2)。根据表 1 和图 2 显示的结果,异龙湖湖水中可培

养酵母菌可以分为 3 类,即担子菌酵母、子囊菌酵母和类酵母,但主要是以担子菌酵母为主。

表 1 结果显示,在异龙湖的酵母菌中,数量最多的担子菌酵母(439 株, 84.59%), 归属为

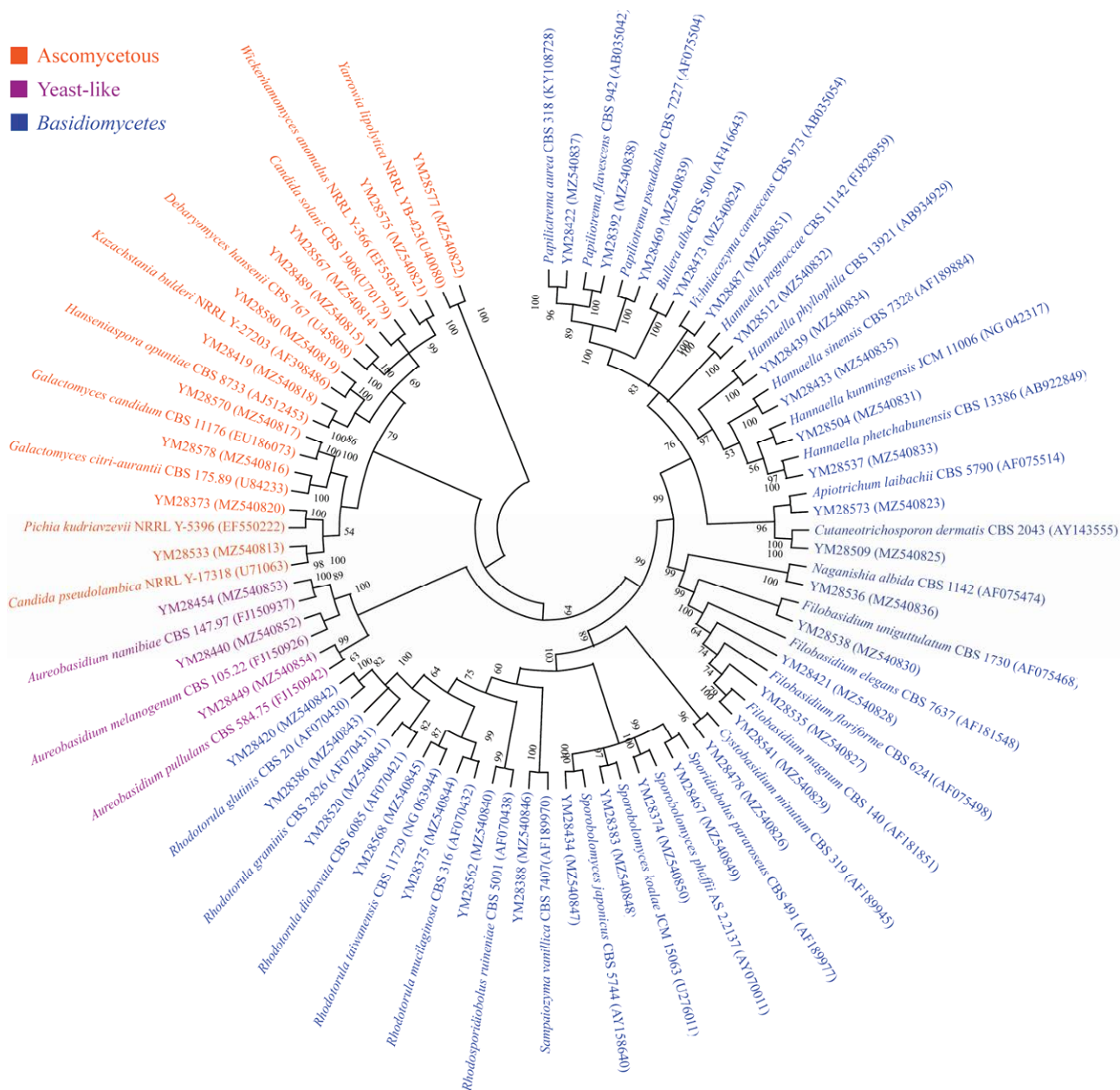


图 2 基于 26S rRNA 基因 D1/D2 区域序列应用 neighbor-joining 法构建可培养酵母菌的系统树

Figure 2 Using the neighbor-joining method to construct a phylogenetic tree of culturable yeasts based on the D1/D2 region sequence of the 26S rRNA gene. The figure shows 42 representative strains of 42 species that have been identified at the species level. Numbers in parentheses represent the sequences, accession number in GenBank. Orange, purple and blue represent ascomycetous, yeast-like and *Basidiomycetes*, respectively.

15 个属 30 个种和一个潜在的新种, 其次是类酵母(41 株, 7.90%)有 1 个属 3 个种, 数量最少的是子囊菌酵母(39 株, 7.51%)共 8 个属 10 个种。在担子菌酵母中, 优势属为红酵母属(*Rhodotorula*), 有 5 个种共 354 株(68.21%), 其次是皮状新丝孢酵母属(*Cutaneotrichosporon*) 1 个种 40 株(7.71%), 优势种为胶红酵母(*Rhodotorula mucilaginosa*)和皮肤皮状新丝孢酵母(*Cutaneotrichosporon dermatis*); 在类酵母中, 只分离到一个短梗霉属(*Aureobasidium*), 优势种为产黑色素短梗霉(*Aureobasidium melanogenum*) (37 株, 7.13%); 子囊菌酵母中的优势属为毕赤酵母属(*Pichia*), 共有 12 株(2.31%), 其次是半乳糖霉属(*Galactomyces*) 10 株(1.93%), 优势种是库德里阿兹威氏毕赤酵母(*Pichia kudriavzevii*)。

在异龙湖湖水中所有分离到的可培养酵母菌中红酵母属、皮状新丝孢酵母属和短梗霉属是优势属, 分别有 354 株(68.21%)、41 株(7.90%)和 40 株(7.71%), 优势种是胶红酵母(320 株, 61.66%)、皮肤皮状新丝孢酵母(40 株, 7.71%)和产黑色素短梗霉(37 株, 7.13%)。

2.2 异龙湖湖水不同样点可培养酵母菌物种水平的相似度指数

计算和比较异龙湖 9 个采样点之间酵母菌种水平上的 jaccard 相似度指数(表 2), jaccard 系数值越大, 则 2 个采样点之间物种组成的相似度就越高^[9]。结果发现, 各样点酵母菌相似度系数范围在 0–0.333 3 之间, 均小于 0.500 0, 说明各个采样点之间的酵母菌种群结构相似度较低, 差异大。相似度最高的是位于湖中心的 5[#]样点和 6[#]样点, jaccard 相似性指数为 0.333 3, 其次是位于异龙湖西北部的 2[#]样点和湖中心的 5[#]样点、东南部的 8[#]样点和湖中心的 5[#]样点、jaccard 相似度指数都为 0.300 0。然而位于异龙湖西北部沿岸地区即靠近石屏县城的 1[#]样点和其他各样点之间的物种相似度普遍极低, jaccard 相似度数值在 0–0.062 5 之间, 其中与 5[#]、7[#]和 8[#]样点的 jaccard 相似性指数均为 0, 可以说明 1[#]样点分离到了与其他样点相比更为独特的酵母菌种群。但是, 同样是位于沿岸地区即坝心镇的 9[#]样点与其他样点之间的酵母菌物种相似度却没有像 1[#]样点与其他样点之间的酵母菌物种相似度这么低。

表 2 异龙湖湖水各样点可培养酵母菌在种水平上的 jaccard 相似度指数

Table 2 Jaccard coefficient of culturable yeasts among different sites in Yilong Lake at the species level

Sites	1 [#]	2 [#]	3 [#]	4 [#]	5 [#]	6 [#]	7 [#]	8 [#]	9 [#]
1 [#]									
2 [#]	0.055 6								
3 [#]	0.055 6	0.230 8							
4 [#]	0.062 5	0.166 7	0.167 7						
5 [#]	0.000 0	0.300 0	0.083 3	0.100 0					
6 [#]	0.058 8	0.250 0	0.153 8	0.181 8	0.333 3				
7 [#]	0.000 0	0.181 8	0.083 3	0.100 0	0.250 0	0.200 0			
8 [#]	0.000 0	0.230 8	0.142 9	0.076 9	0.300 0	0.250 0	0.181 8		
9 [#]	0.045 5	0.250 0	0.052 6	0.058 8	0.214 3	0.117 6	0.133 3	0.250 0	

2.3 异龙湖湿地修复后不同样点可培养酵母菌的 α 多样性

异龙湖湖水的 9 个样点中, 分离获得可培养酵母菌最多的是 2[#]样点(129 株), 其次是 8[#]样点(100 株), 最少的则是 3[#]和 4[#]样点(均为 16 株)。可培养酵母菌种群最多的是位于石屏县城附近的 1[#]样和坝心镇的 9[#]样, 分别为 9 个属 11 个种和 8 个属 12 个种, 其次是 2[#]样点, 有 6 个属 9 个种, 分离得到最少可培养酵母菌物种数量的是 5[#]样点和 7[#]样点, 都是只有 5 个种。

依据生物统计原理计算异龙湖湿地修复后 9 个样点可培养酵母菌的 4 个 α 多样性指数并用 R 4.0.5 作图(图 3), 这样可以更好地分析异龙湖中可培养酵母菌的生境状态。从图 3 中可以看到, 各个样点中, Shannon-winner 多样性指数、Pielou 均匀度指数以及 Mrgalef 丰富度指数趋势基本一致, 只有 Mrgalef 丰富度指数趋势在 9[#]样点出现了走势的偏差; 而 Shannon-winner 多样性指数和 Simpson 多样性指数趋势相反。西北沿岸地区的 1[#]样点的 Shannon-winner 多样性指数最高, Simpson 多样性指数最低, 并且 Pielou 均匀度指数和 Mrgalef 丰富度指数也最高, 说明 1[#]样点可培养酵母菌多样性最高, 有着最为丰富并且较为均匀的可培养酵母菌种群结构; 5[#]样点和 7[#]样点的 Simpson 多样性指数较高, 其余 3 个 α 多样性指数较低, 表明 5[#]样点和 7[#]样点的可培养酵母菌多样性较低; 同样也是位于沿岸地区的 9[#]样点, 除了 Mrgalef 丰富度指数之外, 其他 3 个多样性指数均低于 1[#]样点; 1[#]样点和 9[#]样点的 Mrgalef 丰富度指数最高, 酵母菌的群落结构也就最丰富; 同理分析发现, 位于异龙湖西北部的 3[#]样点和 4[#]样点的可培养酵母菌多样性仅次于 1[#]样点。从总体上看, 异龙湖西北部湖水中的可培养酵母菌比东南部的可培养酵母菌的多样性要更加丰富。

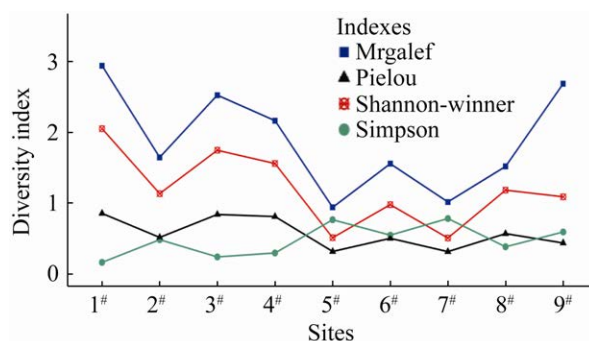


图 3 异龙湖湿地修复后各样点可培养酵母菌的 α 多样性指数

Figure 3 Alpha diversity indexes of culturable yeasts at different sites after wetland restoration in Yilong Lake.

2.4 异龙湖不同样点理化因子与多样性指数、酵母菌属数、种数的相关性分析

9 个湖水样品的 TOC、TN、TP、TH 和 Cond 的检测结果见表 3。对异龙湖湖水各样点可培养酵母菌的 Shannon-winner 多样性指数、Simpson 多样性指数、种的数量、属的数量以及理化因子进行 Pearson 相关性分析(图 4), TOC 与 TN、TOC 与 TP 之间有着极显著正相关的关系(极显著 $P < 0.01$, 下同), 相关系数都是 0.84; 酵母菌种的数量(S. num)和酵母菌属的数量(G. num)两者之间呈现极显著正相关, 相关系数是 0.87; G. num 与 Shannon-winner 多样性指数显著正相关($P < 0.05$, 下同), 相关系数为 0.70; Shannon-winner 多样性指数、Simpson 多样性指数两者之间呈极显著负相关, 相关系数为 -0.98。值得注意的是, 由各样点酵母菌多样性指数与理化因子的 pearson 相关性分析可以发现, TN 与 Shannon-winner 多样性指数、Simpson 多样性指数之间分别呈现了显著负相关和显著正相关关系, 相关系数分别是 -0.77 和 0.75, 所以 TN 显著影响着各样点可培养酵母菌多样性指数。

表 3 异龙湖各样点湖水的理化因子

Table 3 Environmental factors of lake water at the sampling sites in Yilong Lake

Factors	Sampling sites								
	1 [#]	2 [#]	3 [#]	4 [#]	5 [#]	6 [#]	7 [#]	8 [#]	9 [#]
TOC/(mg/L)	18	17	18	16	21	24	25	28	29
TN/(mg/L)	1.57	1.55	1.53	1.77	2.25	2.34	2.33	2.26	2.28
TP/(mg/L)	0.05	0.03	0.03	0.04	0.05	0.05	0.05	0.07	0.10
TH/(mg/L)	219	211	220	207	210	225	218	213	211
Cond/(μs/cm)	502	414	438	424	426	462	463	463	469

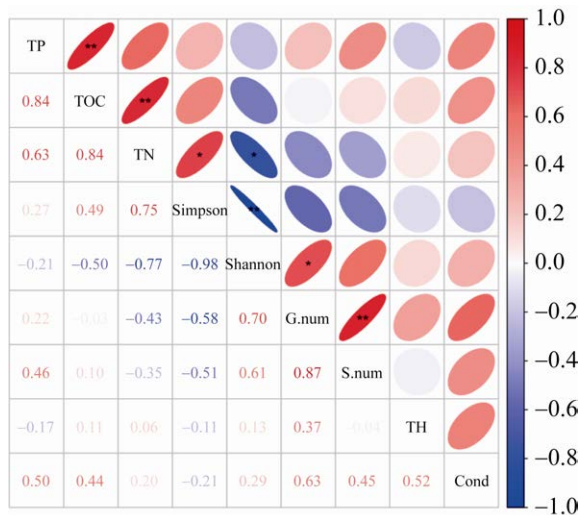


图 4 异龙湖各样点可培养酵母菌多样性指数、种数、属数以及理化因子之间的 Pearson 相关性

Figure 4 Pearson correlation between culturable yeasts the diversity indexes, number of species, number of genera, and environmental factors of sampling sites in Yilong Lake. *: $P < 0.05$, significant correlation; **: $P < 0.01$, extremely significant correlation; the ordinate indicates that the darker the color, the larger the value of the correlation coefficient; Red and blue represent positive correlation and negative correlation, respectively; the size of the ellipse indicates the strength of the correlation, the thinner the ellipse, the greater the correlation, and vice versa, the smaller the correlation; S.num: number of species; G.num: number of genera; TOC, TN, TH, TP and Cond represent the environmental factors; the matrix numbers in the lower left corner represent the correlation coefficient; Simpson and Shannon represent the Simpson diversity index and Shannon-winner diversity index, respectively.

2.5 理化因子对可培养酵母菌种群的分布影响

为了更直观地反映异龙湖可培养酵母菌群落分布与采样点、环境之间的相关性,对采样点、酵母菌属水平(图 5A)和优势种(图 5B)与理化因子数据进行了非线性排序分析。确定合适的响应模型之前,对采样点和酵母菌属水平数据先进行去趋势对应分析(detrended correspondence analysis, DCA),图 5A 绘图过程的 DCA 分析中得到第一排序轴的梯度长度值大小为 3.1,图 5B 的 DCA 分析得到的第一排序轴的梯度长度值大小为 1.6,该值在小于 4.0 时,才适合选用非线性排序中的 PCA 来分析异龙湖酵母菌属水平和种水平与理化因子的相关性^[10]。图 5A 结果显示,第一主成分对响应变量即异龙湖湖水可培养酵母菌种群分布(下同)的解释度是 34.12%,第二主成分对响应变量的解释度为 22.17%,总和是 56.29%,而图 5B 第一主成分对响应变量的解释度是 70.27%,第二主成分对响应变量的解释度为 23.26%,总和是 93.53%,说明图 5A 和图 5B 的排序都能有效表现酵母菌与理化因子的相关性。首先分析图 5A,从样点分布来看,5[#]、6[#]、7[#]以及 9[#]样聚在一起,排序距离较近,而 1[#]样、2[#]样、3[#]样、4[#]样和 8[#]样分别独占一个位置,和其他样点排序距离较远;结合表 1,再来观察酵母菌种群在各样点的分布情况,这里展示的是贡献度最高的 12 个酵母菌属,发现毕

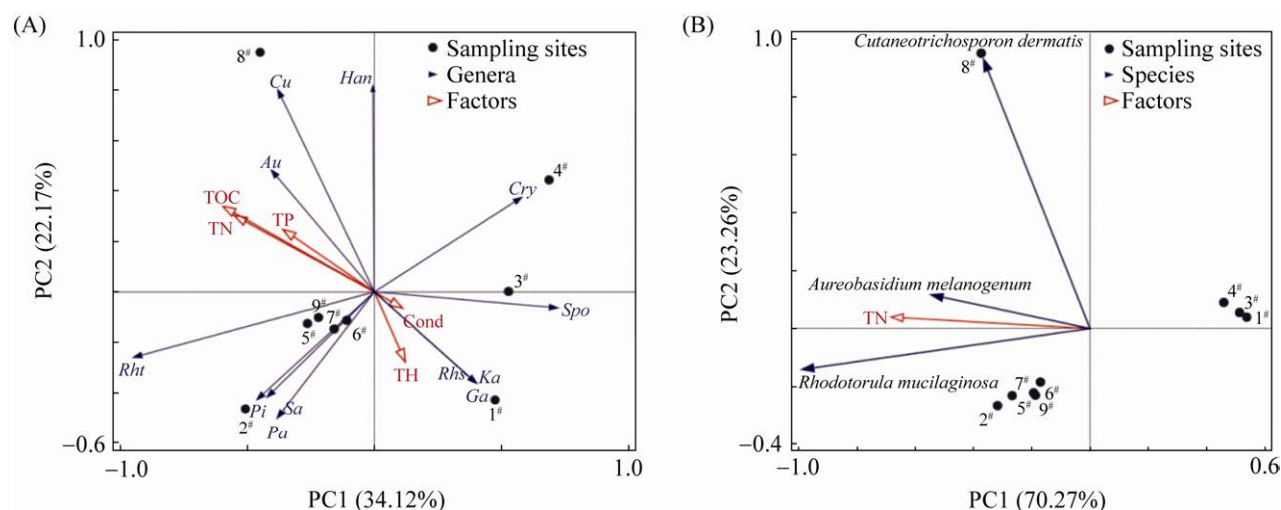


图 5 异龙湖中可培养酵母菌群分布与理化因子的 PCA 分析

Figure 5 PCA analysis of culturable yeasts community distribution associated with environmental factors in Yilong Lake. A: PCA analysis of environmental factors associated with genus level of yeasts in Yilong Lake; B: PCA analysis of TN associated with dominant species of yeasts in Yilong Lake; TOC: total organic carbon; TN: total nitrogen; TP: total phosphorus; Cond: conductivity; TH: total hardness; Cry: *Cryptococcus*; Cu: *Cutaneotrichosporon*; Ga: *Galactomyces*; Han: *Hannaella*; Ka: *Kazachstania*; Pa: *Papiliotrema*; Pi: *Pichia*; Rhs: *Rhodospiridiobolus*; Rht: *Rhodotorula*; Sa: *Sampaiozyma*; Spo: *Sporidiobolus*; Au: *Aureobasidium*.

赤酵母属、*Papiliotrema*、*Sampaiozyma* 在 2[#]样点的分布最多, *Rhodospiridiobolus*、*Kazachstania* 以及半乳糖霉属只在 1[#]样点中分离出来, 隐球酵母属(*Cryptococcus*)和皮状新丝孢酵母属分别仅在 4[#]样和 8[#]样中存在, 锁掷酵母属(*Sporidiobolus*)在多样点中都有分布, 汉纳酵母属(*Hannaella*)出现在 4[#]、8[#]、9[#]样点, 此次分离的优势酵母属—红酵母属, 在 2[#]、5[#]、6[#]、7[#]、8[#]和 9[#]样点中都有较广泛的分布, 特别是在 2[#]、5[#]、7[#]以及 9[#]样点中占据绝对优势, 同样具有优势的短梗霉属没有出现在 1[#]样点中, 但在其他样点中都有分布; 从理化因子之间的排序观察到, TOC 与 TN、TOC 与 TP 之间有着较强的正相关关系, 这和图 4 的结果一致; 最后从理化因子对酵母菌种群分布的影响来看, 如果它们之间的夹角等于 90 度则没有相关性, 小于 90 度, 则呈正相关关系, 反之大于 90 度, 呈

现负相关关系, TN、TOC、TP 这 3 种理化因子与红酵母属、短梗霉属、皮状新丝孢酵母属、毕赤酵母属、*Sampaiozyma* 以及汉纳酵母属这 6 个属之间的夹角明显小于 90 度, 呈较强的正相关关系, 前 3 个属是异龙湖湖水中的优势属, 所以 TN、TOC、TP 对优势属的分布有很重要的影响, 除此之外, 它们与 *Rhodospiridiobolus*、*Kazachstania*、半乳糖霉属、锁掷酵母属以及隐球酵母属有负相关关系, Cond 和 TH 与 *Rhodospiridiobolus*、*Kazachstania*、半乳糖霉属和锁掷酵母属呈正相关, TH 还与 *Papiliotrema*、毕赤酵母属和 *Sampaiozyma* 也呈正相关。结合表 1 和表 3 分析发现, Cond 会影响一些特定的酵母菌种群, 它们都出现在 1[#]样点, 如 *Apiotrichum*、半乳糖霉属、亚罗酵母属、*Rhodospiridiobolus*、*Wickerhamomyces* 以及 *Kazachstania*, 这些酵母菌大多属于子囊菌, 而且菌株数量较少。为了

进一步探讨理化因子 TN 对优势类群的影响, 图 5B 在种水平上展示了异龙湖湖水中可培养酵母菌的 3 个优势种和 TN 的关系, 从图中可以观察到, TN 与胶红酵母、产黑色素短梗霉和皮肤皮状新丝孢酵母的分布都有着较强的正相关性。结合图 4 分析可得, TN 与异龙湖可培养酵母菌多样性呈负相关关系, 而与优势菌群呈正相关关系, 所以 TN 是影响异龙湖湖水可培养酵母菌种群分布最重要的理化因子, 主要通过影响优势酵母菌群的数量和分布, 进一步影响了可培养酵母菌的多样性。

2.6 异龙湖湿地修复后与修复前以及其他高原淡水环境中可培养酵母菌群落结构的比较

云南具有九大高原湖泊, 目前已报道发现程海湖^[9]、滇池^[11]、洱海^[12]、阳宗海^[12-13]、抚仙湖^[14]、杞麓湖^[15]以及星云湖^[16]都具有丰富的可培养酵母菌资源。本文讨论异龙湖湿地修复前后湖水中可培养酵母菌种群结构以及云南省其他高原湖泊酵母菌种群结构的异同, 为了观察湿地的修复以及环境理化因子对异龙湖湖水中酵母菌群落的影响, 又与西藏拉鲁湿地^[17]和羊卓雍措^[18]水环境中的酵母菌群落进行了比较(表 4)。结果发现, 湿地修复后的异龙湖湖水中酵母菌种群与其他高原水环境中酵母菌种群有着明显的差异, 物种相似度从 0.089 6 到 0.233 8 (图 6), 共有种从 6 个到 23 个(表 4)。与湿地修复后异龙湖酵母菌种群相似性最高的是抚仙湖, 相似度为 0.233 8, 共有种有 17 种, 其次是湿地修复前的异龙湖, 相似度为 0.220 6, 共有种数量是 15 个, 与滇池、阳宗海、星云湖、洱海、程海湖、杞麓湖、羊卓雍措以及西藏拉鲁湿地的物种相似度分别是 0.198 3、0.194 4、0.194 0、0.164 2、0.142 9、0.129 0、0.098 4、0.089 6, 共有种数分别是 23、11、11、12、11、

9、6、6 个(表 4 和图 6)。湿地修复后异龙湖湖水中的特有种有 11 个, 与湿地修复前异龙湖以及其他高原水环境中的共有种有 2 个, 而湿地修复后的异龙湖可培养酵母菌与西藏拉鲁湿地和羊卓雍措在物种水平上还是有一定的差距, 这可能与地理位置和水质有关。

3 讨论

本论文研究了异龙湖湿地修复后的水体中酵母菌多样性, 研究结果表明, 湿地修复后的异龙湖中具有丰富的酵母菌多样性。本研究从该湖 9 个不同位点总计分离到 24 个属 42 个种和 1 个潜在的新种, 优势属是红酵母属、短梗霉属和皮状新丝孢酵母属, 优势种是胶红酵母, 其次是产黑色素短梗霉和皮肤皮状新丝孢酵母。已有的文献报道表明, 红酵母属广泛存在于高海拔水环境中, 如中国云南的高原湖泊(湿地修复前异龙湖^[3]、程海湖^[9]、滇池^[11]、洱海^[12]、阳宗海^[12-13]、抚仙湖^[14]、杞麓湖^[15]、星云湖^[16])、中国新疆天山一号冰川融水^[19-20]、中国西藏自治区境内青藏高原雪坑^[21]、阿根廷巴塔哥尼亚地区的纳韦尔瓦皮湖^[22] (Nahuel Huapi Lake, NH)、里约拉戈阿格里奥和卡维亚胡埃湖泊系统^[23] (The Rio Agrio and Lake Caviahue system, RAC)、冰川融河^[24]以及巴西东南部 Lagoa Santa 高原的 Lagoa Olhos d'Agua 湖^[25], 这些环境的主要特征是高海拔和强紫外线。此次研究分离出来的红酵母属、掷孢酵母属(*Sporobolomyces*)和红冬孢酵母属(*Rhodospiridium*)都属于“红色酵母”, 这一类酵母能够产生大量的类胡萝卜素等色素来抵抗强紫外线的辐射, 从而使得其能够在高海拔水环境中占据优势。短梗霉属是黑色素酵母类物种, 湖水中有 3 种短梗霉(出芽短梗霉与它的 2 个变种), 其产生的黑色素同样可以抵抗紫外线的辐射, 但这种产黑色素功能会

表 4 异龙湖湿地修复后与修复前以及其他高原淡水环境中可培养酵母菌种群的比较

Table 4 Comparison of culturable yeasts among after and before wetland restoration in Yilong Lake and other plateau water environments

Species	YL2	YL1	QL	XL	FL	YZ	LW	YY	DC	EH	CL
<i>Candida pseudolambica</i>	+	–	+	–	–	+	–	–	+	+	+
<i>Candida solani</i>	+	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Debaryomyces hanseii</i>	+	–	–	+	+	–	–	+	–	–	+
<i>Galactomyces citri-aurantii</i>	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Galactomyces candidum</i>	+	–	+	–	+	–	–	–	–	–	–
<i>Hanseniaspora opuntiae</i>	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Kazachstania bulderi</i>	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Pichia kudriavzevii</i>	+	+	+	+	+	+	–	–	+	–	–
<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	+	+	+	+	+	+	–	–	+	–	+
<i>Yarrowia lipolytica</i>	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Apiotrichum laibachii</i>	+	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–
<i>Bullera alba</i>	+	+	–	–	–	–	–	–	+	–	–
<i>Cutaneotrichosporon dermatis</i>	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Cystobasidium minutum</i>	+	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–
<i>Filobasidium elegans</i>	+	–	–	–	+	–	+	–	+	–	–
<i>Filobasidium floriforme</i>	+	+	–	+	+	–	–	–	–	–	–
<i>Filobasidium magnum</i>	+	+	–	–	–	+	+	+	+	+	+
<i>Filobasidium uniguttulatum</i>	+	+	–	+	+	–	–	–	+	+	+
<i>Hannaella kunmingensis</i>	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Hannaella pagnoccae</i>	+	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–
<i>Hannaella phetchabunensis</i>	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Hannaella phyllophila</i>	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Hannaella sinensis</i>	+	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–
<i>Naganishia albida</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Papiliotrema aurea</i>	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Papiliotrema flavescens</i>	+	+	+	+	+	+	+	–	+	+	–
<i>Papiliotrema pseudoalba</i>	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Rhodospiridiobolus ruineniae</i>	+	–	–	+	+	–	–	–	–	–	–
<i>Rhodotorula diobovata</i>	+	–	+	–	+	+	–	–	+	+	–
<i>Rhodotorula glutinis</i>	+	+	+	+	+	+	–	–	–	+	+
<i>Rhodotorula graminis</i>	+	+	+	–	+	+	+	–	+	–	–
<i>Rhodotorula mucilaginoso</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Rhodotorula taiwanensis</i>	+	+	–	–	+	–	–	–	+	–	–
<i>Sampaiozyma vanillica</i>	+	+	–	+	–	–	–	–	+	+	–
<i>Sporobolomyces japonicus</i>	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Sporobolomyces koalae</i>	+	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–
<i>Sporidiobolus pararoseus</i>	+	+	–	–	–	–	–	–	+	–	–
<i>Sporobolomyces phaffii</i>	+	–	–	–	+	–	–	–	+	–	–
<i>Vishniacozyma carnescentis</i>	+	–	–	–	–	–	–	–	–	+	–
<i>Aureobasidium melanogenum</i>	+	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–
<i>Aureobasidium namibiae</i>	+	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–
<i>Aureobasidium pullulans</i>	+	+	+	+	+	+	–	+	+	+	+

YL2: after wetland restoration in Yilong Lake; YL1: before wetland restoration in Yilong Lake; QL: Qilu Lake; XL: Xingyun Lake; FL: Fuxian Lake; YZ: Yangzonghai Lake; LW: Lalu Wetland; YY: Yamzhog Yumco Lake; DC: Dianchi Lake; EH: Erhai; CL: Chenghai Lake; +: common species; –: non-common species.

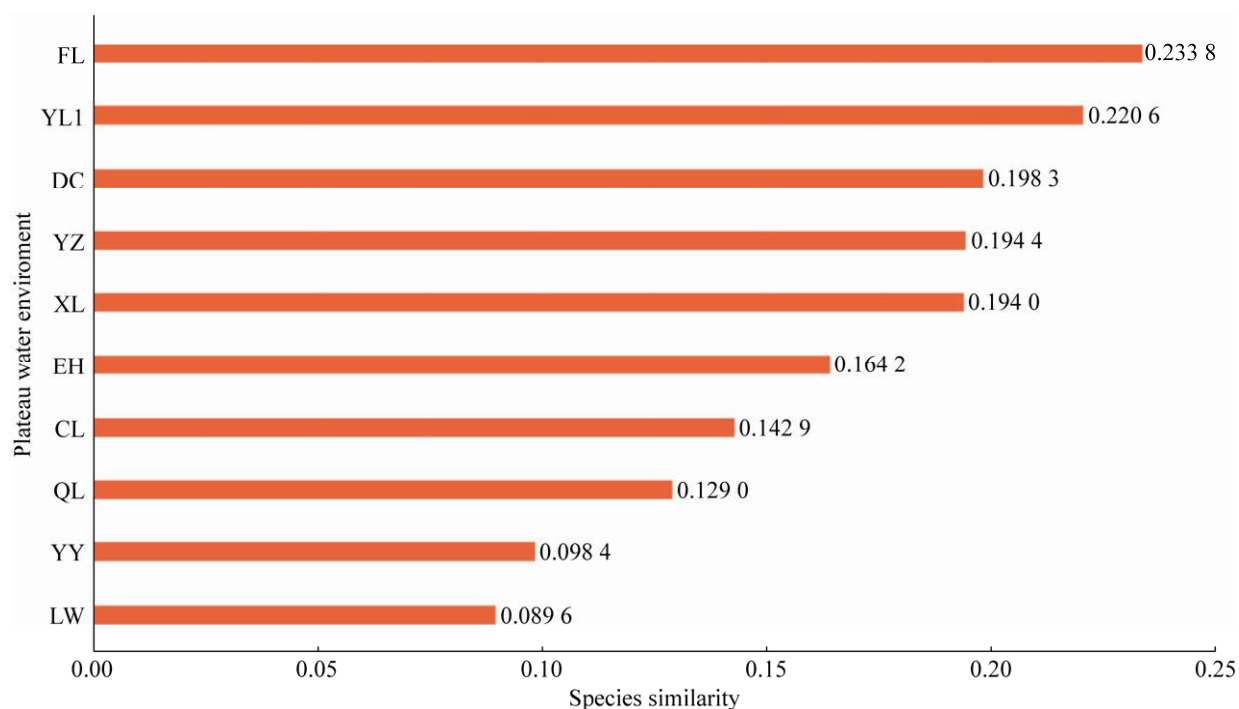


图 6 湿地修复后异龙湖与湿地修复前异龙湖及与其他高原水环境中可培养酵母菌的物种相似性

Figure 6 Species similarity of culturable yeasts among Yilong Lake after wetland restoration and Yilong Lake before wetland restoration and other plateau water environments. YL1: before wetland restoration in Yilong Lake; QL: Qilu Lake; XL: Xingyun Lake; FL: Fuxian Lake; YZ: Yangzonghai Lake; LW: Lalu Wetland; YY: Yamzhog Yumco Lake; DC: Dianchi Lake; EH: Erhai; CL: Chenghai Lake.

被水中的氮含量影响, 猜测可能是利用氮素进行黑色素合成来保护机体, 使得其在自然选择过程中取得优势^[26]。皮状新丝孢酵母属在异龙湖湿地修复前没有被分离到, 而异龙湖湿地修复后分离到了该属一个种——皮肤皮状新丝孢酵母, 虽然只是该属中的一个物种的酵母菌, 但这个种却成为了异龙湖湿地修复后的优势种之一, 在其他高原水环境中却很少被分离出来。

物种水平上的 jaccard 相似度指数结果显示, 各个样点的酵母菌群落结构差异明显, 从 α 多样性指数来看, 各个样点的多样性也有较大的差异。分析异龙湖湿地修复前后不同样点可培养酵母菌的 α 多样性得知, 在空间上, 异龙湖湿地修复后, 靠近沿岸地区的 1[#]、2[#]、3[#]、8[#]及 9[#]样点的酵母菌物种丰富度都要大于湖中

心 4[#]、5[#]、6[#]样点, 原因可能是在湖中部区域村庄较少, 湖岸离居民点较远, 人为活动不明显, 而 1[#]样点可培养酵母菌多样性最高, 有着最为丰富并且较为均匀的酵母菌种群结构, 5[#]样点和 7[#]样点的可培养酵母菌多样性较低。结合地理位置可以发现, 异龙湖从地理位置上呈西北—东南带状分布, 环异龙湖的自然村除了西北和东南岸较为密集, 其他区域则分布较为分散^[27], 异龙湖西北部紧靠石屏县城, 主要由城南河、城北河、大沙河、大水河 4 条入湖河道, 这几条河道均受到人类活动影响较大, 生活污水及农田退水及其他污染源都直接进入河道, 导致了更多的酵母菌种被带入到湖水中, 造就了 1[#]样点这片区域的酵母菌丰富度最高; 湖东南部沿岸的 9[#]采样点临近坝心镇, 此处自

然村较多, 人口密集, 湖水水质同样地受到很大的影响, 该样点分离出的酵母菌物种数是最多的, 高达 12 种, 但是该样点的酵母菌多样性与 1[#]样点相比有较为明显的差距, 可能因为种间数量差距太大, 胶红酵母在该样点占据了很大的优势(76.67%)。总体而言, 湿地修复后, 异龙湖湖水中可培养酵母菌种类丰富, 各样点种群结构有明显的差异, 而西北部湖水可培养酵母菌多样性要比东南部丰富。根据刘薇对异龙湖水质时空变化的研究^[28], 近年来, 发生了湖西污染程度大于湖东再到湖西水质明显优于湖中和湖东的变化, 有研究表明, 水质越清洁, 水体中微生物的 Shannon-winner 多样性指数越大^[29], 这可能是异龙湖西北部可培养酵母菌多样性比东南部丰富的一个重要原因; 另外有研究报道和本次理化因子的测定数据显示, 异龙湖有机质含量在整个湖区开始呈现东高西低的特征, 这是由于异龙湖南岸青鱼湾隧道工程的建设, 使得湖区东部水体几乎静止不流动, 再加上异龙湖常年盛行西南风, 水流方向为由西向东以及东南部的渔村河与龙港河的污染物的陆源输入, 导致了湖东区域污染物淤积严重^[30], 水质整体上比湖西区域差, 这可能也是此次研究中湖西北部可培养酵母菌多样性大于湖东南部的另一个重要原因。

从此次研究理化因子的测定结果来看, 异龙湖中的各个样点湖水的理化因子如表 3, TN、TOC 差异明显, Cond、TP、TH 则差异较小。从对不同样点理化因子与可培养酵母菌多样性指数相关性分析中(图 4)可以看出, TN 与酵母菌的多样性呈现的是显著负相关关系($P < 0.05$)。仅通过单一因素变量无法判断何种理化因子对酵母菌存在数量及种类多少存在的影响, 通过结合主成分分析(PCA)对各个样点的酵母菌种属分布及其与理化因子的相关性进行分析, 发

现异龙湖中的优势属红酵母属、短梗霉属和皮状新丝孢酵母属以及优势种胶红酵母、产黑色素短梗霉和皮肤皮状新丝孢酵母受湖水中 TN、TP 和 TOC 的影响较为明显(图 5), 而结合图 4 可得, TN 是最主要的影响因素, 可能通过影响优势酵母菌菌群的数量和分布, 从而影响酵母菌群落中物种的相似性, 进一步改变异龙湖湖水中可培养酵母菌的多样性。有研究报道, 水体富营养化程度越重, 水生生物多样性越小^[31], 推测富营养化的水体滋生了优势菌群并占据主导地位, 并扩大种间数量优势, 降低了生物物种多样性, 所以这可能是 TN 与可培养酵母菌的多样性呈现显著负相关关系的原因。

异龙湖湿地修复后, 与湿地修复前相比, 可培养酵母菌种群结构发生了明显变化, 在湿地修复前分离得到 41 个酵母种^[3], 其中发现的酵母中有 28 种在修复后没有被分离到, 而在湿地修复后, 分离得到的酵母有 42 个种和一个潜在新种, 其中新出现的物种有 27 个, 修复前后的共有种有 15 个。异龙湖湿地修复前的优势种是 *Rhodotorula kratochvilovae*, 但在湿地修复后没有分离得到, 这种酵母菌大多数是在陆地环境特别是植物中分离出来, Gadanho 等^[32]的研究中认为这个物种往往是由于雨水和空气流动带到水体中的, 之所以异龙湖湿地修复前能够大量分离得到该物种, 可能是因为当时湖岸边芦苇繁密, 加之湖面较小, 较容易受到陆地环境的干扰。在湿地修复前分离获得的能够对污染环境起到一定指示作用的假丝酵母属(*Candida*), 如大量分离获得能够生活在甲虫肠道中的 *Candida tetragidarum* 在此次研究中未分离获得, 可能是与当时异龙湖周围大量发展渔业, 产生渔业生产废水有关^[3], 还有经常出现在工业和生活垃圾中含有大量有机物的水生环境中的热带假丝酵母(*Candida tropicalis*)也只

在湿地修复前分离得到^[25], 这表明, 异龙湖湿地修复后其水质可能有所改善。胶红酵母在湿地修复后的异龙湖中占据优势, 而在湿地修复前只分离到 4 株, 谢凤行等^[33]研究发现该种类能有效去除养殖水体中的有机污染物和有较强的降解化学需氧量(chemical oxygen demand, COD)的能力, 它们的存在可能在将来会对异龙湖水质的净化起到一定的作用。

与其他高原水环境的可培养酵母菌的种群进行比较, 发现湿地修复后的异龙湖湖水中酵母菌种群与其他高原水环境中酵母菌种群有着明显的差异。湿地修复后异龙湖酵母菌的 11 个特有种中的皮肤皮状新丝孢酵母(旧种名: 拟毛孢子菌 *Trichosporon dermatis*)是异龙湖的优势种, 只在湖东南部的 8[#]样点中有分布, 而在湿地修复前的异龙湖中未分离获得该种酵母菌。皮肤皮状新丝孢酵母是从受感染的人皮肤和真菌血症儿科患者中分离出来^[34], 同时在虫体中也有分离到, 具有致病性^[35], 本次仅在异龙湖 8[#]样点的水体中能够分离出来, 8[#]和 9[#]样点周围村落居多, 不同的是 8[#]样点周围是异龙湖 7 条主要入湖河流的 2 条河流(龙港河和渔村河)的入湖口, 而且在该样点附近开设了水上竞技项目, 推测可能是人类活动影响或者是入湖河流带入湖中的, 这需要引起人们的关注。其他特有种像 *Galactomyces citri-aurantii* 是一种酸腐病病原体, 能引起柑橘酸腐病, 影响柑橘类水果的生产^[36]; 仙人掌有孢汉逊酵母(*Hanseniaspora opuntiae*)是一种生物防治酵母, 能够对抗一些真菌病原体, 其释放的抗生素物质能够使植物免受黄瓜褐斑病菌(*Corynespora cassiicola*)和灰霉病菌(*Botrytis cinerea*)侵害^[37]; 解脂亚罗酵母(*Yarrowia lipolytica*)是高产脂肪酶的一种非常规产油酵母, 是生产燃料的有前景的宿主^[38]; 金

黄色蝶形担孢酵母(*Papiliotrema aurea*)能够高产胞外多糖并具有抗氧化活性^[39]; 除此之外还有 *Kazachstania bulderi*、*Hannaella kunmingensis*、*Hannaella phetchabunensis*、*Hannaella phyllophila*、*Papiliotrema pseudoalba* 以及 *Sporobolomyces japonicus*, 但它们的相关应用尚未见有报道。胶红酵母和 *Naganishia albida* 是湿地修复后的异龙湖与湿地修复前的异龙湖及其他 9 个高原水环境的共有种。胶红酵母广泛出现在高海拔水环境中, 被认为是高产类胡萝卜素酵母菌种, 是开发类胡萝卜素的良好候选菌株; *Naganishia albida* 适应性强, 存在于多种植物之中, 随着各种载体如风吹植物、降雨降雪流动于各种生态环境之中^[40]。

酵母菌种类在不同环境中都有不同的类群, 地理位置、所处的气候条件特征、人为活动、环境因子都会对它们的存在产生影响。此次研究中发现, TN 是影响异龙湖可培养酵母菌分布的最重要影响因素, 而在其他一些高原水环境的可培养酵母菌与理化因子相关性分析中, TOC 与抚仙湖湖水酵母菌的种群结构明显相关^[14]; 在杞麓湖水体中^[15], TP 影响红冬孢酵母属的分布, 而 pH 为隐球酵母属分布的一个重要选择条件; Cond 是影响阳宗海酵母菌种群分布的重要因素^[13]; 化学需要量(COD)是影响西藏拉鲁湿地水体酵母菌的显著因素, 特别是对 *Ustilentyloma* 的分布^[17]; TP 和 pH 是影响羊卓雍措水体可培养酵母菌分布的主要环境因子^[18]。

4 结论

本项研究结果表明, 湿地修复后的异龙湖具有丰富的可培养酵母菌资源, 从该湖 9 个不同位点总计分离到 24 个属 42 个种和 1 个潜在的新种; TN 是影响异龙湖可培养酵母菌种群多

样性的重要理化因子, 受到湖水中不同理化因子和人为活动等多种因素的影响, 使得湖西北部区域可培养酵母菌多样性比东南部丰富; 湿地修复前后种群结构发生了明显变化, 一些具有环境指示性作用的可培养酵母菌的存在与消失, 可能预示着异龙湖水质的变化; 高原湖泊中的酵母菌资源既可以被用作环境状态的指示性微生物, 也可应用于工业领域的待开发菌种资源, 与其他高原水环境相比, 异龙湖湿地修复后有独特的可培养酵母菌资源, 有待进一步开发其应用价值。

致谢: 云南省生态环境科学研究院环境分析测试中心在异龙湖各个水样点理化指标的测定工作中给予的大量帮助, 在此表示衷心感谢!

参考文献

- [1] 刘培, 常凤琴, 张虎才, 李华勇, 毕荣鑫, 段立曾, 付磊, 周瑜. 异龙湖水质参数的季节性变化. 地理科学研究, 2017, 6(3): 168–178.
Liu P, Chang FQ, Zhang HC, Li HY, Bi RX, Duan LZ, Fu L, Zhou Y. Seasonal changes of water quality parameters in Lake Yilong. *Geographical Science Research*, 2017, 6(3): 168–178. (in Chinese)
- [2] 刘伟. 云南异龙湖水质及富营养化变化趋势分析. 人民长江, 2014, 45(S1): 48–50, 56.
Liu W. Analysis of water quality and eutrophication trend of Yilong Lake in Yunnan. *Yangtze River*, 2014, 45(S1): 48–50, 56. (in Chinese)
- [3] 李治滢, 董明华, 周斌, 杨丽源, 赖泳红, 王永霞, 肖炜, 崔晓龙, 李绍兰. 云南异龙湖可培养酵母菌多样性及产胞外酶和油脂活性菌株筛选. 云南大学学报: 自然科学版, 2020, 42(6): 1212–1223.
Li ZY, Dong MH, Zhou B, Yang LY, Lai YH, Wang YX, Xiao W, Cui XL, Li SL. Biodiversity of culturable yeasts isolated from Yilong Lake and screening of extracellular enzyme and oil strain. *Journal of Yunnan University: Natural Sciences Edition*, 2020, 42(6): 1212–1223. (in Chinese)
- [4] 陈静, 秦江, 周起超, 聂菊芬, 周虹霞. 高原湖泊退塘还湖区湿地生态修复技术应用. 环境科学与技术, 2016, 39(12): 158–168.
Chen J, Qin J, Zhou QC, Nie JF, Zhou HX. Application of wetland ecological restoration in the “return pond to lake” region of plateau lake. *Environmental Science & Technology*, 2016, 39(12): 158–168. (in Chinese)
- [5] Liu XZ, Wang QM, Göker M, Groenewald M, Kachalkin AV, Lumbsch HT, Millanes AM, Wedin M, Yurkov AM, Boekhout T, Bai FY. Towards an integrated phylogenetic classification of the *Tremellomycetes*. *Studies in Mycology*, 2015, 81(1): 85–147.
- [6] Wang QM, Yurkov AM, Göker M, Lumbsch HT, Leavitt SD, Groenewald M, Theelen B, Liu XZ, Boekhout T, Bai FY. Phylogenetic classification of yeasts and related taxa within *Pucciniomycotina*. *Studies in Mycology*, 2015, 81(1): 149–189.
- [7] Wang QM, Begerow D, Groenewald M, Liu XZ, Theelen B, Bai FY, Boekhout T. Multigene phylogeny and taxonomic revision of yeasts and related fungi in the *Ustilaginomycotina*. *Studies in Mycology*, 2015, 81: 55–83.
- [8] Kurtzman CP, Fell JW, Boekhout T. The yeast: a taxonomic study, 5th edition. London, Elsevier Science, 2011: 311–2060.
- [9] 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.
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)
- [10] Ter Braak CJF, Prentice IC. A theory of gradient analysis. *Advances in Ecological Research*. Amsterdam: Elsevier, 1988: 271–317.
- [11] 韩龙. 云南高原湖泊滇池的真菌多样性及其空间分布特征. 云南大学博士学位论文, 2018.
- [12] 严亚萍. 云南洱海和阳宗海酵母多样性研究及活性菌株评价. 云南大学硕士学位论文, 2013.
- [13] 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.
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)
- [14] 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.
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)
- [15] 董明华, 李治滢, 周斌, 周巧, 严亚萍, 晋方佑, 李云霄, 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.
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)
- [16] 李治滢, 樊竹青, 董明华, 谭金连, 周斌, 杨丽源, 李绍兰. 云南星云湖酵母菌多样性及产类胡萝卜素的评估. *微生物学通报*, 2019, 46(6): 1309–1319.
Li ZY, Fan ZQ, Dong MH, Tan JL, Zhou B, Yang LY, Li SL. Diversity and evaluation of carotenoids-producing of yeasts isolated from Xingyun Lake. *Microbiology China*, 2019, 46(6): 1309–1319. (in Chinese)
- [17] 郭小芳, 德吉, 龙琦炜, 白斌锦, 王豪杰, 曹亚璞. 西藏拉鲁湿地水体酵母菌多样性及其与理化因子相关性. *微生物学报*, 2018, 58(7): 1167–1181.
Guo XF, Deji, Long QW, Bai BJ, Wang HJ, Cao YP. Spatial dynamics of yeast community and its relationship with environmental factors in Lhalu Wetland, Tibet. *Acta Microbiologica Sinica*, 2018, 58(7): 1167–1181. (in Chinese)
- [18] 郝兆, 王艳红, 郑艳艳, 郭小芳, 德吉. 羊卓雍措水体可培养酵母菌多样性及其与理化因子相关性. *微生物学报*, 2021, 61(5): 1269–1286.
Hao Z, Wang YH, Zheng YY, Guo XF, DeJ. Diversity of culturable yeasts in yamzhog yumco lake. *Acta Microbiologica Sinica*, 2021, 61(5): 1269–1286. (in Chinese)
- [19] 郑晓吉, 孙海龙, 关波, 姜远丽, 倪永清. 天山一号冰川融水中耐冷酵母菌多样性及系统发育. *食品与发酵工业*, 2015, 41(7): 45–50.
Zheng XJ, Sun HL, Guan B, Jiang YL, Ni YQ. Diversity and phylogeny of cold-adapted yeast from melt-water in the No. 1 Glacier, Tianshan Mountains. *Food and Fermentation Industries*, 2015, 41(7): 45–50. (in Chinese)
- [20] 姜远丽. 天山一号冰川融水及底部沉积层酵母菌系统发育研究. 石河子大学硕士学位论文, 2014.
- [21] 邵莎苑. 青藏高原及其毗邻地区不同空间冰川雪坑中可培养酵母菌多样性研究. 兰州大学硕士学位论文, 2012.
- [22] 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.
- [23] 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.
- [24] De García V, Brizzio S, Libkind D, Buzzini P, Van Broock M. Biodiversity of cold-adapted yeasts from glacial meltwater rivers in *Patagonia, Argentina*. *FEMS Microbiology Ecology*, 2007, 59(2): 331–341.
- [25] Brandão LR, Medeiros AO, Duarte MC, Barbosa AC, Rosa CA. Diversity and antifungal susceptibility of yeasts isolated by multiple-tube fermentation from three freshwater lakes in Brazil. *Journal of Water and Health*, 2010, 8(2): 279–289.
- [26] 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.
- [27] 徐坚, 陈嘉慧, 许永涛. 环高原湖泊自然村空间分布特征分析——以云南省异龙湖为例. *云南地理环境研究*, 2016, 28(5): 1–5, 85.
Xu J, Chen JH, Xu YT. Spatial distribution of natural villages surrounding plateau lakes—take Yilonghu in Yunnan as an example. *Yunnan Geographic Environment Research*, 2016, 28(5): 1–5, 85. (in Chinese)
- [28] 刘薇. 异龙湖水质时空变化研究. 昆明理工大学硕士学位论文, 2019.
- [29] 周谐, 郑坚, 黄书铭, 王明书. 三峡库区重庆段浮游藻类调查及水质评价. *中国环境监测*, 2006, 22(4): 70–73.
Zhou X, Zheng J, Huang SM, Wang MS. Investigation and evaluation of pelagic algae and water quality about the Three Gorges reservoir of Chongqing. *Environmental Monitoring in China*, 2006, 22(4): 70–73. (in Chinese)
- [30] 和向东, 陈积颖, 丁德鼎, 周跃光, 孔德平. 异龙湖表层沉积物有机质含量空间分布初步研究. *环境科学导刊*, 2020, 39(6): 18–22.
He XD, Chen ZY, Ding DD, Zhou YG, Kong DP. Preliminary study on spatial distribution of organic matter content in surface sediments of Yilong Lake. *Environmental Science Survey*, 2020, 39(6): 18–22. (in Chinese)

- [31] 高世荣, 潘力军, 孙凤英, 许永香, 王俊起. 用水生生物评价环境水体的污染和富营养化. 环境科学与管理, 2006, 31(6): 174–176.
- Gao SR, Pan LJ, Sun FY, Xu YX, Wang JQ. Assessment on the pollution and eutrophication of environmental water by Hydrobiologica. *Environmental Science and Management*, 2006, 31(6): 174–176. (in Chinese)
- [32] Gadanho M, Almeida JMGCF, Sampaio JP. Assessment of yeast diversity in a marine environment in the south of Portugal by microsatellite-primed PCR. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2003, 84(3): 217–227.
- [33] 谢凤行, 张峰峰, 周可, 赵玉洁, 孙海波, 王云. 水质净化酵母菌的分离筛选及鉴定. 微生物学报, 2015, 55(5): 635–642.
- Xie FX, Zhang FF, Zhou K, Zhao YJ, Sun HB, Wang Y. Isolation, screening and identification of yeast for aquaculture water purification. *Acta Microbiologica Sinica*, 2015, 55(5): 635–642. (in Chinese)
- [34] Gunn SR, Reveles XT, Hamlington JD, Sadkowski LC, Johnson-Pais TL, Jorgensen JH. Use of DNA sequencing analysis to confirm fungemia due to *Trichosporon dermatis* in a pediatric patient. *Journal of Clinical Microbiology*, 2006, 44(3): 1175–1177.
- [35] Suh SO, Houseknecht JL, Grosso KM, Carrion ME. Characterization of the medically important yeast *Trichosporon mucoides* and its close sister *Trichosporon dermatis* by traditional and advanced technologies. *Journal of Medical Microbiology*, 2015, 64(10): 1135–1143.
- [36] McKay AH, Förster H, Adaskaveg JE. Distinguishing *Galactomyces citri-aurantii* from *G. Geotrichum* and characterizing population structure of the two postharvest sour rot pathogens of fruit crops in California. *Phytopathology*®, 2012, 102(5): 528–538.
- [37] Ferreira-Saab M, Formey D, Torres M, Aragón W, Padilla EA, Tromas A, Sohlenkamp C, Schwan-Estrada KRF, Serrano M. Compounds released by the biocontrol yeast *Hanseniaspora opuntiae* protect plants against *Corynespora cassiicola* and *Botrytis cinerea*. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 1596.
- [38] Lu R, Cao LZ, Wang KF, Ledesma-Amaro R, Ji XJ. Engineering *Yarrowia lipolytica* to produce advanced biofuels: current status and perspectives. *Bioresource Technology*, 2021, 341: 125877.
- [39] 赵英杰, 张文平, 吴剑梅, 程新. 乳扇中高产胞外多糖酵母菌的筛选及其抗氧化活性. 食品科学, 2019, 40(22): 134–140.
- Zhao YJ, Zhang WP, Wu JM, Cheng X. Screening for yeast from dairy fan for production of antioxidant exopolysaccharides. *Food Science*, 2019, 40(22): 134–140. (in Chinese)
- [40] Luo BL, Sun HL, Zhang Y, Gu YL, Yan WL, Zhang RR, Ni YQ. Habitat-specificity and diversity of culturable cold-adapted yeasts of a cold-based glacier in the Tianshan Mountains, northwestern China. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2019, 103(5): 2311–2327.

(本文责编 李磊)