

研究报告

## 云南高原湖泊抚仙湖和星云湖的酵母菌胞外酶活性

谭金连<sup>1,2</sup> 李治滢<sup>1</sup> 周斌<sup>1</sup> 董明华<sup>3</sup> 夏红钊<sup>1</sup> 韩龙<sup>1,2</sup>

杨丽源<sup>1</sup> 崔晓龙<sup>1,2\*</sup> 李绍兰<sup>1\*</sup>

(1. 云南大学生命科学学院 云南省微生物研究所 云南 昆明 650091)

(2. 云南大学省部共建云南生物资源保护与利用国家重点实验室 云南 昆明 650091)

(3. 昆明学院 云南 昆明 650214)

**摘要:**【背景】高原湖泊因其海拔高、气压低、辐射强、氧气含量低，是一类特殊环境，而其中的微生物是高原湖泊生态系统物质循环与能量流动的重要参与者，其胞外酶活性的表现决定其适应这一特殊环境的方式与能力。【目的】对分离自云南高原湖泊抚仙湖和星云湖湖水的酵母菌进行产胞外酶活性的筛选，以期获得具有潜在应用价值的活性菌株。【方法】在5℃和25℃培养温度下，采用平板筛选法对两个湖泊酵母菌进行产胞外蛋白酶、纤维素酶、淀粉酶、脂肪酶、几丁质酶、木聚糖酶、植酸酶、菊粉酶、漆酶、锰依赖过氧化物酶和木质素过氧化物酶活性的筛选。【结果】抚仙湖和星云湖的所有测试酵母菌菌株至少都能产1种胞外酶，且主要产植酸酶、菊粉酶和淀粉酶；其次为脂肪酶、纤维素酶、木聚糖酶、锰依赖过氧化物酶和木质素过氧化物酶；产几丁质酶、蛋白酶和漆酶的酵母菌很少，星云湖酵母菌都不产漆酶。培养温度为5℃时，抚仙湖和星云湖的酵母菌产5种及5种以上胞外酶的活性菌株数均多于25℃。【结论】抚仙湖和星云湖的酵母菌产胞外酶菌株多样性丰富，胞外酶种类多样，产酶酵母菌可能参与高原湖泊生态系统的物质循环；筛选得到的产胞外酶菌株为开发与利用高原湖泊酶资源提供了良好的种质资源，具有进一步研究的价值。

**关键词:** 抚仙湖, 星云湖, 酵母菌, 胞外酶活性

**Foundation items:** National Natural Science Foundation of China (31160006); Science and Technology Condition Platform Construction Program of Yunnan Province (2009DA002); National Microbiology Resource Platform Special Service Program of China for Microbiology Teaching Experiment (NIMR-2016-8)

\*Corresponding authors: CUI Xiao-Long: Tel: 86-871-65034621; E-mail: xlcui@ynu.edu.cn  
LI Shao-Lan: Tel: 86-871-65033540; E-mail: shlli@ynu.edu.cn

**Received:** March 30, 2017; **Accepted:** July 05, 2017; **Published online** (www.cnki.net): August 31, 2017

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-2016-8)

\*通信作者: 崔晓龙: Tel: 86-871-65034621; E-mail: xlcui@ynu.edu.cn  
李绍兰: Tel: 86-871-65033540; E-mail: shlli@ynu.edu.cn

收稿日期: 2017-03-30; 接受日期: 2017-07-05; 网络首发日期(www.cnki.net): 2017-08-31

## Extracellular enzymatic activities of yeasts isolated from Fuxian Lake and Xingyun Lake in Yunnan Plateau

TAN Jin-Lian<sup>1,2</sup> LI Zhi-Ying<sup>1</sup> ZHOU Bin<sup>1</sup> DONG Ming-Hua<sup>3</sup> XIA Hong-Chao<sup>1</sup>  
HAN Long<sup>1,2</sup> YANG Li-Yuan<sup>1</sup> CUI Xiao-Long<sup>1,2\*</sup> LI Shao-Lan<sup>1\*</sup>

(1. Yunnan Institute of Microbiology, School of Life Sciences, Yunnan University, Kunming, Yunnan 650091, China)

(2. State Key Laboratory for Conservation and Utilization of Bio-Resources in Yunnan, Yunnan University, Kunming, Yunnan 650091, China)

(3. Kunming University, Kunming, Yunnan 650214, China)

**Abstract:** [Background] Plateau lakes are a type of special environments due to the conditions of high altitude, low air pressure, high ultraviolet radiation and lower oxygen content; while microorganisms in the plateau lakes are important participants in substance circulation and energy flow of lake ecosystems, and the situations/performances of their extracellular enzymatic activities formulate their adaptation ways and abilities to the special environment. [Objective] To screen yeasts with extracellular enzymatic activities, which were isolated from Fuxian Lake and Xingyun Lake in Yunnan Plateau, and to obtain active yeasts with potential application values. [Methods] Yeasts exhibiting activities of extracellular proteinase, cellulase, amylase, lipase, chitinase, xylanase, phytase, inulase, laccase, manganese-dependent peroxidase and lignin peroxidase were detected by using screening plate method at 5 °C and 25 °C. [Results] All yeast strains exhibited at least one extracellular enzymatic activity, mainly exhibited activities of phytase, inulase and amylase, secondly exhibited activities of lipase, cellulase, xylanas and manganese-dependent peroxidase and lignin peroxidase. The number of strains exhibited activities of chitinase, proteinase and laccase activities were lower, and the yeast strains isolated from Xingyun Lake did not exhibited laccase activity. The number of yeast strains exhibited at least five extracellular enzymatic activities was higher at 5 °C than that at 25 °C. [Conclusion] The rich diversity of yeasts with extracellular enzymatic activities exists in the two lakes, and hence these yeasts might participate in the circulation of substances in the plateau lake ecosystems. For further exploitation and utilization of extracellular enzymes, these active yeasts can be used as the resources of extracellular enzymes, and it is worth to further explore their application potential.

**Keywords:** Fuxian Lake, Xingyun Lake, Yeasts, Extracellular enzymatic activities

在湖泊生态系统中,微生物是重要的组成成分,参与湖泊生态系统中的物质循环和能量流动,其中的酵母菌不但参与有机物质的矿化,而且其本身也在食物链中作为许多浮游动物的食物,因此在湖泊生态系统中具有重要的地位和作用<sup>[1-2]</sup>。除此之外,湖泊和海洋酵母菌在生物工程方面具有相当大的应用价值,这也吸引了越来越多研究者的关注和研究<sup>[3]</sup>。高原湖泊海拔高、紫外辐射强、气压低、氧气含量少,是一种特殊的环境,湖泊酵母菌为适应该环境通过分泌胞外酶来分解营养物质进行相应的新陈代谢。这些胞外酶具有独特的生理特性,被广泛用于食品加工工业、医药工业、洗涤剂工业、

纺织品脱浆工业、环境保护及基因工程等众多领域,有巨大的市场潜力。

抚仙湖和星云湖同属于云南高原湖泊,海拔都在1700 m以上。抚仙湖是半封闭的高原深水湖泊,属珠江流域南盘江水系,是贫营养型湖泊,位于云南中部的澄江盆地,是目前我国已知的第二深水湖泊,最大水深151 m,湖面高程为1722.5 m,湖泊面积211 km<sup>2</sup>,平均水深87 m。星云湖是抚仙湖上游浅水的一部分,与抚仙湖隔河相连,属珠江流域南盘江水系的源头湖泊,是中度富营养型湖泊,最大水深11 m,湖面高程为1722 m,湖泊面积34.7 km<sup>2</sup>,平均水深7 m,实施抚仙湖-星云湖出

流改道工程后两湖流向为抚仙湖流向星云湖,星云湖与抚仙湖两湖相连,构成一个相连湖泊的微生物生态系统,这在云南九大高原湖泊中具有唯一性,抚仙湖水水质综合为Ⅰ类,星云湖的水质评价是劣Ⅴ类<sup>[4-5]</sup>。抚仙湖和星云湖具有丰富的酵母菌资源和种群多样性<sup>[6]</sup>,研究这两个湖泊中酵母菌胞外酶活性,探讨酵母菌在湖泊有机质的分解和物质循环中的生态作用,可为高原湖泊酵母菌资源的开发和利用奠定基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

#### 1.1.1 菌 株

实验所用抚仙湖酵母菌菌株(506株)和星云湖酵母菌菌株(319株)共825株,均保藏在云南大学云南省微生物研究所。

#### 1.1.2 培 养 基

YM培养基(g/L):酵母膏3.0,蛋白胨5.0,麦芽膏3.0,葡萄糖10.0,琼脂18.0,pH自然,1×10<sup>5</sup>Pa灭菌20min。胞外酶活性检测培养基:蛋白酶检测培养基<sup>[7]</sup>、淀粉酶检测培养基<sup>[8]</sup>、纤维素酶检测培养基<sup>[9]</sup>、脂肪酶检测培养基<sup>[10]</sup>、植酸酶检测培养基<sup>[11]</sup>、几丁质酶检测培养基<sup>[12]</sup>、改良的菊粉酶检测培养基<sup>[13]</sup>(g/L:菊糖20.0,琼脂20.0,pH自然)、漆酶检测培养基<sup>[14]</sup>、木质素过氧化物酶和锰依赖过氧化物酶检测培养基<sup>[15]</sup>及木聚糖酶检测培养基<sup>[16]</sup>,这些胞外酶检测培养基均在1×10<sup>5</sup>Pa灭菌30min。

#### 1.1.3 主要试剂和仪器

Azure B,北京酷来搏科技有限公司;愈创木酚,国药集团化学试剂有限公司;刚果红,广州化学试剂厂;曲利苯蓝,上海化学试剂厂。电子天平,瑞士Mettler Toledo公司;隔水式电热恒温培养箱,上海市跃进医疗器械一厂;立式冷藏柜,青岛海尔特种电冰柜有限公司。

### 1.2 方 法

产胞外酶活性酵母菌的筛选采用平板筛选法<sup>[7-17]</sup>。实验菌株用YM斜面活化,分别点接种在

蛋白酶、脂肪酶、几丁质酶、植酸酶、淀粉酶、菊粉酶、纤维素酶、漆酶、木聚糖酶、锰依赖过氧化物酶和木质素过氧化物酶这11种胞外酶培养基上,然后分别置于5℃和25℃培养21d和5d(锰依赖过氧化物酶和木质素过氧化物酶在25℃培养10d)。在蛋白酶、几丁质酶、植酸酶、木聚糖酶检测培养基上观察到菌落周围有透明圈记录为阳性,即有相应的胞外酶活性;在脂肪酶检测培养基上观察到菌落周围产晕圈的有脂肪酶活性;在菊粉酶检测培养基上观察到菌株生长,即有菊粉酶活性;在漆酶检测培养基上观察到菌落周围的培养基由乳白色变成铁红色或红棕色的具有漆酶活性;在纤维素酶、淀粉酶、锰依赖过氧化物酶和木质素过氧化物酶培养基上观察菌落周围有褪色的为阳性,即有相应的胞外酶活性。

## 2 结果与分析

### 2.1 抚仙湖酵母菌产胞外酶活性筛选结果

抚仙湖506株测试酵母菌菌株产11种胞外酶活性的筛选结果见表1。结果显示,在5℃和25℃,所有抚仙湖酵母菌至少都能产1种胞外酶,其中担子菌酵母375株(占测试菌株的74.1%),类酵母67株(占13.2%),子囊菌酵母62株(占12.3%),未鉴定酵母菌2株(占0.4%)。抚仙湖的酵母菌均具有产胞外菊粉酶的活性,产植酸酶505株(占测试菌株的99.8%),产淀粉酶450株(占88.9%),其次是产脂肪酶357株(占70.5%),产木聚糖酶199株(占39.3%),产纤维素酶184株(占36.3%),产锰依赖过氧化物酶和木质素过氧化物酶、几丁质酶、漆酶和蛋白酶各88株(17.4%)、59株(11.7%)、32株(6.3%)和31株(6.1%)。

在375株测试担子菌酵母中,5℃条件下,29.9%的菌株具有5种及5种以上胞外酶活性,73.7%的菌株至少有3种胞外酶活性;在25℃,24.9%的菌株具有5种及5种以上胞外酶的活性,69.2%的酵母菌株至少能产3种胞外酶。在5℃和25℃,产酶活性菌株的数量为:胞外菊粉酶>植酸

表 1 云南抚仙湖酵母菌产胞外酶活性筛选结果

Table 1 Extracellular enzymatic activities of yeasts isolated from Fuxian Lake, Yunnan

Species	ProA		CelA		AmyA		LipA		XylA		PhyA		ChiA		InuA		LacA		MnpA	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
<b>Ascomycetous</b>																				
<i>Candida xyloposoci</i>			1	1	6	7					7	6			7	7				
<i>Candida sojae</i>			10	13	4	9			5	3	23	21	2	1	23	22				3
<i>Candida silvae</i>									1	1	3	3			3	1				2
<i>Candida tropicalis</i>			1	3		2	2	2	1	1	4	3			4	2				
<i>Debaryomyces hansenii</i>			2		1	2	2	1		1	7	7	1		7	7				
<i>Galactomyces candidum</i>				2		1					2	2			2	2				
<i>Geotrichum silvicola</i>			2	2	1	6	1	1	1	2	8	8			8	8				
<i>Lodderomyces elongisporus</i>			1				1	1			1	1			1	1				1
<i>Pichia kudriavzevii</i>					1						1	1			1					
<i>Torulaspora delbrueckii</i>				1	1				1	1	2	2	1	1	2	2				
<i>Wickerhamomyces anomalus</i>						1					3	3			3	3				
<i>Williopsis californica</i>											1		1		1	1				
<b>Subtotal</b>	0	0	17	23	14	28	6	5	9	9	62	57	5	2	62	56	0	0	0	6
<b>Basidiomycetous</b>																				
<i>Cryptococcus</i> sp.			1	1	1	1	1	1			1	1			1	1				
<i>Cystofilobasidium mmacerans</i>				1	3	3	2	3	1	2	3	3			2	3				
<i>Cutaneotrichosporon moniliiforme</i>					1	1					1	1			1	1				1
<i>Filobasidium chernovii</i>				1	4	4	4	4		1	4	4	1		4	4				2 2
<i>Filobasidium elegans</i>	2	3	3	3	8	8	7	8	3	4	7	8	1	1	8	8				2 1
<i>Filobasidium floriforme</i>			3	3	17	14	17	17	2	5	16	16	3	1	17	17				1 1
<i>Filobasidium uniguttulatum</i>			4	2	6	6	6	6	1	1	6	6	1	1	6	4				
<i>Filobasidium wieringae</i>						1		1	1		1	1			1	1				
<i>Hannaella zeae</i>					2	2	2	2	1	1	2	2		1	2	2				1
<i>Hannaella luteola</i>			1		3	3	3	3		1	3	3		1	3	3				
<i>Leucosporidium scottii</i>					1	1		1			1	1			1	1				
<i>Naganishia albida</i>			12	12	31	31	13	25	7	7	32	32	1	2	32	32				6 4
<i>Naganishia diffluens</i>					2	2	2	1			2	2			2	2				
<i>Naganishia friedmannii</i>	1	1	10	12	24	24	27	26	8	4	26	27	1	2	27	27		1	2	3
<i>Naganishia globosa</i>	1	1	9	11	23	23	20	23	4	6	24	24	3	3	24	24				3 1
<i>Naganishia liquefaciens</i>				1	1	1	1	1			1	1			1	1				
<i>Naganishia uzbekistanensis</i>			1	2	2	2	1	2	1		2	2		1	2	2				1

(待续)

(续表 1)

<i>Papiliotrema flavescens</i>	1	4	1	12	12	10	12	2	3	12	10	2	12	12	2					
<i>Papiliotrema laurentii</i>		1		1	1	1	1			1	1		1	1					1	
<i>Pseudozyma fusiformata</i>		1		1	1	1	1			1	1		1	1						
<i>Rhodotorula alborubescens</i>					1		2			2	2		2	2						
<i>Rhodotorula diobovata</i>		3	2	3	3	8	8	2	3	9	9	2	1	9	9				1	
<i>Rhodotorula glutinis</i>	1	5	4	6	10	8	7	3	1	11	11	1	1	11	11				3	
<i>Rhodotorula graminis</i>	1		4	2	7	11	13	14	5	3	14	14	1	2	14	14	1	2	4	
<i>Rhodotorula kratochvilovae</i>				1		1	1	1		1	1			1	1					
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	2	5	70	50	91	150	48	67	43	45	160	162	5	8	164	162		2	20	10
<i>Rhodotorula paludigena</i>	1		2	2	2	3	6	6	2	1	6	6	1		6	6			1	
<i>Rhodotorula slooffiae</i>				1		1	1	1		1	1		1	1	1					
<i>Rhodotorula taiwanensis</i>						1	1			1	1			1	1					
<i>Rhodotorula toruloides</i>		3	3	3	6		4	2	2	7	7			7	7				1	
<i>Rhodospiridiobolus fluvialis</i>		1	1	1	2	2	1		1	2	2			2	2				1	1
<i>Rhodospiridiobolus ruineniae</i>										1	1				1					
<i>Sampaiozyma ingeniosa</i>				1	1	1	1			1	1	1		1	1					
<i>Trichosporon gracile</i>			1	1	1	1	1			1	1			1	1					
<i>Udeniomyces pyricola</i>				1						1	1			1	1					
<i>Vanrija fragicola</i>		1	1	1	1	1	1	1		1	1			1	1				1	
<i>Vishniacozyma carescens</i>		1		1	1	1	1	1	1	1	1			1	1					
<i>Vishniacozyma heimaeyensis</i>				2	2	2	2			2	2			2	2					
<b>Subtotal</b>	6	11	140	116	264	334	212	256	92	92	368	370	24	26	435	371	1	3	48	31
<b>Yeast-like</b>																				
<i>Aureobasidium proteae</i>	1	1	3		5	5	5	5	3	1	5	5		4	5		1		1	
<i>Aureobasidium pullulans</i>	7	5	31	27	61	51	60	59	17	7	62	58	3	3	62	60		26	2	7
<b>Subtotal</b>	8	6	34	27	66	56	65	64	20	8	67	63	3	3	66	65	0	27	2	8
<b>Unidentified</b>			1	1	1	1	2		1	1	2			2	1	1				
<b>Total number of positive strains</b>	14	17	191	167	345	419	284	327	121	110	498	492	32	31	503	493	2	30	50	45

Note: ProA: Proteinase activity; CelA: Cellulase activity; AmyA: Amylase activity; LipA: Lipase activity; XylA: Xylanase activity; PhyA: Phytase activity; ChiA: Chitinase activity; InuA: Inulase activity; LacA: Laccase activity; MnpA: Manganese-dependent peroxidase and lignin peroxidase activity. A: 25 °C; B: 5 °C.

酶>淀粉酶>脂肪酶>纤维素酶>木聚糖酶>锰依赖过氧化物酶和木质素过氧化物酶>几丁质酶>蛋白酶>漆酶；产酶种类较多的活性菌株种群主要为禾本红酵母(*Rh. graminis*)、胶红酵母(*Rh. mucilaginosa*)、*Rh. diobovata*、*Naganishia albida*、*Naganishia*

*friedmannii*<sup>[18-19]</sup>和花状线黑粉酵母(*F. floriforme*)。

在 62 株测试的子囊菌酵母(9 个属 12 个种)中, 5 °C 条件下, 只有 1 株酱油假丝酵母(*Candida sojae*)能产 5 种及 5 种以上的胞外酶, 约 8.1% 的酵母菌至少能产 3 种胞外酶; 在 25 °C, 汉逊德巴利

酵母(*Debaryomyces hansenii*)、酱油假丝酵母(*C. sojae*)和热带假丝酵母(*C. tropicalis*)各有 1 株能产 5 种及 5 种以上的胞外酶,约 7.3%的菌株至少能产 3 种胞外酶;未筛选到产胞外蛋白酶和漆酶的子囊菌酵母。

67 株测试类酵母种群分布在出芽短梗霉(*Aureobasidium pullulans*)和产酶短梗霉(*Aureobasidium proteae*)。在 5 °C 或 25 °C,所有类酵母菌都至少具有 3 种及 3 种以上胞外酶活性;5 °C 条件下 27 株类酵母菌具有漆酶活性,约 8.3%的类酵母菌具有 5 种及 5 种以上胞外酶活性;在 25 °C,未筛选到产漆酶的菌株,9.0%的酵母菌株能产 5 种及 5 种以上的胞外酶。类酵母菌主要产胞外淀粉酶、脂肪酶、植酸酶和菊粉酶。

在抚仙湖酵母菌胞外酶筛选的研究中发现,产胞外酶活性的菌株主要以担子菌酵母为主,其次为子囊菌酵母;种群主要以 *Naganishia* 属、红酵母属(*Rhodotorula*)、黑葱花酵母属(*Filobasidium*)和短梗霉属(*Aureobasidium*)为主;筛选到 3 株(禾本红酵母 *Rh. graminis*、*N. albida* 和虫生线黑粉酵母 *F. elegans*)能产 8 种胞外酶的菌株。

## 2.2 星云湖酵母菌产胞外酶活性筛选结果

对星云湖 319 株 15 属 38 种酵母菌株进行了 11 种胞外酶活性的筛选,筛选结果见表 2,所有的测试酵母菌在 25 °C 和 5 °C 至少都能产 1 种胞外酶。产胞外酶的活性菌株中,担子菌酵母 253 株(占总测试菌株的 79.3%),子囊菌酵母 59 株(占 18.5%),类酵母 7 株(占 2.2%)。星云湖酵母菌产胞外酶活性菌株分别有:菊粉酶 318 株(占测试菌株的 99.7%)、植酸酶 317 株(占 99.4%)、淀粉酶 295 株(占 92.5%)、脂肪酶 249 株(占 78.1%)、纤维素酶 143 株(占 44.8%)、木聚糖酶 135 株(占 42.3%)、锰依赖过氧化物酶和木质素过氧化物酶 49 株(占 15.4%)、几丁质酶 27 株(8.5%)和蛋白酶 11 株(3.4%),未筛选到产胞外漆酶的菌株。

在 5 °C,担子菌酵母中 37.5%的菌株能产 5 种

及 5 种以上的胞外酶,97.6%的菌株至少产 3 种胞外酶;在 25 °C,产 5 种及 5 种以上胞外酶的菌株占总测试酵母菌株的 36.3%,96.8%的担子菌酵母至少产 3 种胞外酶。整体来看,星云湖的担子菌酵母在 5 °C 产淀粉酶、脂肪酶、植酸酶、锰依赖过氧化物酶和木质素过氧化物酶的活性菌株多于 25 °C;25 °C 产蛋白酶、纤维素酶、木聚糖酶和几丁质酶的活性菌株多于 5 °C。胶红酵母(*Rh. mucilaginosa*)、*N. albida*、花状线黑粉酵母(*F. floriforme*)和指甲线黑粉酵母(*F. uniguttulatum*)的菌株不仅在测试菌株的种群分布上占优势,也是产胞外酶活性菌株的优势种群。在 5 °C,子囊菌酵母中的近平滑假丝酵母(*C. parapsilosis*)、*Candida saopaulonensis* 和 *Pichia occidentalis* 各有 1 株具有 5 种及 5 种以上胞外酶的活性,55.9%的酵母菌至少具有 3 种胞外酶活性;在 25 °C,桔假丝酵母(*C. quercitrusa*)、热带假丝酵母(*C. tropicalis*)、异常威克汉姆酵母(*W. anomalus*)和 *Pichia occidentalis* 分别有 1 株能产 5 种及 5 种以上的胞外酶,77.9%的子囊菌酵母至少能产 3 种胞外酶。子囊菌酵母在 5 °C 和 25 °C 产菊粉酶和植酸酶的活性菌株较多,其他依次为淀粉酶、木聚糖酶、纤维素酶、脂肪酶、几丁质酶、锰依赖过氧化物酶和木质素过氧化物酶;产胞外蛋白酶的仅有 1 株库德毕赤酵母(*P. kudriavzevii*);子囊菌酵母均不具有漆酶活性。类酵母菌能产胞外植酸酶、淀粉酶、纤维素酶、菊粉酶、脂肪酶、木聚糖酶和蛋白酶。

星云湖产胞外酶活性菌株的种群主要为担子菌酵母 *Naganishia* 属和黑葱花酵母属(*Filobasidium*)的各 2 个种,*Papiliotrema* 属的 *Papiliotrema flavescens*,红酵母属(*Rhodotorula*)的 4 个种,*Rhodospordiobolus* 属的 3 个种;子囊菌酵母的近平滑假丝酵母(*C. parapsilosis*)、汉逊德巴利酵母(*D. hansenii*)、白色半乳糖霉(*Galactomyces candidum*)、*Meyerozyma guilliermondii*、*Pichia occidentalis*、库德毕赤酵母(*P. kudriavzevii*)和异常威克汉姆酵母(*W. anomalus*)。

表2 云南星云湖酵母菌产胞外酶活性筛选结果

Table 2 Extracellular enzymatic activities of yeasts isolated from Xingyun Lake, Yunnan

Species	ProA		CelA		AmyA		LipA		XylA		PhyA		ChiA		InuA		LacA		MnpA	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
<b>Ascomycetous</b>																				
<i>Candida catenulata</i>			1		2	1		1			3	3			3	3				
<i>Candida quercitrusa</i>			1		1	1			1		1	1			1	1				
<i>Candida mengyuniiae</i>					1						1	1			1					
<i>Candida parapsilosis</i>				1	1	2	1	2	1	1	3	3	1		3	3				
<i>Candida railenensis</i>									1		1	1			1	1				
<i>Candida rugosa</i>					1	1		1	1		1				1	1				
<i>Candida saopaulonensis</i>			1		1	1					1	1			1	1				1
<i>Candida sorboxylosa</i>					1						1	1			1					1
<i>Candida tropicalis</i>			2	1	1						2	2			2					
<i>Debaryomyces hansenii</i>			1	1	2	2					2	2			2	2				
<i>Galactomyces candidum</i>			1	2		2					2	2			2	2				
<i>Hanseniaspora uvarum</i>					1	1			1	1		1			1	1				
<i>Meyerozyma guilliermondii</i>					2	2			1	2	2	2			1	2				
<i>Pichia caribbica</i>							1				1	1			1	1				
<i>Pichia fermentan</i>					1				1		1	1			1	1				
<i>Pichia kluyveri</i>						2					2	1	1		2	1				
<i>Pichia kudriavzevii</i>	1		1		3	2		3	1	3	9	6	1		9	4				
<i>Pichia occidentalis</i>			1		5	5		1	3	1	9	9	1		9	6			1	2
<i>Wickerhamomyces anomalus</i>			5		9	9	1	1	3	2	16	13	2	1	16	15				
<b>Subtotal</b>	1	0	14	5	32	31	3	9	14	10	58	51	6	1	58	45	0	0	1	4
<b>Basidiomycetous</b>																				
<i>Cryptococcus kuetzingii</i>				1	3	3	3	3	1		3	3			3	3				1
<i>Filobasidium chernovii</i>			1		1	1	1	1	1		1	1			1	1				
<i>Filobasidium floriforme</i>	2	2	11	6	26	26	26	27	10	9	22	25	1	1	26	26			6	3
<i>Filobasidium uniguttulatum</i>			9	10	22	24	22	22	9	7	24	23	1	2	20	20			2	2
<i>Naganishia albida</i>	1	1	14	6	33	34	22	26	5	7	35	35	2	1	36	36			2	6
<i>Naganishia liquefaciens</i>			3	1	4	4	4	4		4	4	4			4	4			1	
<i>Papiliotrema flavescens</i>			2	2	8	8	7	8	3		7	7	1	1	8	8				1
<i>Papiliotrema rajasthanensis</i>					1	1	1	1			1	1			1	1				
<i>Pseudozyma aphidis</i>					1	1	1	1			1	1			1	1				
<i>Rhodotorula glutinis</i>			1	1	3	4	4	4		1	4	4	1		4	4				
<i>Rhodotorula kratochvilovae</i>			1		1	1		1			1	1			1	1				
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	2		55	33	100	116	48	113	38	24	131	134	4	5	132	132			10	10

(待续)

(续表 2)																	
<i>Rhodotorula slooffiae</i>	1	2	1	2	2			2	2			2	2				1
<i>Rhodosporidiobolus fluvialis</i>	1	1	1	1	1			1	1	1			1				
<i>Rhodosporidiobolus nylandii</i>			2	1				1	2	1			2	2			1
<i>Rhodosporidiobolus ruineniae</i>					1	1	1		1				1	1			
<i>Sampaiozyma vanillica</i>		1	1	1	1	1			1	1			1	1			
<i>Vishniacozyma foliicola</i>			1	2	2	2			2	2			2	2			
<b>Subtotal</b>	5	3	99	61	210	230	146	218	68	54	242	251	10	10	246	245	22 24
<b>Yeast-like</b>																	
<i>Aureobasidium pullulans</i>	3	0	3	2	6	6	6	6	2	4	6	7			7	7	
<b>Subtotal</b>	3	0	3	2	6	6	6	6	2	4	6	7	0	0	7	7	0 0 0 0
<b>Total number of positive strains</b>	9	3	116	68	248	267	155	233	86	69	306	309	16	11	311	297	0 0 25 28

Note: ProA: Proteinase activity; CelA: Cellulase activity; AmyA: Amylase activity; LipA: Lipase activity; XylA: Xylanase activity; PhyA: Phytase activity; ChiA: Chitinase activity; InuA: Inulase activity; LacA: Laccase activity; MnpA: Manganese-dependent peroxidase and lignin peroxidase activity. A: 25 °C; B: 5 °C.

从星云湖酵母菌中筛选到 2 株能产 8 种胞外酶的菌株，分别是指甲线黑粉酵母(*F. uniguttulatum*)和 *N. albida*。

### 2.3 抚仙湖和星云湖酵母菌产胞外酶活性菌株的比较

如图 1 所示，在 5 °C 和 25 °C，酵母菌产酶活性菌株占测试菌株百分比情况如下：产菊粉酶和植酸酶的最高，其次是产淀粉酶>脂肪酶>纤维素酶>木聚糖酶>锰依赖过氧化物酶和木质素过氧化物酶>几丁质酶>蛋白酶，星云湖未筛选到产漆酶的酵母菌菌株；抚仙湖和星云湖酵母菌产菊粉酶、植

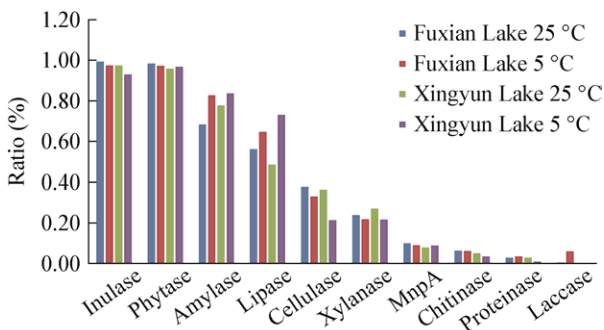


图 1 抚仙湖和星云湖酵母菌活性菌株占测试菌株的百分比

Figure 1 Percentages of active yeasts strains from Fuxian Lake and Xingyun Lake

酸酶、木聚糖酶、几丁质酶的菌株比例相差不大；星云湖酵母菌产淀粉酶的比例稍高于抚仙湖；抚仙湖产纤维素酶、漆酶、锰依赖过氧化物酶和木质素过氧化物酶的百分比略高于星云湖。在 5 °C，抚仙湖产蛋白酶活性菌株的比例高于星云湖，而产脂肪酶的比例低于星云湖；在 25 °C 条件下抚仙湖产脂肪酶的比例则高于星云湖。

从种群来看，星云湖产 5 种以上胞外酶的种有桔假丝酵母(*C. quercitrusa*)、近平滑假丝酵母(*C. parapsilosis*)、*Candida saopaulonensis*、*Pichia occidentalis*、*Cryptococcus kuetzingii*、*Sampaiozyma vanillica*、*Rhodosporidiobolus ruineniae* 和 *Rhodosporidiobolus nylandii* 共 8 个种；抚仙湖为酱油假丝酵母(*C. sojae*)、*Vishniacozyma carnescens*、*Hannaella luteola*、*N. globosa*、*Cryptococcus* sp.、*Cystofilobasidium mmacerans*、虫生线黑粉酵母(*F. elegans*)、玉米汉纳酵母(*Hannaella zeae*)、梭形假溢酵母(*Pseudozyma fusiformata*)、禾本红酵母(*Rh. graminis*)、*Rh. diobovata*、*Rh. paludigena*、*Rh. toruloides*、*Sampaiozyma ingeniosa*、细长丝孢酵母(*T. gracile*)和产酶短梗霉(*A. proteae*)共 15 个种和 *Cryptococcus* sp.。两个湖泊产 8 种胞外酶的菌



株种群各有异同,星云湖为指甲线黑粉酵母(*F. uniguttulatum*)和 *N. albida*,抚仙湖为禾本红酵母(*Rh. graminis*)、*N. albida* 和虫生线黑粉酵母(*F. elegans*),*N. albida* 是 2 个湖泊共同的种。抚仙湖产漆酶的菌株有 *N. friedmannii*、禾本红酵母(*Rh. graminis*)、胶红酵母(*Rh. mucilaginosa*)、产酶短梗霉(*A. proteae*)和出芽短梗霉(*A. pullulans*);星云湖的测试菌株中也有胶红酵母(*Rh. mucilaginosa*)和出芽短梗霉(*A. pullulans*)的菌株,但都不具有产漆酶的活性。综上所述,抚仙湖和星云湖酵母菌产胞外酶活性菌株具有共性,也有其独特性,呈现出丰富的多样性。

### 3 讨论

#### 3.1 抚仙湖和星云湖与其他高原湖泊酵母菌产酶活性菌株的比较

阿根廷学者 Brandão 等<sup>[20]</sup>对阿根廷纳罕布什尔州韦尔瓦皮湖进行了酵母菌多样性和产 5 种胞外酶活性的研究,结果表明 82%的菌株在 5 °C 和 20 °C 下至少产 1 种胞外酶,72.4%的担子菌酵母和 24.8%的子囊菌酵母产胞外酶,产胞外酶活性菌株的情况为:脂肪酶(占总菌株 71.8%)>纤维素酶(53.0%)>果胶酶(42.9%)>淀粉酶(26.8%)>蛋白酶(22.1%)。子囊菌酵母主要产脂肪酶和纤维素酶,出芽短梗霉(*A. Pullulans*)菌株产 5 种胞外酶,担子菌酵母中的隐球酵母属菌株在两种温度下至少产 1 种胞外酶,隐球酵母属和红酵母属主要产脂肪酶和纤维素酶。抚仙湖和星云湖酵母菌株至少都能产 1 种胞外酶,80%以上的酵母种能产 4 种(含 4 种)以上胞外酶;两个湖泊产纤维素酶、脂肪酶、淀粉酶和蛋白酶的活性菌株分布情况为:淀粉酶>脂肪酶>纤维素酶>蛋白酶,即云南抚仙湖和星云湖的酵母菌产淀粉酶的活性菌株居首位,产蛋白酶的活性菌株比例明显减少,而韦尔瓦皮湖的酵母菌产脂肪酶的活性菌株最多;从酵母种群来看,抚仙湖和星云湖的酵母菌群与韦尔瓦皮湖的酵母种群相同的种仅为 8 个。这些结果表明由于湖泊中酵母

菌的多样性导致了产胞外酶的差异。

与云南阳宗海湖和程海湖的酵母菌产胞外酶的活性比较,抚仙湖和星云湖产胞外酶的种群和数量都比阳宗海湖<sup>[21]</sup>和程海湖<sup>[22]</sup>多,共同特点是产胞外淀粉酶和脂肪酶的活性菌株较多,这可能是酵母菌对不同类型湖泊的应答能力所决定的,从另一方面也反映出酵母菌参与了湖泊生态系统的循环。

#### 3.2 抚仙湖和星云湖产酶活性菌株的特点及潜在的应用价值

##### 3.2.1 抚仙湖和星云湖产胞外酶活性菌株的种群特点

两个湖泊中产胞外菊粉酶、淀粉酶、植酸酶和脂肪酶的菌株主要是胶红酵母(*Rh. mucilaginosa*)、出芽短梗霉(*A. pullulans*)和 *N. albida*;产锰依赖过氧化物酶和木质素过氧化物酶的菌株主要是胶红酵母(*Rh. mucilaginosa*)和 *N. albida*;抚仙湖具有漆酶活性的菌株分布于出芽短梗霉(*A. pullulans*)、胶红酵母(*Rh. mucilaginosa*)、*N. friedmannii*、禾本红酵母(*Rh. graminis*)和产酶短梗霉(*A. proteae*),星云湖没有筛选到具有漆酶活性的菌株;产胞外纤维素酶的菌株分布于 35 个种;产 8 种胞外酶活性的菌株,抚仙湖是禾本红酵母(*Rh. graminis*)、*N. albida* 和虫生线黑粉酵母(*F. elegans*),星云湖是指甲线黑粉酵母(*F. uniguttulatum*)和 *N. albida*。从以上结果看出,胶红酵母(*Rh. mucilaginosa*)、*N. albida* 和出芽短梗霉(*A. pullulans*)是湖泊常见的产胞外酶活性的酵母菌株。结果表明这些活性菌株具有较强的生态学功能,是酵母菌适应高原湖泊这一特殊环境的一种表现。抚仙湖的胶红酵母(*Rh. mucilaginosa*)和出芽短梗霉(*A. pullulans*)具有胞外漆酶活性,但星云湖所有测试的胶红酵母(*Rh. mucilaginosa*)和出芽短梗霉(*A. pullulans*)都不具有漆酶活性,这表明即使是同一种酵母菌,在不同营养类型的湖泊生态系统中所具有的生物活性也会有所不同,这可能是由于各个湖泊生态环境所特有的生物因子与非生物因子共同作用的结果。

抚仙湖属贫营养型湖泊,水质综合为Ⅰ类;星云湖水质为劣Ⅴ类<sup>[4]</sup>,是富营养湖泊。营养物质对酶的活性具有极其重要的调节作用,一般认为在水生生态系统中有机营养物质的输入会诱导微生物合成分泌更多的酶,而作为酶解产物的无机营养物质的增多会抑制酶的活性,即存在所谓的“抑制-诱导”机制调节酶的活性<sup>[23]</sup>。本研究发现抚仙湖酵母菌产5种及5种以上胞外酶的百分比低于星云湖,说明湖泊的营养类型造成两个湖泊酵母菌产酶的差异。

研究表明,5℃条件下酵母菌产胞外酶的种类及产酶活性菌株数均高于25℃,这可能是由于它们自身进行新陈代谢来适应低温环境,可以推测酵母菌对抚仙湖和星云湖中有机物质的降解和营养物质的循环起着重要的生态作用,且在低温湖泊生态环境的保护及修复方面可能具有潜在价值。

### 3.2.2 抚仙湖和星云湖产胞外酶活性菌株的潜在应用价值

酵母菌是湖泊微生物群落结构和食物链的重要组成部分,在湖泊生态系统中可作为分解者,这是因为酵母菌能分泌产生胞外酶,将某些不能被菌体直接利用的大分子物质(如糖类、蛋白质、脂类等)转化成小分子物质供菌体吸收利用。酵母菌所具有的降解大分子物质的能力,证实了它在湖泊生态系统中的C、N元素及其他元素循环、营养物质的循环及有机物的矿化过程中扮演了很重要的角色。

从自然环境中分离到的许多酵母菌能降解和转化各种各样的有机物质,如脂肪、蛋白质、纤维素、木质素、几丁质、植酸、木聚糖等,这是由于它们能产生相应的胞外酶,这些胞外酶被广泛应用于食品加工、生物燃料生产、洗涤剂生产、药品制造、环境保护等领域<sup>[24-27]</sup>。从抚仙湖和星云湖酵母菌产酶活性菌株的情况来看,它们所产的11种胞外酶覆盖了以上领域。值得指出的是两个湖泊的酵母菌在5℃条件下的脂肪酶活性较高且活性菌株数较多,这些菌株可以作为低温脂肪酶的来源,

由于微生物产生的脂肪酶具有生产应用价值,在大规模的加工过程中使用低温脂肪酶,能帮助减少能源消耗,这些胞外脂肪酶可以应用在乳品行业和洗涤剂的生产中<sup>[28-29]</sup>;胞外脂肪酶还可用于水产养殖业,将养殖过程中产生的排泄物、残渣快速分解成可利用的小分子物质,促进养殖水体的生态良性循环。另一方面,两个湖泊中得到了木质素降解酶系(锰依赖过氧货物酶、木质素过氧货物酶和漆酶)的菌株,木质素降解酶系能直接或间接降解许多高浓度有毒有害的有机物质,如染料、酚类、多环芳香烃等,由于它们能降解污染物和一些非特异性的物质,近几年来对它们的研究很广泛。产木质素降解酶系酵母菌可用于污水和农业废弃物的处理,保护环境<sup>[30]</sup>。漆酶主要存在于一些大型的担子菌和子囊菌中,产漆酶的酵母菌非常少。本次研究获得的产漆酶菌株有32株,主要为出芽短梗霉(*A. pullulans*),其次是胶红酵母(*Rh. mucilaginosa*),再者是*N. friedmannii*、禾本红酵母(*Rh. graminis*)和产酶短梗霉(*A. proteae*),这些菌株有进一步的研究价值。

综上所述,在抚仙湖和星云湖中有应用价值的产胞外酶酵母菌资源丰富,特别是产胞外酶活性较强或产漆酶的菌株如胶红酵母(*Rh. mucilaginosa*)、*N. albida*、出芽短梗霉(*A. pullulans*)、禾本红酵母(*Rh. graminis*)、虫生线黑粉酵母(*F. elegans*)和指甲线黑粉酵母(*F. uniguttulatum*),后期需要进一步的系统研究,可为开发利用高原湖泊的酶资源提供良好的种质资源。

## 4 结论

高原湖泊抚仙湖和星云湖栖息着丰富的产胞外酶的酵母菌,假丝酵母属(*Candida*)、*Naganishia*属、红酵母属(*Rhodotorula*)、*Papiliotrema*属、短梗霉属(*Aureobasidium*)和黑葱花酵母属(*Filobasidium*)为主要的产酶菌种;抚仙湖和星云湖产胞外酶的酵母菌株有重要的潜在应用价值,可在将来的研究中进一步开发,湖泊中酵母菌的多样性导致了产胞外酶种

类的差异,说明胞外酶的催化降解作用是有机质整个分解过程中的初始步骤和限制性步骤,它们在整个生态系统的物质循环和能量转化过程中起着非常重要的作用。由此推断抚仙湖和星云湖的酵母菌参与了湖泊生态系统的物质循环与能量流动,具有重要的生态学功能与作用。

## REFERENCES

- [1] Barettebekker JG, Baretta JW, Hansen AS, et al. An improved model of carbon and nutrient dynamics in the microbial food web in marine enclosures[J]. *Aquatic Microbial Ecology*, 1998, 14(1): 91-108
- [2] Zeng YX, Chen B. Progress and application prospects in the study on antarctic cold-adapted microorganisms[J]. *Chinese Journal of Polar Research*, 1999, 11(2): 143-152 (in Chinese)  
曾胤新, 陈波. 南极低温微生物研究及其应用前景[J]. *极地研究*, 1999, 11(2): 143-152
- [3] Zaky AS, Tucker GA, Daw ZY, et al. Marine yeast isolation and industrial application[J]. *Federation of European Microbiological Societies Yeast Research*, 2014, 14(6): 813-825
- [4] Yang JL, Li J, Li JW, et al. Summarize on the research of the hydro-bios and aquatic environment in Fuxian Lake and Xingyun Lake[J]. *Yunnan Geographic Environment Research*, 2012, 24(2): 98-102 (in Chinese)  
杨加林, 李杰, 李经纬, 等. 抚仙湖-星云湖水生生物与水环境研究综述[J]. *云南地理环境研究*, 2012, 24(2): 98-102
- [5] Xu JY, Zhao XF, Lü CY, et al. Characteristics of water environment and comprehensive improvement research of pollution prevention in Plateau Lake basin[J]. *Environmental Science and Management*, 2015, 40(3): 49-52 (in Chinese)  
许杰玉, 赵晓飞, 吕春英, 等. 高原湖泊流域水环境特征与污染防治综合整治研究[J]. *环境科学与管理*, 2015, 40(3): 49-52
- [6] Guo XF, Li ZY, Dong MH, et al. Spatial dynamics of yeast community and its relationship to environmental factors in Lake Fuxian, Yunnan Province[J]. *Journal of Lake Science*, 2016, 28(2): 358-369 (in Chinese)  
郭小芳, 李治滢, 董明华, 等. 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[J]. *湖泊科学*, 2016, 28(2): 358-369
- [7] Chen R, Guan SS, Lü GZ, et al. Preliminary screening of protease-producing *Mucor* strain[J]. *Journal of Microbiology*, 2008, 28(1): 101-104 (in Chinese)  
陈嵘, 关珊珊, 吕国忠, 等. 产蛋白酶毛霉菌株的初步筛选[J]. *微生物学杂志*, 2008, 28(1): 101-104
- [8] Wang XH, Chi ZM. Isolation and identification of amylase-producing marine yeasts[J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2007, 37(S2): 95-100 (in Chinese)  
王晓红, 池振明. 产淀粉酶海洋酵母菌的筛选及鉴定[J]. *中国海洋大学学报: 自然科学版*, 2007, 37(S2): 95-100
- [9] Zhang L, Chi ZM. Screening and identification of a cellulase producing marine yeast and medium fermentation condition optimization for cellulase production[J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2007, 37(S2): 101-108 (in Chinese)  
张亮, 池振明. 1株产纤维素酶海洋酵母菌的筛选、鉴定及发酵条件优化[J]. *中国海洋大学学报: 自然科学版*, 2007, 37(S2): 101-108
- [10] Song W, Jiang LJ, Shen AR, et al. Isolation of lipase yeast strains and their induction with ultraviolet radiation[J]. *Journal of Central South University of Forestry & Technology*, 2009, 29(3): 55-59 (in Chinese)  
宋炜, 蒋丽娟, 申爱荣, 等. 高产脂肪酶酵母菌株的分离筛选及紫外诱变[J]. *中南林业科技大学学报*, 2009, 29(3): 55-59
- [11] Lata S, Rastogi S, Kapoor A, et al. Influence of culture conditions on production of phytase by *Zygosaccharomyces bailii* var. *bailii*. [J]. *Journal of Environmental Biology*, 2015, 36(4): 947-954
- [12] Hui FL, Feng JR, Yang KJ, et al. Screening and identification of chitinase-producing yeast[J]. *Journal of Northeast Forestry University*, 2007, 35(8): 66-67 (in Chinese)  
惠丰立, 冯金荣, 杨柯金, 等. 产几丁质酶酵母菌的筛选与鉴定[J]. *东北林业大学学报*, 2007, 35(8): 66-67
- [13] Wang GY, Song AR, Chen GJ. Screening and identification of yeast strains producing inulinases[J]. *Journal of Microbiology*, 2006, 26(4): 39-41 (in Chinese)  
王光远, 宋爱荣, 陈冠军. 产菊粉酶酵母菌株的筛选及菌种鉴定[J]. *微生物学杂志*, 2006, 26(4): 39-41
- [14] Zheng XB, Guo LQ, Fu XY, et al. Optimization of laccase production conditions of a newly isolated *Trichoderma* spp. strain LaTr01 from southern China[J]. *Chinese Journal of Bioprocess Engineering*, 2007, 5(4): 19-24 (in Chinese)  
郑晓冰, 郭丽琼, 付小燕, 等. 木霉 LaTr 01 菌株产漆酶发酵的条件[J]. *生物加工过程*, 2007, 5(4): 19-24
- [15] Cai L, Yin JF, Yang LP, et al. Several qualitative methods for the screening of fungi to decompose lignin[J]. *Microbiology China*, 2002, 29(1): 67-69 (in Chinese)  
蔡磊, 尹峻峰, 杨丽萍, 等. 几种简便的木质素降解真菌定性筛选方法[J]. *微生物学通报*, 2002, 29(1): 67-69
- [16] Zhang JZ, Pang ZW, Liang JJ, et al. The biosynthesis of xylanase by *Aureobasidium pulluans* XYE-7[J]. *Modern Food Science & Technology*, 2007, 23(1): 12-14 (in Chinese)  
张建珍, 庞宗文, 梁静娟, 等. 影响出芽短梗霉 XYE-7 木聚糖酶生物合成的条件[J]. *现代食品科技*, 2007, 23(1): 12-14
- [17] Zhou XL, Li ZY, Yang LY, et al. Identification of yeasts isolation of Chenghai Lake, a plateau lake in Yunnan province[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2011, 51(4): 547-553 (in Chinese)  
周新丽, 李治滢, 杨丽源, 等. 云南程海湖酵母菌多样性及应用[J]. *微生物学报*, 2011, 51(4): 547-553
- [18] Wang QM, Yurkov AM, Göker M, et al. Phylogenetic classification of yeasts and related taxa within *Pucciniomycotina*[J]. *Studies in Mycology*, 2015, 81: 149-189
- [19] Liu XZ, Wang QM, Göker M, et al. Towards an integrated phylogenetic classification of the *Tremellomycetes*[J]. *Studies in Mycology*, 2015, 81: 85-147
- [20] Brandão LR, Libkind D, Vaz ABM, et al. Yeasts from an oligotrophic lake in Patagonia (Argentina): diversity,

- distribution and synthesis of photoprotective compounds and extracellular enzymes[J]. Federation of European Microbiological Societies Microbiology Ecology, 2011, 76(1): 1-13
- [21] Yan YP, Li ZY, Dong MH, et al. Yeasts from Yangzonghai Lake in Yunnan (China): diversity and extracellular enzymes[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2013, 53(11): 1205-1212 (in Chinese)  
严亚萍, 李治滢, 董明华, 等. 云南阳宗海酵母菌种群结构及胞外酶活性[J]. 微生物学报, 2013, 53(11): 1205-1212
- [22] Li ZY, Zhou XL, Zhou B, et al. Diversity and extracellular enzymes of yeasts from Chenghai Lake in winter[J]. Mycosystema, 2017, 36(2): 177-185 (in Chinese)  
李治滢, 周新丽, 周斌, 等. 云南程海湖冬季酵母菌多样性及胞外酶活性研究[J]. 菌物学报, 2017, 36(2): 177-185
- [23] Huang RZ. Study on temporal and spatial variation, influence factors of the extracellular enzymes activity from water column and sediment in Erhai Lake[D]. Nanchang: Master's Thesis of Nanchang University, 2012 (in Chinese)  
黄睿智. 洱海水体及沉积物酶活性的时空变化及其影响因素的研究[D]. 南昌: 南昌大学硕士学位论文, 2012
- [24] Molnárová J, Vadkertiová R, Stratilová E. Extracellular enzymatic activities and physiological profiles of yeasts colonizing fruit trees[J]. Journal of Basic Microbiology, 2014, 54(S1): S74-S84
- [25] Alcaíno J, Cifuentes V, Baeza M. Physiological adaptations of yeasts living in cold environments and their potential applications[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2015, 31(10): 1467-1473
- [26] Loperena L, Soria V, Varela H, et al. Extracellular enzymes produced by microorganisms isolated from maritime Antarctica[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2012, 28(5): 2249-2256
- [27] Chi ZM, Chi Z, Zhang T, et al. Production, characterization and gene cloning of the extracellular enzymes from the marine-derived yeasts and their potential applications[J]. Biotechnology Advances, 2009, 27(3): 236-255
- [28] Brizzio S, Turchetti B, de García V, et al. Extracellular enzymatic activities of basidiomycetous yeasts isolated from glacial and subglacial waters of northwest Patagonia (Argentina)[J]. Canadian Journal of Microbiology, 2007, 53(4): 519-525
- [29] Carrasco M, Rozas JM, Barahona S, et al. Diversity and extracellular enzymatic activities of yeasts isolated from King George Island, the sub-Antarctic region[J]. BMC Microbiology, 2012, 12: 251
- [30] Yang QX, Hao Z, Li XL, et al. Extracellular enzyme production and phylogenetic distribution of yeasts in wastewater treatment systems[J]. Bioresource Technology, 2013, 129: 264-273

## 征 稿 简 则

### 1 刊物简介与栏目设置

《微生物学通报》是由中国科学院微生物研究所和中国微生物学会主办的, 以微生物学应用基础研究及技术创新与应用为主的综合性学术期刊。刊登内容包括: 工业、海洋、环境、基础、农业、食品、兽医、水生、药物、医学微生物学和微生物蛋白质组学、功能基因组、工程与药物等领域的最新研究成果、产业化新技术和新进展, 以及微生物学教学研究改革等。设置的栏目有: 研究报告、专论与综述、生物实验室、高校教改纵横、专栏等。

### 2 投稿方式

投稿时请登陆我刊主页 <http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn>, 点击作者投稿区, 第一次投稿请先注册, 获得用户名和密码, 然后依照提示提交稿件, 详见主页“投稿须知”。

### 3 写作要求

3.1 来稿要求论点明确, 数据可靠, 简明通顺, 重点突出。

3.2 英文摘要写作注意事项: (1) 建议使用第一人称, 以此可区分研究结果是引用文献还是作者所得; (2) 建议用主动语态, 被动语态表达拖拉模糊, 尽量不用, 这样可以避免长句, 以求简单清晰; (3) 建议使用过去时态, 要求语法正确, 句子通顺; (4) 英文摘要的内容应与中文摘要一致, 但可比中文摘要更详尽, 写完后务必请英文较好且专业知识强的专家审阅定稿后再返回编辑部; (5) 摘要中不要使用缩写语, 除非是人人皆知的, 如: DNA, ATP 等; (6) 在英文摘要中不要使用中文字体标点符号。

3.3 关键词: 应明确、具体, 一些模糊、笼统的词语最好不用, 如“基因”、“表达”等。

### 3.4 脚注(正文首页下方):

Foundation items:

\*Corresponding author: Tel: ; E-mail:

Received: January 01, 20xx; Accepted: March 01, 20xx; Published online (www.cnki.net): March 31, 20xx

基金项目: 基金项目(编号)

\*通信作者: Tel: ; E-mail:

收稿日期: 20xx-01-01; 接受日期: 20xx-03-01; 网络首发日期(www.cnki.net): 20xx-03-31

(下转 p.333)