

DOI:10.7522/j.issn.1000-0240.2021.0142

ZHOU Yawen, BAI Yingying, KAN Zeyu, et al. Phylogeny and diversity of culturable airborne yeasts at different altitude on the Urumqi Glacier No. 1 in the Tianshan Mountains[J]. Journal of Glaciology and Geocryology, 2021, 43(2):589-600. [周雅雯, 白莹莹, 阚泽宇, 等. 天山乌鲁木齐河源1号冰川不同海拔可培养空气源酵母菌系统发育及多样性研究[J]. 冰川冻土, 2021, 43(2):589-600.]

天山乌鲁木齐河源1号冰川不同海拔可培养空气源酵母菌系统发育及多样性研究

周雅雯¹, 白莹莹², 阚泽宇², 王 珍², 张 艳², 倪永清²

(1. 石河子大学 生命科学学院, 新疆 石河子 832000; 2. 石河子大学 食品学院, 新疆 石河子 832000)

摘 要: 为了了解天山乌鲁木齐河源1号冰川(简称乌源1号冰川)空气及气溶胶中可培养酵母菌的多样性、系统发育、空间分布及其与冰川生境酵母菌的关系,在乌源1号冰川西支3个海拔梯度位点收集空气气溶胶,采用4种培养基分离空气源酵母菌,根据菌落形态和显微镜镜检细胞形态初步分组,采用MSP-PCR指纹分型和rRNA基因间隔序列(ITS)确定酵母菌菌株的系统发育和分类地位,并分析了空气源酵母菌群落的多样性及空间分布特征。研究表明:从乌源1号冰川的表面空气共分离414株酵母菌,全部隶属于担子菌门(*Basidiomycota*),MSP-PCR指纹分型划分为53个基因型,代表菌株ITS基因测序结果显示隶属于9属28种,其中24种为伞菌亚门(*Agaricomycotina*)成员,4种属于柄锈菌亚门(*Pucciniomycotina*),其中*Holtermanniella*、*Vishniacozyma*、*Filobasidium*、*Dioszegia*为优势酵母菌属。有6株酵母菌最适生长温度为16~18℃,为嗜冷菌,其余24株为耐冷菌,最适生长温度为22~25℃。*Holtermanniella festucosa*与*Vishniacozyma victoriae*为冰川空气广布的优势酵母菌种(22.22%、16.91%),其他大多为来自周边生境的耐冷酵母菌,在冰川生境均有分布。此外,在小幅度的海拔梯度上,3个海拔高度的空气酵母菌群落结构有所不同,但多样性指数没有显著差异。冰川生境酵母菌来源与其周边空气酵母菌密切相关,但以*Holtermanniella*属为代表的空气源优势酵母在冰川生境不能分离,说明冰川的严酷条件对外源微生物具有明显的选择作用。

关键词: 乌源1号冰川; 天山; 可培养空气源酵母菌; 多样性

中图分类号: P343.6; Q938 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-0240(2021)02-0589-12

0 引言

地球表面近80%的生境被永久或定期暴露于低于5℃的寒冷生境中^[1],包括深海、极地、冰盖、寒冷沙漠和高山冰川。其中冰川覆盖了地球陆地表面约10%^[2],分布极为广泛,因其长期低温、寡营养、冻融循环、强辐射、低水活度等环境特点形成了独有的生境特征并成为制约其中微生物生存的重要限制因素^[3]。全球范围下包括极地和非极地的山岳冰川在内的寒冷生境是低温微生物的重要来源,最适生长温度小于等于15℃、最高生长温度小于20℃,能够在0℃甚至更低温度生长的称为嗜冷微

生物(psychrophiles);能够在0℃生长,但最适生长温度在20~30℃左右,最高生长温度在30~37℃的称为耐冷微生物(psychrotolerants)^[4]。嗜冷菌和耐冷菌以高山冰川作为定植的栖息地,成为该生境中生物多样性重要组成部分,并在营养循环和有机物质矿化方面发挥着重要的作用^[5]。然而,目前对于高山冰川的微生物研究主要在细菌多样性及细菌群落组成影响因素等方面,而对于冰川生态系统中酵母菌的多样性及分布格局报道较少^[6]。

目前发现,冰川是以微生物为主导的低温生态系统,栖息着丰富多样的微生物类群,是低温极端

收稿日期: 2020-06-17; 修订日期: 2021-01-11

基金项目: 国家自然科学基金项目(41971070;41271268)资助

作者简介: 周雅雯,硕士研究生,主要从事冰川微生物生态学研究。E-mail: 71203464@qq.com

通信作者: 倪永清,教授,主要从事冰川微生物生态及低温微生物生物技术研究。E-mail: niyqlzu@sina.com

微生物的良好栖息地^[7]。冰川生境也是陆地生态系统中对于温度变化最为敏感的生态系统,常作为气候变化的敏感晴雨表^[8]。全球变暖加速了高海拔的冰川退缩^[9],因此生存于其中的低温微生物可被视为生物指示器来预测全球变暖趋势及规律。酵母菌作为低温真核生物的重要代表,发挥着极为重要的生态功能,尤其对寡营养生境冰川难降解有机物质的矿化作用和物质循环极为重要^[10]。在积雪、冰芯、融水、冰尘、沉积物等不同生境中均有分布,是研究冰川生态系统微生物空间分布的良好对象。

研究表明,冰川表面的微生物主要来自于空气气溶胶,以及来自于陆地的尘埃,火山灰烬,以及粘附在雪粒、降雨、矿物质或有机物颗粒上的微生物,通过大气输送以及大气生物学过程沉降在冰川表面,此后随着冰川消融各种外源微生物进入冰川生态系统,发挥不同的生态功能^[11]。因此,冰川表面空气中的微生物,影响着冰川各生境微生物群落和特殊种群的空间分布格局,为了解冰川微生物生物地理学分布提供重要的信息。但研究也发现,冰川表面生境空间异质性明显,包括积雪、融水、冰尘、冰层,对来自外源的微生物具有明显的生态选择作用^[12]。

天山山脉横亘于亚洲中部,作为中亚地区最大的山脉,是全球水热循环的重要组成部分,深刻影响着亚洲以至全球的气候变化^[13]。前期我们对天山乌鲁木齐河源1号冰川(简称乌源1号冰川)生境的真菌群落^[14],冰川融水、积雪、冰心、沉积物的酵母菌的多样性及分布特征已做了相关报道^[15]。本研究旨在揭示冰川空气源可培养酵母菌的多样性,并比较了乌源1号冰川表面不同海拔的位点之间酵母菌类群的异同,以了解冰川空气源酵母菌与其他生境之间的联系,为阐明冰川表面、底部低温酵母菌种群的原位栖息地及可能的生境扩散理论提供理论参考。同时揭示在冰川局域范围内,小幅度海拔梯度变化对空气酵母菌多样性的影响很小。研究将为了了解冰川微生物来源,促进天山冰川微生物资源的开发和利用奠定基础提供数据支撑。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 样品采集

于2017年7月在乌源1号冰川西支尾部及表面分

3个位点进行采样:低海拔位点(LA,43°07′125″N、86°48′707″E,海拔3750m,气温7.23℃)、中海拔位点(MA,43°06′54.09″N、86°48′40.07″E,海拔3857m,气温6.18℃)、高海拔位点(HA,43°06′26.63″N、86°48′22.99″E,海拔4013m,气温4.67℃)。使用JH-6120型综合大气采样器,TSP切割器标定流量:100L·min⁻¹,气体入口流速:0.3m·s⁻¹。微孔滤膜采用玻璃纤维滤膜,直径90mm,孔径0.22μm,每张滤膜都累计8小时的采样时间,空气样品采集完成后立即用酒精灼烧灭菌的镊子将滤膜装入已灭菌的无酶采样管,置于-4℃的车载冰箱中于6小时内运回实验室,于24小时内取样处理分菌。

1.1.2 培养基

为尽可能全面揭示空气中可培养酵母菌的多样性,本实验运用稀释涂平板法来分离培养酵母菌。此外还使用了4种培养基分离酵母菌,所有培养基成分均采用常规用量的1/5,以此来模拟冰川的寡营养状态。所用抗生素为氯霉素(100mg·mL⁻¹)。

RDBC培养基:Peptone 5g·L⁻¹,Glucose 10g·L⁻¹,KH₂PO₄ 1g·L⁻¹,MgSO₄·7H₂O 0.5g·L⁻¹,Dichloran 0.002g·L⁻¹,Rose bengal 0.025g·L⁻¹,Agar 15g·L⁻¹;DG18培养基:Glycerol 220g·L⁻¹,Peptone 5g·L⁻¹,Glucose 10g·L⁻¹,KH₂PO₄ 1g·L⁻¹,MgSO₄·7H₂O 0.5g·L⁻¹,Dichloran 0.002g·L⁻¹,Agar 16g·L⁻¹;MYP培养基:Malt extract 7g·L⁻¹,Glucose 1g·L⁻¹,Yeast extract 5g·L⁻¹,Soya peptone 2.5g·L⁻¹,Agar 15g·L⁻¹;MYP5培养基:Malt extract 7g·L⁻¹,Glucose 1g·L⁻¹,Yeast extract 5g·L⁻¹,Soya peptone 2.5g·L⁻¹,Agar 15g·L⁻¹,NaCl 50g·L⁻¹。

1.2 酵母菌分离纯化

将采样空气滤膜置入100mL灭菌生理盐水中,进行均质化。待混合均匀后,吸取定量上述液体于孔径0.45μm、直径47mm的无菌硝化纤维膜过滤^[10]。待过滤完成后将滤膜分别贴于四种分离培养基表面,RDBC培养基、DG18培养基、MYP培养基、MYP5培养基。将贴有滤膜的培养基置于16℃下培养7d后挑取单菌落,连续转接划线培养3次后,记录菌落大小、颜色、透明度、边缘特征、湿润度、菌落凸起等特征,根据表型差异进行初步分离筛选并纯化,所得纯培养物转接YEPG(Yeast extract 10g·L⁻¹; Peptone 10g·L⁻¹; Glucose 20g·L⁻¹)斜面培养基4℃保藏备用。液体纯培养物离心后,加

入新鲜培养液重悬,补充15%的灭菌甘油冷冻保存在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱。

1.3 DNA提取和PCR扩增

对所有分离到的酵母菌进行DNA提取,DNA的提取参照文献[16]的方法进行。DNA提取后加入 $100\text{ }\mu\text{L}$ $1\times\text{TE}$ 溶解, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。采用超微量分光光度计定量核酸浓度和纯度。PCR指纹图谱参照文献[17]进行。对具有相同DNA带型的酵母菌进行分组,并初步认为其属于同一个种,将不同带型的代表菌株进行测序。

1.5 ITS基因间隔序列的扩增及菌株系统发育分析

将扩增后MSP-PCR条带对比去重后,挑取同一基因型中的代表菌株以ITS1f(5'-CTTGGT-CATTTAGAGGAAGTAA-3')和ITS4(5'-TCCT-CCGCTTATTGATATGC-3')为引物进行PCR扩增。PCR反应体系为 $25\text{ }\mu\text{L}$ ($2\times\text{PCR Master Mix}$ $12.5\text{ }\mu\text{L}$;DNA模板 $2\text{ }\mu\text{L}$; $3\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的ITS1f; $0.5\text{ }\mu\text{L}$; $0.2\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的ITS4; $0.5\text{ }\mu\text{L}$; ddH_2O $9.5\text{ }\mu\text{L}$)。扩增程序:预变性 $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 3 min;变性 $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 30 s,退火 $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ 30 s,延伸 $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 30 s;40 cycles,终延伸 $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 6 min。将 $3\text{ }\mu\text{L}$ PCR产物点样于2%浓度的凝胶电泳检测后将剩余的PCR产物作为样品送至生物工程(上海)股份有限公司进行测序。

将所测的基因序列在NCBI核酸序列数据库进行同源序列比对(BLAST),找出与所测序列相似度最高(97%~100%)的BLAST库的亲缘标准菌株,CLUSTAL X 2.0软件序列联配。进化距离采用邻接法 neighbor-joining method 计算,在MEGA 7.0软

件[18]中用p-distances和Kimura-2parameter双参数法构建系统发育树,并用bootstrap检验进化树分支聚类的置信度,重复1 000次[5]。

1.6 酵母菌生长温度测定

利用测序结果和NCBI数据库比对筛选出代表菌株,将其活化后按2%的接种量接入 5 mL YEPG液体培养基中,分别置于 4 、 10 、 18 、 25 、 30 、 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 共6个温度梯度下培养,培养96 h后,使用紫外分光光度计于 420 nm 测OD值。

2 结果与分析

2.1 空气源酵母菌分离纯化与系统发育分析

利用4种琼脂培养基在3个空气采样位点分离到414株酵母菌,从各培养基分离的酵母菌数量分别为:RB(219株);DG18(43株);MYP(117株);MYP5(35株)。酵母菌的丰富度程度与海拔并无明显线性关系,其中135株来自于低海拔位点(LA),176株来自于中海拔位点(MA),103株来自于高海拔位点(HA)。

本研究分离的所有酵母菌,皆为担子菌门,其中白色与乳白色的菌落分离物被视为无色酵母菌共有258株,另有156株色素菌株。乌源1号冰川空气中分离纯化后的菌株依据菌落颜色,形态分类,菌落颜色丰富(图1),有纯白色、灰白色、粉白色、奶油色、乳黄色、浅黄色、粉红色、橘色,浅棕色等。酵母菌菌落直径约 $1.5\sim 3.5\text{ mm}$,小部分菌落直径小于 1 mm ,酵母菌的细胞形态通常有球形、近球形、卵圆形、椭圆形、圆柱形、棒形、藕节形、柠檬形等,一般为 $2\sim 4\text{ }\mu\text{m}$ 。

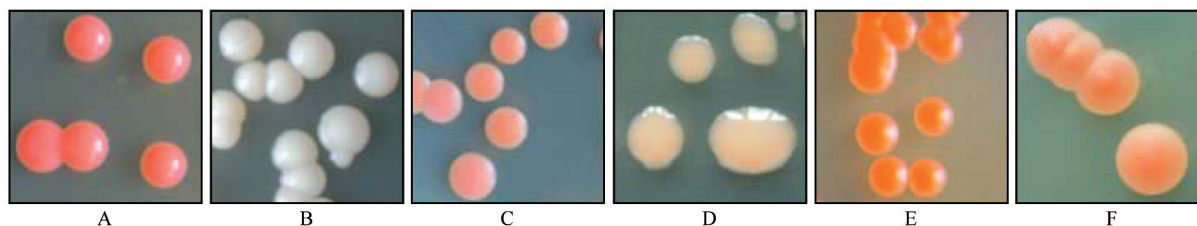


图1 乌源1号冰川空气源部分酵母菌代表菌株菌落图片(A: bca-86, *Rhodotorula araucariae*; B: bca-321, *Naganishia adeliensis*; C: bca-248, *Filobasidium stepposum*; D: bca-32, *Filobasidium floriforme*; E: bca-502, *Dioszegia hungarica*; F: bca-175, *Rhodotorula glutinis*)

Fig. 1 Morphological characteristics of colony of representative strains of some yeast species in the Urumqi Glaciers No. 1, Tianshan Mountains (A: bca-86, *Rhodotorula araucariae*; B: bca-321, *Naganishia adeliensis*; C: bca-248, *Filobasidium stepposum*; D: bca-32, *Filobasidium floriforme*; E: bca-502, *Dioszegia hungarica*; F: bca-175, *Rhodotorula glutinis*)

根据菌落形态和生长特性对所有分离得到酵母菌株进行初步分组,并对形态和生长特征相类似

的菌株划分为一组。扩增已分离纯化的低温酵母菌菌株的ITS片段并测序,通过使用NCBI(National

Center of Biotechnology Information) 中的 BLAST 比对工具在 GenBank 数据库中进行同源性比对。结果显示,从乌源 1 号冰川的表面空气中共分离 414 株酵母菌(表 1),MSP-PCR 指纹分型划分为 53 个基因型,从每个基因型中选出 2 或 3 株具有代表性的菌株进行 ITS-rRNA 基因序列分析,共测序 139 株菌株。测序结果显示分别隶属于 9 属 28 种,同时选取 28 株代表菌株的 ITS-rRNA 序列构建系统发育树(图 2)。

表 1 乌源 1 号冰川空气源酵母菌种的分布及数量
Table 1 Distribution of yeast species of airborne in the Urumqi Glaciers No. 1, Tianshan Mountains

酵母菌种名	原物种名	分类学(目)	代表菌株及 ITS 序列登录号	序列同 源性/%	不同海拔空气			总分离 酵母菌数
					酵母菌数			
LA								
MA								
HA								
Agaricomycotina								
<i>Cystofilobasidium infirmominiatum</i>		<i>Cystofilobasidiales</i>	bca-499 (MN128836)	99	1	3	1	5
<i>Cystofilobasidium macerans</i>	<i>Cryptococcus macerans</i>	<i>Cystofilobasidiales</i>	bca-485 (MN128837)	100	6	2	2	10
<i>Dioszegia butyracea</i>		<i>Tremellales</i>	bca-529 (MN128838)	100		1		1
<i>Dioszegia crocea</i>	<i>Bullera crocea</i>	<i>Tremellales</i>	bca-109 (MN128839)	99	2	2		4
<i>Dioszegia fristingensis</i>		<i>Tremellales</i>	bca-106 (MN128840)	99	3	2	5	10
<i>Dioszegia hungarica</i>	<i>Cryptococcus hungaricus</i>	<i>Tremellales</i>	bca-502 (MN128841)	99	3	12	4	19
<i>Dioszegia</i> sp.		<i>Tremellales</i>	bca-126 (MN128842)	99	4	5	3	12
<i>Filobasidium chernovii</i>	<i>Cryptococcus chernovii</i>	<i>Filobasidiales</i>	bca-361 (MN128843)	100	1	4	1	6
<i>Filobasidium elegans</i>		<i>Filobasidiales</i>	bca-52 (MN128844)	100	6	5		11
<i>Filobasidium floriforme</i>		<i>Filobasidiales</i>	bca-32 (MN128845)	100	1	1	1	3
<i>Filobasidium globisporum</i>		<i>Filobasidiales</i>	bca-290 (MN128846)	99	4	3	2	9
<i>Filobasidium magnum</i>	<i>Cryptococcus magnus</i>	<i>Filobasidiales</i>	bca-17 (MN128847)	99	7	5	1	13
<i>Filobasidium oeirense</i>		<i>Filobasidiales</i>	bca-395 (MN128848)	99		1		1
<i>Filobasidium stepposum</i>		<i>Filobasidiales</i>	bca-248 (MN128849)	100	7	6	5	18
<i>Filobasidium wieringae</i>		<i>Filobasidiales</i>	bca-2 (MN128850)	99			1	1
<i>Holtermanniella festucosa</i>	<i>Cryptococcus festucosus</i>	<i>Holtermanniales</i>	bca-198 (MN128851)	100	35	43	14	92
<i>Holtermanniella takashimae</i>		<i>Holtermanniales</i>	bca-377 (MN128852)	99	2	3		5
<i>Holtermanniella nyarrowii</i>	<i>Cryptococcus nyarrowii</i>	<i>Holtermanniales</i>	bca-222 (MN128853)	99	11	15	8	34
<i>Holtermanniella wattica</i>	<i>Cryptococcus watticus</i>	<i>Holtermanniales</i>	bca-299 (MN128854)	99		3	4	7
<i>Naganishia adeliensis</i>	<i>Cryptococcus adeliensis</i>	<i>Filobasidiales</i>	bca-321 (MN128855)	99	11	1		12
<i>Naganishia liquefaciens</i>	<i>Cryptococcus liquefaciens</i>	<i>Filobasidiales</i>	bca-84 (MN128856)	100	2			2
<i>Papiliotrema laurentii</i>		<i>Tremellales</i>	bca-415 (MN128857)	99		2		2
<i>Vishniacozyma tephrensis</i>	<i>Cryptococcus tephrensis</i>	<i>Tremellales</i>	bca-72 (MN128859)	99	8	13	5	26
<i>Vishniacozyma victoriae</i>	<i>Cryptococcus victoriae</i>	<i>Tremellales</i>	bca-252 (MN128860)	100	20	39	11	70
Pucciniomycotina								
<i>Rhodotorula araucariae</i>	<i>Cystobasidium araucariae</i>	<i>Sporidiobolales</i>	bca-86 (MN128861)	99			14	14
<i>Rhodotorula glutinis</i>	<i>Cystobasidium glutinis</i>	<i>Sporidiobolales</i>	bca-175 (MN128862)	99		1	3	4
<i>Rhodosporidium kratochvilovae</i>		<i>Sporidiobolales</i>	bca-302 (MN128863)	99		4	17	21
<i>Rhodosporidium toruloides</i>		<i>Sporidiobolales</i>	bca-286 (MN128864)	99	1		1	2

对空气源酵母代表菌株进行 ITS 序列分析(图 2),有伞菌亚门 24 株,柄锈菌亚门 4 株。其中 bca-2 与 *Filobasidium wieringae*; bca-72 与 *Vishniacozyma tephrensis*; bca-529 与 *Dioszegia butyrace*; bca-502 与 *D. hungarica*; 同源性高达 99% 亲缘关系最近。bca-198、bca-222、bca-377、bca-299 分属于同一个进化支,与 *Holtermanniella* 同源性最高,相似度为 100%; bca-286、bca-175、bca-86、bca-302 分属于同一个进化支,与 *Rhodotorula* 同源性最高,相似度为 100%; bca-106、bca-529、bca-109、bca-502 聚为一类,与 *Dioszegia* 亲缘关系最近; 菌株 bca-415 与 *Papiliotrema laurentii* CBS:5297 相似度为 100%。分离自 HA 位点的菌株 bca-2 与模式菌株 CBS11580(GenBank 登录号 KY103449) *Filobasidium wieringae* 有 99% 的

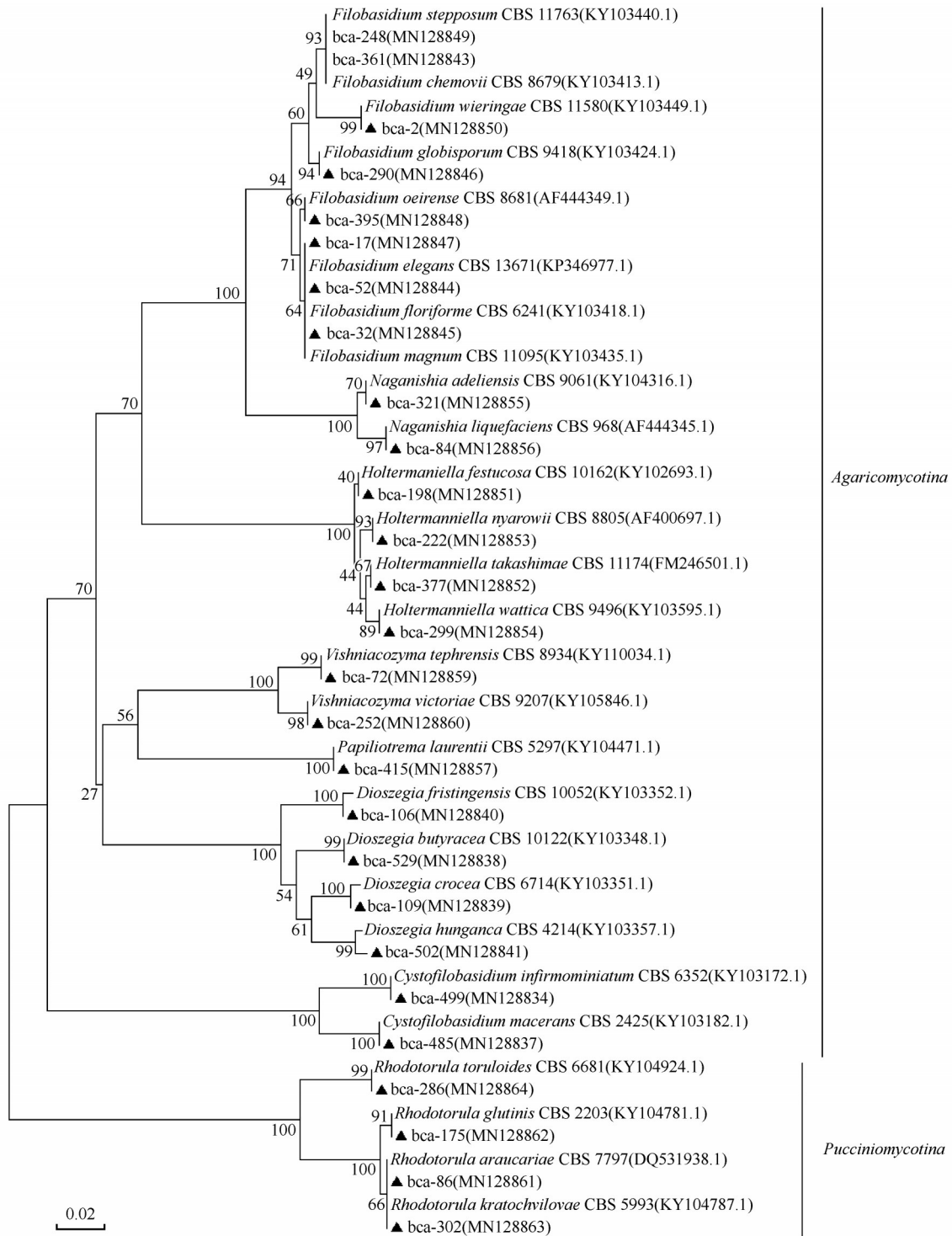


图2 基于 ITS rRNA 基因序列的乌源 1 号冰川空气源酵母菌系统发育树

Fig. 2 Neighbour-joining tree showing the phylogenetic relationships among yeast strains, taken from the Urumqi Glacier No. 1, based on ITS rRNA gene partial sequences and related sequences downloaded from GenBank (The numbers at the nodes indicating the bootstrap values based on neighbor-joining analyses of 1 000 resampled datasets; bar 0.02 at the bottom is the sequence divergence)

相似性。分离自 MA 位点的菌株 bca-529 与模式菌株 CBS10122 (KY103348) *Dioszegia butyracea* 有 99% 的相似性。而来自 MA 位点的菌株 bca-84 与模式菌株 CBS968 (AF444345) *Naganishia liquefaciens*

有 97% 的相似性。种水平的系统发育分析如图 2 所示, 显示了我们所分离菌株与 GenBank 库中登记的最接近的 CBS 酵母菌菌种库的模式菌株的亲缘关系。

2.2 不同海拔空气源酵母菌群落分布特征

乌源1号冰川表面空气中9个属酵母菌种群结构显示,*Filobasidium*种类最多分离到8个种,*Dioszegia*分离到5个种,*Holtermanniella*分离到4个种,*Cystofilobasidium*、*Naganishia*、*Vishniacozyma*、*Rhodotorula*、*Rhodospiridium*均分离到2个种,*Papiliotrema*种类最少,仅分离到一个种。本研究依据每种酵母菌占总分离酵母菌数量的比例确定其对应的相对丰度。酵母菌属水平结果显示(图3),*Holtermanniella*相对丰度最高为33.33%,为最优势属,其次为*Vishniacozyma*(23.19%)和*Filobasidium*(14.98%)。除了*Rhodotorula*和*Naganishia*以外,其他属酵母在3个海拔位点均有分布。随海拔升高,*Holtermanniella*、*Vishniacozyma*与*Dioszegia*相对丰度出现先升高再降低趋势;而*Filobasidium*、*Naganishia*与*Cystofilobasidium*相对丰度呈持续降低趋势;*Rhodotorula*相对丰度呈持续升高趋势。

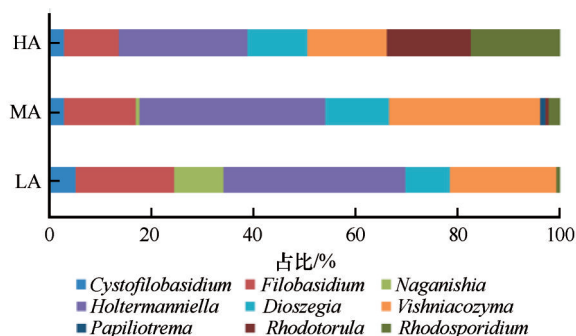


图3 不同海拔冰川空气酵母菌属水平的群落组成

Fig. 3 Community composition of airborne yeasts at genus level in different altitude of the Urumqi Glacier No. 1

酵母菌种水平结果显示(图4),*Holtermanniella festucosa*的相对丰度最高(22.22%),其次为*Vishniacozyma victoriae*(16.91%),而*Holtermanniella nyarrowii*、*Vishniacozyma tephrensensis*和*Rhodospiridium kratochvilovae*相对丰度也比较高,均超过了5%。*Dioszegia crocea*、*Rhodospiridium kratochvilovae*等菌株丰度均低于1%。综合分析相对丰度与发生率(每个酵母菌种在每个地理位点的出现频率),乌源1号冰川表面空气酵母菌优势种为*Holtermanniella festucosa*,其占LA样品总菌株数的25.93%,占MA样品总菌数的24.43%,占HA样品总菌数的13.59%。

2.3 空气源酵母菌最适生长温度

实验结果表明,30株测试的代表菌株中,22株

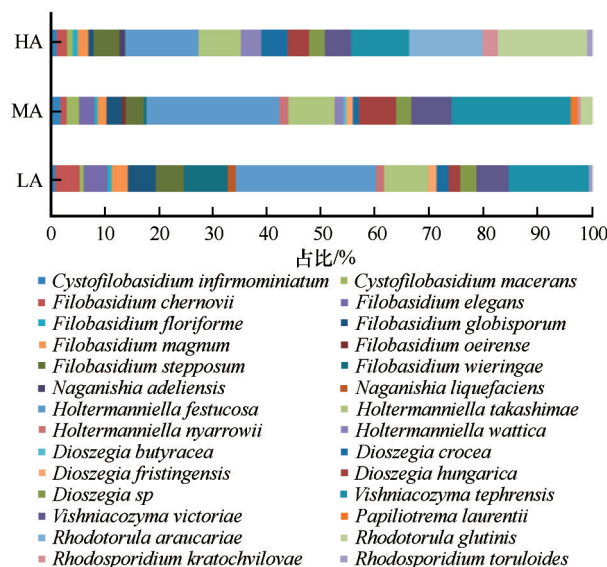


图4 不同海拔冰川空气酵母菌种水平的群落结构组成

Fig. 4 Community composition of airborne yeasts at species level in different altitude of the Urumqi Glacier No. 1

菌最适生长温度为22~25℃,在30~37℃缓慢生长;6株菌生长温度范围在4~22℃,其中最适生长温度在16~18℃。根据一般定义^[4],前者属于耐冷菌属,后者属于嗜冷菌,这说明乌源1号冰川空气酵母菌大部分属于耐冷菌(表2)。

2.4 酵母菌群落组成及多样性分析

总体而言,乌源1号冰川表面3个不同位点的空气样品中,酵母菌丰度分布存在小幅度的差异。从3个海拔分离出*Holtermanniella*属酵母菌,占总分离物的33.33%,其次是*Vishniacozyma*属酵母菌,在分离物总数中占比23.19%。根据最新的分类系统,本研究在不同海拔位点空气分离菌株共有7个属,除*Naganishia*出现在2个海拔和*Papiliotrema*只在1个海拔以外,其余各属在3个海拔均有分布(图5)。

ACE指数Chao指数可反映物种丰富度^[19],Chao指数代表物种丰富度,对稀有物种变化敏感。由表3可知,随着海拔小幅度增加,各样点酵母菌群落丰富度指数(ACE指数)与(Chao指数)均显示为MA>HA>LA。在海拔梯度上,ACE指数和Chao指数呈先上升后下降的趋势,在MA位点达到极大值,分别为28.26和27.67,说明空气源酵母菌在MA时物种最为丰富,但统计结果显示差异不显著。在海拔上升的过程中,Chao指数的增加幅度较大,说明稀有菌株出现得更多。Shannon指数代表了样本中物种的均匀度,随海拔梯度上升,各样点酵母菌群

表2 乌源 1 号冰川空气源酵母菌形态特征及生长特性

Table 2 Growth characteristics and morphological characteristics of airborne yeasts in the Urumqi Glaciers No. 1, Tianshan Mountains

菌株号	DBB ^a	形态学特性					生长特性 ^b
		菌落大小/mm	菌落颜色	菌落质地	菌落表面	细胞形态	温度范围/℃
bca-499	+	1	pink	butyrous	glistening smooth	subglobose, ovoid	4-22-25
bca-485	+	0.5	bright coral-red	butyrous	smooth	ellipsoid, long-ovoid	4-16-20
bca-529	+	1.5	jacinth	butyrous	smooth	ovoid, subglobose, ellipsoidal	4-18-22
bca-109	+	1	orang	butyrous	smooth	ovoid, subglobose, ellipsoidal	4-25-30
bca-106	+	3	reddish-orange	butyrous	smooth	subglobose, ellipsoidal, elongate, apiculate	4-18-22
bca-502	+	1	deep orange	butyrous	delicately wrinkled	subglobose, ovoid, elongate, cylindrical	4-16-20
bca-126	+	0.5	deep orange	butyrous	smooth	subglobose, ovoid	4-22-30
bca-361	+	3	cream	mucoid	glossy, smooth	subglobose	4-22-25
bca-52	+	1.5	grayish-white	mucoid	smooth	ellipsoid, ovoid	4-25-30
bca-32	+	2	dull-white, tinge-pink	mucoid	moderately, glossy	subglobose, ovoid, ellipsoid, long-ovoid	4-25-30
bca-290	+	0.8	grayish-white cream	mucoid	smooth	globose, ellipsoid	4-22-25
bca-17	+	0.5	buff	mucoid	moderately, glossy	globose	4-25-30
bca-395	+	0.5	pinkish-cream	mucoid	smooth	subglobose, broadly, ellipsoidal	4-22-25
bca-248	+	0.5	light pink	butyrous	glistening, smooth	globose	4-22-30
bca-2	+	0.5	pink white	mucoid	smooth	ovoid, spheroidal	4-25-30
bca-198	+	0.5	grayish-cream	slimy	glistening, smooth	subglobose, ovoid	4-18-22
bca-377	+	1	cream	viscous	moderately, glossy	subglobose, broadly, ellipsoidal	4-22-25
bca-222	+	0.5	pale yellow	circular	smooth	spheroidal, ovoid	4-16-20
bca-299	+	1	pink white	viscous	moderately, glossy	ovoid	4-22-30
bca-321	+	1	white	butyrous	glossy, smooth	subglobose	4-25-30
bca-84	+	2	pinkish-cream	mucoid	glossy, smooth	subglobose	4-22-25
bca-415	+	0.5	cream	butyrous	moderately, glossy	subglobose, ovoid	4-22-25
bca-72	+	2	pale yellowish-brown	mucoid	shiny	ellipsoidal, limoniform, droplet, shaped	4-22-30
bca-252	+	2	yellowish-cream	butyrous	shiny	ellipsoidal, fusoidal, subglobose	4-22-25
bca-86	+	1	pink	mucoid	smooth glistening	subglobose to ovoid	4-25-30
bca-175	+	1.5	coral-red	butyrous	smooth	globose to ovoid, cylindrical to fusiform	4-22-25
bca-302	+	1.5	peach to orange	butyrous	semi-shiny	spherical to subglobose, cylindrical	4-22-25
bca-286	+	0.5	light pink, deep pink	butyrous	shiny, smoot	subglobose to ovoid	4-25-30

注: DBB^a, 为重氮蓝 B 盐染色试验; 生长特性^b, 为最低-最适-最高生长温度。

落多样性指数(Shannon 指数)呈略下降趋势,但差异仍然不显著。

3 讨论

无论在极地还是高山冰川的生态系统中,低温酵母菌都代表了冰川微生物群落的一个重要组成部分^[20]。目前的报道显示,在两极地区,多年冻土、高山冰川、深海以及寒冷沙漠等低温环境中,可培养酵母菌主要为担子菌门和子囊菌门两大类^[21],但研究显示,担子菌门酵母菌比子囊菌门酵母菌有更好的低温生态适应性^[22]。由于不同地区生态环境的差异,不同生态系统中低温酵母菌类群差异显

著。本研究结果表明,在门水平上的空气源酵母菌中的优势菌门全部为担子菌门。

3.1 冰川生境酵母菌种群与空气酵母菌种群的关系

将本研究结果与课题组前期对乌源 1 号冰川中冰尘、表面融水、积雪和冰芯共五种生境的酵母菌组成进行比较研究(表 4),冰川五种生境中担子菌酵母均占明显优势,这是多数冰川生态系统的共同特征^[23-24]。很多研究报道显示,原属于隐球菌属(*Cryptococcus*)的酵母菌 *Vishniacozyma* 属,其中的 *Vishniacozyma victoriae* 与 *V. tephrensensis* 在 5 种冰川生境均有分布(表 4)。然而,文献报道显示,在地球

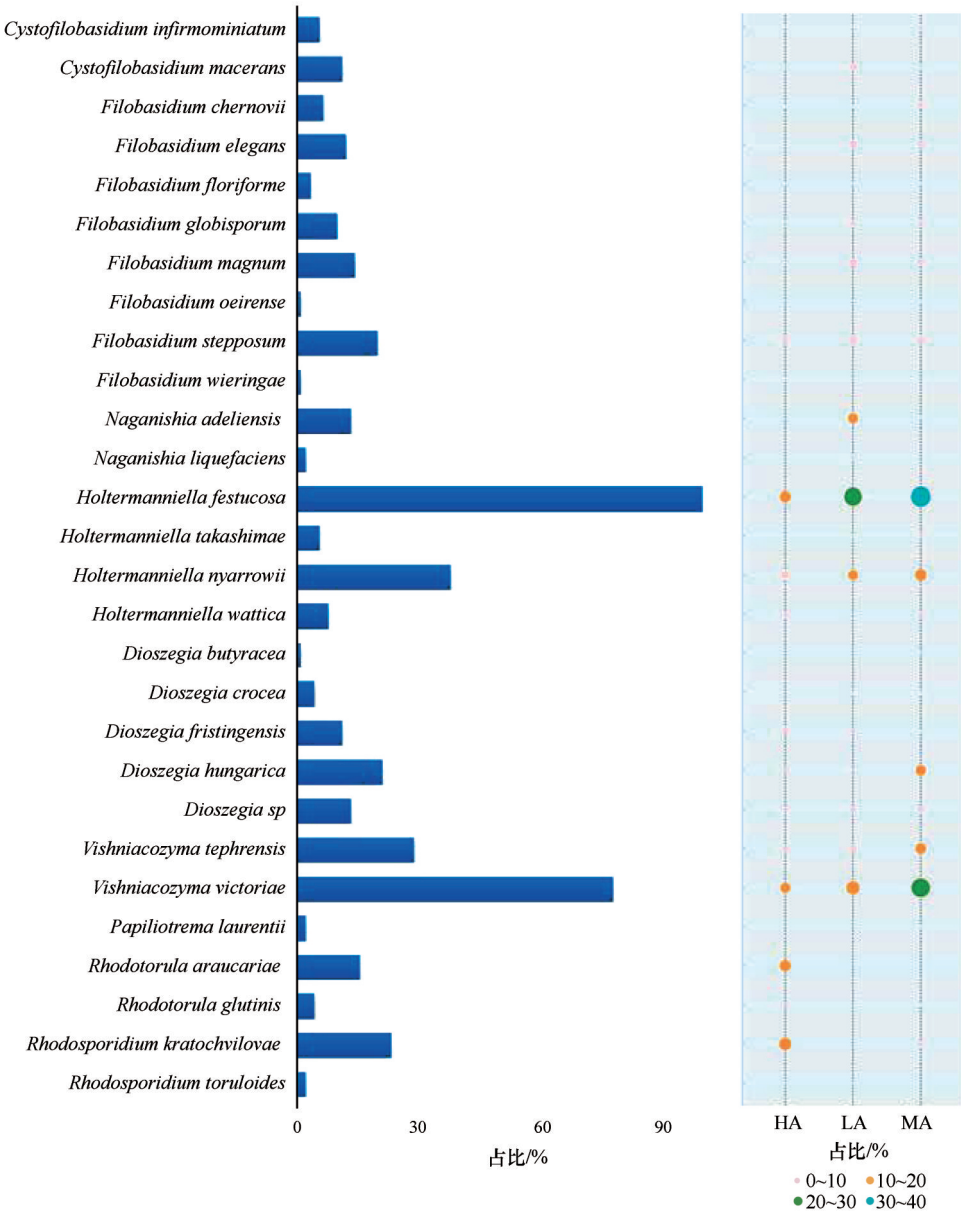


图5 乌源1号冰川空气源酵母菌种水平生境组合强度

Fig. 5 Horizontal habitat assemblage intensity of glacial airborne yeast species in the the Urumqi Glacier No. 1 (HA, LA, and MA representing three sample collection sites, respectively). Note: the bars representing the cumulative relative abundance of each indicator yeast species in all the samples; the size of each circle defining the association strength (indicator value) of a yeast species with the different habitats, such as 0~10: not characteristic; 10~20: weakly characteristic; 20~30: characteristic; 30~40: strongly characteristic

表3 乌源1号冰川不同位点空气酵母菌群落丰富度和多样性指数

Table 3 Abundance and diversity of airborne yeasts communities of different sites in the Urumqi Glaciers No. 1, Tianshan Mountains

采样位点	菌株数	物种数	ACE 指数	Chao 指数	香浓指数	辛普森指数	覆盖率
低海拔位点 LA	135	20	23. 19±5. 10	22. 50±5. 51	2. 57±0. 13	0. 10±0. 02	0. 97
中海拔位点 MA	176	24	28. 26±4. 93	27. 67±5. 23	2. 65±0. 13	0. 11±0. 02	0. 97
高海拔位点 HA	103	20	25. 73±8. 26	24. 75±9. 43	2. 65±0. 14	0. 08±0. 02	0. 94

其他生境这两个种也有分布,譬如植被及果蔬表面。我们的研究发现,乌源1号冰川空气中 *Vishnia-*
cozyma victoriae 与 *V. tephrensis* 为优势菌,很可能是通过空气传播将植物体表的菌株携带到了冰川生

表4 乌源1号冰川空气酵母菌与其他4种生境中酵母菌的比较

Table 4 Distribution of yeast species of airborne (TA) and other habitats of the Urumqi Glacier No. 1, Tianshan Mountains, including supraglacial ice (BB), cryoconite sediment (BC), supraglacial meltwater (BW) and supraglacial snow (SN)

酵母菌种名	TA ^a	BC ^b	BW	SN	BB
<i>Cystofilobasidium infirmominiatum</i>	+	-	+	-	-
<i>Cystofilobasidium macerans</i>	+	+	-	+	+
<i>Filobasidium chernovii</i>	+	-	+	+	-
<i>Filobasidium elegans</i>	+	-	+	-	-
<i>Filobasidium floriforme</i>	+	+	-	+	+
<i>Filobasidium globisporum</i>	+	-	-	-	-
<i>Filobasidium magnum</i>	+	+	+	-	+
<i>Filobasidium oeirense</i>	+	-	-	-	+
<i>Filobasidium stepposum</i>	+	+	+	+	-
<i>Filobasidium wieringae</i>	+	-	-	+	-
<i>Naganishia adeliensis</i>	+	+	+	+	+
<i>Naganishia liquefaciens</i>	+	+	-	+	+
<i>Holtermanniella festucosa</i>	+	-	-	-	-
<i>Holtermanniella takashimae</i>	+	-	-	-	-
<i>Holtermanniella nyarrowii</i>	+	-	-	-	-
<i>Holtermanniella wattica</i>	+	-	-	-	-
<i>Dioszegia butyracea</i>	+	+	+	+	+
<i>Dioszegia crocea</i>	+	+	+	+	+
<i>Dioszegia fristingensis</i>	+	-	+	+	+
<i>Dioszegia hungarica</i>	+	+	+	+	-
<i>Dioszegia sp</i>	+	+	+	-	+
<i>Vishniacozyma tephrensia</i>	+	+	+	+	+
<i>Vishniacozyma victoriae</i>	+	+	+	+	+
<i>Papiliotrema laurentii</i>	+	-	+	+	+
<i>Rhodotorula araucariae</i>	+	+	-	+	+
<i>Rhodotorula glutinis</i>	+	+	+	+	+
<i>Rhodosporidium kratochvilovae</i>	+	+	+	-	+
<i>Rhodosporidium toruloides</i>	+	+	+	+	+

注: a. TA, 表面空气; BC, 冰尘; BW, 表面流水; SN, 表面积雪; BB, 冰 (数据来自 Luo 等^[13], 2019)。b. +, 出现, -, 缺失。

境。但目前对不同生境种群之间的进化关系没有进行深入报道,不同菌株之间 ITS 基因序列显示了很高的同源性,因此有可能属于世界广布种,也有可能属于同种的不同生态型。从表4可知,乌源1号冰川不同生境广泛分布红酵母属(*Rhodotorula*)菌株,具有很高的分离频率,表明在低温生境具有很强的适应性^[25]。其原因可能是*Rhodotorula*属酵母菌可产生类胡萝卜素,作为光保护剂能够有效避免紫外线对细胞的损伤。此外,类胡萝卜素是一类膜保护的抗氧化色素,可抵抗UV并增强细胞膜的

流动性,能够有效清除自由基^[26]。此外,一般认为该属还能够产生胞外多糖,使它们在冰川生境中具有更强的生态胁迫耐受性^[27]。实际上,在空气、叶面和腐烂的植物碎片中均能分离到它们,其中*Rhodotorula araucariae*在腐败的植物体表很容易分离到^[28]。因此,以*Rhodotorula*属酵母菌为模式菌,研究在极端环境条件下,紫外线辐射在对酵母菌菌群结构具有重要的生态学意义。同样,*Rhodotorula*属在乌源1号冰川空气中也存在,也可能是通过空气传播将植物体表的菌株携带到了冰川生境。但目前对红酵母属的系统发育和分类做了大的修改,也有可能是隶属于不同种的酵母在不同生境的分布需要做深入研究^[26]。

鉴于以上情况,人们很容易认为冰川生境的酵母菌与空气酵母菌密切相关。但本研究一个例外的发现是空气源的优势酵母属*Holtermanniella*,它们在冰川中很少被分离到^[13],这说明冰川对外源微生物具有选择作用,即*Holtermanniella*属作为外源种群不适应冰川生境^[13]。表4显示,*Holtermanniella*属中*H. festucosa*、*H. takashimae*、*H. nyarrowii*、*H. la-wattica*在冰川的冰尘,融水,雪水,冰芯中均未被分离到,但在空气中属于优势种群。表明冰川生态系统对外源微生物具有显著的生境过滤作用,只有适应性很强的种群才能进入冰川生态位生殖繁衍,进而通过微进化发生生态生理渐变^[29]。因此,我们预期在冰川生境景观尺度下,极端环境因素(包括紫外线、温度、寡营养环境等)对微生物的群落构建(群落结构和物种分布格局)和空间分布格局产生显著的影响^[30]。以酵母菌作为范式,研究冰川生境的群落构建过程中,由非生物因素与生物因素的相互作用,及其对微生物群落动态格局贡献度很有必要。

3.2 空气酵母菌群落结构特点

众所周知,冰川区域在空间地理上环境多变,尤其在垂直尺度上环境因子相差较大,形成了不同的小生境,蕴含了丰富的微生物类群。乌源1号冰川表面空气微生物可能来源于内部和外部环境,其中来自周边生境的冰川低温酵母属于原位栖息的本地种(endemic species),由于大气环流随机迁移的属于陆源性外来种(exotic species)。研究发现*Naganishia adeliensis*不仅在空气中分离到,在冰川多个生境均有发现,表明该属种类大多为本地菌^[13]。*Cystofilobasidium infirmominiatum*、*Filobasid-*

ium chernovii、*Filobasidium elegans*、*Filobasidium wieringae* 主要在空气与冰川表面的积雪生境所分离到,很有可能是从积雪表层传递到空气。第二类是近距离外来菌(Local exotic species),这些菌株很可能主要来自于冰川前沿退缩地的植物花蜜和植物源附生酵母菌。如 *Rhodotorula* 属,在空气、叶面和腐烂的植物碎片中均能分离到它们,*R. araucariae*、*R. glutinis*、*R. kratochvilovae*、*R. toruloides* 是空气与冰川表面冰所共有的菌种^[27]。第三类是远距离外来菌(Distant exotic species),通过大气环流运动,通过降水(雨、雪),水凝华(云、雾、冰雹)和灰尘沉降等被携带^[31-32],这些种类可能来自空间地理差异较大的生态系统,如沙漠^[33]、森林^[34]等。有报道发现冰川的冰芯中分离出了来自于温带和热带地区的微生物^[35]。*Holtermanniella* 属的菌株大多分离自植物体表,在本研究中从冰川生境没有分离到它们,很可能来自温带森林。此外 *Vishniacozyma victoriae* 是极地环境的优势种类,也是本研究中的优势菌株,但在非极地环境中普遍分离出该种亲缘关系相近的菌株,表明是全球的广布酵母菌种类^[36]。

3.3 不同海拔梯度下冰川表面空气源酵母菌群落构建机制

本研究位点 LA 选取在冰川前沿高山草甸处,以高山垫状植被为主,此处植物群系开始多元化且动物出没频繁,受动植物及人为干扰因素大。位点 MA 选取在冰川前沿退缩处,此处均为裸露及风化的岩石,有动物活动。位点 HA 选取在冰川冰舌中部,此处周围即冰川腹地,下方为冰雪及冰尘洞,受外界因素干扰较小。在冰川表面成功定植的微生物需要耐受大范围幅度剧烈的温度波动,以及抵御太阳辐射,并耐受寡营养等胁迫条件^[37-38],在大幅度海拔梯度上呈现出了不同的生态位分布格局^[39]。但基于本研究的结果,3个梯度海拔的可培养酵母菌多样性存在差异,很可能是每个位点采集空气样本时,部分环境因素(如风速和颗粒物质量浓度)导致空气采集有一定程度的差异。对于空气源酵母菌来说,由于空气的空间异质性相对较小,在小梯度的海拔梯度下以连续的状态处于动态变化,可培养酵母菌差异并不显著。冰川生境受大气环流及周边人类和动物活动影响,内源、外源酵母菌分辨需要更精确的方法甄别^[13],因此,对冰川表面和空气微生物关系需要深入研究。

4 结论

基于乌源 1 号冰川表面 3 个海拔高度的空气酵母菌群落结构分析及其与冰川表面生境酵母菌的比较,得到结论如下:

(1)分类特征:乌源 1 号冰川表面空气分离到的酵母菌全部隶属于担子菌门(*Basidiomycota*),包括 9 属 28 种,伞菌亚门(*Agariomycotina*)成员占绝对优势。*Holtermanniella festucosa* 与 *Vishniacozyma victoriae* 为冰川空气广布的优势酵母菌种。酵母菌大多为来自周边生境的耐冷酵母菌。

(2)分布特征:在小幅度的海拔梯度上,空气酵母菌群落结构有所不同,但多样性指数没有显著差异。基于空气酵母菌和冰川酵母菌种群的比较,冰川生境酵母菌与空气酵母菌密切相关,但冰川生境对外源酵母菌具有明显的生境过滤与选择作用。

参考文献(References):

- [1] Buzzini P, Turchetti B, Yurkov A. Extremophilic yeasts: the toughest yeasts around[J]. *Yeast*, 2018, 35(8): 487-497.
- [2] Zang Lin, Liu Yongqin, Liu Xiaobo. Advance in researches of virus in cryoconite on glacier surface[J]. *Journal of Glaciology and Geocryology*, 2019, 41(6): 1496-1504. [臧琳, 刘勇勤, 刘晓波. 冰川表面冰尘洞内病毒研究进展[J]. 冰川冻土, 2019, 41(6): 1496-1504.]
- [3] Collins T, Margesin R. Psychrophilic lifestyles: mechanisms of adaptation and biotechnological tools[J]. *Applied Microbiology & Biotechnology*, 2019, 103(7): 2857-2871.
- [4] Ibrar M, Ullah M W, Manan S, et al. Fungi from the extremes of life: an untapped treasure for bioactive compounds[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2020, 104(7): 2777-2801.
- [5] Barahona S, Yuivar Y, Socias G, et al. Identification and characterization of yeasts isolated from sedimentary rocks of Union Glacier at the Antarctica[J]. *Extremophiles Life Under Extreme Conditions*, 2016, 20(4): 479-491.
- [6] Tao Ling, Gu Yanling, Zheng Xiaoji, et al. Cultivable bacteria isolated from the meltwater of the glacier No. 1 at headwater of the Urumqi River in Tianshan Mountains physiological-biochemical character and phylogeny[J]. *Journal of Glaciology and Geocryology*, 2015, 37(2): 511-521. [陶玲, 顾燕玲, 郑晓吉, 等. 天山乌鲁木齐河源 1 号冰川融水可培养细菌生理生化特性及其系统发育[J]. 冰川冻土, 2015, 37(2): 511-521.]
- [7] Jia Yufeng, Li Zhongqin, Jin Shuang, et al. Changes of the runoff and its components in Urumqi Glacier No. 1 catchment, Tianshan Mountains, 1959-2017[J]. *Journal of Glaciology and Geocryology*, 2019, 41(6): 1302-1312. [贾玉峰, 李忠勤, 金爽, 等. 1959-2017 年天山乌鲁木齐河源 1 号冰川流域径流及其组分变化[J]. 冰川冻土, 2019, 41(6): 1302-1312.]
- [8] Wang Feng, Wang Ninglian, Xu Baiqing, et al. Characteristics of the culturable bacteria in the surface and deep layers of the Tanggula Hariqin ice core, Tibetan Plateau[J]. *Journal of Glaciology and Geocryology*, 2019, 41(4): 968-976. [王凤, 王宇练, 徐柏青, 等. 藏高原唐古拉哈日钦冰芯表层和深层

- 可培养细菌特征[J]. 冰川冻土, 2019, 41(4): 968-976.]
- [9] Jiang Y, Lei Y, Qin W, et al. Revealing microbial processes and nutrient limitation in soil through coenzymatic stoichiometry and glomalin-related soil proteins in a retreating glacier forefield[J]. Geoderma, 2019, 338(15): 313-324.
- [10] Garcia V D, Brizzio S, Broock M R V. Yeasts from glacial ice of Patagonian Andes, Argentina[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2012, 82(2): 540-550.
- [11] Hotaling S, Hood E, Hamilton T L. Microbial ecology of mountain glacier ecosystems: biodiversity, ecological connections, and implications of a warming climate[J]. Environmental Microbiology, 2017, 19(8): 2935-2948.
- [12] Buzzini P, Margesin R. Cold-adapted yeasts [M]. Berlin: Springer, 2014.
- [13] Luo B, Sun H, Zhang Y, et al. Habitat-specificity and diversity of culturable cold-adapted yeasts of a cold-based glacier in the Tianshan Mountains, northwestern China[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2019, 103(5): 2311-2327.
- [14] Wang Xuxian, Gu Yanling, Ni Xuejiao, et al. Composition and phylogeny of fungal community in supraglacial cryoconite and subglacial sediments of the Glacier No. 1 at headwaters of the Urumqi River in Tianshan Mountains[J]. Journal of Glaciology and Geocryology, 2017, 39(4): 781-791. [王叙贤, 顾燕玲, 倪雪娇, 等. 天山乌源1号冰川表面冰尘及底部沉积层真菌群落结构比较及其系统发育分析[J]. 冰川冻土, 2017, 39(4): 781-791.]
- [15] Zhang Ruirui, Xue Mei, Li Ningning, et al. Phylogeny and diversity of culturable yeasts in supraglacial cryoconite and subglacial sediments of the Glacier No. 1 in Tianshan Mountains [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2019, 59(2): 334-348. [张瑞蕊, 薛梅, 李宁宁, 等. 天山一号冰川表面冰尘和底部沉积层中可培养酵母菌系统发育类群的分布及生态生理特征[J]. 微生物学报, 2019, 59(2): 334-348.]
- [16] Bergamo R F, Novo M T M, Veriissimo R V, et al. Differentiation of *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *A. thiooxidans* strains based on 16S-23S rDNA spacer polymorphism analysis [J]. Research in Microbiology, 2004, 155(7): 559-567.
- [17] Correia A, Sampaio P, Almeida J, et al. Study of molecular epidemiology of candidiasis in Portugal by PCR fingerprinting of *Candida* clinical isolates[J]. Journal of clinical microbiology, 2004, 42(12): 5899-5903.
- [18] Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis Version 7.0 for bigger datasets [J]. Molecular Biology and Evolution, 2016, 33(7): 1870-1874.
- [19] Wang C, Liu D, BAI E. Decreasing soil microbial diversity is associated with decreasing microbial biomass under nitrogen addition[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2018, 120: 126-133.
- [20] Duarte A W F, Dayo-owoyemi I, Nobre F S, et al. Taxonomic assessment and enzymes production by yeasts isolated from marine and terrestrial Antarctic samples [J]. Extremophiles, 2013, 17(6): 1023-1035.
- [21] Turchetti B, Buzzini P, Goretti M, et al. Psychrophilic yeasts in glacial environments of Alpine glaciers[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2010, 63(1): 73-83.
- [22] Ferreira E M S, de Sousa F M P, Rosa L H, et al. Taxonomy and richness of yeasts associated with angiosperms, bryophytes, and meltwater biofilms collected in the Antarctic Peninsula[J]. Extremophiles, 2019, 23(1): 151-159.
- [23] Jun U, Yoshitaka Y, Naoko N, et al. Isolation of oligotrophic yeasts from supraglacial environments of different altitude on the Gulkana Glacier (Alaska) [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2012, 82(2): 279-286.
- [24] Troncoso E, Barahona S, Carrasco M, et al. Identification and characterization of yeasts isolated from the South Shetland Islands and the Antarctic Peninsula[J]. Polar Biology, 2016, 40(3): 1-10.
- [25] Stibal M, Tranter M, Benning L G, et al. Microbial primary production on an Arctic glacier is insignificant in comparison with allochthonous organic carbon input[J]. Environmental Microbiology, 2008, 10(8): 2172-2178.
- [26] Mannazzu I, Landolfo S, Da Silva T L, et al. Red yeasts and carotenoid production: outlining a future for non-conventional yeasts of biotechnological interest[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2015, 31(11): 1665-1673.
- [27] Margesin R, Fonteyne P A, Schinner F, et al. *Rhodotorula psychrophila* sp. nov., *Rhodotorula psychrophilica* sp. nov. and *Rhodotorula glacialis* sp. nov., novel psychrophilic basidiomycetous yeast species isolated from alpine environments [J]. International Journal Systematic and Evolutional Microbiol, 2007, 57(9): 2179-2184.
- [28] Kurtzman C P, Fell J W. The yeasts: a taxonomic study [J]. Kluwer Academic Publishers, 2013, 19(1): 275-276.
- [29] Anesio A M, Lutz S, Christmas N A M, et al. The microbiome of glaciers and ice sheets[J]. Npj Biofilms and Microbiomes, 2017, 3(1): 1-11.
- [30] Nemergut D R, Schmidt S K, Fukami T, et al. Patterns and processes of microbial community assembly [J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2013, 77(3): 342-356.
- [31] Segawa T, Miyamoto K, Ushida K, et al. Seasonal change in bacterial flora and biomass in mountain snow from the Tateyama Mountains, Japan, analyzed by 16S rRNA gene sequencing and real-time PCR[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(1): 123-130.
- [32] Ciccazzo S, Esposito A, Borruso L, et al. Microbial communities and primary succession in high altitude mountain environments[J]. Annals of Microbiology, 2016, 66(1): 43-60.
- [33] Abu-ghosh S, Droby S, Korine C. Seasonal and plant-dependent variations in diversity, abundance and stress tolerance of epiphytic yeasts in desert habitats[J]. Environmental Microbiology Reports, 2014, 6(4): 373-382.
- [34] Yurkov A, Inácio J O, Chernov I Y, et al. Yeast biogeography and the effects of species recognition approaches: the case study of widespread basidiomycetous species from Birch Forests in Russia [J]. Current Microbiology, 2015, 70(4): 587-601.
- [35] Ma L, Rogers S O, Catranis C M, et al. Detection and characterization of ancient fungi entrapped in glacial ice[J]. Mycologia, 2000, 92(2): 286-295.
- [36] Buzzini P, Branda E, Goretti M, et al. Psychrophilic yeasts from worldwide glacial habitats: diversity, adaptation strategies and biotechnological potential[J]. FEMS Microbiol Ecol, 2012, 82(2): 217-241.
- [37] Anesio A M, Hodson A J, Fritz A, et al. High microbial activity on glaciers: importance to the global carbon cycle[J]. Global Change Biology, 2009, 15(4): 955-960.
- [38] Branda E, Turchetti B, Diolaiuti G, et al. Yeast and yeast-like diversity in the southernmost glacier of Europe (Calderone Glacier, Apennines, Italy) [J]. Fems Microbiology Ecology, 2010, 72(3): 354-369.
- [39] Johnson Z I, Zinser E R, Coe A, et al. Niche partitioning among prochlorococcus ecotypes along ocean-scale environmental gradients[J]. Science, 2006, 311(5768): 1737-1740.

Phylogeny and diversity of culturable airborne yeasts at different altitude on the Urumqi Glacier No. 1 in the Tianshan Mountains

ZHOU Yawen¹, BAI Yingying², KAN Zeyu², WANG Zhen², ZHANG Yan², NI Yongqing²

(1. School of Life Sciences, Shihezi University, Shihezi 832000, Xinjiang, China; 2. School of Food Sciences and Technology, Shihezi University, Shihezi 832000, Xinjiang, China)

Abstract: Glaciers are known global reservoirs for cold-adapted microorganisms. Because of the special function of cryogenic microorganisms in glacial habitats, the cold-adapted yeast biodiversity is also of increasing interest to microbiologists. The aim of this investigation was to assess the occurrence and biodiversity of airborne yeast in the air and aerosol at different elevations on the surface of the Urumqi Glacier No. 1 in the Tianshan Mountains, a well-known continental glacier (Northwest China), and to test their temperature characteristic of growth. By using membrane filtration, air aerosol were collected at three sites on the surface of the west branch of the glacier (the altitude ranging from 3 950 to 4 090 m a. s. l.). Isolation and purification of yeast were performed by four different agar media, and all yeast strains were preliminary grouped based on their colony and microscopic morphology. Taxonomic identity and genetic variability of strains isolated were determined by internal transcribed spacer (ITS) sequence and MSP – PCR fingerprinting. The results showed that all 401 isolates were identified as basidiomycetous yeasts (*Agariomycotina* and *Pucciniomycotina*) represented by 28 species of 9 genera (*Holtermanniella*, *Vishniacozyma*, *Filobasidium*, *Dioszegia*, *Rhodotorula*, *Rhodosporidium*, *Cystofilobasidium*, *Naganishia* and *Papiliotrema*), with the first four being dominant genera. *H. festucosa* and *V. victoriae* was the dominant species (22.22% and 16.91%). Among representative strains of the 28 yeast species, only six strains were psychrophilic (the optimum temperature for growth ranging from 16 to 18 °C), whereas the remaining 22 strains had the optimum temperature for growth ranging from 22 to 25 °C, indicating that they belonged to psychrotolerant yeasts. Comparative analyses of Shannon, Simpson's and Chao indices showed the community structures of culturable airborne yeasts at the three elevation ranges on the glacier surface were somewhat different, but differences between the diversity index were not significant. More remarkably, no strains of *Holtermanniella*, a dominant airborne yeast genus, were not found in other habitats of the glacier, such as cryoconite sediment and supra-glacial ice core, suggesting that the harsh conditions of glacier could exert a strong selective pressure on exogenous microorganisms.

Key words: Urumqi Glacier No. 1; Tianshan Mountains; culturable airborne yeasts; diversity

(责任编辑: 刘勇勤; 编辑: 周成林)