



# 2019年全国热带作物学术年会

## 论文集

**聚焦产业转型升级 决胜热区脱贫攻坚**

**主办单位：中国热带作物学会  
西北农林科技大学**

**承办单位：西北农林科技大学园艺学院  
中国热带农业科学院南亚热带作物研究所  
西北农林科技大学科学技术协会**

**协办单位：陕西师范大学食品工程与营养科学学院  
陕西省食品科学技术学会  
武汉迈特维尔生物科技有限公司  
《热带作物学报》编辑部**

2019年09月

中国·西安

### 1. 关于我们 |

武汉迈特维尔生物科技有限公司（简称“迈维代谢”）位于武汉国家生物产业基地——光谷生物城，专注于提供领先的代谢组学技术开发及服务。迈维代谢技术团队创新开发“广泛靶向代谢组”技术，基于“广泛靶向代谢组+基因组+转录组”技术研究路线，近年来以通讯作者身份在Cell、Nature Genetics、Nature Communications、PNAS、Plant Cell、Current Opinion in Plant Biology、Molecular Plant等国际学术期刊发表SCI论文多篇，并应邀在国际动植物基因组大会、国际作物科学大会、国际植物代谢大会、全国植物基因组大会、全国植物生物学大会等会议作大会报告，引领组学发展新方向。

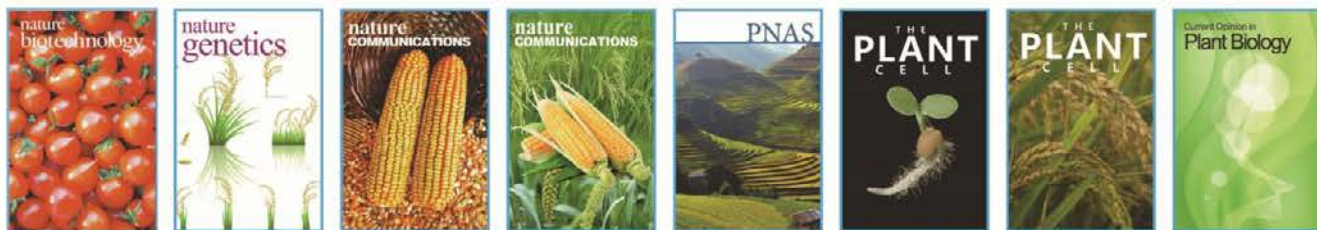
### 2. 代谢生物学方案 |



### 3. 代谢组技术服务 |

| 1. 技术服务<br>TECHNICAL SERVICES  | 2. 应用领域<br>APPLICATIONS   | 3. 技术特点<br>TECHNICAL FEATURES   |
|--|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>▶ 广泛靶向代谢组+重测序</li> <li>▶ 广泛靶向代谢组+转录组</li> <li>▶ 千种植物次生代谢物检测</li> <li>▶ 植物激素绝对定量检测</li> <li>▶ 黄酮靶向代谢组</li> <li>▶ 个性化靶向代谢物检测</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>▶ 自然群体mGWAS研究</li> <li>▶ 人工群体mQTL研究</li> <li>▶ 植物生长发育、抗逆机制研究</li> <li>▶ 药用植物资源保护、药物代谢研究</li> <li>▶ 农作物农艺性状遗传改良研究</li> <li>▶ 蔬果花卉的色泽营养代谢研究</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>▶ 高通量检测植物次生代谢物 (&gt;1000种)</li> <li>▶ 高灵敏，精确检测低丰度物质</li> <li>▶ 批量精确定位候选基因 (数十至近百个)</li> <li>▶ 基因结合代谢物解析表型</li> <li>▶ 辅助确定重要代谢物质合成基因</li> <li>▶ 重构植物特定代谢通路</li> </ul> |

### 4. 广泛靶向代谢组成果 |



**NETWARE**  
迈维代谢

邮箱: support@metware.cn

电话: 027-62433072

网址: www.metware.cn

地址: 武汉市东湖高新区高新大道666号光谷生物城创新园B8栋

What's Next in  
'Omics: The  
Metabolome

amazing where happens

# 目 录

|   |     |
|---|-----|
| 1. 不同提取方法对辣木叶挥发油化学成分的影响研究 .....                                 | 1   |
| 2. 广西引进甘蔗品种(系)的比较筛选与综合评价 .....                                  | 11  |
| 3. 西番莲病毒病发生与防控建议 .....  | 18  |
| 4. 土壤因子与小粒咖啡品质产量形成关系研究 .....                                    | 21  |
| 5. 精制竹荩素抑菌增效作用的研究 .....   | 31  |
| 6. 番茄果实发育过程中芳香物质的构成与变化 .....                                    | 36  |
| 7. 云南德宏石斛产业发展现状及可持续发展的探讨 .....                                  | 53  |
| 8. 香花油茶果壳芯提取物药理活性研究 .....                                       | 58  |
| 9. 咖啡果酒发酵菌种筛选及香气成分分析 .....                                      | 66  |
| 10. 澳洲坚果实时定量 PCR 分析中内参基因的筛选 .....                               | 74  |
| 11. 西双版纳宜种优良菠萝品种筛选 .....  | 82  |
| 12. 6 种澳洲坚果品种光合特性差异分析① .....                                    | 88  |
| 13. DTOPSIS 法在甘薯品系综合评价中的应用研究 .....                              | 95  |
| 14. 木薯二倍体及其同源四倍体开花结实特性的比较研究 .....                               | 100 |
| 15. 代谢组和转录组联合分析园艺植物生理机制研究进展 .....                               | 107 |
| 16. 通气渗灌提高玉米农艺性状及产量 .....                                       | 116 |
| 17. Evaluation of the 1981 IRRDB Hevea Germplasm in China ..... | 124 |
| 18. 国内外咖啡灭字脊天牛防控技术研究新进展 .....                                   | 127 |
| 19. 云南 4 个地区咖啡品质分析 .....  | 134 |
| 20. 剑麻酵母双杂交 cDNA 表达文库的构建及与 AhKNOX2 相互作用蛋白的筛选 .....              | 138 |
| 21. 不同处理对百香果扦插繁殖的影响 .....                                       | 145 |
| 22. 莲雾开花习性和授粉特性研究 .....   | 150 |
| 23. 根袋法获取木薯根际土壤的初步研究(一) .....                                   | 156 |
| 24. 根袋法获取木薯根际土壤的初步研究(二) .....                                   | 171 |
| 25. 蚯蚓采食不同碳氮比食料的营养物质与能量转化特征 .....                               | 188 |
| 26. 9 个卡蒂姆咖啡品种品质研究 .....  | 198 |
| 27. 番荔枝 SWEET 基因的克隆与表达分析 .....                                  | 205 |
| 28. 25 个青贮玉米在金沙江干热河谷地区的生产性能 .....                               | 213 |
| 29. 菠萝 4 个 AcAP2 基因的克隆及表达分析 .....                               | 224 |
| 30. 雷州半岛种植茶叶中多种措施综合使用成效的浅探 .....                                | 231 |
| 31. 复合酶法提取余甘果中黄酮总量工艺研究 <sup>2</sup> .....                       | 234 |
| 32. 广东农垦菠萝产业发展路径探索 .....  | 242 |

|   |     |
|---|-----|
| 33.油茶高效育苗栽培管理技术要点 .....   | 249 |
| 34.基于 Citespace 的剑麻研究热点与发展趋势的可视化分析 .....  | 251 |
| 35.绿色木霉抗花生黄曲霉相关基因 <i>TvRBL</i> 的克隆、序列分析 .....   | 256 |
| 36.覆盖黑膜对菠萝生长、产量和品质的影响 .....   | 263 |
| 37.温室大棚精品西瓜一苗三收栽培技术研究 .....   | 266 |
| 38.立足全产业链发展 做强做大菠萝产业——湛江农垦菠萝产业发展对策探讨 .....  | 272 |
| 39.火龙果的主要病虫害及其防治方法 .....  | 275 |
| 40.咖啡新品种德热 3 号选育报告 .....  | 279 |
| 41.93 份云瑞甘蔗创新亲本及其组合经济育种值评价 .....  | 283 |
| 42.Exogenous <i>myo</i> -inositol alleviates salinity-induced stress in <i>Malus hupehensis</i> Rehd. ....  | 291 |
| 43.Phosphoglucan, water dikinase (PWD/GWD3) regulates starch metabolism through protein interactions in cassava ( <i>Manihot esculenta</i> Crantz) .....  | 292 |
| 44.14 种杀菌剂对咖啡叶枯病病原菌的室内毒力测定 .....  | 293 |
| 45.UV-B 诱导高粱生理机制及光谱特性分析.....  | 294 |
| 46.喷施不同浓度木醋液对杧果实品质的影响 .....   | 295 |
| 47.澳洲坚果果实品质综合评价 .....   | 296 |
| 48.Crosstalk of drought resistance and hormone response mediated by apple MdMYB88.....  | 297 |
| 49.茶树成花相关基因的鉴定 .....  | 298 |
| 50.杧果 <i>MiCOL8A</i> 和 <i>MiCOL8B</i> 基因克隆与表达模式分析 .....   | 299 |
| 51.杧果 <i>CONSTANS-Like17</i> ( <i>MiCOL17</i> ) 基因的克隆与表达分析 .....  | 300 |
| 52.木薯转录因子 MeERF109 促进淀粉积累并负调控低温耐受.....  | 301 |
| 53.不同繁育器材对褐带卷蛾茧蜂繁育效果比较 .....  | 302 |
| 54.黄皮果实发育过程中蔗糖和柠檬酸代谢机理研究 .....  | 303 |
| 55. <i>SlEnY2</i> 响应非生物胁迫的功能初探 .....  | 304 |
| 56.澳洲坚果 MiMYB1 基因克隆及生物信息学分析.....  | 305 |
| 57.木薯蔗糖转化酶 MeCWINV3 通过调控糖的源库分配影响储藏根产量.....  | 306 |
| 58.马铃薯叶缘黄化基因克隆以及功能验证 .....  | 307 |
| 59. <i>NHX1</i> 和 <i>eIF4A1</i> 双价的转基因甘薯显示出对干旱胁迫增强的耐受性 .....  | 308 |
| 60.莲雾上桔小实蝇发生规律 .....  | 309 |
| 61.嗜菌异小杆线虫 H06 品系对红棕象甲幼虫的室内致病力 .....  | 310 |
| 62.Genome-wide analyses of genes that encode Light-Harvesting Chlorophyll a/b-Binding Protein in apple ( <i>Malus domestica</i> ) allows the identification of <i>MdLHcb4.3</i> conferring tolerance to drought and osmotic stresses in plants..... | 311 |
| 63.不同繁育器材对褐带卷蛾茧蜂繁育效果比较 .....  | 312 |
| 64.木薯块根均一化酵母双杂交 cDNA 文库构建.....  | 313 |

|  |     |
|--|-----|
| 65.南瓜芋香味挥发性物质解析 .....  | 314 |
| 66.25%“根康”乳油对橡胶树根病的毒力测定及田间防效评价 .....   | 315 |
| 67.氯化钙处理对菠萝采后黑心病及贮藏品质的影响 .....   | 316 |
| 68.枯草芽孢杆菌 Czkl 抑菌物质组分分析 .....  | 317 |
| 69.小粒咖啡果皮多酚提取工艺优化及其抗氧化活性研究 .....   | 318 |
| 70.咖啡拟茎点霉菌 <i>Phomopsis heveicola</i> 特异性引物 PCR 检测体系建立 .....   | 319 |
| 71.钝叶草叶斑病抗病性鉴定 .....   | 320 |
| 72.Effect of Immature zygotic embryo development stage on in vitro culture for Renong 1 mango .....                          | 321 |
| 73.Vegetative Propagation of Avocado ( <i>Persea americana</i> ) Rootstock .....   | 322 |
| 74.海南荔枝炭疽菌优势种群及群体遗传多样性研究 .....   | 323 |
| 75.柱花草苯丙氨酸解氨酶 <b>SgPALs</b> 抗炭疽病功能的初步探究 .....  | 324 |
| 76.椰子不同种质对灰斑病菌室内抗性评价 .....   | 325 |
| 77.草海桐链格孢病菌( <i>Alternaria longipes</i> )生物学特性及杀菌剂的室内筛选 .....  | 326 |
| 78.鸡冠刺桐拟茎点霉叶斑病鉴定及防治药剂筛选 .....  | 327 |
| 79.贮藏期豇豆绵腐病病原菌初步鉴定 .....   | 328 |
| 80.Independent modulation of replication and transcription of individual genomic component in a multipartite DNA virus ..... | 329 |
| 81.澳洲坚果及其果仁油品质研究 .....   | 330 |
| 82.41 份黄晶果种质资源遗传多样性和亲缘关系的 SRAP 分析 .....  | 331 |
| 83.热研二号柱花草及其太空诱变株系对胶孢炭疽菌抗病机制的初步研究* .....   | 332 |
| 84.施肥对剑麻园土壤微生物的影响* .....   | 333 |
| 85.西沙群岛草海桐叶缘枯病病原菌鉴定 .....  | 334 |
| 86.咖啡褐斑病的病原菌鉴定及其生物学特性测定 .....  | 335 |
| 87.木薯抗蚜种质资源挖掘与创新利用研究进展 .....   | 336 |
| 88.热带瓜菜抗蚜性研究进展 .....   | 337 |
| 89.Current Progress of Yellowing-related Diseases in Arecanut in Hainan Province .....                                       | 338 |
| 90.Progress of Lethal Yellowing Caused by Phytoplasma in Coconut in Mexican .....  | 339 |
| 91. <sup>15</sup> N 示踪法研究生物炭对甘蔗氮素吸收、分配及利用率的影响 <sup>1</sup> .....   | 340 |
| 92.甘蔗叶部病害田间抗性评价体系的建立 .....   | 341 |
| 93.云南割手密 F <sub>1</sub> 代种质的抗旱性研究 .....  | 342 |

# 不同提取方法对辣木叶挥发油化学成分的影响研究

李国明<sup>1</sup>, 李守岭<sup>1</sup>, 张丽萍<sup>1</sup>, 李秀林<sup>2</sup>, 刘汗青<sup>2</sup>

1.云南省德宏热带农业科学研究所, 云南瑞丽 678600; 2.瑞丽市海关, 云南瑞丽 678600

**摘要** 本论文研究了两种不同提取方法对辣木叶挥发油化学成分及含量的影响。采用索氏提取仪和超声波清洗仪分别提取三个不同品种的辣木叶挥发油, 利用气相色谱质谱联用仪分析辣木叶挥发油化学成分及其质量分数。结果表明, 索氏提取法得到的非洲种、缅甸种和印度种等三种辣木叶挥发油分别鉴定出了72、74、62种化学成分, 质量分数分别为79.63%、93.69%、95.97%。超声波提取法得到的三种辣木叶挥发油分别鉴定出了63、63、57种化学成分, 质量分数分别为97.20%、95.17%、98.28%。索氏提取法得到的三种辣木叶挥发油中, 非洲种中醇类、羧酸类、醌类等三类化合物含量较高, 缅甸种中酯类、酮类、醛类、烯炔类、酰类和酚类等六类化合物含量较高, 印度种中烷烃类化合物含量较高; 超声波提取法得到的三种辣木叶挥发油中, 非洲种中醛类和醌类两类化合物含量较高, 缅甸种中酯类、醇类、羧酸类、烯炔类和酰类等五类化合物含量较高, 印度种中烷烃类、酮类和酚类三类化合物含量较高。索氏提取法和超声波提取法两种方法得到的三个品种辣木叶挥发油化学成分种类和质量分数均有明显差异, 两种方法的分析结果体现了辣木叶挥发油的不同品质, 为继续研究和开发利用辣木挥发油提供了科学依据。

**关键词** 辣木叶; 挥发油; 索氏提取法; 超声波提取法; 含量分析

## Study on effect of different extraction methods on chemical constituents of volatile oils from the leaves of *Moringa oleifera*

LI Guoming<sup>1</sup>, LI Shouling<sup>1</sup>, ZHANG Liping<sup>1</sup>, LI Xiulin<sup>2</sup>, LIU Hanqing<sup>2</sup>

1. Institute for Tropical Agriculture Scientific Research of De hong, Yunnan Province, Ruili 678600; 2. Ruili Customs, Yunnan Province, Ruili 678600

**Abstract** The effects of two different extraction methods on the chemical compositions and contents of volatile oils from the leaves of *Moringa oleifera* were studied in this paper. Volatile oils from the leaves of three different species of *Moringa oleifera* were extracted by Soxhlet extractor and ultrasonic cleaner respectively, the chemical constituents and mass fractions of volatile oils from the leaves of *Moringa oleifera* were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The results show that the volatile oils from the leaves of three species of *Moringa oleifera*, namely, African species, Myanmar species and Indian species, obtained by Soxhlet extraction, were analyzed and identified as 72, 74, and 62 chemical constituents respectively, the mass fractions were 79.63%, 93.69% and 95.97% respectively. The volatile oils from the leaves of three species of *Moringa oleifera* obtained by ultrasound extraction, were analyzed and identified as 63, 63, and 57 chemical constituents respectively, the mass fractions were 97.20%, 95.17% and 98.28% respectively. Among the volatile oils from the leaves of three species of *Moringa oleifera* obtained by Soxhlet extraction, the contents of alcohols, carboxylic acids and quinones are higher in African species, the contents of esters, ketones, aldehydes, olefins, acyls and phenols are higher in Myanmar species, the contents of alkanes are higher in Indian species; Among the volatile oils from the leaves of three species of *Moringa oleifera* obtained by Ultrasound extraction, the contents of aldehydes and quinones are higher in African species, the contents of esters, alcohols, carboxylic acids, olefins and acyls are higher in Myanmar species, the contents of alkanes, ketones and phenols are relatively higher in Indian species. The chemical constituents and mass fractions of volatile oils from the leaves of three species of *Moringa oleifera* by Soxhlet extraction and ultrasonic extraction were significantly different, the analysis results of the two methods reflect the different qualities of volatile oils from the leaves of *Moringa oleifera*, it provides a scientific basis for further research and development and utilization of volatile oils of *Moringa oleifera*.

**Keywords** Leaves of *Moringa oleifera*; volatile oils; soxhlet extraction; ultrasound extraction; Content analysis

辣木(*Moringa oleifera* Lam.) 又称鼓槌树, 为辣木科(*Moringaceae*) 辣木属(*Moringa*) 多年生落叶乔木植物<sup>[1-2]</sup>。研究表明, 辣木富含纤维素、黄酮类<sup>[3]</sup>、蛋白质<sup>[4]</sup>、多糖类<sup>[5]</sup>、酚类及其苷<sup>[6-7]</sup>、生物碱类等营养性和功能性化学物质<sup>[8-9]</sup>, 具有免疫调节、抗癌、利尿、调节血压和胆固醇、抗氧化、抗炎、抗溃疡, 抗菌等生理活性<sup>[11-18]</sup>。

对辣木挥发性化学成分的研究中, 采用水蒸气蒸馏法来提取辣木挥发油的报道较多, 而采用其它方法提取辣木挥发油并对比不同方法对化学成分种类及含量的研究鲜有报道。蔡彩虹<sup>[19]</sup>等采用水蒸气蒸馏法提取辣木叶的挥发性成分, 通过GC-MS法测定了辣木叶的挥发性成分, 共鉴定了33个化学成分, 相对含量为85.94%, 主要为脂肪酸类、烷烃类、醛类和酮类等化合物; 袁明焱<sup>[20]</sup>等采用丙酮浸泡, 正己烷萃取法提取辣木叶挥发性成分, 共鉴定出43种化合物, 主要为甾体、醇、炔、杂环、胺、酯、醛、脂肪酸与酮等化合物; 杨宝钦<sup>[21]</sup>等以水蒸气蒸馏法提取辣木鲜根挥发油, 经GC-MS定性分析, 鉴定出24种挥发性化学成分, 相对含量为87.98%, 主要以烯炔类、酯类、苯乙氧等化合物为主; 段琼芬<sup>[22]</sup>等采用超临界二氧化碳萃取法提取辣木籽

**基金项目** 云南省现代农业天然橡胶产业技术体系建设项目 (No.2017KJTX008-04)。

**作者简介** 李国明(1986-), 男, 助理研究员, 主要从事农产品农药残留检测及药用植物化学成分分析研究, E-mail:liguoming654200@163.com。

油,并将其进行GC-MS分析,发现辣木籽油主要由脂肪酸组成,油酸含量高达65.63 %;陈荣荣等<sup>[23]</sup>对辣木树不同部位挥发性香气成分进行研究,从辣木叶、茎和根中共检测出48种挥发性香气成分,主要为酯类、杂环类、醛类和醇类。梁文娟<sup>[24]</sup>等采用水蒸气蒸馏法和GC-MS,从云南产辣木叶挥发油中共鉴定出31个成分,包括脂肪烃类、萜类、芳香化合物等化合物。

本研究采用索氏提取法和超声波提取法两种方法提取非洲种、缅甸种和印度种三个品种的辣木叶挥发油,利用气相色谱-质谱联用仪分析挥发油的化学成分及其质量分数。通过对这两种方法得到的挥发油化学成分及质量分数的对比分析,研究两种提取方法对辣木叶挥发油化学成分类型及含量的影响,为采用合适方法提取辣木挥发油并对挥发油品质评价提供科学依据。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 材料与试剂

本实验所用辣木叶为云南省德宏热带农业科学研究所辣木标准化生产示范园种植的非洲辣木、缅甸辣木和印度辣木3个辣木品种。

试剂:石油醚(分析纯,沸程:30-60 °C,成都市科隆化学品有限公司);正己烷(色谱纯, sigma-aldrich 西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司);

#### 1.1.2 仪器与设备

电子天平(型号:ML4002E,梅特勒-托利多仪器上海有限公司);电热鼓风干燥箱(型号:GZX-9140MBE,上海博讯实业有限公司医疗设备厂);索氏提取仪(型号:BSXT-06,上海豫明仪器有限公司);超声波双频清洗仪(型号:SB25-12DTS,宁波新芝生物科技股份有限公司);气相色谱—质谱联用仪(型号:Trace ISQ,美国 Thermo Fisher 公司);毛细管色谱柱(型号: TG-1701MS, 30 m×0.25 mm×0.25 μm);循环水机(型号:CCA-1111)-真空旋转蒸发仪(型号: N-1200B)(上海泉杰科学仪器有限公司);中药材粉碎机(型号: DG160,浙江瑞安春海药材器械厂)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 辣木叶样品制备

将采集的3个不同品种辣木叶样品,在电热鼓风干燥箱中60 °C恒温烘干,采用中药材粉碎机粉碎后过60目样品筛,收集样品,干燥保存待测。

#### 1.2.2 索氏提取法提取辣木叶挥发油

准确称取3个不同品种的辣木叶样品1.50 g置于索氏提取器中,加入30.0 mL石油醚,设置提取温度为40 °C,加热回流提取1.5 h。将收集的提取液经真空旋转蒸发仪浓缩,得到的淡黄色液体即为辣木叶挥发油,略带淡淡的特殊气味。用2.0 mL色谱纯正己烷将辣木叶挥发油溶解后,转移至10.0 mL容量瓶,以正己烷定容至刻度,摇匀静置后,转移至试剂瓶密封保存待测。

#### 1.2.3 超声波提取法提取辣木叶挥发油

准确称取3个不同品种的辣木叶样品1.50 g置于250 mL具塞锥形瓶中,加入30.0 mL正己烷,在超声波清洗仪温度为30 °C,功率为40.0 KHz,功率比为95.0 %的条件下超声提取1.5 h。提取液过滤后,将滤液用真空旋转蒸发仪浓缩,得到的淡黄色液体即为辣木叶挥发油,略带淡淡的特殊气味。采用2.0 mL色谱纯正己烷将辣木叶挥发油溶解后,转移至10.0 mL容量瓶,以正己烷定容至刻度,摇匀静置后,转移至试剂瓶密封保存待测。

#### 1.2.4 辣木叶挥发油供测试溶液的配制

准确移取经两种不同方法提取的3个不同品种的辣木叶挥发油0.5 mL于5.0 mL容量瓶中,以正己烷定容至刻度,采用旋涡混合器混匀静置后,移取1.0 mL挥发油待测液至进样瓶中,密封待测试。

#### 1.2.5 气相色谱—质谱联用仪(GC-MS)分析条件

气相色谱条件: TG-1701MS毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm),程序升温(初始温度为60.0 °C保持1.0 min,以10.0 °C·min<sup>-1</sup>的升温速率升至250.0 °C保持30.0 min),载气为高纯He,恒流模式,柱流量为1.0 mL·min<sup>-1</sup>,平均线速度为37 cm·s<sup>-1</sup>,进样量1.0 μL,进样口温度250.0 °C,分流比100:1。

质谱条件: EI电离模式,电子倍增管电压1917.0 V,电子能量70.0 eV,离子传输管温度250.0 °C,离子源温度250.0 °C,扫描质量范围m/z为30-550 amu。

#### 1.2.6 成分分析

按上述气相色谱-质谱联用仪分析条件,对经两种不同方法提取的辣木叶挥发油待测溶液由气相色谱仪的自动进样器进样测试,得到辣木叶挥发油总离子流图。总离子流图中各色谱峰由质谱工作站 Xcalibur 3.0 结合 NIST08 标准质谱图数据库进行对比分析,得到挥发性化学成分色谱图,对图谱进行综合分析得到挥发性化学成分的组成及质量分数。

### 1.3 数据处理

采用质谱工作站软件 Xcalibur 3.0 对采集得到的辣木叶挥发油总离子流图中各个色谱峰进行定性分析,结合 NIST08 标准质谱图数据库对各色谱峰对应的化合物进行综合分析鉴定,由 Xcalibur 3.0 软件定量分析得

到各色谱峰的峰面积，采用峰面积归一化法计算得到各化合物的质量分数。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同方法提取的辣木叶挥发油总离子流色谱图

将由两种方法提取的 3 个不同品种的辣木叶挥发油的总离子流色谱图信息经质谱工作站 Xcalibur 3.0 和 NIST08 标准质谱图数据库进行谱库检索及分析，扣除本底杂质，得到辣木叶挥发油的主要化学成分组成及质量分数。索氏提取法提取的非洲辣木叶挥发油中共鉴定出 74 种化合物(总离子流图见图 1)，索氏提取法提取的缅甸辣木叶挥发油中共鉴定出 72 种化合物(总离子流图见图 2)，索氏提取法提取的印度辣木叶挥发油中共鉴定出 62 种化合物(总离子流图见图 3)，超声波提取法提取的非洲辣木叶挥发油中共鉴定出 63 种化合物(总离子流图见图 4)，超声波提取法提取的缅甸辣木叶挥发油中共鉴定出 63 种化合物(总离子流图见图 5)，超声波提取法提取的印度辣木叶挥发油中共鉴定出 57 种化合物(总离子流图见图 6)。结果表明，两种方法提取的 3 个不同品种的辣木叶挥发油主要成分组成及含量均有所差异。

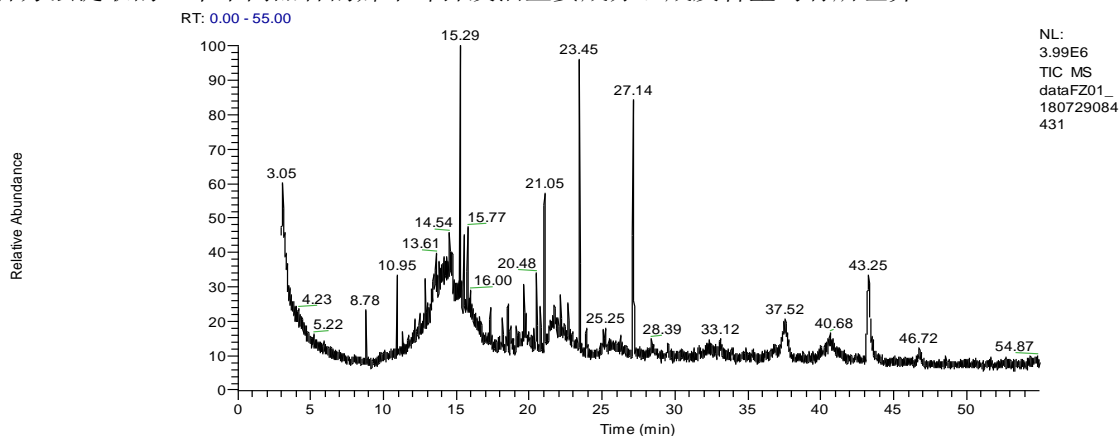


图 1 索氏提取法提取的非洲辣木叶挥发油 GC-MS 总离子流色谱图

Fig.1 GC-MS Total Ion Flow Chromatography of volatile oils extracted from leaves of *Moringa oleifera* of Africa by soxhlet extraction

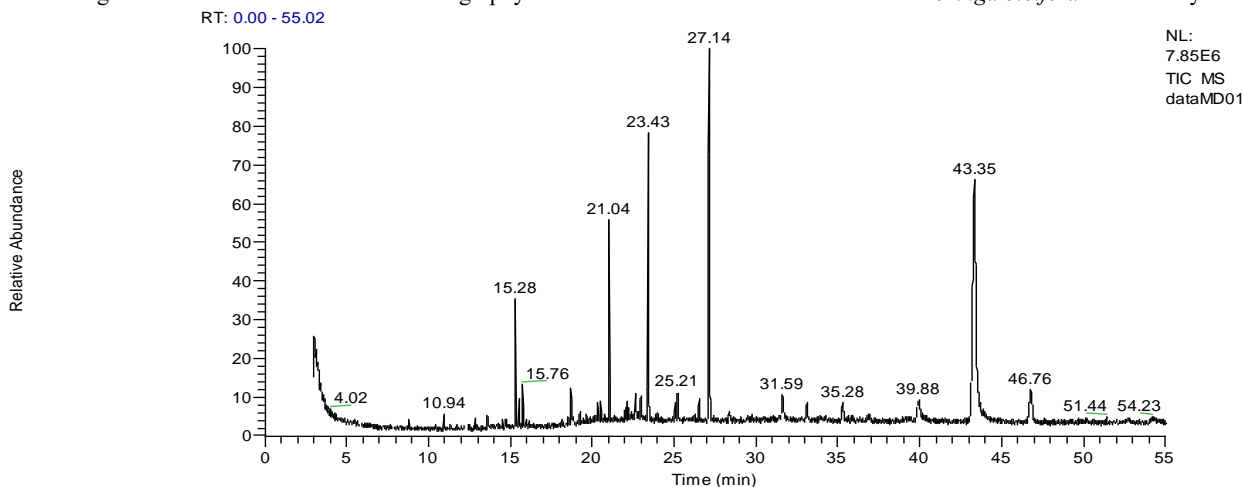


图 2 索氏提取法提取的缅甸辣木叶挥发油 GC-MS 总离子流色谱图

Fig.2 GC-MS Total Ion Flow Chromatography of volatile oils extracted from leaves of *Moringa oleifera* of Myanmar by soxhlet extraction



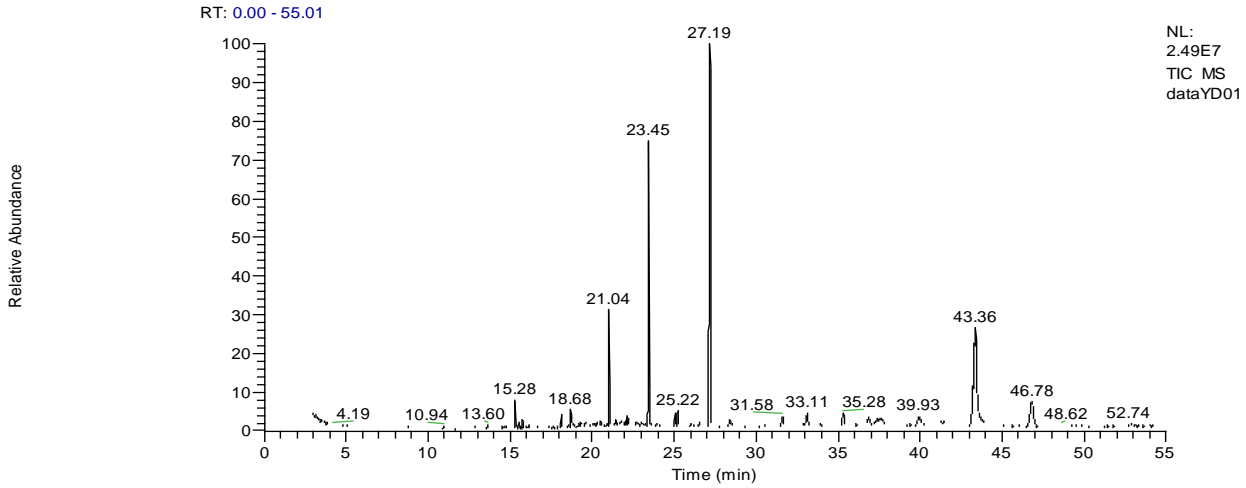


图3 索氏提取法提取的印度辣木叶挥发油 GC-MS 总离子流色谱图

Fig.3 GC-MS Total Ion Flow Chromatography of volatile oils extracted from leaves of *Moringa oleifera* of India by soxhlet extraction

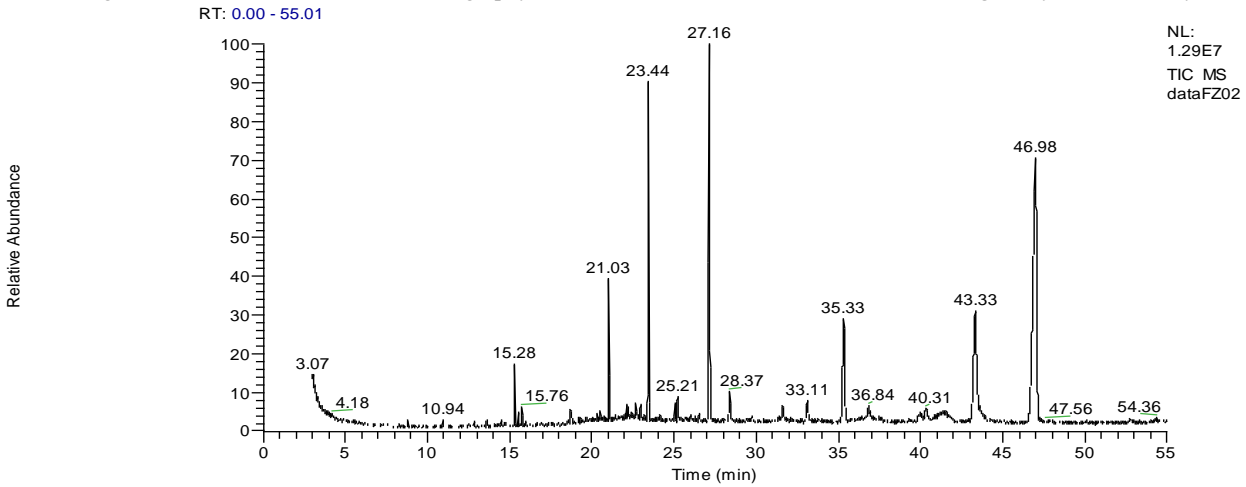


图4 超声波提取法提取的非洲辣木叶挥发油 GC-MS 总离子流色谱图

Fig.4 GC-MS Total Ion Flow Chromatography of volatile oils extracted from leaves of *Moringa oleifera* of Africa by Ultrasound extraction

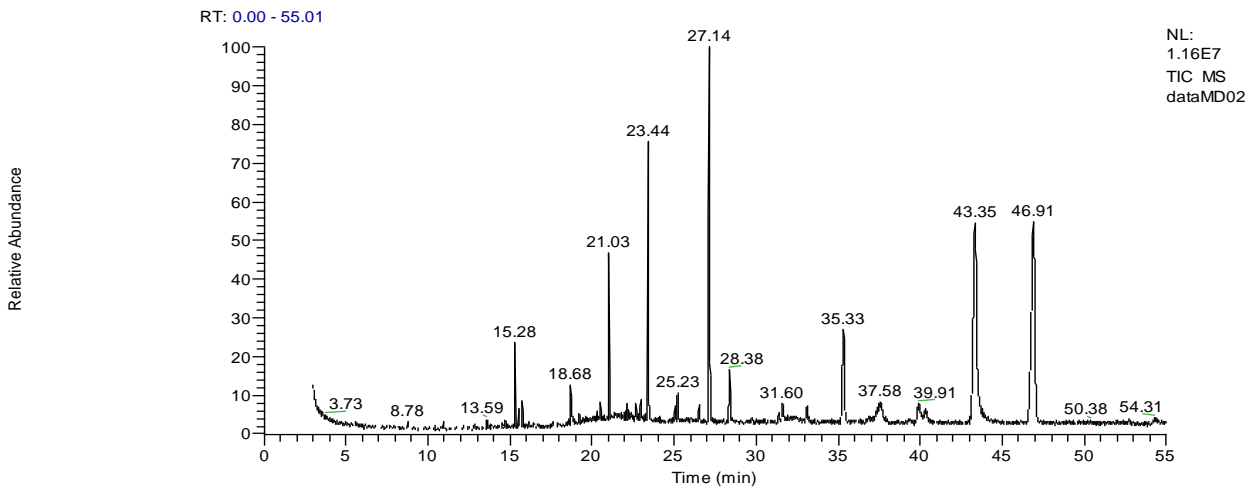


图5 超声波提取法提取的缅甸辣木叶挥发油 GC-MS 总离子流色谱图

Fig.5 GC-MS Total Ion Flow Chromatography of volatile oils extracted from leaves of *Moringa oleifera* of Myanmar by Ultrasound extraction

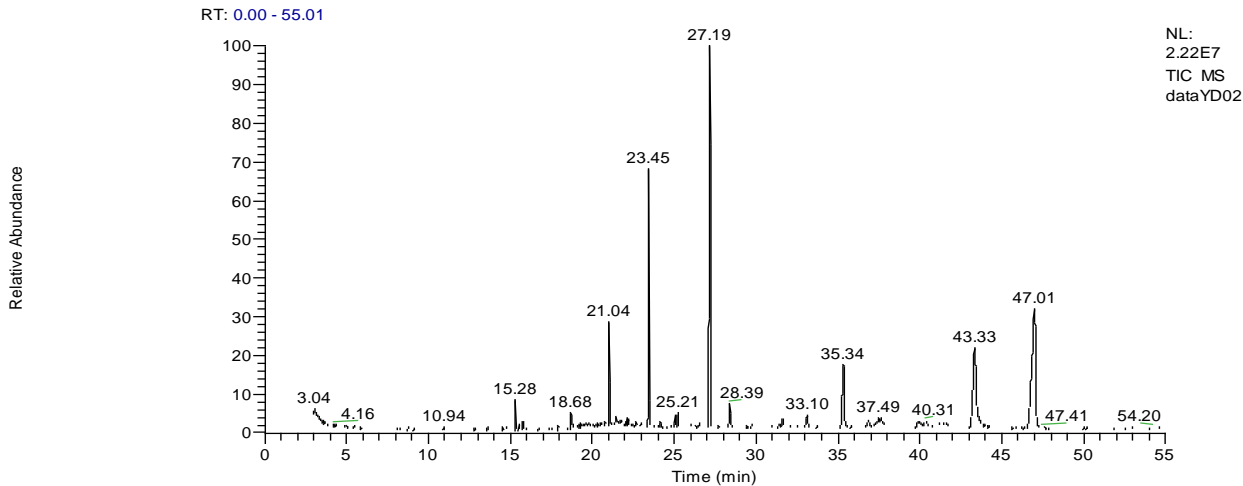


图 6 超声波提取法提取的印度辣木叶挥发油 GC-MS 总离子流色谱图

Fig.6 GC-MS Total Ion Flow Chromatography of volatile oils extracted from leaves of *Moringa oleifera* of India by Ultrasound extraction

## 2.2 两种方法提取的辣木叶挥发油化学成分分析结果

辣木叶挥发油总离子流图中各色谱峰通过质谱工作站 Xcalibur 3.0 结合 NIST08 标准质谱图数据库进行对比分析, 根据总离子流色谱峰的峰面积法, 采用峰面积归一化法计算各挥发性化学成分的相对质量分数, 鉴定出的化学成分及其质量分数结果见表 1。

索氏提取法提取的非洲辣木叶挥发油分析鉴定出 72 种化合物, 占挥发油化学成分的质量分数为 79.63 %。其中质量分数大于 1.00 % 化合物有 22 种, 占挥发油化学成分的质量分数为 53.23 %。质量分数较高的五种化合物分别为: 顺-9-十八烯醇(质量分数 3.85 %)、正二十四烷(质量分数 3.09 %)、正二十八烷(质量分数 7.24 %)、正二十一烷(质量分数 10.02 %)、乙酸丁香酚酯(质量分数 5.41 %)。

超声波提取法提取的非洲辣木叶挥发油分析鉴定出 63 种化合物, 占挥发油化学成分的质量分数为 97.20 %。其中质量分数大于 1.00 % 化合物有 11 种, 占挥发油化学成分的质量分数为 82.01 %。质量分数较高的六种化合物分别为: 正二十四烷(质量分数 3.16 %)、正二十八烷(质量分数 10.89 %)、正二十一烷(质量分数 18.56 %)、(Z)-11-十六碳烯-1-醇(质量分数 7.02 %)、乙酸丁香酚酯(质量分数 10.43 %)、月桂醛(质量分数 25.48 %)。

索氏提取法提取的缅甸辣木叶挥发油共分析鉴定出 74 种化合物, 占挥发油化学成分的质量分数为 93.69 %。其中质量分数大于 1.00 % 化合物有 18 种(见图 8), 占挥发油化学成分的质量分数为 73.58 %。质量分数较高的五种化合物分别为: 正二十四烷(质量分数 4.69 %)、正二十八烷(质量分数 9.77 %)、正二十一烷(质量分数 19.69 %)、乙酸丁香酚酯(质量分数 15.31 %)、月桂醛(质量分数 3.96 %)。

超声波提取法提取的缅甸辣木叶挥发油共分析鉴定出 63 种化合物, 占挥发油化学成分的质量分数为 95.17 %。其中质量分数大于 1.00 % 化合物有 11 种(见图 9), 占挥发油化学成分的质量分数为 76.25 %。质量分数较高的七种化合物分别为: 正二十四烷(质量分数 3.70 %)、正二十八烷(质量分数 8.46 %)、正二十一烷(质量分数 17.59 %)、(Z)-11-十六碳烯-1-醇(质量分数 3.15 %)、1-十七醇(质量分数 3.06 %)、乙酸丁香酚酯(质量分数 14.40 %)、月桂醛(质量分数 18.85 %)。

索氏提取法提取的印度辣木叶挥发油共分析鉴定出 62 种化合物, 占挥发油化学成分的质量分数为 95.97 %。其中质量分数大于 1.00 % 化合物有 10 种(见图 10), 占挥发油化学成分的质量分数为 80.30 %。质量分数较高的五种化合物分别为: 正二十四烷(质量分数 4.80 %)、正二十八烷(质量分数 16.91 %)、正二十一烷(质量分数 36.61 %)、乙酸丁香酚酯(质量分数 11.07 %)、月桂醛(质量分数 3.38 %)。

超声波提取法提取的印度辣木叶挥发油共分析鉴定出 57 种化合物, 占挥发油化学成分的质量分数为 98.28 %。其中质量分数大于 1.00 % 化合物有 10 种(见图 6), 占挥发油化学成分的质量分数为 83.88 %。质量分数较高的六种化合物分别为: 正二十四烷(质量分数 3.38 %)、正二十八烷(质量分数 11.95 %)、正二十一烷(质量分数 27.65 %)、(Z)-11-十六碳烯-1-醇(质量分数 6.94 %)、乙酸丁香酚酯(质量分数 8.95 %)、月桂醛(质量分数 19.70 %)。

通过对两种方法提取的辣木叶挥发油化学成分的分析可知, 非洲辣木叶经索氏提取法提取的挥发油化学成分总数和质量分数大于 1.00 % 化合物种数均比超声波提取法多, 两种方法提取的挥发油主要化学成分中, 有 4 个共同化合物, 分别为: 正二十四烷、正二十八烷、正二十一烷和乙酸丁香酚酯, 超声波提取法的挥发油中这 4 个化合物的质量分数均比索氏提取法高。超声波提取法分析得到了索氏提取法没有的月桂醛(质量分数 25.48 %)、(Z)-11-十六碳烯-1-醇(质量分数 7.02 %)和油酸甲酯(质量分数 1.02 %)三种化合物, 索氏提取法分析得到了蓖麻油酸(质量分数 1.32 %)和肉豆蔻醇(质量分数 1.11 %)两种影响挥发油品质的化合物; 缅甸辣木叶经索氏提取法提取的挥发油化学成分总数和质量分数大于 1.00 % 化合物种数均比超声波提取法多, 两

种方法提取的挥发油主要化学成分中,有 5 个共同化合物,分别为:正二十四烷、正二十八烷、正二十一烷、乙酸丁香酚酯和月桂醛。索氏提取法挥发油的中正二十四烷、正二十八烷、正二十一烷和乙酸丁香酚酯 4 个化合物的质量分数均比超声波提取法高,超声波提取法月桂醛含量较高,且超声波提取法的挥发油中质量分数大于 1.00 % 化学成分除 1-十七醇外,其它化合物在索氏提取法挥发油中也含有;两种方法提取的印度辣木叶挥发油化学成分总数和质量分数大于 1.00 % 化合物种数相差不多,质量分数较高的主要化学成分中有 5 个共同化合物,分别为:正二十四烷、正二十八烷、正二十一烷、乙酸丁香酚酯和月桂醛。其中,索氏提取法挥发油的中正二十四烷、正二十八烷、正二十一烷和乙酸丁香酚酯 4 个化合物的质量分数均比超声波提取法高,超声波提取法月桂醛含量较高。

表 1 两种方法提取的辣木叶挥发油化学成分分析结果

Table 1 Analysis results of chemical constituents of volatile oils from leaves of *Moringa oleifera* extracted by two methods

| 保留<br>时间<br><br>RT<br><br>(min) | 化合物名称<br><br>Compound  | CAS 号<br><br>CAS No. | 分子式<br><br>Molecular<br>formula | 分子量<br><br>Molecular<br>weight | 相对含量 Relative content(%)      |                               |                             |                                 |                               |                             |
|---------------------------------|--|----------------------|---------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-----------------------------|---------------------------------|-------------------------------|-----------------------------|
|                                 |  |                      |                                 |                                | 索氏提取法<br>Soxhlet extraction   |                               |                             | 超声波提取法<br>Ultrasound extraction |                               |                             |
|                                 |  |                      |                                 |                                | 非洲<br>种<br>African<br>species | 缅甸<br>种<br>Myanmar<br>species | 印度<br>种<br>India<br>species | 非洲<br>种<br>African<br>species   | 缅甸<br>种<br>Myanmar<br>species | 印度<br>种<br>India<br>species |
| 3.05                            | γ-戊内酯 γ-Valerolactone  | 108-29-2             | C5H8O2                          | 100.12                         | 2.12                          | 2.8                           | 0.2                         | 0.32                            | 0                             | 0.21                        |
| 3.17                            | (E)-2-己烯-1-醇 trans-2-hexen-1-ol  | 928-95-0             | C6H12O                          | 100.16                         | 0.81                          | 1.38                          | 0                           | 0.18                            | 0                             | 0.29                        |
| 3.23                            | 环戊醇 cyclopentanol  | 96-41-3              | C5H10O                          | 86.13                          | 0.54                          | 1.09                          | 0.19                        | 0.17                            | 0                             | 0.22                        |
| 3.63                            | 顺-2-戊烯-1-醇 cis-2-Penten-1-ol   | 1576-95-0            | C5H10O                          | 86.13                          | 0                             | 0.48                          | 0.18                        | 0.14                            | 0                             | 0.16                        |
| 4.80                            | 壬烷 n-Nonane  | 111-84-2             | C9H20                           | 128.26                         | 0                             | 0.2                           | 0                           | 0.14                            | 0                             | 0                           |
| 5.24                            | 2,2-二甲基己酮<br>2,2-Dimethyl-3-hexanone                                     | 5405-79-8            | C8H16O                          | 128.21                         | 0.26                          | 0.2                           | 0                           | 0.16                            | 0.17                          | 0.13                        |
| 5.93                            | 乙酸己酯 Hexyl acetate   | 142-92-7             | C8H16O2                         | 144.21                         | 0.28                          | 0.19                          | 0                           | 0                               | 0                             | 0                           |
| 6.36                            | 1-戊烯-3-醇 1-Penten-3-ol   | 616-25-1             | C5H10O                          | 86.13                          | 0.35                          | 0.15                          | 0                           | 0                               | 0.14                          | 0                           |
| 7.81                            | 6-甲基庚醇 isoctyl alcohol   | 26952-21-6           | C8H18O                          | 130.23                         | 0.26                          | 0.24                          | 0                           | 0                               | 0                             | 0                           |
| 8.68                            | 乙酸异丁酯 Isobutyl Acetate   | 110-19-0             | C6H12O2                         | 116.16                         | 1.14                          | 0.31                          | 0.15                        | 0.18                            | 0.25                          | 0.15                        |
| 10.40                           | 壬醛 Nonanal   | 124-19-6             | C9H18O                          | 142.24                         | 0                             | 0                             | 0.1                         | 0                               | 0                             | 0                           |
| 10.42                           | 乙醛酸正丁酯 Butyl oxoacetate  | 6295-6-3             | C6H10O3                         | 130.14                         | 0                             | 0.24                          | 0                           | 0                               | 0.13                          | 0                           |
| 10.95                           | 正戊酸 n-valeric acid   | 109-52-4             | C5H10O2                         | 102.13                         | 1.11                          | 0.36                          | 0.12                        | 0.19                            | 0.2                           | 0.13                        |
| 11.30                           | 正二十烷 n-Eicosane  | 112-95-8             | C20H42                          | 282.55                         | 0.35                          | 0                             | 0                           | 0                               | 0                             | 0                           |
| 12.12                           | 对甲氧基肉桂醛<br>4-methoxy cinnamaldehyde                                      | 1963-36-6            | C10H10O2                        | 162.18                         | 0.59                          | 0                             | 0                           | 0                               | 0                             | 0                           |
| 12.46                           | 正十五烷 n-Pentadecane   | 629-62-9             | C15H32                          | 212.41                         | 0.5                           | 0                             | 0                           | 0                               | 0                             | 0                           |
| 12.85                           | 丙烯酸正丁酯 n-Butylacrylate   | 141-32-2             | C7H12O2                         | 128.17                         | 1.18                          | 0.19                          | 0                           | 0                               | 0.16                          | 0.14                        |
| 12.87                           | 乙酰丙酸 Levulinic acid  | 123-76-2             | C5H8O3                          | 116.12                         | 0.42                          | 0.32                          | 0.14                        | 0                               | 0.11                          | 0                           |
| 13.53                           | 正十六烷 n-Hexadecane  | 544-76-3             | C16H34                          | 226.44                         | 2.11                          | 0.41                          | 0.23                        | 0.31                            | 0.33                          | 0.18                        |
| 14.37                           | 正十七烷 n-Heptadecane   | 629-78-7             | C17H36                          | 240.47                         | 0.54                          | 0                             | 0                           | 0.16                            | 0                             | 0                           |
| 14.54                           | 正十八烷 Octadecane  | 593-45-3             | C18H38                          | 254.49                         | 0.77                          | 0.27                          | 0.09                        | 0.14                            | 0.1                           | 0.1                         |
| 14.66                           | 正十四烷 Etradecane  | 629-59-4             | C14H30                          | 198.39                         | 1.55                          | 0.27                          | 0.1                         | 0                               | 0.12                          | 0.07                        |
| 14.73                           | 正二十二烷 n-Docosane   | 629-97-0             | C22H46                          | 316.6                          | 0.63                          | 0.48                          | 0.16                        | 0.18                            | 0.22                          | 0.17                        |
| 15.28                           | 顺-9-十八烯醇 Oleyl alcohol   | 143-28-2             | C18H36O                         | 268.48                         | 3.85                          | 2.40                          | 0.94                        | 1.08                            | 1.41                          | 0.82                        |
| 15.53                           | 蓖麻油酸 Ricinoleic acid   | 141-22-0             | C18H34O3                        | 298.46                         | 1.32                          | 0.56                          | 0.21                        | 0.32                            | 0.33                          | 0.19                        |
| 15.76                           | 顺-9-十四碳烯醇 (9Z)-Tetradecen-1-ol   | 35153-15-2           | C14H28O                         | 212.37                         | 1.59                          | 0.96                          | 0.37                        | 0.36                            | 0.52                          | 0.27                        |
| 16.00                           | 棕榈酸 Palmitic acid  | 57-10-3              | C16H32O2                        | 256.42                         | 0.54                          | 0.24                          | 0                           | 0                               | 0.08                          | 0                           |
| 16.09                           | 十八醇 Stearyl alcohol  | 112-92-5             | C18H38O                         | 270.49                         | 0.35                          | 0                             | 0                           | 0                               | 0.15                          | 0                           |
| 16.13                           | 2-庚酮 2-Heptanone   | 110-43-0             | C7H14O                          | 114.19                         | 0.28                          | 0.17                          | 0.11                        | 0                               | 0.17                          | 0                           |
| 16.44                           | 月桂酸 Lauric acid  | 143-07-7             | C12H24O2                        | 200.32                         | 0.33                          | 0.23                          | 0.17                        | 0                               | 0.14                          | 0                           |
| 18.14                           | 邻苯二甲酸二丁酯 Dibutyl phthalate   | 84-74-2              | C16H22O4                        | 278.34                         | 0.53                          | 0.2                           | 0.5                         | 0.16                            | 0                             | 0.14                        |
| 18.53                           | 丙位庚内酯 γ-Heptalactone   | 105-21-5             | C7H12O2                         | 128.17                         | 0.94                          | 0.2                           | 0.19                        | 0.24                            | 0.2                           | 0                           |
| 续表 1                            |  |                      |                                 |                                |                               |                               |                             |                                 |                               |                             |
| 18.71                           | 十一醛 Undecanal<br>环氧异长叶烯  | 112-44-7             | C11H22O                         | 170.3                          | 1.1                           | 1.83                          | 1.8                         | 0.95                            | 1.81                          | 1.24                        |
| 19.13                           | Octahydro-4,4,8,8-tetramethyl-4a,<br>7-methano-4aH-naphth[1,8a-b]oxirene | 67999-56-8           | C15H24O                         | 220.35                         | 0.83                          | 0                             | 0                           | 0                               | 0.14                          | 0.18                        |
| 19.24                           | 十三醇 tridecyl alcohol   | 112-70-9             | C13H28O                         | 200.36                         | 0.38                          | 0.34                          | 0.24                        | 0.21                            | 0.28                          | 0.15                        |
| 19.54                           | 肉豆蔻酸 Myristic acid   | 544-63-8             | C14H28O2                        | 228.37                         | 0.43                          | 0.29                          | 0.18                        | 0.14                            | 0.25                          | 0.14                        |
| 19.64                           | 戊二醛 Glutaric dialdehyde  | 111-30-8             | C5H8O2                          | 100.12                         | 1.05                          | 0.33                          | 0.18                        | 0.14                            | 0                             | 0.19                        |
| 19.77                           | 肉豆蔻酸肉豆蔻酯 Myristyl myristate  | 3234-85-3            | C28H56O2                        | 424.74                         | 0.85                          | 0                             | 0.18                        | 0.17                            | 0                             | 0.11                        |

|       |   |            |          |        |       |       |       |       |       |       |
|-------|---|------------|----------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 20.34 | 甘油脂肪酸酯 Glycerin fatty acid ester                                  | 542-44-9   | C19H38O4 | 330.5  | 0.42  | 0.55  | 0.18  | 0.23  | 0.27  | 0.14  |
| 20.48 | 正十五酸 n-Pentadecanoic acid   | 1002-84-2  | C15H30O2 | 242.4  | 2.44  | 0.73  | 0.22  | 0.41  | 0.61  | 0.21  |
| 20.75 | 正庚基丙烯酸酯 n-Heptyl acrylate   | 2499-58-3  | C10H18O2 | 170.25 | 0     | 0.33  | 0     | 0     | 0     | 0     |
| 20.78 | 正庚酸 Heptanoic acid  | 111-14-8   | C7H14O2  | 130.18 | 0.92  | 0.17  | 0     | 0.14  | 0     | 0.18  |
| 21.06 | 正二十四烷 tetracosane   | 646-31-1   | C24H50   | 338.65 | 3.09  | 4.69  | 4.8   | 3.16  | 3.70  | 3.38  |
| 21.73 | 异长叶烯酮 Isolongifolenone  | 23747-14-0 | C15H22O  | 218.33 | 0.78  | 0.21  | 0.31  | 0.22  | 0.29  | 0.4   |
| 21.76 | 十八碳酸甲酯 Methyl octadecanoate                                       | 112-61-8   | C19H38O2 | 298.51 | 0     | 0     | 0.17  | 0.15  | 0.29  | 0.28  |
| 22.01 | 十三酸 Tridecanoic acid  | 638-53-9   | C13H26O2 | 214.34 | 1.04  | 0.39  | 0.21  | 0.15  | 0.23  | 0.23  |
| 22.14 | 肉豆蔻醇 Tetradecyl alcohol   | 112-72-1   | C14H30O  | 214.39 | 1.11  | 0.63  | 0.46  | 0.42  | 0.42  | 0.36  |
| 22.21 | 1-十九碳烯 1-Nonadecene   | 18435-45-5 | C19H38   | 266.51 | 0.39  | 0.27  | 0.41  | 0.37  | 0.28  | 0.25  |
| 22.32 | 十三碳二酸二甲酯 Dimethyl brassylate                                      | 1472-87-3  | C15H28O4 | 272.38 | 0.21  | 0.43  | 0.24  | 0.18  | 0.66  | 0     |
| 22.66 | 2-(4-甲基-3-环己烯基)丙醛<br>2-(4-Methyl-cyclohex-3-enyl)-propionaldehyde | 29548-14-9 | C10H16O  | 152.23 | 1.36  | 1.06  | 0.35  | 0.65  | 0.97  | 0.45  |
| 22.78 | 棕榈酸异丙酯 Palmitic acid isopropyl ester                              | 142-91-8   | C19H38O2 | 298.50 | 0.29  | 0     | 0     | 0.22  | 0.27  | 0     |
| 22.96 | 萜品油烯 Terpinolene  | 586-62-9   | C10H16   | 136.20 | 0.58  | 0.88  | 0.22  | 0.62  | 0.79  | 0.23  |
| 23.26 | 十五醇 1-Pentadecanol  | 629-76-5   | C15H32O  | 228.41 | 0.28  | 0.25  | 0.18  | 0     | 0.27  | 0     |
| 23.45 | 正二十八烷 Octacosane  | 630-02-4   | C28H58   | 394.76 | 7.24  | 9.77  | 16.91 | 10.89 | 8.46  | 11.95 |
| 23.92 | 2,6-二叔丁基苯醌<br>2,6-Di-tert-butyl-p-benzoquinone                    | 719-22-2   | C14H20O2 | 220.31 | 1.13  | 0.45  | 0.21  | 0.14  | 0     | 0     |
| 23.99 | γ-十二内酯 4-Dodecanolide   | 2305-5-7   | C12H22O2 | 198.30 | 0     | 0.24  | 0.18  | 0.22  | 0.2   | 0.16  |
| 24.14 | 椰子醛 gamma-Nonanolactone   | 104-61-0   | C9H16O2  | 156.22 | 0     | 0.22  | 0.2   | 0.24  | 0.25  | 0.28  |
| 25.15 | 正二十六烷 hexacosane  | 630-01-3   | C26H54   | 366.71 | 0.74  | 0.79  | 0.98  | 0.75  | 0.63  | 0.72  |
| 25.25 | 油酸甲酯 Methyl oleate  | 112-62-9   | C19H36O2 | 296.49 | 0.95  | 1.45  | 1.12  | 1.02  | 1.2   | 0.87  |
| 26.01 | 二十烷酸甲酯 Methyl eicosanoate   | 1120-28-1  | C21H42O2 | 326.56 | 0     | 0     | 0     | 0     | 0.19  | 0.22  |
| 26.27 | 异长叶烷酮 Isolongifolanone  | 23787-90-8 | C15H24O  | 220.35 | 0.85  | 0.48  | 0.23  | 0.27  | 0     | 0     |
| 26.59 | 2-长松针烯 2-Carene   | 554-61-0   | C10H16   | 136.23 | 0.25  | 1.39  | 0.4   | 0.4   | 0.76  | 0.35  |
| 26.99 | 肉豆蔻酸十二酯 Dodecanyl myristate                                       | 2040-64-4  | C26H52O2 | 396.69 | 0.32  | 0.16  | 0     | 0.25  | 0     | 0     |
| 27.14 | 正二十一烷 n-Heneicosane   | 629-94-7   | C21H44   | 296.57 | 10.02 | 19.69 | 36.61 | 18.56 | 17.59 | 27.65 |
| 28.39 | 环十五烷酐 Cyclopentadecanol   | 4727-17-7  | C15H30O  | 226.40 | 0.5   | 1.1   | 0.55  | 1.67  | 2.62  | 1.76  |
| 29.47 | 丙烯酸乙酯 Ethyl Acrylate  | 140-88-5   | C5H8O2   | 100.12 | 0     | 0.39  | 0.17  | 0     | 0     | 0.14  |
| 29.52 | 棕榈酸丁酯 Hexadecanoic acid, butylester                               | 111-06-8   | C20H40O2 | 312.53 | 0.79  | 0     | 0.28  | 0.22  | 0     | 0.17  |
| 29.73 | 正十二烷 n-Dodecane   | 112-40-3   | C12H26   | 170.33 | 0     | 0.29  | 0.35  | 0     | 0     | 0     |
| 29.76 | 十九烷酸 Nonadecanoic acid  | 646-30-0   | C19H38O2 | 298.50 | 0     | 0.2   | 0     | 0.32  | 0.36  | 0.32  |
| 30.41 | 3-己醇 3-Hexanol  | 623-37-0   | C6H14O   | 102.18 | 0.33  | 0.36  | 0.17  | 0.17  | 0.23  | 0     |

续表 1

|       |   |            |          |        |      |       |       |       |       |      |
|-------|---|------------|----------|--------|------|-------|-------|-------|-------|------|
| 31.39 | 1-十三烯 1-Tridecene                             | 2437-56-1  | C13H26   | 182.35 | 0    | 0.24  | 0     | 0.13  | 0.46  | 0.36 |
| 31.60 | 9,10-十四烯-1-醇 9,10-Tetradecenol                | 52957-16-1 | C14H28O  | 212.37 | 0    | 0.18  | 1.24  | 0.32  | 0.89  | 0.87 |
| 31.64 | 10-十一羧酸甲酯<br>10-Undecenoic acid, methyl ester | 111-81-9   | C12H22O2 | 198.30 | 0.9  | 1.72  | 0     | 1.1   | 0     | 0    |
| 33.12 | 正十九烷 Nonadecane                               | 629-92-5   | C19H40   | 268.52 | 1.07 | 1.26  | 1.55  | 1.6   | 0.96  | 1.11 |
| 33.98 | 2-壬酮 2-Nonanone                               | 821-55-6   | C9H18O   | 142.24 | 0.42 | 0.23  | 0.16  | 0     | 0     | 0    |
| 35.29 | (Z)-11-十六碳烯-1-醇<br>(Z)-hexadec-11-en-1-ol     | 56683-54-6 | C16H32O  | 240.42 | 0.47 | 1.64  | 1.52  | 7.02  | 3.15  | 6.94 |
| 35.33 | 1-十七醇 Heptadecan-1-ol                         | 1454-85-9  | C17H36O  | 256.47 | 0.4  | 0.26  | 0     | 0     | 3.06  | 0    |
| 35.90 | 对薄荷烷-1,8-二醇                                   | 80-53-5    | C10H20O2 | 172.26 | 0    | 0.48  | 0     | 0     | 0.14  | 0    |
| 36.82 | 顺-2-戊烯-1-醇 cis-2-Penten-1-ol                  | 1576-95-0  | C5H10O   | 86.13  | 0.42 | 0     | 0     | 0     | 0     | 0    |
| 36.84 | 2-十三烷酮 2-Tridecanone                          | 593-08-8   | C13H26O  | 198.35 | 0    | 0.46  | 0.89  | 0.76  | 0.37  | 0.59 |
| 37.52 | 十一醇 1-Undecanol                               | 112-42-5   | C11H24O  | 172.31 | 0.96 | 0     | 0.28  | 0.21  | 0.54  | 0.69 |
| 37.54 | Z-9-十六碳烯-1-醇 (9Z)-9-Hexadecen-1-ol            | 10378-01-5 | C16H32O  | 240.43 | 1.2  | 0     | 0.61  | 0.19  | 0.89  | 1.20 |
| 39.88 | 香草乙酮 Acetovanillone                           | 498-02-2   | C9H10O3  | 166.17 | 0    | 1.04  | 0.56  | 0     | 0.99  | 0.91 |
| 39.89 | 异香兰素 3-Hydroxy-4-methoxybenzaldehyde          | 621-59-0   | C8H8O3   | 152.15 | 0    | 0     | 0.96  | 0.4   | 0     | 0    |
| 39.97 | 香芹酚 carvacrol                                 | 499-75-2   | C10H14O  | 150.22 | 0    | 0.96  | 0     | 0.35  | 0     | 0    |
| 40.03 | 3,4-二甲基苯甲酸 3,4-Dimethylbenzoic acid           | 619-04-5   | C9H10O2  | 150.17 | 0.33 | 0.55  | 0     | 0     | 0.21  | 0    |
| 40.34 | 10-十一烯酸 Undecenoic acid                       | 112-38-9   | C11H20O2 | 184.28 | 0.47 | 0     | 0.28  | 0.57  | 0.9   | 0.47 |
| 40.41 | 4-叔丁基苯酚 p-tert-butylphenol                    | 98-54-4    | C10H14O  | 150.22 | 0.56 | 0.23  | 0     | 0     | 0.23  | 0.45 |
| 41.44 | 十八碳烷酸 Octadecanoic acid                       | 57-11-4    | C18H36O2 | 284.48 | 0.37 | 0.21  | 0.22  | 0.23  | 0.16  | 0    |
| 43.25 | 乙酸丁香酚酯 1-Acetoxy-2-methoxy-4-allylbenzene     | 93-28-7    | C12H14O3 | 206.24 | 5.41 | 15.31 | 11.07 | 10.43 | 14.4  | 8.95 |
| 46.72 | 月桂醛 Lauraldehyde                              | 112-54-9   | C12H24O  | 184.32 | 0.76 | 3.96  | 3.68  | 25.48 | 18.85 | 19.7 |

注：表中“—”表示该化合物未分析鉴定出。

Note: The "-" in the table indicates that the compound has not been identified by analysis.

### 2.3 两种提取方法对辣木叶挥发油化学成分的影响分析

通过对索氏提取法和超声波提取法提取的三个品种辣木叶挥发油化学成分的分析可知,辣木叶挥发油的化学成分类别的质量分数(见表2)和数量(见表3)均有显著差异。

由表2可知,两种方法提取的三个品种辣木叶挥发油化学成分主要属于酯类、醇类、烷烃类、酮类、醛类、羧酸类、烯烃类、醌类、酰类和酚类等10类化合物。对于非洲种辣木叶,索氏提取法得到的挥发油含量较高的化合物有五类,质量分数由高至低的顺序为:烷烃类>酯类>醇类>羧酸类>醛类,超声波提取法得到的挥发油含量较高的化合物有四类,质量分数由高至低的顺序为:烷烃类>醛类>酯类>醇类;对于缅甸种辣木叶,索氏提取法得到的挥发油含量较高的化合物有五类,质量分数由高至低的顺序为:烷烃类>酯类>醇类>醛类>羧酸类,超声波提取法得到的挥发油含量较高的化合物有五类,质量分数由高至低的顺序为:烷烃类>醛类>酯类>醇类>羧酸类;对于印度种辣木叶,索氏提取法得到的挥发油含量较高的化合物有四类,质量分数由高至低的顺序为:烷烃类>酯类>醛类>醇类;超声波提取法得到的挥发油含量较高的化合物有四类,质量分数由高至低的顺序为:烷烃类>醛类>醇类>酯类。

由表3可知,两种方法提取的三个品种辣木叶挥发油化学成分中数量较多的化合物是酯类、醇类、烷烃类、酮类、醛类、羧酸类和烯烃类等7类。其中,对于非洲种辣木叶,索氏提取法得到的醇类、烷烃类、酮类和羧酸类4类化合物数量比超声波提取法多,超声波提取法得到的醛类化合物数量比索氏提取法多;对于缅甸种辣木叶,索氏提取法得到的酯类、醇类、烷烃类、酮类和醛类5类化合物数量比超声波提取法多,超声波提取法得到的烯烃类化合物数量比索氏提取法多;对印度种辣木叶,索氏提取法得到的醇类、烷烃类、酮类、醛类和羧酸类5类化合物数量比超声波提取法多,超声波提取法得到的烯烃类化合物数量比索氏提取法多。

表2 两种提取方法对辣木叶挥发油化学成分类别质量分数的影响

Table 2. Effects of two extraction methods on mass fraction of the chemical constituents category of volatile oils from leaves of *Moringa oleifera*

| 化合物类型<br>Compound types | 质量分数 Mass fraction (%)   |                        |                      |                              |                        |                      |
|-------------------------|--------------------------|------------------------|----------------------|------------------------------|------------------------|----------------------|
|                         | 索氏提取法 Soxhlet extraction |                        |                      | 超声波提取法 Ultrasound extraction |                        |                      |
|                         | 非洲种<br>African species   | 缅甸种<br>Myanmar species | 印度种<br>India species | 非洲种<br>African species       | 缅甸种<br>Myanmar species | 印度种<br>India species |
| 酯类 Esters               | 16.33                    | 24.71                  | 14.63                | 15.09                        | 18.22                  | 11.68                |
| 醇类 Alcohols             | 13.30                    | 10.84                  | 6.38                 | 10.47                        | 12.09                  | 11.97                |
| 烷烃类 Alkanes             | 28.61                    | 38.12                  | 61.78                | 35.89                        | 32.11                  | 45.33                |
| 酮类 Ketones              | 2.59                     | 2.79                   | 2.26                 | 1.41                         | 1.99                   | 2.03                 |
| 醛类 Aldehyde             | 4.86                     | 7.40                   | 7.27                 | 27.86                        | 21.88                  | 21.86                |
| 羧酸类 Carboxylic acids    | 9.72                     | 4.25                   | 1.75                 | 2.47                         | 3.58                   | 1.87                 |
| 烯烃类 Alkenes             | 2.05                     | 2.78                   | 1.03                 | 1.52                         | 2.43                   | 1.37                 |
| 醌类 Quinones             | 1.13                     | 0.45                   | 0.21                 | 0.14                         | 0.00                   | 0.00                 |
| 酰类 Alkanoyl             | 0.50                     | 1.10                   | 0.55                 | 1.67                         | 2.62                   | 1.76                 |
| 酚类 Phenols              | 0.56                     | 1.19                   | 0.00                 | 0.35                         | 0.23                   | 0.45                 |

表3 两种提取方法对辣木叶挥发油化学成分类别数量的影响

Table 3. Effects of two extraction methods on amounts of the chemical constituents category of volatile oils from leaves of *Moringa oleifera*

| 化合物类型<br>Compound types | 化合物数量 Quantity of compounds (种) |                        |                      |                              |                        |                      |
|-------------------------|---------------------------------|------------------------|----------------------|------------------------------|------------------------|----------------------|
|                         | 索氏提取法 Soxhlet extraction        |                        |                      | 超声波提取法 Ultrasound extraction |                        |                      |
|                         | 非洲种<br>African species          | 缅甸种<br>Myanmar species | 印度种<br>India species | 非洲种<br>African species       | 缅甸种<br>Myanmar species | 印度种<br>India species |
| 酯类 Esters               | 15                              | 16                     | 13                   | 15                           | 12                     | 13                   |
| 醇类 Alcohols             | 16                              | 15                     | 12                   | 12                           | 14                     | 11                   |
| 烷烃类 Alkanes             | 12                              | 11                     | 10                   | 10                           | 9                      | 9                    |
| 酮类 Ketones              | 5                               | 7                      | 6                    | 4                            | 5                      | 4                    |
| 醛类 Aldehyde             | 5                               | 5                      | 7                    | 6                            | 4                      | 5                    |
| 羧酸类 Carboxylic acids    | 12                              | 12                     | 9                    | 9                            | 12                     | 8                    |
| 烯烃类 Alkenes             | 4                               | 4                      | 3                    | 4                            | 5                      | 5                    |
| 醌类 Quinones             | 1                               | 1                      | 1                    | 1                            | 0                      | 0                    |
| 酰类 Alkanoyl             | 1                               | 1                      | 1                    | 1                            | 1                      | 1                    |

### 3 结论与讨论

对辣木挥发性化学成分的研究报道主要集中在采用水蒸气蒸馏法提取辣木不同部位的挥发油,以气相色谱-质谱联用仪(GC-MS)对挥发性化学成分的组成及含量进行分析研究方面。杨宝钦<sup>[1]</sup>等以水蒸气蒸馏法提取云南元江县辣木鲜根挥发油,分析鉴定出24种挥发性化学成分,质量分数为87.98%,主要化合物为:异硫氰酸苄酯、苯乙腈、(1s)-(-)- $\beta$ -蒎烯;蔡彩虹<sup>[2]</sup>等采用水蒸气蒸馏法提取辣木叶的挥发性成分,分析共鉴定出33个挥发性化学成分,质量分数为85.94%,主要化合物为棕榈酸、叶绿醇、棕榈酸乙酯和二十七烷;袁明焱<sup>[3]</sup>等采用丙酮浸泡,正己烷萃取法提取辣木叶挥发性成分,分析鉴定出43种化合物,主要成分为植醇、9Z,12Z,15Z-三烯-1-十八醇、维生素E、 $\beta$ -谷甾醇、24-亚丙基胆甾-5-烯-3-醇;陈荣荣等<sup>[4]</sup>采用水蒸汽蒸馏法结合气相色谱-质谱(GC-MS)对辣木根、茎和叶等不同部位挥发性香气成分进行研究,主要为酯类、杂环类、醛类和醇类等化合物;段琼芬<sup>[5]</sup>等采用超临界二氧化碳萃取法提取辣木籽油,经GC-MS分析,主要化学成分为Z-9-十八碳烯酸、十八烷酸、棕榈酸、E-9-十八碳烯酸、二十烷酸;梁文娟<sup>[6]</sup>等采用水蒸气蒸馏法和GC-MS,从云南普洱、西双版纳、德宏、丽江和楚雄5个辣木产区的辣木叶挥发油中共鉴定出31个成分,主要化合物为2,5-二甲基己烷、2,4-二甲基己烷、乙基环戊烷、1,2,4-三甲基环戊烷、1,2,3-三甲基环戊烷、2-甲基庚烷、2-甲基戊基异戊酸、1,3-二甲基环己烷、1,4-二甲基环己烷、辛烷、亚麻酸乙酯等。

本研究通过对种植于同一区域的生长状态相近的非洲种、缅甸种和印度种三个品种的辣木叶,分别采用索氏提取法和超声波提取法提取挥发油,以气相色谱质谱联用仪(GC-MS)对两种方法提取的辣木叶挥发油化学成分组成及其含量进行分析。通过将两种方法提取的辣木叶挥发油化学成分组成及其含量分析结果对比可知,三个品种的辣木叶挥发油化学成分按类别划分,分别属于酯类、醇类、烷烃类、酮类、羧酸类、醛类、烯炔类、醌类、酰类、酚类等10类化合物。其中,印度种辣木叶采用索氏提取法得到的挥发油中未分析鉴定出酚类化合物,缅甸种和印度种辣木叶采用超声波提取法得到的挥发油中未分析鉴定出醌类化合物。采用索氏提取法得到的三个品种的辣木叶挥发油中酯类化合物的含量均比超声波提取法高,超声波提取法得到的醛类化合物的含量均比索氏提取法高,且缅甸种辣木叶两种方法得到的酯类化合物含量均比其它两个品种的辣木叶高。非洲种辣木叶索氏提取法得到的挥发油中酯类、醇类、酮类、羧酸类、烯炔类、醌类和酚类等7类化合物含量均比超声波提取法高,超声波提取法得到的挥发油中烷烃类、醛类和酰类等3类化合物含量均比索氏提取法高。缅甸种辣木叶索氏提取法得到的挥发油中酯类、烷烃类、酮类、羧酸类、烯炔类、醌类和酚类等7类化合物含量均比超声波提取法高,超声波提取法得到的挥发油中醇类、醛类和酰类等3类化合物含量均比索氏提取法高。印度种辣木叶索氏提取法得到的挥发油中酯类、烷烃类、酮类和醌类等4类化合物含量均比超声波提取法高,超声波提取法得到的挥发油中醇类、醛类、羧酸类、烯炔类、酰类和酚类等6类化合物含量均比索氏提取法高。

本文通过对索氏提取法和超声波提取法两种方法得到的挥发油化学成分及质量分数的对比分析,研究了两种提取方法对辣木叶挥发油化学成分类型、数量及含量的影响,为辣木叶挥发油提取方法选择及品质评价提供科学依据。

#### 参考文献

- [1]许敏,赵三军,宋晖,等.辣木的研究进展[J].食品科学,2016,37(23):291-298.
- [2]李东,赵一鹤.辣木研究现状及发展趋势[J].西部林业科学,2018,47(5):32-37.
- [3]孙朦,王鸿飞,李艳霞,等.辣木叶总黄酮提取工艺优化及抗氧化能力研究[J].核农学报,2018,32(9):1772-1780.
- [4]郝东宇,席兴军,初侨,等.Box-Behnken响应面法优化辣木叶蛋白超声提取工艺研究[J].分析仪器,2018,33(6):128-136.
- [5]梁鹏,甄润英.辣木茎叶中水溶性多糖的提取及抗氧化活性的研究[J].食品研究与开发,2013,34(14):25-29.
- [6]孙洲悦,陈思远,陈永雄,等.辣木叶多酚提取条件的优化及其抑菌性能研究[J].食品工业,2018,39(05):70-74.
- [7]沈慧,陶宁萍,赵林敏,等.辣木叶中多酚提取的工艺研究[J].食品工业科技,2016,37(18):287-291.
- [8]饶之坤,封良燕,李聪,等.辣木营养成分分析研究[J].现代仪器,2017,13(29):18-20.
- [9]邓卫利,林葵,黄一帆,等.辣木粉主要营养成分分析研究[J].食品研究与开发,2017,38(13):158-161.
- [10]陈逸鹏,梁建芬.辣木叶功效及相关成分研究进展[J].食品研究与开发,2016,37(14):201-205.
- [11]高秋玉,邓小宽,刘丽琼,等.辣木叶抗氧化活性研究及活性成分含量测定[J].食品工业科技,2016,37(23):324-327.
- [12]郭利群,冯凤兆,吴琳,等.辣木的药用价值及应用研究[J].热带农业科学,2015,35(6):11-14.
- [13]罗晓波,汪开毓,吉莉莉,等.辣木叶的价值及其开发利用研究进展[J].资源开发与市场,2016,32(11):1362-1366.
- [14]朱宝生,陈军,余远江,等.辣木有效成分及其开发利用研究进展[J].轻工科技,2018,34(7):19-21.
- [15]刘凤霞,王苗苗,赵有为,等.辣木中功能性成分提取及产品开发生态的研究进展[J].食品科学,2015,36(19):282-285.
- [16]刘子记,孙继华,刘昭华,等.特色植物辣木的应用价值及发展前景分析[J].热带作物学报,2014,35(9):1871-1878.
- [17]Brahma N.Singh, B.R.Singh, R.L.Singh, et al. Oxidative DNA damage protective activity, antioxidant and anti-quorum sensing potentials of *Moringa oleifera*[J].Food and Chemical Toxicology, 2009,47(6):1109-1116.

- [18]Boonyadist V, Pongtip S, Supachoke M, et al.Maximizing total phenolics, total flavonoids contents and antioxidant activity of *Moringa oleifera leaf* extract by the appropriate extraction method[J].Industrial Crops and Products, 2013,44( 1):566—571.
- [19]蔡彩虹, 梅文莉, 董文化, 等.辣木叶挥发性成分GC-MS 的分析及生物活性[J].热带生物学报, 2016,7(3):381-385.
- [20]袁明焱, 刘守金, 杨柳, 等.辣木叶挥发性成分的GC-MS研究[J].安徽农业科学, 2018, 46(8):174-176.
- [21]杨宝钦,刘祥义.辣木根茎挥发性成分提取及GC-MS分析[J].云南化工, 2017,44(6):66-67.
- [22]段琼芬, 刘飞, 罗金岳, 等.辣木籽油的超临界CO<sub>2</sub>萃取及其化学成分分析[J].中国油脂, 2010,35(2):76-79.
- [23]陈荣荣, 张献忠, 王根女, 等. HD/GC-MS 法测定辣木树不同部位挥发性香气成分的研究 [J].粮食与食品工业,2014,21(4):58-61.
- [24]梁文娟, 王狮, 夏越欣, 等.云南产辣木叶挥发油化学成分的GC-MS分析[J]. 安徽农业科学, 2018, 46(4):174-178.

# 广西引进甘蔗品种（系）的比较筛选与综合评价

欧克伟<sup>1</sup>, 李佳慧<sup>1</sup>, 卢业飞<sup>1\*</sup>, 庞新华<sup>1</sup>, 朱鹏锦<sup>1</sup>, 吕平<sup>1</sup>, 周全光<sup>1</sup>, 程琴<sup>1</sup>, 张宇<sup>1</sup>  
广西壮族自治区亚热带作物研究所, 南宁 530000

**摘要** 引进和筛选具有高产、高糖、抗病性强的甘蔗优良新品种, 不仅能为广西区 500 万亩双高基地建设提供备选种质资源, 同时也对广西糖业的可持续发展具有非常重要的意义。2016 年 3 月至 2018 年 1 月在广西农垦国有新兴农场甘蔗基地进行大田一年新植一年宿根的区域品比试验, 以 10 个甘蔗品种(系)为材料, 比较各品种甘蔗的农艺性状等。结果表明, 凉蔗系列(包括桂热系列)的新植及宿根蔗均在产量和产糖量方面表现出优势。其中新植蔗 LZ02-186、LZ07-53、GR2 和 LZ03-81 的产糖量依次高于 CK (ROC22) 63.05%, 58.28%, 42.19%、34.73%。GR2 宿根蔗在产量和产糖量方面也表现出了较大优势, 产糖量达到 16.32 t/hm<sup>2</sup>, 超过 CK 57.68%。其次, LZ02-186 和 LZ03-81 宿根蔗产糖量分别高出 CK 20.29%、15.94%。GR2、LZ02-186 的宿根性及抗性等综合性状好, 适宜在本蔗区进一步扩大试验和示范种植。

**关键词** 甘蔗; 区域试验; 柳州; 农艺性状

## Comparative Screening and Comprehensive Evaluation of Sugarcane Varieties (Lines) Introduced in Guangxi

OU Ke-wei, LI Jia-hui, LU Ye-fei, PANG Xing-hua, ZHU Pengjin, LV Ping, ZHOU Quan-guang, CHENG Qin, ZHANG Yu  
Guangxi Subtropical Crops Research Institute, Nanning, Guangxi 530000, China

**Abstract** Importing and screening new breeds of sugarcane which have the qualities of high yielding, high sugar and strong disease resistant, can not only provide the alternative breeds resources for the construction of 3 thousand ha sugarcane base with high yield and high sugar content in Guangxi, but also has the very important significance for the sustainable development for Guangxi sugar industry. Compared the agronomic trait of 10 sugarcane varieties in 1-year-new-planting and 1-year-ratoon-cane trail, from Marth 2016 to January 2018. The trial was been carried out on the farm in Xinxing of Guangxi reclamation, the result showed that, both for new-planting and ratoon, LZ series(including GR series) showed advantage on the yield and sugar yield. New-planting sugarcane of LZ02-186, LZ07-53, GR2 and LZ03-81, sugar yields were higher than CK with the increment of 63.05%, 58.28%, 42.19%、34.73% respectively. GR2 showed significant advantage both on the yield and sugar yield, its sugar yield reached 16.32 t/hm<sup>2</sup>, higher than CK with the increment of 57.7%. The sugar yield of LZ02-186 and LZ03-81 were higher than CK with the increment of 20.3%、15.9% respectively. Both GR2 and LZ02-186 have the good comprehensive characters in ratoon and resistant, so they are suitable for enlarging trial and demonstration planting for further.

**Key words** sugarcane; regional experiment; Liuzhou; agronomic trait

【本研究的重要意义】甘蔗是我国的重要经济作物, 也是蔗糖的主要来源。广西作为我国的重要甘蔗种植区之一, 其产糖量也位居前列。蔗糖业是广西的重要支柱产业<sup>[1-2]</sup>, 广西的蔗糖业在我国也占据着十分重要的地位。新台糖 22 号自 1998 年从台湾引进到广西已有 20 年的推广种植期<sup>[3]</sup>, 期间该品种出现种性退化、耐寒性下降、宿根年限缩短、产量下降等一系列问题, 同时该品种对花叶病、黑穗病、螟害等病虫害的抗性也均下降<sup>[4]</sup>。伴随出现的种植土地面积缩减、用工的短缺及种植成本的约束等问题<sup>[5-6]</sup>, 都迫使我们应尽快找到高产、高糖、抗逆性强的甘蔗优良新品种以取代日益退化的单一性甘蔗品种。【前人研究进展】近年来, 虽然在广西开展了不同甘蔗品种的区域试验<sup>[7-11]</sup>, 获得的综合农艺性状好的品种<sup>[1,12-15]</sup>, 为克服多年来甘蔗种植品种单一、种质退化等不利因素提供了理论依据<sup>[16]</sup>。【本研究切入点】但目前仍然未能找到能够替代新台糖 22 号的甘蔗新品种, 这是制约广西甘蔗业长期健康发展的一个瓶颈。广西亚热带作物研究所此次引进的四川凉蔗品种(系)主要栽培于攀西蔗区。该地区海拔 1100 m, 土壤类型复杂多样, 旱坡地存在板结、酸化、有机质含量低、保水保肥力差等问题。在如此恶劣条件下选育出的凉蔗品种(系)在该地区却具有高产、高糖、抗逆性强等特点<sup>[17-18]</sup>。【拟解决的关键问题】将凉蔗引入广西蔗区进行试验种植, 有望克服目前主栽品种新台糖 22 号存在的耐寒性差、宿根年限缩短、抗病性差、蔗茎变小等问题。同时, 柳州蔗区为广西的重要产糖地之一, 也是桂北地区的典型蔗区代表。选择柳州为区试地点不仅可以对区试品种的产糖量、产量等作出综合性、合理性的评价, 也为综合性状表现良好的甘蔗在广西其他蔗区的推广提供有利的参考, 对广西蔗糖产业可持续发展具有重要意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

试验材料包括从四川凉山州引进的甘蔗新品种(系)桂热 1 号(GR1)、桂热 2 号(GR2)、凉蔗 07-53 (LZ07-53)、凉蔗 03-81 (LZ03-81)、凉蔗 02-186 (LZ02-186)、凉蔗 03-23 (LZ03-23), 广西农科院甘蔗研究所选育的桂糖 42 号(GT42), 农业部福建甘蔗生物学与遗传育种重点实验室培育的福农 41 号(FN41)、柳州柳城县甘蔗研究中心选育的桂柳 05-136 (GL05-136), 以新台糖 22 号(ROC22)为对照(CK)品种。



本次试验地选择广西农垦国有新兴农场展开一年新植一年宿根的区域性试验。该农场位于柳州市，地处纬度 24°06' 11.5" N，经度 109°24' 49"，海拔高度 106m，属南亚热带季风气候，境内土地肥沃，地势平坦，气候温暖，日照时间长，年平均温度 20.4℃，年均降雨量 1400mm 左右，气候条件非常适宜进行甘蔗的生产种植。

## 1.2 方法

本试验于 2016 年 3 月--2018 年 1 月在新兴农场甘蔗基地进行，试验采取随机排列，每个品种分别种植 3 个小区，每小区 5 行，行长 7m，行宽 1.2m，小区面积约 42 m<sup>2</sup>，下种密度为 12.8 芽/m，双芽双行种植； 边际设保护行，田间常规管理。新植蔗统一采用种茎为全蔗茎，剥叶，双芽段。用 50%多菌灵可湿性粉剂 800 倍药液浸种消毒 5 分钟。基肥用量为生物肥 750kg/ hm<sup>2</sup>，农药施用杀虫双 150kg/ hm<sup>2</sup>，盖膜后用阿特拉津和乙草胺封闭。培土期间施肥量为复混肥 1500kg/ hm<sup>2</sup>、尿素 375kg/ hm<sup>2</sup>、钾肥 300kg/ hm<sup>2</sup>，施用蔗乐乐 150kg/ hm<sup>2</sup>。宿根蔗于甘蔗砍收后 10d 进行破垄松蔸盖膜，大培土期间使用复混肥 2500kg/ hm<sup>2</sup>、尿素 375kg/ hm<sup>2</sup>、钾肥 300kg/ hm<sup>2</sup>，农药施用蔗乐乐 150kg/ hm<sup>2</sup>。

定期调查各小区各个品种的甘蔗出苗率、分蘖率和宿根发株率。出苗率：下种后 30d 开始对各品种の出苗率进行统计调查，且每隔 15d 再调查一次出苗数，总共调查 3 次，出苗率 (%)=小区出苗数/小区下种总数×100%；分蘖率：自蔗苗分蘖开始，每隔 15d 对各小区各品种展开分蘖率调查，总共调查 3 次，分蘖率(%)=(小区总苗数-小区基本苗数)/小区基本苗数×100%；发株率：新植蔗收货之后的次年对各小区各品种展开宿根蔗的发株率调查，发株率(%)=宿根蔗发株数/小区下种总数×100%。

在 7 月初至 12 月上旬调查各小区各品种的株高，随机调查各小区各品种中间行 15 株的甘蔗株高，并计算生长速。

5 月中旬对各品种甘蔗的枯心苗数、黑穗病苗数、梢腐病苗数进行调查。花叶病和蓟马危害情况做目测调查。螟害枯心率(%)=螟害枯心苗数/植株总数×100%，黑穗病病害率(%)=病害植株数/植株总数×100%，梢腐病病害率(%)=梢腐病植株数/植株总数×100%。

通过每年 1 月份对各小区品种的产量测定数据统计分析各品种的蔗茎产量、蔗糖分、产糖量和有效茎条数等。

分别测定各阶段的数据。试验数据使用 SPSS 进行方差分析，excel 2003 进行整理、作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 农艺性状比较

#### 2.1.1 不同品(种)系甘蔗的抗病虫害能力比较分析

通过小区种植蔗的病虫害调查可以看出(表 1)，GR2 的枯心苗率最高为 0.86%，GL05-136 枯心苗率最低为 0，LZ03-81 和 GR1 的枯心苗率也非常低，分别仅为 0.06%和 0.09%，各品种(系)甘蔗的枯心苗率均未达到 1%；ROC22 的黑穗病率最高为 2.46%，GR2 则未发现黑穗病；FN41 感染梢腐病的概率最高，为 3.49%，其次为 ROC22 感染梢腐病的概率也较高，为 2.82%；GL05-136、GT42 和 LZ02-186 对花叶病达到高抗水平，其余品种则中抗花叶病；FN41 蓟马感染严重，ROC22 和 LZ07-53 的蓟马危害情况也较重，其余品种则较轻。

表 1 不同品种(系)甘蔗抗病害能力

Table 1 Resistant to diseases of different tested sugarcane varieties(lines)

| 品种(系)<br>Varieties(Lines) | 枯心苗率<br>(%) Rate Of<br>dead heart<br>(%) | 黑穗病率<br>(%) Rate of<br>smut (%) | 梢腐病(%)<br>Rate of tip<br>rot | 花叶病<br>Mosaic<br>disease | 蓟马危害情况<br>The situation of<br>thrips harm |
|---------------------------|--|---------------------------------|------------------------------|--------------------------|---|
| GR2                       | 0.86                                     | 0.00                            | 0.41                         | 中抗                       | 轻微  |
| GL05-136                  | 0.00                                     | 0.61                            | 0.48                         | 高抗                       | 轻微  |
| ROC22                     | 0.16                                     | 2.46                            | 2.82                         | 中抗                       | 较重  |
| LZ03-81                   | 0.06                                     | 0.62                            | 0.50                         | 中抗                       | 轻微  |
| LZ03-23                   | 0.37                                     | 0.86                            | 1.53                         | 中抗                       | 轻微  |
| FN41                      | 0.25                                     | 1.88                            | 3.49                         | 中抗                       | 重   |
| LZ07-53                   | 0.33                                     | 0.81                            | 0.68                         | 中抗                       | 较重  |
| GT42                      | 0.27                                     | 1.32                            | 1.55                         | 高抗                       | 轻微  |
| GR1                       | 0.09                                     | 1.19                            | 0.73                         | 中抗                       | 轻微  |
| LZ02-186                  | 0.42                                     | 0.10                            | 0.40                         | 高抗                       | 轻微  |

#### 2.1.2 不同甘蔗品种(系)新植蔗农艺性状的比较

表 2 为各品种(系)新植甘蔗 2016~2017 时期的农艺性状表现。这一时期的新植蔗于 2016 年 3 月份种植，2017 年 1 月份进行验收。由表 2 可知，出苗率最高的是 LZ07-53，最低的是 GL05-136，但与对照 ROC22 (CK) 相比较，各品种(系)出苗率之间并没有显著差异。而分蘖率方面，各品种(系)的分蘖率均高于

CK, 其中 LZ02-186, LZ07-53, LZ03-81 及 GR1 的分蘖率均显著高于 CK。株高方面, LZ02-186, LZ03-23, LZ07-53 的株高均显著高于 CK, FN41 的株高则显著低于 CK, 其它品种(系)株高与 CK 之间没有显著差异。就茎径而言, LZ03-23, LZ07-53 以及 LZ03-81 显著低于 CK, 其它品种则与 CK 之间不存在显著差异。有效茎方面, 除 GT42 和 GL05-136, 其余品种(系)均与 CK 存在显著差异, 其中 LZ07-53 和 LZ03-81 的有效茎比 CK 分别多约 94.81%和 90.08%。

表 2 不同品种(系)新植蔗主要农艺性状  
Table 2 Main agronomic traits of different varieties(lines) for new-planting

| 品种(系)<br>Varieties(Lines) | 出苗率<br>Emergence rate(%) | 分蘖率<br>Tillering rate(%) | 株高<br>Plant height(cm) | 茎径<br>Stem diameter(cm) | 有效茎<br>Productive stalk(株/hm <sup>2</sup> ) |
|---------------------------|--------------------------|--------------------------|------------------------|-------------------------|---|
| LZ02-186                  | 54.82±10.4a              | 75.60±13.50ab            | 307.00±2.08a           | 2.64±0.03bc             | 83173bc                                     |
| LZ03-23                   | 52.30±8.94a              | 49.94±9.1bc              | 303.33±2.60a           | 2.56±0.01cd             | 74763cd                                     |
| LZ07-53                   | 55.63±10.34a             | 99.22±6.52a              | 302.67±7.88a           | 2.43±0.05d              | 94763a                                      |
| GT42                      | 45.07±14.94a             | 47.82±9.91bc             | 299.33±0.89ab          | 2.87±0.06a              | 57696ef                                     |
| GR2                       | 49.85±12.13a             | 55.48±16.19bc            | 295.67±5.90abc         | 2.65±0.04bc             | 77381c                                      |
| ROC22                     | 24.34±12.26a             | 33.51±7.50c              | 290.00±1.15bc          | 2.77±0.11ab             | 48645fg                                     |
| GL05-136                  | 21.24±11.35a             | 54.12±14.00bc            | 287.00±2.08cd          | 2.88±0.09a              | 43733g                                      |
| LZ03-81                   | 51.13±8.79a              | 96.39±6.45a              | 287.00±2.65cd          | 2.55±0.03cd             | 92464ab                                     |
| GR1                       | 40.41±11.28a             | 69.50±9.95ab             | 285.67±2.85cd          | 2.68±0.05bc             | 73728cd                                     |
| FN41                      | 48.10±9.94a              | 68.06±5.83abc            | 276.00±2.89d           | 2.82±0.04ab             | 64842de                                     |

注: 同列数据后不同小写英文字母表示差异达 5% 的显著水平。下同

Note: Different small lowercase letters represent significant at 5% levels. The same is applied in the following tables.

### 2.1.3 各品种(系)新植蔗的产量性状分析

由表 3 可知, 在 11 月至次年 1 月份的平均蔗糖分方面, 除 LZ03-81 的蔗糖分显著低于 CK 外, 其余品种(系)的蔗糖分均未与对照形成显著差异。但是在蔗茎产量方面, GR、LZ 各品种(系)均显著高于 CK, 其中蔗茎产量最高的 LZ02-186 比 CK 增产 67.98%。分析产糖量的数据得出, 除 GL05-136 的产糖量与 CK 相当, 其余品种(系)的产糖量均显著高于 CK, 其中 LZ02-186, LZ07-53、GR2 和 LZ03-81 的产糖量依次高于 CK 63.05%, 58.28%, 42.19%、34.73%。

表 3 各品种(系)新植蔗的产量性状  
Table 3 Yield traits of different varieties(lines) for new-planting

| 品种(系)<br>Varieties(Lines) | 蔗茎产量<br>Cane yield(t/hm <sup>2</sup> ) | 蔗糖分 Sucrose content(%) |      |      |                | 产糖量<br>Sugar yield(t/hm <sup>2</sup> ) |
|---------------------------|--|------------------------|------|------|----------------|--|
|                           |  | 11 月                   | 12 月 | 1 月  | 平均             |  |
| LZ02-186                  | 103.36±2.89a                           | 10.6                   | 10.2 | 11.8 | 10.87±0.48bcd  | 13.99±0.41a                            |
| LZ03-23                   | 82.72±1.65cd                           | 10.2                   | 9.7  | 11.8 | 10.57±0.63bcd  | 11.11±0.44c                            |
| LZ07-53                   | 102.62±2.55a                           | 8.9                    | 9.1  | 11.2 | 9.73±0.74cd    | 13.58±0.65ab                           |
| GT42                      | 72.35±2.43de                           | 12.5                   | 11.7 | 14.7 | 12.97±0.90ab   | 11.62±0.39c                            |
| GR2                       | 88.51±3.47bc                           | 11.1                   | 10.8 | 12.5 | 11.47±0.52abcd | 12.20±0.51bc                           |
| ROC22                     | 61.53±3.99ef                           | 11.6                   | 10.6 | 13.2 | 11.80±0.76abc  | 8.58±0.77d                             |
| GL05-136                  | 57.17±5.95f                            | 12.3                   | 12   | 13.8 | 12.70±0.56ab   | 8.58±0.70d                             |
| LZ03-81                   | 98.06±1.16ab                           | 8.3                    | 9.1  | 10.5 | 9.30±0.64d     | 11.56±0.37c                            |
| GR1                       | 79.52±3.55cd                           | 8.6                    | 11   | 12.1 | 10.57±1.03bcd  | 10.45±0.47c                            |
| FN41                      | 65.95±4.80ef                           | 12.8                   | 12.3 | 15.5 | 13.53±0.99a    | 10.92±0.52c                            |

### 2.1.4 各甘蔗品种(系)宿根蔗农艺性状的比较

表 4 为各品种(系)2017~2018 年宿根蔗的农艺性状表现。由表 4 可知, 宿根蔗分蘖率方面, 除 GL05-136 和 GT42 外, 其余甘蔗品种(系)与 CK 均存在显著差异, 宿根分蘖率最高的为 LZ03-81, 为 62.00%; 其次为 GR2, 为 58.41%。各品种(系)之间的株高和茎径差异均不显著, 株高最高的品种为 LZ02-186, 其株高高于 CK 16.00cm; 其次为 GR2, 其株高比 CK 高约 11.01cm。茎径最大的为 GL05-136, 其值比 CK 大约 0.18cm。在有效茎方面, LZ、GR 系列均与 CK 之间存在显著差异, 有效茎条数最多的 LZ03-81 比 CK 的有效茎多 84.08%。

表 4 不同品种(系)宿根蔗主要农艺性状  
Table 4 Main agronomic traits of different varieties(lines) for ratoon sugarcane

| 品种(系) | 分蘖率 | 株高 | 茎径 | 有效茎 |
|-------|-----|----|----|-----|
|-------|-----|----|----|-----|

| Varieties(Lines) | Tillering rate(%) | Plant height(cm) | Stem diameter(cm) | Productive stalk(株/hm <sup>2</sup> ) |
|------------------|-------------------|------------------|-------------------|--------------------------------------|
| LZ02-186         | 56.21±4.63ab      | 360.66±20.57a    | 2.61±0.11b        | 67701ab                              |
| LZ03-23          | 55.62±3.07ab      | 347.33±15.34a    | 2.58±0.07b        | 60795abc                             |
| LZ07-53          | 56.82±1.45ab      | 325.33±9.06ab    | 2.67±0.05ab       | 67381ab                              |
| GT42             | 40.48±3.39cd      | 328.33±13.42ab   | 2.60±0.04b        | 46272cd                              |
| GR2              | 58.41±4.24ab      | 355.67±8.09a     | 2.66±0.02ab       | 66427ab                              |
| ROC22            | 33.31±3.14d       | 344.66±9.82ab    | 2.64±0.07ab       | 39365d                               |
| GL05-136         | 41.77±2.05cd      | 345.00±6.35ab    | 2.82±0.04a        | 42939d                               |
| LZ03-81          | 62.00±3.61a       | 323.67±14.40ab   | 2.53±0.04b        | 72464a                               |
| GR1              | 50.29±3.22bc      | 333.67±8.17ab    | 2.57±0.05b        | 61349abc                             |
| FN41             | 44.45±2.52c       | 305.33±4.67b     | 2.53±0.07b        | 49371bcd                             |

### 2.1.5 各甘蔗品种(系)宿根蔗产量性状的比较

各品种(系)宿根蔗的产量性状表现如表5。由表5可知, LZ系列的LZ02-186, LZ07-53, LZ03-81以及GR2的蔗茎产量均为100 t/hm<sup>2</sup>以上且均与CK形成显著差异。蔗茎产量最高的为GR2, 达到126.05 t/hm<sup>2</sup>, 超过CK 55.69%; LZ02-186, LZ07-53, LZ03-81的蔗茎产量则分别高出对照32.08%、25.68%、32.42%。蔗糖分各品种(系)甘蔗之间差异不显著。产糖量方面, 只有GR2与CK差异显著, 其余品种与CK之前差异不显著。GR2的产糖量也为最高, 达到16.32 t/hm<sup>2</sup>, 超过CK 57.68%。LZ02-186和LZ03-81产糖量分别高出对照20.29%、15.94%。

表5 各品种(系)宿根蔗的产量性状

Table 5 Yield traits of different varieties(lines) for ratoon sugarcane

| 品种(系)<br>Varieties(Lines) | 蔗茎产量<br>Cane yield(t/hm <sup>2</sup> ) | 蔗糖分 Sucrose content(%) |      |      |               | 产糖量<br>Sugar yield(t/hm <sup>2</sup> ) |
|---------------------------|--|------------------------|------|------|---------------|--|
|                           |  | 11月                    | 12月  | 1月   | 平均            |  |
| LZ02-186                  | 106.93±13.73ab                         | 10.1                   | 11.0 | 12.4 | 11.17±0.67bcd | 12.45±1.26b                            |
| LZ03-23                   | 96.02±9.61bc                           | 10.5                   | 11.3 | 12.3 | 11.37±0.52bcd | 11.58±1.36b                            |
| LZ07-53                   | 101.75±12.96abc                        | 8.3                    | 8.9  | 9.6  | 8.93±0.38d    | 9.87±1.19b                             |
| GT42                      | 78.13±3.19cd                           | 12.2                   | 12.8 | 13.1 | 12.70±0.26ab  | 10.72±0.33b                            |
| GR2                       | 126.05±6.19a                           | 10.8                   | 11.8 | 13.4 | 12.00±0.76abc | 16.32±0.99a                            |
| ROC22                     | 80.96±4.01bcd                          | 11.3                   | 12.3 | 13.1 | 12.23±0.52abc | 10.35±0.47b                            |
| GL05-136                  | 81.12±6.40bcd                          | 11.9                   | 12.8 | 14.6 | 13.10±0.79ab  | 11.61±2.18b                            |
| LZ03-81                   | 107.21±2.68ab                          | 7.7                    | 10.6 | 11.6 | 9.97±1.17cd   | 12.00±1.20b                            |
| GR1                       | 95.28±5.02bc                           | 8.1                    | 11.5 | 12.4 | 10.67±1.31bcd | 11.28±0.55b                            |
| FN41                      | 67.20±9.74d                            | 13.1                   | 14.4 | 15.1 | 14.20±0.59a   | 9.63±1.73b                             |

## 2.2 各甘蔗品种(系)抗寒、抗旱性的分析比较

### 2.2.1 各甘蔗品种(系)的抗寒性比较

甘蔗自7月份开始拔节, 8月份即测量并计算其生长速度。由图1可以看出, 除FN41、GT42外, 其余甘蔗品种(系)的生长速度在九月份均达到最大值, 其中GR2的生长速度最快。自9月份开始, 随着月平均气温的逐步下降, 甘蔗的生长速度总体呈现逐渐变缓的趋势。GR及LZ系列甘蔗品种在月均气温较低的12月份仍然保持一定的生长速度且高于对照。

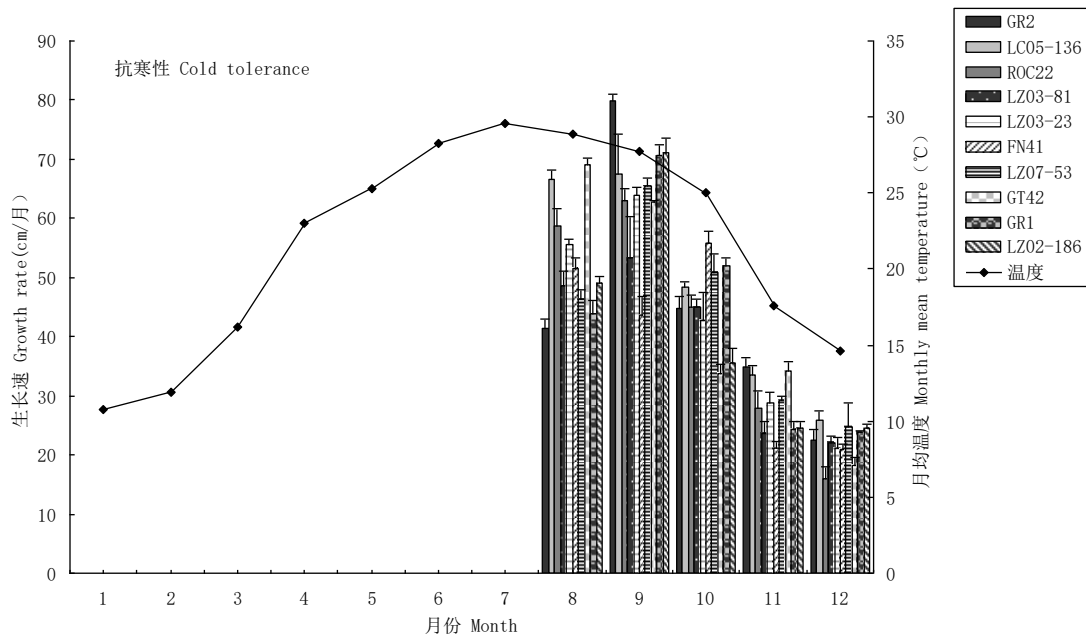


图 1 各甘蔗品种（系）的抗寒能力表现

Fig.1 Cold-hardiness of different varieties(lines) sugarcane

### 2.2.2 各甘蔗品种（系）的抗旱性比较

柳州市属亚热带季风气候，降雨量充沛，年均降水量在 1400mm 左右。由图 2 可以看出，自 8 月份开始，随着降雨量的降低，除 FN41、GT42 外，其余甘蔗品种（系）的生长速度在九月份均达到最大值。12 月份的降雨量为下半年最低值，但是 GR 及 LZ 系列甘蔗仍然保持着较好的生长优势。

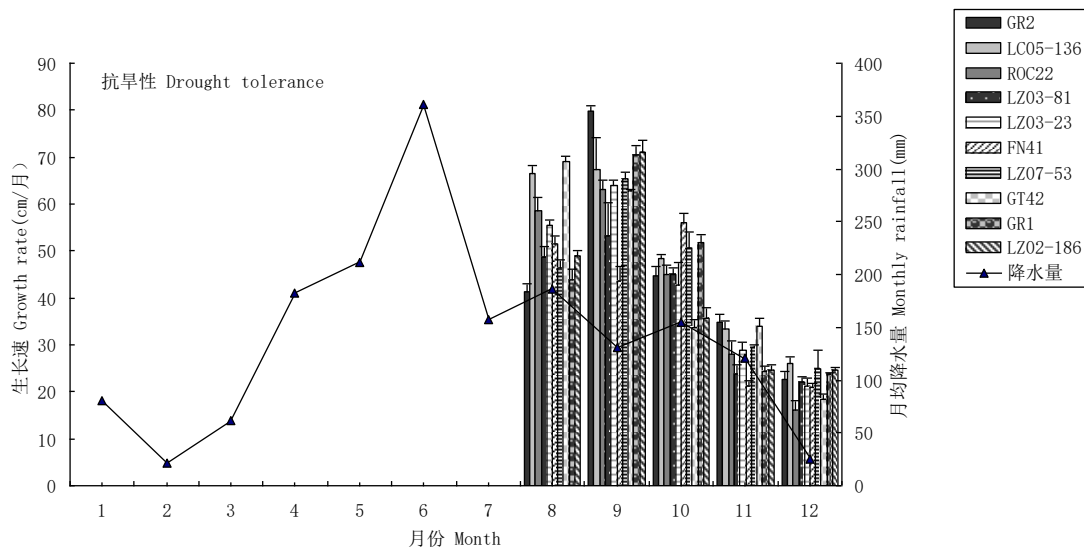


图 2 各甘蔗品种（系）的抗旱能力表现

Fig.2 Drought-resistant ability of different varieties(lines) for sugarcane

## 3 结论与讨论

广西甘蔗种植面积占比全国种蔗面积的 60%左右，产糖量占比全国产糖量的 70%左右，是我国重要的产糖地<sup>[19]</sup>，而近年来我区甘蔗产业正面临单位面积产量低、生产成本高和种植效益下降等困局<sup>[20]</sup>。甘蔗的产量性状包括蔗茎产量和产糖量等，其产值除会受到基因型的影响外，还会受到气候条件、病虫害和栽培条件等多方面因素的共同作用<sup>[21-29]</sup>。而广西蔗区较容易出现旱涝和霜冻等极端气候。近 50 多年的气象数据显示，广西的降水出现了分布不均，旱涝灾害等现象<sup>[30]</sup>。我区的甘蔗种植地区九成以上都为旱坡地，土地贫瘠且灌溉设备落后，这对甘蔗各个时期的生长都是严峻的考验<sup>[31-32]</sup>。同时，广西较容易发生寒冻害<sup>[33]</sup>。冻雨、低温霜冻天气不仅造成甘蔗产量和产糖量减产、导致制糖企业效益下滑，甚至还会影响宿根蔗来年的收成，这些因素都可能导致严重的经济损失<sup>[34-35]</sup>。由于传统的杂交育种方式筛选具有优良性状的甘蔗品种存在几率低、耗时长等问题，引进其它地区的甘蔗优良种质资源就显得尤为重要。凉蔗系列甘蔗由攀西蔗区引入，该地区

冬季长且寒冷, 干旱、低温和洪涝灾害等气象灾害发生频率高, 范围也较大, 凉蔗系列品种(系)经此恶劣环境筛选, 在攀西蔗区表现出抗逆性强等优良特性<sup>[36]</sup>, 将凉蔗引入广西蔗区进行试验种植, 有望克服目前主栽品种新台糖 22 号存在的耐寒性差、宿根年限缩短、抗病性差等问题。

柳州位于广西的中北部, 是广西的主要产糖地之一, 其土质和气候特点对桂北地区的山地气候特征具有一定的代表性, 对甘蔗新品种在这一片区的适应性种植及推广具有十分重要的参考意义。本小区试验结果表明, 筛选出了一个高产、高糖和抗逆性强的优良新品种 GR2 和一个优良新品系 LZ02-186。二者在柳州地区的种植表现出了较强的适应性, 在有效茎、产糖量和产量方面均明显高于对照组 ROC22, 尤其是 GR2 在宿根性方面表现出了很大的优势。两个品种(系)的具体性状如下:

**GR2:** 一年新植一年宿根的蔗茎产量分别比 CK 增产 43.85%、55.69%, 有效茎条数分别增产 59.07%、68.75%; 第一年新植蔗和第二年宿根蔗的蔗茎产量、有效茎条数和产糖量均达极显著水平。一年新植一年宿根的蔗糖分含量虽然均略低于 CK, 但由于在蔗茎产量和有效茎条数方面的优势使得其在产糖量平均值方面明显高于 CK, 新植与宿根期产糖量增产分别达 42.19%、57.68%。GR2 出苗率高、宿根性好、有效茎条数多、产量高、57 号毛群一般、不易抽穗、晚熟、抗旱及抗寒性好且抗病性强, 宿根性强且易于管理, 适合坡地种植。

**LZ02-186:** 一年新植一年宿根的蔗茎产量分别比 CK 增产 67.98%、32.08%, 有效茎条数分别增产 70.98%、71.98%, 第一年新植蔗和第二年宿根蔗的有效茎条数、蔗茎产量和产糖量均高于 CK。新植与宿根期产糖量增产分别达 63.05%、20.29%。LZ02-186 出苗率高、有效茎条数多、株高较高、易脱叶、57 号毛群一般、不易抽穗、宿根性好、产量高、晚熟及抗性好, 易于管理, 适合坡地种植。

此两个品种(系)的综合性状表现好, 能为农户节约成本且增产增糖效果明显, 建议作为下一步重点示范和推广的新品系, 在广西蔗区扩大面积种植。LZ03-81 虽然糖分略低, 但其在有效茎条数、蔗茎产量方面都存在较大优势, 抗性也较好, 建议作为优良的种质资源供备用。

#### 参考文献

- [1]邓宇驰, 王伦旺, 王泽平, 等.甘蔗品种桂糖 42 号的种性及其高产稳产性分析与评价[J].南方农业学报,2018, 49(01):42-47.
- [2]安东升, 魏长斌, 曹 娟, 等. 甘蔗苗期不同叶位叶绿素荧光特性研究[J]. 热带作物学报,2015, 36(11): 2019-2027.
- [3]贺根生. 2009. 广西引种“新台糖 22 号”获得成功[J]. 北京农业,(8): 50-51.
- [4]韦昌联. 广西蔗区新台糖 22 号种性退化现状分析及对策措施[J]. 南方农业学报, 2012, 43(12): 2113-2117.
- [5]刘晓雪, 王誓言.广西植蔗农户种植行为及其影响问题的调查报告——基于 300 份农户的调查问卷(之一)[J].广西糖业, 2017, 97:7-16.
- [6]李炳杨.广西甘蔗种植现状、问题及对策[J].热带农业科学, 2018, 38(04):119-127.
- [7]周会,雷敬超,王伦旺,等. 2008~2009 年广西甘蔗品种区域试验报告[J].南方农业学报, 2012, 43(03):306-310.
- [8]梁强, 刘晓燕, 董文斌, 等. 2012~2013 年广西甘蔗区试品种综合评价[J]. 南方农业学报, 2014, 45 (12): 2129-2136.
- [9]李翔, 王伦旺, 唐仕云, 等. 2012—2013 年广西甘蔗品种区域试验初报[J]. 广东农业科学, 2014, 41(10),5-8+13.
- [10]黄文武, 李文教, 贺贵柏, 等. 2011~2012 年广西甘蔗品种区试百色试点报告[J]. 南方农业学报, 2014, 45(02),194-199.
- [11]刘晓燕, 梁强, 陆文娟, 等. 2013—2014 年广西甘蔗品种区域试验总结[J]. 中国农学通报, 2016, 32(06),61-67.
- [12]宋焕忠,段维兴,张荣华,等.宿根性特强甘蔗品种桂糖 29 号及高产栽培技术[J].中国种业,2013, (S1):60-61.
- [13]李杨瑞, 杨丽涛, 谭宏伟, 等.广西甘蔗栽培技术的发展进步[J].南方农业学报, 2014, 45(10):1770-1775.
- [14]王伦旺,廖江雄,谭芳,等.高产高糖抗倒伏甘蔗新品种桂糖42号的选育及高产栽培技术[J].南方农业学报,2015,46(08):1361-1366.
- [15]甘崇琨, 陈荣发, 范业庚, 等.桂糖系列甘蔗新品种(系)比较试验[J].中国糖料,2018, 40(01):30-32.
- [16]李杨瑞, 毛昌祥, 唐其展, 等.“2008-2009 亚洲国家蔗糖产量降低的原因及应对措施”国际学术研讨会综述[J].广西农业科学, 2010, 41(01):80-84.
- [17]王友富, 刘大章, 宋福猛.早中熟高产高糖耐旱甘蔗优良品系凉蔗 96-1217 性状研究[J]. 西昌学院学报(自然科学版), 2007, 21(2): 20-23.
- [18]王友富, 宋福猛, 刘大章.早中熟高产高糖耐旱甘蔗优良品种凉蔗 2 号选育研究[J].甘蔗糖业,2007, (4): 7-12.
- [19]杨丽涛,张保青,朱秋珍,等.应用飞机大面积喷施抗旱型甘蔗增产增产剂的效果研究[J].热带作物学报,2011,32(02):189-197.
- [20]卢家炯.广西糖业困局与对策思考[J].广西糖业,2014, (05):40-44.
- [21] 唐仕云, 王伦旺, 杨荣仲, 等. 糖能兼用甘蔗主要性状的遗传参数与改良效果的分析[J]. 热带作物学报, 2015,36(4): 665-672.
- [22]沈姣,王凯,张文盼,等.甘蔗染色体研究近况[J].热带作物学报,2016,37(07):1430-1436.
- [23] Wu J, Huang Y, Lin Y, et al. Unexpected Inheritance pattern of *Erianthus arundinaceus* chromosomes in the Intergeneric progeny between *Saccharum* spp. and *Erianthus arundinaceus*[J]. Plos One, 2014, 9(10): e110390-e110390
- [24] Piperidis G, Piperidis N, D'Hont A. Molecular cytogenetic investigation of chromosome composition and transmission in sugarcane[J]. Mol Genet Genomics, 2010, 284(1): 65-73.
- [25]杨荣仲, 周 会, 王伦旺, 等. 甘蔗家系农艺性状遗传力分析[J]. 南方农业学报, 2016, 47(3): 337-342.
- [26]吴建涛, 刘福业, 杨俊贤, 等. 粤糖系列甘蔗品种产量因子间相关和通径分析[J]. 中国农学通报, 2012, 28(12):66-71.
- [27] 罗 俊, 袁照年, 张 华, 等. 宿根甘蔗产量性状的稳定性分析[J]. 应用与环境生物学报, 2009, 15(4): 488-494.

- [28]陈学宽, 刘家勇, 范源洪, 等. 甘蔗品种的区试蔗茎产量和蔗糖分与环境互作效应分析[J]. 西南农业学报, 2009,22(5): 1292-1296.
- [29]Sandhu S K, Thind K S. Estimation of selection efficiency for brix in progeny of different types of crosses in sugarcane (*Saccharum* spp. Complex)[J]. Sugar Tech, 2012, 14(2):138-143
- [30]李艳兰. 气候变化背景下广西农业气候资源的变化特征[A]. 中国气象学会.第 33 届中国气象学会年会 S14 提升气象科技创新能力, 保障农业丰产增效[C].中国气象学会:中国气象学会,2016:2.
- [31] 梁钧威, 吴卫熊. 广西糖料蔗高效节水灌溉发展策略分析[J]. 广西水利水电,2015, (3): 69 - 74.
- [32] 任仕周. 蔗农采用甘蔗节水灌溉技术影响因素研究——基于广西甘蔗主产区农户的调查 [D]. 南宁: 广西大学 (硕士学位论文),2014
- [33] 孟翠丽,谭宗琨,李紫甜.广西甘蔗寒冻害空间反演模型研究[J].中国农业资源与区划,2016,37(06):15-21+43.
- [34] 覃蔚谦. 从建国后数次冻害看今冬冻害甘蔗糖的损失. 广西蔗糖, 2000, ( 1 ): 14-18
- [35] 何燕, 谭宗琨, 冯源. 1999 年严重霜冻、冰冻天气对广西农业的影响. 广西气象, 2000, ( 1 ): 6 - 8
- [36] 王友富,刘大章,铁万祝.我国干热区甘蔗抗旱植蔗主要问题研讨[J].热带农业科学, 2010, 30(09):55-59.

# 西番莲病毒病发生与防控建议

罗金水<sup>1\*</sup>, 陈振东<sup>1</sup>, 林荣耀<sup>2</sup>

1.福建省热带作物科学研究所, 漳州 363001; 2.漳州市农业科学研究所, 漳州 363005

**摘要** 当前西番莲在我国南方大面积引种栽培, 该产业受到病毒病严重威胁。本文介绍了当前西番莲病毒病危害形势、发生种类, 以及病毒传染特性和传播特点, 深入分析病毒病发生原因, 提出可行的病毒病防控策略, 供生产者参考借鉴。

**关键词** 西番莲; 百香果; 病毒; 防控

**中图分类号** S436.661.1 **文献标识码** A

## Occurrence of passion fruit virus disease, and its prevention and control suggestions

LUO Jin-shui<sup>1\*</sup>, CHEN Zheng-dong<sup>1</sup>, Lin Rong-yao<sup>2</sup>

1.Fujian Institute of Tropical Crops, Zhangzhou, 363001, China; Institute of Plant Virology; 2. Zhangzhou Institute of Agricultural Science, Zhangzhou, 363005, China

**Abstract** At present, passionflower is introduced and cultivated in the south of China, yet the industry is seriously threatened by virus disease. This paper introduces the current situation of the disease, the type of virus, the characteristics of the transmission of the virus and the characteristics of the transmission, and then analyzes the causes of the occurrence of the virus, and puts forward a feasible strategy for prevention and control of the virus, which is used for reference by the producers.

**Key words** *passiflora edulis*; passion fruit; virus; prevention and control

### 1 引言

西番莲 (*Passiflora edulis*), 又称百香果、鸡蛋果、热情果, 多年生草质藤本植物, 原产南美洲的巴西至阿根廷一带, 现广泛栽培于世界热带、亚热带地区。它的果实属于浆果, 主要有紫果和黄果两大类, 可生食或加工成果汁、果浆、果脯等多种产品。在我国南方的福建、广西、海南等省份大面积引种栽培, 短短几年时间种植面积由几万亩攀升到 60 万亩左右。然而, 笔者调查发现该产业发展过快, 技术跟进严重不足, 多数种植户盲目跟风投资, 没能达到预期生产效益目标, 甚至连年亏损。其中, 病毒病是威胁当前西番莲产业发展的最重要因素之一。本文旨在介绍当前西番莲病毒病危害形势、发生种类, 以及病毒传染特性和传播特点, 分析病毒病发生原因, 提出病毒病防控策略, 供生产者参考借鉴。

### 2 西番莲病毒病的发生危害

西番莲感染病毒后, 罹病植株主要表现为叶片花叶、斑点、坏死、脉明、黄化、皱缩、畸形, 果实畸形、变小、木质化等各种症状, 危害严重的果园产量降低, 甚至绝收。巴西是西番莲的起源中心和最大生产国, 西番莲木质病已成为限制巴西西番莲产量的主要因素<sup>[1,2]</sup>。巴西西番莲上发生的木质病由 CABMV 侵染引起, 已造成十分严重的损失, 几乎感染了所有果园<sup>[3,4]</sup>。在我国台湾, 1982 年全省种植面积 1392 公顷, 总产量 16020 吨, 随后却因病毒病的肆虐, 种植面积大为缩减, 到 1988 年种植面积下降到 540 公顷, 导致整个西番莲产业萎靡<sup>[5]</sup>。在中国大陆南方省份, 20 世纪八九十年代曾种植较大面积西番莲, 当时病毒病在福建、广东、海南三个省份严重发生, 一般果园发病率在 30~40%, 严重的达 90%以上; 近年福建、广西、海南以及四川、贵州、云南等省份大规模引种栽培西番莲时忽视病毒病防控工作, 致使病毒病再次成为威胁产业发展的技术障碍, 据福建农林大学植物病毒研究所初步调查, 从福建、广西、广东采集的 112 个田间样品中病毒检出率达 92%, 危害严重。



**基金项目** 福建省福果农业综合开发有限公司谢联辉院士工作站项目“百香果病毒病防控技术及应用”。

**第一作者** 罗金水, 1978-, 男, 副研究员, 研究方向: 植物病理学, 05962615153, E-mail: luojish978@126.com。

### 3 西番莲病毒病发生种类

#### 3.1 在世界发生的各地西番莲病毒病种类

自从 1901 年澳大利亚报道了首例西番莲病毒病以来, 迄今全球各地报道侵染西番莲的病毒共有 8 属 26 种<sup>[6-7]</sup>。它们分别是马铃薯 Y 病毒属(*Potyvirus*)的西番莲斑驳病毒 (*Passion fruit mottle virus*, PaMV)、西番莲环斑病毒 (*Passion fruit ring spot virus*, PFRSV)、西番莲 Y 病毒 (*Passiflora virus Y*, PaVY)、西番莲木质化病毒 (*Passion fruit woodiness virus*, PWV)、东亚西番莲病毒 (*East Asian Passiflora virus*, EAPV)、乌干达西番莲病毒 (*Ugandan Passion virus*, UPV)、马来西亚西番莲病毒 (*Molaysian Passiflora virus*, MPV)、夜来香花叶病毒 (*Telasma mosaic virus*, TeMV)、西瓜花叶病毒 (*Watermelon mosaic virus*, WMV)、菜豆黄花叶病毒 (*Bean yellow mosaic virus*, BYMV)、大豆花叶病毒 (*Soybean mosaic virus*, SMV)、豇豆蚜传花叶病毒 (*Cowpea aphid-borne mosaic virus*, CABMV); 菜豆金色花叶病毒属(*Begomovirus*)的西番莲小叶花叶病毒 (*Passion fruit little leaf mosaic virus*, PLLMV)、西番莲扭叶病毒 (*Passion fruit leaf distortion virus*, PLDV)、麻风树花叶病毒 (*Jatropha mosaic virus*, JMV)、大戟花叶病毒 (*Euphorbia mosaic virus*, EuMV)、大戟曲叶病毒 (*Euphorbia leaf curl virus*, EuLCV)、广东番木瓜曲叶病毒 (*Papaya leaf curl Guangdong virus*, PaLCuGdV); 香石竹潜隐病毒属(*Carlavirus*) 的西番莲潜隐病毒 (*Passiflora latent virus*, PLV); 黄瓜花叶病毒属(*Cucumovirus*) 的黄瓜花叶病毒 (*Cucumber mosaic virus*, CMV); 芜菁黄花叶病毒属(*Tymovirus*)的西番莲黄花叶病毒 (*Passion fruit yellow mosaic virus*, PFYMV); 柑橘粗糙病毒属(*Cilevirus*)的西番莲绿斑病毒 (*Passion fruit green spot virus*, PFGSV); 烟草花叶病毒属(*Tobamovirus*) 的西番莲花叶病毒 (*Maracuja mosaic virus*, MarMV); 线虫传多面体病毒属(*Nepovirus*)的番茄环斑病毒 (*Tomato ringspot virus*, ToRSV); 以及 2 种分类尚不明确的病毒西番莲脉明病毒 (*Passionfruit vein clearing virus*, PaVVCV) 和紫果西番莲花叶病毒 (*Purple granadilla mosaic virus*, PGMV)。

#### 3.2 在中国发生的西番莲病毒病种类

在中国发生的西番莲病毒有黄瓜花叶病毒(CMV)、西番莲斑驳病毒(PaMV)、西番莲木质化病毒(PWV)、东亚西番莲病毒(EAPV)、西番莲潜隐病毒(PLV)、广东番木瓜曲叶病毒(PaLCuGdV)、大戟曲叶病毒(EuLCV)和夜来香花叶病毒(TeMV)等8种以上。徐平东等(1988)报道, 西番莲病毒病在福建西番莲种植区普遍发生, 主要病毒为黄瓜花叶病毒<sup>[8-9]</sup>。Chang C.A.(1992) 报道, 台湾西番莲种植园发生由东亚西番莲病毒侵染引起的木质病, 其症状表现花叶轻微斑驳, 果实畸形, 果皮硬化, 成熟时表面会出现裂纹<sup>[10]</sup>。由Cheng Y. H. 等(2014)报道, 在台湾普里和南投一些西番莲果园中发生由广东番木瓜曲叶病毒侵染引起的病毒病<sup>[11]</sup>。谢丽雪等(2017)报道, 首次从中国大陆西番莲果园采集的样品中检出夜来香花叶病毒<sup>[12]</sup>。

### 4 西番莲病毒传染特性及传播特点

植物病毒传染途径分为介体传染和非介体传染<sup>[13]</sup>。介体传染主要是起到再侵染和扩大再侵染的作用, 表现在生物介体将病毒从带毒植株传染至其他植株上而致病的过程。根据植物病毒在线统计, 感染西番莲的PVY 属病毒主要通过各种蚜虫非持久性方式进行传毒, 其中 PWV 通过棉蚜(*Aphis gossypii*)、桃蚜(*Myzus persicae*)传毒, PFRSV 通过棉蚜和绣线菊蚜 (*Aphis spiraeicola*)传毒, WMV 能通过桃蚜等 29 种蚜虫传毒, SMV 能通过豌豆长管蚜(*Acyrtosiphon pisum*)等 20 余种蚜虫传毒; CABMV 可以通过桃蚜传毒; PFYMV 可以通过鞘翅目昆虫 (*Diabrotica speciosa*) 传毒; JMV 主要通过 B 型烟粉虱(*Bemisia tabaci*)传毒, EuMV 能通过烟粉虱传毒; CMV 能通过棉蚜、桃蚜非持久性方式传毒; ToRSV 主要通过美洲钩线虫(*Xiphinema americanum*)传毒; PFGSV 通过紫红短须螨 (*Brevip phoeniceis*)传毒。

非介体传染方面, 西番莲病毒主要通过种子、扦插、嫁接、汁液接触等途径传播。西番莲26种病毒中, 除PFGSV不能够系统性侵染外, 其他病毒均可以在西番莲植株体内进行系统性侵染。采取扦插和嫁接的无性繁殖方式进行育苗, 要是没有对母本材料进行病毒检测筛选, 不仅可能育出大量携带病毒的苗木, 随种苗调运发生远距离传播, 而且还将通过其他途径在后续种植管理过程中进行交叉感染。由此可见, 带毒无性繁殖材料泛滥失控, 是造成当前西番莲病毒病肆意危害的主要原因。

### 5 西番莲病毒病防控策略

#### 5.1 搭建病毒检测平台, 为生产提供检测技术服务

西番莲病毒检测可以根据不同的实验条件采取生物学检测、血清学检测、分子生物学检测等适合的检测方法。目前应加快研制各种病毒的检测试剂盒或者免疫胶体金试纸条, 或者建立多重 PCR 检测技术, 为西番莲种植户提供检测技术服务产品。

#### 5.2 从源头、内在于手, 繁育无毒苗

(1) 通过热处理、化学处理或组织培养技术实现脱毒。种植于田间的西番莲植株基本上携带有病毒, 难以直接筛选到无毒材料, 必须经过脱毒处理, 脱毒过程中要加强材料的病毒检测跟踪, 以确保完全脱毒。

(2) 经脱毒处理的繁殖材料, 隔离种植在无毒母本园, 精心培育扩繁无毒枝穗。育苗时节, 采穗繁育无毒扦插苗或嫁接苗, 并隔离种植在无毒苗圃中养护成商品苗出售。



### 5.3 无毒苗推广种植及田间病毒防控

(1) 推广培训: 推广种植无毒苗时, 对种植户进行集中培训, 发放宣传资料, 宣贯种植技术规程, 提高科学认识水平。

(2) 园地选择: 无毒苗种植到大田后可能遭受田间毒源感染, 为此园地要尽量远离发生病毒危害的果园和其他作物的地方。

(3) 消灭毒源和传毒媒介: 定植前, 全面清园, 消灭或切断杂草、作物、病残体、虫媒等可能的传染源。定植后, 要预防蓟马、蚜虫、粉虱等传毒媒介爆发危害。

(4) 提高植株抗病力: 施足底肥, 增施有机冲施肥, 喷施生物源农药、病毒免疫剂等, 促进植株健壮生长。

(5) 加强农事操作管理: 一旦发现个别病株, 应立即拔除, 并进行消杀处理; 疏枝控梢时, 尽量在嫩芽期徒手抹除, 如果使用修剪刀等农具, 则每修剪一株就必须对农具使用强碱消毒液浸泡或者使用喷火枪火烧消毒一次。

(6) 减少病毒累积: 西番莲是多年生植物, 种植时间久有利于病毒感染危害, 带来损失, 因此提倡一年至两年换茬种植无毒苗, 必要时进行水旱轮作。

## 6 展望

由于种植见效快, 产业效益前景好, 西番莲被我国南方一些地方政府列为促进农民增收致富的重点新兴产业项目<sup>[14,15]</sup>。随着产业发展, 人们逐渐意识到该产业尚存在各种需要突破的技术瓶颈问题, 同预期效益差距较大, 需要政府、企业、学会、高校、科研院所等多方协作攻关, 才能保障该产业持续健康地发展。针对病毒病, 一些种植企业联合高校、科研院所初步研发出病毒检测试剂盒、无毒苗等产品, 取得一定的效果和经济社会效益, 有望在未来几年内全面推出。因此, 病毒病是可防可控的。

### 参考文献

- [1]Chagas CM, Kitajima EW, Lin MT (1981) Severe disease of yellow passionfruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) in Bahia state, caused by an isolate of passionfruit woodiness virus (in Portuguese) [J]. *Fitopatol Brasil* 6: 259–268
- [2]Chagas CM, Rezende JAM, Colariccio A (1992) Occurrence of passionfruit woodiness virus in the state of São Paulo (in Portuguese) [J]. *Rev Brasil Fruticult* 14: 187–290
- [3]Nascimento A.V. S., Santana E. N. 1, Braz A. S. K. (2006) Cowpea aphid-borne mosaic virus (CABMV) is widespread in passionfruit in Brazil and causes passionfruit woodiness disease[J]. *Arch Virol* 151: 1797–1809
- [4] Fischer, I.H., Resende, J.A.M., 2008. Diseases of passion flower (*Passiflora* spp.) [J]. *Pest Technol.* 2, 1–19.
- [5]陈光禄.台湾西番莲生产现状及其栽培管理[J].*福建果树*, 1991, 4: 26-27.
- [6]Cob,A..Woodiness of the passion fruit.*Agric.Caz.N.S.W.*1901, 12:407-418.
- [7]严佳文, 袁启凤, 彭志军等.西番莲病毒病害研究进展[J].*热带农业科学*, 2018, 38 (4): 85-94.
- [8]徐平东, 柯冲.福建省西番莲病毒病的发生及其病原鉴定[J].*福建省农科院学报*, 1990, 5 (2):47-55.
- [9]徐平东, 李梅.福建西番莲病毒病的发生及其病原黄瓜花叶病毒亚组鉴定[J].*植物保护学报*, 1999, 26 (1): 50-54.
- [10]Chang C A. Characterization and comparison of passion fruit mottle virus, a newly recognized potyvirus, with Passion fruit woodiness virus[J]. *Phytopathology*, 1992, 82: 1358-1 363.
- [11]Cheng Y H, Deng T C, Chen C C. First report of Euphorbia leaf curl virus and Papaya leaf curl Guangdong virus on passion fruit in Taiwan[J]. *Plant Disease*, 2014, 98(12): 1746.
- [12]谢丽雪, 张小艳, 郑姗, 等.侵染西番莲的夜来香花叶病毒的分子鉴定及特异性检测[J].*中国农业科学*, 2017, 50(24): 4725—4734.
- [13]谢联辉, 林奇英.植物病毒学第二版[M].中国农业出版社, 2004, 37-49
- [14]张文斌, 张志勇, 周美玲, 杨忠发, 张建东.福建省百香果产业发展现状及对策.福建农业科技, 2016, 11: 116-118.
- [15]谢青夏.百香果, “广西柑橘”后的下一个神话? 农家之友, 2018, 1: 20-22

# 土壤因子与小粒咖啡品质产量形成关系研究

赵明珠, 郭铁英, 马关润, 萧自位, 白学慧, 周 华, 苏琳琳  
云南省德宏热带农业科学研究所, 云南瑞丽 678600

**摘要** 土壤因子是影响小粒咖啡品质产量的主要因子。本文通过对土壤因子进行相关性分析、改进的灰色关联分析、通径分析及多元线性回归分析,明确影响小粒咖啡品质和产量的主要因子,指导科学施肥。结果表明:小粒咖啡咖啡因含量的土壤决定因子为海拔(-0.296\*),总糖含量的土壤决定因子为有机质(0.607\*\*)和速效磷(-0.232\*),蛋白质的土壤决定因子为 pH(-0.387\*\*)和有机质(0.227\*),粗灰分含量的土壤决定因子为速效磷(0.334\*\*),水浸出物含量的土壤决定因子为海拔(-0.494\*\*),脂肪含量的土壤决定因子为碱解氮(-0.461\*\*),产量的土壤决定因子为速效钾(0.339\*\*)和有机质(0.248\*)。研究结果可为小粒咖啡优质高产的土壤条件筛选和肥料的减施增效提供一定的理论基础,以期增强优质咖啡种质的适宜性和目的性。

**关键词** 土壤因子;小粒咖啡;相关分析;改进的灰色关联分析;通径分析;回归分析;品质;产量

## Study on The Relationship Between Soil Factors,Quality and Yield Formation in *C.arabica*

ZHAO Ming-zhu, GUO Tie-ying, MA Guan-run, XIAO Zi-wei, BAI Xuehui, ZHOU hua, SU Lin-lin  
Dehong Tropical Agriculture Sciences Institute of Yunnan Province, Ruili, Yunnan 678600, China

**Abstract** Soil factors play the important part of affecting the quality and yield in *C.arabica*.The purpose of this study was to provide academic evidence for guiding scientific fertilization, good quality and high yield,and identify the primary indexes of quality,yield by investigation the variation of soil factors of *C.arabica*.The correlation,improved grey relational analysis,path analysis,and multiple linear regression analysis were conducted,to identify the primary indexes of *C.arabica* quality and yield.The results showed that altitude is a key soil determinant of caffeine in *C.arabica*,the prime determinant factors of total sugar content are soil organic matter(OM) and available phosphorus(AP),the crude protein content are soil pH and OM,crude ash content is AP,water-soluble extracts content is altitude,fat content is alkalystic nitrogen(AN),the yield of *C.arabica* are available potassium(AK) and OM.The results of this study will be useful to guide the screening of soil conditions,reducing the amounts of fertilizer and increasing the fertilizer-use efficiency,in order to enhance the suitability and purpose of excellent germplasm in *C.arabica*.

**Keywords** Soil factors;*C.arabica*;correlation analysis;improved grey relational analysis;path analysis;regression analysis;quality;yield

咖啡是世界的三大饮料作物之首,具有可观的经济价值和药用升值前景。我国主要栽培品种为小粒种(*Coffea arabica* L.),其面积和产量分别占世界咖啡总面积和总产量的80%和82%以上。云南小粒咖啡的种植面积和产量均占全国的99%以上。

土壤肥力因子决定了作物生长发育的优劣,直接影响到作物的产量和品质。前人研究中指出:在黑土农田极端侵蚀的环境下,土壤质量与玉米产量呈显著相关关系<sup>[1]</sup>。随着海拔的升高,作物产量逐渐下降<sup>[2]</sup>。但也有研究持相反结果,高海拔环境显著提作物的产量和品质<sup>[3]</sup>。作物产量因土壤 pH 值下降而下降<sup>[4]</sup>,海拔高度和经度、土壤有机碳、含氮量和 K 元素含量均对水稻产量有显著影响<sup>[5]</sup>。玉米产量与土壤全氮、速效磷、速效钾含量均呈极显著正相关关系,但大豆产量与土壤理化性质无显著的相关关系<sup>[6]</sup>,适宜的钾素促进苦荞产量的形成<sup>[7]</sup>。适中的氮(N560)含量可有效增加中粒种的产量49.13%<sup>[8]</sup>。可知,不同的作物,不同的土壤背景值对产量的影响不一。目前我国对影响咖啡品质和产量的土壤因子的研究鲜见报道,咖啡作为国家重视的高原特色经济作物,本研究具有积极推动作用。通过对小粒咖啡主产区的土壤因子、咖啡豆品质和产量数据进行统计分析,明确土壤因子对小粒咖啡品质及产量形成的贡献大小,为小粒咖啡的合理高效施肥技术和肥料的减施增效标准进行推广提供一定的理论依据。

### 1 材料与amp;方法

#### 1.1 材料

土壤样品采集的方法参照测土配方施肥技术<sup>[9]</sup>,根据普洱、临沧、德宏、保山、文山和怒江6个州县咖啡的种植条件、分布范围选择具有区域代表性的采样点,采用“梅花形”采样法,每个点采集3份土样(0~20 cm)混合为一份,共采集65份土壤、产量和咖啡豆数据,具体的采样点数据如表1所示。

表1 各采样点的土壤背景值  
Table 1 The background of the soil samples

**基金项目** 国家重点研发计划资助(2018YFD0201100),云南省科技社会发展科技计划项目(No. 2015DC004)。

**作者简介** 赵明珠(1989-),女,助理研究员;研究方向:热带作物栽培;E-mail: kaboly@163.com。

| 编号<br>Number | 市(州)<br>City(state) | 县(区)<br>County(area) | 镇(乡/地区)<br>Town (township<br>/district) | 栽培管理水平<br>The<br>management<br>level of<br>cultivation | 种植年限<br>The<br>number of<br>cultivation<br>years | 成土母质<br>Parent materials | 土壤类型<br>Soil types | 海拔<br>(m)<br>Altitude | 鲜果产量<br>(kg·hm <sup>-2</sup> )<br>Fresh fruit<br>yield |
|--------------|---------------------|----------------------|---|--|--|--------------------------|--------------------|-----------------------|--|
| 1            | 保山                  | 龙陵                   | 镇安                                      | 中上   | 3  | 泥质岩类风化物                  | 赤红壤                | 1380                  | 17500  |
| 2            | 保山                  | 龙陵                   | 镇安                                      | 中等   | 4  | 玄武岩风化残坡积物                | 黄大土                | 1533                  | 14501  |
| 3            | 保山                  | 龙陵                   | 镇安                                      | 中等   | 3  | 泥质岩类风化物                  | 赤红壤                | 1490                  | 17500  |
| 4            | 保山                  | 隆阳                   | 潞江                                      | 中上   | 4  | 泥质岩类风化物                  | 赤红壤                | 1066                  | 17501  |
| 5            | 保山                  | 隆阳                   | 潞江                                      | 中上   | 3  | 泥质岩类风化物                  | 赤红壤                | 836                   | 15502  |
| 6            | 保山                  | 隆阳                   | 芒宽                                      | 中等   | 3  | 泥质岩类风化物                  | 赤红壤                | 817                   | 11503  |
| 7            | 怒江                  | 泸水                   | 三利公司基地                                  | 中等   | 4  | 泥质岩类风化物                  | 赤红壤                | 1083                  | 15504  |
| 8            | 怒江                  | 泸水                   | 三利公司基地                                  | 差  | 5  | 泥质岩类风化物                  | 赤红壤                | 1051                  | 7505   |
| 9            | 保山                  | 隆阳                   | 潞江                                      | 中等   | 4  | 泥质岩类风化物                  | 赤红壤                | 1308                  | 16000  |
| 10           | 德宏                  | 芒市                   | 夏中                                      | 差  | 6  | 泥质岩类风化的残坡积物              | 赤红壤                | 827                   | 12000  |
| 11           | 德宏                  | 芒市                   | 遮放                                      | 中下   | 5  | 泥质岩类风化的残坡积物              | 赤红壤                | 842                   | 10000  |
| 12           | 德宏                  | 盈江                   | 拱腊                                      | 中等   | 5  | 泥质岩类风化的残坡积物              | 麻砖土                | 942                   | 18000  |
| 13           | 德宏                  | 盈江                   | 拱腊                                      | 中等   | 4  | 泥质岩类风化的残坡积物              | 麻砖土                | 896                   | 14000  |
| 14           | 德宏                  | 盈江                   | 后谷基地                                    | 中下   | 4  | 泥质岩类风化的残坡积物              | 麻砖土                | 900                   | 13000  |
| 15           | 德宏                  | 盈江                   | 后谷基地                                    | 差  | 5  | 泥质岩类风化的残坡积物              | 麻砖土                | 915                   | 15000  |
| 16           | 德宏                  | 盈江                   | 翁冷                                      | 中等   | 3  | 泥质岩类风化的残坡积物              | 麻砖土                | 933                   | 14000  |
| 17           | 德宏                  | 盈江                   | 翁冷                                      | 中上   | 3  | 泥质岩类风化的残坡积物              | 麻砖土                | 893                   | 13000  |
| 18           | 临沧                  | 云县                   | 栗树乡                                     | 差  | 5  | 泥质岩类风化的残坡积物              | 红壤                 | 1419                  | 14000  |
| 19           | 临沧                  | 云县                   | 栗树乡                                     | 中等   | 5  | 泥质岩类风化的残坡积物              | 赤红壤                | 1153                  | 18000  |
| 20           | 临沧                  | 云县                   | 幸福镇                                     | 中下   | 3  | 泥质岩类风化的残坡积物              | 赤红壤                | 1272                  | 13000  |
| 21           | 临沧                  | 云县                   | 幸福镇                                     | 中下   | 3  | 泥质岩类风化的残坡积物              | 赤红壤                | 1014                  | 15000  |
| 22           | 临沧                  | 永德                   | 崇岗乡                                     | 差  | 4  | 泥质岩类风化的残坡积物              | 赤红壤                | 1186                  | 14000  |
| 23           | 临沧                  | 永德                   | 崇岗乡                                     | 中等   | 3  | 泥质岩类风化的残坡积物              | 赤红壤                | 1237                  | 14000  |
| 24           | 临沧                  | 永德                   | 大雪山                                     | 中等   | 6  | 泥质岩类风化物                  | 赤红壤                | 1183                  | 18000  |
| 25           | 临沧                  | 临翔                   | 马台乡                                     | 中等   | 6  | 泥质岩类风化物                  | 赤红壤                | 1205                  | 19000  |
| 26           | 临沧                  | 双江                   | 沙河                                      | 中等   | 5  | 泥质岩类风化物                  | 赤红壤                | 1196                  | 12500  |
| 27           | 临沧                  | 沧源                   | 团结乡                                     | 中等   | 4  | 泥质岩类风化的残坡积物              | 黄壤                 | 1650                  | 13000  |
| 28           | 临沧                  | 耿马                   | 勐简乡                                     | 中等   | 2  | 泥质岩类风化物                  | 赤红壤                | 1208                  | 11000  |
| 29           | 临沧                  | 镇康                   | 南伞乡                                     | 中等   | 2  | 泥质岩类风化物                  | 赤红壤                | 1120                  | 9000   |
| 30           | 临沧                  | 镇康                   | 南伞乡                                     | 中上   | 4  | 泥质岩类风化物                  | 赤红壤                | 1135                  | 10500  |
| 31           | 保山                  | 隆阳                   | 潞江                                      | 中上   | 5  | 泥质岩类风化的残坡积物              | 黄壤                 | 1385                  | 14000  |
| 32           | 普洱                  | 景东                   | 文景镇                                     | 中等   | 3  | 泥质岩类风化的残坡积物              | 赤红壤                | 1170                  | 11000  |
| 33           | 普洱                  | 江城                   | 康平                                      | 中上   | 3  | 泥质岩类风化的残坡积物              | 赤红壤                | 1068                  | 14000  |
| 34           | 普洱                  | 思茅                   | 倚象镇                                     | 中等   | 3  | 泥质岩类风化的残坡积物              | 赤红壤                | 907                   | 10000  |
| 35           | 普洱                  | 思茅                   | 南屏乡                                     | 中等   | 3  | 泥质岩类风化的残坡积物              | 赤红壤                | 1067                  | 9000   |
| 36           | 普洱                  | 宁洱                   | 普义乡                                     | 中等   | 4  | 泥质岩类风化的残坡积物              | 赤红壤                | 1068                  | 13000  |
| 37           | 普洱                  | 宁洱                   | 宁洱墨江西村松<br>江咖啡基地                        | 中下   | 3  | 泥质岩类风化的残坡积物              | 赤红壤                | 898                   | 12000  |
| 38           | 普洱                  | 墨江                   | 雅邑乡                                     | 中下   | 1  | 泥质岩类风化的残坡积物              | 赤粘土                | 1066                  | 8000   |

|    |     |     |     |    |   |             |     |      |       |
|----|-----|-----|-----|----|---|-------------|-----|------|-------|
| 39 | 普洱市 | 镇沅县 | 古城乡 | 中下 | 5 | 泥质岩类风化的残坡积物 | 赤红壤 | 1011 | 9000  |
| 40 | 普洱市 | 景谷县 | 威远  | 中下 | 2 | 泥质岩类风化的残坡积物 | 赤红壤 | 1172 | 8000  |
| 41 | 普洱市 | 景谷县 | 威远  | 中等 | 4 | 泥质岩类风化的残坡积物 | 赤红壤 | 1081 | 17000 |
| 42 | 普洱市 | 思茅区 | 龙潭乡 | 中等 | 3 | 泥质岩类风化的残坡积物 | 赤红壤 | 976  | 13000 |
| 43 | 普洱市 | 景谷县 | 威远  | 中下 | 3 | 泥质岩类风化的残坡积物 | 赤红壤 | 1135 | 10500 |
| 44 | 普洱市 | 澜沧县 | 勐朗镇 | 中下 | 3 | 泥质岩类风化物     | 褐土  | 1203 | 13000 |
| 45 | 普洱市 | 澜沧县 | 勐朗镇 | 中等 | 3 | 泥质岩类风化的残坡积物 | 褐土  | 1157 | 13000 |
| 46 | 普洱市 | 澜沧县 | 勐朗镇 | 中下 | 3 | 泥质岩类风化的残坡积物 | 褐土  | 1046 | 15000 |
| 47 | 普洱市 | 澜沧县 | 拉巴乡 | 中下 | 5 | 泥质岩类风化的残坡积物 | 褐土  | 1103 | 14000 |
| 48 | 普洱市 | 澜沧县 | 拉巴乡 | 中等 | 5 | 泥质岩类风化的残坡积物 | 褐土  | 1097 | 14000 |
| 49 | 普洱市 | 孟连县 | 景信乡 | 中等 | 7 | 泥质岩类风化的残坡积物 | 赤红壤 | 1015 | 12000 |
| 50 | 普洱市 | 孟连县 | 景信乡 | 中上 | 6 | 泥质岩类风化的残坡积物 | 赤红壤 | 1024 | 14000 |
| 51 | 普洱市 | 孟连县 | 娜允  | 中上 | 5 | 泥质岩类风化的残坡积物 | 赤红壤 | 1123 | 12000 |
| 52 | 普洱市 | 景东县 | 文景镇 | 中等 | 5 | 泥质岩类风化的残坡积物 | 赤红壤 | 1203 | 11000 |
| 53 | 普洱市 | 景东县 | 文景镇 | 中等 | 4 | 泥质岩类风化的残坡积物 | 赤红壤 | 1157 | 11000 |
| 54 | 普洱市 | 墨江县 | 娜允  | 中上 | 5 | 泥质岩类风化的残坡积物 | 赤红壤 | 1046 | 13000 |
| 55 | 普洱市 | 江城县 | 康平  | 中上 | 5 | 泥质岩类风化的残坡积物 | 赤红壤 | 1103 | 14000 |
| 56 | 普洱市 | 墨江县 | 雅邑乡 | 中等 | 4 | 泥质岩类风化的残坡积物 | 赤红壤 | 1097 | 16000 |
| 57 | 普洱市 | 镇沅县 | 古城乡 | 中下 | 4 | 泥质岩类风化的残坡积物 | 赤红壤 | 1015 | 16000 |
| 58 | 普洱市 | 思茅区 | 倚象镇 | 中等 | 3 | 泥质岩类风化的残坡积物 | 赤红壤 | 1019 | 17000 |
| 59 | 普洱市 | 西盟县 | 勐梭  | 中等 | 3 | 泥质岩类风化的残坡积物 | 赤红壤 | 1024 | 16000 |
| 60 | 普洱市 | 孟连县 | 勐马镇 | 中等 | 3 | 泥质岩类风化的残坡积物 | 赤红壤 | 1135 | 12000 |
| 61 | 临沧  | 临翔区 | 马台乡 | 中等 | 2 | 泥质岩类风化的残坡积物 | 紫色土 | 1123 | 10000 |
| 62 | 普洱市 | 孟连县 | 娜允  | 中等 | 4 | 泥质岩类风化的残坡积物 | 赤红壤 | 1015 | 13000 |
| 63 | 普洱市 | 孟连县 | 娜允  | 中等 | 3 | 泥质岩类风化的残坡积物 | 赤红壤 | 1037 | 10000 |
| 64 | 普洱市 | 西盟县 | 勐梭  | 中等 | 2 | 泥质岩类风化的残坡积物 | 赤红壤 | 1243 | 10000 |
| 65 | 临沧  | 双江县 | 沙河  | 中等 | 3 | 泥质岩类风化的残坡积物 | 紫色土 | 1235 | 12000 |

## 1.2 方法

土壤样品的测定内容：土壤 pH、有机质、碱解氮、有效磷和速效钾含量，同期测定小粒咖啡的产量，并记录采样地的海拔高度。土壤 pH 测定：2.5: 1 水土比，pH 计；土壤有机质的测定：重铬酸钾容量法——外加热法；土壤碱解氮的测定：1.0mol·L<sup>-1</sup>NaOH 碱解扩散法；土壤速效磷的测定：0.03 mol·L<sup>-1</sup> NH<sub>4</sub>F—0.025 mol·L<sup>-1</sup> HCl 浸提——比色法；土壤速效钾的测定：1.0 mol·L<sup>-1</sup> NH<sub>4</sub>OAc 浸提——火焰光度法<sup>[10]</sup>。

咖啡豆内含物测定内容：咖啡因、总糖、蛋白质、灰分、水浸出物和脂肪。咖啡因的测定——饮料中咖啡因的测定 GB5009.139-2014；总糖的测定——食品中的蔗糖的测 GB/T 5009.8—2008；蛋白质的测定——食品安全国家标准食品中蛋白质的测定 GB 5009.5-2010；灰分的测定——食品中灰分的测定 GB/T 5009.4-2010；水浸出物的测定——茶 水浸出物测定 GB/T 8305-2013；脂肪的测定——食品中脂肪的测定 GB/T 5009.6-2003。

各土壤指标间也存在着一定的相关关系，仅依据各土壤指标间的简单相关系数判定对咖啡产量和品质的影响力，极易隐藏各指标间的相互作用，也不能从根本上反应其内在联系的规律性。借此引入改进的灰色关联分析，采用多层次、多因素的评价指标体系反映各土壤因子与咖啡产量和品质间的实际特性，再采用组合赋权将主观评价层次分析法(AHP)和可观评价熵值法相结合，最后基于灰色关联分析，结合 AHP 和熵值法，建立改进的灰色关联综合评价模型<sup>[11]</sup>。为弥补改进的灰色关联系数不能表明土壤因子对咖啡品质和产量的正负作用，引入途径系数，再结合回归分析，建立各土壤因子与咖啡品质和产量的回归模型，进行定量分析。

四种分析方法相结合，层层深入与强化，定量客观真实地反映其内在关系的规律性。

### 1.3 数据分析

采用 Microsoft Excel 2016 进行数据整理，SPSS 数据处理系统进行统计分析<sup>[12]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 土壤因子、产量和品质的变异特征

由表 2 可知，小粒咖啡的土壤指标变异较大，其中以土壤有效磷含量的变异系数较大，达 96.54%，属于较强变异。土壤有机质、碱解氮和速效钾含量的变异程度属于中等变异。变异度较小的为土壤 pH(11.74%) 和海拔(15.13%)；咖啡鲜果产量变异系数 20.81%，中等变异；品质指标变异系数 4.06%~13.62%，较小变异。表明在小粒咖啡的生长过程中，磷素残留较多，有机肥、氮钾素较少的现象显著，人为因素对小粒咖啡产量的形成具有较大影响，品质相对稳定。(变异程度划分标准：0-15%小变异 16%到 35%中等变异，大于 36%高度变异)

表 2 小粒咖啡的土壤因子、产量和品质表现

Table 2 Status of soil factors, yield and quality of *C.arabica*

| 指标<br>Index | 最大值<br>Max value | 最小值<br>Min value | 极差<br>Range | 平均值<br>Mean value | 标准差<br>SD | 变异系数<br>CV(%) |
|-------------|------------------|------------------|-------------|-------------------|-----------|---------------|
| X1          | 1650.00          | 817.00           | 833.00      | 1106.37           | 167.30    | 15.13         |
| X2          | 8.11             | 4.67             | 3.44        | 5.48              | 0.64      | 11.74         |
| X3          | 55.89            | 4.32             | 51.57       | 29.01             | 13.24     | 45.64         |
| X4          | 286.65           | 70.16            | 216.49      | 160.49            | 56.95     | 35.49         |
| X5          | 670.80           | 7.50             | 663.3       | 189.20            | 182.70    | 96.54         |
| X6          | 271.90           | 24.32            | 247.58      | 121.90            | 67.78     | 55.60         |
| Z1          | 10.28            | 6.78             | 3.50        | 8.29              | 0.81      | 10.46         |
| Z2          | 15.57            | 6.24             | 9.33        | 10.95             | 1.82      | 13.62         |
| Z3          | 13.79            | 10.48            | 3.31        | 12.00             | 0.60      | 5.02          |
| Z4          | 4.70             | 3.08             | 1.62        | 3.65              | 0.26      | 8.75          |
| Z5          | 45.31            | 34.59            | 10.72       | 40.25             | 1.63      | 4.06          |
| Z6          | 14.91            | 10.95            | 3.96        | 12.46             | 0.81      | 7.47          |
| Y           | 19000.00         | 7505.00          | 11495.00    | 13223             | 2751.00   | 20.81         |

X1:海拔(m);X2:pH; X3: 有机质(g·kg<sup>-1</sup>); X4: 碱解氮(mg·kg<sup>-1</sup>); X5: 有效磷(mg·kg<sup>-1</sup>); X6: 速效钾(mg·kg<sup>-1</sup>); Z1: 咖啡因(g·kg<sup>-1</sup>); Z2: 总糖(%); Z3: 蛋白质(%); Z4: 灰分(%); Z5: 水溶性浸出物(%); Z6: 脂肪(%); Y: 鲜果产量(kg·hm<sup>-2</sup>)。下同

X1:Altitude(m); X2:pH; X3: Organic matter(g·kg<sup>-1</sup>); X4: Alkalystic N(mg·kg<sup>-1</sup>); X5:Available P(mg·kg<sup>-1</sup>); X6: Available K(mg·kg<sup>-1</sup>); X7:Slowly available K;Z1:Caffeine(g·kg<sup>-1</sup>);Z2:Total sugar(%);Z3:Crude protein(%);Z4:Ash(%);Z5:Water-soluble extracts(%);Z6: Crude fat content(%);Y: Fresh fruit yield(kg·hm<sup>-2</sup>).The same as below.

### 2.2 土壤因子、产量及品质的相关性分析

由表 3 可知，咖啡因与海拔呈显著负相关关系，系数为-0.296\*。总糖与有机质含量呈极显著正相关关系(0.587\*\*)。蛋白质与土壤 pH 呈极显著负相关关系(-0.408\*\*)，与碱解氮含量呈显著正相关关系(0.263\*)。灰分与有效磷含量呈极显著正相关关系(0.334\*\*)，与海拔呈显著负相关关系(-0.285\*)。咖啡豆的水溶性浸出物与海拔呈极显著负相关关系(-0.494\*\*)。咖啡豆的脂肪含量与碱解氮含量呈极显著负相关关系(-0.461\*\*)，与土壤 pH 呈显著正相关关系(0.296\*)。土壤的速效钾和有机质含量与咖啡产量呈极显著和显著正相关关系，系数分别为 0.360\*\*和 0.277\*。表明低海拔利于咖啡因的合成。有机质丰富的土壤促进咖啡总糖的累积。酸性和氮素有效成分高的土壤利于咖啡蛋白质的累积。低海拔、磷有效成分高的土壤促进咖啡豆灰分的形成。低海拔利于咖啡豆水溶性浸出物的积累。碱性、低有效氮的土壤促进咖啡豆脂肪的合成。土壤速效钾和有机质含量是小粒咖啡形成高产的关键因子。

表 3 小粒咖啡土壤因子的相关系数

Table 3 Correlation coefficient of soil fertility of *C.arabica*

| 指标<br>Index | X1       | X2       | X3      | X4       | X5      | X6      | Z1     | Z2     | Z3     | Z4     | Z5    | Z6    |
|-------------|----------|----------|---------|----------|---------|---------|--------|--------|--------|--------|-------|-------|
| X2          | -0.203   |          |         |          |         |         |        |        |        |        |       |       |
| X3          | 0.116    | -0.095   |         |          |         |         |        |        |        |        |       |       |
| X4          | -0.074   | -0.271*  | -0.185  |          |         |         |        |        |        |        |       |       |
| X5          | -0.165   | 0.145    | -0.018  | -0.383** |         |         |        |        |        |        |       |       |
| X6          | 0.137    | 0.197    | 0.086   | -0.086   | 0.133   |         |        |        |        |        |       |       |
| Z1          | -0.296*  | -0.078   | 0.071   | 0.025    | -0.016  | -0.186  |        |        |        |        |       |       |
| Z2          | 0.008    | -0.109   | 0.587** | -0.209   | -0.071  | -0.180  | -0.083 |        |        |        |       |       |
| Z3          | -0.013   | -0.408** | 0.263*  | -0.075   | 0.145   | 0.128   | -0.163 | 0.227  |        |        |       |       |
| Z4          | -0.285*  | -0.056   | -0.104  | -0.169   | 0.334** | -0.011  | 0.121  | -0.065 | -0.003 |        |       |       |
| Z5          | -0.494** | 0.110    | -0.32   | 0.120    | 0.084   | -0.103  | 0.220  | -0.025 | -0.192 | 0.143  |       |       |
| Z6          | 0.238    | 0.296*   | -0.083  | -0.461** | 0.136   | -0.097  | -0.219 | 0.133  | -0.034 | -0.084 | 0.000 |       |
| Y           | 0.139    | 0.181    | 0.277*  | -0.055   | 0.152   | 0.360** | 0.019  | 0.086  | 0.012  | -0.149 | 0.129 | 0.005 |

\*表示显著(P<0.05); \*\*表示极显著(P<0.01), 下同。\*Significant at P<0.05;\*\*Significant at P<0.01,the same below.

### 2.3 土壤因子与小粒咖啡产量及品质的改进灰色关联分析

改进的灰色关联计算公式:

$$\xi_{0i}(k) = \frac{\min_i \min_k |x_0(k) - x_i(k)| + \rho \max_i \max_k |x_0(k) - x_i(k)|}{|x_0(k) - x_i(k)| + \rho \max_i \max_k |x_0(k) - x_i(k)|} \dots\dots\dots \text{公式(1)}$$

$$w_j = \frac{\alpha_j \times \beta_j}{\sum_{j=1}^n \alpha_j \times \beta_j} \dots\dots\dots \text{公式(2)}$$

$$\bar{r}_{0i} = \bar{\xi}_{0i}(k) \omega(k) \dots\dots\dots \text{公式(3)}$$

注: 公式(1)为灰色平均关联系数:  $\rho$  为分辨系数(0.5),  $x_0(k)$  为评价数列,  $x_i(k)$  为比较数列;

公式(2)为组合赋权确定的权重系数:  $\alpha$  为层次分析法(AHP)的权重向量,  $\beta$  为熵值法的权重向量;

公式(3)为改进的灰色关联系数。

由图 1 可知, 传统的灰色关联法与改进的灰色关联度结果有误差, 因为传统的方法未考虑各指标权重对关联度的影响, 结果不具保序性, 而改进的灰色关联度将 AHP 的主观赋权、熵值法的客观赋权和灰色关联度相结合, 综合评价更科学和全面。土壤对小粒咖啡品质和产量的综合评价结果显示: Z1: X5>X1>X6>X2>X3>X4, Z2: X3>X6>X2>X5>X4>X1, Z3: X5>X2>X4>X3>X1>X6, Z4: X5>X1>X4>X2>X6>X3, Z5: X1>X5>X2>X6>X4>X3, Z6: X4>X2>X5>X1>X6>X3, Y: X2>X6>X3>X5>X1>X4, 表明: 影响咖啡豆中咖啡因含量的土壤因子是速效磷含量和海拔, 总糖的土壤因子主要是有机质和速效钾含量, 蛋白质的土壤因子是速效磷含量和土壤 pH, 灰分的土壤因子是海拔和速效磷含量, 水溶性浸出物的决定因子是海拔和速效磷含量, 影响脂肪的土壤因子主要是碱解氮含量和土壤 pH, 咖啡产量的决定因子是速效钾、有机质和土壤 pH。

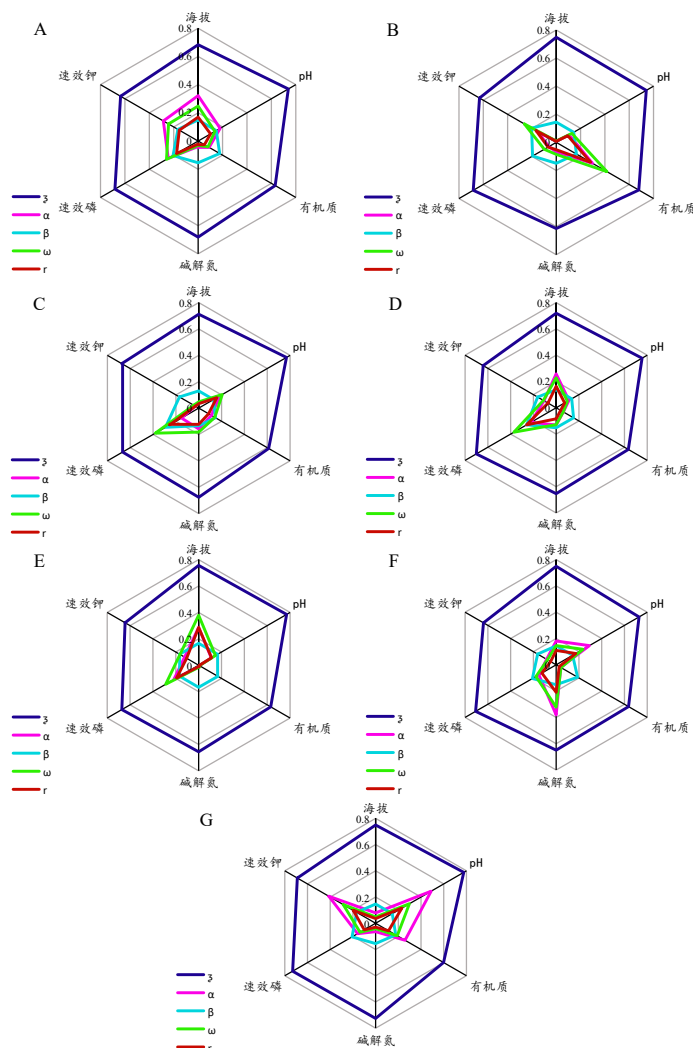


图 1 土壤因子与小粒咖啡品质和产量的关联系数及权重值(A: 咖啡因; B: 总糖; C: 蛋白质; D: 灰分; E: 水溶性浸出物; F: 脂肪; G: 产量; 下同)

Fig.1 Correlation coefficient and weight value of soil factors,yield and quality of *C.arabica*(A:Caffeine;B:Total sugar;C:Crude protein;D:Ash;E:Water-soluble extracts;F:Crude fat content;G:Fresh yield;The same as below.)

#### 2.4 土壤因子对小粒咖啡产量和品质的途径分析

由图 2 可知,小粒咖啡土壤因子对咖啡因含量的直接途径系数绝对值海拔(-0.326)、速效钾(-0.124)、土壤 pH(-0.114)较大,说明海拔、速效钾含量和土壤酸碱程度对咖啡因的直接效应最大,均为负效应,低海拔、酸性低钾含量的土壤有增加咖啡因的潜质;对总糖含量的直接途径系数绝对值土壤有机质(0.572)、速效钾(-0.208)、碱解氮(-0.185)较大,说明土壤有机质、速效钾和碱解氮对总糖的直接效应最大,但速效钾和碱解氮均为负效应,有机质丰富低钾低氮利于咖啡总糖的积累;对蛋白质含量的直接途径系数绝对值土壤 pH(-0.515)、速效钾(0.207)、有机质(0.194)较大,说明土壤酸碱度、速效钾和有机质含量对蛋白质的直接效应最大,但 pH 为负效应,酸性高钾和丰富有机质的土壤有利于蛋白质的积累;对灰分含量的直接途径系数绝对值海拔(-0.261)、速效钾(0.251)和土壤 pH(-0.209)较大,说明海拔、钾含量和土壤酸碱度对灰分的直接效应最大,但海拔和土壤 pH 均为负效应,低海拔、酸性和高钾的土壤利于灰分的积累;对水浸出物含量的直接途径系数绝对值海拔(-0.459)较大,说明海拔对水浸出物的直接效应最大,但为负效应,低海拔土壤利于水浸出物的积累;对脂肪含量的直接途径系数绝对值碱解氮(-0.401)、海拔(0.315)和土壤 pH(0.277)较大,说明海拔、氮素和土壤酸碱度对脂肪含量的直接效应最大,但氮素为负效应,低海拔、高氮和酸性的土壤有低脂肪咖啡的潜力;对产量的直接途径系数绝对值有机质(0.288)、速效钾(0.264)较大,说明土壤速效钾和有机质对小粒咖啡产量形成的直接作用最大,均为正效应,钾素和有机质含量高的土壤具有咖啡高产的潜力。

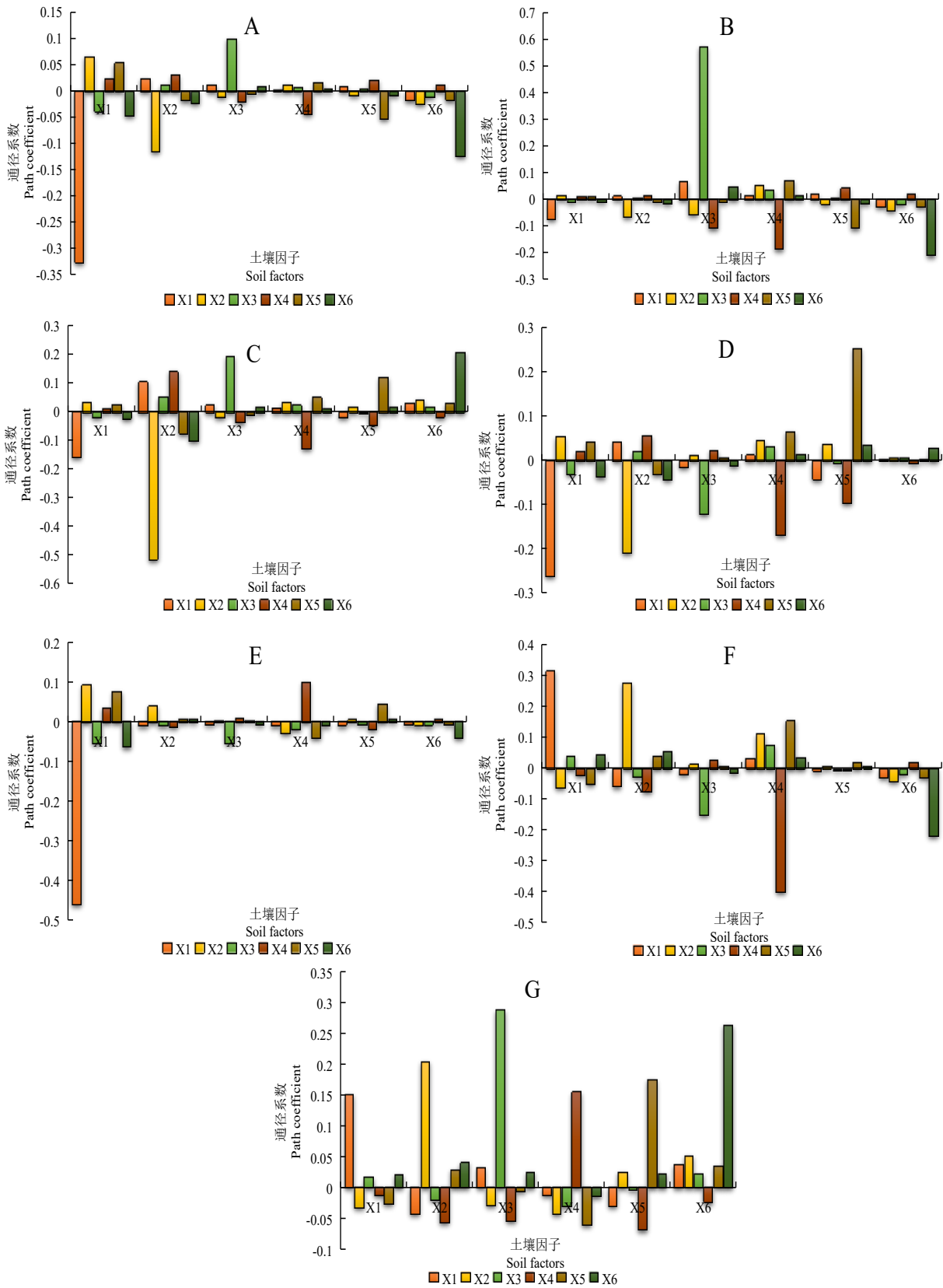


图 2 小粒咖啡土壤因子对品质和产量的通径分析  
Fig.2 Path analysis of soil factors and yield of *C.arabica*

### 2.5 多元线性回归分析

在相关分析、改良的灰色关联分析和通径分析基础上，通过逐步回归分析剔除不显著变量，以 6 个土壤因子为自变量，咖啡豆的 6 个品质指标和产量为因变量，得出回归方程如表 4 所示。可知，当海拔(m)每增加一个单位，咖啡因含量减少 9.867g·kg<sup>-1</sup>；当土壤有机质(X3)和有效磷(X5)处于平均水平，而其中 1 个变量固



定时, 剩余变量如土壤有机质( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )和有效磷( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )每增加一个单位, 咖啡总糖分别增加 0.084%和减少 0.006%; 土壤 pH(X2)和有机质(X3)处于平均水平, 而其中 1 个变量固定时, 剩余变量如土壤 pH 和有机质( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )每增加一个单位, 咖啡蛋白质分别减少 0.361%和增加 0.01%; 土壤有效磷( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )每增加一个单位, 咖啡灰分增加 0.0001%; 海拔(m)每增加一个单位, 水溶性浸出物含量减少 0.005%; 土壤碱解氮( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )每增加一个单位, 咖啡的脂肪含量减少 0.007%; 当土壤速效钾(X6)和有机质(X3)处于平均水平, 而其中 1 个变量固定时, 剩余变量如速效钾( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )和有机质( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )每增加一个单位, 咖啡产量分别增加 13.756 和 51.499kg。

表 4 土壤因子、小粒咖啡品质和产量的回归方程模型

| 回归方程                         | R     | F      | P     |
|------------------------------|-------|--------|-------|
| Z1=9.868-0.001X1             | 0.296 | 6.056  | 0.017 |
| Z2=9.29+0.084X3-0.006X5      | 0.631 | 20.529 | 0.000 |
| Z3=13.685-0.361X2+0.01X3     | 0.466 | 8.617  | 0.000 |
| Z4=3.557+0.0001X5            | 0.334 | 7.914  | 0.007 |
| Z5=45.55-0.005X1             | 0.494 | 20.352 | 0.000 |
| Z6=13.517-0.007X4            | 0.461 | 17.024 | 0.000 |
| Y=10052.73+13.756X6+51.499X3 | 0.437 | 7.301  | 0.001 |

为更加明确多元回归所确定的土壤因子对咖啡产量和品质的直接和间接效应, 重新对表 4 中决定小粒咖啡品质和产量的的土壤因子分别进行途径分析。由表 5 可知,  $|P3z2| > |P6z2|$ ,  $|P3z3| > |P5z3|$ ,  $|P6y| > |P3y|$ ,  $|P2z3| > |P5z3|$ , 说明土壤速效钾的直接效应大于土壤有机质, 且间接系数均为较小的正值, 表明高钾和丰富的有机质含量是小粒咖啡高产的主要土壤因子; 土壤 pH 的直接效应大于有效磷, 但 pH 的直接途径系数为负值, 其间接途径系数为较小的正值, 有效磷的直接途径系数为正值, 其间接途径系数为较小的负值, 表明酸性高磷是咖啡高蛋白的主要土壤因子; 土壤碱解氮对脂肪的直接途径系数为较大的负值, 表明高氮是咖啡低脂肪的土壤决定因子。土壤速效钾和有机质含量与产量的直接途径系数均为较大的正值, 表明高钾和丰富的有机质是咖啡高产的土壤决定因子。

表 5 小粒咖啡品质和产量土壤决定因子的途径分析

| 指标<br>Index                       | Z1      | Z2     | Z3      | Z4     | Z5    | Z6       | Y      |        |         |       |          |        |          |        |        |         |       |
|-----------------------------------|---------|--------|---------|--------|-------|----------|--------|--------|---------|-------|----------|--------|----------|--------|--------|---------|-------|
|                                   | X1      | X3     | X6      | X2     | X3    | X5       | X1     | X4     | X3      | X6    |          |        |          |        |        |         |       |
| 土壤决定因子<br>The main factor of soil | X1      | -0.296 | X3      | 0.607  | 0.052 | X2       | -0.387 | -0.056 | X5      | 0.334 | X1       | -0.494 | X4       | -0.461 | X3     | 0.248   | 0.021 |
|                                   |         | X6     | -0.012  | -0.232 | X3    | 0.033    | 0.227  |        |         |       |          |        |          |        | X6     | 0.029   | 0.339 |
| 相关系数<br>Correlation coefficients  | -0.296* |        | 0.587** | -0.18  |       | -0.408** | 0.263* |        | 0.334** |       | -0.494** |        | -0.461** |        | 0.277* | 0.360** |       |

### 3 讨论

本研究的土壤因子中有机质、有效磷和速效钾的变异系数较大, 说明不同采样点的土壤肥力差异很大。这与当地咖啡的耕种条件、施肥习惯和重视程度息息相关。咖啡均种植于云南的热区, 该区域以山地为主, 道路迂回曲折、地势相对陡峭, 欠缺水肥的供应, 加之劳动力不断向城市转移, 咖啡种植成本日益攀升等因素有关。

pH 抑制作物养分的积累、土壤的有机质含量、全氮含量的提高有利于植物养分含量的积累<sup>[13]</sup>。本研究中, 排除不同地区的小气候环境差异, 考虑土壤因子间的相互作用, 只通过简单的相关分析不能反映出土壤因子与咖啡品质和产量间的真实联系。影响咖啡因的土壤因子, 因分析方法不同, 影响的因子也不一, 最终结果指出海拔和土壤速效钾均与咖啡因含量呈显著负相关关系, 但仅海拔与咖啡因呈显著回归关系, 其他土壤因子随着方法而变化, 说明对咖啡因的影响作用不显著, 可能与采样点分布零散, 数据采集范围变异大息息相关, 需进行针对性的试验研究。与张绍龙等<sup>[14]</sup>对云南小粒咖啡中咖啡因含量的研究指出咖啡因的含量随着海拔的升高而增高的结果相反, 该文采集海拔 800-2100m 的保山、临沧和普洱三个地区的咖啡豆样 28 份, 与本文的采集地区范围和样本数量相差近一倍, 可能对结果的显著性有重要影响。

土壤有机质(正相关)、碱解氮(负相关)和速效钾(负相关)均是影响总糖含量的主要因子, 但仅有机质与总糖含量形成回归方程, 增加土壤有机质含量能提高葡萄的总糖含量(6.29%)<sup>[15]</sup>, 碱解氮抑制枸杞多糖和总糖的积累<sup>[16]</sup>, 结果一致。

土壤 pH(负相关)和有机质(正相关)均是影响蛋白质的重要因子, 且形成二元回归方程, 牡丹中的可溶性蛋白含量随着土壤酸度的增加而增加<sup>[17]</sup>, 增加有机肥利于魔芋蛋白质的增加<sup>[18]</sup>。

土壤速效磷含量是影响咖啡粗灰分含量的关键因子, 二者呈显著回归关系, 采样数据量和分布范围有限, 导致其途径关系不显著, 本研究中碱解氮含量与灰分关系不显著, 与张建军等<sup>[19]</sup>的表现不一致, 可能与不同作物不同采样点的生态环境不一致、样品代表性等因素息息相关。

海拔(负相关)是影响水浸出物的主要因子, 二者呈显著二元回归关系。田甜等<sup>[20]</sup>指出土壤速效磷和茶叶

中的水浸出物呈显著正相关；宋九华等<sup>[21]</sup>也表明土壤速效 P 促进醇溶性浸出物含量的形成，但本研究中仅在改进的灰色关联分析中二者有显著关系，通径分析和回归分析皆不显著，可能与采样数量及代表性有关，为探求更深入的相关关系分析，可增加采样数量及扩大样点分布范围，以期达到最真实和客观的分析结果。

土壤碱解氮、海拔和 pH 是影响脂肪合成的主要因子，但仅碱解氮与脂肪含量呈二元回归关系，与氮极显著影响玉米脂肪含量<sup>[19]</sup>的结果一致，但与羊草的脂肪含量与土壤 K<sup>+</sup>含量呈正相关不一致<sup>[22]</sup>，估计与咖啡属于小乔木收获咖啡豆、草属于草本收获叶片，不同的采收部位，对营养的需求不同有关。

咖啡生豆品质与土壤养分指标有着显著的典型相关关系(P<0.05)。其影响咖啡风味的咖啡因和总糖含量随着土壤速效钾的升高呈降低趋势；而影响咖啡醇厚度的脂肪含量则随着碱解氮的升高而降低<sup>[23]</sup>，与本研究成果较为一致。

土壤有机质和速效钾含量是构成作物产量的土壤因素<sup>[24-25]</sup>，配施有机肥的水稻产量增产 25.6%<sup>[26]</sup>，与本文相一致，本研究指出土壤 pH(正相关)亦是影响咖啡产量的主要因素，但仅速效钾和有机质与产量呈显著回归关系，水稻产量随土壤 pH 的降低而降低<sup>[4]</sup>，但咖啡的酸碱度并非无上下限，过碱性(pH>6.5)、过酸性(pH<5.5)的土壤皆不利于咖啡生长和产量的形成。

很多咖啡研究者指出：咖啡豆的品质和产量受环境和基因的互作影响，高海拔地区的咖啡品质优<sup>[27-28]</sup>，海拔亦是影响作物产量的主要因素<sup>[29-30]</sup>，Hsu P 等<sup>[31]</sup>指出植株形态特征和生理代谢等与作物的产量密切相关，咖啡的农艺性状(咖啡植株的干物质含量、叶鲜重、茎粗及茎鲜重等<sup>[32]</sup>)可能决定着咖啡产量，有待进一步研究与分析。

#### 4 结论

小粒咖啡的 6 个土壤因子、产量和 6 个品质性状变异较大，变异系数 4.06%-96.54%。通过进行相关性分析、改进的灰色关联分析、通径分析和多元回归分析，层层深入，明确咖啡品质和产量的主要土壤决定因子：咖啡因和水浸出物——海拔，总糖——有机质和速效磷，蛋白质——土壤 pH 和有机质，粗灰分——速效磷，脂肪——碱解氮，产量——速效钾和有机质。同时明确了土壤因子对小粒咖啡品质和产量的直接和间接作用大小，并将各指标量化得出：高海拔为小粒咖啡低咖啡因含量的首选因子，低有机质和高钾土壤为咖啡低糖含量的决定因子，高有机质和碱性土壤为咖啡高蛋白含量的选择要素，高磷土壤为咖啡高灰分含量的首选目标，低海拔为增加咖啡水浸出物的首要因素，高碱解氮含量为咖啡低脂肪含量的重要因子，高钾和丰富有机质的土壤为咖啡高产的首选指标。

#### 参考文献

- [1]鄂丽丽,胡伟,谷思玉,等.黑土农田极端侵蚀对土壤质量及作物产量的影响[J].水土保持学报,2018,32(02):142-149+172.
- [2]丁红文,李奇颖,傅显钦,等.不同海拔高度对金铁锁种子产量的影响研究[J].云南农业科技,2018(01):19-20.
- [3]刘帮艳,李金玲,曹国璠,等.高海拔环境对太子参生长、产量及品质的影响[J].中药材,2017,40(12):2753-2758.
- [4]易镇邪,袁珍贵,陈平平,等.土壤 pH 值与镉含量对水稻产量和不同器官镉累积的影响[J].核农学报,2019,33(05):988-998.
- [5]王梦姣,杨国鹏.根际土壤元素与水稻产量及产量构成因素的相关性[J].西南农业学报,2018,31(11):2326-2334.
- [6]孙勇,曲京博,初晓冬,等.不同施肥处理对黑土土壤肥力和作物产量的影响[J].江苏农业科学,2018,46(14):45-50.
- [7]王炎,李振宙,黄小燕,等.不同钾肥处理对苦荞根系及产量的影响[J/OL].分子植物育种:1-8[2019-03-11].<http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20190228.1037.007.html>.
- [8]孙燕,董云萍,林兴军,等.不同施氮条件下咖啡果干物质积累、产量及氮肥利用率[J].热带作物学报,2018,39(10):1901-1905.
- [9]高祥照,马常宝,杜森.测土配方施肥技术[M].北京:中国农业出版社,2005:1-7,14-20.
- [10]鲍士旦.土壤农化分析[M].第 3 版.北京:中国农业出版社,2000:30-107.
- [11]周会军,肖英杰,张浩,等.基于改进灰色关联分析法的码头设计方案优选[J].上海海事大学学报,2011,32(03):11-15.
- [12]唐启义.DPS 数据处理系统-实验设计、统计分析及数据挖掘(第 2 版).北京:科学出版社,2010.
- [13]那守海,孙国荣,阎秀峰,等.松嫩草地 6 种牧草地上部分养分含量与土壤因子的关系[J].黑龙江畜牧兽医,1996(03):1-4.
- [14]张绍龙,邱碧丽,刘超,等.云南小粒咖啡中咖啡因含量比较分析[J].云南化工,2018,45(07):79-81.
- [15]熊荟菁,张乃明,赵学通,等.秸秆生物炭对葡萄园土壤改良效应及葡萄品质的影响[J].土壤通报,2018,49(04):936-941.
- [16]许兴,郑国琦,杨娟,等.宁夏不同地域枸杞多糖和总糖含量与土壤环境因子关系的研究[J].西北植物学报,2005(07):1340-1344.
- [17]王莉莉.土壤 pH 值对牡丹生长及生理特性影响的研究[D].吉林农业大学,2015.
- [18]吴淳苾.配方施肥对绵阳三台县魔芋生长品质影响研究[D].四川农业大学,2017.
- [19]张建军,樊廷录,党翼,等.覆膜时期与施氮量对旱地玉米土壤耗水特征及产量的影响[J].水土保持学报,2018,32(06):72-78.
- [20]田甜,韦锦坚,赵德恩,等.氮磷钾配施对茶叶品质的影响[J].热带农业科学,2018,38(04):36-45.
- [21]宋九华,孟杰,曾羽,等.粗茎秦艽根茎品质与栽培土壤化学因子的相关性分析[J].植物资源与环境学报,2014,23(04):75-82.
- [22]谢越,石丹,李品红,等.羊草品质与气象因子和土壤因子的相关性研究[J].草地学报,2012,20(04):631-636.

- [23]苏琳琳. 云南咖啡土壤养分评价及其对咖啡生豆品质影响分析[A]. 中国热带作物学会(Chinese Society for Tropical Crops).做强做优热带高效农业 服务热区乡村振兴——2018 年全国热带作物学术年会论文集[C].中国热带作物学会(Chinese Society for Tropical Crops):中国热带作物学会,2018:1.
- [24]李艳,陈义,唐旭,等.长期不同施肥模式下南方水稻土有机碳的平衡特征[J].浙江农业学报,2018,30(12):2094-2101.
- [25]于丰鑫,石玉,赵俊晔,等.土壤肥力对高产小麦品种烟农 1212 旗叶叶绿素荧光特性和产量的影响[J].麦类作物学报,2018,38(10):1222-1228.
- [26]柳开楼,黄晶,张会民,等.基于红壤稻田肥力与相对产量关系的水稻生产力评估[J].植物营养与肥料学报,2018,24(06):1425-1434.
- [27]李学俊,黎丹妮,崔文锐.小粒种咖啡品质的影响因素及咖啡质量控制技术[J].中国热带农业,2016, (03):16-18.
- [28]Cheng Bing, Agnelo Furtado,Heather E.Smyth,et al.Influence of genotype and environment on coffee quality [J].Trends in Food Science & Technology, 2016, 57:20-30.
- [29]王梦姣,杨国鹏.根际土壤元素与水稻产量及产量构成因素的相关性[J].西南农业学报,2018,31(11):2326-2334.
- [30]Guo M,Rupe M A,Yang X F,etal.Genome-wide transcript analysis of maize hybrids:allelic additive gene expression and yield heterosis.Theoretical and Applied Genetics,2006,113(5):831-845.
- [31]Hsu P,Walton P D.Relationships between yield and its components and structures above the flag leaf node in spring wheat.Crop Science,1970,11(2):190-193.
- [32]李秀,徐坤,巩彪,等.生姜农艺性状与产量形成关系的多重分析[J].中国农业科学,2012,45(12):2431-2437.

# 精制竹荑素抑菌增效作用的研究

谷 瑶<sup>1,2</sup>, 马锦林<sup>1</sup>, 李桂珍<sup>1</sup>, 李月娟<sup>1</sup>, 温如斯<sup>1</sup>, 杨漓<sup>1,\*</sup>,

1.广西壮族自治区林业科学研究院 广西特色经济林培育与利用重点实验室, 南宁 530002;2.北京林业大学 经济管理学院, 北京 100083

**摘要** 采用精制竹荑素以及黄连、厚朴、连翘等浸提液分别对大肠杆菌、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、白色念珠菌进行抑菌实验, 结果表明: 精制竹荑素以及黄连、厚朴等浸提液对四种菌都具有一定的抑制作用, 但精制竹荑素分别与黄连浸提液、厚朴浸提液辅配后能够产生明显的增效作用, 其中黄连浸提液与精制竹荑素 1:5 配比抑菌效果最佳, 并且对人体具有良好的生物相容性。

**关键词** 竹荑素; 增效作用; 抑菌

## Bacteriostatic and Synergistic Action of Refined Bamboo Vinegar and Chinese Herbal Medicine

Yao GU<sup>1,2</sup>, Jinlin MA<sup>1</sup>, Li LIU<sup>3</sup>, Yuejuan LI<sup>1</sup>, Ru-si WEN<sup>1</sup>, Li YANG<sup>1,\*</sup>

1.Guangxi Key Laboratory of Special Non-wood Forest Cultivation and Utilization, Guangxi Forestry Research Institute, Nanning 530002, China; 2.School of Economics and Management, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China

**Abstract** Crude bamboo vinegar (CBV) contains phenols, bio-tar and acetic acid, which negatively affect food flavor and medicinal function. Treating CBV with CaCO<sub>3</sub> and granular activated carbon produces refined bamboo vinegar (RBV) with reduced acid, ketones, aldehydes, phenols and soluble tar. Here, it was shown that RBV supplemented with the herbal medicine extracts *Coptidis Rhizoma*, *Cortex Magnoliae Officinalis* had antimicrobial and antifungal properties against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*, especially *Staphylococcus aureus*. Distinct synergistic effects were observed upon mixing RBV with *Coptidis Rhizoma* or *Cortex Magnoliae Officinalis*. The synergistic effects of *Coptidis Rhizoma* and RBV were superior to those of *Cortex Magnoliae Officinalis* and RBV. The inhibitory effects on the four microorganisms were highest with a 1:5 ratio of *Coptidis Rhizoma* and RBV, which was essentially nontoxic and showed good biocompatibility. There were no irritating reactions observed in the repeated dermal irritation test in rabbits, no allergic reactions in guinea pigs and a very low irritating effect in the vaginal mucosa of rabbits. The mixture of RBV and *Coptidis Rhizoma* is promising for use in the medical antibacterial and antifungal products, which thus emerged as a promising mixture for use in food preservation and medical antibacterial and antifungal products.

**Keywords** bamboo vinegar; synergistic effect; antibacterial

竹醋液具有较强的熏香感和醋酸味, 有使鱼肉脱臭, 保鲜, 防止油脂、维生素 A 被氧化以及防腐、杀菌的作用。但是, 竹醋液含有大量的酚类物质, 特有的竹焦油和醋酸, 影响了食品的风味, 对食品安全也带来一定影响。本实验旨在为竹醋液更好的应用于食品加工领域、减少化学杀菌剂的使用量以及为研制低毒杀菌制剂提供理论依据。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料和试剂

竹醋液原液、精制竹荑素 桂林绿竹有限公司; 厚朴、黄连、苦参、蛇床子、菖蒲及独活 南宁万药堂药业有限公司; 中和剂选择为含 0.5%卵磷脂+0.5%组氨酸+1.0%吐温-80 的 PBS 溶液 上海酶联生物科技有限公司; 大肠杆菌 (*E.coli*)、金黄色葡萄球菌 (*S.aureus*)、白色念珠菌 (*C.albicans*)、铜绿假单胞菌 (*P.aeruginosa*), 第 7~9 代, 中国科学院微生物菌种保藏中心; 小白鼠、白色家兔 广西医科大学实验动物中心; 白色豚鼠 昆明医科大学实验动物中心; 其他材料及试剂 南宁市蓝天试验器材有限公司。

#### 1.2 仪器和设备

HH-B11-600-S-II 型电热恒温培养箱 上海龙跃仪器设备有限公司; LRH-250A 型生化培养箱 韶关市泰宏医疗器械有限公司; JY10001 型电子天平 上海双旭电子有限公司; HNW-S-6 型电热恒温水箱 上海汗诺仪器有限公司。

#### 1.3 实验方法

##### 1.3.1 中药的提取

厚朴、黄连、苦参、蛇床子、菖蒲及独活经烘干(60℃,8h)、粉碎后, 分别称取 50g 溶于 200mL 纯化水中, 煮沸浸提 1 小时后, 过滤, 收集滤液, 抽真空状态下旋转蒸发并浓缩到 50g。

##### 1.3.2 菌悬液的制备

**作者简介** 谷瑶 (1988—), 女, 湖南湘潭人, 在读博士生, 工程师, 从事林化产品研发、林业经济管理研究, E-mail: guyaol65@163.com.

**通讯作者** 杨漓 (1973—), 男, 广西南宁人, 高级工程师, 从事林化产品研究工作, E-mail: yangli2828@yeah.net

细菌在细菌培养基斜面上 37℃活化 24h，白色念珠菌在沙氏培养基斜面上 30℃活化 48h，备用。将活化后的菌种用生理盐水配置成 105~110 个/mL(血球计数法)的菌悬液，备用。

### 1.3.3 抑菌作用的测定

取样品于超净工作台用无菌水配成体积分数不同的稀释液。取 50μL 菌悬液(细菌浓度为 1×10<sup>6</sup> 个/mL，真菌为 1×10<sup>5</sup> 个/mL)铺板，将滤纸片放至平板中央，加 30μL 样品，以水作对照。适温培养(细菌 37℃培养，白色念珠菌 28℃培养)，待对照长满后，测量抑菌圈直径。

### 1.3.4 杀菌作用的测定

每支试管加入 2.5mL 配置好的样品(培养基混合物)，然后再加入 0.5mL 菌悬液(细菌 1×10<sup>7</sup> 个/mL，白色念珠菌 1×10<sup>7</sup> 个/mL)，充分震荡后，摇床培养。培养条件为：细菌为 37℃、150 r/min，白色念珠菌为 28℃、150 r/min，均培养 24 h。然后，取 50μL 菌液涂板，待对照长满板后，观察结果。

### 1.3.5 生物形容性的测定

根据 GB15979-2002、《消毒技术规范》Technical standard for disinfection (2002 年版) 2.3.1 急性经口毒性试验、2.3.3 皮肤刺激试验、2.3.5 阴道粘膜刺激试验、2.3.6 皮肤变态反应试验。

### 1.3.6 精制竹荩素与中药提取物复配作用评价

将厚朴、黄连提取物与精制竹荩素按 2:1、1.5:1、1:1、1:1.5、1:2 进行配比，制备精制竹荩素与中药提取物不同配比的复配制剂，根据 1.3.4 进行杀菌作用测定。

#### 1.3.6.1 增效作用计算方法

(1) 以所混化学药剂为标准药剂，则：

$$TI_A = \frac{EC_{50(A)}}{EC_{50(I)}} \times 100$$

A 的相对毒力指数

所用标准药剂的相对毒力指数  $TI_I = 100$

组合物 M 的理论毒力指数  $TTI = TI_A \times P_A + TI_B \times P_B$

$$ATI = \frac{EC_{50(I)}}{EC_{50(M)}} \times 100$$

组合物 M 的实际毒力指数

组合物 M 的共毒系数

$$CTC = \frac{ATI}{TTI} \times 100$$

(2) 增效作用的评判标准

一般认为共毒系数 CTC > 120 具增效作用；CTC = 80~120 为相加作用；CTC < 80 为拮抗作用。共毒系数采用孙云沛方法计算， $CTC = (ATI/TTI) \times 100$ 。CTC > 120 为增效作用；CTC = 80~120 为相加作用；CTC < 80 为拮抗作用<sup>[6-8]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 两种竹醋液的理化性质

两种竹醋液的理化性质如表 1，竹醋液原液精制后能够去除大部分的竹焦油，精制后竹荩素的折光率降低了 5.9%，说明精制后去除了大量的大分子物质及杂质，以便更好的应用于食品加工领域。

表 1 两种竹醋液理化性质对照

Table.1 Comparison of the physical and chemical properties of two bamboo vinegars

| 样品        | 颜色        | 密度<br>(g/cm <sup>3</sup> ) | pH 值 | 总酸<br>(%) | 酮类总<br>量 (%) | 醛类总量<br>(%) | 酚类总<br>量 (%) | 折光率<br>(%) | 溶解焦<br>油 (%) |
|-----------|-----------|----------------------------|------|-----------|--------------|-------------|--------------|------------|--------------|
| 竹醋液<br>原液 | 棕色、<br>澄清 | 1.026                      | 2.2  | 7.76      | 2.15         | 2.13        | 21.74        | 12.1       | 2.76         |
| 精制竹<br>荩素 | 浅黄、<br>透明 | 1.012                      | 2.4  | 4.23      | 1.83         | 1.87        | 15.66        | 6.2        | 0.012        |

### 2.2 两种竹醋液的抑菌及杀菌作用

表 2. 两种竹醋液的抑菌效果比较

Tab.2 Comparison of antimicrobial effect of two bamboo vinegars

| 受试菌                | 抑菌圈直径/mm |       |       |
|--------------------|----------|-------|-------|
|                    | 对照       | 竹醋液原液 | 精制竹荩素 |
| <i>E.coli</i>      | 0.0      | 25.3  | 20.5  |
| <i>Paeruginosa</i> | 0.0      | 20.3  | 18.4  |
| <i>S.aureus</i>    | 0.0      | 25.1  | 20.7  |
| <i>C.albicans</i>  | 0.0      | 19.3  | 16.4  |

竹醋液原液和精制竹荩素抑菌效果见表 2。由表 2 可知，竹醋液原液对四种菌的抑制效果皆优于精制竹荩素，并且两种竹醋液对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑制效果较为接近，这与常雅宁等<sup>[9]</sup>通过竹醋液对食品污染菌的抗菌作用的研究结果相吻合。

表3 两种竹醋液对供试菌的致死浓度

Tab3 Lethal concentration of two bamboo vinegars against various microorganisms

| 样品体积<br>分数/% | 竹醋原液          |                    |                 |                   | 精制竹莹素         |                    |                 |                   |
|--------------|---------------|--------------------|-----------------|-------------------|---------------|--------------------|-----------------|-------------------|
|              | <i>E.coli</i> | <i>Paeruginosa</i> | <i>S.aureus</i> | <i>C.albicans</i> | <i>E.coli</i> | <i>Paeruginosa</i> | <i>S.aureus</i> | <i>C.albicans</i> |
| 50           | -             | -                  | -               | -                 | -             | -                  | -               | -                 |
| 25           | -             | -                  | -               | -                 | -             | -                  | -               | -                 |
| 10           | -             | -                  | -               | -                 | -             | -                  | -               | +                 |
| 5            | -             | -                  | -               | -                 | -             | +                  | -               | +                 |
| 1            | +             | +                  | +               | +                 | +             | +                  | +               | +                 |

注: 铺板结果, +表示生长, -表示未生长。

表2 比较了竹醋液原液和精制竹莹素对4种指示菌的致死浓度。由表3可知,浓度为25%及以上的竹醋液原液和精制竹莹素可完全抑制4种受试菌的生长。此外,两种竹醋液对*E.coli*及*S.aureus*的最低杀菌浓度均为5%,杀菌效果较为接近。而精制竹莹素对*Paeruginosa*的杀菌效果优于*C.albicans*,但对二者的最低杀菌浓度皆高于竹醋液原液。

### 2.3 中药提取物的抑菌作用

表4 中药提取物的抑菌作用

Table.4 Antimicrobial activities of extracts of Chinese herbal medicines

| 药物名称 | A 大肠杆菌<br><i>Escherichia coil</i> |        |         | B 白色念珠菌 (ATCC10231) |        |         |
|------|-----------------------------------|--------|---------|---------------------|--------|---------|
|      | A1: 1                             | A1: 10 | A1: 100 | B1: 1               | B1: 10 | B1: 100 |
|      | 厚朴                                | +++    | ++      | +                   | ++     | ++      |
| 黄连   | +++                               | ++     | +       | +++                 | ++     | ++      |
| 苦参   | ++                                | +      | +       | ++                  | ++     | +       |
| 蛇床子  | ++                                | +      | +       | ++                  | ++     | +       |
| 菖蒲   | ++                                | ++     | -       | ++                  | +      | +       |
| 独活   | ++                                | +      | +       | ++                  | ++     | -       |

不同药物在不同浓度下的抑菌效果见表4,参照北京药品检验所提供的常规抗生素药敏抑菌圈标准,抑菌圈在21mm以上,为抑菌能力强,以“+++”表示;在16~21mm为抑菌能力较强,以“++”表示;15mm以下为抑菌能力弱,以“+”表示;无抑菌圈出现为无抑菌作用,用“-”表示。中药药液的平均药物质量浓度为7.5 mg·mL<sup>-1</sup>。由表3可知,厚朴及黄连对大肠杆菌的抑菌效果皆优于其他中药,同时,黄连对于白色念珠菌的抑制效果最佳。

### 2.4 混合剂的抑菌及增效作用

选择厚朴和黄连、苦参、蛇床子、菖蒲、独活浸提物与精制竹莹素按照1:1重量比辅配,厚朴和黄连、苦参、蛇床子与精制竹莹素具有增效作用,其中厚朴和黄连与精制竹莹素具有明显增效作用,菖蒲、独活与精制竹莹素没有增效作用。

以精制竹莹素(A)与厚朴(B)、黄连(C)、浸提液的不同配比,对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞杆菌、白色念珠菌的抑菌效果见表5。从表5中可知,同一配比比例,黄连与精制竹莹素混剂的增效作用皆强于厚朴与精制竹莹素混剂,并且C:A=1.5~2:1时效果最佳。

表5 不同混合制剂对四种菌的抑制作用

Table.5 Inhibitory effect of different mixed preparation on four kinds of bacteria

| 药剂比例          | EC <sub>50</sub> mg/L<br>大肠杆菌 | EC <sub>50</sub> mg/L<br>金黄色葡萄<br>球菌 | EC <sub>50</sub> mg/L<br>铜绿假单胞<br>杆菌 | EC <sub>50</sub> mg/L<br>白色念珠菌 | CTC(大肠<br>杆菌) | CTC(金<br>黄色葡<br>萄球菌) | CTC(铜<br>绿假单<br>胞杆菌) | CTC(白<br>色念珠<br>菌) |
|---------------|-------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------|---------------|----------------------|----------------------|--------------------|
| A             | 140                           | 142                                  | 130                                  | 145                            |               |                      |                      |                    |
| B             | 80                            | 70                                   | 100                                  | 75                             |               |                      |                      |                    |
| B:A=2: 1      | 82                            | 72                                   | 105                                  | 77                             | 159.8339      | 180.3587             | 120.5225             | 173.5839           |
| B:A=1.5:<br>1 | 86                            | 76                                   | 108                                  | 79                             | 157.1772      | 178.1185             | 118.675              | 175.7342           |
| B:A=1: 1      | 89                            | 79                                   | 110                                  | 84                             | 153.5875      | 173.9748             | 117.0491             | 167.574            |
| B:A=1:<br>1.5 | 92                            | 82                                   | 115                                  | 86                             | 149.4402      | 168.933              | 112.2223             | 164.8521           |
| B:A=1: 2      | 95                            | 86                                   | 119                                  | 90                             | 145.2326      | 161.8523             | 108.6048             | 158.2158           |
| C             | 75                            | 65                                   | 80                                   | 70                             |               |                      |                      |                    |
| C:A=2: 1      | 77                            | 68                                   | 82                                   | 72                             | 168.5389      | 188.5215             | 150.0131             | 183.5146           |
| C:A=1.5:<br>1 | 79                            | 71                                   | 86                                   | 76                             | 170.1912      | 189.3205             | 146.7939             | 181.5281           |
| C:A=1: 1      | 81                            | 73                                   | 91                                   | 79                             | 168.1387      | 187.3609             | 140.0339             | 177.4127           |
| C:A=1:        | 83                            | 75                                   | 94                                   | 83                             | 165.1829      | 184.0166             | 136.2213             | 170.2499           |

|          |    |    |    |    |          |          |          |          |  |
|----------|----|----|----|----|----------|----------|----------|----------|--|
| 1.5      |    |    |    |    |          |          |          |          |  |
| C:A=1: 2 | 86 | 79 | 98 | 85 | 160.0704 | 175.6665 | 131.0471 | 167.0783 |  |

## 2.5 混合剂的生物相容性

### 2.5.1 急性经口毒性试验

给受试物后，受试动物均未见明显中毒症状，无动物死亡，见表 6。

表 6 受试物对小鼠急性经口毒性试验结果

Table.6 The results of mouse acute oral toxicity test of test substance

| 性<br>别 | 剂量组<br>(mg/kg<br>BW) | 动物数<br>(只) | 体重 (g) ( $\bar{x} \pm S$ ) |          |          | 死亡动物数<br>(只) | 死亡率<br>(%) |
|--------|----------------------|------------|----------------------------|----------|----------|--------------|------------|
|        |                      |            | 试验前                        | 7d       | 14d      |              |            |
| 雄      | 5000                 | 10         | 19.8±1.0                   | 26.3±0.8 | 31.9±1.0 | 0            | 0          |
| 雌      | 5000                 | 10         | 19.6±1.2                   | 25.1±1.3 | 29.8±1.8 | 0            | 0          |

LD<sub>50</sub>: 雌、雄性小鼠>5000mg/kg BW

混合制剂对小鼠的急性经口 LD<sub>50</sub> 大于 5000mg/kg BW，根据消毒剂的急性评价规定，混合剂的急性经口毒性属实际无毒级。

### 2.5.2 皮肤刺激试验

表 7 受试物对家兔多次皮肤刺激性试验结果

Table.7 The results of rabbit skin irritation test many times

| 涂 抹 天<br>数   | 动物数(只) | 刺激反应积分 |        |        |        |        |        |
|--------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
|              |        | 样品     |        |        | 对照     |        |        |
|              |        | 红<br>斑 | 水<br>肿 | 总<br>分 | 红<br>斑 | 水<br>肿 | 总<br>分 |
| 1            | 3      | 0      | 0      | 0      | 0      | 0      | 0      |
| 2            | 3      | 0      | 0      | 0      | 0      | 0      | 0      |
| 3            | 3      | 0      | 0      | 0      | 0      | 0      | 0      |
| 4            | 3      | 0      | 0      | 0      | 0      | 0      | 0      |
| 5            | 3      | 0      | 0      | 0      | 0      | 0      | 0      |
| 6            | 3      | 0      | 0      | 0      | 0      | 0      | 0      |
| 7            | 3      | 0      | 0      | 0      | 0      | 0      | 0      |
| 8            | 3      | 0      | 0      | 0      | 0      | 0      | 0      |
| 9            | 3      | 0      | 0      | 0      | 0      | 0      | 0      |
| 10           | 3      | 0      | 0      | 0      | 0      | 0      | 0      |
| 11           | 3      | 0      | 0      | 0      | 0      | 0      | 0      |
| 12           | 3      | 0      | 0      | 0      | 0      | 0      | 0      |
| 13           | 3      | 0      | 0      | 0      | 0      | 0      | 0      |
| 14           | 3      | 0      | 0      | 0      | 0      | 0      | 0      |
| 14 天每只动物积分均值 |        |        |        | 0      |        | 0      |        |
| 每天每只动物积分均值   |        |        |        | 0      |        | 0      |        |

试验结果表明，混合制剂对家兔多次皮肤刺激性试验结果为无刺激性。

### 2.5.3 阴道粘膜刺激试验

实验结果：肉眼观察染毒组和对照组各有 2 只家兔阴道黏膜可见轻微充血，染毒组有 2 只家兔阴道黏膜分别可见轻度和明显的水肿，对照组未见水肿。病理检查结果见下表。阴道黏膜刺激指数为 0.33。

表 8 受试物对家兔阴道黏膜刺激性试验病例检查结果

Table.8 The results of rabbit vaginal mucosa irritation test

| 组<br>别      | 动物<br>编号 | 阴道<br>部位 | 阴道组织反应评分     |               |              |            | 评分<br>合计 | 评分<br>均值 | 刺激<br>指数 |
|-------------|----------|----------|--------------|---------------|--------------|------------|----------|----------|----------|
|             |          |          | 上皮组织<br>反应评分 | 白细胞浸润<br>反应评分 | 血管充血<br>反应评分 | 水肿<br>反应评分 |          |          |          |
| 染<br>毒<br>组 | 1        | 前段       | 1            | 1             | 2            | 0          | 4        | 7.33     |          |
|             |          | 中段       | 1            | 3             | 3            | 0          | 7        |          |          |
|             |          | 后段       | 2            | 2             | 2            | 1          | 7        |          |          |
|             | 2        | 前段       | 1            | 1             | 0            | 1          | 3        |          |          |
|             |          | 中段       | 1            | 1             | 2            | 1          | 5        |          |          |
|             |          | 后段       | 2            | 2             | 1            | 2          | 7        |          |          |
|             | 3        | 前段       | 1            | 3             | 3            | 3          | 10       |          |          |
|             |          | 中段       | 3            | 3             | 3            | 4          | 13       |          |          |
|             |          | 后段       | 2            | 2             | 3            | 3          | 10       |          |          |
| 对<br>照<br>组 | 1        | 前段       | 1            | 4             | 0            | 0          | 5        | 2.0      |          |
|             |          | 中段       | 1            | 3             | 1            | 0          | 5        |          |          |
|             | 2        | 后段       | 1            | 3             | 2            | 0          | 6        |          |          |
|             |          | 前段       | 1            | 3             | 2            | 0          | 6        |          |          |
|             | 2        | 中段       | 1            | 3             | 3            | 0          | 7        |          |          |

|   |    |   |   |   |   |   |      |
|---|----|---|---|---|---|---|------|
|   | 后段 | 1 | 2 | 2 | 1 | 6 |      |
|   | 前段 | 1 | 1 | 1 | 0 | 3 |      |
| 3 | 中段 | 1 | 1 | 3 | 0 | 5 | 5.33 |
|   | 后段 | 2 | 1 | 2 | 0 | 5 |      |

#### 2.5.4 皮肤变态反应试验

表9 受试物对豚鼠的皮肤变态反应试验结果  
Table.9 The results of guinea pig skin allergy test

| 组别     | 动物数<br>(只) | 出现红斑动物数<br>(只) | 出现水肿动物数<br>(只) | 出现皮肤反应动物数<br>(只) | 致敏率 (%) |
|--------|------------|----------------|----------------|------------------|---------|
| 试验组    | 16         | 0              | 0              | 0                | 0       |
| 阴性对照组  | 16         | 16             | 0              | 0                | 0       |
| 阳性对照组* | 20         | 20             | 14             | 12               | 70.0    |

注：\*阳性对照组使用的阳性物为2,4-二硝基氯苯（致敏和激发浓度分别为10mg/mL、8mg/mL）。

试验组豚鼠在激发接触混合剂后 24h、48h 均未见受试皮肤出现红斑及水肿等刺激反应，皮肤致敏率为0%；阴性对照组豚鼠受试皮肤未见异常，见上表。结论：混合剂对豚鼠皮肤变态反应试验结果为未见皮肤变态反应。

### 3 结论

竹醋液原液精制后抑菌及杀菌效果皆减弱；厚朴、黄莲提取物对大肠杆菌及白色念珠菌的抑菌效果优于连翘、牡丹皮、菖蒲及独活提取物；厚朴和黄莲、苦参、蛇床子与精制竹荑素具有增效作用，菖蒲、独活与精制竹荑素没有增效作用；黄莲与精制竹荑素混合制剂对四种菌的抑制效果最佳，并且此混合制剂属于实际无毒级，对家兔多次皮肤进行刺激都表现为无刺激性，以及对豚鼠皮肤无致变态反应作用，但对家兔阴道黏膜有极轻刺激性，体现良好的生物相容性。

#### 参考文献

- [1]张文标, 叶良明, 刘力, 等. 竹醋液的组分分析[J]. 竹子研究汇刊, 2001, 20(4): 72-77.
- [2]陈顺伟, 庄晓伟, 柏明娥, 等. 不同工艺生产的竹醋液组分及其含量差异分析[J]. 林产化学与工业, 2008, 28(1): 95-97.
- [3]马承荣, 肖波, 杨家宽. 生物质热解影响因素分析[J]. 环境技术, 2005(5): 10-12.
- [4]袁振宏, 吴创之, 马隆龙, 等. 生物质能利用原理与技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 289-293.
- [5]柏明娥, 陈顺伟, 庄晓伟. 不同精制工艺对竹醋液理化性质的影响[J]. 林产化工通讯, 2005, 39(2): 25-27.
- [6]曹有为, 王述洋. 国内生物质热解技术的研究进展探究[J]. 林业劳动安全, 2005, 18(2): 24-26.
- [7]蒋恩臣, 何光设. 生物质热分解技术比较研究[J]. 可再生能源, 2006(4): 58-62.
- [8]陈炜, 罗永浩, 陆方, 等. 稻秆慢速热解的需热量及动力学分析[J]. 化学工程, 2008, 36(1): 44-46.
- [9]常雅宁, 俞建瑛, 倪炜, 等. 竹醋液对食品污染菌的抗菌作用的研究[J]. 林产化学与工业, 2005, 25(1): 83-85.



# 番茄果实发育过程中芳香物质的构成与变化

程国亭, 梁燕\*

西北农林科技大学园艺学院, 陕西杨凌, 712100

**摘要** 为了探究绿色和红色番茄果实发育过程中芳香物质变化规律及其差异, 用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用技术对4个时期芳香物质检测分析。结果显示: 绿果番茄芳香物质总组分数绿熟期、转色期和完熟期比红果多28、28和15种, 红果成熟期比绿果多7种。果实发育过程中, 绿果烃类、酚类、酯类、醇类、醛类和酮类总组分数比红果多12、11、3、2、1和1种, 红果其他类和酸类总组分数比绿果多7和3种。红果完熟期未检测到酚类。红果绿熟到完熟总芳香物质质量浓度依次比绿果高359.59  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、2099.64  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、4579.16  $\mu\text{g}/\text{kg}$  和 6055.95  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。红果成熟期醇类、醛类和酮类质量浓度比绿果高1803.01  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、1592.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  和 1013.87  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 相对质量浓度比绿果高12.7%、8.72%和13.63%。绿果酯类、酸类和酚类相对质量浓度比红果高19.68%、7.66%和8.03%。2种颜色番茄不同发育时期芳香物质差异明显。

**关键词** 番茄; 成熟度; 芳香物质; 气相色谱-质谱联用

## The Composition and Change of Aromatic Substances in the Fruit Development of Tomato

**Abstract** In order to explore the volatiles change law of two colors tomato in the development process, aromatic substances were identified and analyzed by headspace solid phase microextraction (SPME)-gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) technology. The results indicated that the aromatic substances of green color tomato 28, 28 and 15 more than the red one respectively at green stage, turning stage and full mature stage while the red color tomato were 7 components more than the green one at mature stage. The hydrocarbons, phenols, esters, alcohols, ketones, and aldehydes substances of green color tomato were 12, 11, 3, 2, 1 and 1 components more than the red one respectively in the whole development period. The acids and others substances of green color tomato were 3 and 7 components less than the red one. The phenols substances of red color tomato were not identified at mature stage. The total mass concentration of aromatic substances of the red tomato were 359.59  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 2099.64  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 4579.16  $\mu\text{g}/\text{kg}$  and 6055.95  $\mu\text{g}/\text{kg}$  higher than the green one successively from green stage to full mature stage. At mature stage, the mass concentration of the alcohols, aldehydes and ketones substances of red color tomato were 1803.01  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 1592.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  and 1013.87  $\mu\text{g}/\text{kg}$  higher than the green one while the relative mass concentration of these substances of red color tomato were 12.7%, 8.72% and 13.63% higher than the green one. At the same time, the relative mass concentration of the esters, acids and phenols substances of green color tomato were 19.68%, 7.66% and 8.03% more than the red one. The differences of aromatic substances were obvious between the two color tomato at different ripening stages.

**Keywords** tomato; maturity; aroma; gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)

中图分类号 S641.2

文献标志码 A

芳香物质对果实感官品质有重要贡献<sup>[1]</sup>, 其组成成分<sup>[2]</sup>、质量浓度及相互作用赋予番茄不同品种独特的风味<sup>[3-5]</sup>。由于长期以来对货架期过度关注, 番茄果实风味品质降低<sup>[6-7]</sup>。研究番茄芳香物质形成规律是改良番茄风味的前体和基础<sup>[8]</sup>。以往研究多集中在对单一品种和某个发育阶段芳香物质组分和质量浓度的简单比较<sup>[9-13]</sup>, 缺乏对于不同背景材料以及果实整个发育过程中芳香物质形成和变化规律的系统研究。

通过对本课题组90个番茄材料果实成熟期芳香物质进行分析, 发现绿果番茄 TI4001 风味最淡, 红果番茄 CI1005 香味浓郁<sup>[14]</sup>。本研究将以此绿色和红色番茄材料为研究对象, 对果实发育4个时期芳香物质组分数、质量浓度以及相对质量浓度进行系统比较分析, 以揭示不同颜色番茄果实发育过程中芳香物质变化规律, 可为探究不同颜色番茄果实芳香物质代谢途径和改良番茄芳香品质提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料与试剂

以90个番茄材料中风味最淡的TI4001 (*Solanumlycopersicum*) 和香味浓郁的CI1005 (*Solanumlycopersicum*) 为研究对象, TI4001为绿色普通番茄, CI1005为红色樱桃番茄。2017年1月穴盘育苗, 2017年3月定植于西北农林科技大学园艺学院试验田塑料大棚内, 正常管理。试验材料由西北农林科技大学番茄遗传育种与品质改良研究团队提供。

依据番茄果实颜色和质地, 在果实发育绿熟期(果实不再膨大, 尚未转色)、转色期(果实转色面积达到1/2)、成熟期(果实完全变色, 果肉尚未变软)和完熟期(果肉开始变软)<sup>[15]</sup>, 分别从第3穗选取成熟度一致的果实, TI4001是普通大果, 每个发育时期取5个果实; CI1005是樱桃番茄, 每个发育时期取20个。采摘后立即放入保鲜盒, 运回实验室, 进行芳香物质提取与鉴定分析。

**基金项目** 国家重点研发计划项目(2016YFD0101703)。

**作者简介** 第一作者: 程国亭, 生于1986年, 男, 博士研究生, 主要研究方向为番茄风味品质调控与改良, 邮箱: chengguoting@nwfafu.edu.cn, 电话: 18821639375; \* 通讯作者: 梁燕, 生于1963年, 女, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为蔬菜育种与生物技术, 邮箱: liangyan@nwsuaf.edu.cn。



1. (A) 和 (B) 分别为绿果和红果番茄; 2. 由左至右依次为绿熟期、转色期、成熟期、完熟期番茄果实。  
 1. (A) and (B) are respectively green color tomato and red color tomato. 2. They denote respectively tomato at green stage(S1), turning stage(S2), mature stage(S3) and full mature stage(S4) from left to right.

图 1 2 种果色番茄不同发育时期的果实

Fig.1 The fruits of two color tomato at the different fruit developmental stages

试剂: 3-壬酮 (色谱纯) (日本东京化成工业株式会社), 无水氯化钠 (分析纯)。

## 1.2 仪器与设备

万分之一分析天平、FJ200-SH 数显高速分散匀质机 (上海标本模型厂)、恒温磁力搅拌器 (美国 Troemner 公司)、ISQ 气相色谱/质谱联用仪 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司)、HP-INNOWAX 弹性石英毛细管柱 (60 m×0.25 mm, 0.25 μm)、SPME 手动进样手柄 (美国 Supelco 公司)、75 μm CRA/PDMS 萃取头 (美国 Supelco 公司)。

## 1.3 试验方法

### 1.3.1 SPME 取样

用匀质机将番茄打成匀浆, 每个样品取 5g 番茄匀浆, 加入 3g 无水氯化钠, 同时加入 10 μl 0.04 μg/mL 的 3-壬酮标样于 40 ml 顶空瓶中, 置于 50°C 恒温磁力搅拌器上, 磁力搅拌速度为 300 r/min, 平衡 10 min, 然后顶空固相微萃取吸附 40 min, 立即插入色谱气化室, 解析 2.5 min, 进行 GC-MS 分析 38 min<sup>[7]</sup>。每个样品做 3 次生物学重复, 取平均值。

### 1.3.2 仪器分析

色谱-质谱条件参照 Viljanen<sup>[16]</sup>和吕杰<sup>[17]</sup>等方法, 略作修改。

色谱条件: 进样口温度 230 °C, 载气为纯度≥99.999 % 的氦气, 无分流进样, 柱流速 1.0 mL/min, 2.5 min 后分流阀打开, 分流比 20:1; 程序升温: 初始温度 40°C, 保持 2.5 min, 以 10 °C/min 升至 110 °C, 再以 6 °C/min 升至 230 °C, 保持 10 min。

质谱条件: 离子化方式采用电子轰击 (electron ionization, EI) 离子源, 电子能量 70 eV, 全扫描的扫描方式, 扫描质量范围 35-450 amu, 离子源温度 230 °C, 传输线温度 230 °C。

### 1.3.3 定性及半定量分析

番茄样品经过 GC-MS 分析鉴定后, 各种芳香物质经 Xcalibur 软件处理、采用计算机检索并与图谱库 (NIST2011) 的标准质谱图对照, 参考与质谱图的匹配度以及相关文献<sup>[18]</sup>鉴定果实中的芳香物质, 仅报道正反匹配度均大于 800 的结果<sup>[19]</sup>。根据芳香物质官能团的不同进行分类, 并计算各类芳香物质的质量浓度。果实中芳香物质的定量采用内标法, 即各成分峰面积与内标物峰面积对比进行半定量分析<sup>[20-21]</sup>, 计算公式如下:

$$\text{质量浓度} = \frac{(\text{单峰面积} / \text{内标峰面积}) \times \text{内标物质量浓度}}{\text{样品质量}}$$

### 1.3.4 数据处理

用 Excel 2007、DPS8.0 和 SPSS 17.0 对试验数据进行统计分析, 并做相应的图和表。

## 2 结果与分析

### 2.1 2 种颜色番茄果实不同发育时期芳香物质组分数分析

2 种颜色番茄果实 4 个发育时期检测到的芳香物质组分数如表 1 所示, 绿果番茄整个发育过程中各类芳香物质组分数由多到少依次为烃类>醇类和醛类>酮类和酯类>酚类>酸类>其他类物质。绿果番茄总芳香物质、烃类和酸类物质组分数从绿熟期到完熟期持续减少; 绿熟期最多, 分别为 152 种、44 种和 8 种, 完熟期最少, 依次是 118 种、24 种和 2 种。醇类物质组分数波动变化, 绿熟期最多 36 种, 完熟期最少 29 种。

酮类物质组分数绿熟期最多 15 种, 其他 3 个时期都是 9 种。酯类物质组分数前 3 个发育期都是 11 种, 完熟期 7 种。酚类和其他类物质组分数在果实发育过程中基本稳定。只有醛类物质组分数随着果实发育成熟不断增多, 从绿熟期 24 种增加至完熟期 33 种。

表 1 2 种颜色番茄果实不同发育时期芳香物质组分数

**Table1 The numbers of aromatic substances component of two color tomato at different ripening stage**

| 芳香物质<br>Aromatic substances | 绿果番茄 Green color tomato         |                         |                        |                                | 红果番茄 Red color tomato           |                         |                        |                                |
|-----------------------------|---------------------------------|-------------------------|------------------------|--------------------------------|---------------------------------|-------------------------|------------------------|--------------------------------|
|                             | 绿熟期<br>Mature<br>green<br>stage | 转色期<br>Turning<br>stage | 成熟期<br>Mature<br>stage | 完熟期<br>Full<br>mature<br>stage | 绿熟期<br>Mature<br>green<br>stage | 转色期<br>Turning<br>stage | 成熟期<br>Mature<br>stage | 完熟期<br>Full<br>mature<br>stage |
| 醇类物质 Alcohols               | 36                              | 30                      | 34                     | 29                             | 33                              | 34                      | 37                     | 27                             |
| 醛类物质 Aldehydes              | 24                              | 32                      | 33                     | 33                             | 21                              | 31                      | 39                     | 31                             |
| 烃类物质<br>Hydrocarbons        | 44                              | 41                      | 27                     | 24                             | 35                              | 16                      | 24                     | 20                             |
| 酮类物质 Ketones                | 15                              | 9                       | 9                      | 9                              | 8                               | 9                       | 15                     | 10                             |
| 酯类物质 Esters                 | 11                              | 11                      | 11                     | 7                              | 5                               | 7                       | 9                      | 3                              |
| 酸类物质 Acids                  | 8                               | 6                       | 5                      | 2                              | 10                              | 5                       | 6                      | 1                              |
| 酚类物质 Phenols                | 8                               | 6                       | 8                      | 8                              | 2                               | 2                       | 1                      | —                              |
| 其他类物质 Others                | 6                               | 5                       | 6                      | 6                              | 10                              | 8                       | 9                      | 11                             |
| 合计 Totals                   | 152                             | 140                     | 133                    | 118                            | 124                             | 112                     | 140                    | 103                            |

注: “—”未检测到此类芳香物质。Note: “—” not detected the aromatic substance.

红果番茄整个发育过程中各类芳香物质组分数由多到少依次为醇类和烃类>醛类>酮类>其他类>酯类>酸类>酚类物质。总芳香物质、烃类和酸类物质组分数绿熟期至转色期减少, 转色期到成熟期增加, 成熟期至完熟期又减少; 烃类和酸类物质绿熟期最多, 分别是 35 种和 10 种, 总芳香物质成熟期最多为 140 种, 烃类物质转色期最少为 16 种, 总芳香物质和酸类物质完熟期最少, 分别是 103 种和 1 种。醛类、酮类、醇类和酯类物质组分数绿熟期至成熟期逐渐增多, 成熟期到完熟期减少; 成熟期组分数最多分别是 39 种、37 种、15 种和 9 种, 醛类和酮类物质组分数绿熟期最少为 21 种和 8 种, 醇类和酯类物质组分数完熟期最少为 27 种和 3 种。酚类和其他类物质组分数在果实发育过程中基本稳定。完熟期未检测到酚类物质。

2 种颜色番茄相比, 绿果番茄芳香物质总组分数绿熟期、转色期和完熟期分别比红果番茄多 28 种、28 种和 15 种, 红果成熟期比绿果多 7 种。整个发育过程中, 绿果烃类、酚类、酯类、醇类、醛类和酮类物质组分数依次比红果多 12 种、11 种、3 种、2 种、1 种和 1 种, 红果其他类和酸类物质分别比绿果多 7 种和 3 种。绿果绿熟期醇类、醛类、烃类、酮类、酯类和酚类物质组分数依次比红果多 3 种、3 种、9 种、7 种、6 种和 6 种, 转色期醛类、烃类、酯类、酸类和酚类物质比红果多 1 种、25 种、4 种、1 种和 4 种, 成熟期烃类、酯类和酚类物质比红果多 3 种、2 种和 7 种, 完熟期醇类、醛类、烃类、酯类、酸类和酚类物质比红果多 2 种、2 种、4 种、4 种、1 种和 8 种。红果绿熟期酸类和其他类物质比绿果多 2 种和 4 种, 转色期醇类和其他类物质比绿果多 4 种和 3 种, 成熟期醇类、醛类、酮类、酸类和其他类物质比绿果多 3 种、6 种、6 种、1 种和 3 种, 完熟期酮类和其他类物质比绿果多 1 种和 5 种。2 种颜色番茄果实发育过程中酚类和其他类物质组分数基本保持稳定。

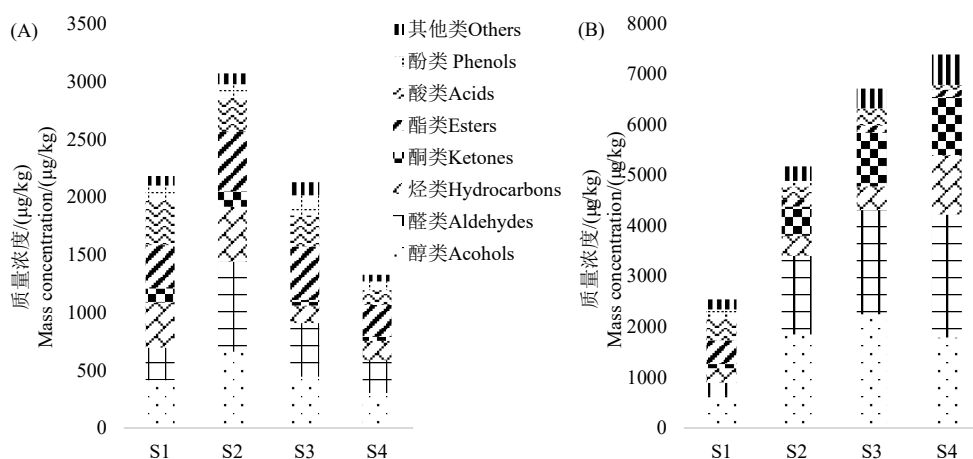
## 2.2 2 种颜色番茄果实不同发育时期芳香物质质量浓度分析

2 种颜色番茄果实不同发育时期芳香物质质量浓度如图 1 所示, 绿果番茄整个发育过程中各类芳香物质质量浓度由高到低依次为醛类>醇类>酯类>烃类>酸类>酚类>其他类>酮类物质。绿果番茄总芳香物质、醛类、醇类、酮类和酯类物质质量浓度绿熟期到转色期上升, 转色期至完熟期在持续下降; 转色期最高, 分别是 3079.13  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、787.32  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、661.48  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、133.38  $\mu\text{g}/\text{kg}$  和 519.89  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 醇类、酮类和酯类物质绿熟期最低, 分别是 303.27  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、50.02  $\mu\text{g}/\text{kg}$  和 276.13  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 总芳香物质和醛类物质完熟期最低, 分别是 1327.44  $\mu\text{g}/\text{kg}$  和 282.13  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。酸类物质质量浓度在果实成熟过程中不断降低, 绿熟期最高是 383.53  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 完熟期最低为 128.78  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。烃类物质质量浓度绿熟期至转色期升高, 转色期至成熟期下降, 成熟期至完熟期升高; 转色期最高为 475.25  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 成熟期最低为 152.56  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。酚类物质质量浓度变化趋势与烃类物质相反, 绿熟期至转色期降低, 转色期至成熟期升高, 成熟期至完熟期又降低; 成熟期最高为 173.51  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 完熟期最低为 75.01  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。其他类物质质量浓度绿熟期至成熟期持续增加, 成熟期至完熟期减少; 成熟期最高为 114.79  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 完熟期最低为 57.31  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

红果番茄整个发育过程中各类芳香物质质量浓度从高到低依次为醇类>醛类>酮类>烃类>其他类>酸类>酯类>酚类物质。红果番茄总芳香物质、酮类、醛类、烃类和其他类物质质量浓度随着果实发育成熟

不断增加；绿熟期最低依次是 2542.52  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、82.43  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、259.2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、288.17  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、198.08  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，完熟期最高分别是 7383.39  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、1149.46  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、2429.93  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、1176.53  $\mu\text{g}/\text{kg}$  和 598.96  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。醇类物质质量浓度绿熟期至成熟期增加，成熟期至完熟期减少；绿熟期最低为 634.28  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，成熟期最高为 2246.89  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。酯类物质质量浓度绿熟期至成熟期降低，成熟期至完熟期升高；绿熟期最高是 469.17  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，成期最低是 133.51  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。酸类物质质量浓度绿熟期至转色期下降，转色期到成熟期上升，成熟期至完熟期又降低；绿熟期质量浓度最高为 413.82  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，完熟期最低只有 94.26  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。酚类物质质量浓度在果实发育过程中呈降低趋势；绿熟期质量浓度最高是 197.37  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，完熟期未检测到。

2 种颜色番茄相比，红果番茄绿熟至完熟 4 个发育时期总芳香物质质量浓度依次比绿果高 359.59  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、2099.64  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、4579.16  $\mu\text{g}/\text{kg}$  和 6055.95  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。红果绿熟期醇类、酯类、酸类、酚类和其他类物质质量浓度分别比绿果高 219.05  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、93.57  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、30.29  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、65.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  和 114.9  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，转色期醇类、醛类、酮类和其他类物质比绿果高 1187.92  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、764.61  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、444.35  $\mu\text{g}/\text{kg}$  和 193.02  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，成熟期醇类、醛类、烃类、酮类、酸类和其他类物质比绿果高 1803.01  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、1592.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、316.42  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、1013.87  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、67.04  $\mu\text{g}/\text{kg}$  和 278.06  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，完熟期醇类、醛类、烃类、酮类和其他类物质比绿果高 1486.6  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、2146.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、1008.44  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、1114.43  $\mu\text{g}/\text{kg}$  和 541.65  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。绿果绿熟期醛类、烃类和酮类物质比红果高 47.16  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、101.48  $\mu\text{g}/\text{kg}$  和 38.91  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，转色期烃类、酯类、酸类、酚类物质比红果高 76.59  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、385.22  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、26.82  $\mu\text{g}/\text{kg}$  和 8.52  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，成熟期酯类和酚类物质比红果高 329.09  $\mu\text{g}/\text{kg}$  和 166.98  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，完熟期酯类、酸类和酚类物质比红果高 131.74  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、34.53  $\mu\text{g}/\text{kg}$  和 75.01  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。相同点在于，2 种颜色番茄果实发育过程中醛类和酮类物质质量浓度与总芳香物质质量浓度变化趋势一致，酸类物质质量浓度均是绿熟期最高，完熟期最低。



1. (A) 和 (B) 分别为绿果和红果番茄； 2. S1、S2、S3 和 S4 分别为绿熟期、转色期、成熟期和完熟期； 3. 下同。

1. (A) and (B) are respectively green color tomato and red color tomato; 2. S1, S2, S3 and S4 denote respectively green stage, turning stage, mature stage and full mature stage; 3. The follow is same.

图 2 2 种颜色番茄果实不同发育时期物质芳香物质质量浓度/( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )  
Fig.2 The mass concentration of aromatic substances of two color tomato at the different fruit developmental stages/( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )

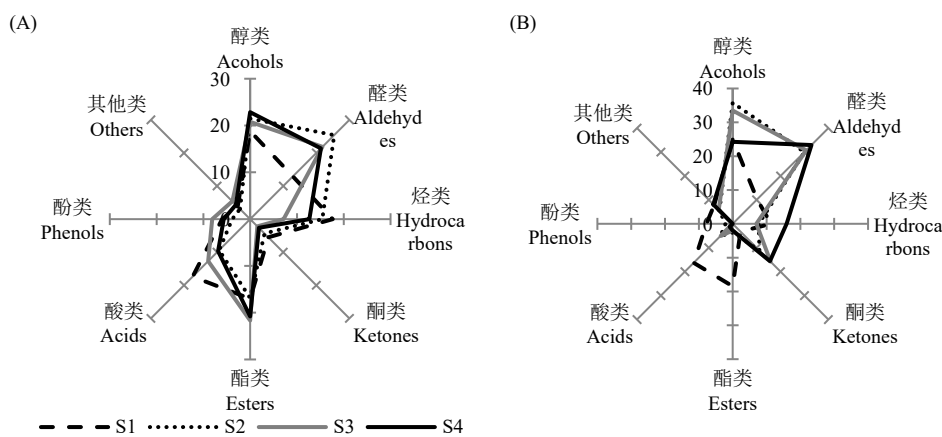
### 2.3 2 种颜色番茄果实不同发育时期芳香物质相对质量浓度分析

相对质量浓度是指某类芳香物质质量浓度占总芳香物质质量浓度的百分数，表明果实中各类芳香物质所占比例的大小。如图 2 所示，绿果番茄醇类物质相对质量浓度绿熟期至转色期增加，转色期至成熟期减少，成熟期至完熟期又增加；绿熟期最低为 18.81%，完熟期最高为 22.85%。醛类物质相对质量浓度绿熟期至转色期增加，转色期至完熟期减少；绿熟期最低是 12.92%，转色期最高为 25.4%。酯类、酸类、酚类和其他类物质相对质量浓度从绿熟期到转色期降低，转色期到成熟期升高，成熟期至完熟期又降低；转色期最低，分别只占 16.88%、9.38%、3.85%、3.06%，酸类物质绿熟期最高是 17.38%，酯类、酚类和其他类物质成熟期最高，分别是 21.67%、8.13%、5.38%。烃类和酮类物质相对质量浓度绿熟期至成熟期一直在减少，成熟期至完熟期略有增加；绿熟期最高是 17.65%和 5.5%，成熟期最低是 7.15%和 2.18%。醇类、醛类和酯类物质相对质量浓度转色期、成熟期和完熟期较高，约占 2/3。

红果番茄醛类物质相对质量浓度绿熟期到完熟期持续升高；绿熟期最低为 10.19%，完熟期最高为 32.91%。醇类物质相对质量浓度绿熟期到转色期升高，转色期至完熟期下降；转色期最高为 35.76%，完熟期最低为 24.24%。酮类物质相对质量浓度绿熟期到成熟期一直在升高，成熟期至完熟期略有下降；绿熟期

最低只有 3.24 %，成熟期最高为 15.81 %。酯类、酸类和酚类物质相对质量浓度绿熟期到完熟期逐渐降低；绿熟期最高分别是 18.45 %、16.28 %和 7.76 %，完熟期最低依次是 1.96 %、1.28 %和未检测到。烃类物质相对质量浓度绿熟期到成熟期一直在减少，成熟期至完熟期增加；成熟期最低为 6.99 %，完熟期最高为 15.93 %。其他类物质相对质量浓度绿熟期至转色期降低，转色期至完熟期持续升高；转色期最低是 5.55 %，完熟期最高是 8.11 %。醇类、醛类和酮类物质占转色期、成熟期和完熟期总芳香物质 76.94 %、80.03 %和 72.72 %，酯类、酸类、酚类和其他类仅占这 3 个时期总芳香物质 15.36 %、12.98 %和 11.34 %。

2 种颜色番茄相比，红果番茄绿熟期醇类、酯类、酚类和其他类物质相对质量浓度依次比绿果高 6.13 %、1.44 %、1.77 %和 4.02 %，转色期醇类、醛类、酮类和其他类物质比绿果高 14.28 %、4.6 %、6.84 %和 2.49 %，成熟期醇类、醛类、酮类和其他类物质比绿果高 12.7 %、8.9 %、13.63 %和 0.48 %，完熟期醇类、醛类、烃类、酮类和其他类物质比绿果高 1.4 %、11.53 %、3.27 %、12.93 %和 3.79 %。绿果番茄绿熟期醛类、烃类、酮类和酸类物质比红果高 2.73 %、6.32 %、2.26 %和 1.10 %，转色期烃类、酯类、酸类和酚类物质相对比和果高 7.73 %、14.28 %、4.31 %和 1.72 %，成熟期烃类、酯类、酸类和酚类物质比红果高 0.16 %、19.68 %、7.66 %和 8.03 %，完熟期酯类、酸类和酚类物质比红果高 18.85 %、8.42 %和 5.65 %。2 种颜色番茄果实烃类物质相对质量浓度均是绿熟期至成熟期降低，成熟期至完熟期升高。



(A) 和 (B) 分别为绿果和红果番茄。(A) and (B) are respectively green color tomato and red color tomato.

图 3 2 种颜色番茄果实不同发育时期芳香物质相对质量浓度/ %

Fig3. The relative mass concentration of aromatic substances of two color tomato at the different fruit developmental stages/ %

### 3 讨论

不同颜色的番茄果实发育过程中芳香物质组分数和质量浓度差异明显。本研究发现绿果番茄各类芳香物质组分数随着果实成熟度增加总体呈减少趋势，而红果番茄各类芳香物质组分数绿熟期至成熟期总体呈增加趋势，成熟期至完熟期呈减少趋势，与之前研究认为粉果番茄芳香物质组分数在果实发育过程中不断增多<sup>[22]</sup>的趋势不同。值得注意的是绿果番茄芳香物质组分数竟然在绿熟期、转色期和完熟期均多于红果番茄，只有成熟期少于红果番茄。绿果番茄总芳香物质质量浓度绿熟期到转色期升高，转色期到完熟期一直在降低，与红果等其他颜色番茄果实发育过程中大多数芳香物质质量浓度在果实成熟后期达到最大值<sup>[23]</sup>的结果不同。绿果番茄芳香物质质量浓度低于红果番茄，与常培培的研究结果一致<sup>[7,24]</sup>。相对质量浓度表示某类芳香物质质量浓度占总芳香物质质量浓度的百分数，更能反映番茄果实各类芳香物质的组成。2 种颜色番茄果实醇类和醛类物质相对质量浓度较高。另外，绿果番茄酯类物质相对质量浓度较高，而红果番茄果实酮类物质相对质量浓度较高。成熟期是番茄的最佳采收期<sup>[25]</sup>，消费者食用的主要是成熟期果实<sup>[26]</sup>。红果番茄成熟期芳香物质组分数比绿果番茄多 7 种，醇类、醛类和酮类物质质量浓度和相对质量浓度均比分别比绿果番茄高。绿果番茄成熟期酯类、酸类和酚类物质相对质量浓度比红果番茄高。芳香物质的差异可能是导致不同颜色番茄果实风味品质差异较大的主要原因。研究发现，芳香物质受代谢途径调控<sup>[27-28]</sup>，番茄果实芳香物质主要来自类胡萝卜素、脂肪酸、苯丙氨酸和支链氨基酸代谢途径<sup>[29]</sup>，基因型、栽培条件、成熟度<sup>[20]</sup>和采后储藏处理<sup>[1]</sup>都会影响番茄果实芳香物质代谢。虽然弄清了 2 种颜色番茄果实发育过程中芳香物质组分和质量浓度变化规律及其差异，部分重要芳香物质的合成途径已逐渐清晰，许多关键的酶和基因已被克隆分离<sup>[30-31]</sup>，但是番茄果实芳香物质代谢调控网络还有许多未知领域，需要借助基因组学、代谢组学以及 QTLs 分析等现代生物学技术手段揭示不同颜色番茄果实芳香物质代谢调控机制，进一步为改良番茄风味品质奠定基础。

## 参考文献

- [1]EL HADI M A, ZHANG F J, WU F F, et al. Advances in fruit aroma volatile research[J]. *Molecules*, 2013, 18(7): 8200-8229. DOI:10.3390/molecules18078200.
- [2]刘明池, 郝静, 唐晓伟. 2008. 番茄果实芳香物质的研究进展. *中国农业科学*, 41(5):1444-1451.
- [3]UEKANE T M, NICOLOTTI L, GRIGLIONE A, et al. Studies on the volatile fraction composition of three native Amazonian Brazilian fruits: Murici (*Byrsonima crassifolia* L., Malpighiaceae), bacuri (*Platonia insignis* M., Clusiaceae), and sapodilla (*Manilkara sapota* L., Sapotaceae) [J]. *Food Chemistry*, 2017, 219:13–22. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.098>.
- [4]BALDWIN E A, GOODNER K, PLOTTO A. Interaction of volatiles, sugars, and acids on perception of tomato aroma and flavor descriptors [J]. *Journal of Food Science*, 2008, 73(6): S294-S307. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2008.00825.x.
- [5]常培培, 张静, 杨建华, 等. 紫色番茄果实挥发性风味物质分析[J]. *食品科学*, 2014,35 (14) :165-169. DOI: 10.7506 / spkx1002-6630-201414032.
- [6]KADER A A. A perspective on postharvest horticulture (1978-2003). *Horticulture Science*, 2004, 38:1004-1008.
- [7]CRISOSTO C H, COSTA G. The peach: botany, production and uses-preharvest factors affecting peach quality[M]. USA: CAB International, 2008: 536-544.
- [8]KLEE H J and TIEMAN D M. Genetic challenges of flavor improvement in tomato[J].*Trends in Genetics*, 2013,29(4):257-262. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tig.2012.12.003>.
- [9]密森. 番茄果实芳香物质浓度和营养品质组成变化的研究[D]. 扬州:扬州大学,2012.
- [10]赵建涛, 张静, 张雅婷, 等. 红色和粉色樱桃番茄与大果番茄果实品质特性分析[J]. *食品科学*, 2016, 37(16): 135-141.DOI:10.7506/spkx1002-6630-201616022
- [11]MAUL F, SARGENT S A, BALABAN M O, et al. Aroma volatile profiles from ripe tomatoes are influenced by physiological maturity at harvest: an application for electronic nose technology[J]. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 1998,123(6):1094-1101.
- [12]BALDWIN E, PLOTTO A, NARCISO J, et al. Effect of 1-methylcyclopropene on tomato flavour components, shelf life and decay as influenced by harvest maturity and storage temperature[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2011,91(6):969-980. DOI:10.1002/jsfa.4281.
- [13]KRUMBEIN A, PETERS P, BRÜCKNER B. Flavour compounds and a quantitative descriptive analysis of tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill.) of different cultivars in short-term storage[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2004, 32:15-28. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2003.10.004.
- [14]常培培. 番茄果实芳香物质和品质性状的鉴定与分析[D].杨凌: 西北农林科技大学,2015.
- [15]李锡香, 杜永臣, 等. 番茄 种植资源描述规范和数据标准[M].中国农业出版社, 2006,9.
- [16]VILJANEN K, LILLE M, HEINIO R L, et al. Effect of high-pressure processing on volatile composition and odour of cherry tomato puree [J]. *Food Chemistry*, 2011, 129(4): 1759-1765. DOI:10.1016/j.foodchem.2011.06.046.
- [17]吕洁, 梁燕, 赵菁菁, 等. 干扰 LYC-B 基因调控番茄果实挥发性物质及主要品质性状[J]. *食品科学*, 2016,37(21):195-201. DOI: 10.7506/spkx1002—6630-201621033.
- [18]WANG L B, BALDWIN E A, PLOTTO A, et al. Effect of methyl salicylate and methyl jasmonate pre-treatment on the volatile profile in tomato fruit subjected to chilling temperature[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2015, 108,28-38. DOI:10.1016/j.postharvbio.2015.05.005.
- [19]郝丽宁, 陈书霞, 王聪颖, 等. 不同基因型黄瓜果实芳香物质组成及质量浓度差异研究[J]. *西北农林科技大学学报: 自然科学版*, 2013, 41(6): 139-146. DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2013.06.027.
- [20]ZHANG Y, GAO B, ZHANG M, et al. Pulsed electric field processing effects on physicochemical properties, flavor compounds and microorganisms of longan juice [J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2010, 34(6): 1121-1138. DOI: 10.1111/j.1745- 4549.2009.00441.x.
- [21]何朝飞, 冉玥, 曾林芳, 等. 柠檬果皮香气成分的 GC-MS 分析[J]. *食品科学*, 2013, 34(006):175-179.
- [22]陈书霞,林海军.番茄果实不同发育阶段香气成分组成及变化[J].*西北植物学报*, 2010,30(11):2258-2264.
- [23]DUDLEY R. Ethanol, fruit ripening, and the historical origins of human alcoholism in primate frugivory[J]. *Integrative and Comparative Biology*, 2004, 44(4): 315-323. <https://doi.org/10.1093/icb/44.4.315>.
- [24]常培培, 梁燕, 张静, 等. 5 种不同颜色樱桃番茄品种果实挥发性物质及品质特性分析[J].*食品科学*, 2014,35(22):215-221.

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201422042.

- [25]SCHWIETERMAN M L, COLQUHOUN T A, JAWORSKI E A, et al. Strawberry Flavor: Diverse Chemical Compositions, a Seasonal Influence, and Effects on Sensory Perception[J]. Plos One, 2014,9(2):1-12. DOI:10.1371/journal.pone.0088446.
- [26]ZHANG B, TIEMANA D M, JIAO C, et al. Chilling-induced tomato flavor loss is associated with altered volatile synthesis and transient changes in DNA methylation[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2016,113(49):12580-12585. DOI:10.1073/pnas.1613910113.
- [27]TIEMAN D, BLISS P, MCINTYRE L M, et al. The Chemical Interactions Underlying Tomato Flavor Preferences[J]. Current Biology, 2012,22:1035-1039. DOI:10.1016/j.cub.2012.04.016.
- [28]TIEMAN D, ZHU GUANGTAO, RESENDE JR. M F R, et al. A chemical genetic roadmap to improved tomato flavor[J]. Plant Science, 2017,355:391-394.DOI: 10.1126/science.aal1556.
- [29]RAMBLA J L, TIKUNOV Y M, MONFORTE A J, et al. The expanded tomato fruit volatile landscape[J]. Journal of Experimental Botany,2014, 65(16): 4613-4623. DOI:10.1093/jxb/eru128.
- [30]朱明明, 樊明涛, 何鸿举. 类物质胡萝卜素降解方式的研究进展 [J]. 食品科学, 2017, 38(11): 308-317. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201711048.
- [31]WEI Y P, WAN H J, WU Z M, et al. A Comprehensive Analysis of Carotenoid Cleavage Dioxygenases[J]. Plant Molecular Biology Reporter, 2016, 34:512–523. DOI:10.1007/s11105-015-0943-1.

附表 不同风味番茄果实 4 个发育期芳香物质质量浓度(ug/kg)  
 Supplement table The mass concentration of aromatic substances of different flavor tomatoes  
 in 4 fruit developmental stages (ug/kg)

| 芳香物质 Aromatic substances  | 绿果番茄 Green color tomato         |                         |                        |                                | 红果番茄 Red color tomato           |                         |                        |                                |
|---|---------------------------------|-------------------------|------------------------|--------------------------------|---------------------------------|-------------------------|------------------------|--------------------------------|
|   | 绿熟期<br>Mature<br>green<br>stage | 转色期<br>Turning<br>stage | 成熟期<br>Mature<br>stage | 完熟期<br>Full<br>mature<br>stage | 绿熟期<br>Mature<br>green<br>stage | 转色期<br>Turning<br>stage | 成熟期<br>Mature<br>stage | 完熟期<br>Full<br>mature<br>stage |
| 反式-2-甲基-环戊醇<br>trans-2-methyl-Cyclopentanol                                     | 50.06                           | 96.29                   | 42.39                  | 15.96                          | 34.86                           | 200.91                  | 237.76                 | 423.82                         |
| 2-乙基-环丁醇<br>2-ethyl-Cyclobutanol  | 50.06                           | 96.29                   | 42.39                  | 15.96                          | 29.79                           | 181.5                   | 237.76                 | 423.82                         |
| 环丁基-1-甲烯醇<br>Cyclobut-1-enylmethanol  | -                               | 4.59                    | -                      | -                              | -                               | 8.98                    | 6.53                   | 12.37                          |
| 环丁甲醇 Cyclobutanemethanol  | -                               | -                       | -                      | -                              | -                               | -                       | -                      | 9.36                           |
| 2-己炔-1-醇 2-Hexyn-1-ol   | -                               | -                       | -                      | -                              | -                               | 24.26                   | 22.16                  | 44.12                          |
| 1-戊烯-3-醇 1-Penten-3-ol  | 2.04                            | 1.62                    | -                      | 0.99                           | 4.24                            | -                       | -                      | -                              |
| 2-甲基-1-丁醇<br>2-methyl-1-Butanol   | -                               | -                       | -                      | -                              | 5.89                            | 41.01                   | 38.92                  | 20.05                          |
| (S)-2-甲基-1-丁醇<br>(S)-2-methyl-1-Butanol   | -                               | -                       | -                      | -                              | 5.89                            | 41.01                   | 38.92                  | 20.05                          |
| 3-甲基-1-丁醇<br>3-methyl-1-Butanol   | 17.79                           | 22.66                   | 17.12                  | 16.33                          | 37.33                           | 16.26                   | 24.43                  | 34.76                          |
| 环氧辛基-乙醇 Cyclooctyl<br>alcohol   | 3                               | 23.74                   | 8.36                   | 10.31                          | 3.06                            | -                       | 10.79                  | -                              |
| 3,5-辛二烯-2-醇<br>3,5-Octadien-2-ol  | 5.47                            | -                       | -                      | -                              | -                               | -                       | -                      | -                              |
| (Z)-2-戊烯-1-醇 (Z)-2-Penten-1-ol  | 3.22                            | 2.29                    | 2.16                   | 1.12                           | 5.3                             | 8.74                    | 10.51                  | 9.36                           |
| (E)-2-戊烯-1-醇 (E)-2-Penten-1-ol  | 3.22                            | 2.29                    | 2.16                   | 1.12                           | 5.3                             | 8.74                    | 10.51                  | 9.36                           |
| (E)-2-辛烯-1-醇 (E)-2-Octen-1-ol   | 5.36                            | 23.74                   | 11.9                   | 13.29                          | 3.06                            | 5.58                    | 10.79                  | -                              |
| 醇类物质<br>Acohols   |                                 |                         |                        |                                |                                 |                         |                        |                                |
| 环戊醇 Cyclopentanol   | 3.22                            | -                       | 2.16                   | -                              | 5.3                             | 8.74                    | 10.51                  | -                              |
| 1-己醇 1-Hexanol  | 12.86                           | 11.46                   | 8.66                   | 6.27                           | 35.56                           | 145.58                  | 124.99                 | 43.12                          |
| 1-戊醇 1-Pentanol   | 16.4                            | 22.66                   | 17.12                  | 16.33                          | 37.33                           | 16.26                   | 24.43                  | 34.76                          |
| 3-甲基-1-戊醇<br>3-methyl-1-Pentanol  | -                               | 11.46                   | 8.66                   | 6.27                           | -                               | 145.58                  | 124.99                 | -                              |
| 2-丙基-1-戊醇<br>2-Propyl-1-pentanol  | -                               | 1.48                    | 4.78                   | -                              | -                               | -                       | -                      | -                              |
| 4-甲基-1-戊醇<br>4-methyl-1-Pentanol  | -                               | -                       | -                      | -                              | -                               | 145.58                  | 124.99                 | -                              |
| (Z)-3-己烯-1-醇 (Z)-3-Hexen-1-ol   | 17.58                           | 19.55                   | 23.21                  | -                              | 92.68                           | 188.05                  | 194.29                 | -                              |
| 3-己烯-1-醇 3-Hexen-1-ol   | 17.58                           | 19.55                   | 23.21                  | -                              | 92.68                           | 188.05                  | 194.29                 | -                              |
| (E)-3-己烯-1-醇 (E)-3-Hexen-1-ol   | 17.58                           | 19.55                   | 23.21                  | -                              | 93.5                            | 188.05                  | 328.08                 | -                              |
| 1,3,3-三甲基-2-氧杂二环辛烯-6<br>醇<br>1,3,3-trimethyl-2-Oxabicyclo[2.2.2]<br>]octan-6-ol | -                               | -                       | -                      | -                              | -                               | -                       | 139.47                 | 179.15                         |
| 2-壬烯-1-醇 2-Nonen-1-ol   | 9.65                            | 42.62                   | 24.2                   | 27.32                          | 8.83                            | 6.31                    | 11.65                  | 20.05                          |
| (E)-2-壬烯-1-醇 (E)-2-Nonen-1-ol   | 9.65                            | 42.62                   | 24.2                   | 27.32                          | 8.83                            | 6.31                    | 11.65                  | 20.05                          |
| 6-壬烯-1-醇 6-Nonen-1-ol   | 9.65                            | -                       | -                      | -                              | -                               | -                       | -                      | -                              |
| 1-辛烯-3-醇 1-Octen-3-ol   | 13.72                           | 30.75                   | 13.77                  | 11.36                          | 10.72                           | 10.43                   | 23.29                  | 23.4                           |
| 1-庚烯-3-醇 1-Hepten-3-ol  | 13.72                           | 30.75                   | 13.77                  | 11.36                          | -                               | -                       | 23.29                  | 23.4                           |
| 2-亚甲基-环庚醇<br>2-methylene-Cycloheptanol  | 18.33                           | -                       | 27.64                  | 19.62                          | 12.48                           | 42.95                   | -                      | 129.02                         |



|   |       |       |       |       |       |       |        |        |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|
| 1-壬烯-3-醇 1-Nonen-3-ol   | 13.72 | 30.75 | 13.77 | 11.36 | 10.72 | 10.43 | 23.29  | 23.4   |
| 2-甲基-6-庚烯-1-醇<br>2-methyl-6-Hepten-1-ol   | 0.43  | -     | -     | -     | 1.77  | -     | 5.68   | 6.35   |
| 6-甲基-5-庚烯-2-醇<br>6-methyl-5-Hepten-2-ol   | -     | -     | -     | -     | 1.77  | 1.46  | 5.68   | 6.35   |
| 2-乙基-1-己烯醇<br>2-Ethyl-1-hexanol   | -     | -     | 1.48  | 4.78  | -     | -     | -      | -      |
| 2-乙基-1-己烯醇<br>2-ethyl-1-Hexanol   | 0.86  | -     | 1.48  | 4.78  | -     | -     | -      | -      |
| 1-庚醇 1-Heptanol   | -     | 11.87 | 4.33  | -     | -     | -     | -      | -      |
| (E)-2-癸烯-1-醇 (E)-2-Decen-1-ol   | 24.08 | -     | 10.23 | -     | -     | -     | -      | 31.08  |
| 2-癸烯-1-醇 2-Decen-1-ol   | 8.58  | 17.26 | 13.77 | 17.32 | 6.71  | 10.68 | 8.24   | 31.08  |
| 芳樟醇 Linalool  | 15.97 | 14.83 | 12.69 | 3.29  | 5.42  | 12.13 | 12.5   | -      |
| 顺式-1-甲基-4-环己醇<br>cis-1-methyl-4-(1-methylethenyl)-<br>Cyclohexanol                | 15.97 | 14.83 | 12.69 | -     | -     | 12.13 | 12.5   | -      |
| 反式-2-十二烯-1-醇<br>trans-2-Dodecen-1-ol  | -     | -     | -     | 14.34 | -     | 5.1   | 8.24   | -      |
| 2-甲基-1-十六烷醇<br>2-methyl-1-Hexadecanol   | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -      | 8.69   |
| 1-辛烯醇 1-Octanol   | 5.15  | 20.5  | 8.66  | 14.41 | 4.59  | -     | 8.52   | -      |
| α-萜品醇 α-Terpineol   | 5.15  | -     | -     | -     | -     | -     | -      | -      |
| 萜品醇 Terpineol   | 5.15  | -     | -     | -     | -     | -     | -      | -      |
| L-α-萜品醇 L-α-Terpineol   | 5.15  | -     | -     | -     | -     | -     | -      | -      |
| (Z)-2-辛烯-1-醇 (Z)-2-Octen-1-ol   | 3     | 6.34  | 3.54  | 3.66  | 3.06  | 5.58  | 10.79  | 10.7   |
| 1-壬醇 1-Nonanol  | -     | 6.88  | 3.93  | 9.62  | 4.59  | -     | -      | -      |
| 1-十一烷醇 1-Undecanol  | -     | 6.88  | 3.93  | 9.62  | -     | -     | 3.98   | -      |
| (E)-11,13-十四二烯-1-醇<br>(E)-11,13-Tetradecadien-1-ol                                | -     | -     | 3.93  | -     | -     | -     | -      | -      |
| 苄基乙醇 Benzyl alcohol   | 3.22  | 5.39  | 8.36  | 2.73  | 9.77  | 16.26 | 16.48  | -      |
| 苯乙基-乙醇 Phenylethyl Alcohol  | 6     | -     | -     | 4.59  | 15.66 | 90.99 | 139.47 | 185.17 |
| (E)-2-己烯-1-醇 (E)-2-Hexen-1-ol   | -     | -     | -     | -     | 5.06  | 19.41 | -      | -      |
| (Z)-2-己烯-1-醇 (Z)-2-Hexen-1-ol   | -     | -     | -     | -     | 5.06  | 19.41 | -      | -      |
| (1,3-二甲基-2-亚甲基-环戊基)-甲<br>醇<br>(1,3-Dimethyl-2-methylene-cyclop<br>entyl)-methanol | -     | -     | -     | -     | -     | 16.98 | -      | -      |
| 2-己烯-1-癸醇 2-hexyl-1-Decanol   | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -      | 7.02   |
| 2-甲氧基-酚 2-methoxy-Phenol  | 46.09 | 43.56 | 62.26 | 28.69 | 98.69 | 55.08 | 6.53   | -      |
| 2-硝基-酚 2-nitro-Phenol   | 13.08 | 9.31  | 9.05  | 4.1   | -     | -     | -      | -      |
| 2-甲基-酚 2-methyl-Phenol  | 3.97  | -     | 2.56  | 3.42  | -     | -     | -      | -      |
| 2-甲氧基-3-(2-丙烯基)酚<br>2-methoxy-3-(2-propenyl)-Phenol                               | -     | 7.42  | 11.9  | 2.73  | -     | -     | -      | -      |
| 酚类物质<br>Phenols   |       |       |       |       |       |       |        |        |
| 3-烯丙基-6-甲氧酚<br>3-Allyl-6-methoxyphenol  | -     | 7.42  | 11.9  | 2.73  | -     | -     | -      | -      |
| 3-甲基-5-硝基酚<br>3-methyl-5-Nitrophenol  | 2.04  | -     | 1.67  | -     | -     | -     | -      | -      |
| 异丙醚-2-硝基酚 isopropyl<br>ether-2-Nitrophenol  | 13.08 | -     | -     | -     | -     | -     | -      | -      |
| 3-甲基-苯酚 3-methyl-Phenol   | 3.97  | -     | -     | -     | -     | -     | -      | -      |

|                   |  |       |       |       |       |       |        |        |        |
|-------------------|--|-------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|
|                   | (Z)-2-甲氧基-4-(1-丙烯基)-苯酚<br>(Z)-2-methoxy-4-(1-propenyl)-Phenol            | -     | 7.42  | -     | 2.73  | -     | -      | -      | -      |
|                   | 2-甲氧基-4-乙烯基苯酚<br>2-Methoxy-4-vinylphenol                                 | -     | -     | -     | 1.92  | -     | -      | -      | -      |
|                   | 丁香酚 Eugenol  | -     | -     | 11.9  | -     | -     | -      | -      | -      |
|                   | 对甲氧基苯酚 Mequinol  | 46.09 | 43.56 | 62.26 | 28.69 | 98.69 | 55.08  | -      | -      |
|                   | p-甲酚 p-Cresol  | 3.97  | -     | -     | -     | -     | -      | -      | -      |
|                   | 戊醛 Pentanal  | 3.75  | 12.54 | 6.89  | 3.6   | 2     | -      | 2.84   | 12.37  |
|                   | 3-甲基戊醛 3-methyl-Butanal  | -     | 12.54 | 6.89  | 3.6   | -     | 3.15   | -      | 12.37  |
|                   | 己醛 Hexanal   | 50.06 | 96.29 | 42.39 | 15.96 | 29.79 | 181.5  | 237.76 | 423.82 |
|                   | 庚醛 Heptanal  | -     | 11.33 | 4.43  | -     | -     | -      | -      | -      |
|                   | (E)-2-戊烯醛 (E)-2-Pentenal   | 2.57  | 4.59  | 3.15  | 1.92  | -     | 8.98   | 6.53   | 12.37  |
|                   | 3-甲基-2-丁醛<br>3-methyl-2-Butenal  | 2.57  | -     | 3.15  | 1.92  | -     | 8.98   | -      | -      |
|                   | (E)-2-己烯醛 (E)-2-Hexenal  | 11.9  | 29.13 | 31.87 | 2.17  | 14.48 | 399.63 | 396.26 | 432.17 |
|                   | 2-己烯醛 2-Hexenal  | 11.9  | 29.13 | 31.87 | 2.17  | 14.48 | 399.63 | 396.26 | 432.17 |
| 醛类物质<br>Aldehydes | 3-己烯醛 3-Hexenal  | -     | -     | 31.87 | -     | -     | 3.64   | 3.69   | 9.02   |
|                   | 2-乙基丙烯醛 2-Ethylacrolein  | 2.57  | 4.59  | 3.15  | 15.96 | -     | -      | 6.53   | 12.37  |
|                   | 辛醛 Octanal   | 2.36  | 17.4  | 8.36  | 6.64  | -     | 2.91   | 3.41   | 6.35   |
|                   | 2-甲基-4-戊烯醛<br>2-methyl-4-Pentenal  | -     | -     | -     | -     | -     | -      | 3.69   | 9.02   |
|                   | (Z)-2-庚烯醛 (Z)-2-Heptenal   | 22.4  | 64.19 | 26.85 | 10    | 11.31 | 38.09  | 78.68  | 137.04 |
|                   | (E)-2-庚烯醛 (E)-2-Heptenal   | 22.4  | 64.19 | 26.85 | 10    | 11.31 | 38.09  | 78.68  | 137.04 |
|                   | 2-乙基-4-戊烯醛<br>2-ethyl-4-Pentenal   | 22.4  | 64.19 | 26.85 | 10    | 11.31 | 38.09  | 78.68  | 137.04 |
|                   | 壬醛 Nonanal   | 9.65  | 42.62 | 24.2  | 27.32 | 8.83  | 6.31   | 11.65  | 20.05  |
|                   | 5-乙基环戊-1-糠烯醛<br>5-Ethylcyclopent-1-enecarboxaldehyde                     | 3.11  | 6.61  | 3.44  | 4.59  | 2     | 3.4    | 7.39   | 7.69   |
|                   | 2-甲基-3-亚甲基-环糠戊醛<br>2-methyl-3-methylene-Cyclopentanecarboxaldehyde       | 3.11  | 6.61  | -     | 4.59  | -     | 16.98  | 41.19  | 15.38  |
|                   | (E)-2-辛烯醛 (E)-2-Octenal  | 20.04 | 69.59 | 27.64 | 21.36 | 12.48 | 42.95  | 84.93  | 129.02 |
|                   | (Z)-2-壬醛 (Z)-2-Nonenal   | -     | 15.1  | 10.13 | 14.41 | -     | -      | -      | -      |
|                   | (E)-2-壬醛 (E)-2-Nonenal   | -     | 15.1  | -     | 14.41 | -     | -      | -      | -      |
|                   | 2-壬醛 2-Nonenal   | -     | -     | -     | 14.41 | -     | -      | -      | -      |
|                   | 4-乙基-2-己烯醛<br>4-Ethyl-2-hexynal  | -     | -     | -     | -     | -     | 16.98  | 33.8   | -      |
|                   | (E,E)-2,4-庚二烯醛<br>(E,E)-2,4-Heptadienal                                  | 15.54 | 13.76 | 8.07  | 1.12  | 10.36 | 15.77  | 13.35  | 13.04  |
|                   | (E,Z)-2,6-壬二烯醛<br>(E,Z)-2,6-Nonadienal                                   | -     | -     | -     | 2.3   | 1.53  | -      | -      | -      |
|                   | 癸醛 Decanal   | 8.58  | 15.51 | 10.23 | 14.34 | 5.53  | 5.1    | 8.24   | 20.39  |
|                   | 安息香醛 Benzaldehyde  | 28.19 | -     | -     | -     | 24.02 | 35.18  | 64.77  | 47.46  |
|                   | 苯甲酰甲醛 Phenylglyoxal  | 28.19 | -     | -     | -     | -     | 35.18  | 64.77  | 47.46  |
|                   | (E)-2-癸烯醛 (E)-2-Decenal  | 1.39  | 18.48 | 6.39  | 1.8   | -     | -      | 4.26   | 7.35   |
|                   | (Z)-2-癸烯醛 (Z)-2-Decenal  | 1.39  | 18.48 | 6.39  | 1.8   | -     | -      | 4.26   | 7.35   |
|                   | 2,6,6-三甲基-1-环己烯-1-吡咯甲醛<br>2,6,6-trimethyl-1-Cyclohexene-1-carboxaldehyde | 1.29  | -     | -     | -     | -     | 7.28   | 9.09   | -      |

|  |      |       |       |       |       |        |        |        |
|--|------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|
| 1,3,4-三甲基-3-环己烯-1-吡咯甲<br>醛<br>3-Cyclohexene-1-carboxaldehyde | -    | -     | -     | -     | -     | -      | 9.09   | -      |
| 苯乙醛 Benzeneacetaldehyde                                      | 3.97 | -     | -     | -     | 30.5  | 1.7    | 31.25  | 63.17  |
| 2-羟基-苯甲醛<br>2-hydroxy-Benzaldehyde                           | -    | 13.62 | 24.39 | 5.59  | 17.31 | 33     | 22.44  | -      |
| 3-羟基-苯甲醛<br>3-hydroxy-Benzaldehyde                           | -    | 13.62 | 24.39 | 5.59  | 17.31 | 33     | 22.44  | -      |
| 4-羟基-苯甲醛<br>4-hydroxy-Benzaldehyde                           | -    | 13.62 | 24.39 | 5.59  | 17.31 | 33     | 22.44  | -      |
| (E)-2-十六烯醛<br>(E)-Hexadec-2-enal                             | -    | -     | -     | -     | -     | -      | 4.26   | -      |
| 2,4-辛烯醛 2,4-Decadienal                                       | -    | 11.73 | 9.93  | 18.32 | 5.77  | 41.49  | 61.07  | 59.16  |
| (E,E)-2,4-辛二烯醛<br>(E,E)-2,4-Decadienal                       | 2.79 | 11.73 | 9.93  | 18.32 | 5.77  | 41.49  | 61.07  | 59.16  |
| 2,4-十二碳二烯醛<br>2,4-Dodecadienal                               | -    | 7.15  | 6.1   | 18.32 | 5.77  | 41.49  | 61.07  | 59.16  |
| 柠檬醛 Citral   | -    | -     | -     | -     | -     | 6.31   | 31.25  | 33.09  |
| (Z)-3,7-二甲基-2,6-辛二烯醛<br>(Z)-3,7-dimethyl-2,6-Octadienal      | -    | -     | -     | -     | -     | 6.31   | 31.25  | 33.09  |
| (E)-3,7-二甲基-2,6-辛二烯醛<br>(E)-3,7-dimethyl-2,6-Octadienal      | -    | -     | -     | -     | -     | 6.31   | 31.25  | 33.09  |
| 2,4-壬二烯醛 2,4-Nonadienal                                      | -    | 18.75 | -     | -     | -     | -      | 13.35  | -      |
| (E,E)-2,4-壬二烯醛<br>(E,E)-2,4-Nonadienal                       | -    | 18.75 | -     | -     | -     | -      | 13.35  | -      |
| 2-十一烯醛 2-Undecenal   | -    | 28.99 | 6.39  | -     | -     | -      | -      | -      |
| 2,4-二甲基-苯甲醛<br>2,4-dimethyl-Benzaldehyde                     | -    | 10.52 | 2.85  | 1.8   | -     | -      | -      | -      |
| 3,4-二甲基-苯甲醛<br>3,4-dimethyl-Benzaldehyde                     | -    | -     | 2.85  | 1.8   | -     | -      | -      | -      |
| 2,5-二甲基-苯甲醛<br>2,5-dimethyl-Benzaldehyde                     | -    | -     | 2.85  | 1.8   | -     | -      | -      | -      |
| 2-溴-十八醛<br>2-bromo-Octadecanal                               | -    | -     | -     | -     | -     | -      | -      | 1.67   |
| 十一醛 Undecanal  | -    | -     | -     | 0.31  | -     | -      | -      | -      |
| 6-甲基-5-庚烯-2-酮<br>6-methyl-5-Hepten-2-one                     | 7.18 | 6.47  | 7.28  | 7.7   | 8.71  | 45.86  | 139.47 | 179.15 |
| 2-甲基-1-庚烯-6-酮<br>2-methyl-1-Hepten-6-one                     | 7.18 | 6.47  | 7.28  | 7.7   | 8.71  | 45.86  | 139.47 | 179.15 |
| (E)-香叶基丙酮<br>(E)-6,10-dimethyl-5,9-Undecadien-<br>2-one      | 3.54 | -     | 3.64  | 2.86  | 3.06  | 15.53  | 59.08  | 77.54  |
| (Z)-香叶基丙酮<br>(Z)-6,10-dimethyl-5,9-Undecadien-<br>2-one      | -    | -     | -     | -     | -     | 15.53  | 59.08  | 77.54  |
| 香叶基丙酮<br>6,10-dimethyl-5,9-Undecadien-2-o<br>ne              | -    | -     | -     | -     | -     | 15.53  | 59.08  | 77.54  |
| 1-戊烯-3-酮 1-Penten-3-one                                      | 3.75 | 9.04  | 7.48  | 3.85  | 8.48  | 27.18  | 24.71  | 48.46  |
| 六氢化-1,3-苯并二氧杂环戊烯-2-<br>酮<br>Hexahydro-1,3-benzodioxol-2-one  | 11.9 | 29.13 | -     | 2.17  | 14.48 | 375.37 | 374.11 | 388.05 |

|   |       |       |      |      |      |       |       |       |
|---|-------|-------|------|------|------|-------|-------|-------|
| 4-(2,2,6-三甲基-7-氧杂二环[4.1.0]庚烯-1-基)-3-丁烯-2-酮<br>4-(2,2,6-trimethyl-7-oxabicyclo[4.1.0]hept-1-yl)-3-Buten-2-one                          | -     | -     | -    | -    | -    | -     | 5.4   | -     |
| 1-辛烯-3-酮 1-Octen-3-one  | -     | 6.47  | 3.74 | -    | -    | -     | 1.99  | 11.36 |
| 1-(2-羟苯基)-乙醇<br>1-(2-hydroxyphenyl)-Ethanol   | 3.22  | 2.97  | 3.54 | 3.48 | -    | -     | -     | -     |
| 4'-羟基-苯乙酮<br>4'-hydroxy-Acetophenone  | 3.22  | 2.97  | 3.54 | 3.48 | -    | -     | -     | -     |
| 2,2-二氯-2-氟-1-苯基-乙醇<br>2,2-dichloro-2-fluoro-1-phenyl-ethanol  | 28.19 | -     | -    | -    | -    | 35.18 | 64.77 | 47.46 |
| 4-甲基-2,4,6-环庚三烯-1-酮<br>4-methyl-2,4,6-Cycloheptatrien-1-one   | 3.97  | -     | -    | -    | 30.5 | 1.7   | 31.25 | 63.17 |
| (E,E)-3,5-辛二烯-2-酮<br>(E,E)-3,5-Octadien-2-one   | 13.29 | -     | -    | -    | 4.24 | -     | -     | -     |
| 2-甲基-3-辛酮<br>2-methyl-3-Octanone  | -     | -     | -    | -    | -    | -     | 2.56  | -     |
| 6,7-十二烯二酮<br>6,7-Dodecanedione  | 6.97  | 6.34  | -    | -    | -    | -     | -     | -     |
| (E)-3-辛烯-2-酮<br>(E)-3-Octen-2-one   | 5.47  | -     | -    | -    | -    | -     | -     | -     |
| 2,5-辛二酮 2,5-Octanedione   | 6.97  | -     | 6.49 | -    | -    | -     | -     | -     |
| ϕ-氯代苯丁酮<br>ϕ-Chlorobutyrophenone  | -     | -     | -    | 0.31 | -    | -     | -     | -     |
| 2-乙酰氧基苯乙酮<br>2-Acetoxyacetophenone  | 3.22  | -     | 3.54 | 3.48 | -    | -     | -     | -     |
| (R)-4-甲基-环庚酮<br>(R)-4-methyl-Cycloheptanone   | -     | 63.52 | -    | -    | -    | -     | 84.93 | -     |
| 3,5-辛二烯-2-酮<br>3,5-Octadien-2-one   | 13.29 | -     | -    | -    | 4.24 | -     | -     | -     |
| 3-异亚丙基-5-甲基-4-己烯-2-酮<br>3-Isopropylidene-5-methyl-hex-4-en-2-one  | -     | -     | -    | -    | -    | -     | 9.09  | -     |
| 1,6,6-三甲基-7-(3-氧丁-1-烯)-3,8-双氧三环[5.1.0.0(2,4)]辛烯-5-酮<br>1,6,6-Trimethyl-7-(3-oxobut-1-enyl)-3,8-dioxatricyclo[5.1.0.0(2,4)]octan-5-one | -     | -     | -    | -    | -    | -     | 5.4   | -     |

|                               |   |        |       |        |        |       |       |       |       |
|-------------------------------|---|--------|-------|--------|--------|-------|-------|-------|-------|
| 酯类物质<br>Esters                | 水杨酸甲酯 Methyl salicylate                                     | 162.29 | 223.6 | 208.33 | 126.05 | 189.6 | 67.94 | 12.78 | -     |
|                               | 乙酸芳樟酯 Linalyl acetate                                       | 15.97  | 14.83 | 12.69  | 3.29   | -     | -     | -     | -     |
|                               | N-苄基酯-双甘肽-β-硝基苯酯<br>N-Cbz-glycylglycine p-nitrophenyl ester | -      | -     | 8.36   | 2.73   | 9.77  | 16.26 | 16.48 | -     |
|                               | (E)-3-己酸甲酯 (E)-3-Hexenoic acid, methyl ester,               | 1.29   | 1.08  | 1.08   | -      | -     | 9.71  | 8.24  | -     |
|                               | 砷酸三(三甲基硅烷基)酯<br>Arsenous acid, tris(trimethylsilyl) ester   | 4.07   | 4.05  | 7.38   | 3.6    | 38.74 | 17.47 | 4.26  | 8.02  |
|                               | 甲酸己酯 Formic acid, hexyl ester                               | 12.86  | -     | -      | -      | -     | -     | -     | 43.12 |
| 甲酸辛酯 Formic acid, octyl ester | 5.15  | 20.5   | 8.66  | 14.41  | -      | -     | 8.52  | -     |       |

|                      |  |        |       |        |        |       |        |        |       |
|----------------------|--|--------|-------|--------|--------|-------|--------|--------|-------|
|                      | 2-(1-甲基)氧-安息香酸甲酯<br>Benzoic acid,<br>2-(1-methylpropyl)oxy-, methyl<br>ester | 162.29 | 223.6 | 208.33 | 79.79  | 189.6 | -      | 12.78  | -     |
|                      | 甲酸-2-苄酯 Formic acid,<br>2-methoxyphenyl ester                                | -      | -     | -      | -      | 41.45 | -      | -      | -     |
|                      | 3-己酸甲酯 3-Hexenoic acid,<br>methyl ester                                      | 1.29   | 1.08  | 1.08   | -      | -     | 9.71   | -      | -     |
|                      | 草酸二(2-乙苯基)酯 Oxalic acid,<br>di(2-phenylethyl) ester                          | -      | -     | -      | -      | -     | -      | -      | 93.25 |
|                      | 甲酸庚酯 Formic acid, heptyl<br>ester  | -      | 11.87 | 4.33   | -      | -     | 3.88   | -      | -     |
|                      | n-己酸乙烯酯 n-Caproic acid<br>vinyl ester  | 6.97   | 6.34  | -      | -      | -     | -      | -      | -     |
|                      | (Z)-3-己酸甲酯 (Z)-3-Hexenoic<br>acid, methyl ester                              | 1.29   | 1.08  | 1.08   | -      | -     | 9.71   | 8.24   | -     |
|                      | 甲酸(2-甲基苯基)甲酯 Formic<br>acid, (2-methylphenyl)methyl ester                    | -      | -     | -      | -      | -     | -      | 53.97  | -     |
|                      | 乙酸甲酯 Acetic acid, methyl<br>ester  | 2.14   | -     | -      | -      | -     | -      | -      | -     |
|                      | 氰乙酸庚酯 Cyanoacetic acid,<br>heptyl ester                                      | -      | 11.87 | -      | -      | -     | -      | -      | -     |
|                      | 辛酸乙酯 Octanoic acid, ethyl<br>ester   | -      | -     | 1.28   | -      | -     | -      | -      | -     |
|                      | 苯甲酸-2-丁基-甲酯 Benzoic<br>acid, 2-butoxy-, methyl ester                         | -      | -     | -      | 46.26  | -     | -      | -      | -     |
|                      | 4-己酸甲酯 4-Hexenoic acid,<br>methyl ester                                      | -      | -     | -      | -      | -     | -      | 8.24   | -     |
|                      | 3-甲基-丁酸 3-methyl-Butanoic<br>acid  | 120.48 | -     | -      | -      | -     | -      | -      | -     |
|                      | o-苯胺基羟肟酸<br>o-Aminobenzohydroxamic acid                                      | 162.29 | 223.6 | 208.33 | 126.05 | 189.6 | -      | -      | -     |
|                      | N-碳苄氧基-L-酪胺酰-L-缬氨酸<br>N-carbobenzyloxy-L-tyrosyl-L-valin<br>e                | 3.22   | 5.39  | 8.36   | 2.73   | 9.77  | 16.26  | 16.48  | -     |
|                      | N-à,N-ê-双-苄氧羰基-L-精氨酸<br>N-à,N-ê-Di-cbz-L-arginine                            | -      | 5.39  | -      | -      | -     | -      | -      | -     |
| 酸类物质<br>Acids        | 乙酸 Acetic acid   | 5.25   | -     | -      | -      | 8.83  | -      | -      | -     |
|                      | 己酸 Hexanoic acid   | 50.49  | 35.06 | 23.21  | -      | 41.92 | 122.05 | 126.69 | -     |
|                      | à-(肟基)-苯丙酸<br>à-(hydroxyimino)-Benzenepropano<br>ic acid                     | -      | -     | -      | -      | -     | -      | -      | 94.26 |
|                      | (E)-3-己酸 (E)-3-Hexenoic acid   | 14.36  | 9.71  | 11.02  | -      | 34.86 | 41.25  | 22.72  | -     |
|                      | 5-己酸 5-Hexenoic acid   | -      | -     | -      | -      | 34.86 | 41.25  | -      | -     |
|                      | 4-己酸 4-Hexenoic acid   | 14.36  | 9.71  | 11.02  | -      | 34.86 | 41.25  | 22.72  | -     |
|                      | 顺式-3-己酸 cis-3-Hexenoic acid  | -      | -     | -      | -      | -     | -      | 22.72  | -     |
|                      | 戊酸 Pentanoic acid  | -      | -     | -      | -      | 41.92 | -      | 126.69 | -     |
|                      | 2-己酸 2-Hexenoic acid   | -      | -     | -      | -      | 8.6   | -      | -      | -     |
|                      | (E)-2-己酸 (E)-2-Hexenoic acid   | -      | -     | -      | -      | 8.6   | -      | -      | -     |
|                      | 硝酚肿酸 Roxarsone   | 13.08  | -     | 9.05   | -      | -     | -      | -      | -     |
| 烃类物质<br>Hydrocarbons | 六甲基-环三硅氧烷<br>hexamethyl-Cyclotrisiloxane                                     | 5.79   | 2.02  | 7.38   | 3.6    | 38.74 | 39.31  | 4.26   | 8.02  |

|  |       |       |       |       |       |       |       |        |
|--|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|
| 1,1,1,5,5,5-六甲基-3-[(三甲基硅基)oxy]-三硅氧烷 1,<br>1,1,5,5,5-hexamethyl-3-[(trimethylsilyl)oxy]-trisiloxane | 3.22  | 1.75  | 4.82  | 3.23  | 4.59  | 10.68 | 4.54  | 6.68   |
| 10-甲基-二十烷<br>10-methyl-Eicosane  | 10.93 | 6.47  | -     | -     | -     | 16.26 | 23.29 | -      |
| 八甲基-环四硅氧烷<br>octamethyl-Cyclotetrasiloxane   | 3.22  | 1.75  | 4.82  | 3.23  | 4.59  | 10.68 | 4.54  | 6.68   |
| 十甲基-环戊硅氧烷<br>decamethyl-Cyclopentasiloxane   | 1.72  | 2.97  | 4.52  | 1.86  | 2.59  | 6.07  | 4.54  | -      |
| 十甲基-环己硅氧烷<br>dodecamethyl-Cyclohexasiloxane  | 1.72  | 2.43  | 2.66  | 1.68  | 2.71  | 3.88  | 2.84  | 4.35   |
| 2-(1,1-二甲乙基)-3-甲基-环氧乙烷<br>2-(1,1-dimethylethyl)-3-methyl-Oxirane                                   | -     | -     | -     | 3.04  | 13.07 | -     | -     | -      |
| 3,4-二(1,1-二甲乙基)-2,2,5,5-四甲基-己烷<br>3,4-bis(1,1-dimethylethyl)-2,2,5,5-tetramethyl-Hexane            | 2.04  | -     | -     | 0.99  | 4.24  | -     | -     | -      |
| (3-丁甲基)-环氧乙烷<br>(3-methylbutyl)-Oxirane  | -     | 2.83  | 0.79  | -     | -     | -     | -     | -      |
| (1S)-6,6-二甲基-2-甲烯基-双环[3.1.1]庚烷<br>(1S)-6,6-dimethyl-2-methylene-Bicyclo[3.1.1]heptane              | 0.86  | -     | -     | -     | 0.71  | -     | -     | -      |
| 9-氧双环[6.1.0]壬烷<br>9-Oxabicyclo[6.1.0]nonane  | 18.33 | 63.52 | 27.64 | 19.62 | 12.48 | 42.95 | 84.93 | 129.02 |
| 4-亚甲基-1-(1-乙甲基)-双环[3.1.0]己烷<br>4-methylene-1-(1-methylethyl)-Bicyclo[3.1.0]hexane                  | 23.69 | 20.5  | 5.31  | -     | 8.48  | -     | -     | -      |
| 1-氯-戊烷 1-chloro-Pentane  | 2.25  | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -      |
| 顺式-2-(1,1-双乙甲基)-3-乙基-环氧乙烷<br>cis-2-(1,1-dimethylethyl)-3-ethyl-Oxirane                             | 2.25  | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -      |
| 二十烷 Eicosane   | 22.08 | 56.24 | 5.51  | 14.1  | 7.77  | 79.1  | 52.27 | 223.27 |
| 2,6,10-三甲基-十四烷<br>2,6,10-trimethyl-Tetradecane   | 7.18  | 6.47  | 1.77  | 6.52  | 2.36  | 5.34  | 15.62 | 31.75  |
| 二十一烷 Heneicosane   | 7.61  | 42.48 | -     | 9.19  | 5.42  | 62.6  | 13.92 | 169.46 |
| 二十三烷 Tricosane   | -     | 7.28  | -     | -     | -     | 11.16 | 8.24  | 29.08  |
| 2,6,10,15-四甲基-庚烷<br>2,6,10,15-tetramethyl-Heptadecane  | -     | -     | 3.74  | -     | -     | 5.34  | 20.74 | 24.73  |
| 庚烷 Heptadecane   | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -     | 24.73  |
| 二十四烷 Tetracosane   | 18.44 | 49.76 | -     | 14.1  | 5.42  | 57.51 | 22.72 | 198.54 |
| 二十二烷 Docosane  | 12.86 | 11.46 | 8.66  | 6.27  | -     | -     | -     | 43.12  |
| 1,1-二(十二烷基氧)-十六烷<br>1,1-bis(dodecyloxy)-Hexadecane   | -     | -     | -     | -     | -     | -     | 3.98  | 8.69   |
| 1,4-二(苯甲基)-2,3,5-三氧双环[2.1.0]戊烷 1,4-bis(phenylmethyl)-2,3,5-Trioxabicyclo[2.1.0]pentane             | -     | -     | -     | -     | 30.5  | -     | -     | -      |
| 苯基-环丙烷 pentyl-Cyclopropane   | -     | 20.5  | 8.66  | 14.41 | 4.59  | -     | 8.52  | -      |

|   |       |       |       |       |       |       |       |       |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1-亚甲基-4-(1-亚乙基)-环己烷<br>1-methylene-4-(1-methylethenyl)-Cyclohexane                  | 0.86  | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -     |
| 辛基-环丙烷 octyl-Cyclopropane   | -     | -     | -     | 9.62  | -     | -     | -     | -     |
| 戊基-环氧乙烷 pentyl-Oxirane  | -     | 2.83  | -     | -     | -     | -     | -     | -     |
| 2-亚丙烯-环丁烯<br>2-propenyldiene-Cyclobutene  | 4.18  | 3.78  | 3.64  | 8.57  | 4.48  | -     | -     | -     |
| α-蒎烯 α-Pinene   | 4.72  | 0.67  | 0.69  | -     | 4.48  | -     | -     | -     |
| 3,6,6-三甲基-二环[3.1.1]庚-2-烯<br>3,6,6-trimethyl-Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene                | 3.86  | -     | -     | -     | 4.48  | -     | -     | -     |
| 2-甲基-3-乙基-1,3-己二烯<br>3-ethyl-2-methyl-1,3-Hexadiene                                 | -     | 6.61  | -     | 4.59  | -     | -     | 7.39  | -     |
| 2-甲基-2-丁烯 2-methyl-2-Butene   | 16.4  | 22.66 | 17.12 | 13.29 | 24.26 | 16.26 | 24.43 | 34.76 |
| (1S)-2,6,6-三甲基二环[3.1.1]庚-2-烯<br>(1S)-2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1]hept-2-ene        | 3.86  | -     | -     | -     | 4.48  | -     | -     | -     |
| 3-乙基-1,4-己二烯<br>3-ethyl-1,4-Hexadiene   | 15.54 | 13.76 | 8.07  | -     | 10.36 | 15.77 | 13.35 | 13.04 |
| 1,3,5-环庚三烯<br>1,3,5-Cycloheptatriene  | 7.07  | 6.2   | 4.52  | 8.57  | 4.48  | -     | -     | -     |
| 1-甲基-4-(1-甲乙基)-1,3-环己二烯<br>1-methyl-4-(1-methylethyl)-1,3-Cyclohexadiene            | -     | -     | -     | -     | 0.71  | -     | -     | -     |
| 2,4-辛二烯 2,4-Octadiene   | 15.54 | 13.76 | 8.07  | -     | 10.36 | 15.77 | 13.35 | 13.04 |
| 1-异腈基-2-甲基-苯<br>1-isocyano-2-methyl-Benzene   | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -     | 94.26 |
| 1-甲基-4-(1-亚甲乙基)-环己烯<br>1-methyl-4-(1-methylethylidene)-Cyclohexene                  | 5.79  | 4.45  | -     | -     | 0.71  | -     | -     | -     |
| (2-硝乙基)-苯<br>(2-nitroethyl)-Benzene   | -     | -     | -     | -     | -     | -     | 53.97 | 93.25 |
| (S)-1-甲基-4-(1-甲乙基)-环己烯<br>(S)-1-methyl-4-(1-methylethenyl)-Cyclohexene              | 5.36  | 4.72  | 1.18  | -     | 2.59  | -     | -     | -     |
| (+)-2-薷烯 (+)-2-Carene   | 5.79  | 4.45  | -     | -     | 0.71  | -     | -     | -     |
| 2-甲基-5-(1-甲乙基)-二环[3.1.0]己-2-烯<br>2-methyl-5-(1-methylethyl)-Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene | 1.61  | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -     |
| 4-亚甲基-1-(1-甲乙基)-环己烯<br>4-methylene-1-(1-methylethyl)-Cyclohexene                    | 23.69 | 20.5  | 5.31  | -     | 8.48  | -     | -     | -     |
| α-水芹烯 α-Phellandrene  | 25.3  | 20.5  | 5.31  | -     | 8.48  | -     | -     | -     |
| 4-甲基-1-(1-甲乙基)-二环[3.1.0]己-2-烯<br>4-methyl-1-(1-methylethyl)-Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene | 1.61  | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -     |
| 依兰烯 Ylangene  | 24.23 | 6.88  | 4.72  | 3.97  | 14.6  | -     | 5.68  | -     |
| 1-甲基-3-(1-甲乙基)-苯<br>1-methyl-3-(1-methylethyl)-Benzene                              | 2.89  | 2.43  | 0.89  | -     | -     | -     | -     | -     |

|                 |   |       |       |       |       |       |       |        |        |
|-----------------|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|
|                 | (R)-1-甲基-5-(1-甲基)-环己烯<br>(R)-1-methyl-5-(1-methylethenyl)-Cyclohexene                             | -     | 4.72  | 1.18  | -     | -     | -     | -      | -      |
|                 | D-柠檬烯 D-Limonene  | 5.36  | 4.72  | -     | -     | -     | -     | -      | -      |
|                 | 柠檬烯 Limonene  | 5.36  | -     | -     | -     | -     | -     | -      | -      |
|                 | 甲苯 Toluene  | 4.18  | 3.78  | -     | 8.57  | 4.48  | -     | -      | -      |
|                 | 1-甲基-4-(1-甲基)-苯<br>1-methyl-4-(1-methylethenyl)-Benzene   | -     | 0.94  | -     | -     | -     | -     | -      | -      |
|                 | o-伞花烃 o-Cymene  | 2.89  | -     | 0.89  | -     | -     | -     | -      | -      |
|                 | (+)-4-薷烯 (+)-4-Carene   | 5.79  | 4.45  | -     | -     | -     | -     | -      | -      |
|                 | 丙基苯 propyl-Benzene  | -     | -     | -     | -     | -     | -     | 31.25  | -      |
|                 | 1-乙基-2,4-二甲基-苯<br>1-ethyl-2,4-dimethyl-Benzene  | -     | 2.43  | -     | -     | -     | -     | -      | -      |
|                 | 胡椒烯 Copaene   | 24.23 | 6.88  | 4.72  | 3.97  | 14.6  | -     | 5.68   | -      |
|                 | α-胡椒烯.alfa.-Copaene   | 24.23 | 6.88  | -     | 3.97  | 14.6  | -     | -      | -      |
|                 | 4-乙烯基-1,2-二甲基-苯<br>4-ethenyl-1,2-dimethyl-Benzene   | -     | 0.94  | -     | -     | -     | -     | -      | -      |
|                 | 4,11,11-三甲基-8-亚甲基-双环<br>[7.2.0]-4-十一烯<br>4,11,11-trimethyl-8-methylene-Bicyclo [7.2.0]undec-4-ene | 3.43  | -     | -     | -     | -     | -     | -      | -      |
|                 | 石竹烯 Caryophyllene   | 1.72  | -     | -     | -     | -     | -     | -      | -      |
|                 | 1-亚甲基-1H-茛<br>1-methylene-1H-Indene   | -     | -     | -     | 1.12  | -     | -     | -      | -      |
|                 | 4-乙烯基-1,4-二甲基-环己烯<br>4-ethenyl-1,4-dimethyl-Cyclohexene   | -     | -     | -     | -     | 2.59  | -     | -      | -      |
|                 | 1-壬烯 1-Nonene   | -     | 6.88  | -     | -     | -     | -     | -      | -      |
|                 | 5-甲基-1-己烯 5-methyl-1-Hexene   | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -      | 20.05  |
|                 | 4-甲基-1-己烯 4-methyl-1-Hexene   | -     | -     | -     | -     | -     | -     | 38.92  | -      |
|                 | 2-异丁基噻唑 2-Isobutylthiazole  | -     | -     | -     | -     | 5.77  | 85.17 | 140.04 | 137.71 |
|                 | (2-乙基氮丙啶)胺<br>(2-Aziridinylethyl)amine  | 4.07  | 2.83  | 4.23  | 2.17  | 4     | 6.55  | 4.83   | 13.7   |
|                 | 氨基甲酸铵盐 Carbamic acid,<br>monoammonium salt  | 4.07  | 2.83  | 4.23  | 2.17  | 4     | 6.55  | 4.83   | 13.7   |
|                 | 2-仲-丁基噻唑<br>2-sec-Butylthiazole   | -     | -     | -     | -     | -     | -     | 6.53   | 6.02   |
|                 | 2-戊基-呋喃 2-pentyl-Furan  | 4.29  | 8.77  | 5.11  | 2.55  | 3.3   | -     | -      | 5.35   |
|                 | 2-乙基-呋喃 2-ethyl-Furan   | -     | -     | -     | -     | -     | 5.58  | 1.7    | 3.01   |
|                 | 乙酸铵 Ammonium acetate  | 5.25  | -     | -     | -     | 8.83  | -     | -      | -      |
| 其他类物质<br>Others | N,N-二丁基-二丁基-甲酰胺<br>N,N-dibutyl-二丁基-甲酰胺  | -     | -     | -     | 2.73  | -     | -     | -      | -      |
|                 | 甲氧基-苯基-肟<br>methoxy-phenyl-Oxime  | 19.4  | 36.28 | 34.62 | 19    | 36.27 | 30.09 | 29.83  | 38.77  |
|                 | 2-乙酰-5-甲基呋喃<br>2-Acetyl-5-methylfuran   | 46.09 | 43.56 | 62.26 | 28.69 | 57.23 | 55.08 | -      | -      |
|                 | (苯甲基)-联氨<br>(phenylmethyl)-Hydrazine  | -     | -     | -     | -     | 15.66 | 90.99 | 139.47 | 185.17 |
|                 | 2-甲基苯基-苯酸盐 2-Methylbenzyl<br>benzoate   | -     | -     | -     | -     | -     | -     | 53.97  | 93.25  |
|                 | 3-甲基-丁腈<br>3-methyl-Butanenitrile   | -     | -     | -     | -     | -     | 7.28  | 11.65  | 8.02   |



|  |   |   |      |   |       |   |   |       |
|--|---|---|------|---|-------|---|---|-------|
| 反式-3-丁基四氢化-2-甲基-咪喃<br>trans-3-butyltetrahydro-2-methyl-Furan | - | - | 4.33 | - | -     | - | - | -     |
| 二甲醚 Dimethyl ether   | - | - | -    | - | 27.44 | - | - | -     |
| 3-(己氧基)-丙腈<br>3-(hexyloxy)-Propanenitrile                    | - | - | -    | - | 35.56 | - | - | -     |
| 苯腈 Benzyl nitrile  | - | - | -    | - | -     | - | - | 94.26 |

- 未检测到该挥发物。 Note: - not detected the volatile compound.

# 云南德宏石斛产业发展现状及可持续发展的探讨

李桂林<sup>1</sup>, 李泽生<sup>1</sup>, 高 燕<sup>1</sup>, 周侯光<sup>1</sup>, 罗 凯<sup>1</sup>, 姜 艳<sup>1</sup>, 杨桂芹<sup>2</sup>, 杨恩菊<sup>3\*</sup>,

1. 云南省德宏州热带农业科学研究所, 云南 瑞丽 678600; 2. 保山隆阳区国营新城青年农场, 云南潞江坝 678400; 3. 德宏州林业和草原局, 云南 芒市 678400

**摘要** 历经5年的转型升级, 截止2018年12月, 云南德宏石斛栽培936hm<sup>2</sup>, 全部投产。其中芒市533hm<sup>2</sup>、瑞丽212.6hm<sup>2</sup>、盈江121.73hm<sup>2</sup>、梁河35.87hm<sup>2</sup>、陇川32.8hm<sup>2</sup>; 铁皮石斛784.2hm<sup>2</sup>、兜唇石斛和其它96.87hm<sup>2</sup>、齿瓣石斛54.93hm<sup>2</sup>。鲜条年产量5003吨, 产值24091万元。有72个石斛种植加工企业, 63个石斛协会和专业发展合作社, 辐射带动2175户3247人种植发展石斛, 吸收了1400余人固定劳动力和2000余人富余劳动力就业。针对产业发展中存在的资源濒危、种质不一、种源混杂、缺标准化、产业链短和人才匮乏等问题提出建议。

**关键词** 石斛; 转型升级; 产业现状; 云南德宏

我国石斛产业化始于20世纪90年代, 通过近20年的发展, 目前已形成一定规模, 发展成为科研、生产、加工及销售一体的产业链。据中国石斛专业委员会在2016年中国石斛产业发展论坛上公布的数据, 2013年7月, 全国石斛种植8433.33hm<sup>2</sup>; 截止2016年12月, 全国石斛种植14555.33hm<sup>2</sup>, 3年时间种植面积翻了一番。其中齿瓣石斛总产量约5万吨, 铁皮石斛总产量约3万吨。云南省是最早开展石斛组织培养育苗、人工栽培、产品开发, 并实现规模化生产的省份之一, 20世纪90年代就开始进行石斛规模化栽培的探索。2007年以来发展加快, 组培苗和栽培技术逐步成熟。据云南省石斛科技产业发展规划(2012-2020)公布数据, 云南种植石斛面积从2005年的不到200hm<sup>2</sup>扩大到2011年的近2000hm<sup>2</sup>, 截止2013年7月, 云南种植石斛约5333.33hm<sup>2</sup>。云南已成为我国最大的石斛原料基地<sup>[1]</sup>。随着石斛产业发展的深入, 种植面积的不断扩大, 石斛产业由快速盲目扩张进入了理性的发展, 增速放缓, 市场也出现了新的变化。为推动德宏石斛产业的健康有序发展, 掌握产业发展现状, 在德宏州林业和草原局的协调下, 对德宏石斛产业发展现状进行了调查, 实地考察主要生产基地、电话咨询种植户, 在掌握销售市场的基础上, 全面分析了产业发展现状与存在问题, 提出德宏州石斛产业可持续发展的建议。

## 1 云南德宏石斛产业发展现状

### 1.1 具有发展石斛得天独厚的优势

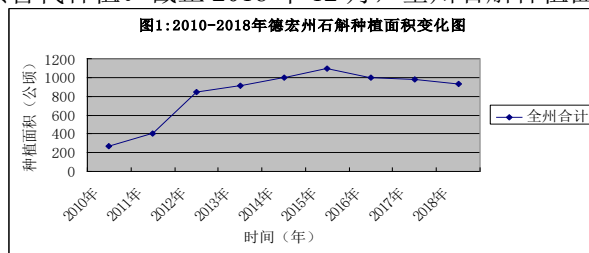
云南德宏冬无严寒, 夏无酷暑, 花开四季、终年结果, 拥有丰富的自然资源、良好的生态环境, 优美的自然风光、适宜石斛生长的海拔和气候条件, 光、热、水、土条件优越, 石斛资源非常丰富。胡永亮公布德宏分布有石斛30种<sup>[2]</sup>, 袁玉美公布德宏州32种、潞西市有14种<sup>[3]</sup>, 李桂林公布瑞丽市有40种<sup>[4]</sup>。德宏属典型的南亚热带季风气候, 热量丰富, 气候温和。最低海拔210m、最高海拔3404.6m, 海拔高差达3194.6m, 垂直气候带谱完整, 呈现出“一山分三带, 十里不同天”的立体气候。年均气温18.4℃-20.3℃, 年降雨量1436-1709mm, 年日照时间2281-2453h。具有发展石斛得天独厚的基础条件、资源和气候优势。

### 1.2 相关数据分析

#### 1.2.1 德宏州石斛种植面积

截止2017年12月全州有石斛种植企业72个, 其中芒市19个、盈江18个、陇川31个、瑞丽4个、梁河0个。合作社63个, 其中芒市41个、盈江5个、陇川9个、瑞丽4个、梁河4个。辐射带动2175户3247人种植发展石斛, 其中芒市1613户2705人、梁河181户101人、盈江53户53人、陇川98户98人、瑞丽230户290人。吸收了1400余人固定劳动力和2000余人富余劳动力就业。

2010年德宏州种植石斛271.6hm<sup>2</sup>, 2011年增加到408hm<sup>2</sup>, 2012年种植面积大幅增加, 有849.47hm<sup>2</sup>; 2013-2015年, 受产品价格调整影响, 大量散户和部分企业退出种植, 有技术和实力的企业稳步发展, 种植面积增幅稳定, 至2015年德宏州种植石斛1098.13hm<sup>2</sup>; 2016-2018年, 兜唇石斛、齿瓣石斛和其它品种石斛退出种植, 铁皮石斛陆续替代种植。截止2018年12月, 全州石斛种植面积有936hm<sup>2</sup>(图1)。

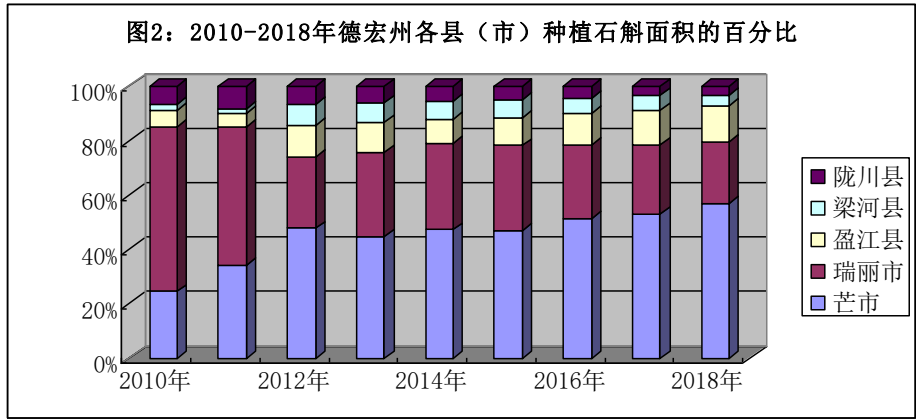


**基金项目** 云南省热带作物科技创新体系建设资金子项目-热带药用植物资源保护及创新利用研究。

**作者简介** 第一作者: 李桂林(1976-), 女, 云南瑞丽人, 研究员、大学本科, 主要从事药用植物资源收集保护与品种评价及栽培技术等研究, E-mail: liguilin1976@126.com; \*通讯作者: 杨恩菊(1971-), 女, 云南盈江人, 高级工程师, 硕士研究生, 主要从事林下经济植物种质资源保护与利用研究, E-mail: 534451127@qq.com。

### 1.2.2 各县（市）种植石斛面积

德宏州石斛种植始于瑞丽，2010年以前，瑞丽种植石斛最多，有164.07hm<sup>2</sup>，其次是芒市，有66.8hm<sup>2</sup>，盈江有16.67hm<sup>2</sup>，陇川有18.53hm<sup>2</sup>，梁河有5.53hm<sup>2</sup>。2011-2015年，是全州石斛产业发展的黄金时期，芒市以其地理、环境和投资优势稳居第一，种植面积持续稳步增长，到2018年，有533hm<sup>2</sup>，占全州石斛总面积的一半以上；瑞丽市种植的品种较多，从2015年的345hm<sup>2</sup>缩减到2018年的212.6hm<sup>2</sup>；盈江县以种植铁皮石斛为主，发展态势良好，从2010年的16.67hm<sup>2</sup>发展到2018年的121.73hm<sup>2</sup>，连续9年稳步增长；梁河县主要以散户种植齿瓣石斛为主，从2010年的5.53hm<sup>2</sup>到2015年的70hm<sup>2</sup>，增幅超过10倍。受齿瓣石斛产品价格影响，2016年以后大量散户和企业退出种植，至2018年只有35.87hm<sup>2</sup>。陇川县主要种植铁皮石斛和兜唇石斛，2010年有18.53hm<sup>2</sup>，2014年有56hm<sup>2</sup>，以后兜唇石斛逐渐退出种植，至2018年只有32.8hm<sup>2</sup>（图2）。



### 1.2.3 德宏州种植石斛品种

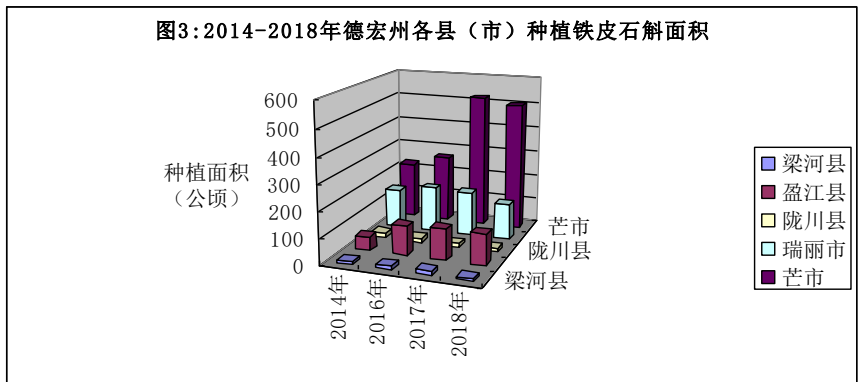
2003年以前，因为种苗缺乏，德宏州以散户种植当地本土齿瓣石斛、兜唇石斛、兜唇石斛、金钗石斛、大苞鞘石斛、关节石斛、球花石斛等野生种质为主。2003年以后铁皮石斛和齿瓣石斛种苗陆续上市，部分有经验的农户和企业尝试种植铁皮石斛和齿瓣石斛组培苗，但是因为技术问题，走了不少弯路。经过长期的探索和积累经验，2003年以后规模化种植石斛获得成功。

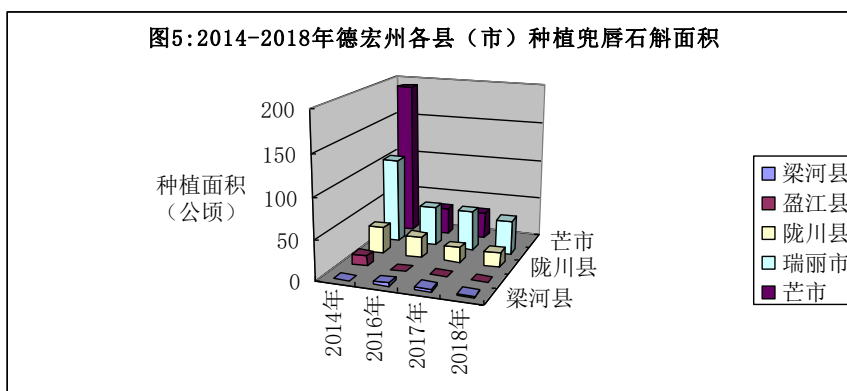
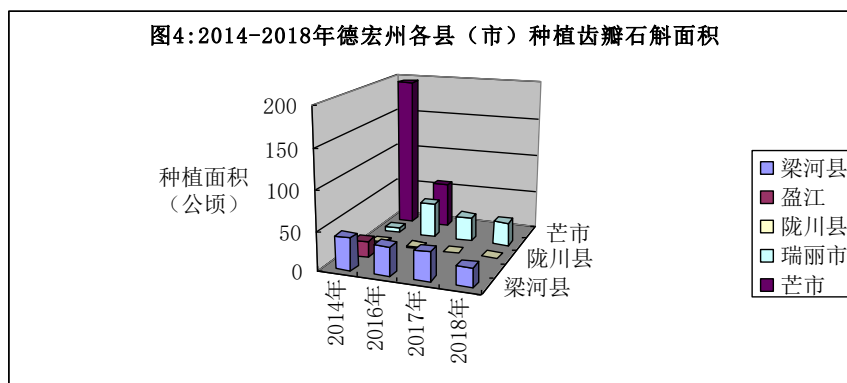
铁皮石斛适宜全州各个县市种植，但因种苗供不应求，2010年只有66.67hm<sup>2</sup>左右；在高利润的拉动下，2011-2014年种植面积暴涨，截止2014年12月，全州种植铁皮石斛459.8hm<sup>2</sup>；经过2014-2018年的市场转型升级，市场稳定的企业逐年稳步投资铁皮石斛，加之前期种植兜唇石斛和齿瓣石斛的企业转型种植铁皮石斛，截止2018年12月，全州种植铁皮石斛784.2hm<sup>2</sup>，其中芒市499.93hm<sup>2</sup>，瑞丽140.2hm<sup>2</sup>，盈江121.33hm<sup>2</sup>，陇川13.67hm<sup>2</sup>，梁河9.07hm<sup>2</sup>。2017年至今，铁皮石斛又经历一次转型升级，浙江种逐渐替代其它来源的种质（图3）。

齿瓣石斛是德宏本土原产地石斛，2007年以前全州各个县市都在尝试种植，但是齿瓣石斛对环境要求比较严格，全州只有梁河、芒市和瑞丽的高海拔乡镇种植成功，2010年种植有66.67hm<sup>2</sup>。在经济效益的带动下，2010年以后种植面积暴涨，截止2014年有266.13hm<sup>2</sup>。受齿瓣石斛产品价格跳崖式下跌影响，2016年以后大量散户和企业退出种植，到2018年全州种植54.93hm<sup>2</sup>，其中梁河24.53hm<sup>2</sup>，瑞丽24.93hm<sup>2</sup>，陇川0.47hm<sup>2</sup>（图4）。

兜唇石斛因野生资源丰富和管理粗放，率先实现规模化种植并获得了较好的经济效益，2010年种植超过133.33hm<sup>2</sup>，占全州总面积的50%以上，2013年超过266.67hm<sup>2</sup>。2013年以后受兜唇石斛产品滞销影响，种植面积大幅缩减，到2018年只有96.87hm<sup>2</sup>，其中瑞丽42.47hm<sup>2</sup>，芒市33.07hm<sup>2</sup>，陇川18.67hm<sup>2</sup>，梁河2.67hm<sup>2</sup>（图5）。

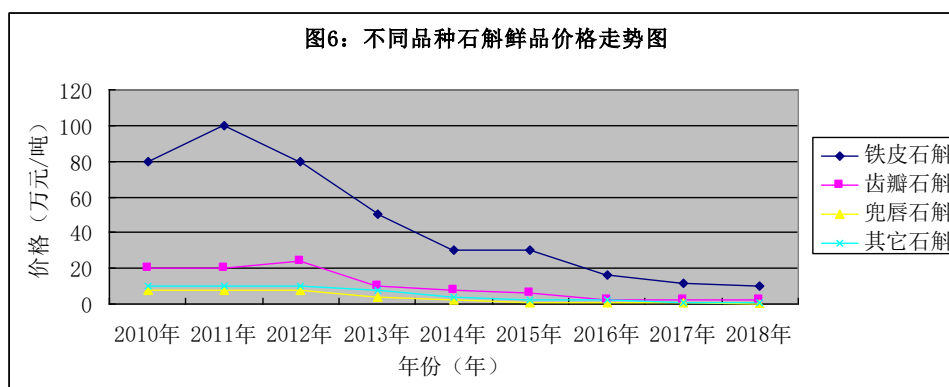
从整体布局来看，目前，全州石斛种植以铁皮石斛浙江种为主，来源混杂的铁皮石斛、兜唇石斛、齿瓣石斛和其它品种石斛逐渐退出市场，高端品种如梳唇石斛、草石斛等将逐渐投入种植。





#### 1.2.4 石斛产品价格

铁皮石斛鲜品从2010年的800-1000元/公斤到2018年的100元/公斤,齿瓣石斛从2010年的180-240元/公斤到2018年的24元/公斤,兜唇石斛从2010年的60-80元/公斤到2018年的滞销,其它品种从2010年的40-100元/公斤到2018年的10-20元/公斤,整个行业产品价格呈现断崖式下跌(图6)。

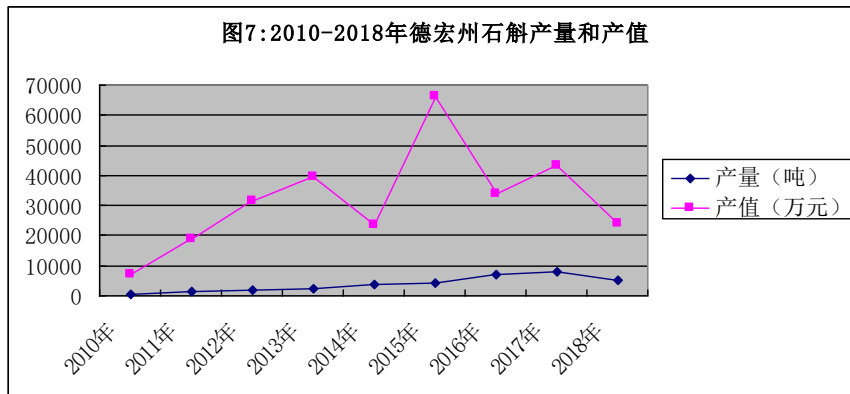


#### 1.2.5 全州石斛产量和产值

2010年德宏州石斛产量556吨,产值6984万元;2011-2014年,产量从1248吨涨到3716吨,产值从18991万元涨到23647万元;2015年4433吨产量获得66045万元的历史最高产值。受产品价格调整影响,2016-2017年产量高达7020-8087吨,产量比2015年翻一番,产值只有33954-43203万元,比2015年减少一倍。2018年受大量种植园翻新种植影响,产量下降到5003吨,产值也只有24091万元(表1、图7)。产值完全受市场和品种控制,不随产量的提高而增加。

**表1:2010-2018年德宏州石斛产量和产值**

| 年份(年)  | 2010 | 2011  | 2012  | 2013  | 2014  | 2015  | 2016  | 2017  | 2018  |
|--------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 产量(吨)  | 556  | 1248  | 2083  | 2583  | 3716  | 4433  | 7020  | 8087  | 5003  |
| 产值(万元) | 6984 | 18991 | 31687 | 39294 | 23647 | 66045 | 33954 | 43203 | 24091 |



### 1.3 发展历程

#### 1.3.1 起步阶段（1999-2006 年）

德宏州人工种植石斛始于 20 世纪 90 年代初期，瑞丽市勐秀乡雷家寨有个别村民率先在自家房前屋后用瓦片搭简易层架种植齿瓣石斛，获得了较好的经济效益，带动周边的农民效仿种植。但是，由于没有技术指导，病虫害防控不当，种植石斛成活率不高，没有实现可持续发展。云南省德宏热带农业科学研究所 2000 年获得省科技厅首次立项支持石斛相关研究，掌握了种苗繁育和人工种植技术，解决了桎梏石斛人工栽培的种苗和种植技术瓶颈，为石斛产业化发展做了超前研究和示范。2002 年起，免费提供石斛种苗，指导小街村麻坎地的农户在柑橘树上、茶叶树上人工仿野生种植石斛，并取得了一定的经济效益。随之，农民在总结仿野生栽培成功的基础上，在杉木边皮上进行集约化种植石斛，并推广开来。2003 年起，齿瓣石斛种苗在全州少量推广，梁河扶贫办投入 4.5 万元到我所购买齿瓣石斛种苗 3 万丛，扶持贫困户发展石斛产业，部分村民种植成功，获得了一定的经济效益。受种苗不足限制，畹町农场职工利用加工兜唇石斛枫斗的废料，率先利用竹木边皮种植兜唇石斛，并获得了较好的经济效益。之后大量浙商在收购德宏野生石斛鲜品之余，看到德宏优越的自然优势，分别在德宏的芒市、盈江、瑞丽、梁河、陇川、畹町租地种植石斛。

#### 1.3.2 飞速发展阶段（2007-2012 年）

2007 年全州石斛产业发展现场会在瑞丽市户育乡岭瑞农业开发有限公司召开，全州种植石斛的企业和农户代表纷纷到会观摩；紧接着在德宏州人民政府的支持下，“首届石斛产业发展论坛”在芒市顺利召开。部分有远见和有技术的农户和企业陆续投资，规模化发展石斛。随之，德宏州出台相关政策，把石斛作为德宏州优势特色产业重点培植扶持。2009 年，各个县（市）市委市政府纷纷牵头成立石斛产业发展工作领导小组，办公室设在林业局，由市政协牵头负责各县（市）石斛产业的发展。政府、林业、财政、金融等部门相继出台政策扶持石斛产业。2010-2013 年，德宏州财政局持续 4 年拨付专项资金，林业局负责实施，实地测量农户种植石斛面积，按面积以奖代补的形式扶持当地农民发展石斛产业。石斛在德宏落地生根，产业惠及千家万户，石斛的高价位市场，让先吃螃蟹并掌握技术的人狠赚了一把，个别种植户和企业创造了亩收入几十万元甚至上百万元的传说，种植户一夜暴富的神话陆续呈现。农民种植石斛积极性高涨，企业投资蜂拥而至，德宏石斛产业呈现出一片欣欣向荣的景象。2012 年 12 月，第六届中国石斛产业发展论坛再次回到发起地芒市召开，同时中国中药协会授予芒市“中国石斛之乡”的美誉。紧接着国家质检总局审批通过了“芒市石斛”国家地理标志产品原产地保护，芒市、瑞丽先后被云南省科技厅认定为“云药之乡”，以石斛为主导药材重点发展。德宏成为了全国石斛产业有一定影响力的地方。

#### 1.3.3 理性回归阶段（2013-2018 年）

2013 年以后，国内石斛市场行情急剧下滑，石斛产品价格遭遇滑铁卢，产业发展理性回归，石斛产业由快速盲目扩张进入了理性的发展，增速放缓，市场也出现了新的变化。历经 4 年调整，兜唇石斛、金钗石斛、大苞鞘石斛等品种逐渐退出种植，齿瓣石斛受种植地环境限制，只在梁河、芒市有少量种植，铁皮石斛牢牢占领市场；2016 年以来德宏州引入大量投资，发展多样化产业经济，征用了大量连片石斛园，同时，受管理技术和投资成本限制经济发展，大量散户逐渐退出种植，有种植经验的散户和有一定经济实力的企业稳定支撑产业。

## 2 存在的问题

- 2.1 生态环境日趋破坏和人为“掠夺性”采摘，导致德宏石斛野生资源严重破坏，多种石斛处于濒危状态，石斛资源保育刻不容缓。
- 2.2 种植的品种不一，兜唇石斛、齿瓣石斛和其它品种石斛亟待调整。
- 2.3 种质来源混杂，随着人工栽培的迅猛发展，栽培品种性状分离，产品质量难保证，云南道地品种选育刻不容缓。

不容缓。

2.4 栽培技术不规范，为追求高产，化肥、农药施用过量导致的药材质量下降、功效减退、安全堪忧等问题日益凸显。

2.5 产业融合发展程度不够，产品单一，产业链短，目前市场上的石斛产品主要为鲜条、干品、枫斗、胶囊、石斛花、石斛茶、石斛酒等初加工产品，无深加工产品，技术含量低，产品附加值低。

2.6 品牌辐射带动能力弱，整体实力不强，产业链以石斛原料输出为主，德宏本土消费市场依旧没有形成规模，抗产品过剩和价格下降的风险能力不足。

2.7 产业发展人才匮乏，产业涉及多学科领域的知识与技术，科技含量高，风险大，对专业技术人才队伍的建设尤为重要。由于边疆地区条件艰苦，待遇不高，对专业化人才的引进、稳定已经成为边疆的一大难题，影响了产品升级换代和管理水平提升。

### **3 发展对策**

#### **3.1 坚持政府引导，市场主导**

在国家、省、州政策引导下，加强政府在统筹规划布局、基础设施建设、投融资环境优化、产业标准建设、产业化示范、行业监管等方面的作用，加强宏观指导和政策协调，引导石斛产业科学规范发展。

#### **3.2 坚持创新引领，科技支撑体系**

坚持以科技为核心的全面创新，提升产业核心竞争力。对本土资源实施迁地保育、完成铁皮石斛云南道地品种选育、完成生产技术提升和全产业链技术研发。

#### **3.3 坚持突出特色，品牌带动**

立足区位、生态、环境、资源等优势，因地制宜，以云南“绿色食品品牌”创建“有机化、产品化、规模化、名牌化”4大关键点为引领，建设铁皮石斛资源保护研究中心和优势联盟、集成推广有机铁皮石斛种植技术体系，将全州铁皮石斛集中优势区域的龙头企业强强联合，打造德宏铁皮石斛绿色品牌，实现共赢发展。

致谢：本文调查过程中得到了德宏各个县市林业和草原局的支持，谨此致谢！

#### **参考文献**

[1]云南省科学技术厅.云南省石斛科技产业发展规划(2012-2020):1-10.

[2]胡永亮,白燕冰,赵云翔,李桂琳.德宏地区药用石斛资源调查与保护利用[J].热带农业科技.2009,32(1):33-35.

[3]袁玉美.潞西市石斛种质资源及栽培技术[J].林业调查规划.2005.30(2): 112~114.

[4]李桂琳,胡永亮,周侯光.瑞丽石斛资源调查及产业化发展现状[J].中国热带农业.2012(4):28-31.

# 香花油茶果壳芯提取物药理活性研究

杨 漓, 李桂珍, 谷 瑶\*

广西壮族自治区林业科学研究院, 530022

**摘要** 该文章对香花油茶果壳芯提取物抗肿瘤活性、抗血栓作用做了探索并分离其主要成分。细胞毒性测试显示: 通过增加细胞内钙离子和活性氧的释放, 抑制细胞的迁移和侵袭, 粗提物对膀胱癌细胞 T-24 表现出良好的抑制作用; 抗血小板聚集效果测试显示: 粗提物对大鼠具有抗血栓作用。通过 LC-Q-TOF / MS 进一步分析了果壳芯抗血栓活性的主要化学成分结构, 发现主要功效成分是鞣花酸及其衍生物。

**关键词** 香花油茶; 抗肿瘤; 抗血栓; 鞣花酸

**Abstract** In this study, the antitumor activity and antithrombotic effect of the core extract of *Camellia osmantha* fruit were investigated and the main components were separated. Cytotoxicity tests showed that crude extracts showed a good inhibitory effect on bladder cancer cell T-24 by increasing the release of intracellular calcium ions and reactive oxygen species, inhibiting cell migration and invasion. The antiplatelet aggregation effect test showed that the crude extract had antithrombotic effect on rats. The main chemical composition of the antithrombotic activity of the *Camellia osmantha* fruit core was analyzed with LC-Q-TOF / MS, and it was found that the main functional component was tannic acid and its derivatives.

**Keywords** *Camellia osmantha*; antitumor activity; antithrombotic effect; tannic acid

香花油茶 (*Camellia osmantha*) 是中国广西新认定的油茶良种, 灌木, 具有白色, 略带香气和倒卵形的前叶, 果壳芯在广西地方被当作凉茶冲泡饮用。对油茶的其他研究揭示了油茶果实的药理活性, 包括抗氧化, 杀菌, 抗菌, 抗炎, 抗高血压和抗肿瘤作用 (Ye et al.2012,Zong 等, 2016)。化学成分研究证明, 多糖 (Yang 等人, 2015) 和皂苷 (Yan 等人, 2016, Zhang 等, 2012) 是抗肿瘤活性的主要成分 (Jin 2012, Zong 等, 2015)。我们用 80%乙醇提取的香花油茶果壳芯, 测试了粗提物对 MGC-803, T-24,5637, EJ, BEL-7402 和 Hela 细胞系的抗肿瘤活性; 为了探索果壳芯的抗血栓作用, 我们测定了香花油茶果壳芯不同极性提取物对大鼠的 TT, APTT, PT 和 FIB 的影响。同时测定了这些提取物的抗血小板聚集效果, 并通过 LC-Q-TOF / MS 进一步分析了果壳芯的主要化学成分结构, 为香花油茶果壳的开发利用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品准备

在广西南宁收集香花油茶果壳芯 (200g)。将其干燥, 粉碎, 并通过 80 目筛。将样品用 80%乙醇萃取三次并过滤。减压蒸馏除去溶剂, 得到 2.02g 粗产物 (TF), 棕色固体。将粗提物溶解在水中, 并使用 MCI-凝胶 CHP 20P 柱, 通过用 0, 50% 和 100% 甲醇梯度洗脱分离成三个组分 (Fr 1-3)。将所有组分置于在 -4℃ 下储存。

### 1.2 仪器和试剂

肝细胞系, MGC-803 人胃癌细胞系, 人膀胱癌细胞系 (T-24,5637 和 EJ), Hela 人宫颈癌细胞系和 7402 人肝癌细胞系来自中国科学院上海细胞生物学研究所。体重 220-250 克的 Wistar 大鼠 (广西右江民族医学院动物实验中心)。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 细胞培养

将细胞株置于含有 5% 胎牛血清, 100U / mL 青霉素或 RPMI-1640 培养基的 DMEM 培养基中, 并在含有 5%CO<sub>2</sub> 的 37℃ 培养箱中培养。在显微镜下间隔观察细胞, 在细胞生长至 80% 至 90% 后, 用 0.05mol / L PBS 的缓冲溶液 (pH = 7.43) 洗涤两次。用 0.25% 胰蛋白酶消化传代, 并使用对数生长细胞进行实验。

#### 1.3.2 细胞活力测试

通过 MTT 法测定细胞活力 (Elbaz 等人, 2012)。将对数生长期的 7 个细胞系以  $1.0 \times 10^4$  个细胞 / mL 的密度接种于 96 孔板中。在实验组中, 加入含有 HAM / F12 培养基的样品, 浓度为 1,2,5,10 和 40 $\mu$ g / mL, 对照组用同上浓度的 DMSO 代替样品。孵育 24 和 48 小时后, 加入 5g / L 的 MTT 溶液。4 小时后加入 150 $\mu$ L DMSO 吸出上清液并摇动。混合并溶解晶体后, 用酶联免疫检测器在 490nm 处测量 OD 值, 每个剂量平行重复 4 次。根据下式计算抑制率: 抑制率 =  $(1 - A_{\text{测试}} / A_{\text{对照}}) \times 100\%$ 。通过 Bliss 方法计算每种级分对各种细胞系的半抑制浓度 (IC<sub>50</sub>)。所有实验重复三次并取平均值。

#### 1.3.3 Hoechst 33342 染色细胞凋亡的形态学分析

根据文献 (Tan 等人, 2015), 通过用 Hoechst 33342 染色观察 T-24 的形态。将对数生长期, 密度为  $2.5 \times 10^5$  个细胞 / mL 的 T-24 细胞接种到 24 孔板中。加入 24 $\mu$ g / mL Fr-3 24 小时后, 吸出培养液, 加入 4% 多聚甲醛固定 2 小时, 然后用 PBS 漂洗两次。最后, 加入 200 $\mu$ L Hoechst 33342 染色溶液, 终浓度为 20 $\mu$ mol / L, 在黑暗中染色 30 分钟, 再次用 PBS 漂洗两次。用倒置荧光显微镜观察照片。

### 1.3.4 细胞内钙离子释放的测定

通过观察细胞内钙离子的释放评估细胞毒性(Driesbaugh 等, 2014)。加入浓度为 12 和 24 $\mu\text{g}/\text{mL}$  的 Fr-3, 在不同反应时间收集 T-24 细胞, 用 0.1% 的 RPMI1640 洗涤细胞两次, 用 0.25% 的台盼蓝染色, 活细胞计数。将细胞悬浮液在 37 $^{\circ}\text{C}$  预热 5 分钟, 然后用 PBS 和无钙的台式缓冲液洗涤 2 至 3 次, 加入 100 $\mu\text{L}$  Fluo-3 / AM 染料溶液并在 37 $^{\circ}\text{C}$  下孵育 45 分钟。使用激光扫描共聚焦显微镜 40 倍物镜记录细胞的荧光强度, 激光波长为 488nm, 细胞的荧光强度反映了  $\text{Ca}^{2+}$  的浓度。

### 1.3.5 测定 T-24 细胞中的活性氧生成状态

用不同浓度的 Fr-3 (12, 24 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 处理 24 $\mu\text{L}$  T-24 细胞悬浮液 ( $1 \times 10^6 / \text{mL}$ ) 24 小时, 然后用 PBS 洗涤两次。在通过以 1500rpm 离心 5 分钟除去上清液后, 向每个管中加入 5 $\mu\text{mol}/\text{L}$  的 DCFH-DA 2mL。加入 2mL PBS 作为对照组。在恒温水浴中于 37 $^{\circ}\text{C}$  振荡 20 分钟后, 以 1500r / min 离心 5 分钟, 向上清液中加入 600 $\mu\text{L}$  PBS, 反应后通过荧光显微镜测量绿色荧光强度。亚激光器的激发波长为 488nm, 功率为 10mW。

### 1.3.6 细胞伤口愈合试验

通过划痕试验测量 T-24 细胞迁移 (Jiang 等, 2010)。将 T-24 细胞接种在 6 孔板中, 每孔细胞浓度为  $5 \times 10^5 / \text{mL}$ 。当细胞几乎充满时, 使用 200 $\mu\text{L}$  移液管尖端在细胞中间绘制痕迹。用 0, 12 和 24 $\mu\text{g}/\text{mL}$  Fr-3 处理后 0 小时和 36 小时, 使用荧光显微镜捕获图像。用 PBS 洗涤漂浮的细胞。加入由不同浓度 (12, 24 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 的 Fr-3 处理的小鼠 (*Mus musculus*) 胚胎成纤维细胞 (NIH-3T3) 的上清液 (诱导迁移)。用倒置荧光显微镜在 0, 36 和 48 小时拍摄照片。

### 1.3.7 血小板聚集效果测定

用 1% 戊巴比妥麻醉 Wistar 大鼠, 然后从腹主动脉收集血液样品。根据血液: 抗凝血剂 = 9: 1 的比例将所有收集的样品置于含 3.8% (w/v) 的柠檬酸钠离心管中。通过在 25 $^{\circ}\text{C}$  下以 160 $\times\text{g}$  离心 10 分钟获得上清液富血小板血浆 (PRP)。随后, 将剩余的血液样品以 2000 $\times\text{g}$  离心 10 分钟以获得贫血小板血浆 (PPP)。通过添加 (或不添加) 不同提取物在洁净的测试杯进行血小板聚集测定, 其中用 ADP 以 5 $\mu\text{mol}/\text{L}$  的终浓度诱导。生理盐水 (NS) 作为空白对照和阿司匹林作为阳性对照, 观察 6 分钟内的最大聚集率 (MAR)。计算聚集抑制率 (AIR):

$$\text{AIR} (\%) = (\text{NCAR} - \text{EAR}) / \text{NCAR} \times 100\%$$

NCAR: 无治疗对照组聚合率

EAR: 实验组聚合率

### 1.3.8 测定果实核心对大鼠的凝固功能

使用凝血酶时间 (PT), 活化部分促凝血酶原激酶时间 (APTT) 和凝血酶时间 (TT) 测定来评估凝血效果。大鼠动脉的新鲜血液以 9: 1 比例与抗凝血剂混合, 3000rpm 离心 10 分钟获得血浆。将 0.2 $\mu\text{L}$  样品加入到 0.4 $\mu\text{L}$  血浆中得到混合血浆。根据试剂盒要求进行测定, 每个样品测量三次。

### 1.3.9 HPLC-MS 的成分分析

使用 DIONEX U-3000 HPLC 进行样品的化学组成分析。梯度洗脱分离。YMC-C18 反相柱; 流速: 1.0 mL / min; 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$ 。液相色谱条件是流动相 A: 乙腈 + 0.04% TFA, 流动相 B: 水 + 0.04% TFA。梯度洗脱程序: 0 分钟至 20 分钟, A: 10%  $\rightarrow$  60%, B: 90%  $\rightarrow$  40%。

用于 MS 分析的色谱系统使用 Supelcosil ABZ + PLUS 柱 (150mm $\times$ 4.6mm, 3 $\mu\text{m}$ ), 0.1% 甲酸水作为流动相 A, 0.1% 甲酸甲醇作为流动相 B。线性梯度为 0-3 分钟, 30%B; 3-7 分钟, 30-100%B; 7-10 分钟, 100%B, 流速 0.3 mL / min, 检测波长 210 和 254 nm, 进样量 0.3 $\mu\text{L}$ 。质谱仪使用电喷雾电离源 (ESI), 负离子扫描, 扫描范围 ( $m/z$ ): 100~1 500; 干气流速 8 L / min, 雾化器压力 20 psi, 鞘气温度 350 $^{\circ}\text{C}$ , 鞘气流速 11 L / min, 毛细管电压 3500 V。

### 1.3.10 统计分析

实验数据一式三份进行。将数据记录为平均值和标准偏差, 用 SPSS 19.0 分析。

## 2 结果和分析

### 2.1 对七种细胞系的抑制作用

使用六种肿瘤细胞和一种正常细胞系通过 MTT 试验筛选香花油茶芯不同部位的抗肿瘤作用。从表 1 中可以看出, TF, Fr-2 和 Fr-3 对 T-24 细胞具有良好的抑制效率,  $\text{IC}_{50}$  分别为 6.7 $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 6.9 $\mu\text{g}/\text{mL}$  和 6.7 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。然而, Fr-1 对各种细胞系的  $\text{IC}_{50}$  值超过 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。在测试浓度下, 所有样品几乎肯定对正常 WI-38 人胎儿肺成纤维细胞无毒。



表 1. 香花油茶提取部位对七种细胞的 IC<sub>50</sub>

|             | 肿瘤细胞       |           |            |            |            |            | 人胎儿肺成纤维细胞  |
|-------------|------------|-----------|------------|------------|------------|------------|------------|
|             | MGC-803    | T-24      | 5637       | EJ         | BEL-7402   | Hela       | WI-38      |
| <b>TF</b>   | 15.9 ± 0.8 | 6.7 ± 1.3 | 11.2 ± 0.9 | 18.1 ± 1.4 | 26.5 ± 1.7 | 20.5 ± 0.6 | >40        |
| <b>Fr-1</b> | >40        | >40       | >40        | >40        | >40        | >40        | >40        |
| <b>Fr-2</b> | 13.7 ± 1.1 | 6.9 ± 0.9 | 14.3 ± 0.8 | 16.5 ± 0.7 | 20.4 ± 0.4 | 18.3 ± 0.9 | >40        |
| <b>Fr-3</b> | 10.2 ± 1.5 | 6.7 ± 1.7 | 8.2 ± 1.2  | 12.2 ± 0.4 | 12.6 ± 0.8 | 13.2 ± 0.4 | 38.9 ± 0.9 |

## 2.2 用 Hoechst 33342 染色的 Fr-3 诱导的 T-24 细胞凋亡的形态学变化

从图 1 中可以看出，活细胞粘附生长，密度均匀，细胞核饱满，结构正常。用 Fr-3 处理后，贴壁细胞明显减少，收缩，变圆，脱落细胞逐渐增加。此外，凋亡细胞的形态逐渐改变：细胞核明显收缩和变形，部分细胞染色浓密，致密，边缘化程度高。根据切割成片段或产生凋亡小体，判断细胞死亡数量。结果表明 Fr-3 可以引发 T-24 细胞的早期凋亡。

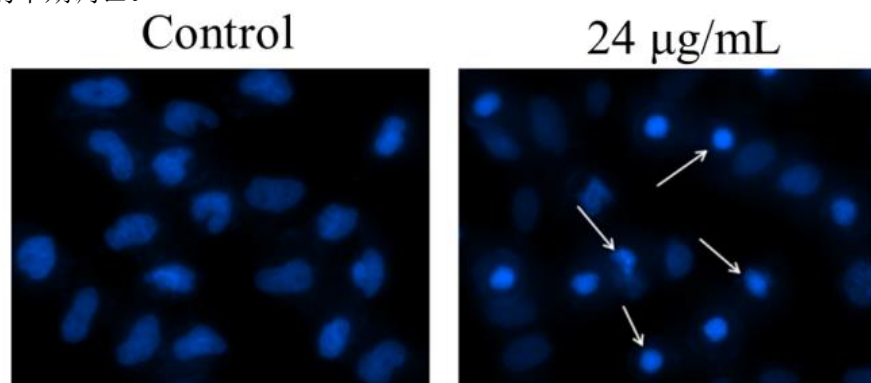


图 1 处理 24 小时后 Fr-3 诱导的 T-24 形态学变化

## 2.3 用 Fr-3 处理的 T-24 细胞中钙和活性氧 (ROS) 的释放

图 2 显示用 Fr-3 处理 24 小时的 T-24 细胞中细胞内钙离子和 ROS 的释放。从图中可以看出，与对照组相比，用 Fr-3 处理的细胞显示出更亮的绿色荧光。增加 Fr-3 浓度后，绿色荧光强度显著增加。表明钙离子从细胞中释放出显著增加，并受浓度-效应关系的影响。同样，绿色荧光强度显著增加，药物浓度增加，表明释放的活性氧量显著增加。结果表明，Fr-3 可以有效地导致 T-24 细胞中活性氧的增加。

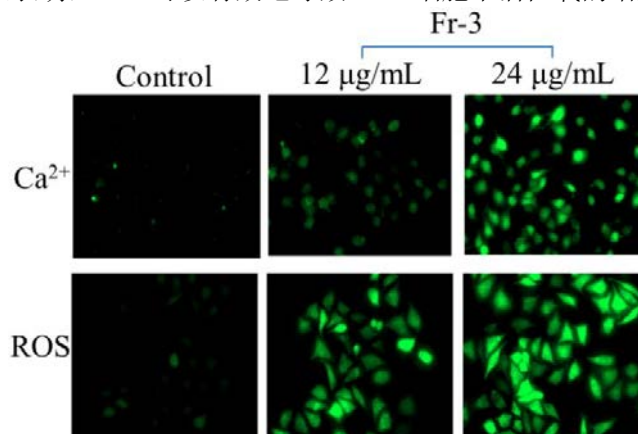


图 2 通过 Fluo-3 AM / DCFH-DA 在 T-24 细胞中检测到 Ca<sup>2+</sup>和 ROS 的积累

## 2.4 抑制细胞迁移

如图 3 和表 2 所示，Fr-3 应用于 T-24 细胞，与对照组相比，T-24 细胞的迁移能力受到显著抑制，高浓度时的抑制作用 (24µg/ mL) 比低浓度 (12µg/ mL) 更强。结果表明，Fr-3 抑制 T-24 细胞迁移，与使用剂量呈正相关。

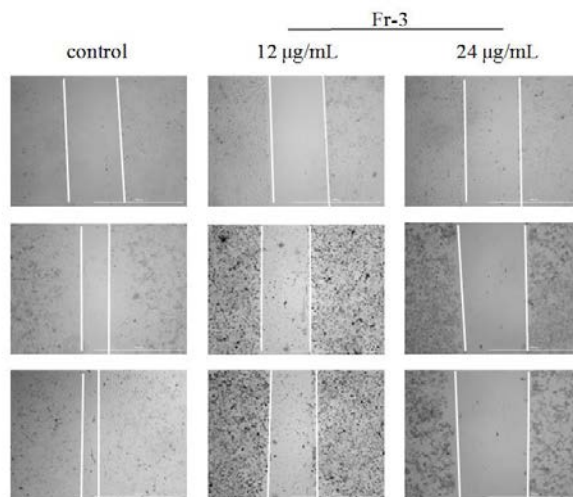


图 3 Fr-3 对 T-24 细胞体外迁移能力的影响

表 2 对照和 Fr-3 对划痕伤口模型中 T-24 细胞迁移的影响

| 参数   |      | 控制组   | 12 µg/mL | 24 µg/mL |
|--|------|-------|----------|----------|
| 迁移区域<br>(10 <sup>5</sup> µm <sup>2</sup> ) | 0 h  | 9.028 | 9.329    | 8.891    |
|  | 36 h | 3.759 | 7.980    | 10.98    |
|  | 48 h | 2.948 | 7.894    | 12.37    |

从表 2

的迁移区域数据（通过 Image J 软件计算）可以看出，随着时间的增加，对照组的迁移面积逐渐减小。Fr-3 处理 12µg/mL 后，迁移面积随着时间逐渐增加，并且速度也逐渐降低。然而，当 Fr-3 的浓度增加至 24µg/mL 时，迁移面积随时间增加，这可能是由于细胞逐渐死亡和悬浮。由此推断，Fr-3 可以有效抑制 T-24 细胞的迁移。

### 2.5 香花油茶果实芯提取物对血小板聚集的影响

香花油茶果实芯的血小板聚集最大速率的结果如图 4 所示。与对照组相比，TF、Fr 2 和 Fr 3 降低了大鼠血浆中血小板的最大聚集率。Fr-3 对 AIR 的抑制效果最好，为 37.61%，其次为 Fr-2，AIR 为 36.04%，差异有统计学意义。结果表明，香花油茶果壳芯可能对大鼠具有抗血栓作用。另外，阳性组（阿司匹林组）中血小板的 AIR 为 29.80%，与空白组有显著差异。TF 的 AIR 为 32.07%，显示出抑制血小板聚集的趋势（P=0.064）。结果表明，香花油茶果壳芯提取物抑制血小板聚集的趋势。Fr-2 和 Fr 3 对血小板具有显著的抑制作用，并且可以用于抗血栓形成作用的活性级分。

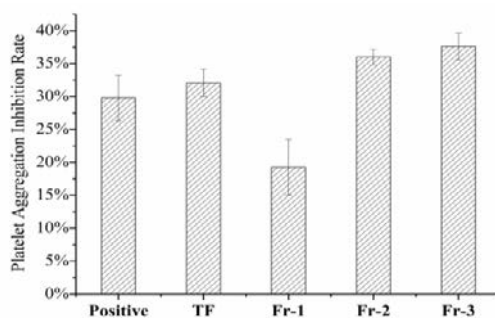


图 4 血小板抑制率效果图

### 2.6 香花油茶果实芯提取物对大鼠凝血的影响

与空白对照组相比，香花油茶壳芯中的 TF, Fr-2 和 Fr-3 可显著缩短大鼠血浆的 TT，具有统计学差异，表明这些提取物/级分具有抗凝血样物质，其缩短大鼠 TT 并防止血液凝结。两组间 PT 和 APTT 差异无统计学意义，提示各组 PT 和 APTT 的作用与空白组无显著差异。Fr-2 和 Fr-3 可以延长 TT 时间，表明提取后 TT 活性化学成分的量增加，Fr 2 和 Fr-3 可能含有防止血液凝固的活性成分。

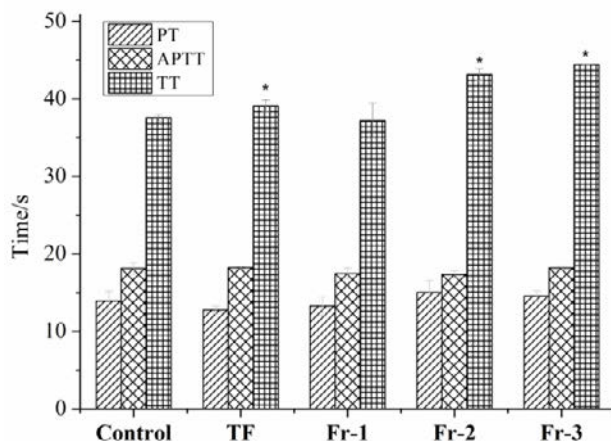


图 5 提取物—凝血各项指标图

## 2.7 分离鉴定

用高分辨率  $m/z$  的 LC-Q-TOF MS / MS 对 Fr-3 分析 (图 6); 表 S1 显示推断的分子量结果。与四个主峰相关的负离子模式显示其 HRMS  $m/z$  为 300.9974 ( $C_{14}H_6O_8 [M-H]^-$  计算值, 300.9984), 343.0444 ( $C_{17}H_{12}O_8 [M-H]^-$  计算值, 343.0454), 327.2161 (计算值为分别为  $C_{18}H_{32}O_5 [M-H]^-$ , 327.2171) 和 329.2316 ( $C_{18}H_{34}O_5 [M-H]^-$ , 329.2328 的计算值)。结合质谱的片段结构, 紫外吸收, 并与参考文献对比, 两种主要成分鉴定为鞣花酸 (Chen 等, 2014) 及其具有三个甲氧基的衍生物, 命名为 3,3',4'-三甲氧基鞣花酸 (Atta-Ur-Rahman 等, 2001)。其他两种组分可能是某种链羟基羧酸, 例如三羟基十八碳烯酸。需要通过 NMR 分析进一步分离和鉴定这些化合物的详细准确结构。

## 2.8 香花油茶果实核心的 HPLC 分析

图 4 是 TF 和 Fr-3 的色谱图 (波长为 254 nm)。从图 4 中可以看出, Fr-3 存在四个主要组分 (峰 1-4), 并且每个色谱峰基本上分开以满足定性分析的需要。峰 1 和峰 2 具有 260 和 362nm 的最大吸收波长, 并且推断它可以是具有许多共轭体系的两种化合物。峰 3 和 4 具有与 210nm 处的最大波长相似的吸收, 推断其为具有较少共轭双键的组分。

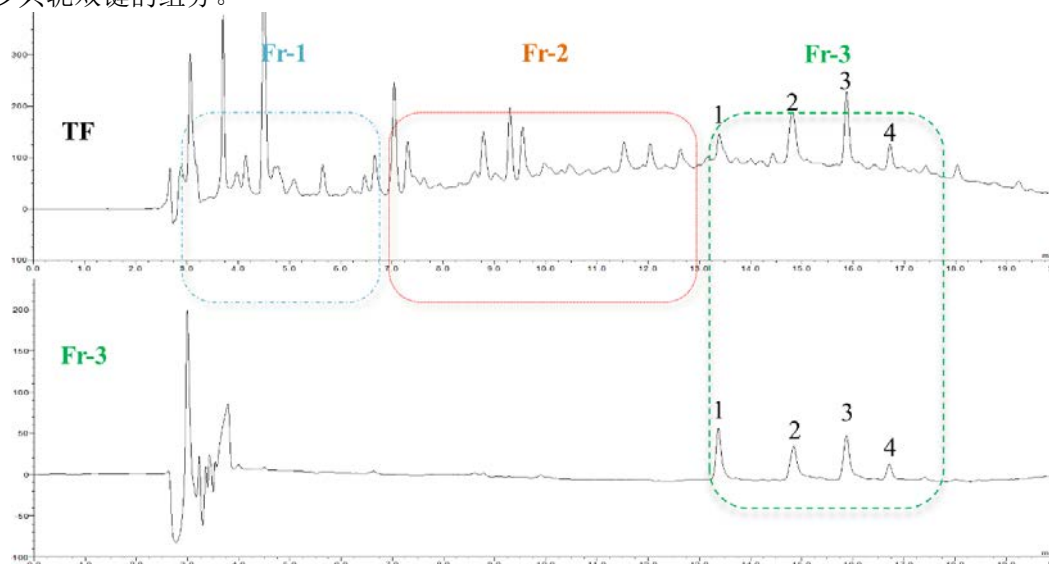


图 6 TF 和 Fr-3 的化学成分分析

## 2.9 活性成分的鉴定

通过 LC-MS 进一步分析 Fr-3 的化学组成 (表 3, 图 7 和图 8)。通过 LC Q-TOF MS 共分析鉴定了 Fr-3 中的四种主要化合物。在  $m/z$  300.9974 处的提取离子色谱图在 Rt 5.256 分钟处显示出峰, 并且被鉴定为鞣花

酸 (Chen 等, 2014)。在  $m/z$  343.0444 处, 色谱图显示在  $R_t$  6.521min 处的峰, 其被鉴定为 3,3',4'-三甲氧基鞣花酸 (Yasumoto 等, 2006)。在  $m/z$  327.2161 处, 色谱图显示在  $R_t$  6.621 分钟处的峰和  $m/z$  329.2321 处的峰值在  $R_t$  6.821 分钟处, 推断可能是一种链羟基羧酸, 例如具有五个氧原子的三羟基十八碳烯酸 (Falcão 等 2013)。

表 3 Fr-3 中的四种化合物的 HPLC-ESI-MS 分析

| Peak | $R_t$ /min | Measured $[M-H]^-$ | Molecular formula | Tentative identification                  |
|------|------------|--------------------|-------------------|---|
| 1    | 5.272      | 300.9974           | $C_{14}H_6O_8$    | ellagic acid                              |
| 2    | 6.535      | 343.0444           | $C_{17}H_{12}O_8$ | 3,3',4'-tri- <i>O</i> -methylellagic acid |
| 3    | 6.621      | 327.2161           | $C_{18}H_{32}O_5$ | Unknown                                   |
| 4    | 6.821      | 329.2316           | $C_{18}H_{34}O_5$ | Unknown                                   |

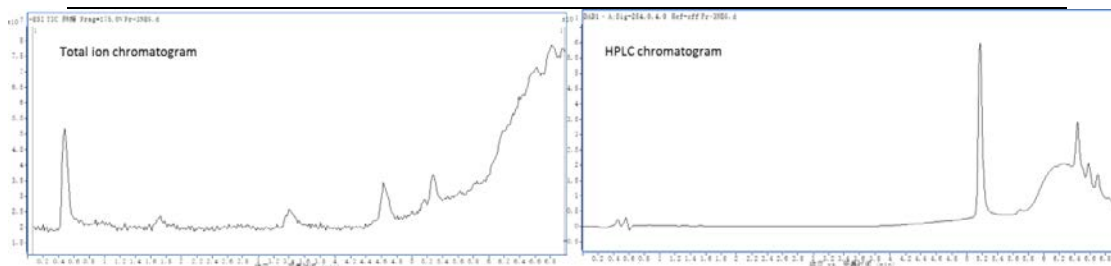


图 7. Fr-3 总离子流和 HPLC 图谱 (254 nm)

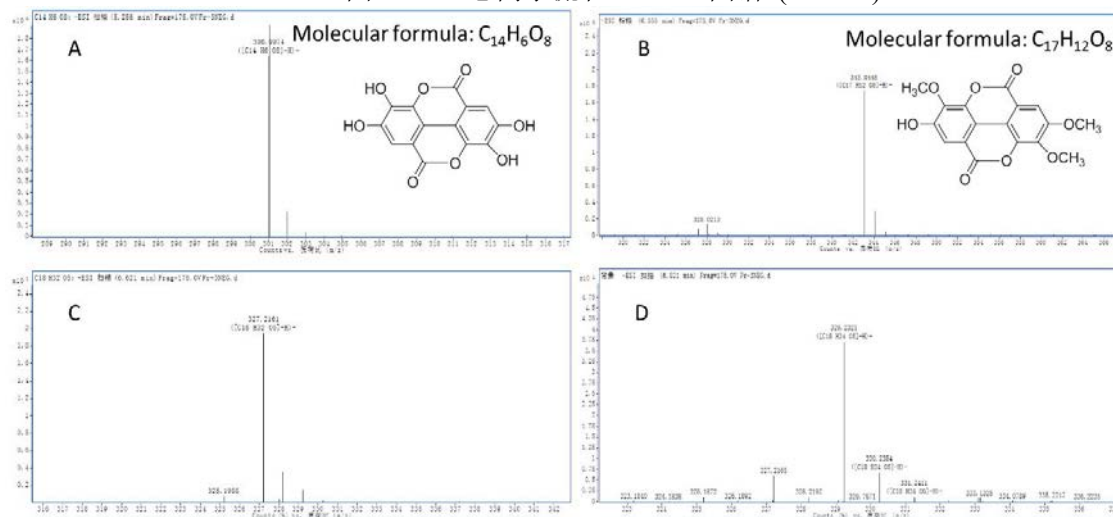


图 8. 用 LC-Q-TOFMS 对 Fr-3 四种化合物的 HRMS 分析

A: peak 1, ellagic acid; B peak 2, 3,3',4'-tri-*O*-methylellagic acid; C peak 3; D peak 4.

### 3 结论

我们的研究表明, Fr-3 对 T-24 膀胱癌细胞具有良好的抑制作用, 同事对正常人胎肺成纤维细胞几乎无毒。Fr-3 显著增加 T-24 细胞产生的 ROS 量。因此, 可以认为 Fr-3 的植物化学成分可以通过诱导细胞抗氧化酶系统去除氧化应激的负面影响 (Vattem 和 Shetty 2005)。通过 LC-Q-TOFMS 分析, 鞣花酸及其衍生物可能是 Fr-3 中的主要成分。根据最近的报道, 鞣花酸可以抑制某些致癌物诱导的 T-24 细胞凋亡 (Qiu 等, 2013)。Li 的机制的进一步研究报道, 鞣花酸通过增加 p53 / p21 表达和 G0 / G1 阻滞诱导 T-24 膀胱癌细胞凋亡 (Li 等人, 2005)。鞣花酸还证实可抑制前列腺癌细胞系中的迁移和侵袭作用 (Pitchakarn 等, 2013)。鞣花酸及其衍生物的存在, 支持香花油茶芯的抗肿瘤活性的结果。鞣花酸是激活凝血因子 XII 和 XI 的诱导剂, 也证实有抗凝效果。受提取物中抗凝成分的影响, 提取物对血浆的 TT 时间延长, 证明该提取物影响血浆纤维蛋白原转变为纤维蛋白的能力。血小板聚集实验, 说明该提取物对血液的纤溶系统有影响。同时, 其余各部位均有减小血小板聚集的趋势, 说明香花油茶果壳芯可能有抗血栓的效果。其化学成分和相关蛋白质的变化还需要进一步深入研究。

## 参考文献

- Atta-Ur-Rahman, Ngounou FN, Choudhary MI, Malik S, Makhmoor T, Nur-E-Alam M, Zareen S, Lontsi D, Ayafor JF, Sondengam BL. 2001. New antioxidant and antimicrobial ellagic acid derivatives from *Pteleopsis hyloidendron*. *Planta Medica*.67:335-339.
- Chen QP, Wu XQ, Liu LL, Shen JF. 2014. Polyphenol-rich extracts from *Oiltea camellia* prevent weight gain in obese mice fed a high-fat diet and slowed the accumulation of triacylglycerols in 3T3-L1 adipocytes. *Journal of Functional Foods*.9:148-155.
- Jin XC. 2012. Bioactivities of water-soluble polysaccharides from fruit shell of *Camellia oleifera* Abel: Antitumor and antioxidant activities. *Carbohydrate Polymers*.87:2198-2201.
- Li TM, Chen GW, Su CC, Lin JG, Yeh CC, Cheng KC, Chung JG. 2005. Ellagic acid induced p53/p21 expression, G1 arrest and apoptosis in human bladder cancer T24 cells. *Anticancer Research*.25:971-979.
- Pitchakarn P, Chewonarin T, Ogawa K, Suzuki S, Asamoto M, Takahashi S, Shirai T, Limtrakul P. 2013. Ellagic acid inhibits migration and invasion by prostate cancer cell lines. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention Apjcp*.14:2859-2863.
- Qiu Z, Zhou B, Jin L, Yu H, Liu L, Liu Y, Qin C, Xie S, Zhu F. 2013. In vitro antioxidant and antiproliferative effects of ellagic acid and its colonic metabolite, urolithins, on human bladder cancer T24 cells. *Food & Chemical Toxicology*.59:428-437.
- Vattem DA, Shetty K. 2005. Biological functionality of ellagic acid: a review. *Journal of Food Biochemistry*.29:234-266.
- Yan QW, Fu HZ, Luo YH, Zhou GP, Wan KH, Zhong RJ. 2016. Two new triterpenoid glycosides from the stems of *Camellia oleifera* Abel. *Natural Product Research*. 2016/07/02;30:1484-1492.
- Yang PJ, Zhou MD, Zhou CY, Wang Q, Zhang FF, Chen J. 2015. Separation and purification of both tea seed polysaccharide and saponin from *camellia* cake extract using macroporous resin. *Journal of Separation Science*.38:656-662.
- Ye Y, Guo Y, Luo YT. 2012. Anti-inflammatory and analgesic activities of a novel biflavonoid from shells of *Camellia oleifera*. *International Journal of Molecular Sciences*.13:12401-12411.
- Zhang XF, Han YY, Bao GH, Ling TJ, Zhang L, Gao LP, Xia T. 2012. A new saponin from tea seed pomace (*Camellia oleifera* Abel) and its protective effect on PC12 cells. *Molecules*.17:11721-11728.
- Zong JF, Peng YR, Bao GH, Hou RY, Wan XC. 2016. Two new oleanane-type saponins with anti-proliferative activity from *Camellia oleifera* Abel. seed cake. *Molecules*.21:188.
- Zong JF, Wang RL, Bao GH, Ling TJ, Zhang L, Zhang XF, Hou RY. 2015. Novel triterpenoid saponins from residual seed cake of *Camellia oleifera* Abel. show anti-proliferative activity against tumor cells. *Fitoterapia*.104:7-13.
- Anesini, C., Ferraro, G. E., & Filip, R. (2009). Total Polyphenol Content and Antioxidant Capacity of Commercially Available Tea (*Camellia sinensis*) in Argentina. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 56(19), 9225-9229.
- Bansal, S., Syan, N., Mathur, P., & Choudhary, S. (2011). Pharmacological profile of green tea and its polyphenols: a review. *Medicinal Chemistry Research*, 21(11), 3347-3360. doi:10.1007/s00044-011-9800-4.
- Basila, D., & Yuan, C. S. (2005). Effects of dietary supplements on coagulation and platelet function. *Thrombosis Research*, 117(1-2), 49-53. doi:10.1016/j.thromres.2005.04.017.
- Basu, A., & Lucas, E. A. (2007). Mechanisms and effects of green tea on cardiovascular health. *Nutrition Reviews*, 65(8), 361-375.
- Gao, B., Huang, L., Liu, H., Wu, H., Zhang, E., Yang, L., et al. (2013). Platelet P2Y<sub>12</sub> receptors are involved in the haemostatic effect of notoginsenoside Ft<sub>1</sub>, a saponin isolated from *Panax notoginseng*. *British Journal of Pharmacology*, 171(1), 214-223.
- Jin, X. (2012). Bioactivities of water-soluble polysaccharides from fruit shell of *Camellia oleifera* Abel: Antitumor and antioxidant activities. *Carbohydrate Polymers*, 87(3), 2198-2201.
- Li, X., Chen, D., Mai, Y., Wen, B., & Wang, X. (2012). Concordance between antioxidant activities invitro and chemical components of *Radix Astragali* (Huangqi). *Natural Product Research*, 26(11), 1050-1053.
- Lu, Y., Umeda, T., Yagi, A., Sakata, K., Chaudhuri, T., Ganguly, D. K., et al. (2000). Triterpenoid saponins from the roots of tea plant (*Camellia sinensis* var. *assamica*). *Phytochemistry*, 53(8), 941-946. doi:10.1016/S0031-9422(99)00559-2.
- M Mari, K., & S Darlin, Q. (2013). Ellagic acid inhibits cardiac arrhythmias, hypertrophy and hyperlipidaemia during myocardial infarction in rats. *Metabolism-Clinical & Experimental*, 62(1), 52-61.
- Ordóñez-Santos, L. E., Martínez-Girón, J., & Arias-Jaramillo, M. E. (2017). Effect of ultrasound treatment on visual color, vitamin C, total phenols, and carotenoids content in Cape gooseberry juice. *Food Chemistry*, 233, 96-100.
- Tsung O, C. (2011). Cardiovascular health, risks and diseases in contemporary China. *International Journal of Cardiology*, 152(3), 285-294.

- Xia, L., Jianping, Z., Cuiping, P., Zhong, C., Yanli, L., Qiongmeng, X., et al. (2014). Cytotoxic triterpenoid glycosides from the roots of *Camellia oleifera*. *Planta Medica*, 80(7), 590-598.
- Xiao, Y., Xing, G., Rui, X., Li, W., Chen, X., Jiang, M., et al. (2014). Enhancement of the antioxidant capacity of chickpeas by solid state fermentation with *Cordyceps militaris* SN-18. *Journal of Functional Foods*, 10, 210-222.
- Yang, L., Ouyang, X.-L., Huang, L., & Pan, Y.-M. (2019). Antitumor activity on human bladder cancer and composition analysis of the core of *Camellia osmantha* fruit. *Natural Product Research*. doi:10.1080/14786419.2018.1550763.
- Yong, Y., Fei, F., & Yue, L. (2014). Isolation of the sapogenin from defatted seeds of *Camellia oleifera* and its neuroprotective effects on dopaminergic neurons. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 62(26), 6175-6182.
- Zhou, H., Wang, C. Z., Ye, J. Z., & Chen, H. X. (2014). New triterpene saponins from the seed cake of *Camellia Oleifera* and their cytotoxic activity. *Phytochemistry Letters*, 8(1), 46-51.
- Zong, J., Wang, R., Bao, G., Ling, T., Zhang, L., Zhang, X., et al. (2015). Novel triterpenoid saponins from residual seed cake of *Camellia oleifera* Abel. show anti-proliferative activity against tumor cells. *Fitoterapia*, 104, 7-13.
- Zong, S., Ji, J., Li, J., Yang, Q. H., & Ye, M. (2017). Physicochemical properties and anticoagulant activity of polyphenols derived from *Lachnum singerianum*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(4), 837-844. doi:10.1016/j.jfda.2016.08.011.

# 咖啡果酒发酵菌种筛选及香气成分分析

匡钰<sup>1\*</sup>, 廖留萍<sup>1</sup>, 沈福英<sup>2</sup>, 李庆聪<sup>1</sup>, 张丽萍<sup>1</sup>, 罗琴<sup>1</sup>, 肖兵<sup>1</sup>, 张洪波

1.云南省德宏热带农业科学研究所, 德宏, 678600; 2.德宏州农村合作经济经营管理站, 德宏, 678499

**摘要** 研究以咖啡果皮为原料, 采用 AS2.399、AS2.346、安琪果酒酵母对其进行发酵制备咖啡果酒, 综合比较咖啡果酒的酒度、总酯含量、总酸、感官等指标, 选择安琪果酒酵母作为发酵菌种发酵咖啡果酒。通过优化条件得到, 安琪果酒酵母发酵咖啡果酒的最佳条件为: 初始糖度为 25 °Be, 发酵温度为 28℃, 酵母菌接种量为 200 mg/L, 发酵时间为 7d, 在优化条件下进行咖啡果酒发酵试验, 测得咖啡果酒酒度为 12°, 总酸含量 1.42 g/L, 总酯为 2.37 g/L。采用顶空固相微萃取(HS-SPME)技术联合气相色谱-质谱(GC-MS)法分析咖啡果酒的挥发性成分, 共检测到 29 种挥发性成分, 主要包括醇类、酸类、酯类以及少量的醛类、烃类和酮类。感官评价结果与挥发性成分分析结果表明, 利用安琪果酒酵母发酵咖啡果酒酒味浓郁, 香味不足。可以利用安琪果酒酵母的高产酒率结合产香酵母发酵滋味更协调, 风味更佳的咖啡果酒, 为咖啡果酒生产提供理论指导。

**关键词** 咖啡果皮; 果酒; 酵母菌; 筛选; 香气成分

中图分类号 TS261.1

文献标识码 A

## Screening of fermentation yeast for coffee wine and analysis of aroma components

KUANG Yu<sup>1</sup>, LIAO Liu-ping, SHEN Fu-ying<sup>2</sup>, Li Qin-chong, Zhang Li-ping, LUO Qin<sup>1</sup>, Xiao Bin<sup>1</sup>, ZHANG Hong-bo<sup>1</sup>

1.Yunnan DeHong Institute of Tropical Agricultural Science, Dehong, 678600 ;2.Dehong state rural cooperative economy management station, Dehong, 678499

**Abstract** Using coffee peel as raw material, AS2.399, AS2.346 and angel wine yeast were used to ferment and prepare coffee wine. The wine degree, total ester content, total acid and sensory indexes of coffee wine were comprehensively, and angel wine yeast was selected as the fermentation strain to ferment coffee wine by compared the wine degree, total ester content, total acid and sensory of coffee wine. According to the optimized fermentation conditions, the optimal conditions for angel wine yeast to ferment coffee wine yeast were as follows: initial sugar degree was 25 °Be, fermentation temperature was 28℃, yeast inoculation amount was 200 mg/L, fermentation time was 7d, The alcohol degree of coffee wine was 12°, the total acid content was 1.42 g/L, and the total ester was 2.37 g/L. The volatile components in coffee wine were analyzed by headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry (HS-SPME-GC-MS). A total of 29 volatile components were examined, including alcohols, acids, esters and a small amount of aldehydes, hydrocarbons and ketones. The results of sensory evaluation and volatile component analysis showed that angel wine yeast was used to ferment coffee wine. The high yield of angel fruit wine can be combined with aromatic yeast to produce coffee wine with more harmonious fermentation taste and better flavor, so as to provide theoretical guidance for the production of coffee wine.

**Keywords** coffee husk, fruit wine, yeast, screen, aroma components

咖啡为茜草科咖啡属常绿灌木或小乔木, 与茶、可可并称为世界三大饮料作物。据农业部发展南亚热带作物办公室统计, 2017年, 云南咖啡种植面积 177 万亩, 占全国咖啡种植面积的 98.43%; 咖啡产量 14.50 万吨, 占全国咖啡产量的 98.51%。一般加工 1 吨咖啡鲜果产生 0.5 吨皮渣(包括果皮、果肉), 云南咖啡植产区每年咖啡鲜果处理加工产生皮渣约 39.68 万吨, 产量巨大。咖啡果皮中糖、蛋白质、纤维素为主要成分, 同时还含有多酚类物质、生物碱性等多种成分, 果皮成分丰富。如何综合利用加工产生的皮渣提高其附加值受到国内外研究者的关注, 国外咖啡果皮的综合利用研究较多, 将咖啡果皮加工成饲料<sup>[1]</sup>或青贮饲料<sup>[2]</sup>饲喂动物; 利用咖啡果皮发酵生产 β-葡萄糖苷酶<sup>[3]</sup>、单宁酸酶<sup>[4]</sup>、乳酸<sup>[5]</sup>、开发鼠李饮料<sup>[6]</sup>及利用咖啡果皮制备生物乙醇<sup>[7]</sup>、生产沼气<sup>[8]</sup>等。国内有利用咖啡果肉制成饲料饲喂牲畜<sup>[9]</sup>; 提取咖啡果皮中的膳食纤维<sup>[10-11]</sup>; 提取咖啡果皮粗提物, 对初提物中花青素成分进行了鉴定、含量测定, 并研究了对清除 DPPH、ABTS 自由基的抗氧化性能<sup>[12]</sup>; 利美莲、刘静、胡荣锁等还有利用咖啡果皮发酵制备成咖啡果酒<sup>[13-17]</sup>。罗娅婷等利用咖啡果皮制成咖啡果皮茶<sup>[18]</sup>; 咖啡果皮中含有苏氨酸、缬氨酸、蛋氨酸等 17 种氨基酸以及绿原酸、葫芦巴碱等功能性成分<sup>[19]</sup>, 成分丰富, 适宜开发咖啡果皮茶、果酒等产品。

本研究旨在利用咖啡果皮发酵出风味典型的咖啡果酒, 开发出咖啡果酒产品。利用三种酵母菌发酵咖啡果酒, 结合果酒酒度、总酯含量、总酸、感官等几方面因素, 筛选出合适咖啡果酒发酵的菌种, 并对其发酵条件进行优化; 同时采用顶空固相微萃取法气相色谱-质谱法对咖啡果酒的挥发性成分进行分析, 为咖啡果酒开发提供理论参考。

### 1 材料与方法

**基金项目** 云南省科技计划项目(2016DC027)。

**作者简介** 匡钰(1982-), 女, 助理研究员, 硕士研究生, 研究方向为农产品加工。

## 1.1 材料与试剂

咖啡果皮：取自云南省德宏热带农业科学研究所咖啡加工厂；As2.399, As2.346, 购于中科院微生物研究所菌种保藏中心；安琪果酒酵母：湖北安琪酵母股份有限公司。果胶酶，诺维信（中国）生物制剂有限公司；葡萄糖，蛋白胨，酵母膏、琼脂，购于北京陆桥技术股份有限公司；NaOH、无水乙醇、酚酞，购于国药集团化学试剂有限公司。

## 1.2 仪器与设备

BS210S 型分析天平 北京奥多利斯天平有限公司；SHZ-B 水浴恒温振荡器，上海博讯实业有限公司医疗设备厂；超净工作台，上海博讯实业有限公司医疗设备厂；SPX-250B 生化培养箱：上海跃进医疗器械厂；萃取头（50/30  $\mu\text{m}$ ，DVB/CAR/PDMS）：美国 Supelco 公司；毛细管柱 VF-Wax（30 m $\times$ 0.25 mm，0.25  $\mu\text{m}$ ）：美国 Varian 公司；GCMS-QP2010 Plus 气相色谱-质谱联用分析仪：日本岛津公司；PAL System 三合一进样器：瑞士 CTC 公司。

## 1.3 试验设计

咖啡果皮发酵液中分别接种 AS2.399、AS2.346、安琪果酒酵母，综合咖啡果酒的理化和感官指标，筛选出适合咖啡果酒发酵的酵母菌。考察初始糖度、酵母菌接种量、发酵温度、发酵时间等单因素条件对酵母菌发酵性能的影响，优化咖啡果酒的发酵条件。在优化条件下发酵的咖啡果酒进行香气成分分析。

## 1.4 试验方法

### 1.4.1 咖啡果皮发酵液制备

取 1Kg 咖啡果皮，以 1: 3 的比例加水，添加量果胶酶进行酶解 3 h，35 $^{\circ}\text{C}$  条件下酶解 3 h，过滤，加入白糖对滤液糖度进行调整。加入亚硫酸钠对其灭菌，使咖啡果皮发酵液的  $\text{SO}_2$  浓度达到 60 mg/L，静置 2 h 后待用。分装在 500 mL 三角瓶中，每瓶装液量为 200 mL。

### 1.4.2 菌种制备

AS2.399、AS2.346 菌种制备。活化斜面：葡萄糖 1%，蛋白胨 0.5%，酵母膏 0.3%、麦芽汁 0.3%，琼脂 2%，115 $^{\circ}\text{C}$  灭菌 30min。一级培养基：糖度为 10 $^{\circ}$  Be 咖啡果皮酶解液 20 ml 置于 50 ml 三角瓶中，115 $^{\circ}\text{C}$  灭菌 30 min。接种 2 环活化菌种摇匀，于 28 $^{\circ}\text{C}$  110 r/min 条件下培养 12-16 h；二级培养基：糖度为 10 $^{\circ}$  Be 咖啡果皮酶解液，150 ml 置于 500 ml 三角瓶中，于 110 $^{\circ}\text{C}$  灭菌 30 min，接种 10%一级培养液摇匀，28 $^{\circ}\text{C}$  110 r/min 条件下培养 14-16 h。

安琪酵母菌种活化：参照说明书，将安琪果酒酵母溶解在 38-40 $^{\circ}\text{C}$  含糖 2% 的温水中，充分溶解后，于 110 r/min，28 $^{\circ}\text{C}$  条件下培养 30 min。

### 1.4.3 酒精度、糖含量、总酯测定

酒精度测定：GB/T10345-2007 蒸馏法，使用酒精计测定；采用手持糖量计测量咖啡果皮发酵液和发酵结束后糖含量；总酯测定（以乙酸乙酯计）：GB/T 10345-2007，白酒分析方法。

### 1.4.4 咖啡果酒挥发性成分分析

取咖啡果酒 5 mL 于 15 mL 固相微萃取的样品瓶中，加盖密封，于 60  $^{\circ}\text{C}$  下恒温水浴平衡 15 min，把老化好的固相微萃取头插入顶空瓶中萃取吸附 45 min 后，自动进样，进行 GC-MS 分析。进样口温度 250  $^{\circ}\text{C}$ ，解吸 5 min。气相色谱（GC）条件：毛细管柱 VF-Wax（30 m $\times$ 0.25 mm，0.25  $\mu\text{m}$ ）；程序升温：初始温度 45  $^{\circ}\text{C}$ ，保留 2 min，以 5  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  的速率升至 180  $^{\circ}\text{C}$ ，再以 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  的速率升至 240  $^{\circ}\text{C}$ ，保留 2 min；进样口温度 250  $^{\circ}\text{C}$ ；载气高纯度氦气（He），流速 1.08 mL/min；无分流进样。质谱（MS）条件：电子电离（electron ionization, EI）源，电子能力 70 eV，离子源温度 230  $^{\circ}\text{C}$ ，四级杆温度 150  $^{\circ}\text{C}$ ，全扫描模式，扫描范围 35~500 m/z，溶剂延迟 3.5 min。质谱结果经 Wiley.lib 数据库和美国国家标准技术研究所（national institute of standards and technology, NIST）14.lib 谱库检索，对于匹配度大于 90 的化合物进行分析，采用峰面积归一化法计算相对含量。

## 2 结果与分析

### 2.1 咖啡果酒发酵菌种筛选

果酒酿造过程中，酵母菌对酒的品质至关重要，能进行发酵产酒的微生物品种繁多，性能各异。本实验采用安琪果酒酵母、酵母菌 As2. 346 以及生香酵母 As2. 399 来发酵咖啡果酒，对三种菌种的发酵过程中残糖变化、酒精度变化及果酒理化指标和感官进行了比较，结果见图 1、图 2、表 1。图 1 可以看出安琪果酒酵母产酒能力、产酒速率优于 As2. 346、As2. 399，发酵 10 天，安琪果酒酵母酒度达到 10.8 $^{\circ}$ ，AS2.399 发酵酒度为 8.1 $^{\circ}$ ，AS2.346 发酵酒度为 9.2 $^{\circ}$ ；从图 2 中可以看出安琪果酒酵母起酵快，糖的利用率高于 As2. 346、As2. 399；发酵过程中糖度降低速率也较平缓，有利于发酵的正常进行。三种菌种发酵出的咖啡果酒都呈琥珀色，具有咖啡果酒应具有色泽，AS2.399 发酵果酒气味的柔和，酒体滋味平淡。AS2.346 发酵果酒酒体滋



味偏薄，整体协调性欠佳。安琪果酒酵母发酵的咖啡果酒酒体尚滋味饱满，酒味浓郁，香味稍薄。综合比较，选择安琪果酒酵母作为咖啡果酒发酵菌种。

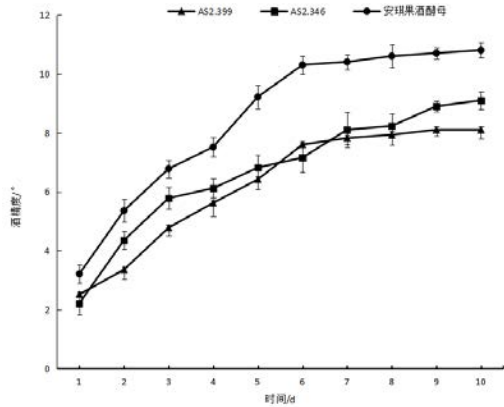


图1 三种菌种发酵酒精含量变化  
Fig.1 Changes of alcohol during coffee wine fermentation

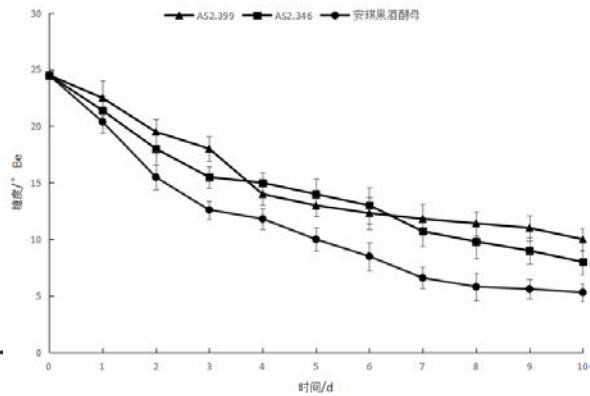


图2 三种菌种发酵过程糖含量变化  
Fig.2 Changes of sugar content during fermentation

表1 三种菌种发酵咖啡果酒理化指标及感官比较  
Table 1 physical and chemical indexes and sensory comparison of fermented coffee wine

| 菌种      | 总酸 g/L    | 总酯 g/L    | 酒精度/°    | 感官                                   |
|---------|-----------|-----------|----------|--------------------------------------|
| AS2.399 | 2.56±0.1  | 3.62±0.13 | 8.1      | 酒体呈琥珀色，具有咖啡果酒应有的色泽；酒体滋味平淡，香味气味柔和     |
| AS2.346 | 3.14±0.08 | 2.07±0.16 | 9.2±0.2  | 酒体呈琥珀色，具有咖啡果酒应有的色泽；酒体滋味平淡，整体协调性欠佳    |
| 安琪果酒酵母  | 4.12±0.07 | 2.37±0.09 | 10.8±0.1 | 酒体呈琥珀色，具有咖啡果酒应有的色泽；酒体滋味尚饱满，酒味浓郁，香味稍薄 |

## 2.2 安琪酵母单因素试验结果

### 2.2.1 初始糖度对咖啡果酒发酵的影响

将咖啡果皮发酵液的初始糖度分别调整至 15° Be、20° Be、25° Be、30° Be、35° Be，接种安琪果酒酵母 200 mg/L，在 28℃ 条件发酵 7d，测发酵液的总酸、总酯、酒精度，结果如图 3 所示。图 3 可知，随着糖度的增加，总酸、总酯、酒精度的含量随之增加，当糖度达到 25° Be 时，总酯含量和酒精度达到最大。初始糖度越高，酒精度越高。当初始糖度为 25% 时，酒精度达到最大。随着糖度增加，发酵液酒精度下降，总酯含量随着增加，糖度达到 30° Be 达到最大，之后随之下降；总酸含量出现波动。当糖含量过高时，渗透压抑制了酵母菌的生长和繁殖，由糖转变为酒精较少，酒度降低。因此选择 25° Be 为最适发酵初始糖含量。

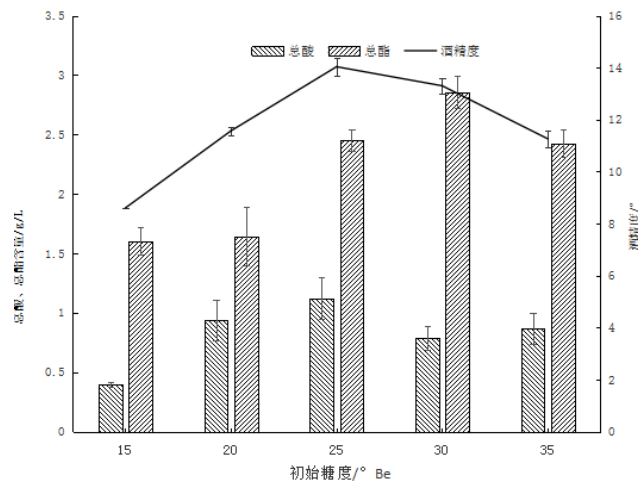


图3 初始糖度对发酵的影响  
Fig.3 The effect of sugar content on fermentation

### 2.2.2 发酵温度对咖啡果酒发酵的影响

将咖啡果皮发酵液的初始糖度分别调整至 25° Be, 接种安琪果酒酵母 200 mg/L, 在 20℃、24℃、28℃、32℃、36℃ 条件发酵 7d, 测发酵液的总酸、总酯、酒精度, 结果如图 4 所示。

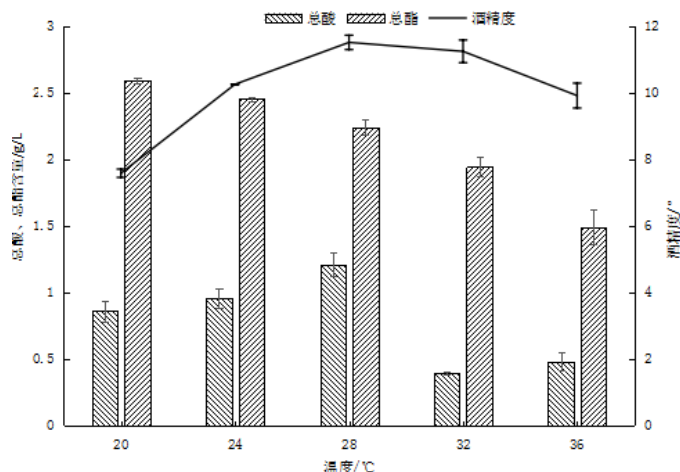


图4 温度的发酵的影响  
Fig. 4 The effect of temperature on fermentation

由图 4 可知, 发酵温度为 28 °C 时酒精度达到最高, 当温度为升高时酒度下降。温度较低 20℃ 时, 酵母菌细胞新陈代谢活动减弱, 繁殖速度较慢, 酒精体积分数较低, 但是有利于酵母菌产酯, 总酯含量最高; 而发酵温度过高时, 酵母菌快速繁殖, 大量消耗发酵液中糖分, 导致用于发酵产生酒精的底物不足, 不利于酒精的产生也使总酯、总酸含量减少, 造果酒的品质下降。因此确定较佳发酵温度为 28 °C。

### 2.2.3 酵母菌接种量对咖啡果酒发酵的影响

将咖啡果皮发酵液的初始糖度分别调整至 25° Be, 接种安琪果酒酵母 100 mg/L、200 mg/L、300mg/L、400 mg/L、500 mg/L、600 mg/L, 在 28℃ 条件发酵 7d, 测发酵液的总酸、总酯、酒精度, 结果如图 5 所示。当酵母添加量低于 200 mg/L 时, 发酵液酒度随酵母添加量的增加而增大, 总酯、总酸含量也增加, 当酵母接种量大于 300 mg/L 时酒精度、总酯含量开始下降; 当接种酵母的量过大时, 短时间内酵母菌快速大量的繁殖, 导致发酵液中的糖被消耗掉, 转化为酒精的少, 酒精度降低, 同时总酯含量也降低; 因此选择酵母菌最适添加量为 200 mg/L。

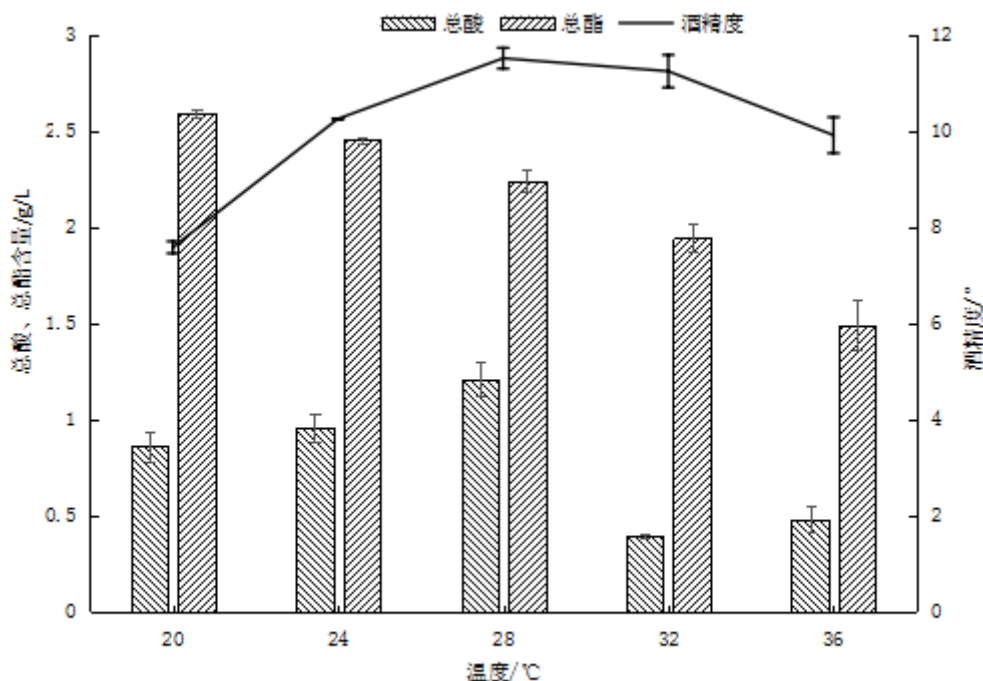


图4 温度的发酵的影响  
Fig. 4 The effect of temperature on fermentation

### 2.2.4 酵母菌接种量对咖啡果酒发酵的影响

将咖啡果皮发酵液的初始糖度分别调整至 25° Be, 接种安琪果酒酵母 100 mg/L、200 mg/L、300mg/L、

400 mg/L、500 mg/L、600 mg/L，在 28℃ 条件发酵 7d，测发酵液的总酸、总酯、酒精度，结果如图 5 所示。当酵母添加量低于 200 mg/L 时，发酵液酒精度随酵母添加量的增加而增大，总酯、总酸含量也增加，当酵母接种量大于 300 mg/L 时酒精度、总酯含量开始下降；当接种酵母的量过大时，短时间内酵母菌快速大量的繁殖，导致发酵液中的糖被消耗掉，转化为酒精的少，酒精度降低，同时总酯含量也降低；因此选择酵母菌最适添加量为 200 mg/L。

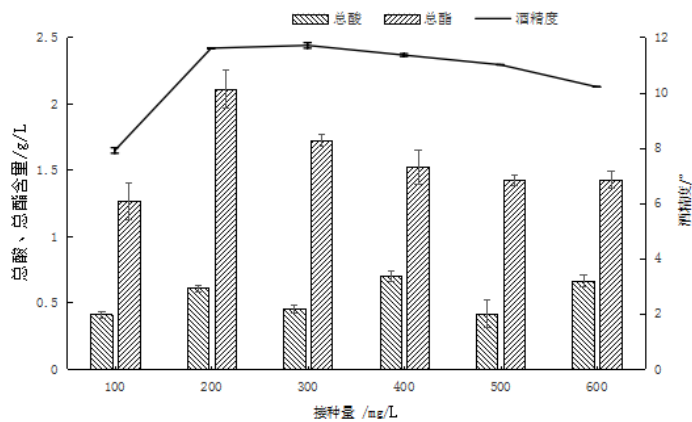


图5 接种量对发酵的影响  
Fig.5 The effect of inoculation amount of yeast on fermentation

### 2.2.5 发酵时间对咖啡果酒发酵的影响

将咖啡果皮发酵液的初始糖度分别调整至 25° Be，接种安琪果酒酵母 200 mg/L，在 28℃ 条件发酵 4d、5d、6d、7d、8d，测发酵液的总酸、总酯、酒精度，结果如图 6 所示。

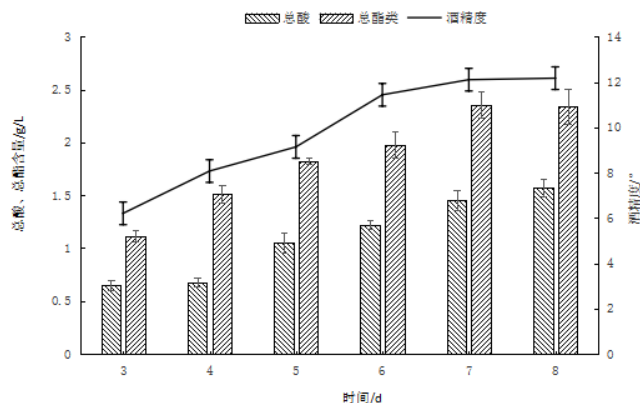


图6 发酵时间对发酵的影响  
Fig.6 The effect of tien on fermentation

由图 5 可以看出，随着发酵时间的增加，发酵液酒精度、总酸含量、总酯含量增加，发酵第 3 d 至第 7 d 为主发酵阶段，产酒量增加快速、总酸、总酯大幅增加，7d 后增加平缓，待发酵结束酒精体积分数达到 12.1°。选择发酵时间为 7d。

安琪果酒酵母发酵咖啡果酒酵母的最佳条件为：初始糖度为 25° Be，发酵温度为 28℃，酵母菌接种量为 200 mg/L，发酵时间为 7 d，在优化条件下进行咖啡果酒发酵试验，测得咖啡果酒酒度为 12°，总酸含量 1.42 g/L，总酯为 2.37 g/L。发酵出的咖啡果酒酒体呈琥珀色；酒味浓郁，香味尚可。

### 2.2 咖啡果酒挥发性成分分析

采用顶空固相微萃取结合气质联用法检测分析了咖啡果酒的挥发性成分，分析结果见表 2。咖啡果酒中能检测到有保留时间和峰面积的挥发性成分 100 种，其中 SI≥90 的有 29 种，占总检出发挥性成分的 79.53%，主要包括醇类、酸类、酯类以及少量的醛类、烃类和酮类挥发性成分。其中醇类 57.89%、酸类 37.03%、酯类 3.57%、醛类 0.3%、烃类 0.23%、酮类 0.1%。其中酯类、醇类挥发性成分占总挥发性成分的 95.81%。相对含量较大的成分有 10 种分别为：苯乙醇 29.11%、油酸 15.05%、异戊醇 13.76%、n-棕榈酸 10.39%、亚麻酸 8.98%、[R-(R\*,R\*)]-2,3-丁二醇 9.95%、二甲硅烷二醇 4.71%、二十烷酸 2.25%、丁二酸二乙酯 2.2%、γ-丁内酯 0.87%。

表 2 咖啡果酒挥发性成分化合物 GC-MS 分析结果  
Table 2 GC-MS analysis results of volatile componets in fermentation

|    | 序号 | 保留时间   | 相对含量 (%) | 名称                    |
|----|----|--------|----------|-----------------------|
| 醇类 | 1  | 3.602  | 13.76    | 异戊醇                   |
|    | 2  | 3.926  | 4.71     | 二甲基硅烷二醇               |
|    | 3  | 4.536  | 0.62     | 丙二醇                   |
|    | 4  | 5.228  | 7.25     | [R-(R*,R*)]-2,3-丁二醇   |
|    | 5  | 5.406  | 2.7      | [R-(R*,R*)]-2,3-丁二醇   |
|    | 6  | 12.91  | 0.03     | 辛醇                    |
|    | 7  | 14.410 | 29.11    | 苯乙醇                   |
|    | 8  | 27.027 | 0.4      | 橙花叔醇                  |
|    | 合计 |        | 58.58    |                       |
| 酸类 | 9  | 4.718  | 0.05     | 异丁酸                   |
|    | 10 | 6.409  | 0.09     | 异戊酸                   |
|    | 11 | 16.422 | 0.42     | 辛酸                    |
|    | 12 | 30.01  | 8.98     | 亚麻酸                   |
|    | 13 | 30.232 | 15.05    | 油酸                    |
|    | 14 | 30.882 | 2.25     | 二十烷酸                  |
|    | 15 | 31.053 | 1.73     | n-棕榈酸                 |
|    | 16 | 33.23  | 8.66     | n-棕榈酸                 |
|    | 合计 |        | 37.23    |                       |
| 酯类 | 17 | 8.206  | 0.87     | γ-丁内酯                 |
|    | 18 | 10.527 | 0.25     | 正己酸乙酯                 |
|    | 19 | 16.27  | 2.2      | 丁二酸二乙酯                |
|    | 20 | 18.270 | 0.11     | 苯乙酸乙酯                 |
|    | 21 | 18.64  | 0.12     | 乙酸苯乙酯                 |
|    | 22 | 22.619 | 0.02     | 草酸异丁基戊烷基酯             |
|    | 合计 |        | 3.57     |                       |
| 醛类 | 23 | 13.895 | 0.18     | 壬醛                    |
|    | 24 | 17.054 | 0.08     | 癸醛                    |
|    | 25 | 28.147 | 0.04     | 十六醛                   |
|    |    |        | 0.3      |                       |
| 烃类 | 26 | 24.69  | 0.08     | (Z)-3-十四碳烯            |
|    | 27 | 29.643 | 0.07     | (Z)-3-十四碳烯            |
|    | 28 | 4.169  | 0.08     | 2,4,5-三甲基-1,3-二氧戊环    |
|    | 合计 |        | 0.23     |                       |
| 酮类 | 29 | 24.099 | 0.1      | 6,10-二甲基-5,9-十一双烯-2-酮 |
| 合计 |    |        | 0.1      |                       |

咖啡果酒挥发性成分中，醇类所占比例最大。分析检测到的醇类物质共 7 种，总含量 58.58%，苯乙醇 (29.11%)、异戊醇 13.76%、[R-(R\*,R\*)]-2,3-丁二醇 9.95%、二甲基二硅烷二醇 4.71%、丙二醇 0.62%、橙花叔醇 0.4%、辛醇 0.03%。其中苯乙醇是咖啡果酒中相对含量最高、主要的挥发性香味成分，赋予咖啡果酒淡雅细腻的玫瑰香味。苯乙醇是一种比较典型的芳香醇<sup>[20]</sup>，阈值为 10 mg/L，具有独特的丁香、茴香、独特的紫罗兰香以及淡雅细腻的玫瑰花香，是发酵酒中主要的醇类物质<sup>[21]</sup>。异戊醇 (5.72%) 具有苹果白兰地香气，也是发酵酒普遍存在的醇类物质。辛醇具有甘甜的、果香、花草香。橙花叔醇具有怡人香味，由于橙花叔醇

特殊的香味，可用于配 制玫瑰型、紫丁香型等多种花香型日化香精，被广泛应用于化妆品领域。

咖啡果酒挥发性成分中酸类物质共有 7 种，相对含量 37.23%。分别油酸 15.05%，亚麻酸 8.98%，n-棕榈酸 10.39%，二十烷酸 2.25%，辛酸 0.42%，异戊酸 0.09%、异丁酸 0.05%。在白酒中，酸类是形成白酒口味的重要物质，适量的酸类 化合物能够增强酒的甜味感，消除酒的苦味<sup>[22]</sup>。咖啡果酒中油酸含量最高，其次是 n-棕榈酸、亚麻酸、二十烷酸、辛酸、异戊酸、异丁酸。挥发性酸类成分中高级脂肪酸含量高，辛酸具有草香、果香、花香和酒香。

咖啡果酒挥发性成分中酯类相对含量为 3.57%，最多的为丁二酸二乙酯，其次为  $\gamma$ -丁内酯、正己酸乙酯、乙酸苯乙酯、苯乙酸乙酯、草酸异丁基戊烷基酯。丁二酸二乙酯有愉快的芳香味、酒味。正己酸乙酯具有猕猴桃、菠萝、香蕉样的香气<sup>[23]</sup>乙酸苯乙酯具有玫瑰花香、草莓香<sup>[24]</sup>。咖啡果酒挥发性成分中除了醇类、酸类、酯类还有少量的醛类、烃类和酮类物质。醛类物质中壬醛具有油脂气味和甜橙气息；癸醛具有微甜，有果香以及玫瑰气味。

利用安琪酵母发酵咖啡果酒，咖啡果酒酒香味浓，采用顶空固相微萃取结合气质联用法对咖啡果酒的挥发性成分进行分析，咖啡果酒中醇类含量最高，其次为酸类，再次为酯类还有少量的醛类、烃类和酮类。与胡荣锁<sup>[16]</sup>报道的单菌发酵对咖啡果酒风味影响相比较，安琪酵母发酵的咖啡果酒的酒度要高，但是果酒风味成分的差异较大，其风味成分中酯类含量高、其次为醇类，还有少量的醛类、酸类和酮类。存在的差异源于所选的酵母不同，代谢产物也不尽相同。其采用醇酯比作为一个指标来衡量咖啡果酒品质，醇酯比即指高级醇和总酯的比值。醇酯比过高则 酒味过浓，香味不足；醇酯比过低则香味过浓，酒味不足，失去果酒本身意义。借鉴其方法安琪酵母发酵得到的咖啡果酒的挥发性成分中，醇酯比为 16.22。酒味浓郁，香味不足，分析结果与实际感官评价结果相符，咖啡果酒酒味浓郁，香味欠佳。

### 3 结论

本项目采用 AS2.399、AS2.346、安琪果酒酵母对咖啡果皮进行发酵制备咖啡果酒，综合比较咖啡果酒的酒度、总酯含量、总酸、感官等指标，选择安琪果酒酵母作为发酵菌种发酵咖啡果酒。通过优化条件得到，安琪果酒酵母发酵咖啡果酒酵母的最佳条件为：初始糖度为 25 ° Be ，发酵温度为 28℃，酵母菌接种量为 200 mg/L，发酵时间为 7 d，在优化条件下进行咖啡果酒发酵试验，测得咖啡果酒酒度为 12°，总酸含量 1.42 g/L，总酯为 2.37 g/L。采用顶空固相微萃取结合气质联用法分析咖啡果酒的挥发性成分，共检查 29 种挥发性成分，主要包括醇类、酸类、酯类以及少量的醛类、烃类和酮类。感官评价结果与挥发性成分分析结果表明，利用安琪果酒酵母发酵咖啡果酒酒味浓郁，香味不足。可以利用安琪果酒酵母的高产酒率结合产香酵母发酵滋味更协调，风味更佳的咖啡果酒，为咖啡果酒生产提供理论指导。

#### 参考文献

- [1]Rajasekhar T. Studies on the utilization of coffee by products Indian Coffee [J]. Food chemistry, 1991, 40(1): 8
- [2]Salinas-Rios T, Ortega-Cerrilla M E, Sánchez-Torres-Esqueda M T, et al. Productive performance and oxidative status of sheep fed diets supplemented with coffee pulp [J]. Small Ruminant Research, 2015, 123(1): 17-21
- [3]Dias M, Melo M M, Schwan R F, et al. A new alternative use for coffee pulp from semi-dry process to  $\beta$ -glucosidase production by *Bacillus subtilis*[J]. Letters in Applied Microbiology, 2015, 61(6): 588-595
- [4]Bhiote R N, Murthy P S. Biodegradation of coffee pulp tannin by *Penicillium verrucosum*, for production of tannase statistical optimization and its application[J].Food & Bioproducts Processing, 2015, 94: 727-735
- [5]Pleissner D, Neu A K, Mehlmann K, et al. Fermentative lactic acid production from coffee pulp hydrolysate using *Bacillus coagulans* at laboratory and pilot scales[J]. Bioresource Technology, 2016, 218: 167-173
- [6]Heeger A, Kosi ń skacagnazzo A, Cantergiani E, et al. Bioactives of coffee cherry pulp and its utilisation for production of Cascara beverage[J].Food Chemistry, 2017,221: 969-975
- [7]Menezes E G T, Carmo J R D, Alves J G L F, et al. Optimization of alkaline pretreatment of coffee pulp for production bioethanol[J]. Biotechnology Progress, 2014, 30(2): 451-462
- [8]Corro G, Paniagua L, Pal U, at al. Generation of biogas from coffee-pulp and cow-dung co-digestion: Infrared studies of postcombustion emission[J]. Energy Conversion & Management, 2013, 74(10): 471-481
- [9]石磊.咖啡加工副产物再牲畜饲料中的应用[J].中国畜牧兽医文摘,2014(9):195-196
- [10]胡荣锁,周晶,董文江,等.响应面法优化咖啡果皮可溶性膳食纤维提取工艺喝功能特性研究[J].热带农业科学, 2015, 35 (9) :66-72
- [11]李雄,胡荣锁,张海德,等.咖啡果皮可溶性膳食纤维的制备及其表征[J].食品工业科技,2018,39(11):39-44,50
- [12]张云鹤,付晓萍,梁文娟等.云南小粒咖啡果皮粗提物花青素成分及抗氧化活性研究[J].食品科技,2016,41(5):219-222
- [13]利美莲,梁志海,潘晓畅.利用咖啡果皮酿酒初报,1989,10(1):119-123

- [14]利美莲,钟秋平.不同气温条件下咖啡酒酿制的工艺研究[J].食品加工,1994,6:28-30
- [15]刘静,傅冰,刘苏瑶,等.云南咖啡果酒发酵型果酒的酿造[J].食品工业科技,2017,38(10):194-195
- [16]胡荣锁,周晶,董文江,等.基本 HS-SPME/GC-MS 和感官分析技术的单菌发酵对咖啡果酒风味影响研究[J],农学学报,2016,6(2):107-112
- [17]钟秋平,周文化,李斌,等.壳聚糖对咖啡酒的澄清作用研究[J].食品与发酵工业,2004,30(9):140-141
- [18]罗娅婷,张国忠,谢恩翰,等.咖啡果皮茶制作工艺初步研究[J].普洱学院学报,2018,34(06):15-17
- [19]胡荣锁,董文江,宗迎,等.5 个产区咖啡果皮成分分析与营养评价[J].热带作物学报,2018,39(5):987-992
- [20]刘灿珍, 侯冬冬, 刘文, 等.5 株酿酒酵母对海棠果酒品质的影响[J].中国酿造, 2019,38 (2) : 133-138
- [21]Etschmann MMW, Schrader J. Biotechnological production of 2-phenylethanol[J]. Appl Microbiol Biototechnol,2005,59(2):1-8
- [22]邓星星, 江英, 马越, 等.无花果及其果酒挥发性成分的研究[J].中国酿造.2016, 35 (3) : 98-103
- [23]王胜利 .猕猴桃酒中多酚、抗氧化性及香气成分的研究 [D] .杨凌:西北农林科技大学, 2013
- [24]戚一曼, 程拯良, 樊明涛 .谷胱甘肽添加对贮藏猕猴桃酒香气成分的影响 [J] .食品工业科技, 2017, 38( 8) : 183-188

# 澳洲坚果实时定量 PCR 分析中内参基因的筛选

杨倩<sup>1,2,3</sup>, 杨子平<sup>1</sup>, 周娅丽<sup>1</sup>, 陈东泉<sup>1</sup>, 刘恒<sup>1,2,3</sup>

1. 中国热带农业科学院亚热带作物研究所; 2. 农业部热带果树生物学重点实验室; 3. 国家热带果树种质资源圃, 广东湛江 524091

**摘要** 澳洲坚果是重要的热区经济作物, 目前国内外尚无关于澳洲坚果实时定量 PCR 分析的内参基因的报道。选择合适的内参基因是提高实时荧光定量 PCR 分析准确性的先决条件。为筛选澳洲坚果实时定量 PCR 最适内参基因, 本文以澳洲坚果的根、茎、叶、果皮、果仁为材料, 利用实时荧光定量 PCR 技术, 对 *18S rRNA*, *Actin*, *CYP*, *EF1a*, *EF1b*, *GAPDH*, *MDH*, *TUBa*, *TUBb*, *UBQ*, *UBC* 等 11 个常用的内参基因在澳洲坚果不同组织中的表达稳定性进行了分析; geNorm 软件分析的 M 值从小到大依次为: *EF1b* = *MDH* < *GAPDH* < *UBC* < *Actin* < *18S* < *CYP* < *EF1a* < *TUBb* < *UBQ* < *TUBa*。M 值越小越稳定, 最适内参数目为 2, 最稳定内参组合为 *EF1b* 和 *MDH*; NormFinder 软件分析稳定性依次为 *GAPDH* < *CYP* < *EF1a* < *18S* < *MDH* < *EF1b* < *TUBb* < *Actin* < *UBC* < *UBQ* < *TUBa*, *GAPDH* 稳定性最好; BestKeeper 分析稳定性: *MDH* < *EF1b* < *GAPDH* < *18S* < *CYP* < *UBC* < *Actin* < *EF1a* < *TUBb* < *UBQ* 认为 *MDH* 最稳定, *EF1b* 次之。综合分析表明, *MDH* 和 *EF1b* 基因可以作为澳洲坚果实时定量 PCR 分析的校正内参基因, 在澳洲坚果的基因表达调控相关研究中具有重要意义。

**关键词** 澳洲坚果, 内参基因, 实时荧光定量 PCR 技术, 稳定性分析

## Screening of stable reference genes for RT-PCR analysis in Macadamia

Qian Yang<sup>1,2,3</sup>, Ziping Yang<sup>1</sup>, Yali Zhou<sup>1</sup>, Dongquan Chen<sup>1</sup>, Heng Liu<sup>1,2,3\*</sup>

1. The South Subtropical Crops Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences; 2. Key Laboratory of Tropical Fruit Biology, Ministry of Agriculture; 3. National Field Genebank for Tropical Fruits, Zhanjiang, Guangdong 524091, China

**Abstract** The macadamia nut is the vital economics crop in subtropical area of china. The selection of a suitable reference gene is an important prerequisite for successful gene expression analysis by real-time fluorescence quantitative PCR (RT-qPCR). In order to select the appropriate reference gene, we investigated the expression stability of 11 candidate genes (*18S rRNA*, *Actin*, *CYP*, *EF1a*, *EF1b*, *GAPDH*, *MDH*, *TUBa*, *TUBb*, *UBQ*, *UBC*) in RT-qPCR experiments in different tissues, including kernel, peel, roots, stem, leaf from *Macadamia* with geNorm, NormFinder and BestKeeper software packages. The stability of 11 candidate reference gene in five different tissues was *MDH* = *EF1b* > *GAPDH* > *UBC* > *Actin* > *18S* > *CYP* > *EF1a* > *TUBb* > *UBQ* > *TUBa* by geNorm; The analysis result with NormFinder was *GAPDH* > *CYP* > *EF1a* > *18S* > *MDH* > *EF1b* > *TUBb* > *Actin* > *UBC* > *UBQ* > *TUBa*; BestKeeper revealed that *MDH* was the most stables references genes, and *EF1b* ranked second. The result showed that *MDH* and *EF1b* were the most suitable reference gene for *macadamia*.  
**Keywords** *Macadamia*; reference genes; real-time fluorescence quantitative PCR; stability analysis

澳洲坚果 (*Macadamia integrifolia* Maiden & Betche and *M. tetraphylla* L.A.S. Johnson), 又称夏威夷果、澳洲胡桃、昆士兰栗, 属山龙眼科 (*Proteaceae*) 澳洲坚果属 (*Macadamia* F. Mull) 常绿乔木果树。澳洲坚果果实营养丰富, 风味独特, 被誉为“坚果之王”, 具有一定的经济价值。近年来, 我国云南、广西、广东、贵州等南方各省(区)大面积推广引种试种澳洲坚果优良品种, 种植面积达 16 万公顷, 占世界种植面积的 61%。虽然我国澳洲坚果的果仁产量每年逐渐递增, 但是全球市场的需求量的更大, 因此澳洲坚果产业具有广阔的发展前景。

实时荧光定量 PCR 技术 (Real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction, Real-time PCR) 的原理是在 PCR 反应体系中加入荧光化学物质, 荧光物质能够与 PCR 产物反应, 随着 PCR 产物不断增加, 荧光信号也成比例增强, 所以 PCR 每个循环结束时的荧光值代表了 PCR 产物量的变化。利用 qRT-PCR 对目的基因的相对表达量进行计算时, 需要以管家基因的表达量作为标准, 进行校正和均一化。理想状态下, 所选内参基因在不同的处理条件下、不同组织器官中、细胞的不同发育时期中都能稳定表达, 而且其表达水平与目的基因表达水平相近 (Dheda et al., 2004)。然而, 不断有研究表明, 实际实验过程中并不存在任何一种内参基因能够在任何条件、任何细胞类型和组织都能够稳定表达 (孙美莲等, 2010), 因此直接使用未经筛选的内参基因, 会导致实验数据出现偏差, 影响目的基因表达水平结果的可靠性, 所以有必要对内参基因进行筛选。

澳洲坚果研究现状的调查分析显示, 果树生理生态、引种育种和栽培管理是研究的重点领域 (李穆等, 2018), 分子生物学研究手段逐渐被应用到各个研究领域。澳洲坚果中应用分子生物学手段研究的也越来越

**基金项目** 热科院基本科研业务费, 澳洲坚果种质分子标记挖掘和功能分析 (YSH21801260101)。

**第一作者简介** 杨倩, 女, 1985-07, 助理研究员, 澳洲坚果分子生物学研究。广东省湛江市麻章区中国热带农业科学院亚热带作物研究所种质资源研究室; E-mail: yangqianzhanjiang@163.com; 15248927336。

**通讯作者** 刘恒, 男, 1971-07, 教授, 研究生, 博士, 澳洲坚果分子生物学研究。通信地址: 广东省湛江市麻章区中国热带农业科学院亚热带作物研究所种质资源研究室; 邮编: 524091; Tel: 0759-2859194, E-mail: hengliu@vip.163.com。

多 (Rodríguez et al., 2015), 但是, 目前关于澳洲坚果内参基因筛选方面的相关研究还未见报道, 本实验目的是筛选出澳洲坚果不同组织器官中表达最稳定的内参基因, 以期为澳洲坚果的基因表达调控相关研究提供合适的内参基因。因此本研究以澳洲坚果根, 茎, 叶, 果皮, 果仁为材料, 对 18S 核糖体 RNA (*18S rRNA*), 肌动蛋白 (*Actin*), 亲环蛋白 (*CYP*), 转录延伸因子 (*EF1a* 和 *EF1b*), 甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (*GADPH*), 苹果酸脱氢酶 (*MDH*), 微管蛋白 (*TUBa* 和 *TUBb*), 多聚泛素酶 (*UBQ*), 泛素连接蛋白 (*UBC*) 等 11 个常用内参基因分别用 geNorm (Vandesompele et al., 2002)、NormFinder (Andersen et al., 2004) 和 BestKeeper (Pfaffl et al., 2004), 3 种不同算法进行表达稳定性分析, 从而筛选最适的内参基因。

## 1 材料与方法

### 1.1 植物材料

选取“南亚 1 号”澳洲坚果品种作为试验材料, 分别收取成熟的果实, 幼嫩叶片, 枝条和根, 清洗干净后用液氮速冻, -80℃ 保存备用。

### 1.2 内参基因的选择 和引物设计

本研究选择 11 个常用内参基因 (*18S rRNA*, *actin*, *CYP*, *EF1a*, *EF1b*, *GADPH*, *MDH*, *TUBa*, *TUBb*, *UBC*, *UBQ*) 作为候选内参基因。这 11 个候选内参基因 cDNA 序列部分已经从澳洲坚果中克隆获得。登录实时定量引物设计网站, 在候选内参基因的保守区域, 使用在线软件设计特异性荧光定量引物。网站地址: <https://sg.idtdna.com/pages/products/qpcr-and-pcr/custom-primers>, 每个基因设计 5 对引物。引物由北京六合华大基因科技有限公司合成。引物信息见附表 1。

### 1.3 不同组织 RNA 的提取和 cDNA 的合成

澳洲坚果叶片总 RNA 的提取按照 Plant Total RNA Isolation Kit Plus 方法进行。mRNA 使用凝胶电泳检测, Nanodrop 测定浓度。反转录按照 NOVA All-in-one First-Strand Synthesis MasterMix (EG15155) 操作。反应体系 20 μL, 以 1000 ng RNA 为模板, 反转录获得单链 cDNA。反转录程序为: 55 °C 60 min; 85 °C 1 min。

### 1.4

#### 标准曲线的制备

实时荧光定量 PCR 数据采集在罗氏 (Roche) LightCycler 480 II 上完成, 荧光试剂盒选用 Taq SYBR Green qPCR Premix ROX I (NOVA)。将根、茎、叶、果皮、果仁等 5 个不同组织的样品等体积混合, 5 倍梯度稀释, 分别以 5<sup>0</sup>、5<sup>-1</sup>、5<sup>-2</sup>、5<sup>-3</sup>、5<sup>-4</sup>、5<sup>-5</sup> 作为模板制备标准曲线, 每个样品重复 3 次。3 次生物学重复。

RT-PCR 扩增体系:

| 溶液                         | 体积   |
|----------------------------|------|
| SYBR Premix ExTaq II (2×)  | 10μL |
| PCR Forward Primer (10 μM) | 1μL  |
| PCR Reverse Primer (10 μM) | 1μL  |
| cDNA                       | 1μL  |
| dH <sub>2</sub> O          | 7μL  |
| 总体积                        | 20μL |

标准曲线和斜率 (slope) 由稀释倍数和荧光定量 Cp 值在 Excel 中计算得出。扩增效率计算公式:  $E = (5^{[-1/slope]} - 1) \times 100\%$ 。

PCR 扩增程序:

94℃ 预变性 3min; 然后 94℃ 变性 10sec, 60℃ 退火 30sec, 72℃ 延伸 10sec, 45 个循环; 在每个循环结束后进行荧光信号的采集, 所有循环结束后进行溶解曲线分析 (65℃~95℃)。

### 1.5 数据分析

实时荧光定量 PCR 数值可利用 LightCycler 480 II (Roche) 的分析软件直接获得, Cp 值即 Ct 值。分别采用 geNorm、NormFinder 和 BestKeeper 三个不同的程序, 比较分析澳洲坚果中候选内参基因在不同组织中的表达稳定性, 筛选出较为稳定的内参基因。

## 2 结果与分析

### 2.1 澳洲坚果 RNA 的分离与纯化和内参引物的筛选

1.2% 琼脂糖凝胶电泳检测提取 RNA 结果显示, 不同器官组织的 RNA 电泳条带清晰, 28S rRNA 带亮度约为 18S rRNA 的 1.5-2 倍 (图 1), 无拖尾, 表明 RNA 的完整性良好, 纯度较高, 可用于后续实验。根据溶解曲线和荧光定量 PCR 的 Cp 值对每个候选内参基因的 5 对引物进行筛选, 选取质量最好的一对常用内参基因引物 (如下表 1) 用于后续实验。

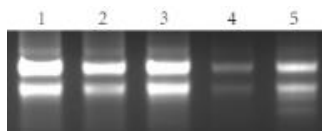




图 1 不同组织中澳洲坚果 RNA

1:果仁 ; 2:果皮 ; 3:根 ; 4:茎 ; 5:叶

Figure 1 Total RNA extracted from different samples of *Macadamia*

1:kernel; 2:peel; 3:root; 4:stem; 5:leaf

表 1 筛选的最适内参基因引物

Table 1 Primers sequences in this study

| 基因名称  | 引物序列 (5'-3')   | 引物大小<br>(bp) | Tm(°C)   | 扩增效率<br>(%) | R <sup>2</sup> |
|-------|--|--------------|----------|-------------|----------------|
| 18S   | F: GTCCTATAACGAGCGAAACC<br>R: CGTGCTGGCACTCAATTA     | 20<br>18     | 60<br>60 | 102.51      | 0.963          |
| Actin | F: GAGGAGAGGATCTGTCGTAAA<br>R: GATAACAAGGAGAGGCCAAAG | 21<br>21     | 61<br>60 | 91.96       | 0.998          |
| CYP   | F: AACAAAGTTCGCCGATGAG<br>R: GTCTTCGCAGTGCAAATAAAG   | 18<br>21     | 60<br>60 | 95.05       | 0.999          |
| EF1a  | F: CCCACTTCAGGGTGTTTAC<br>R: CGAAGGTGACAACCATAACC    | 19<br>19     | 60<br>60 | 97.99       | 0.994          |
| EF1b  | F: GGCTGCTAAAGCATCTACAA<br>R: CGAACAGCTTCCTCTAGTTTC  | 20<br>21     | 60<br>60 | 94.41       | 0.998          |
| GAPDH | F: GTTGGTGACTGTAGGTCAAG<br>R: AGGTCCAACACTCGGTTA     | 20<br>18     | 60<br>60 | 93.73       | 0.999          |
| MDH   | F: GCTGGTCTCATCTATTCTTTCC<br>R: CGTCCAACCTTCCTTGAG   | 22<br>20     | 60<br>60 | 98.61       | 0.999          |
| TUBa  | F: GGCTTGTGTCTCAGGTATT<br>R: GTGGATATGGGACCAAGTTAG   | 20<br>21     | 60<br>60 | 94.9        | 0.999          |
| TUBb  | F: ATATGAGGATGAGGAGGAAGG<br>R: CCCATAATCAGCCACTGTAAA | 21<br>21     | 60<br>60 | 98.35       | 0.999          |
| UBQ   | F: GTGGATGTTGATGGATGAAAC<br>R: GTACTTACAGAGCGTCCTTAC | 21<br>21     | 59<br>59 | 98.68       | 0.999          |
| UBC   | F: CCACCAAGGTAGCATTTAG<br>R: CTGGGCTCCATTGTTCTTA     | 20<br>20     | 60<br>60 | 95.95       | 0.982          |

## 2.2

### 内参基因的实时荧光定量 PCR 标准曲线和熔解曲线

将澳洲坚果根、茎、叶、果皮、果仁不同组织的 cDNA 混合作为模板，进行 5 倍梯度稀释，共稀释 6 个梯度，随后以 6 个不同稀释梯度进行 RT-qPCR，获得荧光定量 Ct 值，在 Excel 中以稀释倍数为横坐标 Ct 值为纵坐标，生成候选内参基因表达的标准曲线（如下图 2）。结果显示：11 个候选内参基因标准曲线的相关系数（R<sup>2</sup>）都在 0.99 附近，扩增效率在 91.9-102.5% 之间，说明引物、模板、RT-qPCR 反应体系和程序满足荧光定量 PCR 分析的要求（90%~105%）。熔解曲线分析程序设置在 RT-qPCR 扩增程序的所有循环结束后，由 65℃ 上升至 95℃，每升温 0.5℃ 为一个循环，共 60 个循环。研究结果显示，11 个候选内参基因的都为单一锐峰，不存在非特异扩增，Tm 值在 80~85℃ 之间，说明这些候选内参基因的引物特异性强，符合 RT-qPCR 分析的要求。

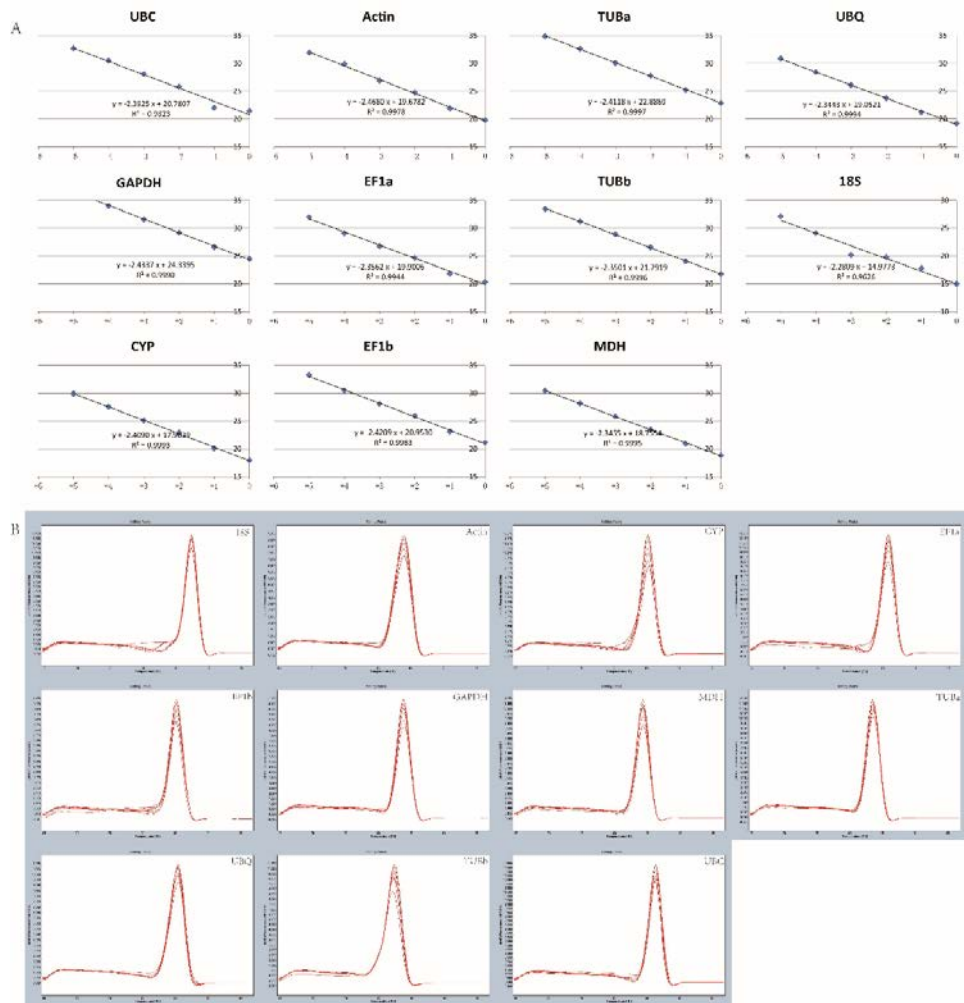


图 2 内参基因实时荧光定量 PCR 标准曲线和溶解曲线

Figure 2 The standard curves and melting curves of the candidate reference genes

### 2.3 不同组织内参基因的筛选

以澳洲坚果根、茎、叶、果仁、果皮不同组织的 cDNA 为模板，对 11 个候选内参基因进行实时荧光定量 PCR 分析。

#### 2.3.1 geNorm 分析澳洲坚果不同组织中候选内参基因的稳定性

geNorm 软件分析方法基于每个候选内参基因的相对表达量数据。因此本实验首先计算出 11 个候选内参基因的实时荧光的相对定量值，随后导入 geNorm 程序，对不同组织的 5 个样品的平均相对表达稳定性进行分析。由图可见，11 个候选内参基因的 M 值均小于 1.5，说明这 11 个候选内参基因的表达都比较稳定。其中 *EF1b*、*MDH* 的 M 值最低(图 3 上)，说明稳定性最好，其它基因的表达稳定性排列顺序为 *GAPDH* > *UBC* > *Actin* > *18S* > *CYP* > *EF1a* > *TUBb* > *UBQ* > *TUBa*，*TUBa* 的 M 值最高，稳定性是候选内参基因中最差的。geNorm 程序标准化因子的配对变异 V 值数据显示，在 11 个检测的候选内参基因中， $V_{2/3}$  的比值为 0.131，小于推荐值 0.15，说明本次实验供试的澳洲坚果不同组织器官中，最适合的内参基因数目是 2 (图 3 下)。因此本实验 geNorm 软件分析得出的最适内参基因数目是 2 个，分别是 *EF1b* 和 *MDH*。

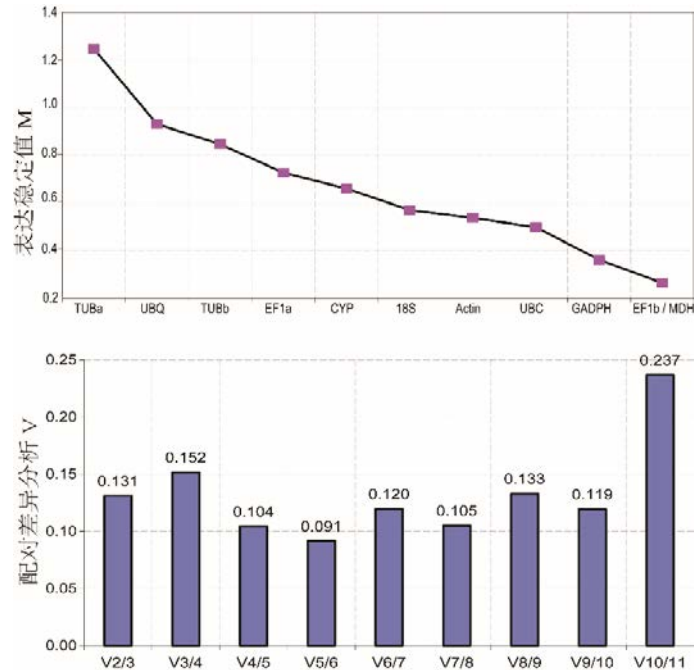


图 3 geNorm 分析内参基因稳定性和标准化因子配对变异分析

Figure3 average expression stability values and pairwise variation analysis of the candidate reference genes according to geNorm algorithm

### 2.3.2 NormFinder 分析澳洲坚果不同组织中候选内参基因的稳定性

NormFinder 程序分析前需根据 RT-qPCR 得到的循环阈值 (Ct) 计算候选内参基因的相对定量表达, 随后进行稳定性排序。NormFinder 程序不但可以估计候选内参基因的整体表达差异, 还可以计算样品组间的变异, 但是只能筛选出一个最合适的内参基因 (Pérez et al., 2007)。本研究使用 NormFinder 程序对澳洲坚果根、茎、叶、果等不同组织中的 11 个候选内参基因的稳定性分析, 结果显示, 表达稳定性的依次顺序为: *GAPDH* > *CYP* > *EF1a* > *18S* > *MDH* > *EF1b* > *TUBb* > *Actin* > *UBC* > *UBQ* > *TUBa*。与 geNorm 软件分析结果相比, NormFinder 软件认为 *GAPDH* 最为稳定, 其次是 *CYP*、*EF1a* 和 *18S*, 然后才是 *MDH* 和 *EF1b* 的稳定性, 与 geNorm 软件分析结果相差较大。但是最不稳定的内参基因结果很一致, 都是 *TUBa*。

表 2 NormFinder 程序分析 11 个内参基因在根茎叶中的表达稳定值

Table 2 Ranking of the candidate reference genes according to the stability analyzed by NormFinder

| Gene name | Stability value |
|-----------|-----------------|
| 18S       | 0.297           |
| Actin     | 0.677           |
| CYP       | 0.161           |
| EF1a      | 0.219           |
| EF1b      | 0.468           |
| GAPDH     | 0.121 不         |
| MDH       | 0.358           |
| TUBa      | 1.799           |
| TUBb      | 0.657           |
| UBQ       | 0.742           |
| UBC       | 0.737           |

### 2.3.3 BestKeeper 分析澳洲坚果不同组织中内参基因的稳定性

BestKeeper 程序的稳定性排序是以每个样品的原始 Ct 值进行分析。BestKeeper 通过对所有的样品进行配对相关分析, 计算得到标准差 (SD)、变异系数 (CV)、配对相关系数, 如果 SD 和 CV 越小, 该内参越稳定, 反之不稳定。由于 BestKeeper 最多只能分析 10 个基因的相互关系, 根据 geNorm 和 NormFinder 的结果, 把最不稳定的基因 *TUBa* 去掉, 分析剩下 10 个候选内参基因的稳定性。一般认为, 候选内参基因 SD 小于 1 的被认为是最稳定表达的, 由 Table 3 可见, 除 *UBQ* (1.108) 基因外, 本试验中其他的 9 个候选内参基因 SD 值都小于 1, 说明除 *UBQ* 基因外其他内参基因的表达都比较稳定。*MDH* 和 *EF1b* 的 SD 分别为 0.361 和 0.411, 这个结果与 geNorm 的分析结果一致, 说明澳洲坚果根、茎、叶、果皮、果仁等不同组织中的最适内参基因首选 *MDH* 基因。

表 3 BestKeeper 分析 10 个内参基因在根茎叶中的相关系数  
Table 3 The stability of the candidate reference genes according to BestKeeper analysis

| 内参基因  | 相关系数  | 标准偏差 (SD) | 变异系数 (CV) |
|-------|-------|-----------|-----------|
| 18S   | 0.929 | 0.619     | 3.215     |
| Actin | 0.659 | 0.917     | 3.811     |
| CYP   | 0.872 | 0.754     | 3.268     |
| EF1a  | 0.925 | 0.966     | 3.933     |
| EF1b  | 0.809 | 0.411     | 1.635     |
| GAPDH | 0.946 | 0.531     | 1.844     |
| MDH   | 0.946 | 0.361     | 1.538     |
| TUBb  | 0.843 | 0.994     | 3.708     |
| UBQ   | 0.731 | 1.108     | 4.594     |
| UBC   | 0.560 | 0.770     | 3.116     |

## 2.4 澳洲坚果 SAD 基因的表达分析和内参基因的验证

植物硬脂酰-酰基载体蛋白脱饱和酶 (SAD) 是一种质体中存在的催化硬脂酸烃链脱饱和和合成油酸的可溶性酶, 是植物中形成不饱和脂肪酸的前提。已有研究表明澳洲坚果 SAD 能以 18: 0-ACP 和 16: 0-ACP 为底物催化生成单不饱和脂肪酸——油酸和棕榈油酸, 并且对底物 18: 0-ACP 的酶反应速率高于底物 16: 0-ACP (Rodríguez et al., 2015)。为了分析 SAD 基因在澳洲坚果不同组织中的表达情况, 分别用 MDH (表达最稳定内参) 和 TUBa 基因 (为表达最不稳定内参) 作为参照基因分别归一化定量。结果显示以 MDH 为参照时茎叶中的表达量相对根中的表达呈现上升的趋势, 以 TUBa 基因作为参照时茎叶中的表达量相对根呈现下降的表达趋势; 而果皮和果仁的相对表达量两种内参的表达量基本一致 (图 4)。

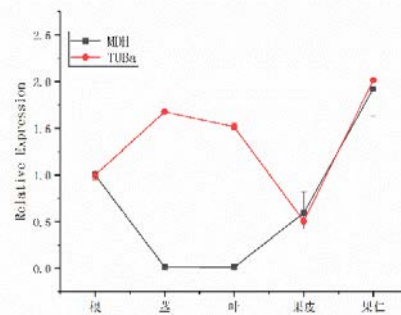


图 4 不同内参归一化的澳洲坚果 SAD 基因的表达模式

## 3 讨论与结论

使用实时荧光定量 PCR 技术分析基因的表达情况是理解生物学调控机制研究中常用的重要手段。因此为了获得更为准确的定量结果, 通常会选择一个或多个持家基因作为内参基因对目的基因的表达量进行校准和标准化, 故选择合适的内参基因是获得准确的定量结果的关键 (Suzuki et al., 2000)。但实际情况是, 大多都是比较不同组织器官中、不同处理条件下、不同类型细胞中和不同发育阶段中目的基因的表达量变化, 常用内参基因的表达也会随着条件改变, 在不同实验条件下并不是恒定表达 (Chervoneva et al., 2010)。在荔枝中, 有学者比较了荔枝果实发育不同阶段和外源生长调节剂处理后  $\beta$ -Actin、GAPDH、18S rRNA、UBQ、eEF 和 25S rRNA 共 6 个常用内参基因的表达稳定性, 结果显示  $\beta$ -Actin 在不同算法中均有较好的表达稳定性 (魏永赞等, 2012)。在香蕉中, 对 144 份香蕉样品中的 20 个候选内参基因进行表达性分析发现, RPS2 和 UBQ2 是所有样品和不同胁迫条件下的表达最稳定基因, ACT 和 GAPDH 的表达最不稳定 (Chen et al., 2011)。随着基因组测序技术的深入发展, 澳洲坚果中相关基因功能的研究逐渐成为重点, 内参基因的筛选成为进一步基因功能研究的必然前提。

Actin 是常见的内参基因, 是微丝的结构成分, 也是细胞骨架的主要成分。在鱼的研究中发现, 环境中的激素刺激会影响 Actin 基因的表达稳定性 (Amy et al., 2007)。18S rRNA 是真核生物体内含量最多的核糖体 RNA, 常被用来做内参基因, 但是在杨树的发育时期, 18S rRNA 的表达稳定性最差, 并不适合作为内参基因 (Gutierrez et al., 2008)。GAPDH 是糖酵解、糖异生及光合作用碳固定循环过程中的关键酶。但是在猪的不同组织中的表达水平和稳定性表达变化都很大, 是最不稳定的内参基因 (Ann-Britt et al., 2007)。苹果酸脱氢酶 (malate dehydrogenase, MDH) 是一类广泛存在动植物中的酶, 参与植物体的多个代谢途径, 根据辅酶专一性、亚细胞定位和生理功能, 分为过氧化酶苹果酸脱氢酶 (pMDH)、线粒体苹果酸脱氢酶 (mMDH)、质体苹果酸脱氢酶 (pdMDH) 和细胞质苹果酸脱氢酶 (cyMDH) (Tomaz et al., 2010)。细胞质苹果酸脱氢

酶 (cyMDH) 是调控苹果酸代谢的关键酶之一, 与苹果酸代谢相关的苹果酸酶、负责运输苹果酸的液泡膜  $H^+$ -ATPase 和焦磷酸酶共同控制苹果酸的代谢和积累。在小麦的研究中发现: *TaMDH* 基因在不同物种间高度保守, 推测 *cyMDH* 可能由一个共同的祖先进化而来, 并且可能属于管家基因 (Ding et al., 2004)。张俊平等人以黄花大苞姜花粉母细胞时期、四分体时期、成熟花粉时期的花药组织为材料进行 qRT-PCR 分析, 发现 *MDH* 和 *TUB7* 的表达最稳定, *ACT6* 的稳定性最差 (张俊平和王英强, 2018)。本实验经过筛选, 发现 *MDH* 基因在澳洲坚果不同组织中的表达稳定性最好, 适合做内参基因, 而 *TUBa* 基因表达最不稳定。因此, 如果在进行基因表达分析前, 没有对候选内参基因进行表达稳定性分析, 盲目使用内参基因, 会导致试验结果差异比较大。

geNorm、NormFinder 和 BestKeeper 3 种软件是评价内参基因稳定性的常用软件, 应用非常广泛。由于三个程序的计算方法不同, 因此各分析软件分析得出的稳定性排序在顺序上会有一些的差异, 但并不影响筛选出最合适的内参基因。在本试验的数据分析中发现: geNorm 和 BestKeeper 软件进行分析的候选内参基因的稳定性排序基本一致, 与 NormFinder 分析结果有较明显差异。geNorm 软件得出 *EF1b* 和 *MDH* 表达稳定性最好, 其它基因的表达稳定性排列顺序为 *GAPDH*>*UBC*>*Actin*>*18S*>*CYP*>*EF1a*>*TUBb*>*UBQ*>*TUBa*。*TUBa* 表达最不稳定。BestKeeper 软件分析的 10 个候选内参基因稳定性排序依次为: *MDH*>*EF1b*>*GAPDH*>*18S*>*CYP*>*UBC*>*Actin*>*EF1a*>*TUBb*>*UBQ*。geNorm 和 BestKeeper 软件排序前 3 的内参基因都是 *MDH*、*EF1b* 和 *GAPDH*。而 NormFinder 软件分析的候选内参基因稳定性结果是: 除了最不稳定的基因 *UBQ* 一致外,*GAPDH*、*CYP*、*EF1a* 和 *18S* 的稳定性均比 *MDH* 和 *EF1b* 的稳定性高, 与 geNorm 和 BestKeeper 软件的结果具有较大差异。这些差异是由 3 种程序的不同计算原理和方法决定的。geNorm 分析程序根据各个候选内参基因在每个样品中表达情况的相似度进行排序, 不考虑其他内参基因, 故 geNorm 不适用于区分表达模式类似的基因。而 NormFinder 是以组内方差与组间方差进行排序, 综合考虑其他基因之后, 对候选内参基因进行打分。只有在候选内参基因本身在组间各个样品间的差异较少时, geNorm 与 NormFinder 的分析结果差异较大; 因此, 推测本次实验中澳洲坚果取材的根、茎、叶、果仁和果皮各个样品间的差异较少, 11 个候选内参基因的表达基本都比较稳定, 没有明显较大差异。因此, 试验选择哪个内参基因, 使用哪一种筛选工具, 都要根据其试验材料、试验目的和试验设计的具体要求去做出选择。并且要尽量多选择几种分析软件同时使用, 综合考虑。只有这样才能从一系列不同功能的候选看家基因中选择出试验所需最适的内参基因用于目标基因的标准化, 达到准确定量的目的。因此在本研究中, 可以初步选择 *MDH* 和 *EF1b* 作为澳洲坚果实时荧光定量分析的较为稳定的内参。由于不同的环境条件, 如生物胁迫和非生物胁迫都会影响内参基因表达稳定性, 我们将进一步对不同处理条件下, 澳洲坚果中内参基因的表达稳定性进行深入研究。

## References

- 李穆, 杨祥燕, 蔡元保, 郑文武, 曾黎明, 唐莹莹, 吴超, 叶维雁. 2018. 我国澳洲坚果研究的文献计量学分析. 农业研究与应用,31(1):52-57.
- 孙美莲, 王云生, 杨冬青, 韦朝领, 高丽萍, 夏涛, 单育, 骆洋. 2010. 茶树实时荧光定量 PCR 分析中内参基因的选择. 植物学报,45(5):579-587.
- 魏永赞, 赖彪, 胡福初, 李晓静, 胡桂兵, 王慧聪. 2012. 用于荔枝 qPCR 分析的内参基因克隆及稳定性分析. 华南农业大学学报,33(3):301-306.
- 张俊平, 王英强. 2018. 黄花大苞姜花药发育 qRT-PCR 内参基因筛选. 广西植物,38(1):76-83.
- Amy LF, Charles RT. 2007. Appropriate 'housekeeping' genes for use in expression profiling the effect of environmental estrogens in fish. BMC Molecular Biology,8:10.
- Nygaard AB, Jørgensen CB, Cirera S, Fredholm M. 2007. Selection of reference genes for gene expression studies in pig tissues using SYBR green qPCR. BMC Molecular Biology,8:67.
- Andersen CL, Jensen JL, Rbtoft TF. 2004. Normalization of real-time quantitative reverse transcription-PCR data: a model-based variance estimation approach to identify genes suited for normalization, applied to bladder and colon cancer data sets. Cancer Research,64 (15):5245-5250.
- Chen Lei, Zhong Hai-ying, Kuang Jian-fei, Li Jian-guo, Lu Wang-jin, Chen Jian-ye. 2011. Validation of reference genes for RT-qPCR studies of gene expression in banana fruit under different experimental conditions. Planta,234:377-390.
- Dheda K, Huggett JF, Bustin SA, Johnson MA, Rook G, Zumla A. 2004. Validation of housekeeping genes for normalizing RNA expression in real-time PCR. Biotechniques,37:112-119.
- Ding Yu, Ma Qing-hu. 2004. Characterization of a cytosolic malate dehydrogenase cDNA which encodes an isozyme toward oxaloacetate reduction in wheat. Biochimie,86(8):509-518.
- Gutierrez L, Mauriat M, Guénin S, Pelloux J, Lefebvre J F, Louvet R, Rusterucci C, Moritz T, Guerineau F, Bellini C, Van Wuytswinkel

- O. 2008. The lack of a systematic validation of reference genes: a serious pitfall undervalued in reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) analysis in plants. *Plant Biotechnology Journal*,6:609-618.
- Pérez S, Royo L J, Astudillo A, Escudero D, Alvarez F, Rodríguez A, Gómez E, Otero J. 2007. Identifying the most suitable endogenous control for determining gene expression in hearts from organ donors. *BMC Molecular Biology*,8(1):1-23.
- Pfaffl M W, Tichopad A, Prgomet C, Neuvians T P. 2004. Determination of stable housekeeping genes, differentially regulated target genes and sample integrity: BestKeeper-Excel-based tool using pair-wise correlations. *Biotechnology Letters*,26(6):509-515.
- Rodríguez M F, Sánchez-García A, Salas J J, Garcés R, Martínez-Force E. 2015. Characterization of soluble acyl-ACP desaturases from *Camelina sativa*, *Macadamia tetraphylla* and *Dolichandra unguis-cati*. *Journal of Plant Physiology*,178:35-42.
- Suzuki T, Higgins P J, Crawford D R. 2000. Control selection for RNA quantitation. *Biotechniques*,29:332-337.
- Chervoneva I, Li Y, Schulz S, Croker S, Wilson C, Waldman S A, Hyslop T. 2010. Selection of optimal reference genes for normalization in quantitative RT-PCR. *BMC Bioinformatics*,11(1):1.
- Tomaz T, Bagard M, Pracharoenwattana I, Lindén P, Lee C P, Carroll A J, Millar A H. 2010. Mitochondrial malate dehydrogenase lowers leaf respiration and alters photorespiration and plant growth in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*,154(3):1143-1157.
- Vandesompele J, De Preter K, Pattyn F, Poppe B, Van Roy N, De Paepe A, Speleman F. 2002. Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. *Genome Biology*,3(7):1-11.

# 西双版纳宜种优良菠萝品种筛选

刘世红, 陈彭坤, 于静娟, 易小艳, 管艳, 倪书邦, 张阳梅  
云南省热带作物科学研究所, 云南景洪 666100

**摘要** 为筛选西双版纳宜种优良菠萝品种, 对 10 个菠萝品种果实主要农艺性状及品质性状进行评价, 结果表明, ‘卡因’、‘台农 16 号’ 无眼、果大、肉厚、皮薄, ‘卡因’ (纵径×横径=15.60cm×12.32cm、果肉厚 4.28cm、果皮厚 0.86cm、单果均重 1.64kg), ‘台农 16 号’ (纵径×横径=19.10cm×11.54cm、果皮厚 0.68cm 单果均重 1.30kg), 农艺性状表现较好; ‘台农 6 号’、‘Puket1’、‘Puket2’、‘台农 16 号’ 果肉菠萝蛋白酶含量较高, 保健功能较好; ‘卡因’、‘台农 16 号’、‘Puket1’, 糖度高、酸度适中, 鲜食口感较好。综合分析, ‘台农 16 号’ 品种优良, 适于西双版纳推广种植。

**关键词** 西双版纳; 菠萝; 宜种; 优良; 品种

## Selecting for suitable and excellent pineapple varieties in Xishuang

Liu Shihong, Chen Pengkun, Yu Jingjuan, Yi Xiaoyan, Guan Yan, Ni Shubang, Zhang Yangmei  
Yunnan Tropical Crops Research Institute, Jinghong Yunnan 666100)

**Abstract** To Select pineapple suitable planting varieties in Xishuangbanna, the main agronomic traits and quality indexes of ten pineapples cultivars in Xishuangbanna were studied, The results showed that 'Caine' and 'Tainong 16' had large fruit, thick flesh, thin peel, 'Caine' (longitudinal diameter × transverse diameter = 15.60cm × 12.32cm, fruit flesh 4.28cm, peel thickness 0.86cm, fruit weight 1.64kg), 'Tainong 16' (longitudinal diameter × transverse diameter = 19.10cm × 11.54cm, fruit flesh 4.28cm, peel thickness 0.86cm, fruit weight 1.30kg), good agronomic traits. The content of pineapple protease was higher in 'apple', '12', '13' and 'Tainong 16', and the health function was better; 'Caine', 'Tainong 16' and '12' are freshly taste better by having higher sugar and middle acid. Comprehensive analysis, 'Tainong 16' are suitable for Xishuangbanna to promote planting.

**Keywords** Xishuang; Pineapple; Suitable; Excellent; Varieties

菠萝(学名:*Ananas comosus*)为凤梨俗称, 是著名热带水果之一, 在热带水果生产和贸易中的地位仅次于香蕉和芒果, 是中南美洲和亚太地区的重要经济作物之一。近年来, 云南菠萝发展迅速, 特别是西双版纳, 种植面积逐年扩大, 但品种单一, 风险大, 市场竞争力小。作者通过引进新的菠萝品种, 并对引进试种的菠萝品种进行主要农艺性状及品质分析, 筛选适合西双版纳热区种植的优良品种, 进行大面积推广, 带动农民创收、增收, 提高土地利用效率, 为云南菠萝产业的可持续发展奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

试验材料为 2017 年 3 月种植的 ‘台农 16 号’、‘台农 17 号’、‘台农 6 号’、‘台农 13 号’、‘台农 19 号’、‘金菠萝’、‘Perolera’、‘Puket1’、‘Puket2’ 及本地 ‘卡因’, 苗高均为 40cm 左右。

### 1.2 实验方法

试验均为自然开花结实, 果实均以果实底部 1~2 层变色为采收标准, 采果期为 2018 年 5 月~7 月, 每品种选择一致性好的果实 3 个进行试验分析。

1.2.1 果实性状测定方法: 参照《热带、亚热带果树种质资源数据质量控制规范》<sup>[1]</sup>。采用游标卡尺测量菠萝果实的纵横径、果皮厚、果肉厚、中心柱直径, 电子天平测量单果重、果皮重、果肉重等主要农艺性状指标。

1.2.2 可溶性固形物测定方法: 参照 GB/T 12295-1990<sup>[2]</sup>。

1.2.3 还原糖含量测定方法: 斐林试剂法测定还原糖含量<sup>[3]</sup>。

1.2.4 可滴定酸测定方法: 参照 GB/T 12293-1990<sup>[4]</sup>。

1.2.5 菠萝酶含量测定方法: 洗涤法测定。

1.2.5.1 所需试剂

5% 苯甲酸钠溶液、0.2% 鞣酸溶液、0.1% EDTA、1.5% NaCl、0.5% 乙酸锌、0.06% 抗坏血酸、0.5% EDTA、0.5% 硫代硫酸钠、0.1% L-半胱氨酸。

1.2.5.2 实验仪器

榨汁机、离心机、冰箱、干燥器。

1.2.5.3 实验步骤

1) 取新鲜菠萝汁 200g, 加 5% 苯甲酸钠 2ml 搅拌混匀, 4000rpm 离心 7min;

2) 取上清, 转入洁净烧杯中, 缓缓加入 0.2% 鞣酸溶液 15ml, 边加边搅拌约 15min, 沉淀析出后, 静置 40min;

3) 弃上清, 将酶复合物沉淀转入离心管中, 4000rpm 离心 5min, 弃上清, 即得酶糊复合物;

4) 将提取的蛋白酶糊转入烧杯中, 加 0.1% EDTA 20ml, 1.5% NaCl 40ml, 搅拌均匀; 4000rpm 离心 7min, 弃上清, 得洗涤剂 I 酶复合沉淀物; 将之转移至烧杯中, 加 0.5% 乙酸锌 4ml, 搅拌均匀, 静置 5min; 加 0.06% 抗坏血酸 6ml, 搅拌均匀, 静置 5min; 加 1.5% NaCl 4ml, 搅拌均匀, 静置 5min; 加 0.5% EDTA 4ml, 搅拌均匀, 静置 5min; 4000rpm 离心 7min, 弃上清, 得洗涤剂 II 酶复合沉淀物; 将之装入烧杯中, 加 0.5% 硫代硫酸钠 4ml, 搅拌均匀, 静置 5min; 加 1% L-半胱氨酸溶液 2ml, 搅拌均匀, 4000rpm 离心 7min 弃上清的蛋白酶糊;

5) 冷冻、干燥、称重。

### 1.3 数据处理方法

数据采用软件 SPSS14.0 进行方差分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 菠萝新品种果实农艺性状表现

表 1 10 个菠萝品种果实主要农艺性状

| 品种       | 农艺性状 | 单果重<br>(带冠芽)<br>(g) | 单果重<br>(g) | 纵径<br>(cm) | 横径<br>(cm) | 冠芽长<br>(cm) |
|----------|------|---------------------|------------|------------|------------|-------------|
| 台农 17 号  |      | 429.6               | 380        | 10.76      | 9.16       | 19.3        |
| 台农 19 号  |      | 1049.2              | 1002       | 14.58      | 11.22      | 10.62       |
| 台农 6 号   |      | 678.4               | 638.8      | 11.66      | 10.22      | 20.6        |
| 金菠萝      |      | 1194                | 977.2      | 12.36      | 11.26      | 13.38       |
| 卡因       |      | 1878.8              | 1641.2     | 15.6       | 12.32      | 15.52       |
| Puket2   |      | 572.4               | 513.6      | 10.86      | 9.54       | 12.9        |
| Puket1   |      | 732.4               | 672.4      | 11.8       | 9.82       | 12.62       |
| Perolera |      | 906.4               | 841.6      | 16.72      | 9.28       | 14.2        |
| 台农 13 号  |      | 784.4               | 665.2      | 11.38      | 9.4        | 8.12        |
| 台农 16 号  |      | 1395.2              | 1298.8     | 19.1       | 11.54      | 21.96       |

表 2 10 个菠萝品种果实主要农艺性状

| 品种       | 农艺性状 | 果皮厚<br>(cm) | 果肉厚<br>(cm) | 果心直径<br>(cm) | 果肉重<br>(g) | 果皮重<br>(g) |
|----------|------|-------------|-------------|--------------|------------|------------|
| 台农 17 号  |      | 1.08        | 2.02        | 2.36         | 116        | 253.2      |
| 台农 19 号  |      | 0.82        | 3.32        | 2.84         | 340        | 320.4      |
| 台农 6 号   |      | 0.68        | 2.6         | 3.42         | 280.8      | 350.8      |
| 金菠萝      |      | 0.70        | 3.66        | 1.98         | 559.2      | 410.4      |
| 卡因       |      | 0.86        | 4.28        | 2.12         | 975.6      | 646.8      |
| Puket2   |      | 0.92        | 2.76        | 1.96         | 237.6      | 268.8      |
| Puket1   |      | 0.84        | 2.86        | 1.94         | 262.4      | 384        |
| Perolera |      | 0.86        | 2.94        | 1.24         | 474.4      | 356.4      |
| 台农 13 号  |      | 0.78        | 3.04        | 1.54         | 488.4      | 496.4      |
| 台农 16 号  |      | 0.68        | 3.24        | 3.20         | 674.4      | 613.6      |

注 1: 单果重、果肉厚、果肉重数值越大越优;

果皮厚、果心直径、果皮重数值越小越优

对 10 个菠萝品种果实的单果重、纵横径、冠芽长、果皮厚、果肉厚、果心直径、果肉重、果皮重等 10 个主要农艺性状指标进行了测量。结果表明, 品种‘卡因’单果重、果肉厚、果肉重表现最优; 品种‘台农 16 号’果皮最薄, 单果重、果肉重次之, 表现较优; ‘台农 16 号’果心直径较粗, 但口感细嫩、基本无渣, 全部可以食用。综合分析, 品种‘卡因’、‘台农 16 号’果实主要农艺性状表现优良。

### 2.2 10 个菠萝品种果实品质分析

#### 2.2.1 可溶性固形物比较



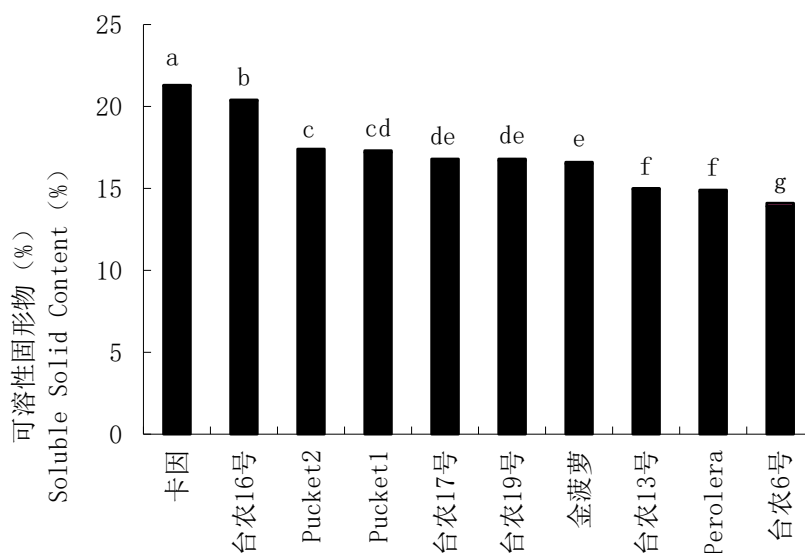


图1 10个菠萝品种可溶性固形物

可溶性固形物指溶容性糖类物质或其他可溶物质，水果中可溶性固形物主要是由糖（葡萄糖、果糖和蔗糖）组成，此外还含有少量的有机酸（主要是柠檬酸）、维生素(C、P等)、芳香物质、可溶性蛋白、色素和矿物质等。菠萝汁中可溶性固形物主要为糖类，一般代表含糖量。本试验中，10个菠萝品种可溶性固形物含量差异显著 ( $p < 0.05$ )，‘台农16号’、‘卡因’可溶性固形物大于20.35%；其余品种介于13.90%~17.40%。

### 2.2.2 还原糖含量比较

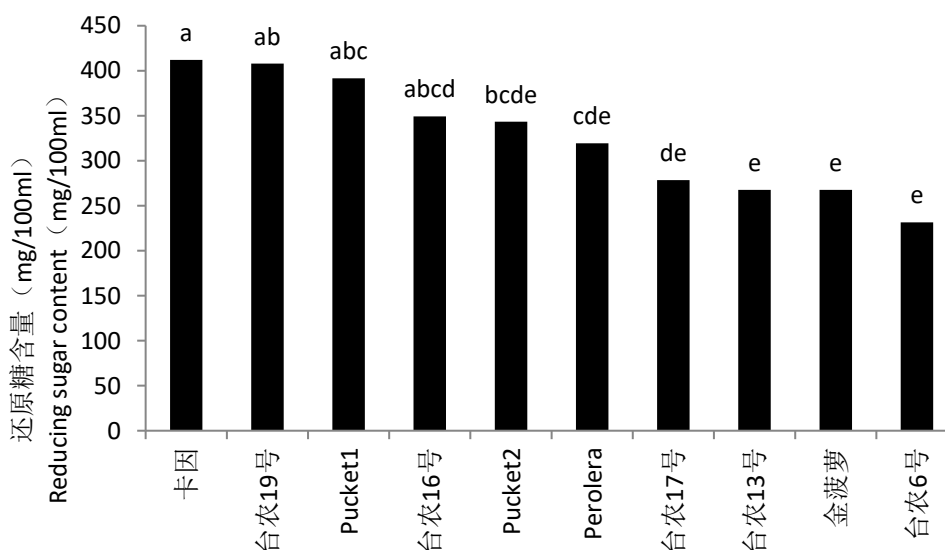


图2 10个菠萝品种还原糖含量

还原糖是指具有还原性的糖，包括葡萄糖、果糖、半乳糖、乳糖、麦芽糖等，可以被人体直接吸收利用，还原糖的高低会影响菠萝本身的风味，过低菠萝会发硬，过高又发软、出水，所以需要控制在一定范围。本试验中，10个菠萝品种还原糖含量差异显著 ( $p < 0.05$ )，‘卡因’、‘台农19号’、‘Pucket1’还原糖含量高于其它品种，平均为403.85mg/100ml；‘台农16号’、‘Pucket2’、‘Perolera’还原糖含量居中，平均为337.29mg/100ml；‘台农17号’、‘台农13号’、‘金菠萝’、‘台农6号’还原糖含量最低，平均为261.23mg/100ml。‘台农16号’、‘Pucket2’、‘Perolera’菠萝果肉风味好，较耐储存。

### 2.2.3 可滴定酸比较

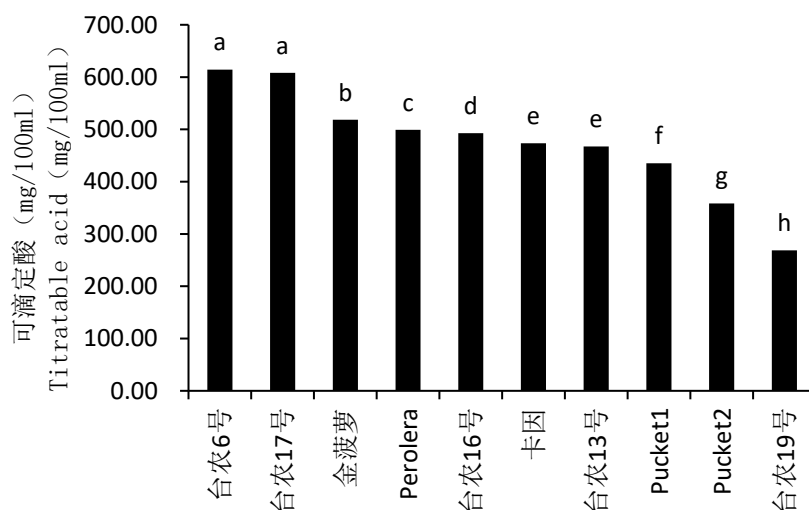


图3 10个菠萝品种可滴定酸

可滴定酸度是菠萝品质的重要构成性状之一，影响果实风味。对于鲜食品种，一般来讲，高糖中酸，风味浓，品质优；对于加工品种，则要求高糖高酸。因此，可滴定酸的定量研究对菠萝的品质育种具有重要意义。本试验中，10个菠萝品种可滴定酸度差异显著 ( $p < 0.05$ )，‘台农6号’、‘台农17号’可滴定酸度显著高于其它品种，可滴定酸度高于 608mg/100ml；‘金菠萝’、‘Perolera’、‘台农16号’、‘卡因’、‘台农13号’、‘Puket1’可滴定酸度适中，介于 435.20mg/100ml~518.40mg/100ml，鲜食口味佳；‘Puket2’、‘台农19号’可滴定酸度低于 358.40mg/100ml。

#### 2.2.4 糖酸比比较

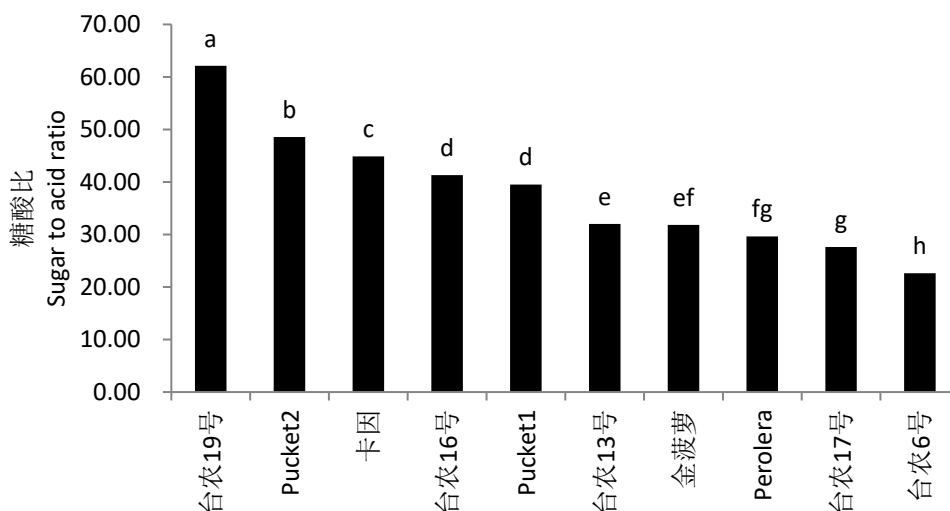


图4 10个菠萝品种糖酸比

糖酸比也叫甜酸比，是总糖量（可溶性固形物）与总酸含量的比，可当作甜酸味的表示尺度，用以比较果实品质。果汁类的评价，糖度高时以酸度高者为佳，糖度低时以酸度低者有良好评价。一般情况下，高糖酸比为高糖低酸、中低糖超低酸；低糖酸比为低糖高酸、中高糖超高酸；适宜糖酸比为高糖高酸、中糖中酸、低糖低酸。‘台农16号’、‘卡因’、‘Puket2’、‘Puket1’糖酸比适中，介于 0.04~0.05，风味佳，口感好。

#### 2.2.5 菠萝酶含量比较

菠萝酶是鲜菠萝果肉所含的一种水解酶，在医药保健方面具有重要作用。本试验中，10个菠萝品种菠萝酶含量差异显著 ( $p < 0.05$ )，‘台农6号’、‘台农16号’、‘Puket2’、‘台农13号’、‘Puket1’菠萝酶含量较高；‘台农17号’、‘Perolera’、‘卡因’、‘金菠萝’、‘台农19号’、‘台农21号’菠萝酶含量居中；‘台农11号’菠萝酶含量最低。

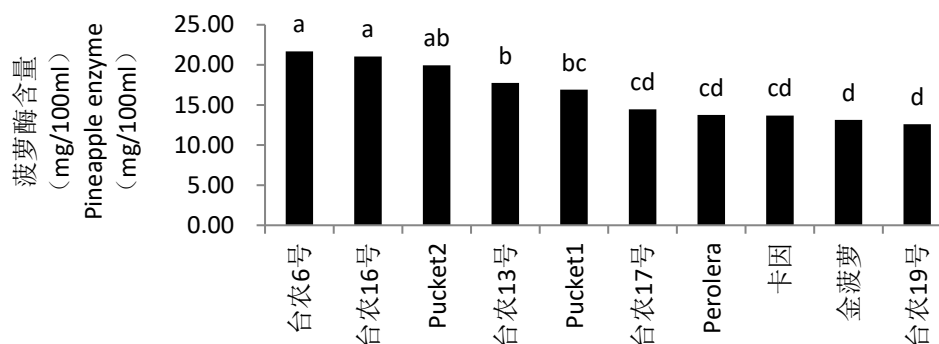


图5 10个菠萝品种菠萝酶含量

### 2.2.6 VC含量比较

VC又叫L-抗坏血酸，是一种水溶性维生素，食用富含VC的水果，对增强人体免疫力具有重要作用。本试验中，10个菠萝品种VC含量差异显著 ( $p < 0.05$ )，‘台农6号’、‘台农16号’、‘台农19号’、‘台农13号’VC含量高于其它品种；‘台农17号’、‘Perolera’、‘卡因’、‘金菠萝’、‘台农19号’、‘台农21号’菠萝酶含量居中；‘台农11号’菠萝酶含量最低。

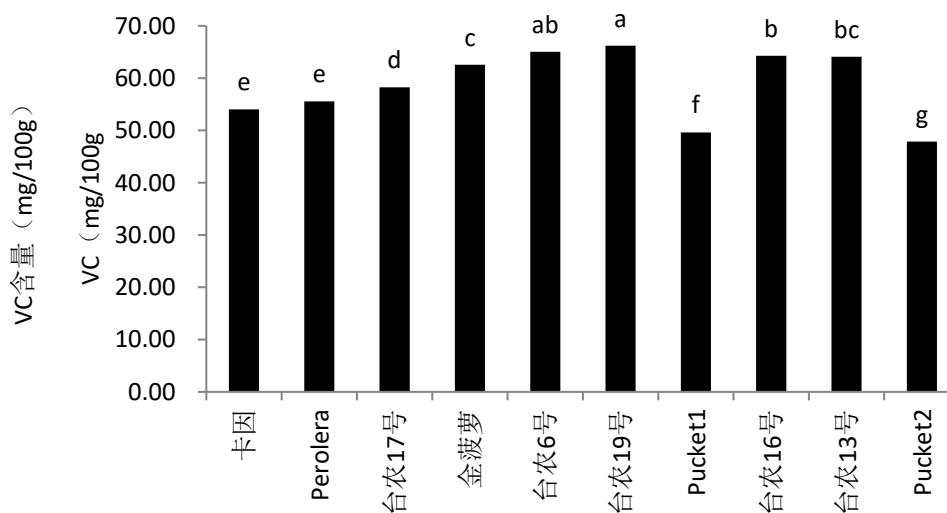


图6 10个菠萝品种VC含量

## 3 结论与讨论

菠萝品质直接影响食用价值，也影响其商品价值，包括外观品质和内在品质<sup>[5]</sup>。可溶性固形物、还原糖、可滴定酸、糖酸比、菠萝酶、VC是反映菠萝内在品质最重要的指标<sup>[6,7]</sup>。

赵维峰等“7个菠萝品种在云南的引种表现”中甜蜜蜜（台农16号）可溶性糖含量和糖酸比显著高于其他品种，有机酸含量差异不显著。本试验中，参试品种多了‘卡因’、‘Pucket1’、‘Pucket2’3个品种，‘台农16号’可溶性固形物含量仅低于‘卡因’，显著高于其它品种，与赵维峰<sup>[8]</sup>、张阳梅<sup>[9]</sup>和海南试种表现基本一致<sup>[10]</sup>，高于广东、广西表现<sup>[11-13]</sup>。还原糖含量的高低影响菠萝的口感，本试验中‘台农16号’、‘Pucket2’、‘Perolera’还原糖含量居中，口感较好，是基于本试验中10个品种，取中得出的结果，具体口感较好的还原糖含量范围确定，需进一步确定。参试品种可滴定酸差异显著，不同于赵维峰在云南试种<sup>[8]</sup>结论；糖酸比差异显著，‘台农19号’（蜜宝）最高，‘台农16号’在参试品种中较高，与赵维峰<sup>[8]</sup>等结论基本相同。本文中菠萝酶的评价是建立在医用和保健基础上，另外，还可建立在对舌头的刺激作用上，后续需继续开展不同品种不同果实成熟期菠萝酶含量的动态变化，确立不同品种最适鲜食采摘期。

试验区域同为云南西双版纳，结果却产生差异，究其原因可能为，赵维峰等试验条件为橡胶林间种模式，菠萝受光不足不均或采果期不同等所致。所以，同一品种，不同种植模式，不同气候条件下，果实的品质是不同的，以品质表现筛选不同生境的适宜品种是菠萝发展的趋势。总体来说，参试品种中‘台农16号’适应性较广，间作、单作、光照好、雨水多的情况下，果实表现均较好，适宜西双版纳推广种植。

### 参考文献

- [1]陈业渊, 贺军虎. 热带、南亚热带果树种质资源数据质量控制规范[M]. 北京: 中国农业出版社, 2006.
- [2]中国农科院蔬菜花卉研究所, GB/T 12295-1990. 水果、蔬菜制品可溶性固形物含量的测定--折射仪法[S]: 国家质检总局, 2008.
- [3]魏元. 马铃薯还原糖含量测定方法的研究[J]. 内蒙古科技与经济, 2016 (11): 77-79.

- [4]中国农业科学院蔬菜花卉研究所, GB/T 12293-1990. 水果、蔬菜制品可滴定酸度的测定[S], 2009.
- [5]邵宁华. 果蔬原科学[M]. 北京: 北京农业出版社, 1992.
- [6]陈海芳, 袁晓丽, 张秀梅. 菠萝品质生理的研究进展及展望[J]. 中国南方果树, 2016, 45 (06): 172-177.
- [7]梁俊, 郭燕, 刘玉莲, 等. 不同品种苹果果实中糖酸组成与含量分析[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2011, 39(10): 163-170.
- [8]赵维峰, 杨文秀, 裴红霞, 等. 7个菠萝品种在云南的引种表现[J]. 中国南方果树, 2018 (03): 90-93.
- [9]张阳梅, 赵志平, 高世德, 等. 菠萝新品种在云南引种比较试验[J]. 热带农业科技, 2015 (02): 16-19+32.
- [10]华敏, 王祥和, 张治礼, 等. 台农16号等优质菠萝品种在海南引种比较试验[J]. 中国南方果树, 2011 (01): 44-46.
- [11]李志, 刘业强, 王小媚, 等. 台农16号菠萝在防城港的引种表现及其栽培技术[J]. 中国南方果树, 2015, 44(03): 148-150+15.
- [12]孙伟生, 吴青松, 刘胜辉, 等. 台农系列菠萝品种特性的比较分析[J]. 热带作物学报, 2016 (11): 2050-2055.
- [13]韦巧云, 王小媚, 黄丽君, 等. 菠萝新品种‘台农16号’在广西西南地区的种植表现[J]. 中国热带农业, 2017 (06): 33-35.

# 6 种澳洲坚果品种光合特性差异分析

王文林, 陈海生\*, 郑树芳, 谭秋锦, 覃振师, 黄锡云, 贺 鹏, 汤秀华, 许 鹏  
广西南亚热带农业科学研究所 广西龙州 532400

**摘要** 澳洲坚果产量形成与品种光合特性密切相关, 为了阐明澳洲坚果产量与光合特性的关系, 筛选产量相关因子辅助坚果品种选育。采用 6 个主要栽培品种, 进行光合特性分析, 结果表明, 6 个澳洲坚果品种在叶绿素含量、叶绿素荧光和光合特性间均存在显著差异, 澳洲品种 OC 光合效率最高, 夏威夷品种 695 光合效率最低。相关分析表明, 叶绿素 a 含量与叶绿素 b 含量, 净光合速率 Pn、气孔阻止值 SLR、可变荧光 Fv, 实际光化学效率  $\Phi$ PSII, 电子传递速率 ETR 和总叶绿素含量高度正相关, 相关系数分别为 0.996、0.912、0.896、0.878、0.925、0.958 和 0.997。叶绿素 a 含量与胞间 CO<sub>2</sub> 浓度 Ci 显著负相关, 相关系数 -0.897。总之, 澳洲坚果品种 OC 光合效率最高, 澳洲坚果光合特性分析有助于筛选高产品种, 叶绿素 a 含量和实际光化学效率  $\Phi$ PSII 可作为澳洲坚果产量评价指标。

**关键词** 澳洲坚果, 品种, 光合特性, 相关分析  
**中图分类号** S664.9

## Differential analysis of photosynthetic characterization in 6 varieties of *Macadamia integrifolia*

WANG Wenlin, CHEN Haisheng, ZHENG Shufang, TAN Qiu jin, QIN Zhenshi, HUANG Xiyun, HE Peng, TANG Xiuhua, XU Peng  
Guangxi South Subtropical Agricultural Research Institute, Longzhou, Guangxi 532400

**Abstract** The yield formation of macadamia nuts is closely related to the photosynthetic characteristics of varieties. In order to clarify the relationship between the yield and photosynthetic characteristics of macadamia nuts, the yield related factors were selected to assist the selection of nut varieties. Six varieties of Macadamia were used to analyze the photosynthetic characteristics. Results showed that there were significant differences in chlorophyll content, chlorophyll fluorescence and photosynthetic characteristics among the 6 varieties of macadamia nut, with the highest photosynthetic efficiency in macadamia nut is Own Choice (OC) and the lowest is Hawaii variety Beaumont (695). Correlation analysis showed that the chlorophyll a (Chl a) content was highly related to the Chl b, net photosynthetic rate (Pn), Stoma limit ratio (SLR), variable fluorescence (Fv), actual photochemical efficiency ( $\Phi$ PSII), electron transfer rate (ETR) and total chlorophyll content, the correlation coefficients were 0.996, 0.912, 0.896, 0.878, 0.925, 0.958, and 0.997, respectively. There was a significant negative correlation between chlorophyll a content and intercellular CO<sub>2</sub> concentration (Ci), and the correlation coefficient was -0.897. In a word, OC had the highest photosynthetic efficiency. The photosynthetic characteristics analysis can help to screen high yield varieties, chlorophyll a content and actual photochemical efficiency  $\Phi$ PSII can be used as evaluation index of macadamia nuts.

**Keywords** *Macadamia integrifolia*, varieties, photosynthetic characterization, Correlation analysis

澳洲坚果 (*Macadamia integrifolia* & *Macadamia tetraphylla*) 属山龙眼科 (*Proteaceae*), 澳洲坚果属 (*Macadamia F. Muell*) 长绿乔木果树<sup>[1]</sup>。我国主产地在云南<sup>[2]</sup>、广西<sup>[3]</sup>两省, 此外广东、海南、福建、四川<sup>[4]</sup>、贵州等省区均有少量种植。我国澳洲坚果业发展历经引种<sup>[5]</sup>, 鉴定<sup>[6, 7]</sup>, 优良品种的大力推广<sup>[8, 9]</sup>, 到自主选育的过程。广东, 云南和广西分别选育了南亚1号<sup>[10]</sup>, 昌宁1号<sup>[11]</sup>和桂热1号<sup>[3]</sup>。澳洲坚果的选育涉及到适应性驯化<sup>[12]</sup>, 杂交技术<sup>[13, 14]</sup>, 果实发育特性和落果率等重要性状机制研究<sup>[15, 16]</sup>。光合作用作为碳水化合物合成的唯一来源<sup>[17]</sup>, 与澳洲坚果产量密切相关。前人对澳洲坚果叶绿素荧光动力学参数和净光合速率进行研究, 发现影响光合作用的主导环境因子为光照强度和湿度<sup>[18]</sup>。磷胁迫对澳洲坚果幼苗叶片光合特性和荧光参数的影响表明6个澳洲坚果品种耐低磷能力存在显著差异<sup>[19]</sup>。笔者前期证明干旱导致桂热1号光合活性下降<sup>[20]</sup>。为了进一步了解这些优良品种的特性, 加速高产优质澳洲坚果的选育速度, 本研究通过对6品种澳洲坚果光合特性进行差异分析, 筛选产量相关诊断指标, 对合理选择与生产区域环境条件相适应的优良品种及科学选育种提供依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

试验地为广西南亚热带农业科学研究所澳洲坚果种质圃 (E106.79.84, N22.14.34)。选取 2 个澳大利亚品种 Own Choice(缩写为 OC)、Hinde(H2)和 4 个夏威夷品种 Pahala(788)、Kau(344)、Keauhou(246)、Beaumont(695)7 年生长势一致的 6 个不同基因型澳洲坚果袋装嫁接苗为实验材料, 选用 H2 作为统一砧木。在生长期内进行浇水、施肥、喷肥等常规管理。

**基金项目** 国家重点研发计划 (J2016068); 广西科技基地和人才专项 (桂科 AD17195008, 桂科 AD18281087); 广西科技重大专项 (桂科 AA17204058-4, AA17204058-8)。

**作者简介** 王文林 (1980-), 男, 高级农艺师, 主要从事热带果树遗传育种研究工作, 联系电话: 13788513949, E-mail:3858533@163.com; \*通讯作者, E-mail: chenhs6179@163.com。

## 1.2 方法

叶绿素含量测定用丙酮法提取，分光光度法测定叶片叶绿素a、叶绿素b和总叶绿素含量<sup>[20]</sup>。光合活性用Li6400便携式光合作用系统(LI-COR Inc. USA)测定叶片的品种间净光合速率(Pn)，水分利用率(WUE)，胞间CO<sub>2</sub>浓度(Ci)，蒸腾速率(Tr)，气孔导度(Gs)和气孔阻止值(SLR)<sup>[21]</sup>。选择晴天上午8:00~11:00进行测量，采用开放式气路，根据当时环境条件设定参数，大气CO<sub>2</sub>含量(Ca)为300 $\mu\text{L L}^{-1}$ ，光强(PFD)为240  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ，叶室温度为30 °C，每个品种重复6次。选择晴天上午7:00~11:00。用PAM2500型荧光仪测定叶片的荧光诱导动力学参数<sup>[20]</sup>。包括PSII的潜在活性(Fv/Fo)、暗适应下PSII的最大光化学效(Fv/Fm)、事实光化学效率( $\Phi\text{PSII}$ )、光合电子传递速率(ETR)、光化学荧光猝灭系数(qP)和非光化学荧光猝灭系数(qN)，每个品种重复6次。

## 1.3 统计分析

采用SAS 9.0程序分析，差异显著性使用Duncan多重比较，显著性差异( $P < 0.05$ )采用小写字母，显著性极差异( $P < 0.01$ )采用大写字母，使用origin9.0软件作图<sup>[20]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 6个基因型澳洲坚果品种叶绿素含量的差异

从图1可看出，6个基因型澳洲坚果品种叶绿素总含量存在极显著性差异，含量最高的是OC，为3.72  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ，含量最低的是695为1.33  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ，两者相差2.39  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。其中，叶绿素a(Chl a)和叶绿素b(Chl b)均存在显著性差异，含量均以OC含量最高，含量分别为2.72和1.00  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ，695含量最低，含量分别为0.94和0.39  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。不同基因型澳洲坚果叶绿素比值a/b显著性差异不大，比值以OC最大，为2.72，H<sub>2</sub>最小，为2.11。

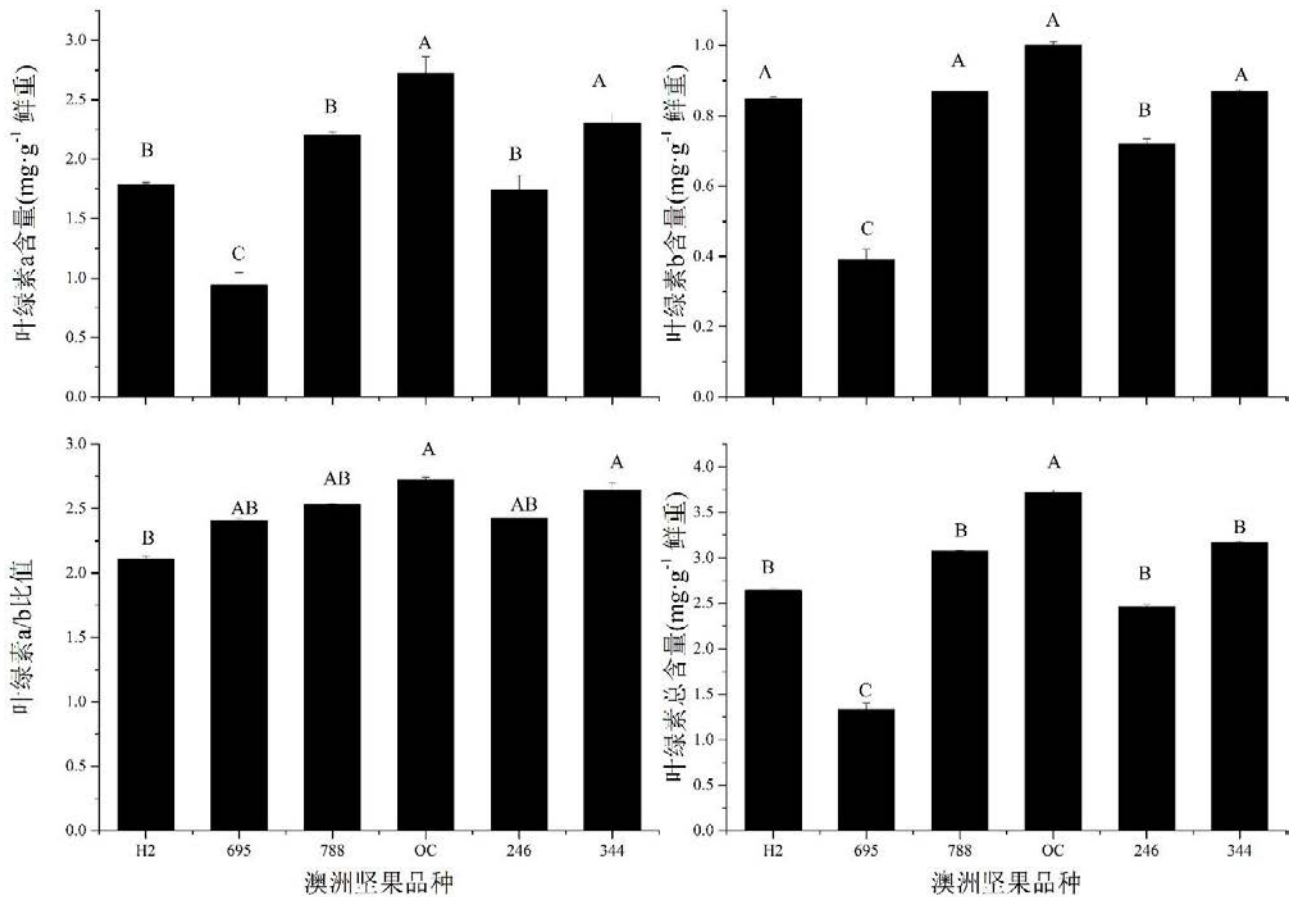


图1 6种基因型澳洲坚果叶叶绿素含量

### 2.2 6种基因型澳洲坚果光合特性比较

从图2可以看出，6种基因型澳洲坚果光合活性有极显著差异。叶片的净光合速Pn以OC为最高，为7.58  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ，比695、246分别高出71.5%、54.1%，其余基因型Pn处于中间水平。蒸腾速率Tr以788最高，为0.81  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ，H<sub>2</sub>、788、OC和246之间的Tr差异显著性较小，与695和344存在极显著性差异。6种基因型澳洲坚果间水分利用率WUE差异显著，最高的是695，平均为13  $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ；最低的是788，平均为6.98  $\mu\text{mol mol}^{-1}$ 。6种基因型间气孔导度Gs差异极显著，最高的是OC，平均为93.41  $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ；最低的是344，为60.43  $\mu\text{mol mol}^{-1}$ 。胞间CO<sub>2</sub>浓度Ci存在显著差异以695最高，达到231.8  $\mu\text{L L}^{-1}$ ，344最低，为155.5  $\mu\text{L L}^{-1}$ 。气孔阻止值SLR与Ci呈负相关，695最低，为0.2273，344最高，为0.4817。

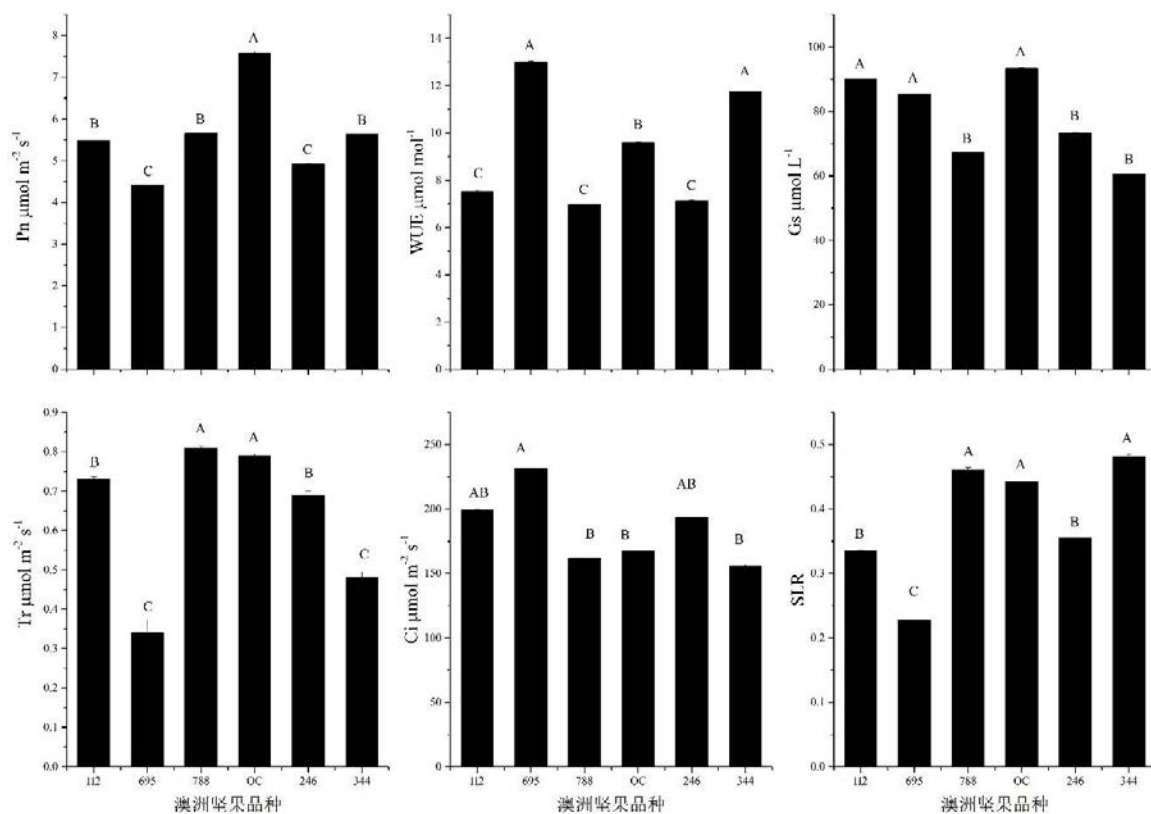


图2 6种基因型澳洲坚果光合特性比较

### 2.3 6种基因型澳洲坚果叶绿素荧光动力学参数差异分析

由图3可以看出,6种基因型澳洲坚果PS II的潜在活性( $F_v/F_o$ )存在极显著差异、788最高,暗适应下PS II的最大光化学效率( $F_v/F_m$ )没有差异。事实光化学效率( $\Phi_{PS II}$ )和光合电子传递速率(ETR)有着相似的差异规律、788、OC和344最高。光化学荧光猝灭系数( $q_P$ )差异显著,788和246最高。非光化学荧光猝灭系数( $q_N$ )差异不大,695最低。

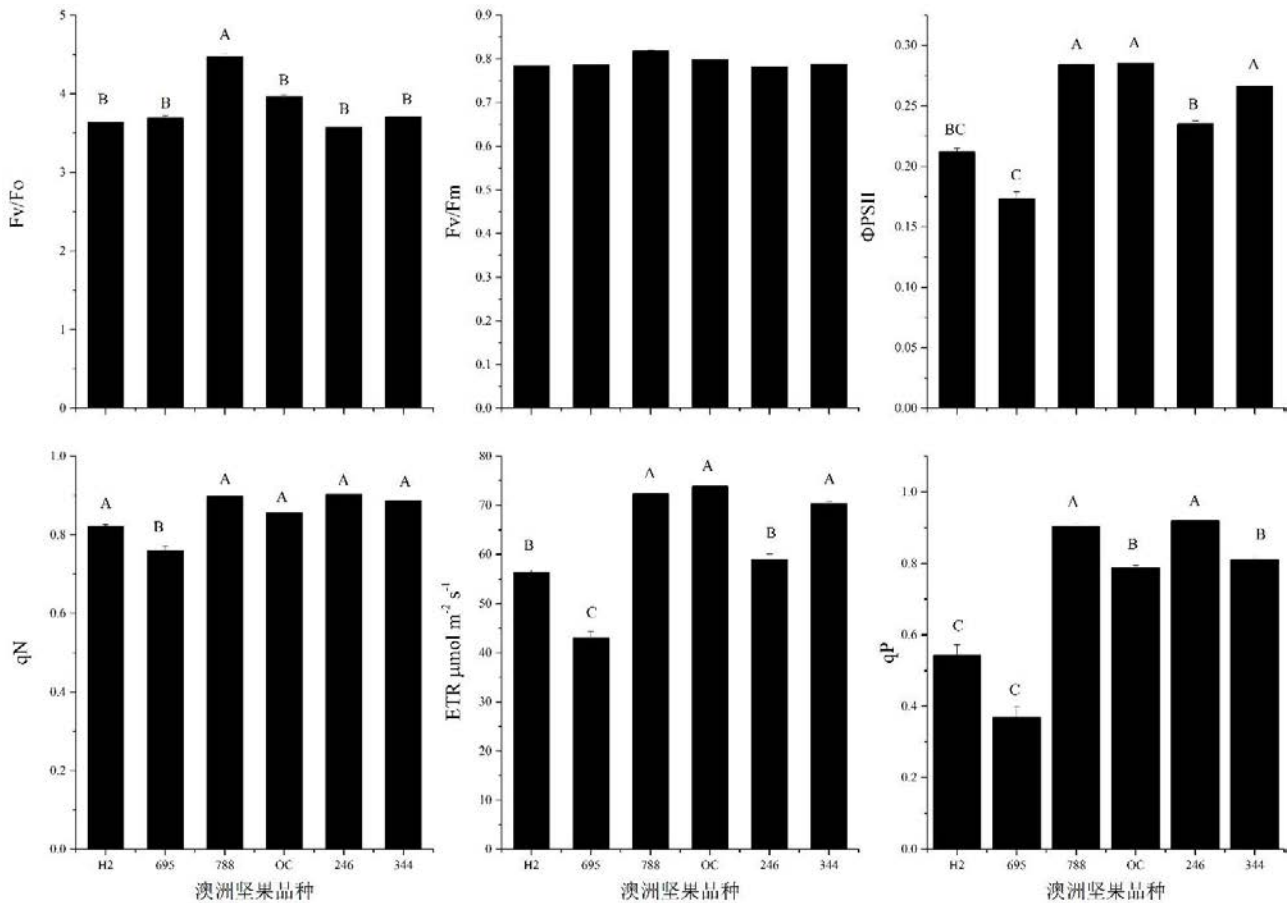


图3 6种基因型澳洲坚果叶绿素荧光动力学参数

#### 2.4 6种基因型澳洲坚果叶片光合参数的相关分析

为了进一步明确6种基因型澳洲坚果叶片光合参数之间的关系，在品种评价过程中作为诊断指标，我们对测定的指标进行了相关分析。从表1可以看出，叶绿素a含量与叶绿素b含量，净光合速率Pn、气孔阻止值SLR、可变荧光Fv，实际光化学效率ΦPSII，电子传递速率ETR和总叶绿素含量高度正相关，相关系数分别为0.996、0.912、0.896、0.878、0.925、0.958和0.997。叶绿素a含量与胞间CO<sub>2</sub>浓度Ci显著负相关，相关系数-0.897。胞间CO<sub>2</sub>浓度Ci与气孔阻止值成反比。



表1 6个品种澳洲坚果叶片光合特征参数的相关性分析

| 相关系数    | Chl a   | Chl b   | Chl a/b | Chl T   | Fv      | Fv/Fo  | Fv/Fm  | ΦPSII   | qN      | qP     | ETR      | Pn     | Tr     | WUE   | Gs     | Ci | SLR |
|---------|---------|---------|---------|---------|---------|--------|--------|---------|---------|--------|----------|--------|--------|-------|--------|----|-----|
| Chl a   | 1       |         |         |         |         |        |        |         |         |        |          |        |        |       |        |    |     |
| Chl b   | 0.966** | 1       |         |         |         |        |        |         |         |        |          |        |        |       |        |    |     |
| Chl a/b | 0.425   | 0.177   | 1       |         |         |        |        |         |         |        |          |        |        |       |        |    |     |
| Chl T   | 0.997** | 0.982** | 0.36    | 1       |         |        |        |         |         |        |          |        |        |       |        |    |     |
| Fv      | 0.878*  | 0.939*  | 0.073   | 0.901*  | 1       |        |        |         |         |        |          |        |        |       |        |    |     |
| Fv/Fo   | 0.537   | 0.413   | 0.646   | 0.506   | 0.553   | 1      |        |         |         |        |          |        |        |       |        |    |     |
| Fv/Fm   | 0.562   | 0.434   | 0.665   | 0.531   | 0.563   | 0.999  | 1      |         |         |        |          |        |        |       |        |    |     |
| ΦPSII   | 0.925*  | 0.87    | 0.497   | 0.916*  | 0.898*  | 0.803  | 0.818  | 1       |         |        |          |        |        |       |        |    |     |
| qN      | 0.541   | 0.655   | -0.198  | 0.576   | 0.87    | 0.526  | 0.517  | 0.691   | 1       |        |          |        |        |       |        |    |     |
| qP      | 0.588   | 0.647   | 0.004   | 0.609   | 0.856   | 0.64   | 0.633  | 0.763   | 0.967** | 1      |          |        |        |       |        |    |     |
| ETR     | 0.958** | 0.919*  | 0.449   | 0.954*  | 0.915*  | 0.733  | 0.75   | 0.989** | 0.664   | 0.708  | 1        |        |        |       |        |    |     |
| Pn      | 0.912*  | 0.813   | 0.604   | 0.891*  | 0.632   | 0.384  | 0.417  | 0.768   | 0.22    | 0.333  | 0.793    | 1      |        |       |        |    |     |
| Tr      | 0.787   | 0.832   | 0.089   | 0.805   | 0.919*  | 0.5    | 0.508  | 0.825   | 0.865   | 0.918* | 0.799    | 0.629  | 1      |       |        |    |     |
| WUE     | -0.435  | -0.571  | 0.326   | -0.475  | -0.773  | -0.307 | -0.298 | -0.534  | -0.944* | -0.927 | -0.498   | -0.187 | -0.877 | 1     |        |    |     |
| Gs      | 0.253   | 0.177   | 0.28    | 0.234   | -0.067  | -0.348 | -0.32  | -0.009  | -0.343  | -0.211 | 0.001    | 0.59   | 0.149  | 0.124 | 1      |    |     |
| Ci      | -0.897* | -0.889* | -0.332  | -0.900* | -0.903* | -0.710 | -0.724 | -0.939* | -0.676  | -0.666 | -0.969** | -0.661 | -0.705 | 0.46  | 0.199  | 1  |     |
| SLR     | 0.896*  | 0.889*  | 0.332   | 0.900*  | 0.903*  | 0.710  | 0.724  | 0.939*  | 0.676   | 0.666  | 0.969**  | 0.661  | 0.704  | -0.46 | -0.199 | -1 | 1   |

### 3 讨论

澳洲坚果原产澳大利亚昆士兰州东南部沿海地带和新南威尔士州北部、南纬25°-31°之间的沿海亚热带雨林,其果仁含丰富的不饱和脂肪酸<sup>[22]</sup>,蛋白质和碳水化合物,并富含钙、磷、铁、维生素B1、B2、核黄素、烟酸及10种人体不能合成而必须由食物供给的氨基酸等<sup>[23]</sup>,具有很高的营养保健价值。作为一种新兴的高档坚果类果树,在我国产业发展迅速。目前,澳洲坚果产业存在的主要问题就是缺乏高产优质,适宜我国种植的新品种。因此,采用植物生理学方法筛选鉴定优质种质资源是解决这一问题的有效途径。光合特性分析技术因为其无损,快速和准确的特点被广泛应用于高产品种选育<sup>[24]</sup>,逆境响应<sup>[24]</sup>,栽培措施<sup>[27,28]</sup>和品质分析<sup>[29]</sup>中。叶绿素直接参与光合作用中光能的吸收、传递、分配和转化等过程。叶绿素含量的不同必然会引起不同基因型澳洲坚果间光合作用的差异,叶片叶绿素含量高,更有利于捕获更多的光能为光合作用所利用。叶绿素a有利于吸收长波光,叶绿素b有利于吸收短波光。当叶绿素a/b比值减少时,增加植物对蓝紫光的吸收,从而提高其光能利用率<sup>[30]</sup>。因此,选择叶绿素a/b值较低的基因型,更有利于提高叶片光合活性,为合理安排间种打下良好基础<sup>[31]</sup>。

叶绿素荧光动力学参数反应植物PSII光能利用和传递的能力。本研究表明,788、OC、344有较高的Fv值,说明它们PS II的反应中心活性相对较高,具有较高的电子传递效率。Fv/Fo代表光系统PS II的潜在光化学活性,与有活性的反应中心的数量成正比关系。788、OC的Fv/Fo值明显高于其它基因型,说明788、OC具有较高的PS II潜在光化学活性,有活性的反应中心的数量较多。Fv/Fm表示暗适应PS II最大光化学量子效率,其值越小,说明电子传递活性越小。从图3可以看出,6种基因型澳洲坚果Fv/Fm比值差异不显著,表明不同基因型澳洲坚果叶片对受光抑制反应程度近似。在外界条件适宜时,不同基因型澳洲坚果光合电子由PS II反应中心向原初电子受体Q<sub>A</sub>、Q<sub>B</sub>和质体醌PQ库传递效率相近。事实光化学ΦPS II,反映了PS II反应中心部分关闭情况下的实际原初光能捕获效率,是将捕获的光能转化为生物化学的能力度量。788、OC、344电子传递的量子产额ΦPS II值与695、246、H2存在显著性差异,说明788、OC和344基因型澳洲坚果可充分利用所捕获的光能,具有较高的PS II原初光能转化效率和量子效率。光合电子传递效率ETR,是光合系统吸收光能发生电荷分离产生电子并沿电子传递链向下传递的速率,反映实际光强条件下的表观电子传递效率。不同基因型澳洲坚果间的ETR,以788、OC、344为高,与695、246、H2存在显著性差异。qP反映PS II反应中心开放部分的比例,qP值越高,其PS II反应中心开放部分的比例就越高,有利于降低不能进行稳定电荷分离,不能参与光合电子线性传递的PS II反应中心关闭部分的比例,使天线色素所捕获的光能以更高比例用于推动光合电子传递,从而提高电子传递能力。788、OC、246、344的qP值均极显著高于H2、695,说明788、OC、246、344PS II反应中心开放部分的比例高,具有较高的光合电子传递速率。qN表示PS II天线色素吸收的光能不能用于光合电子传递而以热的形式耗散的部分,6种基因型之间差异不显著,说明澳洲坚果品种没有收到明显的光抑制,光合效率高。

光合能力反映了PSII传递的电子在细胞内固定CO<sub>2</sub>形成碳水化合物的能力。OC的Pn值最高,这与其有较高的气孔导度Gs,蒸腾速率Tr和较低的胞间CO<sub>2</sub>浓度Ci有关。表明OC品种细胞能高效的将CO<sub>2</sub>固定为碳水化合物。相反,695因为光合效率低,导致胞间CO<sub>2</sub>浓度高。可以确定,澳洲坚果OC光合效率最高,主要是其具有最高的叶绿素含量,Pn值和事实光化学效率。695光合效率最低,因为其叶绿素含量最低,导致Pn和事实光化学效率最低。相关分析筛选出叶绿素a含量和实际光化学效率ΦPSII作为便捷快速的产量筛选指标(表1),将有助于澳洲坚果品种的选育。

### 4 结论

澳洲坚果品种OC光合效率最高。澳洲坚果光合特性可有助于筛选高产品种,叶绿素a含量和实际光化学效率ΦPSII可作为澳洲坚果产量评价指标。

#### 参考文献

- [1]陈显国,崔明勇,蔡元保,等.关于澳洲坚果主要推广品种的建议[J].黑龙江农业科学,2014(01):83~87.
- [2]贺熙勇,倪书邦,陈丽兰,等.一些澳洲坚果品种在云南的早期表现[J].云南热作科技,2002,25(03):1~8.
- [3]莫庆道,覃振师,赵大宣,等.澳洲坚果新品种——桂热1号[J].广西热带农业,2007(06):8~9.
- [4]刘晓,陈建.攀西地区12个澳洲坚果品种的产量和品质分析及适应性评价[J].中国南方果树,2006,35(02):33~34.
- [5]杨湘江.澳洲坚果的品种选择和繁殖[J].云南热作科技,1994,17(04):29~33.
- [6]英善文.北莫尔顿地区六个澳洲坚果主要商业品种的形态特征及其鉴别[J].云南热作科技,1995,18(04):40~41.
- [7]李文华.十五个澳洲坚果品种幼龄期植物学形态观察[J].云南热作科技,2001,24(02):39~41.
- [8]刘晓,陈建,曾平安.澳洲坚果商业性栽培品种在攀西地区生长结果性状研究[J].中国南方果树,2002,31(04):45~46.
- [9]陆超忠,曾辉,张汉周.澳洲坚果品种适应性研究[J].果树学报,2004,21(01):82~84.
- [10]曾辉,陆超忠.澳洲坚果新品种——南亚1号[J].中国果业信息,2013,30(04):65.
- [11]熊健,尹瑞萍,黄佳聪,等.澳洲坚果新品种‘昌宁1号’的选育[J].中国果树,2019(02):79~80.

- [12]何铎扬, 郑树芳, 覃振师. 澳洲坚果849、842品种在广西龙州地区的引种试种初报[J]. 中国农业信息,2014(05):55~56.
- [13]陶丽, 陈丽兰, 杨帆, 等. 7个澳洲坚果品种的授粉组合选配与白花结实性研究[J]. 中国南方果树,2018,47(01):55~58.
- [14]陈丽兰, 陶丽, 倪书邦, 等. 澳洲坚果品种‘HAES951’为母本的杂交试验[J]. 热带农业科技,2017,40(01):14~16.
- [15]肖海艳, 汤秀华, 宋海云, 等. 保果处理对澳洲坚果‘桂热1号’落果的影响[J]. 经济林研究,2018,36(04):170~174.
- [16]陈海生, 谭秋锦, 韦媛荣, 等. 桂西南6个澳洲坚果品种开花结实率研究[J]. 农业研究与应用,2017(04):34~38.
- [17]匡廷云. 光合作用原初光能转化过程的原理与调控[M]. 江苏科学技术出版社,2003.
- [18]刘建福. 澳洲坚果叶片光合速率和叶绿素荧光参数日变化[J]. 西南农业大学学报(自然科学版),2006,28(02):271~274.
- [19]原慧芳, 岳海, 倪书邦, 等. 磷胁迫对澳洲坚果幼苗叶片光合特性和荧光参数的影响[J]. 江苏林业科技,2008,35(01):6~10.
- [20]王文林, 陈海生, 郑树芳, 等. 干旱处理对澳洲坚果光合特性的影响[J]. 热带农业科学,2017,37(03):63~68.
- [21]李春喜, 韩蕊, 邵云, 等. 小麦开花期旗叶光合特性与地上部干物质质量的相关和通径分析[J]. 江苏农业科学,2019,47(06):66~70.
- [22] Ako H, Okuda D, Gray D. Healthful new oil from macadamia nuts[J]. Nutrition,1995,11(3):286~288.
- [23] Maguire L S, O'Sullivan S M, Galvin K, et al. Fatty acid profile, tocopherol, squalene and phytosterol content of walnuts, almonds, peanuts, hazelnuts and the macadamia nut[J]. Int J Food Sci Nutr,2004,55(3):171~178.
- [24]吕川根, 李霞, 陈国祥. 超级杂交稻两优培九高产的光合特性及其生理基础[J]. 中国农业科学,2017,50(21):4055~4071.
- [25]王海珍, 韩路, 徐雅丽, 等. 干旱胁迫下胡杨光合光响应过程模拟与模型比较[J]. 生态学报,2017,37(07):2315~2324.
- [26]黄纯倩, 朱晓义, 张亮, 等. 干旱和高温对油菜叶片光合作用和叶绿素荧光特性的影响[J]. 中国油料作物学报,2017,39(03):342~350.
- [27]张林海, 曾从盛, 胡伟芳. 氮输入对植物光合固碳的影响研究进展[J]. 生态学报,2017,37(01):147~155.
- [28]许菁, 贺贞昆, 冯倩倩, 等. 耕作方式对冬小麦-夏玉米光合特性及周年产量形成的影响[J]. 植物营养与肥料学报,2017,23(01):101~109.
- [29]王叶, 张国林, 阳树英, 等. 生境对茶叶品质和产量影响的光合生理机制[J]. 应用生态学报,2018,29(11):3596~3606.
- [30]王丽伟, 李岩, 辛国凤, 等. 不同比例红蓝光对番茄幼苗生长和光合作用的影响[J]. 应用生态学报,2017,28(05):1595~1602.
- [31]张元帅, 冯伟, 张海艳, 等. 遮阴和施氮对冬小麦旗叶光合特性及产量的影响[J]. 中国生态农业学报,2016,24(09):1177~1184.

# DTOPSIS 法在甘薯品系综合评价中的应用研究

何文, 张秀芬, 李恒锐, 郭素云, 梁振华, 黄珍玲, 杨海霞, 莫周美, 黎萍, 刘连军\*  
广西南亚热带农业科学研究所, 广西龙州 532415

**摘要** 【目的】对 11 个鲜食甘薯品系在崇左龙州地区各性状进行综合评价, 筛选出了适合在崇左地区推广种植的优良甘薯品种。【方法】应用 DTOPSIS 法对 2018 年广西南亚热带农业科学研究所 11 个鲜食甘薯品系 11 个形状进行综合评价。【结果】按照 DTOPSIS 分析结果  $C_i$  排序, 鲜 6、鲜 10、鲜 11 三个优良鲜食甘薯品系综合性状优良, 理想解的相对接近度( $C_i$ )及亩产排名均前三, 而鲜 1、鲜 3、鲜 4 三个甘薯品系综合性状表现较差, 不适合在崇左地区推广种植。【结论】DTOPSIS 法排名和甘薯田间生产结果相符。鲜 6、鲜 10、鲜 11 三个甘薯品系综合农艺性状最优, 具有植株株型良好、产量高、商品率高, 食味优等特点, 值得进一步推广在崇左地区种植, 并研究相应配套栽培措施。

**关键词:** DTOPSIS 法; 甘薯; 综合评价; 崇左地区

## Study on comprehensive evaluation of Sweet potato varieties by DTOPSIS method

HE Wen, ZHANG Xiu-Fen, LI Heng-Rui, GUO Sun-Yun, LIANG Zhen-Hua, HUANG Zhen-ling, YANG Hai-Xia, MO Zhou-Mei, LI Pin, LIU Lian-Jun\*

Guangxi South Subtropical Agricultural Science Research Institute, Longzhou, Guangxi 532415, China

**Abstract** 【Objective】In order to screen out the excellent sweet potato varieties suitable for planting in Chongzuo area, comprehensive evaluation of various traits of 11 fresh sweet potato lines in Chongzuo Longzhou area was carried out. 【Method】The 11 shapes of 11 fresh sweet potato strains in the Guangxi South Subtropical Agricultural Science Research Institute were comprehensively evaluated by DTOPSIS method. 【Result】According to the results of DTOPSIS analysis, xian-6, xian-10, xian-11, the three excellent fresh sweet potato strains have excellent comprehensive traits, and The relative proximity ( $C_i$ ) of the ideal solution and the per capita yield are ranked in the top three. xian-1, xian-3, xian-4, the comprehensive traits of the three sweet potato strains performed poorly and were not suitable for promotion in Chongzuo. 【Conclusion】The DTOPSIS method ranking matches the sweet potato field production results. xian-6, xian-10, xian-11, the three sweet potato strains have the best comprehensive agronomic traits, and have the characteristics of good plant type, high yield, high commodity rate and excellent taste. It is worth further promotion in Chongzuo region and study the corresponding supporting cultivation measures.

**Keywords** DTOPSIS method; Sweet potato; comprehensive evaluation; Chongzuo region

甘薯(学名: *Dioscorea esculenta* (Lour.) Burkill) 又称红薯、地瓜、番薯等, 旋花科薯蓣属缠绕草质藤本。由于富含淀粉、含有不可溶性膳食纤维、可溶性糖以及胰蛋白酶抑制剂等物质, 常用作鲜食、加工甘薯粉和炸薯条等<sup>[1]</sup>。粮食安全受到国际社会的广泛关注由来已久, 目前全球粮食安全依然存在<sup>[2]</sup>, 在保障国家粮食安全及推动社会经济可持续发展方面具有重要的经济地位<sup>[3]</sup>, 特别是我国人口众多情况下, 在口粮日益要求多样化、精细化的条件下, 高产高品质的甘薯选育种植推广显得尤为重要。甘薯块根膨大中期是产量形成的关键期, 如管理不好, 会造成甘薯大幅度减产, 温度高、雨水充足, 往往造成甘薯地上部徒长, 不利于甘薯产量形成<sup>[4]</sup>, 在我国南方, 特别是广西崇左地区受印度洋季风气候和太平洋季风气候影响导致在不同时空上长时间旱涝, 不利于崇左甘薯产业发展。选育和利用抗性品种是控制作物病虫害最为经济有效的途径<sup>[5]</sup>, 刘子荣等<sup>[5]</sup>筛选出 3 个对斜纹夜蛾和甘薯烦夜蛾的抗虫效果相对较好的甘薯品种。王佳佳等<sup>[6]</sup>选育出高淀粉甘薯优良新品种“渝薯 1 号”, 大中薯率 70% 以上, 抗根腐病, 中抗黑斑病和蔓割病。培育符合现代农业需求的品种成为当前农业发展的重点方向<sup>[7]</sup>。为提高我区甘薯产业发展水平, 综合评价甘薯新品系, 对选育和推广综合性状优良的甘薯品种具有重要意义。

丰富多样的种质资源是培育优异品种的基础<sup>[8]</sup>, 综合评价是良种选育的一个重要环节, 能对品种进行全面客观地评价<sup>[9]</sup>。常用的综合评价方法主要有灰色关联度法、模糊数学法、DTOPSIS 法(Dynamic Technique for Order Preference by Similarity to Ideal Solution, 逼近理想解的排序方法)等, 其中 DTOPSIS 法是由姚兴涛经 TOPSIS 法改进用于区域经济发展的多目标决策, 在近年来广泛应用于农作物等品种的综合评价中, 都取得了较满意的结果<sup>[9-10]</sup>。姚旺等<sup>[10]</sup>应用 DTOPSIS 法分析湖南烤烟区 10 个新品种, 筛选出两个综合价值最高的品种, 且与品种的实际表现基本一致, 说明了 DTOPSIS 法在农作物综合评价种可信度高。李文砚等<sup>[11]</sup>应用 DTOPSIS 法对 11 个草莓品种的产量、果实品质等 11 个性状指标进行综合评价, 筛选出了适合在广西地

**项目基金** 国家现代农业产业体系广西创新团队建设项目“广西薯类创新团队崇左综合试验站”(nycytxgxcxtd-11-07)

**作者简介** 通讯作者, 刘连军(1963-), 男, 高级农艺师, 主要从事农作物育种与推广研究, E-mail: liulianjun0622@163.com; 第一作者, 何文(1990-), 男, 硕士研究生, 主要从事植物营养与施肥研究工作, E-mail: 675559090@qq.com。

区推广种植的优良草莓品种。王伟等<sup>[12]</sup>应用 DTOPSIS 法在黄芩商品药材质量综合评价,表明 DTOPSIS 法可有效地应用在黄芩的货源筛选和质量控制。覃耀冠等<sup>[13]</sup>进行广西甘蔗新品种区试柳州点 7 个甘蔗新品种 DTOPSIS 法综合评价研究,帅选出三个新品种适宜在广西柳州地区及气候相似蔗区大面积推广应用。黄瑞寅等<sup>[14]</sup>应用 DTOPSIS 法对云南原料基地单元烟进行综合评价,评价安定烟站烟叶质量整体较好,表明 DTOPSIS 法评价的结果较客观,可以作为基地单元烟叶质量筛选重要依据。胡其明等<sup>[15]</sup>用 DTOPSIS 法综合评价杂交水稻新品种在黔西南州的适应性,研究表明科德优 33 综合性状表现优良,其次是科德优 999、奥两优 69,可选择在本地区种植推广,分析结果与生产实际基本一致。

目前针对采用 DTOPSIS 法综合评价甘薯新品种的研究尚未有报道。应用 DTOPSIS 法综合评价不同甘薯品系,以期筛选出综合性状优良的甘薯品种,为我区甘薯产业良种选育和推广提供参考依据。

## 1 材料与方 法

### 4 1 试验材料

供试材料为 11 份鲜食甘薯品系,编号分别是鲜 1-鲜 11,11 个鲜食甘薯品系薯苗均由广西农科院玉米所选育并提供。

### 5 实验方法

栽培试验于 2018 年 9 月至 2019 年 1 月在广西崇左市龙州县广西南亚热带农业科学研究所内甘薯试验地进行,该地区属南亚热带季风气候区,日照充足,年均气温 22.2℃,年降雨量 1273.6mm,年均相对湿度 82%,极少受霜冻天气及台风影响。按照田间常规管理,处理间水肥管理一致。实验采用随机区组排列,重复 3 个小区,每个小区种植面积 20m<sup>2</sup>,种植规格株行距 20cm,垄距 1m,共 4 行 100 株甘薯苗。

#### 1.2.1 数据测定方法

收获期时在每个区取 5 株甘薯进行数据观察测定,测定甘薯茎粗、蔓长、地上部分鲜重、平均薯鲜重、单株结薯数、单株薯重、商品薯重、商品薯率、干物率、亩产、食味评价。甘薯茎粗、蔓长、地上部分鲜重三个性状指标在甘薯藤蔓生长最大期(90 天)时测定。平均薯鲜重、单株结薯数、单株薯重、商品薯重、商品薯率、干物率、亩产 7 个性状指标在甘薯收获期进行测定。食味评价<sup>[16]</sup>在甘薯收获后 1 周-2 周内组织单位专家和附近居民食用评价。具体统计方法参照王美珍等<sup>[9]</sup>进行综合分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 DTOPSIS 法主要计算步骤<sup>[11,17]</sup>:

#### 2.1.1 构建评价矩阵

将 11 个鲜食甘薯品系的 11 个指标性状列于表 1,构建评价矩阵。

#### 2.1.2 无量纲化处理

由于本试验的 11 个指标(茎粗、蔓长、地上部分鲜重、平均薯鲜重、单株结薯数、单株薯重、商品薯重、商品薯率、干物率、亩产、食味评价)都是正向指标,均以 11 个样本中最大值作为分母,分别除以各样本该指标的数值。即得到无量纲化结果矩阵 Z(表 2)。

#### 2.1.3 建立决策矩阵 R

将 11 个性状指标分别赋予不同权重  $W_j$  ( $W_j \in (0, 1)$ ,  $\sum W_j = 1$ )。根据专家意见、甘薯种植户以及消费者对鲜食甘薯的选择等确定。各个性状指标按照表 1 中顺序赋予的权重值依次为 0.0200、0.0200、0.1000、0.0300、0.0800、0.0600、0.1000、0.1000、0.1200、0.2200、0.2200。各性状指标权重  $W_j$  去乘矩阵 Z 的第 j 列得到决策矩阵 R(表 3)。

#### 2.1.4 品种性状的理想解和负理想解

根据决策矩阵 R 得到的 11 个性状的理想解与负理想解数列分别为:  $X_j^+ = [0.0200, 0.0200, 0.1000, 0.0300, 0.0800, 0.0600, 0.1000, 0.1000, 0.1200, 0.2200, 0.2200]$ ;  $X_j^- = [0.0121, 0.0037, 0.0029, 0.0260, 0.0116, 0.0090, 0.0048, 0.0436, 0.0377, 0.0547, 0.1408]$ 。

#### 2.1.5 11 个品种理想解的相对接近度计算<sup>[17]</sup>

根据公式  $C_i = S^- / (S^+ + S^-)$ ,  $C_i \in [0, 1]$ ,  $i = 1, 2, 3, \dots, 11$ , 可计算出 11 个甘薯品系理想解的相对接近度即  $C_i$  值(表 4)。其中  $S^+$  为各品种与理想解的距离,  $S^-$  为各品种与负理想解的距离。根据 DTOPSIS 法分析理论按照  $C_i$  大小对甘薯品系进行排序,  $C_i$  越大代表甘薯品系综合评价越优。

表 1 原始数据矩阵 A  
Table 1 original data matrix A

| 品种<br>Variety   | 茎粗<br>(mm)<br>Stem<br>thick | 最大蔓长<br>(cm)<br>Maximum<br>vine<br>length | 地上部分鲜<br>重 (g)<br>Fresh ground | 平均薯鲜重<br>(g)<br>Average<br>potato fresh<br>weight | 单株结<br>薯数<br>Number<br>of<br>potatoes<br>per<br>plant | 单株薯重<br>(g)<br>Single<br>potato<br>weight | 商品薯<br>重(g)<br>Commer<br>cial<br>potato<br>weight | 商品薯<br>率<br>Comm<br>ercial<br>potato<br>rate | 干物<br>率<br>Dry<br>matt<br>er<br>rate | 亩产 (Kg/<br>亩)<br>Per mu | 食味评<br>价<br>Taste<br>evaluati<br>on |
|-----------------|-----------------------------|---|--------------------------------|---|---|---|---|--|--------------------------------------|-------------------------|-------------------------------------|
|                 |                             |   |                                |   | A5  |   |   |  |                                      |                         |                                     |
| 鲜 1<br>xian-1   | 8.48                        | 72.00                                     | 322.06                         | 45.46   | 5.80  | 263.68                                    | 211.10  | 0.80   | 0.31                                 | 789.78                  | 82.67                               |
| 鲜 2<br>Xian-2   | 7.94                        | 88.50                                     | 174.30                         | 92.56   | 4.40  | 407.26                                    | 346.00  | 0.85   | 0.25                                 | 1025.69                 | 70.67                               |
| 鲜 3<br>Xian-3   | 8.46                        | 157.00                                    | 590.06                         | 34.40   | 2.40  | 82.56                                     | 49.82   | 0.60   | 0.23                                 | 375.02                  | 58.67                               |
| 鲜 4<br>xian-4   | 7.32                        | 92.00                                     | 201.50                         | 77.71   | 2.40  | 186.50                                    | 151.26  | 0.81   | 0.27                                 | 633.37                  | 74.67                               |
| 鲜 5<br>Xian-5   | 11.74                       | 76.00                                     | 171.24                         | 64.69   | 5.20  | 336.38                                    | 252.38  | 0.75   | 0.30                                 | 1354.23                 | 83.33                               |
| 鲜 6<br>Xian-6   | 10.60                       | 133.50                                    | 443.16                         | 65.17   | 4.20  | 273.70                                    | 212.30  | 0.78   | 0.29                                 | 2055.66                 | 72.00                               |
| 鲜 7<br>Xian-7   | 11.81                       | 103.00                                    | 422.28                         | 58.54   | 10.25   | 600.00                                    | 462.93  | 0.77   | 0.29                                 | 1500.08                 | 73.33                               |
| 鲜 8<br>Xian-8   | 10.60                       | 222.00                                    | 711.94                         | 42.78   | 2.17  | 92.68                                     | 52.10   | 0.56   | 0.35                                 | 1218.45                 | 80.00                               |
| 鲜 9<br>Xian-9   | 9.02                        | 63.00                                     | 67.88                          | 35.75   | 6.80  | 243.12                                    | 128.52  | 0.53   | 0.35                                 | 1382.79                 | 79.33                               |
| 鲜 10<br>Xian-10 | 8.80                        | 55.00                                     | 115.68                         | 54.22   | 9.00  | 487.96                                    | 412.78  | 0.85   | 0.26                                 | 1805.65                 | 76.00                               |
| 鲜 11<br>Xian-11 | 12.14                       | 294.50                                    | 700.68                         | 82.14   | 11.20   | 920.00                                    | 730.00  | 0.79   | 0.22                                 | 1690.56                 | 72.00                               |

表 2 无量纲化矩阵 Z  
Table 2 Dimensionless matrix Z

| 品种<br>Variety | A1     | A2     | A3     | A4     | A5     | A6     | A7     | A8     | A9     | A10    | A11    |
|---------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 鲜 1<br>xian-1 | 0.6985 | 0.2445 | 0.4524 | 0.4911 | 0.5179 | 0.2866 | 0.2892 | 0.9412 | 0.8857 | 0.3842 | 0.9921 |
| 鲜 2<br>Xian-2 | 0.6540 | 0.3005 | 0.2448 | 1.0000 | 0.3929 | 0.4427 | 0.4740 | 1.0000 | 0.7143 | 0.4990 | 0.8481 |
| 鲜 3<br>Xian-3 | 0.6969 | 0.5331 | 0.8288 | 0.3717 | 0.2143 | 0.0897 | 0.0682 | 0.7059 | 0.6571 | 0.1824 | 0.7041 |

|                     |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |
|---------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 鲜 4<br>xian-4       | 0.6030 | 0.3124 | 0.2830 | 0.8396 | 0.2143 | 0.2027 | 0.2072 | 0.9529 | 0.7714 | 0.3081 | 0.8961 |
| 鲜 5<br>Xian-5       | 0.9671 | 0.2581 | 0.2405 | 0.6989 | 0.4643 | 0.3656 | 0.3457 | 0.8824 | 0.8571 | 0.6588 | 1.0000 |
| 鲜 6<br>Xian-6       | 0.8731 | 0.4533 | 0.6225 | 0.7041 | 0.3750 | 0.2975 | 0.2908 | 0.9176 | 0.8286 | 1.0000 | 0.8640 |
| 鲜 7<br>Xian-7       | 0.9728 | 0.3497 | 0.5931 | 0.6325 | 0.9152 | 0.6522 | 0.6342 | 0.9059 | 0.8286 | 0.7297 | 0.8800 |
| 鲜 8<br>Xian-8       | 0.8731 | 0.7538 | 1.0000 | 0.4622 | 0.1938 | 0.1007 | 0.0714 | 0.6588 | 1.0000 | 0.5927 | 0.9600 |
| 鲜 9<br>Xian-9       | 0.7430 | 0.2139 | 0.0953 | 0.3862 | 0.6071 | 0.2643 | 0.1761 | 0.6235 | 1.0000 | 0.6727 | 0.9520 |
| 鲜 10<br>Xian-1<br>0 | 0.7249 | 0.1868 | 0.1625 | 0.5858 | 0.8036 | 0.5304 | 0.5655 | 1.0000 | 0.7429 | 0.8784 | 0.9120 |
| 鲜 11<br>Xian-1<br>1 | 1.0000 | 1.0000 | 0.9842 | 0.8874 | 1.0000 | 1.0000 | 1.0000 | 0.9294 | 0.6286 | 0.8224 | 0.8640 |

表 3 决策矩阵  
Table 3 Decision matrix R

| 品种<br>Variety<br>y  | A1     | A2     | A3     | A4     | A5     | A6     | A7     | A8     | A9     | A10    | A11    |
|---------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 鲜 1<br>xian-1       | 0.0140 | 0.0049 | 0.0136 | 0.0344 | 0.0311 | 0.0287 | 0.0202 | 0.0659 | 0.0531 | 0.1153 | 0.1984 |
| 鲜 2<br>Xian-2       | 0.0131 | 0.0060 | 0.0073 | 0.0700 | 0.0236 | 0.0443 | 0.0332 | 0.0700 | 0.0429 | 0.1497 | 0.1696 |
| 鲜 3<br>Xian-3       | 0.0139 | 0.0107 | 0.0249 | 0.0260 | 0.0129 | 0.0090 | 0.0048 | 0.0494 | 0.0394 | 0.0547 | 0.1408 |
| 鲜 4<br>xian-4       | 0.0121 | 0.0062 | 0.0085 | 0.0588 | 0.0129 | 0.0203 | 0.0145 | 0.0667 | 0.0463 | 0.0924 | 0.1792 |
| 鲜 5<br>Xian-5       | 0.0193 | 0.0052 | 0.0072 | 0.0489 | 0.0279 | 0.0366 | 0.0242 | 0.0618 | 0.0514 | 0.1976 | 0.2000 |
| 鲜 6<br>Xian-6       | 0.0175 | 0.0091 | 0.0187 | 0.0493 | 0.0225 | 0.0298 | 0.0204 | 0.0642 | 0.0497 | 0.3000 | 0.1728 |
| 鲜 7<br>Xian-7       | 0.0195 | 0.0070 | 0.0178 | 0.0443 | 0.0549 | 0.0652 | 0.0444 | 0.0634 | 0.0497 | 0.2189 | 0.1760 |
| 鲜 8<br>Xian-8       | 0.0175 | 0.0151 | 0.0300 | 0.0324 | 0.0116 | 0.0101 | 0.0050 | 0.0461 | 0.0600 | 0.1778 | 0.1920 |
| 鲜 9<br>Xian-9       | 0.0149 | 0.0043 | 0.0029 | 0.0270 | 0.0364 | 0.0264 | 0.0123 | 0.0436 | 0.0600 | 0.2018 | 0.1904 |
| 鲜 10<br>Xian-1<br>0 | 0.0145 | 0.0037 | 0.0049 | 0.0410 | 0.0482 | 0.0530 | 0.0396 | 0.0700 | 0.0446 | 0.2635 | 0.1824 |
| 鲜 11<br>Xian-1<br>1 | 0.0200 | 0.0200 | 0.0295 | 0.0621 | 0.0600 | 0.1000 | 0.0700 | 0.0651 | 0.0377 | 0.2467 | 0.1728 |

表4 DTOPSIS 法计算结果  
Table 4 Results by DTOPSIS method

| 品种<br>Variety   | S+     | S-     | S++S-  | Ci     | Ci 排序<br>Ci sort | 亩产/Kg<br>Per mu | 亩产排序<br>Per mu sort |
|-----------------|--------|--------|--------|--------|------------------|-----------------|---------------------|
| 鲜 1<br>xian-1   | 0.2107 | 0.0944 | 0.3051 | 0.3094 | 9                | 789.78          | 9                   |
| 鲜 2<br>Xian-2   | 0.1742 | 0.1214 | 0.2956 | 0.4107 | 8                | 1025.69         | 8                   |
| 鲜 3<br>Xian-3   | 0.2852 | 0.0240 | 0.3092 | 0.0776 | 11               | 375.02          | 11                  |
| 鲜 4<br>xian-4   | 0.2371 | 0.0696 | 0.3067 | 0.2269 | 10               | 633.37          | 10                  |
| 鲜 5<br>Xian-5   | 0.1377 | 0.1626 | 0.3003 | 0.5415 | 5                | 1354.23         | 6                   |
| 鲜 6<br>Xian-6   | 0.1018 | 0.2518 | 0.3536 | 0.7121 | 3                | 2055.66         | 1                   |
| 鲜 7<br>Xian-7   | 0.1009 | 0.1896 | 0.2905 | 0.6527 | 4                | 1500.08         | 4                   |
| 鲜 8<br>Xian-8   | 0.1779 | 0.1386 | 0.3165 | 0.4379 | 7                | 1218.45         | 7                   |
| 鲜 9<br>Xian-9   | 0.1503 | 0.1599 | 0.3102 | 0.5155 | 6                | 1382.79         | 5                   |
| 鲜 10<br>Xian-10 | 0.0832 | 0.2254 | 0.3086 | 0.7304 | 2                | 1805.65         | 2                   |
| 鲜 11<br>Xian-11 | 0.0645 | 0.2357 | 0.3002 | 0.7851 | 1                | 1690.56         | 3                   |

## 6 讨论

在甘薯品种进行综合评价方面前人已有不少研究,孙莹等<sup>[19]</sup>应用模糊数学对甘薯淀粉面包的品质进行了综合评价,优化了甘薯淀粉面包工艺,探讨出了最佳配方。段文学等<sup>[20]</sup>通过对甘薯品种各单项指标的耐盐系数应用多种综合评价方法进行耐盐性评价,为甘薯耐盐新品种选育提供种质提供理论依据。鄢铮等<sup>[21]</sup>采用灰色关联多维度综合分析法对 14 个紫肉甘薯品种的 9 个性状进行分析和评价,研究表明福宁紫 3 号甘薯品种综合表现最佳且加权关联度的评价结果与品种表现吻合。梅新等<sup>[22]</sup>应用因子分析与综合评价对菜用甘薯新品系主要品质特征进行分析,筛选出 6 个综合性状表现优良的品系。DTOPSIS 法其原理与 TOPSIS 法相同,是根据有限个数的评价对象与理想化目标的接近程度进行排序,是在现有对象中进行相对优劣评价的方法,在多目标决策分析中应用广泛<sup>[23]</sup>,运用 DTOPSIS 要根据试验设计分析各方面因素确定,避免干扰各相关形状的权重。目前 DTOPSIS 法已被广泛应用于烤烟<sup>[10、27]</sup>、草莓<sup>[11]</sup>、甘蔗<sup>[13、25]</sup>、番茄<sup>[24]</sup>、大豆<sup>[23]</sup>、柴胡<sup>[26]</sup>等多种作物新品种(系)的综合评价中,评价结果科学合理与实际品种表现相符。

本研究首次将 DTOPSIS 法应用于甘薯品系综合性状的评价中,将甘薯茎粗、蔓长、地上部分鲜重、平均薯鲜重、单株结薯数、单株薯重、商品薯重、商品薯率、干物率、亩产、食味评价共 11 个性状指标列入评价指标中。通过无量纲化处理,矩阵规范化,综合专家建议、甘薯种植户以及消费者喜好,进行表格统计确定各个性状指标相应的权重值后,再根据公式  $R_{ij}=W_jZ_{ij}$  和  $C_i=S^-/(S^++S^-)$  进行计算每个甘薯品系  $C_i$ 。试验筛选出鲜 6、鲜 10、鲜 11 三个鲜食甘薯品系,在本甘薯基地生长具有植株株型良好、产量高、商品率高,食味优等特点,与实际生产表现相符,筛选出的这三个甘薯品系值得进一步推广在崇左地区种植,并研究相应配套栽培措施。

崇左龙州地区地理位置和气候条件特殊,受东南季风气候影响,经常在不同时空上长时间旱涝,甘薯产量和商品薯率均会受到严重。因此,今后应筛选高产、高抗性甘薯新品种进行示范推广。

## 7 结论

本研究表明,从 11 个鲜食甘薯品系中筛选出鲜 6、鲜 10、鲜 11 三个优良鲜食甘薯品系,具有植株株型良好、产量高、商品率高,食味优等特点,DTOPSIS 法排名和甘薯品系产量排名相符,值得进一步推广在崇左地区种植。

### 参考文献

- [1] Hiroshi Ishida,Hiroko Suzuno,Noriko Sugiyama,Satoshi Innami,Tadahiro Tadokoro,Akio Maekawa. Nutritive evaluation on chemical components of leaves, stalks and stems of sweet potatoes ( Ipomoea batatas poir )[J]. Food Chemistry,2000,68(3).
- [2] Gustavsson J, Cederberg C, Sonesson U, et al. Global Food Losses and Food Waste[R]. Dusseldorf:FAO, 2011.



- [3] 蒋玉峰, 马代夫. 国家甘薯产业技术体系建设推动甘薯产业和学科发展[J]. 江苏师范大学学报(自然科学版), 2016, 34(3): 23-28.
- [4] 权宝全, 吕瑞洲, 王贵江, 任杰成. 薯块膨大中期不同栽培措施对甘薯生长发育及产量的影响[J]. 作物杂志, 2019(03): 158-161.
- [5] 刘子荣, 刘小娟, 黄衍章, 王奋山, 徐雪亮, 吴问胜, 兰孟焦, 姚英娟. 不同甘薯品种对根腐病及食叶性害虫的抗性效果分析[J]. 江西农业大学学报, 2019, 41(02): 258-266.
- [6] 王佳佳, 杨春贤, 曾令江, 程鹏, 李静, 田欢, 杨婷婷, 王雪宁, 傅玉凡. 高淀粉甘薯新品种“渝薯 1 号”的选育研究[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2019, 41(07): 30-35.
- [7] 张林, 冷冰, 马斌, 何祖华. 作物基因组育种[J]. 植物生理学报, 2017, 53(08): 1325-1332.
- [8] 苗丽, 段颖, 王长林, 高媛, 于贤昌. 中国南瓜对嫁接黄瓜产量与风味影响的综合评价[J]. 核农学报, 2019, 33(10): 1949-1958.
- [9] 王美珍, 季蒙, 张文军, 王晓江, 尚海军. DTOPSIS 法在柠条品系综合评价中的应用[J]. 内蒙古林业科技, 2012, 38(04): 19-22.
- [10] 姚旺, 向世鹏, 周清明, 黎娟. DTOPSIS 法结合隶属函数法综合评价湖南烤烟区试新品种[J/OL]. 分子植物育种: 1-6.
- [11] 李文砚, 韦优, 孔方南, 罗培四, 赵静, 黄丽君, 蒋娟娟, 卓福昌, 周婧. DTOPSIS 法在草莓品种综合评价中的应用研究[J]. 植物生理学报, 2018, 54(05): 925-930.
- [12] 王炜, 闫翠起, 赵曼茜, 柯尊洪, 郝晓锋, 柯潇. DTOPSIS 法在黄芩商品药材质量综合评价中的应用[J]. 华西药学杂志, 2015, 30(01): 105-108.
- [13] 覃耀冠, 周忠凤, 周顺, 韦开军, 阳康春. 广西甘蔗新品种区试柳州点 7 个甘蔗新品种 DTOPSIS 法综合评价[J]. 南方农业学报, 2014, 45(06): 938-943.
- [14] 黄瑞寅, 刘永强, 张晓龙, 冀浩, 陈建, 钟庆荣, 杨欣, 包文凤. DTOPSIS 法在烟叶质量综合评价中的应用[J]. 西南农业学报, 2013, 26(05): 1801-1808.
- [15] 胡其明, 邓伟, 党筱兰. 用 DTOPSIS 法综合评价杂交水稻新品种在黔西南州的适应性[J]. 种子, 2013, 32(12): 95-97.
- [16] 李爱贤, 董顺旭, 靖兆霞, 王登良, 解备涛, 侯夫云, 秦桢, 王庆美. 28 个国内食用型甘薯品种的鉴定评价[J]. 山东农业科学, 2018, 50(09): 23-26.
- [17] 龙腾芳, 郭克婷. DTOPSIS 法的程序设计及其在作物品种评价中的应用[J]. 中国农学通报, 2004(03): 252-254.
- [18] 于崧, 梁海芸, 郭潇潇, 张翼飞, 史京京, 付鸾鸿. 不同基因型绿豆苗期耐盐碱性分析及其鉴定指标的筛选[J]. 干旱地区农业研究, 2018, 36(04): 223-232.
- [19] 孙莹, 苗榕芯. 基于模糊数学综合感官评价的甘薯淀粉面包的工艺优化[J]. 食品工业科技, 2018, 39(17): 180-185.
- [20] 段文学, 张海燕, 解备涛, 汪宝卿, 张立明. 甘薯苗期耐盐性鉴定及其指标筛选[J]. 作物学报, 2018, 44(08): 1237-1247.
- [21] 鄢铮, 张小红, 王正荣. 灰色多维综合分析在紫肉甘薯品种评价中的应用[J]. 作物杂志, 2017(04): 58-62.
- [22] 梅新, 杨新笋, 何建军, 施建斌, 刘意, 蔡沙, 涂艳华, 陈学玲, 焦春海, 苏文瑾. 菜用甘薯新品系主要品质特征的因子分析与综合评价[J]. 植物科学学报, 2016, 34(04): 614-621.
- [23] 曾凯, 周青, 张志民, 郑丽敏, 王凤菊, 陈亚光, 李明军, 徐淑霞. 灰色关联度和 DTOPSIS 法综合分析河南区域试验中大豆新品种(系)的农艺性状表现[J]. 大豆科学, 2018, 37(05): 664-671.
- [24] 严海欧, 鲁富宽. DTOPSIS 法在番茄品种综合评价中的应用[J]. 内蒙古农业大学学报(自然科学版), 2011, 32(03): 175-177.
- [25] 孙玉勇, 钟坤, 莫皓蓝, 何雪丹, 卢景润, 蒋明健, 陈伟, 李家文. 利用 DTOPSIS 法综合评价甘蔗新品种[J]. 南方农业学报, 2016, 47(03): 348-352.
- [26] 孟杰, 陈兴福, 杨文钰, 李志飞, 张玉, 宋九华, 杨兴旺. 基于灰色关联度分析和 DTOPSIS 法综合评价青川柴胡资源[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(03): 433-437.
- [27] 李卫华, 罗成刚, 陈志强, 胡海洲, 冯莉. 熵值赋权的 DTOPSIS 法在烟草品种试验中的应用[J]. 湖北农业科学, 2013, 52(07): 1590-1592+1595.

## 木薯二倍体及其同源四倍体开花结实特性的比较研究

李恒锐<sup>1</sup>, 陈会鲜<sup>1\*</sup>, 杨海霞<sup>1</sup>, 张秀芬<sup>1</sup>, 何文<sup>1</sup>, 梁振华<sup>1</sup>, 郭素云<sup>1</sup>, 刘连军<sup>1</sup>, 黎萍<sup>1</sup>, 陈海生<sup>1</sup>, 严华兵<sup>2\*\*</sup>

1.广西南亚热带农业科学研究所, 广西龙州 532415;2.广西农业科学院经济作物研究所, 广西南宁 530007

**摘要** 本研究以木薯品种新选 048 和华南 205 的二倍体及其同源四倍体为材料, 采用定株观察的方法, 比较二倍体及其同源四倍体开花结实特性的差异, 探究染色体加倍后对木薯开花结实特性的影响, 为开展木薯多倍体材料创制及鉴定提供科学参考。结果表明: 两个木薯品种四倍体的开花结实物候期都要迟于二倍体, 且四倍体的雌花、雄花、花药、果实、种子的形态大小均大于二倍体; 两个木薯品种不同倍性间花药分布情况存在差异, 新选 048 的四倍体会出现两性花且其雌花花被颜色与二倍体存在明显差异; 两个木薯品种不同倍性间开花及坐果数量也存在不同程度的差异, 其中新选 048 四倍体的单序总花量和雌、雄花总量显著大于二倍体的, 但两个品种在不同倍性间开花及坐果数量的差异中呈现不同的规律。因此, 木薯染色体加倍, 可延迟开花结实时间, 增加生殖器官的大小, 改变花形态特征和雌雄花的数量及花总量, 但这种改变具有品种依赖性。

**关键词** 木薯; 二倍体; 四倍体; 开花结实特性; 差异

## Comparative Study on Flowering and Fruiting Characteristics of Cassava Diploid and Its Autotetraploid

LI Hengrui<sup>1</sup>, CHEN Huixian<sup>1\*</sup>, YANG Haixia<sup>1</sup>, ZHANG Xiufen<sup>1</sup>, HE Wen<sup>1</sup>, LIANG Zhenhua<sup>1</sup>, GUO Suyun<sup>1</sup>, Liu Lianjun<sup>1</sup>, LI Ping<sup>1</sup>, CHEN Haisheng<sup>1</sup>, YAN Huabing<sup>2\*\*</sup>

1.South Subtropical Crop Research Institute of Guangxi, Longzhou, 532415, Guangxi, China;2.Cash Crops Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning, Guangxi 530007, China

**Abstract** In this study, the diploid and its autotetraploid of Xinxuan 048 and South China 205 were used as the test variety, and the differences of flowering and fruiting characteristics in diploid and autotetraploid were compared by using the method of fixed-plant observation to explore the effect of cassava chromosome doubling on flowering and fruiting characteristics, and provide scientific reference for the creation and identification of cassava polyploid material. The results showed that the flowering and fruiting phenotypes of the tetraploids of this two cassava varieties were later than diploid, and the size of the male and female flowers, anthers, fruits and seeds of the tetraploid were larger than diploid; There were differences in anther distribution between different ploidy varieties of two cassava varieties, and there were significant differences in the color of different ploidy female flowers in Xinxuan 048. Even the Xinxuan 048 tetraploids appeared bisexual flowers; There are also differences in the number of flowering and fruit setting between different ploidy cassava. The total single flower mass and the total number of female or male flowers of the Xinxuan 048 tetraploid were significantly larger than those of diploid, but the difference of SC205 was not significant. Therefore, doubling the chromosome of cassava can delay the flowering time, increase the size of the reproductive organs, change the flower morphological characteristics and the number of male and female flowers and the total amount of flowers, but this change will be different due to different varieties.

**Keywords** cassava; diploid; tetraploid; flowering and fruiting characteristics; difference

木薯 (*Manihot esculenta* Crantz) 是大戟科 (*Euphorbiaceae*) 木薯属 (*Manihot*) 植物。它被称为“世界三大薯类作物之一”、“热区第四大食物能量供给作物”、“全球第六大粮食作物”。随着石化资源的日益枯竭, 木薯已成为我国生物质能源产业发展的重要资源, 并最终被确定为我国中长期新能源战略中的重点发展方向。因此, 木薯产业的发展对于我国的粮食安全和新能源的发展具有举足轻重的作用。然而, 高产、优质木薯种质资源的匮乏是当前我国木薯产业发展所面临的主要挑战之一<sup>[1]</sup>。Soltis P S<sup>[2]</sup>通过研究发现, 多倍体植株在生物学特性上能表现出根、茎、叶等营养器官的巨大性, 并具有产量提高、品质提升、抗逆性增强等特点。前人利用二倍体与四倍体杂交的方式创制出来的多倍体丹参<sup>[3]</sup>、西瓜<sup>[4]</sup>、梨<sup>[5]</sup>、玉米<sup>[6]</sup>、甜叶菊<sup>[7]</sup>、柑橘<sup>[8]</sup>等都表现出了强优势。因此, 多倍体育种为木薯高产、优质资源的创制提供新的研究思路。研究二倍体及其同源四倍体的开花结实特性的差异可以了解不同倍性木薯品种的开花结实规律, 并能根据其开花结实规律有针对性地采取不同的育种措施, 来提高多倍体材料鉴定及育种的效率, 对木薯的育种具有积极的意义。

目前, 对于木薯二倍体及其同源四倍体的比较研究主要集中在叶片形态特征及其解剖学结构<sup>[9-10]</sup>、农艺性状<sup>[11-13]</sup>、抗旱<sup>[14]</sup>、细胞遗传学特征<sup>[15]</sup>、淀粉积累及光合特性<sup>[11-13]</sup>等方面, 而关于木薯二倍体及其同源四倍体开花结实特性的比较研究鲜见报道。为了更好地充实该领域的研究, 本试验以具有育种价值的木薯品种新选 048 和华南 205 的二倍体及其同源四倍体为材料, 通过定株观察木薯的开花结实物候期、开花特性、果实及种子生长发育动态变化规律, 找出不同倍性间木薯开花结实特性的差异规律, 以期为木薯多倍体材料的创制及鉴定提供科学参考。

### 1 材料与方法

#### 1.1 试验地概况

试验地位于广西南亚热带农业科学研究所木薯杂交育种基地。地处北纬 22°20'26", 东经 106°47'39", 海拔 330m。试验地属南亚热带季风气候, 试验期间 (2018 年) 的年均气温 22.6°C, 极端最高温 40.9°C (6 月 3

日), 极端最低温 2°C (12 月 20 日), 最热月均气温 27.5°C, 最冷月均气温 19.9°C, 平均降水量 1392.7mm, 年均相对湿度 86%, 年均蒸发量 1113.9mm。全年无霜期为 359d。土壤为红壤, 为促进木薯自然开花, 试验地常年不施肥料, 其基础养分检测结果为有机质 33.9g/kg, 全氮 1.73g/kg, 全磷 0.905g/kg, 全钾 3.4g/kg, 水解性氮 130mg/kg, 有效磷 0.451mg/kg, 速效钾 42.8mg/kg, PH 值 4.3。

## 1.2 试验材料

试验材料为新选 048 和 华南 205 的二倍体及其同源四倍体(新选 048 和 华南 205 均为广西主栽木薯品种)。其中二倍体 (2x) 材料 (染色体数为 2n=2x=36 条), 来源于广西南亚热带农业科学研究所木薯种质资源圃; 四倍体 (4x) 材料 (染色体数为 2n=4x=72 条), 由广西农业科学院经济作物研究所木薯课题组鉴定后提供。

## 1.3 试验方法

试验设 4 个处理, 即新选 048 二倍体、新选 048 四倍体、华南 205 二倍体、华南 205 四倍体, 每处理 3 次重复, 株行距为 2m×2m, 覆盖除草地膜, 全生育期不施肥。每小区面积 60m<sup>2</sup>。种植时间为 2018 年 3 月 15 日, 收获时间为 2019 年 1 月 18 日。植株约高 1m 时, 每个处理分别选取生长健壮、长势一致的植株 5 株, 分株编号, 挂牌标识, 设为日后固定观测的对象。

## 1.4 测定项目与方法

### 1.4.1 开花结实物候期观测

主要观测的物候期包括: 现蕾期 (小区 30%植株现蕾); 初花期 (小区 30%植株开花); 盛花期 (小区 80%植株开花); 结实期 (小区 30%植株结有可视 0.5cm 左右果实); 果熟期 (小区 30%果实尖端微裂, 果皮由光泽变粗糙); 落果期 (小区 30%果实成熟崩裂后散落种子)。

### 1.4.2 开花特性的观察测定

每个挂牌植株选择 1 个花序挂牌标记。在盛花期观测每个挂牌花序的雌、雄花数量, 并选取花被片完全展开的雌、雄花各 5 朵, 记录雌、雄花部形态特征。以此同时, 分阶段每周标记累加统计每个观测单株的雌雄花数量。于果实成熟期观测记录每个花序的坐果数 (马新等, 2018)。单个花序的坐果率计算公式如下: 单序坐果率 (%) = (单序坐果数/单序雌花数量) × 100%。

### 1.4.3 果实及种子发育特征的观察测定

雌花开放后每隔 10d 采样一次, 直至果实成熟, 每次采集 5 个果实, 观察记录木薯果实发育规律。利用游标卡尺测量其横径和纵径大小, 后用手术刀纵切果实取出种子, 再测量种子的横、纵径大小。

## 1.5 数据处理

采用 Microsoft Office Excel 2007 软件对原始数据进行整理计算和绘图, 并采用 DPS7.05 软件对数据进行统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同倍性间木薯品种开花结实物候比较

开花结实物候是繁殖生物学研究的重要内容之一<sup>[16]</sup>。将木薯开花结实物候划分为 6 个阶段, 分别为现蕾期、初花期、盛花期、结实期、果熟期、落果期。从表 1 可知, 新选 048 各物候期要早于华南 205, 以新选 048 二倍体最早, 华南 205 四倍体最晚, 说明新选 048 二倍体能够最快完成从现蕾到果实成熟的过程。从现蕾、初花、盛花、结实、果熟、落果期看, 新选 048 和 华南 205 二倍体各物候期都要早于四倍体, 其中新选 048 二倍体较四倍体在 6 个阶段分别提前 2d、2d、1d、4d、4d、6d, 而 华南 205 二倍体较四倍体分别提前 5d、6d、4d、6d、10d、7d。这说明四倍体的开花结实会比二倍体有所延迟。

表 1 不同倍性间木薯品种开花结实物候比较 (m-d)

Table 1 The comparison of flowering and fruiting phenology of cassava varieties with different ploidy (m-d)

| 观测项目<br>Observation items    | 新选 048<br>Xinxuan 048 |       | 华南 205<br>SC205 |       |
|------------------------------|-----------------------|-------|-----------------|-------|
|                              | 2x                    | 4x    | 2x              | 4x    |
|                              | 现蕾期<br>Budding stage  | 8.9   | 8.11            | 8.21  |
| 初花期<br>Early flowering stage | 8.16                  | 8.18  | 9.3             | 9.9   |
| 盛花期<br>Full flowering stage  | 8.23                  | 8.24  | 9.11            | 9.15  |
| 结实期<br>Fruiting stage        | 9.12                  | 9.16  | 9.25            | 10.1  |
| 果熟期<br>Fruit maturing stage  | 11.25                 | 11.29 | 12.1            | 12.11 |
| 落果期<br>Fruit dropping stage  | 12.20                 | 12.26 | 1.5             | 1.12  |

### 2.2 不同倍性间木薯品种开花特性的比较

### 2.2.1 不同倍性间木薯品种开花及座果数量的比较

从表 2 可知，比较不同品种间开花及座果相关指标的增幅大小发现，无论是新选 048 还是华南 205，不同倍性间木薯品种的开花及座果数量的相关指标的变幅均在±5%以上，但两个品种除了单序坐果数这一指标的增幅方向（正负）相同以外，其他指标的增幅方向均呈相反的方向；比较木薯不同倍性间开花及座果数量的差异显著性时发现，华南 205 不同倍性间开花及座果数量相关性状的差异均不显著，新选 048 不同倍性间在单序雌花数量、单序雄花数量、单序坐果数、坐果率等方面的差异也不显著，但新选 048 二倍体的单序总花量、雌花总数量、雄花总数量显著高于四倍体；比较不同倍性的雌雄花的比值发现，新选 048 二倍体的雌雄花比值大于四倍体的，而华南 205 不同倍性的雌雄花比值基本持平。这说明木薯染色加倍后可改变其开花及座果数量，但这种改变会因品种的不同而朝着不同的方向发展，改变的大小也会因品种而异。

表 2 不同倍性间木薯品种开花及座果数量比较（平均数±标准差）

Table 2 The comparison of flowering and fruit setting in different ploidy cassava varieties (Mean±SD)

| 性状<br>Characters                                   | 新选 048<br>Xinxuan |              | 增幅 (%)<br>Increased | 华南 205<br>SC205 |              | 增幅 (%)<br>Increased |
|--|-------------------|--------------|---------------------|-----------------|--------------|---------------------|
|  | 2x                | 4x           |                     | 2x              | 4x           |                     |
| 单序雌花数量 (朵)<br>The number of female inflorescences  | 8.20±1.94a        | 6.20±1.17a   | -32.26              | 5.80±2.04a      | 6.60±2.24a   | 12.12               |
| 单序雄花数量 (朵)<br>The number of male inflorescences    | 25.40±6.62a       | 16.20±2.71a  | -56.79              | 34.80±5.15a     | 36.60±4.88a  | 4.92                |
| 单序总花量 (朵)<br>Total inflorescences                  | 33.60±6.02a       | 22.40±3.32b  | -50                 | 40.60±6.62a     | 43.2±6.4a    | 6.02                |
| 单序坐果数 (个)<br>The setting-fruit number              | 5.20±0.98a        | 4.80±1.33a   | -8.33               | 3.80±1.60a      | 3.60±0.80a   | -5.55               |
| 单序坐果率 (%)<br>The fruit setting rate                | 65.47±13.00a      | 77.12±14.60a | 15.11               | 64.95±13.39a    | 60.86±22.45a | -6.72               |
| 雌花总数量 (朵)<br>The total number of female flowers    | 30.60±4.27a       | 20.60±3.72b  | -48.54              | 5.80±2.04a      | 6.60±2.24a   | 12.12               |
| 雄花总数量 (朵)<br>The total number of male flowers      | 68.80±7.83a       | 56.80±4.58b  | -21.13              | 34.80±5.15a     | 36.60±4.88a  | 4.92                |
| 雌花总数量/雄花总数量<br>The ratio of female and male flower | 0.44              | 0.36         | —                   | 0.17            | 0.18         | —                   |

说明：同一行不同小写字母表示存在显著差异(p<0.05)。

Note: The lowercase letters in the same line indicate significant differences (p<0.05).

### 2.2.2 不同倍性间木薯花部形态特征的比较

从图 1 可知，不同倍性间木薯品种花部形态特征有相同之处也有不同之处。就花的形态大小而言，两个木薯品种四倍体的雌雄花纵、横径均大于二倍体；就雄花而言，两个木薯品种不同倍性间雄花的颜色无差异，但四倍体雄花花药较二倍体肥厚，并且黄色花药侧生于白色花丝上，花丝贴生与花被片，而二倍体的雄花花药则要么集中在中部要么分散在花瓣上；就雌花而言，新选 048 二倍体雌花花被为白色（花被片中脉及两侧为浅红色），四倍体雌花花被为粉色（花被片中脉及两侧为红色），而华南 205 二倍体与四倍体雌花均为乳黄色（花被片中脉及两侧为粉色）；就子房颜色而言，两个木薯品种不同倍性间的子房颜色均相同，新选 048 为绿色，华南 205 为绿紫色；就花的种类而言，新选 048 四倍体木薯植株出现了两性花（既有花柱又有花药）。这说明木薯四倍体的花形态大小和花药要大于二倍体，且花药分布情况、雌花颜色和花的种类与二倍体也有着明显的差异，但不同木薯品种的差异规律不尽相同。

注：A-1 为新选 048 二倍体雌花；A-4 为新选 048 二倍体雄花；A-2 为新选 048 四倍体雌花；A-5 为新选 048 四倍体雄花；A-3 为新选 048 两性花形态；

B-1 为华南 205 二倍体雄花；B-3 为华南 205 二倍体雌花；B-2 为华南 205 四倍体雄花；B-4 为华南 205 四倍体雌花

Note: A-1 is diploid female flowers of xinxuan 048;A-4 is diploid male flower of xinxuan 048;A-2 is tetraploid female flower of xinxuan 048;A-5 is tetraploid male flower of xinxuan 048;A-3 is bisexual flower of xinxuan 048;B-1 is diploid male flower of the SC205;B-3 is diploid female flowers of the SC 205;B-2 is tetraploid male flower of the SC205;B-4 is tetraploid female flower of the SC 205



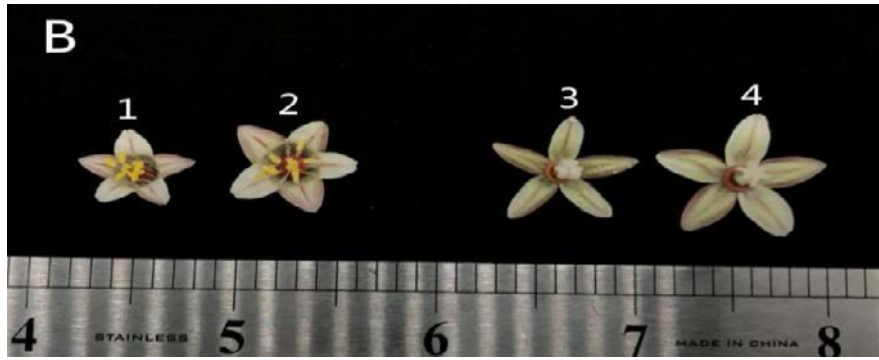


图 1 不同倍性间木薯品种雌雄花形态比较

Fig.1 The comparison of female and male flowers characteristics of cassava varieties with different ploidy levels

## 2.6 不同倍性间木薯品种果实及种子发育特性比较

### 2.6.1 不同倍性间木薯品种果实发育特性比较

木薯果实从发育初期即花期过后到果实成熟的整个生长发育过程约经历 120d，本试验从花期过后的 40d 开始每隔 10 天观察一次果实发育情况。由图 2、图 3、图 4 可知，两个品种不同倍性间果实纵、横径总体上均随着时间的推移呈上升趋势；从果实的纵、横径大小数值来看，新选 048 四倍体纵、横径在各观察期内均高于二倍体，而华南 205 四倍体在花期过后的前 80d 的果实纵、横径与二倍体的相差不大，但 80d 后却高于二倍体。这说明木薯品种四倍体的果实也能正常发育，并且果实大小不同程度的大于二倍体的，但不同品种四倍体种子增大程度和增大时期存在一定的差异。

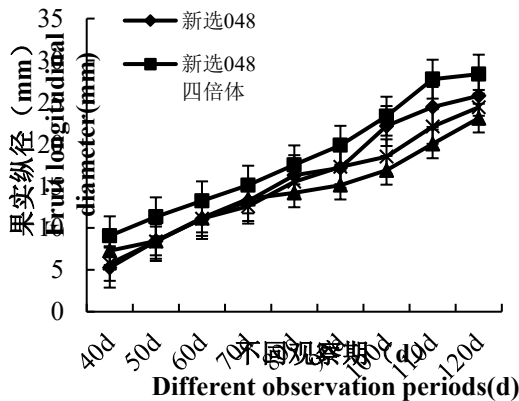


图 2 在各观察期内不同倍性木薯品种果实的纵径  
Fig.2 Longitudinal diameter of fruit of different observation period

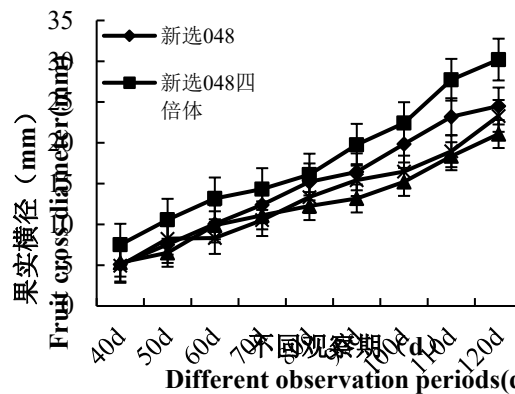


图 3 在各观察期内不同倍性木薯品种果实的横径  
Fig.3 Longitudinal diameter of fruit of different ploidy cassava varieties in each observation period

注：A 为新选 048 二倍体；B 为新选 048 四倍体；C 为华南 205 二倍体；D 为华南 205 四倍体。图 7 同样。  
Note: A is Xinxuan 048 diploid; B is Xinxuan 048 tetraploid; C is SC205 diploid; D is SC205 tetraploid. The same was applied in Fig7.

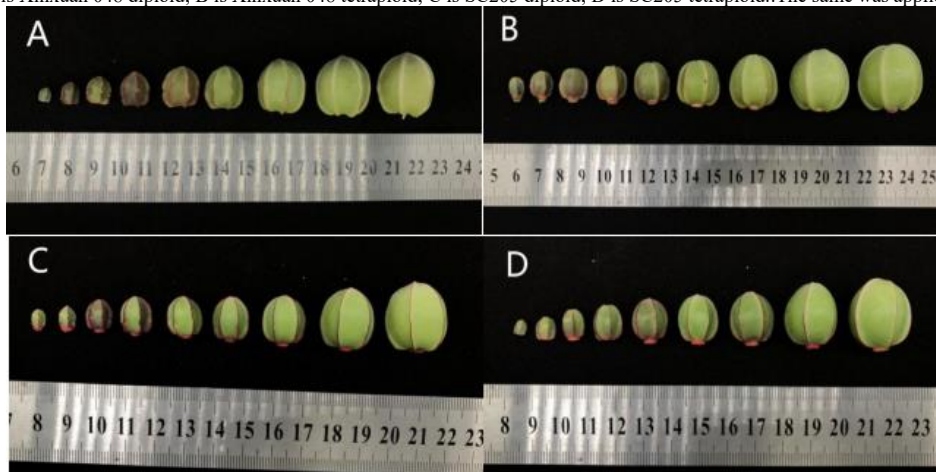


图 4 不同倍性间木薯品种果实发育形态比较

Fig.4 The comparison of fruit development characteristics of cassava varieties with different ploidy

### 2.6.2 不同倍性间木薯品种种子发育特性比较

从图 5、图 6、图 7 可知，各处理的种子纵、横径均随着时间的推移呈不断增大的趋势，新选 048 四倍

体的纵、横径在各观察期均大于二倍体，只是在前 110d 不同倍性间的差异较大，而在 110d 之后两者的差异很小；华南 205 四倍体的纵径在 110d 之前均大于二倍体的，且差异较大，但在 110d 之后两者趋于持平；华南 205 四倍体的横径在各观察期均大于二倍体，且在 90d、100d、120d 三个观察期的差异较大，其他时期差异不大。这说明木薯四倍体的种子要大于二倍体，且这种优势在种子发育前期较明显。

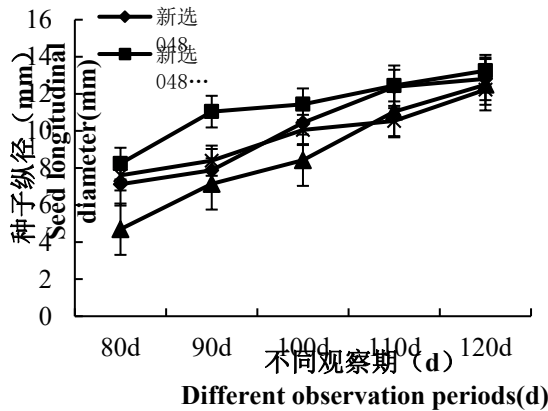


图 5 各观察期内不同倍性木薯品种种子纵径  
Fig.5 Vertical diameter of seed of different ploidy cassava varieties in each observation period

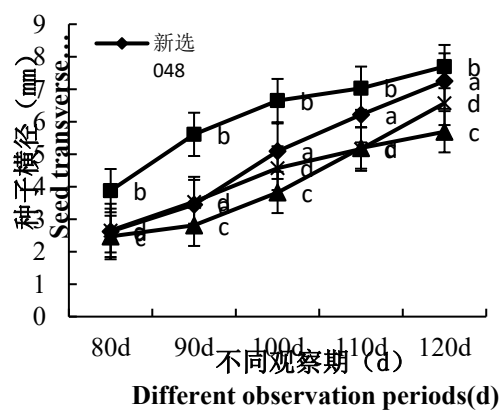


图 6 各观察期内不同倍性木薯品种种子的横径  
Fig.6 Cross diameter of seed different ploidy cassava varieties in each observation period

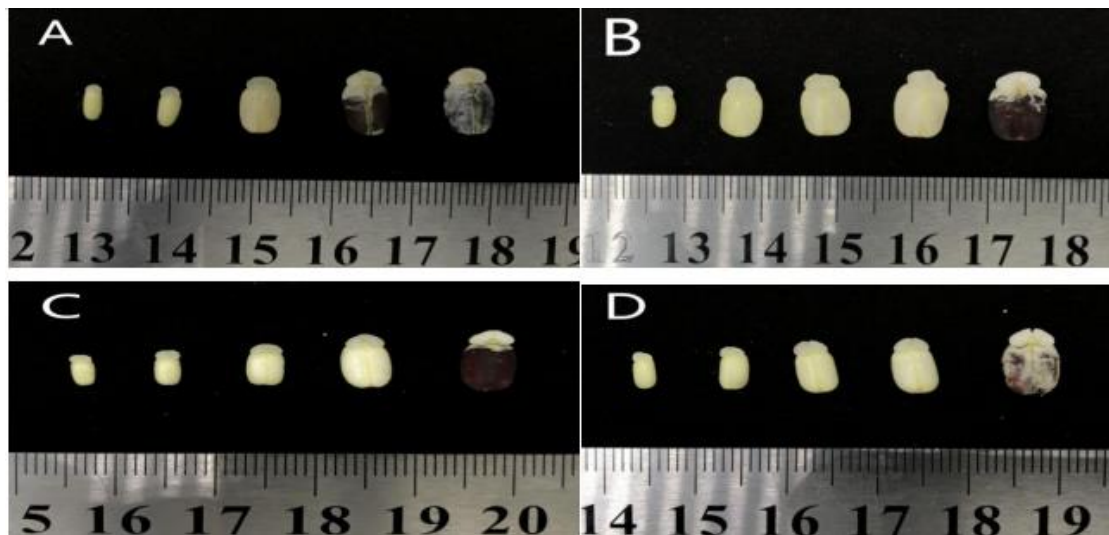


图 7 不同倍性间木薯品种种子发育形态比较  
Fig.7 The comparison of fruit development characteristics of cassava varieties with different ploidy

### 3 讨论

本研究发现，木薯四倍体的开花结实物候要滞后于二倍体的。这可能是因为二倍体营养积累时间要快于四倍体，能够更早的完成从营养生长到生殖生长的过程<sup>[17]</sup>。因此，在开展木薯二倍体与四倍体杂交组配时，应根据两者物候特点，错开种植时间，以达到花期相遇的目的，从而提高育种效率。童俊等<sup>[18]</sup>、周媛等<sup>[19]</sup>分别对紫薇、盾叶薯蓣的二倍体及其四倍体开花结实物候进行观测，结果表明四倍体的开花结实物候期较二倍体稍有延迟，这一结果与本研究观测结果一致。然而，植物开花结实物候不仅与植物本身的遗传特性有关，还与环境条件中的纬度、海拔、光照、温度和湿度等环境因子有着密切的联系。因此，在今后的工作中还应开展多年多点试验来进行物候观测，以验证这一试验结论，从而得到一个较为明确的评价。

通过比较木薯二倍体及其四倍体的各生殖器官形态大小时发现，两个木薯品种四倍体的雌花、雄花、花药、果实、种子都要大于二倍体的。这很可能是因为染色体的同源倍数增加，导致细胞核和细胞的体积就越大，从而使得木薯四倍体的各生殖器官也相应的增大。牛维和等<sup>[20]</sup>对君子兰进行了人工多倍体诱导，并获得大型花和厚花瓣的新品种；刘选明等<sup>[21]</sup>在比较黄花菜二倍体及其四倍体的植株解剖结构时发现，四倍体的各器官均增大，且四倍体的花粉粒明显大于二倍体的；童俊<sup>[22]</sup>用秋水仙素诱导紫珠，结果发现紫珠四倍体的花径和果径都大于二倍体的。前人的研究结果与本试验得出的结论相一致。因此，木薯生殖器官的形态大小可作为鉴定木薯多倍体材料的表型鉴定指标。

此外，在本试验中，同一品种不同倍性木薯品种在开花及坐果数量、花部形态特征、花朵种类等方面均存在不同程度的差异，但是不同的木薯品种的差异大小及差异规律不完全相同。表型指标的差异是由植物中

基因表达差异所导致的,而造成这种表达差异的原因可能是基因剂量效应差异也可能是表观遗传差异,而不同木薯品种多倍体的开花及坐果数量、花部形态特征、花朵种类的表达变异的原因可能不同,从而呈现出不同的差异大小和差异规律。因此,开花及坐果数量、花部形态特征、花朵种类等不宜作为所有木薯多倍体材料鉴定的表型指标。

#### 4 结论

综上所述,木薯染色体加倍,可延迟开花结果时间,增加生殖器官的大小,并改变雌、雄花的数量及总开花量和花形态特征,但对花的数量及特征的影响会因为品种的不同而呈现出不同的变化规律。所以,在木薯多倍体育种中,可以根据不同倍性间开花结实特性的差异规律,有针对性地错开二倍体和四倍体的种植时间,并有采取相应的促花促果措施,以提高杂交效率;而在木薯多倍体鉴定中,木薯生殖器官的形态大小可作为主要的表型鉴定指标,而开花及坐果数量、花部形态特征、花朵种类等指标可作为辅助表型鉴定指标。

#### 参考文献

- [1] 陈松笔,安飞飞,张振文,等..木薯综合育种理论探讨[J].生命科学,2016,28(7):807-816.
- [2] Soltis P S,Soltis D E. The role of genetic and genomic attributes in the success of polyploids[J].Proceedings of the National Academy of Sciences,2000,97(13):7051-7057.
- [3] 李秀兰,陈力.2012.三倍体丹参的培育及其可持续利用研究[J].中草药,43(2):375-379.
- [4] 刘文革,芦金生,阎志红,等.黄瓢无籽西瓜新品种‘金兰无籽’[J].园艺学报,2014,41(5):1035-1036.
- [5] 王斐,方成泉,姜淑苓,等.大果优质三倍体梨新品种‘华幸’[J].园艺学报,2014,41(11):2355-2356.
- [6] 吕桂华,唐祈林,郭国锦等.玉米(Zea may)×四倍体多年生玉米(Zea perennis)可育三倍体形态学和细胞遗传学研究[J].植物遗传资源学报,2015,16(6):1152-1156.
- [7] 程晓素,朱平,崔广荣.甜叶菊三倍体培育及其农艺性状分析[J].安徽科技学院学报,2016,30(3):25-30.[Cheng
- [8] 袁东亚.以12个柑橘四倍体为父本倍性杂交培育三倍体[D].武汉:华中农业大学,2018.
- [9] 周慧文,肖亮,曾文丹,严华兵.2019.木薯同源四倍体的离体诱导及鉴定[J].核农学报,2019,33(4):0647-0652.
- [10] Yin L,Qu J J,Zhou H W,et al.Comparison of leaf transcriptomes of cassava "Xinxuan 048" diploid and autotetraploid plants[J].Genes & genomics,2018,40(9):927-935.
- [11] 符芳宁.木薯多倍体诱变及后代鉴定研究[D].南宁:广西大学,2018.
- [12] 陈显双,韦丽君,田益农,等.木薯多倍体植株的诱导研究[J].热带农业科学,2008,28(1):17-20.
- [13] 陆柳英,曹升,谢向誉,等.木薯成熟种茎多倍体诱导及鉴定[J].热带作物学报,2014,35(9):1764-1770.
- [14] 尚小红,单忠英,严华兵,等.木薯‘新选048’二倍体及其同源四倍体对干旱胁迫的生理响应[J].植物生理学报,2018,54(6):1064-1072.
- [15] 肖亮,周慧文,谢向誉,等.木薯及其同源四倍体基因组与DNA甲基化差异分析[J].热带作物学报,2018,39(5):833-839.
- [16] 别鹏飞,唐婷,胡进耀,等.珍稀濒危植物距瓣尾囊草(Urophyssa rochikii)的开花物候和繁育系统特性[J].生态学报,2018,38(11):3899-3908.
- [17] 黄梅芬,薛世明,高月娥,等.喜马拉雅鸭茅野生二倍体与同源四倍体农艺性状的对比研究[J].草业学报,2016,25(1):207-216.
- [18] 童俊.秋水仙素诱导紫薇多倍体的研究[D].武汉:华中农业大学,2007.
- [19] 周媛.四倍体和二倍体盾叶薯蓣生物学特性的比较研究[D].武汉:华中农业大,2005.
- [20] 牛维和,徐玉冰,刘继红诱导君子兰多倍体的研究初报[J].园艺学报,1986,13(1):61-63.
- [21] 刘选明,何立珍,刘清波.黄花菜二倍体与四倍体植株的比较解剖学初步研究[J].湖北农学院学报,1994,20(3):228-232.
- [22] 童俊,陈法志.秋水仙素诱导紫珠多倍体育种研究[J].湖北农业学,2012,50(10):2049-2053.

# 代谢组和转录组联合分析园艺植物生理机制研究进展

许秋健<sup>1</sup>, 王松标<sup>2</sup>, 马小卫<sup>2</sup>, 武红霞<sup>2</sup>, 许文天<sup>2</sup>, 梁清志<sup>2</sup>, 李 丽<sup>2\*</sup>

1. 华南农业大学, 广东广州 510642; 2. 中国热带农业科学院亚热带作物研究所, 农业部热带果树生物学重点实验室, 广东湛江 524091

**摘要** 随着系统生物学研究大数据时代的到来, 高通量、高效的多组学联合分析已经成为园艺植物研究领域最热衷的高新技术手段。更多的研究将代谢组学和转录组学联合应用于园艺植物生理遗传机制及其调控的解析, 获得了不少研究成果。代谢组和转录组的整合, 可以实现组学间的相互验证, 既从转录层面预测代谢物的变化, 又从代谢层面验证基因转录的结果; 可以深入解析代谢谱和转录谱间的相互关系和园艺植物各项生物系统的代谢机理。本文综述了近年来国内外代谢组和转录组联合分析在园艺植物的形态建成、果实品质形成与调控、植物色素积累、环境响应、免疫互作机制以及转基因功能验证和新通路发掘方面的研究进展。

**关键词** 园艺植物; 生理机制; 代谢组学; 转录组学; 多组学联合分析

## Review on Integrated Analysis of the Metabolome and Transcriptome of Physiological Mechanism of Horticultural Plants

XU Qiujian<sup>1</sup>, WANG Songbiao<sup>2</sup>, MA Xiaowei<sup>2</sup>, WU Hongxia<sup>2</sup>, XU Wentian<sup>2</sup>, LIANG Qingzhi<sup>2</sup>, LI Li<sup>2\*</sup>

1. South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642, China; 2. Key Laboratory of Tropical Fruit Biology of Ministry of Agriculture, South Subtropical Crops Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Zhanjiang, Guangdong 524019, China

**Abstract** With the background of big data of system biology researches, the high-throughput and high-efficient integrated analysis of multi-omics has become the most popular-high-new technology in the fields of horticultural plants. Increasing studies have applied metabolomics and transcriptome to analyse the physiological-genetic mechanisms and their regulations of horticultural plants, bringing many new discoveries. Integration analysis of metabolome and transcriptome makes mutual confirmations among omics. Transcriptome information could indicate the dynamic changes of metabolites, meanwhile, the results of transcriptome could be verified by that of mechanisms. Then not only the mutual relations of metabolites and the expressions of key genes would be known, but also many metabolic mechanisms of horticultural plants could be revealed. This review summarized the recent advances in the application of metabolome and transcriptome integrated-analysis, including the mechanisms of morphogenesis, fruit quality formation and regulations, plant pigment accumulation, environment response and immune interaction, and the functional verification of candidate genes and the discoveries of new pathways of horticultural plants.

**Keywords** horticultural plants; physiological mechanism; metabolomics; transcriptome; multi-omics

随着现代分子生物学和生物信息的迅猛发展, 生物学研究进入了系统生物学的大数据时代。近年来, 组学技术成为探索生命奥秘的重要手段, 继基因组学、转录组学和蛋白质组学之后, 代谢组学也迅速发展起来, 成为系统生物学的一个重要组成部分<sup>[1]</sup>。在园艺科研领域, 为了系统地研究各种生物学现象, 仅使用单一组学方法往往比较局限, 而借助多组学解析园艺植物的遗传特性、代谢途径和新表型则能更为透彻<sup>[2]</sup>。随着技术的改进和生物信息数据库的更新, 转录组学和代谢组学得以快速升级, 双组学联合分析也已被广泛应用于众多研究领域<sup>[3-7]</sup>, 在园艺植物研究领域发挥着越来越重要的作用。

转录组 (Transcriptome) 是一门在整体水平上研究细胞中基因转录情况及转录调控规律的学科, 其研究对象是植物细胞在特定功能状态下转录出的所有 RNA 的总和, 包括多聚腺苷酸信使 RNA (mRNA)、前体 mRNA (pre-mRNA) 和非编码 RNA (noncoding RNA)。与以前的 Sanger 测序和基于微阵列的方法相比, 新一代的转录组测序 (RNA-seq) 具有无偏倚、高通量及高分辨率的特点<sup>[8]</sup>, 可量化基因表达、发掘新转录本、鉴定选择性剪接基因、检测等位基因, 进而达到深入解析细胞转录组的目的<sup>[9]</sup>。

代谢组学 (Metabonomics/Metabolomics) 是效仿基因组学、转录组学、蛋白质组学的研究思想而诞生的。该组学旨在反映某一生物体的组织或细胞内全部代谢物或某类代谢物的种类、数量的变化规律<sup>[10]</sup>。目前, 代谢组检测涉及到的是分子量 50-1500Da 的小分子代谢物, 而高分子有机聚合物不在检测范围内<sup>[1, 11]</sup>。代谢组是基因表达下游的结果, 最能反映细胞在功能水平上的活动<sup>[12]</sup>。

植物细胞转录表达后, 涉及转录后修饰<sup>[13-15]</sup>、蛋白质翻译<sup>[16-18]</sup>、翻译后修饰<sup>[19-21]</sup>的过程, 转录结果才能在代谢水平上呈现。转录组是基因表达的媒介, 而代谢组反映细胞表型和功能的变化<sup>[12]</sup>。结合代谢组和转录组, 能实现对时序表达的差异基因与差异代谢物进行共表达分析, 探究基因和代谢物间的联系, 锁定代谢途径、找出关键调控因子及结构基因, 探索潜在的生物学意义, 系统地洞察分子机制, 解析园艺植物的遗传机理<sup>[2, 22]</sup>。在系统生物学和功能基因组学中, 代谢组和转录组有广泛的应用<sup>[23]</sup>。以下将从园艺植物形态建成、



果实品质形成与调控、植物色素积累、环境响应、免疫互作机制、转基因功能验证和新通路发掘这七方面对转录组学和代谢组学联合分析的成功应用作一综述。

## 1 基于双组学的园艺植物形态建成机制研究

### 1.1 植物胚胎发生

胚胎发生是园艺植物形态建成的开端。近两年，代谢组学和转录组学联合分析在植物细胞胚胎发生方面有了新的研究进展。Tan 等<sup>[24]</sup>应用气相色谱-质谱联用 (GC-MS) 和 RNA-seq 技术解析油菜种子胚胎发生的过程，发现种胚发生期间总氨基酸、游离脂肪酸和有机酸减少，植物脂质代谢等途径相关基因在种胚不同发生阶段显著富集，三酰甘油和脂肪酸生物合成相关代谢物和转录本密切相关。Guo 等<sup>[25]</sup>应用广泛靶向代谢组和高通量转录组测序研究棉花体细胞胚胎发生的过程，结果表明核苷酸和脂类在胚性分化过程中特异性积累，黄酮和羟基肉桂酰衍生物在体细胞胚胎发生过程中积累，与信号识别、转录、应激和脂质合成有关联的嘌呤代谢相关基因表达上调，几个经典的体细胞胚胎发生基因和参与嘌呤代谢和类黄酮生物合成的代谢物高度关联。

### 1.2 源器官生长

联合代谢组学和转录组学研究源器官的生长状态，可以解析源器官的代谢网络。Xu 等<sup>[26]</sup>研究茶树叶片在各个生长季节的代谢和转录特征，发现茶叶中 *bHLHs* 和 *MYB* 在不同生长季节存在表达差异，它们参与质体甲基磷酸赤藓糖醇 (MEP) 途径和细胞质甲羟戊酸 (MVA) 途径，实现了单萜和倍单萜间的交叉调节。Zhang 等<sup>[27]</sup>研究白化茶叶碳氮代谢的协调调节，发现白化茶叶通过增强氮分解代谢补偿能量代谢和碳骨架形成，以适应光合能力不足引起的缺碳胁迫。

### 1.3 库器官发育

由代谢和转录水平联合分析库器官的发育过程，可发掘关键代谢物和候选基因，揭示调节库器官性状变化的分子机制。长筒石蒜的花器官在膨大过程中会产生香气和出现褪色变化，为了系统研究该生物学现象，Yue 等<sup>[28]</sup>对不同发育阶段长筒石蒜花的代谢成分和相关基因进行筛选和分析，发现香气的产生在很大程度上取决于反式  $\beta$ -辛烯-a 萜烯，石蒜花发育过程中花色素含量的显著降低是花被褪色的成因，*DFR* 基因和 *TPS* 基因分别参与了花色素和  $\beta$ -辛烯-a 萜烯的代谢途径。在矮牵牛花器官的发育过程中，花药的转录和代谢表现出紧密联系，偏最小二乘法判别分析 (PLS-DA) 表明，参与淀粉和蔗糖代谢的葡萄糖和果糖在花药发育过程中扮演重要角色，发育后期的花药中碳水化合物和能量代谢活性下降，导致花药库强度减弱<sup>[29]</sup>。在番茄果实发育的调控机制研究中，番茄果实高分辨率的转录图谱揭示了不同发育阶段下果实不同类型的细胞和各组织调控网络的变化，解析了细胞壁代谢的生理调控机制及挥发性芳香物质、氨基丁酸和糖类合成的过程，共表达网络分析表明 *RIN* 是果实成熟关键调控因子，代谢组分析表明淀粉是果实果皮和中柱代谢网络的关键代谢物，叶绿素 a 和叶绿素 b 分别是番茄果皮和中柱的代谢物枢纽，果实中相邻的组织表现出相似的代谢模式<sup>[30-31]</sup>。

## 2 基于双组学的果实品质形成和调控研究

利用代谢组学和转录组学研究园艺作物的果实在不同发育时期的代谢和转录特性变化，可揭示果实品质形成的分子机制。Huang 等<sup>[32]</sup>分析笋瓜成熟的过程，发现笋瓜的不同发育时期糖、淀粉、类胡萝卜素的积累模式有不同程度的差异，类胡萝卜素形成、糖代谢和植物激素信号传导途径在笋瓜成熟中发挥重要作用，成熟相关代谢物和转录本存在联系，*GBSS* 的表达下调导致直链淀粉含量减少，*SBE* 表达上调引起支链淀粉含量增加。在柑橘的成熟过程中，天冬氨酸转移酶等酶类相关基因协同参与了糖的积累和有机酸的降解，成熟后期果实的蔗糖代谢由合成转向降解，糖酵解和三羧酸循环加快<sup>[33]</sup>。

除了糖、有机酸等风味物质，果蜡也是某些园艺作物果实品质形成的重要因素。Wu 等<sup>[34]</sup>应用代谢组和转录组研究梨果实发育过程中的表皮角质层蜡质形成的分子机理，GC-MS 分析表明梨的蜡质主要包括烷烃、伯醇、脂肪酸、醛类、萜类等化合物，差异表达基因分析以及 KEGG 路径分析表明梨发育过程的转录变化主要体现在细胞代谢方面，亚油酸代谢、脂肪酸降解、醚脂代谢等途径与果实表皮蜡的生物合成密切相关，代谢物-差异基因的共表达网络鉴定出影响果实蜡层形成的 15 个结构基因和 12 个编码转录因子的基因，实时荧光定量聚合酶链式反应 (qRT-PCR) 表明其中的 18 个基因确实调控果实蜡质形成，这些基因进一步完善了梨果皮蜡的生物合成通路。

果实质地、裂果、嫁接也是影响果实品质的因素。Wang 等<sup>[35]</sup>通过代谢组和转录组揭示影响桃果实质地的分子机理，发现苯丙氨酸代谢下游途径在调节果实质地方面有重要作用，红丽桃倾向于类黄酮合成，导致其花色苷合成活跃以及果实软化；白丽桃偏向木质素合成，*Pp4CL2* 等基因的高表达促进果实合成木质素和乙烯前体，引起果实木质化。Wang 等<sup>[36]</sup>研究荔枝裂果的代谢调控机制，发现脱落酸、乙烯和茉莉酸生物合成途径相关基因上调，以及生长素和油菜素甾醇生物合成相关基因下调，会影响荔枝代谢水平，导致荔枝的裂果。Miao 等<sup>[37]</sup>以非嫁接黄瓜与嫁接黄瓜果实为材料，通过代谢物含量和基因表达差异间的相关性分析筛选出 10 个可能参与糖代谢、亚油酸和氨基酸合成的候选基因，并以 qRT-PCR 验证了这些基因的表达差异，

发现嫁接也影响果实品质形成相关的代谢调控。

代谢组和转录组也可用于查明形成果实品质的代谢物来源。Enrique 等<sup>[38]</sup>对同一发育阶段的黑莓叶片和果实的转录组序列从头组装和分析,发现叶片中黄酮醇-花青素转运蛋白基因大量表达,代谢组分析表明黑莓叶片和果实代谢物组成差异显著,叶片中的总酚和黄酮醇分别是果实中的 3 倍和 6 倍,这些结果在一定程度上说明黑莓果实的黄酮醇主要来源于叶片运输,而非果实内合成。

### 3 基于双组学的植物色素积累机制研究

目前,造成园艺植物不同品种色泽差异的分子机制很多尚未研究透彻。Cho 等<sup>[39]</sup>在马铃薯色素代谢机制的研究中,分析差异代谢物和差异表达基因,发现红色马铃薯和紫色马铃薯在苯丙素合成途径下游的黄酮类代谢物差异显著,而共表达网络分析表明,茉莉酸信号传导基因 *J1H*、*JAZ8* 和 *JAZ10* 在红色马铃薯中有较高表达,导致红色马铃薯中 *JAZ* 降解介导的花青素生物合成途径失活, *UFGT* 和 *LODX* 在紫色马铃薯中显著上调,从而驱动紫色马铃薯中飞燕草色素的积累,造成不同品种马铃薯色泽差异。园艺植物色素积累相关的转录与特定的代谢物有密切联系,紫叶品种茶树“白糖紫茶”的粉色茶花花青素形成机制的研究表明,粉色茶花中含有花青素 O-丁香酸、牵牛花色素 3-O-葡萄糖苷、花葵素 3-O-β-D-葡萄糖苷等 12 种粉色色泽相关花色苷,而加权基因共表达网络分析(WGCNA)鉴定出 8 个关键基因,这些基因与花色苷 3-O-葡萄糖苷、牵牛花色素 3-O-葡萄糖苷、表儿茶素没食子酸酯 3 种黄酮类化合物的生物合成相联系<sup>[40]</sup>。在莲莲花瓣色素积累的研究中,黄色莲花 *NnPAL*、*Nn4CL* 等基因参与了黄酮类代谢物的调节,类黄酮合成通路上异鼠李素和山奈酚的分流是黄色莲花和白色莲花色泽差异的成因<sup>[41]</sup>。Li 等<sup>[42]</sup>发现类黄酮生物合成通路在猕猴桃的果肉色泽调控中有重要作用, *AaF3H* 等基因可能是类黄酮合成途径上的候选基因。Shen 等<sup>[43]</sup>通过类胡萝卜素积累和关键基因的表达模式分析造成木瓜果肉和果皮色泽差异的原因,发现木瓜果肉具有番茄红素向玉米黄素合成的类胡萝卜素合成途径 β 分支,而果皮除了 β 分支还有番茄红素向叶黄素合成的 α 分支。

### 4 基于双组学的植物环境响应机制研究

植物需要适应各种环境变化才能维持正常的生长发育,环境因子的刺激会诱导植物体内信号分子的传递,改变植物细胞的转录表达,最终以改变代谢水平等方式实现园艺植物对环境的响应。

#### 4.1 温度

温度是重要的环境因子,已有不少运用代谢组学和转录组学联合分析园艺植物受温度影响的研究报道。Zhang 等<sup>[44]</sup>通过代谢组和转录组分析受冷害番茄果实的调控网络,联合差异表达基因和代谢谱分析,发现冷害胁迫下的番茄 ATP-柠檬酸合成酶和异柠檬酸脱氢酶基因表达上调,导致柠檬酸、顺式琥珀酸和琥珀酸含量增加,丙氨酸氨基转移酶和支链氨基酸转氨酶基因的高表达,引起丙氨酸和亮氨酸含量增加。冷害胁迫下的耐寒马铃薯腐胺与精氨酸脱羧酶基因 *ADC1* 具有一致的积累模式,而腐胺的外源应用及 *ADC1* 的功能验证证实二者在马铃薯抗寒中的重要作用<sup>[45]</sup>。超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱(UHPLC-Q-TOF-MS)和 RNA-seq 分析低温下的烟草叶片,证实低温影响多酚类代谢物生物合成,木质素合成途径由转录到代谢水平均出现变化<sup>[46]</sup>。代谢组检测发现低温可促进血橙果肉花青素的积累,但不影响紫柚果肉花青素的合成,同时转录组分析发现低温下血橙中的花青素合成关键基因 *CsRuby1* 表达上调,但紫柚中 *CsRuby1* 没有变化,进一步研究发现血橙中 *CsRuby1* 启动子上游有一个 LTR 反转座子 *Tcs1*,而紫柚缺失 LTR 序列导致低温诱导不能促进紫柚果肉花青素的合成<sup>[47]</sup>。

在园艺植物响应高温胁迫方面, Ren 等<sup>[48]</sup>分析高温胁迫下毛白杨叶片的关键基因及差异代谢物,初步确定脯氨酸、棉籽糖、蜜环糖等代谢物以及 *PSB27* 等多个基因参与了毛白杨对高温胁迫的响应,KEGG 富集分析表明高温胁迫下的毛白杨糖酵解增强,而三羧酸循环受阻。

#### 4.2 光照

代谢组学和转录组学也应用于光照对园艺植物影响的研究。在揭示光照对芦荟花青素合成影响的研究中, Dong 等<sup>[49]</sup>发现黑暗环境中紫色品种芦荟不合成花青素,而在光照环境下芦荟能恢复紫色色素的合成,且色素含量远高于黑暗环境的芦荟, RNA-seq 分析表明,黑暗和光照条件下的紫色芦荟有 3637 个差异表达基因,其中编码 bHLH 蛋白相关基因和 MYB 家族基因均与花青素合成有密切联系,而黑暗环境中芦荟的 APL 蛋白相关基因转录上调,初步推断该基因抑制芦荟花青素的合成。而血橙、紫柚和柠檬果实的花青素合成也受光照诱导,该合成途径由 *CsRuby1* 和 *CgRuby1* 介导<sup>[47]</sup>。在小麦防御紫外线的分子机制研究中,抗紫外线能力较强的紫色小麦和抗紫外线能力较弱的白色小麦在紫外线胁迫下转录和代谢特性出现变化,高通量测序表明紫外线胁迫抑制了小麦光合作用、固碳作用、苯丙氨酸生物合成等相关基因的表达,而紫色小麦受抑制程度较小,这是由氧化应激、激素信号转导等多重防御反应相关基因的选择性表达所介导的,而代谢组分析发现紫外线辐射可促进小麦花青素 3-O-芸香糖苷等花青素的积累,这些发现对小麦的抗性育种和品质育种都有重要参考意义<sup>[50]</sup>。紫外线胁迫下的甘草也有相似变化,苯丙素和类黄酮生物合成途径上的代谢物变化和基因表达表现出密切联系<sup>[51]</sup>。

#### 4.3 水分

水分胁迫是影响园艺植物产量和质量的主要非生物胁迫，了解不同水分环境下植物的代谢和转录机制对园艺植物遗传改良很有参考意义。You 等<sup>[52]</sup>将转录组学和代谢组学应用于芝麻对干旱胁迫的适应机制研究中，感旱型芝麻中出现更多的干旱反应相关代谢物和转录本，而耐旱型芝麻的逆境反应、氨基酸代谢和活性氧清除相关基因高度表达，关联分析反映酵母氨酸途径和脱落酸代谢及信号传导途径在芝麻的抗旱过程中发挥重要作用。在干旱胁迫下，豆类植物细胞质酶、细胞壁结构蛋白相关基因与糖醇、氨基酸等代谢物参与了干旱应答<sup>[53]</sup>。盐胁迫下芝麻的转录及代谢与干旱胁迫相似，盐胁迫主要诱导芝麻氨基酸代谢、植物激素信号传导等过程，耐盐型芝麻中与耐盐胁迫相关的丙氨酸、棉籽糖家族寡糖等代谢物积累增加<sup>[54]</sup>。在淹水对水稻生理功能影响的研究中，Anna 等<sup>[55]</sup>发现 *SUB1A* 参与调控水稻的信号蛋白基因以及海藻糖-6-磷酸的代谢，以调节水稻在水淹及恢复期的稳定代谢。

#### 4.4 气体浓度

气调机理是园艺采后研究的重点方向之一。Bang 等<sup>[56]</sup>将草莓果实短期贮存于高浓度 CO<sub>2</sub> 环境后低温贮藏，转录组分析表明高浓度 CO<sub>2</sub> 环境下草莓果实中果胶酯酶、β-木糖苷酶等编码细胞壁降解酶的基因表达下调，代谢谱反映葡萄糖、奎尼酸和琥珀酸是 CO<sub>2</sub> 响应代谢物，据此推断高浓度 CO<sub>2</sub> 环境会通过降低细胞壁降解酶活性，减少细胞壁中果胶的降解，从而提高草莓耐贮性。Stefano 等<sup>[57]</sup>研究低氧环境对苹果采后贮藏的影响，发现低氧条件下苹果皮层组织 γ-氨基丁酸分支途径和发酵代谢途径下调，2-酮戊二酸关联的双加氧酶基因被激活，将氧气浓度恢复至正常水平后，甘油、棕榈酸、硬脂酸以及几种磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺增加，缬氨酸等氨基酸、花生四烯酸等有机酸、表儿茶素等次生代谢物减少，氧气浓度调节改变了生长素和脱落酸信号转导相关基因的转录水平。

#### 4.5 矿质营养

代谢组和转录组关联分析在园艺植物矿质营养研究方面的应用也有了最新报道。Xin 等<sup>[58]</sup>为了深入了解水稻在高氮素环境下氮利用效率降低这一现象的潜在代谢分子机制，运用代谢组和转录组方法分析不同氮素利用率的水稻，发现低氮条件下三氯乙酸循环倾向于生产 α-酮戊二酸而增强氮同化及运输，高氮条件下水稻三羧酸循环和磷酸戊糖途径会产生变化而抑制氮同化和芳香族代谢途径，导致水稻在高氮环境下氮利用效率下降。氮素形态也影响植物对氮的利用，硝酸盐处理的大豆氮运输和同化、碳代谢相关基因上调，根中氨基酸等代谢物积累增加，但根瘤中的代谢和转录有相反的表现<sup>[59]</sup>。Huang 等<sup>[60]</sup>研究不同氮源下茶树幼芽的氮素再分配，发现缺氮的茶树倾向于合成黄酮类化合物，铵态氮下的茶树显著积累茶氨酸等氨基酸。燕麦在缺磷的水培环境生长，其根系的三羧酸循环相关代谢物增加，参与有机阴离子外排的基因持续上调<sup>[61]</sup>。而低磷土壤中的大豆会通过调控磷酸化脂质和核酸代谢途径来响应缺磷胁迫造成的磷酸酯水平下降、根瘤氨基酸代谢衰退<sup>[62-63]</sup>。土壤 pH 值与矿质营养密切相关，土壤 pH 值过低时，水稻会下调铁离子转运相关基因以避免铁离子中毒；高 pH 值则会诱导水稻细胞氧化应激反应，调节细胞代谢产物的组成<sup>[64]</sup>。

### 5 基于双组学的植物免疫互作机制研究

病原体的侵染会引发园艺植物复杂的防御机制，联合代谢组和转录组分析可以更深入地了解植物对病原体的防御机制以及二者的互作关系。

#### 5.1 真菌病害

在大豆受纹枯病感染后的初生代谢物调控机理研究中，Tanya 等<sup>[65]</sup>排除纹枯病菌代谢物和转录本的干扰后，分析感病大豆的代谢物和转录本，发现硫胺素、生育酚、脯氨酸以及过氧化物酶等氧化还原和活性氧信号传递相关分子水平上调，运用双向正交偏最小二乘法模型和 GO 富集整合分析代谢组和转录组，初步鉴别出乙醇脱氢酶（ADH）的转录本与大豆响应纹枯病感染密切相关，另外，ADH 功能丧失的拟南芥感染纹枯病后抗病性衰退进一步说明 *ADH* 基因在大豆抗纹枯病中发挥重要作用。为了解析青稞白粉病应答过程中的动态生理变化，Yuan 等<sup>[66]</sup>对完全抗性品种和敏感品种青稞接种白粉病菌，发现青稞中有 3418 个基因和 405 个代谢物对白粉病作出应答，WGCNA 和 GO 功能注释揭示了植物激素、光合作用、黄酮类化合物合成和苯丙氨酸合成途径在青稞与白粉病互作过程中发生变化，基因表达模式和代谢谱存在对应关系，WRKY 转录因子家族在两个品种青稞中表现出不同的调控机制，这与植物激素、脂类、黄酮类、酚酰胺类、苯丙氨酸等植物防御反应所涉及的代谢物有关。He 等<sup>[67]</sup>为了探究脐橙自发突变体对真菌的防御机制，通过整合脐橙果实的代谢组和转录组数据构建了一个基因组规模代谢网络模型，发现突变体中的脂肪酸通路重定向，导致茉莉酸的生物合成和信号传导途径被刺激而参与防御反应。代谢组和转录组关联分析还应用于园艺植物与病原体的互作研究，Sandery 等<sup>[68]</sup>分析晚疫病菌及番茄的联合代谢和转录，通过整合番茄和晚疫病菌的基因组规模代谢模型（GEM）了解研究相关的 4695 个生化反应、4303 种代谢物和 4578 个基因，发现晚疫病菌的硫胺素焦磷酸形成依赖于番茄的硫胺素生物合成途径，随着侵染的发展，晚疫病菌中的氨基酸生物合成、糖酵解和三羧酸循环逐渐减缓，表明侵染后期的病菌更倾向于由番茄中摄取代谢物。

#### 5.2 线虫和病毒病害

在线虫病害研究中，Kang 等<sup>[69]</sup>发现芽孢杆菌可诱导大豆吡啶生物碱生物合成等途径的转录调控，积累

胡椒碱等 4 种线虫防御代谢物，以抑制大豆孢囊线虫的发育。

在病毒病害研究方面，Polona 等<sup>[70]</sup>从代谢和转录的分子水平解析马铃薯 Y 病毒对马铃薯的侵染过程，糖和氨基酸代谢、三羧酸循环、活性氧清除、苯丙素合成及氨基丁酸分支途径相关代谢物在马铃薯染病初期减少，在病毒增殖期大幅上升，这些代谢途径的变化也表现在基因表达水平上。Dagan 等<sup>[71]</sup>在番茄防御黄化曲叶病毒的分子机制研究中，对病毒侵染前后的感病性番茄和抗病性番茄的代谢组和转录组进行联合分析，发现染病后的抗病番茄比感病番茄的代谢物表现出更紧密的协调变化，其氨基酸和多胺、酚类和吲哚代谢物等防御相关化合物的丰度上升，两种番茄的苯丙氨酸-木质素、色氨酸-烟酸、类黄酮-黄酮醇、尿素-多胺和水杨酸生物合成等途径在防御黄化曲叶病毒时有不同表现，通过 qRT-PCR 比较感病番茄、抗病番茄和多毛番茄中苯丙氨酸-木质素等途径相关基因的表达，证实抗病番茄对黄化曲叶病毒的防御反应与多毛番茄相似。代谢组和转录组研究表明，茉莉酸甲酯可诱导番茄回交系 BC<sub>5</sub>S<sub>2</sub> 防御性酰糖生物合成相关基因表达，提高植株毛状体中的酰糖和酚类物质的含量，从而增强番茄对黄化曲叶病毒的抗性<sup>[72]</sup>。

## 6 转基因功能验证

代谢组和转录组的整合分析可以有效验证关键基因功能以及关键代谢通路，有助于深入解析园艺植物的代谢机制和信号元件。在调控番茄成熟的关键基因研究中，*TDR4* 沉默的番茄果实具有橙色果皮表型，反映果实成熟相关生理变化受阻，*TDR4* 沉默番茄相比于正常番茄果实有 17 种差异代谢物和 1884 个差异基因，而 *TDR4* 沉默番茄果实芳香族氨基酸代谢途径改变、谷氨酸代谢加快以及番茄素合成增加等现象都证实 *TDR4* 是番茄成熟过程的重要调节因子<sup>[73]</sup>。Ashutosh 等<sup>[74]</sup>将拟南芥的 *AtMYB12* 在番茄中表达，转基因番茄参与黄酮醇生物合成的苯丙氨酸途径基因表达上调，叶片和果实中黄酮醇和绿原酸增加。Ying 等<sup>[75]</sup>在番茄腺毛调节基因 *SIMX1* 调控番茄果实初级代谢的研究中，通过整合代谢组和转录组分析，发现 *SIMX1* 超表达番茄毛状体形成能力增强，其莽草酸代谢途径上的基因显著上调，造成下游对香豆酸等苯丙烷类代谢物增加，*SIMX1* 蛋白可以直接结合编码 3-脱氧-7-磷酸庚酸合酶（*SIDAHPS*）的基因启动子区域激活其表达，*SIDAHPS* 的上调表达可增强莽草酸途径活性而为下游次级代谢提供底物，这证明 *SIMX1* 具有调控初级代谢的功能。拟南芥敲除突变体和过表达材料的分析证实 *MYB99* 也能调控初级代谢，该基因可以调控拟南芥花粉绒毡层二糖基化黄酮醇和水合物的合成<sup>[76]</sup>。Zhou 等<sup>[77]</sup>在苹果根皮苷合成核心基因 *MdUGT88F1* 对苹果发育和抗腐烂病的机制研究中，通过 *MdUGT88F1* 超表达和 RNAi 得到两种转基因系苹果，超表达品系总二氢查尔酮无明显变化，而 RNAi 品系的根皮苷显著降低，表现出矮化表型，这与木质素代谢途径上香豆酸和肉桂酰的衍生物减少造成木质素含量降低有密切关系，RNAi 品系转录组分析发现参与肌醇转化为肌醇半乳糖苷的相关基因表达上调，造成肌醇减少以及细胞壁多糖组成异常而影响 RNAi 品系的生长，而腐烂病菌降解根皮苷后生成的间苯三酚等毒素会加速苹果组织坏死，因此 RNAi 品系表现出更高的腐烂病抗性，这些结果证实 *MdUGT88F1* 的正常表达能维持苹果的正常生长，其下调表达能增强植株腐烂病抗性。在深蓝鼠尾草萜类生物合成关键基因的发掘研究中，Mohammed 等<sup>[78]</sup>运用转录组测序及 KEGG 通路分析初步筛选萜烯生物合成相关的高表达转录本，将其中的三个基因 *SgFPPS*、*SgGPPS* 和 *SgLINS* 在拟南芥中过表达，经 qRT-PCR 和 GC-MS 联用分析转基因阳性株和野生型拟南芥，验证了这些基因在萜烯生物合成上的功能。Guy 等<sup>[79]</sup>借助代谢物检测和转录组测序发掘出石竹科花卉甜菜素生物合成第一步反应的关键基因 *CYP76AD15* 和 *MjCYP76*，将 *CYP76AD15* 在烟草中瞬时表达，发现该基因的单表达确实能催化酪氨酸羟基化生成二羟基苯丙氨酸，而 *MjCYP76* 的瞬时表达未表现出其效果，分析石竹科药喇叭的花青素合成基因的序列，发现其编码蛋白质结构域的主要序列丢失，导致合成甜菜素的植物缺少花青素。

## 7 新通路发掘

在发掘代谢新通路研究方面，Tan 等<sup>[80]</sup>利用 UHPLC-Q-TOF-MS 和 RNA-seq 技术分析不同发育阶段的番红花柱头类胡萝卜素生物合成，转录谱和基因-代谢物共表达网络初步确定类胡萝卜素合成关键步骤上的基因和转录因子，而过表达分析证实 *CsALDH3* 催化西红柿花素二醛的转化，类胡萝卜素合成存在新分支途径，该途径在二萜合成酶 *CsCPS1* 和 *CsCKL* 作用下催化香叶基-香叶基焦磷酸酯转化为贝壳杉烯等代谢物。Meng 等<sup>[81]</sup>通过分析银杏高黄酮突变体的代谢组和转录组来了解银杏中的黄酮类合成通路，发现脂质合成和苯丙烷衍生物合成的下调可分别提高丙二酰辅酶 A 和苯丙氨酸这两种黄酮类合成前体的水平，从而将碳通量重新定向到类黄酮代谢。Zhang 等<sup>[82]</sup>为了发掘菘蓝木脂素生物合成潜在的催化步骤，以茉莉酸甲酯诱导菘蓝毛状根木脂素合成，应用共表达网络分析鉴定出 *4CL3* 等 17 个核心基因，而 RNAi 进一步确定 *4CL3* 与木脂素合成关联，根据该基因的催化功能确认 *4CL3* 可通过咖啡酸酯化作用催化木脂素合成。

## 8 研究展望

代谢组可呈现园艺植物在代谢水平的生长发育和生理状态，是构成园艺植物复杂表型的基础，而转录组集合了大量差异表达基因以及众多调控网络的信息，与园艺植物的基因组有直接联系。联合代谢组学和转录组学解析园艺植物的各种生物学现象，能够更全面、更透彻地解析园艺植物复杂的分子功能及作用机制。目前，基于生物信息数据库的代谢组和转录组关联分析在发掘关键调控基因和关键代谢通路等方面展现出强大

优势, 在系统生物学和功能基因组学研究领域有很多贡献。然而, 由于代谢物结构类型的多样性和未知代谢物鉴定的复杂性<sup>[83]</sup>, 多数代谢物的种类仍然未能鉴别。园艺植物很多基因的功能也尚不明确, 有待进行功能验证。代谢网络上仍有很多空白位点, 需要更多的代谢物、调控基因来填补。将来, 随着园艺植物代谢物检测分辨率提高以及更多园艺植物全基因组测序的完成, 植物转录代谢的动态变化有望得到更精细的解读, 从而进一步拓展生物信息数据库, 深化代谢组学和转录组学在园艺植物代谢调控网络机制方面的研究, 为将来的系统生物学和功能基因组学大数据奠定坚实基础。

#### 参考文献

- [1] Ina Aretz, David Meierhofer. Advantages and pitfalls of mass spectrometry based metabolome profiling in systems biology[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2016, 17: 632.
- [2] Rachel Cavill, Danyel Jennen, Jos Kleinjans, *et al.* Transcriptomic and metabolomic data integration[J]. *Briefings in Bioinformatics*, 2015, 17(5): 891-901.
- [3] Heath A. MacMillan, Jose M. Knee, Alice B. Dennis, *et al.* Cold acclimation wholly reorganizes the *Drosophila melanogaster* transcriptome and metabolome[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6(1): 28999.
- [4] Guangtao Zhu, Shouchuang Wang, Zejun Huang, *et al.* Rewiring of the fruit metabolome in tomato breeding[J]. *Cell*, 2018, 172: 249-261.
- [5] Christoph A. Thaiss, Maayan Levy, Tal Korem, *et al.* Microbiota diurnal rhythmicity programs host transcriptome oscillations[J]. *Cell*, 2016, 167: 1495-1510.
- [6] Takashi Hirasawa, Masaki Saito, Katsunori Yoshikawa, *et al.* Integrated analysis of the transcriptome and metabolome of *Corynebacterium glutamicum* during penicillin-induced glutamic acid production[J]. *Biotechnology*, 2018, 13(5): e1700612.
- [7] Robin Mesnage, Martina Biserni, Sucharitha Balu, *et al.* Integrated transcriptomics and metabolomics reveal signatures of lipid metabolism dysregulation in HepaRG liver cells exposed to PCB 126[J]. *Molecular Toxicology*, 2018, 92(8): 2533-2547.
- [8] Xiaolong Kang, Andrew Liu, George E Liu. Application of multi-omics in single cells[J]. *Annals of Biotechnology*, 2018, 2: 1007.
- [9] Kimberly R. Kukurba, Stephen B. Montgomery. RNA Sequencing and Analysis[J]. *Cold Spring Harb Protocols*, 2015, (11): 1-20.
- [10] Robert D Hall. Plant metabolomics in a nutshell: potential and future challenges[J]. *Annual Plant Reviews*, 2011, 43: 1-24.
- [11] Alice Cambiaghi, Manuela Ferrario, Marco Masseroli. Analysis of metabolomic data: tools, current strategies and future challenges for omics data integration[J]. *Briefings in Bioinformatics*, 2017, 18(3): 498-510.
- [12] Sastia P. Putri, Yasumune Nakayama, Fumio Matsuda, *et al.* Current metabolomics: Practical applications[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2012, 115(6): 579-589.
- [13] Caroline De Almeida, Hélène Scheer, Hélène Zuber, *et al.* RNA uridylation: a key posttranscriptional modification shaping the coding and noncoding transcriptome[J]. *Wiley Interdisciplinary Reviews: RNA*, 2017, 9(1): e1440.
- [14] Yumin Zhu, Gang Xu, Yucheng T. Yang, *et al.* POSTAR2: deciphering the post-transcriptional regulatory logics[J]. *Nucleic Acids Research*, 2018, 47(1): 203-211.
- [15] Saurabh Chaudhary, Ibteham Jabre, Anireddy S.N. Reddy, *et al.* Perspective on alternative splicing and proteome complexity in plants[J]. *Trends in Plant Science*, 2019: 1-11.
- [16] Marco Antonio Valencia-Sanchez, Jidong Liu, Gregory J. Hannon, *et al.* Control of translation and mRNA degradation by miRNAs and siRNAs[J]. *Genes & Development*, 2006, 20(5): 515-524.
- [17] John W.S. Brown, Craig G. Simpson, Yamile Marquez, *et al.* Lost in translation: pitfalls in deciphering plant alternative splicing transcripts[J]. *The Plant Cell*, 2015, 27(8): 2083-2087.
- [18] Kwanuk Lee, Hunseung Kang. Emerging roles of RNA-binding proteins in plant growth, development, and stress responses[J]. *Molecules and Cells*, 2016, 39(3): 179-185.
- [19] N. Stuhrowoldt, A. Schaller. Regulation of plant peptide hormones and growth factors by post-translational modification[J]. *Plant Biology*, 2018, 21(suppl1): 49-63.
- [20] Cezary Waszczak, Salma Akter, Silke Jacques, *et al.* Oxidative post-translational modifications of cysteine residues in plant signal transduction[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2015, 66(10): 2923-2934.
- [21] Shouling Xu, Robert J. Chalkley, Jason C. Maynard, *et al.* Proteomic analysis reveals O-GlcNAc modification on proteins with key regulatory functions in *Arabidopsis*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2017, 114(8): 1536-1543.
- [22] Elad Noor, Sarah Cherkaoui, Uwe Sauer. Biological insights through omics data integration[J]. *Current Opinion in Systems Biology*, 2019: 1-9.

- [23] Amit Rai, Mami Yamazaki, Kazuki Saito. A New Era in Plant Functional Genomics[J]. *Current Opinion in Systems Biology*, 2019: 1-27.
- [24] Helin Tan, Jiahuan Zhang, Xiao Qi, *et al.* Correlation analysis of the transcriptome and metabolome reveals the regulatory network for lipid synthesis in developing *Brassica napus* embryos[J]. *Plant Molecular Biology*, 2018, 99(1-2): 31-44.
- [25] Huihui Guo, Haixia Guo, Li Zhang, *et al.* Metabolome and transcriptome association analysis reveals dynamic regulation of purine metabolism and flavonoid synthesis in transdifferentiation during somatic embryogenesis in cotton[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(9): 2070.
- [26] Qingshan Xu, Yaxian He, Xiaomei Yan, *et al.* Unraveling a crosstalk regulatory network of temporal aroma accumulation in tea plant (*Camellia sinensis*) leaves by integration of metabolomics and transcriptomics[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2018, 149: 81-94.
- [27] Qunfeng Zhang, Dandan Tang, Meiya Liu, *et al.* Integrated analyses of the transcriptome and metabolome of the leaves of albino tea cultivars reveal coordinated regulation of the carbon and nitrogen metabolism[J]. *Scientia Horticulturae*, 2017, 231: 272-281.
- [28] Yuanzheng Yue, Jiawei Liu, Tingting Shi, *et al.* Integrating transcriptomic and GC-MS metabolomic analysis to characterize color and aroma formation during tepal development in *lycoris longituba*[J]. *Plants*, 2019, 8(3): 53.
- [29] Yuanzheng Yue, Shaoze Tian, Yu Wang, *et al.* Transcriptomic and GC-MS metabolomic analyses reveal the sink strength changes during petunia anther development[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(4): 955.
- [30] Yoshihito Shinozaki, Philippe Nicolas, Noe Fernandez-Pozo, *et al.* High-resolution spatiotemporal transcriptome mapping of tomato fruit development and ripening[J]. *Nature Communications*, 2018, 9(1): 364.
- [31] Martine Lemaire-Chamley, Fabien Mounet, Catherine Deborde, *et al.* NMR-Based Tissue and Developmental Metabolomics of Tomato Fruit[J]. *Metabolites*, 2019, 9(5): 93.
- [32] Hexun Huang, Ting Yu, Junxing Li, *et al.* Characterization of cucurbita maxima fruit metabolomic profiling and transcriptome to reveal fruit quality and ripening gene expression patterns[J]. *Journal of Plant Biology*, 2019, 62(3): 203-216.
- [33] Qiong Lin, Chengyang Wang, Wencheng Dong, *et al.* Transcriptome and metabolome analyses of sugar and organic acid metabolism in Ponkan (*Citrus reticulata*) fruit during fruit maturation[J]. *Gene*, 2015, 554(1): 64-74.
- [34] Xiao Wu, Xinjie Shi, Mudan Bai, *et al.* Transcriptomic and GC-MS metabolomic profiling analysis of epidermis provides insights into cuticular wax regulation in developing ‘Yuluxiang’ pear fruit[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019: 1-57.
- [35] Ying Wang, Xinfu Zhang, Shaolan Yang, *et al.* Metabolite and transcriptome analyses indicate the involvement of lignin in programmed changes in peach fruit texture[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(48): 12627-12640.
- [36] Jugang Wang, Xiaomin Gao, Zhiling Ma, *et al.* Metabolomic and transcriptomic profiling of three types of litchi pericarps reveals that changes in the hormone balance constitute the molecular basis of the fruit cracking susceptibility of *Litchi chinensis* cv. Baitangying[J]. *Molecular Biology Reports*, 2019: 1-14.
- [37] Li Miao, Qinghua Di, Tianshu Sun, *et al.* Integrated metabolome and transcriptome analysis provide insights into the effects of grafting on fruit flavor of cucumber with different rootstocks[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(14): 3592.
- [38] Enrique Gutierrez, Ana Garcia-Villaraco, Jose A. Lucas, *et al.* Transcriptomics, targeted metabolomics and gene expression of blackberry leaves and fruits indicate flavonoid metabolic flux from leaf to red fruit[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 472.
- [39] Kyoungwon Cho, Kwang-Soo Cho, Hwang-Bae Sohn, *et al.* Network analysis of the metabolome and transcriptome reveals novel regulation of potato pigmentation[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2016, 67(5): 1519-1533.
- [40] Dylan O’Neill Rothenberg, Haijun Yang, Meiban Chen, *et al.* Metabolome and transcriptome sequencing analysis reveals anthocyanin metabolism in pink flowers of anthocyanin-rich tea (*Camellia sinensis*)[J]. *Molecules*, 2019, 24(6): 1064.
- [41] Huanhuan Zhu, Juxiang Yang, Chuhan Xiao, *et al.* Differences in flavonoid pathway metabolites and transcripts affect yellow petal colouration in the aquatic plant *Nelumbo nucifera*[J]. *BMC Plant Biology*, 2019, 19(1): 277.
- [42] Yukuo Li, Jinbao Fang, Xiujuan Qi, *et al.* Combined analysis of the fruit metabolome and transcriptome reveals candidate genes involved in flavonoid biosynthesis in *Actinidia arguta*[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(5): 1471.
- [43] Yanhong Shen, Feiying Yang, Bingguo Lu, *et al.* Exploring the differential mechanisms of carotenoid biosynthesis in the yellow peel and red flesh of papaya[J]. *BMC Genomics*, 2019, 20(1): 49.
- [44] Wenfa Zhang, Zehao Gong, Mengbo Wu, *et al.* Integrative comparative analyses of metabolite and transcript profiles uncovers complex regulatory network in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit undergoing chilling injury[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9: 4470.

- [45] Shuang Kou, Lin Chen, Wei Tu, *et al.* The arginine decarboxylase gene ADC1, associated to the putrescine pathway, plays an important role in potato cold-acclimated freezing tolerance as revealed by transcriptome and metabolome analyses[J]. *The Plant Journal*, 2018, 96(6): 1283-1298.
- [46] Peilu Zhou, Qiyao Li, Guangliang Liu, *et al.* Integrated analysis of transcriptomic and metabolomic data reveals critical metabolic pathways involved in polyphenol biosynthesis in *Nicotiana tabacum* under chilling stress[J]. *Functional Plant Biology*, 2018: 1-14.
- [47] Ding Huang, Yue Yuan, Zhouzhou Tang, *et al.* Retrotransposon promoter of Ruby1 controls both light- and cold-induced accumulation of anthocyanins in blood orange[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2019: 1-24.
- [48] Shixiong Ren, Kaibiao Ma, Zhaogeng Lu, *et al.* Transcriptomic and metabolomic analysis of the heat-stress response of *populus tomentosa* Carr.[J]. *Forests*, 2019, 10(5): 383.
- [49] Tingting Dong, Rongpeng Han, Jiawen Yu, *et al.* Anthocyanins accumulation and molecular analysis of correlated genes by metabolome and transcriptome in green and purple asparagus (*Asparagus Officinalis*, L.)[J]. *Food Chemistry*, 2018, 271: 18-28.
- [50] Fang Wang, Zhibin Xu, Xiaoli Fan, *et al.* Transcriptome analysis reveals complex molecular mechanisms underlying UV tolerance of wheat (*Triticum aestivum*, L.)[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 67(2): 563-577.
- [51] Xiao Zhang, Xiaoli Ding, Yaxi Ji, *et al.* Measurement of metabolite variations and analysis of related gene expression in Chinese liquorice (*Glycyrrhiza uralensis*) plants under UV-B irradiation[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 6144.
- [52] Jun You, Yujuan Zhang, Aili Liu, *et al.* Transcriptomic and metabolomic profiling of drought-tolerant and susceptible sesame genotypes in response to drought stress[J]. *BMC Plant Biology*, 2019, 19(1): 267.
- [53] Divya Rathi, Saurabh Gayali, Akanksha Pareek, *et al.* Transcriptome profiling illustrates expression signatures of dehydration tolerance in developing grasspea seedlings[J]. *Planta*, 2019, 250(3): 839-855.
- [54] Yujuan Zhang, Donghua Li, Rong Zhou, *et al.* Transcriptome and metabolome analyses of two contrasting sesame genotypes reveal the crucial biological pathways involved in rapid adaptive response to salt stress[J]. *BMC Plant Biology*, 2019, 19(1): 66.
- [55] Anna M. Locke, Gregory A. Barding Jr, Sumukh Sathnur, *et al.* Rice *SUB1A* constrains remodeling of the transcriptome and metabolome during submergence to facilitate post-submergence recovery[J]. *Plant, Cell and Environment*, 2017, 41(4): 721-736.
- [56] Jeewon Bang, Sooyeon Lim, Gibum Yi, *et al.* Integrated transcriptomic-metabolomic analysis reveals cellular responses of harvested strawberry fruit subjected to short-term exposure to high levels of carbon dioxide[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2019, 148: 120-131.
- [57] Stefano Brizzolara, Dubravka Cukrov, Massimo Mercadini, *et al.* Short-term responses of apple fruit to partial re-oxygenation during extreme hypoxic storage conditions[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019: 1-31.
- [58] Wei Xin, Lina Zhang, Wenzhong Zhang, *et al.* An integrated analysis of the rice transcriptome and metabolome reveals differential regulation of carbon and nitrogen metabolism in response to nitrogen availability[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(9): 2349.
- [59] Shinji Ishikawa, Yuki Ono, Norikuni Ohtake, *et al.* Transcriptome and metabolome analyses reveal that nitrate strongly promotes nitrogen and carbon metabolism in soybean roots, but tends to repress it in nodules[J]. *Plants*, 2018, 7(2): 32.
- [60] Hui Huang, Qiuyang Yao, Enhua Xia, *et al.* Metabolomics and transcriptomics analyses reveal nitrogen influences on the accumulation of flavonoids and amino acids in young shoots of tea plant (*Camellia sinensis* L.) associated with tea flavor[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(37): 9828-9838.
- [61] Yanliang Wang, Erik Lysøe, Tegan Armarego-Marriott, *et al.* Transcriptome and metabolome analysis provide insights into root and root released organic anion responses to phosphorus deficiency in oat[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2018, 69(15): 3759-3771.
- [62] Mostafa Abdelrahman, Magdi A. El-Sayed, Abeer Hashem, *et al.* Metabolomics and transcriptomics in legumes under phosphate deficiency in relation to nitrogen fixation by root nodules[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9: 922.
- [63] Xiaohui Mo, Mengke Zhang, Cuiyue Liang, *et al.* Integration of metabolome and transcriptome analyses highlights soybean roots responding to phosphorus deficiency by modulating phosphorylated metabolite processes [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2019, 139: 697-706.
- [64] Haifei Chen, Quan Zhang, Zhenhua Zhang. Comparative transcriptome combined with metabolomic and physiological analyses revealed ROS-mediated redox signaling affecting rice growth and cellular iron homeostasis under varying pH conditions[J]. *Plant and Soil*, 2019, 434(1-2): 343-361.
- [65] Tanya R. Copley, Konstantinos A. Aliferis, Daniel J. Kliebenstein, *et al.* An integrated RNAseq-1H NMR metabolomics approach

- to understand soybean primary metabolism regulation in response to *Rhizoctonia foliar blight* disease[J]. *BMC Plant Biology*, 2017, 17(1): 84.
- [66] Hongjun Yuan, Xingquan Zeng, Qiaofeng Yang, *et al.* Gene coexpression network analysis combined with metabolomics reveals the resistance responses to powdery mildew in Tibetan hullless barley[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8: 14928.
- [67] Yizhong He, Jingwen Han, Runsheng Liu, *et al.* Integrated transcriptomic and metabolomic analyses of a wax deficient citrus mutant exhibiting jasmonic acid-mediated defense against fungal pathogens[J]. *Horticulture Research*, 2018, 5(1): 43.
- [68] Sandery.A.Rodenburg, Michael F. Seidl, Howard S. Judelson, *et al.* Metabolic model of the phytophthora infestans-tomato interaction reveals metabolic switches during host colonization[J]. *mBio*, 2019, 10(4): 1-15.
- [69] Wenshu Kang, Xiaofeng Zhu, Yuanyuan Wang, *et al.* Transcriptomic and metabolomic analyses reveal that bacteria promote plant defense during infection of soybean cyst nematode in soybean[J]. *BMC Plant Biology*, 2018, 18(1): 86.
- [70] Polona Kogovsek, Marusa Pompe-Novak, Marko Petek, *et al.* Primary metabolism, phenylpropanoids and antioxidant pathways are regulated in potato as a response to potato virus Y infection[J]. *PLOS ONE*, 2016, 11(1): e0146135.
- [71] Dagan Sade, Oz Shriki, Alvaro Cuadros-Inostroza, *et al.* Comparative metabolomics and transcriptomics of plant response to Tomato yellow leaf curl virus infection in resistant and susceptible tomato cultivars[J]. *Metabolomics*, 2014, 11(1): 81-97.
- [72] Rocio Escobar-Bravo, Juan M. Alba, Clara Pons, *et al.* A jasmonate-inducible defense trait transferred from wild into cultivated tomato establishes increased whitefly resistance and reduced viral disease incidence[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7: 1732.
- [73] Xiaodan Zhao, Xinyu Yuan, Sha Chen, *et al.* Metabolomic and transcriptomic analyses reveal that a MADS-Box transcription factor TDR4 regulates tomato fruit quality[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2019, 10: 792.
- [74] Ashutosh Pandey, Prashant Misra, Dharmendra Choudhary, *et al.* *AtMYB12* expression in tomato leads to large scale differential modulation in transcriptome and flavonoid content in leaf and fruit tissues[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5(1): 12412.
- [75] Shiyu Ying, Min Su, Yu Wu, *et al.* Trichome regulator SIMX1 directly manipulates primary metabolism in tomato fruit[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2019: 1-36.
- [76] Kun Zhou, Lingyu Hu, Yangtiansu Li, *et al.* MdUGT88F1-mediated phloridzin biosynthesis regulates apple development and valsa canker resistance[J]. *Plant Physiology*, 2019, 180(4): 2290-2305.
- [77] Maor Battat, Asa Eitan, Ilana Rogachev, *et al.* A MYB triad controls primary and phenylpropanoid metabolites for pollen coat patterning[J]. *Plant Physiology*, 2019, 180(1): 87-108.
- [78] Mohammed Ali, Reem M. Hussain, Naveed Ur Rehman, *et al.* De novo transcriptome sequencing and metabolite profiling analyses reveal the complex metabolic genes involved in the terpenoid biosynthesis in Blue Anise Sage(*Salvia guaranitica* L.)[J]. *DNA Research*, 2018, 25(6): 597-617.
- [79] Guy Polturak, Uwe Heinig, Noam Grossman, *et al.* Transcriptome and metabolic profiling provides insights into betalain biosynthesis and evolution in *Mirabilis jalapa*[J]. *Molecular Plant*, 2018, 11(1): 189-204.
- [80] Hexin Tan, Xianghui Chen, Nan Liang, *et al.* Transcriptome analysis reveals novel enzymes for apo-carotenoid biosynthesis in saffron and allows construction of a pathway for crocetin synthesis in yeast[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2019: 1-15.
- [81] Jie Meng, Bo Wang, Guo He, *et al.* Metabolomics integrated with transcriptomics reveals redirection of the phenylpropanoids metabolic flux in ginkgo biloba[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67(11): 3284-3291.
- [82] Lei Zhang, Junfeng Chen, Xun Zhou, *et al.* Dynamic metabolic and transcriptomic profiling of methyl jasmonate-treated hairy roots reveals synthetic characters and regulators of lignan biosynthesis in *Isatis indigotica* Fort[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2016, 14(12): 1-11.
- [83] Romanas Chaleckis, Isabel Meister, Pei Zhang, *et al.* Challenges, progress and promises of metabolite annotation for LC-MS-based metabolomics[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2019, 55: 44-50.



# 通气渗灌提高玉米农艺性状及产量

于珍珍<sup>2</sup>, 李海亮<sup>1</sup>, 汪春<sup>1,2</sup>, 王宏轩<sup>2</sup>, 孙海天<sup>1</sup>

1.中国热带农业科学院南亚热带作物研究所循环农业研究中心, 湛江 524091; 2.黑龙江八一农垦大学农业机械化工重点实验室, 大庆 163319

**摘要** 为揭示通气渗灌技术对玉米农艺性状及产量的影响规律, 以青贮玉米(雅玉6号)为研究对象, 采用正交试验设计, 研究不同灌水量、施肥量及通气量对玉米农艺性状及产量的影响。结果表明: 对玉米农艺性状影响的大小顺序依次为灌水量、通气量和施肥量; 对玉米产量影响的大小顺序依次为灌水量、施肥量和通气量。与不通气处理相比, 土壤通气能够显著改善玉米农艺性状及产量, 在渗管带埋深 30cm 的条件下, 灌水量: 3600m<sup>3</sup>/hm<sup>2</sup>, 施肥量: 600kg/hm<sup>2</sup>, 通气量: 2000m<sup>3</sup>/hm<sup>2</sup>时, 玉米农艺性状及产量最佳。

**关键词** 通气; 渗灌; 农艺性状; 产量

**Abstract** In order to reveal the effects of ventilating irrigation technology on agronomic traits and yield of maize, silage corn (Yayu No.6) was used as research object, and orthogonal experiment design was used to study the different planting amount, fertilization amount and aeration volume on corn plant height and stem. The effect of coarseness and yield. The results showed that the order of the effects on agronomic traits was the amount of irrigation, aeration and fertilization. The order of impact on maize yield was irrigation amount, fertilization amount and aeration volume. Compared with non-ventilation treatment, soil aeration can significantly improve the agronomic traits and yield of maize. Under the condition of 30cm deep in the percolation zone, the irrigation amount is 3600m<sup>3</sup>/hm<sup>2</sup>, the fertilizer application amount is 600kg/hm<sup>2</sup>, and the ventilation volume is 2000m<sup>3</sup>/hm<sup>2</sup>. The agronomic traits and yield of corn are the best.

**Keywords** Ventilation; irrigation; agronomic traits; yield

## 引言

玉米是兼具粮、经、饲、能多元属性的重要战略资源<sup>[1]</sup>, 是我国第一大粮食作物、饲料作物及秸秆来源。玉米籽实 66%作为养殖业饲料, 玉米秸秆可用于加工饲料、肥料、燃料、材料及基料<sup>[2][3]</sup>。中国玉米常年种植面积达到 2700 万公顷左右, 其栽培面积和总产量均居世界第 2 位。集中分布在我国东北、华北及西南地区。东北、华北北部有春玉米, 长江流域有秋玉米, 在广东及海南可以播种冬玉米, 因而广东和海南成为我国重要的玉米南繁基地。

渗灌是近几年来最受关注的节水灌溉技术之一, 是当今世界上最先进的农业节水灌溉技术之一<sup>[4]</sup>。渗灌技术是将毛管埋设在地面以下, 能够减少土壤表层水分的无效蒸发, 更为节水<sup>[5]</sup>。但由于渗灌灌水频率较高, 滴头附近土壤经常因灌水形成持续的饱和湿润区, 土壤气体就会被“挤”出该部分土体, 不但使该部分土体的空气含量过低, 而且不利于土壤气体与大气交换, 造成通气不良, 从而抑制作物根系呼吸, 导致作物根系主动吸水困难<sup>[6]</sup>; 当土壤水分过低时, 虽然土壤中的氧气含量较高、土壤通气性较好, 但由于土壤水势变低, 仍会造成作物根系吸水困难。近年来, 由于过度灌溉、化肥施用不当造成土壤板结等会造成作物根系呼吸困难。还有一些自然因素, 如土壤质地为黏土、地下水位过高导致土壤中气体含量低, 不利于作物根系呼吸。因此, 只有土壤孔隙中的气、液两相协调时, 才有利于作物根系吸水, 形成最有利于作物生长的土壤环境<sup>[7]</sup>。

目前, 一些科研学者已经初步探明通气灌溉能够改善土壤中氧气含量较低的问题, 有利于作物根系进行呼吸。然而目前通气灌溉对玉米生长的研究还不够深入, 缺乏系统性分析及相应的技术参数研究。本研究借助自主研发的通气渗灌系统, 以灌水量、施肥量、通气量为影响因素, 以玉米农艺性状及产量为评价指标开展玉米通气灌溉田间试验, 以期得出最佳的水、肥、气耦合参数, 为玉米增产、优质提供相应的理论依据及技术指导。

## 1 材料与方

### 1.1 试验地概况

试验在南亚热带作物研究所循环农业试验基地进行, 试验区位于东经 109° 31', 北纬 21° 35', 地处低纬地带, 地处雷州半岛, 属于亚热带海洋性季风气候, 夏季高温多雨, 冬季温暖湿润。年均日照时数 2160h, 无霜期 350d, 多年平均气温 23.2℃, 年降雨量为 1700-1800mm。土壤理化性状见表 1。

表 1 试验用土的主要理化性状

Table 1 Main physical and chemical properties of soil for test

| 干容重<br>(g·cm <sup>-3</sup> ) | 田间持水量<br>(%) | 凋萎含水量<br>(g·kg <sup>-1</sup> ) | 全氮含量<br>(g·kg <sup>-1</sup> ) | 有机质含量<br>(g·kg <sup>-1</sup> ) | 有效磷含量<br>(mg/kg) |
|------------------------------|--------------|--------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|------------------|
| 1.20                         | 32%          | 2.3                            | 1.2                           | 20                             | 1.2              |

通讯作者: 汪春(1963-), 男, 黑龙江延寿人, 教授, 主要从事循环农业方面研究, Email:wangchun163.com。

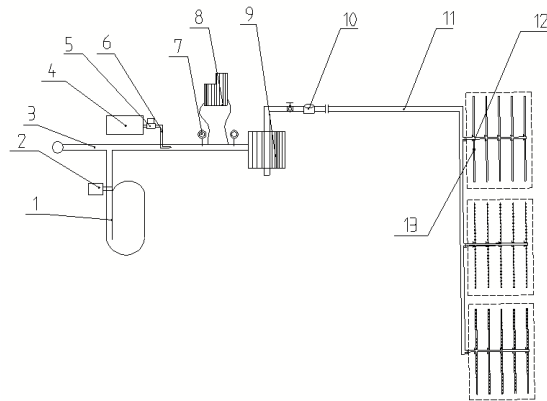
## 1.2 试验方法

播种前需要预埋渗灌管道，经验可知玉米根系集中分布在地下 20cm~40cm 范围内。渗灌管埋深 < 30cm 时，供气位置处于作物根区之上，气体散逸严重，土壤实际获取氧气不足，通气效率低。且地表内土壤气体与大气气体交换相对充足，所以该范围内通气效益并不显著。而渗灌管埋深 > 30cm 时，有效区位于作物主根区之下，虽然供气的气体上行，一定程度上能够改善土壤的通气性，但是效果不如埋深 30cm 效果好。因此最终确定渗灌管埋深 30cm，间距 60cm。试验用渗灌管内径为 16mm，壁厚 0.18mm，滴头流量 2.8L/h。试验供试品种为“雅玉 6 号”，3 月 29 日进行穴钵播种，收获时间为 7 月 20 日，玉米整个生育周期共 120d。

根据玉米品种和密度要求确定株距。每个试验小组长 10 米，宽 1.2 米。组间间隔 1m，避免相互影响。所有试验小组田间管理措施均一致。在肥料选择上，选择水溶性复混肥<sup>[8]</sup>。全生育期灌水 9 次，灌水后通气。液肥分 12 次施入土壤。试验地周围设保护行。

## 1.3 通气渗灌系统

水、肥的施入通过自主研发的通气渗灌系统实现，系统主要由灌水部分、施肥部分及通气部分构成，如图 1 所示。渗灌管干管与水泵、气泵相连，借助渗灌管为作物根部供水、供肥、供气。设备结构示意图如图 1 所示。供水设备包括恒压供水泵，气泵是主要的通气设备，气泵产生的气体通过供水管进入田间渗灌管，由于渗灌管是埋入土壤中，气体直接通入土壤<sup>[9]</sup>，缓解作物根部缺氧问题，促进作物根系对水肥的吸收利用率及健康生长，提高作物产量。施肥系统包括施肥罐和搅拌机，施肥罐为压差式施肥罐，可以将液体肥料随灌溉水同时进入田间渗灌管，直接将水分与养分输送到作物根部，促进根系对养分的吸收，相比于普通施肥方式，可以避免化肥在表土流失，造成环境污染以及过量施肥和灌溉带来的土壤板结问题。



1.蓄水池 2.恒压供水泵 3.供水管 4.气泵 5.增压泵 6.出风管 7.流量表 8.施肥系统  
9.过滤系统 10.逆止阀 11.干管 12.阀门 13.渗灌管

图 1 通气渗灌系统结构示意图

Fig 1 Schematic diagram of ventilation and irrigation system

## 1.4 试验设计

选取灌水量、施肥量和通气量为影响因素，以玉米株高、茎粗、产量为评价指标进行试验研究，通过单因素确定各影响因素最优解的存在范围，在此基础上进行正交试验。利用 Design Expert 数据分析软件对所得的试验结果进行回归分析，建立回归方程，并对回归方程进行拟合度和显著性检验，建立通气渗灌技术与玉米生长的回归模型，基于响应面分析法分析各因素及交互作用对玉米生长的影响规律，最后通过优化模块确定最佳工艺参数。

每次通气量是以土壤孔隙率的 100%标准通气量，标准通气量计算公式为：

$$V = 1/1000SL(1 - \rho_b / \rho_s)$$

式中：

$V$ —每次通气量， $L$ ；

$S$ —土地面积， $m^2$ ；

$L$ —渗灌管埋深，30cm；

$\rho_b$ —土壤容重， $1.34g/cm^3$ ；

$\rho_s$ —土壤密度， $2.65g/cm^3$ 。

据此得出标准通气量为  $1000m^3/hm^2$ ，按照气泵功率、气流量及出气量换算为相应的通气时间，以通气时间表征通气量。

采用二次正交旋转组合设计试验方案，研究各影响因素之间的交互作用对玉米农艺性状及产量的影响规律。因素水平编码表如表 2 所示。

表 2 因素水平编码表  
Table 2 Coding with factors and levels

| 水平   | 编码值    | 自变量                      |                         |                          |
|------|--------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|
|      |        | 灌水量 $X_1$ ( $m^3/hm^2$ ) | 施肥量 $X_2$ ( $kg/hm^2$ ) | 通气量 $X_3$ ( $m^3/hm^2$ ) |
| 上星号臂 | +1.682 | 3900                     | 750                     | 3000                     |
| 上水平  | +1     | 3750                     | 700                     | 2500                     |
| 零水平  | 0      | 3600                     | 650                     | 2000                     |
| 下水平  | -1     | 3450                     | 600                     | 1500                     |
| 下星号臂 | -1.682 | 3300                     | 550                     | 1000                     |

### 1.5 测定指标与方法

玉米成熟后，每组试验选取有代表性的 10 株玉米进行测量。用卷尺测定株高，从地面垂直测得植株最高值最为株高，测量结果取平均值；玉米成熟后，用游标卡尺测定玉米基部第二与第三节间中部直径为玉米茎粗；利用电子秤对每组试验的玉米总产量进行测量，作为该组试验的玉米产量。

### 1.6 数据处理

本项目采用正交试验，将所得数据进行记录、整理、分析，建立数学模型，运用 Design Expert 进行数据分析、显著性检验及极差分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 回归模型的建立与显著性分析

玉米通气渗灌试验方案与试验结果如表 3 所示。

表 3 试验方案和结果  
Table. 3 Protocols and results

| 序号 | 试验因素          |               |               | 评价指标             |                  |                  |
|----|---------------|---------------|---------------|------------------|------------------|------------------|
|    | 灌水量 ( $X_1$ ) | 施肥量 ( $X_2$ ) | 通气量 ( $X_3$ ) | 株高 ( $Y_1$ ) /cm | 茎粗 ( $Y_2$ ) /cm | 产量 ( $Y_3$ ) /kg |
| 1  | 1             | 1             | 1             | 295.1            | 2.24             | 3.05             |
| 2  | 1             | 1             | -1            | 315.7            | 2.9              | 4.19             |
| 3  | 1             | -1            | 1             | 305.4            | 2.49             | 3.43             |
| 4  | 1             | -1            | -1            | 306.1            | 2.63             | 3.62             |
| 5  | -1            | 1             | 1             | 310.6            | 2.76             | 4.5              |
| 6  | -1            | 1             | -1            | 316.6            | 3.38             | 4.18             |
| 7  | -1            | -1            | 1             | 307.1            | 2.63             | 3.91             |
| 8  | -1            | -1            | -1            | 298.5            | 2.37             | 3.43             |
| 9  | 1.682         | 0             | 0             | 293              | 2.27             | 3.62             |
| 10 | -1.682        | 0             | 0             | 312.6            | 2.76             | 4.12             |
| 11 | 0             | 1.682         | 0             | 311.3            | 2.9              | 4.19             |
| 12 | 0             | -1.682        | 0             | 305.8            | 2.49             | 3.43             |
| 13 | 0             | 0             | 1.682         | 299.6            | 2.37             | 3.62             |
| 14 | 0             | 0             | -1.682        | 316.6            | 3.15             | 4.38             |
| 15 | 0             | 0             | 0             | 320              | 3.15             | 4.76             |
| 16 | 0             | 0             | 0             | 320              | 3.3              | 4.57             |

|    |   |   |   |       |      |      |
|----|---|---|---|-------|------|------|
| 17 | 0 | 0 | 0 | 315.8 | 3.15 | 4.38 |
| 18 | 0 | 0 | 0 | 320   | 3.15 | 4.57 |
| 19 | 0 | 0 | 0 | 316.8 | 3.15 | 4.57 |
| 20 | 0 | 0 | 0 | 320   | 3.14 | 4.57 |
| 21 | 0 | 0 | 0 | 320   | 3.32 | 4.96 |
| 22 | 0 | 0 | 0 | 313   | 3.15 | 4.76 |
| 23 | 0 | 0 | 0 | 319   | 3.28 | 4.76 |

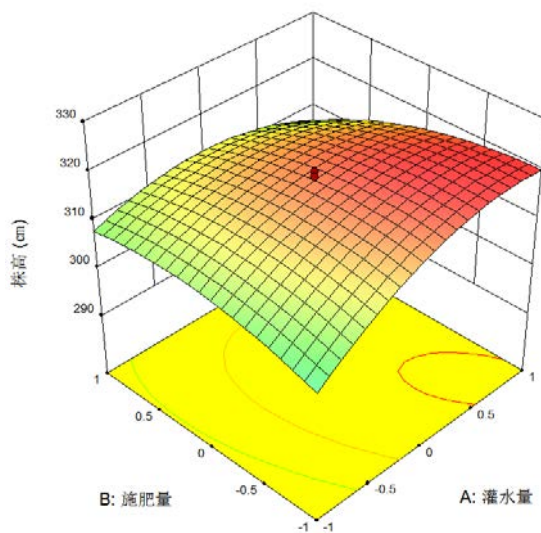
针对所得的样本数据，通过 Design-Expert 数据分析软件对其进行多元回归拟合分析，建立  $Y_1$ 、 $Y_2$ 、 $Y_3$ 、对自变量的二次多项式回归模型，如下式所示。

$$\begin{cases} Y_1 = 318.26 + 3.78X_1 - 2.21X_2 + 2.86X_3 - 4.31X_1X_2 - 2.99X_1X_3 - 2.79X_2X_3 - 5.24X_1^2 - 3.21X_2^2 - 3.37X_3^2 \\ Y_2 = 3.2 + 0.15X_1 - 0.14X_2 + 0.16X_3 - 0.18X_1X_2 - 0.055X_1X_3 - 0.14X_2X_3 - 0.23X_1^2 - 0.17X_2^2 - 0.14X_3^2 \\ Y_3 = 4.66 + 0.1X_1 - 0.21X_2 + 0.22X_3 - 0.14X_1X_2 - 0.27X_1X_3 - 0.14X_2X_3 - 0.29X_1^2 - 0.31X_2^2 - 0.24X_3^2 \end{cases} \quad 2.2 \text{ 不同试验因}$$

素对玉米株高的影响

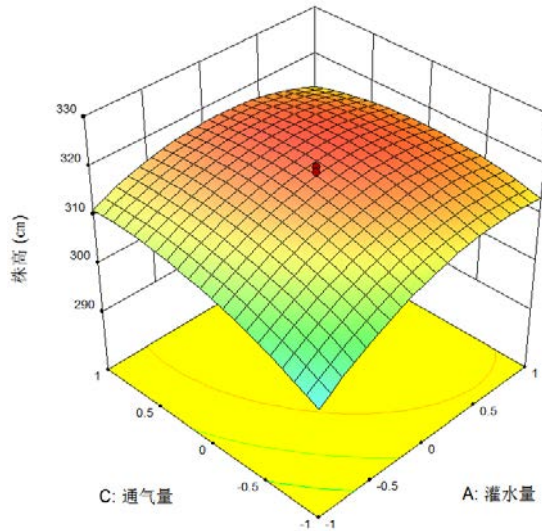
在通气量为  $2000\text{m}^3/\text{hm}^2$  时，灌水量与施肥量对玉米株高影响的交互作用如图 2 (a) 所示。由图可以看出，当灌水量大于  $3600\text{m}^3/\text{hm}^2$  时，玉米株高达到最大值，因为增加灌水量可以增加玉米的新陈代谢能力，有利于促进玉米的生长发育。当灌水量低于  $3600\text{m}^3/\text{hm}^2$  时，随着施肥量的增加，玉米株高先增加后趋于稳定。说明增加施肥量可以在一定范围内可以提高土壤养分，从而促进了玉米的生长，但是施肥量过高不利于玉米的生长，此时即使增加灌水量对促进玉米的生长影响也较低<sup>[10][11]</sup>。

在施肥量为  $650\text{kg}/\text{hm}^3$  时，灌水量与通气量对玉米株高影响的交互作用如图 2 (b) 所示。玉米株高随着通气量的增大呈先增大后减小的趋势。当灌水量超过  $3660\text{m}^3/\text{hm}^2$  时，造成土壤缺氧状态，抑制了玉米的生长，适当通气可以缓解缺氧状态，促进玉米健康生长。当灌水量小于  $3600\text{m}^3/\text{hm}^2$  时，随着灌水量的增加，玉米株高急剧增加，此时提高土壤通气量可以快速促进玉米株高的生长，这是由于低水灌溉处理时适当进行通气处理可以补偿缺水对玉米生长造成的胁迫作用，但是随着通气量的逐渐增加，玉米株高趋于稳定，是由于土壤孔隙度不变的情况下，水分所占比例不变，过多的通气量会从土壤中逸出，所以随着通气量的增加玉米株高先增加后趋于稳定。虽然适宜的溶解氧有利于改善土壤的通气性<sup>[12][13]</sup>，但是过大的溶解氧不利于作物进行蒸腾作用。因此，为了实现较高的玉米株高，可以采用高灌水与适当通气处理，也可以在缺水条件下采用低水灌溉与高通气量处理可保证玉米地上部分的产量，实现节水与水分高效利用的目标<sup>[14][15][16]</sup>。



(a) 灌水量和施肥量对玉米株高的影响

(a) Effects of irrigation amount and fertilization amount on maize plant height



(b) 灌水量与通气量对玉米株高的影响

(b) Effects of irrigation volume and aeration on maize plant height

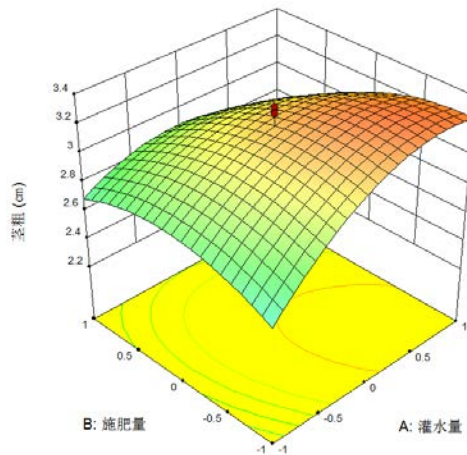
图 2 不同试验因素对玉米株高的交互作用影响

Fig 2 Effects of interactive factors on Corn plant height

### 2.3 不同试验因素对玉米茎粗的影响

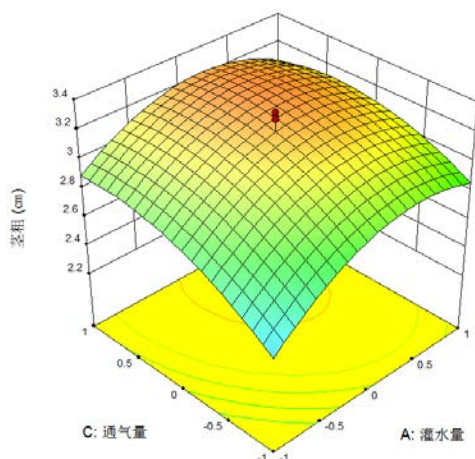
在通气量为  $2000\text{m}^3/\text{hm}^2$  时，灌水量和施肥量对玉米茎粗的交互作用如图 3 (a) 所示。当灌水量高于  $3660\text{m}^3/\text{hm}^2$  时，继续增加施肥量，玉米茎粗变化不大；而当灌水量小于  $3600\text{m}^3/\text{hm}^2$  时，玉米茎粗随施肥量的变化显著。这是由于施肥量的提高增加了玉米生长过程中的营养物质，玉米茎除了担负水分和养分的运输外，茎也是贮藏养分的器官所以施肥量的增加可以促进玉米茎粗的生长。一般玉米茎秆越粗壮，玉米抗倒伏能力越强，其贮藏、输送水肥的能力越强<sup>[17]</sup>，会把更多的养分运输到玉米籽粒中，茎秆敦实，可以防止倒伏。当灌水量不变的情况下，玉米茎粗随着施肥量的增加整体呈现出先增加后稳定的趋势。

在施肥量为  $650\text{kg}/\text{hm}^2$ ，灌水量和通气量对玉米茎粗影响的交互作用如图 3 (b) 所示。由图可以看出，通气量对玉米茎粗影响较大，随着灌水量和通气量的增加，玉米茎粗先增加后减小。原因是通气能够增加玉米茎秆输导、贮藏水肥的能力，提高了玉米茎粗。但是通气量过高会使氧气充盈，二氧化碳浓度降低。二氧化碳是作物进行光合作用的原料，氧气浓度过高抑制了作物光合作用<sup>[18]</sup>，对玉米生长起到了一定的抑制作用，因而降低了玉米茎粗。同时，过多的氧气也增加了生产成本，因此应选定合适的通气量，由图可知，通气量在  $1500\sim 2500\text{m}^3/\text{hm}^2$  范围较适宜。在灌水量  $3450\sim 3750\text{m}^3/\text{hm}^2$ ，通气量为  $1500\sim 2500\text{m}^3/\text{hm}^2$  的范围内，玉米茎粗显著提高，由此可知，二者交互作用显著，选择合适的灌水量和通气量对于提高玉米茎粗具有积极的作用。



(a) 灌水量和施肥量对玉米茎粗的影响

(a) Effects of irrigation amount and fertilization amount on corn stem diameter



(b) 灌水量和通气量对玉米茎粗的影响

(b) Effects of irrigation amount and aeration on corn stem diameter

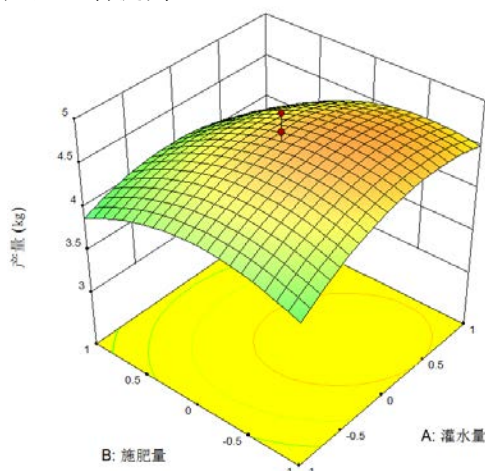
图 3 不同试验因素对玉米茎粗的交互作用影响

Fig 3 Effects of interactive factors on Corn stem thick

## 2.4 不同试验因素对玉米产量的影响

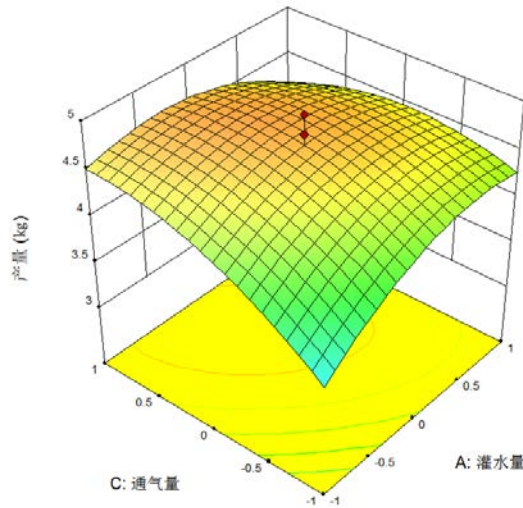
在通气量为  $2000\text{m}^3/\text{hm}^2$  时，灌水量与施肥量对玉米产量影响的交互作用如图 4 (a) 所示。在灌水量一定的情况下，玉米产量随着施肥量的增加整体呈现出先增加后降低的变化趋势。这是由于施肥量的增加可以为玉米生长提供更多的养分，玉米茎会把更多的养分运输到玉米籽粒中，有利于促进玉米干物质积累。当施肥量高于  $700\text{kg}/\text{hm}^2$  时，过高的施肥量往往会导致使根细胞失水，引起质壁分离，不利于玉米对土壤中养分的吸收，所以会降低玉米产量。施肥量过低会导致玉米授粉不完全，果穗籽粒行列歪曲，形成畸形果穗，生长受到抑制<sup>[19][20]</sup>。灌水量过高也会导致玉米产量降低，对玉米生长产生抑制作用。在施肥量一定的情况下，随着灌水量的增加，玉米产量提高。所以在实际生产中，如果不考虑施肥的情况下，可以适当增加玉米灌水量来提高玉米产量，说明灌水量对产量的影响大于施肥量。

在施肥量为  $650\text{kg}/\text{hm}^2$  时，灌水量和通气量对玉米产量的交互作用如图 4 (b) 所示，玉米产量随灌水量与通气量的增加呈现出先增加后趋于稳定的变化趋势。这是由于随着灌水量的增加，玉米产量逐渐增加，后期灌水量过大时并没有降低玉米产量，其原因可能是由于通气量增加了土壤中的氧气含量，缓解了玉米缺氧状态，在玉米生长过程中有利于玉米对水分和养分的吸收，使得玉米籽粒饱满充实，起到了提高玉米产量的效果，可以促进玉米健康生长。在灌水量一定的情况下，随着通气量的增加，玉米产量先增加后减小，通气量为  $2000\text{m}^3/\text{hm}^2$  玉米产量最高。通气量过高时，土壤中氧气含量可能超过玉米生产的需要，无法进一步促进玉米的生长。在通气量一定的情况下，玉米产量随着灌水量的增加先增加后有降低趋势。这是由于在玉米生长过程中，土壤水分是影响玉米生长发育的重要因子，是玉米生存的必要条件。土壤水分含量不仅影响作物从土壤中吸收水分和养分，同时还影响到土壤空气含量、根的呼吸、土壤呼吸及土壤微生物活性<sup>[21]</sup>，所以在玉米最佳含水量范围内，土壤水分含量越多，越有益于作物的生长。由此可知，二者交互作用显著，选择合适的灌水量和通气量对于提高玉米产量具有积极的作用，在灌水量为  $3450\sim 3750\text{m}^3/\text{hm}^2$ 、通气量为  $1500\sim 2500\text{m}^3/\text{hm}^2$  的范围内，玉米产量显著提高。



(a) 灌水量和施肥量对玉米产量的影响

(a) Effect of irrigation amount and fertilization amount on corn yield



(b) 灌水量和通气量对玉米产量的影响

(b) Effect of irrigation volume and aeration on corn yield

图4 不同试验因素对玉米产量的交互作用影响

Fig 4 Effects of interactive factors on Corn production

## 2.5 参数优化及验证试验

为获得玉米生长的最佳工艺参数,利用 Design-Expert 软件的优化模块对文中的回归模型进行有约束目标优化求解。株高  $Y_1$  和茎粗  $Y_2$  越高,代表玉米吸收、运输养分能力越好,但是玉米株高  $Y_1$  越高,容易受到外界环境的侵袭而造成倒伏,玉米茎粗  $Y_2$  过于粗壮,会将营养都被茎所吸收,不利于玉米籽粒的生长,而且玉米茎过粗,会造成细胞壁过薄,玉米植株容易受到病毒侵害和机械性损伤。不利于玉米的生长发育,经过前期试验可知,玉米株高在 250~330cm、茎粗在 2~4cm 时能够满足玉米生长农艺要求,因此要求  $Y_1$  在 250~330、 $Y_2$  在 2~4cm 区间内。产量  $Y_3$  越高生产效率越高,有利于玉米对土壤中水分、养分的吸收及提高玉米的抗倒伏能力。最终确定目标函数式如下。

$$\text{目标函数 } F = \begin{cases} 250 \leq Y_1(x_1, x_2, x_3) \leq 330 \\ 2.5 \leq Y_2(x_1, x_2, x_3) \leq 5 \\ \max Y_3(x_1, x_2, x_3) \end{cases}$$

通过分析得到优化结果为灌水量:  $3600\text{m}^3/\text{hm}^2$ , 施肥量:  $600\text{kg}/\text{hm}^2$ , 通气量:  $2000\text{m}^3/\text{hm}^2$ , 此时理论玉米株高为 318.8cm, 茎粗为 3.25cm, 产量为 4.74kg, 满足玉米种植农艺要求。

为了验证优化结果和实际生产结果的可靠性,采用模型优化的最优工艺参数进行验证试验,测量相应参数取均值后记录于表 4 中。由表可知,株高、茎粗、产量实测值和预测值的相对误差依次为 2%, 3.9%, 1.8%, 实测结果和预测结果相对误差较小,模型拟合度较好,说明本研究建立的水肥气热一体化技术回归方程是可靠的,可以通过回归方程对试验结果进行准确的预测。

表 4 验证试验结果

Table 4 Experiment data for test validation

| 参数     | 株高/cm | 茎粗/cm | 产量/kg |
|--------|-------|-------|-------|
| 预测值    | 318.8 | 3.28  | 4.74  |
| 实测平均值  | 317.9 | 3.15  | 4.70  |
| 对照组    | 309.5 | 3.00  | 4.21  |
| 相对误差/% | 2     | 3.9   | 1.8   |

## 3 结论

作物产量及品质主要受自身品种及外界环境影响。外界环境主要包括大气环境及土壤环境。大气环境无法进行人为调整及控制。土壤环境主要影响作物根系呼吸、营养物质的转化及土壤微生物活性等。土壤气体对作物的作用于土壤水分、养分同等重要。气体含量过低,会造成作物根系低氧胁迫,抑制作物呼吸作用,影响作物养分的运输,从而影响作物的产量及品质。

本研究结果表明,通气灌对玉米株高、茎粗、产量都有一定的提升作用。但是随着通气量的逐渐升高,玉米产量有下降趋势,这是由于氧气充盈,好氧型微生物占据主导,导致土壤有机质分解过快,会严重抑制厌氧型微生物的活动,进而影响了玉米产量的提高。施肥量可以在一定范围内可以提高土壤养分,从而促

进了玉米的生长,但是施肥量过高不利于玉米的生长,此时即使增加灌水量、通气量对促进玉米的生长影响较低。灌水量对玉米生长影响较大,随着玉米灌水量的增加,玉米株高、茎粗及产量呈现出先增加后降低的趋势,当灌水量较低时,此时提高土壤通气量可以快速促进玉米株高的生长,这是由于低水灌溉处理时适当进行通气处理可以补偿缺水对玉米生长造成的胁迫作用。因此,为了实现较高的玉米株高,可以采用高灌水与适当的通气处理,也可以在缺水条件下采用低水灌溉与高通气量处理可保证玉米地上部分的产量,实现节水与水分高效利用的目标。

#### 参考文献

- [1]Aon M A, Cabello M N, Sarena D E, et al. 2001. Spatiotemporal patterns of soil microbial and enzymatic activities in an agricultural soil. *Applied Soil Ecology*, 18: 239-254.
- [2]Arteca R N, Poovaiah B W, Smith O E. 1979. Changes in Carbon Fixation, tuberization, and growth induced by CO<sub>2</sub> application to the root zone of potato plant. *Science*, 205 (4412): 1279-1280.
- [3]Bandick A K, Dick R P. 1999. Field management effects on soil enzyme activities. *Soil Biol . Biochem*, 31: 1471-147.
- [4]王淑红, 张玉龙, 虞娜, 颜文. 渗灌技术的发展概况及其在保护地中应用[J]. *农业工程学报*, 2005(S1):92-95.
- [5]Nakano Y. 2007. Response of tomato root systems to environmental stress under soilless culture. *Japan Agricultural Research Quarterly*, 41: 7-15.
- [6]汪天, 王素平, 郭世荣, 孙艳军. 植物低氧胁迫伤害与适应机理的研究进展[J]. *西北植物学报*, 2006 (04): 847-853.
- [7]朱艳, 蔡焕杰, 宋利兵, 陈慧. 加气灌溉改善温室番茄根区土壤通气性[J]. *农业工程学报*, 2017,33 (21): 163-172.
- [8]黄燕, 汪春, 衣淑娟. 液体肥料的应用现状与发展前景[J]. *农机化研究*, 2006 (02): 198-200.
- [9]雷宏军, 胡世国, 潘红卫. 土壤通气性与加氧灌溉研究进展[J]. *土壤学报*, 2017,54 (02): 297-308.
- [10]赵亚丽, 薛志伟, 郭海滨. 耕作方式与秸秆还田对土壤呼吸的影响及机理[J]. *农业工程学报*, 2014,30 (19): 155-165.
- [11]He JIN, Li HONGWEN, Wang XIAOYAN, et al. The Adoption of Annual Subsoiling as Conservation Tillage in Dryland Maize and Wheat Cultivation in Northern China[J]. *Soil & Tillage Research*, 2006, 94(2): 493-502.
- [12]张瑞弯. 膜下滴灌黄瓜水肥气热耦合模型研究[D]. 宁夏大学, 2017.
- [13]南茜. 不同微灌加气设备运行效果试验研究[D]. 中国农业科学院, 2018.
- [14]邓慧玲. 水肥气热耦合对非耕地温室甜瓜生长、产量和品质影响研究[D]. 宁夏大学, 2018.
- [15]郭超. 根际通气灌水对玉米生长影响的试验研究[D]. 西北农林科技大学, 2011.
- [16]王树立, 杨秀宝. 玉米种植新技术与应用实践[J]. *吉林农业*, 2019(05):39.
- [17]曹占胜. 玉米种植技术要点[J]. *吉林农业*, 2019(05):40.
- [18]田宇豪, 陈文康, 卢波斯, 马硕, 沈宏. 广东地区甜玉米有机种植标准化技术规程[J]. *现代农业科技*, 2019(03):15+21.
- [19]凌淦昌. 广东优质糯玉米高产种植技术[J]. *农业工程技术*, 2018,38(20):53+59.
- [20]华南植物园森林土壤温室气体通量调控机制研究获进展[J]. *中国科学院院刊*, 2013,28(06):797.
- [21]臧明, 雷宏军, 潘红卫, 刘欢, 徐建新. 增氧地下滴灌改善土壤通气性促进番茄生长[J]. *农业工程学报*, 2018,34(23):109-118.



# Evaluation of the 1981 IRRDB *Hevea* Germplasm in China

HU Yanshi\*, ZENG Xia, AN Zewei, CHENG Han, FANG Jialin, HUANG Huasun  
Rubber Research Institute, CATAS, China, Key Laboratory of Biology and Genetic Resources of Rubber Tree,  
Ministry of Agriculture and Rural Affairs, P. R. China

**Abstract** An analysis was made to evaluate the performance of latex yield and girth of the 1981 IRRDB *Hevea* germplasm with RRIM600 as control. The results showed that all the Amazon wild germplasm of *Hevea brasiliensis* yielded lower than that of the control clone, RRIM600, except 2 genotypes which yielded higher than the control, with a respective average dry rubber yield of 35.31g/t and 34.10g/t, 110.14% and 106.36% higher than RRIM600 (32.06g/t), respectively. Meanwhile, there were 140 genotypes which excelled the control in growth, of which 7 genotypes had a mean girth of 90.50 cm, which was 124.97% of that of the control. This evaluation provides valuable information for breeding and molecular study in the future.

**Keywords** *Hevea brasiliensis*; 1981 IRRDB *Hevea* germplasm; evaluation

## Introduction

*Hevea brasiliensis* Muell. Arg planted in the world is the main source for natural rubber production, and it originated in the Amazon rain forest of South America. Most rubber breeding materials used in Asia are believed to have come from 22 seedlings surviving from Sir Henry Wickham's original collection. For years of natural and artificial selection, a few high yield clones were bred and selected to replace the seedlings, and their dry rubber yields were highly improved, but their genetic base is very narrow due to the directive breeding and inbreeding of these clones for a long term. To broaden the genetic base of *Hevea*, an expedition of the International Rubber Research and Development Board (IRRDB) in cooperation of the Brazilian Government was conducted in 1981. China, as a member of IRRDB, also introduced 8000 wild rubber genotypes and finally 6000 survived, based on which a national repository of rubber tree germplasm was established.

In 2007 about 2004 wild *Hevea* accessions were planted in the field germplasm pool with the clone RRIM 600 as the control at the CATAS Experiment Farm and were evaluated since. The recent evaluation of 1981 IRRDB *Hevea* germplasm was presented in terms of rubber yield and girth in this paper.

## Materials and Methods

About 2004 wild *Hevea* accessions were planted in the field germplasm pool in 2007 with the clone RRIM 600 as the control at the CATAS Experiment Farm, and each accession was designed to have five plants at a spacing of 3 x 6m. Some of the accessions were opened for tapping in 2016 and all accessions opened in 2018. Due to the low temperature, typhoon and expressway land expropriation, 69 accessions lost, and there are 1935 accessions available for analysis.

## Measurement of girth

The girth (G) was measured at 100cm above the ground at the end of each year.

## Latex Yield

1/2S d/3 tapping system was used without ethephon stimulation. The latex rubber yield was measured 3 times a month, and dry rubber yield was also determined.

## Dry Rubber Content ( DRC )

Dry rubber content (DRC) was determined every month.

## Results

### Girth

Generally, most of the germplasm materials in the field germplasm pool showed poor growth vigour compared with the control. Among the states, Rondonia accessions had the highest mean girth, followed by Mato Grosso, other districts and Acre, and their mean girth was 60.43 cm, 59.22 cm 58.40cm and 57.7 cm, respectively. The control plants had a mean girth of 72.42cm (Table 1).

**Table 1. The girth performance of the IRRDB 1981 *Hevea* germplasm**

| State/District  | No. of genotypes | Mean Girth (cm) |             | Mean Girth Increment (cm/yr) |
|-----------------|------------------|-----------------|-------------|------------------------------|
|                 |                  | 2017            | 2018        |                              |
| Acre            | 580              | 54.55±7.74      | 57.70±8.31  | 3.15                         |
| Mato Grosso     | 334              | 55.69±8.56      | 59.22±9.25  | 3.53                         |
| Rondonia        | 1002             | 57.00±8.13      | 60.43±8.70  | 3.43                         |
| Other districts | 19               | 55.47±10.69     | 58.40±10.79 | 2.93                         |
| Total           | 1935             |                 |             |                              |

\* HU Yanshi, Associate professor, *Hevea* germplasm resource and breeding division.  
To whom correspondence should be addressed. Email: mfcjason@tom.com

Meanwhile there were 140 genotypes surpassing the control and 7 individual genotypes with girth more than 120% of the control, with the highest girth being 93.80 cm at the end of 2018 (Table 2).

**Table 2. The girth performance of the selected genotypes 1981 IRRDB germplasm**

| Serial No. | Accession number | Mean Girth (cm) |       | Mean Girth Increment (cm/yr) | %RRIM600 |
|------------|------------------|-----------------|-------|------------------------------|----------|
|            |                  | 2017            | 2018  |                              |          |
| 1          | XJA04407         | 86.20           | 93.80 | 7.60                         | 129.52   |
| 2          | XJA04324         | 86.80           | 92.52 | 5.72                         | 127.75   |
| 3          | XJA01699         | 85.00           | 92.00 | 7.00                         | 127.04   |
| 4          | XJA03165         | 86.25           | 90.25 | 4.00                         | 124.62   |
| 5          | XJA05350         | 86.80           | 89.40 | 2.60                         | 123.45   |
| 6          | XJA02002         | 85.20           | 88.20 | 3.00                         | 121.79   |
| 7          | XJA01472         | 79.67           | 87.33 | 7.67                         | 120.59   |
| 8          | RRIM600          | 68.83           | 72.42 | 3.58                         | 100.00   |

### Latex Yield and DRC

There were only 413 (21.2% of the population) genotypes producing latex for DRC test, and their mean yield expressed as millilitre per tree per tapping (ml/t/t) is presented in Table 3. Mean yields of different genotypes from the various states and districts of Brazil were much lower than that of the control. The germplasm collected from other districts performed better than those from Acre, Rondonia and Mato Grosso. The mean latex yield of the germplasm from other districts were 7.84 ml/t/t, followed by Acre, Mato Grosso and Rondonia (6.69 ml/t/t, 5.12 ml/t/t and 4.58 ml/t/t, respectively). Meanwhile the control latex yield was 88.27 ml/t/t and DRC was 36.32%.

**Table 3. Mean latex rubber yield (ml/t/t) and DRC of the 1981 IRRDB germplasm in 2018**

| State/District  | No. of genotypes | Latex(ml/t/t) | DRC % |
|-----------------|------------------|---------------|-------|
| Acre            | 580              | 6.69±12.05    | 37.29 |
| Mato Grosso     | 334              | 5.12±7.57     | 38.34 |
| Rondonia        | 1002             | 4.58±6.85     | 37.86 |
| Other districts | 19               | 7.84±12.77    | 34.48 |
| Total           | 1935             |               |       |

These results indicate wide differences in latex yield between the wild genotypes and advanced breeding materials. There were only 2 genotypes that produced relatively higher mean latex yield than the control. The genotype from the accession XJA06014 gave the highest mean dry rubber yield of 35.31 g/t/t (110.14% RRIM600), followed by the accession XJA06106 (34.10 g/t/t, 106.36% of RRIM600). The top 2 high yield germplasm clones selected are shown in Table 4.

**Table 4. Mean dry rubber yield (g/t/t) of the 2 selected genotypes of 1981 IRRDB germplasm**

| Serial No. | Accession number | Latex (ml/t/t) | DRC % | Dry Rubber Yield(g/t/t) | %RRIM600 |
|------------|------------------|----------------|-------|-------------------------|----------|
| 1          | XJA06014         | 102.69         | 34.39 | 35.31                   | 110.14   |
| 2          | XJA06106         | 95.06          | 35.87 | 34.10                   | 106.36   |
| Control    | RRIM600          | 88.27          | 36.32 | 32.06                   | 100.00   |

### Conclusion and discussion

The evaluation of the wild *Hevea* genotypes of the 1981 IRRDB *Hevea* germplasm in the field showed large variation in growth and yield. In general, the yields were generally low. From the results we can see it is unlikely to select any useful high rubber yielding genotypes for commercial planting. However, there are about 140 genotypes possessing high growth vigour with long straight, smooth boles producing high timber volume suitable for rubber forest establishment. It would be also more meaningful when the promising genotypes based on growth vigour to be incorporated in the breeding programme to produce latex timber clones.

### Acknowledgement

The authors would like to express their thanks to the Director of CATAS for permission to present this paper. Thanks are also extended to the staff of germplasm and breeding group for their works on collection of data.

## References

- Zheng Xueqin, Hu Dongqiong. 1994. Catalog of Hevea germplasm in China(Part 1). Chinese Agriculture Press
- Zhen Xueqin, Hu Dongqiong, Zeng Xiansong, et al. 1988. Studies of new Hevea resources on the latex vessel number of lateral veins. *Journal of Sciences & Technology of Tropical Crops*. 1: 9-12
- Masahuling Benong, Ramli Othman, Mohd. Nasaruddin Mohd. Aris and Zarawi Abd. Ghani(1999). Genetic enhancement of the 1981 Hevea germplasm. IRRDB Annual Meeting and Symposia 17-23 October 1999, Haikou, Hainan, China.
- Masahuling B., Ramli,O., Zarawi.A.G. and Mohd Nasaruddin,M.A. Status on the evaluation and utilization of the 1981 IRRDB Hevea germplasm[J]. IRRDB Plant Breeding, Agronomy and Socio-Economics Joint Workshop,28 Aug-7 Sept 2002,Malaysia & Indonesia
- Aidi-Daslin. Report on the evaluation and utilization of the 1981 IRRDB Hevea germplasm in Indonesia [J]. IRRDB Plant Breeding, Agronomy and Socio-Economics Joint Workshop,28 Aug-7 Sept 2002,Malaysia & Indonesia.
- Clement-Demange, A. H. Legnate, Y. M. Gnagne and D. Nicolas (1990). Strategy for breeding Hevea brasiliensis germplasm in IRCA-Cote d'Ivoire.IRRDB Symp. Kuming,China.
- HU Yanshi, ZENG Xia et al.A Study report on the main characters' evaluation of the IRRDB'81 Hevea germplasm. IRRDB Annual Meeting. Nov. 2005, Cochin, India

# 国内外咖啡灭字脊天牛防控技术研究新进展

白学慧, 李锦红, 萧自位, 郭铁英, 周 华, 肖 兵, 马关润, 赵明珠, 张洪波\*<sup>7</sup>  
云南省德宏热带农业科学研究所, 云南瑞丽 678600

**摘 要** 咖啡灭字脊天牛是云南咖啡种植区危害咖啡树的重要害虫之一。该虫在云南咖啡植区 1 年完成 1 代, 全年发生 2~3 次成虫高峰期, 世代重叠严重。为了较好的防治该虫危害, 本文主要介绍了印度对该虫抗性选育种和利用化学合成的性信息素诱捕效果等综合防治技术的研究; 同时也介绍了国内对该虫的防治研究情况, 并提出了对该虫的综合治理和实现减药增效的建议。  
**关键词** 咖啡灭字脊天牛; 发生危害规律; 抗虫选育种; 性信息素; 替代技术; 综合管理措施; 减药增效

## New Progress in The Prevention and Control of The Damage of *Xylotrechus Quadripes Chev* in Domestic and Foreign Countries

Bai Xuehui, Li Jinhong, XIAO Ziwei, Guo Tiewing, Zhou Hua, Xiao Bing, Xia Hongyun, Ma Guanrun, Zhao Mingzhu, Zhang Hongbo\*  
Dehong Tropical Agriculture Research Institute of Yunnan, Ruli Yunnan 678600, China

**Abstract** *Xylotrechus quadripes Chev* is a main pest insect attacking coffee trees in the tropical regions of yunnan; The occurrence and damage of *Xylotrechus quadripes Chev* were investigated in different environments in Yunnan. The results showed that *X. quadripes* mainly damaged old year's coffee trees. *X. quadripes* occurred one generation per year and two to three adult peaks occur in the whole year, with serious generation weight. India was introduced to the *Xylotrechus quadripes Chev* with Chemically synthesized Pheronomes to attract male or female insects in the field to trap them and selection of pest resistance. The research on the prevention and treatment of the insect in China was also introduced. Measures of integrated management of the pest which of achieving Insecticide reduction and efficiency improvement suggested and have proved effective.

**Keywords** *Xylotrechus quadripes Chev*, hazard occurrence law, selection of pest resistance, pheronomes, substitute echnology, measures of integrated management, insecticide reduction and efficiency improvement

咖啡天牛在印度、越南、斯里兰卡、泰国、菲律宾、印尼爪哇和我国的云南、海南、广西咖啡种植区等地危害普遍; 云南咖啡种植面积不断扩大, 最高时达到了 180 万亩, 对咖啡害虫来讲形成了一个稳定的生态系, 有利于害虫种群的发展, 加之咖啡植株因锈病而落叶也给咖啡天牛危害创造了有利的条件, 使咖啡灭字脊天牛(*Xylotrechus quadripes chev*)成为了影响云南咖啡生产的重要害虫。由于从 2011 年以来咖啡价格下滑, 咖啡园投入不够, 管理水平下降, 且咖啡树龄增大, 天牛危害越来越重; 加之干旱的影响, 灭字脊天牛在荫蔽条件差的咖啡植株上危害也出现了较重的危害, 特别是一些与咖啡同期间作的荫蔽树由于树冠较小, 未形成有效的荫蔽作用, 使初投产的咖啡树, 天牛危害率达到了 48.8%; 严重率达 23.2%<sup>[1]</sup>, 影响了咖啡的经营效益, 因此天牛的防治工作需要不断加强。

### 1 咖啡灭字脊天牛发生规律的确定

由于该虫对咖啡树干钻蛀为害, 受害的部位又没有明显的蛀孔, 因此对该虫的人工饲养观测生活史较困难, 过去对其生活史的观测主要是通过室内饲养及大田观测相结合作出的判定; 在印度早期也认为是一年完成多个世代, 后来也重新对该虫的生活史进行了研究, 基本上探明是一年完成一代<sup>[2]</sup>, 认为该虫完成一个世代需 10-12 个月, 因越冬虫态差异, 出现世代重叠的现象, 即全年都有成虫出现, 但有两个明显的高峰期, 每年出现 4-5 月的短飞行期和 9-10 月长飞行期, 因此导致了该虫在生产上化学防治较困难。在国内早年邝炳乾报导该虫在广西一年发生 2 代<sup>[3]</sup>, 裴汝康等也认为在西双版纳也是有 2-3 世代<sup>[4]</sup>, 因此各种植区报导都是 2 代或者个别年份一年完成 3 代。周文生等在于 1999 年至 2001 年对该虫研究第一次提出其在云南思茅热区 1 年完成 1 代, 全年发生 3 代(3 次成虫高峰期), 均跨年度完成, 世代重叠严重, 有的一棵咖啡树干内同时有着不同代次的各虫态<sup>[5]</sup>。普洱咖啡试验场李忠恒等 2009 年 7 月至 2010 年 5 月室内和室外观测结果提出在思茅一年发生 1 代, 幼虫期 296~322 d, 由于发育进度不同, 世代重叠严重, 一年四季均有成虫<sup>[6]</sup>。云南省德宏热带农业科学研究所(以下称德宏热作所) 2003 年在本所生产试验队咖啡园进行野外田间饲养观察, 采取在被危害植株干上套上长×宽×高=200cm×200cm×180cm 网罩(铁纱笼)和将取回具虫枝干段插入盛有潮湿细沙土的盆中罩上密封的网罩的常规法进行室内、外人工饲养考察, 并结合大田剖枝观察调查, 结果也表明该虫在云南德宏咖啡植区 1 年完成 1 代, 一般全年出现两个成虫高峰期, 特殊年份有 3 次成虫高峰期, 均跨年度完成, 世代重叠严重, 以各虫态滞育在树干木质内越冬。

### 2 抗天牛选育种的研究

**资助项目** 科技部(No.2018YFD0201108); 云南省科技厅(No.2018ZG016)。

**作者简介** 白学慧(1982-), 男, 副研究员; 研究方向: 咖啡抗病育种及咖啡植保研究。通讯作者(Corresponding author): 张洪波(ZHANG HongBo), E-mail: zhanghongbo1960@hotmail.com。

目前印度已开展了较系统的咖啡抗灭字脊虎天牛的研究工作<sup>[7]</sup>。早期研究表明,二倍体咖啡种如中粒种和大粒种对灭字脊虎天牛具有抗性,在二倍体任何咖啡品种中,灭字脊虎天牛的发生率都非常低,对染色的茎干切片观察显示,外层鳞状树皮由死细胞组成,随后是几层由韧皮部和形成层组织组成的通常称为绿色树皮的绿色组织;灭字脊虎天牛在二倍体咖啡种产卵后初孵化的幼虫最初以绿树皮为食,但它们只能形成大量的表面隧道,没有迹象表明它们进入了中央传导组织,它们在没有完成生命周期的情况下就死在了绿树皮中,这表明在二倍体咖啡种存在一种强大的抵抗机制。在所有二倍体咖啡种中,茎干的外皮区通常有5层以上的硬化薄壁细胞,其间点缀着绿色的树皮细胞(PP细胞);几乎所有研究的咖啡种都观察到了这些硬化的薄壁细胞充满了丹宁酸。

种间杂交的小粒种咖啡同样观察到了硬化的薄壁细胞有丹宁酸。印度中央咖啡研究所(CCRI)选育的一些新品种对灭字脊虎天牛有抗性,危害发生率很低,为了确定这些品种的抗性因子,开展了抗灭字脊虎天牛的选育种研究,研究发现所有抗灭字脊虎天牛的印度咖啡新品种有一个共同特征,它们的起源都直接或间接地涉及在自然界中不受昆虫危害的中粒种(*C. canephora*)或大粒种(*C. liberica*)的种间杂交,因此推断出二倍体物种的基因渗入使钻蛀害虫对其危害较低;通过对这些种的三种情况HP(不显示皱纹或健康植株)、RN(植株显示出受侵扰的皱纹,但没有其他侵害和过敏植株的症状)和RM(植株展示皱纹以及表明存在蛀虫在茎干活动的轻微症状)的植株进行茎染色切片表明,健康(HP)、超敏(RN)和敏感(RM)植株茎干食物成分的存在和/或密度没有很大的差异;并将灭字脊虎天牛的卵产于这些种间杂交获得的小粒种咖啡上,在一年的时间包括灭字脊虎天牛两个出孔高峰期,监测了这些入选植株的茎组织中的淀粉、蛋白质和脂类等食物成分的水平变化。分析测试这些入选植株和不同咖啡种的树皮和木材组织中单宁的存在和强度,以了解这些咖啡种植物成分在防御灭字脊虎天牛方面的作用;单宁试验结果表明,小粒种品种与二倍体品种之间以及健康、超敏和敏感的入选植株之间单宁的存在有较大差异;在各种观察中发现咖啡树的树皮组织具有薄壁的绿色薄壁组织细胞(韧皮部和形成层)和厚壁的硬化薄壁组织细胞,它们被配置成交替的层。易感灭字脊虎天牛的卡蒂姆(Catimor)植株具有一至三层硬化的薄壁组织细胞,而抗灭字脊虎天牛二倍体咖啡种和种间杂交后代则具有五层或更多的细胞壁增厚的硬化薄壁组织细胞。硬化的薄壁组织加厚可能是一个保护这些植株免受灭字脊虎天牛钻蛀危害的强大屏障。在田间条件下,卡蒂姆(Catimor)的茎干中相对较少的硬化薄壁组织层可能是其对病虫害易感性较强的一个诱发因素。存在于硬化的薄壁组织细胞中的单宁表明这些细胞对天牛深层渗透也可能是一个强大的屏障,在这种情况下,当这些细胞被天牛起食后单宁会与蛋白质结合,使它们无法被昆虫消化。另一个观察结果是,二倍体物种木材的维管组织和种间后代的品种也富含单宁,即使昆虫幼虫进入茎干的中心木材部分,也可能导致同样的情况。对上述入选植株的树皮组织中单宁含量的定量分析表明,在抗性入选品种中,相当多的植株树皮细胞中单宁含量较高,而在易感性的卡蒂姆(Cauvery)入选品种中,大多数植株的树皮组织中单宁含量较低。

对这些入选植株的树皮组织中水解酶几丁质酶的活性也进行了研究,以了解其是否参与了对灭字脊虎天牛的防御作用。几丁质是大多数昆虫外骨骼(角质层)和围食膜内膜(中肠粘膜)的主要成分,对环境危害和捕食者起着物理化学屏障的作用;几丁质酶可降解昆虫围食膜内膜;本构内源几丁质酶活性被认为是植物抗虫性的重要指标;在几丁质酶的测定中,通常观察到二倍体以及种间杂交后代植株中健康咖啡植株树皮的绿色组织中提取的提取物都具有较高的几丁质酶活性。这一扩展研究结果表明有几个二倍体种可作为小粒种咖啡抗虫育种有潜在价值的基因来源。

研究表明:种间杂交种的精选品种的树皮中有较多层的硬化薄壁组织,这些层结构对害虫严重危害构成一个强大的屏障;硬化的薄壁组织细胞中含有丰富的单宁酸,可抑制昆虫蛋白质的消化过程;伴有硬化薄壁组织的树皮绿色组织中内源性几丁质酶活性高,对早期发育阶段的灭字脊虎天牛构成了重要障碍。因此提出小粒种咖啡抗虫性的选育研究步骤:1、选择单宁和几丁质酶活性高的单株;2、在隔离区将单宁和几丁质酶活性高的入选单株整合优选;3、种植优选单株促使开花产生种子;4、用大量的种子在田间试验;5、抗虫性和大田表现的评估;6、大规模的利用开发。

### 3 国内外咖啡灭字脊虎天牛化学药剂防治技术的进展

咖啡灭字脊虎天牛主要分布在亚洲咖啡生产国,过去有的国家因该虫为害严重,被迫改种其它作物。1838年Stokes首次报道了在印度南部地区迈索尔邦的咖啡园发现咖啡虎天牛(*Xylotrechus quadripes*),印度对灭字脊虎天牛开展了大量的防治研究工作。以前生产上推荐采用六六六(BHC)或狄氏剂等杀虫剂涂刷树干,特别是对无荫蔽的咖啡树,效果相对较好<sup>[8]</sup>,随着这些杀虫剂的禁用,研究施用粉着剂白蚁土与植物粉液混合剂,如砷酸铅、波尔多液、石灰浆、鱼油松脂肥皂、砷酸钙、碱性甲基氯等但防虫无效。用砷酸钠溶于木焦油蒸馏液中施于咖啡树干,可杀死60%左右虎天牛末龄幼虫,但同时伤害了植株,而且成本高,未推广应用。后来采取了内吸杀虫剂如久效磷注入树干防治咖啡灭字脊虎天牛,但此方法无效,而且还伤树。用环保的楝子油施于咖啡树干防治虎天牛,但此法有效期短,必须多次施用,才能提高防效。

国内长期以来在生产上防治该虫主要是在4月中旬前,采用水+粘土+石灰粉+粉剂的药(生产上允许用

的)+食盐+硫磺粉按 2: 1.5: 1.2: 0.005: 0.005: 0.005 的配比, 混合均匀搅拌成浆糊状, 以适用、粘稳在树干上为度, 均匀涂刷距地面 50—80cm 的咖啡树干, 防治灭字虎天牛产卵或刚孵出尚未进入木质的幼虫, 在上世纪 80 代使用粉剂主要是六六六、889 粉剂, 药效长, 防虫效果相对要好; 随着这些农药的禁用, 目前生产上能使用的安全性高的杀虫剂对这种成虫出现期长的害虫, 采用涂干方法效果不理想; 为提高防效, 采取了 4—10 月每月用杀虫剂喷一次树干<sup>[9]</sup>, 但是这种防虫方法费时费工, 且成本高, 不环保。罗孙荣等 2011 年使用 150、200 倍浓度的 16% 虫线清乳油药液对咖啡木质部中的灭字虎天牛进行防效试验, 结果表明, 对灭字虎天牛幼虫、蛹及成虫的杀伤力极强。施药后第 15d 检查, 杀虫率达 100%, 但是由于喷的药量大才有效果, 实际上也没有在生产上得到推广<sup>[10]</sup>; 2015 年普洱学院的郑勇等选用 1.8% 阿维吡虫啉乳油、20% 吡虫啉可溶性水剂和 1.3% 苦参碱水剂 3 种药剂 50 倍液, 采用茎干基部打孔注射和根际施药相结合的方法进行咖啡灭字脊虎天牛防治试验。结果表明: 3 种药剂处理 20 d 后 1.8% 阿维吡虫啉乳油对咖啡灭字脊虎天牛的防效最好<sup>[11]</sup>。虎天牛虽然一年完成一代, 但是世代重叠, 几乎每个月有成虫出现, 要提高对成虫的防效, 就要多次施药, 用工量大, 必然增大成本, 很难得到咖农的采用。因此化学药剂防治咖啡灭字脊虎天牛一直没有新的进展。

## 4 国内外咖啡灭字脊虎天牛的防控替代技术研究进展

### 4.1 国外替代技术的研究进展

#### 4.1.1 印度咖啡园人工清除虫伤枝

在印度一直认为若 2 月和 3 月遇到早期降雨将对在 4-5 月期间等待出现的钻蛀害虫的发展并不有利。而 6 月至 7 月中旬稀少的降雨导致了钻蛀害虫的发展速度加快, 但还不至于形成大量的成虫出现。在 7 月中旬至 8 月中旬期间, 持续不断的降雨导致了在植株内钻蛀的许多幼虫自然死亡。由于第二次出孔期或是冬季成虫羽化期的邻近, 在茎干内危害的天牛都变成了成虫开始了新的为期六个月或一年时期的生活期。因此在九月低前追查天牛危害的茎干并移走防止成虫扩散到大田造成新的危害, 对所有受害植株即使是还结着果也要清除。如果这些被侵害植物被留在咖啡园, 就好比储存了越来越多的天牛成虫, 并成为进入咖啡园的大量虫源。所以在印度要求在成虫飞行前, 每年都要清除这些被侵害的植物。如果这措施不常做, 害虫累积效应将非常严重<sup>[2]</sup>。

#### 4.1.2 在印度咖啡双层荫蔽控制灭字脊虎天牛

在印度, 提供荫蔽也对咖啡种植提供了适宜咖啡生长的小气候, 还防止了土壤侵蚀, 并通过有机物的贡献改良土壤肥力。更重要的是充当了管理病虫害强有力工具。天牛在茎干上产卵危害因有荫蔽而减轻<sup>[12]</sup>。在印度采取的是两层的遮荫系统, 上层是永久遮荫树, 低层的为临时遮荫树, 这样才能持续地提供给咖啡合理的荫蔽条件。

#### 4.1.3 印度性信息素在控制咖啡灭字脊虎天牛的研究及应用

印度与英国自然资源研究所合作研究表明, 天牛雄虫分泌一种被称为 2-羟基-3-癸酮的化学物质, 用其与雌性成虫进行联系。这个雄性性信息素的化学物质在实验室中被成功地合成, 并且作为雌虫的诱引剂在实验室和田野中进行了效能测试, 发现 2-羟基-3-癸酮可以成功地在大田用于吸引雌性天牛, 在生产上广泛使用。装有少量(50 - 100 毫克)的合成天牛性信息素的聚乙烯瓶被分布在大田。一个公顷的土地需要近 25 个诱捕器, 诱捕器被放置在距离 20 米之间。这些性信息素装入瓶挂在抹有粘性聚丁烯胶的交叉叶片型的诱捕器十字架中心处; 诱捕器放在被钻蛀的咖啡大田高出地面 1.8-2 米(5 - 6 英尺)地方作为引诱。这种信息素化合物从瓶中漏出, 并由于其挥发性而在田间扩散。雌性天牛四处寻找化学气味, 误认为是雄性天牛的排放源而被诱引。它们接近诱捕器并停在上部即被粘性的胶水粘住。在不同的地点进行了 10 多年的野外跟踪研究表明, 雌性天牛能够成功地被捕获。信息素诱捕器在严重侵害的咖啡园非常有效, 有 60% 以上的雌性天牛被捕获。但是在低侵害的咖啡园使用诱捕器不是非常有效, 但可以作为害虫种群监测的工具。灭字脊虎天牛信息素是一种无害的化学物质, 不会对人畜、鸟类和环境造成任何伤害; 因此, 是一种使用香水(信息素)而不是毒药(农药)来控制咖啡天牛<sup>[13]</sup>。但是, 性信息素诱捕是一种 IPM 技术, 它不能保证 WSB 100% 的控制<sup>[14]</sup>, 因此仅采取单一的措施是不能取得满意的防虫结果, 及时采取综合措施可以有效控制咖啡灭字脊虎天牛, 主要是提供荫蔽树(较低的树冠), 定期清除被害植株, 抹去松软的鳞树皮; 用石灰涂主要茎干和粗大的一分枝, 比率为 20 千克的喷雾石灰兑水 200 升, 加上 200 毫升的 Fevicol-DDL<sup>[2]</sup>; 在 10 月的第一个星期里, 每公顷安装 25 个的诱集器在大田诱集出孔成虫这些诱捕器可以一直留在地里直到天牛成虫飞行周期结束<sup>[14]</sup>。

#### 4.1.4 其它东南亚咖啡生产国

缅甸, 对天牛的防治也是采取提供荫蔽措施, 2016 年 12 月, 到缅甸考察看到咖啡园种植的卡蒂姆都是采取与澳洲坚果和银华树间作, 而且是高密度间作, 天牛得到了显著的控制<sup>[15]</sup>。

越南的小粒种咖啡也有灭字脊虎天牛危害, 但是由于生产上主要是种植中粒种咖啡, 回避了该虫的大面积危害, 实现了今天世界第二大生产国的地位。

### 4.2 国内替代技术研究的进展

在云南省该虫广泛分布于思茅、西双版纳、临沧、保山、德宏、怒江等热带咖啡树种植的地(州)各县(市), 分别对咖啡树造成严重的危害。咖啡灭字虎天牛的寄主有铁刀木、麻栗树、柚木、山石榴、石榴、厚皮树、黄泥木、咖啡树等。咖啡树为该虫的次生寄主树。在云南 20 多年的发展咖啡生产历期, 对天牛的防治技术的研究从发表的文献来看, 仍然是发生规律、荫蔽条件、在虫害成虫出现高峰期进行化学防治的方法, 都没有新的突破。

#### 4.2.1 开展了生物生态学的研究:

2014 年李宏峨等研究, 在保山咖啡天牛发生严重度, 取决于种植区域的海拔高度、种植模式和树龄。海拔高, 天牛危害重; 随着种植区域海拔下降, 天牛危害逐渐加重的趋势。在相同海拔区种植, 种植模式决定危害程度的高低, 覆荫种植模式危害率低于单一种植模式。在相同海拔区种植, 咖啡树龄的长短决定危害程度的轻重, 咖啡树龄长的发生天牛危害的程度重于咖啡树龄较短的。咖啡天牛危害程度的高低与品种无相关性<sup>[16]</sup>。

#### 4.2.2 复合栽培技术:

德宏所在 2006 年承担云南省科技厅科研院所技术开发专项《咖啡复合栽培控制早衰及天牛类害虫的研究及示范推广》项目期间, 开展了筛选与咖啡间作庇荫性好、经济效益显著的热带作物, 进行了咖啡//橡胶、咖啡//澳洲坚果、咖啡//热果等控制早衰和虫害效果的试验示范研究和筛选与咖啡间作适应强、速生、当年就对咖啡形成荫蔽的经济作物, 开展咖啡//香蕉、咖啡//印楝、咖啡//三叶豆、咖啡//铁刀木控制早衰和虫害效果试验示范研究。

最有代表性的是咖啡//橡胶复合栽培, 该间作模式下由于橡胶树提供了荫蔽条件, 林下咖啡养分与结果量比较平衡, 不易出现枯枝弱株, 加之林内环境湿润, 对喜欢在干燥、向阳部位产卵的天牛有一定的抑制作用。特别是荫蔽条件下咖啡植株生势强, 受虫害的植株恢复生长快, 第二年仍能正常结果。调查结果显示, 咖啡//橡胶复合栽培对天牛的控制效果达到了 83.95%。

表 1 咖啡//橡胶复合栽培对天牛的控制效果

| 栽培模式   | 调查株数(株) | 为害率(%) | 为害指数  | 防效(%) |
|--------|---------|--------|-------|-------|
| 咖啡//橡胶 | 338     | 8.87   | 2.96  | 83.95 |
| 咖啡单作   | 369     | 51.91  | 18.44 | —     |

高效栽培模式主要是采取橡胶、澳洲坚果、香蕉、龙眼、荔枝、芒果、经济林木宽行密植套种咖啡, 咖啡平均产量达到 150~200 千克/亩, 土地利用率高 23~100%, 增加了单位面积的产值, 管理成本比单作咖啡园降低 30~50%。枯枝及干果的发生率控制在 10% 以下, 虫害比对照下降了 20%~50%, 农药施用量降低了 80% 以上, 为云南发展优质绿色咖啡生产基地和有效保护生态环境提供了强有力的技术保障。由于油梨经济价值高, 开展油梨与咖啡间作初步试验表明, 油梨与咖啡间作, 2 年后就对咖啡有较好的荫蔽, 是一个咖啡复合栽培防控天牛效果好, 经济和生态效益也显著的理想栽培模式。

#### 4.2.3 物理防治

李忠恒等 2015 年 9 月在普洱开展了“灭字脊虎天牛危害的咖啡树干浸泡试验研究”, 通过反复试验和验证: 该虫危害的虫伤枝在清水池子浸泡 10 天, 天牛克虫态伤亡率低, 平均死亡率为 33.3%, 其中蛹的死亡率仅为 10%; 浸泡 25 天, 死亡率达到 89.7%。这与印度中央咖啡研究所推荐的“咖啡树干必须被浸泡在水中至少 10 天, 可以保证杀死不同虫态的害虫, 经过该方法处理后的树干可以存储”的结论有差异。

及时处理虫害树, 人工捕杀害虫, 减少虫口密度; 早期德宏所调查研究表明, 加强咖啡园各项栽培管理措施, 保持咖啡树养分平衡, 避免因结果过多和粗放管理而导致咖啡树势衰弱而导致咖啡灭字脊虎天牛为害严重的局面。对咖啡园的虫害树要及时切干处理, 减少虫源。对切下的虫害枝干, 应移走烧毁, 严禁随意弃放在田间地头, 以免害虫迁移为害。由于接近成虫出孔期的天气不能准确预测, 继续前面提到的措施有效管理害虫。一旦咖啡茎干被害, 如果不将其清除仍保留在地里, 无疑它们就成为越来越多的天牛进入咖啡园的虫源。

对咖啡灭字脊虎天牛成虫虫口密度大的咖啡园, 在虫口增长的高峰期, 应及时捕捉成虫和结合农事活动, 破干杀死树干内的成虫、蛹和幼虫。潞江新城农场 4 队约 33hm<sup>2</sup> 咖啡园, 因虫害严重, 农场采取了捉虫有奖的措施, 1995 年捉虫 17 万头, 1996 年捉虫 15 万头, 1997 年捉虫 5~6 万头, 使得虫口数量急剧下降, 咖啡受害程度减轻, 维护了咖啡园的正常经营。这一措施在生产上得到应用<sup>[9]</sup>。

#### 4.2.4 木材粉碎机及时清除咖啡虫伤枝试验研究

利用木材粉碎机及时清除咖啡虫伤枝, 不但能控制害虫虫口密度, 而且还能将咖啡枝条变成木渣后作为肥料和种植蘑菇的基质, 提高咖啡附加值。2018 年 11 月 6 日--2019 年 3 月德宏热作所在遮放杏焕村咖啡园和本所咖啡园进行木材粉碎机使用情况, 结果表明, 使用木材粉碎机可及时有效地清除咖啡虫伤枝, 实现了秸秆还田的效果。每一个咖啡园和咖啡场都配备一台茎干粉碎机, 咖啡生产管理岗位工人每个月要结合农事管理及时将虫伤枝修剪, 并交到指定地点由管理人员用粉碎机打碎, 把虫伤枝及时粉碎成粉末状, 及时杀死

枝干内的害虫。对咖啡木渣进行堆肥处理,避免了虫伤枝弃放在田间地头。

#### 4.2.5 生物防治:

魏佳宁等用球孢白僵菌防治虎天牛的研究<sup>[17]</sup>,由于该虫幼虫无蛀孔,自我保护好,阻隔了白僵菌对天牛幼虫的侵染,防效甚微,实际上在生产上未应用。魏佳宁等在 1994~1997 年的调查研究中发现思茅地区拥有丰富的天敌资源。共鉴定出 8 种主要捕食和寄生于咖啡天牛的天敌,其中蚂蚁类 4 种:立毛举腹蚁(*Crematogaster ferrarii*)、黑褐举腹蚁(*C. rogenhoferi*)、中华小家蚁(*Monomorium chinense*)和法老家蚁(*M. pharaonis*);蠋螋 2 种:蠋螋(*Labidura riparia*)、锤角蠋螋(*Nesogaster sp.*);寄生蜂 2 种:间斑举腹姬蜂(*Pristaulacus intermedius*)和茶色茧蜂(*Iphiaulax rufus*)。饲养和调查结果显示,黑褐举腹蚁、立毛举腹蚁、间斑举腹姬蜂和蠋螋 4 种捕食或寄生性天敌,自然种群大、控制能力强,有很大的利用前景<sup>[18]</sup>。黄雅志发现天牛黑茧蜂(*Doryctes picticeps*)和天牛旗腹蜂(*Prislaulaeas nigripes var duporti*),对灭字背虎天牛寄生率为 0.72%~23.5%<sup>[19]</sup>;在德宏所从多年剖树检查的结果看,寄生蜂对咖啡灭字脊虎天牛幼虫、蛹的寄生率占 7%~16%<sup>[9]</sup>。调查发现间作咖啡园地寄生蜂寄生率比单作的高。寄生蜂主要有间斑举腹姬蜂(*Pristaulacus intermedius*)和茶色茧蜂(*Iphiaulax rufus*),前者能探寻到木质部内幼虫的位置,并将其产卵棒插入树内把卵产在幼虫体上建立寄生。后者是咬一个小孔钻入木质部对老熟幼虫和蛹产卵寄生。舒梅等解剖中观察发现,灭字脊虎天牛幼虫期有天敌寄生,经鉴定寄生天敌是黑足举腹姬蜂(*Prislaulacus nigripes Kieff*),属举腹姬蜂科(*Aulacidea*)。结合调查过程,为此进行黑足举腹姬蜂活动规律的观察统计,其结果每年 8、9 月为寄生高峰期<sup>[20]</sup>。

萧自位等从 2013 年的 9 月至 2014 年 3 月,运用线样法对瑞丽咖啡复合生态园鸟类初步调查研究,共观测到 14 种鸟,分属 3 个目 10 个科,雀形目鸟类 12 种,非雀形目鸟类 2 种。瑞丽咖啡种质圃内的鸟类以食虫鸟为主,占鸟类种数的 71.4%,其次为食果鸟,占 21.4%,其他食性的鸟类所占比例较小。进入旱季后瑞丽咖啡种质圃内鸟类的种类数量有所增加,不同食性鸟类逐渐增加,招引森林鸟类对咖啡害虫进行生物防治,从而提高咖啡产量,是建立良好咖啡复合生态园的一个重要目标<sup>[21]</sup>。

潞江小红坡澳洲坚果与咖啡间作园,面积 200 亩,1997—98 年种植,澳洲坚果树下套种咖啡 4 行,他饲养了 80 只孔雀,专门来防治咖啡与澳洲坚果间作园的害虫和蚂蚁,基本上不喷药,天牛也危害轻。

2017 年杨文波等利用天敌昆虫管氏肿腿蜂开展咖啡灭字脊虎天牛防治研究<sup>[22]</sup>,林间放蜂试验中,比较适用的隔株放蜂法和中心放蜂法寄生率分别为 23.36% 和 12.69%;放蜂 60 d 后防治效果最佳,提出放蜂时间间隔应以 60~90 d 为宜。目前不同种植区的咖啡研究人员都在开展田间利用管氏肿腿蜂寄生灭字脊虎天牛的防治试验,笔者 2018 年 11 月,也开展了实验室及大田隔株放蜂法的试验,初步观测结果,该寄生蜂在室内寄生效率达 30%,在大田试验因放蜂数量少,效果不理想。该寄生蜂搜寻和钻蛀能力很强,但是由于咖啡灭字脊虎天牛幼虫钻蛀隐蔽较深,寄生蜂要探寻天牛幼虫很困难,影响了天敌生防效果。该寄生蜂自然种群小,要人工饲养并连续释放才能有效防控该虫。小粒咖啡生长的气候环境以及灭字脊虎天牛是否合适管氏肿腿蜂寄生还有待进一步研究和摸索。

#### 4.2.4 天牛的诱捕和趋避作用的试验

1992 年 4 月 27 日,德宏热作所在瑞丽进行了用甲醇和乙醇作诱饵灭字脊虎天牛成虫的漏斗式诱捕化学物质诱集成虫试验,两次试验效果不明显<sup>[23]</sup>。

2015 年刘杰等在普洱的研究发现印度栲、板栗树和四果野桐的花是有大量的天牛活动;其中包括了灭字脊虎天牛成虫,为此开展了在室内诱捕天牛的试验,结果表明,印度栲能诱捕多种天牛,但是该虫只占 3.1%;板栗树大田上诱捕到的灭字脊虎天牛占 1.73%;四果野桐树大田上诱捕到的灭字脊虎天牛占 2.9%;还在室内开展了粘板粘天牛成虫的诱捕试验,由于受到田间环境如风和雨的影响,加之粘板粘性的质量影响,粘上去的成虫又逃脱掉。

种植有趋避作用的植物减轻天牛的危害,据了解,在天牛危害较重的咖啡园,与山苍子间作的咖啡树天牛危害较轻,认为该树对天牛有趋避作用。

德宏热作所 2018 年 7 月和 11 月在大田布置诱集器诱集天牛出孔成虫两次试验。采用从印度引进的人工合成的灭字脊虎天牛性激素,以每公顷安装 25 个的诱集器密度在大田布置试验;由于放置诱集器不技术不到位,阳光太强,导致粘胶向外溢出,加之 7 月-9 月雨水多,淋湿粘胶板,第一次没有捕杀到成虫;第二次 11 月在印度专家指导下摆放后,共捕杀到 5 个成虫;为了更好的评价大田性诱集器捕杀灭字脊虎天牛的效果,继续从印度引进人工合成的性激素开展多点试验,旨在总结出一套大田放置性诱剂诱杀天牛的技术措施。

#### 4.2.5 其他研究

早期人们对灭字脊虎天牛的研究主要集中在虫情调查、种群动态和发生规律以及常规防治方法等方面,目前有关分子水平的研究,包括灭字脊虎天牛与寄主植物互作的分子机制方面的研究也有涉及,吉帅帅等开展了“灭字脊虎天牛触角转录组中气味结合蛋白基因的鉴定及表达谱分析”<sup>[24]</sup>,本文对灭字脊虎天牛主要的化感器官——触角进行了转录组测序,采用生物信息学和分子生物学技术鉴定和研究了参与嗅觉感受的重要化感基因 OBP(气味结合蛋白)的家族,研究结果可为后续 OBP 的功能研究以及行为调控剂的筛选奠定基



础。

王政等对“咖啡灭字虎天牛触角和足传感器的形态与分布观察”<sup>[25]</sup>；本研究对咖啡灭字虎天牛触角和前足感器扫描电镜观察结果表明，该虫触角有5类9种感器，前足有3类7种感器，这些结果可从微观形态方面为该虫化学通讯机制研究提供基础；天牛生活在多种信息化合物综合作用的环境中，其中有影响其定位寄主的植物气味，也有联系种内、种间化学通讯的外激素等信息化学物质，它们对天牛的取食、交配和防御等系列行为具有重要的意义。

## 5 对云南咖啡园灭字脊虎天牛防控管理的建议

### 5.1 重视使用抗锈品种，提高咖啡抗虫能力

在新种植咖啡时，应选择抗锈病强高产优质的品种，只有抗锈病适应性好的咖啡生长茂盛，自身荫蔽好，可减轻喜欢在有阳光照射得到部位产卵的天牛侵害。因此加快新品种的推广应用，特别是杯品质量优于前期使用的咖啡品种，通过品种改良和提供荫蔽及提高粗加工水平来提升品质，生产更多的优质咖啡，大幅度提高我省咖啡生产经营效益，提高云南咖啡在国际市场上的竞争力。

### 5.2 用替代技术有机结合防控灭字脊虎天牛

加强咖啡病虫害综合防控和减药增效措施的培训工作，更好地控制咖啡主要病虫害的发生危害。生产上采用替代技术防控灭字脊虎天牛的成功案例，云南德宏芒市遮放镇的杏焕村一块近100亩的咖啡园，前期该虫危害严重，通过德宏热作所指导，在小粒种咖啡园间作中粒种，即提高了单位面积的产值，又为小粒种咖啡增加了遮荫条件，并在咖啡园专门建了三个泡咖啡虫伤枝的小池子，购买了一台一人能在田间地头自由移动的小型木材粉碎机，日常结合农事活动及时清除虫伤枝，小的茎秆和枝条用粉碎机处理，实现了秸秆还田；粗大的枝干放入水池浸泡15天左右杀灭害虫，然后捞起堆放整齐做薪柴。经过这些防虫替代技术的实施，防控天牛效果显著，虫源降低，天牛危害轻，小粒种咖啡实现了增产增收。

由于该虫危害特点钻蛀危害却无蛀孔，因此通过药剂防治效果不显著，实践证明，采取绿色生态的替代技术，如复合栽培遮荫、物理防治、机械防治、性诱杀和天敌生物防治等技术的实施，即实现了咖啡防虫减药增效，又可有效地把灭字脊虎天牛的危害控制在阈值以下，避免了因盲目施用化学杀虫剂而严重影响农产品质量安全、生态安全和农业可持续发展等问题。

### 参考文献

- [1]张洪波,李锦红,白学慧,等.云南小粒种咖啡出现早衰的原因及防控对策[J].热带农业科技,2015,38(3):42-46.
- [2]P.K.Vinod Kumar,H.G. Seetharama,M.M.Balakrishnan.The Coffee White Stem Borer –An Insight Indian coffee[J].2009,VOL.LXXIII4-5 p:8-11.
- [3]邝炳乾.广西咖啡树两种虎天牛的研究[J].昆虫学报,1977,20(1):49-56.
- [4]裴汝康,李发强.云南咖啡天牛类害虫优势种群发生规律和综合治理的研究[J].云南热作科技,1994,17(2):23-26.
- [5]周又生,赵忠喜,李松林,等.咖啡灭字虎天牛生物生态学及发生危害规律和治理研究[J].西南农业大学学报,2002,24(1):1-4.
- [6]李忠恒,曾仲任.小粒种咖啡高产优质栽培技术手册[M].普洱科学技术局.2010:39-44.
- [7]印度中央咖啡研究所(CCRI)育种室前主任安桑塔拉姆(A Santa Ram)研究员:  
“White Stem Borer Resistance in Coffee Genetic Resources”PPT(2018年11月)
- [8]许勤周,译.印度咖啡虎天牛的防治[J].世界热带农业信息,1998,10:7-9.
- [9]张洪波,李文伟,赵云翔.云南小粒咖啡灭字脊虎天牛为害严重的原因及防治研究[J].云南热作科技,2002,25(4):17-21.
- [10]罗孙荣,陈铄,孙良,等.16%虫线清乳油防治咖啡灭字虎天牛试验[J].中国热带农业,2011,42(5):88-89.
- [11]郑勇,蒋智林,成文章.三种药剂对咖啡灭字脊虎天牛的防效比较[J].普洱学院学报,2016,32(3):1-3.
- [12]J.M.Waller,M.Blgger and R.J.Hillocks.Coffee Pests, Diseases and their Management[M].The UK by Biddles Ltd,King'Lynn,Norfolk.2007:314.
- [13]Jayarama and P.k Vinod Kumar .Sex Pheromone in the Control of Coffee White Stem Borer (*Xylotrechus – Quadripes* ) Indian coffee 2009 VOL.LXXIII 12:8-9.
- [14]Director of Research The Coffee White Stem Borer –Interventions for Effective Management Indian coffee 2009 VOL.LXXIII 9:13.
- [15]张洪波,白燕冰,李传辉,等.缅甸小粒种咖啡生产考察报告[J].云南热作科技,2017,40(4):11-16.
- [16]李宏峨,李林,朱江琴,等.保山市咖啡天牛发生情况调查初报[J].中国热带农业,2015,66(5):41-44.
- [17]WEI Jia ning -and KUANG Rong ping. Biological Control of Coffee Stem Borer *Xylotrechus – Quadripes* and *Acalolepta Cervinus*.by *Beauveria Bassiana* Preparation Entomologia Sinica Vol.9, No 2, June 2002, p. 43-50.
- [18]魏佳宇,于新文.思茅地区咖啡天敌的多样性调查和控制评价[J].生物多样性,1998,6(4):248-252.
- [19]黄雅志.咖啡旋皮锦天牛、灭字脊虎天牛和咖啡豹蠹蛾及其防治[J].云南热作科技,2000,23(1):5-9.

- [20]舒梅,成文章,李忠恒,等.思茅咖啡灭字脊虎天牛发生与危害调查[J].热带农业大学学报,2016,36(5):81-84.
- [21]Xiao Z.W., Zhang H.B.Chen Z.J.,etal. "Effect of seasonal shifts on bird communities within different coffee plantation patches in Ruili Yunnan China"(PA103).Proceedings of ASIC Conferences, 26nd International Conference on Coffee Science .China, 2016.
- [22]杨文波,吴国星,徐志强,等.管氏肿腿蜂对咖啡灭字脊虎天牛寄生作用的研究[J].环境昆虫学报,2017,39(2):405-410.
- [23]张洪波,赵云翔,蒋青年.咖啡灭字脊虎天牛捕捉器试验及其生物防治意义[J].云南热作科技,1999,22(1):12-13.
- [24]帅帅,庄翔麟,刘乃勇.灭字脊虎天牛触角转录组中气味结合蛋白基因的鉴定及表达谱分析.四川农业大学学报,2018,36(2):193-202.
- [25]王政,孙世伟,孟倩倩,等.咖啡灭字虎天牛触角和足感器的形态与分布观察[J].植物保护,2018,44(3):92-97.

# 云南 4 个地区咖啡品质分析

郭铁英, 张洪波, 周 华, 萧自位, 李锦红, 苏琳琳, 白学慧  
云南省德宏热带农业科学研究所

**摘要** 对来自文山、德宏、普洱和保山 4 个地区 16 个样品进行物理特性和杯品质量测定, 德宏与普洱咖啡生豆的物理特性较文山和保山的好, 德宏地区杯品质量最好, 但普洱地区的 16 号达到精品咖啡标准, 8 号非常接近精品咖啡标准。

**关键词** 咖啡; 物理特性; 杯品质量

咖啡, 世界三大饮料作物之首。作为饮料的咖啡, 属茜草科 (*Rubiaceae*) 咖啡属 (*Coffea spp.*), 主要栽培种有小粒种咖啡 (*Coffea arabica*)、中粒种咖啡 (*Coffea canephora*) 和大粒种咖啡 (*Coffea liberica*)。咖啡原产非洲塞俄比亚、刚果热带雨林区及中非和西非的热带雨林低地。现主要分布在南美洲、中美洲、西印度群岛、亚洲、非洲、阿拉伯国家、南太平洋及大洋洲等区域, 1884 年最早引入到中国。云南省咖啡种植始于 1900 年前后, 1952 年开始开展规模化种植, 2018 年种植面积 180 万亩, 在 12 个州(市) 44 个县(区) 种植, 有普洱、临沧、德宏、保山、西双版纳五大产区, 种植最多的是卡蒂姆类咖啡品种<sup>[1, 2]</sup>。

本文收集云南各产区咖啡生豆样品 16 份, 测定其物理特性、内含物以及杯品质量来综合评价其品质, 对比各个地区咖啡品质, 为咖啡生产和消费提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

收集云南各产区咖啡生豆样品, 收集地信息如表 1 所示。其中 1~5 收集自文山州麻栗坡县, 6 号和 8 号收集自德宏州, 8~10 号和 15 号、16 号收集自普洱市, 11~14 号收集自保山。

表 1: 咖啡生豆收集表

| 样品编号 | 样品采集地        | 采集地经纬度                     | 采集地海拔 |
|------|--------------|----------------------------|-------|
| 1 号  | 文山州麻栗坡县八布乡   | N: 23°12'47" E: 104°54'3"  | 513m  |
| 2 号  | 文山州麻栗坡县八布乡   |                            |       |
| 3 号  | 文山州麻栗坡县天保乡   |                            |       |
| 4 号  | 文山州麻栗坡县天保乡   | N: 22°59'21" E: 104°47'58" | 604m  |
| 5 号  | 文山州麻栗坡县天保乡   |                            |       |
| 6 号  | 德宏州芒市        | N: 24°24'24" E: 98°38'45"  | 1200m |
| 7 号  | 德宏州芒市        |                            |       |
| 8 号  | 普洱市思茅区       |                            |       |
| 9 号  | 普洱市思茅区       | N: 22°39'41" E: 100°57'28" | 1088m |
| 10 号 | 普洱市思茅区       |                            |       |
| 11 号 | 保山市隆阳区潞江镇新寨村 | N: 25°17'25" E: 98°50'13"  | 835m  |
| 12 号 | 保山市隆阳区潞江镇新寨村 |                            |       |
| 13 号 | 保山市百花岭       | N: 25°17'23" E: 98°48'09"  | 1385m |
| 14 号 | 保山市百花岭       |                            |       |
| 15 号 | 普洱市澜沧县       | N: 22°35'14" E: 99°54'10"  | 1035m |
| 16 号 | 普洱市江城        | N: 22°39'41" E: 100°57'28" | 1088m |

**作者简介** 郭铁英, 1982 年, 女, 副研究员, 研究方向咖啡种植资源与遗传育种, 邮箱: arabicacoffee@qq.com。  
**通讯作者** 白学慧, 1982 年, 男, 副研究员, 研究方向咖啡病理学, 邮箱: 724180976@qq.com。

## 1.2 方法

### 1.2.1 物理特性测定

取 300g 样品,测定千粒重,按照 GBT 15033-2009 和 NY/T 1519-2007/ISO 1047:2004 测定正常豆比率(占样品总量比率, %),将咖啡豆碎粒和碎豆通归为碎豆并测定其比率(占样品总量比率, %),除咖啡豆碎粒和碎豆外其余缺陷豆通归为其他缺陷豆并测定其比率(占样品总量比率, %) [3]。所有测定重复 3 次取平均值。

### 1.2.2 杯品质量测定

委托北京君捷西中贸易有限公司进行杯品质量评估。杯测采用 SCAA(美国精品咖啡学会, Specialty Coffee Association of America)方法及流程。评测项目:干香/湿香( Fragrance/Aroma)、酸度(Acidity)、风味(Flavor)、醇度(Body)、回甘度( Aftertaste)、平衡度( Balance)、整体评价(Overall)、一致性(Uniformity)、甜度( Sweetness)、干净度(Clean Cup)。评分标准:满分为 100 分,单项满分为 10 分,其中一致性、甜度、干净度按常规 10 分记录。

烘焙度采取焦糖化指数 58/63 烘焙;10 克咖啡粉,中等粒度研磨;180 毫升 93.33℃左右热水直接冲泡;浸泡 4 分钟后破渣;8-10 分钟间开始进行品测。

使用的仪器设备等其他条件有:烘焙机,PROASTER 1.5KG;电子称 BONAVIDA( 3000G,称量精度 0.1G);磨豆机, Mahlkonig EK43;杯测碗,200ML 杯测专用;杯测勺,不锈钢杯测专用勺;热水壶, BONAVIDA 温控水壶;水,符合杯测标准的水( 125-175PPM);浓度检测仪, VST 浓度检测仪;焦糖化检测仪, RoAmi;杯测人员:10 人;地点:北京。

## 1.3 数据分析

数据收集整理使用 excel 2010,差异性分析使用 SPSS 22.0。

## 2 结果与分析

### 2.1 物理特性评价

不同的缺陷豆,具有不同的成因及特性,对焙炒和杯品质量也会产生不同的影响。根据 NY/T 1519-2007/ISO 1047:2004 中缺陷豆成因,咖啡豆碎粒和碎豆主要是由于去种皮和/或去果壳时形成,因此本文中归为一类,统称为碎豆;其余缺陷豆统归为一类,称为其它缺陷豆 [3]。

对 4 个地区的千粒重、筛上豆重、正常豆比率、碎豆率和其它缺陷豆比率分别取平均值,假定方差齐性,在 0.05 水平上分别进行多重比较。4 个地区样品千粒重,显著性 0.001, F 值 12.434,其中文山与德宏、普洱之间、普洱与保山之间样品千粒重差异显著。4 个地区样品筛上豆重,显著性 0.006, F 值 6.944,其中文山与德宏、普洱之间差异显著,保山与德宏、普洱之间差异显著。4 个地区样品正常豆比率,显著性 0.000, F 值 16.317,方差不齐。对 4 个地区样品的碎豆率取平均值,进行均值多重比较,显著性 0.004, F 值 7.766,其中文山与德宏、普洱、保山之间差异显著。文山样品碎豆率最高,结果通正常豆比率相同。4 个地区样品的其它缺陷豆比率,显著性 0.107, F 值 2.528,各地区间差异不显著。

从各地区样品均值上看,普洱地区样品千粒重最重,文山样品千粒重最轻;筛上豆重最高是德宏,其次是普洱,说明德宏与普洱样品豆粒较大,文山和保山豆粒较小;文山样品正常豆比率均值最小,碎豆比率和其他缺陷豆比率最高,说明其可以利用的豆较少。

综合来看,德宏与普洱样品样品物理特性较文山和保山的好。

表 2: 物理特性测定评价

| 采样地 | 样品编号 | 千粒重 (g)       | 筛上豆重 (g)      | 正常豆比率 (%)    | 碎豆率 (%)      | 其它缺陷豆比率 (%)  |
|-----|------|---------------|---------------|--------------|--------------|--------------|
| 文山  | 1 号  | 113.7         | 82.8          | 60.85        | 9.1          | 28.97        |
|     | 2 号  | 106           | 103.5         | 67.5         | 26.5         | 6            |
|     | 3 号  | 120           | 111           | 67.06        | 20.47        | 12.5         |
|     | 4 号  | 134.8         | 164.5         | 82.91        | 7.8          | 9.87         |
|     | 5 号  | 130.8         | 139.2         | 76.71        | 10.23        | 13.07        |
|     | 均值   | <b>121.06</b> | <b>120.20</b> | <b>71.01</b> | <b>14.82</b> | <b>14.08</b> |
| 德宏  | 6 号  | 137.6         | 218.1         | 94.1         | 1.07         | 7.37         |
|     | 7 号  | 155.8         | 255.9         | 86.9         | 4.67         | 12.27        |
|     | 均值   | <b>146.70</b> | <b>237.00</b> | <b>90.50</b> | <b>2.87</b>  | <b>9.82</b>  |
| 普洱  | 8 号  | 163.8         | 190.8         | 94           | 4.5          | 4.4          |

|    |           |               |               |              |             |             |
|----|-----------|---------------|---------------|--------------|-------------|-------------|
|    | 9号        | 180.3         | 261.8         | 86.25        | 3.17        | 13.57       |
|    | 10号       | 153           | 135           | 93.5         | 0           | 6.1         |
|    | 15号       | 151.5         | 196.9         | 98.08        | 0           | 6.13        |
|    | 16号       | 187           | 295.7         | 98.57        | 0           | 3.77        |
|    | <b>均值</b> | <b>167.12</b> | <b>216.04</b> | <b>94.08</b> | <b>1.53</b> | <b>6.79</b> |
| 保山 | 11号       | 130           | 136.5         | 94.5         | 3           | 2.43        |
|    | 12号       | 134.8         | 157.2         | 97           | 0           | 4.9         |
|    | 13号       | 130           | 102           | 92.5         | 2           | 6           |
|    | 14号       | 140           | 96            | 95           | 1.5         | 3.5         |
|    | <b>均值</b> | <b>133.70</b> | <b>122.93</b> | <b>94.75</b> | <b>1.63</b> | <b>4.21</b> |

## 2.2 杯品质量评价

对 17 个样品进行杯品测定，其中 7 号和 16 号达到了精品咖啡标准（杯测分数大于 >80 分），6 号、8 号和 13 号接近精品咖啡标准，17 号最差。

对 4 个地区的样品杯测总分分别取平均值，假定方差齐性，在 0.05 水平上分别进行多重比较，显著性 0.114 (>0.05)，F 值 2.448，各地区间差异不显著。从各地区杯测平均值来看，德宏地区杯测结果最好，文山杯测结果最差。

表 3：杯测结果

| 地点 | 样品编号 | 杯测总分  | 平均值   |
|----|------|-------|-------|
| 文山 | 1号   | 78.25 | 77.72 |
|    | 2号   | 78.25 |       |
|    | 3号   | 78    |       |
|    | 4号   | 76.33 |       |
|    | 5号   | 77.79 |       |
| 德宏 | 6号   | 79.79 | 80.77 |
|    | 7号   | 81.75 |       |
| 普洱 | 8号   | 79.29 | 77.96 |
|    | 9号   | 78.25 |       |
|    | 10号  | 76.33 |       |
|    | 15号  | 75.42 |       |
| 保山 | 16号  | 80.5  | 78.69 |
|    | 11号  | 78.04 |       |
|    | 12号  | 78.54 |       |
|    | 13号  | 79.96 |       |
|    | 14号  | 78.2  |       |

## 3 讨论

根据 NY/T 1519-2007/ISO 1047:2004 对缺陷豆分类，不同的缺陷豆，具有不同的成因及特性，对焙炒和杯品质量也会产生不同的影响。其中，不完整豆中咖啡豆碎粒（体积小于一半的碎豆）和碎豆（体积大于或等于一半的碎豆），通常均由人工分拣出来，主要在去种皮和/或去果壳时形成，因此本文中将其分为一类进行测定，其余缺陷豆统归为一类，称为其它缺陷豆。

对比测定结果，从均值上讲，德宏与普洱咖啡生豆的物理特性较文山和保山的好，德宏地区杯品质量最好，但普洱地区的 16 号达到精品咖啡标准，8 号非常接近精品咖啡标准。因为海拔是影响咖啡品质的一个重要地理因子，因此此次试验结果仅供生产和科研上参考。

参考文献

- [1] 张晓芳,杨积忠,邹雅卉,黄家雄,李亚男,何红艳,武瑞瑞,罗心平.保山市咖啡产业发展的 SWOT 分析[J].农产品加工,2018(13):40-43+46.
- [2] 云南省咖啡产业发展报告[J].云南农业,2018(12):27-31.
- [3] NY/T 1519-2007/ISO 1047:2004, 生咖啡 缺陷参考图[S].中华人民共和国农业部, 2007

# 剑麻酵母双杂交 cDNA 表达文库的构建及与 AhKNOX2 相互作用蛋白的筛选<sup>#</sup>

杨子平<sup>1</sup>, 孙艺桓<sup>1,2</sup>, 杨倩<sup>1</sup>, 鹿志伟<sup>1</sup>, 张燕梅<sup>1</sup>, 李俊峰<sup>1</sup>, 周文钊<sup>1\*</sup>

1. 中国热带农业科学院南亚热带作物研究所, 湛江市热带作物遗传改良重点实验室, 广东, 湛江, 524091; 2. 中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京, 100081

**摘要** 植物 KNOX 可以通过蛋白质相互作用参与调控落果、纤维细胞发育、次生细胞壁发育、开花等事件。为筛选剑麻叶中与 AhKNOX2 相互作用的蛋白, 采用 SMART 同源重组技术构建了剑麻叶片酵母双杂交表达文库, 利用 *AhKNOX2* 为诱饵载体筛选了与之相互作用的蛋白。结果表明, 文库总容量为  $3.9 \times 10^6$  cfu, 转化效率为  $9.15 \times 10^5$  cfu/ $\mu$ g pGADT7-Rec, 插入片段大小主要分布于 0.5 kb 至 3.0 kb 间, 重组率为 92%; 保存的文库细胞密度为  $1.35 \times 10^8$ /mL, 文库滴度为  $2.22 \times 10^7$  cfu/mL。构建的 pGBKT7-*AhKNOX2* 诱饵载体存在自激活性, 5mM 的 AT 能抑制诱饵载体的自激活性, 通过筛选获得了 16 个与 AhKNOX2 相互作用的蛋白。本文成功构建剑麻叶片交母表达文库, 并获得与 *AhKNOX2* 相互作用的蛋白, 为进一步研究 *AhKNOX2* 在剑麻中的功能奠定基础。

**关键词** 剑麻; *AhKNOX2*; 酵母双杂交; cDNA 文库; 蛋白质相互作用

## Construction of Yeast Two-hybrid Library of *Agave hybrid* No.11648 and Screening of Proteins Interacting with AhKNOX2

YANG Ziping<sup>1</sup>, SUN Yihuan<sup>1,2</sup>, LU Zhiwei<sup>1</sup>, ZHANG Yanmei<sup>1</sup>, LI Junfeng<sup>1</sup>, ZHOU Wenzhao<sup>1</sup>

1. Tropical Crop Genetic Improvement Key Laboratory of Zhanjiang/South Subtropical Crops institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Zhanjiang, 524091, China; 2. College of Plant Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan, 430070, China

**Abstract** To obtain the proteins interacting with AhKNOX2 in *Agave hybrid* No.11648, a full length-expression cDNA library was constructed in yeast strain Y187 using homologous recombination-mediated SMART technology. The results showed that the capacity of cDNA library was  $3.9 \times 10^6$  cfu and transformation efficiency was about  $9.15 \times 10^5$  cfu/ $\mu$ g pGADT7-Rec. The PCR amplification of 24 clones randomly selected from the cDNA library indicated that the lengths of most inserts ranged from 0.5 kb to 3.0 kb, with the recombination rate of 92%. The cell density was  $1.35 \times 10^8$ /mL and the titer was up to  $2.22 \times 10^7$  cfu/mL. The bait vector (pGBKT7-*AhKNOX2*) was transformed into yeast strain Y2HGold, colonies appeared on SD/-Trp/-His media and was inhibited by 5mM 3-AT. After screening the library using bait plasmids, a total of 16 proteins interacting with AhKNOX2 were obtained by sequencing and homology analysis. In conclusion, a high-quality cDNA library was constructed and 16 proteins interacting with AhKNOX2 were screened from cDNA library.

**Keyword** *Agave hybrid* No.11648; KNOX Gene; Yeast two-hybrid; cDNA library; Protein-protein interaction

同源异型盒基因 (homeobox genes) 广泛存在于真核生物中, 编码一类含有保守同源异型盒结构域 (homeodomain, HD) 的转录因子, 在生物个体形态建成、生殖发育、细胞命运、非生物胁迫等生命活动中发挥重要调控作用<sup>[1-6]</sup>。根据结构域的特征和系统发育关系, 同源异型盒基因分成 14 大类, 即 HD-ZIP I、HD-ZIP II、HD-ZIP III、HD-ZIP IV、PLINC、WOX、DDT、PHD、NDX、LD、PINTOX、SAWADEE、KNOX 和 BEL。

*KNOX* (*Knotted1-like homeobox*) 基因家族几乎存在于所有植物中, 其编码蛋白 N 端至 C 端依次存在 MEINOX、GSE、ELK、HD 四个保守结构域, MEINOX (包含 KNOX1 和 KNOX2 结构域) 和 ELK 结构域与蛋白质间的相互作用有关, 核定位信号位于 ELK 结构域, GSE 结构域涉及泛素降解途径调节蛋白的稳定性, HD 位于蛋白的 C 端<sup>[7]</sup>。由于在植物中的表达模式和基因中内含子位置存在差异, KNOX 亚家族被进一步分为 Class I 和 Class II 两大亚家族<sup>[8]</sup>。Class I 类亚家族主要在分生组织表达, 是分生组织发生与维持所必需的关键转录基因, 参与侧生器官的形态建成<sup>[9-10]</sup>、调控激素<sup>[11-12]</sup>和木质素合成<sup>[13-14]</sup>; Class II 类亚家族在所有植物组织均有表达, 目前发现调控植物次生细胞壁形成和纤维的发育<sup>[15-17]</sup>。

现有研究发现 KNOX 成员可以通过蛋白质相互作用, 形成复合物调控植物细胞壁的形成、木质素的合成、细胞壁的扩张和加固<sup>[18-21]</sup>。Abraham-Juárez 首次报道了剑麻两个 I 类 KNOX 基因<sup>[22]</sup>。接着 Zhou 等人发现一个 I 类 KNOX 基因在茎尖分生组织和幼龄的叶片高表达<sup>[23]</sup>。Gross 等的研究结果则表明剑麻 I 类 KNOX 基因

**基金项目** 现代农业产业技术体系建设专项 (No. CARS-16); 国家自然科学基金青年项目 (No. 31801679); 中国热带农业科学院基本科研业务费专项 (No. 1630062018010)。

**作者简介** 杨子平 (1984—), 男, 博士, 助理研究员; 研究方向: 植物分子生物学; E-mail: yangziping302@163.com; \*通讯作者: 周文钊 (ZHOU Wenzhao), E-mail: zwenzhao@163.com。

在叶片基部表达, 在叶片中上部不表达<sup>[24]</sup>, 剑麻中 I 类 KNOX 基因的这种特殊表达模式, 是否暗示他们调控剑麻叶片和纤维发育还未知。本课题组克隆了国内主栽品种 H.11648 (*Agave hybrid* No.11648) *AhKNOX2* 基因, 因此, 本研究通过酵母双杂交筛选了与 *AhKNOX2* 相互作用的蛋白, 为进一步阐明剑麻 *AhKNOX2* 的功能和研究 *AhKNOX2* 的调控网络奠定重要基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

剑麻 H.11648 采自中国热带农业科学院亚热带作物研究所剑麻种质保存圃; RNA 提取试剂盒购自北京华越洋生物科技有限公司; 反转录试剂盒、Hi-Fusion 试剂盒、*Nde* I 和 *Bam*HI 购自江苏愚公生命科技有限公司; 双链 cDNA 纯化、酵母转化和文库构建试剂盒购自 Clontech 公司; 用于配制酵母培养基的试剂和其他试剂购自 Sigma-Aldrich 公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 总 RNA 的提取

采集 H.11648 品种 5 龄植株叶样品, 液氮速冻。将样品研磨成粉, 按照华越洋多糖多酚 RNA 提取试剂盒操作, 取 50-100 mg 提取其总 RNA。

#### 1.2.2 RNA 的反转录

反转录按照愚公生物 M-MLV GIII First-Strand Synthesis Kit 操作。反应体系中加入 1.0  $\mu$ L CDS III 和 1.0  $\mu$ L SMART III 引物, 以提取的总 RNA 为模板, 反转录获得带同源重组接头的单链 cDNA。反转录程序为: 55  $^{\circ}$ C 30 min; 85  $^{\circ}$ C 1 min。CDS III 和 1.0  $\mu$ L SMART III 引物序列见表 1。

#### 1.2.3 双链 cDNA 的合成

以反转录的单链 cDNA 为模板, 加入 5' PCR 引物和 3' PCR 引物, 利用 Advantage 2 Polymerase Mix 合成双链 cDNA。PCR 扩增条件为: 95  $^{\circ}$ C 30 s; 95  $^{\circ}$ C 10 s; 68  $^{\circ}$ C 6 min; 68  $^{\circ}$ C 5 min, 26 个循环。引物序列见表 1。5' PCR 引物和 3' PCR 引物序列见表 1。

#### 1.2.4 双链 cDNA 的纯化

预先将 CHROMA SPIN<sup>TM</sup> TE-400 纯化柱中胶体和缓冲液混合均匀, 瞬时离心弃液体。将 93  $\mu$ L 双链 cDNA 加入纯化柱胶体, 5 000 r  $\cdot$  min<sup>-1</sup> 5 min。向收集液中加入 2.5 倍体积无水乙醇和 1/10 体积的 3 mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> NaAc, 置于 -20  $^{\circ}$ C 沉淀 DNA。用 20  $\mu$ L 无菌水溶解沉淀物, 并测定双链 cDNA 浓度。

#### 1.2.5 文库构建

按照 Yeastmaker<sup>TM</sup> Yeast Transformation System 2 操作制备酵母感受态细胞。取纯化的双链 cDNA (2 - 5  $\mu$ g) 与 3  $\mu$ g 线性化 pGADT7-Rec 质粒共转化 Y187 酵母菌, 转化菌体用 6 mL 生理盐水悬浮, 每个平板 100  $\mu$ L, 将悬浮液涂布于 SD/-Leu 平板, 30  $^{\circ}$ C 培养 5 d。将培养平板 4  $^{\circ}$ C 放置 4 h, 向平板加入 5 mL 液体 YPDA 培养基 (含 25% 的甘油), 用涂布棒刮离酵母菌, 收集菌体悬浮液。浓缩文库体积, 血球板计数法计算细胞密度, 使文库细胞密度大于 2  $\times$  10<sup>7</sup>/mL。按每管 1 mL, 将浓缩液分装于 1.5 mL 无菌管中, 保存于 -80  $^{\circ}$ C。

1.2.6 文库质量检测 取 100  $\mu$ L 悬浮液用生理盐水逐步稀释 10 倍和 100 倍, 取 100  $\mu$ L 稀释液涂布 SD/-Leu 平板, 30  $^{\circ}$ C 培养 5 d。采用 ImageJ 软件统计生长菌落数。按照如下公式分别计算文库容量和转化效率:

$$\text{文库总容量(cfu)} = \frac{\text{SD/-Leu 平板上菌落数(cfu)}}{\text{涂板体积(mL)}} \times \text{悬浮体积(mL)} \times \text{稀释倍数}$$

$$\text{转化效率(cfu/\mu g)} = \frac{\text{SD/-Leu 平板上菌落数(cfu)} \times \text{悬浮体积(mL)}}{\text{涂板体积(mL)} \times \text{DNA 量(\mu g)}} \times \text{稀释倍数}$$

挑取 SD/-Leu 平板上的菌落, 利用 pGADT7-Rec 的载体引物 PCR 鉴定插入片段。PCR 扩增条件为: 95  $^{\circ}$ C 10 min; 95  $^{\circ}$ C 45 s; 58  $^{\circ}$ C 45 s; 72  $^{\circ}$ C 3 min; 72  $^{\circ}$ C 5 min; 55 个循环。1% 琼脂糖凝胶电泳检测。按照如下公式计算重组率:

$$\text{重组率(\%)} = \frac{\text{阳性克隆数}}{\text{检测菌落数}} \times 100\%$$

取 10  $\mu$ L 文库保存液悬浮于 1 mL YPDA 液体培养基中, 混合均匀得稀释液 A (稀释度 10<sup>-2</sup>)。从稀释液 A 中吸取 10  $\mu$ L 悬浮液加入 1 mL YPDA 液体培养基中, 混合均匀得稀释液 B (稀释度 10<sup>-4</sup>)。分别从稀释液 A 和稀释液 B 中取 10  $\mu$ L 和 50  $\mu$ L 悬浮液涂布于 SD/-Leu 平板, 30  $^{\circ}$ C 培养 5 d。采用 ImageJ 软件统计生长菌落数。按照如下公式计算文库滴度:

$$\text{滴度} = \frac{\text{SD/-Leu 平板上菌落数(cfu)}}{\text{涂板体积(mL)} \times \text{稀释倍数}}$$

#### 1.2.7 诱饵载体构建

设计携带 *Nde* I 和 *Bam*HI 酶切位点的特异引物 (表 1), 扩增 *AhKNOX2* 编码框。将 *AhKNOX2* 编码框插



入 pGBKT7 载体, 构建诱饵载体。诱饵载体双酶切检测并送测序。

1.2.8 诱饵载体自激活检测及 3AT 抑制浓度筛选 将 pGBKT7- *AhKNOX2* 载体转化 Y2HGold 酵母菌株, 转化液分别涂布于 SD/-Trp、SD/-Leu、SD/-Trp/-Ade 和 SD/-Trp/-His 平板, 30℃ 培养 5 d, 以检测诱饵载体是否具有自激活性。将携带有诱饵载体的 Y2HGold 酵母菌株涂布于含不同浓度的 3-Amino-1,2,4-triazole (3-AT) SD/-Trp/-His, 30℃ 培养 5 d, 以确定 3-AT 的抑制浓度。

### 1.2.9 互作蛋白筛选

使用 50mL SD/-Trp 液体培养基扩大含诱饵载体的 Y2HGold 酵母菌株, 收集菌体与 1 mL 文库菌体混合于 50 mL 2×YPDA 液体培养基中, 30℃ 培养 20-24 h。收集菌体, 使用 10 mL 0.5×YPDA 液体培养悬浮共培养的菌体, 并涂布于含 3-AT 的 SD/-Trp/-Leu/-His 平板, 30℃ 培养 5 d。挑取筛选平板的长出的菌落, 转接三次到 SD/-Trp/-Leu/-His 平板上。挑取剩下活的菌落, 接种于 SD/-Trp/-Leu 液体培养基中, 30℃、250 rpm 培养 20-24 h, 收集菌体提取酵母质粒。质粒转化 DH5 $\alpha$  大肠杆菌并提取质粒送测序。

### 1.2.10 候选蛋白的注释

采用本地 Blast 的方式, 将测序序列与剑麻 H.11648 的转录组序列进行比对, 根据转录组的注释序列, 获得候选蛋白的功能等信息。

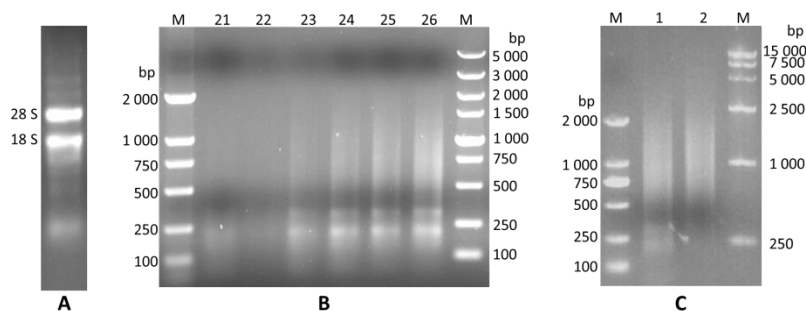
表 2 实验中用到的 PCR 引物

Table 2 List of the primers

| 引物名称            | 引物用途                            | 引物序列 (5'-3')                            | 酶切位点             |
|-----------------|---------------------------------|---|------------------|
| Primer name     | Usage                           | sequence of primer                      | Restriction site |
| SMART III Oligo | For first-strand cDNA synthesis | AAGCAGTGGTATCAACGCAGAGTGGCCATTATGGCCGGG |                  |
| CDS III Primer  |                                 | ATTCTAGAGGCCGAGGCGGCCGACATG-d(T)30VN    |                  |
| 5'PCR Primer    | For cDNA amplification          | TTCCACCCAAGCAGTGGTATCAACGCAGAGTGG       |                  |
| 3'PCR Primer    |                                 | GTATCGATGCCACCCTCTAGAGGCCGAGGCGGCCGACA  |                  |
| PGAD-5'         | For sequencing of PGADT7        | CTATTCGATGATGAAGATACCCACCAAACCC         |                  |
| PGAD-3'         |                                 | GTGAAGTTCGGGGTTTTTTCAGTATCTACGAT        |                  |
| BK-AhKNOX2-F    | For constructing of bait vector | ACACATATGGAGGAGATGTACGGCCTG             | <i>Nde</i> I     |
| BK-AhKNOX2-R    |                                 | TGTGGATCCGTCGTCGTCATAGAATGGTGC          | <i>Bam</i> HI    |

## 2 结果与分析

2.1 总 RNA 的提取 提取的剑麻总 RNA 经 1% 琼脂糖凝胶检测, 结果显示 28S 和 18S 条带清晰, RNA 未降解 (图 1A); OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 比值为 1.95。结果表明提取的总 RNA 纯度和质量较高, 可用于下步实验。



A: 剑麻总 RNA; B: 不同循环数下合成双链 cDNA 产物. 21-26: PCR 循环数; M: DNA Marker; C: 未纯化和纯化双链 cDNA. 1: 未纯化双链 DNA; 2: 纯化双链 DNA; M: DNA Marker.

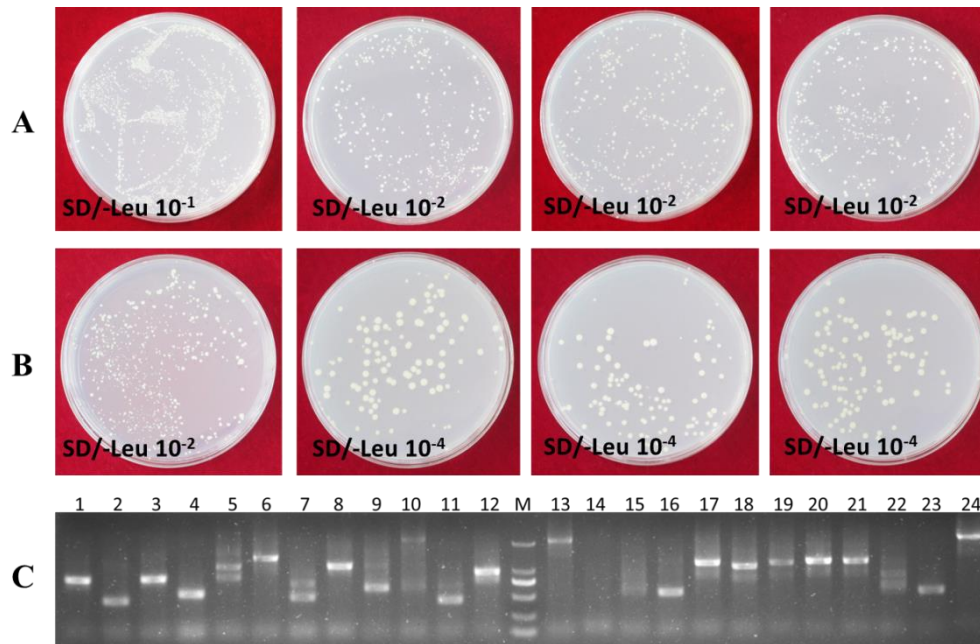
图 1 总 RNA 及双链 cDNA 检测

A: Total RNA from leave of *Agave sisalana*; B: The ds cDNA amplified under difference cycles. 21-26: PCR cycles; M: DNA Marker; C: Unpurified and purification of ds cDNA. 1: unpurified ds cDNA; 2: Purified ds cDNA; M: DNA Marker.

Fig 1 Agarose gel electrophoresis analysis of total RNA and double-strand cDNA (ds cDNA)

### 2.2 cDNA 的合成及纯化

分别在合成双链 cDNA 的第 21 个循环至 26 个循环取 5  $\mu$ L PCR 产物, 经 1% 琼脂糖凝胶检测, 结果显示第 21 和 22 个循环的 PCR 产物不明显, 从第 23 个循环开始, PCR 产物明显且浓度逐渐增加 (图 1B)。合成的 cDNA 片段分布于 0.2 kb 至 5.0 kb 间, 且主要集中在 1.0 kb 左右。对第 26 个循环合成的双链 cDNA 进行纯化, 纯化的双链 cDNA 中 0.5 kb 以下小片段含量明显降低 (图 1C), 纯化的双链 cDNA 总量为 4.26  $\mu$ g (213 ng/ $\mu$ L)。



A: 转化效率检测.  $10^{-1}$  和  $10^{-2}$  倍文库液稀释液在 SD/-Leu 平板上生长情况; B: 滴度检测.  $10^{-2}$  和  $10^{-4}$  倍文库液稀释液在 SD/-Leu 平板上生长情况; C: 插入片段 PCR 检测. 1-24: 挑取菌落编号; M: DNA Marker.

图2 文库质量检测

A: Transformation efficiency detection of library. Number of independent yeast colonies of  $10^{-1}$ -fold and  $10^{-2}$ -fold dilution on SD/-Leu; B: Titer detection of library. Number of independent yeast colonies of  $10^{-2}$ -fold and  $10^{-4}$ -fold dilution on SD/-Leu; C: Insert fragments detection of library by PCR. 1-24: Number of independent yeast colonies; M: DNA Marker

Fig 2 Quality detection of library

### 2.3 文库构建及质量检测

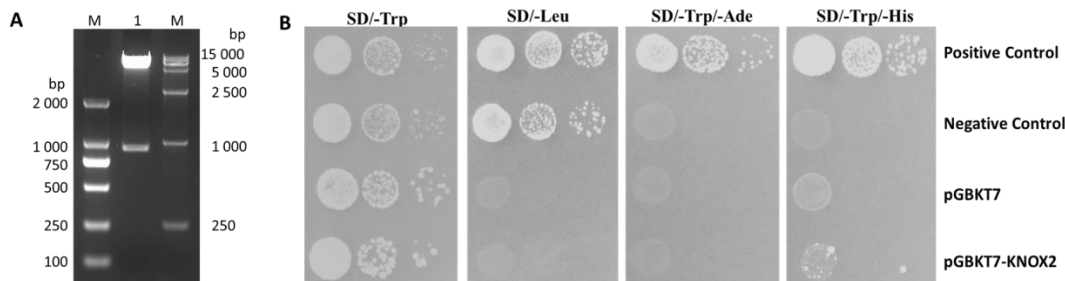
ImageJ 软件统计  $100 \mu\text{L}$   $10^{-2}$  倍的文库稀释液在 SD/-Leu 平板上平均长出了 650 个单菌落 (图 2 A), 文库总容量为  $3.9 \times 10^6$  cfu, 转化效率为  $9.15 \times 10^5$  cfu/ $\mu\text{g}$  pGADT7-Rec.  $100$  倍稀释液经镜检,  $80$  个小格共计  $27$  个酵母细胞, 文库细胞密度为  $1.35 \times 10^8$ /mL. ImageJ 软件统计  $50 \mu\text{L}$   $10^{-4}$  倍的文库稀释液在 SD/-Leu 平板上平均长出了  $111$  个单菌落 (图 2 B), 文库滴度为  $2.22 \times 10^7$  cfu/mL. 菌落 PCR 产物经  $1\%$  琼脂糖检测, 结果显示插入片段在  $0.5$  kb 至  $3.0$  kb 间, 少量酵母菌含有多个重组质粒 (图 3), 重组率为  $92\%$ .

### 2.4 诱饵载体构建

pGBKT7- *AhKNOX2* 载体经 *Nde* I 和 *Bam*H I 内切酶双酶切出现  $900$  bp 左右条带 (图 3A), 测序结果表明插入片段即为 *AhKNOX2* 的编码框, 双酶切和测序结果说明诱饵载体构建成功.

### 2.5 自激活检测

p53 蛋白和 T-antigen 存在相互作用, 因此阳性对照可在三个培养基上生长. Lam 和 T-antigen 不存在相互作用, 因此阴性对照仅在 SD/-Trp 和 SD/-Leu 培养基上生长. 而携带 pGBKT7 载体的 Y2HGold 酵母仅能在 SD/-Trp 培养基上生长. 由于 pGBKT7 携带有 *TRP1* 基因, 因此含有 pGBKT7-*AhKNOX2* 载体的 Y2HGold 酵母可在 SD/-Trp 培养基上生长, 但是还发现含有 pGBKT7- *AhKNOX2* 载体的 Y2HGold 酵母能在 SD/-Trp/-His 培养基上生长 (图 3B), 结果说明诱饵载体有自激活活性.



A: pGBKT7-*AhKNOX2* 双酶切检测 (使用 *Nde* I 和 *Bam*H I 双酶切 pGBKT7-*AhKNOX2* 载体); B: 诱饵载体自激活检测 (阳性对照携带 pGBKT7-53 和 pGADT7-T 质粒, 阴性对照携带 pGBKT7-Lam 和 pGADT7-T 质粒)

图3 诱饵载体双酶切分析及自激活检测

A: Restriction enzyme analysis of the pGBKT7-*AhKNOX2* (M: Marker; 1: pGBKT7-*AhKNOX2*/*Nde* I+*Bam*H I); B: Autoactivation detection of the bait vector (Positive Control Mating: Y2HGold [pGBKT7-53] and Y187[pGADT7-T], Negative Control Mating: Y2HGold [pGBKT7-Lam] and Y187 [pGADT7-T])

Fig 3 Restriction enzyme analysis and autoactivation detection of the bait vector

### 2.6 3-AT 抑制浓度筛选

由于 *KNOX2* 存在自激活活性, 能激活 His 的表达, 使 Y2HGold 酵母能在缺 His 氨基酸的培养基生长, 因

此采用在培养基中加入 3-AT 来抑制 His 的表达。含有 pGBKT7-*AhKNOX2* 载体的 Y2HGold 酵母能在不含 3-AT 的 SD/-Trp/-His 培养基上生长,而在加了 5 mM 3-AT 至含更高浓度 3-AT 的 SD/-Trp/-His 培养基上不能生长(图 3C)。由结果可知, 5 mM 的 3-AT 就能抑制诱饵载体的自激活性。



图 4 3-AT 抑制浓度筛选

Fig.4 Determining the minimal inhibitory concentration of 3-AT

## 2.7 互作蛋白筛选

经筛选, 获得 16 个与 *AhKNOX2* 相互作用的候选蛋白, 将测序序列与剑麻转录组数据比对, 获得与 *AhKNOX2* 相互作用蛋白基因的注释信息(表 2)。根据候选蛋白的功能, 可分为蛋白/DNA 结合蛋白、蛋白/RNA 结合蛋白、核苷酸结合蛋白、蛋白质代谢、蛋白质加工、碳水化合物代谢、光形态建成和未知蛋白八大类。

表 1 与 *AhKNOX2* 相互作用蛋白

Table 1 List of proteins interacted with *AhKNOX2*

| 编号<br>ID | 蛋白名称<br>Homologous protein                               | cDNA 长度<br>cDNA length | Score 值<br>Score | E-值<br>E-value | 功能<br>function |
|----------|--|------------------------|------------------|----------------|----------------|
| 1        | MADS-box protein JOINTLESS                               | 1147                   | 1229             | 0              | 蛋白/DNA 结合蛋白    |
| 2        | Transcription factor VOZ1-like                           | 1204                   | 1965             | 0              | 蛋白/DNA 结合蛋白    |
| 3        | Transcription factor bHLH36-like isoform                 | 850                    | 1431             | 0              | 蛋白/DNA 结合蛋白    |
| 4        | TBP1 TATA-box-binding protein                            | 1497                   | 1932             | 0              | 蛋白/DNA 结合蛋白    |
| 5        | KH domain-containing protein                             | 937                    | 1544             | 0              | 蛋白/RNA 结合蛋白    |
| 6        | Extra-large guanine nucleotide-binding protein 3 isoform | 723                    | 744              | 0              | 核苷酸 结合蛋白       |
| 7        | RING-H2 finger protein                                   | 1841                   | 3180             | 0              | 蛋白质代谢          |
| 8        | DnaJ protein homolog                                     | 996                    | 895              | 0              | 蛋白质加工          |
| 9        | Beta-hexosaminidase 1                                    | 1521                   | 2610             | 0              | 碳水化合物代谢        |
| 10       | Phosphoenolpyruvate carboxylase 2                        | 693                    | 1045             | 0              | 碳水化合物代谢        |
| 11       | 2-oxoglutarate-dependent dioxygenase AOP2-like           | 608                    | 704              | 0              | 碳水化合物代谢        |
| 12       | ENO1 enolase   | 1682                   | 2830             | 0              | 碳水化合物代谢        |
| 13       | Ribulose-phosphate 3-epimerase                           | 888                    | 1036             | 0              | 碳水化合物代谢        |
| 14       | SPA1-RELATED 2-like protein                              | 958                    | 946              | 0              | 光形态建成          |
| 15       | Hypothetical protein AXF42                               | 520                    | 663              | 0              | 未知蛋白           |
| 16       | Uncharacterized protein At4g10930                        | 744                    | 1249             | 0              | 未知蛋白           |

## 3 讨论

酵母双杂交是目前能够高通量筛选相互作用蛋白的技术之一。本研究采用的是 Clontech 的酵母双杂交系统, 该系统是将 GAL4 转录因子的 N 端 (DNA 结合结构域) 和 C 端 (转录激活结构域) 分别与诱饵蛋白和猎物蛋白融合表达, 通过诱饵蛋白和猎物蛋白的相互作用, 缩短空间距离, 从而使 GAL4 蛋白恢复转录因子功能。因此, 一旦诱饵蛋白 (与 GAL4 的 N 端结合结构域融合表达) 存在转录激活活性, 在没有发生蛋白相互作用的情况下也能在筛选培养基上生长, 这将导致大量假阳性。而大多转录因子具备转录激活功能, 这就导致构建的诱饵载体往往存在自激活性, 因此抑制诱饵载体的自激活性是降低假阳性的一个关键。本实验发现构建的 pGBKT7-*AhKNOX2* 存在自激活性, 采用 5 mM 的 3-AT 能抑制其自激活能力, 降低了假阳性率。

*KNOX* 可以通过蛋白质相互作用参与调控植物发育的多个事件, 目前发现与 *KNOX* 相互作用的蛋白主要是转录因子, 如与 *SH5* 相互作用抑制木质素的合成, 调控落果<sup>[20]</sup>; 与 *OFP* 和 *MYB* 转录因子相互作用, 调控纤维细胞和次生细胞壁发育<sup>[16-17,19]</sup>; 与 *NAC* 直接相互作用, 抑制其下游基因 *CESAs* 等的表达, 调控细胞壁加厚<sup>[21]</sup>; 与水稻生长调控因子 *GRF4* 互作, 抑制其下游基因 *Expansin* 等的表达, 调控细胞扩展<sup>[21]</sup>; 与 *KNOX* 同源蛋白间相互作用, 调控开花<sup>[25-26]</sup>。本研究通过筛选, 一共获得 16 个阳性克隆, 其中 3 个为转录因子 (*MADS*、*VOZ*、*bHLH*), *AhKNOX2* 与这些蛋白的相互作用在剑麻中的具体功能还有待深入研究。

## 参考文献

- [1] Li P, Ponnala L, Gandotra N, *et al.* The developmental dynamics of the maize leaf transcriptome[J]. *Nature Genetics*, 2010, 42(12): 1060-1067.
- [2]孙海龙, 侍婷, 章镇, 高志红. KNOX I 类基因在雌蕊发育中的作用[J]. *江苏林业科技*, 2012, 39 (5): 39-44.
- [3]Zhao Y, Ma Q, Jin X, *et al.* A novel maize homeodomain-leucine zipper (HD-Zip) I gene, *Zmhdz10*, positively regulates drought and salt tolerance in both rice and Arabidopsis[J]. *Plant Cell Physiology*, 2014, 55(6): 1142-1156.
- [4]Shafiullah M D and Lacroix C R. Extended expression of *MaKN1* contributes to the leaf morphology in aquatic forms of *Myriophyllum aquaticum*[J]. *Botany*, 2015, 93(9): 611-621.
- [5]朱钦士. 植物和动物的殊途同归[J]. *生物学通报*, 2017, 52 (12): 4-7.
- [6]Du F, Guan C, Jiao Y. Molecular mechanisms of leaf morphogenesis[J]. *Molecular Plant*, 2018, 11(9): 1117-1134.
- [7]Sano R, Juárez C M, Hass B, *et al.* KNOX homeobox genes potentially have similar function in both diploid unicellular and multicellular meristems, but not in haploid meristems[J]. *Evolution & Development*, 2005, 7(1): 69-78.
- [8]Kerstetter R, Vollbrecht E, Lowe B, *et al.* Sequence analysis and expression patterns divide the maize *knotted1*-like homeobox genes into two classes[J]. *The Plant Cell*, 1994, 6(12): 1877-1887.
- [9]Ramirez J, Bolduc N, Lisch D, *et al.* Distal expression of *knotted1* in maize leaves leads to reestablishment of proximal/distal patterning and leaf dissection[J]. *Plant Physiology*, 2009, 151(4): 1878-1888.
- [10] Kalve S, De Vos D, Beemster GT. Leaf development: a cellular perspective[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2014, 5: 362.
- [11] Bolduc N and Hake S. The maize transcription factor KNOTTED1 directly regulates the gibberellin catabolism gene *ga2ox1*[J]. *The Plant Cell*, 2009, 21(6): 1647-1658.
- [12] Ma C, Meir S, Xiao L, *et al.* A KNOTTED1-LIKE HOMEODOMAIN protein, KD1, regulates abscission in tomato by modulating the auxin pathway[J]. *Plant Physiology*, 2015, 167(3): 844-853.
- [13] Townsley B T, Sinha N R and Kang J. KNOX1 genes regulate lignin deposition and composition in monocots and dicots[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2013, 4: 121.
- [14] Woerlen N, Allam G, Popescu A, *et al.* Repression of BLADE-ON-PETIOLE genes by KNOX homeodomain protein BREVIPEDICELLUS is essential for differentiation of secondary xylem in Arabidopsis root[J]. *Planta*, 2017, 245(6): 1079-1090.
- [15] Li E, Bhargava A, Qiang W, *et al.* The Class II KNOX gene KNAT7 negatively regulates secondary wall formation in Arabidopsis and is functionally conserved in Populus[J]. *New Phytologist*, 2012, 194(1): 102-115.
- [16] Bhargava A, Ahad A, Wang S, *et al.* The interacting MYB75 and KNAT7 transcription factors modulate secondary cell wall deposition both in stems and seed coat in Arabidopsis[J]. *Planta*, 2013, 237(5): 1199-1211.
- [17] Gong S Y, Huang G Q, Sun X, *et al.* Cotton KNL1, encoding a class II KNOX transcription factor, is involved in regulation of fibre development[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2014, 65(15): 4133-4147.
- [18] Abraham-Juárez M J, Martínez-Hernández A, Leyva-González MA, *et al.* Class I KNOX genes are associated with organogenesis during bulbil formation in *Agave tequilana*[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2010, 61(14): 4055-4067.
- [19] Zhou W Z, Zhang Y M, Lu J Y, *et al.* Construction and evaluation of normalized cDNA libraries enriched with full-length sequences for rapid discovery of new genes from sisal (*Agave sisalana* Perr.) different developmental stages[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2012, 13: 13150-13168.
- [20] Gross S M, Martín J A, Simpson J, *et al.* De novo transcriptome assembly of drought tolerant CAM plants, *Agave deserti* and *Agave tequilana*[J]. *BMC Genomics* 2013, 14: 563.
- [21] Kuijt S J, Greco R, Agalou A, *et al.* Interaction between the GROWTH-REGULATING FACTOR and KNOTTED1-LIKE HOMEODOMAIN families of transcription factors[J]. *Plant Physiology*, 2014, 164(4): 1952-1966.
- [22] Liu Y, Douglas C J. A role for OVATE FAMILY PROTEIN1 (OFP1) and OFP4 in a BLH6-KNAT7 multi-protein complex regulating secondary cell wall formation in Arabidopsis thaliana[J]. *Plant Signaling Behavior*, 2015, 10(7): e1033126.
- [23] Yoon J, Cho L H, Antt H W, *et al.* KNOX protein OSH15 induces grain shattering by repressing lignin biosynthesis genes[J]. *Plant Physiology*, 2017, 174(1): 312-325.
- [24]Wang S H, Yang H L, Mei J S, *et al.* A rice homeobox protein KNAT7 Integrates the pathways regulating cell expansion and wall stiffness[J]. *Plant Physiology*, 2019: DOI:10.1104/pp.19.00639.
- [25] Smith H M, Hake S. The interaction of two homeobox genes, BREVIPEDICELLUS and PENNYWISE, regulates internode

patterning in the Arabidopsis inflorescence[J]. *The Plant Cell*, 2003, 15(8): 1717-1727.

[26] Ragni L, Belles-Boix E, Günl M, *et al.* Interaction of KNAT6 and KNAT2 with BREVIPEDICELLUS and PENNYWISE in Arabidopsis inflorescences[J]. *The Plant Cell*, 2008, 20(4): 888-900.

# 不同处理对百香果扦插繁殖的影响

张天翔, 牛先前

福建省热带作物科学研究所, 福建漳州, 363000

**摘要** 应用正交试验方法对百香果进行了扦插繁殖试验研究。结果表明, 插穗部位是影响百香果扦插效果的最主要因素, 其次为扦插基质, 而 NAA 浓度的影响最小。百香果扦插的最佳组合为 A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>C<sub>3</sub> 处理组合, 即以中部半木质化茎段为插穗, 用 300 mg·L<sup>-1</sup> 的 NAA 溶液浸泡 20 min, 选用泥炭混合基质为扦插基质时, 百香果的扦插效果最为理想。

**关键词** 百香果; 扦插繁殖; 正交试验

中图分类号 S667.9 文献标识码 A

## Effects of Different Treatments on the Cutting Propagation of *Passiflora edulis* Sims

ZHANG Tianxiang, NIU Xianqian

Fujian Institute of Tropical Crops, Zhangzhou 363000, China

**Abstract** The cutting propagation of *Passiflora edulis* Sims was studied by orthogonal test. The results showed that the position of cuttings was the most important factor for cutting propagation of *Passiflora edulis* Sims, followed by the cutting substrate, and the NAA concentration was the weakest factor. The optimal combination for cuttage was cutting the middle semi-lignified stem, and steeping in 300 mg·L<sup>-1</sup> NAA for 20 min and planting in the mixed peat matrix.

**Keywords** *Passiflora edulis* Sims; Cutting propagation; Orthogonal test

百香果 (*Passiflora edulis* Sims) 又名西番莲, 是西番莲科西番莲属多年生藤本植物, 原产于南美洲, 是一种热带亚热带地区特有的水果<sup>[1]</sup>。百香果具有较高的经济价值, 其果实含有丰富的蛋白质、维生素、氨基酸、膳食纤维、总糖等营养物质, 可作水果鲜食, 其果汁风味独特, 口感香甜, 可用于加工成饮料<sup>[2-3]</sup>。

百香果生产中以推广优良无性系为主, 其中扦插繁殖是最为常用繁殖方式。国内研究者对百香果的扦插育苗已有较多报道, 在扦插基质、插穗、激素处理等对扦插成活的影响方面已有部分研究<sup>[4-7]</sup>, 但在全面探讨影响扦插成活率和扦插苗生长的相关主次因子方面仍未见有报道。本研究应用正交试验方法对百香果进行了扦插繁殖试验研究, 系统分析了百香果扦插成活率、根系质量及扦插苗生长的关键因子, 为生产中大量繁殖优质扦插苗提供理论依据。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

试验于 2019 年 3 月 29 日在福建省热带作物科学研究所智能温室中进行。供试材料为当年生健壮无病虫害的百香果插穗, 采自福建省热带作物科学研究所百香果种源圃, 品种为‘台农 1 号’。

#### 1.2 试验设计

采用 L<sub>9</sub>(3<sup>3</sup>) 正交试验设计 (见表 1), 研究插穗茎段部位、NAA 浓度、扦插基质 3 个因素, 每因素 3 水平, 不考虑因素间的交互作用。共设 9 个处理, 各处理随机排列, 每处理 30 个插穗, 设 3 次重复。

表 1 试验因素和正交设计  
Tab.1 Test factor and orthogonal design

| 因素<br>Factors   | 水平 Level       |                |                        |
|---|----------------|----------------|------------------------|
|   | 1              | 2              | 3                      |
| A: 插穗部位   | 上部茎段<br>(未木质化) | 中部茎段<br>(半木质化) | 下部茎段<br>(木质化)          |
| B: NAA 浓度<br>NAA Concentration<br>(mg·L <sup>-1</sup> ) | 100            | 200            | 300                    |
| C: 扦插基质<br>Substrate type                               | 珍珠岩            | 河沙             | 泥炭混合基质<br>(泥炭: 黄壤=1:1) |

#### 1.3 扦插及扦插后管理

按试验设计将不同基质分别装入 10 cm×12 cm 的营养袋中, 扦插前 1 d 浇 800 倍多菌灵液待用。将选好的百香果穗条按不同处理修剪出合适的插穗, 分成上部未木质化、中部半木质化、下部木质化 3 个部分, 穗

**基金项目** 农业农村部热带作物技术试验示范与服务支持项目“百香果技术集成与示范”(No.151821301064072701-5); 漳州市自然科学基金项目“闽南地区叶面肥对百香果产量与品质影响的研究”(No.ZZ2018J01)。

**作者简介** 张天翔(1984-), 男, 本科, 助理研究员, 研究方向: 植物生理及生物技术。Email: yuezhou@163.com。

长 15~20 cm，每段带 2 个侧芽，顶端留半片叶，距顶端侧芽 1~2 cm 处平切，距基部侧芽 1~2 cm 处斜切。将百香果插穗基部分别浸入不同浓度 NAA 溶液中浸泡 20 min 后，插入基质中，扦插深度约为插穗长度的 1/3，每处理 30 条。

扦插完后用喷壶浇透水，控制温室内温度不超过 30℃，使基质湿度保持在 80%左右，并每 20 d 喷施 1000 倍多菌灵消毒一次。

#### 1.4 调查与统计

扦插 60 d 后，调查所有插穗的生根数、平均根长、平均根粗、新生叶片数、蔓长和成活率，使用 SPSS 23.0 和 Excel 2010 软件对试验数据进行处理和分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同处理对百香果扦插成活效果的影响

百香果插穗扦插 7~10 d 后，于插穗基部切口处形成白色愈伤组织，随后愈伤组织膨大，并分化出不定根，逐渐形成完整根系（图 1）。不同处理方式扦插百香果 60 d 后，统计各处理生根成活情况（见表 2）。结果显示，处理 1 和处理 2 的整体扦插效果均表现较好，成活率分别可达 91.6%和 87.6%，且除平均根粗外其他各项指标都为第一或第二。



图 1 百香果扦插生根效果

Fig.1 The results of cutting rooting in *Passiflora edulis* Sims

对百香果扦插试验结果进行极差分析（见表 2）。结果显示，3 个因子中插穗部位对百香果扦插成活的影响最大，NAA 浓度和扦插基质的影响相对较小。其中对根数、平均根粗的作用大小均为插穗部位>扦插基质>NAA 浓度，对平均根长、新生蔓长、新生叶片数、成活率的作用大小均为插穗部位>NAA 浓度>扦插基质。

表 2 不同处理对百香果扦插成活效果的影响

Tab.1 Effects of different treatments on the survival of *Passiflora edulia* cuttings

| 处理号<br>Treatment | 因素 Factors                   |                                 |                            | 根数/条<br>Root number | 平均根长/cm<br>Mean root length | 平均根粗/mm<br>Mean root diameter | 新生蔓长/cm<br>New growth | 新生叶片数/片<br>New leaf number | 成活率/%<br>Survival rate |
|------------------|------------------------------|---------------------------------|----------------------------|---------------------|-----------------------------|-------------------------------|-----------------------|----------------------------|------------------------|
|                  | 插穗部位 (A)<br>Cutting position | NAA 浓度 (B)<br>NAA Concentration | 扦插基质 (C)<br>Cutting medium |                     |                             |                               |                       |                            |                        |
|                  | 1                            | A <sub>1</sub>                  | B <sub>1</sub>             |                     |                             |                               |                       |                            |                        |
| 2                | A <sub>1</sub>               | B <sub>2</sub>                  | C <sub>2</sub>             | 14.6 <sup>e</sup>   | 11.5 <sup>e</sup>           | 0.40 <sup>f</sup>             | 4.5 <sup>e</sup>      | 2.9 <sup>e</sup>           | 57.5 <sup>g</sup>      |
| 3                | A <sub>1</sub>               | B <sub>3</sub>                  | C <sub>3</sub>             | 21.7 <sup>c</sup>   | 12.7 <sup>cd</sup>          | 0.36 <sup>f</sup>             | 6.2 <sup>c</sup>      | 4.3 <sup>c</sup>           | 59.1 <sup>g</sup>      |
| 4                | A <sub>2</sub>               | B <sub>1</sub>                  | C <sub>3</sub>             | 30.4 <sup>a</sup>   | 18.4 <sup>a</sup>           | 0.49 <sup>e</sup>             | 7.6 <sup>b</sup>      | 5.6 <sup>b</sup>           | 87.6 <sup>b</sup>      |
| 5                | A <sub>2</sub>               | B <sub>2</sub>                  | C <sub>1</sub>             | 26.5 <sup>b</sup>   | 15.7 <sup>b</sup>           | 0.46 <sup>e</sup>             | 8.4 <sup>a</sup>      | 7.2 <sup>a</sup>           | 91.6 <sup>a</sup>      |
| 6                | A <sub>2</sub>               | B <sub>3</sub>                  | C <sub>2</sub>             | 17.6 <sup>d</sup>   | 12.1 <sup>de</sup>          | 0.57 <sup>cd</sup>            | 4.4 <sup>ef</sup>     | 3.5 <sup>d</sup>           | 82.5 <sup>c</sup>      |

|                |                |                |                |                            |                    |                   |                   |                  |                   |
|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------------------|--------------------|-------------------|-------------------|------------------|-------------------|
| 7              | A <sub>3</sub> | B <sub>1</sub> | C <sub>2</sub> | 16.0 <sup>de</sup>         | 13.3 <sup>c</sup>  | 0.62 <sup>c</sup> | 7.4 <sup>b</sup>  | 5.3 <sup>b</sup> | 73.5 <sup>e</sup> |
| 8              | A <sub>3</sub> | B <sub>2</sub> | C <sub>3</sub> | 9.2 <sup>f</sup>           | 6.2 <sup>f</sup>   | 0.78 <sup>a</sup> | 4.3 <sup>ef</sup> | 2.9 <sup>e</sup> | 66.3 <sup>f</sup> |
| 9              | A <sub>3</sub> | B <sub>3</sub> | C <sub>1</sub> | 22.6 <sup>c</sup>          | 12.9 <sup>cd</sup> | 0.71 <sup>b</sup> | 5.3 <sup>d</sup>  | 3.4 <sup>d</sup> | 77.2 <sup>d</sup> |
| D <sub>1</sub> | 15.6           | 18.9           | 19.8           | R(根数): 插穗部位>扦插基质>NAA 浓度    |                    |                   |                   |                  |                   |
| D <sub>2</sub> | 24.8           | 16.7           | 16.1           |                            |                    |                   |                   |                  |                   |
| D <sub>3</sub> | 20.0           | 20.7           | 20.4           |                            |                    |                   |                   |                  |                   |
| R              | 9.2            | 4.0            | 4.3            |                            |                    |                   |                   |                  |                   |
| E <sub>1</sub> | 10.4           | 12.9           | 11.9           | R(平均根长): 插穗部位>NAA 浓度>扦插基质  |                    |                   |                   |                  |                   |
| E <sub>2</sub> | 15.4           | 11.1           | 12.3           |                            |                    |                   |                   |                  |                   |
| E <sub>3</sub> | 10.8           | 12.6           | 12.4           |                            |                    |                   |                   |                  |                   |
| R              | 5              | 1.8            | 0.5            |                            |                    |                   |                   |                  |                   |
| F <sub>1</sub> | 0.43           | 0.54           | 0.56           | R(平均根粗): 插穗部位>扦插基质>NAA 浓度  |                    |                   |                   |                  |                   |
| F <sub>2</sub> | 0.51           | 0.55           | 0.53           |                            |                    |                   |                   |                  |                   |
| F <sub>3</sub> | 0.7            | 0.55           | 0.54           |                            |                    |                   |                   |                  |                   |
| R              | 0.27           | 0.01           | 0.03           |                            |                    |                   |                   |                  |                   |
| G <sub>1</sub> | 4.9            | 6.4            | 5.9            | R(新生蔓长): 插穗部位>NAA 浓度>扦插基质  |                    |                   |                   |                  |                   |
| G <sub>2</sub> | 6.8            | 5.7            | 5.5            |                            |                    |                   |                   |                  |                   |
| G <sub>3</sub> | 5.7            | 5.3            | 6              |                            |                    |                   |                   |                  |                   |
| R              | 1.9            | 1.1            | 0.5            |                            |                    |                   |                   |                  |                   |
| H <sub>1</sub> | 3.2            | 4.4            | 4.3            | R(新生叶片数): 插穗部位>NAA 浓度>扦插基质 |                    |                   |                   |                  |                   |
| H <sub>2</sub> | 5.4            | 4.4            | 3.9            |                            |                    |                   |                   |                  |                   |
| H <sub>3</sub> | 3.9            | 3.8            | 4.3            |                            |                    |                   |                   |                  |                   |
| R              | 2.2            | 0.6            | 0.4            |                            |                    |                   |                   |                  |                   |
| I <sub>1</sub> | 49.3           | 65.5           | 67.5           | R(生根率): 插穗部位>NAA 浓度>扦插基质   |                    |                   |                   |                  |                   |
| I <sub>2</sub> | 88             | 72             | 71.6           |                            |                    |                   |                   |                  |                   |
| I <sub>3</sub> | 73             | 72.8           | 71.2           |                            |                    |                   |                   |                  |                   |
| R              | 38.7           | 7.3            | 4.1            |                            |                    |                   |                   |                  |                   |

注: 同列中不同小写字母表示各处理间差异显著。D<sub>1</sub>~D<sub>3</sub>, E<sub>1</sub>~E<sub>3</sub>, F<sub>1</sub>~F<sub>3</sub>, G<sub>1</sub>~G<sub>3</sub>, H<sub>1</sub>~H<sub>3</sub>, I<sub>1</sub>~I<sub>3</sub> 分别表示不同处理水平下根数、平均根长、平均根粗、新生蔓长、新生叶片数、生根率的均值, R 表示指标变动的幅度。

Note: In the same column, different lowercase letters represent significant difference at 5% level. D<sub>1</sub>-D<sub>3</sub>, E<sub>1</sub>-E<sub>3</sub>, F<sub>1</sub>-F<sub>3</sub>, G<sub>1</sub>-G<sub>3</sub>, H<sub>1</sub>-H<sub>3</sub>, and I<sub>1</sub>-I<sub>3</sub> represent the mean survival rate, root number, maximum root length and membership function values in different level of treatments, respectively. R represents the range of changes of the index.

## 2.2 百香果扦插成活效果的综合评价

参考闫林<sup>[8]</sup>和赵蕾<sup>[9]</sup>等方法, 采取排队评分和公式评分法对扦插成活效果进行综合分析。采用排队评分法对各单项指标进行标准化处理, 每项最高值定为 10, 最低值定为 1, 各指标其他处理的评分值按其与该指标优秀值的差异按比例计算得出。各处理所有指标的分数乘以权重系数, 相加即得综合评分(见表 3)。权重系数由实践中各项指标的重要程度确定, 成活率指标的权重设为 3, 根数指标的权重设为 2, 平均根长、平均根粗、新生蔓长、新生叶片数这 4 个指标的权重设为 1(评分公式为: 评分=成活率×3+根数×2+平均根长×1+平均根粗×1+新生蔓长×1+新生叶片数×1)。

表 3 百香果扦插成活效果的综合评价  
Tab.3 Comprehensive evaluation on the survival of Passiflora edulia cuttings

| 处理号<br>Treatment | 指标排队评分<br>Index queuing score |                             |                               |                       |                            |                        | 综合评分<br>Integrated grade |
|------------------|-------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|-----------------------|----------------------------|------------------------|--------------------------|
|                  | 根数/条<br>Root number           | 平均根长/cm<br>Mean root length | 平均根粗/mm<br>Mean root diameter | 新生蔓长/cm<br>New growth | 新生叶片数/片<br>New leaf number | 成活率/%<br>Survival rate |                          |
| 1                | 1.5                           | 1.7                         | 4.4                           | 1.0                   | 1.0                        | 1.0                    | 14.1                     |
| 2                | 3.3                           | 4.9                         | 1.9                           | 1.8                   | 2.1                        | 4.7                    | 31.3                     |
| 3                | 6.3                           | 5.8                         | 1.0                           | 5.4                   | 4.7                        | 4.7                    | 43.7                     |
| 4                | 10.0                          | 10.0                        | 3.8                           | 8.3                   | 7.1                        | 9.6                    | 77.9                     |
| 5                | 8.3                           | 8.0                         | 3.1                           | 10.0                  | 10.0                       | 10.0                   | 77.8                     |
| 6                | 4.6                           | 5.4                         | 5.5                           | 1.6                   | 3.2                        | 8.7                    | 51.0                     |
| 7                | 3.9                           | 6.2                         | 6.6                           | 7.9                   | 6.5                        | 7.3                    | 56.9                     |
| 8                | 1.0                           | 1.0                         | 10.0                          | 1.4                   | 2.1                        | 6.2                    | 35.1                     |
| 9                | 6.7                           | 5.9                         | 8.5                           | 3.5                   | 3.0                        | 7.8                    | 57.8                     |

由表 3 可知, 在 9 个处理中, 4 号处理和 5 号处理的综合评分相对较高, 分别可达 77.9 和 77.8。对每个处理的综合评分进行极差分析可知(见表 4), 各因素的主次顺序为: 插穗部位>扦插基质>NAA 浓度, 优化



出的较佳方案是 A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>C<sub>3</sub>, 即以中部半木质化茎段为插穗, NAA 浓度为 300 mg·L<sup>-1</sup>, 基质选用泥炭混合基质。通过对各指标方差分析得出, 插穗部位对百香果扦插生根有显著影响。

表 4 公式评分法极差分析  
Tab.4 Range analysis of formula scoring method

| 参数<br>Parameter | 因素 Factors                   |                                 |                            | 综合评分<br>Index grade |
|-----------------|------------------------------|---------------------------------|----------------------------|---------------------|
|                 | 插穗部位 (A)<br>Cutting position | NAA 浓度 (B)<br>NAA Concentration | 扦插基质 (C)<br>Cutting medium |                     |
| K <sub>j1</sub> | 89.1                         | 148.9                           | 149.7                      |                     |
| K <sub>j2</sub> | 206.7                        | 144.2                           | 139.2                      |                     |
| K <sub>j3</sub> | 149.8                        | 152.5                           | 156.7                      |                     |
| k <sub>j1</sub> | 29.7                         | 49.6                            | 49.9                       | Σ=445.6             |
| k <sub>j2</sub> | 68.9                         | 48.1                            | 46.4                       |                     |
| k <sub>j3</sub> | 49.9                         | 50.8                            | 52.2                       |                     |
| R <sub>j</sub>  | 39.2                         | 2.7                             | 5.5                        |                     |
| 优化方案            | A2                           | B3                              | C3                         | A2B3C3              |

注: K<sub>j1</sub>、K<sub>j2</sub>、K<sub>j3</sub>分别为因素 1 水平、2 水平、3 水平的试验之和。k<sub>j1</sub>、k<sub>j2</sub>、k<sub>j3</sub>分别为因素 1 水平、2 水平、3 水平的试验平均值, R<sub>j</sub>为极差。

Note: K<sub>j1</sub>, K<sub>j2</sub> and K<sub>j3</sub> are the sum of factor 1 level, 2 level and 3 level respectively. k<sub>j1</sub>, k<sub>j2</sub> and k<sub>j3</sub> are the average of factor 1 level, 2 level and 3 level respectively. R<sub>j</sub> is range.

### 3 讨论

植物扦插生根可分两类, 一是由切口愈伤组织诱导产生的根原基形成的不定根, 即切口生根; 二是由潜伏根原基形成的不定根, 即皮部生根<sup>[10]</sup>。切口愈伤组织是在适宜条件下于插穗基部切口处形成的不规则的、具有不同木质化程度的薄壁细胞<sup>[11]</sup>。本研究发现, 百香果插穗生根以愈伤组织生根为主, 扦插 7~10 d 后, 插穗基部开始形成愈伤组织, 随后在愈伤组织上分化出根。虽偶尔可见有皮部生根现象, 但由皮部长出的须根较细, 数量也极少。

不同部位的插穗, 由于木质化程度、营养状态不同, 会对扦插生根产生重要影响<sup>[12]</sup>。插穗的不同营养状态是影响扦插生根的关键因素, 同时插穗的成熟度对营养物质的运输也有较大影响<sup>[13]</sup>。本研究发现, 采用中部半木质化茎段作为插穗能够取得较好的扦插效果, 未木质化的插穗容易褐化、腐烂不能满足生根的营养需求, 而木质化程度过高, 也会导致生根困难, 这与史海芝等<sup>[14]</sup>的研究结果相一致。

植物外源激素可以促进插穗内部营养物质的重新分配与内源激素的作用表达, 从而促进插穗生根<sup>[15-16]</sup>。外源激素处理插穗技术已被广泛应用于各类植物的扦插繁殖中, 但不同品种对植物激素的种类和浓度反应不一<sup>[17]</sup>。本研究发现, 在试验浓度范围内不同 NAA 浓度对百香果扦插成活无显著影响, 这与 Aleksandar 等<sup>[18]</sup>的研究结果相类似。

基质是扦插的介质, 基质的透气性、保湿性及理化性质等方面的差异会导致不同基质插穗的生根成活能力产生差异<sup>[19-20]</sup>。本研究发现, 不同基质对百香果扦插生根成活有一定影响, 特别是对根系生长有较大影响, 泥炭混合基质的生根效果优于珍珠岩和河沙。

本研究采用正交试验设计方法综合分析了插穗部位、激素浓度、扦插基质 3 种因素对百香果扦插生根成活的影响。结果表明, 插穗部位是影响生根成活的最主要因素, 扦插基质次之, NAA 浓度对生根成活影响最小。百香果扦插的最佳组合为 A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>C<sub>3</sub> 处理组合, 即以中部半木质化茎段为插穗, 用 300 mg·L<sup>-1</sup> 的 NAA 溶液浸泡 20 min, 选用泥炭混合基质为扦插基质时, 能达到最佳生根成活效果。

#### 参考文献

- [1] 郭艳峰, 吴惠婵, 夏雨, 等. 百香果不同发育阶段果汁挥发性成分研究[J]. 福建农业学报, 2017, 32(3): 299-304.
- [2] Jie ZHU, Xiuqin LONG, Huanhuan ZHAO, et al. Agricultural Science & Technology, 2017, 18(10): 1941-1943.
- [3] 李杰, 韦中定. 4 个百香果新品种引种试验探讨[J]. 农业研究与应用, 2018, 31(1): 21-24.
- [4] 孙宁, 张磊, 刘玉芹, 等. 植物生长调节剂与插条类型对西番莲扦插生根的影响[J]. 天津农业科学, 2007(4): 12-14.
- [5] 杨妙贤, 刘颖杰, 潘金辉, 等. 不同基质和生根粉浓度对西番莲扦插生根的影响[J]. 仲恺农业工程学院学报, 2014, 27(2): 1-4.

- [6] 张丽敏, 蔡国俊, 龙秀琴, 等. 不同基质和生根粉浓度对西番莲扦插苗的影响[J]. 中国南方果树, 2018, 47(2): 88-90.
- [7] 黄东梅, 许奕, 潘琼玉, 等. 不同生根剂对 3 个南美引进黄果西番莲品种的扦插生根效果[J]. 贵州农业科学, 2018, 46(5): 92-95.
- [8] 闫林, 黄丽芳, 陈鹏, 等. 不同处理对中粒种咖啡扦插生根的影响[J]. 热带作物学报, 2012, 33(12): 2193-2198.
- [9] 赵蕾, 陶秀冬, 宋锋惠, 等. 不同处理对平欧杂种榛嫩枝扦插生根效果的影响[J]. 东北林业大学学报, 2014(12): 22-25.
- [10] 白岩. 浙江白术生产现状和优化农艺措施研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2009, 73-74.
- [11] 白宝璋, 杨剑平, 厉秀茹, 等. 植物生理学(上:理论教程)[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2003, 162-165, 187-188.
- [12] 董筱昀, 黄利斌, 吕运舟. 不同处理对浙江红花油茶扦插生根的影响[J]. 江苏林业科技, 2017, 44(6): 6-9.
- [13] 张露. 豹皮樟扦插繁殖生根机理研究[D]. 贵阳: 贵州师范大学, 2014.
- [14] 史海芝, 刘惠民. 兔眼蓝莓嫩枝扦插繁殖技术[J]. 西南林学院学报, 2010, 30(2): 25-27.
- [15] 王瑞, 陈永忠, 彭邵锋, 等. 油茶扦插生根过程的生理生化基础研究[J]. 浙江农林大学学报, 2013, 30(4): 615-619.
- [16] 闫文涛, 佟兆庆, 魏俊, 等. 不同生长调节剂对蒙古栎嫩枝扦插生根的影响[J]. 西北林学院学报, 2017, 32(3): 116-121.
- [17] 尹新彦, 储博彦, 李金霞, 等. 美国红枫‘秋火焰’扦插繁殖技术的优化[J]. 安徽农业科学, 2014, 42(5): 1411-1412.
- [18] Aleksandar M, Melpomena P, Viktor G. Investigation of the possibility for production of some stone fruit rootstocks by rooting cuttings[J]. Acta Agriculturae Serbica, 2015, 20(39): 75-83.
- [19] 屈坤杰, 王济红, 祁翔, 等. 不同基质对豹皮樟嫩枝扦插生根能力的影响[J]. 西南农业学报, 2017, 30(07): 1522-1527.
- [20] Jeaboon J, Byoungyil L, Hwayeong K, et al. Growth and survival rate of softwood cuttings influenced by bed media, cutting length and thickness on several cultivars of highbush blueberry.[J]. Korean journal of horticultural science and technology, 2008, 26(26): 134-138.

# 莲雾开花习性和授粉特性研究

龙 兴, 张 继, 周双云, 邓 彪, 方 仁, 安振宇, 尧金燕\*  
广西壮族自治区农业科学院园艺研究所, 广西 南宁 530007

**摘要** 【目的】明晰莲雾的开花习性和花粉可育性, 探讨莲雾授粉作业的最佳条件, 为莲雾杂交授粉提供参考依据。【方法】从莲雾花被开始松散分离至谢花期间, 每天 7:00am、12:00pm 和 18:00pm 对莲雾花被、花丝、花药、花粉和柱头等花器变化情况进行观察记录。花粉生活力采用花粉离体萌发法测定。在花朵开放前 2d 至开放后 2d 的 5d 时间内对柱头接受花粉的活性进行分析, 并将人工杂交授粉与自然授粉的果实品质进行分析比较。【结果】莲雾开花前 1d, 紧闭的花被逐渐松散而分离, 开花当日约 6:00-7:00am 时开放, 至 11:00-12:00am 时花粉完全散离花药。花序是由最外下层开始开放, 逐渐向内上层依次展开。莲雾花粉主要为三角形, 有三个发芽孔, 在 10%蔗糖质量浓度培养基中, 30°C 时发芽率最高。人工授粉以花朵开放当天授粉结籽率最高, 人工授粉的果实在单果重、果实大小和可溶性固形物含量上与自然果实有显著差异。【结论】莲雾花朵从完全绽放至花丝开始脱落约 30h, 花药在清晨随花丝和柱头伸直开裂散出花粉, 花粉从花药完成散离约 4h, 柱头处于有效活力状态时间约 40h。莲雾授粉成功率主要受花粉生活力、柱头有效期限和授粉时温度三个因子影响。最适授粉温度为 30°C, 花粉收集最佳时间为开放当日 6:00-7:00am, 授粉最适时间为开放当天。且不同莲雾品种花粉授粉对果实的品质有影响。

**关键词** 莲雾; 花粉; 授粉; 育种

## Study on Flowering Habits and Pollination of Wax Apple in Guangxi

LONG Xing, ZHANG Ji, ZHOU Suan yun, DENG Biao, AN Zhen-yu, YAO Jin-yan\*  
Horticultural Rerearch Institute, Guangxi Acaricultural Sciences, Guangxi Nanning 530007, China

**Abstract** 【Objective】To understand flowering habit and pollen fertility of Wax Apple, and to analyze the optimum conditions for pollination with providing evidence for hybrid pollination of Wax Apple. 【Methods】From the beginning of loose separation of the Wax Apple perianth to the period of withering, the changes of floral organs such as perianth, filament, anther, pollen and stigma were observed and recorded at 7:00 am, 12:00 pm and 18:00 pm respectively. The pollen viability was determined by in vitro pollen germination method. The stigma activity was analyzed within 5 days from 2 days before flower opening to 2 days after flower opening, and the quality of the fruit pollinated by artificial hybridization was compared with that of the natural fruit. 【Results】The perianth of flower become loose and separate slightly one day before anthesis. Flower opens at 6:00 to 7:00 am and pollen separated completely from anther around 11:00 to 12:00am. Flowers open from outside inward and from bottom upward gradually in a cluster. The pollen of Wax apple is mainly triangular with three germination holes. Pollen germination rate was highest at 10% sugar under 30°C respectively. Fruits from Artificial pollination on the day of flower opening had the highest seed-setting rate finally, And there were significant differences in single fruit weight, fruit size and soluble solids content when compared with natural pollinated fruits. 【Conclusion】The Wax apple flower blossoms completely until the filament begins to fall off for about 30 hours. Pollen is exposed in the early morning from the anther when the filament and stigma extend and dehiscence, and, then disperse from the anther within about 4 hours, the stigma remained in active state for about 40 hours. The success rate of Wax apple pollination was mainly affected by three factors: pollen viability, stigma validity period and temperature during pollination. The optimum temperature for pollination is 30°C. The best time for pollen collection was 6:00-11:00am, and the opening day is the optimum time for pollination. Pollen from different Wax apple cultivars had obvious effect on fruit quality.

**Keywords** Wax apple; Pollen; Pollination; Bredding

【研究意义】莲雾 (*Syzygium samarangense*) 原产于马来半岛<sup>[1]</sup>, 17 世纪由荷兰人引进到台湾, 在台湾发展成为重要经济果树之一<sup>[2]</sup>。台湾莲雾种植生产的成功效应刺激带动了莲雾在海南、广西、广东、福建等省或自治区的引进种植, 近几年已逐渐发展成为热区农民增收的特色经济果树<sup>[3-4]</sup>。我国大陆地区目前栽植较多的莲雾品种有“黑金刚”、“大叶红”和“泰国红”等, 这些品种大部分从我国台湾地区引进, 少数从东南亚国家与地区引进。目前生产推广的莲雾品种存在或高温时果实着色不良、裂果, 或不耐寒, 或品质欠佳等缺点, 缺少综合性状良好、适合南亚热带气候带发展的优良莲雾品种。莲雾品种多达 30 多个<sup>[1]</sup>, 不同品种间花粉量及其可育性存在差异, 部分品种可以作为杂交亲本进行杂交培育新品种, 如近年台湾选育的“台农二号”就是采用“泰国红”和“印尼大果”做为父母本杂交培育出的新品种。而掌握莲雾开花习性和授粉特性是合理开展杂交育种的基础。因此对莲雾进行开花习性和授粉特性研究, 对开展莲雾遗传改良和品种选育工作具有重要的参考意义。【前人研究进展】目前国内对莲雾花的相关研究主要是针对花朵营养成分含量和成花机理的研究上<sup>[5-7]</sup>, 而关于莲雾的开花习性、花粉活力测定和授粉特性等相关研究尚未见有报道。【本研究切入点】杂交育种是获得优良莲雾新品种的重要手段, 而掌握好开花习性和授粉影响因素是开展好杂交育种工作的前提。花粉作为植物种质的一种形式<sup>[8]</sup>, 其活力是植物育种成败的关键<sup>[9]</sup>, 本研究旨在明晰莲雾开花习性, 并测定花粉活力和分析莲雾授粉外在影响因素, 为莲雾杂交育种培养新品种提供理论和技术支撑。【拟解决的关键问题】本研究拟明晰莲雾开花习性, 包括开花期间花器变化、花粉可育性、柱头接受花粉活力分析和影响授

粉成功率的外在因素，并将杂交授粉的果实与自然果实品质相比较，分析杂交授粉对果实品质的影响。旨在为莲雾杂交育种提供理论基础和技术支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

选取“大叶红”和“泰国绿钻石”7年生健壮病虫害莲雾为试验品种，试验植株材料来源于广西壮族自治区农业科学院园艺研究所。试验分析所用莲雾花粉为该两种品种的花粉。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 开花习性和花粉形态观测

从莲雾花蕾花被松散开始进行定期观察记录莲雾花被、花柱、花丝、花药、花粉、花蜜和花序等的动态变化规律。

于早上 7:00-11:00 采集供试莲雾盛花期花朵，放入带盖塑料杯中迅速带回实验室，用镊子将花药取下后，将其摊在放有硫酸纸的培养皿内，置于避风干燥处自然散粉 0.5h，待完全散粉后用授粉笔粘花粉均匀撒在双凹载玻片上，然后置于 OLYMPUS-BX53 显微镜下观察，选取较为典型的花粉粒，在 200-400 倍显微下拍照。主要观察花粉形状，萌发孔，外壁纹饰等特征。

#### 1.2.2 花粉可育性测定

最适蔗糖质量浓度测试：通过前期预试验确定培养基中琼脂质量浓度为 5.0g/L。试验选取 5%、10%、15%、20% 的蔗糖质量浓度配制培养基对花粉进行培养，在双孔凹型玻片孔内滴入培养基 0.1ml 配制好的各质量浓度培养基，用授粉笔蘸取适量新鲜花粉均匀地散布在培养基上，将载玻片水平置于铺有湿润脱脂棉的培养皿内，在 28℃，光照 2000LX 条件下保湿培养 6h，重复 3 次。用 OLYMPUS-BX53 显微镜观察检测花粉萌发，每个玻片随机选取 3 个不重复的视野，统计萌发率，若花粉管的长度超出花粉的直径则视为花粉萌发，萌发率计算公式为萌发率=萌发的花粉数/检测的花粉总数\*100%，筛选出最佳培养效果的蔗糖浓度。

最适花粉萌发温度测试：在取得最佳培养效果的蔗糖浓度后，再设置不同培养温度（20℃、25℃、30℃、35℃）对花粉萌发率的影响。在双孔凹型玻片孔内滴入培养基 0.1ml 10% 质量浓度蔗糖培养基，用授粉笔将采取的新鲜花粉均匀散布在培养基上，分别在 20℃、25℃、30℃ 和 35℃ 和光照 2000LX 下培养 6h，统计花粉萌发率，重复 3 次。显微镜下检测花粉萌发，若花粉管的长度超出花粉的直径则视为花粉萌发，萌发率计算公式为萌发率=萌发的花粉数/检测的花粉总数\*100%。

#### 1.2.3 莲雾花柱头接受花粉时间研究

分别以开花前 2d、1d，开花当天及开花后 1d、2d 进行授粉测试，每组授粉 10 多花，授粉的花朵在开花前 1d 花被松散时用镊子对整穗花苞进行去雄处理，并用透明白色纸袋套住花穗以防止授粉花粉以外的花粉落入柱头。开花当天为第 0d，-1 为开花前 1d，-2 为开花前 2d，1 为开花后 1d，2 为开花后 2d。

#### 1.2.4 数据分析

对莲雾花粉萌发试验的不同培养条件下花粉萌发率，以 SPSS 软件进行显著性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 莲雾开花习性观测

莲雾不同品种间花期不尽相同，正常花期多在 3 月到 6 月之间，部分莲雾或因为气候影响而提前开花。本试验莲雾品种为“泰国绿钻石”和“大叶红”，在广西南宁市花期均在 3 月下旬至 5 月上旬，开花期间有暂停间断期，但在两星期内下一批花又再开放。莲雾在开花前 1d 上午紧闭的花被会逐渐松散而分离，可见到花柱显露（图 1-1），至下午 18 时左右花蕾呈半开状态，花丝呈弹出状（图 1-2）。绽放当日清晨 7 点左右花被完全展开，花柱首先由弯曲状态逐渐伸直，并在花柱基部分泌蜜液，花丝开始伸直，花药逐渐由外环而内开裂散出花粉，然后花柱完全伸直（图 1-3）。至早上 10 点时左右外层花药的花粉已渐渐散落遗尽，仅剩较内层花药有少量花粉，花药到 11-12 点花粉完全散光。花朵绽放第二天上午开始谢花，花丝逐渐耷拉变软脱落，但柱头仍然伸展有力（图 1-4）。莲雾花期和花药的开裂时间受开花时温度的影响，温度较高时开花过程和花粉散发时间较短。莲雾花序是由最外层开始向内开放，由最下层往上开放，多数情况下花序最顶花朵为最早开放（图 2）。正常情况下，莲雾花朵从完全绽放至开始谢花仅有不到 30h，花粉从花药散出至消散完约 4h，柱头活力有效时间约为 2d。因此莲雾授粉时花粉收集最佳时间为绽放当日 7:00-11:00am，授粉最佳时间为绽放当天。



图 1.莲雾花朵开放行为

- (1-1) 开花前一天花被松开情形。
- (1-2) 开花当日花丝弹出情形。
- (1-3) 花朵完全绽放情形，花丝和柱头完全伸直。
- (1-4) 花朵进入谢花情形。



图 2.莲雾花序开放

## 2.2 莲雾花粉特性研究

### 2.2.1 莲雾花粉形态观测

显微镜观察表明莲雾花粉大部分为三角形，存在零星四边形，有三个发芽孔，不同品种间花粉大小不一，本试验供试品种“大叶红”莲雾花粉大小约  $0.51\mu\text{m}$ ，“泰国绿钻石”花粉大小约  $0.42\mu\text{m}$ （图 3）。

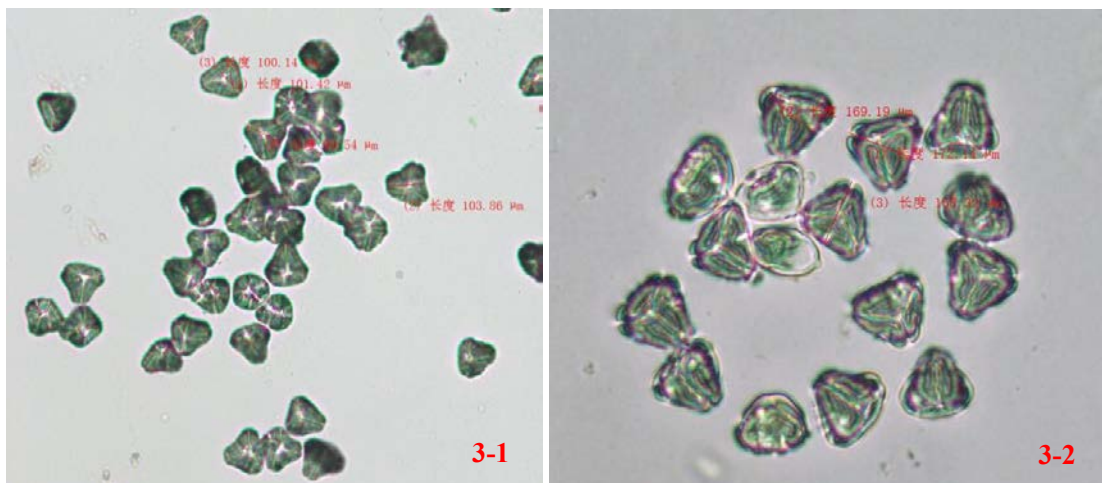


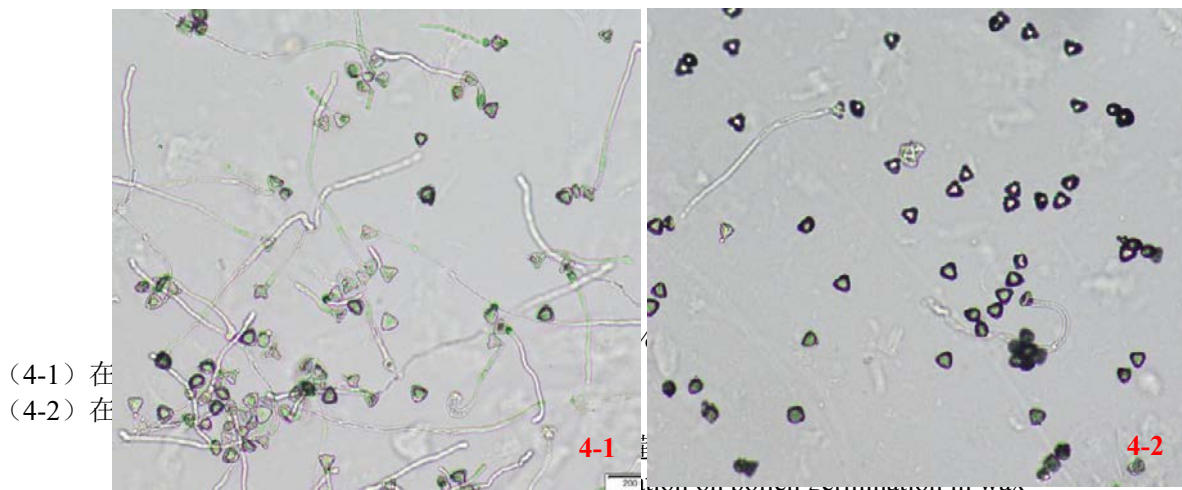
图 3.莲雾花粉显微图

(3-1) 为 10X 目镜、20X 物镜下“大叶红”花粉显微状。

(3-2) 为 10X 目镜、40X 物镜下“泰国绿钻石”花粉显微状。

### 2.2.2 不同蔗糖浓度和温度对莲雾花粉萌发的影响

结果显示以 10%蔗糖溶液的花粉发芽率最高 26.58%，在 20%蔗糖浓度时发芽率为最低(2.13%)(表 1)。进一步测试在 20℃、25℃、30℃及 35℃等不同温度对花粉萌芽的影响，以 10%蔗糖溶液为培养液的测试结果表明在 20℃下发芽率为 4.72%，在 25℃下 8.73%，在 30℃下 29.35%，在 35℃下 0.71% (表 2)。



|                                      | 蔗糖浓度 (%) sugar concentration(%) |                |               |              |
|--------------------------------------|---------------------------------|----------------|---------------|--------------|
|                                      | 5                               | 10             | 15            | 20           |
| 花粉发芽率 (大叶红)<br>Pollen germination(%) | 24.55 ± 7.26a                   | 26.58 ± 11.16a | 11.99 ± 5.49b | 2.13 ± 2.38c |

表 2.不同温度对莲雾花粉发芽的影响

Table 2. Effect of temperature on pollen germination in wax apple

|                              | 温度 (°C) temperature |              |                |              |
|------------------------------|---------------------|--------------|----------------|--------------|
|                              | 20                  | 25           | 30             | 35           |
| 花粉发芽率%<br>Pollen germination | 4.72 ± 2.36bc       | 8.73 ± 5.70b | 29.35 ± 11.46a | 0.71 ± 1.45c |

### 2.3 莲雾授粉特性研究

结果显示以开放日前 1d，开放当天、开放日后 1d，授粉均有种子，以开放当天授粉结籽率最高 100%，开放日前 1d 结籽率最低 20%，而开放日前 2d 及开放日后 2d 均无种子 (表 3)。供试两个品种在开放当天互相杂交均有种子，种子率均能达到 100%，“大叶红”平均种子数为 3.7 粒，“泰国绿钻石”平均种子数为 4.1 粒。如将人工杂交授粉和自然果实品质分析比较，两个品种间人工杂交授粉的果实在单果重、果长、果宽和可溶性固形物含量等指标上均有提升，因此本试验结果表明不同品种间授粉作用会影响莲雾果实的品质 (表 4)。

表 3 莲雾柱头接受花粉时间情况

Table 3. Stigma receptibility of wax apple.

|                                  | 人工授粉时间 (开花前后的天数)<br>Days before or after anthesis |    |     |     |   |
|----------------------------------|---|----|-----|-----|---|
|                                  | -2  | -1 | 0   | 1   | 2 |
| 结籽果数<br>No. of fruit with seed   | 0   | 1  | 10  | 3   | 0 |
| 平均种子数<br>Average number of seeds | 0   | 3  | 3.7 | 3.6 | 0 |
| 结籽率 (%)<br>% of fruit with seed  | 0   | 10 | 100 | 30  | 0 |

表 4. 人工授粉对果实性状的影响

Table 4. Effect of controlled pollination on fruit characters.

| ♀<br>品种(系)<br>Variety(clone) | ♂<br>品种(系)<br>Variety(clone) | 果长<br>Length of fruit(mm) | 果宽<br>Diameter of fruit(mm) | 果型指数<br>*Index of fruit shape* | 果实重量<br>Fruit weight(g) | 可溶性固形物<br>Soluble solids(°Brix) |
|------------------------------|------------------------------|---------------------------|-----------------------------|--------------------------------|-------------------------|---------------------------------|
| 泰国绿<br>钻石                    | 大叶红                          | 72.81±5.4b                | 50.91±2.7c                  | 1.43±0.1a                      | 75.25±9.7c              | 9.47±0.6b                       |
| 泰国绿<br>钻石                    | 自然授粉                         | 59.92±3.89c               | 46.78±2.66d                 | 1.27±0.06b                     | 48.23±4.63d             | 8.74±0.41c                      |
| 大叶红                          | 泰国绿<br>钻石                    | 82.65±6.6a                | 68.83±3.8a                  | 1.20±0.2b                      | 156.98±14.5a            | 10.9±1.0a                       |
| 大叶红                          | 自然授粉                         | 78.68±5.4a                | 64.19±3.7b                  | 1.23±0.1b                      | 130.62±13.1b            | 8.99±0.6bc                      |

\*果型指数=果长/果宽

\*Index of fruit shape is Length/Diameter

### 3 讨论

#### 3.1 莲雾开花习性

正常情况下, 莲雾花蕾在开放前一天上午花被会有明显的松散分离现象, 到约 18:00 pm 花被分离程度扩大, 接近半开放状态, 此时柱头和花丝仍呈弯曲状, 到第二天 6:00-8:00 am 完全开放。但莲雾开花行为受气温影响, 如果天气异常则会因气温升高而提早开花或低温而延后开花, 因此部分花可能会在下午开花。在本试验中, 莲雾花序一般情况下是由最外层开始向内开放, 由最下层往上开放, 多数情况下花序最顶花朵为最早开放, 也存在最顶花朵为最晚开放的情况, 未发现固定规律。

#### 3.2 莲雾授粉特性

本试验中, 开放当天授粉结籽率达 100%, 可能与供试的莲雾品种花粉可育性强有关, 供试两个莲雾品种花粉量均十分丰富, 在开放当日交互试验中均表现出高结籽率, 且“大叶红”莲雾具有耐寒性高、果实色泽艳红等优点, 可作为莲雾杂交育种的理想亲本。在莲雾开花前两天去雄授粉结籽率为 0, 可能是柱头尚在无效状态。在花朵开放前 1d 授粉结籽率可达 20%, 说明莲雾柱头从花被松散分离时就开始逐渐进入有效状态, 一直持续到开放第二天花丝开始脱落, 可见莲雾花朵柱头的活力远远长于花粉, 其授粉期限主要受限于花粉活力和花粉管生长影响, 因此莲雾在杂交授粉时需注意根据花粉活力旺盛的时间来选择授粉时机。

在花粉离体培养发芽试验中, 蔗糖浓度和温度对莲雾花粉发芽影响十分明显。不同植物的花粉萌发和花粉管生长的最适温度存在差异, 一般来说, 耐寒植物花粉萌发的适温较低, 而喜温植物花粉萌发则比较适宜高温<sup>[10]</sup>。本研究中, 在 20℃ 花粉发芽率仅为 4.72%, 随着温度升高花粉萌芽率提高, 到 30℃ 花粉萌发率达到最高 29.35%, 这与莲雾喜温习性相符, 莲雾是典型的热带果树, 其生长开花均需要相对高的温度。但在 35℃ 时花粉发芽率迅速降至 0.71%, 推测是因为温度过高致使花粉活力快速降低所致。

蔗糖对植物花粉离体萌发具有积极效应<sup>[11]</sup>, 本研究中, 在含 10% 蔗糖的培养液中, 莲雾花粉萌发率高于其它设置浓度, 5% 和 10% 质量浓度下花粉发芽率并无显著性差异, 当浓度提高到 15% 以上时花粉发芽率显著降低, 说明适宜的蔗糖质量浓度对花粉离体萌发有一定的促进作用, 但当蔗糖质量浓度过高时, 培养基中渗透压增大, 会导致花粉失水, 产生质壁分离和花粉管破裂等现象, 从而抑制花粉离体萌发。

#### 3.3 杂交授粉果实与自然果实品质比较分析

本试验中供试两个莲雾品种互相杂交授粉的果实与自然果实在品质上相比较发现在果型、单果重和可溶性固形物等品质指标存在显著差异, 原因可能是存在花粉果实直感效应<sup>[12]</sup>, 前人研究中发现许多园艺作物果实的物理与化学特性会受到花粉的影响, 包括果实大小、性状、品质、颜色、贮藏期限及成熟期早晚等<sup>[13]</sup>。限于本试验供试品种过少, 且尚未获得杂交后代的植株性状, 无法进一步探讨更多莲雾杂交后代植株和果实的性状, 在下一步工作中有待深入研究。

### 4. 结论

本研究结果表明, 莲雾开花行为受气温影响, 正常情况下绽放前 1d 下午花蕾呈松散状, 早上约 6-8 点绽放, 受气温影响, 或提前或推迟半天开花。绽放第二天开始谢花, 花丝脱落, 花期约为 30h。花药在清晨随花朵绽放时开始开裂散出花粉, 至消散完约 4h, 柱头有效活力时间为 2d。莲雾杂交授粉成功率主要受花粉生活力、柱头有效状态和温度三个因子影响。最适授粉温度为 25℃-30℃, 花粉收集最佳时间为绽放当日早上 6 点-11 点, 授粉最适时间为开放当天。不同莲雾品种花粉对果实的大小和品质有影响。

#### 参考文献

- [1] 杨光华, 杨小锋, 李劲松, 等. 莲雾种质资源分类研究进展[J]. 中国南方果树, 2013, 42 (1) :40-42  
 [2] 杨荣萍, 陈贤, 张宏, 等. 莲雾研究进展[J]. 中国果树, 2009(1): 41-43

- [3]陈小敏,李伟光,杜关.海南莲雾反季节种植气候适宜性区划[J].热带农业科学,2018,38(8):90-95
- [4]郑加协,周红玲,张少平,等.漳州莲雾产期调节技术研究[J].果树学报,2016,33(12):1517-1522.
- [5]任红,王作龙,白大娟,等.莲雾花营养成分的测定分析[J].中国热带农业,2018,82(3):24-27
- [6]章希娟,许玲,余东,等.莲雾催花过程中叶片内源激素的变化[J].中国农学通报,2016,32(34):68-71.
- [7]全振炫,魏冬,吴国麟,等.莲雾遮阴诱导成花过程中顶芽结构与淀粉粒分布的变化[J].果树学报,2018,35(7):845-852.
- [8]王伟伟,姚玲,何开跃,王保松,何旭东等.不同柳树花粉离体培养及活力测定方法比较[J].江苏林业科学,2018,45(4):1-7
- [9]赵玉芬,李金霞,储博彦,等.6个品种大花萱草花粉活力的测定[J].西部林业科学,2017,46(2):15-19,31.
- [10]龙兴,尧金燕,秦献泉,等.广西野生蕉花粉活力及贮藏特性研究[J].广西农业科学,2010,41(12):1325-1328.
- [11]初庆刚,周启河,曹玉芳.蔗糖、硼对樱桃属植物花粉萌发的影响[J].莱阳农学院学报,1995,12(3):63-165.
- [12]周修涛,王滨蔚,车鹏燕,等.植物花粉直感效应及其机理[J].山东林业科技,2011,3:113-117.
- [13]江淑雯,卢柏松.不同花粉源对凤梨释迦果实品质的影响[J].台东区农业改良场研究汇报,2012,2:67-78.



# 根袋法获取木薯根际土壤的初步研究（一）

韦云东<sup>1,2</sup>，罗燕春<sup>1,2</sup>，郑华<sup>1,2</sup>，雷开文<sup>1,2</sup>，李军<sup>1,2</sup>，盘欢<sup>1,2</sup>

1. 广西壮族自治区亚热带作物研究所，广西南宁，530001；2. 广西壮族自治区木薯研究所，广西南宁，530001

**摘要** 为了获取木薯根际土壤，开展了“根袋法”盆栽试验。采用两个木薯品种，根袋内设置 500g 土，并采用不同的肥料处理。选择部分处理，用 Illumina 高通量测序技术，测试细菌（16S）和真菌（18S）多样性。结果表明：根袋仅对 GR4 茎粗有明显限制；中微量元素仅对粘土中的木薯生长有显著影响，且因元素不同有差异。NPK+B+Zn 处理显著提高株高和茎叶重。砂质壤土中使用 B+Zn+Ca+Mg 能提高土壤速效氮和磷。粘土施氮量为 2 倍时，根袋内速效氮显著高于根袋外；速效磷显著低于根袋外、且 SC205 小于 GR4；GR4 根袋内土壤的细菌物种丰度小于 SC205 根袋内和根袋外，但细菌独有物种的数量要大于 SC205。根袋内真菌物种数量有增多也多于根袋外。粘土 2 倍施氮量的真菌物种丰度比 1 倍施氮量低，Chao1 指标比不施肥低。细菌优势种群有放线菌、变形菌、绿弯菌、拟杆菌等，且根袋内变形菌门相对丰度显著高于根袋外。与氮转化相关的硝化螺旋菌门相对丰度表现为根袋外 > 根袋内 SC205 > 根袋内 GR4，与根际分泌物利用有关的鞘脂单胞菌目下的细菌属相对丰度也有差异。真菌的子囊菌门相对丰度最高。同时表现出根袋内外差异和品种间差异的可注释细菌种有 7 个，处理间和根袋内外相对丰度均有显著差异的真菌种有 2 个。本文的主要结论为：氮肥和中微量元素影响根袋木薯生长和土壤速效养分；细菌和真菌丰度、独有种等也受到施肥和木薯品种的影响。硝化螺旋菌门和鞘脂单胞菌目下的细菌属相对丰度的根袋内、外或品种间差异可能暗示氮循环过程的差异和根系分泌物的差异，发现了相对丰度敏感的细菌种和真菌种。本研究并未取得木薯根际土壤，但对根袋法培养木薯有一定的指导意义。在后续根袋试验中，应当首先考虑加大氮肥的用量，还可以配施钙镁硼锌等微量元素提高土壤速效养分。

**关键词** 木薯根际；根袋法；中微量元素；微生物多样性种；微生物群落结构

## Preliminary study on the “root bag” method for collecting cassava rhizosphere soil (I)

WEI Yun-dong<sup>1,2</sup>, Luo Yan-chun<sup>1,2</sup>, ZHENG Hua<sup>1,2</sup>, Lei Kai-wen<sup>1,2</sup>, LI Jun<sup>1,2</sup>, PAN Huan<sup>1,2</sup>,

1. Guangxi Institute of Subtropical Crops, Nanning, 530001; 2. Guangxi Institute of Cassava, Nanning, 530001

**Abstract** 【OBJECTIVE】 In order to collect cassava rhizosphere soil, 【METHOD】 two field trials were carried out with 500g soil (clay or sandy roam) in root bag and different fertilization treatments such as chemical and micro element fertilizers. Bacteria (16S) and fungi (18S) were tested for 3 treatments using high throughout sequencing technology (Illumina Hiseq). 【RESULTS】 Results showed that: Only stem diameter for the variety GR4 was limited by root bag, in the indices for cassava growth. Effects of micro elements on cassava growth were significant only in the clay soil, and were different among elements, in which, B+Zn could significantly improve cassava plant height and shoot weight. Application of Ca+Mg+B+Zn into the sandy roam could improve soil available nitrogen(AN) and available phosphorus (AP). When 200% quantity of nitrogen (N2) were applied into the clay soil, AN was higher than that of the bulk soil. Inversely, AP was higher in the bulk soil. AP was also significantly different between the varieties (SC205<GR4). Bacteria species richness of the root bag soil (collected from inside the root bags) for GR4 was lower than that for SC205 and the bulk soil. But the specific bacteria species for GR4 was more than that for SC205. The number of specific fungi species in root bag soil was more than that in the bulk soil. For the N2 treatment, the fungi richness was lower than that in 100% nitrogen applied (N1) and the Chao1 index was lower than the CK treatment in the clay soil. The dominant bacteria community was Actinobacteria, Proteobacteria, Chloroflexi, Bacteroidetes *et al.* The relative abundance(RA) of the Proteobacteria in the root bag soil was higher than that in the bulk soil. The RA of Nitrospirae which is correlated to soil nitrogen cycle followed the order of bulk soil > root bag soil (SC205) > root bag soil (GR4). The RA of the genus in Sphingobacteriales was also significant among both varieties and treatments. Ascomycota was the dominant fungi community. The RA for bacteria was significantly different for 7 species among the root bag soil and bulk soil and among the cassava varieties. While for the fungi species, the number was only 2. 【CONCLUSION】 The cassava growth and soil available nutrients could be significantly affected by nitrogen and micro-element fertilizer in the root bag trial. Bacteria and fungi richness, their specific species were also affected by the fertilizers and cassava varieties. The difference of RA of Nitrospirae and Sphingobacteriales among varieties or root bag soil and bulk soil inferred the difference of nitrogen cycle and root exudates. Very sensitive bacteria and fungi species were found. However, there is no evidence that rhizosphere soil was collected in this study, but some highlights can be given that nitrogen fertilizer was the primary consideration to fulfill the cassava growth and micro element(Ca, Mg, B, Zn) could be helpful to soil available nutrients in the future root bag study for cassava.

**Keywords** Cassava rhizosphere, root-bag method, trace elements, microbial diversity, microbial community structure

植物根际是植物和微生物交流比较活跃的土壤微区，植物的根系可以分泌各种对微生物有益的维生素、酶、植物生长调节剂及氨基酸等物质，促进其正常生长发育，进而对根际微生物的种类、数量和分布产生一

**第一作者简介** 韦云东，男，1988，助理研究员，土壤学硕士，主要从事木薯施肥研究。通讯地址：广西南宁市邕武路 22 号广西亚热带作物研究所；邮政编码：530001；E-mail: wydxiaota1613@163.com。

**通讯作者** 郑华，男，1983，助理研究员，生态学博士，主要研究方向：木薯水肥管理。通信地址：广西南宁市兴宁区邕武路 22 号，广西亚热带作物研究所；邮政编码：530001；Tel: 0771-2539061; E-mail: zhenghua8305@yeah.net。

定影响,植物、土壤、微生物的相互关系维持着土壤生态系统的功能(朱丽霞等,2003;Nihorimbere *et al.*, 2011; Richardson *et al.*, 2009)。

木薯是世界三大薯类作物之一,有着“地下粮仓”、“淀粉之王”的美誉,也是我国南方红壤区重要经济作物,其用途广泛,是食品、饲料、医药、化工、生物燃料等行业的重要原料。据联合国粮农组织(FAO)数据,2018 世界木薯生产规模稳中有升,总产量达到 2.77 亿 t。2017 年全国木薯种植面积为 29.44 万  $\text{hm}^2$ ,产量为 486.3 万 t,同比分别增长 1.09%和 0.83%,计算可得全国平均产量仅 16.5  $\text{t}/\text{hm}^2$ 。对木薯根际土壤的研究能为木薯养分吸收、木薯根系促生菌研究、木薯生长调节等提供科学依据,也可以进一步为木薯相关的基因研究和调控、木薯育种提供理论基础。而研究木薯根际土壤的采样方法是研究木薯根际的基础。

通常认为根际是离根表面只有 1~4mm 的范围的微小区域,甚至更小(刘芷宇等,1997)。因此学者研究了一系列采样方法用以研究植物根际性质。最经典的方法是“抖落法”(Riley and Barber, 1969, 1970),其基本原理是根据土壤与根系粘着程度不同,将土壤分为根面土、根际土和非根际土:松散粘附在根系表面 1-4mm 范围内的土壤为根际土,紧密粘着在根系表面约 0-2mm 的土壤为根面土,易抖落的为非根际土壤。其优点是简单方便,不需要特殊设备,可直接用于田间,但较粗放,不精确,更不能准确定量根系影响的范围和程度。许多研究都使用该方法进行根际土壤采样,如水稻(李振高等,1987;李磊等,2019)、棉花(孟亚利等,2005),甘蔗和花生(秦昌鲜等,2019),灌木(邱权等,2014),药用植物当归(江曙等,2009)、雷公藤(李健等,2011),森林研究如落叶松林及其与水曲柳、蒙古栎混交林(吉艳芝等,2008),格氏栲林(杨玉盛等,1998)等。

室内模拟培育法的原理是将于根系接触的土壤用薄膜或者尼龙网隔开,根据根系分布和隔开的方式分为几种:水平根面容器培养(Kuchenbuch and Jungk, 1982)、垂直根面容器培养(Farr, 1969; 钦绳武和刘芷宇,1984)、多隔层法(Youssef and Chino, 1987; 李晓林和曹一平,1992; 郭朝辉等,1999)、分室法(王建林等,1991; 李晓林等,1992a, b)。室内模拟培养方法的优点在于可以取得根际分层的土样,研究离根际不同距离的土壤性质,可以确定根际的影响范围。其缺点是装置复杂,大多数方法只能适用室内环境,而且大多数方法仅可进行短时间培育。

另外,还有学者使用根箱法研究根际土壤。李振高等(2003)采用自行设计的根箱栽培法,用 320 目尼龙布将根箱隔成根圈区和非根圈区。李宝贵等(1999)埋置两个三面开口的根箱,中间用尼龙网隔开,其中一边的根箱播种玉米种子。该方法在田间操作,可以较为真实的模拟田间环境,而且培养期也较长,能到 60d,但分层取样会有误差。根箱法可以用于室内和田间试验,也可以配合根袋进行培养(林琦等,1998)。

如果不考虑不同距离的根际土壤特性,可以应用根袋法来获取根际土壤。该方法由 Steen(1992)首创:用两个一大一小的圆筒插入泥土中,其中小的外面套个网袋,在小桶内种植植物,然后取出两个圆筒,待根系长成后将袋子挖出便获得完整的根系,再对植物根系进行研究实验。吴岳轩等(1995)用该方法来研究水稻根系。蔡昆争等(2003)取消了原方法中的外筒,而是直接挖一个孔洞,然后将套有尼龙袋的铁筒插入孔洞将铁筒内的尼龙袋内填满土壤,然后小心取出铁筒。有许多研究使用该方法对不同植物进行了根际土壤性质研究,但根袋大小和袋内土壤不一致。如李振高等(1993)用 10×20 cm 的尼龙网袋内装满土栽培小麦,置于盆钵内,根袋内土壤视为根际土。李从娟等(2011)在直径 3cm,高 12cm 的根袋内装满沙土,分别种植 5 种沙漠植物,培养 4 个月后,根袋内高度 1cm 以下土壤视为根际土壤,距根袋外 2~3 cm 的土壤作为非根际土。McGrath *et al.*(1997)开展了室内盆栽根袋试验,将相当于 100g 干土置入 132 $\mu\text{m}$  孔径的圆柱体尼龙根袋( $\phi 12\text{cm}\times 6\text{cm}$ )内,根袋内植入种子后置于 10cm 直径塑料盆的中间,根袋外填充相当于 500g 干土。培养一段时间后,根袋内土壤视为根际土壤,距离根袋 2.5cm 以外室外非根际土壤。可见根袋法的原理在于利用高密度网袋隔开袋内外的土壤,具体的参数并没有统一的标准,针对不同植物研究需要进行一定的适应性研究。根袋法方法简单,室内外均可使用,也可以取得较为大量的土壤样品,可以测试多个指标。但由于根际土壤收集过程中,不可避免地要损伤植物根系,造成离子外溢,使根际土壤受到污染。若控制得当,则可以把这些副作用降到最低。

根际微域研究有朝田间试验方向发展的趋势。因此如何使盆栽设计更加接近田间情况,需要考虑到物种根系的特征以及要求的培养时间等,还有许多问题需要进一步研究和探讨。

木薯根毛少,附着在木薯根表的土壤很少,大田条件下根际取样十分困难。本文作者在 2016 年曾利用“抖落法”对生长约为 100d 的田间木薯进行取样,发现“抖落法”能取到根面土约 1g/株,根际土仅 4g/株,且费时费力。而且生物量积累(郑华等 2018)和木薯的养分吸收最大期在植后约 90d(高志红等,2011),地上部开始封行,而此时块根已经进入快速膨大期,用其它培养方法很可能无法培养到 90d。根袋法很可能是适用木薯的研究根际的方法,因此研究根袋法适用木薯的具体参数很有必要。

本研究拟对木薯“根袋法”采集木薯根际土壤的相关参数进行初步探讨,包括不同的土壤质地和施肥量,并分析微生物多样性的变化,以期对根毛很少的植物根际研究提供方法依据。

## 1 材料与方法

## 1.1 材料

所试木薯品种为桂热4号（GR4）和华南205（SC205）。其中SC205为我国木薯种植区域广泛分布的主栽品种；桂热4号为广西壮族自治区亚热带作物研究所（以下简称热作所）育种，于2011年通过品种审定。其品种亲本单株编号为SM1600，来源于国际热带农业中心木薯种质PAR164自然杂交后代。

根袋材质为300目尼龙网，分为大袋和小袋。大袋为50 cm×30 cm×15 cm的长方体，上部中间有长13 cm，高7 cm的一条开口，方便放入小袋。小袋为长30 cm，直径5 cm，正中间有高10 cm，直径5 cm的T型凸起，凸起上下均开口，用于种植木薯种茎。

## 1.2 方法

### 1.2.1 试验1

试验1于2017年在热作所木薯试验基地开展（N22°54′02.58″，E108°20′05.43″）。2017年使用盆栽法开展，参试土壤质地分别为粘土和砂质壤土（后文以质地命名参试土壤），其中粘土的粘粒（<0.002 mm）、砂粒（2~0.05 mm）、粉（砂）粒（0.05~0.002 mm）含量分别为58.49%、33.00%、8.51%；砂质壤土则分别为15.25%、78.64%、6.10%。两种土壤的基本理化性质见表1。试验前风干过2 mm筛。

试验处理包括两种土壤，不同施肥量的氮磷钾肥和不同的中微量元素肥料组合，每个处理均有GR4和SC205两个品种。具体见表2，每个处理4次重复。

表1 参试土壤理化性质

| 土样名称 | pH  | 全氮<br>(g/kg) | 全磷<br>(g/kg) | 全钾<br>(g/kg) | 速效氮<br>(mg/kg) | 速效磷<br>(mg/kg) | 缓效钾<br>(mg/kg) |
|------|-----|--------------|--------------|--------------|----------------|----------------|----------------|
| 砂质壤土 | 6.0 | 0.699        | 0.84         | 2.13         | 56.4           | 135            | 90.4           |
| 粘土   | 5.7 | 1.410        | 2.65         | 4.39         | 122.0          | 154            | 65.7           |

表2 试验处理

| 编号 | 品种        | 施肥                             | 土壤   |
|----|-----------|--------------------------------|------|
| 1  | GR4和SC205 | CK（不施肥）                        | 粘土   |
| 3  | GR4和SC205 | NPK                            | 粘土   |
| 5  | GR4和SC205 | N0PK                           | 粘土   |
| 6  | GR4和SC205 | NPK（无网袋）                       | 粘土   |
| 7  | GR4和SC205 | N2PK                           | 粘土   |
| 8  | GR4和SC205 | CK（不施肥）                        | 砂质壤土 |
| 10 | GR4和SC205 | NPK                            | 砂质壤土 |
| 12 | GR4和SC205 | N0PK                           | 砂质壤土 |
| 13 | GR4和SC205 | NPK（无网袋）                       | 砂质壤土 |
| 14 | GR4和SC205 | N2PK                           | 砂质壤土 |
| 15 | GR4和SC205 | NPK+石灰 <sup>3)</sup>           | 粘土   |
| 16 | GR4和SC205 | NPK+Mg                         | 粘土   |
| 17 | GR4和SC205 | NPK+CaCl <sub>2</sub>          | 粘土   |
| 18 | GR4和SC205 | NPK+B                          | 粘土   |
| 19 | GR4和SC205 | NPK+Zn                         | 粘土   |
| 20 | GR4和SC205 | NPK+B+Zn                       | 粘土   |
| 21 | GR4和SC205 | NPK+CaCl <sub>2</sub> +Mg+B+Zn | 粘土   |

注：1，NPK表示氮磷钾，以复合肥的方式施入，其中N:P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>:K<sub>2</sub>O的纯用量均为76.9 mg/kg。N0PK的表示不施氮肥，磷和钾以磷酸二氢钾和氯化钾的形式施入。N2PK的磷钾肥与N0PK一致，氮肥为处理3的两倍，以尿素的形式施入；2，中微量元素用量为田间用量的2倍，田间施肥量为氯化钙157.5 kg/hm<sup>2</sup>；七水硫酸镁154 kg/hm<sup>2</sup>；21%硼砂7.5 kg/hm<sup>2</sup>；硫酸锌10 kg/hm<sup>2</sup>；3，石灰是指农用石灰，施肥量为1100 kg/hm<sup>2</sup>。换算容重为1.18 g/cm<sup>3</sup>。

盆栽用盆的大小为620 mm×395 mm×170 mm。根袋采用1.1中的小袋。种植时，将土壤（粘土和砂质壤土）按各处理与肥料混匀后按各处理分别装入到试验用盆中。每个盆内装入40 kg土壤。然后将各处理的土壤500 g分别装入到上述根袋中。每个根袋分别种植一株长约30 cm木薯种茎，之后埋入大盆的土壤中10 cm左右。每盆中植入GR4和SC205各一株。处理按照随机区组排列。

2017年4月27日种植后用水浇透，之后进入日常管理。于2017年8月8日（植后103 d）取样。取样前测定木薯株高茎粗。取样时分别取大盆内的土壤和根袋内的土壤，每个样品通过四分法分为三份：一份重量大约10 g，取样后迅速放入液氮中速冻，之后保存在-40℃冰箱。第二份取样后迅速放入4℃冷藏箱，之后

保存于 4℃ 冰箱中；第三份取样后风干。选择处理 1、3、7、8、11、14 的根袋内外样品，按照常规方法测定土壤速效氮、速效磷。选择处理 7 的根袋内的 SC205 样品和根袋外样品进行高通量细菌多样性测序，共 9 个土样；并选取处理 1、3、7 的根袋外样品和根袋内 SC205 样品进行真菌多样性测序。

### 1.2.2 试验 2

根据试验 1 进行了改进，采用了大袋套小袋的方法，主要探讨了根袋内的土壤量与中微量元素对木薯生长的影响。

试验在广西壮族自治区亚热带作物研究所木薯试验基地内开展 (N22°54'04.59", E108°20'03.41")。大袋和小袋内的所试土壤依然为上一年度的粘土和砂质壤土。“大袋”外的土壤为田间土壤。试验品种选用 SC205。与肥料相关的试验处理见表 3 (其它处理另文报道)，各大袋埋于田间的株行距为 80cm×90cm，田间位置采用随机区组排列。种植时将大袋装满土壤 (过 2mm 筛) 粘土 22.5kg，沙土 25.0kg。田间挖好坑后将大袋埋入地下 10cm。小袋装土后，将木薯的种茎从上面的开口插入到袋中种植。20180410 种植木薯，试验地采取滴灌，所用滴头流速为 4 L/h。

2018 年 8 月 8-9 日 (植后 120d-121d) 按处理顺序采样。处理 1-12 于 8 日采样，处理 13-18 于 9 日采样。采样时测量木薯株高、茎叶重和根重。

取样时分别取大袋内的土壤和根袋 (小袋) 内的土壤，每个样品通过四分法分为三份：一份重量大约 10g，取样后迅速放入液氮中速冻，之后保存在 -40℃ 冰箱；第二份取样后迅速放入 4℃ 冷藏箱，之后保存于 4℃ 冰箱中；第三份取样后风干过 20 目筛。

所有样品测试土壤铵态氮、硝态氮、速效氮、速效磷，处理 1、2、3、4、5、10、11、12、13、14 的样品测试土壤速效钾。

本文仅报道处理 4, 6, 7, 8, 9, 13, 15, 16, 17, 18, 即施肥对木薯和根袋内外土壤的影响。其它处理另文报道。

表 3, 试验 2 处理

| 处理编号 | 小袋装土量 (g) | 施肥 <sup>(1)</sup> | 土壤质地 | 大袋装土量 (kg) |
|------|-----------|-------------------|------|------------|
| 04   | 400       | NPK               | 粘土   | 22.5       |
| 06   | 400       | CK                | 粘土   | 22.5       |
| 07   | 400       | NPK+B+Zn          | 粘土   | 22.5       |
| 08   | 400       | NPK+Ca+Mg         | 粘土   | 22.5       |
| 09   | 400       | NPK+B, Zn, Ca, Mg | 粘土   | 22.5       |
| 13   | 400       | NPK               | 砂质壤土 | 25         |
| 14   | 500       | NPK               | 砂质壤土 | 25         |
| 15   | 400       | CK                | 砂质壤土 | 25         |
| 16   | 400       | NPK+B+Zn          | 砂质壤土 | 25         |
| 17   | 400       | NPK+Ca+Mg         | 砂质壤土 | 25         |
| 18   | 400       | NPK+B, Zn, Ca, Mg | 砂质壤土 | 25         |

注：NPK 与试验 1 中处理 3 相同，中微量元素处理分别于试验 1 中的 16-21 相同。

## 1.2 试验方法

土壤速效氮 (碱解氮) 按照碱解扩散法、速效磷碳酸氢钠浸提-钼锑抗比色法测定 (鲍士旦, 2005)，土壤铵态氮和硝态氮采用氯化钾浸提-AA3-A001-02E 型流动注射分析仪方法测定 (鲍士旦, 2005)

将保存在 -40℃ 的样品在液氮下使用玛瑙研钵磨碎，使用干冰运输 (约 -40℃) 送测，测高通量微生物多样性，由上海美吉生物医药科技有限公司进行测试。

测序过程如下：

(1) DNA 提取和 PCR 扩增：根据 E.Z.N.A.® soil 试剂盒 (Omega Bio-tek, Norcross, GA, U.S.) 说明书进行总 DNA 抽提，DNA 浓度和纯度利用 NanoDrop2000 进行检测，利用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 提取质量；细菌多样性 (16S) 用 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGC AG-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') 引物对 V3-V4 可变区进行 PCR 扩增，真菌多样性 (18S) 用 SSU0817F (5'-TTAGCATGGAATAATR RAATAGGA-3') 和 1196R (5'-TCTGGACCTGGTGAG TTTCC-3') 的 V5-V7 可变区进行 PCR 扩增。扩增程序为：95℃ 预变性 3min，27 个循环 (95℃ 变性 30s，55℃ 退火 30s，72℃ 延伸 30s)，最后 72℃ 延伸 10min (PCR 仪：ABI GeneAmp® 9700 型)。扩增体系为 20ul，4ul 5\*FastPfu 缓冲液，2ul 2.5mM dNTPs，0.8ul 引物 (5uM)，0.4ul FastPfu 聚合酶；10ng DNA 模板。

(2) Illumina MiSeq 测序

使用 2% 琼脂糖凝胶回收 PCR 产物，利用 AxyPrep DNA Gel Extraction Kit (Axygen Biosciences, Union City, CA, USA) 进行纯化，Tris-HCl 洗脱，2% 琼脂糖电泳检测。利用 QuantiFluor-ST (Promega, USA) 进行检测定量。根据 Illumina MiSeq 平台 (Illumina, San Diego, USA) 标准操作规程将纯化后的扩增片段构建 PE 2\*300 的

文库。

构建文库步骤: (1)连接“Y”字形接头; (2)使用磁珠筛选去除接头自连片段; (3)利用 PCR 扩增进行文库模板的富集; (4)氢氧化钠变性, 产生单链 DNA 片段。

利用 Illumina 公司的 Miseq PE300 平台进行测序 (上海美吉生物医药科技有限公司)。原始数据上传至 NCBI 数据库中。

### (3) 数据处理

原始测序序列使用 Trimmomatic 软件质控, 使用 FLASH 软件进行拼接:

①设置 50bp 的窗口, 如果窗口内的平均质量值低于 20, 从窗口开始截去后端碱基, 去除质控后长度低于 50bp 的序列;

②barcode 需精确匹配, 引物允许 2 个碱基的错配, 去除模糊碱基;

③根据重叠碱基 overlap 将两端序列进行拼接, overlap 需大于 10bp。去除无法拼接的序列。

使用的 UPARSE 软件 (version 7.1 <http://drive5.com/uparse/>), 根据 97% 的相似度对序列进行 OTU 聚类; 使用 UCHIME 软件剔除嵌合体。利用 RDP classifier (<http://rdp.cme.msu.edu/>) 对每条序列进行物种分类注释, 比对 nh 数据库, 设置比对阈值为 70%。

## 2 结果与分析

### 2.1 木薯生长状况

试验 1 的株高茎粗结果整体上来看, 品种 GR4 的处理 17、20、16、7 的株高最高 (表 4), 处理 5、8、1、12 的株高最低。处理 17、20、16、21 的茎粗最高, 处理 18、8、1、12 的茎粗最小。施用中微量元素肥料后, 尤其是钙、镁、硼+锌, 木薯生长相对旺盛。

对比处理 3 和处理 6 的株高和茎粗差异, 以及处理 10 和 13 的差异, 可以考察根袋与非根袋栽培的木薯的差异 (图 1)。两个品种两个指标仅 GR4 的处理 6 茎粗显著高于处理 3, 表明根袋对粘土中 GR4 的茎粗产生了负面影响, 但未对 SC205 造成显著影响。

试验 1 处理 1、3、5、6、7 分别与处理 8、10、12、13、14 比较 (图 1), 可以考察两种土壤对木薯生长的影响。T08 SC205 株高和茎粗均显著高于 T01, 说明不施肥时砂质壤土的 SC205 株高比粘土好; T07 GR4 株高和茎粗均显著高于 T14, 说明施两倍氮肥时 GR4 在粘土中的长势好于砂质壤土。T05 GR4 的茎粗小于 T12, 表明不施肥时砂质壤土 GR4 的茎粗比粘土高。

试验 1 中, 对比处理 3、15~21 可以考察中微量元素对粘土中木薯生长的影响 (图 1)。GR4 株高,  $T3 > T20$ ; SC205 株高  $T3 < T17$ ; SC205 茎粗  $T3 < T16$ ,  $T3 > T18$ ,  $T3 < T17$ ,  $T3 > T20$ 。增施硼+锌降低 GR4 株高, 增施氯化钙增加 SC205 株高; 中微量元素肥料对 GR4 的茎粗无显著影响, 对 SC205 的茎粗有影响: 施镁或者氯化钙提高 SC205 茎粗, 施硼或者硼+锌降低 SC205 茎粗。品种对微量元素的响应有所差异。

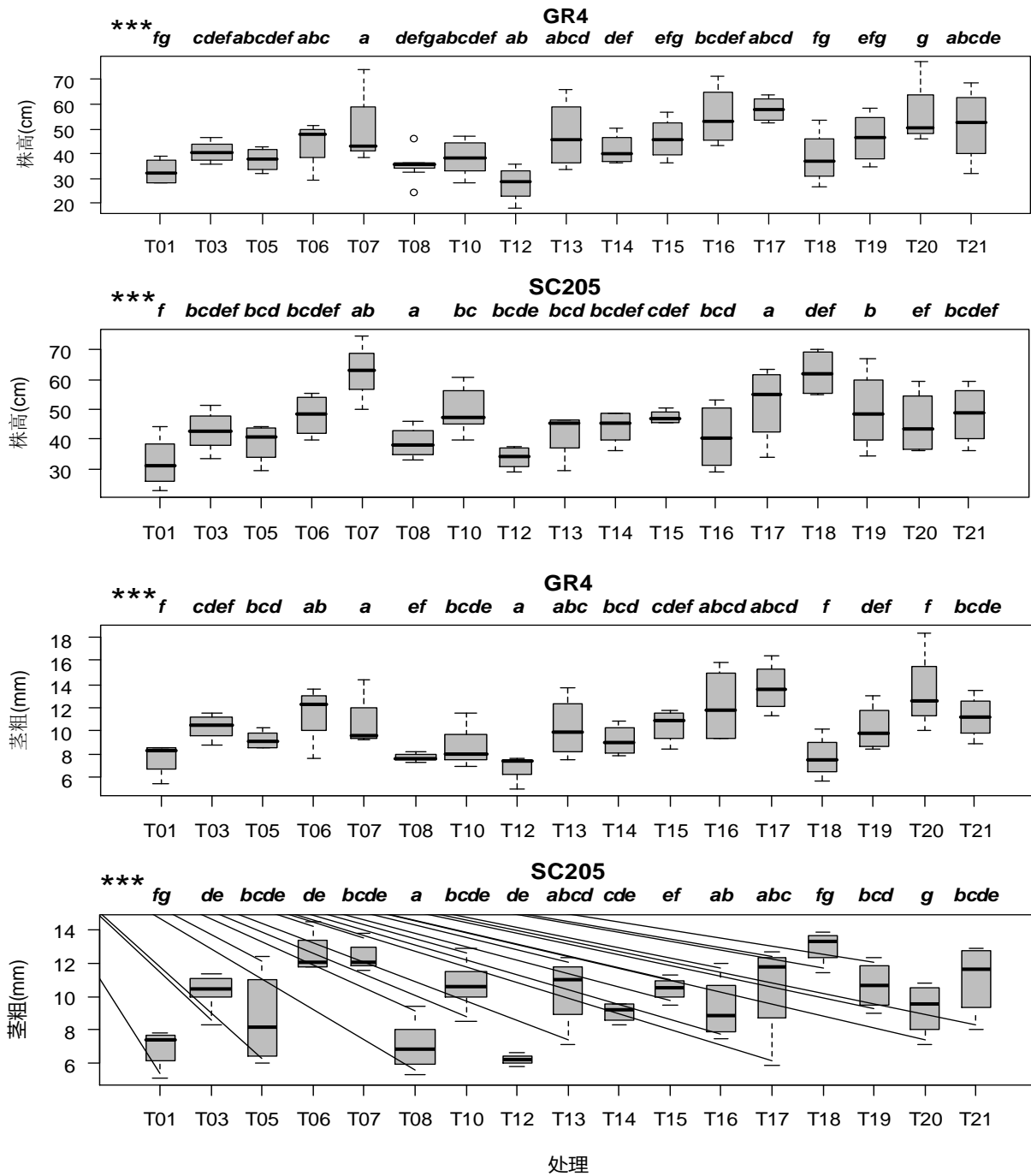


图 1, 试验 1 木薯株高茎粗

注: (1) 不同的小写字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ ), 相同的小写字母表示处理间差异不显著 ( $P > 0.05$ ); \*\*\*表示  $P < 0.001$  对所有处理的 SC205 和 GR4 的统一盆内的株高、茎粗进行配对 t 检验, 仅处理 10 和 18 的两个品种有显著差异 (图表略)。这两个处理的 SC205 的株高、茎粗均显著或者极显著高于 GR4。

对比试验 2 处理 4、6、7、8、9 能得出粘土对肥料的响应 (表 4), 其有显著差异的结果为: 处理 7 株高大于 6 和 4, 处理 7 茎叶重显著大于 8 和 6。说明粘土施用 NPK+B+Zn 比不施肥和只施 NPK 显著增加了木薯株高、比不施肥和施用 NPK+Ca+Mg 显著增加了茎叶重。对比试验 2 处理 13、15、16、17、18 能得出砂质壤土对肥料的响应。结果表明, 砂质壤土中施肥对木薯地上部各指标影响均不显著。

表 4, 试验 2 木薯株高和茎叶重

| 处理  | 株高(mg/kg)    | 茎叶重(mg/kg)     |
|-----|--------------|----------------|
| T04 | 46.9±9.9 c   | 143.3±41.2 abc |
| T06 | 46.9±7.7 c   | 92.0±30.2 c    |
| T07 | 59.3±10.2 ab | 214.5±51.3 a   |

|     |               |                |
|-----|---------------|----------------|
| T08 | 51.1±14.3 bc  | 124.8±10.7 bc  |
| T09 | 49.3±12.3 bc  | 129.3±42.7 abc |
| T13 | 57.6±9.6 abc  | 156.0±14.0 abc |
| T15 | 58.0±11.0 abc | 200.3±83.5 ab  |
| T16 | 56.1±13.6 abc | 199.0±30.7 ab  |
| T17 | 51.6±13.2 abc | 116.8±56.0 bc  |
| T18 | 50.9±10.4 bc  | 160.3±53.4 abc |

## 2.2 土壤速效养分

试验 1 根袋内外土壤速效氮和磷的结果表明：砂质壤土的速效氮和磷均显著低于粘土（表 5，表 6）。根袋内外的差异仅表现在部分处理上。处理 7（粘土 N2PK）的根袋内的土壤速效氮显著高于根袋外，而速效磷则相反。处理 14（沙土 N2PK）的根袋内外土壤速效氮差异不显著，但 SC205 根袋内速效磷显著低于根袋外。品种间的根袋内速效氮无显著差异，但处理 7 和 14 的 GR4 根袋内速效磷显著高于 SC205，这很可能是由于在氮肥供应较大时，木薯表现出了对磷的纯吸收作用，而 SC205 比 GR4 对磷的吸收更多，导致前者根袋内速效磷低于后者。这也符合人们对 SC205“喜大水大肥”的表观认识。

表 5 试验 1 土壤速效氮 (mg/kg)

| 处理号 | 处理简称      | 根袋外 <sup>(1)</sup> | GR4 根袋内  | SC205 根袋内                   |
|-----|-----------|--------------------|--|-----------------------------|
| 1   | 粘土 CK     | 90.30±1.13ns/ns    | 99.57±4.76 b <sup>(2)</sup> /np <sup>(3)</sup> | 97.77±3.44 a <sup>(2)</sup> |
| 3   | 粘土 NPK    | 95.35±3.04 ns/ns   | 95.95±6.11 b/np                                | 97.76±15.21 a               |
| 7   | 粘土 N2PK   | 87.70 s/s          | 111.05±10.15 a/np                              | 97.48±3.50 a                |
| 8   | 砂质壤土 CK   | 48.9 ns/ns         | 50.03±1.42 c/np                                | 78.47±22.47 b               |
| 11  | 砂质壤土 NPK  | 46.40 ns/ns        | 54.90±6.31 c/np                                | 52.97±4.55 b                |
| 14  | 砂质壤土 N2PK | 47.33 ns/ns        | 52.51±4.13 c/np                                | 51.18±3.64 b                |

注：(1)“/”之前的 ns 表示同一处理 GR4 根袋内与根袋外无显著差异( $P>0.05$ )，s 表示同一处理 GR4 根袋内与根袋外存在显著差异( $P<0.05$ )；“/”之后的 ns 表示同一处理 SC205 根袋内与根袋外无显著差异( $P>0.05$ )，s 表示同一处理 SC205 根袋内与根袋外存在显著差异( $P<0.05$ )。

(2)“/”之前的不同小写字母表示同一品种的处理间有显著差异( $P<0.05$ )，相同小写字母表示同一品种的处理间有无显著差异( $P>0.05$ )。

(3)“/”之后的 np 同一处理的品种间根袋内差异不显著( $P>0.05$ )，p 表示同一处理的品种间根袋内差异显著( $P<0.05$ )。

试验 2 粘土不同肥料处理的根袋内外的铵态氮、硝态氮均无显著差异（

表 7），粘土 4 种中微量元素合施（处理 9）比不施肥（处理 6）显著提高根袋内硝态氮。粘土根袋内外速效氮和速效磷也没有显著差异（表 8），处理 8 根袋内速效磷显著高于处理 7、6、4，表明施钙镁比施硼锌、不施肥、只施 NPK 提高了根袋内速效磷。砂质壤土处理 16（NPK+B+Zn）根袋内外铵态氮有显著差异，表明增施硼锌显著提高了根袋内铵态氮。处理 17（NPK+Ca+Mg）根袋内铵态氮显著高于处理 18（NPK+Ca+Mg+B+Zn），可能说明砂质壤土在 NPK+Ca+Mg 的基础上再施钾 B+Zn 后，对根袋内土壤铵态氮起到了一定的负作用，可能是由于增施硼锌促进了对根袋内铵态氮的吸收。处理 17 根袋外硝态氮显著高于处理 15（CK），施 NPK+钙镁比不施肥提高了硝态氮含量。砂质壤土根袋内外速效氮没有显著差异。处理 18（NPK+Ca+Mg+B+Zn）根袋外速效氮显著高于其它 4 个砂质壤土处理，根袋内速效氮也显著高于处理 13（NPK），15，17。处理 18（NPK+Ca+Mg+B+Zn）根袋内速效磷显著高于根袋外，且其根袋外速效氮大于其它砂质壤土处理，根袋内速效磷还显著高于处理 17 根袋内。

表 6 试验 1 土壤速效磷 (mg/kg)

| 处理号 | 处理简称      | 根袋外 <sup>(1)</sup> | GR4 根袋内  | SC205 根袋内                   |
|-----|-----------|--------------------|--|-----------------------------|
| 1   | 粘土 CK     | 78.60±17.82 ns/ns  | 88.76±4.16 a <sup>(2)</sup> /np <sup>(3)</sup> | 87.50±2.75 a <sup>(2)</sup> |
| 3   | 粘土 NPK    | 85.30±5.23 ns/ns   | 89.64±4.70 a/np                                | 86.05±10.00 ab              |
| 7   | 粘土 N2PK   | 93.8 ns/s          | 81.38±7.61 a/p                                 | 63.40±8.53 b                |
| 8   | 砂质壤土 CK   | 38.4 ns/ns         | 41.30±3.83 b/np                                | 39.70±3.12 c                |
| 11  | 砂质壤土 NPK  | 39.5 ns/ns         | 42.26±4.56 b/np                                | 41.33±4.88 c                |
| 14  | 砂质壤土 N2PK | 40.4 ns/s          | 37.04±1.52 b/p                                 | 29.05±2.49 c                |

注：(1)“/”之前的 ns 表示同一处理 GR4 根袋内与根袋外无显著差异( $P>0.05$ )，s 表示同一处理 GR4 根袋内与根袋外存在显著差异( $P<0.05$ )；“/”之后的 ns 表示同一处理 SC205 根袋内与根袋外无显著差异( $P>0.05$ )，s 表示同一处理 SC205 根袋内与根袋外存在显著差异( $P<0.05$ )。

(2)“/”之前的不同小写字母表示同一品种的处理间有显著差异( $P<0.05$ )，相同小写字母表示同一品种的处理间有无显著差异( $P>0.05$ )。

(3)“/”之后的 np 同一处理的品种间根袋内差异不显著( $P>0.05$ )，p 表示同一处理的品种间根袋内差异显著( $P<0.05$ )。

表 7, 试验 2 不同施肥处理的两种形态氮素养分(mg/kg)

| 取样位置 | 处理号 | 铵态氮         | 硝态氮          | 处理号 | 铵态氮                 | 硝态氮                |
|------|-----|-------------|--------------|-----|---------------------|--------------------|
| 根袋内  | 4   | 4.87±0.18 a | 0.37±0.09 ab | 13  | 3.21±1.02 abc       | 0.28±0.05 b        |
| 根袋外  | 4   | 5.33±1.40 a | 0.45±0.13 ab | 13  | 2.98±0.67 abc       | 0.35±0.23 ab       |
| 根袋内  | 6   | 4.19±0.14 a | 0.28±0.01 b  | 15  | -                   | -                  |
| 根袋外  | 6   | 4.47±0.86 a | 0.33±0.02 ab | 15  | 2.81±0.40 abc       | <b>0.26±0.04 b</b> |
| 根袋内  | 7   | 4.21±0.59 a | 0.33±0.02 ab | 16  | <b>2.57±0.33 bc</b> | 0.41±0.03 ab       |
| 根袋外  | 7   | 5.09±0.95 a | 0.43±0.03 ab | 16  | <b>3.78±0.47 a</b>  | 0.33±0.07 ab       |
| 根袋内  | 8   | 3.46±0.13 a | 0.34±0.06 ab | 17  | <b>3.48±0.94 ab</b> | 0.49±0.21 ab       |
| 根袋外  | 8   | 4.74±0.74 a | 0.50±0.10 a  | 17  | 3.91±0.78 a         | <b>0.60±0.42 a</b> |
| 根袋内  | 9   | 5.33±0.10 a | 0.46±0.05 a  | 18  | <b>2.22±0.45 c</b>  | 0.36±0.15 ab       |
| 根袋外  | 9   | 4.92±0.72 a | 0.42±0.03 ab | 18  | 3.18±1.00 abc       | 0.37±0.09 ab       |

注: (1) 不同的小写字母表示处理间差异显著 ( $P<0.05$ ), 相同的小谢字母表示处理间差异不显著 ( $P>0.05$ )。

### 2.3 土壤微生物多样性

高通量测序结果表明: 各样品细菌测得的序列数范围为 32413-48484 个, 平均长度在 431.3-434.9 之间, 最短序列长度的范围为 267-332, 最长序列长度为 494-510 (图表略)。各样品的细菌种数量为 180-227 之间, 但细菌测得的 OUT 能注释到种的仅为 63.8% (150/235), 可识别的有效 tags 数占总有效 tags 数的 10.5%-20.1% (图表略), 其中处理 7 根袋外最低, T7GR4 (处理 7 根袋内 GR4) 最高。

表 8, 试验 2 不同施肥处理的速效养分(mg/kg)

| 取样位置 | 处理号 | 速效氮          | 速效磷                | 处理号 | 速效氮                 | 速效磷                |
|------|-----|--------------|--------------------|-----|---------------------|--------------------|
| 根袋外  | 4   | 133.2±30.4 a | 82.3±13.5 ab       | 13  | 24.1±13.8 c         | 27.8±16.1 ab       |
| 根袋内  | 4   | 132.3±8.0 a  | 62.5±5.1 bc        | 13  | 30.3±2.0 c          | 36.3±3.0 ab        |
| 根袋外  | 6   | 117.7±5.7 a  | 64.6±2.3 abc       | 15  | 40.4±16.8 bc        | 22.5±13.9 ab       |
| 根袋内  | 6   | 124.3±4.6 a  | 61.3±5.4 bc        | 15  | 26.4±2.2 c          | 23.7±9.5 ab        |
| 根袋外  | 7   | 117.5±2.1 a  | 76.1±3.4 abc       | 16  | 29.5±6.1 c          | 18.0±4.0 ab        |
| 根袋内  | 7   | 102.2±27.2 a | 57.8±18.7 c        | 16  | 32.0±2.9 bc         | 27.3±12.7 ab       |
| 根袋外  | 8   | 110.0±11.3 a | 69.2±11.2 abc      | 17  | 33.9±0.4 bc         | <b>14.8±2.1 b</b>  |
| 根袋内  | 8   | 131.2±33.6 a | <b>84.1±10.9 a</b> | 17  | 28.9±2.4 c          | <b>14.0±4.1 b</b>  |
| 根袋外  | 9   | 135.5±4.9 a  | 74.6±2.5 abc       | 18  | <b>67.9±4.4 a</b>   | <b>15.5±0.1 b</b>  |
| 根袋内  | 9   | 132.0±24.5 a | 75.1±6.9 abc       | 18  | <b>57.4±33.7 ab</b> | <b>40.4±19.8 a</b> |

注: (1) 不同的小写字母表示处理间差异显著 ( $P<0.05$ ), 相同的小谢字母表示处理间差异不显著 ( $P>0.05$ )。

由图 2 可以看出, 处理 7 SC205 和 GR4 根袋内分别有 222 和 227 个细菌种, 大于根袋外 (180 个)。根袋内外的土壤共有 171 个细菌种, 两个品种根袋内土壤单独共有 44 个细菌种 (不包括三者共有), 而单独与根袋外的土壤共有细菌种仅各为 4 个。三者分别有 8, 3, 1 个特有细菌种, 其中: 根袋外仅有 1 个独有种 *Helicobacter pylori*, 其有效 tags 数仅为 2; GR4 根袋内有 6 个物种能准确注释到属或者种, 其种名 (有效 tags 数) 分别为: *Staphylococcus sp.* (100), 酸土脂环酸芽孢杆菌 (*Alicyclobacillus acidoterrestris*, 49), *Devosia sp.* (25), 噬几丁质菌属 (*Chitinophaga sp. BHS15*, 48), *Microtholunatus terrae* (10), *Ipomoea nil* (5), 其为植物基因牵牛花, 为采样混入的极少量植物根系。其中噬几丁质细菌是可以滑动并形成粘孢子的革兰氏阴性细菌, 因具有较强的几丁质酶活性而得名。SC205 根袋内仅一个物种被准确注释到属 (鞘脂单胞菌属, *Novosphingobium sp.*), 且有效 tags 数为 76, 该属是能利用根系分泌物的细菌 (图表略)。

通过独有的细菌种可以看出 GR4 对根袋内细菌独有种的影响要大于 SC205, 说明更多的细菌种对 GR4 根际有选择性, 鞘脂单胞菌属和噬几丁质菌属等独有种的出现也在一定程度上反映了根系分泌物对微生物的影响及品种间的差异。

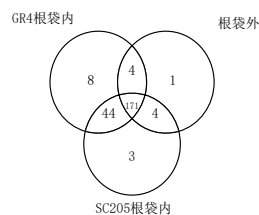


图 2, 细菌 VENN 图

真菌的种类数为 82-119 (表 9), 根袋内外的真菌种数量配对比较没有显著差异 (根据表 9 计算, 图表略)。



通过根袋内、外真菌种数量减去相应的根袋内外交叉的真菌种数量，得到处理 1、处理 3、处理 7 根袋内外各自的独有数量：可以得到处理 1 根袋内外独有的真菌种数量分别为 15、13 个、处理 3 分别为 13、5 个、处理 7 分别为 28、3 个。不施肥处理（处理 1）的根袋内外独有真菌种数量基本一致。处理 3、7 内根袋内独有的真菌种数量明显高于根袋外，说明施肥增加了根袋内独有真菌种的数量。

表 9 根袋内外土壤真菌物种数及其交叉种的数量

| 处理和土样位置 | 真菌种数量<br>(个) | 处理和土样位置                 | 真菌种数量<br>(个) |
|---------|--------------|-------------------------|--------------|
| T1SC205 | 109          | T1SC205&T1soil          | 94           |
| T3SC205 | 119          | T3SC205&T3soil          | 106          |
| T7SC205 | 107          | T7SC205&T7soil          | 79           |
| T1soil  | 107          | T1SC205&T3SC205&T7SC205 | 93           |
| T3soil  | 111          | T1soil&T3soil&T7soil    | 78           |
| T7soil  | 82           | 所有处理共有                  | 74           |

注：T1SC205, T3SC205, T7SC205, T1Soil, T3Soil, T7Soil 分别表示 T1 根袋内 SC205 品种，T3 根袋内 SC205 品种，T7 根袋内 SC205 品种，T1 根袋外，T3 根袋外，T7 根袋外（下同）。

处理 7 土壤细菌种水平的 ACE 和 Chao1 指标表现为 GR4 小于 T7soil 和 T7SC205（表 7）。说明 GR4 根袋内土壤的细菌物种丰度最低。但处理间细菌的其它  $\alpha$  多样性指标均无显著差异。

各处理间和根袋内外土壤真菌属和种水平的  $\alpha$  多样性的 Shannon, Simpson 指数无显著差异。代表物种丰度的指标在处理间有显著差异：种水平 Sobs 指标（表示观察到的物种数）的处理间差异表现为 T3soil 大于 T7soil 和 T7SC205, T3SC205 大于 T7SC205, 属水平则表现为 T3soil 和 T3SC205 显著大于 T7soil 和 T7SC205；真菌种 ACE 指标表现为 T3SC205 大于 T7SC205；种水平 Chao1 指标为 T1soil 大于 T1SC205 和 T7soil，属水平为 T1soil 大于 T7soil。根据 sobs 指标和 ACE 指标的结果表明，表现出了施一倍氮肥比施两倍氮肥的物种数高，无论是属或者种水平，还是根袋内、外。表明增加氮肥用量降低了真菌物种数。而物种丰度指标 ACE 也部分支持这一观点。但 Chao1 指标仅支持施 2 倍氮肥的真菌物种丰度比不施肥要低。

表 10 土壤细菌种水平  $\alpha$  多样性

| 处理和样品   | sobs         | Shannon     | Simpson       | ACE          | Chao1        |
|---------|--------------|-------------|---------------|--------------|--------------|
| T7GR4   | 164.0±12.4 a | 2.13±0.24 a | 0.347±0.076 a | 177.7±12.8 b | 177.0±10.9 b |
| T7SC205 | 180.3±8.4 a  | 2.10±0.06 a | 0.369±0.023 a | 201.3±7.4 a  | 200.9±2.2 a  |
| T7Soil  | 180 a        | 2.03 a      | 0.378 a       | 200.3 a      | 198.0 a      |

注：T7GR4 表示处理 7 根袋内土壤（品种为 GR4）。SC205 和 GR4 根袋内的检验为配对 T 检验，二者与根袋外的检验为单样本 T 检验。结合两种检验结果标注了各处理的差异性（小写字母）。

表 9 可以看出，可准确注释到细菌门共 16 个，相对丰度的占总测序数的比例仅 24.059%-30.240%，未准确注释的包括 unclassified\_d\_Bacteria, unclassified\_d\_unclassified, unclassified, unclassified\_d\_Archaea，其中 unclassified\_d\_Bacteria 的比例高达 60.627%-64.069%，而且还需要剔除可能混入到土壤内的植物基因（链形植物，Streptophyta）1.255%-1.404%。

可注释的门中，放线菌（Actinobacteria）相对丰度最高，达到 8.579%-10.697%。变形菌门（Proteobacteria）其次，相对丰度为 4.662%-9.390%，其根袋内相对丰度显著高于根袋外（表 12）。其下有 6 个纲，其中有 3 个纲在处理间有显著差异，其中  $\alpha$  变形菌纲 T7SC205>T7soil， $\delta$  变形菌纲表现为 T7SC205>GR4，而 Epsilonproteobacteria 则表现为根袋外大于根袋内，其在根袋内的相对丰度几乎为 0（细菌门以下的相对丰度数据图表略，下同）。

绿弯菌门（Chloroflexi）和厚壁菌门（Firmicutes）的相对丰度均表现为根袋内两个品种显著低于根袋外。其下有两个可注释纲，梭菌纲（Clostridia）和杆菌纲（Bacilli），且后者在处理间有显著差异：根袋外显著大于根袋内 SC205。杆菌纲下仅有芽孢杆菌目，之下有 5 个可注释科，35 个种，其中有 12 个种在处理间有显著差异。按照各处理的大小排序，可分为 5 类：第一类有 1 个种，*Paenibacillus sp. CMC-CF74*，处理间排序为 T7GR4<T7SC205<T7soil；第二类有 2 个种，排序为 T7GR4<T7soil；第三类有 4 个种，排序为 T7SC205<T7soil；第四类为 2 个种，排序为 T7SC205>T7soil，第五类为 2 个种：相对丰度顺序为根袋内小于根袋外。

酸杆菌门（Acidobacteria）是嗜酸菌，是南方土壤中较常见的细菌。虽然处理间在细菌门水平无显著差异，但其下有两个纲（全噬菌纲 Holophagae 和索利氏菌纲 Solibacteres）在处理间达到了显著水平，而且大小顺序均为 T7SC205≈T7soil>T7GR4。

表 11 土壤真菌  $\alpha$  多样性

| 分类水平 | 处理和样品   | sobs         | shannon       | simpson       | ace          | Chao1        |
|------|---------|--------------|---------------|---------------|--------------|--------------|
| 种    | T1Soil  | 97.5±2.1 ac  | 2.072±0.185 a | 0.242±0.046 a | 106.7±2.7 ab | 123.2±25.6 a |
|      | T1SC205 | 89.0±6.6 abc | 1.964±0.214 a | 0.262±0.071 a | 96.9±9.6 ab  | 95.8±10.2 b  |
|      | T3Soil  | 98.5±0.7 a   | 1.943±0.388 a | 0.277±0.106 a | 106.9±4.4 ab | 107.1±5.0 ab |
|      | T3SC205 | 91.3±3.9 ab  | 2.122±0.163 a | 0.212±0.041 a | 106.4±4.7 a  | 103.8±4.6 ab |
|      | T7Soil  | 83.8±9.3 bc  | 2.121±0.308 a | 0.222±0.062 a | 95.4±13.7 ab | 93.2±13.4 b  |
|      | T7SC205 | 82.0 c       | 2.288 a       | 0.156 a       | 96.7 b       | 99.5 ab      |
| 属    | T1Soil  | 82.0±2.8 ac  | 2.058±0.182 a | 0.242±0.046 a | 90.5±3.4 a   | 98.3±17.0 a  |
|      | T1SC205 | 76.7±4.2 abc | 1.954±0.212 a | 0.262±0.070 a | 83.6±8.4 a   | 81.7±8.2 ab  |
|      | T3Soil  | 83.0±0.0 a   | 1.924±0.378 a | 0.278±0.106 a | 89.9±3.6 a   | 90.3±5.3 ab  |
|      | T3SC205 | 79.0±4.1 a   | 2.111±0.164 a | 0.213±0.041 a | 89.2±6.1 a   | 88.1±4.0 ab  |
|      | T7Soil  | 70.3±5.3 bc  | 2.112±0.305 a | 0.222±0.062 a | 79.5±9.9 a   | 78.8±10.4 b  |
|      | T7SC205 | 71.0 c       | 2.275 a       | 0.156 a       | 94.2 a       | 86.6 ab      |

拟杆菌门(Bacteroidetes)的相对丰度在处理间无显著差异,其下有4个可准确注释的纲,包括Chitinophagia, Cytophagia, 黄杆菌纲(Flavobacteriia), 鞘脂杆菌纲(Sphingobacteriia)。其中前两个纲的相对丰度在处理间达到了显著水平,其中Chitinophagia的大小顺序为T7SC205> T7GR4≈T7soil, Cytophagia大小顺序为T7soil>T7GR4≈T7SC205,表现出了品种间的差异。其中鞘脂杆菌纲下的鞘脂单胞菌目(Sphingobacteriales)是公认的可以利用根系分泌物的细菌,本研究中仅有该目存在,下有且仅有鞘脂杆菌科,之下有两个属,鞘氨醇杆菌属和Mucilaginibacter属,且属下各自有一个种,且处理间相对丰度均达到了显著差异,前者为T7SC205≈T7soil>T7GR4,后者为T7soil> T7SC205(图表略),表现出了根袋内外和品种间的差异。

硝化螺旋菌门(Nitrospirae)是一类革兰氏阴性细菌。本研究中该门仅有一个属即硝化螺旋菌属(Nitrospira),该属作为硝化细菌(Nitrifier),可将亚硝酸盐氧化成硝酸盐。其表现为T7soil> T7SC205> T7GR4。可能说明根袋内氧气浓度更低,且根袋土壤受到根际影响,表现出了明显的氮转化过程差异。

浮霉菌门(Planctomycetes)也表现出了根袋外显著高于根袋内,其是一小门水生细菌,在海水、半咸水、淡水中都可被发现。疣微菌门(Verrucomicrobia)也是适应水生和土壤环境的细菌,其下的Opitutae纲是一门被划出不久的细菌,主要被发现于水生和土壤环境,或者人类粪便中。

另外,细菌门还有相对丰度很低或者极低的,芽单胞菌门(Gemmatimonadetes),装甲菌门(Armatimonadetes), Candidatus Parcubacteria, 柔膜菌门(Tenericutes), 衣原体(Chlamydiae), 蓝细菌(Cyanobacteria)等。其中柔膜菌门(Tenericutes)下的柔膜菌纲(Mollicutes)相对丰度则表现为根袋内小于根袋外;经过对土壤细菌种的相对丰度的差异性分析结果进行统计(图表略),发现有57个细菌种表现出了根袋内外的显著差异,其中有2个细菌种表现为根袋内GR4显著高于根袋外,12个细菌种则相反;14个细菌种表现为SC205根袋内显著高于根袋外,16个细菌种则相反。而15个细菌种则表现出了品种间的差异,其中13个还表现出了根袋内外差异+品种差异,其中可注释细菌种有7个,包括Rhodospirillales\_bacterium\_enrichment\_culture\_clone\_CTBE\_CDB1001B08, Tetrasphaera sp., Burkholderia sp.\_2\_PSB-69, Kutzneria albida, Legionella steelei, Geodermatophilaceae\_bacterium\_URHE0065, Paenibacillus sp.\_CMC-CF74。

表12 土壤细菌门水平相对丰度(%)

|                             | T7SC205       | T7GR4         | T7soil  |
|-----------------------------|---------------|---------------|---------|
| unclassified_d_Bacteria     | 63.118±1.495  | 60.627±6.608  | 64.069  |
| Actinobacteria              | 10.679±1.616  | 10.597±4.617  | 8.579   |
| Proteobacteria              | 8.479±1.477 a | 9.390±2.638 a | 4.662 b |
| Chloroflexi                 | 2.750±0.576 b | 3.066±0.611 b | 5.342 a |
| Firmicutes                  | 2.190±0.360 b | 2.235±0.216 b | 2.916 a |
| Acidobacteria               | 0.502±0.879   | 3.008±4.389   | 0.397   |
| Planctomycetes              | 0.594±0.221 b | 0.660±0.104 b | 1.166 a |
| Candidatus Saccharibacteria | 0.432±0.268   | 0.688±0.403   | 0.290   |
| Bacteroidetes               | 0.448±0.132   | 0.299±0.339   | 0.242   |
| Gemmatimonadetes            | 0.128±0.028   | 0.100±0.115   | 0.100   |
| Nitrospirae                 | 0.082±0.025 b | 0.029±0.018 c | 0.166 a |
| Verrucomicrobia             | 0.051±0.060   | 0.066±0.112   | 0.079   |
| Tenericutes                 | 0.004±0.003   | 0.040±0.060   | 0.028   |
| Candidatus Parcubacteria    | 0.033±0.023   | 0.008±0.009   | 0.024   |
| Armatimonadetes             | 0.017±0.020   | 0.027±0.025   | 0.014   |
| Chlamydiae                  | 0.013±0.016   | 0.013±0.007   | 0.048   |
| Cyanobacteria               | 0.008±0.004   | 0.014±0.010   | 0.007   |
| 可准确注释合计                     | 26.411        | 30.240        | 24.059  |

注:不同的小写字母表示细菌门相对丰度差异显著, T7SC205与T7GR4的比较采用配对t检验,二者与T7soil的比较采用单样本T检验,根据检验结果标注。未标注表示无显著差异。

土壤真菌(18S)测得的真菌比例为83.94%-96.38%,其余部分为动物、植物等干扰因素。可准确注释到

真菌门分类共有 6 个，其相对丰度总和的范围为 38.18%-73.34%，所有样品平均值为 59.92%±9.40%。各处理相对丰度最高的门为子囊菌（Ascomycota），其相对丰度大小为 43.71%±11.59% - 59.79%±8.05%，其次为毛霉门（Mucoromycota），各处理相对丰度大小为 0.590% - 4.662%；再次为担子菌门（Basidiomycota），0.781%-7.863%；壶菌门（Chytridiomycota），0.118%-0.946%；捕虫霉门（Zoopagomycota），0.0606%-0.213%；芽枝霉门的相对丰度最小 0%-0.066%。其中处理间的壶菌门相对丰度有显著差异，T1SC205 最高（0.946%±0.254），显著高于 T3SC205，T7soil，T7SC205（0.118%±0.123%）（图表略）。

真菌纲共有 21 个，相对丰度（所有样品平均值）超过 1%的共有 5 个，分别是 Eurotiomycetes（36.65%），Sordariomycetes（12.89%），Dothideomycete（2.858%），unclassified\_p\_Mucoromycota（2.689%），Pucciniomycetes（1.656%）（图 4）。有 4 个纲表现出了处理间的显著差异，其中 Agaricomycetes 和 Geminibasidiomycetes 的 T7soil 最大，表明粘土 2 倍施氮量的根袋外最适合这两个细菌纲生长；Chytridiomycetes 纲则表现为 T1SC205>T7SC205，表明该根袋内真菌纲对施肥有响应；Microbotryomycetes 的相对丰度为 T7soil 最大，T3soil 其次，T3soil 显著大于 T1SC205 和 T3SC205，该真菌纲还表现出了施肥条件下根袋内外的差异（图表略）。

真菌种水平各样品相对丰度最大的为 *Penicillium oxalicum*（草酸青霉菌）的丰度较大，平均值达到 20.475%，范围为 2.765%-41.834%；其次为 *Tolypocladium geodes*（地生弯颈霉，平均值 3.672%），再次为 *Trichoderma harzianum*（哈茨木霉，3.704%），*Chaetothyriales sp. MMO6*（3.049%），*Platygllea vestita*（1.817%），*Glomeromycotina sp. MIB8875*（1.399%），*Cladophialophora sp. CBS142309*（1.061%），*Pseudochaetosphaeronema sp. SYP-F-7195*（假性小毛球菌属变种，1.049%），*Panaeolus papilionaceus*（大孢花褶伞，0.784%）等（图表略）。

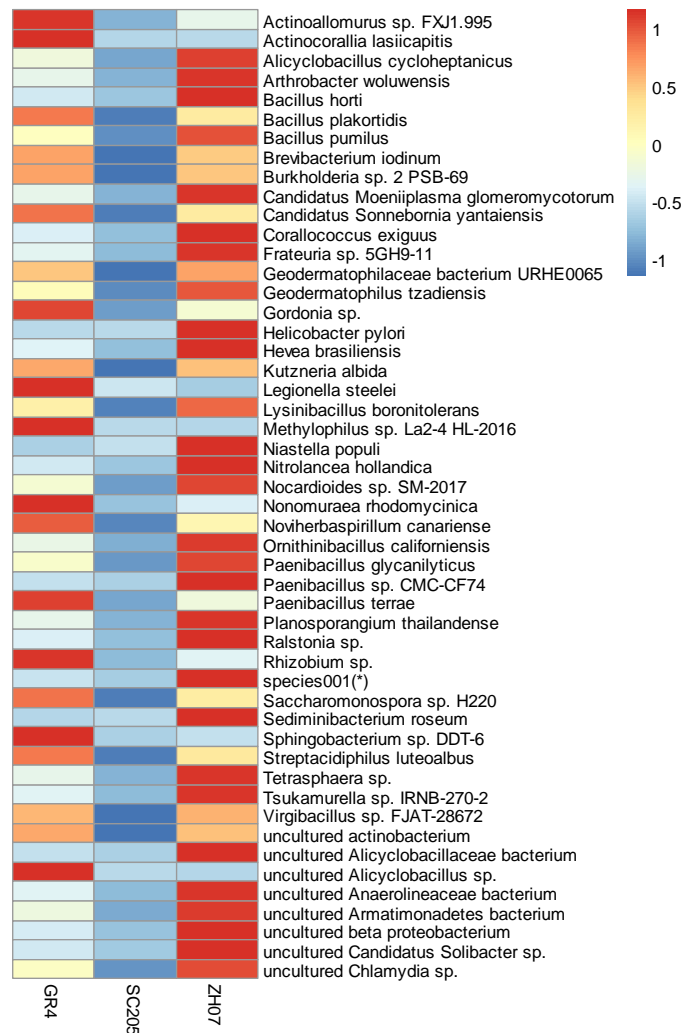


图 3，处理间差异显著的细菌种（%，仅列出前 50 个）

注：1，Species001 表示 *Rhodospirillales bacterium enrichment culture clone CTBE\_CDB1001B08*。

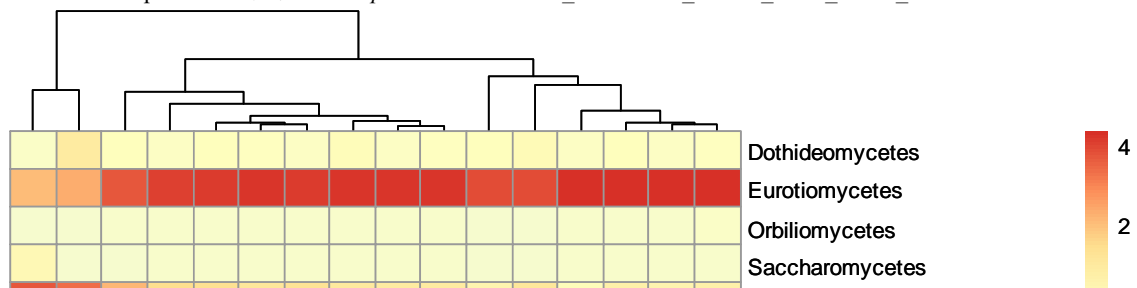


图 4, 各处理真菌丰度 heatmap 图 (纲水平)

注: (\*)表示处理间有显著差异。

### 3 讨论与结论

#### 3.1 木薯生长状况和土壤速效养分

在试验 1 中, 根袋仅对粘土中 GR4 的茎粗产生了负面影响, 但未对 SC205 造成显著影响。不施肥时砂质壤土的 SC205 比粘土长势好; 施两倍氮肥时 GR4 在粘土中的长势好于砂质壤土。

中微量元素仅对粘土中种植的木薯有显著影响, 效果因元素不同有差异: B+Zn 降低 GR4 株高, 降低 SC205 茎粗; 氯化钙提高 SC205 株高、茎粗; 镁提高 SC205 茎粗; 硼降低 SC205 茎粗。品种间的差异表现在砂质壤土 NPK 和粘土 NPK+B 上, 均表现为 SC205 比 GR4 株高茎粗要高。试验 2 中粘土施用 NPK+B+Zn 比不施肥和只施 NPK 显著增加了木薯株高、比不施肥和施用 NPK+Ca+Mg 显著增加了茎叶重。硼锌处理在两个试验中对株高、茎粗的影响不一致, 但并未表现出明显的矛盾。两个试验中的结果差异可能是由于培养期不一致或者木薯株高茎粗的变异系数均较大造成的。这也是导致一些处理虽然平均值相差较大, 但因为标准差较大而统计不显著。中微量元素仅在粘土中表现出显著效果可能与其土壤氮含量高于砂质壤土有关, 砂质壤土中氮可能是木薯生长的第一限制因子, 而粘土中氮的缺乏程度比较弱, 这能在一定程度上解释施用硼锌产生了正效应。

品种间的差异仅表现在砂质壤土的 NPK 和粘土 NPK+B 处理中, 均表现为 SC205 比 GR4 株高茎粗要高。

土壤速效养分方面。对于粘土, 施氮量为 2 倍时根袋内的土壤速效氮显著高于根袋外, 根袋内速效磷小于根袋外, 说明根袋内氮肥充足时, 对根袋内土壤磷表现出了纯吸收作用。且 SC205 比 GR4 吸收的更多, 导致前者根袋内速效磷低于后者, 这也符合人们对 SC205“喜大水大肥”的表观认识。郑华等 (2016) 报道的多年试验结果也证实了 SC205 比 SC201 需要更多的肥料, 但是获得的产量却更少。粘土速效养分未发现根袋内外差异。NPK+Ca+Mg+B+Zn 比不施肥显著提高根袋内硝态氮。NPK+Ca+Mg 比 NPK+B+Zn、CK、NPK 提高了根袋内速效磷。值得注意的是根袋外的土壤速效养分并没有因为施肥而产生太大变化, 很可能是由于试验期间雨水较大, 养分流失比较严重, 也可能是由于速效养分的季节变化 (郑华等, 2018)。

而对于砂质壤土, NPK+Ca+Mg+B+Zn 可提高根袋内外速效氮; NPK+Ca+Mg+B+Zn 导致根袋外速效磷比 NPK 处理略微降低, 根袋内速效磷略微上升, 最终结果是根袋内显著高于根袋外。而 NPK+Ca+Mg 可略微降低根袋内外速效磷, 导致显著低于 NPK+Ca+Mg+B+Zn。硼锌导致根袋内铵态氮显著低于根袋外; 钙镁导致根袋外硝态氮显著高于 CK 处理;

钙镁对两种土壤中的速效磷效果不一, 红壤中施钙镁似乎可以减少土壤胶体对磷的固定作用, 促进有效磷增加, 其具体原因还需要进一步的研究。但是砂质壤土中并没有这种效果。

### 3.2 土壤微生物多样性及品种差异

通过独有的细菌种可以看出 GR4 对处理 7 (粘土 2 倍施氮量) 根袋内细菌独有种的影响要大于 SC205, 说明更多的细菌种对 GR4 根际有选择性。其中 SC205 根袋内仅一个独有物种被准确注释到属 (*Novosphingobium sp.*), GR4 根袋内的独有种有 4 个有效 tags 数大于 10, 值得关注, 包括葡萄球菌属内的某个种, 酸土脂环酸芽孢杆菌, 德沃斯氏菌属内某个种, *Chitinophaga sp. BHS15*, *Microlunatus terrae*。不同施肥处理的根袋内独有真菌种数量明显高于根袋外, 说明施肥增加了根袋内独有真菌种的数量。后续研究应当加强对这些独有种的深入研究, 将对深入理解不同品种根际环境有着一定的指示作用。

不同处理间微生物  $\alpha$  多样性的 Shannon, Simpson 指数无显著差异, 但代表物种数或物种丰度的指标有显著差异。粘土 2 倍施氮量处理 GR4 根袋内土壤的细菌物种丰度小于 SC205 根袋内和根袋外。真菌则表现出了粘土 1 倍施氮量比 2 倍处理的物种丰度高, 无论是属还是种水平, 根袋内或者根袋外。Chao1 指标还支持 2 倍施氮量的真菌物种丰度比不施肥的低。总之, 本研究中施肥或者施 2 倍氮肥减少了真菌丰度。这与其它研究得到的结论有异同, 如单施化肥增加了红壤真菌种群丰度与多样性, 但是对细菌的种群丰度与多样性影响不大 (于冰等, 2017)。Zhou *et al.* (2016) 研究发现对东北黑土增施用氮肥和氮、磷肥配施可增加真菌数量, 降低真菌多样性。丁建莉等 (2017) 的研究结果表明, 施化肥对黑土中真菌多样性影响不显著, 对真菌丰度也没有显著影响。聂三安等 (2018) 研究表明黄泥田水稻土三个处理 (不施肥 CK、单施化肥 NPK、化肥配施秸秆 NPKS) 的细菌  $\alpha$  多样性的 Shannon 和 Simpson 指数无显著性差异, 但 NPK 处理的 Chao1 和 ACE 指数均显著低于 CK 和 NPKS 处理。真菌的 4 个  $\alpha$  多样性指数均表现为 NPK 处理显著低于 CK 和 NPKS 处理。可见, 施肥处理对土壤微生物多样性指标因土壤和作物等有所差异。

粘土 2 倍施氮量处理中, 可注释的细菌门中, 放线菌的相对丰度最大 (8.579%~10.697%), 其次为变形菌 (4.662%~9.390%)、绿弯菌、拟杆菌、酸杆菌等。其中根袋内 (两个品种) 变形菌门相对丰度显著大于根袋外, 而厚壁菌门的相对丰度则显著小于根袋外。这从一定程度上反应出了受根际影响的根袋内土壤微生物群落的变化。

浮霉菌门和绿弯菌门的相对丰度都表现出了根袋外显著高于根袋内。其中浮霉菌门其是一小门水生细菌, 在海水、半咸水、淡水中都可被发现; 绿弯菌门是兼性厌氧生物, 在光合作用中不产生氧气, 不能固氮。细菌中还出现了适宜水生和土壤环境的疣微菌门, 以及极低丰度的能进行产氧气光合作用的蓝细菌。由于该试验在室外进行, 盆内雨水容易聚集, 所以土壤细菌出现了的适宜水生的浮霉菌门, 以及大量的厌氧光合作用绿弯菌和极微量的蓝藻门。细菌在一定程度上反应了试验条件, 但根袋内土壤很可能受到根系影响, 增加了其它细菌门如变形菌门的相对丰度, 从而减少了浮霉菌门和绿弯菌门的相对丰度, 即减少了培养环境的影响。

硝化螺旋菌门下仅有一个属即硝化螺旋菌属 (*Nitrospira*), 该属作为硝化细菌 (Nitrifier), 可将亚硝酸盐氧化成硝酸盐 (Ehrlich *et al.*, 1995), 这是反硝化作用的一个步骤。该细菌门的相对丰度表现出了根袋内外及品种间的差异: T7soil>T7SC205>T7GR4。根袋内外差异的差异可能是由于氧化还原电位的差异, 或者受到根际的影响。有研究认为: 根分泌物刺激细菌的呼吸作用和根呼吸作用增强所导致  $O_2$  分压的下降, 是所观察到活根刺激反硝化作用加强的原因<sup>[44]</sup>。而根袋内品种间的差异则很可能暗示了品种对根际氮利用的差异。不同木薯品种对氮的吸收的差异可能反应在根际微生物上, 应当继续深入研究证实这一发现。

处理间细菌的相对丰度在各个分类水平均表现出了一定的显著差异。除了上述门水平的显著差异之外, 纲到种的分类水平均表现出了一定的显著差异。如厚壁菌门下的杆菌纲相对丰度表现为根袋外大于根袋内 SC205, 其下 12 个细菌种也表现出了一定的差异; 酸杆菌门 (*Acidobacteria*) 是一种寡营养的细菌 (Fierer *et al.*, 2012), 其下的两个纲全噬菌纲和索利氏菌纲均表现出了根袋内 GR4 小于根袋外和根袋内 SC205, 寡营养细菌的相对丰度很可能与根系分泌物的量和成分有关系, 需要进一步研究; 拟杆菌门下的鞘脂单胞菌目是公认可以利用根系分泌物的细菌, 其下两个属鞘氨醇杆菌属和 *Mucilaginibacter* 也都表现出了根袋内外或者品种间的差异, 暗示不同品种间的根系分泌物及其分解的难易程度对细菌群落结构的影响。

各处理真菌相对丰度最高的门为子囊菌 (43.71%±11.59% - 59.79%±8.05%), 其次为毛霉门, 担子菌门等。真菌纲相对丰度最大的为 *Eurotiomycetes* (36.65%), *Sordariomycetes* (12.89%), *Dothideomycete* (2.858%) 等。真菌有 4 个纲表现出了处理间的显著差异, 其中 *Agaricomycetes*, *Geminibasidiomycetes*, *Microbotryomycetes* 的相对丰度最大, 表明它们对施 2 倍氮肥的适应性, 而后者还表现出了施肥条件下根袋内外的差异。

### 3.3 对“根袋法”获取木薯根际土壤的建议

虽然本研究观察到了木薯根袋内外土壤速效养分和微生物群落结构的差异，但是并没有观察到相关的指示指标，一方面说明微生物群落结构对根袋培养的敏感性，另一方面也说明根袋法可以作为获取木薯根际土壤的方法，但是需要改进。

根袋法采集根际土壤所用的参数是不一致，如李振高等（1993）用10×20 cm的尼龙绸袋，用1.0g/cm<sup>3</sup>的容重计算，约159g土壤；李从娟等（2011）所用的直径3cm，高12cm的根袋内沙土以1.1g/cm<sup>3</sup>的容重换算成土重大约93g。McGrath *et al.*（1997）所用根袋内的土重为相当于100g干土。本试验采用凸形根袋，内装有500g土，设计试验时考虑到需要培养到90d，块根膨大时需要的养分比较多，因此充填土壤较多。根系影响土壤的范围是十分有限的，当根袋内土壤的量较多时，根系分泌物被稀释，很可能检测不到根际对根袋内土壤的影响，但是观察到根袋内外微生物的差异。因此，仍需要开展进一步的研究，针对不同培养时期，设计不同的根袋形状，如加大根袋大小，或者使用盘状根袋，调整袋内土壤和施肥量，以取得根袋法获取木薯根际土壤的准确参数。具体在施肥方面的建议：应当首先考虑氮肥的供应，除了增大氮肥用量，或者使用缓释氮肥提高肥效期以外，还可以配合施用微量元素提高土壤速效养分，如粘土中施用钙镁提高根袋内土壤速效磷、砂质壤土中钙镁硼锌四种微量元素提高根袋内外速效氮。

#### 参考文献

- [1] Ehrlich S, Behrens D, Lebedeva E, et al. A New obligately chemolithoautotrophic, nitrite-oxidizing bacterium, *Nitrospira moscoviensis* sp. nov. and its phylogenetic relationship[J]. Archives Microbiology, 1995, 164(1): 16-23.
- [2] Farr E, Vaidyanathan V, Nye PH. Measurement of ionic concentration gradients in soil near roots[J]. Soil Science, 1969, 107: 385-391.
- [3] Fierer N, Lauber CL, Ramirez KS, et al. Comparative metagenomic, phylogenetic and physiological analyses of soil microbial communities across nitrogen gradients[J]. The ISME Journal, 2012, 6: 1007-1017.
- [4] Klemedtsson L, Svensson B H, Rosswall T. Dinitrogen and nitrous oxide produced by denitrification and nitrification in soil with and without barley plants[J]. Plant and Soil, 1987, 99: 303-319.
- [5] Kuchenbuch R, Jungk A. A method for determining concentration profiles at the soil-root interface by thin slicing rhizosphere soil[J]. Plant and Soil, 1982, 69: 391-394.
- [6] McGrath S. P., Shen Z. G., Zhao F. J. Heavy metal uptake and chemical changes in the rhizosphere of *Thlaspi caerulescens* and *Thlaspi ochroleucum* grown in contaminated soils[J]. Plant Soil, 1997, 188: 153-159.
- [7] Nihorimbere V, Ongena M, Smargiassi M, et al. Beneficial effect of the rhizosphere microbial community for plant growth and health[J]. Biotechnology, Agronomy, Society and Environment, 2011, 15(2): 327-337.
- [8] Richardson A E, Barea J M, McNeill A M, et al. Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms[J]. Plant and Soil, 2009, 321(1-2): 305-339.
- [9] Riley D, Barber SA. Bicarbonate accumulation and pH changes at the soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) root-soil interface[J]. Soil Science Society of America Journal, 1969, 33(6): 905-908.
- [10] Riley D, Barber SA. Salt accumulation at the soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) root-soil interface[J]. Soil Science Society of America Journal, 1970, 34: 154-155.
- [11] Steen E. Usefulness of the mesh bag method in quantitative root studies. In: Atkinson D, ed. Plant root growth in an ecological perspective[M]. Blackwell, Oxford, 1991. 75-86.
- [12] Youssef R A, Chino M. Studies on the behaviour of nutrient in the rhizosphere I: Establishment of a new rhizobox system to study nutrient status in the rhizosphere[J]. Journal of Plant Nutrition, 1987, 10: 1185-1196.
- [13] Zhou J, Jiang X, Zhou B, et al. Thirty four years of nitrogen fertilization decreases fungal diversity and alters fungal community composition in black soil in northeast China[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2016, 95: 135-143.
- [14] 鲍士旦. 土壤农化分析(第三版)(M). 中国农业出版社, 2005, 北京.
- [15] 蔡昆争, 骆世明, 段舜山. 水稻根系在根袋处理条件下对氮养分的反应[J]. 生态学报, 2003, 23(6): 1109-1116.
- [16] 丁建莉, 姜昕, 马鸣超, 等. 长期有机无机肥配施对东北黑土真菌群落结构的影响. 植物营养与肥料学报, 2017, 23(4): 914-923.
- [17] 高志红, 陈晓远, 林昌华, 等. 不同施肥水平对木薯氮磷钾养分积累、分配及其产量的影响[J]. 中国农业科学, 2011, 44(8): 1637-1645.
- [18] 郭朝晖, 张杨珠, 黄子蔚. 根际微域营养研究进展(二)[J]. 土壤通报, 1999, 30(2): 85-88.
- [19] 吉艳芝, 冯万忠, 陈立新, 等. 落叶松混交林根际与非根际土壤养分、微生物和酶活性特征[J]. 生态环境, 2008, 17(1): 339-343.

- [20]江曙, 段金殿, 严辉, 等. 当归根际微生物种群结构与生态分布的研究[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(12):1483-1488.
- [21]李宝贵, 李晓林, 曹一平. 田间小麦根际微区的钾素营养研究[J]. 土壤通报, 1999, 30(2): 78-79 .
- [22]李从娟, 李彦, 马健, 等. 干旱区植物根际土壤养分状况的对比研究[J]. 干旱区地理, 2011,34 (2): 222-228
- [23]李健, 唐佳栋, 吴承祯, 等. 雷公藤根际微生物特征研究 [J]. 中国生态农业学报, 2011, 19(4): 878-882.
- [24]李磊, 韩成, 王宵宵, 等. 镉胁迫下转基因水稻对根际土壤微生物的影响[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(14): 282-287.
- [25]李晓林, 曹一平. VA 菌根菌丝对三叶草固氮的影响[J]. 北京农业大学学报, 1992, 18(3): 299 -302.
- [26]李晓林, 曹一平. VA 菌根菌丝对三叶草固氮的影响[J]. 土壤通报, 1992a, 18 (3): 299-302.
- [27]李晓林, 曹一平. 菌根和非菌根三叶草根际土壤磷钾变化[J]. 土壤通报, 1992b, 23 (4): 180 -182.
- [28]李振高, 潘映华, 李良谟. 不同基因型小麦根际细菌及酶活性的动态研究[J]. 土壤学报, 1993, 30 (1): 1-8.
- [29]李振高, 万焕楣, 吴留松, 等. 水稻根际反硝化细菌生态分布的研究[J]. 土壤学报, 1987, 24(2):120-125.
- [30]李振高, 俞慎, 吴胜春, 等. 不同氮肥对水稻根圈微生物生物量及硝化-反硝化细菌的影响[J]. 土壤, 2003, 35(6): 490-494.
- [31]林琦, 郑春荣, 陈怀满. 根际环境中镉的形态转化[J]. 土壤学报. 1998, 35(4): 461-467.
- [32]刘芷宇, 李良谟, 施卫明. 根际研究法[M]. 南京:江苏科学技术出版社,1997: 308-327.
- [33]孟亚利, 王立国, 周治国, 等. 套作棉根际与非根际土壤酶活性和养分的变化[J]. 应用生态学报, 2005, 16( 11) : 2076-2080.
- [34]聂三安, 赵丽霞, 王祎, 等. 长期施肥对黄泥田土壤微生物群落结构和多样性的影响. 农业现代化研究, 2018, 39(4): 689-699.
- [35]钦绳武, 刘芷宇. 土壤—根系微区养分状况的研究——III. 水稻根际氮素的变化. 土壤学报, 1984, 21 (3): 238-246.
- [36]秦昌鲜, 彭崇, 郭强, 等. 甘蔗花生间作对红壤有效磷、pH 值的影响 [J]. 江苏农业科学, 2019, 47( 11) : 137-140.
- [37]邱权, 李吉跃, 王军辉, 等. 西宁南山 4 种灌木根际和非根际土壤微生物、酶活性和养分特征[J]. 2014,34(24): 7411-7420.
- [38]王建林, 廖宗文, 刘芷宇. 根际中硅、铝、铁和锰的状况与水稻生长[ J]. 应用生态学报, 1991, 2 (3): 232-237.
- [39]吴岳轩, 吴振球. 土壤温度和亚种间杂交稻根系生长发育和代谢活动的影响[J]. 湖南农学院学报, 1995, 21( 3): 218-225.
- [40]杨玉盛, 何宗明, 邹双全, 等. 格氏栲天然林与人工林根际土壤微生物及其生化特性的研究[J]. 生态学报, 1998, 18( 2): 198-202.
- [41]于冰, 宋阿琳, 李冬初, 等. 长期施用有机和无机肥对红壤微生物群落特征及功能的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2017, (6): 58-65.
- [42]郑华, 李军, 田益农, 等. 广西红壤木薯肥料多年定位试验 (1989-1996) 综合分析. 热带农业科学. 2016, 36(2): 14-27.
- [43]郑华, 文峰, 罗燕春, 等. 氮磷钾肥对木薯桂热 4 号生物量动态的影响[J]. 热带农业科学. 2018, 38(4): 12-19.
- [44]朱丽霞, 章家恩, 刘文高. 根系分泌物与根际微生物相互作用研究综述[J]. 生态环境, 2003, 12(1) : 102-105.

# 根袋法获取木薯根际土壤的初步研究（二）

韦云东<sup>1,2</sup>, 罗燕春<sup>1,2</sup>, 郑华<sup>1,2</sup>, 雷开文<sup>1,2</sup>, 李军<sup>1,2</sup>, 盘欢<sup>1,2</sup>

1. 广西壮族自治区亚热带作物研究所, 广西南宁, 530001; 2. 广西壮族自治区木薯研究所, 广西南宁, 530001

**摘要** 为了研究“根袋法”获取木薯根际土壤的具体参数, 本文开展了根袋试验, 以粘土和砂质壤土不同根袋内土壤重量(100g-500g)的为处理。结果表明, 根袋土重影响株高, 但不影响茎叶重。根袋内 100g 土的速度养分受到根系强烈影响, 其中铵态氮和速效钾还显著高于根袋外。Illumina Hiseq 高通量测序结果表明, 细菌优势群落包括变形菌门、放线菌门、酸杆菌门、绿弯菌门等。AMF 优势属为球囊霉属和无梗囊霉属等。两种土壤根袋内细菌  $\alpha$  多样性增加, 粘土细菌丰度也增加。细菌聚类分析表明两种土壤可以明确区分。两种土壤中均发现了独有且对根袋外具有高度专一性的 AMF 种。LEfSe 分析表明两种土壤的细菌差异显著的细菌门类有 3 个门, 3 个纲, 9 个目, 10 个科, 9 个属, 5 个种。粘土根袋内相对富集的细菌鞘脂杆菌目、根瘤菌目、黄色单胞菌目、疣微菌门及其相关的门、纲、属、种等, 砂质壤土根袋内富集的目有鞘脂杆菌目和芽单胞菌科下的属和种。RDA 分析表明土壤速效磷与放线菌门和绿弯菌门正相关, 与变形菌门负相关; 速效氮、速效钾、铵态氮、硝态氮与芽单胞菌门、酸杆菌门、Parcubacteria、迷踪菌门、装甲菌门、TM6\_Dependentiae、绿菌门负相关, 与厚壁菌门, 蓝藻门, 梭杆菌门, 拟杆菌门之间正相关; Glomus 与速效磷、速效氮、铵态氮正相关; Paraglomus 与所有速效养分均表现出了正相关; Scutellospora 和 Ambispora 与大部分速效养分均表现出了负相关。【结论】从根袋内外土壤速效养分和土壤微生物多样性综合看来, 根袋内 100g 土壤时可视为根际土壤, 且铵态氮和速效钾可以作为判断是否根际土壤的指示指标。根际微生物多样性显著提高。鞘脂杆菌目是木薯品种 SC205 在不同土质下共同富集根际细菌, 发现了根际土壤特有的 AMF 种, 观察到了土壤速效养分与细菌和 AMF 的相关性。

**关键词** 木薯根际; 铵态氮; 速效钾; 微生物多样性; 鞘脂杆菌目

**中图分类号** S141.2, S143, S533

## Preliminary study on the “root bag” method for collecting cassava rhizosphere soil (II)

WEI Yun-dong<sup>1,2</sup>, WEI Yun-dong<sup>1,2</sup>, LI Jun<sup>1,2</sup>, PAN Huan<sup>1,2</sup>, WEN Feng<sup>1,2</sup>, Lei Kai-wen<sup>1,2</sup>

1. Guangxi Institute of Subtropical Crops, Nanning, 530001; 2. Guangxi Institute of Cassava, Nanning, 530001

**Abstract** In order to collect cassava rhizosphere soil, a field trial with “root bag” method was carried out with two soil textures (clay and sandy roam) and a series of soil quantity from 100g to 500g in root bag. Results showed that, cassava plant height was significantly influenced by soil quantity in root bag, but not cassava shoot weight. Soil available nutrients were strongly affected by root when soil quantity in root bag was only 100g, ammonium content (NH<sub>4</sub>-N) and available potassium(AK) was enriched significantly compared to bulk soil. Microbial diversity from high throughout sequencing by Illumina Hiseq showed that the dominant bacterial community was Proteobacteria, Actinobacteria, Acidobacteria, Chloroflexi *et al.* While the dominant Arbuscular mycorrhizal Fungi (AMF) community was Glomus and Acaulospora. Result from  $\alpha$  diversity indexes showed that the diversity of bacteria was increased in the rhizospheric soil, and the species richness was also increased in the clay. The differences of microbial community between the two soil types could be demonstrated by the results that: (1) Cluster analysis showed the two soil could be classified into different sub-types; (2) Specific AMF species were found for both soils; (3) LEfSe (LDA EffectSize) analysis showed that 3 bacteria phylums, 3 classes, 9 orders, 10 families, 9 genus, 5 species were significantly different between both soils. Compared to bulk soil, soil samples collected from inside “root bag” was relatively rich in Sphingobacteriales, Rhizobiales, Xanthomonadales, Verrucomicrobia and related phylum, class, genus and species for the clay, and rich in Sphingobacteriales and genus and species in gemmatimonadaceae for the sandy roam. Results from Redundancy analysis (RDA) triplots demonstrated that soil available phosphorus (AP) was positively correlated to Actinobacteria and Chloroflexi, and negatively correlated to Proteobacteria; Soil available nitrogen (AN), AK, NH<sub>4</sub>-N, nitrates nitrogen (NO<sub>3</sub>-N) were negatively correlated with Gemmatimonadetes, Acidobacteria, Parcubacteria, Elusimicrobia, Armatimonadetes, TM6\_Dependentiae, Chlorobi *et al.*, and positively correlated with Firmicutes, Cyanobacteria, Fusobacteria, Bacteroidetes. For AMF, Glomus was positively correlated with AP, AN NH<sub>4</sub>-N, Paraglomus was positively correlated with all the soil nutrients indexes, while Scutellospora and Ambispora were negatively correlated to the the soil nutrients. In conclusion, the 100g soil in root bag can be seen as cassava rhizospheric soil according to soil nutrients and microbial diversity. And NH<sub>4</sub>-N and AK can be regarded as the indicators as cassava rhizospheric soil. Soil microbial diversity is improved in the rhizosphere, and Sphingobacteriales is the enriched bacteria in different soil textures. Specific species of AMF is found in the rhizosphere. Soil nutrients are correlated with some classification of soil bacterial and AMF.

**Keywords** cassava rhizosphere; Soil ammonium nitrogen; soil available phosphorus, microbial diversity, Sphingobacteriales

【研究意义】根际是植物根系与土壤紧密接触并且相互影响的微生态环境, 是植物和土壤进行物质、能量交换的场所, 也是最强的生化活性区域, 在这一区域里, 具有丰富的根际微生物种群。对木薯根际微生物多样性研究是深入了解其根际过程包括根系分泌物、养分吸收与微生物交互作用的基础。木薯是典型的菌根

**第一作者简介** 韦云东, 男, 1988, 助理研究员, 土壤学硕士, 主要从事木薯施肥研究。通讯地址: 广西南宁市邕武路 22 号广西亚热带作物研究所; 邮政编码: 530001; E-mail: wydxiaota1613@163.com。

**通讯作者** 郑华, 男, 1983, 高级农艺师, 生态学博士, 主要研究方向: 木薯施肥与植物营养。通信地址: 广西南宁市兴宁区邕武路 22 号, 广西亚热带作物研究所; 邮政编码: 530001; Tel: 0771-2539061; E-mail: zhenghua8305@yeah.net。



依赖型植物，其根际土具有丰富的丛枝菌根菌资源（Howeler and Sieverding, 1983），对其根际丛枝菌根多样性的研究也是解释其功能的重要基础。

【前人研究进展】根际土壤微生物群落是土壤生态系统持续发挥作用的重要媒介，是反应土壤健康状态的重要指标(Phillippot *et al.*, 2013)。植物根际微生物既包括抑制植物生长的有害微生物，又包括促进植物生长的有益微生物。有害微生物与连作时减产有关，它主要通过分泌植物毒素，竞争营养物质，还可能通过抑制菌根功能，从而抑制植物的生长；根际有益的微生物群落，包括生防微生物、能生产植物生长激素的微生物和固氮菌等。

作为根际微生物的主要碳源和能源，根系分泌物是植物与根际微生物相互作用的中间媒介，根系分泌物是植物与根际微生物相互作用的中间媒介，影响着根际微生物的种类和数量，并对根际微生物的代谢、生长发育及多样性有一定的影响（王学翠等，2007）。

植物种类不同，根际微生物有着明显的区别（李侠等，2018；付合才，2018）。根际微生物生物多样性还受到植物年龄的影响，也受地上部生物多样性的影响、特别是紧密结合型微生物的生物多样性有很大的调控作用（Kowalchuk *et al.*, 2002）。根距和土壤 pH 等对根际细菌群体结构也具有不同的影响（Hartmann *et al.*, 2005）。生活在根际内的其他生物体、如菌根菌和原生动物的也是影响根际微生物生物多样性的因子（Johansson *et al.*, 2004）。植物不同的生长时期，根际微生物也会有变化，如在樱桃萌芽期微生物种群类别最少，然后逐渐增加，到新稍迅速生长期达最多，多样性最丰富，进而又逐渐减少（赵柏霞等，2018）。

不同的种植模式（单作、间作）也可改变根际微生物群体结构并影响植物健康（Hartmann *et al.*, 2005）。Zhang *et al.*（2004）发现植物间作套种能增加地上部的生物多样性，这不仅可改善地上部生态功能，还可促进根际生物多样性。牛倩云等（2019）通过 Illumina MiSeq 高通量测序，发现大豆-马铃薯-谷子轮作能促进土壤微生物多样性，使谷子产量增加。连作也能影响根际微生物，如西瓜连作导致根际许多有益微生物相对丰度降低，病原菌相对丰度增加，最终表现为西瓜枯萎病爆发，产量降低（聂园军等，2019）。药用植物连作导致土壤根际细菌多样性下降，根际微生物群落结构改变，细菌数量减少，真菌增多，可能是药用植物连作障碍的重要机制（郭凤仙等，2019）。

施肥对根际微生物的影响有一定的规律：施用有机肥对提高根际微生物多样性。如蔡秋华等（2018）的研究表明有机肥配施减施化肥提高了烤烟根际细菌、放线菌和微生物总量，降低了真菌、青枯菌以及青枯菌占根际微生物总量的百分比。艾超（2015）的研究表明：施用 32 年有机肥后，石灰性潮土细菌多样性显著增加；而化肥处理选择性地刺激了少数微生物的生长，例如放线菌和硝化螺菌(Nitrospirae)，导致土壤微生物多样性降低。

对 AM 菌(AMF)在木薯上应用的报道始于 Howeler *et al.*（1982）和 Howeler *et al.*（1983）。前者研究表明，在灭菌的大田土壤中，对木薯接种 AMF 效果明显，鲜薯产量增加 40%，且丛枝菌根感染木薯根系明显。后者研究表明，在原生 VAM 含量较少的土壤中接种 AMF 并施用 100kg/hm<sup>2</sup> 磷肥，木薯显著增产。Ceballos *et al.*（2013）报道了 AMF 产品对哥伦比亚两个试验点的木薯均有增产效果，且在 Santana 州的试验点还表现出了与磷肥的交互作用。

国内对木薯 AMF 的研究仅有少量报道。苏凤秀等（2008）调查表明：广西木薯主产区土壤有 19 种 AMF 孢子，球囊霉属(*Glomus*)和无梗囊霉属(*Acaulospora*)是优势类群。之后国内的研究也主要集中在根内球囊霉(*G. intraradices*, Gi)、球囊霉(*G. manihotis*, Gm)、幼套球囊霉(*G. etunicatum*, Ge)、*A. tuberculata* (At)及其混合菌种。Gi 对木薯有较强和较稳定的侵染能力；Gm 对木薯早期侵染慢，但对木薯早期生长效果较好；Ge 侵染能力差，对叶和根的生物量有负面影响（黄华成等，2005；罗晓莹等，2011）。但苏凤秀等（2008）的研究认为 Gi, Gm 和 At 均对木薯生长和磷的吸收有促进作用。以上的国内研究都认为混合菌具有显示较强的侵染能力，增加株高和生物量（黄华成等，2005），推迟木薯的落叶期和增产（罗晓莹等，2011），还能增加块根养分和淀粉含量（苏凤秀，2012）。

【本研究切入点】木薯根毛少，根表面光滑，使用“抖落法”采集木薯根际土壤十分困难。木薯养分最大吸收期在植后约 90d 到 120d 之间，此时木薯地上部开始封行，地下部块根属于快速膨大期，根袋法很可能是获取木薯根际土壤的较好的方法。【拟解决的关键问题】因此，本研究采用“根袋法”，设置两种土壤，设置根袋内一系列土壤重量，并测定土壤速效养分和微生物多样性，以此确定根袋法的最佳参数和根际微生物群落特征，以及根际微生物与速效养分的关系。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

所试木薯品种为华南 205(SC205)，根袋分为大袋与小袋，均与“根袋法获取木薯根际土壤的初步研究(一)”（以下简称论文 1）一致。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 试验设计

试验于 2018 年在热作所木薯试验基地开展 (N22° 54' 04.59" , E108° 20' 03.41" ), 试验地土壤为红壤。本文报道论文 1 中的试验 2 的部分处理, 见表 1, 仅包括根袋内不同土壤重量的处理。

采样后除了按照论文 1 中的方法测定株高、茎叶重, 土壤样品测试铵态氮、硝态氮、速效氮、速效磷以外, 还测定速效钾。选取处理 1、3、5、10、11、13 的根袋内外样品进行细菌和丛枝菌根真菌多样性测序。

### 1.2.2 采样与测试方法

土壤速效氮 (碱解氮) 按照碱解扩散法, 速效磷酸氢钠浸提-钼锑抗比色法, 速效钾采用  $\text{NH}_4\text{OAc}$  浸提 - 火焰光度计法测定 (鲍士旦, 2005), 土壤铵态氮和硝态氮采用氯化钾浸提-AA3-A001-02E 型流动注射分析仪方法测定 (鲍士旦, 2005)

细菌 (16S) 和 AMF (18S\_AMF) 高通量测序过程如下:

(1) 将保存在  $-40^\circ\text{C}$  的样品在液氮下使用玛瑙研钵磨碎, 使用干冰运输 (约  $-40^\circ\text{C}$ ) 送检。

(2) DNA 提取和 PCR 扩增: 使用 mobio 土壤微生物 DNA 强力提取试剂盒 PowerSoil®DNA Isolation Kit 进行总 DNA 抽提,

根据 E.Z.N.A.® soil 试剂盒 (Omega Bio-tek, Norcross, GA, U.S.) 说明书进行总 DNA 抽提, DNA 浓度和纯度利用 NanoDrop2000 进行检测, 利用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 提取质量; 细菌多样性 (16S) 用 338F (5' -ACTCCTACG GGAGGCAGCAG-3') 和 806R (5' -GGACTA CHVGGGTWCTAAT-3') 引物对 V3-V4 可变区进行 PCR 扩增, 丛枝菌根真菌多样性 (18S\_AMF) 用 AMV4.5NF (5'-AAGCTCGTAGTTGAATTCG-3') 和 AMDGR (5'-CCCAACTAT CCCTATTAATCAT-3') 引物对的 ITS1 可变区进行 PCR 扩增。

16S 区域引物扩增程序为  $95^\circ\text{C}$  预变性 5min, 15 个循环 ( $95^\circ\text{C}$  变性 1min,  $50^\circ\text{C}$  退火 1min,  $72^\circ\text{C}$  延伸 1min), 最后  $72^\circ\text{C}$  延伸 7min。18S\_AMF 区域引物扩增程序为:  $95^\circ\text{C}$  预变性 5min, 35 个循环 ( $95^\circ\text{C}$  变性 30s,  $56^\circ\text{C}$  退火 30s,  $72^\circ\text{C}$  延伸 40s), 最后  $72^\circ\text{C}$  延伸 7min (PCR 仪: AB 96 well PCR 仪 9902 型)。

扩增体系为  $50\ \mu\text{l}$ , 基因组 DNA  $5\ \mu\text{l}$ ,  $\text{Vn F}$  ( $10\ \mu\text{IM}$ , 厂家: 英俊)  $1.5\ \mu\text{l}$ , KOD FX Neo (TOYOBO)  $1\ \mu\text{l}$ , KOD FX Neo Buf(2X) 缓冲液  $25\ \mu\text{l}$ , 2Mn dNTP  $10\ \mu\text{l}$ , 之后用去离子水补至总体积  $50\ \mu\text{l}$ 。

表 13, 试验处理与样品简称

Table 2, Treatments and abbreviation for sample name

| 处理编号<br>Treatment id | 小袋装土量<br>Soil Quantity in root bag(g) | 施肥 <sup>(1)</sup><br>Fertilization | 土壤质地<br>Soil texture | 根袋内<br>土样简称 | 根袋外<br>土样简称 |
|----------------------|---------------------------------------|------------------------------------|----------------------|-------------|-------------|
| 1                    | 100                                   | NPK                                | 粘土                   | clay100     | claysoil    |
| 2                    | 200                                   | NPK                                | 粘土                   | clay200     | claysoil    |
| 3                    | 300                                   | NPK                                | 粘土                   | clay300     | claysoil    |
| 4                    | 400                                   | NPK                                | 粘土                   | clay400     | claysoil    |
| 5                    | 500                                   | NPK                                | 粘土                   | clay500     | claysoil    |
| 10                   | 100                                   | NPK                                | 砂质壤土                 | sand100     | sandsoil    |
| 11                   | 200                                   | NPK                                | 砂质壤土                 | sand200     | sandsoil    |
| 12                   | 300                                   | NPK                                | 砂质壤土                 | sand300     | sandsoil    |
| 13                   | 400                                   | NPK                                | 砂质壤土                 | sand400     | sandsoil    |
| 14                   | 500                                   | NPK                                | 砂质壤土                 | sand500     | sandsoil    |

注: (1) 施肥量: NPK 以复合肥 (15:15:15) 的形式施入  $76.9\ \text{mg/kg N:P}_2\text{O}_5\text{:K}_2\text{O}$ 。

### (3) 目标区域 PCR 产物纯化

样品与磁珠按照 1:1 混匀后进行磁珠筛选片段,  $35\ \mu\text{l}$  洗脱。将上述 PCR 产物中加入  $50\ \mu\text{l}$  的 AMPure XP 磁珠, 混匀室温 5min 后, 置于磁力架上 5min, 去上清; 加入  $200\ \mu\text{l}$  的 80% 乙醇清洗磁珠, 室温 30s 后弃上清, 重复此步骤一次; 置磁力架上干燥 3min, 用  $37\ \mu\text{l}$  去离子水重悬磁珠, 室温孵育 2min, 置于磁力架上 2min, 吸取  $35\ \mu\text{l}$  上清至新的 PCR 管中。

### (4) 切胶回收

加入目标区 PCR 纯化产物  $10\ \mu\text{l}$ , MPPI-a ( $10\ \mu\text{M}$ )  $1\ \mu\text{l}$ ,  $2\times\text{Phusion HF MM}$   $20\ \mu\text{l}$ , 去离子水  $8\ \mu\text{l}$ , 共  $40\ \mu\text{l}$ 。电泳反应条件:  $98^\circ\text{C}$  预变性 30s, 10 个循环 ( $98^\circ\text{C}$  变性 10s,  $65^\circ\text{C}$  退火 30s,  $72^\circ\text{C}$  延伸 30s), 最后  $72^\circ\text{C}$  延伸 7min。反应电压 120V, 40min, 使用 1.8% 琼脂糖凝胶。根据电泳结果用 ImageJ 软件定量。定量后, 按照质量比 1:1 进行混养, 之后使用 1.8% 琼脂糖凝胶, 120V 40min 电泳后, 切目的片段, 并回收。

### (5) Illumina HiSeq 测序

根据 Illumina HiSeq 平台 (Illumina, San Diego, USA) 标准操作规程将纯化后的扩增片段构建 PE 2\*300 的文库。

构建文库步骤: (1) 连接 “Y” 字形接头; (2) 使用磁珠筛选去除接头自连片段; (3) 利用 PCR 扩增进行文库模板的富集; (4) 氢氧化钠变性, 产生单链 DNA 片段。

利用 Illumina 公司的 Hiseq 2500 平台进行测序 (北京百迈克生物科技有限公司)。

### (6) 数据处理

数据预处理：根据 PE reads 之间的 Overlap 关系，将 Hiseq 测序得到的双端序列数据拼接(Merge)成一条序列 Tags，同时对 Reads 的质量和 Merge 的效果进行质控过滤。主要有如下 3 个步骤：

1) PE reads 拼接：使用 FLASH v1.2.7 软件，通过 overlap 对每个样品的 reads 进行拼接，得到的拼接序列即原始 Tags 数据(Raw Tags)；

2) Tags 过滤：使用 Trimmomatic v0.33 软件，对拼接得到的 Raw Tags 进行过滤，得到高质量的 Tags 数据(Clean Tags)；

3) 去除嵌合体：使用 UCHIME v4.2 软件，鉴定并去除嵌合体序列，得到最终有效数据(Effective Tags)。

OTU 分析：使用 QIIME (version 1.8.0) 软件中的 UCLUST 对 Tags 在 97%的相似度水平下进行聚类、获得 OTU，并基于 Silva (细菌)和 UNITE (真菌)分类学数据库对 OTU 进行分类学注释。

LEfSe (LDA EffectSize) 首先使用 non-parametric factorial Kruskal-Wallis (KW) sum-rank test (非参数因子克鲁斯卡尔-沃利斯和秩检验)检测具有显著丰度差异特征，并找到与丰度有显著性差异的类群。然后，LEfSe 采用线性判别分析 (LDA) 来估算每个组分 (物种) 丰度对差异效果影响的大小。LDA 值分布柱状图中展示了 LDA Score 大于设定值 (默认设置为 4) 的物种，即组间具有统计学差异的 Biomarker。展示了不同组中丰度差异显著的物种，柱状图的长度代表差异物种的影响大小 (即为 LDA Score)。该分析在百迈克云平台中进行 (www.biocloud.net)。考虑到分析需要和部分处理进入分析会导致整体差异不显著，仅选择部分处理进行该分析，包括：两种土壤比较 (claysoil 和 sandsoil)、粘土各处理根袋内外土壤 (claysoil, clay100, clay300)、砂质壤土根袋内外土壤 (sandsoil, sand100)。

### 1.2.3 数据统计分析

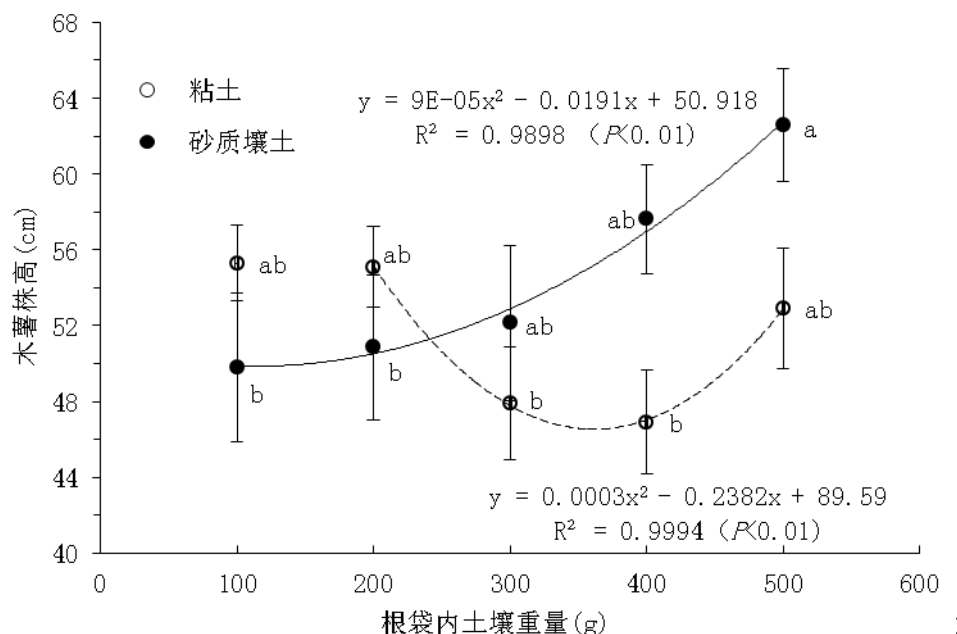
试验数据 Microsoft office/excel 2010 进行统计分析，方差分析采用 RStudio version 1.1.463 (基于 R Version 3.5.2) 中的 ANOVA 进行，多重比较采用 SSR 法，heatmap 图采用 (Pheatmap 包进行作图)。

## 2 结果与分析

### 2.1 木薯生长状况

随着根袋内砂质壤土重量减少，木薯株高有逐渐降低的趋势，并可用一元二次方程极显著拟合 (图 5)。并且根袋内有 500g 土时 (处理 14) 比根袋内仅有 100g (处理 10) 和 200g 土 (处理 11) 显著增加。说明根袋内砂质壤土的重量对木薯株高影响极显著。粘土木薯株高在各处理之间没有显著差异，但随着根袋内土壤重量减少呈现先降低后升高的趋势，且根袋内 500-200g 时还可以用抛物线显著拟合。

各处理茎叶重差异均不显著 (图 6)，说明木薯地上部分生物量 (不包括种茎) 基本保持一致。



### 2.2 土壤速效养分

根袋内外速效养分的结果见图 7。砂质壤土的速效养分显著低于粘土。

粘土根袋内外的速效氮并未表现出显著差异，也未表现出明显的趋势，可能是由于其速效氮处于较高水平，并未表现出明显的缺氮，根系对土壤氮的影响也并未表现出来。

粘土速效磷随着根袋内土壤的减少而逐渐增加 (图 3)，且根 clay100 和 clay200 与 claysoil 无显著差异，但这些都显著高于 clay300、clay400 和 clay500；根袋内 300g 土以上的处理表现出了植株对磷的纯吸收，所以其速效磷比根袋外少；而根袋内土壤受到对磷吸收和根际磷活化的双重影响，并且磷活化的影响随着根袋

内土壤减少越来越强，所以 clay100、clay200 的速效磷与 claysoil 保持了一致的水平。

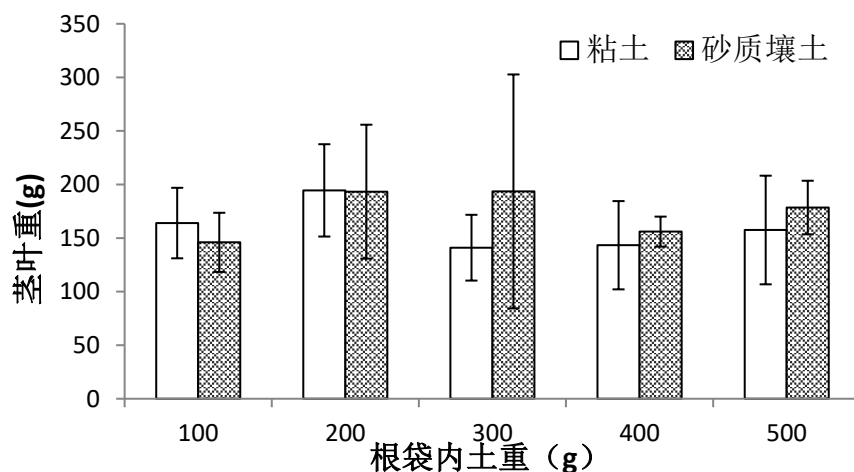


图 6, 根袋内土壤的重量对木薯茎叶重的影响

速效钾的趋势与速效磷较为一致, clay100g 和 clay200 处理显著高于 clay300、clay400、clay500 以及 claysoil。根袋外土壤速效钾与根袋内土壤大于 300g 时基本一致，很可能是由于木薯前期需要吸收的钾比较少，所以根袋内土壤较多时，根系对根袋内的吸收比较少，导致根袋内外速效钾基本一致。但根袋内土壤较少时，根系对根袋内土壤速效钾的活化作用比较明显，导致根袋内速效钾显著提高。

砂质壤土中根袋内土壤从 500g 减少到 200g 时，速效氮差异均不显著，但根袋内土壤减少到 100g 时，速效氮忽然显著增加。可能是由于砂质壤土本身速效氮含量较低，而前期木薯生长需氮又较多，无论是根袋内外都处于氮素亏缺状态，但是根袋内的土壤减少到 100g 时，根袋内的土壤明显受到了根际的影响，其速效氮反而增加。

砂质壤土根袋内土壤从 500g 减少到 200g 过程中，速效磷含量逐渐减少，但是到 100g 时忽然增加，且显著高于 sand200。说明根袋内的土壤磷处于被根系吸收的状态，随着土壤的重量减少，作物吸收后剩余的速效磷也越少。但根袋内仅 100g 土时根系对土壤的活化作用大于了吸收作用，导致速效磷忽然升高。

但砂质壤土速效钾随着根袋内土壤从 500g 到 200g 时无显著差异，但到 100g 时增加到最大值，且整体上可以进行一元二次方程显著拟合。砂质壤土的速效钾似乎表现出了纯粹的根系活化作用。整体上，随着根袋内土壤重量减少，这种效果越来越明显，最后使得 sand100 显著高于 sandsoil。

从两种土壤的硝态氮和铵态氮的绝对值大小（

图8)可以看出,在本试验的培养条件下,铵态氮要显著高于硝态氮。硝态氮与铵态氮在土壤中受到肥料释放、硝化作用和反硝化作用、作物吸收等动态过程的影响。本试验中肥料中铵态氮的释放后,在土壤水分含量较高的条件下土壤中反硝化作用可能比较明显,二者共同作用导致铵态氮含量高于硝态氮含量。

粘土的处理1根袋内铵态氮也显著高于其它处理(图4),包括根袋外土壤,说明 clay100 表现根系出了对铵态氮的活化效果并且达到了显著差异。随着根袋内土壤重量减少,硝态氮先减少再增加,且 clay300 和 clay400 显著小于根袋内 clay500 和 clay100,但都与根袋外无显著差异。

砂质壤土的铵态氮也随着根袋内土壤减少有增加的大致趋势,但 clay300 最低,低于 clay200 和 clay100。Sand100 铵态氮最高,显著高于其它处理和根袋外土壤,但不包括 sand200。这说明砂质壤土中的铵态氮也表现出了根际的富集作用。砂质壤土的硝态氮未表现出处理间或者根袋内外的显著差异。

### 2.3 土壤细菌多样性

细菌测序中,32 个样品测序共获得 1,797,928 对 Reads,双端 Reads 拼接、过滤后共产生 1,465,507 条 Clean tags, 每个样品至少产生 26,416 条 Clean tags, 平均产生 45,797 条 Clean tags。

可准确注释细菌门有 27 个门 (

图9),其中平均相对丰度超过 1%的有 10 个,平均值最大的是变形菌门(Proteobacteria, 34.86%±7.25%),其次为放线菌门(Actinobacteria, 20.29%±7.51%),酸杆菌门(Acidobacteria, 12.54%±3.46%),绿弯菌门(Chloroflexi, 6.50%±2.50%),拟杆菌门(Bacteroidetes, 6.27%±3.86%),厚壁菌门(Firmicutes, 5.86%±3.23%),芽单胞菌门(Gemmatimonadetes, 4.42%±3.89%),蓝细菌(Cyanobacteria, 2.88%±5.35%),疣微菌门(Verrucomicrobia, 2.46%±0.85%),螺旋体菌门(Saccharibacteria, 1.20%±0.64%)。聚类分析表明 claysoil 可以单独分为一个一级分类(图4),与其它所有土样均有差异。而 clay500 有两个样在二级分类单独存在。砂质壤土大部分的样品被分类到了三级分类之一,且所有样均未与粘土混合分类,表明两种土壤细菌分布在明显差异。

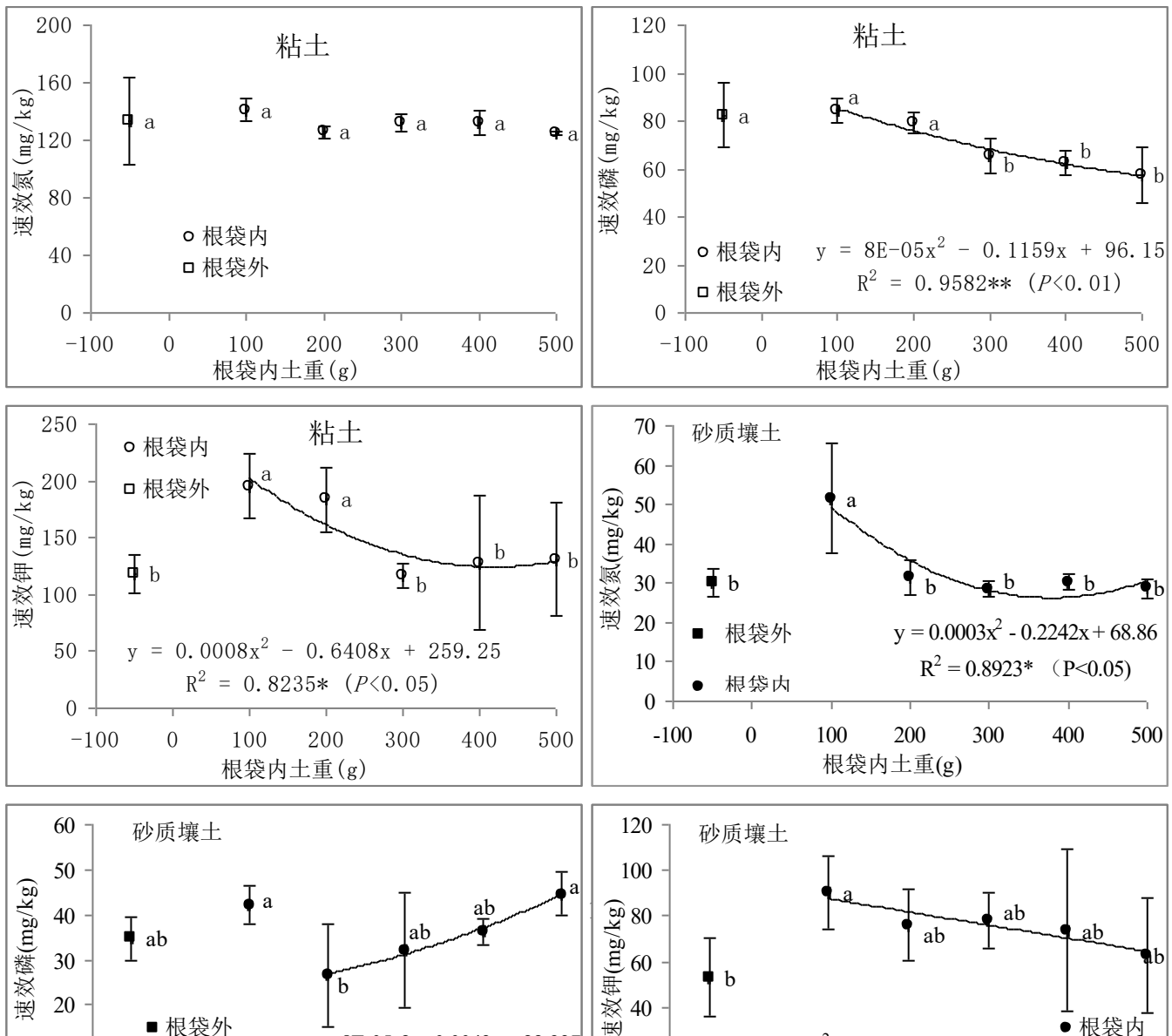


图 7, 土壤速效养分 soil available nutrients

注: (1) 不同的小写字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ ), 相同的小写字母表示处理间差异不显著 ( $P > 0.05$ )

表 14 可以看出粘土(claysoil)和砂质壤土(sandsoil)根袋外的细菌  $\alpha$  多样性各指标均无显著差异。AMF 种水平的 simpson 指数表现出了 claysoil>sandsoil, 前者的 shannon 指数也略微小于后者, 但不显著。当样品中 Shannon 指数(多样性)一致时, simpson 指数越大, 表示种类越均一, 可见粘土的 AMF 的均匀性都要高于砂质壤土。

粘土的细菌种水平的  $\alpha$  多样性各指标均表现出了显著差异。Shannon 指数大小顺序为 clay100>clay300  $\approx$  clay500>claysoil; Simpson 指数的顺序为 claysoil>clay300  $\approx$  clay500>clay100; ace 指数则表现为 clay100 最高, claysoil 最低; Chao1 指数为 clay100 最高, clay500 次之, 二者都显著高于 claysoil。表明根袋内细菌多样性和丰度均高于根袋外, 且 clay100 达到了最高值。可见粘土根袋内土壤受到根际影响, 细菌生物多样性显著增加, 以根袋内土重 100g 时最高。

砂质壤土细菌的 Shannon 指数为 sand100 最大, 显著大于 sand200 和 sandsoil(砂质壤土根袋外), Simpson 指数为 sand100 最小, 显著小于 sand400, sand200 和 sandsoil。但各处理间的 ACE 和 Chao1 指数没有显著差异。说明 sand100 细菌多样性增加, 但丰度并无影响。

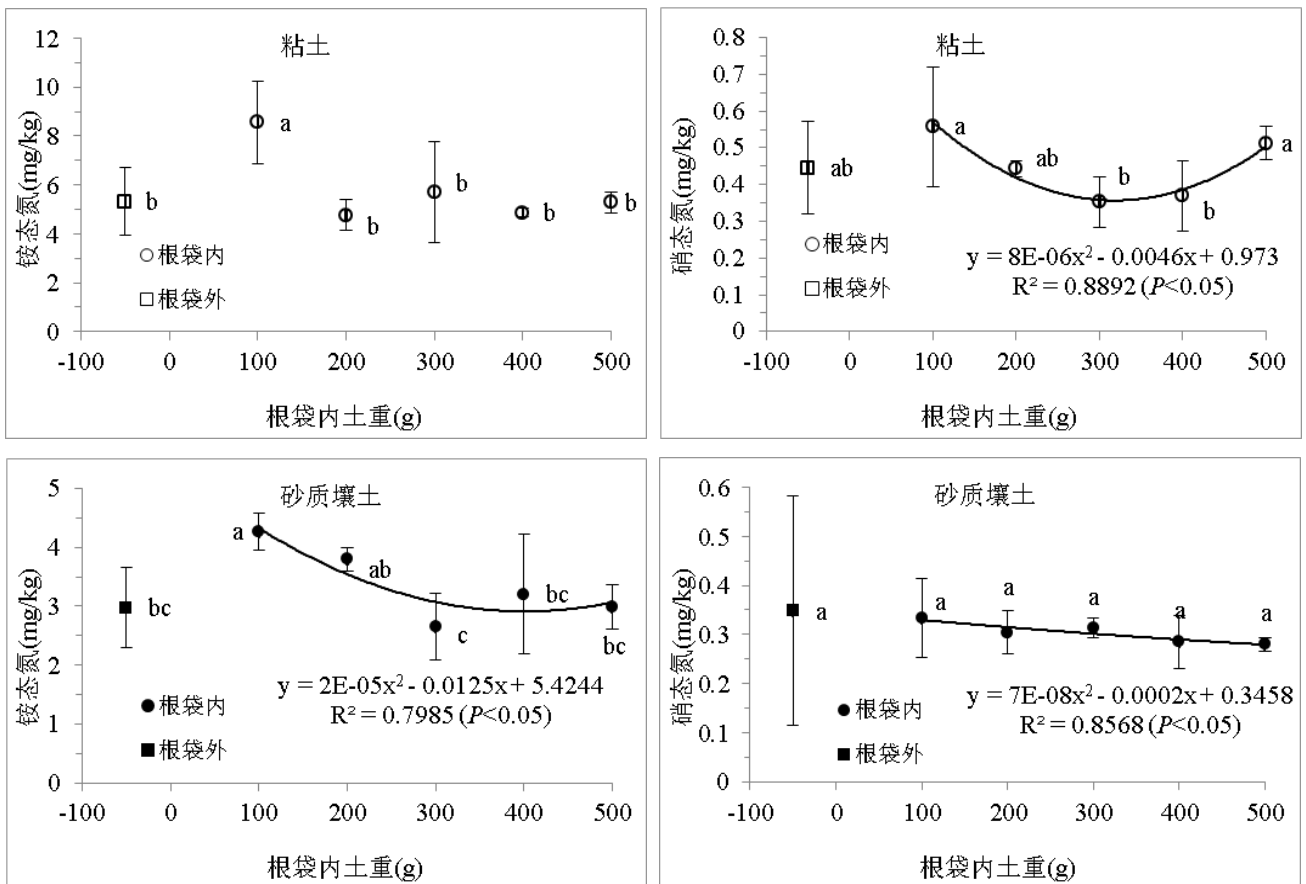


图 8, 土壤铵态氮和硝态氮

注：（1）不同的小写字母表示处理间差异显著（ $P < 0.05$ ），相同的小写字母表示处理间差异不显著（ $P > 0.05$ ）

## 2.4 土壤从枝菌根真菌多样性

从枝菌根真菌测序中,32个样品测序共获得 2,550,239对 Reads,双端 Reads 拼接、过滤后共产生 2,446,666条 Clean tags, 平均每个样品产生 76,458条 Clean tags。

从表 15 可以看出不同处理的 AMF 主要分布在球囊霉属 (*Glomus*) 和无梗囊霉属 (*Acaulospora*), 还有盾巨孢囊霉属 (*Scutellospora*), 类球囊霉属 (*Paraglomus*), *Ambispora*。其中球囊霉属粘土各处理的相对丰度范围 (同一处理各样品的平均值) 为 76.18%-82.75%, 砂质壤土的相对丰度范围为 29.61%-49.72%。扣除无法注释的种 (粘土中不可注释的球囊霉属的种高达 45.41%-57.70%), 可注释的球囊霉属丰度范围为 18.10%-31.97%; 粘土和砂质壤土样本中无梗囊霉属的相对丰度范围分别为 2.78%-9.36%和 14.18%-28.82%; 盾巨孢囊霉属两种土壤的范围分别为 0.31%-10.14%和 5.42%-17.20%; 两种土壤类球囊霉属相对丰度均较小, 范围在 0.01%-0.71%之间。

粘土 AMF  $\alpha$  多样性各指标在处理间均无显著差异, 砂质壤土 AMF 仅 Chao1 指标有显著差异, 表现为  $sandsoil > sand400$  (表 14)。表明各处理对两种土壤 AMF 多样性和丰度基本无影响。两种土壤的 Simpson 指数有显著差异, 砂质壤土(*sandsoil*)大于粘土(*claysoil*), 表明粘土的 AMF 均匀度大于砂质壤土, 尽管二者的多样性没有显著差异。

粘土 (*claysoil*) 和砂质壤土 (*sandsoil*) 分别有 20 个和 21 个 AMF 种, 扣除不可注释的和有效 tags 数小于 10 的种, 可确定的物种数分别为 17 和 16 个 (表 16)。二者共有 12 个 AMF 种。砂质壤土与粘土相比, 独有 4 个种, 包括 *Glomus Glo-E\_VTX00319*, *Glomus VTX00085*, *Ambispora VTX00242*, *Acaulospora VTX00026*, 各自的有效 tags 数分别为 118, 239, 517, 8218, 具有一定的丰度, 其中前两个种在其它样品中均未出现, 说明这两个种对砂质壤土具有高度专一性, 任何生存环境的改变都会导致其消失或者休眠到无法检测。粘土中独有的 AMF 种有 4 个, 其中 *Glomus Alguacil09b*, *Glomus VTX00222*, *Glomus VTX00319*, *Glomus VTX00419*, 且有效 tags 数分别为 1118, 669, 1162, 1243。而且对比所有的处理, 这 4 个种均仅在根袋外粘土中具有一定的有效 tags 数, 也说明了其对粘土具有高度专一性。

粘土各处理可确定的 AMF 物种数量有 14-17 个, 与根袋外粘土相比, 根袋内不同重量的土壤均有一定的特有种, 其中 *clay100*, *clay300*, *clay500* 均有共同的特有种 *Glomus VTX00310*, 说明该物种适应根袋内的环境, 无法在根袋外大量生长, 可能对木薯根系生长具有较强的选择性, 且该物种未在砂质壤土根袋内外大量繁殖, 也说明了其对粘土根际的选择性。另外 *clay500* 和 *clay100* 的土样中, *Glomus Kluber12* 均出现, 且该物种未在根袋外出现; *clay300* 和 *clay100* 中均有 *Acaulospora VTX00227* 较大量繁殖, 且未出现在根袋外。

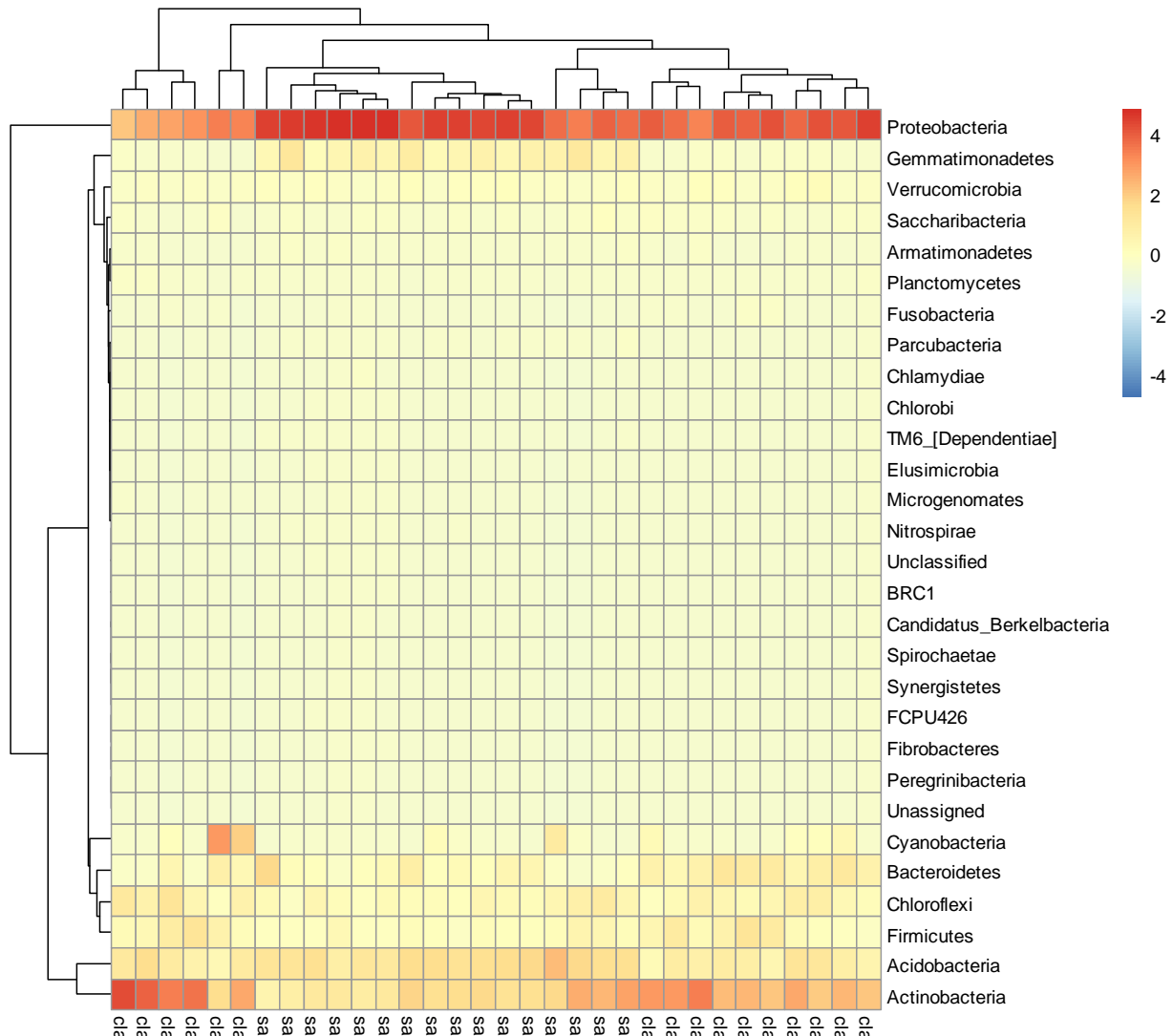


图 9, 土壤细菌门水平 Heatmap 图及其聚类

砂质壤土各处理的 AMF 物种数量在 14-16 个之间。除了上述根袋外土壤的两个特有种 *Glomus VTX00319*, *Glomus VTX00085* 之外, 还有一些其他的特有种, 如 *Ambispora VTX00242* 仅出现在根袋外和 sand100 中, 而 *Glomus VTX00099* 则仅在 sand100 中大量繁殖, 其有效 tags 达到 18489 个, 该物种很可能在根袋内仅 100g 土时参与了根系与土壤的生物活动, 如养分胁迫或者根际分泌物等。另外, *Paraglomus VTX00375* 仅在砂质壤土根袋内具有较大量的繁殖, 其在 sand100, sand200, sand400 的土样中的有效 tags 数分别为 56, 21, 224, 而在 sandsoil 中仅为 9, 也说明该物种对砂质壤土根际具有一定的选择性。

表 14, 细菌和 AMF  $\alpha$  多样性 (种水平)

| 物种及分类水平 | 处理名称     | Shannon       | Simpson           | ACE            | Chao1          |
|---------|----------|---------------|-------------------|----------------|----------------|
| 细菌      | claysoil | 3.93±0.17 e   | 0.0403±0.0069 a   | 246.8±48.0 c   | 249.8±47.5 c   |
|         | clay100  | 4.47±0.11 a   | 0.0197±0.0025 e   | 318.5±29.0 a   | 319.3±27.5 a   |
|         | clay300  | 4.22±0.16 bc  | 0.0292±0.0056 bc  | 297.4±37.6 ab  | 298.4±41.6 abc |
|         | clay500  | 4.20±0.07 bc  | 0.0265±0.0031 bcd | 301.5±26.6 ab  | 312.0±33.1 ab  |
|         | sandsoil | 4.00±0.18 de  | 0.0333±0.0103 ab  | 257.6±23.5 bc  | 263.0±20.1 bc  |
|         | sand100  | 4.31±0.05 ab  | 0.0243±0.0023 de  | 287.0±12.0 abc | 295.9±14.1 abc |
|         | sand200  | 4.06±0.05 cde | 0.0334±0.0038 ab  | 265.3±14.4 bc  | 270.6±15.3 abc |
|         | sand400  | 4.14±0.06 bcd | 0.0290±0.0045 bc  | 280.6±21.6 abc | 288.9±32.1 abc |
| AMF     | claysoil | 1.38±0.13 ab  | 0.3823±0.0711 ab  | 10.9±7.5 a     | 13.6±1.4 ab    |
|         | clay100  | 1.48±0.16 ab  | 0.3335±0.0513 abc | 10.7±7.3 a     | 14.5±2.1 ab    |
|         | clay300  | 1.22±0.28 b   | 0.4291±0.1388 a   | 14.6±5.0 a     | 13.0±2.4 b     |
|         | clay500  | 1.20±0.26 b   | 0.4522±0.1044 a   | 14.6±2.3 a     | 13.8±1.9 ab    |
|         | sandsoil | 1.75±0.31 a   | 0.2286±0.0899 c   | 20.0±5.6 a     | 16.8±2.6 a     |
|         | sand100  | 1.38±0.18 ab  | 0.3232±0.0513 abc | 11.6±7.9 a     | 15.0±1.4 ab    |
|         | sand200  | 1.49±0.31 ab  | 0.3142±0.1033 abc | 11.6±7.9 a     | 14.3±2.1 ab    |
|         | sand400  | 1.62±0.14 a   | 0.2629±0.0442 bc  | 13.7±2.6 a     | 13.0±2.2 b     |

表 15, 各处理 AMF 属相对丰度 (%)

| 处理       | Glomus          | Acaulospora    | Scutellospora | Ambispora | Paraglomus |
|----------|-----------------|----------------|---------------|-----------|------------|
| clay100  | 77.38±11.24 ab  | 9.36±6.09 ab   | 1.89±1.78 a   | 0.00±0.00 | 0.71±0.71  |
| clay300  | 82.75±12.22 a   | 7.54±5.71 ab   | 0.74±0.82 a   | 0.00±0.00 | 0.64±0.38  |
| clay500  | 82.06±2.68 a    | 6.82±2.71 ab   | 0.31±0.42 a   | 0.00±0.00 | 0.60±0.32  |
| claySoil | 76.18±12.65 ab  | 2.78±1.36 b    | 10.14±4.29 a  | 0.00±0.00 | 0.48±0.48  |
| sand100  | 45.79±3.95 abc  | 22.08±9.49 ab  | 5.42±5.53 a   | 0.02±0.05 | 0.04±0.03  |
| sand200  | 38.50±28.27 bc  | 23.51±14.69 ab | 8.14±5.95 a   | 0.00±0.00 | 0.49±0.53  |
| sand400  | 29.61±10.11 c   | 28.82±5.95 a   | 12.60±9.81 a  | 0.00±0.00 | 0.58±0.44  |
| sandsoil | 49.72±28.44 abc | 14.18±15.73 ab | 17.20±14.59 a | 0.19±0.38 | 0.01±0.01  |

注: p 值采用 bonferroni holm 校正。

## 2.4 土壤细菌 LEfSe 分析

LefSe 分析结果表明砂质壤土 (sandsoil) 细菌的相对丰度显著大于粘土 (claysoil) 的分类水平有 2 个门水平, 2 个纲, 5 个目, 5 个科, 6 个属和 2 个种水平 (图 10)。包括变形菌门- $\beta$ -变形菌纲-亚硝化单胞菌目 (Nitrosomonadales);  $\alpha$ -变形菌纲下的根瘤菌目 (Rhizobiales) -黄色杆菌科 (Xanthobacteraceae), *Pseudolabrys* 属, 以及鞘脂单胞菌目 (Sphingomonadales) -鞘脂单胞菌科 (Sphingomonadaceae) -鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas*); 芽单胞菌门 (Gemmatimonadetes) -芽单胞菌目 (Gemmatimonadales)-芽单胞菌科 (Gemmatimonadaceae) -芽单胞菌属 (*Gemmatimonas*); 以及 Gaiellales 目 (嗜热油菌纲) 下的未注释属和种。其中根瘤菌目可与根系共生, 且能固氮, 亚硝化单胞菌目也能固氮, 二者共同暗示了两种土壤土壤氮循环过程的差异。

而 claysoil 的细菌相对丰度显著大于 sandsoil 的有 1 个门, 1 个纲, 4 个目, 5 个科, 3 个属和 3 个种。包



括放线菌门 (Actinobacteria) -放线菌纲- Frankiales 目-热酸菌科(Acidothermaceae)-热酸菌属 (Acidothermus) 下的未注释种; 弗兰克氏菌科 (frankiaceae , 属于 Frankiales 目) 下的 Jatrophihabitans 属下的未注释种; 土壤红杆菌目 (Solirubrobacterales) 下的 YNPFFP1 科; 土壤红杆菌目 (Solirubrobacterales) 下的 DA111 科; 纤线杆菌纲(Ktedonobacteria, 绿弯菌门) 下的纤线杆菌目(Ktedonobacterales)- Thermosporotrichaceae 科-未注释属和种; a-变形菌门下的红螺菌目(rhodospirillales) - DA111 科。

其中根瘤菌目可与豆科植物共生, 形成根瘤并固定空气中的氮气供植物营养, 亚硝化单胞菌目也与氮循环相关, 二者在砂质壤土中相对富集; 粘土中放线菌纲下的弗兰克氏菌科 (frankiaceae) 相对富集, 其与非豆科植物共生形成根瘤并能固定大气中的氮。这些细菌的差异暗示两种土壤氮循环过程的差异。

砂质壤土中鞘脂单胞菌目-鞘氨醇单胞菌属比粘土相对丰度高, 可用于芳香化合物的生物降解, 暗示砂质壤土具有较高的降解芳香化合物的能力。

表 16, 各处理在属和种水平的 AMF 有效 tags 数 (仅显示有特有种) 及物种数量

| AMF 种名                       | Clay soil | Clay 100 | Clay 300 | Clay 500 | sand soil | sand 100 | sand 200 | sand 400 |
|------------------------------|-----------|----------|----------|----------|-----------|----------|----------|----------|
| <i>Ambispora VTX00242</i>    | 1         | 0        | 0        | 0        | 517       | 65       | 4        | 0        |
| <i>Acaulospora VTX00026</i>  | 3         | 980      | 2809     | 4        | 8218      | 4131     | 1360     | 6297     |
| <i>Acaulospora VTX00227</i>  | 0         | 255      | 1235     | 0        | 0         | 0        | 0        | 0        |
| <i>Glomus Alguacil09b</i>    | 1118      | 0        | 0        | 0        | 0         | 1        | 0        | 0        |
| <i>Glomus Glo-E_VTX00319</i> | 0         | 0        | 0        | 0        | 118       | 0        | 0        | 0        |
| <i>Glomus Kluber12</i>       | 0         | 230      | 0        | 303      | 0         | 0        | 0        | 0        |
| <i>Glomus VTX00085</i>       | 0         | 0        | 0        | 0        | 239       | 0        | 0        | 0        |
| <i>Glomus VTX00099</i>       | 10        | 0        | 1        | 2        | 2         | 18489    | 1        | 1        |
| <i>Glomus VTX00120</i>       | 0         | 0        | 0        | 0        | 0         | 0        | 179      | 0        |
| <i>Glomus VTX00222</i>       | 669       | 0        | 0        | 0        | 0         | 0        | 0        | 0        |
| <i>Glomus VTX00310</i>       | 0         | 933      | 1255     | 1493     | 1         | 0        | 0        | 0        |
| <i>Glomus VTX00319</i>       | 1162      | 0        | 0        | 0        | 0         | 0        | 0        | 0        |
| <i>Glomus VTX00419</i>       | 1243      | 0        | 0        | 0        | 1         | 0        | 0        | 0        |
| <i>Paraglomus VTX00375</i>   | 0         | 0        | 0        | 0        | 9         | 56       | 21       | 224      |
| 可确定物种数量 <sup>(1)</sup>       | 17        | 17       | 14       | 14       | 16        | 16       | 16       | 14       |
| 单样本物种数量范围                    | 12-15     | 12-17    | 10-15    | 12-15    | 14-16     | 14-17    | 12-17    | 10-15    |

注: (1) 剔除不可注释的物种和有效 tags 数小于 10 的物种。

砂质壤土 4 个处理之间的 LefSe 分析没有显著差异的细菌类别, 但是砂质壤土(sandsoil)与 sand100 之间有两个分类系列差异显著, 其中 Acidobacteria 门-Sphingobacteriia 纲-鞘脂杆菌目 (Sphingobacterales) 均表现为 sand100 显著高于 sandsoil, 该类细菌可能适宜根袋内的环境, 或者适宜根系分泌物, 或者根袋内特殊的氮、钾富集情况。而 sandsoil 的芽单胞菌门 (Gemmatimonadetes), uncultured\_bacterium\_f\_Gemmatimonadaceae 属, uncultured\_bacterium\_f\_Gemmatimonadaceae 种要显著高于 sand100 (图 11), 可能该属和种不适宜根袋内有机物较丰富的环境。

粘土各处理细菌的 LefSe 分析结果表明, clay500 与其它各处理间均无显著差异 (

图 12)。Claysoil, Clay300, Clay100 三个处理中有 4 个细菌门, 3 个纲, 6 个目, 7 个科, 5 个属, 2 个种的 LDA 值大于 4, 也就是有显著差异。其中放线菌门 (Actinobacteria) 相对丰度范围为 21.63%±5.25%~34.44%±5.31 %。各处理中 claysoil 最大, 显著大于 clay100; 粘土根袋内 100g 土壤放线菌门比根袋外相对丰度显著降低。

放线菌纲 (Actinobacteria) -弗兰克氏菌目 (Frankiales) -酸热菌科 (Acidothermaceae) -热酸菌属 (Acidothermus) -未准确注释种则表现为 claysoil 显著高于 clay100 和 clay300, Thermoleophilia 纲-Solirubrobacterales 目- YNPFFP1 科的相对丰度也如此。

另外, 弗兰克氏菌目下的弗兰克氏菌科 (Frankiaceae) - Jatrophihabitans 属-未注释种也表现为 claysoil 显著高于 clay300。

放线菌纲下的链霉菌目 (Streptomycetales) -链霉菌科 (Streptomycetaceae) -链霉菌属 (Streptomyces) 的相对丰度均为 claysoil 显著高于 clay100, 且该目-科-属的下并没有别的细菌门类, 具有唯一性。

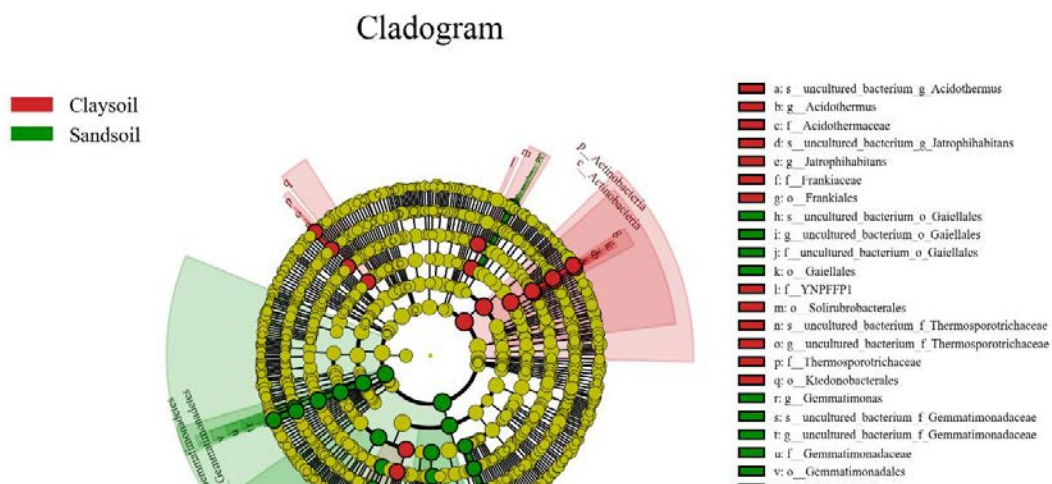


图 10, 粘土和砂质壤土 LEFse 分析 Cladogram 图

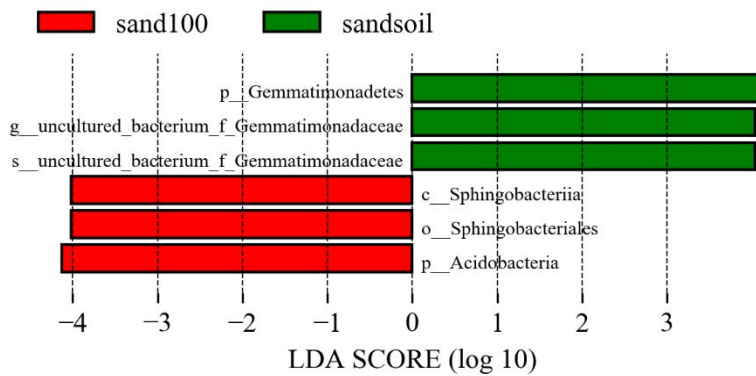


图 11, 砂质壤土根袋内外 LEFse 分析

拟杆菌门 (Bacteroidetes) -鞘脂杆菌纲 (Sphingobacteriia) -鞘脂杆菌目 (Sphingobacteriales) - 噬几丁质菌科 (Chitinophagaceae) - Chitinophaga 属的相对丰度表现为根袋外小于根袋内, 说明根袋内该细菌分类的富集。

三个处理的厚壁菌门(Firmicutes) 的杆菌纲 ( Bacilli )下的芽胞杆菌目(Bacillales)的相对丰度大小为 clay300<clay100<claySoil; 其下的芽胞杆菌科(Bacillaceae)-芽胞杆菌属(Bacillus)均表现为 clay300 小于 claysoil。

变形菌门 (Proteobacteria) 的相对丰度范围为 24.64%±3.58%~32.81%±2.97%。各处理的变形菌门-α 变形菌纲 (Alphaproteobacteria) - 根瘤菌目 (Rhizobiales) 表现为根袋外小于根袋内; 变形菌门-β 变形菌纲 (Betaproteobacteria) -黄色单胞菌目(Xanthomonadales) 下的黄色单胞菌科(Xanthomonadaceae)也表现为根袋外小于根袋内。

疣微菌门 (Verrucomicrobia) 其相对丰度范围为 1.85%±0.38%~3.37%±1.06 %。各处理仅在门水平有显著差异, 且表现为根袋外小于根袋内。

总结而言, 粘土根袋内相对富集 (根袋内显著大于根袋外) 的细菌门类 (概括到目) 有拟杆菌门 (Bacteroidetes) -鞘脂杆菌纲 (Sphingobacteriia) -鞘脂杆菌目 (Sphingobacteriales); 变形菌门 (Proteobacteria) -α 变形菌纲 (Alphaproteobacteria) - 根瘤菌目 (Rhizobiales), β 变形菌纲 (Betaproteobacteria) -黄色单胞菌目(Xanthomonadales); 疣微菌门 (Verrucomicrobia)。

根袋内相对丰度显著降低的细菌门类有(概括到目): 放线菌门(Actinobacteria) -放线菌纲(Actinobacteria) -弗兰克氏菌目 (Frankiales)、链霉菌目 (Streptomycetales)、Thermoleophilia 纲- Solirubrobacterales 目、芽胞杆菌目(厚壁菌门)。

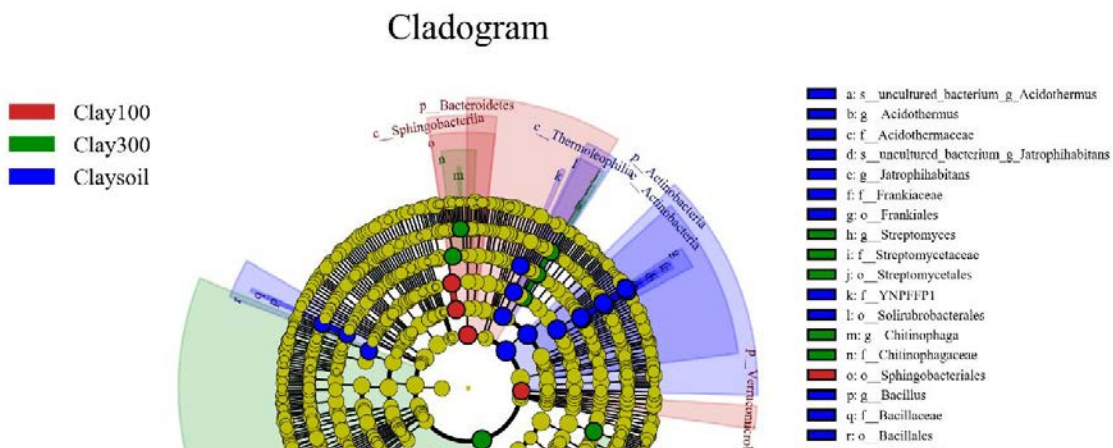


图 12, 粘土根袋内外 LEFse 分析

## 2.5 土壤微生物与速效养分的冗余分析 (RDA)

细菌门水平相对丰度与土壤速效养分之间的 RDA 分析结果表明, 土壤速效养各指标对土壤细菌的总方差的解释率为 47.44% (校正  $R^2$  为 37.33%), 其中第一典范轴 (RDA1) 和第二典范轴 (RDA2) 的解释率分别为 35.22% 和 7.87% (

图 13)。对各典范轴进行置换检验, 其整体  $F/sig$  为 4.6939/0.001, 达到极显著水平。具体到单个的典范轴, 只有第一轴 (RDA1) 达到了显著水平 ( $F/sig$  为 17.43/0.001)。第二轴的  $F/sig$  为 3.894/0.074, 未达到显著水平。对每个环境因子进行检验, 发现 AN, AP, AK 三个指标的  $F/sig$  分别为 16.520/0.001, 2.546/0.043, 2.243/0.050, 均达到了显著及以上的水平。

RDA 三序图可以看出 (图 22), 部分细菌门之间有正相关性, 如芽单胞菌门, 酸杆菌们, *Parcubacteria*, 迷踪菌门, 装甲菌门, *TM6\_Dependentiae*, 绿菌门的向量均在第一象限, 他们之间均具有正相关性, 而他们的与第三象限的厚壁菌门, 蓝藻门, 梭杆菌门, 拟杆菌门之间负相关; 第四象限的向量仅有变形菌门, 该细菌门还与拟杆菌门, 梭杆菌门, 芽单胞菌门有正相关, 与第二象限的向量放线菌门和绿弯菌门有负相关。

土壤速效磷向量位于第二象限, 与同处于第二象限的放线菌门和绿弯菌门正相关, 与第四象限的变形菌门负相关。速效养分的向量除了速效磷外, 其它的均在第三象限, 与第一象限的所有细菌向量有较强的负相关, 与同处第三象限的拟杆菌门、厚壁菌门、梭杆菌门正相关。

两种土壤的点分布表现出了明显的差异, 粘土分布在第二、三象限, 其中 *claysoil* 全部分布在第二象限, 其它三个粘土处理分布各有 1 个分布在第二象限, 各有 3 个分布在第三象限, 可见粘土根袋内外土壤细菌有一定的差异。砂质壤土分布在第一、四象限, 其中 *sand100* 全部分布第四象限, *sand200* 和 *sandsoil* 分别在第一、第四象限各 2 个点, *sand400* 则在第一、四象限各 1、3 个点。

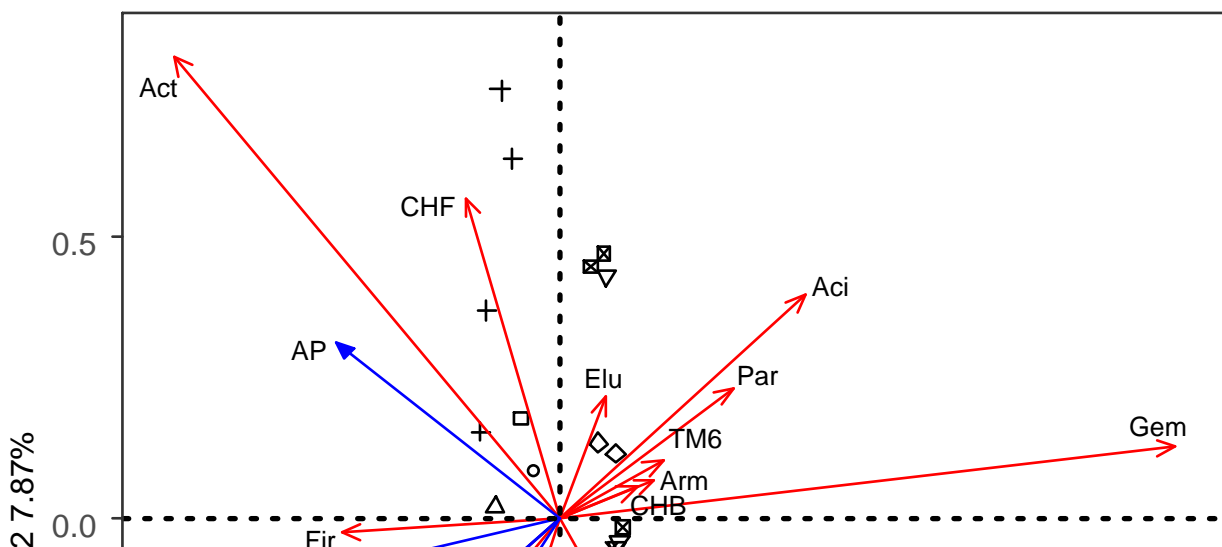


图 13, 土壤细菌与速效养分的 RDA 分析三序图

其中 Gem 为 Gemmatimonadetes (芽单胞菌门), Aci 为 Acidobacteria (酸杆菌门), Pro 为 Proteobacteria (变形菌门), Bac 为 Bacteroidetes (拟杆菌门), Cya 为 Cyanobacteria (蓝藻门), Fir 为 Firmicutes (厚壁菌门), Par 为 Parcubacteria, CHF 为 Chloroflexi (绿弯菌门), Fus 为 Fusobacteria (梭杆菌门), Elu 为 Elusimicrobia (迷踪菌门), TM6 为 TM6\_Dependentiae, Arm 为 Armatimonadetes (装甲菌门), CHB 为 Chlorobi (绿菌门), Act 为 Actinobacteria (放线菌门)。

AMF 属相对丰度与土壤速效养分之间的 RDA 分析结果表明, 土壤速效养分各指标对土壤 AMF 的总方差的解释率为 55.95%, 其中第一典范轴 (RDA1) 和第二第二典范轴 (RDA2) 的解释率分别为 52.60% 和 2.64% (

图 14)。对各典范轴进行置换检验, 其整体 F/sig 为 6.604/0.001, 达到极显著水平。具体到单个的典范轴, 只有第一轴 (RDA1) 达到了显著水平 (F/sig 为 31.045/0.001)。

Glomus, Scutellospora 和 Acaulospora 的矢量长度比 Ambispora 和 Paraglomus 长, 表明前三者对 RDA1 和 RDA2 的贡献率均较大。Glomus 与 Scutellospora 和 Acaulospora 均为负相关, 与 Paraglomus 正相关; Scutellospora 与 Acaulospora, Ambispora 正相关。土壤速效养分的向量均位于第三象限, 之间的夹角均为锐角, 表明两两之间均为正相关, 硝态氮与速效钾最明显, 二者几乎在一条直线上另经检验, 速效钾 (AK) 与铵态氮 (NH<sub>4</sub>) 的 Pearson 相关系数高达 0.739, 达到极显著水平。Glomus 与速效磷、速效氮、铵态氮正相关, 与铵态氮和速效钾相关性不明显。Acaulospora 与速效磷, 速效氮的夹角为钝角, 表现为较弱的负相关。而 Scutellospora 则与所有速效养分都表现出了较强烈负相关。Paraglomus 与所有速效养分均表现出了正相关, 而 Ambispora 与大部分速效养分均表现出了负相关。

粘土的 4 个处理的共 16 个样点, 有 11 个分布在第三象限, 5 个分布在第二象限, 对 RDA1 的贡献均为负值; 砂质壤土则有 3 个样点对 RDA1 的贡献为正, 其它 13 个点均在第一和第四象限。两种土壤的样点在三序图上的分布也说明二者之间的 AMF 群落结构差异。

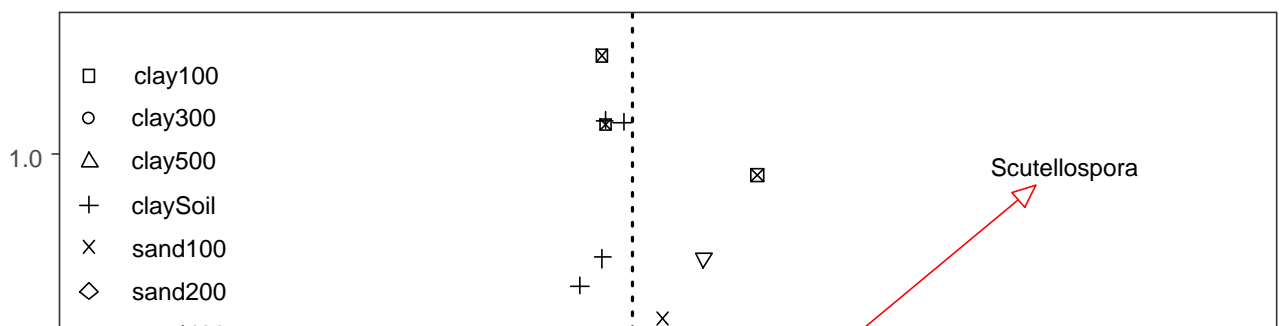


图 14, AMF 与土壤养分的 RDA 分析三序图

### 3 讨论与结论

根袋影响木薯株高,但对茎叶重无显著影响。随着根袋内砂质壤土的量增加,木薯株高逐渐增加,并可用一元二次方程极显著拟合。

本研究中,粘土和砂质壤土中铵态氮和硝态氮的表现不一样。硝态氮小于铵态氮是对试验过程中较高水分含量的反应。随着根袋土壤量的从 500g 减少到 100g,粘土的硝态氮先减少后增加,且最低(clay300, clay400)与最高值(clay100, clay500)达到显著差异;但在砂质壤土中并未表现出任何趋势和显著差异。本研究中使用的氮肥是铵态氮肥料,两种土壤根际铵态氮提高和粘土根际硝态氮略微提高可能受到根际的影响。根际环境对氮循环的影响十分复杂。一方面植物吸收铵态氮释放氢离子导致 pH 下降可能会影响, pH 的变化引起根际微生物群落变化(曾曙才等, 2003); 早作植物近根处  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  存在相对累积区,离根约 2mm 处才出现最大的亏缺值,以后再随距离呈亏缺的指数曲线变化。试验证明,这种根周围氮的相对累积现象是由于根系含氮分泌物和根毛等脱落物聚集的结果(郭朝晖等, 1999)。另一方面植物根系和异养型微生物都竞争吸收  $\text{NH}_4^+$ , 导致硝化作用难以进行。另外,根系分泌物可能刺激细菌呼吸作用,导致  $\text{O}_2$  分压下降,加强反硝化作用。根对反硝化作用的影响与植物的种类有关,如水稻根际中反硝化作用低于小麦根际(曾曙才等, 2003)。

两种土壤硝态氮的差异可能由于砂质壤土不易粘结,水分均匀性较强,反硝化作用较均匀且硝态氮能均匀分散到根袋内外,导致其根际土壤硝态氮偏低且较均一。而粘土可能有微域存在  $\text{O}_2$  分压差异或者微生物差异较大,局部可能存在较弱的反硝化作用,导致根际土壤时反硝化作用略高于砂质壤土,且存在根际略微提高的效果。

本研究中根际铵态氮、硝态氮可能受到多种因素的影响,但根际铵态氮(根袋内 100g 土)显著高于根袋外,可以作为判断是否木薯根际土壤的指示指标。

本研究根袋内速效氮、磷、钾各指标随着根袋内土壤减少,有不同的趋势。可以分为三类:第一类为无明显趋势,如粘土速效氮;第二类为逐渐上升或者忽然上升,如粘土速效磷、速效钾,砂质壤土速效氮、速效钾;第三类为先降低后上升,如砂质壤土速效磷。根袋内土壤速效养分处在根系“活化”和吸收两种根系作用的动态平衡中。第一类可能保持二者的平衡;第二类可能表现为随着根袋内土壤减少,根系的“活化”作用逐渐得以体现;第三类则更体现出了两种作用的动态变化:根袋内土壤较多时,根系吸收作用是主要作用,根袋内土壤较少时,“活化”效果明显。

本研究中,根际与非根际仅粘土速效钾,砂质壤土速效氮,砂质壤土速效钾表现出了根袋内的显著差异,且均为富集作用。根际土壤与非根际土壤的速效养分差异与植物种类密切相关。如李从娟等(2011)在超贫瘠沙土中开展研究,有效氮在刺沙蓬和骆驼蓬的根际中显著聚集,但在骆驼刺根际中却显著亏缺;有效磷含量在刺沙蓬和骆驼蓬根际中出现了显著亏缺,速效钾含量在梭梭根际中表现为亏缺,在骆驼刺中表现为富集。弋良朋等(2009)研究表明荒漠盐土根际土的有效氮含量比非根际土显著降低,钠猪毛菜、囊果碱蓬、盐爪爪、刚毛柽柳、琵琶柴5种盐生植物的根际土壤速效磷比非根际土增加。张学利等(2005)采用抖落法采样,结果表明樟子松根际土壤全N、速效N、速效K含量高于非根际土壤,而速效P含量低于非根际土壤。李贵宝等(1999)研究还发现玉米生长30d时,根表1~2mm处出现了不同程度的钾富集,但在60d时,根表K出现亏缺区且扩大。

除了植物的影响,速效养分还受其它因素影响。粘土中磷的可移动性偏低,但是根外菌丝能将根外5mm远的土壤磷摄取后供植物吸收(李晓林等,1992)。土壤速效钾还受到土壤含水量和质地的影响,许曼丽等(1983)报道了速效钾亏缺和累积的梯度变化与土壤类型、钾供应状况和土壤含水量有密切联系,以及作物种类和生育时期等也有影响。其中土壤含水量的影响最为显著,在淀粉白土和砂土上,根际钾的亏缺率随土壤含水量的下降而增大;反之,则出现富集。在不同类型土壤中种植棉花,在棉花花蕾期进行根际微区K测定,其富集率的大小次序为黄绵土>夹砂土>淀粉白土>砂土,同时与土壤本身的有效钾含量有明显的相关性。曹一平等(1991)土壤质地的影响,砂土根际K<sup>+</sup>的亏缺率一般高于壤土;与此同时,缓效钾也存在相应的亏缺趋势。

木薯根际(根袋内100g土或者200g时)养分富集仅表现在部分指标上,其具体原因可能与根系与微生物交互作用密切相关,速效钾可能与铵态氮的作用有一定的交互作用。无论如何,结合铵态氮和速效钾表现,根袋内100g土壤可视为根际土壤,速效钾也可以作为判断根际土壤的指示指标,具体表现为根袋内显著富集。

粘土根袋内土壤受到根际影响,细菌 $\alpha$ 多样性和丰度均显著增加,以根袋内土重100g时最高。砂质壤土根袋内100g时根袋内细菌 $\alpha$ 多样性增加,但丰度并无影响。

各处理对土壤AMF的 $\alpha$ 多样性影响较小,粘土的均匀性(Simpson指数)高于砂质壤土。丛枝菌根真菌只是真菌的一小部分,木薯是典型的丛枝菌根依赖型植物,AMF群落保持稳定性可能是由于其更多与植物进行交互作用,试验处理对其多样性影响较小。

可准确注释细菌门有27个门,优势群落包括变形菌门,放线菌门,酸杆菌门,绿弯菌门,拟杆菌门,厚壁菌门,芽单胞菌门,蓝细菌,疣微菌门,螺旋体菌门等。

本研究中各处理可确定的AMF物种数分别为17和16个。优势属为球囊霉属和无梗囊霉属等,这与苏凤秀等(2008)的调查相似:广西木薯主产区土壤有19种AMF孢子,球囊霉属(*Glomus*)和无梗囊霉属(*Acaulospora*)是优势类群。

粘土和砂质壤土的微生物差异可以从细菌聚类分析、AMF simpson指数,AMF独有种,LEFse分析、RDA三序图的样点分布象限的差异来描述。其中粘土的均匀性(Simpson指数)高于砂质壤土。丛枝菌根真菌只是真菌的一小部分,木薯是典型的丛枝菌根依赖型植物,AMF群落保持稳定性可能是由于其更多与植物进行交互作用,试验处理对其多样性影响较小。粘土和砂质壤土分别有4个独有AMF种,且*Glomus Glo-E\_VTX00319*,*Glomus VTX00085*还对砂质壤土根袋外具有高度专一性,粘土的四个独有种*Glomus Alguacil09b*,*Glomus VTX00222*,*Glomus VTX00319*,*Glomus VTX00419*还对粘土根袋外具有高度专一性。LEFse分析表明两种土壤的细菌差异显著的细菌门类有3个门,3个纲,9个目,10个科,9个属,5个种。

根袋内外差异也体现在AMF特有种、LEFse分析中。粘土根袋内AMF特有种有*Glomus VTX00310*,*Glomus Kluber12*和*Acaulospora VTX00227*,砂质壤土根袋内AMF特有种*Glomus VTX00099*,*Paraglomus VTX00375*,*Glomus VTX00120*,*Paraglomus VTX00375*。这些根袋内AMF特有种的功能可能是根际土壤互相沟通。而其它根袋内外均有的共有种,可能进行根际与非根际土壤互相沟通。

LEFse分析表明粘土根袋内相对富集的细菌鞘脂杆菌目、根瘤菌目、黄色单胞菌目、疣微菌门及其相关的门、纲、属、种等,砂质壤土根袋内富集的目有鞘脂杆菌目和芽单胞菌科下的属和种。鞘脂杆菌目是木薯品种SC205在不同土质下共同富集的根际细菌。本研究中,鞘脂杆菌目有三个科:噬几丁质菌科(*Chitinophagaceae*),鞘脂杆菌科(*Sphingobacteriaceae*)和env.OPS\_17科,本研究中这三个科分别具有10、3、0个可准确注释的属。其中鞘脂杆菌科下的三个属分别为*Mucilaginibacter*、*Pedobacter*、鞘氨醇杆菌属(*Sphingobacterium*)。鞘氨醇杆菌有着特殊的代谢调控机制来适应营养物质贫乏的环境,通过调整自身的生长来抵抗许多不利的环境变化;鞘氨醇杆菌能够利用的底物宽泛,从石油、氯乙烷等高聚物到简单无机物都能利用,这都是它们能在贫营养的自养环境中生长和繁殖的原因(蔡训辉等,2019)。鞘氨醇杆菌在根际内活跃很可能与根系分泌物的丰富有关,而木薯根际分泌物与此类细菌的富集的具体机理还需要更深入的研究。

RDA分析表明土壤速效磷,与放线菌门和绿弯菌门正相关,与变形菌门负相关。速效氮、速效钾、铵态

氮、硝态氮与芽单胞菌门, 酸杆菌门, *Parcubacteria*, 迷踪菌门, 装甲菌门, *TM6\_Dependentiae*, 绿菌门负相关性, 与厚壁菌门, 蓝藻门, 梭杆菌门, 拟杆菌门之间正相关。

RDA 分析表明 *Glomus* 与速效磷、速效氮、铵态氮正相关; *Aculospora* 与速效磷, 速效氮弱负相关; 而 *Scutellospora* 则与所有速效养分都表现出了较强烈负相关; *Paraglomus* 与所有速效养分均表现出了正相关; *Ambispora* 与大部分速效养分均表现出了负相关。

虽然本研究取得了木薯根际土壤, 但是存在培养期过长, 养分缺乏的问题。后续的研究应当根据不同的采样时间, 设置不同的根袋形状, 如盘状根袋, 增大根袋与土壤的接触面积, 并且进一步改进施肥措施, 在满足木薯需求的情况下尽量延长培养时间。

## 参考文献

- [1] Ceballos I, Ruiz M, Fernandez C, et al. The in vitro mass-produced model mycorrhizal fungus rhizophagus irregularis, significantly increases yields of the globally important food security crop cassava[J]. Plos One, 2013, 8(8): 1-10.
- [2] Hartmann A, Schmid M, Wenzel W, Hinsinger Ph. Rhizosphere 2004 - Perspectives and Challenges - A Tribute to Lorenz Hiltner[M]. Munich, Germany: GSF-National Research Center for Environment and Health, 2005.
- [3] Howeler R H, Cadavid L F, Burckhardt E. Response of cassava to VA mycorrhizal inoculation and phosphorus application in greenhouse and field experimets[J]. Plant and Soil, 1982, 69(3): 327-339
- [4] Howeler R H, Sieverding E. Potentials and limitations of mycorrhizal inoculation illustrated by experiments with field grown cassava[J]. Plant and Soil, 1983, 75(2): 245-261.
- [5] Johansson JF, Paul LR, Finlay RD. Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture[J]. FEMS Microbiology & Ecology, 2004, 48(1): 1-13
- [6] Kowalchuk GA, Buma DS, de Boer W, Klinkhamer PGL, van Veen JA. Effects of above-ground plant species composition and diversity on the diversity of soil-bornemicroorganisms[J]. Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology, 2002, 81:509-520.
- [7] Zhang FS, Shen JB, Li L, Liu XJ. An overview of rhizosphere processes related with plant nutrition in major cropping systems in China[J]. Plant Soil, 2004, 260: 89-99
- [8] 艾超. 长期施肥下根际碳氮转化与微生物多样性研究[M]. 2015. 中国农业科学院, 北京
- [9] 鲍士旦. 土壤农化分析(第三版)(M). 中国农业出版社, 2005, 北京。
- [10] 蔡秋华, 赵正雄, 左进香, 李宜成, 黄俊杰. 有机肥配施减量化肥对烤烟青枯病及其根际微生物的影响[J]. 烟草科技, 2018, 51(11):20-27
- [11] 蔡训辉, 王如意, 胡胜男, 李盈, 周玮. 鞘氨醇杆菌的研究进展[J/OL]. 基因组学与应用生物学.2019, 1-9
- [12] 曹一平, 徐永泰, 李晓林. 小麦根际微区钾养分状况的研究[J]. 北京农大学学报, 1991, 17(2): 1-6
- [13] 曾曙才, 苏志尧, 陈北光, 俞元春. 植物根际营养研究进展[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2003,27 (6): 79-83
- [14] 付合才. 4 种落叶栎类植物根际土壤微生物多样性及其与环境因子关系的研究[D]. 山东大学. 2018, 1-251
- [15] 郭朝晖, 张杨珠, 黄子蔚. 根际微域营养研究进展(二)[J]. 土壤通报, 1999, 30(1): 46-48, 封 3
- [16] 郭凤仙, 刘越, 唐丽, 陈川川, 裴丹宁. 药用植物根际微生物研究现状与展望[J]. 中国农业科技导报, 2017, 19(5):12-21
- [17] 黄华成, 唐光大, 罗晓莹, 等. 3 种球囊霉属真菌对盆栽木薯生长的影响[J]. 华南农业大学学报, 2005, 26(4): 43-47
- [18] 李从娟, 李彦, 马健, 范连连, 王吉利. 干旱区植物根际土壤养分状况的对比研究[J]. 干旱区地理, 2011, 34 (2): 222-228
- [19] 李贵宝, 李晓林, 曹一平, 张福锁. 玉米田间根际微区钾养分状况的研究[J]. 土壤通报, 1999, 30(2):78-79
- [20] 李侠, 张丽, 杜世杰, 戎婷婷, 张弘弛. 作物种类对根际土壤可培养微生物数量的影响[J]. 园艺与种苗, 2018, 38(08): 57-60
- [21] 李晓林, 曹一平. 菌根和非菌根三叶草根际土壤磷钾养分变化[J]. 土壤通报, 1992, 23 (4): 180-182
- [22] 罗晓莹, 苏凤秀, 霍卫东, 等. 接种丛枝菌根对木薯华南 5 号生长的影响[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(24): 14 550-14 551, 15 103.
- [23] 聂园军, 李瑞珍, 赵佳, 薄晓峰. 西瓜连作对根际微生物群落的影响[J]. 中国瓜菜, 2019, 32(1):6-11
- [24] 牛倩云, 韩彦莎, 徐丽霞, 张艾英, 仪慧兰, 郭二虎. 作物轮作对谷田土壤理化性质及谷子根际土壤细菌群落的影响[J]. 农业环境科学学报, 2019, 32(1):6-11
- [25] 苏凤秀, 罗晓莹, 庄雪影. 广西木薯主产区丛枝菌根真菌孢子多样性调查研究[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(34): 15 083-15 086.
- [26] 苏凤秀. 不同 AM 真菌对木薯的生长效应研究[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2012.

- [27] 王学翠, 童晓茹, 温学森, 杨德奎. 植物与根际微生物关系的研究进展[J]. 山东科学, 2007, (06): 40-44, 50.
- [28] 许曼丽、刘芷宇.土壤—根系微区养分状况的研究 II.K 离子的富集与亏缺[J]. 土壤学报, 1983, 20(3): 295-302
- [29] 弋良朋, 马健, 李彦. 荒漠盐生植物根际土壤酶活性的变化[J]. 中国生态农业学报, 2009, 17 (3): 500-505
- [30] 张学利, 杨树军, 张百习, 袁春良. 不同林龄樟子松根际与非根际土壤的对比[J]. 福建林学院学报, 2005, 25(1): 1-4
- [31] 赵柏霞, 潘凤荣, 韩晓日. 基于高通量测序技术的樱桃根际细菌群落研究[J]. 土壤通报, 2018, 49(3):596-601



# 蚯蚓采食不同碳氮比食料的营养物质与能量转化特征

王定美<sup>1,2</sup>, 杨霞<sup>1,2</sup>, 陈新富<sup>3</sup>, 麦力文<sup>1,2</sup>, 林蕊<sup>1,2</sup>, 李勤奋<sup>1,2\*</sup>

1.中国热带农业科学院环境与植物保护研究所 海口 571101; 2.海南省热带生态循环农业重点实验室 海口 571101; 3.海南医学院热带医学与检验医学院 海口 571199

**摘要** 碳、氮是影响蚯蚓生长的两大重要营养素。为确定蚯蚓高效转化中适宜的初始碳氮营养配比, 本文采用不同初始碳氮比(10、15、20、25、30)的人工饲料, 研究蚯蚓转化前后各营养物质和能量转化指标的变化特征。结果显示: 蚯蚓生物量生成及食料减量效率分别在碳氮比10与30、25与30下最优。食料碳氮比为30时, 粗蛋白质、无氮浸出物、总能量、易利用能的总损失最小; 粗脂肪在虫体中大量累积, 总量增加最多, 增加量是初始值的11.4倍; 粗纤维则在虫粪中大量累积, 总量增加18.8%, 与碳氮比10、15差别不显著; 粗灰分及磷元素无代谢损失。蚯蚓利用的营养成分和能量主要是脂肪、无氮浸出物、蛋白质及其代表的易利用能, 其在食料中的减量率随碳氮比增大呈下降趋势。虫体中粗脂肪、粗蛋白质的累积率随碳氮比增大而增大, 虫体中无氮浸出物、粗纤维、粗灰分、总磷的累积率受食料碳氮比影响小。蚯蚓转化食料后, 虫体富集粗脂肪、粗蛋白质、粗灰分、总能和易利用能, 虫粪则富集粗纤维、粗灰分、磷, 含量均显著高于食料。综合考虑蚯蚓生物量生成与食料减量效果及营养物质能量转化效率, 蚯蚓生物转化食料调配的最佳碳氮比值为30。该研究结果为蚯蚓高效处理有机废弃物提供工艺参数依据。

**关键词** 蚯蚓; 碳氮比; 营养物质; 能量; 转化特征

## Conversion performance of nutrients and energy by black soldier fly larvae (*Hermetia illucens* L.) for feeding the artificial diets with different initial C/N ratios

WANG Dingmei<sup>1,2</sup>, YANG Xia<sup>1,2</sup>, CHEN Xinfu<sup>3</sup>, MAI Liwen<sup>1,2</sup>, LIN Rui<sup>1,2</sup>, LI Qinfen<sup>1,2</sup>

1.Environment and Plant Protection Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China; 2.Hainan Key Laboratory of Tropical Eco-circulating Agriculture, Haikou 571101, China; 3.School of Tropical and Laboratory Medicine, Hainan Medical University, Haikou 571199, China

**Abstract** Carbon and nitrogen are two important nutrients that affect the growth of black soldier fly larvae. In this study, different artificial diets of initial C/N ratios (10, 15, 20, 25, 30) were prepared to investigate the conversion characteristics of nutrient and energy, and to determine the optimal C/N ratio for more efficient organic waste treatment by black soldier fly larvae bioconversion. The results showed that when the initial C/N ratios were 10 and 30, larvae biomass formation were best, while that were 10 and 30 for the most efficiency of diets reduction. When the C/N ratio was 30, the total loss of crude protein (CP), nitrogen-free extract (NFE), gross energy (GE) and easy-to-use energy (EUE) was the smallest, the total loss rates were 5.94%, 74.47%, 23.84%, 40.42% in turn; crude fat (EE) accumulated in the larvae body, the total amount increased the most, the increase was 11.4 times of the initial value; the crude fiber (CF) accumulated in larvae vermicompost, the total amount increased by 18.8%, which was not significantly different from that of C/N ratio 10, 15. There was no biological metabolic loss of crude ash (CA) and phosphorus (TP). Nutrients and energy absorbed by black soldier fly larvae mainly were EE, NFE, CP and their representative EUE. Those reduction rates of artificial diet decreased with the increase of C/N ratio, changing ranges were 46.58%-91.42%, 75.58%-89.07%, 63.81%-73.84%, 73.17%-86.54%, respectively. The accumulation rate of EE and CP in larvae body increased with the increase of C/N ratio, and that of NFE, CF, CA and TP were less affected by the C/N ratio. After artificial diet conversion by black soldier fly larvae, the contents of EE, CP, CA, GE, EUE in larvae body and CF, CA, TP in larvae vermicompost were all significantly higher than that in diets, for they were enriched. Considering the biomass formation, diets reduction, nutrient and energy conversion efficiency, the artificial diets of initial C/N ratio was 30, which can be used as the suitable proportion for black soldier fly larvae bioconversion. The research results provide the basic technological parameters for the efficient organic waste treatment by black soldier fly larvae bioconversion.

**Keywords** black soldier fly larvae; C/N ratios; nutrients; energy; conversion performance

黑水虻 (*Hermetia illucens* L.), 中文学名为亮斑扁角水虻, 在热带亚热带地区广泛分布。蚯蚓即黑水虻幼虫营腐食性, 对粪便、餐厨等易腐有机物具有较高的转化效率, 可减少易腐有机物因堆积带来的环境污染。蚯蚓含有大量蛋白质和脂肪, 可作为生产动物饲料及生物油的原料<sup>[1]</sup>, 转化后的残渣虫粪可以作为优质有机肥<sup>[2-4]</sup>。利用蚯蚓生物转化易腐有机废弃物具肥料、饲料、污染治理多重效果, 是一种极具发展潜力的有机废弃物资源化利用途径。众多研究已表明, 对于不同类别物料, 蚯蚓的转化效率及生长特征、营养成分均差别较大。如何将性质差别各异的有机废弃物原料进行科学调配, 提高转化效率, 是当前该技术进一步发展面临

**基金项目** 中国热带农业科学院基本科研业务费专项 (1630042017001、1630042018007) Supported by Central Public-interest Scientific Institution Basal Research Fund for Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences (No.1630042018009、No.1630042017001)

**第一作者** 王定美 (1986-), 男, 硕士研究生, 助理研究员, 主要研究方向为农业废弃物资源化利用, E-mail: mywdm0911@163.com

**通讯作者** Corresponding author (E-mail: qinfenli2005@163.com)

的重要课题。

黑水虻本身的营养需求和其他生物一样，包括氮源、碳源及微量元素等。其中，碳源物质如玉米粉、油脂可为其生长代谢提供能量，氮源物质如豆粕可为其生长提供足量的蛋白质，蚯蚓体内富含蛋白质和脂肪，对碳源能量及氮源蛋白质的需求量大。当前已有关于蚯蚓幼虫营养需求的报道，如 Cammack et al (2017) 对比研究发现蚯蚓在蛋白质和碳水化合物含量均为 21% 的人工配方中生长和存活指标最优<sup>[5]</sup>，郭孝结 (2016) 以稻壳粉为营养载体确定黑水虻幼虫养殖的最佳碳源和氮源配方是葡萄糖 0.3063 g/条、胰蛋白粉 0.1207 g/条<sup>[6]</sup>。也有学者将多种物料合理调配以达到高效降解纤维素类物质的目标<sup>[7-9]</sup>。但以上研究多关注蚯蚓的生长状态，或者是对物料的降解效果，对于食料中营养素配比如何影响蚯蚓转化的效率，仍未进行深入研究。因此，本文通过人工配制不同碳氮比的食料，研究蚯蚓转化过程中各营养物质与能量转化指标随碳氮比的变化特征，为指导调配性质差别各异的废弃物原料、提高蚯蚓生物转化效率提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

实验用虫为 4 日龄黑水虻幼虫（蚯蚓），由海南省北科生态农业开发有限责任公司提供。麦麸、花生粕购自海南省海口市椰海粮油交易市场。苜蓿粉购自河北沧州粹金源牧业公司。

### 1.2 实验设计

在 Gainesville 配方<sup>[10]</sup>基础上，用花生粕和玉米粉调节初始碳氮比分别为 10、15、20、25、30 的 5 种蚯蚓食料，并以 Gainesville 配方作为对照。每种碳氮比食料 3 个重复。不同碳氮比供试食料的组成及营养能量水平见表 1。

表1 不同碳氮比供试食料的组成及营养能量含量  
Table 1 Composition and nutritional energy contents of the artificial diets with different initial C/N ratios

| 项目               | 食料<br>碳氮比      | CK    | T-10  | T-15  | T-20  | T-25  | T-30  |
|------------------|----------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|                  |                | 24    | 10    | 15    | 20    | 25    | 30    |
| 食料组成             | Gainesville配方  | 1     | 11    | 16    | 12.5  | 11    | 9     |
|                  | 玉米粉            | -     | -     | -     | -     | 2     | 10.5  |
|                  | 花生粕            | -     | 14    | 5     | 1     | -     | -     |
| 营养能量             | 粗蛋白质/%         | 17.48 | 35.63 | 25.25 | 20.65 | 16.90 | 13.92 |
|                  | 粗脂肪/%          | 1.15  | 4.39  | 3.62  | 2.90  | 1.62  | 0.77  |
|                  | 粗纤维/%          | 16.81 | 13.13 | 15.36 | 16.34 | 15.33 | 8.72  |
|                  | 粗灰分/%          | 6.41  | 5.68  | 6.18  | 6.48  | 5.94  | 3.94  |
|                  | 无氮浸出物/%        | 58.15 | 41.17 | 49.66 | 53.84 | 60.29 | 72.82 |
|                  | 全磷/%           | 0.73  | 0.77  | 0.78  | 0.74  | 0.62  | 0.34  |
|                  | 总能(MJ/kg)      | 15.28 | 16.71 | 16.01 | 15.27 | 15.31 | 15.38 |
|                  | 总蛋白能量比(kg/ MJ) | 11.40 | 22.69 | 16.03 | 13.33 | 11.14 | 9.06  |
|                  | 易利用能(MJ/kg)    | 13.13 | 14.53 | 13.93 | 13.60 | 13.57 | 14.86 |
| 易利用蛋白能量比(kg/ MJ) | 13.27          | 25.15 | 18.39 | 15.23 | 12.66 | 9.28  |       |

注：Gainesville 食料配方为玉米粉 2 份、紫花苜蓿粉 3 份、麸皮 5 份；蛋白能量比指每千克干基食料含粗蛋白克数/能量兆焦。

### 1.3 实验方法

各碳氮比食料调节初始含水率为 70% 后，各取 1000 g 放入至饲养盒中，加入挑取健康的 4 日龄幼虫 1000 头，在饲养盒顶部盖上 100 目滤布封住（防止家蝇在其中产卵和幼虫逃走），置于饲养室培养，饲养室温度保持在 27 °C、环境相对湿度 70% 左右。每天观察蚯蚓生长情况，当第一头出现预蛹时停止实验，记录培养时间。

### 1.4 数据计算及处理

实验开始和结束时分别记录虫料、虫体及虫粪的重量。蚯蚓用沸水灭活后在 60 °C 下烘干 2 天，在烘干过程中多次翻动，以保证受热均匀。干燥后虫体和风干后虫粪保存待测。

经干燥处理后虫料、虫粪、虫体样品，粉碎后用于测定干物质（DW）、粗灰分（CA）、粗脂肪（EE）、粗蛋白质（CP）、粗纤维（CF）、总能量（GE）。其中无氮浸出物（NFE）按公式  $NFE(\%) = DW - CP - CA - CF - EE$  计算、易利用能（NGE）按公式  $(NGE) = (CP * 16.74 + EE * 37.56 + NFE * 16.81) / 100 \text{ kJ} \cdot \text{g}^{-1}$  计算。

蚯蚓生物量和转化效率按下述公式计算：

蚯蚓增重倍数 = 实验结束时蚯蚓末干重 / 实验开始时蚯蚓初干重 \* 100%

虫体日增重倍数 = (实验结束时蚯蚓末干重 - 实验开始时蚯蚓初干重) / 实验天数 \* 100%

食料减量率 = (实验开始时食料干重 - 实验结束时虫粪干重) / 实验开始时食料干重 \* 100%

食料降解速率<sup>[11]</sup> = (实验开始时食料干重 - 实验结束时虫粪干重) / (平均蚯蚓质量 × 培养时间)，单位

$\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ , 其中平均蚯蚓干重 = (实验开始时蚯蚓干重 + 实验终止时蚯蚓干重) / 2

虫粪生产速率 = 虫粪干重 / (平均蚯蚓干重 × 培养时间), 单位  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ , 其中平均蚯蚓干重同上

蚯蚓中养分能量总损失率 = (实验开始时虫料中养分能量总量 - 实验结束时虫粪中养分能量总量 - 实验结束时蚯蚓中养分能量总量 + 实验开始时蚯蚓养分能量总量) / (实验开始时食料中养分能量总量) \* 100%

虫料中养分能量减量率 =  $100\% - (\text{实验开始时虫料中养分能量总量} - \text{实验结束时虫粪中养分能量总量}) / \text{实验开始时虫料中养分能量总量} * 100\%$

蚯蚓中养分能量累积率 = (实验结束时蚯蚓中养分能量总量 - 实验开始时蚯蚓中养分能量总量) / (实验开始时食料中养分能量总量) \* 100%

## 2 结果与分析

### 2.1 不同碳氮比下的蚯蚓生物量生成情况

本试验选取蚯蚓增重倍数和日增重倍数及虫料比评价蚯蚓生物量的增长情况。具体数据见表 2。数据表明, 在实验结束时, 不同处理各组蚯蚓生物量都出现了不同程度的增长, 而且反映出比较明确的趋势, 即随着碳氮比增大, 蚯蚓的相对初始增重倍数、日增重倍数及虫料比呈先下降再上升的变化趋势, 并且以 T-10 食料的最高, CK 的最低; T-10、T-30 间差别不显著, 并显著高于其他处理的; T-20、CK 显著低于其他处理, T-15、25 间差别不显著各食料碳氮比处理中, 对蚯蚓生物量生成的促进效果为 T-10、T-30 > T-15、T-25 > T-20 > CK, 在 CK 基础上调节碳氮比可以显著促进蚯蚓生物量的生成, 以初始碳氮比 10 和 30 促进效果最好。文献分析表明, 蚯蚓转化不同食料的虫料比为 1.3%-32.8%<sup>[12]</sup>, 本研究在初始碳氮比 10 和 30 下虫料比最大, 分别是 23.10% 和 21.16%, 处于中高水平, 虫料比低于餐厨废弃物 (32.8%)<sup>[13]</sup>, 与 60% 酒糟+20% 啤酒酵母+20% 碎饼干 (24±1.5%)<sup>[14]</sup> 等食料配方的相当, 高于猪粪、牛粪及其与鸡粪、豆渣的混合物 (<20%)<sup>[15-17]</sup>。

表 2 不同碳氮比食料下的蚯蚓生物量生成  
Table 2 Black soldier fly larvae biomass formation for feeding artificial diets with different initial C/N ratios

| 实验处理编号 | 食料初始碳氮比 | 相对初始增重倍数/n  | 虫体日增重倍数/(n/d) | 虫料比/%       |
|--------|---------|-------------|---------------|-------------|
| CK     | 23      | 29.10±1.67d | 3.41±0.20d    | 15.24±0.91d |
| T-10   | 10      | 43.47±1.10a | 5.15±0.13a    | 23.10±0.58a |
| T-15   | 15      | 34.80±0.48b | 4.10±0.06b    | 18.57±0.27b |
| T-20   | 20      | 31.49±1.20c | 3.70±0.15c    | 15.77±0.66c |
| T-25   | 25      | 33.48±0.72b | 3.94±0.14b    | 18.08±0.38b |
| T-30   | 30      | 41.69±1.11a | 4.93±0.66a    | 21.16±0.57a |

### 2.2 不同碳氮比下的食料减量化效果

选用食料的减量率、降解速率和虫粪生产速率来定量蚯蚓对不同碳氮比食料的转化降解效率。如表 3, 随碳氮比增大, 食料的减量率和降解速率呈上升变化, 虫粪生产速率呈下降变化, 其中, 食料减量率以 T-30 最大, CK 最小, 但 T-30 与 T-25、CK 与 T-10 差别不显著; 食料降解速率 T-10 最小, 显著低于其他处理, 并且其它处理之间差别不显著; 虫粪生产速率以 CK 最好, 显著高于其他处理, 以 T-30 最小, 显著低于其它处理。综上, 碳氮比 30 时食料减量率和降解速率最大, 虫粪生产速率最小, 对食料的转化减量效率高。碳氮比 30 时食料减量率为 62.31%, 减量率比牛粪 (43.17%)、鸡粪 (55.04%) 高<sup>[7-8]</sup>, 比豆渣 (72.4%) 低<sup>[15]</sup>。

表 3 不同碳氮比下蚯蚓对食料的减量化效果  
Table 3 Reduction performance of the artificial diets with different initial C/N ratios by black soldier fly larvae

| 处理编号 | 食料初始碳氮比 | 食料减量率/%     | 食料降解速率 mg/g/d | 虫粪生产速率 mg/g/d |
|------|---------|-------------|---------------|---------------|
| CK   | 23      | 54.60±2.10c | 167.73±8.00a  | 139.56±10.07a |
| T-10 | 10      | 54.21±0.73c | 136.06±4.59b  | 114.88±2.72bc |
| T-15 | 15      | 57.87±0.55b | 163.95±4.50a  | 119.36±2.43bc |
| T-20 | 20      | 57.47±0.97b | 166.68±6.88a  | 123.33±3.90b  |
| T-25 | 25      | 60.14±0.40a | 168.47±10.73a | 111.59±5.34c  |
| T-30 | 30      | 62.31±1.63a | 164.48±3.02a  | 99.54±5.15d   |

### 2.3 蚯蚓转化不同碳氮比食料过程中营养物质与能量转化参数

蚯蚓转化不同碳氮比食料下的营养分流情况见表 4。从蚯蚓转化不同碳氮比食料为虫体、虫粪的整个过程中来看, 蚯蚓可将其他物质转化为自身的脂肪, 使其大幅增加, 增加率随碳氮比增加在 72.28%~1139.87% 先降后升, 在碳氮比 30 时达到最大增加倍数 11.4 倍; 粗蛋白质、无氮浸出物均被不同程度转化消耗, 转化代

谢总损失率随碳氮比增加, 分别在 42.56%~5.94%、88.17%~74.47% 呈下降趋势; 粗纤维则基本未被降解并在碳氮比 10、15 下显著增加, 增加率 42.43% 以上, 但碳氮比 10、15、30 之间差别不显著。粗灰分、总磷损失量分别为 -1.59 g~1.50 g、-0.07 g~0.28 g, 尽管由于虫料中粗灰分、总磷本底值小导致其损失率最大可达 16%, 但总体上损失量较小, 体现了虫料中粗灰分、总磷在蚯蚓转化后基本存留在虫体和虫粪中, 无代谢损失。总能量和易利用能损失率分别为 23.45%~31.51%、40.42%~57.05%、随碳氮比增加先升后降, 在碳氮比为 30 时总损失率最小, 但总能量在碳氮比 30 时的损失率与 10 时的差别不显著。综上, 蚯蚓转化碳氮比 30 的食料, 粗蛋白质、无氮浸出物、总能量、易利用能的损失率最小, 粗脂肪增加最多, 粗灰分及磷元素无代谢损失。

从蚯蚓转化虫料为虫粪来看, 食料中粗蛋白质、粗脂肪、无氮浸出物、粗灰分、全磷、总能量、易利用能均有不同程度减量, 随碳氮比增加各营养成分及能量指标的减量率及变化趋势分别是: 粗蛋白质、无氮浸出物、易利用能均呈逐渐降低, 减量率分别为 63.81%~73.84%、75.58%~89.07%、73.17%~84.54%; 粗脂肪: 46.58%~91.42% 先高后低; 粗灰分: 10.99%~49.02% 逐渐升高; 全磷: 21.44%~34.45% 先升后稳; 总能量: 56.74%~58.90% 基本不变; 而粗纤维并未减少、在碳氮比 10~15 显著增加, 增加率 55.31%~33.21%。虫料营养成分及能量指标的减量率受虫料碳氮比影响明显, 主要降解减量的指标是粗脂肪、无氮浸出物、蛋白质、易利用能, 减量率可高达 90%, 并均在碳氮比 30 时最小, 粗灰分、总磷在碳氮比大于 10 的食料中减量率可维持在 30% 以上的水平。这与蝇蛆在粪便中利用的养分主要是粗脂肪和粗蛋白质, 粗纤维和无氮浸出物利用和消耗较少不同<sup>[16]</sup>。这与蚯蚓肠道中酶活总体活性比蝇蛆的更高有关<sup>[17]</sup>。

如表 5, 蚯蚓对虫料中物质能量利用, 碳氮比增大, 虫体中粗蛋白质总量由 24.96 g 降至 18 g 左右后保持稳定, 但累积率逐渐增大, 为 31.28%~57.86%, 虫体中粗脂肪总量、累积率, 先降后升, 在碳氮比 30 时达到最大值 21.38 g 和 1186.45%, 成倍增加; 无氮浸出物变化幅度较小, 总量由 2.72 g 先降 1.00 g 后升 1.91 g, 累积率由 2.72% 降至 1% 左右维持不变, 其吸收累积水平降低; 粗纤维、粗灰分、全磷在虫体中总量变化较小, 分别是 3.18 g~3.83 g、2.99 g~3.79 g、0.27 g~0.35 g, 累积率除粗纤维外先降后升, 粗灰分、全磷均逐渐上升, 粗纤维、粗灰分、全磷均在碳氮比 30 时达到最大值 17.45%、33.02%、42.56%, 但各碳氮比间差别不显著。虫体中总能量、易利用能的总量和吸收率均先降后升, 在碳氮比 10、30 时达到两个相近的最大值, 总量和累积率维持水平分别是 1.1 MJ~1.3 MJ、33%~35%。说明碳氮比增大, 可促进蚯蚓对粗蛋白质、粗脂肪的吸收累积; 碳和氮配比中, 碳或氮处于最大占比时, 有利于蚯蚓吸收利用能量。这是由于碳氮比较低时, 蛋白质亦可作为能量来源被利用。

由上分析, 蚯蚓转过程中最显著的两点是: 虫粪中粗纤维量的提高引起整个转化过程中粗纤维量的增加、虫体中粗脂肪量的提高引起整个转化过程中粗脂肪的增加。这与蚯蚓生物转化食料过程中, 伴随着物料代谢形成腐殖质等类纤维素大分子物质的形成及虫体将其他物质成分转化为自身的脂肪是一致的。随碳氮比提高, 氮素相对失衡, 虫体对氮素需求量也增多, 促进了虫体对氮素的吸收, 因此粗蛋白质总损失率在碳氮比 30 时最小, 虫体累积率最大, 为 57.86%, 但仍低于蚯蚓取食高粱 74.8% 的蛋白质累积率<sup>[18]</sup>。在所有常规营养指标中, 无氮浸出物代谢损失量、损失率均最大, 但虫体中累积量和累积率却最大只有 2.51 g、2.72%, 说明以碳水化合物为主的无氮浸出物可作为能源被转化利用, 多余的能量则以脂肪形式存在于虫体中。各种营养物质作为一个整体, 应保持相互间的平衡作用, 而各种营养物质在蚯蚓营养中的相互关系及其最佳的平衡比例关系仍需进一步研究。

表 4 蚯蚓转化不同碳氮比食料下的营养分流情况  
Table 4 Nutrients conversion by black soldier fly larvae for feeding artificial diets with different initial C/N ratios

| 指标          | 食料<br>碳氮比 | 虫料           | 虫体          | 虫粪          | 损失           | 总损失率             | 虫料减量率         | 虫体累积率           |
|-------------|-----------|--------------|-------------|-------------|--------------|------------------|---------------|-----------------|
|             |           | g, db        |             |             |              | %                |               |                 |
| 粗脂肪 (EE)    | 10        | 9.84±0.75a   | 17.76±0.48b | 1.51±0.14a  | -9.44±0.57c  | -96.46±12.28a    | 84.62±0.66b   | 181.08±12.1c    |
|             | 15        | 8.10±0.26a   | 13.26±0.11c | 0.69±0.02c  | -5.86±0.25b  | -72.43±5.54a     | 91.42±0.41a   | 163.84±5.25c    |
|             | 20        | 6.49±0.03a   | 10.55±0.47d | 0.63±0.03c  | -4.69±0.53a  | -72.28±8.35a     | 90.34±0.53a   | 162.62±7.82c    |
|             | 25        | 3.61±0.23b   | 12.47±0.38c | 0.66±0.04c  | -9.52±0.55c  | -265.28±31.00b   | 81.81±0.43b   | 347.08±30.77b   |
|             | 30        | 1.82±0.23c   | 21.38±0.68a | 0.97±0.10b  | -20.53±0.81d | -1139.87±181.82c | 46.58±2.14c   | 1186.45±180.44a |
| 粗蛋白质 (CP)   | 10        | 79.8±0.84a   | 24.96±0.76a | 20.87±0.70a | 33.97±1.49a  | 42.56±1.52a      | 73.84±1.15a   | 31.28±0.87c     |
|             | 15        | 56.51±0.64b  | 20.37±0.40b | 15.05±0.46b | 21.09±1.13b  | 37.31±1.74b      | 73.36±1.01a   | 36.05±0.76d     |
|             | 20        | 46.18±0.51c  | 18.08±0.59d | 14.5±0.13b  | 13.6±0.94c   | 29.44±1.84c      | 68.60±0.48b   | 39.16±1.41c     |
|             | 25        | 37.72±0.58d  | 18.07±0.49d | 13.31±0.54c | 6.33±0.53d   | 16.78±1.14d      | 64.70±1.80c   | 47.91±0.80b     |
|             | 30        | 33.08±0.18e  | 19.14±0.32c | 11.97±0.10d | 1.97±0.18e   | 5.94±0.53e       | 63.81±0.45c   | 57.86±0.81a     |
| 无氮浸出物 (NFE) | 10        | 92.21±1.66e  | 2.51±0.30a  | 10.39±0.91c | 79.32±2.75d  | 86.00±1.47b      | 88.72±1.18a   | 2.72±0.37a      |
|             | 15        | 111.13±0.67d | 1.00±0.06d  | 12.14±1.25c | 97.98±0.86c  | 88.17±1.07a      | 89.07±1.07a   | 0.90±0.05b      |
|             | 20        | 120.4±0.47c  | 1.29±0.13cd | 26.28±0.58b | 92.8±0.544d  | 77.11±0.50d      | 78.18±0.43c   | 1.07±0.11b      |
|             | 25        | 134.56±0.40b | 1.58±0.38bc | 25.91±1.10b | 107.07±1.17b | 79.57±0.64c      | 80.74±0.87b   | 1.17±0.28b      |
|             | 30        | 173.1±1.09a  | 1.91±0.34b  | 42.27±1.27a | 128.92±1.95a | 74.47±0.74e      | 75.58±0.86d   | 1.10±0.19b      |
| 粗纤维 (CF)    | 10        | 29.41±1.12a  | 3.3b±0.20c  | 45.61±2.08a | -19.5±2.50d  | -66.51±10.29b    | -55.31±10.48b | 11.20±0.26a     |
|             | 15        | 34.38±0.53a  | 3.18±0.05c  | 45.79±0.68a | -14.59±1.07c | -42.46±3.70b     | -33.21±3.42b  | 9.26±0.28a      |
|             | 20        | 36.54±0.07a  | 3.27±0.19bc | 32.4±1.49b  | 0.87±1.44a   | 2.37±3.95a       | 11.32±3.91a   | 8.95±0.55a      |
|             | 25        | 34.21±0.36a  | 3.6±0.25ab  | 29.95±0.56c | 0.66±0.53a   | 1.93±1.56a       | 12.45±0.93a   | 10.52±0.65a     |
|             | 30        | 20.73±1.31b  | 3.83±0.19a  | 20.71±0.67d | -3.81±1.94b  | -18.80±10.85ab   | -0.27±8.92ab  | 18.53±1.93a     |
| 粗灰分 (CA)    | 10        | 12.73±0.38c  | 2.99±0.06c  | 11.33±0.25a | -1.59±0.27c  | -12.50±2.35c     | 10.99±2.31d   | 23.49±0.34a     |
|             | 15        | 13.82±0.42b  | 3.18±0.05b  | 9.48±0.19b  | 1.16±0.19ab  | 8.40±1.08b       | 31.40±0.77c   | 23.00±0.33a     |
|             | 20        | 14.49±0.23a  | 3.79±0.12a  | 9.44±0.28b  | 1.25±0.27ab  | 8.66±1.95b       | 34.84±1.23b   | 26.18±0.87a     |
|             | 25        | 13.25±0.20c  | 3.67±0.08a  | 8.69±0.06c  | 0.90±0.11b   | 6.78±0.72b       | 34.44±0.64b   | 27.66±0.52a     |
|             | 30        | 9.36±0.22d   | 3.09±0.09bc | 4.78±0.31d  | 1.50±0.04a   | 16.00±0.66a      | 49.02±2.17a   | 33.02±1.66a     |
| 全磷 (TP)     | 10        | 1.79±0.10a   | 0.31±0.01ab | 1.41±0.07a  | 0.07±0.02b   | 3.90±1.08b       | 21.44±0.54a   | 17.54±0.54a     |
|             | 15        | 1.75±0.03a   | 0.27±0.03b  | 1.2±0.02b   | 0.28±0.03a   | 16.12±1.50a      | 31.32±1.36a   | 15.21±1.80a     |

|    |            |            |            |             |             |             |             |
|----|------------|------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 20 | 1.65±0.03a | 0.29±0.02b | 1.09±0.04c | 0.28±0.03a  | 16.64±1.40a | 34.11±2.48a | 17.47±1.46a |
| 25 | 1.34±0.02a | 0.34±0.03a | 0.93±0.05d | 0.07±0.01b  | 4.92±0.53b  | 30.62±2.55a | 25.69±2.37a |
| 30 | 0.81±0.03b | 0.35±0.04a | 0.53±0.06e | -0.07±0.01c | -8.11±0.50c | 34.45±5.96a | 42.56±5.93a |

表 5 蚯蚓转化不同碳氮比食料下的能量流情况  
Table 5 Energy conversion by black soldier fly larvae for feeding artificial diets with different initial C/N ratios

| 指标         | 食料<br>碳氮比 | 虫料              | 虫体             | 虫粪             | 损失             | 总损失率        | 虫料减量率        | 虫体累积率        |
|------------|-----------|-----------------|----------------|----------------|----------------|-------------|--------------|--------------|
|            |           | kJ, db          |                |                |                | %           |              |              |
| 总能 (GE)    | 10        | 3742.93±202.71a | 1308.00±45.18a | 1557.22±32.88a | 877.71±150.29b | 23.36±2.89b | 58.34±1.45ab | 34.99±1.53ab |
|            | 15        | 3583.87±73.46ab | 1004.18±8.72b  | 1473.15±11.32b | 1106.55±55.26a | 30.86±0.91a | 58.89±0.57a  | 28.02±0.35b  |
|            | 20        | 3414.72±62.74b  | 862.12±29.39d  | 1476.84±32.99b | 1075.76±96.29a | 31.48±2.33a | 56.74±1.16b  | 25.26±1.26b  |
|            | 25        | 3417.73±28.61b  | 936.32±16.58c  | 1404.39±20.79c | 1077.02±42.89a | 31.51±1.06a | 58.90±0.90a  | 27.40±0.38b  |
|            | 30        | 3655.54±43.49a  | 1282.71±42.39a | 1501.45±25.99b | 871.38±28.10b  | 23.84±0.94b | 58.93±0.23a  | 35.09±0.90a  |
| 易利用能 (NGE) | 10        | 3255.49±44.14b  | 1128.34±31.18a | 580.84±6.31d   | 1546.34±40.55b | 47.49±0.81d | 82.16±0.29b  | 34.66±0.91a  |
|            | 15        | 3118.17±14.63b  | 857.14±9.56b   | 482.22±15.25e  | 1778.81±8.46a  | 57.05±0.07a | 84.54±0.41a  | 27.49±0.43c  |
|            | 20        | 3040.5±2.46b    | 721.69±28.63d  | 707.94±13.06b  | 1610.86±40.06b | 52.98±1.35b | 76.72±0.42c  | 23.74±0.93d  |
|            | 25        | 3028.85±16.01b  | 798.58±16.55c  | 683.06±10.81c  | 1547.21±33.36b | 51.08±0.88c | 77.45±0.47c  | 26.37±0.58c  |
|            | 30        | 3532.07±19.74a  | 1156.84±31.98a | 947.49±16.50a  | 1427.74±54.81c | 40.42±1.39e | 73.17±0.62d  | 32.75±0.96b  |

## 2.4 食料碳氮比对蚯蚓营养成分及能量含量的影响

不同碳氮比下蚯蚓及其食料转化前后的营养成分及能量含量见图 1。蚯蚓采食不同碳氮比食料后，食料中营养物质被蚯蚓吸收利用，蚯蚓虫体中粗脂肪、粗蛋白质大幅增高，含量在 28.12% ~ 42.67%、39.31% ~ 49.99%，显著高于虫粪和食料的，其中：虫体的粗脂肪含量分别是虫粪和虫料的 2.39 ~ 3.23 倍、7.75 ~ 55.58 倍，虫体的粗蛋白质含量分别是虫粪和虫料的 23.09 ~ 43.59 倍、1.37 ~ 2.84 倍，虫体对粗蛋白质和粗脂肪具有明显富集效应。随碳氮比增大，虫料中粗脂肪和粗蛋白质含量均呈下降趋势，虫体虫粪中粗脂肪含量呈先下降后上升变化，最低点均为碳氮比为 20 的食料处理，数值分别是 28.18% 和 0.66%，但碳氮比 15、20、25 下虫粪中粗脂肪含量差别不显著；虫体中粗蛋白质含量值在碳氮比为 15 时达到最大值 49.99% 后不断减小、虫粪中粗蛋白质含量则由 20.35% 逐渐下降至 13.12%。

不同碳氮比的食料被采食后转化为虫粪，粗纤维含量大幅增加，为 22.70% ~ 48.22%，为虫料的 2.08 ~ 3.39 倍，随碳氮比增大呈先升后降变化；虫料转化为虫粪后，无氮浸出物含量大幅减小，为 10.14% ~ 46.31%，为虫料的 0.25 ~ 0.51 倍，随碳氮比增大不断上升；相比虫粪虫料，虫体中粗纤维与无氮浸出物含量处于较低水平，分别为 6.39% ~ 9.01%、2.66% ~ 4.97%，随碳氮比增大呈小幅上升。粗灰分和总磷含量随碳氮比增大变化趋势一致，虫料与虫粪分别以碳氮比 20、25 为界，先呈缓慢下降后快速下降；虫体中粗灰分和总磷含量分别以碳氮比 20、25 为最高值呈先升后降变化，均在碳氮比为 30 时达到最小值，并且虫体 > 虫粪 > 虫料。

不同碳氮比虫料总能和易利用能含量分别为 15.27 MJ/kg ~ 16.71 MJ/kg、13.57 MJ/kg ~ 14.53 MJ/kg，蚯蚓取食后，虫体的总能和可利用能均随碳氮比增大呈先下降后上升，分别为 23.27 MJ/kg ~ 25.89 MJ/kg、19.43 MJ/kg ~ 23.28 MJ/kg，相比虫料大幅提升，分别是虫料的 1.51 ~ 1.68 倍、1.43 ~ 1.57 倍，显示出明显的富集效果。虫粪中总能、易利用能含量均呈逐渐上升变化，其中总能含量为 15.18 MJ/kg ~ 16.45 MJ/kg，和虫料中总能变化幅度差别不大；易利用能含量为 5.08 MJ/kg ~ 10.38 MJ/kg，显著低于虫料的，为虫料易利用能的 0.36 ~ 0.70 倍。

由上分析，蚯蚓对虫料进行转化后，脂肪、蛋白质、灰分、总能和易利用能在虫体中的含量表现出升高富集效应，粗纤维、无氮浸出物在虫体中则表现为稀释效应，虫料转化为虫粪后，虫粪中脂肪、蛋白质、无氮浸出物和易利用能的含量均表现出稀释效应，而虫粪则富集粗纤维、粗灰分、磷。虫体中磷含量、虫粪中总能含量在碳氮比 10 ~ 15 下稀释磷、碳氮比 20 ~ 30 下富集磷。前人研究认为：采食不同食料的蚯蚓，其蛋白质、粗脂肪、粗灰分、粗纤维含量差别较大，而微量元素含量差别较小<sup>[19-20]</sup>。但关于食料、蚯蚓、虫粪中营养成分及能量含量间的相互作用效应仍未能明确：有学者认为高蛋白食料有利于蚯蚓中蛋白质含量的提高<sup>[21]</sup>；也有学者认为食料中能量或无氮浸出物含量越高，蚯蚓的脂肪含量越高；高能量低灰分 / 纤维含量的食料更利于降低蚯蚓中灰分含量<sup>[20]</sup>。

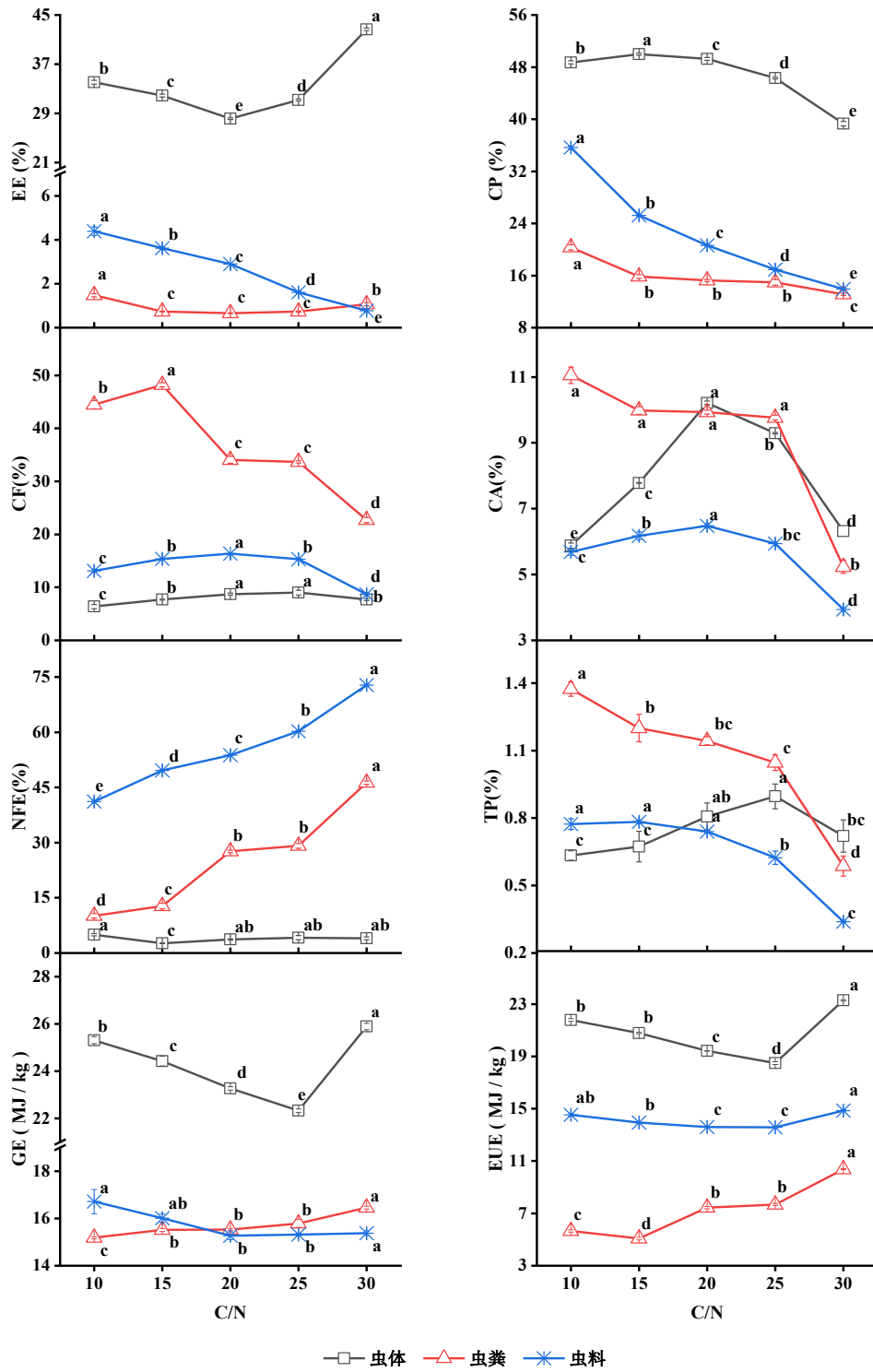


图1 不同碳氮比下虹蛆及其食料转化前后的营养成分及能量含量。

Fig. 1 Nutrient and energy contents of larvae body and their diets in different initial C/N ratios before and after treatment by black soldier fly larvae.



### 3 结论

食料初始碳氮比显著影响蚯蚓生物转化效率。碳氮比 30 下, 蚯蚓生物量生成、食料减量程度均最大; 粗蛋白质、无氮浸出物、总能量、易利用能的总损失均最小; 粗脂肪在虫体中成倍累积, 增加 11.4 倍; 粗纤维类物质在虫粪中大量形成, 增加 18.8%, 与碳氮比 10、15 差别不显著; 粗灰分及磷元素在蚯蚓转化过程中无代谢损失。

蚯蚓利用的营养成分和能量主要是脂肪、无氮浸出物、蛋白质及其代表的易利用能, 其在食料中的减量率随碳氮比增大呈下降趋势。虫体中粗脂肪、蛋白质累积率随碳氮比增大而增大, 虫体中无氮浸出物、粗纤维、粗灰分、总磷的累积率受食料碳氮比影响小。蚯蚓转化食料后, 虫体富集脂肪、蛋白质、灰分、总能和易利用能, 虫粪则富集粗纤维、粗灰分、磷。

综合蚯蚓生物量生成、食料减量效果及营养物质能量转化效率, 蚯蚓生物转化最优的初始食料碳氮比值为 30。

#### 参考文献

- 1 Ariane M, Wolf D, Gutzeit H O. The black soldier fly, *Hermetia illucens* - A promising source for sustainable production of proteins, lipids and bioactive substances[J]. Zeitschrift für Naturforschung C, 2017, **72**(9-10)c: Z. Naturforsch. 2017, **72**(9-10)c: 351-363
- 2 阮传清. 亮斑扁角水蚯蚓砂的理化性质及其对铁皮石斛生长的影响[J]. 东南园艺, 2019, 7(02): 19-21[Ruan C Q. Physicochemical Properties of *Hermetia illucens* Sandworm and Its Effects on Growth and Yield of *Dendrobium officinale*[J]. Southeast Horticulture, 2019, **7**(02): 19-21]
- 3 杨树义, 李卫娟, 刘春雪, 等. 发酵猪粪对黑水虻转化率的影响及黑水虻幼虫和虫沙营养成分测定[J]. 安徽农业科学, 2016, **44**(21): 69-70 [Yang SY, Li WJ, Liu CX, et al. Effects of Fermented Swine Manure on the Conversion Ratio of *Hermetia illucens* and Nutritional components Detection of *Hermetia illucens* Larva and Sandworm[J]. Journal of Anhui Agri. Sci. 2016.44(21): 69-70]
- 4 Leonardo S, Enrico F, Andrea P, et al. Use of black soldier fly (*Hermetia illucens* (L.), Diptera: Stratiomyidae) larvae processing residue in peat-based growing media[J]. Waste Management, 2019, **95**: 278-288
- 5 Cammack J, Tomberlin J, The Impact of Diet Protein and Carbohydrate on Select Life-History Traits of The Black Soldier Fly *Hermetia illucens* (L.) (Diptera: Stratiomyidae)[J]. *Insects*, 2017, **8**(2): 56-70
- 6 郭孝结. 黑水虻幼虫营养配方优化及应用[D]. 南昌: 南昌大学, 2016 [Guo XJ. Optimization of Nutrition Formula for the Black Soldier Fly Larvae and Cultivation[D]. NanChang: NanChang University, 2016]
- 7 Rehman K U, Rehman A, CAI M, et al. Conversion of mixtures of dairy manure and soybean curd residue by black soldier fly larvae (*Hermetia illucens* L.)[J]. Journal of Cleaner Production, 2017, **154**: 366-373
- 8 Rehman K U, CAI M, XIAO X, et al. Cellulose decomposition and larval biomass production from the co-digestion of dairy manure and chicken manure by mini-livestock (*Hermetia illucens*, L.)[J]. Journal of Environmental Management, 2017, **196**: 458-465
- 9 袁志能, 徐浪, 尤珂珂, 等. 进境小麦下脚料养殖黑水虻幼虫的饲料配比研究[J/OL]. 环境昆虫学报: 1-11[Yuan Z N, Xu L, You K K, et al. Research on feed proportion of imported food scraps for feeding black soldier fly larvae[J/OL]. Journal of Environmental Entomology: 1-11]
- 10 Tomberlin J K, Sheppard D C, Joyce J A. Selected Life-History Traits of Black Soldier Flies (Diptera: Stratiomyidae) Reared on Three Artificial Diets[J]. Annals of the Entomological Society of America, 2009, **95**(May 2002): 379-386
- 11 蔡玉琪, 蔡树美, 倪圣亚, 等. 蚯蚓对秸秆-污泥混合物的消解转化效果[J]. 农业环境科学学报, 2009, **28**(06): 1284-1287 [Cai Y Q, Cai S M, Ni S Y, et al. Efficiency of Using Earthworms to Assimilate and Transform Straw-Sludge Mixture[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2009, **28**(06): 1284-1287]
- 12 Bosch G, van Zanten H H E, A Zamprogn, et al. Conversion of organic resources by black soldier fly larvae: Legislation, efficiency and environmental impact[J]. Journal of Cheaner Production, **222**(2019): 355-363
- 13 Zhang L, Li Q, Zhang J, et al. Double the biodiesel yield: Rearing black soldier fly larvae, *Hermetia illucens*, on solid residual fraction of restaurant waste after grease extraction for biodiesel production[J]. Renewable Energy 05/2012; 41. DOI:10.1016/j.renene.2011.10.004
- 14 Ooninx D G A B, Broekhoven S V, Huis A V, et al. Feed Conversion, Survival and Development, and Composition of Four Insect Species on Diets Composed of Food By-Products[J]. Plos One, 2015, **10**(12): e0144601
- 15 Ooninx D G A B, Huis A V, Loon J J A V. Nutrient utilisation by black soldier flies fed with chicken, pig, or cow manure[J]. Journal of Insects As Food & Feed, 2015, **1**(2): 131-139
- 16 白林, 李学伟, 张林, 等. 家蝇幼虫处理猪粪的营养物质和能量转化规律研究[J]. 中国畜牧杂志, 2007, 43(23): 59-62 [Bai L, Li

- X W, Zhang L, et al. Study on nutrition and energy conversion of pig manure treated by housefly larva [J]. Chinese Journal of Animal Science, 2007, **43**(23): 59-62]
- 17Kim W, Bae S, Park K, et al. Biochemical characterization of digestive enzymes in the black soldier fly, *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae)[J]. Journal of Asia-Pacific Entomology, 2011, **14**(1): 11-14
- 18Tinder A C, Puckett R T, Turner N D, et al. Bioconversion of sorghum and cowpea by black soldier fly ( *Hermetia illucens* (L.)) larvae for alternative protein production[J]. Journal of Insects as Food and Feed, 2017, **3**(2): 121-130
- 19Barraganfonseca K B, Dicke M, Loon J J A V. Nutritional value of the black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) and its suitability as animal feed-a review[J]. Journal of Insects as Food and Feed, 2017, **3**(2): 105-120
- 20Spranghers T, Ottoboni M, Klootwijk C, et al. Nutritional composition of black soldier fly ( *Hermetia illucens* ) prepupae reared on different organic waste substrates[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2016, **97**: 2594-2600
- 21Barragán-Fonseca K, Pineda-Mejía J, Dicke M, et al. Performance of the Black Soldier Fly (Diptera: Stratiomyidae) on Vegetable Residue-Based Diets Formulated Based on Protein and Carbohydrate Contents[J]. Journal of Economic Entomology, 2018: 1-8

# 9个卡蒂姆咖啡品种品质研究

苏琳琳, 郭铁英\*, 萧自位, 白学慧, 马关润, 周 华, 赵明珠

云南省德宏热带农业科学研究所, 瑞丽 678600

**摘要:** 对在瑞丽市定植的9个卡蒂姆品种进行商品豆物理特性、内含物及杯品质量进行测定评价, 35号、46号、37号和42号4个品种的鲜干比低于5.5, 50号和37号出米率较高, 46号千粒重最高; 17号筛分级后,  $\geq 17\#$ 商品豆总重以及 $\geq 17\#$ 正常豆总重48号最高, 35号、36号、49号的千粒重、 $\geq 17\#$ 商品豆总重以及 $\geq 17\#$ 正常豆总重均偏低;  $\geq 17\#$ 畸形豆及碎豆重, 37号最高, 43号最低;  $\geq 17\#$ 斑点豆重, 42号最高, 49号最低;  $< 17\#$ 畸形豆及碎豆重, 35号最高, 42号最低;  $< 17\#$ 斑点豆重, 42号最高, 48号最少; 蛋白质含量35号最高, 粗脂肪含量50号最高, 粗纤维含量46号, 总糖含量36号最高, 水浸出物含量43号最高, 咖啡因含量35号最高; 杯品质量测定35号、49号、50号分值较高。综合来看, 9个品种在瑞丽物理特性表现出色, 品质表现中等, 生产上可以考虑推广应用。

**关键词:** 卡蒂姆; 品质; 咖啡

## Study on Quality of 9 Different *Coffea arabica* L. cv. Catimor

SU Linlin, GUO Tiejing\*, XIAO Ziwei, MA Guanrun, ZHOU Hua, ZHAO Mingzhu

Yunnan Dehong Institute of Tropical Agricultural Sciences, Ruili, Yunnan 678600

**Abstract** Physical characteristics, Inclusions and tasting quality about 9 different *Coffea arabica* L. cv. Catimor were measured and evaluated. Fresh/ Fry Ratio of No.35, No. 37, No. 42, No. 46 were less than 5.5. The green bean ratio of No. 37 and No. 50 were higher while the 1000 green beans' weight of No. 46 was maximum. No.17 sieve were used for classification. The green beans of No. 48 were the heaviest when weighting the green bean remaining on the No.17 sieve. Not only the 1000 green beans' weight of No.35, No. 36 and No.49, but also the total green beans' weight and the normal green beans'weight remaining on the No. 17 sieve were minor. The irregularly fromed beans' weight of No.37 remaining on No. 17 sieve were the heaviest, while the No. 37's were the lightest. The irregular visual appearance beans' weight of No. 42 remaining on No.17 sieve were the heaviest, while the No. 49's were the lightest. The irregularly fromed beans' weight of No.35 getting through No. 17 sieve were the heaviest, while the No. 42's were the lightest. The irregular visual appearance beans' weight of No. 42 were the heaviest, while the No. 48's were the lightest. No. 35, No. 50, No. 46, No. 36, No. 43 and No. 35 especially has the highest content of protein, crude fat, crude fiber, total Carbohydrate, water extract and caffeine. After tasting, No. 35, No. 49 and No.50 has more higher cupping scores. Overall, all the 9 Catimors form Ruili showed excellent physical characteristics, fair average tasting scores, and could be worth using in production.

**Keywords** Carimor;quality;coffee

咖啡是茜草科 (Rubiaceae) 咖啡属 (*coffea*) 常绿灌木或小乔木, 是世界三大饮料之一。20世纪50年代中国大陆开始规模化种植咖啡<sup>[1]</sup>, 近年来在国家政策和各级政府的扶持下, 我国咖啡产业发展比较迅速, 产业规模不断扩大, 主要种植地区集中在云南南部热区<sup>[1]</sup>, 2012年云南咖啡种植面积及产量就已占全国99%以上。咖啡是云南热区特色优势产业和重要创汇农产品之一, 是云南高原特色农业的一颗明珠。云南小粒种咖啡主要栽培品种卡蒂姆7963、P1、P2、P4、PT (P86)、T5175、T8667、CCCA25等都属于蒂姆 (HDT) 衍生种, 卡蒂姆类咖啡占绝大多数, 但由于锈菌新生理小种的出现, 卡蒂姆类咖啡正在逐渐丧失抗锈病性<sup>[2]</sup>。品种抗锈病丧失是制约我国咖啡产业发展的重要因素, 推广利用抗锈病品种才能更好的促进我国咖啡生产的发展。

卡蒂姆类咖啡是由葡萄牙咖啡锈病研究中心 (CIFC) 用 Caturra19/1×HDT832/1 (HW26) 和 Caturra19/1×HDT832/2 (H<sub>46</sub>) 选育出的杂交种的统称, 在诸多咖啡生产国得到了进一步的选育和适应性研究。1991年云南省德宏热带农业科学研究所从肯尼亚咖啡研究所引入卡蒂姆系列品种9个, 1992年育苗, 1993年~1997年对其部分植物学特征、农艺性状、大田抗锈病性等进行观测<sup>[3]</sup>。本文继续对次9个卡蒂姆系列品种进行研究, 对其商品豆物理特性、内含物、杯品质量进行测定评价, 为生产上推广利用提供理论支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

参试品种为“农业农村部瑞丽咖啡种质资源圃”中保存的35号、36号、37号、42号、43号、46号、48号、49号、50号。1991年云南省德宏热带农业科学研究所从肯尼亚咖啡研究所引入, 1992年育苗, 1993年定植, 2009年的截干复壮。

**作者简介** 苏琳琳 (1987-), 女 (汉), 助理研究员, 本科, 研究方向: 食品质量与安全, 13628873822, sulinlin1226@163.com, 云南省德宏州瑞丽市瑞京路29号

**\*通讯作者** 郭铁英 (1982-), 女 (汉), 硕士, 副研究员, 研究方向: 咖啡遗传育种

表 1: 各个品种定植株数  
Table 1: Planting Number of the 9 Catimors

| 品种编号        | 35 号 | 36 号 | 37 号 | 42 号 | 43 号 | 46 号 | 48 号 | 49 号 | 50 号 |
|-------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 定植株数<br>(株) | 46   | 44   | 68   | 41   | 69   | 42   | 46   | 36   | 49   |

## 1.2 试验地点与试验设计

参试品种定植在云南省瑞丽市瑞京路, 云南省德宏热带农业科学研究所试验田 (N24°01', E97°51'), 海拔 798m, 年平均气温 20.7℃, 极端最高温为 34.4℃, 最冷月均温 13.3℃, 年降雨量 1400mm, 年平均相对湿度 80%, 年日照时数 2351.1h, 土壤为花岗岩母质砖红壤性红壤, pH4.7~5.6。

种植模式为橡胶林下间作咖啡, 荫蔽种植, 咖啡种植株行距 1m×2m, 橡胶株行距 2.5m×14m。采用随机区组设计, 重复 3 次, 定植株数如表 1 所示, 其中中心 20 株为试验株。在咖啡盛熟期每个小区采摘成熟鲜果 2kg, 每株采摘 50g, 每个参试品种共采摘 6kg。

定植前施农家肥 15g/hm<sup>2</sup> 作为基肥, 7~8 月每月施尿素 1 次, 每次施 0.02 kg/株; 9 月和 10 月各施氯化钾 1 次, 每次施 0.025 kg/株; 11 月施氯化钾 1 次, 施 0.05 kg/株。定植后第 2 年, 1~2 月施有机肥 3~5 kg/株、钙镁磷肥 0.1 kg/株。3~5 月每月施 1 次沤制水肥, 加 1% 尿素, 每次施 2~3 kg/株。7~9 月各施尿素和氯化钾 1 次, 每次施 0.05 kg/株。投产后有机肥每年施 5.0 kg/株, 磷肥 0.1 kg/株。3~5 月每月施 1 次沤制水肥, 加 1% 尿素, 施 5.0 kg/株。6~7 月每月施尿素 1 次, 每次施 0.075 kg/株。8~9 月各施复合肥、氯化钾 1 次, 每次施 0.1 kg/株。整个试验期间不喷施农药, 除草、中耕、修剪等其他田间管理措施与其他试验田管理相同。

## 1.3 待测样品制备

采用全水洗法对咖啡鲜果进行初加工 (又称湿法加工): 采摘完全成熟鲜果→去除杂质→去除果皮→发酵 12h→加少量水继续发酵 24h→清水清洗至无果胶→阳光下干燥至水分 12%待测。

## 1.4 商品豆物理特性评价

取 300g 咖啡商品豆, 测千粒重, 17 号筛分级, 按照 GBT 15033-2009 分别测定各级正常豆重、畸形豆、碎豆豆重与斑点豆重, 计算各级豆中正常豆占总样品的比率, 重复 3 次取平均值。

NY/T 1519-2007 分别测定各级正常豆重、畸形豆、碎豆豆重与斑点豆重<sup>[4]</sup>, 并测定各级豆占总样品的比率以及各级豆中正常豆占总样品的比率。

## 1.5 内含物测定

全水洗加工获咖啡商品豆, 委托农业部农产品质量监督检验测试中心 (昆明) 检测咖啡商品豆的蛋白质、粗脂肪、粗纤维、水浸出物、总黄酮、咖啡因、总糖。蛋白质按 GB 5009.5-2010 检测; 粗脂肪按 GB/T 5009.6-2003 检测; 粗纤维按 GB/T 5009.10-2003 检测; 水浸出物按 GB/T 8305-2013 检测; 咖啡因按 GB/T 19182-2003 检测; 总糖按 GB/T 5009.7-2008 检测。

## 1.6 杯品质量测定

对 9 个品种使用全水洗初加工方式纸杯杯测样品, 委托北京君捷西中贸易有限公司进行杯品质量评估。杯测采用 SCAA (美国精品咖啡学会, Specialty Coffee Association of America) 方法及流程。评测项目: 干香/湿香、酸度、风味、纯度、回甘度、平衡度、整体评价、一致性、甜度、洁净度。评分标准: 满分为 100 分, 前 7 项各项满分 10 分, 后 3 项指标各项按常规 10 分记。品尝流程: 烘焙度采取焦糖化指数 58/63 烘焙; 10 克咖啡粉, 中等粒度研磨; 180 毫升 93.33℃ 左右热水直接冲泡; 浸泡 4min 后破渣; 8~10 min 间开始进行品尝。杯测环境相关: 烘焙机: PROASTER 1.5KG; 电子称: BONAVITA (3000G, 称量精度 0.1G); 磨豆机: Mahlkonig EK43; 杯测碗: 200ML 杯测专用; 杯测勺: 不锈钢杯测专用勺; 热水壶: BONAVITA 温控水壶; 水: 符合杯测标准的水 (125~175PPM); 浓度检测仪: VST 浓度检测仪; 焦糖化检测仪: RoAmi; 杯测人数: 10 人; 测定地点: 北京。

## 2 结果与分析

### 2.1 商品豆物理特性评价

测定 9 个品种鲜干比 (鲜果与带壳干豆比, 图 2), 鲜干比最大为 49 号 5.91, 最小为 35 号 4.66。鲜干比越小, 说明同样重量的鲜果, 能够获得较多的带壳干豆, 在鲜果产量相差不大的情况下, 干豆产量越高。鲜干比 5.5 以下有 4 个品种, 从小到大依次为 35 号、46 号、37 号和 42 号, 鲜干比分别为 4.66、5.24、5.27、5.41。出米率是另外一个与产出相关的指标, 出米率越高, 同样干豆产量下所获得的商品豆越多。测定 9 个品种出米率 (图 3), 50 号和 37 号较好, 分别为 96% 和 95%; 最少为 35 号和 36 号, 均为 76%。

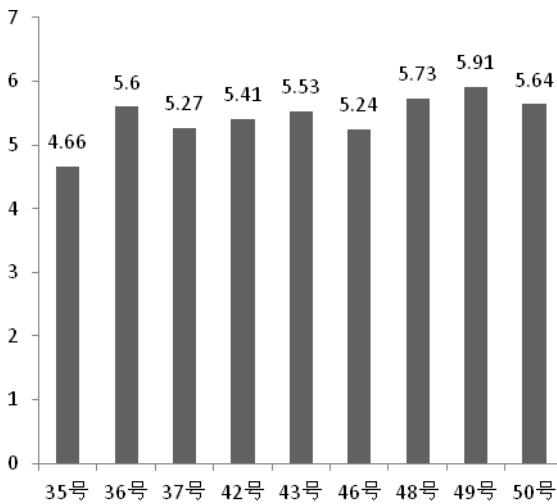


图2: 鲜干比  
Fig 2: Fresh/ Fry Ratio of the 9 Catimors

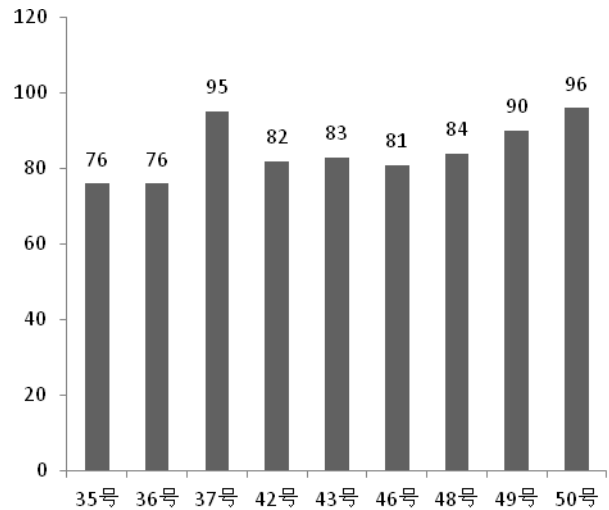


图3: 出米率 (%)  
Fig 3: Green Bean Ratio of the 9 Catimors

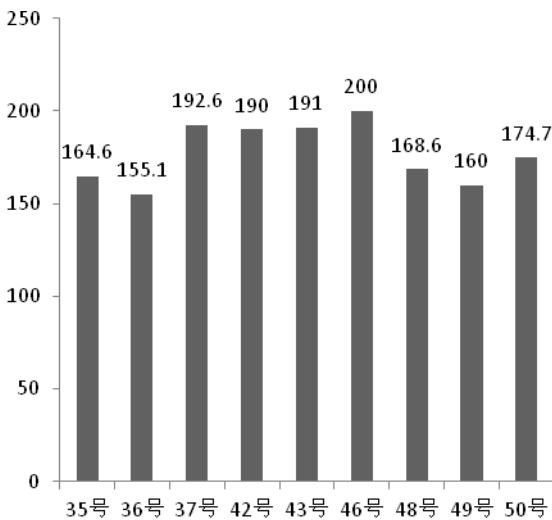


图4: 千粒重 (g)  
Fig 4: 1000 Green Bean Weight (g)

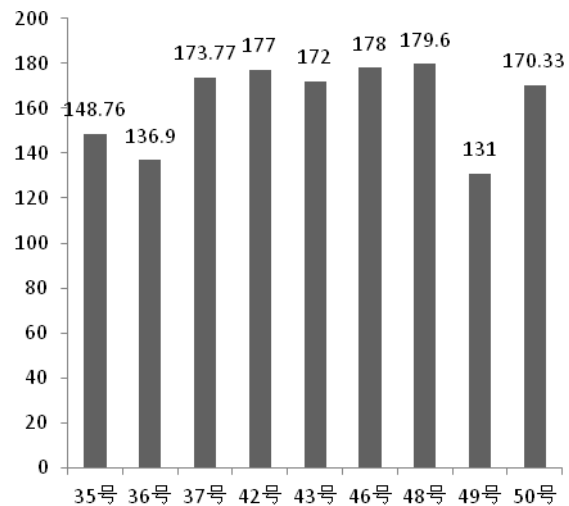


图5: ≥17#商品豆总重 (g)  
Fig 5: The Total Weight of Green Bean remaining on Sieve No. 17

千粒重体现咖啡商品豆的大小与饱满度,测定商品豆千粒重(图4),46号最高,200g,9个品种商品豆千粒重从大到小依次为46号(200g)>37号(192.6g)>43号(191g)>42号(190g)>50号(174.7g)>48号(168.6g)>35号(164.6g)>49号(160g)>36号(155.1g);36号商品豆千粒重最低,为155.1g。按照千粒重大小,将9个品种分3组,1组为千粒重190g以上,该组有4个品种,分别为37号,43号,42号,46号;2组为千粒重160g~190g区间,该组有4个品种,分别为35号,48号,49号,50号;3组为千粒重160g以下,该组有1个品种,为36号。

咖啡商品豆在焙炒之前,需要过筛,目的是为了焙炒时商品豆大小均一,提高焙炒豆品质,因为商品豆大小不均匀时,同一温度下焙炒,粒径小的豆粒先熟,粒径大的豆粒后熟,烘焙豆成熟度不一致,影响最终杯测分数。使用17号筛分级,测定9个品种≥17#商品豆总重(图5),最高为48号,179.6g,9个品种≥17#商品豆总重从大到小依次为48号(179.6g)>46号(178g)>42号(177g)>37号(173.77g)>43号(172g)>50号(170.33g)>35号(148.76g)>36号(136.9g)>49号(131g)。按照≥17#商品豆总重大小,将9个品种分为2组,1组≥170g,该组有6个品种,分别为48号,46号,42号,37号,43号,50号,该组商品豆豆粒均一性较好;2组<170g,该组有3个品种,分别为35号,36号,49号,该组商品豆豆粒均一性较差。

测定9个品种≥17#正常豆总重(图6),最高为48号,164.6g,按照从大到小顺序排列依次为:48号(164.6g)>37号(158g)>46号(156g)>43号(155.75g)>50号(155.46g)>42号(153g)>35号(134g)>

35号(130.41g) > 49号(118g)。对比千粒重分组和≥17#商品豆总重分组, 35号、36号、49号的千粒重、≥17#商品豆总重和≥17#正常豆总重均偏低。

表 2: 17 号筛分级后 ≥17#豆比率

Table 2: Weight Ratio of Green Bean above Sieve No.17

| 样品名称          | 35号  | 36号  | 37号  | 42号  | 43号  | 46号 | 48号  | 49号  | 50号  |
|---------------|------|------|------|------|------|-----|------|------|------|
| ≥17#豆比率 (%)   | 74.4 | 68.5 | 86.9 | 88.5 | 86   | 89  | 89.8 | 65.5 | 85.2 |
| ≥17#正常豆比率 (%) | 67   | 65.2 | 79   | 76.5 | 77.9 | 78  | 82.3 | 59   | 77.7 |

从≥17#商品豆总重及正常豆重占总样品的比率测定结果来看(表2), 这9个品种≥17#的商品豆占样品总重的比率均在65%以上, 最高近90%, 由此来看, 这9个品种豆粒较大。且≥17#正常豆占总样品比率除了49号偏低(59%)外, 其余也在65%以上, 因此可以推测这9个品种如果推广应用, 生产上可以产出较多的一级豆(一级豆的物理特性要求为粒度大于0.65cm, 17号筛孔径为0.67cm)<sup>[5]</sup>。

畸形豆, 由多胚发育成, 通常人工分检出象形豆耳形和贝壳形的内外不分。碎豆通常在去除咖啡种皮和/或果壳时形成, 部分畸形豆在去除种皮时碎裂机损也能形成碎豆, 故将畸形豆与碎豆一起测定。畸形豆关系到正常豆的不均匀焙炒, 在焙炒时会分裂和烧焦, 进而影响杯测最终分数。斑点豆, 豆粒上有黑色或褐色斑点, 可能由于干燥种皮不当形成<sup>[4]</sup>。测定9个品种≥17#畸形豆、碎豆以及斑点豆重(图7), 从结果来看, ≥17#畸形豆及碎豆重, 37号最高, 14.21g; 43号最低, 7.65g; 9个品种从大到小依次为37号(14.21g) > 35号(11.4g) > 46号(11g) > 48号(10.2g) > 49号(10g) > 50号(8.7g) > 36号(8.48g) > 42号(8g) > 43号(7.65g)。≥17#斑点豆重, 42号最高, 16g, 9个品种从大到小依次为42号(16g) > 46号(11g) > 43号(8.6g) > 37号(6.44g) > 48号(6.4g) > 50号(6.17g) > 35号(3.6g) > 36号(3.01g) > 49号(3g)。千粒重、≥17#商品豆总重和≥17#正常豆总重均偏低的35号、36号、49号, 在这一组中表现较好, 斑点豆较少。测定9个品种<17#大象豆、碎豆以及斑点豆重(图8), 从结果来看, <17#畸形豆及碎豆重, 35号最高10.73g, 其次为36号7.02g; 9个品种从大到小依次为35号(10.73g) > 36号(7.02g) > 37号(3.53g) > 48号(2.6g) > 46号、49号、50号(均为2g) > 43号(1.81g) > 42号(1g)。35、36号<17#畸形豆及碎豆较多。<17#斑点豆重, 42号最高12g, 9个品种从大到小依次为42号(12g) > 43号(11.69g) > 46号、49号(10g) > 50号(7.67g) > 35号(6.61g) > 36号(6.23g) > 37号(5.67g) > 48号(2.8g)。48号表现最好, 斑点豆最少。

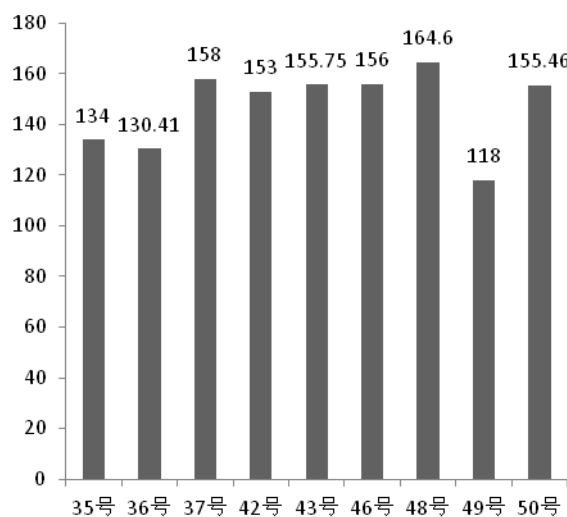


图6: ≥17#正常豆重 (g)

Fig 6: Weight of Normal Green Bean remaining on Sieve No. 17

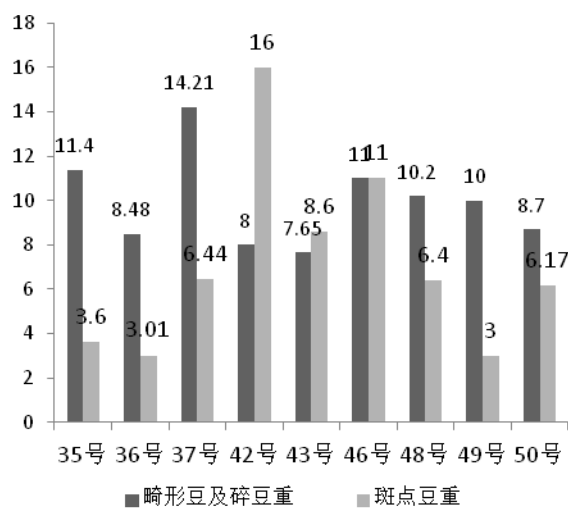


图7: ≥17#畸形豆、碎豆及斑点豆重 (g)

Fig 7: Weight of Defect Coffee remaining on Sieve No. 17

## 2.2 内含物测定结果

生咖啡豆(咖啡商品豆)中风味前体物质在烘焙条件下发生美拉德反应和焦糖化反应进而形成咖啡烘焙后的香气<sup>[6]</sup>。9个品种咖啡商品豆蛋白质含量(图9)范围在, 12.5%~14.3%, 35号最高14.3%, 9个品种从大到小依次为35号(14.3%) > 49号(13.6%) > 43号(13.5%) > 36号(13.4%) > 48号(13.4%) > 50

号(13.4%)>37号(13.2)>42号(12.8%)>46号(12.5)。9个品种粗脂肪含量(图9)范围在7.63%~11.01%，50号最高11.01%，从大到小依次为50号(11.01%)>36号(9.49%)>42号(9.4%)>37号(9.19%)>43号(8.99%)>49号(8.95%)>35号(8.79%)>46号(8.08%)>48号(7.63%)。

纤维素、半纤维素、多糖、阿拉伯半乳聚糖、果胶等，这类化合物烘焙后，在咖啡冲泡时会挥发性风味物质保留房门有重要作用，还影响冲煮咖啡的粘度<sup>[7]</sup>。在咖啡烘焙过程中，当豆表面温度升高到170℃左右，多糖受热分解形成有机酸进而使咖啡产生酸味。低聚糖受热分解先形成为葡萄糖和果糖等的还原糖，随后与游离氨基酸发生美拉德反应生产吡嗪类、呋喃类、醛类和酮类化合物等风味物质<sup>[8-9]</sup>。测定9个品种粗纤维含量(图10)，含量范围在23.28%~28.7%之间，最高为46号28.7%；其次为36号、48号、35号，分别为27.38%、27.17%、27.13%，42号和50号含量较少，分别为23.83%和23.28%。9个品种总糖含量(图11)范围为8.08%~10.12%，36号含量最高为10.12%，42号和35号含量较少，分别为8.63%和8.08%。

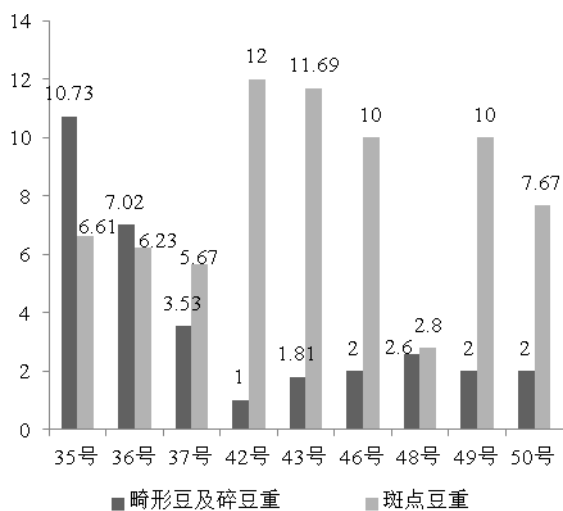


图8: <17#畸形豆、碎豆及斑点豆重 (g)  
Fig 8: Weight of Defect Coffee getting through Sieve No. 17

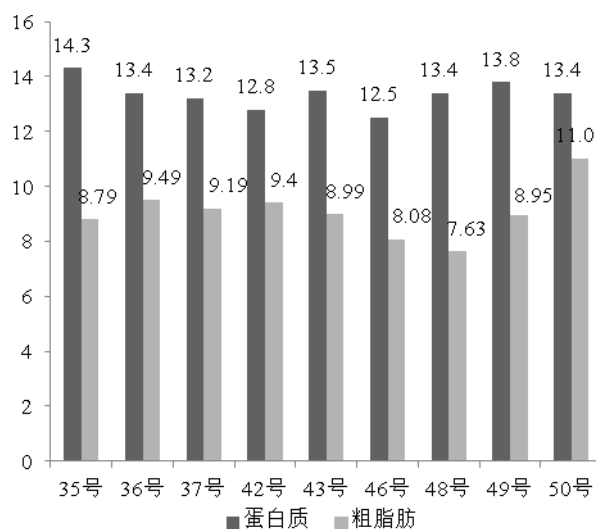


图9: 蛋白质和粗脂肪含量 (%)  
Fig 9: Protein and Crude Fat Content (%)

水浸出物跟最终冲泡咖啡溶于水的物质有关，溶于水的物质越多，最终冲泡出来的咖啡口感越丰富，但部分水浸出物也会给咖啡带来苦涩等不愉快的味道。测定9个品种水浸出物(图10)，含量范围在33.48%~37.15%，最高为43号37.15%，最低为35号33.48%。

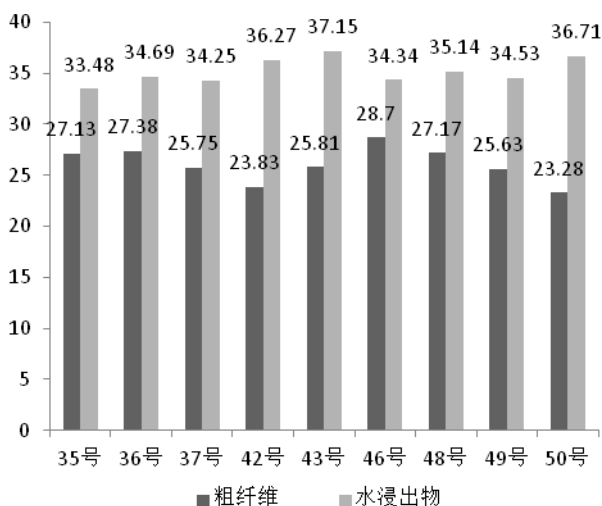


图10: 粗纤维和水浸出物含量 (%)  
Fig 10: Crude Fiber and Water Extract Content (%)

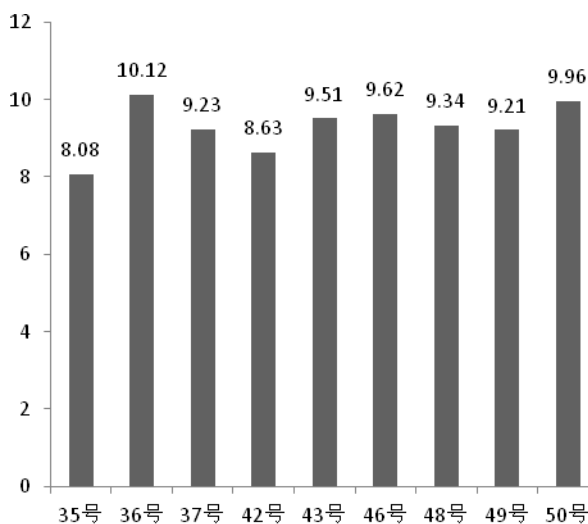


图11: 总糖含量 (%)  
Fig 11: Total Carbohydrate Content (%)

咖啡因，黄嘌呤生物碱化合物，具有很强的中枢兴奋作用，摄入卡咖啡因可以减轻疲劳、思维敏捷。咖啡因呈典型的苦味，且咖啡因在整个烘焙过程在含量几乎不发生变化，是咖啡中较为重要的风味物质，影响

咖啡的苦涩味,消费者对于咖啡因的喜爱程度也不相同<sup>[10-11]</sup>。测定 9 个品种的咖啡因,其含量范围在 1.048%~1.278%之间,最高为 35 号 1.278%,37 号最低 1.048%。

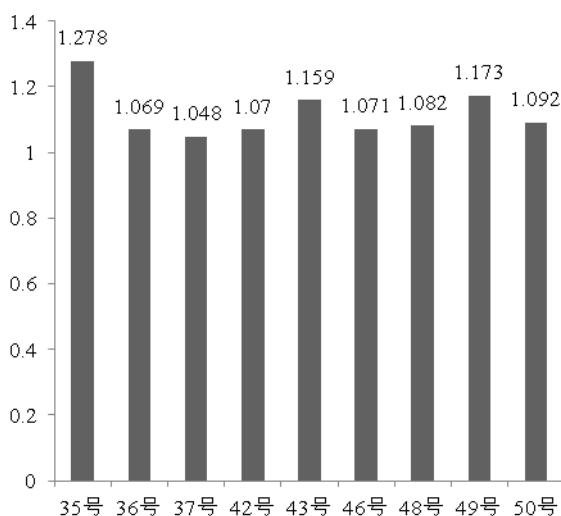


图12: 咖啡因含量 (%)  
Fig 12:Caffeine Content (%)

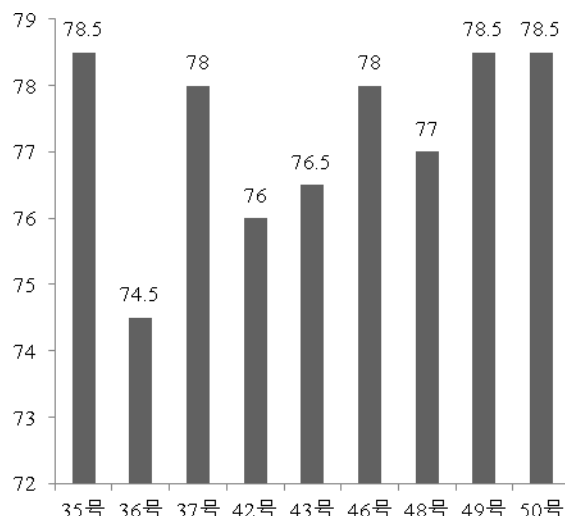


图13: 杯测总分  
Fig 13:Total Scores of Cupping

### 2.3 杯品质量测定

采用 SCAA 方法及流程对 9 个品种进行杯测,总分如图 13 所示。从结果看,9 个品种均为达到 80 分(精品咖啡分值),评分从大到小依次为 35 号、49 号、50 号(78.5 分)>37 号、46 号(78 分)>48 号(77 分)>43 号(76.5 分)>42 号(76 分)>36 号(74.5 分)。从杯测各项评分结果来看(表 3),大多数品种杯测各项评分均在 6~7 之间,35 号的酸度和 37 号的酸度最为突出,为 7.5 分。对比内含物测定结果,35 号蛋白质含量和咖啡因含量最高,37 号咖啡因含量最低,或许 35 号、37 号杯测总分及酸度评分突出与这有关。

表 3: 杯测各项评分结果

Table: Results of Cupping

| 品种编号 | 香气  | 风味  | 回甘  | 酸度  | 醇厚度 | 平衡  | 总体感觉 | 总分   |
|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|------|
| 35 号 | 7   | 6.5 | 6.5 | 7.5 | 7   | 7   | 7    | 78.5 |
| 36 号 | 6   | 6.5 | 6.5 | 6   | 6.5 | 6.5 | 6.5  | 74.5 |
| 37 号 | 6   | 7   | 6.5 | 7.5 | 7   | 7   | 7    | 78   |
| 42 号 | 7   | 6.5 | 6.5 | 6.5 | 6.5 | 6.5 | 6.5  | 76   |
| 43 号 | 7   | 7   | 7   | 6.5 | 6   | 6.5 | 6.5  | 76.5 |
| 46 号 | 7   | 6.5 | 6.5 | 7   | 7   | 7   | 7    | 78   |
| 48 号 | 7   | 6.5 | 7   | 6.5 | 6.5 | 6.5 | 7    | 77   |
| 49 号 | 6.5 | 7   | 7   | 7   | 7   | 7   | 7    | 78.5 |
| 50 号 | 7   | 7   | 6.5 | 7   | 7   | 7   | 7    | 78.5 |

### 3 结果显示与分析

我国主要栽培的小粒种咖啡品种,大多数都是卡蒂姆类咖啡,由于咖啡叶锈病新生理小种的出现,卡蒂姆类咖啡品种的抗锈性正在逐渐的丧失,不断变异的锈菌生理小种对咖啡种植业也造成了潜在的威胁<sup>[2,12,13]</sup>。本研究的 9 个卡蒂姆类品种,是从肯尼亚引入,曾连续 5 年对其植物学特征、农艺性状、大田抗锈病性进行了观测,截秆复壮后,大田观测植株感染锈病情况,未发现明显锈菌病斑。在卡蒂姆类咖啡抗锈病性逐渐丧失时,这 9 个卡蒂姆品种在一定程度上仍然保持对咖啡叶锈病的抗性,在抗锈病优良栽培咖啡品种亟待推广种植的当下,其存在潜在的推广利用价值,因此有必要对其继续进行鉴定评价。因此,我所继续对其进行品质鉴定评价,测定了商品豆物理特性、内含物含量以及杯品质量。从结果来看,9 个品种中有 4 个的鲜干



比低于 5.5, 其中 35 号小于 5; 出米率均在 75%以上, 其中 50 号和 37 号较高; 9 个品种商品豆均能达到一级豆的物理特性要求, 且 17 号筛以上的正常豆比率较高; 测定商品豆内含物, 蛋白质含量 35 号最高, 粗脂肪含量 50 号最高, 粗纤维含量 46 号, 总糖含量 36 号最高, 水浸出物含量 43 号最高, 咖啡因含量 35 号最高; 杯品质量测定 35 号、49 号、50 号分值较高。综合来看, 9 个品种在瑞丽物理特性表现出色, 品质表现中等, 生产上可以考虑推广应用。

#### 参考文献

- [1] 张洪波,李锦红,白学慧等.云南小粒咖啡出现早衰的原因及防控对策[J].热带农业科技, 2015, 38 (03): 42-46.
- [2] 周华,邢正秀,钊相仙等.外引小粒种咖啡 Catimor (F3,F4) 系列品种试种研究初报[J].云南热作科技,1998,21(4):34-40.
- [4] NY/T 604-2006, 生咖啡[S]
- [5] Catarina Petisca.Furans and other volatile compounds in ground roasted and espresso coffee using headspace solid-phase microextraction:Effect ofroasting speed[J]. Food & Bioproducts Processing, 2013, 91(3): 233-241.
- [6] 于淼. 云南德宏地区咖啡豆的风味品质特性研究[D]. 黑龙江八一农垦大学, 2017.
- [7] Yeretizian C. From the green bean to the cup of coffee: investigating coffee roasting by on-line monitoring of volatiles.[J]. European Food Research & Technology,2002,214(2) : 92-104.
- [8] 吕文佳,刘云,杨凯舟,翟晓娜,刘飞,张春月,冷小京. 咖啡主要烘焙风味物质的形成及变化规律[J]. 食品工业科技,2015,36(3):394-400.
- [9] 张梦娇. 咖啡中的特征风味组分研究进展[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(16): 213-219.
- [10] 邱明华,张枝润,李忠荣,周琳,储瑞,刘接卿,王卫华.咖啡化学成分与健康[J].武汉植物学研究,2014,32(5):540-550.
- [11] VÁRZEA, V M P, MARQUES, V D, PEREIRA, A P, et al. 2005.The Use of Sarchimor Derivatives in Coffee Breeding Resistanceto Leaf Rust 22nd Colloquium[ C ]//International Conference on Coffee Science(Campinas, 2008 )Vitor Manuel Pinto Varzea & Marques D V. Population Variability of Hemileia vastatix VS.Coffee Durable ResistanceDurable Resistance to Coffee Leaf Rust Livraria Universo Agricola, 2005: 53.
- [12] 张洪波,郭铁英,匡钰,李锦红,白学慧,肖兵,夏红云,周华,林兴文,萧自位.影响云南卡蒂姆咖啡杯品质量的因素及对策[J].热带农业科技,2018,41(01):36-42.

# 番荔枝 *SWEET* 基因的克隆与表达分析

安振宇<sup>1,2</sup>, 方仁<sup>1\*</sup>, 黄伟雄<sup>1</sup>, 尧金燕<sup>1</sup>, 韦蒴瞳<sup>1</sup>

1.广西农业科学院园艺研究所/农业部南宁亚热带果树科学观测试验站, 南宁, 530007; 2.广西作物遗传改良生物技术重点开放实验室, 南宁, 530007

**摘要** 本研究以番荔枝不同组织样品为试验材料, 通过基因文库筛选, 利用 RT-PCR 技术克隆出一条长 1227bp 的基因, 命名为 *AT-SWEET16-1*, 该基因编码 408 个氨基酸, 该氨基酸序列在 N 端以  $\alpha$ -螺旋形成的 THB 结构域, 生物信息学分析表明: 该蛋白分子量为 44.8kDa, 等电点: 8.87。进化分析发现其与胡桃(*Juglans regia* L.)聚在一起。QRT-PCR 分析表明: 该基因在植株的根、茎、嫩叶、老叶、花蕾、花苞、幼果、成熟果中均有表达, *AT-SWEET16-1* 基因在组织中的表达量是: 成熟果>茎>根>花蕾>幼果>老叶>嫩叶; 在不同果实发育阶段中该基因的表达情况为: 在果实发育不同阶段在果柄中的表达量均最高, 在果肉、果皮中则相对较低, 在种子中最低; 该基因在果柄、果肉中最高表达量为果实成熟期。原位杂交实验观察发现基因表达位置为果柄韧皮部、果肉细胞膜间, 表明该基因在果实生长发育、植株营养物质的传送与运输有着一定的关系。

**关键词** 番荔枝; 克隆; *SWEET* 基因; 表达分析

## Cloning and Expression Analysis of *AT-SWEET* Gene from *Annona*

An Zhenyu<sup>1,2</sup>, Fang Ren<sup>1\*</sup>, Huang Weixiong<sup>1</sup>, Yao Jinyan<sup>1</sup>, WeiShuotong<sup>1</sup>

1.Horticultural Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences/ Nanning Investigation Station of South Subtropical Fruit Trees, Ministry of Agriculture, P. R. China, Nanning, 530007; 2. Guangxi Crop Genetic Improvement and Biotechnology Lab, Nanning, 530007

**Abstract** In this study, *Annona sativa* fruit at different stages was used as experimental material, and a long 1227bp gene named *AT-SWEET16-1*, was cloned by RT-PCR, which encodes 408 amino acids. The amino acid sequence has a  $\alpha$ -helix THB domain at N-terminal. Bioinformatics analysis showed that the molecular weight of the protein was 44.8 kDa, isoelectric point: 8.87. Evolutionary analysis showed that it was associated with walnut (*Juglans regia* L.). QRT-PCR analysis showed that the gene was expressed in roots, stems, tender leaves, old leaves, flower buds, bud, young fruit and mature fruit. The expression of *AT-SWEET16-1* gene in tissue was as follows: mature fruit > stem > root > flower bud > young fruit > old leaf > tender leaf. The expression of the gene in different fruit development stages was the highest in fruit stalk, relatively low in pulp and pericarp, and the lowest in seed, and the highest expression in fruit stalk and pulp was at fruit maturity stage. It was found that the gene was expressed in the phloem of the fruit stalk and between the cell membrane of the pulp cell wall, which indicated that the fruit development of the gene and the transport of plant nutrients were related to the transport of the gene.

**Keywords** *Annona*; Cloning; *SWEET* gene; Expression analysis

番荔枝 (*Annona squamosa* L.) 原产热带美洲和和西印度群岛, 现广泛分布于我国台湾、福建、广东、广西、海南和云南等省区, 由于其果实糖分含量较高, 每 100 克果肉组织中的可溶性固形物含量可高达 20%, 总糖含量达 15.3%~18.3%, 因此, 深受广大甜食爱好者的喜爱。糖是生物体内的主要能源物质及代谢底物, 与植物的生长、生殖、发育与衰老等生理过程息息相关, 来自 *SWEET* 家族的糖转运蛋白在植物生长发育阶段会起到调节糖的运输, 从而影响至果实糖分的积累。因此, 研究番荔枝 *SWEET* 基因对糖类的转运调控机理对于番荔枝果实糖分积累、改善品质等田间栽培调控具有重要的理论意义。

*SWEETs* 是一类新发现的糖转运蛋白, 具有 7 个跨膜结构域, 广泛存在于原核生物、人类、植物以及动物中。*SWEET* 基因家族的成员数目有所差异, 例如: 拟南芥有 17 个 *SWEET* 家族成员, 水稻有 21 个, 高粱 23 个, 玉米 24 个, 番茄有 29 个<sup>[1]</sup>, 而大豆的高达 52 个。不同的物种所包括的成员数如此之多, 预示着 *SWEET* 蛋白的功能的多样性<sup>[2-3]</sup>。对植物 *SWEET* 基因家族的研究发现, *SWEET* 蛋白有 4 个分支: CladeI、CladeII、CladeIII 和 CladeIV, 其中 CladeI (*SWEET1-SWEET3*) 为己糖转运蛋白, 功能为转运葡萄糖; CladeII (*SWEET4-SWEET8*) 功能为转运葡萄糖; CladeIII (*SWEET9-SWEET15*) 功能为转运蔗糖; CladeIV (*SWEET16-SWEET17*) 为液泡膜转运蛋白, 功能为转运果糖<sup>[4]</sup>。*SWEET* 蛋白通过对多糖类, 特别是蔗糖起到控制着亚细胞的定位以及从库到源的长距离运输的作用<sup>[5]</sup>。Madoka 通过对水稻 *SWEET* 基因的研究, 发现糖的合成与转运是通过己糖激酶来完成的<sup>[6]</sup>, 它能使葡萄糖和果糖磷酸化, 再通过 *SWEET* 蛋白的结合以实现糖分的运输。*SWEET* 蛋白除了参与糖运输过程, 其在植株生长发育、衰老、逆境胁迫、抗病等方面亦起着非常重要的作用<sup>[7-8]</sup>。本研究以番荔枝‘吉夫纳’品种为研究材料, 通过基因克隆与表达分析, 以期探究 *SWEET* 基因在番荔枝生长过程中各组织的表达情况, 进一步研究 *SWEET* 基因的功能与作用, 最终为田间植株生长

**基金项目** 广西创新驱动发展专项资金项目(桂科 AA17204026); 国家现代农业产业技术体系广西创新团队 (nycytgxxt-17-15); 广西农业科学院科技基本业务费团队项目(桂农科 2015YT48); 广西农业科学院协同创新基金项目(桂农科 2019Z14); 南宁市青秀区科学研究与技术开发项目(2018022); 南宁市西乡塘区科学研究与技术开发项目(201810210)

**作者简介** 安振宇, 男, 1989 年生, 硕士研究生, 助理研究员, 主要研究方向为果树遗传育种与分子生物技术, 联系方式: 0771-3245047

**通讯作者** 方仁, E-mail: fangren1981@163.com

发育与果实品质调控提供科学的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试植物样品为 2006 年种植于广西农业科学院示范园区内的番荔枝‘吉夫纳’品种，取其根、茎、嫩叶、老叶、幼果期果实、膨大期果实、发育中期果实、第 2 次膨大期果实、成熟期果实为供试材料。所用试验耗材为：cDNA Synthesis Kit 试剂盒 (TaKaRa)、M-MLV 逆转录酶 (TaKaRa)、EX TaqDNA 聚合酶 (TaKaRa)、氨苄青霉素 (TaKaRa)、pMD18-T 载体 (TaKaRa)、荧光染料及相关耗材等 (TaKaRa)；琼脂糖、琼脂糖凝胶回收试剂盒、大肠杆菌感受态 DH5 $\alpha$  (南宁国拓生物科技有限公司)；引物合成以及测序均由上海生工生物工程技术有限公司完成。

### 1.2 RNA 提取

提取番荔枝不同组织部位的 RNA。用紫外分光光度计测定其纯度和浓度并用 1%琼脂糖凝胶电泳检测其完整性，番荔枝总 RNA 的提取方法为：采用课题组改良华越洋试剂盒提取法<sup>[9]</sup>。

### 1.3 cDNA 第一链合成

以 AUP1 为逆转录引物，用 M-MLV 逆转录酶合成 cDNA 第一链，紫外分光光度计测定逆转录产物的浓度，并用琼脂糖电泳检测逆转录效果，最后配成 200  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  标准浓度用于 PCR 扩增。

### 1.4 番荔枝 SWEET 基因片段的克隆

利用 Super SMARTTM PCR cDNA Synthesis Kit 试剂盒构建正向消减 cDNA 文库，利用斑点杂交技术对克隆菌株作进一步筛选，再从中挑选阳性克隆菌株，通过 De Novo 技术对番荔枝进行测序分析，获得的 AT-SWEET 同源基因片段序列信息，设计上、下游特异引物 (AT-SWEET-F、AT-SWEET-R)，利用 RT-PCR 方法获得番荔枝长度为 1227bp 的 SWEET 基因序列，命名为 AT-SWEET16-1。同源基因 cDNA 扩增 PCR 体系：上下游引物各为 1 $\mu\text{L}$ ；cDNA 1 $\mu\text{L}$ ；dNTP 0.5 $\mu\text{L}$ ；Dream Taq 聚合酶 0.16 $\mu\text{L}$ ；Buffer 2.5 $\mu\text{L}$ ；水 18.84 $\mu\text{L}$ ，PCR 扩增参数为：95 $^{\circ}\text{C}$ ，5min；95 $^{\circ}\text{C}$ ，40s；57 $^{\circ}\text{C}$ ，40s；72 $^{\circ}\text{C}$ ，80s，42 个循环；72 $^{\circ}\text{C}$ ，10 min。PCR 产物经 1.8% 琼脂糖凝胶电泳检测，试剂盒回收克隆的目的片段，胶回收产物连接 pMD18-T 载体后转化大肠杆菌 DH5 $\alpha$  感受态细胞，画平板培养后筛选阳性菌落，经 PCR 验证后，送由上海生工测序。本实验所用引物见表 1：

表 1 实验所用引物  
Table 1 The primers used in this study

| 名称/name<br>用途/purpose                             | 引物序列/Primer sequence(5' to 3')       |
|---|--------------------------------------|
| AUP1 :<br>逆转录/Reversetranscription                | 5'-GGCCACGCGTCGACTAGTAC(T)18-3'      |
| AT-SWEET-F:<br>克隆/Cloning                         | 5'-ATGTGCGGTGGGATCAGCTT-3'           |
| AT-SWEET-R:<br>克隆/Cloning                         | 5'-GATTTTTCCATTCCCTGGT-3'            |
| ATS-F:<br>克隆检测/ Clone detection                   | 5'-TGCGGTGGGATCAGCTTTCT-3'           |
| ATS-R:<br>克隆检测/ Clone detection                   | 5'-ACAGGGATTTTTCCATTCC-3'            |
| AT-F :<br>荧光定量/ Real Time primer                  | 5'-GCTGGCTACAACACTCGGCATCTTTACTGC-3' |
| AT-R:<br>光定量/ Real Time primer                    | 5'-CGAGTATGTTTCTGAATGGGTGTTTATGG-3'  |
| GAPDH-F :<br>内参引物/ Reference gene primer          | 5'-AGGTCGGTGTGAACGGATTG-3'           |
| GAPDH-R :<br>内参引物/ Reference gene primer          | 5'-GGGGTCGTTGATGGCAACA-3'            |
| SWEET16-1 :<br>位杂交探针/ In situ hybridization probe | 5'-GTCATTCTTTCGCTCCTCTGCTCCTT-3'     |

### 1.5 番荔枝 SWEET 进化树及蛋白序列分析

通过美国国立生物信息中心 National Center for Biotechnology Information (NCBI) Blast 工具检索 SWEET 同源基因的相似性；用 DNAMAN5.2.2 软件进行分析预测；用 ProtParam 和 GENSCAN 软件分别分析氨基酸及核苷酸序列；用 MEGA10.0 软件，对多物种 SWEET 同源基因进行近邻算法分析，构建推测蛋白系统进化树。

### 1.6 QRT-PCR

采集番荔枝的幼嫩叶、老叶、茎、花、花蕾、果实等，不同发育阶段的果实的不同部位（果柄、果皮、果肉和种子）。以持家基因 GAPDH 为内参基因 (GAPDH-F、GAPDH-R)，设计荧光定量引物 AT-F、AT-R，参照试剂盒说明，利用罗氏荧光定量 PCR 仪 (LightCycler480) 进行 QRT-PCR 实验，分析番荔枝 SWEET 基因在植株的不同组织和果实的不同部位中的表达模式。

### 1.7 原位杂交

采集番荔枝成熟果等组织为实验样品，委托上海生工公司合成基因探针（*SWEET16-1*，5'端加地高辛）。实验主要步骤如下：石蜡切片脱蜡至无水；使用 3%柠檬酸稀释胃蛋白酶，将刚稀释的混合液保持于 37°C，进行 30min 消化处理；滴加预杂交液，于 37°C 条件下进行实验约 2~3h；将杂交探针混合液稀释到适量的浓度，保持在 42°C 条件下，进行实验处理 12h；使用在恒温水浴锅中 37°C 温浴的柠檬酸钠缓冲液（SSC），将样品洗涤 2 次，每次洗涤时间保持在 5~10min；滴加封闭液，保证在 37°C 条件下，进行 30min 的实验处理；滴加生物素化鼠抗地高辛，于 37°C 条件下，进行约 1h 的实验处理；配制显色液，室温显色；苏木素复染细胞核，充分水洗；室温晾干，中性树胶封片；显微镜观察，拍照。

## 2 结果与分析

### 2.1 RNA 提取以及 cDNA 第一链合成

利用华越洋试剂盒改良提取法提取番荔枝的不同组织、器官样本 RNA，经 1.0% 的琼脂糖凝胶电泳检测结果表明：条带清晰，无 DNA 污染；经过分光光度计检测，其 OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 在 1.9~2.1 之间，说明 RNA 提取质量较好<sup>[9]</sup>。将 RNA 稀释成 1g·L<sup>-1</sup>，然后按照 TAKARA 反转录试剂盒步骤进行反转录。

### 2.2 AT-SWEET 基因全长克隆

利用 *SWEET* 基因特异引物 *AT-SWEET-F*、*AT-SWEET-R*，以番荔枝 cDNA 为模板扩增基因片段，获得长度为 1227bp 的 *SWEET* 基因全长 cDNA 序列，命名为 *AT-SWEET16-1*，与克隆载体 PMD-18 连接，转化感受态细胞。通过重组子的筛选，菌液检测（图 1-A）、酶切验证（图 1-B）以及测序分析，以求成功构建好克隆载体。

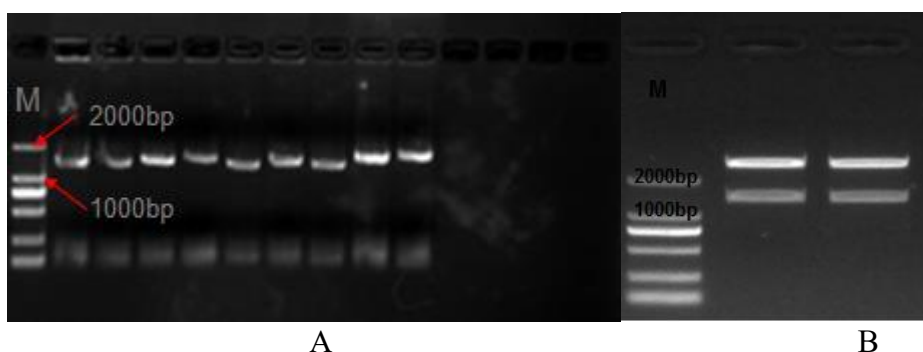


图 1 *AT-SWEET16-1* 基因全长克隆及酶切检测

Fig1. The cloning of *AT-SWEET16-1* and enzyme digestion

### 2.3 生物信息学分析

利用 BioXM2.6 对于 *AT-SWEET16-1* 基因进行分析，基因序列全长 1227bp，编码 408 个氨基酸（图 2）。

Translation of DNA MAN1(1-1227)

Universal code

Total amino acid number: 408, MW=44726

Max ORF starts at AA pos 1(may be DNA pos1) for 408 AA(1224 bases), MW=44726

|     |  |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|--|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 10  | 20   | 30  | 40  | 50  | 60  | 70  | 80  | 90  |
| 1   | ATGTGCGGTGGATCAGCTTTCTTGTCTGGGGCAGGCCTCAACGCCGGAGCCGTGAATTTGTCAATGTTGTTGCTGGGAAGGATCATGCTT |     |     |     |     |     |     |     |
| 1   | M C G G I S F L V G A G L N A G A V N L S M L L L G R I M L                                |     |     |     |     |     |     |     |
| 100 | 110  | 120 | 130 | 140 | 150 | 160 | 170 | 180 |
| 91  | GGCGTTGGCATTGGCTTCGGTAATCAGGCAGTTCCCTCTACCTATCGGAGATGGCCCCAGCTCACCTTCGTGGTGGCTAAACATGATG   |     |     |     |     |     |     |     |
| 31  | G V G I G F G N Q A V P L Y L S E M A P A H L R G G L N M M                                |     |     |     |     |     |     |     |
| 190 | 200  | 210 | 220 | 230 | 240 | 250 | 260 | 270 |
| 181 | TTTCAGCTGGCTACAACACTCGGCATCTTACTGCCAACATGGTCAATTATGGAACACAAAAGATTATGCCATGGGGATGGAGGCTGTCT  |     |     |     |     |     |     |     |
| 61  | F Q L A T T L G I F T A N M V N Y G T Q K I M P W G W R L S                                |     |     |     |     |     |     |     |
| 280 | 290  | 300 | 310 | 320 | 330 | 340 | 350 | 360 |
| 271 | CTAGGCTTAGCAATGGTGGCCCGCCTTATTAATGACTGTTGGAGGATACTTCTCCTGAGACACCCAATAGCCTCATTGAACAGGGACAG  |     |     |     |     |     |     |     |
| 91  | L G L A M V P A L L M T V G G Y F L P E T P N S L I E Q G Q                                |     |     |     |     |     |     |     |
| 370 | 380  | 390 | 400 | 410 | 420 | 430 | 440 | 450 |
| 361 | AGAGACAAAGGCCGAAAGTCTGGAGAAGATCAGAGGCACACATGAAGTGAATGCCGAGTTCCAAGACATGATCGAAGCGAGTGAGCTT   |     |     |     |     |     |     |     |
| 121 | R D K G R K V L E K I R G T H E V N A E F Q D M I E A S E L                                |     |     |     |     |     |     |     |
| 460 | 470  | 480 | 490 | 500 | 510 | 520 | 530 | 540 |
| 451 | GCAAATCCATCAAACACCCATTAGAAACATACTCGAGCGGAGGAACAGACCACAACCTGGTGATGGCAATCTTCATGCCAACATTTTCAG |     |     |     |     |     |     |     |
| 151 | A N S I K H P F R N I L E R R N R P Q L V M A I F M P T F Q                                |     |     |     |     |     |     |     |
| 550 | 560  | 570 | 580 | 590 | 600 | 610 | 620 | 630 |
| 541 | ATCCTCACAGGCATCAATCCATACTCTTCTATGCTCCTATTCTGTTCCAAAGCATGGGTTTTGGAGGGAACACATCCCTCTACTCTTCG  |     |     |     |     |     |     |     |
| 181 | I L T G I N S I L F Y A P I L F Q S M G F G G N T S L Y S S                                |     |     |     |     |     |     |     |
| 640 | 650  | 660 | 670 | 680 | 690 | 700 | 710 | 720 |
| 631 | GTCATGACGGGAGCAGTTCTGGCCTTGCTACGCTGGTATCCATTGCAACTGTTGATAGGTGGGGCCGGGGTTTTGCTCATTGGTGGG    |     |     |     |     |     |     |     |

```

211      V M T G A V L A L S T L V S I A T V D R W G R R V L L I G G
730      740      750      760      770      780      790      800      810
721      GGTATACAGATGATTGTATGCCAAGTTGCAGTGGCCATAATTCTGGGACTGAAATTCGGAACAAACAAGGAACTCTCTAAGAGTTTCTCG
241      G I Q M I V C Q V A V A I I L G L K F G T N K E L S K S F S
820      830      840      850      860      870      880      890      900
811      ATACTAGTCGTCGTGATCATGTGCCTCTTTGTTGCAGCTTTTGGCTGGTCTTGGGGACCCTGGGGTGGACAGTGCCAAGCGAGATCTTC
271      I L V V V I M C L F V A A F G W S W G P L G W T V P S E I F
910      920      930      940      950      960      970      980      990
901      CCATTGGAAACTCGGTCGGCAGGGCAGAGCATTACGGTAGCTGTGAACCTCTTCTTACATTGCTCATTGCCAGTCATTCTTTGCTC
301      P L E T R S A G Q S I T V A V N L F F T F V I A Q S F L S L
1000     1010     1020     1030     1040     1050     1060     1070     1080
991      CTCTGCTCTTTAAGTTCGGAATATTCCTTCTTTGCTGGGTGGATTACGATCATGACCGTCTTCGTTGCTGTCTTCTGCCCCGAGACG
331      L C S F K F G I F L F F A G W I T I M T V F V A V F L P E T
1090     1100     1110     1120     1130     1140     1150     1160     1170
1081
AAGGGGTGCCAATTGAAGAGATGATTTTGATATGGAGAAAGCACTGGTTCTGGAAGACAGTGATGCCACCCATACAAGACGCTGAAGAG
361      K G V P I E E M I L I W R K H W F W K T V M P P I Q D A E E
1180     1190     1200     1210     1220
1171      AGCATTGAGAAAGCAGCAGAGTTCGACGACCAGGAAATGGAAAAATCCCTGTTTGA
391      S I E K A A E F D D Q G N G K I P V *

```

图 2 *AT-SWEET16-1* 基因编码区核苷酸序列及翻译的氨基酸序列

Fig 2. *AT-SWEET16-1* gene encoding amino acid sequence of nucleotide sequence and translation

利用 ProtParam 软件在线分析对基因所编码的氨基酸进行理化分析得到：理论蛋白质的分子量为：44797.07 Da，等电点：8.87；原子个数为 6392；分析式为：C<sub>2070</sub>H<sub>3240</sub>N<sub>516</sub>O<sub>542</sub>S<sub>24</sub>；不稳定指数 (Instability index) 为 41.39；脂肪族指数 (Aliphatic index) 为 108.48；蛋白质疏水性 (Grand average of hydropathicity, GRAVY) 为：0.562，预测为疏水蛋白；该蛋白在活体哺乳动物的红细胞的半衰期为 30 小时，在活体酵母中半衰期超过 20 小时，在活体大肠杆菌超过 10 小时。ScanProsite、SMART 和 DNAMAN 软件对氨基酸序列的结构域进行分析。N 端由两个相对保守的 3-TM 结构域 (seven  $\alpha$ -helical transmembranes, TM) 串联重复和一个低保守的单 TM 进行连接，组成 3-1-3 对称结构，再由 3 个 TMs 以 TM1-TM3-TM2 的形式排列形成三螺旋束 (triple-helix bundles, THB) 结构域 (图 3)，蛋白质的跨膜片段如图 4，二级结构如图 5。

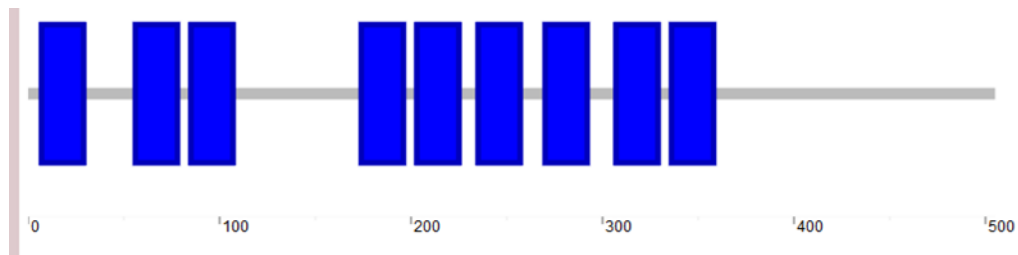


图 3 *AT-SWEET16-1* 基因的 THB 功能结构域

Fig.3 The THB functional domain of *AT-SWEET16-1* gene

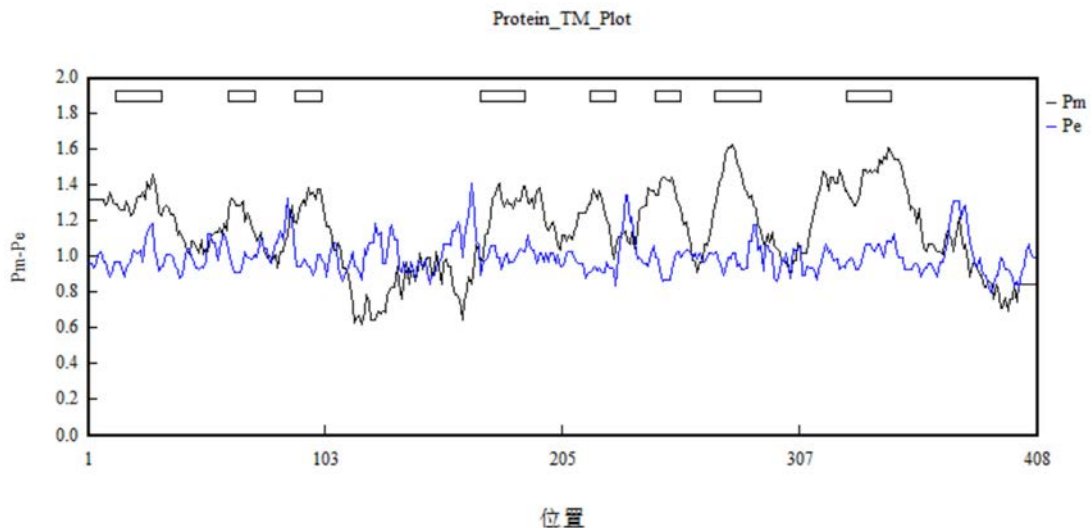


图 4 AT-SWEET16-1 蛋白质的跨膜片段  
Fig.4 Transmembrane fragment of AT-SWEET16-1 proteins

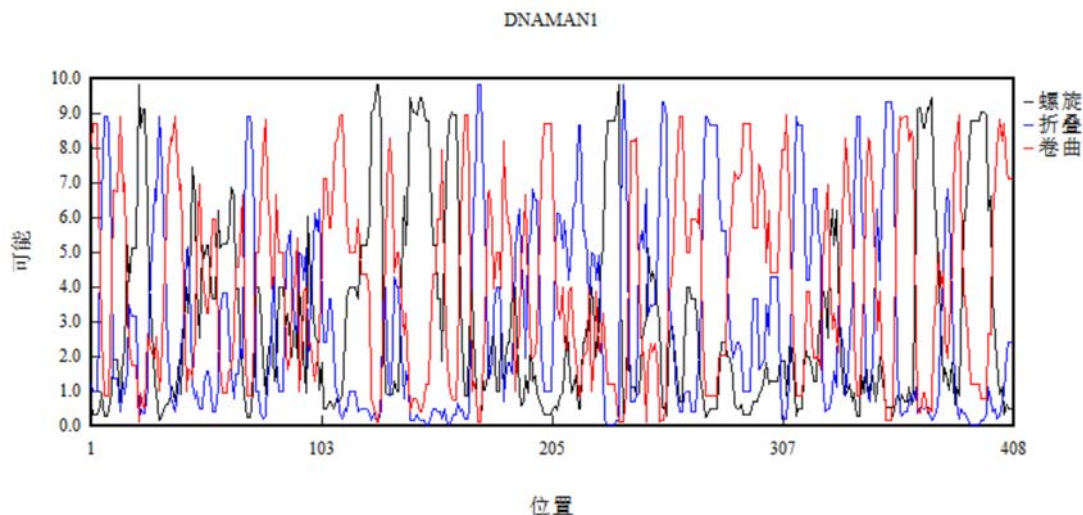


图 5 AT-SWEET16-1 蛋白二级结构  
Fig.5 AT-SWEET16-1 protein secondary structure

## 2.4 系统进化分析

对于 *AT-SWEET16-1* 基因分析如下：将实验所得到 *AT-SWEET16-1* 基因 ORF 用 DNAMAN 软件翻译成氨基酸序列，与 NCBI 上公布的其他物种的相关氨基酸序列做同源比对，发现相似性最高为 98%，最低为 72%，选取相似性较高(≥81%)的 14 个氨基酸序列。用 MEGA10.0 绘制进化树(见图 6)。结果发现其与海枣(*Phoenix dactylifera*)聚类在一起，表明在进化关系上非常接近，但与其它物种的 SWEET 蛋白进化关系较远。对比 *AT-SWEET16-1* 基因所编码的 408 个氨基酸与海枣 (XP\_008784806.1) 序列所编码的 517 个氨基酸，发现仅有几个氨基酸序列差异，比对相似度达 95%。

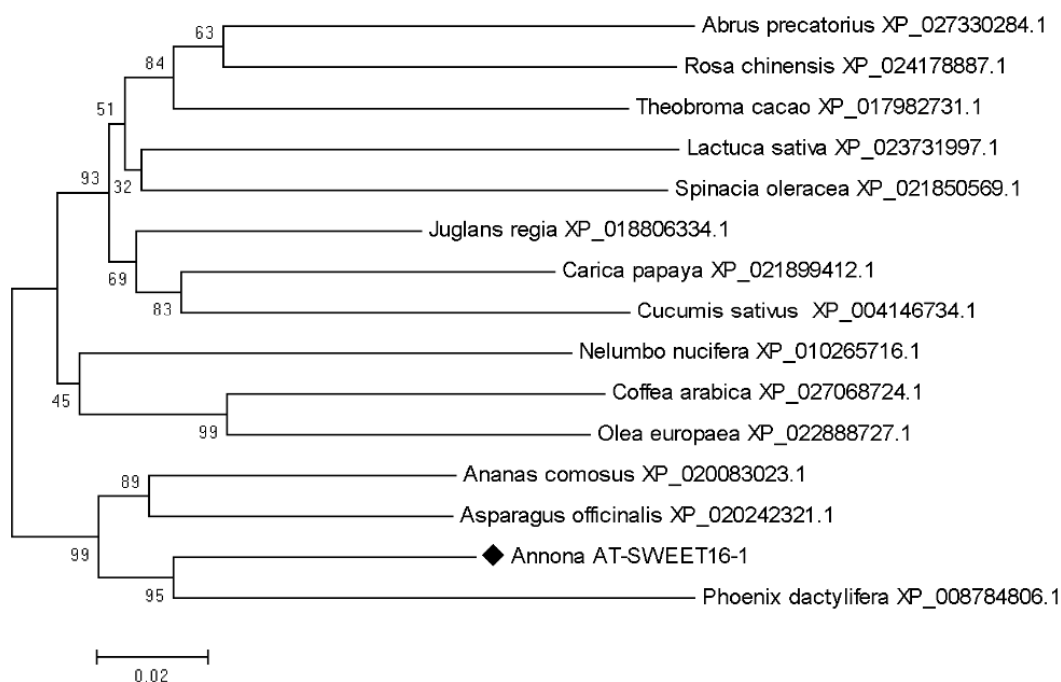


图 6 SWEET 蛋白与其它物种 SWEET 蛋白同源序列分析  
Fig6.The analysis of SWEET protein and relevant protein of other species

## 2.5 番荔枝 AT-SWEET16-1 基因表达分析

分析番荔枝 *AT-SWEET16-1* 基因在不同组织中的表达结果(图 7、8)显示如下：番荔枝 *AT-SWEET16-1* 基因在根、茎、嫩叶、老叶、花蕾、幼果、成熟果中均有表达，但表达量差别明显，在成熟果、茎的表达量均比其他组织高，其中，在成熟果的表达量是最高的，基因的表达量为 2.14，在成熟果中的表达比幼果中高，表达量超过 4 倍，基因表达量最高部位(成熟果)是最低部位(嫩叶)的 5 倍多。

### 不同组织中的表达

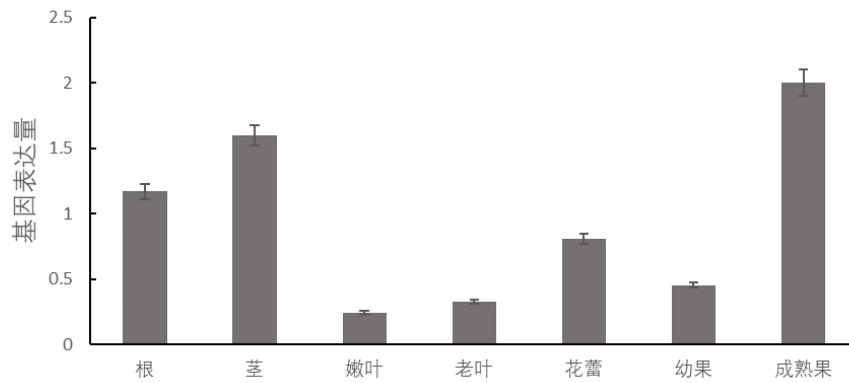


图 7 *AT-SWEET16-1* 基因在植株各组织中的表达

Fig.7 The expression of *AT-SWEET16-1* gene in different plant tissues

在果实不同发育阶段不同部位的表达中，发现在成熟果期果柄的表达量明显比其它果实发育时期其它组织部位高，*AT-SWEET16-1* 基因在果柄、果皮、果肉中的最高表达量是果实成熟期，在种子中的最高表达量是果实发育中期。*AT-SWEET16-1* 基因在番荔枝果实不同部位的表达情况为：果柄>果肉>果皮>种子。

### 果实发育不同时期表达

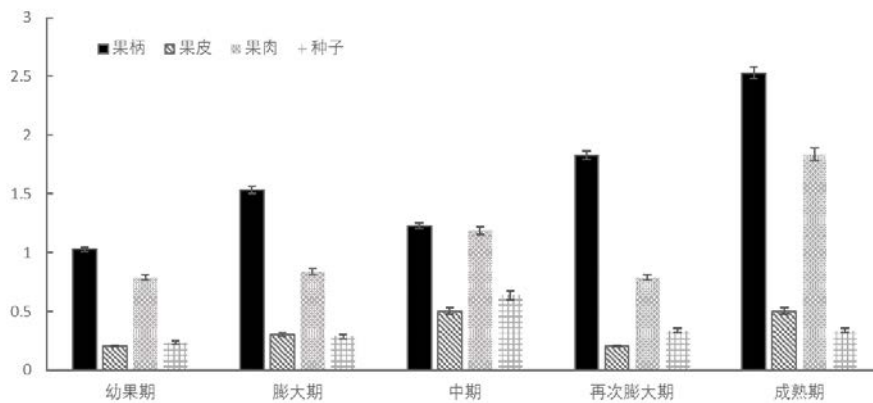
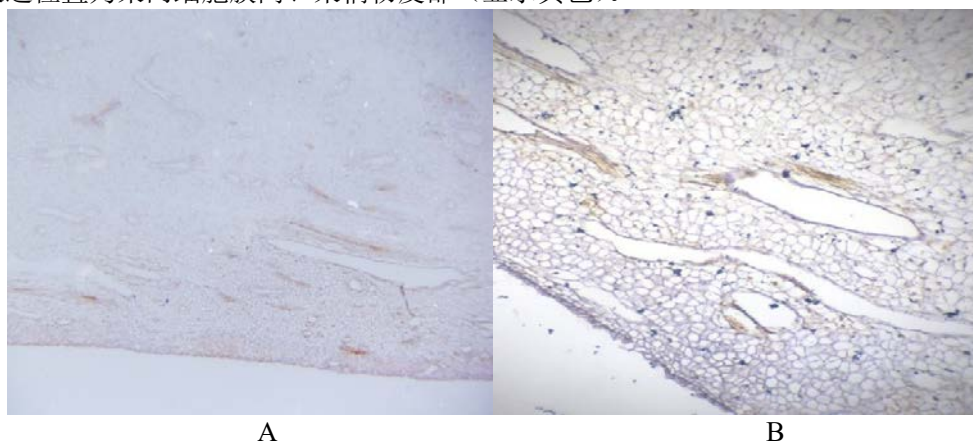


图 8 *AT-SWEET16-1* 基因在果实各部位中的表达

Fig 8 The expression of *AT-SWEET16-1* gene in fruit tissues

## 2.6 原位杂交

通过荧光定量分析发现，*AT-SWEET16-1* 基因在番荔枝成熟果中果肉、果柄组织部位表达量高，将果肉、果柄组织样品制成石蜡切片，用加地高辛的探针染色后电镜下观察，得到直观的基因表达部位图像。如下图所示，基因表达位置为果肉细胞膜间、果柄韧皮部（显示黄色）。



A

B

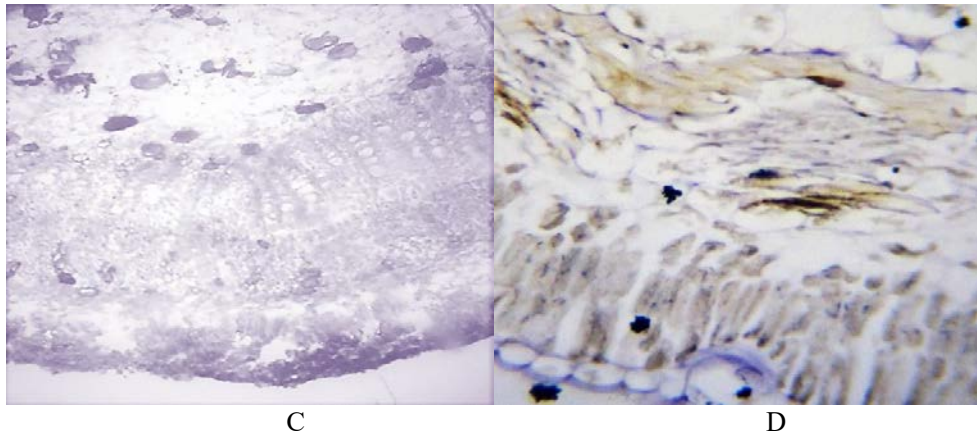


图9 AT-SWEET16-1 基因在番荔枝成熟果实组织中的表达

Fig9 The in situ expression of AT-SWEET16-1 gene in fruit tissues of Annona

注: A:果实横切(40X); B:果实横切(100X); C:果柄横切(40X); D:果柄横切(100X);

Note: A: Fruit crosscutting (40X); B: Fruit crosscutting (100X); C: Fruit stalk crosscutting (40X); D: Fruit stalk crosscutting (100X)

### 3 讨论与结论

番荔枝作为世界五大热带名果之一,具有非常高的经济价值,糖分含量对其果实风味和品质有着重要影响。而来自 *SWEET* 家族的糖转运蛋白在植物生长发育中能够调节糖分的运输,从而影响到植株的发育和果实糖分积累。本研究从番荔枝果实的时空表达分析中发现 *AT-SWEET16-1* 基因在根、茎、嫩叶、老叶、花蕾、幼果、成熟果中均有表达,其表达量依次为:成熟果>茎>根>花蕾>幼果>老叶>嫩叶。*AT-SWEET16-1* 基因在果实成熟期的表达要高于幼果期,说明其对果实发育起着调控作用,可能是基因编码的蛋白参与到果实糖分的合成与运输中,这与 CHONG J (2014) 在葡萄上的 *VvSWEET7* 基因表达一致<sup>[11]</sup>。从不同组织部位表达来看, *AT-SWEET16-1* 在果柄中的表达量最高,果肉和果皮相对较低,种子的表达量最低,说明该基因有可能从源器官运输至库器官的转运过程,通过原位杂交电镜观察再次验证了 *AT-SWEET16-1* 基因与糖分积累与转运有关。本研究的基因表达结果与番茄<sup>[1]</sup>、木薯<sup>[12]</sup>、苹果<sup>[13]</sup>中 *SWEET* 基因的表达较为一致, *SWEET* 蛋白在植物细胞间隙、液泡中均有表达,它们通过调控植物体内糖类化合物的运输、分配和贮藏,参与到植物生长发育的重要生理过程;通过泛素裂解化酵母膜蛋白双杂交和绿色荧光蛋白(GFP)试验表明, *SWEET* 蛋白功能缺失突变能阻止葡萄糖的转运<sup>[14]</sup>; *SWEET* 蛋白同植株配子体发育有关,通过敲除 *SWEET* 基因的拟南芥突变体产生的种子较小,并且植株有明显的发育延迟现象<sup>[15]</sup>; *SWEET* 蛋白参与的多种生理过程,如韧皮部装载、蜜腺分泌<sup>[16]</sup>、籽粒灌浆、花粉发育、叶片衰老以及响应生物和非生物胁迫<sup>[17-18]</sup>,但目前 *SWEET* 基因的功能只在少数作物中得到验证,还有很多 *SWEET* 家族成员的功能有待进一步挖掘<sup>[19]</sup>。

综上所述,番荔枝 *AT-SWEET16-1* 基因可能与植株生长发育中营养物质的转运、果实糖分的合成等方面有着一定的关系,相信随着对 *SWEET* 基因研究的不断深入,最终会明确 *SWEET* 蛋白家族在植株中的合成与表达调控机理,最终为田间植株生长发育与果实品质调控起到科学的理论指导作用。

#### 参考文献

- [1] 程杰, 张新圣, 李安琪, 姜晶. 番茄果实成熟过程中 SISWEET7a 的功能分析[J]. 中国农业科学, 2018,51(15):2958-2968
- [2] YUAN M, WANG S. Rice MtN3/saliva/SWEET family genes and their homologs in cellular organisms[J]. Molecular Plant, 2013, 6(3):665-674
- [3] Dobrenel T, Marchive C, Azzopardi M, et al. Sugar metabolism and the plant target of rapamycin kinase: a SWEET opera TOR[J]. Front Plant Sci, 2013,4(1):93
- [4] CHEN L Q, HOU B H, LALONDE S, TAKANAGA H, HARTUNG M L, QU X Q, CHERMAK D. Sugar transporters for intercellular exchange and nutrition of pathogens[J]. Nature, 2010, 468: 527-532
- [5] 刘畅, 姜晶, 韩晓雪, 韩佳轩. 植物中 SWEET 基因家族研究进展[J]. 植物生理学报, 2014,50(9):1367-1373
- [6] Yonekura M, Aoki N, Hirose T, et al. The promoter activities of sucrose phosphate synthase genes in rice OsSPS1 and OsSPS2, are controlled by light and circadian clock, but not by sucrose[J]. Frontiers in Plant Science, 2013,4(1):31
- [7] Guo W J, Nagy R, Chen H Y, et al. SWEET17, a facilitative transporter mediates fructose transport across the tonoplast of Arabidopsis roots and leaves[J]. Plant physiology, 2014,164(2): 777-789
- [8] Patil G, Valliyodan B, Deshmukh R, et al. Soybean (Glycine max) SWEET gene family: insights through comparative genomics transcriptome profiling and whole genome re-sequencing analysis[J]. BMC genomics, 2015;16(1): 520
- [9] 安振宇, 方仁, 黄伟雄, 尧金燕, 龙兴, 张继, 邓彪, 周双云, 唐文忠, 何新华. 凤梨释迦总 RNA 提取方法探究及质量分析[J].



分子植物育种, 2018,16(5):1654-1659

- [10] MA L, ZHANG D, MIAO Q, YANG J, XUAN Y, HU Y. Essential role of sugar transporter OSWEETII during the early stage of rice grain filling.[J].*Plant and Cell Physiology*, 2017, 58(5):863-873
- [11] CHONG J, PIRON M C, MEYER S, MEYER S, MERDINOGLU D, BERTSCH C, MESTRE P. The SWEET family of sugar transporters in grapevine: *Vv SWEET4* is involved in the interaction with *Botrytis cinerea*. *Journal of Experimental Botany*, 2014, 65(22): 6589-6601
- [12] 刘秦, 马畅, 冯世鹏, 唐枝娟, 陈银华, 罗丽娟, 牛晓磊. 木薯 SWEET1 基因的分子克隆、亚细胞定位与功能分析[J]. *分子植物育种*, 2017(7):2502-2509 5
- [13] 杨官显, 许海峰, 张静, 王楠, 房鸿成, 邹琦, 王意程, 姜生辉, 陈学森. 苹果糖转运蛋白基因 MdsWEET17 的功能鉴定[J]. *植物生理学报*, 2018(11):1737-174
- [14] Zhou Y, Liu L, Huang W, et al. Overexpression of OsSWEETS in rice causes growth retardation and precocious senescence[J]. *PloS one*, 2014, 9(4):e94210
- [15] Braun D M. SWEET! The pathway is complete[J]. *Science*, 2012, 335(6065):173-174
- [16] 薛蓓蓓, 覃丽芳, 董明右, 李有志, 樊宪伟. 木薯 SWEETs 基因家族生物信息学及表达特性研究[J]. *基因组学与应用生物学*, 2019,38(1):260-268
- [17] Kanno Y, Oikawa T, Chiba Y, et al. AtSWEETI3 and AtSWEETI4 regulate gibberellin-mediated physiological processes[J]. *Nature communications*, 2016,7:13245
- [18] Mueckler M. Facilitative glucose transporters[J]. *European Journal of Biochemistry*, 1994,219(3):713-725
- [19] 李艳娇, 李文才, 孙琦, 赵勋, 李文兰, 于彦丽, 孟昭东. SWEET 转运蛋白在作物中的功能研究及前景展望[J]. *山东农业科学*, 2019,51(6):154-159

# 25 个青贮玉米在金沙江干热河谷地区的生产性能

韩学琴<sup>1,2</sup>, 邓红山<sup>1,2</sup>, 罗会英<sup>1,2</sup>, 普天磊<sup>1,2</sup>, 赵琼玲<sup>1,2</sup>, 廖承飞<sup>1,2</sup>, 范建成<sup>1,2</sup>, 金杰<sup>\*1,2</sup>

1. 云南省农业科学院热区生态农业研究所, 云南 元谋 651300; 2. 元谋干热河谷植物园, 云南 元谋 651300

**摘要** 对 25 个青贮玉米材料在金沙江干热河谷地区的生长适应性农艺性状指标 24 项进行了灰色关联度分析, 并建立品种适应性综合评价模型。结果表明, 在金沙江干热河谷地区表现较好的青贮玉米材料有正大 808、云瑞 10 号、曲晨 9 号、1331、2017-61、红单 10 号、2017-A4、东单 60、青贮 3 号、东单 13 号, 而青贮 667、东单 213、东单 100、石玉 9 号、青饲 2 号的生产性能较差。各项指标的权重大小顺序为: 叶宽>穗粗>青叶数>叶长>穗比重>株高>穗鲜重>茎粗>茎比重>单株重>穗位高>叶比重>茎鲜重>鲜草产量>干鲜比>叶鲜重>干草产量>穗长>黄叶数>双穗株率>倒伏率>倒折率>空秆率>穗秃尖长, 本研究结果可为干热河谷地区乃至滇南低山丘陵青贮玉米引种及推广提供科学依据。

**关键词** 青贮玉米; 农艺性状; 生产性能; 综合评价; 灰色关联度分析

## The production performance of 25 silage maize in dry-hot valley region of jinsha river

HAN Xueqin<sup>1,2</sup>, DENG Hongshan<sup>1,2</sup>, LUO Huiying<sup>1,2</sup>, PU Tianlei<sup>1,2</sup>, ZHAO Qionglin<sup>1,2</sup>, LIAO Chengfei<sup>1,2</sup>, FAN Jiancheng<sup>1,2</sup>, JIN Jie<sup>\*1,2</sup>

1. Institute of Tropical Eco-agricultural Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Yunnan Yuanmou 651300; 2. Yuanmou Dry-hot Valley Botanical Garden, Yunnan Yuanmou 651300

**Abstract** The grey correlation analysis was carried out for 24 agronomic traits of 25 silage maize materials in dry-hot valley region of jinsha river, and variety adaptability comprehensive evaluation model is set up. The results showed that the silage corn materials in dry-hot valley region of jinsha river had better performance, such as zhengda 808, yunrui 10, quchen 9, 1331, 2017-61, hongdan 10, 2017-A4, dongdan 60, silage 3, dongdan 13, while silage 667, dongdan 213, dongdan 100, shiyu 9, qing si 2 had poor production performance. The order of weight index in the grey correlation analysis was: Leaf width > ear diameter > green leaf number > leaf length > ear specific weight > plant height > ear specific weight > stem diameter > stem specific weight > plant weight > ear height > leaf specific weight > stem fresh weight > fresh grass yield > dry/fresh ratio > leaf fresh weight > hay grass yield > ear length > yellow leaf number > double ear plant rate > lodging rate > pour the discount rate > empty bar rate > ear bald tip length, The results of this study can provide scientific basis for the introduction and extension of silage maize in the dry-hot valleys region and the low mountains and hills in southern yunnan province.

**Keywords** Silage corn, Agronomic traits, Production performance, Comprehensive evaluation, Grey correlative degree analysis

青贮玉米 (*Zea mays* L.), 即饲用玉米, 是指主要用于畜牧业的玉米品种, 可将整个植株全部青贮用作饲料<sup>[1]</sup>, 其特点是植株高大、茎叶繁茂、气味芳香、柔软多汁、适口性好, 原料中营养成分含量高。与其他青贮饲料相比, 青贮玉米淀粉和可溶性碳水化合物含量高, 木质素含量低, 单位面积干物质产量潜力大, 具有较高的能量和良好的吸收率<sup>[2-5]</sup>。据农业部 2017 年《粮改饲工作实施方案》规划, 我国青贮玉米种植面积仅 67 万公顷, 远小于畜牧业发达国家的种植面积 (仅波兰的 1.2 倍)。可见, 大力发展玉米青贮饲料产业依然是我国畜牧业亟待解决的问题之一<sup>[6-10]</sup>。元谋县处于金沙江下游地带, 为季风型干热河谷气候, 具有炎热干燥、干湿季分明而四季不分明的气候特征<sup>[11, 12]</sup>, 该地区土壤侵蚀较为严重, 土壤肥力低, 生态环境退化, 畜牧业的发展与生态环境破坏之间的矛盾成为制约该地经济发展的重要因素之一<sup>[13]</sup>。为了响应国家加快转变农业发展方式的“调结构、转方式、保供给、增效益”政策。因此, 筛选适宜金沙江干热河谷地区种植的青贮玉米品种, 是促进农牧结合、提高种养效益、增加农民收入的有效措施之一。

评价青贮玉米品种适应性的主要性状因子数量较多, 仅以某些单个性状的方差分析来评价其生产性能的优劣及品种间的适应性差异, 往往因割裂了各个性状因子对品种生产性能的综合影响而在一定程度上有失全面。准确评价青贮玉米的适应性是青贮玉米引种的基础, 青贮玉米的适应性是由多种因素相互作用而构成的一个复杂生物学性状, 其中每个因素与适应性之间存在一定的联系或相关。灰色系统理论是近年来发展起来的一种分析理论, 在农业方面已有所应用<sup>[14-16]</sup>。在客观系统中, 灰色是绝对的, 灰色系统分析可较为真实和全面地反映人们对客观系统的实际认识程度, 不但可以给出质的定性解释, 同时也可以给出量的确切描述<sup>[17]</sup>。生物系统本身可以作为一种灰色系统, 因而可采用灰色系统提供的灰色关联分析方法对生物体的各种性状进行分析<sup>[18, 19]</sup>。灰色关联度分析法综合评价青贮玉米生产性能简单易行, 克服了依靠单一性状 (如产量) 评价品种的弊端, 可客观反映供试青贮玉米诸多性状在生产性能上的综合表现, 不会因某品种的某一性状表现优而认可该品种或某一性状表现差而否定该品种。为此本研究选取了 24 项农艺性状指标进行测定, 采用灰色关

**基金项目** 国家草品种区域试验云南元谋试验站; 国家农作物种质资源平台—云南干热区特色作物种质资源子平台 (No.NICGR2018-74)。

**作者简介** 韩学琴 (1978—), 女, 云南宾川人, 副研究员; 从事作物资源与草地生态研究; Email: 40342898@qq.com。

**\*通讯作者** 金杰 (1977—), 男, 云南大姚人, 研究员, 从事作物资源与草地生态研究; Email: 276361917@qq.com。

联度评价 25 个品种的引种适应性, 以期为金沙江干热河谷地区乃至滇南低山丘陵“粮改饲”青贮玉米引种和推广提供科学依据, 也为青贮玉米引种适应性研究鉴定和评价提供可选择的性状指标。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验地概况

试验地位于云南省楚雄州元谋县黄瓜园镇苴林基地(云南省农业科学院热区生态农业研究所苴林科研试验基地)。地理位置为东经 101° 49' 21.83"、北纬 25° 50' 40.77", 海拔 1084m。土壤为“燥红土”, 土壤养分: pH 值 6.41, 有机质 5.25g/kg, 全氮 0.039%, 速效磷 6.55mg/kg, 速效钾 58.2mg/kg。气候属南亚热带气候类型, 但随地形和海拔的变化, 各地区气候的垂直变化也较明显。试验地多年气象资料记载为: 全年降水量 625mm, 年均温 21.9℃, 最热月均温 28℃, 最冷月均温 13.8℃, 极端最高温度 40℃, 极端最低温度 -1℃, 无霜期 365d, 年有效积温 (≥10℃) 8003℃。

### 1.2 供试材料

25 个青贮玉米品种来源于克劳沃(北京)生态科技有限公司(昆明分公司), 详见表 1。

表 1 供试青贮玉米品种名录

Table 1 List of silage maize variety in this study

| 品种编号<br>Variety code | 品种名称<br>Variety name | 千粒重/g<br>thousand seed<br>weight/g | 品种编号<br>Variety code | 品种名称<br>Variety name | 千粒重/g<br>thousand seed<br>weight/g |
|----------------------|----------------------|------------------------------------|----------------------|----------------------|------------------------------------|
| 1 号                  | SN211                | 289.0                              | 14 号                 | 东单 159               | 320.3                              |
| 2 号                  | 2017-61              | 308.3                              | 15 号                 | 1008                 | 333.3                              |
| 3 号                  | 青饲 2 号               | 296.7                              | 16 号                 | 苏玉 10 号              | 436.7                              |
| 4 号                  | 青贮 3 号               | 292.3                              | 17 号                 | 郑单 958               | 308.7                              |
| 5 号                  | 4645                 | 352.7                              | 18 号                 | 云瑞 10 号              | 251.0                              |
| 6 号                  | 石玉 9 号               | 343.3                              | 19 号                 | 东单 60 包衣             | 355.7                              |
| 7 号                  | 正大 808               | 265.3                              | 20 号                 | 东单 13 号              | 291.0                              |
| 8 号                  | 曲晨 9 号               | 301.7                              | 21 号                 | 辽单 588               | 312.0                              |
| 9 号                  | 1331                 | 371.7                              | 22 号                 | 东单 16                | 286.3                              |
| 10 号                 | 4592                 | 330.3                              | 23 号                 | 红单 10 号              | 273.7                              |
| 11 号                 | 东单 100               | 297.0                              | 24 号                 | 东单 60                | 300.3                              |
| 12 号                 | 2017-A4              | 323.0                              | 25 号                 | 东单 213               | 363.7                              |
| 13 号                 | 青贮 667               | 331.3                              |                      |                      |                                    |

### 1.3 试验设计

参试的 25 个青贮玉米材料于 2018 年 6 月 5 日播种在规划整理布置好的试验小区中, 采用随机区组排列, 3 次重复, 小区面积 20m<sup>2</sup> (长 5m×宽 4m), 小区间隔 50cm, 小区区组间过道 1m。株行距(宽窄行种植), 宽行 70 cm, 窄行 40 cm, 每小区 8 行, 两长边行距离小区边 15 cm 起第 1 行, 隔 40cm 起第 3 行, 隔 70cm 起第 3 行, 株距 25cm, 每行 20 株(穴)。播种方式, 人工挖穴点播, 行头留 12.5 cm 开始打穴, 行尾剩 12.5cm, 每小区一共 160 穴, 每穴 2 粒种子, 播深 2-3 cm, 成活后在 3 叶期间苗或定苗, 每穴留 1 株。苗期要及时除草、浇水, 试验期间施肥、浇水、病虫害防治等田间管理与大田生产基本一致。

### 1.4 测定指标与方法

#### 1.4.1 农艺性状的测定

收获前对每个小区的倒伏株数、倒折株数、空秆株数和双穗株数进行调查统计, 并换算出倒伏率、倒折率、空秆率和双穗率。倒伏率、倒折率、空秆率和双穗率分别为倒伏株数、倒折株数、空秆株数和双穗株数占该试验小区总株数的百分率。收获时植株倾斜度大于 45°但未折断的植株为倒伏, 果穗以下部位折断的植株为倒折, 不结果穗或果穗结实 20 粒以下的植株为空秆, 有双穗且第 2 穗结实 20 粒以上的植株为双穗。收获时在第 I 个重复每个小区随机选取 10 株青贮玉米, 从根部整株刈割, 留茬高度 5cm, 并及时测量其株高、茎粗、青叶数、黄叶数(叶片数)、叶长、叶宽、穗长、穗粗、穗秃尖长、穗位、单株重、穗鲜重、叶鲜重、茎鲜重。

#### 1.4.2 穗、茎、叶比重以及干鲜比测定

将收获时随机取样 10 株, 称鲜重, 之后将其单株穗、茎、叶分开, 用尼龙纱袋装好, 置于烘箱中, 在 65℃烘至恒重后分别称干重, 取其平均值。

$$\text{穗(茎、叶)比重}(\%) = \frac{\text{穗(茎、叶)干重}}{\text{(穗+茎+叶)干重}} \times 100\%$$

$$\text{干鲜比}(\%) = \frac{\text{(穗+茎+叶)干重}}{\text{单株鲜重}} \times 100\%$$

#### 1.4.3 产量测定

乳熟期至蜡熟期进行收获, 小区全区刈割测产, 3 个重复, 留茬高度 5cm。刈割后立即称重, 得到每小

区鲜草产量，根据干鲜比计算出干草产量。

### 1.5 分析原理及方法

采用灰色系统理论中的灰色关联度分析方法，将参试 25 个青贮玉米品种视为一个灰色系统，而每个参试青贮玉米品种是该系统中的一个因素。根据育种目标和生产实际需要，把各参试青贮玉米品种 24 个农艺性状的最佳值结合起来，构成一个理想的“参考品种”。以“参考品种”各个性状指标所构成的数列为参考数列，记作  $X_0$ ，以参试品种各个性状指标构成的数列为比较数列，记作  $X_i$  ( $i=1, 2, 3, \dots, n$ )， $n$  为性状指标数，且  $X_0 = \{X_0(1), X_0(2), X_0(3), \dots, X_0(n)\}$ ， $X_i = \{X_i(1), X_i(2), X_i(3), \dots, X_i(n)\}$ ，由下列公式计算参试品种与“参考品种”之间的关联系数  $\xi_i(k)$ 。

$$\xi_i(k) = \frac{\min_i \min_k |X_0(k) - X_i(k)| + \rho \max_i \max_k |X_0(k) - X_i(k)|}{|X_0(k) - X_i(k)| + \rho \max_i \max_k |X_0(k) - X_i(k)|} \quad (1)$$

式中， $|X_0(k) - X_i(k)| = \Delta_i(k)$ ，表示  $X_0$  数列与  $X_i$  数列在第  $k$  点的绝对差值。 $\min_i \min_k |\Delta_i(k)|$  是一级最小差，即在绝对差  $|\Delta_i(k)|$  中按不同  $k$  值挑选其中的最小者； $\min_i \min_k |\Delta_i(k)|$  是二级最小差，即在  $\min_k |\Delta_i(k)|$  中按不同  $i$  值（比较数列值）挑选其中最小者。同理， $\max_i \max_k |\Delta_i(k)|$  是一级最大差， $\max_i \max_k |\Delta_i(k)|$  是二级最大差，其意义与最小差相似。 $\rho$  为分辨系数，用于提高关联系数之间的差异显著性，取值  $0 \sim 1$ ，一般情况下取  $\rho = 0.5$ 。

由于各性状对青贮玉米品种的重要程度不同，在评价不同品种的优劣时还应根据其重要程度赋予不同的权重  $\omega_i$ ，并以加权关联度对各青贮玉米品种进行评价。

$$\text{等权关联度：} \gamma_i = \frac{1}{n} \sum_{k=1}^n \xi_i(k) \quad (2)$$

式中， $n$  为样本数。

$$\text{权重系数：} \omega_i = \frac{\gamma_i}{\sum \gamma_i} \quad (3)$$

$$\text{加权关联度：} \gamma_i' = \sum_{k=1}^n \omega_i(k) \cdot \xi_i(k) \quad (4)$$

根据  $\gamma_i'$  的大小，可评价各青贮玉米品种的优劣。 $\gamma_i'$  越大，表明该品种与“参考品种”的相似程度越高，反之则低。

## 2 关联度的计算及其分析

### 2.1 构建“参考品种”

参考品种是根据生产实际需要构建的最优品种，青贮玉米的株高、茎粗、青叶数、叶长、叶宽、穗长、穗粗、穗位、单株重、穗鲜重、叶鲜重、茎鲜重、叶比重、茎比重、穗比重、干鲜比、鲜草产量、干草产量、双穗株率 19 项指标测定值是“越大越好”，分别使用高于供试品种中最大值 5% 的值。而青贮玉米的黄叶数、穗秃尖长、倒伏率、倒折率、空秆率 5 项指标测定值是“越少越好”，分别使用低于供试品种中最小值 5% 的值<sup>[20-22]</sup>。25 个供试品种和“参考品种”的 24 项性状均值见表 2。

### 2.2 数据无量纲化处理

由于各性状指标量纲不同，需对各指标原始数据进行无量纲化处理。采用初值法，将表 2 中的数据压缩在  $[0,1]$  的区间内，即所有指标数值被相应的  $X_0$  值除，将所得的数据列于表 3。

### 2.3 求关联系数

首先根据公式  $|X_0(k) - X_i(k)| = \Delta_i(k)$ ，求出参考数列与比较数列的绝对差值。25 个青贮玉米品种的  $\min_i \min_k |\Delta_i(k)| = 0.0236$ ， $\max_i \max_k |\Delta_i(k)| = 0.9983$ 。利用公式(1)计算各点上的关联系数  $\xi_i(k)$  ( $\rho$  取 0.5) (表 4)。

表2 供试品种和“参考品种”的各性状均值

Table4 Characteristics of experimental varieties and 'reference variety' in this study

| 品种编号<br>Variety code           | 株高<br>plant<br>height<br>/cm | 茎粗<br>stem<br>diameter<br>/mm | 青叶数<br>green leaf<br>number /<br>slice | 黄叶数<br>yellow<br>leaf<br>number /<br>slice | 叶长<br>leaf length<br>/cm | 叶宽<br>Leaf<br>width<br>/cm | 穗长<br>ear<br>length<br>/cm | 穗粗<br>ear<br>diameter<br>/mm | 穗秃尖长<br>ear bald<br>tip length<br>/cm | 穗位高<br>ear height<br>/cm | 单株重<br>plant<br>weight /kg | 穗鲜重<br>ear<br>specific<br>weight<br>/kg | 叶鲜重<br>leaf fresh<br>weight /kg | 茎鲜重<br>stem fresh<br>weight /kg |
|--------------------------------|------------------------------|-------------------------------|--|--|--------------------------|----------------------------|----------------------------|------------------------------|---------------------------------------|--------------------------|----------------------------|---|---------------------------------|---------------------------------|
| “参考品种”<br>Reference<br>variety | 287.7                        | 25.74                         | 13.4                                   | 0.32                                       | 109.36                   | 11.94                      | 49.94                      | 56.58                        | 0.074                                 | 136.17                   | 1.29                       | 0.32                                    | 0.51                            | 0.52                            |
| 1号                             | 236.5                        | 19.78                         | 11.0                                   | 1.5  | 91.71                    | 10.05                      | 20.05                      | 49.77                        | 1.39                                  | 103.50                   | 0.86                       | 0.24                                    | 0.24                            | 0.25                            |
| 2号                             | 273.8                        | 22.82                         | 12.1                                   | 1.4  | 103.29                   | 9.56                       | 47.56                      | 47.56                        | 1.60                                  | 123.88                   | 1.10                       | 0.27                                    | 0.37                            | 0.45                            |
| 3号                             | 180.2                        | 18.14                         | 10.1                                   | 0.5  | 72.58                    | 8.88                       | 17.10                      | 46.78                        | 1.61                                  | 63.53                    | 0.63                       | 0.19                                    | 0.22                            | 0.22                            |
| 4号                             | 230.0                        | 19.88                         | 12.5                                   | 0.6  | 90.62                    | 9.68                       | 21.94                      | 39.55                        | 3.82                                  | 96.48                    | 1.01                       | 0.16                                    | 0.42                            | 0.32                            |
| 5号                             | 212.1                        | 20.34                         | 10.1                                   | 1.4  | 85.26                    | 10.32                      | 17.51                      | 45.50                        | 2.70                                  | 99.55                    | 0.83                       | 0.20                                    | 0.26                            | 0.30                            |
| 6号                             | 197.6                        | 17.63                         | 9.2                                    | 1.0  | 79.49                    | 9.87                       | 17.55                      | 44.59                        | 1.50                                  | 85.35                    | 0.67                       | 0.20                                    | 0.21                            | 0.24                            |
| 7号                             | 274.0                        | 24.51                         | 12.8                                   | 3.0  | 104.15                   | 10.72                      | 21.48                      | 51.33                        | 2.08                                  | 126.65                   | 1.22                       | 0.28                                    | 0.49                            | 0.45                            |
| 8号                             | 243.7                        | 22.46                         | 12.0                                   | 0.9  | 93.63                    | 11.26                      | 23.55                      | 45.48                        | 3.91                                  | 108.91                   | 1.23                       | 0.26                                    | 0.46                            | 0.49                            |
| 9号                             | 240.6                        | 20.40                         | 11.5                                   | 0.6  | 86.73                    | 11.18                      | 20.44                      | 50.28                        | 0.07                                  | 92.99                    | 1.00                       | 0.27                                    | 0.36                            | 0.33                            |
| 10号                            | 218.4                        | 20.65                         | 10.7                                   | 0.9  | 88.50                    | 11.37                      | 20.08                      | 43.21                        | 0.90                                  | 91.26                    | 0.91                       | 0.26                                    | 0.30                            | 0.33                            |
| 11号                            | 204.7                        | 17.75                         | 10.2                                   | 0.9  | 83.16                    | 9.62                       | 22.39                      | 47.84                        | 4.38                                  | 77.23                    | 0.70                       | 0.22                                    | 0.21                            | 0.23                            |
| 12号                            | 241.1                        | 20.88                         | 12.0                                   | 1.5  | 96.38                    | 9.79                       | 21.95                      | 46.85                        | 2.16                                  | 117.62                   | 1.07                       | 0.24                                    | 0.32                            | 0.50                            |
| 13号                            | 198.0                        | 19.68                         | 9.0                                    | 2.8  | 85.74                    | 10.70                      | 19.99                      | 48.13                        | 2.04                                  | 74.85                    | 0.84                       | 0.22                                    | 0.23                            | 0.31                            |
| 14号                            | 236.8                        | 20.33                         | 8.6                                    | 4.1  | 94.04                    | 10.82                      | 23.27                      | 49.07                        | 2.62                                  | 90.82                    | 0.70                       | 0.27                                    | 0.25                            | 0.35                            |
| 15号                            | 237.7                        | 21.93                         | 9.4                                    | 1.4  | 85.91                    | 10.14                      | 22.18                      | 51.54                        | 1.30                                  | 81.85                    | 0.90                       | 0.30                                    | 0.23                            | 0.35                            |
| 16号                            | 209.1                        | 20.26                         | 11.0                                   | 0.5  | 85.05                    | 10.22                      | 21.67                      | 48.68                        | 2.24                                  | 76.17                    | 0.93                       | 0.24                                    | 0.31                            | 0.26                            |
| 17号                            | 214.3                        | 21.44                         | 11.5                                   | 0.7  | 87.10                    | 10.51                      | 19.98                      | 47.76                        | 1.15                                  | 83.41                    | 1.07                       | 0.24                                    | 0.38                            | 0.35                            |
| 18号                            | 280.9                        | 21.57                         | 12.5                                   | 0.8  | 96.03                    | 9.93                       | 23.92                      | 47.51                        | 1.71                                  | 129.69                   | 1.04                       | 0.28                                    | 0.38                            | 0.37                            |
| 19号                            | 217.2                        | 16.58                         | 10.6                                   | 1.3  | 80.37                    | 9.46                       | 24.61                      | 49.95                        | 5.30                                  | 78.86                    | 0.81                       | 0.27                                    | 0.29                            | 0.24                            |
| 20号                            | 230.8                        | 20.03                         | 11.3                                   | 1.6  | 80.44                    | 11.15                      | 24.90                      | 53.89                        | 5.29                                  | 91.05                    | 0.92                       | 0.30                                    | 0.27                            | 0.32                            |
| 21号                            | 225.3                        | 19.25                         | 9.9                                    | 0.3  | 91.10                    | 9.77                       | 25.00                      | 50.82                        | 4.99                                  | 75.37                    | 0.83                       | 0.28                                    | 0.24                            | 0.30                            |
| 22号                            | 220.1                        | 19.90                         | 11.9                                   | 0.8  | 79.75                    | 11.23                      | 24.64                      | 49.05                        | 5.73                                  | 86.90                    | 0.91                       | 0.28                                    | 0.24                            | 0.31                            |
| 23号                            | 245.7                        | 20.82                         | 12.2                                   | 0.3  | 103.03                   | 10.43                      | 27.11                      | 49.49                        | 6.59                                  | 102.60                   | 1.08                       | 0.25                                    | 0.29                            | 0.45                            |
| 24号                            | 264.4                        | 20.92                         | 10.7                                   | 2.4  | 88.80                    | 10.84                      | 24.42                      | 51.51                        | 4.61                                  | 107.86                   | 0.92                       | 0.29                                    | 0.23                            | 0.37                            |
| 25号                            | 223.3                        | 17.40                         | 9.4                                    | 2.2  | 79.89                    | 9.87                       | 24.07                      | 49.74                        | 4.26                                  | 89.59                    | 0.74                       | 0.20                                    | 0.19                            | 0.27                            |

续表2

| 品种编号<br>Variety code           | 叶比重<br>leaf specific<br>weight /% | 茎比重<br>stem specific<br>weight /% | 穗比重<br>ear specific<br>weight /% | 干鲜比<br>dry/fresh ratio<br>/ % | 鲜草产量<br>fresh grass<br>yield/<br>kg · hm <sup>2</sup> | 干草产量 hay<br>grass yield /<br>kg · hm <sup>2</sup> | 双穗株率<br>double ear<br>plant rate /% | 倒伏率<br>lodging<br>rate /% | 倒折率<br>pour the<br>discount<br>rate /% | 空秆率<br>empty bar<br>rate /% |
|--------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|---|---|-------------------------------------|---------------------------|--|-----------------------------|
| “参考品种”<br>Reference<br>variety | 43.77                             | 34.07                             | 56.73                            | 44.39                         | 84486.50  | 24797.64  | 12.03                               | 0.011                     | 0.656                                  | 0.873                       |
| 1号                             | 26.04                             | 21.57                             | 52.39                            | 33.20                         | 50836.67  | 16875.33  | 8.75                                | 0.63                      | 3.75                                   | 5.63                        |
| 2号                             | 30.47                             | 25.60                             | 43.93                            | 27.06                         | 50091.67  | 13552.35  | 2.50                                | 1.04                      | 9.79                                   | 14.58                       |
| 3号                             | 33.38                             | 20.60                             | 46.02                            | 24.25                         | 38990.00  | 9454.02   | 7.29                                | 1.04                      | 7.92                                   | 18.33                       |
| 4号                             | 41.68                             | 29.17                             | 29.15                            | 23.55                         | 49603.33  | 11681.02  | 11.46                               | 0.63                      | 6.04                                   | 24.58                       |
| 5号                             | 28.15                             | 24.43                             | 47.42                            | 27.34                         | 38336.67  | 10480.22  | 1.46                                | 3.54                      | 27.08                                  | 29.38                       |
| 6号                             | 25.61                             | 20.36                             | 54.03                            | 29.79                         | 43993.33  | 13104.14  | 4.17                                | 3.13                      | 8.13                                   | 9.38                        |
| 7号                             | 35.06                             | 28.82                             | 36.13                            | 24.59                         | 80463.33  | 19789.93  | 8.13                                | 0.21                      | 0.83                                   | 2.71                        |
| 8号                             | 32.47                             | 32.82                             | 34.72                            | 20.33                         | 72402.67  | 14722.28  | 6.04                                | 0.01                      | 1.04                                   | 10.00                       |
| 9号                             | 28.51                             | 21.06                             | 50.43                            | 27.21                         | 63475.00  | 17271.01  | 11.04                               | 0.21                      | 1.46                                   | 0.83                        |
| 10号                            | 26.17                             | 20.18                             | 53.64                            | 27.63                         | 54721.67  | 15119.07  | 6.46                                | 2.50                      | 4.38                                   | 6.04                        |
| 11号                            | 27.86                             | 25.97                             | 46.18                            | 23.67                         | 47530.00  | 11248.90  | 0.63                                | 0.02                      | 30.42                                  | 33.54                       |
| 12号                            | 28.52                             | 32.45                             | 39.03                            | 25.04                         | 66106.67  | 16550.37  | 0.63                                | 0.21                      | 6.67                                   | 10.42                       |
| 13号                            | 25.91                             | 24.06                             | 50.03                            | 26.53                         | 45648.33  | 12109.46  | 1.04                                | 3.75                      | 10.21                                  | 12.92                       |
| 14号                            | 25.50                             | 24.19                             | 50.31                            | 42.28                         | 48313.33  | 20426.75  | 0.83                                | 2.71                      | 3.75                                   | 5.63                        |
| 15号                            | 24.05                             | 27.43                             | 48.52                            | 26.08                         | 47506.67  | 12389.87  | 0.02                                | 0.03                      | 10.63                                  | 12.29                       |
| 16号                            | 32.49                             | 18.75                             | 48.76                            | 28.08                         | 43265.00  | 12150.87  | 8.54                                | 1.46                      | 11.04                                  | 18.75                       |
| 17号                            | 30.78                             | 20.35                             | 48.87                            | 27.83                         | 43958.33  | 12234.86  | 4.79                                | 5.42                      | 11.04                                  | 16.46                       |
| 18号                            | 33.27                             | 25.46                             | 41.27                            | 29.40                         | 80338.33  | 23616.80  | 2.92                                | 0.01                      | 0.63                                   | 1.88                        |
| 19号                            | 33.42                             | 24.25                             | 42.33                            | 22.63                         | 51076.67  | 11557.13  | 0.01                                | 0.02                      | 14.17                                  | 13.54                       |
| 20号                            | 27.68                             | 25.98                             | 46.35                            | 25.54                         | 51386.67  | 13125.71  | 0.03                                | 0.03                      | 7.08                                   | 5.42                        |
| 21号                            | 25.47                             | 25.06                             | 49.47                            | 25.92                         | 52338.33  | 13564.39  | 0.04                                | 0.21                      | 1.88                                   | 6.04                        |
| 22号                            | 27.29                             | 27.16                             | 45.55                            | 24.24                         | 52838.33  | 12808.58  | 0.05                                | 0.04                      | 4.79                                   | 3.13                        |
| 23号                            | 29.36                             | 25.30                             | 45.34                            | 23.79                         | 56511.67  | 13441.87  | 0.42                                | 0.21                      | 5.83                                   | 7.08                        |
| 24号                            | 25.29                             | 31.53                             | 43.19                            | 27.73                         | 52046.67  | 14431.13  | 0.06                                | 0.05                      | 13.54                                  | 11.25                       |
| 25号                            | 25.42                             | 28.74                             | 45.84                            | 25.21                         | 45991.67  | 11593.51  | 0.21                                | 0.02                      | 15.00                                  | 23.54                       |

表3 无量纲化处理结果  
Table3 Computed result of characteristics with dimensionless method

| 品种编号<br>Variety code        | 1      | 2      | 3      | 4      | 5      | 6      | 7      | 8      | 9      | 10     | 11     | 12     | 13     | 14     |
|-----------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| “参考品种”<br>Reference variety | 1.0000 | 1.0000 | 1.0000 | 1.0000 | 1.0000 | 1.0000 | 1.0000 | 1.0000 | 1.0000 | 1.0000 | 1.0000 | 1.0000 | 1.0000 | 1.0000 |
| 1号                          | 0.8219 | 0.7685 | 0.8209 | 0.2133 | 0.8386 | 0.8417 | 0.4015 | 0.8796 | 0.0532 | 0.7601 | 0.6636 | 0.7500 | 0.4765 | 0.4865 |
| 2号                          | 0.9518 | 0.8866 | 0.9030 | 0.2286 | 0.9445 | 0.8007 | 0.9523 | 0.8406 | 0.0463 | 0.9097 | 0.8496 | 0.8531 | 0.7196 | 0.8692 |
| 3号                          | 0.6264 | 0.7047 | 0.7537 | 0.6400 | 0.6637 | 0.7437 | 0.3424 | 0.8268 | 0.0460 | 0.4665 | 0.4884 | 0.5813 | 0.4333 | 0.4173 |
| 4号                          | 0.7995 | 0.7723 | 0.9328 | 0.5333 | 0.8286 | 0.8107 | 0.4393 | 0.6990 | 0.0194 | 0.7085 | 0.7829 | 0.5000 | 0.8235 | 0.6154 |
| 5号                          | 0.7371 | 0.7902 | 0.7537 | 0.2286 | 0.7796 | 0.8643 | 0.3506 | 0.8042 | 0.0274 | 0.7311 | 0.6395 | 0.6250 | 0.5098 | 0.5708 |
| 6号                          | 0.6867 | 0.6849 | 0.6866 | 0.3200 | 0.7269 | 0.8266 | 0.3514 | 0.7881 | 0.0493 | 0.6268 | 0.5163 | 0.6250 | 0.4137 | 0.4558 |
| 7号                          | 0.9523 | 0.9522 | 0.9552 | 0.1067 | 0.9524 | 0.8978 | 0.4301 | 0.9072 | 0.0356 | 0.9301 | 0.9457 | 0.8875 | 0.9529 | 0.8615 |
| 8号                          | 0.8472 | 0.8726 | 0.8955 | 0.3556 | 0.8562 | 0.9430 | 0.4716 | 0.8038 | 0.0189 | 0.7998 | 0.9543 | 0.7969 | 0.8980 | 0.9365 |
| 9号                          | 0.8361 | 0.7925 | 0.8582 | 0.5333 | 0.7931 | 0.9363 | 0.4093 | 0.8887 | 1.0571 | 0.6829 | 0.7736 | 0.8469 | 0.7078 | 0.6288 |
| 10号                         | 0.7593 | 0.8023 | 0.7985 | 0.3556 | 0.8093 | 0.9523 | 0.4021 | 0.7637 | 0.0822 | 0.6702 | 0.7062 | 0.8125 | 0.5961 | 0.6288 |
| 11号                         | 0.7114 | 0.6896 | 0.7612 | 0.3556 | 0.7604 | 0.8057 | 0.4483 | 0.8455 | 0.0169 | 0.5672 | 0.5457 | 0.6938 | 0.4137 | 0.4481 |
| 12号                         | 0.8380 | 0.8112 | 0.8955 | 0.2133 | 0.8813 | 0.8199 | 0.4395 | 0.8280 | 0.0343 | 0.8638 | 0.8256 | 0.7625 | 0.6333 | 0.9596 |
| 13号                         | 0.6883 | 0.7646 | 0.6716 | 0.1143 | 0.7840 | 0.8961 | 0.4003 | 0.8507 | 0.0363 | 0.5497 | 0.6481 | 0.7000 | 0.4549 | 0.5962 |
| 14号                         | 0.8231 | 0.7898 | 0.6418 | 0.0780 | 0.8599 | 0.9062 | 0.4660 | 0.8673 | 0.0282 | 0.6670 | 0.5403 | 0.8531 | 0.4843 | 0.6692 |
| 15号                         | 0.8263 | 0.8520 | 0.7015 | 0.2286 | 0.7856 | 0.8492 | 0.4441 | 0.9109 | 0.0569 | 0.6011 | 0.7008 | 0.9438 | 0.4510 | 0.6692 |
| 16号                         | 0.7267 | 0.7871 | 0.8209 | 0.6400 | 0.7777 | 0.8559 | 0.4339 | 0.8604 | 0.0330 | 0.5594 | 0.7186 | 0.7500 | 0.6039 | 0.5000 |
| 17号                         | 0.7447 | 0.8329 | 0.8582 | 0.4571 | 0.7965 | 0.8802 | 0.4001 | 0.8441 | 0.0643 | 0.6125 | 0.8287 | 0.7500 | 0.7495 | 0.6769 |
| 18号                         | 0.9764 | 0.8380 | 0.9328 | 0.4000 | 0.8781 | 0.8317 | 0.4790 | 0.8397 | 0.0433 | 0.9524 | 0.8085 | 0.8875 | 0.7490 | 0.7077 |
| 19号                         | 0.7551 | 0.6441 | 0.7910 | 0.2406 | 0.7349 | 0.7923 | 0.4928 | 0.8828 | 0.0140 | 0.5791 | 0.6295 | 0.8378 | 0.5596 | 0.4538 |
| 20号                         | 0.8021 | 0.7782 | 0.8433 | 0.2000 | 0.7356 | 0.9338 | 0.4986 | 0.9525 | 0.0140 | 0.6686 | 0.7113 | 0.9519 | 0.5216 | 0.6115 |
| 21号                         | 0.7831 | 0.7479 | 0.7388 | 1.0667 | 0.8330 | 0.8183 | 0.5006 | 0.8982 | 0.0148 | 0.5535 | 0.6442 | 0.8719 | 0.4647 | 0.5673 |
| 22号                         | 0.7649 | 0.7731 | 0.8881 | 0.4000 | 0.7292 | 0.9405 | 0.4934 | 0.8669 | 0.0129 | 0.6382 | 0.7047 | 0.8813 | 0.4784 | 0.6000 |
| 23号                         | 0.8540 | 0.8089 | 0.9104 | 1.0667 | 0.9421 | 0.8735 | 0.5429 | 0.8747 | 0.0112 | 0.7535 | 0.8364 | 0.7906 | 0.5745 | 0.8596 |
| 24号                         | 0.9189 | 0.8127 | 0.7985 | 0.1333 | 0.8120 | 0.9079 | 0.4890 | 0.9104 | 0.0161 | 0.7921 | 0.7109 | 0.8969 | 0.4549 | 0.7096 |
| 25号                         | 0.7763 | 0.6760 | 0.7015 | 0.1455 | 0.7305 | 0.8266 | 0.4820 | 0.8791 | 0.0174 | 0.6579 | 0.5721 | 0.6250 | 0.3804 | 0.5269 |

注：1: 株高。2: 茎粗。3: 青叶片数。4: 黄叶片数。5: 叶长。6: 叶宽。7: 穗长。8: 穗粗。9: 穗秃尖长。10: 穗位。11: 单株重。12: 穗鲜重。13: 叶鲜重。14: 茎鲜重。下同。

Note: 1: plant height. 2: stem diameter. 3: green leaf number. 4: yellow leaf number. 5: leaf length. 6: Leaf width. 7: ear length. 8: ear diameter. 9: ear bald tip length. 10: ear height. 11: plant weight. 12: ear specific weight. 13: leaf fresh weight. 14: stem fresh weight. The same below.

续表 3

| 品种编号<br>Variety code | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 |
|----------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
|----------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|

| “参考品种”<br>Reference variety | 1.0000 | 1.0000 | 1.0000 | 1.0000 | 1.0000 | 1.0000 | 1.0000 | 1.0000 | 1.0000 | 1.0000 | 1.0000 |
|-----------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 1号                          | 0.5949 | 0.6332 | 0.9235 | 0.7478 | 0.6017 | 0.6805 | 0.7273 | 0.0176 | 0.1749 | 0.1552 |        |
| 2号                          | 0.6960 | 0.7515 | 0.7744 | 0.6095 | 0.5929 | 0.5465 | 0.2078 | 0.0105 | 0.0670 | 0.0599 |        |
| 3号                          | 0.7626 | 0.6046 | 0.8112 | 0.5462 | 0.4615 | 0.3812 | 0.6063 | 0.0105 | 0.0828 | 0.0476 |        |
| 4号                          | 0.9523 | 0.8562 | 0.5138 | 0.5305 | 0.5871 | 0.4711 | 0.9523 | 0.0176 | 0.1085 | 0.0355 |        |
| 5号                          | 0.6431 | 0.7172 | 0.8359 | 0.6158 | 0.4538 | 0.4226 | 0.1211 | 0.0031 | 0.0242 | 0.0297 |        |
| 6号                          | 0.5851 | 0.5976 | 0.9524 | 0.6710 | 0.5207 | 0.5284 | 0.3465 | 0.0035 | 0.0807 | 0.0931 |        |
| 7号                          | 0.8009 | 0.8458 | 0.6369 | 0.5541 | 0.9524 | 0.7981 | 0.6754 | 0.0533 | 0.7892 | 0.3226 |        |
| 8号                          | 0.7418 | 0.9632 | 0.6120 | 0.4581 | 0.8570 | 0.5937 | 0.5024 | 1.1000 | 0.6285 | 0.0873 |        |
| 9号                          | 0.6513 | 0.6182 | 0.8889 | 0.6130 | 0.7513 | 0.6965 | 0.9180 | 0.0533 | 0.4505 | 1.0502 |        |
| 10号                         | 0.5980 | 0.5924 | 0.9456 | 0.6224 | 0.6477 | 0.6097 | 0.5367 | 0.0044 | 0.1499 | 0.1444 |        |
| 11号                         | 0.6364 | 0.7622 | 0.8140 | 0.5332 | 0.5626 | 0.4536 | 0.0520 | 0.5500 | 0.0216 | 0.0260 |        |
| 12号                         | 0.6516 | 0.9524 | 0.6880 | 0.5640 | 0.7825 | 0.6674 | 0.0520 | 0.0533 | 0.0984 | 0.0838 |        |
| 13号                         | 0.5920 | 0.7062 | 0.8819 | 0.5976 | 0.5403 | 0.4883 | 0.0868 | 0.0029 | 0.0643 | 0.0676 |        |
| 14号                         | 0.5825 | 0.7100 | 0.8869 | 0.9525 | 0.5718 | 0.8237 | 0.0691 | 0.0041 | 0.1749 | 0.1552 |        |
| 15号                         | 0.5494 | 0.8050 | 0.8554 | 0.5875 | 0.5623 | 0.4996 | 0.0017 | 0.3667 | 0.0617 | 0.0710 |        |
| 16号                         | 0.7422 | 0.5504 | 0.8595 | 0.6327 | 0.5121 | 0.4900 | 0.7102 | 0.0076 | 0.0594 | 0.0466 |        |
| 17号                         | 0.7032 | 0.5974 | 0.8614 | 0.6270 | 0.5203 | 0.4934 | 0.3985 | 0.0020 | 0.0594 | 0.0530 |        |
| 18号                         | 0.7601 | 0.7472 | 0.7275 | 0.6622 | 0.9509 | 0.9524 | 0.2426 | 1.1000 | 1.0496 | 0.4656 |        |
| 19号                         | 0.7635 | 0.7118 | 0.7462 | 0.5097 | 0.6046 | 0.4661 | 0.0008 | 0.5500 | 0.0463 | 0.0645 |        |
| 20号                         | 0.6323 | 0.7625 | 0.8169 | 0.5754 | 0.6082 | 0.5293 | 0.0025 | 0.3667 | 0.0926 | 0.1611 |        |
| 21号                         | 0.5820 | 0.7355 | 0.8720 | 0.5838 | 0.6195 | 0.5470 | 0.0033 | 0.0533 | 0.3499 | 0.1444 |        |
| 22号                         | 0.6236 | 0.7971 | 0.8029 | 0.5461 | 0.6254 | 0.5165 | 0.0042 | 0.2750 | 0.1368 | 0.2794 |        |
| 23号                         | 0.6708 | 0.7425 | 0.7993 | 0.5358 | 0.6689 | 0.5421 | 0.0348 | 0.0533 | 0.1125 | 0.1233 |        |
| 24号                         | 0.5777 | 0.9254 | 0.7613 | 0.6246 | 0.6160 | 0.5820 | 0.0050 | 0.2200 | 0.0484 | 0.0776 |        |
| 25号                         | 0.5807 | 0.8436 | 0.8081 | 0.5679 | 0.5444 | 0.4675 | 0.0171 | 0.5500 | 0.0437 | 0.0371 |        |

注：15：叶比重。16：茎比重。17：穗比重。18：干鲜比。19：鲜草产量。20：干草产量。21：双穗株率。22：倒伏率。23：倒折率。24：空秆率。下同。

Note: 15: leaf specific weight.16: stem specific weight.17: ear specific weight.18: dry/fresh ratio.19: fresh grass yield.20: hay grass yield.21: double ear plant rate.22: lodging rate.23: pour the discount rate.24: empty bar rate. The same below.

表4 参试品种的关联系数  
Table4 Correlatona coefficient between experimental varieties

| 品种编号<br>Variety code | 1      | 2      | 3      | 4      | 5      | 6      | 7      | 8      | 9      | 10     | 11     | 12     | 13     | 14     |
|----------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| ξ 1                  | 0.7718 | 0.7154 | 0.7707 | 0.4066 | 0.7914 | 0.7951 | 0.4762 | 0.8438 | 0.3615 | 0.7073 | 0.6256 | 0.6978 | 0.5112 | 0.5162 |



|      |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |
|------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| ξ 2  | 0.9550 | 0.8533 | 0.8769 | 0.4114 | 0.9425 | 0.7484 | 0.9560 | 0.7938 | 0.3598 | 0.8869 | 0.8048 | 0.8092 | 0.6706 | 0.8299 |
| ξ 3  | 0.5990 | 0.6580 | 0.7013 | 0.6085 | 0.6257 | 0.6920 | 0.4519 | 0.7775 | 0.3597 | 0.5062 | 0.5172 | 0.5695 | 0.4905 | 0.4832 |
| ξ 4  | 0.7471 | 0.7192 | 0.9231 | 0.5413 | 0.7796 | 0.7593 | 0.4932 | 0.6533 | 0.3533 | 0.6612 | 0.7299 | 0.5232 | 0.7737 | 0.5915 |
| ξ 5  | 0.6860 | 0.7374 | 0.7013 | 0.4114 | 0.7265 | 0.8235 | 0.4551 | 0.7522 | 0.3552 | 0.6806 | 0.6081 | 0.5980 | 0.5284 | 0.5631 |
| ξ 6  | 0.6434 | 0.6420 | 0.6433 | 0.4433 | 0.6769 | 0.7773 | 0.4555 | 0.7352 | 0.3606 | 0.5992 | 0.5319 | 0.5980 | 0.4816 | 0.5010 |
| ξ 7  | 0.9560 | 0.9558 | 0.9611 | 0.3754 | 0.9560 | 0.8693 | 0.4890 | 0.8831 | 0.3572 | 0.9186 | 0.9446 | 0.8547 | 0.9571 | 0.8199 |
| ξ 8  | 0.8018 | 0.8343 | 0.8660 | 0.4571 | 0.8130 | 0.9400 | 0.5087 | 0.7518 | 0.3532 | 0.7475 | 0.9594 | 0.7444 | 0.8696 | 0.9291 |
| ξ 9  | 0.7884 | 0.7398 | 0.8156 | 0.5413 | 0.7404 | 0.9288 | 0.4796 | 0.8563 | 0.9397 | 0.6404 | 0.7205 | 0.8014 | 0.6606 | 0.6007 |
| ξ 10 | 0.7065 | 0.7501 | 0.7461 | 0.4571 | 0.7577 | 0.9559 | 0.4765 | 0.7108 | 0.3689 | 0.6306 | 0.6592 | 0.7613 | 0.5789 | 0.6007 |
| ξ 11 | 0.6636 | 0.6457 | 0.7084 | 0.4571 | 0.7076 | 0.7538 | 0.4975 | 0.7998 | 0.3527 | 0.5609 | 0.5483 | 0.6491 | 0.4816 | 0.4973 |
| ξ 12 | 0.7907 | 0.7599 | 0.8660 | 0.4066 | 0.8461 | 0.7696 | 0.4933 | 0.7789 | 0.3569 | 0.8227 | 0.7761 | 0.7096 | 0.6038 | 0.9689 |
| ξ 13 | 0.6447 | 0.7116 | 0.6317 | 0.3775 | 0.7310 | 0.8669 | 0.4757 | 0.8061 | 0.3573 | 0.5506 | 0.6142 | 0.6541 | 0.5006 | 0.5789 |
| ξ 14 | 0.7733 | 0.7370 | 0.6097 | 0.3678 | 0.8178 | 0.8816 | 0.5060 | 0.8273 | 0.3554 | 0.6282 | 0.5452 | 0.8092 | 0.5151 | 0.6299 |
| ξ 15 | 0.7770 | 0.8077 | 0.6554 | 0.4114 | 0.7326 | 0.8043 | 0.4955 | 0.8887 | 0.3625 | 0.5821 | 0.6548 | 0.9412 | 0.4987 | 0.6299 |
| ξ 16 | 0.6767 | 0.7341 | 0.7707 | 0.6085 | 0.7246 | 0.8127 | 0.4907 | 0.8184 | 0.3566 | 0.5562 | 0.6697 | 0.6978 | 0.5839 | 0.5232 |
| ξ 17 | 0.6929 | 0.7847 | 0.8156 | 0.5017 | 0.7439 | 0.8446 | 0.4756 | 0.7980 | 0.3643 | 0.5896 | 0.7797 | 0.6978 | 0.6973 | 0.6358 |
| ξ 18 | 1.0001 | 0.7907 | 0.9231 | 0.4756 | 0.8417 | 0.7832 | 0.5124 | 0.7927 | 0.3591 | 0.9561 | 0.7569 | 0.8547 | 0.6969 | 0.6605 |
| ξ 19 | 0.7026 | 0.6114 | 0.7382 | 0.4154 | 0.6840 | 0.7395 | 0.5194 | 0.8482 | 0.3520 | 0.5682 | 0.6011 | 0.7904 | 0.5564 | 0.5001 |
| ξ 20 | 0.7499 | 0.7251 | 0.7970 | 0.4024 | 0.6846 | 0.9247 | 0.5225 | 0.9562 | 0.3520 | 0.6294 | 0.6635 | 0.9552 | 0.5347 | 0.5889 |
| ξ 21 | 0.7300 | 0.6958 | 0.6875 | 0.9239 | 0.7848 | 0.7677 | 0.5235 | 0.8699 | 0.3522 | 0.5528 | 0.6114 | 0.8334 | 0.5053 | 0.5610 |
| ξ 22 | 0.7119 | 0.7200 | 0.8554 | 0.4756 | 0.6790 | 0.9358 | 0.5198 | 0.8268 | 0.3517 | 0.6072 | 0.6580 | 0.8460 | 0.5121 | 0.5814 |
| ξ 23 | 0.8103 | 0.7573 | 0.8880 | 0.9239 | 0.9385 | 0.8356 | 0.5466 | 0.8371 | 0.3513 | 0.7010 | 0.7888 | 0.7378 | 0.5654 | 0.8174 |
| ξ 24 | 0.9009 | 0.7616 | 0.7461 | 0.3827 | 0.7607 | 0.8841 | 0.5175 | 0.8879 | 0.3525 | 0.7393 | 0.6631 | 0.8680 | 0.5006 | 0.6621 |
| ξ 25 | 0.7232 | 0.6351 | 0.6554 | 0.3862 | 0.6801 | 0.7773 | 0.5139 | 0.8431 | 0.3528 | 0.6214 | 0.5639 | 0.5980 | 0.4673 | 0.5377 |

续表 4

| 品种编号<br>Variety code | 15     | 16     | 17     | 18     | 19     | 20     | 21     | 22     | 23     | 24     |
|----------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| ξ 1                  | 0.5781 | 0.6037 | 0.9081 | 0.6958 | 0.5825 | 0.6386 | 0.6773 | 0.3528 | 0.3948 | 0.3890 |
| ξ 2                  | 0.6509 | 0.6992 | 0.7213 | 0.5876 | 0.5768 | 0.5487 | 0.4048 | 0.3512 | 0.3650 | 0.3632 |
| ξ 3                  | 0.7097 | 0.5844 | 0.7599 | 0.5486 | 0.5038 | 0.4676 | 0.5855 | 0.3512 | 0.3691 | 0.3601 |

|      |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |
|------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| ξ 4  | 0.9559 | 0.8130 | 0.5305 | 0.5397 | 0.5732 | 0.5085 | 0.9559 | 0.3528 | 0.3759 | 0.3572 |
| ξ 5  | 0.6106 | 0.6685 | 0.7881 | 0.5918 | 0.5001 | 0.4856 | 0.3793 | 0.3494 | 0.3544 | 0.3557 |
| ξ 6  | 0.5719 | 0.5799 | 0.9561 | 0.6312 | 0.5343 | 0.5385 | 0.4535 | 0.3495 | 0.3685 | 0.3718 |
| ξ 7  | 0.7487 | 0.8001 | 0.6062 | 0.5531 | 0.9561 | 0.7456 | 0.6346 | 0.3616 | 0.7363 | 0.4443 |
| ξ 8  | 0.6902 | 0.9754 | 0.5892 | 0.5021 | 0.8140 | 0.5773 | 0.5244 | 0.8725 | 0.6004 | 0.3703 |
| ξ 9  | 0.6166 | 0.5934 | 0.8567 | 0.5899 | 0.6990 | 0.6513 | 0.8995 | 0.3616 | 0.4985 | 0.9515 |
| ξ 10 | 0.5801 | 0.5765 | 0.9444 | 0.5962 | 0.6140 | 0.5877 | 0.5431 | 0.3497 | 0.3874 | 0.3859 |
| ξ 11 | 0.6059 | 0.7093 | 0.7629 | 0.5412 | 0.5582 | 0.5000 | 0.3612 | 0.5508 | 0.3538 | 0.3549 |
| ξ 12 | 0.6168 | 0.9561 | 0.6445 | 0.5590 | 0.7294 | 0.6285 | 0.3612 | 0.3616 | 0.3732 | 0.3693 |
| ξ 13 | 0.5762 | 0.6593 | 0.8468 | 0.5798 | 0.5452 | 0.5172 | 0.3701 | 0.3494 | 0.3643 | 0.3652 |
| ξ 14 | 0.5703 | 0.6624 | 0.8538 | 0.9562 | 0.5637 | 0.7740 | 0.3655 | 0.3496 | 0.3948 | 0.3890 |
| ξ 15 | 0.5504 | 0.7531 | 0.8120 | 0.5734 | 0.5580 | 0.5230 | 0.3491 | 0.4616 | 0.3637 | 0.3660 |
| ξ 16 | 0.6906 | 0.5510 | 0.8173 | 0.6033 | 0.5296 | 0.5180 | 0.6626 | 0.3505 | 0.3631 | 0.3599 |
| ξ 17 | 0.6568 | 0.5797 | 0.8196 | 0.5994 | 0.5340 | 0.5198 | 0.4749 | 0.3492 | 0.3631 | 0.3615 |
| ξ 18 | 0.7074 | 0.6952 | 0.6775 | 0.6246 | 0.9535 | 0.9561 | 0.4160 | 0.8725 | 0.9526 | 0.5058 |
| ξ 19 | 0.7106 | 0.6639 | 0.6943 | 0.5283 | 0.5843 | 0.5060 | 0.3489 | 0.5508 | 0.3598 | 0.3644 |
| ξ 20 | 0.6030 | 0.7096 | 0.7663 | 0.5659 | 0.5867 | 0.5390 | 0.3493 | 0.4616 | 0.3717 | 0.3907 |
| ξ 21 | 0.5700 | 0.6846 | 0.8335 | 0.5711 | 0.5943 | 0.5490 | 0.3495 | 0.3616 | 0.4548 | 0.3859 |
| ξ 22 | 0.5970 | 0.7446 | 0.7508 | 0.5485 | 0.5983 | 0.5320 | 0.3497 | 0.4270 | 0.3837 | 0.4286 |
| ξ 23 | 0.6311 | 0.6908 | 0.7469 | 0.5427 | 0.6296 | 0.5462 | 0.3570 | 0.3616 | 0.3770 | 0.3799 |
| ξ 24 | 0.5673 | 0.9111 | 0.7084 | 0.5978 | 0.5919 | 0.5699 | 0.3499 | 0.4087 | 0.3603 | 0.3677 |
| ξ 25 | 0.5692 | 0.7974 | 0.7564 | 0.5613 | 0.5475 | 0.5067 | 0.3527 | 0.5508 | 0.3592 | 0.3575 |

## 2.4 各性状指标的权重及综合评价模型的构建

根据模糊数学方法中的权重决策法,即由公式(2)、公式(3)计算各指标对应的权值,赋予各性状不同权重: $\omega_1=0.0506$ ,  $\omega_2=0.0493$ ,  $\omega_3=0.0516$ ,  $\omega_4=0.0324$ ,  $\omega_5=0.0511$ ,  $\omega_6=0.0551$ ,  $\omega_7=0.0343$ ,  $\omega_8=0.0542$ ,  $\omega_9=0.0253$ ,  $\omega_{10}=0.0444$ ,  $\omega_{11}=0.0453$ ,  $\omega_{12}=0.0496$ ,  $\omega_{13}=0.0393$ ,  $\omega_{14}=0.0421$ ,  $\omega_{15}=0.0425$ ,  $\omega_{16}=0.0471$ ,  $\omega_{17}=0.0510$ ,  $\omega_{18}=0.0394$ ,  $\omega_{19}=0.0412$ ,  $\omega_{20}=0.0385$ ,  $\omega_{21}=0.0317$ ,  $\omega_{22}=0.0288$ ,  $\omega_{23}=0.0284$ ,  $\omega_{24}=0.0269$ 。根据权重值的大小,可判断出每个指标在青贮玉米品种综合评价中的作用大小。其权重排序为叶宽>穗粗>青叶片数>叶长>穗比重>株高>穗鲜重>茎粗>茎比重>单株重>穗位高>叶比重>茎鲜重>鲜草产量>干鲜比>叶鲜重>干草产量>穗长>黄叶片数>双穗株率>倒伏率>倒折率>空秆率>穗秃尖长,根据权重可构建干热河谷青贮玉米引种综合评价模型为: $Z_k=0.0506 \xi_1+0.0493 \xi_2+0.0516 \xi_3+0.0324 \xi_4+0.0511 \xi_5+0.0551 \xi_6+0.0343 \xi_7+0.0542 \xi_8+0.0253 \xi_9+0.0444 \xi_{10}+0.0453 \xi_{11}+0.0496 \xi_{12}+0.0393 \xi_{13}+0.0421 \xi_{14}+0.0425 \xi_{15}+0.0471 \xi_{16}+0.0510 \xi_{17}+0.0394 \xi_{18}+0.0412 \xi_{19}+0.0385 \xi_{20}+0.0317 \xi_{21}+0.0288 \xi_{22}+0.0284 \xi_{23}+0.0269 \xi_{24}$ ,根据加权关联度公式(4)计算各品种的加权关联度值,并进行关联度排序(表 5)。

## 2.5 关联分析

根据灰色关联度分析原则,关联度大的数列与参考数列最为接近,值越大说明参试品种与“参考品种”越接近,综合性能越理想,反之则差。25 个青贮玉米品种生产性能综合评价序位排在前 10 位的为:正大 808、云瑞 10 号、曲晨 9 号、1331、2017-61、红单 10 号、2017-A4、东单 60、青贮 3 号、东单 13 号(表 5)。

表 5 各参试品种的加权关联度及其排序

Table5 Weighting association and its order of experimental varieties

| 品种<br>Variety | 加权关联度<br>Weighting<br>association | 排序<br>Order | 品种<br>Variety | 加权关联度<br>Weighting<br>association | 排序<br>Order |
|---------------|-----------------------------------|-------------|---------------|-----------------------------------|-------------|
| 正大 808        | 0.7795                            | 1           | 郑单 958        | 0.6435                            | 14          |
| 云瑞 10 号       | 0.7598                            | 2           | 东单 16         | 0.6435                            | 15          |
| 曲晨 9 号        | 0.7382                            | 3           | 辽单 588        | 0.6420                            | 16          |
| 1331          | 0.7173                            | 4           | 1008          | 0.6412                            | 17          |
| 2017-61       | 0.7091                            | 5           | 苏玉 10 号       | 0.6302                            | 18          |
| 红单 10 号       | 0.6896                            | 6           | 东单 60 包衣      | 0.6084                            | 19          |
| 2017-A4       | 0.6833                            | 7           | 4645          | 0.6023                            | 20          |
| 东单 60         | 0.6659                            | 8           | 青贮 667        | 0.6014                            | 21          |
| 青贮 3 号        | 0.6562                            | 9           | 东单 213        | 0.5992                            | 22          |
| 东单 13 号       | 0.6544                            | 10          | 东单 100        | 0.5941                            | 23          |
| 东单 159        | 0.6529                            | 11          | 石玉 9 号        | 0.5871                            | 24          |
| SN211         | 0.6475                            | 12          | 青饲 2 号        | 0.5749                            | 25          |
| 4592          | 0.6453                            | 13          |               |                                   |             |

## 3 讨论与结论

**3.1** 本试验采用灰色系统关联度理论决定性状的权重,对 25 个青贮玉米品种的生产性能进行综合评价,用此模型对参试品种进行综合评估的结果表明,正大 808 由于其各项性状都表现较好,特别是在株高、茎粗、青叶片数、叶长、叶鲜重以及鲜草产量这 5 项指标上最高,使其综合排名最前,综合生产性能也最好,适宜在该地区大面积推广;云瑞 10 号、曲晨 9 号,分别在株高、穗位、干草产量、倒伏率、倒折率和单株重、干鲜比、倒伏率这 7 项指标表现最好,使其综合排名在第 2 和 3,综合生产性能次之,也可以在该地区适当推广;而青饲 2 号由于其各项生产性能指标均较差,特别是在株高、叶长、叶宽、穗长、茎鲜重、穗位、单株重和干草产量这 8 项指标上最低,使其综合排名最后,综合生产性能也最差,这与试验田间观察结果相一致。

**3.2** 灰色关联度分析在牧草引种、苜蓿生产性能评定、干草调制方法的综合评价、青贮玉米综合评价等已有应用<sup>[23-25]</sup>。从方法的优劣上讲,灰色关联度理论已被公认为是全面而无人因素限制,合理自然,并能利用当前的计算机技术处理的理论<sup>[26]</sup>。结果表明,在金沙江干热河谷地区表现较好的 10 个青贮玉米材料是正大 808、云瑞 10 号、曲晨 9 号、1331、2017-61、红单 10 号、2017-A4、东单 60、青贮 3 号、东单 13 号,而青贮 667、东单 213、东单 100、石玉 9 号、青饲 2 号的生产性能较差。

**3.3** 采用灰色关联度分析法综合评价青贮玉米品种的关键是构建“参考品种”性状的选取及各性状权重的确定。因此,要选择适应某个地区生态环境条件和生产实际状况及生产目标的代表性性状作为综合评价的因子,并结合生产实践和社会需要以及已积累的生产经验,参照相关科技文献来赋予参评性状客观、科学、合理的权重,从而使赋予的各性状的权重值更能充分反映出客观实际<sup>[21]</sup>。本试验仅分析了 25 个青贮玉米品种的 24 项农艺性状,并未对青贮玉米的品质性状即粗脂肪、粗蛋白、粗纤维、粗灰分、水分等营养成分进行测定研究,有待进一步完善。

## 参考文献

- [1] 林建新,陈山虎,卢和顶,童川拉,纪荣昌.青贮玉米的发展现状与前景 [J].福建农业科技,2004 (1) :39-40.
- [2] 王空军. 饲用玉米生产形势分析与发展对策建议 [M].济南: 山东科学技术出版社,2003.
- [3] 王瑞 .青贮玉米在饲料应用中的研究进展 [J].广东饲料,2016 (7) :37-40.
- [4] 田晓红,陈杰,倪留双,周金娥,王琼 .青贮玉米在饲料应用中的研究进展 [J].农业与技术,2017, 37 (16) :51.
- [5] 赵力, 庞云霞, 焦建伟, 侯磊, 陈喜明, 智建奇, 安伟, 梁艺, 徐嘉.2018 年山西省青贮玉米品种比较试验 [J].农业科技通讯,2019 (6):175-177.
- [6] 席杰军, 梁子栋, 张钰靖, 钟元, 杜福臻, 袁庆, 张宝林, 孙秀柱, 杨培志, 呼天明. 陕西关中地区 31 个青贮玉米品种比较试验 [J].草地学报 2018,26(6):1363-1367.
- [7] 郑玉彬, 黄红梅. 大力发展青贮玉米生产 [J].农业科技通讯, 2007 (2) :11-12.
- [8] 张晓庆, 穆怀彬, 侯向阳, 闫伟红, 李平, 李鹏, 苏佳楼. 我国青贮玉米种植及其产量与品质研究进展 [J].畜牧与饲料科学, 2013,34(1): 54-57.
- [9] 杨云贵, 陈志飞, 咎林森. 西北地区青贮玉米的生产现状、问题及对策 [J].中国牛业科学, 2016,42(4): 69-72.
- [10] 李德锋,姜义宝,付楠,郭玉霞,王成章,严学兵. 青贮玉米品种比较试验 [J]. 草地学报,
- [11] 袁勇,熊东红,校亮,吴汉,张素,苏正安,董一帆. 元谋干热河谷冲沟不同部位土壤质量评价 [J]. 西南农业学报, 2018, 31(10): 2165-72.
- [12] 戴声佩,李茂芬,罗红霞,刘海清. 川滇交界干热河谷地区农业气候资源特征 [J]. 热带作物学报, 2018, 39(6): 1225-1234.
- [13] 龙会英,张德,史亮涛,张明忠,何光雄,范建成. 元谋干热河谷优良牧草的利用现状与前景 [J]. 热带农业科学, 2014, 34(07): 46-50.
- [14] 周晓果,张正斌,徐萍.小麦主要育种目标的灰色系统方法探讨 [J].农业系统科学与综合研究, 2005,21(2):81-84.
- [15] 尹利,逯晓萍,傅晓峰,李美娜,郭建.高丹草杂交种灰色关联分析与评判 [J].中国草地学报,2006,28(3):21-25.
- [16] 韩启秀.运用灰色关联度对山东小麦新品种(系)综合表现的评价 [J].中国农学通报, 2005, 21(2):312-314.
- [17] 鲁雪林,王秀萍,张国新.早稻抗旱性评价指标研究 [J].中国农学通报,2006, 22(1):124-126.
- [18] 冀天会,张灿军,谢惠民,杨子光,郭军伟,孟丽梅,马雯.小麦品种抗旱性研究的产量鉴定指标的比较研究 [J].中国农学通报, 2006, 22(1):103-106.
- [19]吴永成,周顺利,王志敏.小麦与抗旱性有关的根系遗传改良研究进展 [J].麦类作物学报,2004,24(3):101-104.
- [20]杨墨,张新全,李向林,万里强,何峰.应用灰色关联度综合评价 17 个不同秋眠级苜蓿的生产性能[J].草业学报, 2009,18(5):67-72.
- [21]杨秀芳,陈玲玲,乌艳红,娜日苏,吕宁,梁庆伟.应用灰色关联度综合评价 26 个青贮玉米的生产性能 [J].草业科学, 2012,29(01):105-111.
- [22]李德明,张少平,耿小丽,张榕,刘乾. 12 个紫花苜蓿品种在半干旱地区的生产性能及营养价值[J].草业科学, 2018,35(6):1472-1479.
- [23]邓聚龙.灰色系统综述[J].世界科学, 1983,7 :1-5.
- [24]祁永红.灰色关联分析在青贮玉米品种综合评价中的应用[J].黑龙江八一农垦大学学报, 2007, 19(3):33-38.
- [25]单贵莲,薛世明,初晓辉. 6 种干草调制方法的灰色关联度综合评价[J].草业科学, 2008,25(7):36-40.
- [26]唐成斌,龙绍云.灰色系统理论在牧草引种上的应用初探[J].草业科学 1991,8 (6) :44-47.

# 菠萝 4 个 AcAP2 基因的克隆及表达分析

阮城城<sup>1,2</sup>, 陈哲<sup>1</sup>, 胡福初<sup>1</sup>, 王祥和<sup>1</sup>, 范鸿雁<sup>1</sup>, 吴凤芝<sup>1</sup>, 张治礼<sup>1\*</sup>

1. 海南省农业科学院热带果树研究所, 海南省热带果树生物学重点实验室, 农业部海口热带果树科学观测实验站, 海口, 571100; 2. 海南大学热带作物学院, 海口, 570228

**摘要** 【研究目的】从菠萝中克隆 AP2 基因, 在转录水平上探索其对乙烯利的响应情况, 研究他们在乙烯利诱导菠萝成花过程中发挥的作用。【方法】从菠萝基因组数据库中获得 AcAP2 基因全长序列, 通过 RT-PCR 技术克隆 AcAP2 基因; 借助多种生物信息学软件分析菠萝 AP2 基因及其蛋白信息; 利用 DNAMAN、MEGA6.0 软件分别进行序列比对和进化树构建; 通过 qRT-PCR 技术分析 AP2 基因在菠萝不同组织部位中对乙烯利的响应情况。【结果】克隆得到 4 个 AP2 家族基因, 分别命名为 *AcAP2-1*、*AcAP2-2*、*AcAP2-3*、*AcAP2-4*, 开放阅读框大小分别为 1353bp、1449bp、1368bp、1122bp, 均具有典型的 AP2 结构域。系统进化树表明 *AcAP2-1* 与油棕 *EgAP2-2*、海枣 *PdAP2* 的遗传距离较近; *AcAP2-2* 和 *AcAP2-3* 与蜻蜓凤梨 *AfAP2-1* 的遗传距离较近; *AcAP2-4* 与油棕 *EgAP2-5* 的遗传距离较近。实时荧光定量 PCR 分析表明, 叶片中 4 个 AcAP 基因整体呈现先下降后上升的表达趋势, 分别在乙烯利处理后 1d、6h、3h、1d 表达量达到最高; 茎尖中 4 个 AcAP 基因呈现先上升后下降的表达趋势, 分别在 6h、6h、6h、1d 表达量达到最高。【结论】成功克隆了 4 个 AcAP2 家族基因, *AcAP2-1*、*AcAP2-4* 与油棕的 AP2 成员在遗传距离上相近; *AcAP2-2*、*AcAP2-3* 与蜻蜓凤梨的 AP2 成员在遗传距离上相近; 乙烯利处理下这些基因均有不同程度的响应, 说明他们可能参与响应外源乙烯利信号诱导菠萝成花。

**关键词** 菠萝, AP2 基因, 成花, 乙烯利

## Cloning and expression analysis of four AcAP2 genes in pineapple Ruan

Chengcheng<sup>1,2</sup>, Chenzhe<sup>2</sup>, Nianyuwei<sup>3</sup>, Hu Fuchu<sup>2</sup>, Wang Xianghe<sup>2</sup>, Fan Hongyan<sup>2</sup>, Wu Fengzhi<sup>2</sup>, Zhang Zhili<sup>2\*</sup>

1. Institute of Tropical Fruit Trees, Hainan Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Tropical Fruit Tree Biology of Hainan Province, Haikou, Investigation Station of Tropical Fruit Trees of Ministry of Agriculture, 571100; 2. Institute of Tropical Crops, Hainan University, Haikou, 570228

**Abstract** 【OBJECTIVE】Cloning AP2 genes from pineapple, to study whether the genes response to ethephon at transcriptional level, and study their role in ethephon-induced flowering of pineapple. 【METHODS】The full-length sequence of AcAP2 gene was obtained from pineapple genome database, and AcAP2 gene was cloned by RT-PCR technology; the information of AP2 gene and its protein was analyzed by various bioinformatics softwares; sequence alignment and evolutionary tree construction were carried out by DNAMAN and MEGA6.0 software respectively; AP2 gene was analyzed by qRT-PCR technology. Response to ethephon in different tissues of pineapple. 【RESULTS】Four AP2 family genes were cloned and named *AcAP2-1*, *AcAP2-2*, *AcAP2-3* and *AcAP2-4*. The size of open reading frame was 1353 bp, 1449 bp, 1368 bp and 1122 bp, respectively. All of them had typical AP2 domain. Phylogenetic tree showed that *AcAP2-1* was close to *Elaeis guineensis EgAP2-2* and *Phoenix dactylifera PdAP2*; *AcAP2-2* and *AcAP2-3* were close to *Aechmea fasciata AfAP2-1*; *AcAP2-4* was close to *Elaeis guineensis EgAP2-5*. Real-time fluorescence quantitative PCR analysis showed that the expression of four AcAP genes in leaves decreased first and then increased, reaching the highest level at 1d, 6h, 3h and 1d after ethephon treatment, while the expression of four AcAP genes in shoot tips increased first and then decreased, reaching the highest level at 6h, 6h, 6h and 1d, respectively. 【CONCLUSION】Four genes of AcAP2 family were cloned successfully, and the genetic distances of *AcAP2-1*, *AcAP2-4* were similar with AP2 members of *Elaeis guineensis*; *AcAP2-2*, *AcAP2-3* were similar with AP2 members of *Aechmea fasciata* in genetic distances; these genes responded to different degrees under ethephon treatment, suggesting that they might be involved in responding to exogenous ethephon signals to induce pineapple flowering.

**Keywords** Pineapple, AP2 gene, Flowering, Ethylene

## 引言

AP2/EREBP 转录因子家族包含特有的 AP2/EREBP 结构域, 根据 AP2/EREBP 结构域的个数及其他结构域的类型划分为 DREB 亚家族、ERF 亚家族、RAV 亚家族、AP2 亚家族。只含有一个 AP2/EREBP 结构域的被归为 DREB 或者 ERF 亚家族, 根据结构域中某个氨基酸的差异进行区分; 含有一个 B3 结构域和一个 AP2/EREBP 结构域的归为 RAV 亚家族; 含有两个 AP2/EREBP 结构域的归为 AP2 亚家族, 根据结构域氨基酸及核定位序列的差异进一步细分为 AP2 族和 ANT 族<sup>[1-2]</sup>。

目前为止, AP2 转录因子家族已经进行了广泛的研究, 陆续从多种植物中克隆得到 AP2 转录因子。DREB 亚家族基因主要参与非生物胁迫的响应, 在拟南芥中超表达 LIDREB1G 基因使植株获得较强的耐热性、抗冻性和抗旱能力<sup>[3]</sup>。ERF 亚家族基因作为各种压力响应的关键调节器不仅响应脱落酸、乙烯等激素, 还响应油菜素内酯、细胞分裂素、赤霉素等发育相关的植物激素<sup>[4]</sup>。RAV 亚家族基因能够通过抑制 FT、GAs 的表达来推迟开花, 同时也在病原体感染、低温、脱水、高盐和渗透胁迫等情况下产生响应<sup>[5]</sup>。AP2 亚家族与萼片

**基金项目** 海南省科协青年科技英才学术创新计划项目 (QCXM201803); 国家自然科学基金项目 (31260460); 海南省农业科学院农业科技创新专项; 国家自然科学基金项目 (31960589)

**作者简介** 阮城城, 男, 1994 年生, 硕士研究生, 研究方向: 植物分子生物学。E-mail: ccruanhn@163.com

**\*通讯作者** Author for correspondence. Tel: 0898-65230551, E-mail: zzl\_haas@163.com

和花瓣的形成密切相关, 缺失该基因, 则萼片和花瓣不能正常发育; AP2 基因不仅具有抑制成花的作用, 根据顺式调节元件分析显示 euAP2 基因参与了对光、激素、压力和发育过程的反应, 包括昼夜节律控制、胚乳和分生组织表达<sup>[6-7]</sup>。

自然生长条件下, 不同菠萝植株开花时间有所差异。实际生产中, 经常外施乙烯利或者乙炔来增加开花整齐度, 从而提高种植效益<sup>[8]</sup>。乙烯利能够诱导菠萝成花, 然而相关分子机理却鲜有报道。本研究借助菠萝基因组数据库, 成功克隆了 4 个 AcAP2 基因, 分别命名为 *AcAP2-1*、*AcAP2-2*、*AcAP2-3*、*AcAP2-4*, 并研究其在乙烯利处理后的表达情况。为菠萝 AP2 基因在乙烯利诱导菠萝成花的功能定位奠定了基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

菠萝杂交品种‘台农 16 号’栽培于海南省澄迈县美亭村菠萝种植基地, 常规管理。300 倍液 40% 乙烯利灌心处理诱导菠萝成花<sup>[9]</sup>, 处理后 1h、3h、6h、1d、6d 分别采样, 包括叶和茎尖等部位或组织, 液氮速冻后于 -80 °C 冰箱保存备用。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 AcAP2 基因克隆

采用华越洋植物通用 RNA 提取试剂盒提取叶片总 RNA, Thermo Fisher 逆转录试剂盒反转录 cDNA。

借助菠萝基因组数据库, 得到 4 个 AP2 基因序列信息, 以此为基础设计引物 (表 1) 用于扩增菠萝 AP2 基因 cDNA。PCR 扩增程序: 94°C 变性 5min 后, 设定 94°C 30s; 57°C 30s; 72°C 30s 程序进行 32 个循环, 72°C 延伸 10min, 凝胶分析扩增结果。引物合成和测序由天一辉远公司完成。

#### 1.2.2 序列分析、蛋白结构预测及系统进化树的构建

运用 NCBI 提供的 BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 在线软件程序对测序结果进行检索; 用 NCBI 中的 ORF Finder (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/>) 分析 AcAP2 基因编码区; 用在线软件 ProtParam (<http://web.expasy.org/protparam/>) 对蛋白质量、等电点等进行预测分析; 用 GOV IV (<http://npsa-prabi.ibcp.fr>) 分析蛋白二级结构; 用 NCBI 数据库 Blastp 在线查找该基因蛋白序列的不同物种同源蛋白序列, 并应用 DNAMAN6.06 进行多序列同源性对比分析, 利用 MEGA6.0 构建系统进化树。

#### 1.2.3 实时荧光定量 PCR 分析

以总 RNA 反转录后的 cDNA 为模板, *EF1* 为内参基因<sup>[10]</sup>, 进行实时荧光定量 PCR 分析。该反应在 LightCycler480 实时荧光定量 PCR 仪上进行。实时荧光定量 PCR 的反应体系为 10μL, 包括 1μL cDNA, 5μL SYBR Green I Master, 10μmol/L 的正反向引物各 0.5μL, 3μLddH<sub>2</sub>O。数据采用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 法<sup>[11]</sup>进行相对定量分析, 利用 Excel、GraphPad Prism 5.0 等软件进行统计学分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 菠萝 AcAP2 基因的克隆与序列分析

从菠萝叶中克隆了 4 个 AcAP2 基因全长, 引物见 (表 1), 分别命名为 *AcAP2-1*、*AcAP2-2*、*AcAP2-3*、*AcAP2-4* (图 1)。序列分析结果显示 4 个 AcAP2 基因的开放阅读框大小分别为 1353bp、1449bp、1368bp、1122bp, 分别编码 450、483、455、373 个氨基酸。

GOR IV 预测发现, *AcAP2-1* 蛋白的无规则卷曲、α 螺旋和延伸链所占比例分别是 57.78%、25.78% 和 16.44%; *AcAP2-2* 蛋白的无规则卷曲、α 螺旋和延伸链所占比例分别是 56.31%、28.36%、15.32%; *AcAP2-3* 蛋白的无规则卷曲、α 螺旋和延伸链所占比例分别是 57.80%、27.91%、14.29%; *AcAP2-4* 蛋白的无规则卷曲、α 螺旋和延伸链所占比例分别是 45.31%、41.82%、12.87%。利用 Protparam 软件, 对 AcAP2 蛋白质序列的理化性质进行了预测。结果显示, 4 个 AcAP2 蛋白理论等电点(pI)分别为 6.17、6.62、6.47、8.87; 脂系数分别为 58.00、63.73、58.62、62.12, 都为亲脂蛋白 (表 2)。

表 1 克隆及实时荧光定量 PCR 分析引物表  
Table 1 The table of primer for clone and qPCR

| 目的基因名称<br>Target name | 引物序列 (5'→3')<br>Primer sequences (5'→3') | 用途<br>application                          |
|-----------------------|--|--|
| AcAP2-1-F             | ATGGTGTGGATCTCAATGTGG                    | AcAP2-1 基因的 cDNA 扩增引物                      |
| AcAP2-1-R             | TTAGCTCCTGTAGTAGTAGCAATAG                | DNA amplification primers of AcAP2-1 gene  |
| AcAP2-2-F             | ATGATGCTCGATCTGAACATGG                   | AcAP2-2 基因的 cDNA 扩增引物                      |
| AcAP2-2-R             | TCAGCTCTTGAAGAAATTCAAAAG                 | DNA amplification primers of AcAP2-2 gene  |
| AcAP2-3-F             | ATGGTGGGCGAGAGTGGG                       | AcAP2-3 基因的 cDNA 扩增引物                      |
| AcAP2-3-R             | TTAGCTCTTGAAGAGTAAGTGGATG                | DNA amplification primers of AcAP2-3 gene  |
| AcAP2-4-F             | ATGGAGAAAGAGGAAGCCACTG                   | AcAP2-4 基因的 cDNA 扩增引物                      |
| AcAP2-4-R             | CTACCCACTTGGCGAAAACCTG                   | DNA amplification primers of AcAP2-4 gene  |
| EF1-F                 | GATTCGTCAAGATGGTTCTACTA                  | 荧光定量内参基因引物                                 |
| EF1-R                 | CTTCTTCTCGACACTCTTGATAAC                 | internal reference gene primers of qRT-PCR |

|            |                       |  |
|------------|-----------------------|--|
| qAcAP2-1-F | GCGATTAAGTTTCGAGGGGT  | 荧光定量 AcAP2-1 基因引物                      |
| qAcAP2-1-R | CTTTGACGGCGAAGTATGTGT | <i>AcAP2-1</i> Gene Primers of qRT-PCR |
| qAcAP2-2-F | ACCTGTCATCCAAAGTCCGAA | 荧光定量 AcAP2-2 基因引物                      |
| qAcAP2-2-R | TGGCTCTTTCCTCACTAGCAG | <i>AcAP2-2</i> Gene Primers of qRT-PCR |
| qAcAP2-3-F | AACCAGTTTCCCCTACTCTG  | 荧光定量 AcAP2-3 基因引物                      |
| qAcAP2-3-R | GTCAGAAGTTTCCTTGCCCT  | <i>AcAP2-3</i> Gene Primers of qRT-PCR |
| qAcAP2-4-F | GCAATCAAGTTTCGTGGGGTC | 荧光定量 AcAP2-4 基因引物                      |
| qAcAP2-4-R | TGTCGCCGAGTAGCTGA     | <i>AcAP2-4</i> Gene Primers of qRT-PCR |

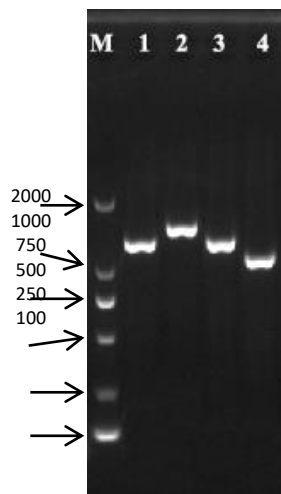


图 1 AcAP2 基因 CDS 全长克隆

注: M: DL2000 Marker; 1: *AcAP2-1*; 2: *AcAP2-2*; 3: *AcAP2-3*; 4: *AcAP2-4*

Fig. 1 Full-length Cloning of AcAP2 Genes CDS

Note: M: DL2000 Marker; 1: *AcAP2-1*; 2: *AcAP2-2*; 3: *AcAP2-3*; 4: *AcAP2-4*.

表 2 AcAP2 基因及蛋白信息

Table 2 AcAP2 Genes and Protein Information

| 基因名称<br>Gene name | 开放阅读框<br>ORF(bp) | 蛋白大小<br>Proteinsize<br>(aa) | 分子量<br>MW (Da) | 等电点<br>PI | 折叠延伸链<br>Folding extension<br>chain | 无规则卷曲<br>Irregular curl | α 螺旋<br>Alpha<br>helix | 脂肪系数<br>Aliphatic index |
|-------------------|------------------|-----------------------------|----------------|-----------|-------------------------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|
| AcAP2-1           | 1353             | 450                         | 49880.33       | 6.17      | 16.44%                              | 57.78%                  | 25.78%                 | 58.00                   |
| AcAP2-2           | 1449             | 483                         | 53488.56       | 6.62      | 15.32%                              | 56.31%                  | 28.36%                 | 63.73                   |
| AcAP2-3           | 1368             | 455                         | 49612.69       | 6.47      | 14.29%                              | 57.80%                  | 27.91%                 | 58.62                   |
| AcAP2-4           | 1122             | 373                         | 42151.19       | 8.87      | 12.87%                              | 45.31%                  | 41.82%                 | 62.12                   |

## 2.2 菠萝 AcAP2 同源性分析

序列分析发现 4 个 AcAP2 基因含有两个 AP2/EREBP 结构域, 属于 AP2 亚家族基因 (图 2)。为研究 4 个 AcAP2 基因的进化关系, 选取了 21 个与 AcAP2 蛋白同源性较高的其他植物的 FT 氨基酸序列。结果表明, *AcAP2-1* 与油棕 *EgAP2-2*、海枣 *PdAP2* 的遗传距离较近; *AcAP2* 和 *AcAP3* 与蜻蜓凤梨 *AfAP2-1* 的遗传距离较近; *AcAP2-4* 与油棕 *EgAP2-5* 的遗传距离较近 (图 3)。





(XM\_019846663.2);VvAP2: *Vitis vinifera* (NM\_001280952.1);AtAP2: *Arabidopsis thaliana* (NM\_001204009.1);GmAP2: *Glycine max* (XM\_014775566.2);ZmAP2: *Zea mays* (XM\_008653600.3);MdAP2: *Malus domestica* (KC415239.1);CaAP2: *Capsicum annuum* (KM594389.1);PsAP2: *Paeonia suffruticosa* (HQ222889.1);PmAP2: *Prunus mume* (KP405836.1);Mi: *Mangifera indica* (MH759782.1);GbAP2: *Ginkgo biloba* (MF422072.1);PIAP2: *Paeonia lactiflora* (KC455454.1)。下同

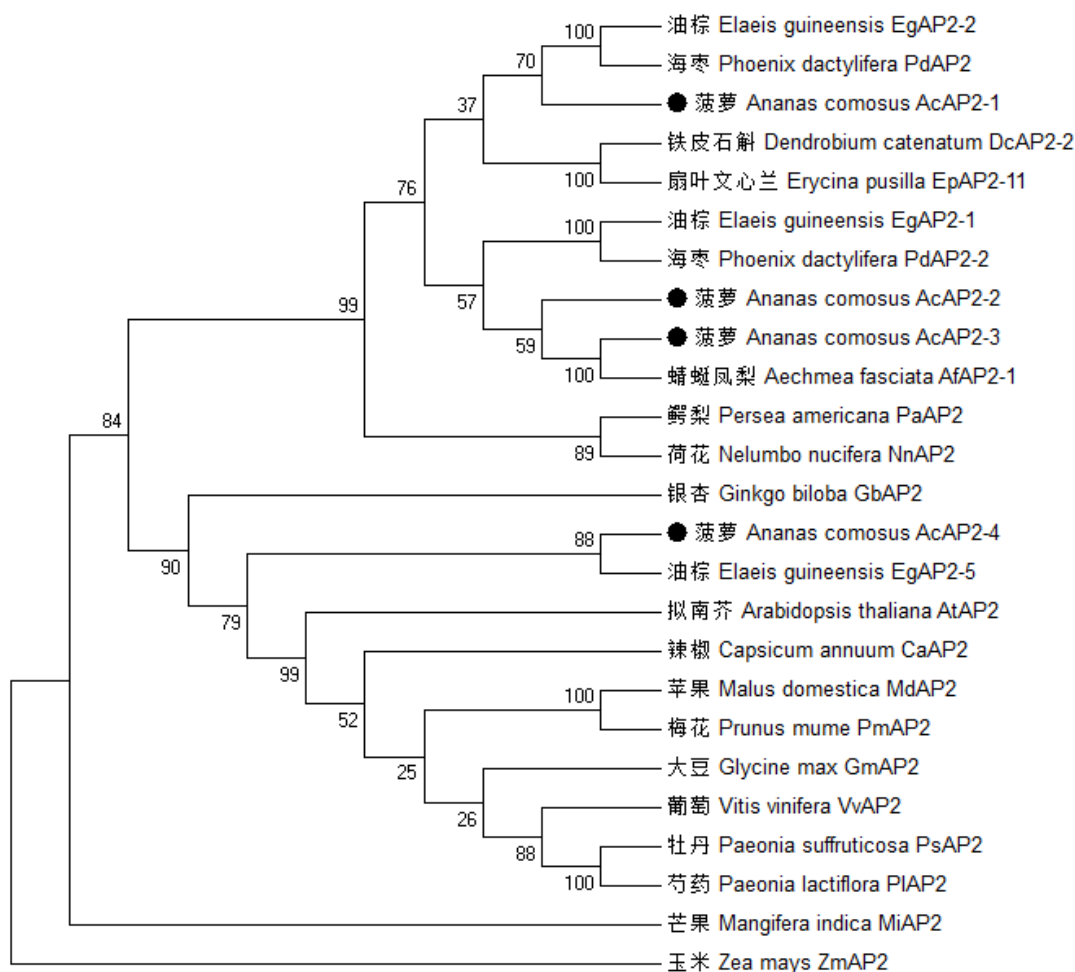


图3 菠萝 *AcAP2* 与其他物种 AP2 蛋白遗传进化树分析

Fig. 3 Analysis of genetic evolution tree of *AcAP2* in pineapple and AP2 protein of other species

### 2.3 菠萝 *AcFT* 基因的表达分析

乙烯利处理后, 菠萝 4 个 *AcAP2* 基因除 *AcAP2-3* 外, 在叶中整体呈现先降低后升高的表达趋势, 4 个 *AcAP2* 基因的相对表达水平分别在乙烯利处理后 1d、6h、3h、1d 达到峰值, 分别为对照的 3、4、20、4 倍 (图 4 A)。菠萝 4 个 *AcAP2* 基因在茎尖中整体呈现先升高后降低的趋势, 4 个 *AcAP2* 基因的相对表达水平分别在乙烯利处理后 6h、6h、6h、1d 达到峰值, 分别为对照的 11、8、95、65 倍。

菠萝 4 个 *AcAP2* 基因在乙烯利处理后的表达水平均有不同程度的上升, 其中 *AcAP2-3* 的表达趋势更为显著, 我们推测, 菠萝 4 个 *AcAP2* 基因可能参与响应外源乙烯利信号诱导菠萝成花。

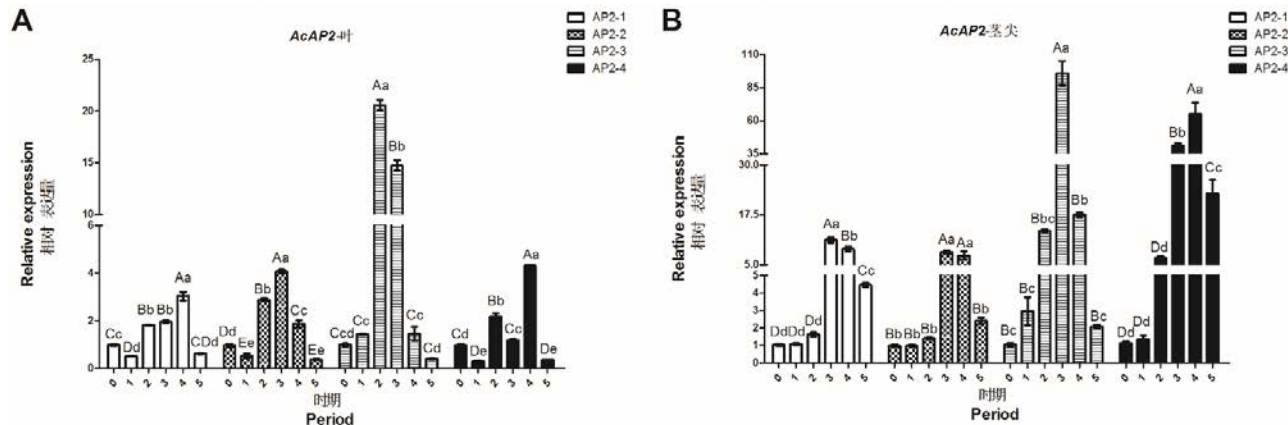


图4 乙烯利处理后 4 个菠萝 *AcAP2* 基因的表达

注: 0: 对照; 1: 乙烯利处理 1 h; 2: 乙烯利处理 3 h; 3: 乙烯利处理 6 h; 4: 乙烯利处理 1 d; 5: 乙烯利处理 6 d; 大写字母表示 0.01 水平显著性差异, 小写字母表示 0.05 水平显著性差异。

Fig.4 Expression of four *AcAP2* genes in pineapple after ethephon treatment

Note: 0: control; 1: 1 h after ethephon treatment; 2: 3 h after ethephon treatment; 3: 6 h after ethephon treatment; 4: 1 d after ethephon treatment; 5: 6 d after ethephon treatment; Capital letters indicate significant difference at 0.01, and normal letters indicate significant difference at 0.05.

### 3 讨论

繁衍是生物进化过程中最关键的一部分,植物开花是植物繁衍最重要的一环。AP2 转录因子家族在植物开花过程中扮演着重要的角色,在 ABCDE 模型中,AP2 基因对花瓣和萼片的形成具有重要的作用<sup>[12]</sup>。自从 1994 年 AP2 基因首次在拟南芥中被报道以来<sup>[13]</sup>,AP2 转录因子家族已经被划分为四个亚家族: DREB 亚家族、ERF 亚家族、RAV 亚家族、AP2 亚家族,其中具有两个 AP2/EREBP 结构域的划分为 AP2 亚家族。本研究通过对菠萝基因组数据分析并设计引物,通过 RT-PCR 技术从菠萝中克隆出跟开花相关的基因,分别命名为 *AcAP2-1*、*AcAP2-2*、*AcAP2-3*、*AcAP2-4*。这四个基因都含有两个 AP2/EREBP 结构域,可能属于 AP2 亚家族并发挥着这一亚家族类似的功能。拟南芥中 miRNA172 通过下调具有开花抑制功能的 AP2 基因从而调节开花时间<sup>[4]</sup>。AfAP2-1 基因与拟南芥的 *AP2 RAP2.7* 亲缘关系较近,并且猜测 AfAP2-1 基因可能受 *miRNA172* 调控参与开花调控<sup>[5]</sup>。通过进化树分析,发现 *AcAP2-3* 基因与蜻蜓凤梨的 AfAP2-1 基因的亲缘关系较近,因此 miRNA172 也可能调控 *AcAP2-3* 基因参与开花调控。

Patil 认为大麦中 miRNA172 抑制 AP2 基因的表达并通过调节茉莉酸途径提高赤霉素的含量从而促进开花期间的茎生长<sup>[6]</sup>。白桦 *BpAP2* 的启动子元件分析显示其具有光响应元件、涉及脱落酸、VP1 蛋白、茉莉酸甲酯、赤霉素、分生组织表达、低温等相关的顺式响应元件,在拟南芥和白桦的营养器官和生殖器官中均有不同程度的转录活性<sup>[7]</sup>。本研究中,乙烯利处理后,菠萝四个 *AcAP2* 基因在叶和茎尖中均有不同程度的上调,我们推测 *AcAP2* 基因的启动子区域可能存在乙烯相关的顺式响应元件并通过某一途径响应乙烯利诱导菠萝成花。在外源乙烯处理的植株中,蜻蜓凤梨 *AfAP2-1* 转录水平迅速而短暂地降低,*AfAP2-1* 在拟南芥中的过表达导致极迟开花表型<sup>[8]</sup>。最终推测 *AfAP2-1* 响应乙烯,是一个通过年龄途径的开花调节因子。本研究中 *AcAP2-3* 的同源性 with *AfAP2-1* 高达 95%,我们推测 *AcAP2-3* 也可能作为年龄途径的开花调节因子响应乙烯利诱导菠萝成花。综上所述,4 个菠萝 *AcAP2* 基因可能在响应乙烯利诱导菠萝成花的过程中具有一定的作用。

#### 参考文献

- [1] 高春艳, 吴芮, 袁玉, 刘同玥, 任莉萍. 植物 AP2/ERF 转录因子及其在非生物胁迫应答中的作用[J]. 江汉大学学报(自然科学版), 2017, 45(03): 236-240.
- [2] 张妍. 白桦花发育相关基因 *AP2* 和 *LTP* 的分离及其转录表达[D]. 东北林业大学, 2012.
- [3] Liu B J, Zhou Y, Lan W, Zhou Q, Li F, Chen F, Bao M Z, Liu G F. LIDREB1G, a novel DREB subfamily gene from *Lilium longiflorum*, can enhance transgenic Arabidopsis tolerance to multiple abiotic stresses[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2019, doi:10.1007/s11240-019-01644-0.
- [4] Yin Y H, Xie Z L, Nolan T M, Jiang H. AP2/ERF Transcription Factor Regulatory Networks in Hormone and Abiotic Stress Responses in Arabidopsis[J]. 2019, doi:10.3389/fpls.2019.00228.
- [5] Luis M H, Andrea E J, Esther M G, Paula S L, Soraya P. RAV genes: regulation of floral induction and beyond[J]. Annals of Botany, 2014, 114(7):1459-1470.
- [6] Litt A. An Evaluation of A Function: Evidence from the *APETALA1* and *APETALA2* Gene Lineages[J]. International Journal of Plant Sciences, 2007, 168(1):73-91.
- [7] Wang T Y, Ping X K, Cao Y R, Jian H J, Gao Y M, Wang J, Tan T C, Xu X F, Lu K, Li J N, Liu L Z. Genome-wide exploration and characterization of miR172/euAP2 genes in *Brassica napus* L. for likely role in flower organ development[J]. 2019, 19(1):336.
- [8] 张治礼, 范鸿雁, 华敏, 何凡. 菠萝开花诱导及其生理与分子基础[J]. 热带作物学报, 2012, 33(5): 950-955.
- [9] 华敏, 王祥和, 何凡, 范鸿雁, 何舒, 罗革彬. 台农 16 号菠萝催花试验[J]. 中国南方果树, 2009, 38(04): 49-51.
- [10] 李瑞雪, 余三淼, 李夏, 熊颖媛, 蔺珍, 唐琰琪, 马均. 红苞凤梨实时荧光定量 PCR 分析中内参基因的筛选[J]. 热带亚热带植物学报, 2017, 25(03): 250-256.
- [11] Livak K J and Schmittgen T D. Analysis of Relative Gene Expression Data Using RealTime Quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  Method[J]. Methods, 2001, 25(4):402-408.
- [12] 吴彦庆, 成梦琳, 赵大球, 陶俊. 芍药分生组织决定基因 *APETALA2(AP2)* 的克隆及生物信息学分析[J]. 华北农学报, 2017, 32(03): 58-64.
- [13] Jofuku K D, Montagu M V, Okamura J K. Control of Arabidopsis flower and seed development by the homeotic gene *APELATA2*[J]. Plant Cell, 1994, 6 (9): 1211-1225.
- [14] Aukerman M J and Sakai H. Regulation of Flowering Time and Floral Organ Identity by a MicroRNA and Its *APETALA2-Like* Target Genes[J]. The plant cell, 2003, 15(11): 2730-2741.
- [15] 张静, 张学全, 李志英, 雷明, 徐立. 蜻蜓凤梨 AfAP2-1 基因的克隆与表达载体构建[J]. 分子植物育种, 2015, 13 (06):

1276-1282.

- [16] Patil V, McDermott H I, McAllister T, Cummins M, Silva J C, Mollison E, Meikle R, Morris J, Hedley P E, Waugh R, Dockter C, Hansson M, and McKim S M. *APETALA2* control of barley internode elongation[J]. *Development*, 2019, doi:10.1242/dev.170373.
- [17] 赵桐, 胡晓晴, 朱德财, 田晶, 辛琪琪, 刘雪梅. 白桦 *APETALA2* 基因启动子的克隆及其表达分析[J]. *植物研究*, 2018, 38(04): 535-542.
- [18] Lei M, Li Z Y, Wang J B, Fu Y L, Ao M F and Xu L. *AfAP2-1*, An Age-Dependent Gene of *Aechmea fasciata*, Responds to Exogenous Ethylene Treatment[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2016, 17(3):303.

# 雷州半岛种植茶叶中多种措施综合使用成效的浅探

陈孔华

湛江广垦雄鹰茶业有限公司

**摘要** 我们于雷州半岛种植茶叶多年，在种植中，为了提高茶苗的成活率，综合使用了包含滴灌、膜下喷管、膜上淋灌，种植行间遮阴树、采用地膜覆盖等多种综合措施，积极探索了在雷州半岛茶叶种植的综合措施的有效性以及对茶树成活率、种植成本、等方面的分析。

华海公司自 2002 年起，先后种植了福鼎大白、金萱、英红九号、鸿雁 12 号、白芽奇兰等多种茶叶品种，合计约 500 亩。先后采取了多种种植综合措施，试图探索一些适合当地种植茶树的综合性措施，确保茶苗的成活率，并达到降低资源损耗，降低人工投入，降低成本的多种措施或方法。

雷州半岛土壤类型：砖红壤。PH 值 4.5-6.5，雷州半岛徐闻县属热带季风气候，年平均温度 23.3℃，全年降雨毫米 1300-1800 毫米。丰水季节（7-9 月）7—9 月份降雨占全年的 70%，东北部多年平均雨量在 1795 毫米左右，西南沿海多年平均降雨量 1364.1 毫米，多年平均径流深 466 毫米，地表径流量 6.9 亿立方米。

## 一、种植时间、节水灌溉对成活率的影响

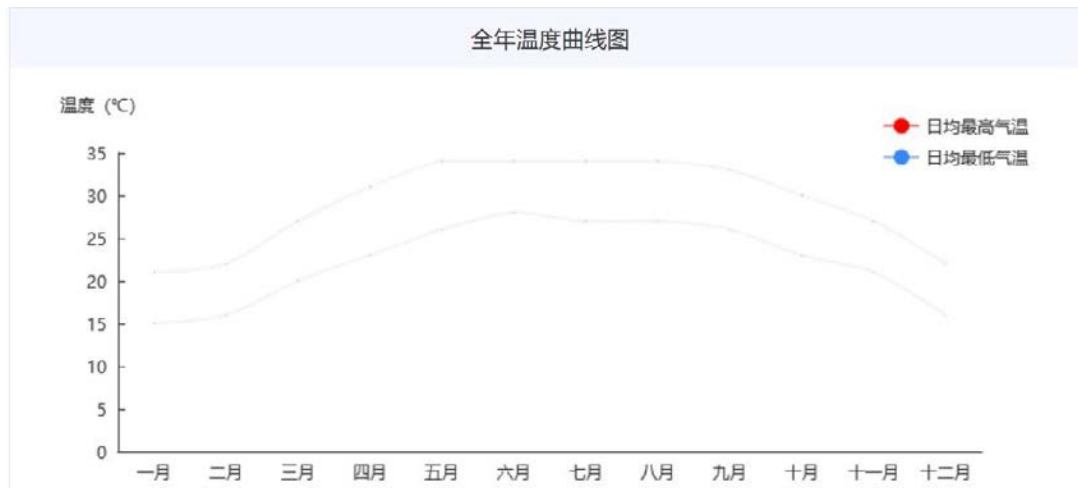
自从节水灌溉技术推广以来，公司就茶叶种植中就便利许多。

2009 年-2010 年公司种植了 100 亩金萱茶、100 亩福鼎大白、金观音，就采用了滴管及喷管技术；2012 年种植了福鼎大白、金萱、鸿雁十二等品种，则全部采用喷灌技术了。

种植时间对种植成活率的影响。

月平均气温表：

| 徐闻县日均气温表 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |      |  |
|----------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|------|------|--|
| 月份       | 1月份 | 2月份 | 3月份 | 4月份 | 5月份 | 6月份 | 7月份 | 8月份 | 9月份 | 10月份 | 11月份 | 12月份 |  |
| 日均最高气    | 21  | 22  | 27  | 31  | 34  | 34  | 34  | 34  | 33  | 30   | 27   | 22   |  |
| 日均最低气    | 15  | 16  | 20  | 23  | 26  | 28  | 27  | 27  | 26  | 23   | 21   | 16   |  |



公司曾经尝试了在 10 月到次年的 2 月中的各个月份种植茶叶，尽管品种所差异，但从成活率看，种植时间优次顺序为：11 月、12 月、10 月、1 月、2 月。

茶树为树冠和树根交替生长的植物，在雷州半岛，10 月份之后，到次年 2 月份都是茶树树根生长相对旺盛的季节。但是往往元旦之后，气温变得较低，茶树整个植株变得生长缓慢。1 月是气温最低的月份。也是茶树在整个年度中生长最为迟缓的月份，甚至会因为低温而停止生长。2 月是气温相对回暖，气温还是比较高的月份，茶树在这个月中生长也快。但是在 5 月前，根系的生长时间，却是 2 月种植的生长时间最短，在 5 月前难以形成强有力的吸收根，影响了夏季来临的时候的抗旱能力。徐闻县 4 月份蒸发量开始变大直至 7 月份进入峰值。因此，在 5 月份到来时，能够保证茶树的吸水能力变得十分重要。湛江市包括徐闻县的月度蒸发量见下表：

陈孔华，1969 年 9 月出生，性别：男，职称：高级热作工程师，联系方式：地址，广东省湛江市徐闻县海鸥农场，联系电话：13827187623。

湛江市蒸发代表站平均水面蒸发量月分配

| 县、区 | 多年平均月水面蒸发量/mm |      |      |      |       |       |       |       |       |       |      |      | 多年平均水面蒸发量/mm |
|-----|---------------|------|------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|------|--------------|
|     | 1月            | 2月   | 3月   | 4月   | 5月    | 6月    | 7月    | 8月    | 9月    | 10月   | 11月  | 12月  |              |
| 市区  | 61.8          | 45.4 | 56.6 | 75.6 | 106.3 | 118.3 | 131.1 | 114.6 | 115.5 | 116.1 | 94.7 | 76.6 | 1111.6       |
| 吴川  | 68.2          | 52.6 | 67.8 | 78.4 | 103.3 | 110.6 | 124.7 | 116.5 | 112.3 | 113.7 | 94.5 | 78.8 | 1121.4       |
| 徐闻  | 62            | 54.5 | 84.4 | 105  | 128.9 | 135.3 | 144.6 | 120.9 | 98.3  | 98.8  | 83.4 | 70.5 | 1186.8       |
| 雷州  | 64.8          | 52.5 | 68.6 | 90.6 | 117.7 | 124.1 | 134.3 | 119.6 | 109.7 | 105.4 | 88.6 | 75.9 | 1151.7       |
| 遂溪  | 63.4          | 49.8 | 65.1 | 86   | 109.6 | 115.5 | 128.5 | 116.9 | 113.7 | 113.3 | 92.8 | 76   | 1130.6       |
| 廉江  | 62.1          | 47.4 | 57.5 | 71.8 | 94.3  | 97.4  | 104.3 | 103.3 | 106.5 | 104.7 | 88.3 | 74.1 | 1011.8       |

在 2014 年，公司曾经于 2 月份种植茶叶（扦插苗），由于茶树种得迟，遮阴树也没赶得上，所种下的幼苗也每天淋水，为了增加空气湿度，特地采取了膜面喷灌的办法，但在 5 月份也没能抵得过高温曝晒，最终幼苗所剩不多，称为惨痛的教训。

经过多年的茶树种植实践发现，茶树种植最好在 12 月份之前，过了春节，就不要再种了。

## 二、茶树苗龄对种植成活率的影响

种植扦插裸根苗，应当采取一年苗比较合适，大苗在移植时根系会受伤比较严重，而且大苗在接下来的生长中对水分的要求比较高，从而又加重了对根系的要求。在 2010 年引种金萱茶时，就有一部分的苗相对比较老，大概是一年半的苗，都有 40 公分高，在接下来的，只有 60% 的成活率，次年还补了不少苗，才勉强成园。如果是袋装营养土扦插苗则另当别论，只要营养袋足够大足够深，那么大苗种植是明显提高成活率的，例如潮汕地区的山地就经常采用大苗种植，而且成活率也高，只要是根系发育好，并且根系也保护得好，茶苗成活率就高。

## 三、种植遮阴作物对茶苗成活率的影响

行间种植遮阴作物对茶树的成活率影响至关重要，尤其是种植性系的扦插苗。公司习惯采取种植木豆的方式为茶树提供遮阴，木豆生长快，耐瘠耐旱，也是绿肥之一。一般在立春前后种下。缺乏遮阴树的茶苗，成活率将大打折扣，前文所说，徐闻的气候比较恶劣，在夏季温度高，蒸发量大，种好遮阴树是至关重要。一般要求每亩种植木豆种子 250 克，约 2 米种植一窝，2-3 粒种子，植于茶行边。2003 年曾经种植 50 亩金萱，由于遮阴树密度不够，5 米 1 株，造成茶苗成活率不足，只有 27 亩成园，遮阴不足造成的。

但过度遮阴亦会影响茶树的生长，主要体现在 7、8、9 几个月，由于遮阴的木豆已经长大，如果种的过于荫蔽，茶树接触不到充足的阳光，将对茶树造成比较大的影响，造成植株幼小，植株茎秆细小，生长不旺盛。2014 年就有 23 亩茶树由于种植的木豆过于荫蔽，又不及时修整木豆，直到 9 月才剪去部分木豆枝叶，增加阳光照射，但已经相对较迟了，比正常生长的茶树矮 20 多公分，同时枝条弱小，分枝少，成园推迟了大半年。

## 四、地势与灌溉方式的选择

灌溉在茶树种植中是必不可少的，如何为茶树植株提供足够的水分，成为种植者必须考虑的问题。地势对茶树灌溉造成了较大影响。如果灌溉方式选择不恰当，将造成灌溉用水多，用工多，效果差的情况出现。一般来说，植茶地会选择地势平坦，土地肥沃的园地作为茶地，但是，并非所有的土地都具备这样的条件，有时也要在条件比较恶劣的地块种植茶树，那么在这种地块种植茶最好选择使用滴灌进行灌溉，特别是地势不规则，像马鞍形、散坡形、龟背形或者坡度较大（超过 8° 的）的地块，就应当使用滴灌进行灌溉，滴管的优点是压力高、出水均匀、输送距离远等特点。如果使用喷管，就会出现灌溉管内出水压力不均匀，出水也不均匀，出现有的区段水量大，有的区段没水出，影响灌溉的均匀性及降低灌溉效率，也浪费水也浪费人工，效果也不好，最终影响了成活率。

2012 年，曾经在坡度较大的坡地种植茶树，当时为了安装方便及节省灌溉设施的费用，而采用了喷灌。由于地势高低不平，造成灌溉管中不同高度的水压落差较大，灌溉不够均匀。在地势高的位置和灌溉管的尾部出现大面积的灌溉不足，后虽然采取了增加灌溉时间，同时也减少轮灌灌溉面积，以确保灌溉质量，但该地块的成活率明显比不上地势平坦的地块。成活率低 10% 以上，后来该地块专门补植了两次茶苗，才把苗补齐。

灌溉方式的不同与对水质的要求。灌溉水质对灌溉的影响。灌溉水质这里主要是含杂的情况，比如含有比较多的泥沙，那就要采取淋灌或者安装过滤器，把泥沙滤掉，否则会堵死滴灌管的出水口，形成部分茶行得不到灌溉，而出现灌溉不足，影响茶树生长。

灌溉方式对灌溉效果的影响。经过多年的实践，有条件的就是要选择膜下滴灌，再次就选择膜下喷灌，最后才选择膜面喷灌。膜下滴灌，最大的干扰是地下害虫，像天牛类害虫，会直接咬穿滴灌，形成滴灌漏水，断管断水等问题，处理起来比较费劲，断管可以接，一般在膜下比较难发现准确的漏水口或断管处，对驳接滴灌造成一定的困难。滴灌灌溉速度慢，费时，但均匀。喷灌，灌溉速度快，水流量大，浪费水。一般要根据资源条件、地势及种植面积综合考虑采用的灌溉方式。滴管的要采取膜下滴灌，按设备的灌溉能力进行分区灌溉。喷灌的话，也要要对地块进行分区分组灌溉，一般可以 6-9 条喷灌带组成一组，单独控制灌溉，保

证每一行，每一株都可以得到有效灌溉。一般采取膜下灌溉比较好，即使观察灌溉情况难一些，总比浪费水源好，而且由于膜下喷灌，水控制在膜内膜下，未盖地膜周围的土壤水分少，不利杂草生长，草害少，有利于控制草害，减少除草次数，降低除草难度。膜面灌溉的优点是方便观察，茶苗有没得到足够的灌溉，一目了然。同时出现管道破损、接口脱落，亦便于维修，比较直观。喷灌对灌溉比较直接的就是可以直接浇灌到茶树叶面，增加茶苗的水分，减少茶苗的蒸发量，降低茶苗的对根系吸水的依赖，适当增加茶苗的抗旱能力。

## 五、苗期盖膜优点

苗期盖膜有防草、保水作用，减少灌溉水量及次数，节省了资源及成本。至少节省一倍以上的灌溉水及人工，同时大大减少草害，除草次数由每年8次减少到每年4次，而且除草面积及除草量大幅降低，大大降低了除草成本。除草膜应用80公分宽度黑膜，植后盖膜，后先盖膜后种植都可以，以方便为宜。追施肥料时，可采取水肥一体化进行施用或者，用针式打孔施肥机，用施肥针把地膜刺透，把肥施至膜下土壤里，达到施肥的目的。

## 六、自然灾害对茶叶种植的影响

自然灾害对茶树的影响。雷州半岛受自然灾害比较严重，大雨、大风、台风、干旱等，在一年中，上述灾害基本都会遇上，这就要提早做好预防工作，例如在地块周围种植防风林，地块周围挖好排水沟，在雨季里，除草不要太频繁，地面需要保留一些植被，防止大雨冲刷，苗期早中遮阴树防止太阳的曝晒，等等都是防害防灾的措施。但是如果遇上特大台风，3年以下茶树幼苗，台风抵抗能力都很差的。主要影响是风来自不同方向，把树摇得根部的土壤都有小深洞了，使得根部严重受伤，吸水能力严重受损，灾后太阳一晒，很容易出现植株枯死。目前对特大台风都没有相对比较好的措施。2014年特大台风威马逊来袭，就让有了3年苗龄的白芽奇兰在灾后几乎全部枯死，不得不淘汰，重新种植。

以下是特大台风威马逊的资料：

| 台风威马逊 (2014年第9号超强台风)  |                        |      |                |
|---|------------------------|------|----------------|
| 超强台风威马逊（英语：Super Typhoon Rammasun，国际编号：1409，联合台风警报中心：09W，菲律宾大气地球物理和天文管理局：Glenda）为2014年太平洋台风季第九个被命名的风暴。“威马逊”（泰语：รามสูร）一名是由泰国提供，是指当地神话的雷神。 |                        |      |                |
| 超强台风威马逊（140kt）登陆中国海南省文昌市后，打破了2006年第8号台风桑美（130kt）的记录，成为建国以来登陆中国最强台风，登陆时17级以上，录得最低气压899hpa。   |                        |      |                |
| 威马逊二度出现临岸急剧增强的情况，分别在穿越菲律宾中部及中国海南岛前出现，造成海南、广东、广西的59个县市区、742.3万人、468.5千公顷农作物受灾，直接经济损失约为265.5亿元，并导致南宁发生海变，城市内部被淹，损毁严重。                       |                        |      |                |
| 由于威马逊给中国华南造成重大经济损失，台风委员会决定把“威马逊”这个名字退役，替代名为芭洛（Bualoi），其意为泰式椰奶。  |                        |      |                |
| 中文名   | 台风威马逊                  | 年鉴   | 72m/s          |
| 外文名   | Super Typhoon Rammasun | 伤亡人数 | 中国大陆56死18伤20失踪 |
| 级别  | 超强台风                   | 财产损失 | 中国384亿800万人民币  |
| 生成时间  | 2014年7月10日             | 称号   | 建国以来登陆中国最强台风   |
| 消散时间  | 2014年7月21日             | 是否除名 | 是              |

综上所述，在雷州半岛种植茶树，应当合理使用滴灌、行间盖膜、行间种植（木豆）等遮阴树进行遮阴，选择一年生茶苗，选择11或12月种植，对茶树种植比较有利。

我们并没有战胜大自然的能力，但是我们可以努力的做得更好，如何采取符合大自然规则的措施，便是我们需要努力的方向，而不是与大自然相向而行，违背大自然的规律。

# 复合酶法提取余甘果中黄酮总量工艺研究

袁利鹏<sup>1</sup>, 刘波<sup>1\*</sup>, 马莹<sup>2</sup>, 张秀娟<sup>1</sup>, 姚锡莹<sup>1</sup>

1. 广东农工商职业技术学院热带农林学院, 广东广州 510507; 2. 解放军空军勤务学院北京训练大队, 北京, 100195

**摘要** 本文采用酶法提取余甘果中总黄酮的工艺条件, 筛选了酶的种类后通过单一因素实验确定总黄酮提取率的影响因素, 再通过正交实验优化最佳酶解条件, 最终验证了酶用量、酶解温度和酶解时间、PH 值对总黄酮的提取率的影响效果。得到了最佳提取条件为加酶量为 8mg/g、酶解温度为 70℃、酶解时间为 70min、PH 值为 7。最佳条件下余甘果总黄酮的提取率可达 1.997%, 本研究为余甘果中总黄酮提取方法提供复合酶法处理数据参考。

**关键词** 余甘果; 黄酮; 酶法提取; 工艺

**中图分类号** TQ **文献标识码** A

## Study on Enzymatic Extraction of Total Flavonoids from Euphorbia Pulcherrima

YUAN Li-peng<sup>1</sup>, LIUBo<sup>1\*</sup>, MA Ying<sup>2</sup>, ZHANG Xiu-juan<sup>1</sup>, YAO Xi-ying<sup>1</sup>

1. Tropical Institute of Agriculture and Forestry, Guangdong AIB Polytechnic College, Guangzhou 510507, China; 2. Beijing Training Group, Chinese PLA Air Force Institute of Service, Beijing 100195, China)

**Abstract** In this paper, the technological conditions of enzyme-assisted extraction of total flavonoids from fructus glycyrrhizae were optimized. First of all, the types of enzymes were determined, and then the factors affecting the extraction rate of total flavonoids were determined by a single factor. Finally, the optimum conditions of enzyme hydrolysis were optimized by orthogonal experiment. Furthermore, the effects of enzyme dosage, hydrolysis temperature, hydrolysis time and PH value on the extraction rate of total flavonoids were verified. The optimum extraction conditions were as follows: the amount of enzyme was 8 mg/g, the hydrolysis temperature was 70 °C, the hydrolysis time was 70 min, and the PH value was 7. Under the optimum conditions, the extraction rate of total flavonoids was 1.997%

**Keywords** emblica officinalis fruit; flavonoids; enzymatic extraction; process

### 前言

余甘果主要分布于南亚热带的印度、巴西、斯里兰卡和我国的南方各省区<sup>[1]</sup>。余甘果果实自古以来在民间就作为健身和药用水果, 治疗感冒、喉炎、疟疾、牙痛、咳嗽等疾病。明朝医药大师李时珍在《本草纲目》中记载“余甘果有主治风寒热气、丹石伤肺、久服车身、延年长生”的功能<sup>[2]</sup>。余甘果营养十分丰富, 有抗衰老、抗氧化等功效<sup>[3]</sup>。植物黄酮是一种强的抗氧化剂, 可有效清除体内的氧自由基, 改善血液循环, 降低胆固醇。也可以抑制炎症生物酶的渗出, 增进伤口愈合和止痛。黄酮同时具有抗肿瘤、增强心血功能的功效。也可治疗慢性前列腺炎、调节内分泌系统、护肝、抗过敏、抑菌、抗病毒等。如果将总黄酮的提取方法延伸到余甘果加工产业链, 对提升余甘果利用的经济价值具有积极意义。

目前, 国内外对提取余甘果中总黄酮的方法相关报道主要集中在有机溶剂结合超声<sup>[1]</sup>、微波等方法。生物酶法则利用酶的专一性可高效降解并充分释放出原料中的总黄酮, 有可避免有机溶剂使用、简化提取流程、设备成本低等优势。本文应用单因素试验和正交试验优化生物酶提取余甘果中总黄酮的方法, 为更优的余甘果黄酮提取工艺奠定酶法处理关键数据参考。

### 1 材料与仪器

#### 1.1 材料与试剂

##### 1.1.1 材料

新鲜余甘果(购买于超市); 纤维素酶(学校提供); 果胶酶(学校提供)。

##### 1.1.2 试剂

芦丁标准品亚硝酸钠; 硝酸铝(分析纯 AR); 氢氧化钠(分析纯 AR); 无水乙醇(分析纯 AR); 小苏打。

#### 1.2 仪器与设备

##### 1.2.1 仪器

100ml 容量瓶; 10ml 比色管; 0.5、1、5ml 移液管; 50ml 锥形瓶; 100ml 烧杯 PH 试纸。

##### 1.2.2 设备

**基金项目** 广东省自然科学基金 2015A030313793; 国家级星火计划项目 2015GA780082; 广东省教育厅高职领军人才项目-食品加工技术专业  
**作者简介** 袁利鹏(1979-), 男, 山西大同人, 硕士研究生, 主要研究方向为农产品绿色加工与快速检测, 电子邮箱:543753927@qq.com。

723N 分光光度计（上海奥谱勒仪器有限公司）；万分之一分析天平（梅特勒-托利多仪器（上海）有限公司）；NH-4 数显恒温水浴锅（广州市深华生物技术有限公司）；DHG-9140A 电热恒温鼓风干燥箱（上海齐欣科技仪器有限公司）；JJ-2 粉碎机（广州市深华生物技术有限公司）。

## 2 实验方法

用络合分光光度计法，以芦丁为标准样制定标准曲线来测定余甘果提取物总黄酮含量。

### 2.1 提取工艺流程

余甘果清洗→烘干粉碎→溶剂浸泡酶解→分离显色→测定。

### 2.2 黄酮的提取与测定

试验中使用的余甘果采购于超市，材料洗净烘干、粉碎。准确称取 0.5000g 余甘果粉于 100ml 提取瓶中，加入 30%的乙醇 40ml，在一定温度、PH 值、酶解时间和酶用量下，在不同种类及比例的酶下按照分光光度计法测定吸光度值，根据标准曲线回归方程得到提取液浓度，计算总黄酮提取率。

### 2.3 芦丁标准曲线的绘制

准确称取 0.0200g 芦丁标准品溶解于体积分数 95% 的乙醇中，定容于 100mL 容量瓶中，得到 0.20 mg/mL 标准液。准确移取标准液 0.00、0.50、1.00、2.00、3.00、4.00mL 于 10mL 比色管，按分光光度计法的测定加入质量分数 5%的亚硝酸钠溶液 0.3mL，6 min 后加入质量分数 10%的硝酸铝溶液 0.3mL，放置 6 min，加质量分数 1mol/L 氢氧化钠溶液 4.0mL，用 95%乙醇定容，在 505nm 处测定吸光度，绘制标准曲线。

### 2.4 单因素实验

在固定 pH5、酶用量为 12mg/g、酶解温度 60℃和 酶解时间 70 min 条件下考虑使用酶的种类，分别为果胶酶、纤维素酶、复合酶（果胶酶：纤维素酶 1：1）、复合酶（果胶酶：纤维素酶 1：2）、复合酶（果胶酶：纤维素酶 2：1）。在探索性试验的基础上，以余甘果黄酮的提取率为指标，采用单因素试验，考察酶用量、酶解温度、酶解时间和 PH 值对黄酮提取率的影响，以确定提取黄酮的最佳条件。

#### 2.4.1 酶用量

选定酶用量进行单因素试验，在其他因素不变的条件下考察该因素对余甘果中黄酮得率的影响。固定 pH5、60℃酶解时间 70 min，在果胶酶：纤维素酶为 1：1 的复合酶用量分别为 8mg/g、10mg/g、12mg/g、14mg/g、16mg/g 时提取总黄酮，测定总黄酮提取率。

#### 2.4.2 酶解温度

选定酶解温度进行单因素试验，在其他因素不变的条件下考察该因素对余甘果中黄酮得率的影响。固定 12mg/g 果胶酶：纤维素酶为 1：1 的复合酶、pH5、酶解时间为 70 min，在酶解温度为 40℃、50℃、60℃、70℃、80℃时提取总黄酮，测定总黄酮提取率。

#### 2.4.3 酶解时间

选定酶解时间进行单因素试验，在其他因素不变的条件下考察该因素对余甘果中黄酮得率的影响。固定 12mg/g 果胶酶：纤维素酶为 1：1 的复合酶、pH=5、酶解温度为 60℃，在酶解时间 50、60、70、80、90 min 时提取总黄酮，测定总黄酮提取率。

#### 2.4.4 PH 值

选定 PH 值进行单因素试验，在其他因素不变的条件下考察该因素对余甘果中黄酮得率的影响。固定 12mg/g 果胶酶：纤维素酶为 1：1 的复合酶、酶解温度为 60℃、酶解时间为 70 min，在 pH 值分别为 5、6、7、8、9 时提取总黄酮，测定总黄酮提取率。

### 2.5 正交试验

在单因素试验的基础上选择对余甘果总黄酮提取率影响较大的因素和水平进行正交试验表 1，以确定提取余甘果总黄酮的最佳条件。

表 1 余甘果中提取黄酮的正交实验的提取条件组合对比

Table 1 Comparison of extraction conditions of Flavonoids from *Phyllanthus emblica* by orthogonal experiments

| 因素 | 酶用量/mg/g | 酶解温度/°C | 酶解时间/min | PH 值 |
|----|----------|---------|----------|------|
|    | A        | B       | C        | D    |
| 1  | 8        | 60      | 60       | 6    |
| 2  | 8        | 70      | 70       | 7    |
| 3  | 8        | 80      | 80       | 8    |
| 4  | 10       | 60      | 70       | 8    |
| 5  | 10       | 70      | 80       | 6    |
| 6  | 10       | 80      | 60       | 7    |
| 7  | 12       | 60      | 80       | 7    |
| 8  | 12       | 70      | 60       | 8    |



|   |    |    |    |   |
|---|----|----|----|---|
| 9 | 12 | 80 | 70 | 6 |
|---|----|----|----|---|

### 3 结果与分析

#### 3.1 芦丁标准曲线的绘制

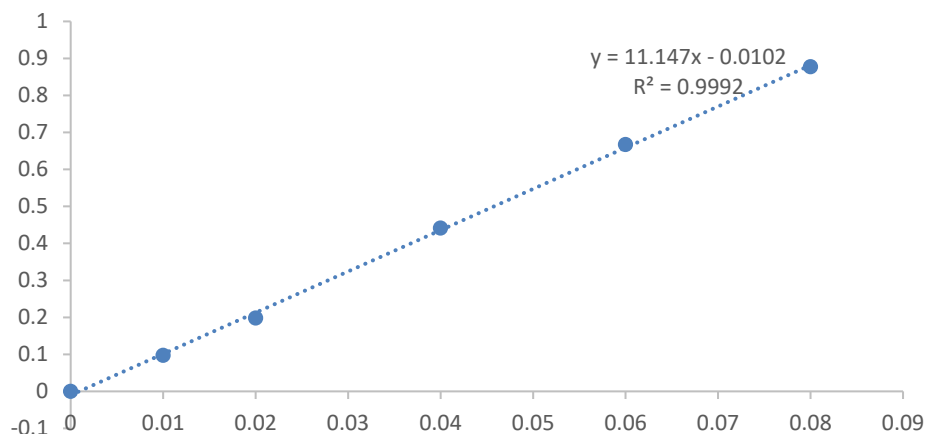
根据表 2 试验获得的数据,绘制的标准曲线如图 1 所示,得到总黄酮的线性回归方程为: $y=11.147x-0.0102$   
 $R^2=0.9992$

表 2 余甘果黄酮类化合物提取曲线  
 Table 2 extraction curves of flavonoids from rhizoma glycyrrhizae

| 吸光度浓度 | 0 | 0.01  | 0.02  | 0.04  | 0.06  | 0.08  |
|-------|---|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1     | 0 | 0.095 | 0.195 | 0.445 | 0.664 | 0.871 |
| 2     | 0 | 0.099 | 0.197 | 0.438 | 0.665 | 0.881 |
| 3     | 0 | 0.097 | 0.201 | 0.440 | 0.672 | 0.879 |
| 平均值   | 0 | 0.097 | 0.198 | 0.441 | 0.667 | 0.877 |

图 1 黄酮的标准曲线  
 Figure 1 standard curve of flavonoids

#### 黄酮的标准曲线



#### 3.2 单因素试验结果

在固定料液比为 1:80、pH5、酶用量为 12mg/g、酶解温度 60°C和 酶解时间 70 min 条件下考虑使用酶的种类,分别为果胶酶、纤维素酶、复合酶(果胶酶:纤维素酶 1:1)、复合酶(果胶酶:纤维素酶 1:2)、复合酶(果胶酶:纤维素酶 2:1)。结果为如表 3 和图 2 所示。

表 3 不同酶的种类对余甘果提取黄酮的含量对比

Table 3 comparison of flavonoids extracted from fructus emphyllis by different enzyme types

| 酶种类   | 纤维素酶   | 果胶酶    | 果胶酶:纤维素酶 1:1 | 果胶酶:纤维素酶 1:2 | 果胶酶:纤维素酶 2:1 |
|-------|--------|--------|--------------|--------------|--------------|
| 质量(g) | 1.0023 | 1.0026 | 1.0046       | 1.0351       | 1.0049       |
| 1     | 0.179  | 0.192  | 0.195        | 0.157        | 0.184        |
| 2     | 0.178  | 0.194  | 0.194        | 0.163        | 0.185        |
| 3     | 0.174  | 0.187  | 0.191        | 0.158        | 0.180        |
| 平均值   | 0.177  | 0.191  | 0.193        | 0.160        | 0.183        |

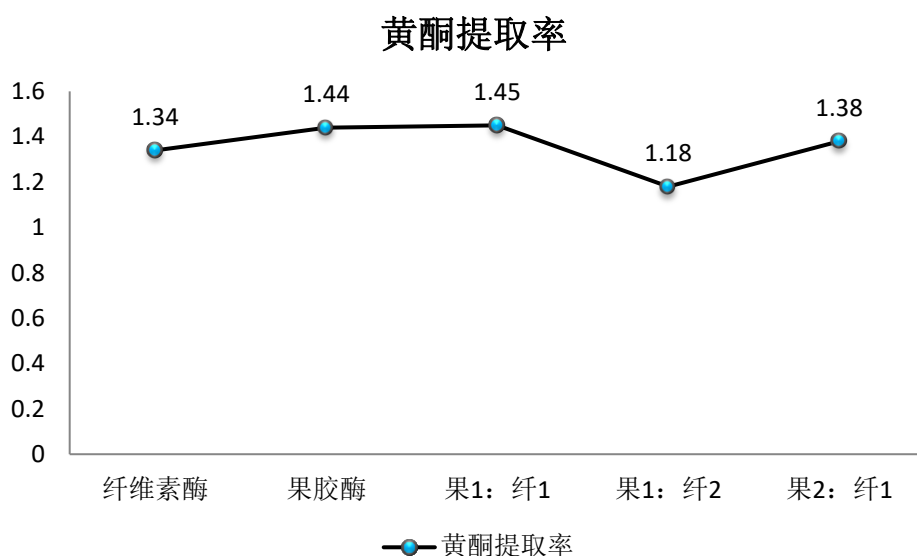


图 2 不同种类酶对余甘果黄酮的提取率对比

FIG. 2 comparison of flavonoids extracted from fructus emphyllis by different enzyme types

结果分析：根据表 3 和图 2 的数据分析可知，在纤维素酶和复合酶（果胶酶：纤维素酶 2:1）的对比中可知果胶酶对其有影响作用。图表显示余甘果中提取黄酮的最佳提取酶的种类为果胶酶：纤维素酶为 1: 1 的复合酶，其中黄酮的提取率为 1.45%。

#### 3.2.1 酶用量

试验设置了 5 个不同的酶用量，分别为 8mg/g、10mg/g、12mg/g、14mg/g、16mg/g，结果如表 4 和图 3 所示。

表 4 不同酶用量对余甘果提取黄酮的含量对比

Table 4 comparison of flavonoids extracted from rhizoma glycyrrhizae with different enzyme dosage

| 酶用量(mg/g) | 8      | 10     | 12     | 14     | 16     |
|-----------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 质量(g)     | 0.5019 | 0.5021 | 0.5017 | 0.5020 | 0.5018 |
| 1         | 0.219  | 0.267  | 0.196  | 0.214  | 0.184  |
| 2         | 0.214  | 0.265  | 0.197  | 0.216  | 0.187  |
| 3         | 0.215  | 0.269  | 0.197  | 0.213  | 0.185  |
| 平均值       | 0.216  | 0.267  | 0.197  | 0.214  | 0.185  |

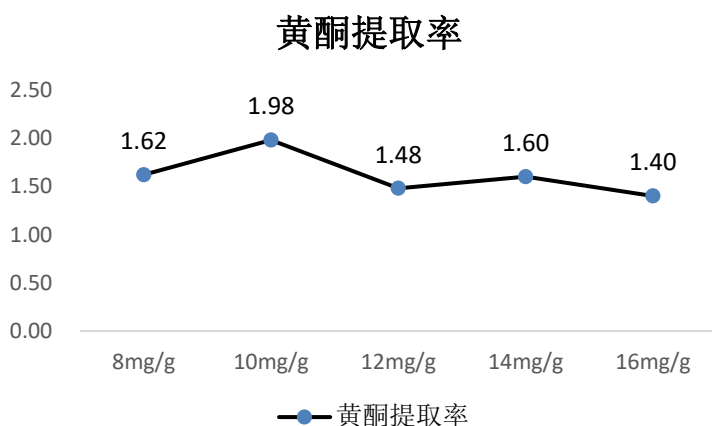


图 15 不同酶用量对余甘果提取的黄酮率对比

FIG. 3 comparison of flavonoids extracted from rhizoma glycyrrhizae with different enzyme dosage

结果分析：根据表 4 和图 3 的数据分析可知，在酶用量为 8mg/g 和 10mg/g 之间余甘果中的黄酮呈上升

趋势,但在酶用量为 10mg/g 和 12mg/g 之间时余甘果中黄酮呈下降趋势,且酶用量为 12mg/g 到 16mg/g 之间时没有明显变化。故余甘果中提取黄酮的最佳酶用量的为 10mg/g。酶用量为 10mg/g 时余甘果总黄酮的提取率为 1.98%,高于其他酶用量的提取率。

### 3.2.2 酶解温度

试验设置了 5 个不同的酶解温度,分别为 40 °C、50 °C、60 °C、70 °C、80 °C,结果见表 5 和图 4 所示。

表 5 不同酶解温度对余甘果提取黄酮的含量对比

Table 5 comparison of flavonoids extracted from rhizoma glycyrrhizae at different enzymatic hydrolysis temperatures

| 酶解温度(°C) | 40     | 50     | 60     | 70     | 80     |
|----------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 质量(g)    | 0.5046 | 0.5043 | 0.5053 | 0.5025 | 0.5058 |
| 1        | 0.156  | 0.189  | 0.195  | 0.275  | 0.329  |
| 2        | 0.153  | 0.194  | 0.193  | 0.267  | 0.318  |
| 3        | 0.150  | 0.187  | 0.197  | 0.271  | 0.325  |
| 平均值      | 0.153  | 0.190  | 0.195  | 0.271  | 0.324  |

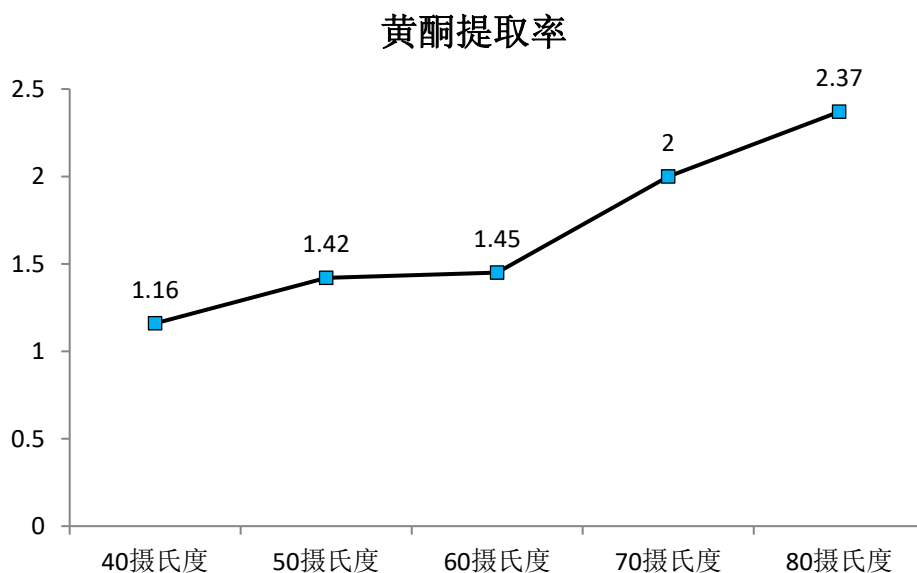


图 16 不同酶解温度对余甘果提取的黄酮率对比

FIG. 4 comparison of flavonoids extracted from rhizoma glycyrrhizae at different enzymatic hydrolysis temperatures

结果分析:根据表 5 和图 4 的数据分析可知,酶解温度为 40 摄氏度到 80 摄氏度时呈现上升趋势,且在 80 摄氏度时最高,故余甘果中提取黄酮的最佳提取酶解温度为 80 °C,在酶解温度 80 °C 时余甘果总黄酮的提取率为 2.37%,高于其他酶解温度的提取率。

### 3.2.3 酶解时间

试验设置了 5 个不同的酶解时间,分别为 50、60、70、80、90 min,结果见表 6 和图 5 所示。

表 6 不同酶解时间对余甘果提取黄酮的含量对比

Table 6 comparison of flavonoids extracted from rhizoma glycyrrhizae in different enzymatic hydrolysis time

| 酶解时间 (min) | 50     | 60     | 70     | 80     | 90     |
|------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 质量 (g)     | 0.5023 | 0.5013 | 0.5048 | 0.5051 | 0.5036 |
| 1          | 0.178  | 0.186  | 0.194  | 0.141  | 0.145  |
| 2          | 0.177  | 0.183  | 0.201  | 0.139  | 0.147  |
| 3          | 0.177  | 0.185  | 0.196  | 0.137  | 0.149  |
| 平均值        | 0.177  | 0.184  | 0.197  | 0.139  | 0.147  |

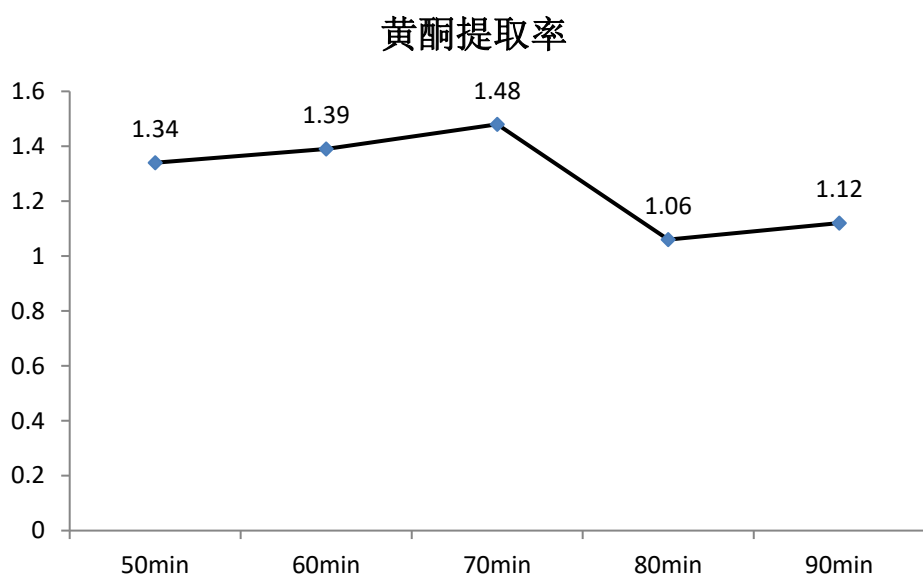


图 17 不同酶解时间对余甘果提取的黄酮率对比

FIG. 5 comparison of flavonoids extracted from rhizoma glycyrrhizae in different enzymatic hydrolysis time

结果分析：根据表 6 和图 5 的数据分析可知，在酶解时间为 50min 到 70min 时呈现上升趋势，而酶解时间在 70min 到 80min 时呈下降趋势，在酶解时间为 80min 到 90min 时有些许浮动，但不大明显，因此在酶解时间为 70min 时形成高峰。故余甘果中提取黄酮的最佳提取酶解时间为 70min。酶解时间为 70min 时余甘果总黄酮的提取率为 1.48%。

#### 3.2.4 PH 值

试验设置了 5 个不同的 PH 值，分别为 5、6、7、8、9，结果见表 7 和图 6 所示。

表 7 不同 PH 值对余甘果提取黄酮的含量对比

Table 7 comparison of flavonoids extracted from rhizoma cynanchum with different PH values

| PH 值   | 5      | 6      | 7      | 8      | 9      |
|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 质量 (g) | 0.5022 | 0.5028 | 0.5014 | 0.5014 | 0.5011 |
| 1      | 0.197  | 0.172  | 0.193  | 0.180  | 0.201  |
| 2      | 0.195  | 0.178  | 0.192  | 0.180  | 0.197  |
| 3      | 0.191  | 0.176  | 0.192  | 0.182  | 0.199  |
| 平均值    | 0.194  | 0.175  | 0.192  | 0.181  | 0.199  |

## 黄酮提取率

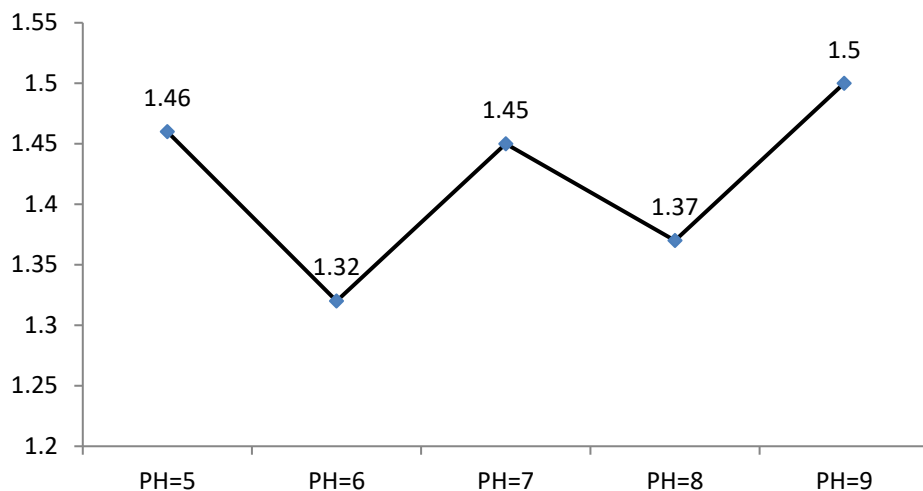


图 6 不同 PH 值对余甘果提取的黄酮率对比

FIG. 6 comparison of flavonoids extracted from rhizoma cynanchum with different PH values

结果分析：根据表 7 和图 6 的数据分析可知，PH 值为 5~6 之间以及 PH 值为 7~8 呈现下降趋势，PH 值为 6~7 之间以及 PH 值为 8~9 时呈现上升趋势，但 PH 值为 5 和 9 时没有形成两边低中间高的峰值故选取 PH 值为 7 进行正交试验。故余甘果中提取黄酮的提取 PH 值为 7，PH 值为 7 时余甘果总黄酮的提取率为 1.45%。

### 3.3 正交实验结果与分析

#### 3.3.1 正交实验结果

实验结果表 8 表明，各因素对余甘果中总黄酮提取效果的影响大小顺序为：酶解温度> 酶时间> 酶用量> PH 值，并由交实验结果正交实验得出余甘果中总黄酮超声提取的最佳工艺条件为：A1B2C2D2。综合单因素实验和正交实验结果，可以得出酶提取法提取余甘果中黄酮的最佳工艺条件为：酶用量为 8mg/g、酶解温度为 70°C、酶解时间为 70min、PH 值为 7。

表 8 余甘果中提取黄酮的正交试验结果与极差分析

Table 8 orthogonal test results and range analysis of flavonoids extracted from rhizoma glycyrrhizae

| 因素          | 酶用量/mg/g<br>A | 酶解温度/°C<br>B | 酶解时间/min<br>C | PH 值<br>D | 实验结果 |
|-------------|---------------|--------------|---------------|-----------|------|
| 1           | 1             | 1            | 1             | 1         | 1.63 |
| 2           | 1             | 2            | 2             | 2         | 1.96 |
| 3           | 1             | 3            | 3             | 3         | 1.86 |
| 4           | 2             | 1            | 2             | 3         | 1.66 |
| 5           | 2             | 2            | 3             | 1         | 1.66 |
| 6           | 2             | 3            | 1             | 2         | 1.56 |
| 7           | 3             | 1            | 3             | 2         | 1.33 |
| 8           | 3             | 2            | 1             | 3         | 1.71 |
| 9           | 3             | 3            | 2             | 1         | 1.86 |
| $\bar{K}_1$ | 1.817         | 1.540        | 1.633         | 1.717     |      |
| $\bar{K}_2$ | 1.627         | 1.777        | 1.827         | 1.617     |      |
| $\bar{K}_3$ | 1.633         | 1.760        | 1.617         | 1.743     |      |
| R           | 0.190         | 0.237        | 0.210         | 0.126     |      |

#### 3.3.2 验证实验结果

在正交实验中，实验表格根据 k 值判定显示理想数据为 A1B2C2D3 实验结果较好的方案为：A1B2C2D2，故对方案 A1B2C2D3 与 A1B2C2D2 进行验证试验。平行实验 3 次，计算平均总黄酮含量，测得方案 A1B2C2D2 的提取率为 1.997%，方案 A1B2C2D3 的提取率为 1.885%，结果可知酶提取法最佳提取方案为：A1B2C2D2。提取余甘果中黄酮含量最高为 1.997%。

### 4 结论与分析

本研究采用酶法提取余甘果中的黄酮量。先确定了使用的酶种类，再采用单因素实验结合正交实验量化了酶解时间、酶解温度、酶用量以及 PH 值等关键因素对酶法提取余甘果中黄酮含量的影响效果。最终得到

酶法提取余甘果的黄酮最佳条件为酶用量为 8mg/g、酶解时间为 70min、酶解温度为 70°C和 PH 值为 7。提取余甘果中黄酮含量最高为 1.997%。为更优的余甘果黄酮提取工艺奠定酶法处理关键数据参考。

#### 参考文献

- [1]李张伟,马竖斌,曾绮杨等. 余甘子黄酮的提取及其抗氧化作用研究[J]. 江苏农业科学, 2010, (2): 287-289.
- [2]梁学军. 余甘果的医疗保健作用[J]. 天然产物研究与开发, 1992, (1):78-82.
- [3]侯开卫,刘凤书,李绍家等. 余甘果抗衰老作用的研究[J]. 食品科学, 1990, (4).
- [4]丁利君,吴振辉. 金银花中黄酮类物质最佳提取工艺的研究[J]. 食品科学, 2002, 23(2):62-66.
- [5]宋琳琳,沙靖全,张磊等. 余甘子中总黄酮提取工艺研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2016, (4):42-44.
- [6]陈洪彬,周婕,吴锦惠等. 余甘子总黄酮超声波辅助提取工艺的优化[J]. 亚热带植物科学, 2014, 43(4):293-297.
- [7]李舒,钟振国,赖进科. 余甘子叶提取物总黄酮的含量测定[J]. 辽宁中医药大学学报, 2011, (7):109-110.
- [8]朱英环,孟宪生,包永睿等. 余甘子总酚酸和总黄酮配伍抑制肝癌细胞增殖及对免疫功能的调节作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(3):132-135.
- [9]徐义侠. 余甘子化学成分及总酚提取工艺研究[D]. 北京中医药大学, 2009.
- [10]王晓,李林波,马小来等. 酶法提取山楂叶中总黄酮的研究[J]. 食品工业科技, 2002, (3):37-39.
- [11]吴梅林,周春山,陈龙胜等. 酶法提取银杏黄酮类化合物研究[J]. 天然产物研究与开发, 2004, 16(6):557-560.
- [12]高保英,张晓昱,余洪波. 复合酶法及微波法提取甘草黄酮的比较研究[J]. 湖北中医杂志, 2004, 26(6):52-53.

# 广东农垦菠萝产业发展路径探索

李 盖 谭枫凡

广东收获罐头食品有限公司、广东省农垦集团公司，广东 湛江 524000

**摘要** 在全球菠萝主要生产国菠萝产品纷纷涌入中国市场，强烈冲击我国菠萝产业的背景下，本文在分析广东农垦菠萝产业发展现状的基础上，立足国企农垦企业的责任与担当，提出探索组建全产业链式的专业化菠萝产业集团，以市场为导向倒逼营销、加工、种植、研发等主体，推动广东农垦菠萝产业转型升级，实现可持续发展。

**关键词** 全产业链；菠萝产业；发展路径

## Exploration on the Development Path of Pineapple Industry in Guangdong Agricultural Reclamation from the Perspective of Whole Industry Chain

Li Gai TAN Feng-fan

Guangdong Harvest Canned Food Co., Ltd. Guangdong Harvest Canned Food Co., Ltd. Zhanjiang, China, 524000

**Abstract** Under the background that pineapple products from the main producing countries of pineapple all over the world are flooding into the Chinese market and strongly impacting on the pineapple industry of our country, this paper, based on the analysis of the current situation of the development of the pineapple industry in Guangdong's agricultural reclamation, and on the basis of the responsibilities and responsibilities of the state-owned enterprises' agricultural reclamation enterprises, explores the establishment of specialized pineapple industry groups with the whole industry chain, and forces marketing, processing, planting and In order to achieve sustainable development, we should promote the transformation and upgrading of pineapple industry in Guangdong agricultural reclamation.

**Keywords** Whole industry chain Pineapple industry Development path

全产业链是中粮集团在我国居民食品消费和农产品产业双重升级的背景下提出来的一种发展模式。菠萝产业全产业链就是以菠萝为核心，依托国内外市场对菠萝及其加工产品的需求，联接生产、加工、销售的技术经济流程，汇聚资金、土地、劳动力、科技所形成的网络结构<sup>[1]</sup>，主要包括以下四大产业链条：一是菠萝良种选育→菠萝种植→鲜果销售→鲜果消费；二是菠萝鲜果→粗加工→粗加工产品销售→粗加工产品消费；三是菠萝生产及加工废弃物→精深加工→深加工产品销售；四是菠萝种植、加工景观游览→菠萝产品体验→菠萝文化认知。基于近几年湛江徐闻菠萝鲜果销售如同坐过山车一般的境遇、广东农垦菠萝产量在广东省占有比重以及迈出产业化改革步伐、全面实施乡村振兴战略对国企农垦的期望等因素，立足广东农垦改革发展实际，本文试着在全球菠萝生产和贸易格局中剖析广东农垦菠萝产业发展状况，力图为广东农垦发展全产业链菠萝产业的路径与措施作出思考与探索。

### 一、广东农垦大力发展菠萝产业的紧迫性和重要性

#### （一）广东农垦发展菠萝产业是广东省推进乡村振兴、发展特色优势产业的必然要求

广东省菠萝产量位居全国之首，2018年产量102.18万吨<sup>[2]</sup>，占全国总产量的63%，其中主产区湛江徐闻产量约占全国的38%、全省的60%<sup>[3]</sup>。广东农垦2018年末实有菠萝面积1.08万公顷，收获面积0.8万公顷，产量48.20万吨，占全省产量的47.17%<sup>[5]</sup>，约占全国产量的30%。但2016至2018年徐闻3年爆发2次菠萝滞销危机，2016年4月“巴厘”菠萝价格跌至0.3~0.4元/斤<sup>[4]</sup>，2018年5月贱价到0.2元/斤都鲜有收购<sup>[5]</sup>，今年行情虽然有所好转，4月底前徐闻菠萝累计上市约46万吨，占总产量的75%，但主动权逐渐向采购方倾斜<sup>[6]</sup>。徐闻菠萝如坐“过山车”的遭遇，是广东，乃至全国菠萝产业的一个缩影。作为菠萝种植“大户”，广东农垦多家农场（公司）及职工也尝尽滞销苦果。

2018年5月29日，《中共广东省委、广东省人民政府关于推进乡村振兴战略的实施意见》提出要大力发展特色优势产业，打造水果千亿元产业集群。广东省委常委叶贞琴曾于2018年5月调研徐闻菠萝产业，之后在广东省农垦总局呈报的《关于垦区菠萝产业发展有关情况的报告》上批示：“推动菠萝产业转型升级实现高质量发展很有意义，农垦系统发挥自身优势在品种改良、发展加工冷炼等方面可以做很多事。”叶贞琴在出席2019年广东农垦工作会议时又要求广东农垦在产业发展上要带好头、做好示范，要在推动菠萝产业的转型升级方面率先突破，尤其要做好种苗培育和菠萝产品加工，突出解决农业产业链条比较短、产业集聚效应不够的问题。推动广东省菠萝产业破解周期性滞销困局，实现产业转型升级，是作为大型农业国企的广东农垦的责任与担当。

#### （二）广东农垦发展菠萝产业是构建现代农业产业体系的现实需要

**作者简介** 李盖（1985-），男，湖北恩施人，法学本科，就职广东收获罐头食品有限公司；谭枫凡（1979-），男，四川邻水人，文学硕士，就职广东省农垦集团公司

<sup>15</sup> **数据来源** 本文涉及广东农垦的各项数据如无特别说明，均来自广东省农垦集团公司内部统计。

近年来，广东农垦湛江垦区甘蔗、橡胶和剑麻三大主产业受台风等恶劣气候和病虫害影响，损失严重。一是蔗糖产业经济效益不高，蔗糖销售价格长期低迷，2017年垦区蔗糖平均销售价格6646元/吨，2018年则为5732元/吨。二是天然橡胶产业遭台风袭击受损惨重。2014年以前，湛江垦区橡胶面积基本保持在13-14万亩之间，年产干胶4000吨以上。受2014年“威马逊”和“海鸥”台风，以及2015年“彩虹”台风的袭击，导致2015年全面停产，直到2017年才恢复割胶。三是剑麻产业因病虫害、机械化水平不高等原因导致产业规模一直发展不起来。据统计，广东农垦2017年末剑麻实有面积为0.31万公顷，占当年全国农垦的47.31%，但是实有面积已被广西农垦所超越。因此，广东农垦整合资源发展菠萝产业，有利于调整优化农业产业结构，一方面降低自然灾害所带来的经济损失，另一方面可以推进甘蔗、菠萝轮作，实现以地养地、改良土壤，防治病虫害，进而提高甘蔗和菠萝单产。

### (三) 广东农垦发展菠萝产业是带动职工和周边地区农民实现共同富裕的重要途径

广东农垦职工是垦区种植菠萝的“中坚力量”，菠萝产业发展的状况与垦区职工家庭收入息息相关。截止2019年4月30日，广东农垦菠萝经营土地面积为0.81万公顷，其中职工和职工子女承包租赁经营面积为0.56万公顷，占总面积的69.14%。同时，广东农垦红星农场、友好农场、南华农场、海鸥农场、五一农场、东方红农场、幸福农场、收获农场、火炬农场、金星农场等地处湛江市菠萝主产区徐闻、雷州境内，国有农场职工种植菠萝面积和产量具有相当优势，是周边农村农户种植菠萝的“风向标”。

## 二、广东农垦菠萝产业发展现状

### (一) 广东农垦菠萝产业发展概况

根据表1，我们可以很清楚地了解1992年以来广东农垦菠萝产业的发展情况。

1. 菠萝种植情况。广东农垦种植菠萝面积1992年为0.16万公顷，在2017年达到最高峰1.18万公顷，增长了638%。2014年，种植面积突破1万公顷，达到1.06万公顷，比2013年的0.59万公顷增加了79.66%，之后一直保持1万公顷以上的种植规模。广东农垦茂名、阳江、揭阳、汕尾垦区均有零星种植菠萝，但主要集中在湛江垦区。2014年以来无论是年末实有面积，还是当年收获面积湛江垦区占整个广东农垦的比重均保持在97%以上，鲜果总产量一直保持在99%以上，2018年的鲜果总产量更是高达99.57%，为48万吨。

表1：广东农垦菠萝产业发展情况统计表

|      | 年末实有面积（公顷） |          | 当年收获面积（公顷）             |                        | 菠萝鲜果总产量（吨）                 |                            | 单产（公顷/吨） |          | 菠萝罐头（吨） |
|------|------------|----------|------------------------|------------------------|----------------------------|----------------------------|----------|----------|---------|
|      | 广东农垦       | 湛江垦区     | 广东农垦                   | 湛江垦区                   | 广东农垦                       | 湛江垦区                       | 广东农垦     | 湛江垦区     | 广东农垦    |
| 1992 | 1550.9     | 1401.1   | 917.9                  | 792.4                  | 34133.2                    | 32459.2                    | 37186    | 40963    | 7584    |
| 1993 | 2115.7     | 1967.4   | 1021.1                 | 903.3                  | 31016.3                    | 29877.3                    | 30375    | 33706    | 4802    |
| 1994 | 1770.1     | 1667.7   | 1143.8                 | 1067                   | 40588.1                    | 40275.1                    | 35485    | 37746    | 5700    |
| 1995 | 2119.8     | 2018.7   | 1233.2                 | 1138.4                 | 38896.9                    | 38323.8                    | 31541    | 33665    | 6300    |
| 1996 | 2114.3     | 2014     | 1331.2                 | 1237                   | 35139                      | 34444                      | 26437.1  | 27845    | 5023    |
| 1997 | 2517.1     | 2411     | 1467.3                 | 1369.5                 | 45044.5                    | 44309                      | 30699    | 32354    | 8996    |
| 1998 | 3108.6     | 2979.6   | 1611.5                 | 1512.5                 | 69985                      | 69038                      | 43428    | 45645    | 10763   |
| 1999 | 3549.9     | 3380.2   | 1852.5                 | 1743.5                 | 83891.1                    | 82182.1                    | 45285    | 47136    | 11137   |
| 2000 | 3331.9     | 3160.7   | 2157.2                 | 1998.1                 | 82827                      | 81074                      | 38394    | 40576    | 6850    |
| 2001 | 4147.9     | 3973.9   | 1917.2                 | 1789.2<br>(含国营<br>445) | 79312                      | 77744(含国<br>营28892)        | 41369    | 43452    | 10410   |
| 2002 | 4040.3     | 3793.9   | 1906.4                 | 1766.2                 | 79794.4                    | 77988.4                    | 41856    | 44156    | 10587   |
| 2003 | 4507.2     | 4268     | 1767.6                 | 1627.4<br>(含国营<br>389) | 77046.9<br>(含国营<br>21835)  | 74954.9<br>(含国营<br>21712)  | 43588    | 46058    | 15118   |
| 2004 | 4625       | 4407.8   | 2239.1                 | 2062.9                 | 96355.5                    | 94188                      | 43033    | 45658    | 16392   |
| 2005 | 4246.3     | 4029.3   | 2222                   | 2045(含<br>国营540)       | 96507                      | 94323(含国<br>营28986)        | 43432    | 46124    | 12059   |
| 2006 | 4181.5     | 3896.5   | 2574.5<br>(含国营<br>462) | 2420.5<br>(含国营<br>409) | 108099<br>(含国营<br>35318)   | 106089(含<br>国营35186)       | 41988    | 43829    | 13216   |
| 2007 | 4605.3     | 4394.3   | 2776.1<br>(含国营<br>547) | 2613.1<br>(含国营<br>494) | 144629.6<br>(含国营<br>26057) | 142605.6<br>(含国营<br>25959) | 52098    | 54573    | 11887   |
| 2008 | 4674.2     | 4461.7   | 2500.4<br>(含国营<br>1.5) | 2325.9                 | 120173.6<br>(含国营<br>1)     | 117793.6                   | 48062    | 50644    | 11152   |
| 2009 | 4505       | 4293     | 2555.5                 | 2370.5<br>(含国营<br>12)  | 134482.3                   | 132054.3<br>(含国营<br>55)    | 52625    | 55707    | 7161    |
| 2010 | 5032.7     | 4797.7   | 3081.2                 | 2887.2                 | 151744.5                   | 149305.5                   | 49249    | 51713    | 13000   |
| 2011 | 4887.6     | 4655.6   | 3030.2                 | 2838.7                 | 155258.6                   | 153924.3                   | 51237    | 54188    | 5501    |
| 2012 | 4953.1     | 4721.1   | 3394.7                 | 3186.3                 | 185698                     | 183424.4                   | 54702    | 57567    | 5146    |
| 2013 | 5883.75    | 5656.75  | 3948.99                | 3749.69                | 293099.1                   | 290897.4                   | 74221    | 77579    | 2823    |
| 2014 | 10618      | 10352    | 6256                   | 6036                   | 376465                     | 374464                     | 60177    | 62038    | 3421    |
| 2015 | 10436      | 10174    | 6977                   | 6770                   | 422764                     | 420676                     | 60594    | 62138    | 2264    |
| 2016 | 11194      | 10942    | 7519                   | 7295                   | 448357                     | 446007                     | 59634    | 61138    | 2265    |
| 2017 | 11818      | 11558    | 7910                   | 7687                   | 454826                     | 452253                     | 57502    | 58835    | 3195    |
| 2018 | 10872.9    | 10551.53 | 7962.94                | 7763.61                | 482011.4                   | 479961.4                   | 60531.84 | 61821.94 | 2539    |

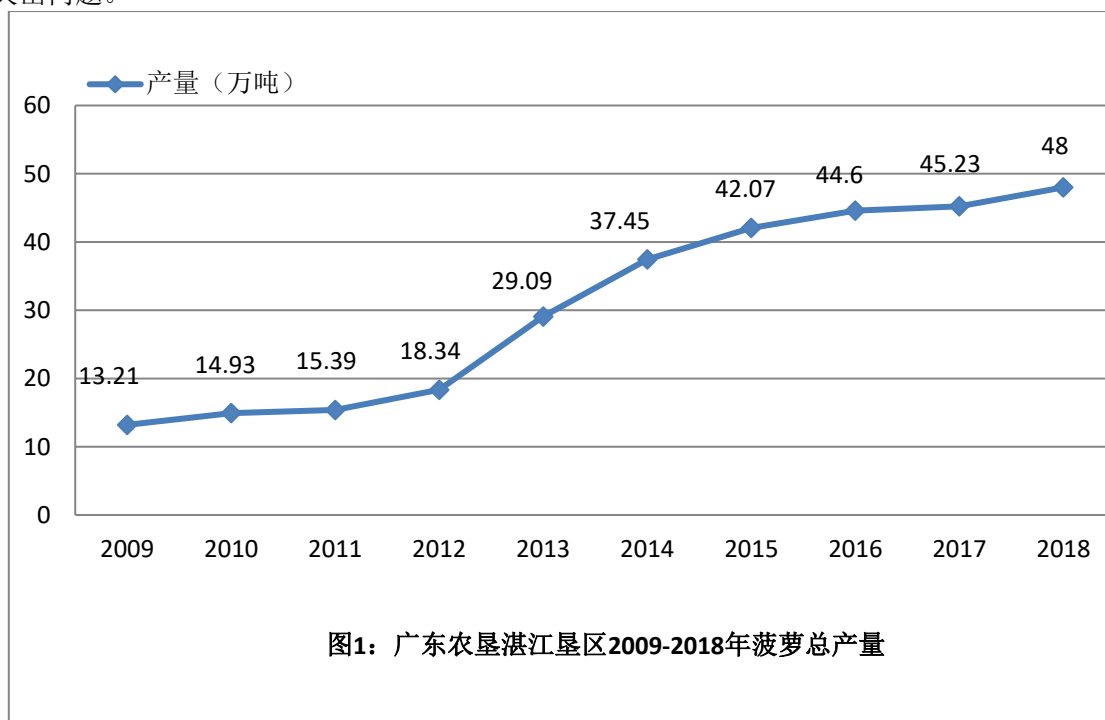
2. 菠萝罐头生产情况。1983年，广东农垦在湛江垦区创建广东省国营收获罐头厂，注册“三叶牌”商标，



从事专业化菠萝罐头生产，后更名为广东收获罐头食品有限公司（以下简称菠萝罐头厂）。这是广东农垦唯一一家菠萝罐头加工企业。上个世纪 90 年代菠萝罐头厂成为广东省先进企业，三叶牌菠萝罐头通过美国 FDA 部门的检验，取得进入美国市场的免检资格；公司通过 ISO9001:2008 质量管理体系、ISO14001:2004 环境管理体系、ISO22000:2005 食品安全管理体系、全球标准 BRC 等一系列认证，三叶牌糖水菠萝罐头通过 2018 年广东省名牌产品（农业类）认定，荣获 2018 年第 16 届中国国际农产品交易会参展农产品金奖。从 1992 年以来，共生产菠萝罐头 21.53 万吨，平均每年生产约 0.80 万吨，2004 年产量最高为 1.64 万吨，2015 年产量最低为 0.23 万吨。

## （二）广东农垦菠萝产业存在的问题分析。

从全产业链理论的角度来审视广东农垦菠萝产业，可以发现菠萝产品加工与种植环节、与消费市场存在严重脱节的现象。2009 年至 2018 年菠萝年产量呈明显的上升趋势，而原材料完全来自于湛江地区的菠萝罐头年产量虽然个别年份有较大起伏，但整体下降趋势较为明显。这也就是说，广东农垦菠萝罐头产量与菠萝鲜果产量并无正比关联，甚至与整个湛江地区菠萝产量都无直接关系。同时市场琳琅满目的菠萝产品，如速冻菠萝果粒、菠萝果干、菠萝果酱、菠萝果馅和菠萝果汁等已成为消费者喜爱的日常食品，但广东农垦自建厂以来长期处于加工产品单一的状态，与市场需求明显脱节。这“两个脱节”集中反映了广东农垦菠萝产业存在的突出问题。



**1.菠萝种植长期处于分散型“小农户”式的承包租赁经营模式。**截止 2019 年 4 月 30 日，广东农垦湛江垦区（含总部和基地均在湛江辖区的广垦糖业集团有限公司）经营菠萝土地面积为 0.80 万公顷，其中职工承包租赁经营面积占总面积的 69.22%，外来人员租赁经营面积占总面积的 26.81%，二者合计 96.03%；由国有农场、产业集团统一经营管理或国有农场与产业集团按照股份制合作经营的面积仅占 3.32%。在分散型“小农户”承包租赁经营模式下，种植户完全自主决策生产经营事项。再加上目前在国有农场从事农业生产一线的人员老龄化现象十分严重，而且文化程度不高。他们缺乏对市场需求的敏锐判断，习惯于通过人工催花而在所谓的传统销售旺季清明节前后扎堆上市。这容易形成菠萝鲜果供过于求，销售价格很难走高的局面，同时容易造成旺季果多加工厂产能不足、淡季无果加工厂产能闲置的矛盾。

**2.菠萝罐头厂产量逐渐萎缩，对菠萝种植难以形成强有力的带动作用。**1992 年以来的第一个十年菠萝罐头的年均产量是 0.77 万吨，第二个十年的年均产量是 1.16 万吨，进入第三个十年（2012 年至 2018 年）的年均产量仅为 0.31 万吨。2014 年至 2018 年 5 年的总产量不及 2004 年一年。

**3.缺乏市场维护和开拓意识，销售份额大幅下降。**2009 年至 2018 年菠萝罐头厂的内销量、外销量和销售总量都呈大幅下降趋势。销售量最高为 2009 年的 1.01 万吨、最低为 2016 年的 0.2 万吨。内销量最高为 2010 年的 0.51 万吨，最低为 2016 年的 0.14 万吨。外销量最高为 2009 年的 0.65 万吨，最低为 2017 年的 80.71 吨。

## 三、广东农垦全产业链菠萝产业的发展路径

以全产业链的战略思维发展菠萝产业，既是广东农垦的责任担当，也是自身完善现代农业产业体系的现实需要，更是菠萝产业发展面临严重受挫的内在要求。因此，广东农垦要充分利用位于我国菠萝种植优势区的地理优势和拥有丰富的土地资源的优势，增强发展菠萝产业的紧迫感和责任感，加快组建全局性的菠萝产业

集团，以高效合理的利益联结机制统筹种植、加工、销售、研发等主体，切实推动菠萝产业实现全产业链发展。

### （一）以全产业链思维组建专业化菠萝产业集团

广东农垦发展全产业链菠萝产业，就是要重塑当前只注重菠萝粗加工的产业模式，构建以客户和市场为导向的专业化集团管控模式，以全面实现四大产业链功能为目标建立和完善菠萝产业盈利模式。拟组建的菠萝产业集团可按照图 2 进行组织架构：

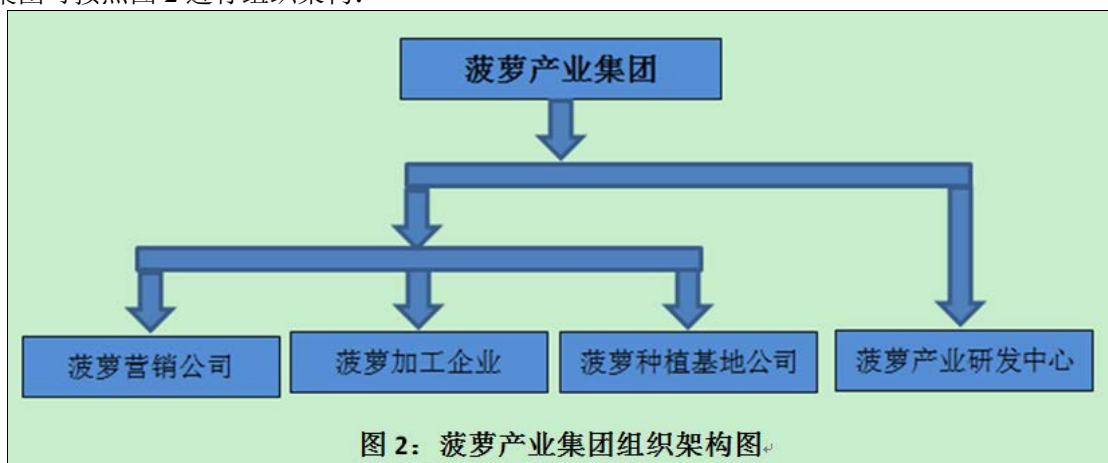


图 2：菠萝产业集团组织架构图

菠萝产业集团制定产业发展战略目标，全方位统筹衔接菠萝种植、加工、销售和研发等主体，以效益为中心调整和优化利益格局。菠萝营销公司深入调研，掌握终端消费需求和趋势，实现产品市场的精准定位；组建高效的营销团队，建设立体化营销网络，实现营销目标；全面提升产品品牌和企业品牌竞争力，实现终端产品价格增值目标。菠萝加工企业根据营销公司反馈的市场信息，及时高效组织生产加工，保证货源；引进先进的生产技术设备，改进生产工艺流程，保证产品质量，提升产品市场竞争力。菠萝种植基地公司在产业集团的统筹下推行多种经营模式，尽可能满足加工企业对于原料菠萝、营销公司对鲜食菠萝的需求。菠萝产业研发中心根据产业发展需要，整合科研资源，着力优质品种的引进与改良、菠萝加工产品的创新和深加工产品的研发。

### （二）立足国内市场构建立体化营销网络，推动菠萝种植和加工与市场的有效衔接

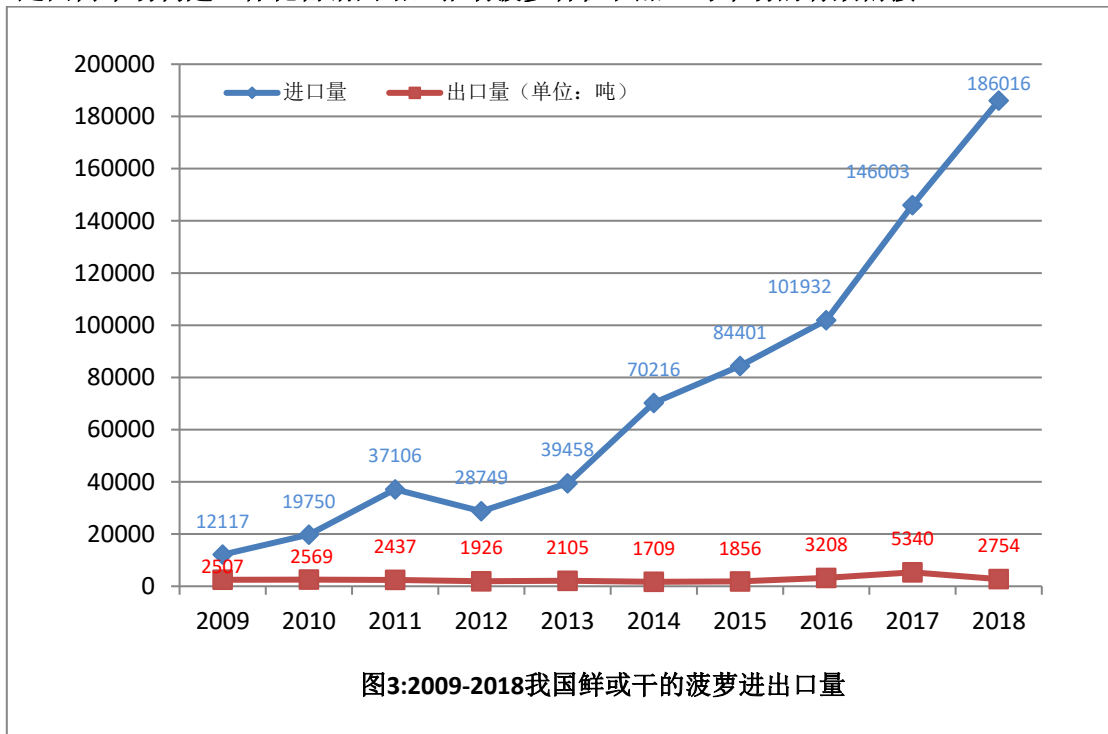


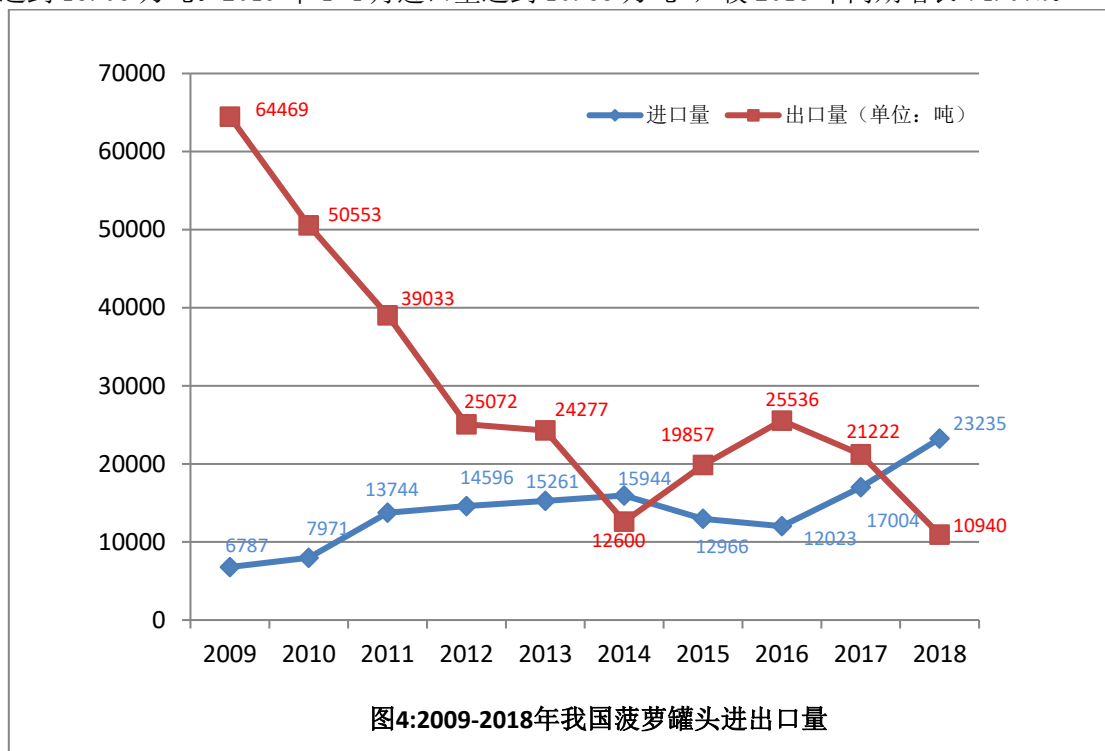
图3:2009-2018我国鲜或干的菠萝进出口量

1. 立足国内市场。在市场经济中，客户和市场是企业所有决策的起点和归属。2009年至2018年国内菠萝消费需求逐年增加，2017年国内消费量达到180万吨<sup>[7]</sup>，国内菠萝生产已无法满足菠萝市场需求，菠萝进口量持续增涨。

从图 4<sup>16</sup>可以看出，相比我国鲜或干的菠萝出口量保持平缓态势而言，2015年以后的进口量大幅增长，

<sup>16</sup> 图 4、图 5 中 2009 年至 2016 年的数据来源于联合国粮农组织统计数据，2017 年、2018 年的数据来源于中国海关总署统计数据。

2018 年达到 18.06 万吨。2019 年 1-4 月进口量达到 10.68 万吨<sup>17</sup>，较 2018 年同期增长 74.07%。



从图 5 可以看出，我国菠萝罐头出口量下降、进口量上升趋势很明显，2018 年进口量达到 2.32 万吨，是出口量的 2 倍多。2019 年 1-4 月进口 1.33 万吨，较 2018 年同期增长 155.52%。

从以上分析可知，一是在我国菠萝产量逐年攀升（2017 年达到 157.64 万吨<sup>18</sup>）的情况下，鲜或干的菠萝、菠萝罐头的进口量也是逐年增加，我国已然形成一个强大的国内消费市场。二是我国菠萝罐头的出口量明显下降，已从净出口国地位转变为净进口国，国产菠萝罐头的比较优势逐渐丧失，国际竞争力减弱。以上两点便是广东农垦发展菠萝产业应立足国内市场的主要依据。

**2. 构建立体化营销网络。**在理论层面，菠萝营销公司要着力菠萝产品营销渠道建设（如图 6 所示），同时主动迎合移动互联网和智能手机时代“精准”营销和对传统农业产业的重构趋势，实现传统销售渠道和“互联网+”营销的互通互用，真正建立立体化营销网络。

在实践的层面，当前首要任务就是全力维护与上海百胜、广州珠利、中粮食品等现有大客户的关系，以维持菠萝罐头厂仅存的生产和销售规模；二是以曾经合作过的客户为突破口深挖客户资源，争取订单，倒逼菠萝罐头厂或提高菠萝罐头产量，或进行多元化产品生产（如 2014 年速冻菠萝芯和菠萝肉的生产与销售）；三是充分利用广东农垦资源，积极寻求与系统内食品加工和农产品营销企业合作，在提高产品销量的同时尝试推动农垦系统农产品营销渠道整合共享；四是暂时将“菠萝种植、加工景观游览→菠萝产品体验→菠萝文化认知”的菠萝乡村旅游链条作为一种营销方式，扩大产品和企业知名度，逐步恢复和提升“三叶牌”菠萝罐头的品牌声誉；五是要在必要的时候，组织收购系统外的原料菠萝，以保证菠萝加工企业的正常开工；最后就是在企业逐渐盈利的过程中加强营销人才培养和引进力度，实现建设强大的营销队伍和营销网络的目标。

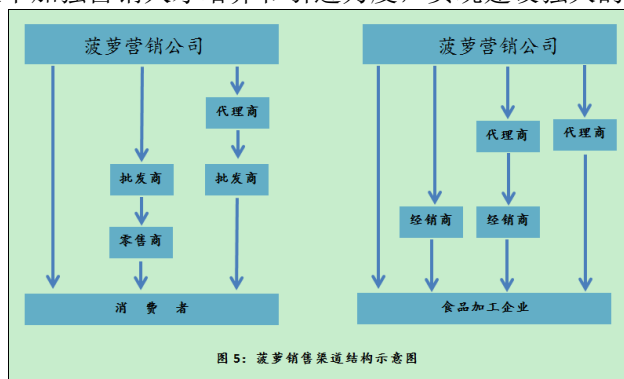


图 5: 菠萝销售渠道结构示意图

### （三）以提升产品市场竞争力为核心扩大生产加工规模，稳步打造中国菠萝加工龙头企业

在中国市场越来越开放的形势下，越来越多的国外企业和产品涌入国内市场，比如东盟泰国、印尼、菲

<sup>17</sup> 数据来源 本文关于我国菠萝产品进出口数据，如无特别说明均来自中国海关总署统计数据。

<sup>18</sup> 数据来源 世界粮农组织统计数据。

律宾等全球主要菠萝生产国都是我国菠萝罐头主要进口国。2019年1-4月我国分别从这三个国家进口6092.72吨、3314.60吨和3786.56吨,平均进口价格是5516元/吨。根据中国-东盟《货物贸易协议》“早期收获计划”,中国对上述三国菠萝罐头进口实行零关税。因此理论上广东农垦生产加工菠萝罐头的成本应控制在东盟三国进口价格线下才可能在国内市场具有价格竞争优势。

结合菠萝罐头的实际情况,目前最重要的就是千方百计延长开工期,提高产量,保障货源,增强现有客户对企业的信心,确保客户不再流失;二要根据市场反馈信息,改进产品包装、种类、口味等,生产市场销路广、消费者喜爱的产品,增加企业收入;三要树立成本意识,想方设法使现有产能得以满负荷生产,以扩大生产规模降低间接成本比例,提升生产效益;四要在保证生产的前提下,改进工艺流程,大胆引进新技术、新设备,提高生产效率;五要深入调研考察国内外先进的菠萝加工企业和新设备新技术,全面对比权衡旧工厂升级改造和新工厂投资建设,以打造中国菠萝加工龙头企业为目标进行菠萝加工企业的规划实施,努力形成菠萝加工龙头企业对菠萝产业的有力带动,实现对菠萝种植环节的价值补偿,推动广东农垦菠萝产业持续发展。

#### (四) 以市场为导向开展多种菠萝种植经营模式, 夯实垦区菠萝产业发展基础

2017年,广东农垦湛江垦区已着手整合收获菠萝罐头厂与1100多公顷可耕作土地资源,推动菠萝产业化改革迈出坚实步伐。2017年10月至2019年4月,以国有农场或产业化公司自营、产业化公司+国有农场合作共建等方式,种植传统巴厘种和台农16、17号、金菠萝等品种共4000多亩,到目前已收获台农16、17号新品种面积近450亩,销售价均在成本价以上,效益初见。下一步组建的作为独立核算的菠萝种植基地公司,一要以市场为导向探索自营、加工企业(营销公司)订单式、自有基地+加工企业(营销公司)合作共建,以及以公司+职工(农户)、公司+合作社等多种经营模式,有计划地组织播种和采摘,以满足菠萝加工企业对于原料菠萝的需求;二要严格控制种植成本,比如以2019年徐闻菠萝鲜果地头销售单价为例,普通菠萝的生产成本要控制在1500元/吨(或5800元/亩,按每4吨/亩计算)以下,新品种要控制在2880元/吨(或7200元/亩,按2.5吨/亩计算)以下;三要合理安排新品种和传统品种的种植比例,在鲜果销售旺季时以价高的新品种效果销售盈利,在淡季时以产量高的巴厘种满足加工需求;四要积极配合研发中心,大力引进优质菠萝品种种植,规范种植技术和标准,为发展全产业链菠萝产业夯实基础。

#### (五) 以广东农垦系统内科研单位为依托整合科技资源, 为发展菠萝产业提供有力的科技支撑

目前要加快推进自有基地对高端优质品种的引进和推广,改变传统“巴厘种”一统天下的品种单一的状况,为推进农业供给侧结构性改革,推动菠萝产业高质量发展作出示范带动。下一步要根据菠萝加工企业对于原料菠萝皮薄、肉多、味浓、高产等要求加快品种改良,改善加工环节浪费严重的状况;要加强对种植基地的技术指导,要在充分的种植试验基础上确立菠萝种植规范和标准;要结合广东农垦农业产业体系的特点,加大菠萝新产品研发力度,加快推进菠萝产品深加工和菠萝加工废弃物的开发利用,为全产业链菠萝产业的可持续发展提供科技支撑。

2018年12月3日,中国与巴拿马正式签署《中华人民共和国海关总署与巴拿马共和国农业部关于巴拿马鲜食菠萝输华植物检疫要求的议定书》<sup>[8]</sup>,这标志着又一国家可以向我国出口菠萝。今年4月底,全球最大菠萝出口国哥斯达黎加强势来袭,该国输华菠萝注册企业达到49家<sup>[9]</sup>之多。中国巨大的市场对全球菠萝主产国都具有诱惑力。广东农垦湛江垦区2017年菠萝平均产量为58.83吨/公顷,仅随印度尼西亚(115.87吨/公顷)和哥斯达尼加(68.68吨/公顷)其后,是全球平均产量24.94吨/公顷的2.36倍,是中国平均产量22.75吨/公顷<sup>[19]</sup>的2.59倍。可以说,广东农垦发展菠萝产业占据生产和市场两大有利因素,是一个有大作为的产业领域。要发扬艰苦创业的农垦优良传统,充分考虑国有农垦企业作为市场主体和肩负中央企业特殊使命的双重要求,大力倡导和践行国有企业家精神,在推动菠萝产业高质量发展和实施乡村振兴战略中的勇担重任,推动菠萝产业全产业链发展,不断提高企业核心竞争力。

#### 参考文献

- [1]金琰, 刘海清.我国菠萝产业链现状及优化途径研究[J].中国热带农业, 2016(05): 9-12.
- [2]2018年广东第一产业增加值增长4.2% [OL].广东统计信息网, [http://stats.gd.gov.cn/tjcx185/content/post\\_2204666.html](http://stats.gd.gov.cn/tjcx185/content/post_2204666.html).
- [3]马壮壮, 覃光恒.2019年广东菠萝上市季报告——探秘“菠萝周期” [OL].广东省名牌产品(微信公众号).<https://mp.weixin.qq.com/s/YrB09JgfAkTMOTIVYoedTQ>.
- [4]徐嘉豪.从徐闻菠萝风波看“互联网+农业” [N].光明日报, 2016-05-30(02).
- [5]全良波, 袁增伟.紧跟荔枝, 三华李也红了 菠萝的海怎么办…… [N].羊城晚报, 2018-05-31(A3).
- [6]马壮壮, 覃光恒.2019年广东菠萝上市监测报告——主动权逐渐向采购方倾斜 [OL].广东省名牌产品(微信公众号).<https://mp.weixin.qq.com/s/3WkxNNEXmPeAHeA1MqgHfg>.
- [7]童彤.亚洲: 菠萝消费持续增长[J].中国果业信息, 2018, 35(09): 38.

<sup>19</sup> 数据来源 世界粮农组织统计数据。

- [8] 巴拿马鲜食菠萝输华植物检疫议定书签署 . 中国海关总署网站 ,  
<http://www.customs.gov.cn/customs/302249/302425/2131834/index.html>.
- [9] 哥斯达黎加输华菠萝注册企业名单 ( 2019 年 4 月 28 日更新 ) . 中国海关总署网站 ,  
<http://www.customs.gov.cn/customs/jyjj/dzwjyjqymd/zwjcp/2403037/index.html>.

# 油茶高效育苗栽培管理技术要点

张明俊, 黄梅花, 谢黎黎

广东农垦热带作物科学研究所, 广东化州, 525145

**摘要** 近年来, 油茶产品市场售价较高, 油茶种植作为扶贫产业或在推进产业转型升级方面得到广泛应用, 但是油茶种植要5年左右才起产, 前期投入成本较高, 本文介绍了油茶芽苗及小苗嫁接育苗技术流程和热区大田栽培管理技术, 总结了生产中油茶种苗繁育最优的嫁接时间、嫁接方法, 具有成活率高, 生长快速, 具有较高经济效益及推广价值。在油茶大田栽培技术管理方面, 结合热区的气候及林地环境, 摸索一套油茶种植、品种选择、修剪、树形培育、病虫害防治等综合栽培技术要点, 以期为广大油茶种植农户提供最高效管理技术方案, 提高油茶种植效益。

**关键词** 油茶 育苗 栽培 技术

油茶(*Camellia oleifera* Abel), 属山茶科山茶属植物, 为常绿小乔木或灌木。油茶又名茶子树, 是我国特有的木本食用油植物品种。茶油对人体健康来说是最好的食用油, 被誉为“油中之王”, 油质色清而香, 其主要成分是油酸和亚油酸等不饱和脂肪酸, 含量占90%以上。随着人们生活质量的提高以及对高质量食用油需求, 茶油价格不断上涨, 种植油茶具有较高经济效益。

近年来, 油茶在广西地区作为扶贫产业广泛种植, 为了推进企业转型升级, 广东地区也大力发展油茶种植业。油茶树是种植收获期可达70年以上。油茶适宜于亚热带的生态环境种植, 而粤西地区年均温度都在22-23℃, 降水量1500-1800毫米之间。选择适宜的种植品种、种苗繁育技术、栽培管理技术, 通过良种油茶繁育技术, 采用芽苗砧和小苗嫁接技术, 结合修剪、树形培育、病虫害防治等综合栽培技术要点定植3年后普遍有果, 4-5年后达到稳产高产。

## 一、砧木培育

### 1、种子采集与贮藏

油茶果采摘回来后, 放在通风处放置1-2天, 进行后熟脱壳, 然后筛选大粒饱满的种子在阴凉处稍风干, 也可用粗河沙与种子在室内贮藏, 河沙与油茶种体积比为1.5:1。

### 2、修建沙床

嫁接前, 选取地势平坦地块, 用木板修建沙床, 宽0.6m, 各列间留步沟50cm, 河沙用0.5%的高锰酸钾溶液消毒处理。

### 3、播种

选取大粒油茶种子, 用0.2%高锰酸钾溶液对种子进行消毒。种子浸泡24小时后开始催芽, 先铺一层20cm厚清洁河沙, 整齐摆放油茶种子后再盖沙15cm厚, 沙的湿度以手捏成团松后散开为宜。一般经过40天时间, 待胚芽长到3厘米左右时, 即可用作嫁接砧木。鲜果的种子催芽发芽率达到70%。

## 二、嫁接前准备工作

### 1、育苗场地的准备

嫁接前在大棚内或外选择地势平坦、灌溉条件良好的地块, 整地作床, 苗床宽1.2m, 列间50cm, PH在4.5-6.5之间。利用生石灰先进行土壤消毒, 以减少杂草及病虫害源。做好遮阳准备工作, 要求遮荫度75%。

### 2、芽条培育

选用品种纯正的良种油茶树建立增殖圃。采集接穗时, 选取树冠外围的枝条, 取其生长粗壮、腋芽明显、无病虫害的当年生枝条, 剪下后放于阴凉处, 芽条采集好后用袋子包好进行运输, 防止过干或堆沤太久。

### 3、育苗容器准备

油茶工厂化育苗选用直径7.5高15公分的育苗杯, 基质疏松、透气、不板结, 由泥炭土、珍珠岩等材料组成, 基质养分一般为有机质达到45%, PH6.5, 养分达到2%。

## 三、嫁接

### 1、起芽苗砧

嫁接前应小心起出砧木苗, 从沙床侧面扒开沙子, 用手指拿好叶柄下方的根部, 轻轻拨出, 尽量不损伤子叶柄, 保留油茶种子。起苗后用清水清洗掉沙子, 用多菌灵浸泡20分钟, 清洗后用湿毛巾保湿待用。

### 2、培育油茶实生苗

12月份开始用油茶芽苗种入培养容器中, 种植前土壤用敌克松处理, 种植后喷施杀菌剂和生根剂, 搭拱棚盖薄膜, 一周后待长出新叶再揭去拱膜, 培育5个月茎粗达到0.5公分, 就可以用来进行小苗嫁接。

### 3、接穗

**作者简介** 张明俊, 男, 1982年出生, 农艺师, 主要从事油茶育苗及栽培技术研究。地址: 广东省化州市石湾街道广东农垦热带作物科学研究所, 邮编: 525145, 联系电话: 13423558207, 电子邮箱: mjz0124@163.com。

芽条后从基部开始依次向上，削取饱满芽作接穗，一穗一芽，叶片可全留亦可剪去 1/3，接芽下端削成薄楔形，长约 1.2 厘米。一般一斤芽条可以取得 240-330 个接穗。

#### 4、芽苗嫁接

芽苗砧嫁接 1-5 月份均可进行，以 1 月份最好。在芽苗砧初生叶柄上方约 2 厘米处平截一刀，切一与接穗楔形对应的切口，长约 1 厘米。小苗芽接直接在油茶苗茎离地 8 公分位置平切一刀，纵向开一 1.2 公分的切口。接穗插入砧木，使有芽的一边与砧木一边沿对齐。用长 3 厘米，宽 1 厘米的薄铝片做成筒装套上并捏紧。

#### 5、小苗嫁接

经多次对比试验，小苗嫁接在 5 月份进行最好。在实生苗离地面 1 公分地方平剪，芽片芽接方法和芽苗方法一样。

### 四、嫁接后抚管技术

#### 1、定植

将接好的芽苗栽植到育苗杯，栽植深度是把苗砧上的种子刚埋入为度，压实后用浇透水和杀菌剂，插上弓架，盖上薄膜，四周用土压紧密封。密度 120 株/平方米。芽接后一个月是成活的关键时期，既要做好降温工作，又要防止渍水烂根。

#### 2、抹芽

栽植后 40 天左右，接口开始愈合，砧木会长出一些萌芽枝，对萌芽枝应及时抹除，否则会影响芽接苗的生长。油茶生长过程中，腋芽和花芽同时并存，应及时摘除花芽，促进腋芽生长。苗床杂草应及时拔掉，以免影响苗木生长。除草和除萌可以结合进行。

#### 3、温湿度控制

油茶芽接后 30 天是成活的关键时期，观察薄膜内温湿度情况。及时应打开弓架两头的薄膜，增加透光、通风度，防止芽苗烂根。待幼苗新稍稳定，即可揭去薄膜。

#### 4、水肥管理

重视水肥工作，可使油茶幼苗速生快长。苗床，既不能积水也不能缺水，如发现苗床缺水，应及时喷灌，注意油茶苗木只能喷灌不能漫灌，漫灌易造成苗木烂根成批死亡。在除萌除草时，都要根据苗床湿度喷水。每月追施沤制过有机肥或 0.2%浓度的复合肥水肥一次、用普罗丹等叶面肥进行追施。

#### 5、病虫害管理

油茶嫁接苗第一年病害有根腐病、白绢病、炭疽病，用 1%波尔多液防治；虫害有蟊蛄、地老虎、金龟子等，用 800 倍灭扫利液防治。

### 五、大田栽培管理技术

#### 1、大田定植

油茶大田定植规格为株距 4 米行距 3 米为宜，按照株行距进行定标挖穴，挖穴在定植之前一个月完成，植穴规格为 60 cm×60 cm×60 cm 以上。定植时放入定植肥 2 kg，回表土并将基肥混匀，再回土制作成馒头状土堆，土堆顶高于地面 10 cm。

#### 2、树形培育

油茶栽植后，在地面起或距嫁接口 40~60 cm 左右定干，即进行打顶（摘心），选留 3 个~4 个生长强壮、方位合理的侧枝培养为主枝。定植后第二年在每个主枝上保留 2 个~3 个强壮分枝作为副主枝；第 3 年~4 年，在继续培养正副主枝的基础上，将其上部的强壮春梢培养为侧枝群，并使三者之间比例合理，均匀分布。并及时剪除扰乱树形的徒长枝，病虫枝，重叠枝和枯枝等。小枝多、大枝少、枝条分布均匀合理、内部通风透光、上下内外都开花、立体结果。

#### 3、病虫害防

必须贯彻“预防为主、综合防治”的植保方针、以营林技术为基础，与生物、化学防治相结合的综合防治措施。

#### 4、施肥技术

施足基肥的幼林地，第一年不再施有机肥。从第二年起，在 11 月至翌年 1 月每株施有机肥 2~3 kg，在 3 月份春梢萌动前每株追施复合肥 0.2 kg，随着树体的增长，3-5 年每株追施复合肥 0.5 kg。

### 六、小结

每年在 1 月份进行油茶芽苗砧嫁接、5 月份进行小苗嫁接，选取良种油茶枝条作接穗，芽接苗成活率可到达 90%以上的。其根系较完整，当年可抽 3 批稍，上山定植后生长迅速，4 年树可结果 3 公斤，5 年时达到高效稳产。

# 基于 Citespace 的剑麻研究热点与发展趋势的可视化分析

吴如慧, 徐杨玉, 陈士伟, \*杜怡安, 刘卫军  
广东农垦热带农业研究有限公司, 广东广州, 511365

**摘要** 为了分析国内剑麻研究的热点及发展的趋势, 利用 Citespace 软件检索中国知网 1999—2018 年间的相关文献, 对其进行分析并绘制可视化图谱。通过共现分析和可视化表达, 识别剑麻研究的核心作者群、发文机构、关键词以及研究的热点, 清晰地把握剑麻领域的研究现状与未来趋势, 并对未来的研究发展趋势做出简要分析。

**关键词** 剑麻; 研究热点; 发展趋势; Citespace; 可视化分析

## Visual Analysis of Research Hotspots and Development Trends of *Agave sisalana* Based on Catespace

WU Ruhui XU Yangyu CHEN Shiwei DU Yian LIU Weijun  
Guangdong Agribusiness Science&Tropical Agricultural Research Co., Ltd., Guangzhou Guangdong, 511365

**Abstract** In order to analyze the research hotspots and development trends of sisal in China, Citespace software was used to search the related literatures of China National Knowledge Infrastructure(CNKI) from 1999 to 2018, analyze these related literatures and draw visual maps. The core authors, research organization, keywords and research hotspots of sisal were identified through co-occurrence analysis and visual expression. Clearly grasp the current research status and future trends in sisal, and make a brief analysis on the research trends in the future.

**Keywords** *Agave sisalana*; Research hotspots; Development trends; Visual analysis

剑麻又称菠萝麻、龙舌兰麻<sup>[1]</sup>, 是热带地区一种重要的多年生叶纤维经济作物, 具有耐腐蚀、生长力强、适应范围广、收获期长等特点<sup>[2]</sup>。剑麻的叶片富含含有优质的硬质纤维, 其产量占世界总纤维量的 2/3<sup>[3]</sup>, 广泛应用于工矿、运输、渔航、电梯、汽车制造等行业。除纤维类推广的产品外, 剑麻汁液和麻渣都很有应用价值, 如剑麻麻渣在农业生产商上可以制作生物有机肥和畜禽的饲养材料, 剑麻汁液所提炼出的皂素则是贵重药物生产原料, 还可制取草酸、果胶、食用酒精及动力燃料等, 应用前景广阔。

中国是世界上种植剑麻的主要生产国之一, 剑麻纤维产量在世界排名也是居高不下, 稳居第二位<sup>[4]</sup>。随着人们对剑麻性能和优点的认识不断加深, 使得剑麻的应用更加广阔, 进而人们对剑麻的需要不断增加, 加剧了剑麻纤维尤其是优质纤维产品市场供不应求的矛盾。中国自产的剑麻纤维无法满足本国人口的需求, 更无法满足世界剑麻日益增长的出口贸易。我国剑麻产业在面临良好发展机遇的同时, 也面临严峻的挑战。因此剑麻资源的生产利用显得尤为重要, 如何抓住机遇发展剑麻正日益成为大家关注的焦点。由于剑麻在全球范围内都属于供小于求, 所以剑麻资源的生产利用更加重要, 国内对剑麻的研究也越来越深入, 但是目前还未有对剑麻进行综述型论文的发表, 尤其是利用 Catespace<sup>[5,6]</sup>软件对剑麻相关文献进行文献可视化分析。笔者通过采用 Catespace 软件及 Exel 表格对二十年国内剑麻研究领域重要文献的文献期刊数量、作者、发文机构和关键词等进行图谱绘制, 进而反映分析出国内剑麻的研究方向和热点。

## 1 数据来源与研究方法

以中国知网(CNKI)数据库为检索数据的来源, 利用高级检索, 以“剑麻”为关键词进行精确检索, 发表时间为 1999—2018 年, 去除会议、报纸、年鉴等不符合的文献以及人工操作去掉不相关的文献<sup>[6]</sup>, 最终得到 846 篇有效文献。在中国知网上检索确定后的文献以 Reworks 格式导出之后再导入到 CiteSpace 软件, 阈值选择 (2, 2, 20) (4, 3, 20, ) (4, 3, 20), 将得到的数据进行整理、统计, 运用 Exel 表格以及 Catespace 软件对剑麻相关文献的文献期刊数量、作者、发文机构和关键词等进行图谱绘制。

## 2 结果分析

### 2.1 剑麻相关研究论文发表情况

对中国知网(CNKI)数据库检索的近二十年的国内剑麻相关文献进行统计分析, 利用 Exel 表格绘制出期刊数量随年份变化的趋势(图 1)。从图 1 可知我国剑麻的研究在 1999—2009 年期间都是处于平稳上升期的状态, 这表明在这一期间国内的研究学者开始对剑麻逐渐重视了起来。自 2010 年到 2013 年的剑麻研究都处于高峰期, 平均每年的发文量达到了 70 多篇, 通过研究对剑麻性能和优点的认识不断加深, 使得剑麻的应用更加广阔。从表中可以看出 2014 年到 2018 年文献的数量略有回落, 但平均每年的发文量仍达到了 50 多篇, 可以预测未来几年对于剑麻研究领域的文献数量将会呈现平稳缓慢增长的趋势。

**作者简介** 吴如慧(1991 年-), 女, 硕士研究生; 研究方向: 热带植物真菌病害。\*通讯作者(Corresponding author) (杜怡安), E-mail:adyia@tom.com。



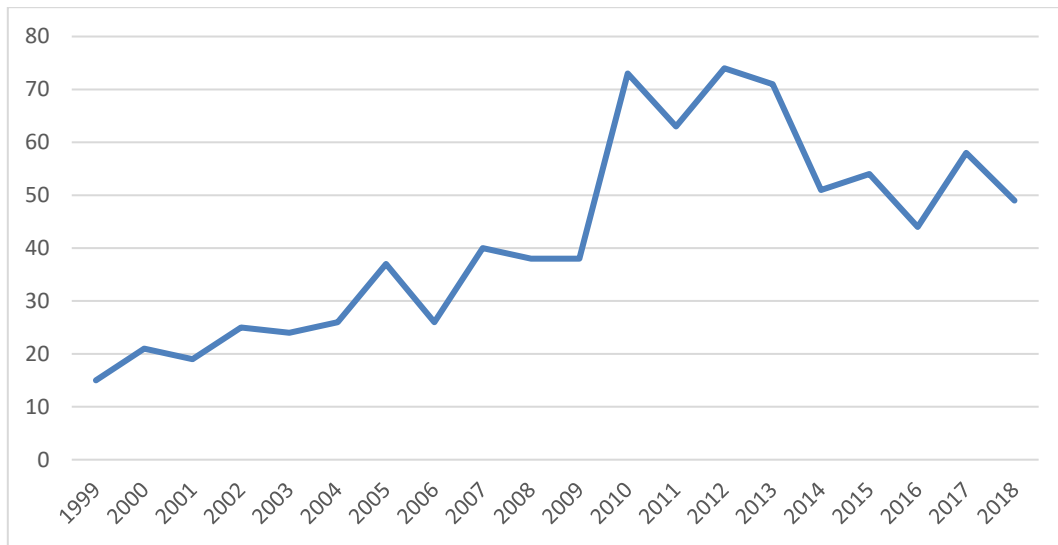


图 1 1999—2018 年我国剑麻研究文献数量  
Fig.1 Number of *Agave sisalana* research literature

## 2.2 剑麻研究作者及作者群分析

本文利用 CiteSpace 软件对 1999—2018 年剑麻领域发表论文数量最多的前 40 名作者绘制知识图谱(图 2)和前 20 名作者的统计表(表 1)。在 CiteSpace 中勾选 Author, 一个节点代表一位作者, 节点大小代表发表文献的数量, 各节点之间的连线代表各机构各作者之间的合作关系<sup>[7]</sup>。其中以易克贤<sup>[8-14]</sup>为主的研究者主要关注剑麻的病虫害以及种质资源; 郑金龙<sup>[15-18]</sup>等研究学者更多关注剑麻病虫害的预测预报技术及杀菌剂防治药效方面; 周文钊<sup>[19-22]</sup>等研究学者更多关注剑麻产业的科技创新以及产业发展情况;

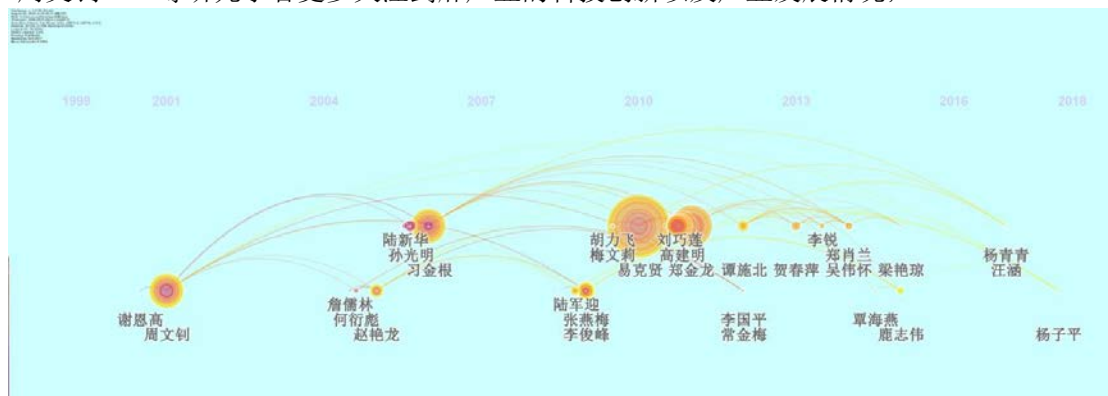


图 2 剑麻研究作者知识图谱  
Fig.2 *Agave sisalana* research author knowledge map

表 1 剑麻研究前二十名论文发表作者统计表  
Tab.1 Statistical table of the top-20 authors publishing the papers in *Agave sisalana* research

| 序号 | 作者  | 出现频次 |
|----|-----|------|
| 1  | 易克贤 | 40   |
| 2  | 郑金龙 | 27   |
| 3  | 周文钊 | 25   |
| 4  | 习金根 | 25   |
| 5  | 高建明 | 18   |
| 6  | 刘巧莲 | 16   |
| 7  | 陈河龙 | 15   |
| 8  | 张世清 | 14   |
| 9  | 张燕梅 | 12   |
| 10 | 李俊峰 | 12   |
| 11 | 赵艳龙 | 11   |
| 12 | 孙光明 | 9    |
| 13 | 谭施北 | 9    |
| 14 | 陆军迎 | 8    |

|    |     |   |
|----|-----|---|
| 15 | 黄富宇 | 8 |
| 16 | 黄标  | 8 |
| 17 | 贺春萍 | 7 |
| 18 | 杨荣  | 7 |
| 19 | 黄树长 | 6 |
| 20 | 戚强  | 6 |

### 2.3 剑麻研究论文重要发表机构分析

本文利用 CiteSpace 软件对发表的论文数量多的核心学术团体和机构进行网络分析,并绘制知识图谱(图 3)和前 20 名的机构统计表(表 2)。在 CiteSpace 中勾选 Institution,一个节点代表一个研究机构,节点大小代表机构发表文献的数量,节点间连线表示各机构之间的合作关系<sup>[23]</sup>。其中发表文献最多的机构是中国热带农业科学院南亚热带作物研究所(29 次),其次为中国热带农业科学院环境与植物保护研究所(23 次),海南大学农学院和中国热带农业科学院热带生物技术研究所农业部热带作物生物技术重点开放实验室发表剑麻领域文献也都超过了 10 次,为剑麻的发展做出了相应的贡献。



图 3 海洋渔业研究论文发表机构图谱

Fig.3 Map of the institutions publishing the papers in *Agave sisalana* research

表 2 剑麻研究前二十名论文发表机构统计表

Tab.2 Statistical table of the top-20 organs publishing the papers in *Agave sisalana* research

| 序号 | 发文机构  | 出现频次 |
|----|---|------|
| 1  | 中国热带农业科学院南亚热带作物研究所                              | 29   |
| 2  | 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所                             | 23   |
| 3  | 海南大学农学院   | 13   |
| 4  | 中国热带农业科学院热带生物技术研究所农业部热带作物生物技术重点开放实验室            | 10   |
| 5  | 湛江农垦东方红农场                                       | 9    |
| 6  | 广西职业技术学院  | 8    |
| 7  | 广西壮族自治区亚热带作物研究所                                 | 7    |
| 8  | 广东省湛江农垦局  | 6    |
| 9  | 广西亚热带作物研究所                                      | 6    |
| 10 | 广西农垦国有山圩农场                                      | 6    |
| 11 | 农业部剑麻及制品质量监督检验测试中心                              | 5    |
| 12 | 湛江农垦第二机械厂                                       | 4    |
| 13 | 中国热带农业科学院热带生物技术研究所                              | 4    |
| 14 | 广东省农垦总局   | 4    |
| 15 | 中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所                            | 3    |
| 16 | 湛江海洋大学农学院                                       | 3    |
| 17 | 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所农业部儋州农业环境科学观测实验站             | 3    |
| 18 | Biotechnology Interunit Post-Graduation Program | 2    |
| 19 | 广西国有旺茂农场  | 2    |
| 20 | 中国热带农业科学院农业机械研究所                                | 2    |

### 2.4 剑麻研究关键词分析

本文利用 CiteSpace 软件的科学文献引文中心性分析方法对 1999—2018 年剑麻领域发表论文关键词绘制知识图谱(图 4)和前 20 个关键词的统计表(表 3)。在 CiteSpace 中勾选 Keyword,一个节点代表一个关键词,各节点之间的连线代表关键词的关联性,线条越粗关联度越高。除了“剑麻”出现频次最高(374)以外,其他出现频次较高的关键词分别是“波罗麻(158)”、“麻类作物(158)”、“农场(16)”、“垦区(11)”、“广东农垦(10)”等,以上关键词展示了近二十年剑麻的种植主要以垦区的大面积种植为主,但随着剑麻的发展,众多研究者也开始探索剑麻在农业方面的开发、复合材料、病虫害防治以及收割技术等方面。

表 3 剑麻关键词统计表

Tab.3 Statistical table of the keywords in *Agave sisalana*

| 序号 | 关键词 | 出现频次 |
|----|-----|------|
|----|-----|------|

|    |        |     |
|----|--------|-----|
| 1  | 剑麻     | 374 |
| 2  | 波罗麻    | 158 |
| 3  | 麻类作物   | 158 |
| 5  | 农场     | 16  |
| 6  | 垦区     | 11  |
| 7  | 广东农垦   | 10  |
| 8  | 地毯     | 9   |
| 9  | 广西农垦   | 9   |
| 11 | 农业开发   | 8   |
| 12 | 农垦     | 8   |
| 13 | 复合材料   | 7   |
| 14 | 天然橡胶   | 7   |
| 15 | 新菠萝灰粉蚧 | 7   |
| 16 | 企业     | 6   |
| 17 | 企业管理   | 6   |
| 18 | 斑马纹病   | 6   |
| 19 | 农业     | 5   |
| 20 | 广西     | 5   |

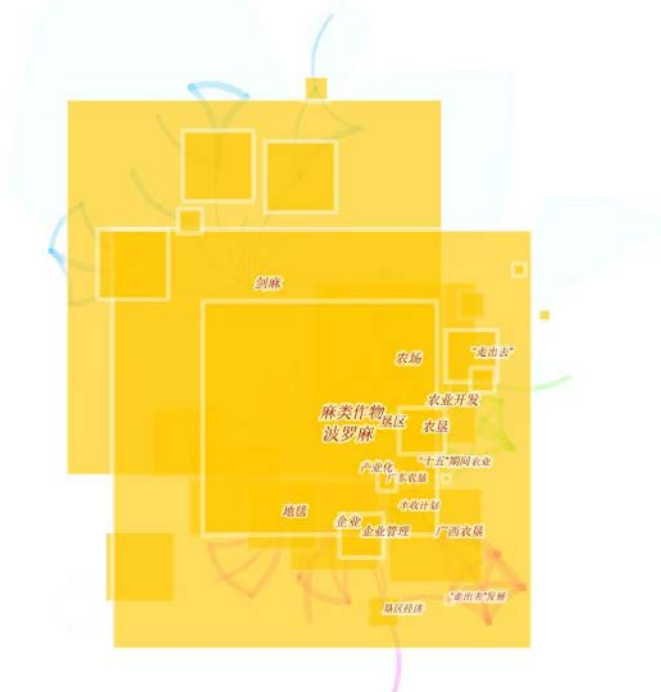


图 4 剑麻关键词知识图谱

Fig.4 *Agave sisalana* keyword knowledge map

### 3 结语

剑麻应用前景广阔，人们对剑麻的需要不断增加，优质纤维产品市场供不应求。我国剑麻产业在面临良好发展机遇的同时，也面临严峻的挑战，如何抓住机遇、克服困难、发展剑麻正日益成为大家关注的焦点。笔者通过采用 Citespace 软件及 Exel 表格对二十年国内剑麻研究领域重要文献的文献期刊数量、作者、发文机构和关键词等进行图谱绘制，进而反映分析出国内剑麻的研究方向和热点。国内剑麻研究仍将平稳发展，发文数量将呈平稳缓慢增长的趋势。国内剑麻的研究机构较多，主要的为中国热带农业科学院亚热带作物研究所和中国热带农业科学院环境与植物保护研究所。未来国内剑麻将在农业方面的开发、复合材料、病虫害防治以及收割技术等方面进行研究。数字化科技与农业相结合，抓住机遇发展剑麻，使剑麻的优质纤维达到高产，满足国人需求并远销国外。

#### 参考文献

- [1] 裴超群. 龙舌兰科植物资源调查报告[J]. 广西热作科技, 1997 (1): 15-21
- [2] 刘明举, 薛华. 广西剑麻科研生产现状与发展对策[J]. 中国麻业, 2002, 24(1): 43-45.
- [3] 国家麻类产业技术体系产业经济研究室. 2010 年度麻类产业经济分析报告[M]. 长沙: 湖南大学出版社, 2011
- [4] 周文钊, 张燕梅, 陆军迎. “十二五” 剑麻科技发展趋势与建议[J]. 热带农业工程, 2011, 35(3): 49-52.
- [5] Chen C. CiteSpace II: Detecting and visualizing emerging trends and transient patterns in scientific literature[J]. Journal of the American Society for Information Science and Technology, 2006, 57 (3): 359-377.

- [6] Chen C. Searching for intellectual turning points: Progressive Knowledge Domain Visualization [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2004, 101 (1): 5303-5310.
- [7] 吴彬彬, 王京, 宋海涛. 基于 CiteSpace 的复杂网络可视化研究图谱 [J]. 计算机系统应用, 2014, 23(2):7-15.
- [8] 陈河龙, 高建明, 张世清, 等. 剑麻 ISSR 反应体系的建立及其优化 [J]. 贵州农业科学, 2015, 43(02):20-23.
- [9] 刘巧莲, 朱军, 郑金龙, 等. 剑麻茎腐病 6 个病原菌生物学特性的研究 [J]. 中国麻业科学, 2014, 36(01):23-27+32.
- [10] 陈河龙, 郭朝铭, 刘巧莲, 等. 龙舌兰麻种质资源抗斑马纹病鉴定研究 [J]. 植物遗传资源学报, 2011, 12(04):546-550.
- [11] 张世清, 郭朝铭, 高建明, 等. 中国剑麻种质资源的 AFLP 分析 [J]. 热带作物学报, 2011, 32(01):105-109.
- [12] 刘巧莲, 郑金龙, 张世清, 等. 13 种药剂对剑麻斑马纹病病原菌的室内毒力测定 [J]. 热带作物学报, 2010, 31(11):2010-2014.
- [13] 郑金龙, 高建明, 张世清, 等. 杀菌剂对剑麻茎腐病病原菌的室内毒力测定 [J]. 中国麻业科学, 2010, 32(05):270-274.
- [14] 郑金龙, 刘巧莲, 陈鸿, 等. 剑麻斑马纹病病原菌生物学特性初步研究 [J]. 热带农业科学, 2008, 28(06):15-18.
- [15] 郑金龙, 贺春萍, 易克贤, 等. 剑麻病虫害预测预报研究进展及展望 [J]. 中国麻业科学, 2015, 37(06):330-334.
- [16] 郑金龙. 剑麻病虫害预测预报技术研究进展及展望 [A]. 中国热带作物学会. 中国热带作物学会第九次全国会员代表大会暨 2015 年学术年会论文摘要集 [C]. 中国热带作物学会: 中国热带作物学会, 2015:1.
- [17] 郑金龙. 剑麻病虫害预测预报技术初探 [A]. 中国植物病理学会 (Chinese Society for Plant Pathology). 中国植物病理学会 2015 年学术年会论文集 [C]. 中国植物病理学会 (Chinese Society for Plant Pathology): 中国植物病理学会, 2015:1.
- [18] 郑金龙, 高建明, 张世清, 等. 6 种杀菌剂防治剑麻茎腐病田间药效试验 [J]. 广东农业科学, 2012, 39(23):65-66.
- [19] 周文钊, 罗练芳. 提高剑麻科技创新能力的战略思路 [J]. 中国麻业学, 2007(S1):104-106+111.
- [20] 周文钊, 孙光明. 加快剑麻优势区域建设 促进剑麻产业化发展 [J]. 中国业, 2004(01):40-45.
- [21] 周文钊, 谢恩高. 新世纪剑麻业的发展机遇与对策 [J]. 中国麻业, 2001(04):43-46.
- [22] 谢恩高, 王东桃, 周文钊. 剑麻抗病高产新品种的选育及其探讨 [J]. 中国麻作, 1996(02):14-17+30.
- [23] 潘静, 范云欢. 基于 CiteSpaceIII 的“一带一路”与海关研究文献的可视化研究 [J]. 海关与经贸研究, 2017, 38 (02): 1-11.

# 绿色木霉抗花生黄曲霉相关基因 *TvRBL* 的克隆、序列分析

徐杨玉<sup>1,2</sup>, 刘付香<sup>3</sup>, 洪彦彬<sup>1</sup>, 温世杰<sup>1</sup>, 李玲<sup>4</sup>, 梁炫强<sup>1\*</sup>

1.广东省农业科学院作物研究所 广东 广州 510640; 2.广东农垦热带农业研究有限公司, 广东 广州 511365; 3.广东省中山市实验中学, 广东 中山, 528404; 4.华南师范大学, 广东 广州 510631

**摘要** 基于绿色木霉中抗菌蛋白质的 de-novo 质谱测定, 得到的部分肽段序列, 经 BLASTp 本地检索, 得到了与其序列同源性最高的是深绿木霉 (*Trichoderma atroviride*) 的蓖麻毒蛋白超家族基因, 具有(Q-X-W)<sub>3</sub> 和糖基结合位点。采用同源克隆法从绿色木霉菌丝中扩增出目的片段。通过生物信息学分析, 该基因 (命名为 *TvRBL*, GenBank 登陆号为 KJ6599080) 开放读码框全长 444 bp, 编码 147 个氨基酸。预测蛋白质分子量约为 16 kD, 等电点为 8.89, *TvRBL* 基因编码的蛋白含有 7 个磷酸化位点, 其中包括 4 个丝氨酸磷酸化位点 (15、47、87、99), 3 个酪氨酸磷酸化位点 (8、103、109)。*TvRBL* 基因推导氨基酸序列含有 Ricin B-type lectin<sup>6-143</sup> 活性位点。克隆得到 *TvRBL* 基因组序列为 444 bp, 无内含子。

**关键词** 生物防治; 绿色木霉; 同源克隆; *TvRBL* 基因; 序列分析

## Molecular Cloning, sequence analysis and Prokaryotic Expression of *TvRBL* Gene Related Resistance against *Aspergillus Flavus* in peanut from *Trichoderma Viride*

Yangyu Xu<sup>1,2</sup> Fuxiang Liu<sup>3</sup> Yanbin Hong<sup>1</sup> Shijie Wen<sup>1</sup> Ling Li<sup>4</sup> Xuanqiang Liang<sup>1\*</sup>

1.Crops Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou, Guangdong 510640; 2. Guangdong Agribusiness Tropical Agriculture Research Co., Ltd., Guangzhou, Guangdong 511365; 3. Guangdong Zhongshan Experimental Middle School, Zhongshan, Guangdong 528404; 4. College of Life Science, South China Normal University, Guangzhou, Guangdong 510631, China

**Abstract** Based on the de-novo mass spectrometry of antimicrobial protein from *Trichoderma viride*, the partial peptide sequence had the highest homology to the sequence of ricin protein superfamily from *Trichoderma atroviride* after BLASTp local search, containing (Q-X-W)<sub>3</sub> and putative sugar binding site. The fragment was successfully cloned from *Trichoderma viride* mycelium by using the homologous cloning method. By bioinformation analysis, the results showed that the gene (named *TvRBL*, Genbank accession No. KJ6599080) had a complete ORF sequence was 444 bp, encoding 147 predicted amino acids. The protein molecular weight was approximately 16 kD and theoretical pI was 8.89, The *TvRBL* gene encodes a protein containing seven phosphorylation sites, including four serine phosphorylation site (15, 47, 87, 99), three tyrosine phosphorylation site (8, 103, 109). The deduced amino acid sequence of *TvRBL* protein containing Ricin B-type lectin<sup>6-143</sup> active site. This study gained a 444 bp-length genomic sequence by PCR as genome DNA template without intron.

**Keywords** Biological control; *Trichoderma viride*; homologous cloning; *TvRBL* gene; Analysis of sequence

黄曲霉广泛分布于土壤和其他作物中, 高温高湿气候很容易侵染粮食、油作物的种子、各种食品和饲粮等, 对人类的健康构成很大威胁。黄曲霉不仅能引起花生、玉米等农作物发生病变, 而且黄曲霉也是导致人类曲霉病的仅次于烟曲霉的第二大菌<sup>[1]</sup>。黄曲霉污染已经成为一个世界性问题, 严重制约着油料作物的产量和贸易。传统的抗病育种因其周期长、耗时费力, 远不能满足大田生产需要。化学农药因其污染环境及食物链缘故, 加之病原菌的快速变异防治真菌病害效果受到限制。因此, 利用生物防治黄曲霉毒素污染是目前国内外研究的热点、难点。

1932 年, Weindling<sup>[2]</sup>首次发现木霉菌对一些土传真菌具有拮抗作用, 由此引起人们的重视。目前, 已经广泛用于多种植物真菌病害的防治, 特别是对立枯丝核菌、镰刀菌、疫霉菌等引起的土传病害具有较好的防治效果<sup>[3]</sup>。20 世纪 70 年代以来, 国内外对木霉菌的拮抗作用及其机制做了深入研究, 也取得了令人鼓舞的成果。绿色木霉 Tr9701 对立枯病菌和灰霉病菌等多种病原菌具有较强抑菌活性。小区试验表明, Tr9701 菌剂对黄瓜立枯病的防治效果在 66.27%~73.46%间, 对番茄灰霉病的防病效果在 70.85%~80.06%间<sup>[4]</sup>。绿色木霉 TR28 的挥发性分泌物对病菌孢子萌发具有一定的抑制作用, 含有 TR28 分泌物的培养基对病菌孢子萌发有很强的抑制作用, 抑制率高达 75.06 %<sup>[5]</sup>。随着基因工程技术的日趋成熟, 克隆出拮抗微生物相应的拮抗基因并分析其功能, 为在生物防治领域的广泛应用打下坚实的基础, 已是生防工作的重点。

木霉菌的作用机制有以下几种: (1) 抗生作用; (2) 重寄生作用; (3) 溶菌作用; (4) 竞争作用 (主要为对生存空间和营养的竞争); (5) 诱导植物抗性; (6) 协同拮抗作用; (7) 毒性蛋白。

RBL 蛋白为木霉菌的蓖麻毒蛋白超家族成员, 其主要生物学功能有以下几种: (1) 防卫作用: 植物凝集素可识别并结合入侵者的糖结构域, 从而干扰该入侵者对植物产生的可能影响; (2) 抑制真菌孢子的萌发: 凝集素可与真菌表面的葡聚糖、半乳糖、甘露糖等糖结合, 干扰真菌细胞壁的合成, 影响其细胞的正常代谢。

**基金项目** 国家 863 计划项目 (2006AA10Z156), 广东省自然科学基金重点项目 (07117967)

**第一作者简介** 徐杨玉 (1987-), 男, 农艺师, 主要从事花生黄曲霉生物防治研究; 联系电话: 13286876478, E-mail: 574301612@qq.com

**\*通讯作者简介** 梁炫强 (1964-), 男, 研究员, 主要从事花生抗黄曲霉研究; 联系电话: 13602724829, E-mail: [Liang804@yahoo.com](mailto:Liang804@yahoo.com)

体外研究表明, 棉花抗病品种种仁凝集素粗提物对棉枯萎病菌 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*) 孢子萌发的抑制效果为 86.41%-93.75%, 根部提取液抑制效果为 86.57%-89.06%<sup>[6]</sup>; (3) 通过选择性识别细菌和植物病毒; (4) 提高植物的防御能力, 避免昆虫和高等动物的侵袭; (5) 调节细胞-细胞、细胞-基质间的反应; (6) 可以作为识别因子, 对细胞产生信号作用, 并参与某些生理活动。

本研究前期鉴定筛选出绿色木霉菌具有明显的抗黄曲霉功能: 其发酵液对黄曲霉菌丝生长和孢子萌发具有显著抑制作用, 且能抑制毒素的产生并降解黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>。并初步筛选出三个抗性相关蛋白。对其中一个蛋白进行 de-novo 质谱测定, 得到的部分肽段序列 (如表 1 所示蛋白样品 3), 采用同源克隆获得该蛋白为蓖麻毒蛋白, 其全基因的开放读码框全长 444 bp, 编码 147 个氨基酸, 通过生物信息学分析, 该基因 (命名为 *TvRBL*, GenBank 登陆号为 KJ6599080) 预测蛋白质分子量约为 16 kD, 等电点为 8.89, *TvRBL* 基因编码的蛋白含有 7 个磷酸化位点, 其中包括 4 个丝氨酸磷酸化位点 (15、47、87、99), 3 个酪氨酸磷酸化位点 (8、103、109)。*TvRBL* 基因推导氨基酸序列含有 Ricin B-type lectin<sup>6-143</sup> 活性位点。克隆得到 *TvRBL* 基因组序列为 444 bp, 无内含子。

因此下一步考虑获得该基因的重组蛋白, 进行抑菌活性研究, 为花生等油料作物产业化生产提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 菌株与载体质粒

菌株绿色木霉 (*Trichoderma viride*) 由本实验室前期获得; 黄曲霉 (*Aspergillus flavus* L.) 菌株 GIM3.493 引自中国科学院微生物研究所, 该菌株侵染能力和产毒能力均较强; 大肠杆菌 DH5 $\alpha$ 、BL21(DE3)pLysS 是本实验室保存的菌种; 载体有 pUM-T Vector(Bioteke)、pET30a Vector(Novagen), 由本实验室保存。

#### 1.1.2 化学试剂与酶

丝状真菌 RNA 提取试剂盒、纯化试剂盒购自 Omega 公司; 各限制性内切酶、T4 连接酶、DNA Marker、反转录试剂盒 M-MLV RTase cDNA Synthesis Kit 购自 TaKaRa 公司; PCR 引物合成与测序由华大公司完成; BioTeke 2 $\times$ Power Taq PCR Master Mix 购 Bioteke; 蛋白 Marker、Gel Extraction Kit 均为 TIANGEN 公司的产品; 质粒提取试剂盒购自 Axygen 公司; 氨苄青霉素、卡那霉素、氯霉素等购自北京鼎国生物技术发展中心; 其它常用试剂均为国产分析纯。

#### 1.1.3 常用溶液及培养基

LB 液体培养基 (酵母膏 5 g/L、胰蛋白胨 10 g/L、NaCl 10 g/L); LB 固体培养基在液体 LB 培养基中加 15 g/L 琼脂。

PDB 液体培养基 (马铃薯 200 g/L, 蔗糖 20 g/L)。PDA 培养基是在 PDB 液体培养基中加 20 g/L 琼脂。

50 $\times$ TAE: 242 g Tris, 37.2 g Na<sub>2</sub>EDTA.2H<sub>2</sub>O, 800 mL 去离子水溶解, 加入 57.1 mL 醋酸, 混匀, 去离子水定容至 1 L, 室温保存备用。

常用抗生素: 氯霉素用无水乙醇溶解, 其余抗生素灭菌水溶解, 0.22  $\mu$ m 滤膜过滤, 分装, -20 $^{\circ}$ C 保存备用。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 绿色木霉菌对黄曲霉病原菌拮抗作用的验证

绿色木霉和黄曲霉菌种在 PDA 培养基中 28  $^{\circ}$ C 条件下培养 7 d, 分别吸取 5 mL 0.05% (V/V) Tween20 溶液, 加入到两个培养菌种的斜面中, 充分振荡, 用两张滤纸过滤到两个 50 mL 高压灭菌的三角瓶中, 血球计数板计数, 将孢子悬浮液都稀释到 1.0 $\times$ 10<sup>5</sup> CFU/mL, 做好标记, 放入 4  $^{\circ}$ C 冰箱保存备用。

将相同数目的绿色木霉孢子和黄曲霉孢子用点接种法接种于同一 PDA 平板中, 两者相距 2 cm, 置于 28  $^{\circ}$ C 下进行对峙培养, 每天观察其生长情况, 并拍照记录。

#### 1.2.2 蛋白粗提液抑菌效果的验证

用无菌水将绿色木霉发酵液制备的无菌分泌蛋白粗提液稀释成不同浓度。PDA 培养基灭菌后待温度降至 40  $^{\circ}$ C 左右时加入黄曲霉孢子使其浓度为 10<sup>5</sup> 个/mL, 混匀后将其倒入 90 mm 培养皿中, 待培养基凝固后, 用无菌打孔器在培养基上打直径为 9 mm 的孔并挖去孔内培养基, 每孔内加入 100  $\mu$ L 不同浓度的无菌蛋白粗提液<sup>[7]</sup>。将培养皿置于 28  $^{\circ}$ C 下培养, 3 d 后观察抑菌效果。

#### 1.2.3 绿色木霉菌总 RNA 的提取和 cDNA 合成

本实验采用 OMEGA 真菌 RNA 提取试剂盒抽提绿色木霉菌 28 $^{\circ}$ C 发酵培养 7 d 过滤收集的菌丝总 RNA。第一链 cDNA 合成参照 TaKaRa 公司 M-MLV RTase cDNA Synthesis Kit 试剂盒说明书进行。

#### 1.2.4 PCR 引物的设计

由北京大学深圳研究院对绿色木霉抗菌发酵液中三个差异蛋白点进行 de-novo 序列测定和数据库分析, 得到的 3 个部分肽段序列如表 1 所示, 将样品 3 的部分肽段序列进行 BLASTp 检索, 得到与其序列同源性最高的是深绿木霉 (*T. atroviride*) 中蓖麻毒蛋白超家族成员, 根据核酸序列的同源性设计一对特异性引物, 用

T1、T2 表示，用该引物扩增目的片段。本研究所用的 PCR 引物序列见表 2。

表 1 差异蛋白的部分肽段分析

| 蛋白名称       | 部分肽段序列                 |
|------------|------------------------|
| Sample 1   | ALTTQSGAPWGL[I]GTVSHR  |
| Sample 2   | L[I][L]QYTFHGPNQQWR    |
| ▲ Sample 3 | SAI[L]SQHQPVNDQASNPTGR |

表 2 本研究所用引物及序列

| 引物名称 | 引物序列 (5'→3')          | 酶切位点 |
|------|-----------------------|------|
| T1   | ATGTCGCTCTTTGAGGGAACC | -    |
| T2   | TTAACAGCCAAGGCGCGT    | -    |

### 1.2.5 目的片段的扩增、生物信息学分析

以绿色木霉菌总 RNA 反转录得到的 cDNA 为模板,使用引物 T1、T2 扩增目的片段。反应体系为:2×PCR Master Mix 10 μL; 引物各 1.0 μL; 模板为 1.0 μL, 加双蒸水至总体积 20 μL。反应程序为: 95°C 预变性 5 min; 95°C 变性 30 s, 60°C 退火 30 s, 72°C 延伸 1 min30 s, 35 个循环; 最后 72°C 延伸 10 min。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测鉴定正确后, 按照 DNA 凝胶回收试剂盒操作纯化回收 PCR 扩增产物。

将纯化后的目的片段与 pUM-T vector 连接, 连接反应按照试剂盒说明书进行, 22-25°C 反应 10-30 min。取连接产物转化 DH5a, 筛选阳性重组子, 进行菌液 PCR 鉴定, PCR 反应体系和程序同上, 将预变性延长到 15 min。鉴定正确后送华大测序。测序正确的重组质粒命名为 pUM-T-cTvRBL。

用在线软件 SignalP 4.1 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>) 预测蛋白质的信号肽。采用 ExPASy (<http://web.expasy.org/protparam/>) 的 ProtParam 和 ProScale 预测蛋白质的氨基酸组成和理论等电点等基本理化性质, 通过 GOR4 法分析编码蛋白的二级结构, 并采用 SWISS MODEL (<http://swissmodel.expasy.org/>) 预测其三级结构。利用网站 NCBI 链接的 CDD (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/cdd>) 分析该蛋白的功能区域。BLAST 分析比较序列的相似性, 利用软件 DNAMAN 进行同源性分析、构建系统进化树。

## 2 结果与分析

### 2.1 绿色木霉对黄曲霉拮抗作用的验证

从对峙培养(图 1)试验中观察到, 对峙培养第 3d 即可见绿色木霉菌对黄曲霉病原菌的抑制作用, 之后绿色木霉菌继续向黄曲霉菌扩展, 直至包围。随着生长时间的推移, 长势被削弱, 使之几乎不生长。但木霉菌最终不能将其完全覆盖, 只形成对抗局面。表明实验室前期保存的绿色木霉菌并没有退化, 对黄曲霉病原菌仍具有拮抗作用, 可以进行后续的实验。

### 2.2 分泌蛋白粗提液对黄曲霉抑制作用的验证

将不同浓度的蛋白粗提液进行体外抑菌试验, 黄曲霉生长情况见图 2。CK 为无菌水对照, 无抑菌效果, 1-3 蛋白浓度分别为 10 μg/mL、250 μg/mL、500 μg/mL, 除蛋白浓度为 10 μg/mL 无抑菌效果外, 其它孔均有较强的抑菌效果, 说明活性成分为蛋白质。

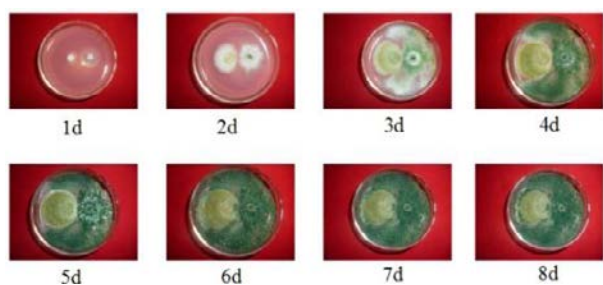


图 1 绿色木霉与黄曲霉对峙培养图

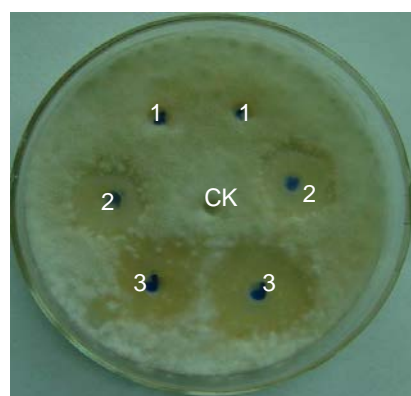


图 2 绿色木霉蛋白粗提液对黄曲霉的抑制作用  
1-3 蛋白浓度分别为 10 μg/mL、250 μg/mL、500 μg/mL

### 2.3 TvRBL 基因 ORF 克隆和基因组扩增

提取绿色木霉菌丝总 RNA, 结果(图 2)显示, 提取的 RNA 28S、18S、5S 条带清晰完整, 表明 RNA 没有发生降解, 能够用于反转录。以反转录得到的 cDNA 为模板, 用引物 T1、T2(表 2)进行 RT-PCR 扩增, 在 400-500bp 有明亮的目的条带(图 3A)。以菌丝体基因组 DNA 为模板, 以引物 T1、T2 进行 PCR 扩增, 得到长约 400-500bp 基因组片段(图 3B)。TA 克隆后, 转化 DH5a, 挑单克隆进行菌液 PCR。鉴定结果如图

4 所示，基因组 DNA 和 ORF 的菌落 PCR 检测都有 400-500bp 的条带，与目的条带的位置一致，视为拟阳性克隆，送华大测序。

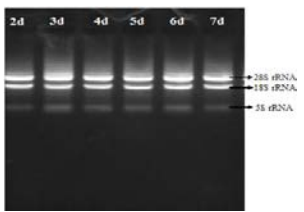


图 2 绿色木霉不同培养天数菌丝总 RNA 的琼脂糖凝胶电泳图

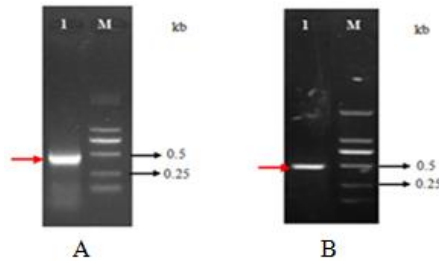


图 3 PCR 产物的琼脂糖凝胶电泳分析

注：A. 基因组片段 PCR 扩增产物电泳；B. ORF 片段 PCR 扩增产物电泳

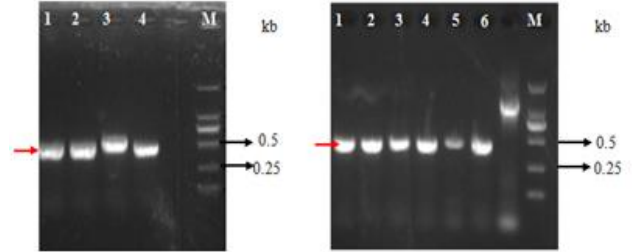


图 4 pUM-TvRBL ORF 和基因组 DNA 的菌落 PCR 检测

注：A. 基因组 DNA 的菌落 PCR；b. ORF 的菌落 PCR

## 2.4 生物信息学分析

### 2.4.1 TvRBL 基因序列基本信息分析

测序得到 *TvRBL* 基因 cDNA 的 ORF 片段为 444bp，编码 147 个氨基酸（图 5）。NetPhos（<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetPhos/>）预测 *TvRBL* 基因编码的蛋白只含有 7 个磷酸化位点，其中包括 4 个丝氨酸磷酸化位点（15、47、87、99），3 个酪氨酸磷酸化位点（8、103、109）。

```

1   ATGTCGCTCTTTGAGGGAACCTACATCATCCGCTCCGCCTTGTCCAGCACCAAGCCTGTT
61  GATCTTGAGGCTTCCAATCCTACTGGCCGCTCCTCAATACACATTCACGGCGGCCCC
121 AACAGCAATGGCGCATTTCACCGTGGTAACGACGAGTTCAGCATTCAAACGTTGCC
181 ACTGGCACCTATGCTGCTGCTCAGAATGAAACAATACCGTGATTAGAGCCGCCAGAAC
241 AATCCCGAGGGCGATGCTTCTGCTCGTTGAAATTTGTGAGGGCCAATGCCAGCAGCGAC
301 ACTTGGTACATTCGCAACGTGGCATAACAACAGCAAGACTTTTGATGTAACGCTAGCAAC
361 CAGGCGGATTTGACGGAGATCCTTGCTTATCTTACCATGGCGGCTTGAACCAGCAGTTT
421 ACCTTTACGCGCCTTGGCTGTTAA
61  TGTAAAQNGNNTVIRAARTNPQGDASARWKFVRANASDWTWYIRNVAYNSKTFDVTASN
121 QADLTEILAYS YHGGLNQQFTFTRLG C
    
```

图5 *TvRBL*基因的ORF序列及推导的氨基酸

注：潜在的丝氨酸磷酸化位点用红色字体标记；潜在的酪氨酸磷酸化位点用蓝色字体标记

推导出的氨基酸序列与前期de-novo质谱测序获得的部分肽段序列相匹配。如图6所示，有颜色标记的AA为匹配上的AA。结果表明，克隆的基因序列为所要的样品3序列。

```

MSLFEGTYI IRSALSQH KPV DLEASNPTGR LIQYTFHGGPNQQR I SHVGNDEF S IQ
NVATGTYAAAQNGNNTVIRAARTNPQGDASARWKFVRANASDWTWYIRNVAYNSKTF
DVTASNQADLTEILAYS YHGGLNQQFTFTRLG C
    
```

图 6 推导出的 AA 序列与 de-novo 序列的匹配

DNAMAN 软件对基因组 DNA 和 ORF 测序结果进行分析，*TvRBL* 基因的基因组 DNA 和 ORF 大小都是 444bp，无内含子。根据软件 DNAMAN 推测，绿色木霉 *TvRBL* 的分子量约为 16kD，等电点为 8.89。

### 2.4.2 *TvRBL* 组成分析和结构预测

根据软件 DNAMAN 推测，氨基酸组成成分如表 3 所示：Ala 10.88%和 Asn、Thr 8.84%，疏水性氨基酸 40.8%，碱性氨基酸 10.88%，酸性氨基酸 6.8%。

表 3 推测 *TvRBL* 的氨基酸组成

| Amino acid | Num | %mol/mol | %w/w |
|------------|-----|----------|------|
| A          | 16  | 10.88    | 7.53 |
| C          | 1   | 0.68     | 0.64 |
| D          | 6   | 4.08     | 4.22 |



|   |     |    |      |      |
|---|-----|----|------|------|
| E | Glu | 4  | 2.72 | 3.11 |
| F | Phe | 7  | 4.76 | 6.11 |
| G | Gly | 11 | 7.48 | 4.36 |
| H | His | 4  | 2.72 | 3.28 |
| I | Ile | 8  | 5.44 | 5.54 |
| K | Lys | 3  | 2.04 | 2.32 |
| L | Leu | 8  | 5.44 | 5.54 |
| M | MET | 1  | 0.68 | 0.79 |
| N | Asn | 13 | 8.84 | 9.07 |
| P | Pro | 4  | 2.72 | 2.43 |
| Q | Gln | 10 | 6.80 | 7.72 |
| R | Arg | 9  | 6.12 | 8.28 |
| S | Ser | 12 | 8.16 | 6.66 |
| T | Thr | 13 | 8.84 | 8.18 |
| V | Val | 7  | 4.76 | 4.33 |
| W | Trp | 3  | 2.04 | 3.23 |
| Y | Tyr | 7  | 4.76 | 6.70 |

应用 GOR4 法分析碱性蛋白酶基因编码蛋白的二级结构, 结果如上图 7, 在该氨基酸序列中, 共有  $\alpha$ -螺旋 (Alpha helix) 28 处, 占总二级结构的 19.05%; 延伸链 (Extended strand) 45 处, 占总二级结构的 30.61%; 无规则卷曲 (Random coil) 74, 占总二级结构的 50.34%。

SWISSMODEL 进行三级结构预测, 如图 8 所示, TvRBL 有 1 个  $\alpha$ -helix 结构、2 个  $\beta$ -sheet 片层结构及 4 条连接 loop 构成。

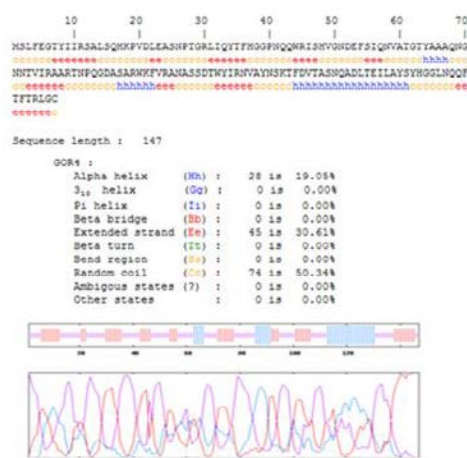


图 7 TvRBL 蛋白的二级结构预测

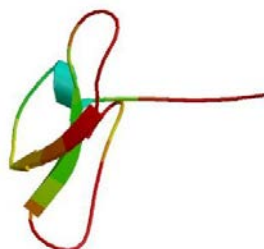


图 8 TvRBL 蛋白的三级结构预测

#### 2.4.3 氨基酸序列的同源性分析和多序列比对

BLASTp 比对结果显示, TvRBL 在氨基酸水平上与 *Trichoderma atroviride* carbohydrate-binding module family 13 protein(EHK47794.1)同源性高达 76%, 与 *Trichoderma virens* 的 carbohydrate-binding module family 13 protein(EHK17347.1)同源性高达 57%, 与 *Trichoderma reesei* 的 carbohydrate-binding module family 13 protein (EGR46285.1)同源性为 50% , 与 *Aspergillus oryzae* RIB40 的 unnamed protein product (BAE64529.1)片段相似性达 33% (图 9, 10)。

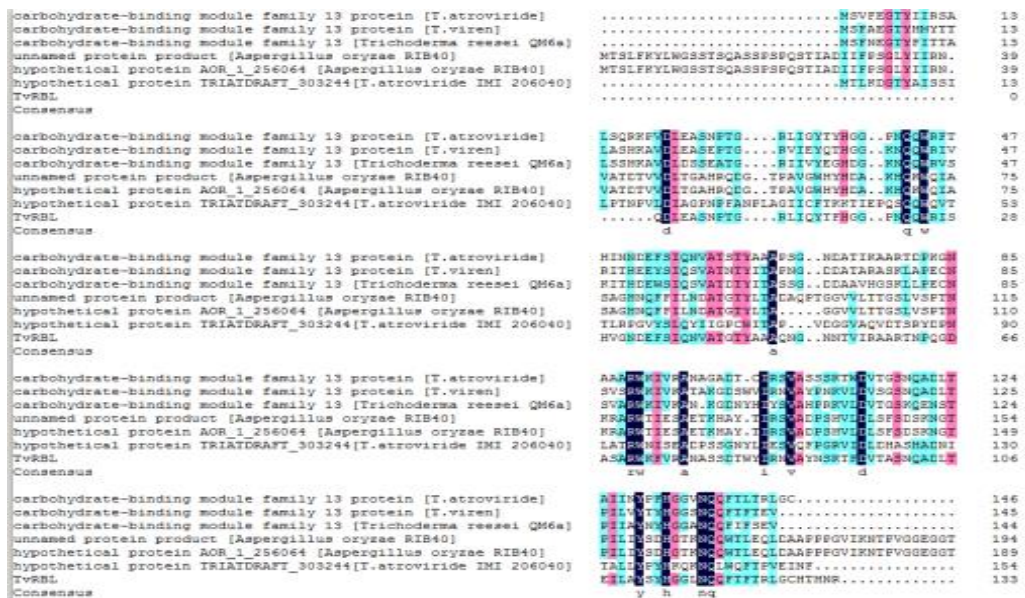


图9 TvRBL 与其它物种 RBL 蛋白的同源性分析

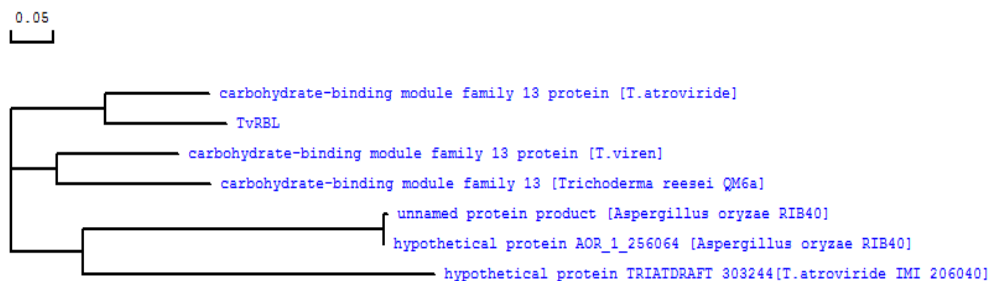


图10 TvRBL 与其他物种 RBL 蛋白的系统发生树

### 2.4.4 蛋白质功能区的预测

利用网站 NCBI 链接的 CDD 分析 TvRBL 的功能区域(图 11), TvRBL 为蓖麻毒蛋白超家族, 具有(Q-X-W)<sup>3</sup> 和糖基结合位点。Scan Prosite (<http://us.expasy.org/tools/#secondary>) 进行结构域预测, TvRBL 推导氨基酸序列含有 Ricin B-type lectin<sup>6-143</sup> 活性位点。

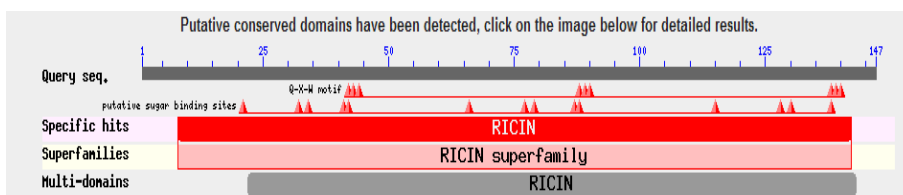


图11 TvRBL 功能区域的预测

## 3 结论与讨论

在基因克隆的众多方法中, 同源克隆法是近年来国内外较为常用的方法。不同物种具有相同或相似功能的基因, 一般具有一个或几个相对保守的区域, 根据保守区域设计引物进行 PCR 扩增得到目的基因片段, 然后利用 cDNA 末端快速扩增技术(Rapid amplification of cDNA end ,RACE)和染色体步移技术分别得到全长 cDNA 和全长基因<sup>[8]</sup>。

做下游表达研究蛋白功能的 cDNA 序列指的是起始密码子到终止密码子这一段序列, 即 ORF 序列。在起始密码子之前的 5'非翻译区和终止密码子之后 3'非翻译区并不重要, 因此采用同源克隆法的关键步骤是要通过 BLASTp 找到同源性较高的序列, 在 CDS 两端设计引物, 即上游引物从 ATG 开始, 下游引物从 TAA/TAG/TGA 向前数的反向互补序列开始, 引物特异性要高, 允许引物二聚体和发卡结构的产生。以获取的 mRNA, 经过反转录得到的第一链 cDNA 为模板, 进行 RT-PCR 反应。然后要对扩增出的目的片段进行 TA 克隆测序, 通过测序来验证 ORF 序列的正确与否。目前利用此方法已经克隆到大量植物基因, 如品质相关基因、胁迫应答基因、抗病相关基因以及调节发育过程的基因等等, 该方法也是克隆植物抗性基因类似物 (Resistance gene analogs, RGA) 的重要手段<sup>[8-9]</sup>。

本研究基于前期获得的蛋白质谱肽段序列,采用同源克隆法,首次从绿色木霉中成功克隆得到了 *TvRBL* 基因的 ORF 序列,推导出的氨基酸序列与蛋白质谱肽段序列相符。

经生物信息学分析,结果如下:

*TvRBL* 基因无内含子,信号肽在线预测,*TvRBL* 蛋白无信号肽,属于非分泌蛋白。该基因编码的蛋白含有 7 个磷酸化位点,其中包括 4 个丝氨酸磷酸化位点(15、47、87、99),3 个酪氨酸磷酸化位点(8、103、109)。Scan Prosite (<http://us.expasy.org/tools/#secondary>) 进行结构域预测,推导氨基酸序列含有 Ricin B-type lectin<sup>6-143</sup> 活性位点。该基因与 *Trichoderma atroviride* 的 carbohydrate-binding module family13protein(EHK47794.1) 同源性高达 76%,与 *Trichoderma virens* 的 carbohydrate-binding module family13protein(EHK17347.1) 同源性高达 57%,与 *Trichoderma reesei* 的 carbohydrate-binding module family13protein (EGR46285.1) 同源性为 50%。

木霉菌的抗菌作用机制其中一点为毒性蛋白,而 *TvRBL* 蛋白为蓖麻毒蛋白超家族成员,具有一般物种中 RBL 功能域都有的 3 个 QxW 重复基序,构成三个子域,分别为  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 。还具有糖基化位点。预示该基因在木霉菌抗黄曲霉机制中可能发挥一定的作用,下一步的工作就是进行构建表达载体,获得该基因的重组蛋白,进行抑菌活性研究,为花生等油料作物产业化生产提供理论依据。

#### 参考文献

- [1] St-Leger R J, Screen S E, Shams-Pirzadeh B. Lack of host specialization in *Aspergillus flavus*[J]. Applied and Environment Microbiology, 2000, 66: 330-324.
- [2] Weinding R. *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. Phytopathology, 1932, 22: 837-845.
- [3] 郭润芳,刘晓光,高克. 拮抗木霉菌在生物防治中的应用与研究进展. 中国生物防治, 2002, 18(4): 180-184.
- [4] 王勇,王万立,刘春艳等. 绿色木霉 Tr9701 对多种病原菌的抑制作用及其抑病机理[J]. 中国农学通报. 2008, 24(1): 371-374.
- [5] 纪明山,李博强,陈捷等. 绿色木霉 TR-8 菌株对尖镰孢的拮抗机制[J]. 中国生物防治. 2005, 21(2): 104-108.
- [6] 李琼芳,江怀仲,文巧. 棉花凝集素的形成与抗枯萎病性关系的研究[J]. 植物病理学报. 1990, 20(4): 18-20.
- [7] Magnusson J, Schnurer J. *Lactobacillus coryniformis* subsp. *Coryniformis* strain Si3 produces a broad-spectrum proteinaceous antifungal compound [J]. Applied and Environment Microbiology, 2001, 67: 1-5.
- [8] 黄萱,徐子勤,陈立等. 小麦 NBS2LRR 类抗病基因同源序列的分离与鉴定[J]. 分子细胞生物学报, 2006, 39(2): 91-96.
- [9] Nabila Y, Payorm S, Robert D, et al. Genome analysis at different ploidy levels allows cloning of the powdery mildew resistance gene Pm3b from hexaploid wheat[J]. The Plant Journal, 2004, 37: 528 - 538.

#### 作者贡献

徐杨玉是本研究的实验设计和实验研究的执行人以及完成数据分析和论文初稿的写作;刘付香、洪彦彬、温世杰参与实验研究;李玲参与论文的修改;梁炫强是项目的构思者及负责人,指导实验设计,论文写作与修改。全体作者都阅读并同意最终的文本。

#### 致谢

本研究由国家 863 计划项目(2006AA10Z156),广东省自然科学基金重点项目(07117967)。

# 覆盖黑膜对菠萝生长、产量和品质的影响

刘建荣, 庞生, 胡小忠, 尤小婷, 刘伟清  
广东省湛江农垦科学研究所, 广东 湛江 524086

**摘要** 以台农 16 菠萝品种为试验材料, 采取覆盖黑膜, 施足底肥栽培模式与不盖膜施足底肥常规栽培模式进行比较, 并在菠萝生长期调查株高、叶片长度、展叶片数等指标, 在收获期调查单位产量、单果重分组占比、果品大小、糖锤度和鲜果商品率等指标, 来反映其对菠萝生长、产量和品质的影响效果。结果表明, 覆盖黑膜、施足底肥栽培模式明显优于常规对照栽种模式, 表现为能促进菠萝快速生长健旺, 公顷产量 40800kg, 提高 42%; 果品大, 优级果品率为 87.8%, 提高 25 个百分点; 鲜果商品率为 92.6%, 提高 10.5 个百分点; 而糖锤度 15.9, 比常规对照的下降 0.5 个锤度值; 同时分析其成本效益, 覆盖黑膜栽培模式能达到大幅降本增效作用, 公顷经济效益增加 70822 元, 经济效益显著。本研究充分说明, 覆盖黑膜、施足底肥栽培模式值得大面积推广。

**关键词** 菠萝; 盖膜; 产量; 品质

菠萝是我国热带、亚热带极具特色的水果, 根据农业部发展南亚热带作物办公室《全国热带、南亚热带作物生产情况》提供的数据及湛江的菠萝生产情况, 2016 年, 全国菠萝种植面积 6.18 万公顷, 其中广东占全国的 50% 以上 (3.52 万公顷), 湛江占广东的近 70% (2.38 万公顷), 全国菠萝产量 158.21 万吨, 其中广东占全国的 60% 以上, 湛江占广东的 70% 以上。多年来, 菠萝每造每公顷产量为 30000—45000kg, 市场价格变幅较大, 一般产值在 13.5—19.5 万元之间, 是湛江地区一个具有较强竞争力的特色产业。但湛江地区一直是传统栽培模式, 种植时间多集中在当年的 7 月—10 月, 收获时间为第 3 年的 1 月—5 月, 采取不盖地膜多次施肥模式进行栽种与管理, 这种模式人工除草次数多, 劳动力投入较大。而且在菠萝生长期间杂草生长较快, 杂草与菠萝竞争光照、水分和养分, 影响菠萝的正常生长。黑地膜对玉米<sup>[1]</sup>、芦笋<sup>[2]</sup>、马铃薯<sup>[3]</sup>、番茄<sup>[4]</sup>等作物的除草效果明显, 也有白膜或除草地膜在甘蔗<sup>[5]</sup>生产上的应用推广很普遍, 其保水除草增产效果很明显, 但这些作物是短期作物和一年生作物。因此本课题开展覆盖黑膜对菠萝 (2 年生作物) 的生长、产量和品质的影响研究, 比较与不盖黑膜栽培的防控杂草效果, 并调查菠萝的生长情况、收获产量、果品大小、糖锤度和成熟持续时间等指标, 以期推广应用黑膜覆盖栽种菠萝模式提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验地情况

试验地位于广东省湛江农垦科学研究所遂溪广前试验基地内, 土地属旱地, 地势较平坦, 年均降雨量 1420mm, 年均气温 21.5℃。试验地前作为香蕉, 土壤有机质为 62.66g·kg<sup>-1</sup>、全 N 为 0.204%、碱解 N 为 221mg·kg<sup>-1</sup>、速效 P 为 220mg·kg<sup>-1</sup>、速效 K 为 278mg·kg<sup>-1</sup>、PH 值 4.51。试验地耕作程序为: 机械粉碎蕉杆二次, 两华犁两耙平, 再按 130cm 机械起垄开沟。

### 1.2 试验材料

菠萝品种为台农 16, 由广东省湛江农垦科学研究所提供。黑膜由广东省始兴县佳星科技 (韶关) 有限公司提供, 厚度 0.033mm, 宽度 110cm, 均为黑色不透光地膜, 并配有孔型, 孔宽 6cm, 行距 55cm, 株距 35cm。

### 1.3 试验设计

该试验于 2017 年 12 月 6 日栽种, 垄宽 110cm, 沟宽 20cm, 施肥采取人工作业下肥, 确保肥料均匀一致, 之后盖好黑膜, 两边压土, 在孔上栽种菠萝苗, 每孔一株, 每公顷栽种 43900 株, 按大区组随机排列设计, 2 个处理面积共计 2.73 公顷, 即覆盖黑膜栽培处理 2.33 公顷, 不盖地膜栽培 (CK) 处理 0.4 公顷。种植前施入的底肥为: 每公顷有机生物肥 12000kg, 复合肥 1500kg, 磷酸二铵 750kg, 腐熟花生麸 1500kg。

### 1.4 试验中期管理

菠萝种植后 2 个月, 开始喷施叶面肥, 每 2—2.5 个月喷施 1 次, 共喷施 4 次。在植株叶片数达 36—40 片叶时, 用电石药剂兑水 50 倍催花, 连续催花 2 次, 2 次间隔 1 天, 要求安排在傍晚操作。期间抓好除草管理。

### 1.5 测定项目与方法

生长指标调查: 分株高、叶长、展叶数指标。株高是指植株生长的地上部分自然高度, 叶长指植株最长叶片的长度, 展叶数为植株从叶芯自然展开的叶片数量, 以连续调查固定 20 株的植株, 求其平均数而得, 分别在 2018 年 7 月中旬, 9 月中旬, 11 月中旬调查。

收获指标调查: 主要指单位产量、单果重分级占比、果品大小、糖锤度、鲜果商品率等, 于 2019 年 6 月上旬收获调查。单位产量为 1 公顷菠萝田块产出的菠萝产量, 覆盖黑膜处理的随机抽取 3 个区域, 每个区

域 0.33—0.34 公顷共计 1 公顷测定的菠萝产量；而不盖地膜处理的以调查 0.4 公顷收获测定的菠萝产量折算成 1 公顷的产量。单果重分级占比，分 2—2.5kg/个重（一级）、1.5—2kg/个（二级）、1—1.5kg/个（三级）、0.75—1kg/个（四级）、<0.75kg/个（五级）五个级别，分别占总重量的百分比，以调查 20 米垄面计 114 株菠萝的单果重分组占比，一级、二级、三级定为优级果品。果品大小指果品横茎×纵茎的长度，调查单果重分级占比的同时，调查果品大小，求 114 株的平均值而得。糖锤度指用锤度计测出果品汁液的糖分数值，测定 10 个正常果品糖锤度值的平均值。鲜果商品率指单果重在 0.75kg 以上的且不损坏或不腐烂可以作为商品果出售的鲜果占总重量的百分比，以调查单位产量指标时调查鲜果商品率。

## 2 结果与分析

### 2.1 覆盖黑膜对菠萝生长指标的影响

由表 1 可知，覆盖黑膜处理的菠萝在 2018 年 7 月、9 月、11 月调查期间有明显的生长优势，从不同时期的生长指标表现看，2018 年 11 月份的株高、叶长、展叶数比对照增加 1.8cm、提高 2.6%，2.2cm、提高 2.7%，2.3 片、提高 6.1%。这说明覆盖黑膜栽培模式能够促使菠萝加快生长作用。

表 1 覆盖黑膜对菠萝生长指标的影响

| 处 理          | 生 长 指 标 |      |      |         |      |      |         |      |      |
|--------------|---------|------|------|---------|------|------|---------|------|------|
|              | 株高 (cm) |      |      | 叶长 (cm) |      |      | 展叶数 (片) |      |      |
|              | 7 月     | 9 月  | 11 月 | 7 月     | 9 月  | 11 月 | 7 月     | 9 月  | 11 月 |
| 覆盖黑膜         | 48.8    | 53.1 | 73.3 | 49.1    | 69.4 | 84.3 | 13.5    | 22   | 39.9 |
| 不盖地膜 (CK)    | 37.4    | 50.1 | 69.1 | 47.7    | 60.5 | 82.1 | 12      | 21.4 | 37.6 |
| 比 CK 增减值     | +1.4    | +2.0 | +1.8 | +1.4    | +8.9 | +2.2 | +1.5    | +0.6 | +2.3 |
| 比 CK 增减百分比 % | 3.7     | 4.0  | 2.6  | 2.9     | 14.7 | 2.7  | 12.5    | 2.8  | 6.1  |

### 2.2 覆盖黑膜对菠萝单位产量、品质的影响

由表 2 可知，覆盖黑膜处理的菠萝单位公顷产量达 40800kg，比 CK 的增产 12090kg，增幅达 42%，增产效果明显。在单果重分级占比指标上，覆盖黑膜处理的菠萝表现果品个头大，集中在一级、二级、三级优级等级上，占 87.8%，而 CK 的优级等级果品率为 62.8%，比增 25 个百分点，优级果品率提高明显；覆盖黑膜处理的鲜果商品率达 92.6%，高于 CK 的 10.5 个百分点。覆盖黑膜处理的糖锤度为 15.9，略低于 CK 的 0.4 个锤度值。说明覆盖黑膜处理的能促使菠萝果品增大、增重，提高菠萝产量、优级果品率和鲜果商品率，但其糖锤度略低，可能是因为菠萝果品大、水分多，导致糖锤度略低。

表 2 覆盖黑膜对菠萝产量、品质的影响表

| 处 理            | 单位公顷产量 (kg/hm <sup>2</sup> ) | 单果重分级占比 (%) |       |      |       |      | 果品大小 横径×纵径 (cm) | 鲜果商品率 % | 糖锤度  |
|----------------|------------------------------|-------------|-------|------|-------|------|-----------------|---------|------|
|                |                              | 一级          | 二级    | 三级   | 四级    | 五级   |                 |         |      |
| 覆盖黑膜           | 40800                        | 12.7        | 30.4  | 44.7 | 10.6  | 1.6  | 9.94×16.38      | 92.6    | 15.9 |
| 不盖地膜 (CK)      | 28710                        | 0           | 12.4  | 50.4 | 26.9  | 10.3 | 9.53×13.74      | 82.1    | 16.3 |
| 比 CK 增减值       | 12090                        |             |       |      |       |      | 0.39×2.64       |         | -0.4 |
| 比 CK 增减百分点 (%) | 42                           | +12.7       | +18.0 | -5.7 | -16.3 | -8.7 |                 | 10.5    |      |

### 2.3 成本效益差异分析

由表 3 可知，覆盖黑膜处理的单位公顷菠萝材料费及盖膜人工费、人工零星除草费每公顷为 6574 元，比不盖膜处理的人工除草费 11000 元，减少 4426 元；其他生产成本包括种苗、机耕费、种植费、肥料费、催花和喷叶面肥、摘果、套袋等劳务费、其他材料费，其数额均为 100170 元。覆盖黑膜处理的菠萝产量高，鲜果商品率高，以 2019 年 6 月出售的市场价格 4.7 元/kg 计，每公顷果品销售收入为 177566 元，比 CK 的增加 66787 元，比 CK 增加经济效益 71213 元，经济效益显著。

表 3 单位公顷台农 16 品种菠萝覆盖黑膜成本效益差异分析表

| 处 理          | 黑膜材料费 (元) | 除草和盖膜人工费 (元) | 其他生产成本 (元) | 生产成本小计 (元) | 商品果产量 (kg) | 市场价格 (元/kg) | 商品果收入 (元) | 经济效益 (元) |
|--------------|-----------|--------------|------------|------------|------------|-------------|-----------|----------|
| 覆盖黑膜         | 4249      | 2325         | 100170     | 106744     | 37780      | 4.7         | 177566    | 70822    |
| 不 盖 地 膜 (CK) | 0         | 11000        | 100170     | 111170     | 23570      | 4.7         | 110779    | -391     |
| 比 CK 增减值     |           |              |            | -4426      | 14210      |             | 66787     | 71213    |

说明：覆盖黑膜处理：黑膜材料费单价 0.553 元/m，每公顷使用 7685m。每公顷盖膜劳务费 1125 元，人工零星除草 1200 元。不盖膜处理：2 年共需人工除草 5 次，每公顷每次投入 22 个劳动力，即 2200 元。

## 3 讨论

本研究表明，覆盖黑膜、施足底肥栽培菠萝模式能大幅减少杂草生长，人工作业除草单位成本大幅减少；

同时又起到保水保肥促进菠萝快速生长，增加植株生物量，为高产打下基础。该研究表明，覆盖黑膜栽培模式也能大幅增加菠萝产量，促使果品增大，并较整齐一致达到果品商品标准，从而提高鲜果商品率，最终大幅提高单位公顷菠萝经济收入和经济效益，但对菠萝果品糖锤度略有降低表现，这可能与不同处理的菠萝成熟期迟早和果品水分含量多少有关。

本研究项目采取人工作业盖膜和人工作业施底肥方式，如改在大田推广，盖膜和施底肥还可采取机械化作业方式完成，其单位成本还可进一步降低。该研究项目收获的菠萝果品大小、单果重分级档次变化大，均匀度不够，这可能与菠萝品种或菠萝果品是自然生长成熟有关。

#### 参考文献

- [1] 岳德成, 柳建伟, 姜延军, 等, 除草地膜对全膜双垄沟播玉米生长发育的影响[J]. 灌溉排水学报, 2016, 35 (12): 29—33.
- [2] 王连平, 王汉荣, 茹水江, 等, 芦笋田杂草及地膜覆盖除草作用研究[J]. 江西农业学报, 2006, 18 (4): 126—128.
- [3] 周丽娜, 于亚薇, 孟振雄, 等, 不同颜色地膜覆盖对马铃薯生长发育的影响[J]. 河北农业科学, 2012, 16 (9): 18—21.
- [4] 张炳炎, 陈海贵, 周天旺, 覆盖彩色地膜防除番茄、玉米田杂草初探[J]. 植物保护, 1992, 18 (6): 40—41.
- [5] 李如丹, 樊仙, 刘少春, 等, 覆盖除草膜对甘蔗产量和品质的影响[J]. 亚热带农业研究, 2017, 13 (2): 84—87.

# 温室大棚精品西瓜一苗三收栽培技术研究

胡小忠<sup>1</sup>, 庞生<sup>1</sup>, 刘建荣<sup>1</sup>, 张曼其<sup>1</sup>, 刘伟清<sup>1</sup>, 吴健雄<sup>2</sup>

1.广东省湛江农垦科学研究所, 广东湛江 524000; 2.中国热带农业科学院广州实验站, 广东广州 510140

**摘要** 精品西瓜有小巧玲珑、皮薄多汁、清甜爽口、入口即化的特点, 品质好、效益高、深受消费者的喜爱; 首次在广东省湛江农垦科学研究所设点试验栽培的15个精品西瓜品种获得成功。本文主要从精品西瓜的特点、分类及常见的优良品种; 精品西瓜种子的选择、浸种及催芽处理; 精品西瓜对温室大棚的要求; 精品西瓜育苗基质的消毒、配制及播种育苗; 精品西瓜整地作畦及移栽定植; 精品西瓜整枝、吊蔓及种植后的管理; 精品西瓜人工授粉标记、留瓜及定高; 精品西瓜肥水管理; 精品西瓜病虫害防治和精品西瓜采收和二茬、三茬保苗等10个方面进行阐述, 现将温室大棚精品西瓜一苗三收栽培技术予以介绍, 供瓜农参考实践。

**关键词** 精品西瓜; 一苗三收; 栽培技术

## Study on cultivation techniques of one seedling and three harvests of high-quality watermelon in greenhouse

HU Xiaozhong<sup>1</sup>, PANG Sheng<sup>1</sup>, LIU Jianrong<sup>1</sup>, ZHANG Manqi<sup>1</sup>, LIU Weiqing<sup>1</sup>, WU Jianxiong<sup>2</sup>

1.Zhanjiang Institute of Agricultural Reclamation, Zhanjiang, Guangdong 524000, China; 2. Guangzhou Experimental Station of Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Guangzhou, Guangdong 510140, China

**Abstract** The high-quality watermelon has these characteristics: small and exquisite, thin-skinned and juicy, sweet and refreshing, and melted in the mouth. It has good quality, high efficiency and is very popular among consumers. Fifteen high-quality watermelon varieties were successfully cultivated in Zhanjiang Institute of Agricultural Reclamation Science, Guangdong Province for the first time. This paper is mainly discussed from the characteristics, classification and excellent varieties of high-quality watermelon; selection, soaking and germination treatment of high-quality watermelon seeds; the requirements of greenhouse for cultivating high-quality watermelon; disinfection, formulation and seeding of high-quality watermelon's seedling matrix; land preparation for border work & transplantation for high-quality watermelon; pruning, hanging vine and post-planting management for high-quality watermelon; artificial pollination markers, leaving seed fruits for propagation and height determination for high-quality watermelon; fertilizer and water management for high-quality watermelon; pest control harvesting, seeding protection of the second crop & the third crop these ten aspects. The cultivation techniques of one seedling and three harvests of high-quality watermelon in greenhouse are introduced for farmer's reference & practice.

**Keywords** High-quality watermelon; One seedling; Cultivation Techniques

西瓜(学名: *Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. et Nakai) 属于葫芦科、西瓜属一年生蔓生藤本, 茎、枝粗壮, 具有明显的棱。西瓜是一种营养价值很高的水果, 除了不含有脂肪和胆固醇外, 几乎含有人体所需的各种营养成分<sup>[1]</sup>。西瓜是世界五大水果之一。目前, 我国西瓜常年播种面积近 200 万公顷, 占全球种植面积的 50%以上, 总产量近 7000 万吨, 是世界第一西瓜生产大国<sup>[2]</sup>。姜伟等<sup>[3]</sup>提出日光温室精品西瓜“一种两收”高效栽培技术, 一次种植, 两次收获, 既节省了种苗、肥料、人工等费用投入, 又提高了复种指数、增加了土地利用、缩短了产品生育周期, 最终提高种植效益, 促进设施农业产业结构调整。随着人们生活水平的提高, 市场上需求品质优、档次高的精品西瓜越来越多; 因此, 首次在广东省湛江农垦科学研究所设点试验栽培 15 个精品西瓜品种能够很好的填补湛江垦区相应的空白; 以促进精品西瓜产业健康的发展。温室大棚精品西瓜一般采用一垄双行吊蔓栽培的种植模式, 定植密度以每亩 2000 株为宜; 留果一般采用单蔓单果的留果方式, 通过人工授粉坐果率达 95.63%; 商品率达 90.11%; 中心糖度 11.0-14.0%, 边缘糖度 9.0-12.0%; 瓜皮厚 0.4-0.9cm; 单果重一般 1.6-2.0 Kg; 可食率 90.0%。精品西瓜一茬采收亩产 3656.89Kg, 每亩产值达 3.66 万元, 每亩生产成本为 1.80-2.00 万; 经济效益达 1.66-1.86 万元。精品西瓜二茬保苗率为 95.80%, 精品西瓜二茬采收亩产 3174.50Kg, 二茬每亩产值达 3.17 万元, 二茬每亩生产成本为 0.80-1.00 万; 经济效益达 2.17-2.37 万元。精品西瓜三茬保苗率为 83.52%, 精品西瓜三茬采收亩产 2582.93Kg, 三茬每亩产值达 2.58 万元, 三茬每亩生产成本为 0.80-1.00 万; 经济效益达 1.58-1.78 万元。温室大棚精品西瓜由于栽培技术性比较强, 如果能够做到一苗三收; 每亩经济效益可以达 5.0-6.0 万元。目前, 在广东省湛江农垦科学研究所设点试验栽培的 15 个精品西瓜品种一苗三收技术已经获得成功。

### 1 精品西瓜的特点、分类及常见的优良品种

精品西瓜有小巧玲珑、皮薄多汁、清甜爽口、入口即化的特点, 品质好、效益高, 深受消费者的喜爱。精品西瓜按皮色分: 绿色、墨绿色和黄色。精品西瓜按肉色分: 红色、橙色和黄色。精品西瓜常见的优良品种: 琼丽、琼香、玲珑、DH<sub>4</sub>、麒麟黄、众天 3845、众天 6211、锦霞甜美、锦霞 8 号和热研黑宝等品种。

### 2 精品西瓜种子的选择、浸种及催芽处理

**作者简介** 胡小忠(1989—)男, 硕士, 助理农艺师, 研究方向: 从事热带亚热带果树栽培技术研究与推广, E-mail:781292727@qq.com。

精品西瓜种子应选择饱满均匀，不携带病菌，适应当地栽培品种。种子质量：纯度 $\geq 95\%$ ，净度 $\geq 98\%$ ，发芽率 $\geq 95\%$ ，发芽整齐；精品西瓜的种子是有中国热带农业科学院广州实验站提供。

精品西瓜种子播种前应在阳光下摊晒2d或在40℃的烘箱里烘20min即可，然后将精品西瓜种子放入55℃的温水中浸种，轻轻搅拌15min后使水温自然降至30℃，浸种3-4h。浸好的种子捞出后浸入浓度为0.1%的 $\text{KmnO}_4$ 溶液中消毒20min，消毒完成后再用清水洗净，用干净的湿纱布包好，放在28-32℃的恒温箱里催芽，36-48h后大部分种子就会露芽；播种时种子芽长一般不超过2mm为宜。

### 3 精品西瓜温室大棚的要求

温室大棚要求一般单跨6-10m，面积2亩左右，肩高2.5m为佳，带有天窗、保温、防虫、降温功能，如果有条件可配有水帘系统和通风系统等。

钢丝拉绑一般是在棚内每个种植垄上端约2-2.2m高处平行拉2条钢丝，钢丝间距依据精品西瓜的情况株行距而定，钢丝平行间距离40-60cm；一株瓜一吊线绳。也可采用竹竿搭架的方法进行吊蔓、吊瓜。

### 4 精品西瓜育苗基质的消毒、基质配制及播种育苗

精品西瓜育苗基质可利用光照条件在播种前暴晒育苗基质进行基质消毒或者用90%的晶体敌百虫800倍液浇施消毒。

精品西瓜育苗基质可选用腐熟椰糠+20%腐熟有机肥+2Kg过磷酸钙/ $\text{m}^3$ +1.5-2Kg氮磷钾(15:15:15)复合肥/ $\text{m}^3$ ，搅拌均匀过筛，然后把混合均匀的育苗基质填充到32孔育苗穴盘中，每穴播1粒催过芽的种子，芽朝下摆放，播种后覆盖一层0.3-0.5cm厚的育苗基质，用细眼喷壶浇透水，然后置于25-28℃条件下待出苗。育苗基质应在播种前准备好，也可选用商品育苗基质。

### 5 精品西瓜整地作畦及移栽定植

精品西瓜在整地作畦之前，应一次性施足基肥，可满足“一苗三收”栽培技术对基肥的需求量。通常以腐熟的有机肥为主，以芬兰复合肥为辅。施基肥的量以土壤的肥力和有机肥种类而定<sup>[4]</sup>。精品西瓜一般每亩施羊粪2000斤、硅谷肥100斤、花生麸160斤、尿素16-20斤、过磷酸钙50-60斤、硫酸钾14-16斤和百菌清4-5斤，施基肥可一次性全部开沟施入。精品西瓜一般采用一垄双行吊蔓栽培的种植模式，畦宽可以根据大棚的宽度和栽植的密度进行灵活设置，垄距140-160cm，垄高15-20cm；双行种植，行距60cm，株距40cm，呈“品”字形种植；定植密度以每亩2000株为宜。移栽前种植垄先浇一次透水，铺好滴带，盖上银白反光地膜，安装好水肥一体化滴灌系统。

精品西瓜移栽瓜苗的标准为2-3片真叶，1心为标准。早春一般为20-30d进行移栽定植，夏季一般为15d进行移栽定植。移栽前先在瓜畦上用比营养钵稍大的打孔器按40cm柱距打孔放钵，1孔1株，栽苗时做到幼苗子叶与行向一致、与瓜按垄相平<sup>[2]</sup>，然后将带着营养土的瓜苗移入定植穴后再用细土把周围地膜覆盖，并填好周围孔隙，浇足定根水即移栽完毕。移栽后棚内气温白天应保持在25-32℃，夜间保持在18-20℃，夏季注意通风降温，空气相对湿度50-60%。

### 6 精品西瓜整枝、吊蔓及种植后的管理

精品西瓜种植后枝蔓生长旺盛，分枝能力比较强，在伸蔓期当主蔓生长长度达到40cm-60cm时要及时的进行吊蔓和整枝，通过吊蔓和整枝有利于精品西瓜通风、透光，调节植株的生长势，促进植株开花坐果。西瓜的整枝方法一般有单蔓整枝、双蔓整枝和三蔓整枝等<sup>[1]</sup>。精品西瓜由于采用一垄双行吊蔓栽培的种植模式，一般多采用单蔓整枝的方式进行整枝，单蔓整枝即只保留一条主蔓，其余侧蔓全部摘除，留果也是采用“单蔓单果”的原则进行。精品西瓜栽培坐果后一般不再整枝，目的是保证有更多的枝叶为果实生长提供营养，当果实开始迅速膨大时，为防止营养生长过旺，可进行摘心。

### 7 精品西瓜人工授粉标记、留瓜及定高

当精品西瓜瓜苗开始开花时，应及时进行人工授粉，在自然条件下，5:00时花冠开始松动，6:00时花粉开始裂开，散出花粉，花冠全部裂开，至12:00时花冠颜色变淡、花冠开始闭合，刘昭华等<sup>[5]</sup>提出上午的8:00-10:00时雌花柱头和雄花花粉生理活动最旺盛，此时是人工授粉的最佳时间。贾保太等<sup>[6]</sup>提出在主蔓15-17节处留瓜，选择1-2条侧蔓作为营养枝，小瓜长至鸡蛋大小时，选留1个瓜柄粗、无损伤、瓜形圆的幼瓜定瓜，及时用吊网兜住；定瓜后将主蔓和侧蔓生长点摘除，成熟前10-15d左右通过加大昼夜温差，可增加瓜果含糖量，从而提高瓜果品质。精品西瓜人工授粉一般选择第18-25节位健壮的雌花进行授粉，一般为第2或第3朵雌花，人工授粉选择子房大、绒毛多、果柄长而粗的雌花进行授粉。雄花选择当天开放、颜色鲜艳、花冠直径较大的花。人工授粉后应及时挂上标记牌，标注好授粉日期，以方便采收。授粉后第二天应及时对授粉的雌花进行检查，如果雌花果柄弯曲下垂，子房前段开始下垂，表明授粉成功；如果雌花果柄仍然向上或仍然向前伸，表明授粉不成功，清理标记牌，应重新选择雌花进行授粉；依此方法对精品西瓜连续授粉5-7d。当精品西瓜授粉坐果后，要选留果形端正、果柄直而粗、符合品种特性的幼瓜进行留瓜，一株留一个瓜，其余未选留的瓜应及时摘除。西瓜进入膨大期，当瓜长到200-400g时，应及时进行吊瓜<sup>[7]</sup>。精品西瓜常见的吊瓜方式有两种，玻璃绳吊瓜和网袋吊瓜。网袋吊瓜操作简单，但成本高；玻璃绳吊瓜多“以柄蔓绑法”



为主，“果柄绑法”为辅；玻璃绳吊瓜操作要讲究技术性、但成本低，生产上多以玻璃绳吊瓜为主。精品西瓜在吊瓜的过程中，一般通过升蔓或降蔓的方式把瓜的高度定在 1m 左右的位置，既增加了观赏性，又方便以后选瓜和采摘。

## 8 精品西瓜肥水管理

精品西瓜肥水管理采用水肥一体化滴灌系统进行滴灌，主要分四个阶段进行。

伸蔓期用 0.8 倍的富帝高酸性土壤改良肥营养液每天供液 1 次，每株供液量 300ml。同时淋施绿农林 31 号（芽孢杆菌微生物菌肥）1000 倍液 1-2 次。

开花坐果期用 1.0 倍的富帝高酸性土壤改良营养液，每天供液 2 次，每株供液量 400ml。同时淋施碧绿青水溶液（氨基酸水溶肥）1000 倍液 3 次。配合叶面喷施糖醇硼 1500 倍液和磷钾一号 1500 倍液 3 次。

膨瓜期用 1.2 倍的富帝高酸性土壤改良营养液，每天供液 2 次，每株供液量 400-500ml，温度高时供液量宜大。配合叶面喷施海星钙 1500 倍液 1-3 次。

果实成熟期用 1.5 倍的富帝高酸性土壤改良营养液，每天供液 2 次，每株供液量 500ml；授粉 20d 后每天供液 300ml。采收前 3-5 天停止供液。

## 9 精品西瓜病虫害防治

精品西瓜病虫害的防治主要按照预防为主、综合治理的原则，选用抗病品种，坚持轮作；优先采用农业防治、物理防治、生物防治，配合使用科学合理的化学防治。精品西瓜主要的虫害有蚜虫、瓜绢螟、黄守瓜、美洲斑潜蝇、烟粉虱、蓟马等；主要病害有炭疽病、疫病、蔓枯病、细菌性角斑病等<sup>[7]</sup>。

### 9.1 农业防治

针对当地主要病害情况，选用高抗、多抗的品种，培育适龄壮苗。做好精品西瓜田园清洁，及时清除并集中处理病株和杂草。

### 9.2 物理防治

精品西瓜温室大棚采用防虫网进行隔离，棚内可用蓝板和黄板粘虫板诱杀蚜虫、烟粉虱、美洲斑潜蝇和蓟马等。

### 9.3 生物防治

一般利用害虫天敌、植物园驱杀虫剂、捕食螨和绿农林等微生物农药防治虫害。

### 9.4 化学防治

严禁使用剧毒、高毒、高残留农药，为了避免产生抗药性，不同农药应交替使用，每种农药使用 1-2 次。

#### 9.4.1 蚜虫

可选用 10%吡虫啉可湿性粉剂 1500 倍液或艾绿士 1500 倍液等喷雾。

#### 9.4.2 瓜绢螟

用 5%抑太保（氟啶脲）乳油 1500-2 000 倍液喷雾。

#### 9.4.3 黄守瓜

用 3%啶虫脒乳油 1000 倍液。

#### 9.4.4 美洲斑潜蝇

用 5%氟虫脲乳油 1000-2000 倍液或 10%悬浮剂 300-400 倍液喷雾。

#### 9.4.5 猝倒病

可用 72%普力克水剂 800 倍液加 50%福美双可湿性粉剂 800 倍液。

#### 9.4.6 炭疽病

发病初期要用 50%的多菌灵可湿性粉剂 500 倍或 65%代森锰锌 500-600 倍液或等量的波尔多液 200 倍喷雾，连续 3-4 天。

#### 9.4.7 立枯病

用 75%的甲基托布津 600-800 倍液喷药。

#### 9.4.8 疫病

用 72%杜邦克露（霜脲·锰锌）800-1000 倍液或 58%瑞毒·锰锌可湿性粉剂 500-800 倍液等喷雾。

#### 9.4.9 蔓枯病

用 10%苯醚甲环唑水分散粒剂 3000-6000 倍液、50%甲基硫菌灵可湿性粉剂 600 倍液或 50%异菌脲可湿性粉剂 1000-1500 倍液等喷雾。

#### 9.4.10 细菌性角斑病

用 77%氢氧化铜可湿性粉剂 400-600 倍液或 72%农用链霉素可溶性粉剂 4000 倍液等喷雾。

## 10 精品西瓜采收和二茬、三茬保苗

表 1 精品西瓜一苗三收采摘统计表

Tab. 1 One seedling and three harvest of high-quality watermelon picking statistics

| 茬数<br>Stubble<br>number | 生长周<br>期<br>Livespan<br>(天) | 保苗率<br>Seedling<br>rate (%) | 坐果率<br>Fruit set<br>rate<br>(%) | 单果重<br>Single<br>fruit<br>weight<br>(Kg) | 亩产<br>A per-<br>mu<br>yield<br>(Kg) | 瓜皮厚<br>Melon<br>thick<br>(cm) | 中心糖度<br>Central<br>sugar<br>content<br>(%) | 边际糖度<br>Marginal<br>sugar<br>(%) | 可食率<br>Edible<br>rate<br>(%) |
|-------------------------|-----------------------------|-----------------------------|---------------------------------|--|-------------------------------------|-------------------------------|--|----------------------------------|------------------------------|
| 一茬<br>Stubble           | 90                          | 100                         | 95.63                           | 1.912                                    | 3656.89                             | 0.4-0.9                       | 10.9-13.6                                  | 9.2-11.8                         | 90.0                         |
| 二茬<br>Two<br>stubble    | 55                          | 95.8                        | 95.33                           | 1.738                                    | 3174.50                             | 0.4-0.9                       | 10.2-11.9                                  | 8.8-10.2                         | 89.9                         |
| 三茬<br>Three<br>stubble  | 55                          | 83.5                        | 92.67                           | 1.669                                    | 2582.93                             | 0.4-0.9                       | 9.3-12.5                                   | 8.9-10.1                         | 89.6                         |

注：①坐果率是以每茬每亩实际统计数量而得。②单果重、瓜皮厚、中心糖度、边际糖度和可食率是以每茬采收时随机取样 150 个进行测定而得。③亩产是以每茬每亩实际测定而得。

Note:①The fruit setting rate is based on the actual number of statistics per acre. ②Single fruit weight, melon skin thickness, central sugar content, marginal sugar content and edible rate were determined by randomly sampling 150 samples per harvest.③The per mu yield is obtained by actually measuring each acre per acre.

精品西瓜的采收是根据精品西瓜人工授粉分批标记的时间进行分批采收的。一般 6-8 月份，从授粉起算大致需要 25-28d 左右成熟。11-12 月份从授粉起算大致需要 30-35d 左右成熟。林丽丽等<sup>[8]</sup>提出为了提高西瓜品质，宜在充分成熟时收获；就近销售在瓜 8-9 成熟时采收，远销及贮藏的瓜在 7-8 成熟时采收。精品西瓜采收后常温的保质期 7d 左右，冷库的保鲜期 15d 左右。精品西瓜包装一般采用专用的西瓜网套包装或气柱包装以方便运输。

精品西瓜采收后，及时的进行修剪、清理、选留基部新出的侧蔓进行留蔓；加强肥水管理和病虫害的防治，进行二茬保苗和三茬保苗。由表 1 可知，精品西瓜一茬的生长周期需要 90d 左右，而二茬和三茬的生长周期仅仅需要 55d 左右，通过修剪、清理、选留基部新出的侧蔓可以比精品西瓜一茬用种子育苗节省 35d 的时间。精品西瓜随着茬数的增加，保苗率、坐果率、单果重和亩产是有所降低的，但生产成本降低了，经济效益提高了；而瓜皮厚、中心糖度、边际糖度和可食率基本上变化不大。

#### 参考文献

- [1] 何晓庆, 问亚军, 孟延, 等. 大棚西瓜高效栽培技术研究[J]. 中国果菜, 2019, 39(2):73-75
- [2] 李龙军. 棚室西瓜高效栽培技术要点 [J]. 农民致富之友, 2018 (19) : 14
- [3] 姜伟, 杜金伟, 王建国, 等. 日光温室精品西瓜“一种两收”高效栽培技术[J]. 内蒙古农业科技, 2014 (4) :91-92
- [4] 朱芳红, 李国权, 王彦波. 赣南地区精品西瓜秋冬茬设施栽培技术[J]. 中国瓜菜, 2014(27): 110-111
- [5] 刘昭华. 精品西瓜再生栽培技术[J]. 安徽农学通报, 2008, 14 (15): 235
- [6] 贾保太. 冷棚一年三茬栽培技术[J]. 现代农业, 2018(8): 11
- [7] 王运强, 刘志雄, 戴照义, 等. 湖北省设施西瓜有机生态型无土栽培技术[J]. 长江蔬菜, 2018 (19) :71
- [8] 林丽丽. “彩蝶.美玲”西瓜露地栽培技术[J]. 东南园艺, 2018 (6) :26

附 录  
版 图



版图 1 精品西瓜育苗图片



版图 2 精品西瓜苗期图片



版图 3 精品西瓜人工授粉图片



版图 4 精品西瓜人工授粉后挂标记牌图片



版图5 精品西瓜果期图片（众天 6211）



版图6 精品西瓜果期图片（玲珑）



版图7 精品西瓜采收后中心糖度测定图片（众天3845）



版图8 精品西瓜采收后中心糖度测定图片（DH4）

# 立足全产业链发展 做强做大菠萝产业——湛江农垦菠萝产业发展对策探讨

黄香武 骆争明 李恩光 文尚华 程 隆

**摘要** 近几年,湛江农垦主动融入国家战略资源和城市安全食品等产业板块,努力突破传统思维,加快调整产业布局和结构,着力做强做大菠萝产业。本文立足全产业链发展,在分析湛江垦区菠萝产业现状及存在问题的基础上,提出了做强做大菠萝产业的对策(加强标准化种植示范基地建设、加快农产品产地处理及营销体系建设、促进工农联合及一二三产业融合发展、实施人才引进和培养战略等),努力促进菠萝产业绿色、健康发展。

**关键词** 湛江农垦,菠萝产业,发展对策。

## 一、菠萝产业的现状

(一) **产业基础良好**。湛江农垦商品性菠萝种植始于 1980 年,经过近 30 年的发展,已具备良好的产业基础。

**1.农业基础情况**。目前全国菠萝种植面积约 100 万亩,其中广东占全国的 50%以上,湛江占广东的近 70%,湛江农垦又占湛江的近 50%。截至 2018 年底,湛江垦区(含丰收、华海)菠萝种植面积 15.83 万亩,主要分布在雷州半岛南渡河以南的农场(公司),尤以徐闻县曲界镇周围几个单位为主。其中职工承包经营约 11.87 万亩,占总面积的 74.98%;外来人员租赁经营约 3.48 万亩,占 21.98%;各农场(公司)直接经营 4740 亩,占 3.04%。具体分布情况如下:华海公司 50000 亩,红星农场 19990 亩,友好农场 12000 亩,南华农场 8630 亩,五一农场 6130 亩,丰收公司 25550 亩,金星农场 13200 亩,幸福农场 5410 亩,东方红农场 4650 亩,火炬农场 3950 亩,现代农业公司 8620 亩。

**2.工业基础情况**。垦区于 1983 年组建成立了广东省国营收获罐头厂,注册了“三叶牌”商标,专业化从事菠萝罐头生产,具有年产 2 万吨菠萝罐头、1 万吨浓缩汁的加工产能。三叶牌菠萝罐头通过美国 FDA 检验,取得进入美国市场免检资格。2005 年 9 月被评为“广东省名牌产品”称号,2005 年 11 月被评为“国家免检产品”称号,2006 年 9 月被评为“中国名牌产品”称号,荣获 2018 年中国国际农产品交易会参展产品金奖。与百胜、中粮等大企业建立了长期友好合作关系。

(二) **工作务实有效**。近几年湛江农垦加快发展菠萝产业,积极大胆探索,做了大量有成效的工作。

**1.引进新品种**。针对湛江菠萝品种单一(以巴厘为主,约占 97%)、生产技术粗放、经营效益不高、客户口碑不好的情况,湛江农垦从 2015 年开始在科研所及相关农场建立优质菠萝(台湾凤梨)示范基地,引进台农 16、台农 17、台农 22 号、金菠萝、甘蔗凤梨等新品种。至 2018 年底,湛江垦区共示范种植优质菠萝 4740 亩,其中巴厘品种 2111.8 亩,台农 16、17 号 2506.8 亩,金菠萝 101.9 亩,台农 22 号(西瓜凤梨)、台农 4 号、芒果凤梨、粤果 1 号等试验试种性最新品种 20 亩。利用省财政资金 1000 万元,建设 1400 亩优质菠萝种苗繁育和标准化示范基地。

**2.推广新技术**。近年来,湛江农垦在引进吸收国外先进栽培技术的基础上,对垦区传统的菠萝栽培技术进行了“两改五推广”改革。一是改传统的“五年一周制”(第一年种,第二年或第三年投产,连续收三年果后淘汰)为“两年一周制”(第一年种,第二年收果后淘汰);二是改“连作制”为“菠萝—甘蔗—甘蔗轮作制”(种一造菠萝后连种两造甘蔗,全周期 6 年);三是推广培育大苗上山、深沟浅种、合理密植、根外追肥、药物催花等系列技术。不但促进了菠萝高产,还改变了菠萝只能在 2~4 月开花结果和 6~8 月收果的自然习性,实现了常年开花结果和四季收果,为菠萝加工业奠定了基础。同时通过配套覆膜栽培,膜下滴灌技术,尽量少施化肥、多施有机肥,不用激素等绿色高效生产技术,大大提升了垦区菠萝鲜果的质量和影响力。

**3.探索新模式**。在生产经营模式上,新组建湛江农垦现代农业发展公司,注册“湛江佳农”公共品牌,围绕“优质农产品生产者”的定位,制订菠萝(凤梨)优良品种及其配套高效栽培新技术集成与示范等系列生产标准,推进标准化种植示范基地建设。现代农业公司、红星农场等单位采取国有经营模式,自营面积分别为 2620 亩和 1220 亩;带动火炬、幸福、红星和华海等单位,合作经营面积共 900 亩,为周边农民发展多种形式的菠萝适度规模经营,发挥了示范作用。现代农业公司还注册成立了菠萝专营公司——雷州

**作者简介** 黄香武,男,1974 年 9 月出生,大学本科,农业推广硕士,高级政工师、农艺师。现任广东省湛江农垦集团公司(农垦局)党组副书记、总经理(副局长),兼中国热带作物学会剑麻专业委员会主任,从事热带农业产业的计划、生产、科技、财务、项目及企业管理等工作。E-mail:334243588@qq.com, tel: 0759-2620128

湛江农业发展有限公司，下辖 6 个生产队土地 2 万余亩，配套菠萝罐头厂，实现基地+工厂+销售一体化。

**4.创建新品牌。**根据供给侧结构性改革的要求，湛江垦区注册了“湛江佳农”公共品牌。在菠萝鲜果上，红星农场注册了“红土金菠”子品牌。在高标准基地和质量品质的基础上，通过品牌，给垦区菠萝贴上了身份证，增加了垦区菠萝的知名度和影响力。有了品牌，坚持借机转型，转“危”为“机”，如在 2018 年上半年徐闻菠萝大面积滞销的不利局面下，用心做好品牌宣传和推广，开发渠道。通过积极参与国内外各类农产品交易会、博览会和多渠道的营销推广，树立产品口碑，吸引中央及地方主流媒体的关注和宣传，全方位传递农垦菠萝品牌的品质实力和责任担当，不断扩大垦区菠萝品牌的影响力。

**5.开拓新市场。**以现代农业公司为销售龙头，将垦区营销力量通过相应的销售激励机制和利益分配机制联合起来，形成了合作商地头直采、各大批发市场直批、连锁商超进驻、线上平台产地直发等等多形式的菠萝营销模式。一是大力开拓大宗批发市场。已建立了东北以辽宁沈阳为主、华东以浙江金华为主、华中以湖北武汉为主、西南以重庆双福为主的垦区农产品直批点。同时，积极推进农垦经营的中垦流通滁州物流园、粤西农批市场等产品进驻销售工作。二是进驻商超渠道。2019 年，农业公司与昌大昌、广垦绿色农产品公司、深圳沃尔玛等连锁商超积极对接，垦区凤梨产品陆续上架连锁超市。6 月份，昌大昌湛江、茂名、阳江各门店正式上架销售垦区凤梨，其中湛江金沙湾店西瓜凤梨（台农 22 号）的销量最好，说明城市中高端人群对菠萝新品种具有较高的认可度和消费需求。三是引进合作商地头直采。注重优质客户的引进和培育，积极通过展会、对接会及各方面的客户资源招商引商，2019 年红星、幸福两个基地的大部分凤梨产品通过合作商地头直采的方式进行销售。四是积极推进线上销售。2018 年以来，垦区积极搭建自有的微信商城、垦区农产品优购群、全垦汇等线上电商平台销售垦区的农产品，并与中国农垦电商旗舰店、北京中垦网络科技有限公司、联想佳沃（深圳鑫荣懋）、碧桂园凤凰优选、北京每日优鲜、京东、云集等新零售平台合作，采取“一键代发”、“大宗入仓”、“企业自营”等方式，积极推进垦区农产品尤其是优质凤梨新品种的平台进驻销售。

## 二、存在的主要问题

**（一）整体谋划统筹不够。**发展菠萝产业，需在更高层次的政府部门及两级农垦集团的统一组织领导下，抓好谋篇布局，做好顶层设计，制定长远战略目标和产业发展规划，全面推进，分级实施。需从品种选育、产品加工、市场开拓和流通渠道等各个环节上发力。

**（二）仍以职工家庭农场和承包户分散种植经营为主。**单家独户小农经济模式占绝大多数，专业化、规模化、集约化、信息化、机械化程度低，还没有形成有规模和影响力的企业或产业龙头。

**（三）生产管理水平不高。在种植领域，基本上都还是采取传统生产和管理手段。**由于种植户片面追求产量，单一施用化肥，任意加大催大催熟药剂量，连续多年土地不轮作，种苗退化等多种因素影响，造成菠萝鲜果的品质和口感大大退化。在良种选育推广、节水灌溉、种苗提纯复壮、生物防治、测土配方施肥、先进催花保果等现代农业科学技术应用方面，有很大差距，没有形成专业化种植、标准化生产的模式。

**（四）种植新品种菠萝技术要求高，投入大，风险大，难推广。**台农 16、17 号的亩均成本超过 9000 元，比传统菠萝的亩均生产成本高约 3000 元，金菠萝因种苗费较高还需增加每亩 1000 元左右的种苗成本，加上新品种不允许药物催大、催熟，商品果亩均产量在 5000—6000 斤，比传统菠萝亩均产量低 2000—3000 斤。尽管近两年新品种的销售价格比传统巴厘菠萝要高得多，但在种苗费用、技术标准、设施配套等投入大幅度增加的情况下，职工或农户受经济能力、技术水平等因素的影响，在缺乏资金和技术支持的情况下，不敢大胆尝试菠萝新品种的种植经营。

**（五）菠萝产地预处理和深加工能力严重不足，工农联合不紧密。**雷州半岛菠萝产期相对集中在每年的 3—5 月，产量很大。目前普遍缺乏菠萝产地的分选分级、降温预冷、仓储物流等设施 and 场地，采后贮运过程损耗大，无法为客户提供品质稳定、质量安全、持续充足的合格标准产品，难以承接中高端销售平台的订单，导致菠萝增值潜力不足，市场吸引力缺乏。垦区菠萝加工企业加工生产的产品单一，工业带动农业作用尚不明显。

**（六）营销专业人才缺乏，菠萝产品营销渠道不宽。**近年来，垦区为做强果蔬产业，组建了现代农业公司，主导垦区农产品的市场营销。虽然陆续开拓了部分批发市场、商超以及线上渠道，但由于专业营销人才不足、经验不足以及激励机制仍不够完善，目前仍难以大幅度提升垦区的农产品营销水平，营销工作难以匹配垦区菠萝产业的生产规模。

## 三、下一步发展对策

按照全产业链经营的思路和要求，加强顶层设计，落实保障措施，进一步做强做大菠萝产业。

**（一）加强顶层设计。一是加强统一经营管理。**从集团公司层面，加强统一领导，统一规划，全面推进，分级实施。围绕全产业链经营，统筹菠萝种植、加工、营销和研发等主体，构建涵盖种苗、生产物资供应、种植、加工、物流、销售于一体的现代农业经营体系。以效益为中心调整和优化各方利益格局，实现有效分工合作，充分调动菠萝产业上下游密切配合的积极性，打造产业共同体、利益共同体，提高菠萝产业竞争力。建立种植技术规程及产品标准，推进“六统一”（统一种苗、统一农资、统一田管、统一加工、统一品牌、

统一销售)管理。**鼓励经营模式多样化**,努力提高国有农场统一经营管理、模拟股份联合体经营、股份制经营等比例,促进菠萝产业种植机械化,加工标准化,经营规模化。**二是坚持“两条腿”走路**。一是继续抓好传统品种菠萝种植管理工作。按照绿色发展理念,严控化肥和农药的用量,多用农家肥、有机肥,确保菠萝鲜果的品质和口感不退化。二是抓好优质新品种菠萝选育和推广工作。选育一批,储备一批,推广一批。

**(二)具体保障措施**。从加强标准化种植示范基地建设、加快农产品产地处理及营销体系建设、促进工农联合及一二三产业融合发展、实施人才引进和培养战略等方面下功夫。

**1.加强标准化种植示范基地建设**。保持垦区菠萝种植基地面积在10万亩以上、年投产面积6万亩以上和年鲜果产量24万吨以上。稳步提高公有经营为主导的标准化示范基地面积,力争到2023年公营标准化示范基地面积达到5万亩以上,确保工业加工原料自给率达到60%以上。一是抓好新品种引进及种苗繁育工作。继续做好台农16号、17号,金菠萝等菠萝新品种引进及繁育工作,以及抓好1000万元优质菠萝繁育项目建设及管理工作,推进台农16号、17号,金菠萝等优质种苗繁育基地建设,确保优质菠萝品种种苗质量和供应。二是加快菠萝高标准种植示范基地建设。利用地膜覆盖、水肥一体化、增施有机肥、绿色防控等先进栽培技术,建设一批菠萝高标准种植示范基地,带动垦区职工和周边农民发展菠萝产业增收致富。三是努力压减菠萝新品种的种植成本。认真总结垦区近几年在新品种引进、试种、采收等方面的经验,制定合理科学的种植规范和技术标准,加大种苗扩繁的科研投入,降低种苗成本。积极争取各级财政加大种苗繁育推广、菠萝自然灾害保险、市场价格保险、机械化种植管理及土壤改良等方面的扶持力度,努力降低新品种推广成本,进一步提振产业发展信心。

**2.加快农产品产地处理及营销体系建设**。着力解决雷州半岛农产品研发薄弱、智能化果品初加工设施缺乏、深加工产品单一、冷链储运不完善等主要“痛点”,尽快推动农产品产地运营中心建设,做好农产品预冷、分选、分级包装、储运、市场数据分析及加工等采后商品化处理工作。一是通过农产品标准化预处理(包括清洗、杀菌、分级、质量检测等),有效避免产品变质,提高产品的品质和议价能力。二是通过升级冷链物流体系,引进国内外先进的保鲜和运输设施和技术,提高产品的冷链保鲜率和冷藏运输率,增强错峰上市的能力并降低产品在储运过程中的损耗率。三是结合物联网大数据技术,实现农产品种植、生产、流通全程数字化,提高产品的品质安全、生产效率和流通价值,避免因信息不对称而导致的决策失误。四是推动全产业链模式下高效对接产地和零售终端,解决好传统产销模式流通环节过多的弊端,提高农产品品质和价值。

**3.促进工农联合及三产业融合发展**。一是加快推进菠萝深加工。加强与高等院校、科研机构等技术研发团队的合作,开展菠萝加工工艺升级改造、精深加工产品研发、菠萝加工废弃物综合利用等工作,着力开发菠萝干品冻品、凤梨酥、酵素饮料、菠萝果馅、菠萝果汁、菠萝果酒等高端菠萝产品,深度挖掘菠萝产品潜在价值。二是加快攻克菠萝机械化采摘技术难点。尽快推进与华南农业大学、中以集知(广州)科技有限公司、中以新创(广州)机器人有限公司四方合作的大田菠萝半自动采摘及初选分选系统项目,以进一步提高菠萝生产效率、降低生产成本、提高产品品质为目标,积极探索雷州半岛菠萝机械化采摘模式。三是推进一二三产业融合发展。依托徐闻“菠萝的海”及雷州九龙山自然风景区资源,打造以菠萝为主题的美丽生产队旅游度假区,探索创建菠萝文化博物馆,加快红星农场菠萝主题公园和一二三产业融合项目建设,着力打造“红土金菠”菠萝产业基地和高端休闲旅游农业公园,实现一二三产业融合发展。

**4.加强产学研合作**。继续加强与中国热带农业科学院亚热带作物研究所、中国热带农业科学院食品加工所、广东省农科院果树所、广东省农工商学院等科研院校,在新品种、加工、人才等方面的产学研创新发展。其中:与广东农工商职业技术学院合作研究从种植规格、种植模式、生态循环、催花促果等方面的菠萝种植管理技术;与以色列合作开展菠萝数字化农业、引进智能化机器人采摘设备等技术;与农垦科学研究所合作抓好菠萝良种的提纯复壮和种苗工厂化生产、繁育供应优质健康种苗等技术,以及拟成立“菠萝研发中心”,选育鲜食、加工和鲜食加工兼用型优良品种和产品,同时探索引进菠萝种植机、施肥机、果树管理机、采摘机、无人机等新型农机具,提升菠萝生产管理水。

**5.大力推动人才引进和培养战略**。一是继续加大与第三方专业营销团队的合作,着力解决垦区营销团队人员、经验不足、渠道不够宽以及营销理念和手段不足等问题,补齐垦区农产品销售运营短板,实现产地、供应链、终端互惠互利共同发展的目标。二是做好垦区种植、营销等人才的引进、培养和储备的工作,针对垦区农产品营销的短板引进人才、培养人才,加强垦区开拓型农产品营销力量,打造一支能闯能干的营销队伍。

# 火龙果的主要病虫害及其防治方法

邓卫武<sup>1</sup>, 罗丽娟<sup>1</sup>

广东省广前糖业发展有限公司, 湛江 524132

**摘要** 火龙果近年来作为新兴果树品种, 具有丰富的营养价值和较高的经济效益。随着火龙果种植面积扩大, 其病虫害危害程度也随之增加。严重危害火龙果的主要虫害有蜗牛、蚂蚁、蚜虫、斜纹夜蛾和介壳虫等, 主要病害有溃疡病、炭疽病、茎腐病、茎斑病和茎枯病等。综合前人文献, 本文总结了火龙果主要病虫害及其防治的化学方法和农业方法, 供广大火龙果种植户及果农参考, 对火龙果的生产有促进作用。

**关键词** 火龙果; 病虫害; 农业防治; 化学防治

火龙果是仙人掌科、量天尺属量天尺的栽培品种, 原产于中美洲, 后陆续传入越南、泰国等东南亚国家和我国的台湾、广东、海南等地。火龙果近年来作为新兴果树品种, 含有丰富的维生素和水溶性膳食纤维, 营养价值高, 同时集蔬菜、花蕾、水果、医药优点于一身, 具有很高的经济价值, 深受消费者的喜爱, 其市场需求量逐年扩大。在高温多雨的气候条件下, 火龙果易受病原菌侵染, 引发多种病害, 这些病害严重影响植株生长及果实品质。随着火龙果种植面积扩大, 病虫害也呈现爆发式增加, 对产量与质量造成不利影响, 需要引起高度重视。作者结合其他学者的文献, 简要介绍了火龙果主要病虫害及其防治方法, 为火龙果种植者提供参考。

## 1 火龙果主要虫害及其防治方法

### 1.1 蜗牛

蜗牛是果园常见的有害软体动物, 昼伏夜出, 喜阴暗潮湿, 畏光怕热, 主要取食火龙果的幼嫩器官, 危害火龙果生长点、幼枝、花、果等部位, 影响枝条生长和果实的外观品质。蜗牛取食后造成的伤口容易被有害病菌侵染, 进而诱发其他病害。

**防治方法:** (1) 采用地膜覆盖栽培, 有利于减轻蜗牛为害。(2) 雨后或浇水后及时中耕, 破坏蜗牛的栖息和产卵场所。(3) 于早晨、傍晚或阴天蜗牛活动时, 在植株周围撒施一层石灰粉或草木灰, 可使蜗牛脱水死亡。(4) 人工捕杀。(5) 果园内放养鸡鸭。(6) 化学防治: 四聚乙醛有特殊香味, 对蜗牛有很强的引诱力。用四聚乙醛拌土, 均匀撒施于田间或植株周围, 可起到较好的触杀效果。

### 1.2 蚂蚁

蚂蚁群集, 主要危害火龙果的嫩叶、花和果实。被蚂蚁为害过的幼嫩组织呈凹陷状, 严重时嫩芽不能抽生, 果实发育不良, 容易感染其他病害。

**防治方法:** (1) 利用毒饵: 将 5 kg 麦麸放进锅内炒香, 再用 50% 辛硫磷 500 倍液喷洒于麦麸, 搅拌均匀后再喷洒糖水, 将其撒于蚂蚁途经之处即可<sup>1</sup>。(2) 喷雾: 2.5% 高效氯氟氰菊酯 300 g+3.2% 阿维菌素 400 g+吡蚜酮 200 g 兑水 400 kg 进行叶面喷施。(3) 在根系附近撒施含有联苯噻虫啉、啶虫脒的颗粒剂, 可长期防治蚂蚁和地下线虫。

### 1.3 蚜虫

蚜虫分有翅和无翅两种类型, 体色为黑色, 主要群集于火龙果嫩茎、花和果实上, 用刺吸式口器刺吸危害部位的汁液, 严重时使花和果实畸形, 影响果实正常发育。蚜虫危害时排出蜜露, 还会招引来蚂蚁取食。

**防治方法:** (1) 10% 吡虫啉可湿性粉剂或抗蚜威可湿性粉剂, 每亩用 10~18 g, 兑水 30~50 kg 喷雾。另外, 22% 吡·噻可湿性粉剂和 2% 阿维·吡虫啉微乳剂也有较好的防效和较长的持效期<sup>2</sup>。(2) 利用银灰膜避蚜。

### 1.4 斜纹夜蛾

该虫幼虫聚集取食火龙果幼嫩组织, 主要咬食叶片、花蕾、花及果实, 初龄幼虫啃食幼嫩叶片下表皮及叶肉, 仅留上表皮呈透明斑, 造成生长点受损, 短期内停止生长<sup>3</sup>。

**防治方法:** (1) 药剂防治幼虫: 甲氨基阿维菌素苯甲酸盐、氯虫苯甲酰胺、茚虫威和虫螨腈对斜纹夜蛾的防效较好, 可作为火龙果幼茎萌发期防治斜纹夜蛾的首选药剂。要抓住关键时期(斜纹夜蛾低龄期)进行施药防治, 同时注意几种药剂交替轮换使用, 减缓斜纹夜蛾抗药性的产生<sup>3</sup>。(2) 诱杀成虫: 利用成虫的趋光性和趋化性, 用黑光灯、糖醋液、杨树枝及甘薯、豆饼发酵液等多种方法诱杀成虫, 在诱液中加少许杀虫剂能毒死成虫。(3) 保护和利用天敌: 包括广赤眼蜂、黑卵蜂、小茧蜂和寄生蜂等, 要注意保护自然天敌。



## 1.5 介壳虫

介壳虫是一种刺吸式害虫，体积小，繁殖速度快，破坏力巨大，其幼虫会在次年温度提升，天气转好的过程中进行大肆活动，最常见的介壳虫是堆蜡粉蚧。堆蜡粉蚧会用刺吸口器吸取火龙果内部的果肉和汁液，同时排泄糖液和蜡质。因此，堆蜡粉蚧发生时常伴随严重的煤烟病，使植株茎叶布满黑灰，堵塞叶面气孔，以至叶片无法进行光合作用，呼吸作用受阻，最终叶片黄枯，枝条干缩<sup>4</sup>。

防治方法：（1）注意保护和引放天敌（瓢虫和草蛉）。

（2）从9月开始，在树干上束草把诱集成虫产卵，入冬后至发芽前把草把烧毁消灭虫卵。（3）化学防治：虫害较多的5月，尤其介壳虫繁殖高峰期，叶面喷施国光必治乳油、3%啶虫脒乳油1500倍液+48%毒死蜱乳油1000倍液。10月至翌年3月是越冬防治期，可施用石硫合剂200倍液，间隔10天用药1次，每天喷洒2次，能够有效杀灭若虫，起到很好的防治效果<sup>5</sup>。

## 2 火龙果主要病害及其防治

### 2.1 溃疡病

火龙果溃疡病在火龙果果园中普遍发生，植株发病率为55%以上<sup>6</sup>。火龙果溃疡病主要为害火龙果的肉质茎和果实，夏秋季高温高湿的气候条件发病尤为严重<sup>7</sup>。火龙果溃疡病染病初期，肉质茎和果实出现圆形凹陷褪绿病斑，随后颜色转为橘黄色，最后变成灰白色的突起<sup>8-9</sup>，严重时整条肉质茎上布满病斑。当湿度较大时，病斑扩大，茎迅速腐烂。

防治方法：（1）化学防治要以预防为主，抓住关键时期喷药，比如火龙果嫩茎抽生期、花蕾幼小期、幼果生长期、台风雨前后和连续阴雨天气中瞬间的晴天。可用药剂：铜制剂（800倍47%春雷王铜可湿性粉剂水溶液、1500倍46.1%氢氧化铜可湿性粉剂水溶液和600倍25%噻森铜悬浮剂水溶液等）<sup>4</sup>、42.4%吡唑醚菌酯·氟唑菌酰胺悬浮剂<sup>10</sup>、2%春雷霉素可溶液剂、3%中生菌素可湿性粉剂和20%噻菌铜悬浮剂<sup>11</sup>等。（2）重视冬季清园，及时清理果园病枝：1:1:100的波尔多液（硫酸铜：生石灰：清水）对杀灭火龙果溃疡病的越冬病菌有很好的效果，能明显减轻次年火龙果溃疡病的发生和为害。

### 2.2 炭疽病

火龙果炭疽病从幼苗到果实成熟均可发病，尤其危害果茎节和果实。该病主要发生在茎部表面，初期感染时，产生大量红褐色病斑，后期病斑扩大相互愈合形成圆形或不规则形状连片病斑，逐渐变为黄色或褐色，病斑中间颜色较深，边缘呈半透明的蜡质层突起，产生水渍状晕圈，整个病斑突起于表皮<sup>12-15</sup>。果实转色后才会感染炭疽病，病斑初期呈现凹陷及水浸状，凹陷病斑呈现淡褐色，病斑扩大，相互愈合成大斑；后期病部产生黑色小颗粒为分生孢子盘，橘红色的黏状物为分生孢子堆<sup>16</sup>。

防治方法：（1）化学防治：11月份气温开始下降、火龙果炭疽病发病前，用多菌灵600倍和爱诺链宝2000倍（或链霉素）混合液进行全园喷雾预防<sup>13</sup>；发病期根据果园火龙果炭疽病发病情况，选喷下列药剂：10%苯醚甲环唑水分散粒剂1500倍液、50%咪鲜胺可湿性粉剂1500倍液防治<sup>17</sup>、70%甲基托布津可湿性粉剂600倍液、10%世高（苯醚甲环唑）水分散粒剂1500倍液、50%施保功（咪鲜胺锰盐）可湿性粉剂1500倍液<sup>18</sup>等。上述药剂宜交替使用，隔10天左右防治1次，共防治2~3次。（2）因地制宜，混搭不同品种种植<sup>18</sup>；

### 2.3 茎腐病

茎腐病又名软腐病，多发生在植株中上部的嫩节，由伤口侵染引起，对植株的危害严重。土壤水分过多或多雨潮湿，有利病菌的繁殖、传播和蔓延，会造成茎腐病的暴发流行。发病初期茎肉质部出现黄色或褐色的病斑，随发病时间的推移，病斑面积逐渐变大，周围组织也由原本的绿色向浅黄色转变，后期整个茎段颜色变成深黄色，呈浸渍透明状，最后肉质茎变软腐烂，只剩茎中心的木质部，并散发恶臭气味<sup>19-21</sup>。

防治方法：（1）发病前用波尔多液、石硫合剂或72%农用硫酸链霉素可溶性粉剂喷洒全园，每隔7天喷1次，连喷2次。（2）发现病斑后，应将病部及时刮除，并使用杀菌剂喷洒。可用的杀菌剂有：45%代森铵水剂、50%福美双可湿性粉剂<sup>19</sup>、72%农用硫酸链霉素可溶性粉剂、新植霉素和噻霉铜等。隔7~10天喷1次，连喷2~3次，防病菌蔓延。

### 2.4 茎斑病

火龙果肉质茎发病时组织失水干枯，连接成片，病斑呈不规则形，稍凹陷。早期肉质茎发病部位灰白色，边缘淡黄色，后期有小黑点（载孢体）生成，载孢体生于表皮下，后突破表皮外露<sup>22</sup>。

防治方法：发病初期用42%克菌净500微克/毫升或氟菌唑可湿性粉剂3000~4000倍液，每隔7天喷1次药，共喷3次。研究表明，42%克菌净可湿性粉剂500倍液和50%多菌灵·硫1000倍液对茎斑病病原菌的抑制效果较好<sup>22</sup>。

### 2.5 茎枯病

茎枯病多发生于火龙果中下部茎节，发病后植株棱边上形成灰白色的不规则病斑，上生许多小黑点，病斑凹陷，并逐渐干枯，最终形成缺口或孔洞，多发生于中下部茎节。

防治方法：发病初期，喷洒 50%福美双可湿性粉剂 400 微克 / 毫升、500 微克 / 毫升和 50%多菌灵·硫 700 微克 / 毫升、900 微克 / 毫升药剂，每隔 7 天喷 1 次药，共喷 3 次。另外，波尔多液、咪鲜胺、咪鲜胺锰盐、甲基硫菌灵、代森锰锌和苯醚甲环唑等对茎枯病也有较好的防治效果。

### 3 火龙果病虫害预防与农业防治

火龙果病虫害防治主要有农业防治和化学防治两类方法，前文主要介绍了火龙果病虫害防治的化学方法。化学药物只能起到治理病虫害的目的，其预防效果相对较差，火龙果主要病害防治应采取以农业防治为主，化学防治为辅的综合防治措施。在农业防治中，采用的方法主要有以下几种：

(1) 培育无病种苗，建立无病保护区，坚持种植无病苗木，加强火龙果检疫工作，确保苗木健康，严格制止从病区向无病区调种引种。种苗用 50 mg/L 多菌灵可湿性粉剂药液浸泡 10 分钟，再进行定植。

(2) 种植和培育抗病优质品种。

(3) 合理修剪：合理修剪有利于调整树体的营养分配，促进树体的生长发育，不断改善果园、植株的通风透光条件，营造不利于病虫害发生蔓延的环境条件。剪除带病枝干，切口涂抹 50%多菌灵，同时将病残体运到园外集中焚烧或深埋处理，防止病原菌再次侵染。

(4) 搞好果园卫生，清除杂草，降低田间湿度，减少田间病虫害源。

(5) 加强排水管理：果园实行起垄栽培和滴灌，避免大水漫灌和长期喷灌；开好排水沟渠，防止雨季渍涝。

(6) 保持果园空气干爽，避免果园内湿度过高，在垄上洒施一些石灰，以减少病虫害的发生。

(7) 依据情况控制施肥：施足基肥，适时追肥，禁止偏施氮肥、复合肥；多施腐熟有机肥，可以改良土壤，促进根系发育；适量增施磷钾肥和微量元素，营养的均衡有利于促进植株生长发育、提高植株抗逆性，减少发病率。剋

(8) 秋冬季翻地，可将越冬幼虫翻到地面使其风干、冻死，同时全园喷 1 次石硫合剂或波尔多液进行防虫防病。

(9) 夏季病害防治可采用“苯甲醚菌酯+咪鲜胺+农用链霉素+叶面肥+有机硅（表面附着剂）”的配方进行防治，一方面清除病菌，另一方面补充营养，健壮树体<sup>23</sup>。

### 4 结语

病虫害会对火龙果产量和品质产生重要影响，因此加强火龙果病虫害的防治具有重要意义。仅靠单一的防治方法来防治火龙果病虫害，效果不佳，需要化学防治、物理防治、生物防治和农业防治等措施互相配合，以降低病虫害造成的损失。同时，不仅要重视病虫害的治理，更要重视病虫害的预防，以提高火龙果种植的经济效益。

### 参考文献

- [1] 李润唐, 邹恒欢, 郭志雄, 张映南, 张伟国. 湛江地区火龙果主要病虫害及其防治[J]. 中国园艺文摘, 2010, 1: 173-174.
- [2] 郑德剑, 孙祖雄, 唐新海, 黄邦贵, 谢乃官. 几种药剂防治火龙果蚜虫田间试验[J]. 农业研究与应用, 2013, 2: 60-61.
- [3] 吴玉东, 赵天义, 罗旋, 陈军. 火龙果斜纹夜蛾防治药剂筛选[J]. 广西植保, 2017, 2: 16-17.
- [4] 廖美娟. 火龙果主要病虫害的发生特点及防治措施[J]. 现代农业科技, 2019, 10: 99, 103.
- [5] 高安辉, 张兴无, 陈守一, 李向林. 火龙果贮藏研究进展[J]. 现代农业科技, 2015, 14(11): 297-298.
- [6] 郑伟, 蔡永强, 戴良英. 火龙果病虫害的研究进展[J]. 贵州农业科学, 2007, 35(6): 139-142.
- [7] 彭超, 范雁鸿, 罗志文, 郭利军, 韩冰, 何凡, 李向宏. 海南火龙果产区真菌病害种类及为害情况调查[J]. 中国南方果树, 2015, 44(6): 121-124.
- [8] 庄德奥, 王文汉. 火龙果的主要病虫害及防治[J]. 植物保护, 2018(05): 84.
- [9] 张荣, 刘爱媛, 白成艳, 刘成明, 罗笑容, 姜峰, 梁瑞伟, 郑红莉. 火龙果溃疡病的症状观察和病原菌鉴定[J]. 果树学报, 2013, 30(5): 854-856.
- [10] 林珊宇, 贤小勇, 朱桂宁, 韦小妹, 钟有超, 黄黎芳. 防治火龙果溃疡病的药剂筛选及田间应用[J]. 农药, 2018, 57(12): 921-924.
- [11] 刘志营, 黄富宇, 阮耀礼, 方石柱. 火龙果高产高效栽培及病虫害防治[J]. 农业研究与应用, 2017, 2: 78-79.
- [12] 郑伟, 王彬, 彭丽娟, 李兴忠. 火龙果炭疽病原鉴定与 ITS 序列分析[J]. 西南农业学报, 2014, 27(5): 1970-1973.
- [13] 韦茜, 蔡永强, 陈家龙, 陈家龙, 金吉芬. 火龙果炭疽病药剂筛选试验[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(10): 2999-3000.
- [14] 朱迎迎, 李敏, 高兆银, 章武, 杨冬平, 陈亮, 胡美姣. 火龙果炭疽病原菌的鉴定及生物学特性研究[J]. 南方农业学报,

2016, 47 (1): 59-66.

- [15] 陈圆, 严婉荣, 赵志祥. 海南省火龙果炭疽菌病原鉴定及有效药剂筛选[J]. 基因组学与应用生物学, 2017, 36(2): 638-643.
- [16] 朱迎迎, 陈亮, 祝庆刚, 张正科, 李敏, 高兆银, 胡美姣. 火龙果采后病害与防控技术研究进展[J]. 植物保护, 2014, 4: 55-58.
- [17] 陈育民, 冯伟明, 田瑞钧, 吴颖仪. 9种杀菌剂对火龙果炭疽病的田间药效试验[J]. 广东农业科学, 2017, 44(11): 111-115.
- [18] 黄劲文, 何根养. 浅析火龙果炭疽病的发生及防治技术[J]. 研究与探讨, 2017, 3: 98.
- [19] 赵世学. 火龙果茎腐病原鉴定及药剂筛选[D]. 海口: 海南大学, 2016.
- [20] 逢崇洋. 类芽孢杆菌 PCY-67 菌株的鉴定、发酵工艺研制和对火龙果茎腐病的生防潜力评价[D]. 海口: 海南大学, 2017.
- [21] 顾国海, 唐蓉, 陈军, 汪成忠, 宣雄志. 海安地区红心火龙果常见病虫害及其防治措施[J]. 中国园艺文摘, 2015, 14(12): 200-201.
- [22] 郑伟, 王彬, 蔡永强. 几种杀菌剂对火龙果茎斑病的室内抑菌试验[J]. 江苏农业科学, 2009, 5: 151-152.
- [23] 罗荣光, 黄成能, 黄建英, 谭卫军. 清远市南部地区火龙果夏季栽培管理要点[J]. 基层农技推广, 2016, 12: 112-114.

# 咖啡新品种德热 3 号选育报告

周 华, 郭铁英, 马关润, 萧自位, 苏琳琳, 李锦红, 白学慧  
云南省德宏热带农业科学研究所, 云南 瑞丽 678600

**摘 要** 德热 3 号是从墨西哥引入的种质资源群体中优选单株, 经 3 代繁育而成。品比试验、区域性试验和生产性试验表明: 该品种具有抗叶锈病、丰产稳产, 杯测质量良好的特点, 适宜在云南省的普洱、德宏、保山、临沧、西双版纳等小粒种咖啡适宜种植区种植。

**关键词** 咖啡; 德热 3 号; 品种选育

## Breeding Report of New Coffee Variety ‘Dere 3’

ZHOU Hua, GUO Tie-ying, Ma Guan-run, XIAO Zi-wei, SU Linlin, LI Jin-hong, BAI Xue-hui  
Dehong Tropical Agriculture Institute of Yunnan, Ruili 678600, PRC

**Abstract** The new high quality coffee variety ‘Dere 3’, which is resistance to rust, was developed from germplasm resources introduced from Mexico, and it was bred in 3 generations. The results of variety comparative test, regional test and production test showed that ‘Dere 3’ is resistant to rust with stable yield, excellent quality, etc. It is suitable for planting in Dehong, Baoshan, Lincang, Puer, Wenshan and other coffee appropriate planting region in Yunnan.

**Keywords** coffee; Dere 3; variety breeding

近年来云南省咖啡产业发展较快, 截止 2018 年底云南咖啡种植面积 180 万亩, 年产量超过 16 万 t, 产值 243885.7 万元<sup>[1]</sup>。咖啡产业现已成为云南高原特色产业之一, 咖啡种植业为云南 14 万农民提供了就业机会, 70 万人直接和间接从中受益。但是, 长期以来咖啡栽培品种单一, 主要是卡蒂姆系列品种, 其对锈病的抗性减弱, 加上锈菌产生变异, 新的生理小种不断产生, 导致卡蒂姆系列品种对锈病的抗性逐渐散失<sup>[2-3]</sup>。本研究选育出的抗咖啡锈病、适合在云南咖啡种植区种植的咖啡新品种德热 3 号, 在一定程度上丰富了云南咖啡栽培品种资源, 对促进云南咖啡产业可持续发展具有重要意义。

### 1 品种来源与选育过程

育种材料由中国热带农业科学院于 1978 年从墨西哥引入, 俞灏、王开玺等专家在海南进行品种比较试验, 筛选出抗锈、高产种质 1 份, 定名为“卡杜拉 7 号”; 上世纪 80 年代末在云南潞江农场进行试种; 1995 年云南省德宏热带农业科学研究所从潞江农场田间选择 1 株树型紧凑、抗锈的单株进行采种, 1996 年定植到咖啡种质资源圃保存, 1999 年繁育种植, 经 3 代连续观测, 性状稳定遗传, 编号为“DR155”, 定名为“德热 3 号”。

2004-2013 年在云南省德宏热带农业科学研究所试验地进行品比试验; 2009-2015 年在德宏、保山、普洱和西双版纳等咖啡主产区开展区域性试验; 2009-2015 年在德宏、保山、普洱和西双版纳等咖啡主产区进行生产性试验; 试验对照品种均为主栽品种“卡蒂姆 7963”。2011~2016 年在葡萄牙咖啡锈病研究中心(CIFC) 对该品种进行抗锈性测定。

### 2 品种特征特性

#### 2.1 植物学特征

多年生小乔木, 树冠近圆柱形, 植株矮生。老枝灰白色, 节膨大, 枝条稍软, 未结果枝分枝角度 75°左右, 幼枝无毛, 压扁形。叶薄革质, 椭圆形, 长 12.1~17.7cm, 宽 5.0~8.9cm, 顶端渐尖, 基部楔形或微钝, 叶缘波浪形; 花冠白色。浆果椭圆形, 成熟时枣红色, 纵径 1.37~1.67cm, 横径 1.16~1.50cm, 侧径 1.06~1.39cm, 外果皮硬膜质, 中果皮肉质, 有甜味; 种子椭圆形, 长 0.79~1.22cm, 宽 0.58~0.93cm, 厚 0.30~0.58cm。

#### 2.2 生物学特性

初花期 2 月中旬, 盛花期 3 月中旬~5 月中旬, 末花期 7 月上旬。果实成熟期 10 月下旬至次年 2 月中下旬, 生育期 180~220d。定植后第 2 年少量结果, 第 3 年进入盛产期。

#### 2.3 抗逆性

品比试验、区域性试验和生产试验结果均表明, 该品种对锈病免疫, 病情指数为 0, 而对照品种卡蒂姆 7963 表现为感病, 病情指数为 28.13~65.63(见表 1-3)。

#### 2.4 经济性状

**资助项目** “咖啡种质资源保护”(16RZZY-07-06), “热带作物种质资源标准化整理、整合及共享运行服务”(NICGR2017-67-)。

**作者简介** 周华(1965-), 女, 农业推广研究员, 研究方向: 热带作物栽培技术研究、咖啡种质资源学。通讯作者: 白学慧(BAI Xue-hui), E-mail: 724180976@qq.com。

鲜干比为 5.01，出米率为 82.21%，千粒重 198.43 g。颗粒饱满均匀，且质地较硬，圆豆率和大象豆比例较低，分别为 9.4%和 5.6%。干豆蛋白质含量 12.8%，粗脂肪含量 7.85%，总糖含量 8.44%，粗纤维含量 29.6%，水浸出物含量 35.6%，灰分 3.9%，咖啡因含量 1.44%。香气、平衡度、浓厚度和后味好，杯品风味足，深度烘焙后表现更突出。

### 3 产量与抗性表现

#### 3.1 品比试验结果

以卡蒂姆 7963 为对照品种，2004~2008 年在云南省德宏热带农业科学研究所试验地进行 3 年品比试验的结果表明：德热 3 号三龄树(2006 年)开始大量结果，干豆产量 90.66 kg/667m<sup>2</sup>，比对照品种低 0.30%；四龄树(2007 年)干豆产量 174.34 kg/667m<sup>2</sup>，比对照品种低 2.16%；五龄树(2008 年)干豆产量 164.07kg/667m<sup>2</sup>，比对照品种高 1.78%，但德热 3 号对锈病抗性表现为免疫，而对照品种卡蒂姆 7963 表现为感病(表 1)。

表 1 德热 3 号品种比较试验结果

| 年份   | 品种     | 单产(kg/667m <sup>2</sup> ) | 锈病病情指数 |
|------|--------|---------------------------|--------|
| 2006 | 德热 3 号 | 90.66                     | 0      |
|      | CK     | 90.93                     | 28.13  |
| 2007 | 德热 3 号 | 174.34                    | 0      |
|      | CK     | 178.19                    | 51.88  |
| 2008 | 德热 3 号 | 164.07                    | 0      |
|      | CK     | 162.16                    | 65.63  |

注：单产为 30 株平均干豆产量折合为 kg/667m<sup>2</sup>。

#### 3.2 区域性试验结果

以卡蒂姆 7963 为对照品种，2009~2015 年在云南省瑞丽、保山、普洱和版纳进行了区域性试验，2011~2013 年 3 年 4 点(瑞丽、保山、普洱和版纳)的区域性试验结果表明：德热 3 号投产第一年(三龄树)平均干豆产量 89.95 kg/667m<sup>2</sup>，比对照卡蒂姆 7963 的干豆产量 88.31 kg/667m<sup>2</sup>高 1.86%；投产第二年(四龄树)平均干豆产量 194.24kg/667m<sup>2</sup>，比对照品种的干豆产量 195.78 kg/667m<sup>2</sup>低 0.79%；丰产期(五龄树)的平均干豆产量 164.86kg/667m<sup>2</sup>，比对照品种的干豆产量 145.75 kg/667m<sup>2</sup>高 13.11%(表 2)。

表 2 德热 3 号品种区域性试验结果

| 年份   | 地点 | 品种     | 单产(kg/667m <sup>2</sup> ) | 锈病病情指数 |
|------|----|--------|---------------------------|--------|
| 2011 | 德宏 | 德热 3 号 | 92.59                     | 0      |
|      |    | CK     | 88.68                     | 28.13  |
|      | 保山 | 德热 3 号 | 88.28                     | 0      |
|      |    | CK     | 87.69                     | 11.88  |
|      | 普洱 | 德热 3 号 | 84.64                     | 0      |
|      |    | CK     | 84.67                     | 34.38  |
| 2012 | 版纳 | 德热 3 号 | 94.29                     | 0      |
|      |    | CK     | 92.21                     | 31.25  |
|      | 德宏 | 德热 3 号 | 191.29                    | 0      |
|      |    | CK     | 188.88                    | 48.13  |
|      | 保山 | 德热 3 号 | 207.91                    | 0      |
|      |    | CK     | 213.09                    | 32.5   |
| 2013 | 普洱 | 德热 3 号 | 186.7                     | 0      |
|      |    | CK     | 187.85                    | 47.5   |
|      | 版纳 | 德热 3 号 | 191.04                    | 0      |
|      |    | CK     | 193.28                    | 43.75  |
|      | 德宏 | 德热 3 号 | 169.86                    | 0      |
|      |    | CK     | 146.65                    | 51.88  |
| 2011 | 保山 | 德热 3 号 | 151.93                    | 0      |
|      |    | CK     | 142.32                    | 43.13  |
|      | 普洱 | 德热 3 号 | 168.46                    | 0      |
|      |    | CK     | 144.79                    | 51.88  |
|      | 版纳 | 德热 3 号 | 169.17                    | 0      |
|      |    | CK     | 149.23                    | 52.5   |
| 2011 |    | 德热 3 号 | 89.95                     | 0      |
|      |    | CK     | 88.31                     | 26.41  |
| 2012 |    | 德热 3 号 | 194.24                    | 0      |
|      |    | CK     | 195.78                    | 42.97  |
| 2013 |    | 德热 3 号 | 164.86                    | 0      |
|      |    | CK     | 145.75                    | 43.43  |

#### 3.3 生产性试验结果

以卡蒂姆 7963 为对照品种，2009~2015 年在云南省德宏瑞丽、保山、普洱和版纳进行了生产性试验，2011~2013 年 3 年 3 点(瑞丽、保山、普洱、版纳)的生产试验结果表明：德热 3 号投产第一年(三龄树)平均干豆产量 89.08kg/667m<sup>2</sup>，比对照卡蒂姆 7963 的干豆产量 90.74kg/667m<sup>2</sup>低 1.83%；投产第二年(四龄树)平均干豆产量 188.98kg/667m<sup>2</sup>，比对照品种的干豆产量 190.64 kg/667m<sup>2</sup>低 0.87%；丰产期(五龄树)的平均干豆产量 178.99kg/667m<sup>2</sup>，比对照品种的干豆产量 165.67 kg/667m<sup>2</sup>高 8.04%(表 3)。

表3 德热3号品种生产性试验结果

| 年份   | 地点 | 品种   | 单产(kg/667m <sup>2</sup> ) | 锈病病情指数 |
|------|----|------|---------------------------|--------|
| 2011 | 德宏 | 德热3号 | 89.91                     | 0      |
|      |    | CK   | 96.57                     | 35.42  |
|      | 保山 | 德热3号 | 86.58                     | 0      |
|      |    | CK   | 86.58                     | 42.38  |
|      | 普洱 | 德热3号 | 89.91                     | 0      |
|      |    | CK   | 86.58                     | 50.47  |
| 2012 | 版纳 | 德热3号 | 89.91                     | 0      |
|      |    | CK   | 93.24                     | 46.71  |
|      | 德宏 | 德热3号 | 189.81                    | 0      |
|      |    | CK   | 189.81                    | 41.25  |
|      | 保山 | 德热3号 | 189.81                    | 0      |
|      |    | CK   | 193.14                    | 30     |
| 2013 | 普洱 | 德热3号 | 186.48                    | 0      |
|      |    | CK   | 189.81                    | 41.88  |
|      | 版纳 | 德热3号 | 189.81                    | 0      |
|      |    | CK   | 189.81                    | 43.75  |
|      | 德宏 | 德热3号 | 186.48                    | 0      |
|      |    | CK   | 176.49                    | 54.38  |
| 2011 | 保山 | 德热3号 | 173.16                    | 0      |
|      |    | CK   | 166.50                    | 41.25  |
|      | 普洱 | 德热3号 | 169.83                    | 0      |
|      |    | CK   | 153.18                    | 47.5   |
|      | 版纳 | 德热3号 | 186.48                    | 0      |
|      |    | CK   | 166.50                    | 55.63  |
| 2011 |    | 德热3号 | 89.08                     | 0      |
| 2012 |    | CK   | 90.74                     | 43.75  |
|      |    | 德热3号 | 188.98                    | 0      |
| 2013 |    | CK   | 190.64                    | 39.22  |
|      |    | 德热3号 | 178.99                    | 0      |
|      |    | CK   | 165.67                    | 49.69  |

## 4 适宜种植区域及栽培技术要点

### 4.1 适宜种植区域

德热3号 适宜在年平均气温 19~21°C, ≥10°C的积温大于 6 800°C, 绝对最低温度在 1°C以上, 最冷月均温度≥ 11.5°C; 海拔高度 1 500 m 以下, 年降雨量≥1 100 mm, 或年降雨量≥700 mm 并有灌溉条件的地区种植。土壤以肥沃、疏松的壤土为好, 适宜在排水良好、pH 6~6.5、坡度小于 25°的缓坡地或台地种植。目前在云南省的德宏、保山、临沧、普洱、文山、红河以及四川省攀枝花等部分咖啡宜植区已推广种植 2 000hm<sup>2</sup> 左右。

### 4.2 栽培技术要点

#### 4.2.1 育苗

采用种子催芽, 营养袋育苗。种子先用清洁水浸种 24 h, 用 1%硫酸铜溶液浸泡 5 min, 然后将种子均匀播于沙床, 再覆盖细沙, 厚度 0.5~0.8 cm, 最后盖塑料薄膜或厚约 3 cm 的稻草。当幼苗子叶开始伸展至子叶平展时即可移苗。移苗时将幼苗主根切去 1/5, 栽于营养袋中央, 深 5~6 cm, 然后将土轻轻回填压实, 并淋足定根水。成活后每 3~4 d 水 1 次, 幼苗长出 2~3 对真叶时开始浇施水肥, 以后每 1~2 个月追肥 1 次。幼苗初期荫棚荫蔽度为 80%, 3 对真叶期荫蔽度 60%, 5~6 对真叶期荫蔽度 40%。幼苗生长到 6~8 对真叶时, 在阴天或雨天全部揭开荫棚, 以增强幼苗的适应能力。

#### 4.2.2 整地

定植前应提前 2~3 个月全垦深耕 1 次, 然后开宽 70 cm、深 60 cm、底宽 50 cm 的槽沟, 让土壤风化 2~3 个月, 晒土晒坑。然后先回填 20~25 cm 的表土, 再施底肥, 每株施粪肥 15~20 kg, 磷肥 0.25 kg。

#### 4.2.3 定植

选择长势健壮、5 个月苗龄以上、无病虫、无弯根的壮苗, 在雨季来临后、立秋前定植。株距 0.8~1.0 m, 行距 2 m, 定植密度为 330~420 株/667m<sup>2</sup>。

#### 4.2.4 种植荫庇树

定植前 2~3 个月在咖啡行间种植荫庇树, 如木豆、三尖叶猪屎豆等。也可以采取套种栽培模式, 主要栽培模式有: 咖啡—橡胶、咖啡—澳洲坚果、咖啡—龙眼、咖啡—铁刀木等。

#### 4.2.5 水肥管理

幼龄期每株每年施有机肥 3~5 kg, 钙镁磷肥 50 g, 尿素 100 g, 复合肥 50 g。成龄树每株每年施有机肥 7~10 kg, 尿素 100 g, 复合肥 150 g, 钙镁磷肥 50 g, 硫酸钾 150 g。分别于生长期、花期、壮果期、越冬期等时期分 3~5 次施入。

#### 4.2.6 整形修剪

采用单干或双干整形, 剪除多余直生枝, 保留健壮的一次分枝和适量的二、三次分枝, 剪除病虫枝和次生枝。

#### 4.2.7 病虫害防治

苗期注意防治立枯病、褐斑病、炭疽病等病害，可采用苯醚甲环唑、戊唑醇等药剂喷施。定植后前3年主要防治咖啡旋皮天牛，可于5~7月份采用药剂涂干、淋干防治。成龄咖啡园主要防治咖啡灭字脊虎天牛，于4~9月份采用药剂喷干防治。收果后剪除病虫害枝干集中销毁。全年监测防治咖啡粉蚧和绿蚧。

#### 4.2.8 除草松土

保持咖啡带营养面清洁，做到有草必除。雨季结束时进行全园浅松土。

#### 4.2.9 及时采收

到红熟果时及时采收。

#### 参考文献

- [1] 殷雷.魅力云品以新姿态吸引全球目光[N].昆明日报,<http://yn.yunnan.cn/system/2019/04/09/030247990.shtml>.2019-4-9.
- [2] 张洪波,李维锐,白学慧,等.云南咖啡产业科技创新成果及推广应用情况[J].中国热带农业,2013,(3):27-31.
- [3] 张洪波,白学慧,李锦红,等.云南咖啡抗锈品种抗锈性丧失原因及防治对策[J].热带农业工程,2011,35(4):4-6.
- [4] 杨光圣,员海燕.作物育种原理[M].北京:科学出版社,2009:253-254.

# 93 份云瑞甘蔗创新亲本及其组合经济育种值评价

桃联安, 董立华, 经艳芬, 安汝东, 杨李和, 田春艳, 俞华先, 周清明, 孙有芳, 边 蕊, 郎荣斌, 张 钰

云南省农业科学院甘蔗研究所瑞丽育种站, 云南瑞丽, 678600

**摘要** 本研究针对 2017 年度完成的核心试验, 通过对 93 份云瑞创新亲本选配的 117 个组合后代的株高、茎径、丛有效茎数(丛茎数)、蔗糖分、丛重、丛含糖量等 6 个主要性状的测定, 分析亲本及组合的一般遗传力(*GCA*)、特殊配合力(*SCA*)及其经济育种值(*EBV*)、经济遗传值(*EGV*), 结果表明: ①.云瑞亲本作母本对  $F_1$  群体的经济育种值为正效应的有 26 份, 其中  $EBV > 300$  元的有 6 份母本--云瑞 11-256、云瑞 10-776、云瑞 15-36、云瑞 10-1055、云瑞 2015310、云瑞 14-242, 其经济育种值分别为 473.65 元、424.09 元、378.86 元、331.85 元、311.92 元、306.12 元; ②.云瑞亲本作父本对  $F_1$  群体的经济育种值为正效应的有 21 份, 其中  $EBV > 300$  元的有 5 份父本--云瑞 10-736、云瑞 10-248、云瑞 11-95、云瑞 14-118、云瑞 11-225, 其经济育种值分别为 518.31 元、439.24 元、357.33 元、338.33 元、321.63 元、313.44 元; ③.组合对  $F_1$  群体经济遗传值为正效应的有 63 个, 其中  $EGV > 300$  元的有 19 个组合。这些云瑞创新亲本和组合应重点利用。

**关键词** 甘蔗; 亲本; 组合; 遗传潜力; 经济育种值

## Estimate of Economic Breeding Values of 93 Yunrui Sugarcane innovated parents and their crosses

TAO Lianan, DONG Lihua, JIN Yanfen, AN Rudong, YANG Lihe, TIAN Chunyan, YU Huaxian, ZHOU Qingming, SUN Youfang<sup>2</sup>, BIAN Xin, LANG Rongbin, ZHANG Yu  
Ruili Breeding Station of Sugarcane Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Science, Ruili 678600, Yunnan of China

**Abstract:** The main characters, such as plant height, stalk diameter, valid stalks of clump, content of sugar and sugar yield of clump whose 117  $F_1$  families were crossed by 96 YunRui innovated parents were tested. The general combining ability (*GCA*) and its economic breeding value (*EBV*) of parents, the special combining ability (*SCA*) and economic genetic value (*EGV*) of crosses all were analyses. The results showed that: The first, there are 26 parents that *EBV* of female is positive value. And  $EBV > 300$  Yuan is YR11-256, YR10-776, YR15-36, YR10-1055, YR2015310 and YR14-242. *EBV* each is 473.65 Yuan, 424.09 Yuan, 378.86 Yuan, 331.85 Yuan, 311.92 Yuan, 306.12 Yuan. The second, there are 21 parents that *EBV* of male is positive value. And  $EBV > 300$  Yuan is YR10-736, YR10-248, YR11-95, YR14-118 and YR11-225. *EBV* each is 518.31 Yuan, 439.24 Yuan, 357.33 Yuan, 338.33 Yuan, 321.63 Yuan, 313.44 Yuan. The third, there are 63 families that *EGV* of cross is positive value. And  $EGV > 300$  Yuan have 19 crosses. Those key parents and crosses was be used by emphases.

### 前言

新血缘亲本的利用对增加亲本异质性、拓宽我国甘蔗育种血缘基础具有重要的育种价值。云瑞甘蔗亲本主要是利用云南甘蔗野生资源与甘蔗栽培原种及生产性栽培品种进行几次杂交, 经过多年选育而来, 对云瑞亲本及其组合的评价是提高育种成效的关键。近年来, 采用最佳线性无偏预测(BLUP)法在甘蔗育种中广泛使用, 由于其能对不平衡数据进行分析, 方便了对甘蔗亲本的遗传特点及其组合的组配效果的研究<sup>[1-10]</sup>。其中, 在云南甘蔗野生种利用中不仅对含云南野生血缘的  $F_1$  代进行了评价<sup>[11]</sup>, 还对生产性云瑞创新亲本进行了评价<sup>[12-14]</sup>。

经济育种值是把群体性状的遗传效应与经济效益联系起来, 由群体性状遗传效应的单位增减估算一定时期、一定生产条件下经济效益的单位增减, 然后给相关的群体性状赋予经济权重累加, 获得综合的经济育种值, 以此判断和评价亲本及组合的育种价值。澳大利亚的甘蔗最主要的育种机构 BSES (甘蔗试验管理局) 以经济育种值为依据, 仅几年就选育和推广应用了工农皆欢迎的 Q220、Q226、Q228、Q238 和 Q240 等一系列品质、产量和抗性协调的新品种<sup>[17]</sup>。结合经济育种值分析对云瑞生产型亲本的评价少有报道<sup>[15-20]</sup>, 本研究就是结合经济育种值分析, 对 2017 年进行的云瑞生产性组合及其亲本进行分析, 筛选出优良亲本及组合, 为云瑞生产性亲本的利用提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

参与测试的云瑞创新亲本共有 93 份, 与国内、国外亲本组配了 117 个组合(见表 1)。其中, 用作母本 48 份, 用作父本 49 份(注: 桂糖 08-1365 是广西甘蔗研究所利用云瑞杂交花穗选育出的、含云南野生血缘  $F_4$  代, 在此作为云瑞亲本一并分析)。

表 1 2017 年核心试验中的生产性组合

**基金项目** 国家甘蔗产业技术体系项目(CARS-20-1-1)、云南省创新团队(2014HC015)、云南省科技惠民专项(2014RA059)、云南省重点基金(2015FA034)资助。

**作者简介** 桃联安(1969-), 男, 云南普洱人, 研究员, 研究方向: 甘蔗遗传育种。E-mail: taolianan@163.com。



Table 1. The productivity crosses of core trial in 2017.

| 序号 | 组合号)    | 母本         | 父本            | 类型     | 序号  | 组合号     | 母本         | 父本            | 类型     |
|----|---------|------------|---------------|--------|-----|---------|------------|---------------|--------|
| 1  | 2017066 | 云瑞 11-96   | 云瑞 14-186     | 创新 BC2 | 61  | 2017222 | 云瑞 10-1055 | 云蔗 00-45      | 创新 BC3 |
| 2  | 2017067 | 云瑞 11-256  | 云瑞 14-186     | 创新 BC2 | 62  | 2017226 | 柳城 03-182  | 云瑞 11-89      | 创新 BC3 |
| 3  | 2017068 | 云瑞 06-1598 | 云瑞 06-3504    | 创新 BC2 | 63  | 2017229 | 柳城 03-182  | 云瑞 04-1051    | 创新 BC3 |
| 4  | 2017069 | 云瑞 07-3801 | 云瑞 06-3504    | 创新 BC2 | 64  | 2017246 | SP84-1413  | 云瑞 10-463     | 创新 BC3 |
| 5  | 2017070 | 云瑞 07-3802 | 云瑞 06-3504    | 创新 BC2 | 65  | 2017256 | ROC24      | 云瑞 12-204     | 创新 BC3 |
| 6  | 2017071 | CP82-1592  | 云瑞 11-95      | 创新 BC2 | 66  | 2017267 | FR93-1045  | 云瑞 12-204     | 创新 BC3 |
| 7  | 2017072 | 美引-8       | 云瑞 11-95      | 创新 BC2 | 67  | 2017268 | 德蔗 07-36   | 云瑞 10-291     | 创新 BC3 |
| 8  | 2017073 | 云野 07-45   | 云瑞 11-225     | 创新 BC2 | 68  | 2017270 | 云瑞 10-330  | 云瑞 15-148/149 | 创新 BC3 |
| 9  | 2017075 | 柳城 03-182  | 云瑞 11-225     | 创新 BC2 | 69  | 2017271 | 崖城 93-25   | 云瑞 15-154     | 创新 BC3 |
| 10 | 2017079 | 云瑞 12-193  | 云瑞 05-189     | 创新 BC2 | 70  | 2017272 | 崖城 93-25   | 云瑞 15-148/149 | 创新 BC3 |
| 11 | 2017082 | 云瑞 15-124  | Q151          | 创新 BC2 | 71  | 2017273 | 云瑞 14-203  | 云瑞 06-4679    | 创新 BC3 |
| 12 | 2017083 | 云瑞 15-58   | 云瑞 14-221     | 创新 BC2 | 72  | 2017274 | 云瑞 15-125  | 粤糖 91-976     | 创新 BC3 |
| 13 | 2017086 | 云瑞 15-45   | 云瑞 14-246     | 创新 BC2 | 73  | 2017278 | L75-48     | 云瑞 11-195     | 创新 BC3 |
| 14 | 2017089 | 云瑞 10-776  | 黔蔗 06-156     | 创新 BC2 | 74  | 2017280 | 云瑞 15-36   | 云瑞 04-1051    | 创新 BC3 |
| 15 | 2017090 | 云瑞 11-159  | ROC10         | 创新 BC2 | 75  | 2017281 | FR93-1045  | 云瑞 11-89      | 创新 BC3 |
| 16 | 2017092 | 云瑞 11-97   | CP72-2086     | 创新 BC2 | 76  | 2017282 | 德蔗 99-36   | 云瑞 10-291     | 创新 BC3 |
| 17 | 2017093 | CP65-357   | 云瑞 11-89      | 创新 BC2 | 77  | 2017285 | 黔糖-4       | 云瑞 04-48      | 创新 BC4 |
| 18 | 2017094 | ROC7       | 云瑞 11-89      | 创新 BC2 | 78  | 2017288 | ROC6       | 云瑞 99-248     | 创新 BC4 |
| 19 | 2017097 | VMC76-16   | 云瑞 11-129     | 创新 BC2 | 79  | 2017291 | 云瑞 15-60   | 云瑞 06-4806    | 创新 BC4 |
| 20 | 2017098 | 云瑞 15-94   | PS45          | 创新 BC2 | 80  | 2017292 | 粤糖 91-976  | 云瑞 10-979     | 创新 BC4 |
| 21 | 2017100 | 云瑞 15-46   | 云瑞 09-928     | 创新 BC2 | 81  | 2017294 | 云蔗 89-7    | 云瑞 06-4806    | 创新 BC4 |
| 22 | 2017101 | 云瑞 15-140  | 黔蔗 06-212     | 创新 BC2 | 82  | 2017296 | 园林 17      | 云瑞 10-979     | 创新 BC4 |
| 23 | 2017105 | 云瑞 15-126  | 德蔗 09-78      | 创新 BC2 | 83  | 2017304 | 福农 0335    | 云瑞 10-979     | 创新 BC4 |
| 24 | 2017106 | 柳城 03-1137 | 云瑞 11-129     | 创新 BC2 | 84  | 2017305 | 桂糖 97-40   | 云瑞 99-601     | 创新 BC4 |
| 25 | 2017107 | 云瑞 15-143  | 云瑞 2015281-2  | 创新 BC2 | 85  | 2017308 | ROC6       | 云瑞 99-601     | 创新 BC4 |
| 26 | 2017110 | 柳城 05-136  | 云瑞 03-393     | 创新 BC2 | 86  | 2017310 | SP84-1431  | 云瑞 99-601     | 创新 BC4 |
| 27 | 2017112 | 云瑞 14-188  | 云瑞 10-979     | 创新 BC2 | 87  | 2017312 | 福农 0335    | 云瑞 99-601     | 创新 BC4 |
| 28 | 2017114 | 云蔗 05-51   | 云瑞 14-235     | 创新 BC2 | 88  | 2017313 | 云瑞 08-1276 | 德蔗 09-78      | 创新 BC4 |
| 29 | 2017115 | 云蔗 05-51   | 云瑞 15-96      | 创新 BC2 | 89  | 2017314 | 云蔗 05-51   | 云瑞 14-250     | 创新 BC4 |
| 30 | 2017116 | 云瑞 15-90   | 德蔗 09-78      | 创新 BC2 | 90  | 2017316 | 黔糖 06-156  | 云瑞 14-250     | 创新 BC4 |
| 31 | 2017118 | 云瑞 14-221  | 云瑞 15-60      | 创新 BC2 | 91  | 2017319 | 云蔗 05-51   | 云瑞 14-250     | 创新 BC4 |
| 32 | 2017119 | 云蔗 08-1406 | 云瑞 15-93      | 创新 BC2 | 92  | 2017321 | 云瑞 06-1717 | PS45          | 创新 BC4 |
| 33 | 2017124 | 粤糖 96-86   | 云瑞 03-393     | 创新 BC2 | 93  | 2017323 | Q151       | 云瑞 10-248     | 创新 BC4 |
| 34 | 2017125 | 柳城 03-182  | 云瑞 03-393     | 创新 BC2 | 94  | 2017324 | 云瑞 06-1717 | 云瑞 10-463     | 创新 BC4 |
| 35 | 2017127 | 云野 07-44   | 云瑞 14-235     | 创新 BC2 | 95  | 2017326 | 云瑞 14-98   | 柳城 03-182     | 创新 BC4 |
| 36 | 2017128 | 云瑞 10-1256 | 盈育 91-58      | 创新 BC2 | 96  | 2017327 | 云瑞 14-232  | 云瑞 06-6003    | 创新 BC4 |
| 37 | 2017129 | 云瑞 15-152  | 柳城 07-39      | 创新 BC2 | 97  | 2017330 | 云瑞 14-232  | 云瑞 10-299     | 创新 BC4 |
| 38 | 2017130 | 云瑞 15-145  | ROC11         | 创新 BC2 | 98  | 2017331 | 柳城 03-182  | 云瑞 10-736     | 创新 BC5 |
| 39 | 2017131 | Q152       | 云瑞 11-218     | 创新 BC2 | 99  | 2017334 | Q151       | 云瑞 14-118     | 创新 BC5 |
| 40 | 2017132 | 云蔗 05-51   | 云瑞 11-218     | 创新 BC2 | 100 | 2017336 | 云瑞 14-242  | 云瑞 14-152     | 创新 BC5 |
| 41 | 2017133 | 滇蔗 01-58   | 云瑞 14-235     | 创新 BC2 | 101 | 2017338 | 崖城 85-50   | 桂糖 08-1365    | 创新 BC5 |
| 42 | 2017134 | 云瑞 10-1256 | 柳城 05-129     | 创新 BC2 | 102 | 2017345 | 云蔗 07-2679 | 云瑞 14-263     | 创新 BC5 |
| 43 | 2017135 | CP72-1210  | 云瑞 11-218     | 创新 BC2 | 103 | 2017350 | 云瑞 15-128  | 德蔗 09-78      | 创新 BC5 |
| 44 | 2017137 | 黔蔗 06-212  | 云瑞 15-79      | 创新 BC2 | 104 | 2017353 | 云蔗 08-2138 | 云瑞 14-263     | 创新 BC5 |
| 45 | 2017138 | 云瑞 14-234  | 桂糖 94-119     | 创新 BC2 | 105 | 2017354 | 云瑞 15-132  | 云瑞 14-263     | 创新 BC5 |
| 46 | 2017143 | 黔糖-4       | 云瑞 11-178     | 创新 BC2 | 106 | 2017356 | 云瑞 07-1433 | ROC22         | 创新 BC5 |
| 47 | 2017153 | 云瑞 11-255  | 柳城 03-182     | 创新 BC2 | 107 | 2017358 | 云瑞 05-313  | ROC22         | 创新 BC5 |
| 48 | 2017159 | 云瑞 14-179  | 柳城 03-182     | 创新 BC2 | 108 | 2017359 | 云瑞 09-751  | 柳城 07-111     | 创新 BC5 |
| 49 | 2017162 | FR96-29    | 云瑞 05-2       | 创新 BC2 | 109 | 2017360 | 云瑞 11-306  | 云蔗 01-1073    | 创新 BC5 |
| 50 | 2017163 | 云蔗 04-241  | 云瑞 11-129     | 创新 BC2 | 110 | 2017361 | 云瑞 15-90   | 桂糖 94-119     | 创新 BC5 |
| 51 | 2017168 | 粤糖 00-236  | 云瑞 14-206     | 创新 BC2 | 111 | 2017362 | 云瑞 11-306  | ROC22         | 创新 BC5 |
| 52 | 2017170 | 云瑞 15-125  | 云瑞 11-230     | 创新 BC2 | 112 | 2017363 | 云瑞 11-306  | 德蔗 07-98      | 创新 BC5 |
| 53 | 2017171 | 云瑞 11-95   | 云瑞 06-6003    | 创新 BC2 | 113 | 2017365 | 云瑞 10-330  | 柳城 03-182     | 创新 BC5 |
| 54 | 2017179 | 云瑞 14-232  | 云瑞 05-2       | 创新 BC2 | 114 | 2017369 | Me×105     | 桂糖 08-1365    | 创新 BC5 |
| 55 | 2017181 | 云瑞 07-3802 | 云瑞 12-60 (组)  | 对等 F2  | 115 | 2017370 | 德蔗 09-78   | 云瑞 05-189     | 创新 BC5 |
| 56 | 2017189 | 云瑞 15-58   | 云瑞 15-36      | 对等 F3  | 116 | 2017378 | 云瑞 2015310 | 云蔗 05-51      | 创新 BC6 |
| 57 | 2017194 | 云瑞 15-60   | 云瑞 15-81      | 对等 F3  | 117 | 2017383 | 云瑞 05-292  | ROC20         | 创新 BC6 |
| 58 | 2017199 | 云瑞 13-49   | 云瑞 14-208     | 对等 F3  |     |         |            |               |        |
| 59 | 2017202 | 云瑞 15-55   | 云瑞 14-161     | 对等 F3  |     |         |            |               |        |
| 60 | 2017216 | 黔糖-4       | 云瑞 15-105/106 | 创新 BC3 |     |         |            |               |        |

## 1.2 方法

### 1.2.1 核心试验的布置

于2017年3月17日进行杂交花穗种子播种，6月5日定植大田。核心试验为随机区组排列，设3次重复，每个小区为1行区：1.1m×6m。每个小区定植同一组合，每小区定植20苗，株距0.3m，每个组合共定植60苗。大田管理和一般实生苗管理相同。

### 1.2.2 项目调查测定

2017年12月12~20日甘蔗成熟期，按小区进行调查，在每小区中连续调查5丛蔗株，调查每丛的有效茎数，取平均值，并测定3株/丛的株高、茎径和中部锤度，计算3株的平均值，并按公式计算：

$$\text{丛重 (kg)} = 0.7854 \times (\text{株高} - 30\text{cm}) \times \text{茎径}^2;$$

$$\text{糖分\%} = \text{锤度\%} \times 1.0825 - 7.703;$$

$$\text{丛含糖量 (kg)} = \text{丛重} \times \text{糖分\%}.$$

### 1.2.3 主要性状配合力、遗传力分析

采用R软件(R×64-3.2.5)对甘蔗重要性状的配合力及遗传力进行分析。分析模型为  $\bar{\chi}_i = \text{block} + (1|\text{female}) + r$ 、 $\bar{\chi}_i = \text{block} + (1|\text{male}) + r$  和  $\bar{\chi}_i = \text{block} + (1|\text{cross}) + r$ ，其中 block 为固定模型，(1|female)、(1|male)和(1|cross)分别为母本、父本和组合的随机模型，r 为误差项，分别计算杂交组合及亲本对应的一般配合力、特殊配合力和遗传力。广义遗传力 ( $h^2$ ) 的计算参照 Aitken 等 (2006) 的方法，即：

$$h^2 (\%) = \sigma_g^2 / \sigma_p^2 \times 100, \sigma_g^2 \text{ 为遗传随机方差, } \sigma_p^2 \text{ 为表型随机方差; } \sigma_p^2 = \sigma_g^2 + \sigma_e^2 / r, \sigma_e^2 \text{ 为误差方差, } r \text{ 为重复次数.}$$

### 1.2.4 亲本的经济育种值(EBV)及家系的经济遗传值(EGV)的计算

针对亲本的经济育种值(EBV)和针对家系(组合)的经济遗传值(EGV)是一种货币形式的选择指数，由某一性状的遗传效应与该性状的加权系数决定。 $EBV = \sum B_i W_i$ ，其中  $B_i$  为性状 i 的育种值， $W_i$  为性状 i 的经济权重。本试验的性状经济权重采用邓祖湖等<sup>[15]</sup>的计算结果，即在实生苗试验阶段，当蔗茎产量性状不进入估算经济权重的情况下，株高、茎径、丛有效茎数、蔗糖分的经济权重分别为 7.2、159.8、373.3、278.4 元。

## 2. 结果

### 2.1 云瑞创新亲本 F<sub>1</sub> 代群体主要性状的遗传变异分析

通过对株高、茎径、丛有效茎数、糖分、丛重、丛含糖量等六个性状的遗传变异系数计算(见表2)，可看出变异系数最大的是丛重和丛含糖量，分别为41.25%、40.09%，其次是从有效茎数、糖分、株高、茎径，茎径的变异系数最小。

通过对株高、茎径、丛有效茎数、糖分、丛重、丛含糖量等六个性状按母本、父本和组合分类进行方差分析(见表2)，可看出株高、茎径、丛有效茎数、糖分、丛重在母本、父本和组合均表现出极显著的差异，丛含糖量在母本、父本表现极显著差异，说明株高、茎径、丛有效茎数、糖分、丛重皆显著地受母本、父本和组合的影响，丛含糖量显著地受母本、父本的影响，说明母本、父本和杂交组合对后代的影响非常明显，这些差异的显著性为遗传分析提供了可靠的依据。

表2 六个主要性状遗传变异及其方差分析

Table 2. Genetic variation coefficient and variance analysis of 6 characters

| 变异来源  | 自由度 | 株高/cm     | 茎径/cm     | 丛茎数/条     | 糖分/%      | 丛重/kg     | 丛含糖量/kg   |
|-------|-----|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 平均值   | 350 | 192.15    | 2.00      | 3.31      | 12.20     | 1.68      | 0.20      |
| 标准差   |     | 26.88     | 0.26      | 1.07      | 1.98      | 0.69      | 0.08      |
| 变异系数% |     | 13.99     | 13.01     | 32.39     | 16.25     | 41.25     | 40.09     |
| 区组    | 2   | 1330.42   | 0.0137    | 7.7949    | 89.296    | 4.6443    | 0.0106    |
| 母本    | 90  | 1462.1    | 0.1494    | 2.0406    | 7.748     | 0.7613    | 0.0096    |
| 误差    | 258 | 462.32    | 0.0398    | 0.7888    | 1.953     | 0.3512    | 0.0054    |
| F 值   |     | 3.1625*** | 3.7569*** | 2.5869*** | 3.9674*** | 2.1677*** | 1.7783*** |
| 父本    | 70  | 1644.2    | 0.179365  | 2.1082    | 9.376     | 0.8044    | 0.0097801 |
| 误差    | 278 | 488.39    | 0.040094  | 0.8619    | 1.96      | 0.3698    | 0.0056165 |
| F 值   |     | 3.3666*** | 4.4736*** | 2.446***  | 4.7845*** | 2.1751*** | 1.7413*** |
| 组合    | 115 | 1356.56   | 0.1291    | 1.7849    | 7.387     | 0.6591    | 0.0081    |
| 误差    | 233 | 407.14    | 0.0380    | 0.7807    | 1.509     | 0.3576    | 0.0057    |
| F 值   |     | 3.3320*** | 3.3966*** | 2.2863*** | 4.8938*** | 1.843***  | 1.4254*   |

说明：\*\*\*表示差异极显著 (p<0.001)。

Note: \*\*\* Indicated extremely dignificant difference (p<0.01).

### 2.2 云瑞创新亲本 F<sub>1</sub> 代群体遗传力分析

从表3中可看出，云瑞亲本杂交 F<sub>1</sub> 群体的株高、茎径、丛有效茎数、糖分、丛重、丛含糖量六个主要性状的平均遗传力分别为：65.11%、70.05%、53.29%、73.49%、44.99%、31.05%，从大到小的顺序为：糖分>茎径>株高>丛有效茎数>丛重>丛含糖量。其中，组合对株高、茎径、糖分的遗传贡献最大，母本对丛有效茎数、丛重、丛含糖量的贡献最大，父本对六个性状的贡献最小，母本、父本、组合对 F<sub>1</sub> 群体 6 个主要性

状的遗传贡献顺序表现为：组合（58.51%）>母本（57.59%）>父本（52.90%）。

表3 母本、父本及组合主要性状的遗传力（%）

Table 3 Heritability of female, male and crosses to main characters (%)

| 变异来源 | 株高/cm | 茎径/cm | 从茎数/条 | 糖分/%  | 从重/kg | 从含糖量/kg | 平均    |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|---------|-------|
| 母本   | 64.61 | 70.09 | 56.97 | 68.09 | 48.37 | 37.41   | 57.59 |
| 父本   | 60.95 | 69.59 | 46.84 | 72.85 | 41.06 | 26.08   | 52.90 |
| 组合   | 69.77 | 70.48 | 56.07 | 79.53 | 45.52 | 29.65   | 58.51 |
| 平均   | 65.11 | 70.05 | 53.29 | 73.49 | 44.99 | 31.05   | 56.33 |

### 2.3 云瑞创新亲本 F<sub>1</sub> 代群体主要性状的经济育种值(EBV)分析

在参试的 117 个家系（组合）中，共有母本 91 份，其中云瑞创新亲本作母本有 48 份。表 4 中排列出了经济育种值为正值的母本，共 47 份，其余的 44 份为负值。在表 4 中可看出，有 26 份云瑞亲本的育种值为正值，其中 EBV>300 元的云瑞亲本有 6 份，依次为：云瑞 11-256、云瑞 10-776、云瑞 15-36、云瑞 10-1055、云瑞 2015310、云瑞 14-242，其育种值分别为 473.65 元、424.09 元、378.86 元、331.85 元、311.92 元、306.12 元，这些云瑞创新亲本应作为母本重点利用。

表4 云瑞亲本作母本 F<sub>1</sub> 代群体一般配合力及经济育种值

Table 4. GCA and EBV of YR parents as female in F<sub>1</sub> population

| 序号 | 母本         | 株高/cm    | 茎径/cm   | 从茎数/条   | 糖分/%    | 从重/kg   | 从含糖量/kg | 育种值/元  | 排序 |
|----|------------|----------|---------|---------|---------|---------|---------|--------|----|
| 52 | 云瑞 11-256  | -11.0014 | 0.0017  | -0.2544 | 2.3261  | -0.1802 | 0.0107  | 473.65 | 1  |
| 49 | 云瑞 10-776  | 14.6387  | -0.1061 | 0.3883  | 0.6850  | 0.2037  | 0.0291  | 424.09 | 2  |
| 23 | 柳城 03-182  | 2.7549   | -0.1223 | -0.0450 | 1.5812  | -0.2556 | -0.0087 | 423.69 | 3  |
| 8  | Q151       | -22.9042 | -0.1825 | 0.3737  | 1.5834  | -0.2557 | -0.0103 | 386.25 | 4  |
| 76 | 云瑞 15-36   | 28.2071  | -0.1108 | 1.3378  | -1.0989 | 0.5794  | 0.0353  | 378.86 | 5  |
| 7  | Me×105     | -8.4059  | -0.1061 | -0.3714 | 2.0060  | -0.3428 | -0.0195 | 342.35 | 6  |
| 46 | 云瑞 10-1055 | 10.5899  | 0.0881  | 0.1318  | 0.6909  | 0.3463  | 0.0460  | 331.85 | 7  |
| 22 | 柳城 03-1137 | 9.9006   | 0.0457  | 0.5782  | 0.0927  | 0.4568  | 0.0453  | 320.22 | 8  |
| 83 | 云瑞 2015310 | -4.0985  | 0.3121  | -0.3714 | 1.5452  | 0.0393  | 0.0191  | 311.92 | 9  |
| 65 | 云瑞 14-242  | -11.6365 | -0.0921 | -0.3714 | 1.9515  | -0.3686 | -0.0233 | 306.16 | 10 |
| 3  | CP82-1592  | 23.8997  | -0.2089 | 0.3883  | 0.0791  | 0.0957  | 0.0116  | 305.64 | 11 |
| 1  | CP65-357   | 7.3161   | -0.0267 | 0.5782  | 0.1018  | 0.1134  | 0.0116  | 292.57 | 12 |
| 45 | 云瑞 09-751  | 9.2545   | 0.1742  | -0.3714 | 1.2093  | 0.0393  | 0.0166  | 292.52 | 13 |
| 25 | 美引-8       | 18.3000  | -0.0921 | 0.5782  | -0.1933 | 0.3037  | 0.0254  | 279.06 | 14 |
| 39 | 云瑞 06-1598 | -14.5307 | 0.1032  | 0.0108  | 1.2296  | -0.0785 | 0.0070  | 258.22 | 15 |
| 24 | 柳城 05-136  | -7.5444  | 0.0013  | 0.1984  | 0.8553  | 0.1167  | 0.0204  | 258.05 | 16 |
| 68 | 云瑞 15-125  | 13.9926  | 0.0317  | 0.1984  | 0.2720  | 0.2424  | 0.0254  | 255.58 | 17 |
| 85 | 云野 07-45   | 7.5315   | 0.1088  | 0.5782  | -0.1910 | 0.3246  | 0.0254  | 234.26 | 18 |
| 64 | 云瑞 14-234  | -18.3130 | -0.2159 | 0.5782  | 0.5761  | -0.2203 | -0.0158 | 209.86 | 19 |
| 43 | 云瑞 07-3802 | -18.5284 | 0.0481  | 0.1984  | 0.9165  | -0.0268 | 0.0067  | 203.49 | 20 |
| 34 | 粤糖 91-976  | -4.7446  | 0.0971  | 0.1984  | 0.5126  | 0.1731  | 0.0179  | 198.10 | 21 |
| 69 | 云瑞 15-126  | -8.8367  | 0.0177  | 0.1984  | 0.6397  | 0.1263  | 0.0204  | 191.33 | 22 |
| 36 | 云瑞 15-45   | -20.8974 | -0.0010 | -0.1814 | 1.4317  | -0.2558 | -0.0133 | 180.24 | 23 |
| 81 | 云瑞 15-90   | 6.1414   | 0.1321  | -0.4731 | 1.0446  | -0.0557 | 0.0024  | 179.52 | 24 |
| 31 | 崖城 93-25   | 34.4529  | -0.0524 | -0.1814 | -0.0004 | 0.1473  | 0.0166  | 171.85 | 25 |
| 73 | 云瑞 15-143  | -3.8831  | 0.4055  | -0.1814 | 0.6623  | 0.8599  | 0.0940  | 153.50 | 26 |
| 9  | Q152       | 12.2697  | 0.0621  | -0.3714 | 0.6782  | -0.0929 | -0.0008 | 148.45 | 27 |
| 67 | 云瑞 15-124  | 6.9265   | -0.2663 | 0.8576  | -0.6594 | 0.0073  | -0.0057 | 143.91 | 28 |
| 21 | 桂糖 97-40   | 3.4395   | 0.0644  | 0.1984  | 0.1222  | 0.0328  | 0.0054  | 143.12 | 29 |
| 30 | 崖城 93-25   | -2.8063  | -0.0781 | -0.1814 | 0.7826  | -0.0913 | -0.0046 | 117.46 | 30 |
| 71 | 云瑞 15-132  | 12.9158  | 0.2139  | 0.0085  | -0.1002 | 0.3601  | 0.0316  | 102.43 | 31 |
| 66 | 云瑞 14-98   | -1.7294  | -0.0921 | 0.7681  | -0.5655 | 0.1425  | 0.0091  | 102.11 | 32 |
| 89 | 云蔗 08-1406 | 18.7308  | -0.1178 | 0.3883  | -0.5996 | 0.1634  | 0.0129  | 94.06  | 33 |
| 14 | SP84-1431  | -12.9287 | -0.1505 | 0.1984  | 0.4672  | -0.1590 | -0.0083 | 86.97  | 34 |
| 74 | 云瑞 15-145  | -8.1906  | 0.0434  | 0.0085  | 0.4513  | -0.0091 | 0.0054  | 76.75  | 35 |
| 56 | 云瑞 11-97   | 4.3009   | -0.0945 | 0.9580  | -1.0671 | 0.3585  | 0.0229  | 76.41  | 36 |
| 53 | 云瑞 11-306  | 13.9926  | -0.1295 | 0.0085  | -0.0662 | 0.0361  | 0.0054  | 64.78  | 37 |
| 77 | 云瑞 15-46   | 7.1008   | 0.0317  | -0.3714 | 0.5262  | -0.0849 | -0.0008 | 64.05  | 38 |
| 13 | SP84-1413  | -6.8983  | 0.1789  | 0.0085  | 0.2697  | 0.0909  | 0.0129  | 57.16  | 39 |
| 15 | VMC76-16   | -1.0833  | -0.1669 | 0.3883  | -0.1933 | 0.0441  | 0.0029  | 56.66  | 40 |
| 58 | 云瑞 13-49   | -2.3755  | -0.0290 | -0.7512 | 1.2865  | -0.3283 | -0.0233 | 56.00  | 41 |
| 84 | 云野 07-44   | 4.5163   | 0.0924  | -0.1814 | 0.2720  | 0.0989  | 0.0154  | 55.27  | 42 |
| 63 | 云瑞 14-232  | -3.8831  | -0.0337 | 0.3883  | -0.2478 | 0.2263  | 0.0191  | 42.62  | 43 |
| 35 | 粤糖 96-86   | -7.1137  | 0.0948  | 0.0085  | 0.2425  | 0.0748  | 0.0116  | 34.59  | 44 |

|    |           |         |         |         |        |         |         |       |    |
|----|-----------|---------|---------|---------|--------|---------|---------|-------|----|
| 55 | 云瑞 11-96  | 7.9623  | -0.2440 | -0.3714 | 0.5375 | -0.3622 | -0.0295 | 29.36 | 45 |
| 91 | 云蔗 89-7   | -3.0217 | 0.1509  | -0.3714 | 0.5670 | 0.0586  | 0.0116  | 21.58 | 46 |
| 50 | 云瑞 11-159 | 9.2545  | -0.1996 | -0.1814 | 0.1653 | -0.2300 | -0.0183 | 13.02 | 47 |

另外，在 117 个家系（组合）中，共有父本 71 份，其中云瑞创新亲本作父本有 49 份。表 4 中排列出了经济育种值为正值的父本，共 40 份，其余的 31 份为负值。在表 5 中可看出，有 21 份云瑞亲本的育种值为正值，其中  $EBV > 300$  元的云瑞亲本也有 5 份，依次为：云瑞 10-736、云瑞 10-248、云瑞 11-95、云瑞 14-118、云瑞 11-225，其育种值分别为 518.31 元、439.24 元、357.33 元、338.33 元、321.63 元、313.44 元，这些云瑞创新亲本应作为父本重点利用。

表 5 云瑞亲本作父本 F<sub>1</sub> 代群体一般配合力及经济育种值  
Table 5. GCA and EBV of YR parents as male in F<sub>1</sub> population

| 序号 | 父本            | 株高/cm    | 茎径/cm   | 从茎数/条   | 糖分/%    | 从重/kg   | 从含糖量/kg | 育种值    | 排序 |
|----|---------------|----------|---------|---------|---------|---------|---------|--------|----|
| 70 | 云蔗 01-1073    | -12.0479 | 0.0311  | -0.1571 | 2.8425  | -0.1400 | 0.0050  | 650.93 | 1  |
| 34 | 云瑞 10-736     | -9.4065  | -0.0431 | -0.0010 | 2.1311  | -0.2030 | -0.0046 | 518.31 | 2  |
| 4  | ROC10         | 13.7562  | -0.0942 | 0.3113  | 0.7593  | 0.1762  | 0.0206  | 411.58 | 3  |
| 71 | 云蔗 05-51      | -3.9206  | 0.3211  | -0.3133 | 1.6795  | 0.0365  | 0.0137  | 373.71 | 4  |
| 30 | 云瑞 10-248     | -10.4224 | -0.0106 | -0.0010 | 1.5605  | -0.0524 | 0.0059  | 357.33 | 5  |
| 69 | 云蔗 00-45      | 8.6766   | 0.1842  | -0.3133 | 1.3201  | 0.0365  | 0.0120  | 342.49 | 6  |
| 43 | 云瑞 11-95      | 24.6674  | -0.1630 | 0.5303  | -0.0402 | 0.2449  | 0.0210  | 338.33 | 7  |
| 13 | 柳城 05-129     | 10.7084  | -0.0153 | 0.1551  | 0.6840  | 0.1488  | 0.0172  | 323.00 | 8  |
| 46 | 云瑞 14-118     | -25.2547 | -0.2751 | 0.4674  | 1.3396  | -0.2632 | -0.0150 | 321.63 | 9  |
| 40 | 云瑞 11-225     | 8.0043   | 0.0599  | 0.3176  | 0.4585  | 0.1469  | 0.0134  | 313.44 | 10 |
| 54 | 云瑞 14-246     | 26.5566  | -0.0988 | 1.0920  | -1.1492 | 0.4951  | 0.0250  | 263.12 | 11 |
| 20 | 云瑞 03-393     | -9.4206  | 0.0031  | -0.0015 | 1.1554  | -0.0360 | 0.0087  | 253.76 | 12 |
| 18 | 盈育 91-58      | 5.6289   | 0.1865  | -0.0010 | 0.6111  | 0.2939  | 0.0276  | 240.11 | 13 |
| 6  | ROC20         | -19.7688 | 0.0102  | -0.1571 | 1.5581  | -0.2140 | -0.0089 | 234.41 | 14 |
| 9  | 德蔗 09-78      | 3.3627   | 0.0779  | 0.0633  | 0.6036  | 0.1397  | 0.0200  | 228.31 | 15 |
| 11 | 桂糖 94-119     | -10.2999 | 0.0668  | -0.0014 | 1.0443  | 0.0848  | 0.0148  | 226.75 | 16 |
| 47 | 云瑞 14-152     | -17.3306 | -0.2032 | 0.4674  | 0.6427  | -0.1839 | -0.0106 | 196.17 | 17 |
| 5  | ROC11         | -3.7175  | 0.4139  | -0.1571 | 0.7350  | 0.7333  | 0.0659  | 185.33 | 18 |
| 12 | 柳城 03-182     | -2.3837  | -0.0709 | -0.7157 | 1.7196  | -0.4693 | -0.0322 | 183.05 | 19 |
| 42 | 云瑞 11-89      | 9.4683   | -0.0626 | 0.0633  | 0.3131  | -0.0406 | -0.0005 | 168.96 | 20 |
| 2  | PS45          | 6.8682   | 0.0914  | 0.1050  | 0.2169  | 0.2168  | 0.0176  | 163.63 | 21 |
| 59 | 云瑞 15-154     | -2.7015  | -0.0663 | -0.1571 | 0.8637  | -0.0743 | -0.0028 | 151.74 | 22 |
| 7  | ROC22         | -11.4349 | 0.1632  | -0.4852 | 1.3738  | -0.2164 | -0.0061 | 145.08 | 23 |
| 28 | 云瑞 06-6003    | 2.7024   | -0.2191 | 0.2113  | 0.2857  | -0.1083 | -0.0052 | 142.88 | 24 |
| 41 | 云瑞 11-230     | 13.5530  | -0.2519 | 0.7797  | -0.7583 | 0.0762  | 0.0015  | 137.28 | 25 |
| 10 | 桂糖 08-1365    | -17.1166 | -0.0768 | -0.0014 | 0.9741  | -0.2092 | -0.0128 | 135.16 | 26 |
| 65 | 云瑞 15-96      | 19.4452  | -0.0501 | 0.3113  | -0.4912 | 0.2788  | 0.0180  | 111.46 | 27 |
| 29 | 云瑞 09-928     | 6.6448   | 0.0427  | -0.3133 | 0.5893  | -0.0689 | -0.0002 | 101.78 | 28 |
| 17 | 黔蔗 06-212     | 12.1307  | 0.2237  | -0.0010 | -0.0809 | 0.3089  | 0.0224  | 100.20 | 29 |
| 15 | 柳城 07-39      | -7.7811  | 0.0543  | -0.0010 | 0.5092  | -0.0045 | 0.0041  | 94.04  | 30 |
| 33 | 云瑞 10-463     | -13.7082 | 0.1160  | 0.1050  | 0.4796  | 0.0013  | 0.0059  | 92.55  | 31 |
| 36 | 云瑞 11-129     | -3.6522  | -0.0240 | 0.2403  | 0.0584  | 0.1218  | 0.0127  | 75.83  | 32 |
| 1  | CP72-2086     | 7.4575   | -0.2310 | -0.3133 | 0.6014  | -0.3043 | -0.0202 | 67.27  | 33 |
| 35 | 云瑞 10-979     | -6.4062  | 0.1282  | -0.1964 | 0.5830  | 0.0612  | 0.0107  | 63.35  | 34 |
| 8  | 德蔗 07-98      | -8.5938  | -0.0431 | -0.3133 | 0.8734  | -0.1606 | -0.0063 | 57.44  | 35 |
| 64 | 云瑞 15-93      | 17.6166  | -0.1058 | 0.3113  | -0.6150 | 0.1419  | 0.0093  | 54.92  | 36 |
| 3  | Q151          | -1.6856  | -0.0802 | 0.6236  | -0.5786 | 0.1241  | 0.0067  | 46.73  | 37 |
| 68 | 云瑞 99-601     | -17.3962 | -0.0431 | 0.0633  | 0.5357  | -0.1823 | -0.0102 | 40.63  | 38 |
| 57 | 云瑞 15-105/106 | 10.9116  | 0.0613  | -0.3133 | 0.2178  | -0.0169 | -0.0011 | 32.05  | 39 |
| 39 | 云瑞 11-218     | -1.8210  | 0.0584  | -0.2434 | 0.4399  | -0.1082 | -0.0044 | 27.83  | 40 |

#### 2.4 云瑞亲本选配组合 F<sub>1</sub> 代群体主要性状的经济遗传值(EGV)分析

在参试的 117 个家系（组合）中，经济遗传值为正值的家系有 63 个，其余的 48 个为负值。在表 6 中可看出， $EBV > 300$  元的云瑞亲本 F<sub>1</sub> 家系有 19 个，分别为：云瑞 11-306×德蔗 07-98、云瑞 11-256×云瑞 14-186、柳城 03-182×云瑞 04-1051、柳城 03-182×云瑞 11-89、云瑞 10-776×黔蔗 06-156、Mex105×桂糖 08-1365、云瑞 06-1598×云瑞 06-3504、云瑞 14-242×云瑞 14-152、云瑞 15-90×桂糖 94-119、云瑞 2015310×云蔗 05-51、Q151×云瑞 10-248、Q151×云瑞 14-118、云瑞 10-1055×云蔗 00-45、云瑞 09-751×柳城 07-111、柳城 03-182×

云瑞 11-225、云瑞 15-36×云瑞 04-1051、柳城 03-182×云瑞 10-736、柳城 03-1137×云瑞 11-129、CP82-1592×云瑞 11-95，其经济育种值分别为 687.84 元、649.57 元、551.11 元、514.20 元、456.27 元、427.56 元、421.41 元、386.98 元、385.42 元、378.42 元、374.54 元、351.67 元、351.26 元、350.85 元、332.58 元、329.76 元、328.01 元、320.97 元、314.68 元。这些组合应重点利用。

表 6 云瑞亲本 F1 代群体特殊配合力及经济遗传值

| Table 6. SCA and EBV of YR parents in F1 population |                         |          |         |         |         |         |         |        |    |
|---|-------------------------|----------|---------|---------|---------|---------|---------|--------|----|
| 序号  | 组合                      | 株高/cm    | 茎径/cm   | 从茎数/条   | 糖分/%    | 从重/kg   | 从含糖量/kg | 遗传值    | 排序 |
| 68  | 云瑞 11-306×德蔗 07-98      | -13.7010 | 0.0275  | -0.1742 | 3.0428  | -0.1508 | 0.0057  | 687.84 | 1  |
| 66  | 云瑞 11-256×云瑞 14-186     | -3.7008  | 0.0463  | 0.0127  | 2.3853  | 0.0146  | 0.0176  | 649.57 | 2  |
| 29  | 柳城 03-182×云瑞 04-1051    | -10.6777 | -0.0477 | 0.0127  | 2.2660  | -0.2206 | -0.0051 | 551.11 | 3  |
| 31  | 柳城 03-182×云瑞 11-89      | 9.0902   | -0.1393 | 0.0127  | 1.6748  | -0.1235 | -0.0002 | 514.20 | 4  |
| 63  | 云瑞 10-776×黔蔗 06-156     | 15.8346  | -0.0994 | 0.3866  | 0.7681  | 0.1998  | 0.0235  | 456.27 | 5  |
| 8   | Me×105×云瑞 08-1365       | -9.0498  | -0.0994 | -0.3611 | 2.3111  | -0.3147 | -0.0150 | 427.56 | 6  |
| 49  | 云瑞 06-1598×云瑞 06-3504   | -8.1195  | 0.1872  | -0.1742 | 1.8498  | -0.0112 | 0.0107  | 421.41 | 7  |
| 83  | 云瑞 14-242×云瑞 14-152     | -12.5382 | -0.0853 | -0.3611 | 2.2474  | -0.3389 | -0.0180 | 386.98 | 8  |
| 103   | 云瑞 15-90×桂糖 94-119      | -14.6313 | 0.1332  | -0.3611 | 2.1706  | -0.0795 | 0.0057  | 385.42 | 9  |
| 105   | 云瑞 2015310×云蔗 05-51     | -4.3985  | 0.3212  | -0.3611 | 1.7729  | 0.0450  | 0.0156  | 378.42 | 10 |
| 9   | Q151×云瑞 10-248          | -11.8405 | -0.0148 | 0.0127  | 1.6430  | -0.0537 | 0.0067  | 374.54 | 11 |
| 10  | Q151×云瑞 14-118          | -28.8177 | -0.2826 | 0.5735  | 1.4017  | -0.2874 | -0.0170 | 351.67 | 12 |
| 58  | 云瑞 10-1055×云蔗 00-45     | 12.3461  | -0.0195 | 0.1997  | 0.6859  | 0.1694  | 0.0196  | 351.26 | 13 |
| 57  | 云瑞 09-751×柳城 07-111     | 10.0205  | 0.1825  | -0.3611 | 1.3805  | 0.0450  | 0.0136  | 350.85 | 14 |
| 27  | 柳城 03-182×云瑞 11-225     | -7.8869  | -0.1158 | -0.1742 | 1.6986  | -0.2555 | -0.0111 | 332.58 | 15 |
| 95  | 云瑞 15-36×云瑞 04-1051     | 30.4861  | -0.1041 | 1.3212  | -1.3158 | 0.5533  | 0.0285  | 329.76 | 16 |
| 30  | 柳城 03-182×云瑞 10-736     | 6.7646   | -0.0218 | 0.0127  | 0.9987  | -0.0749 | -0.0012 | 328.01 | 17 |
| 26  | 柳城 03-1137×云瑞 11-129    | 10.7182  | 0.0533  | 0.5735  | 0.0761  | 0.4380  | 0.0364  | 320.97 | 18 |
| 3   | CP82-1592×云瑞 11-95      | 25.8348  | -0.2028 | 0.3866  | 0.0602  | 0.0981  | 0.0097  | 314.68 | 19 |
| 1   | CP65-357×云瑞 11-89       | 7.9274   | -0.0195 | 0.5735  | 0.0867  | 0.1148  | 0.0097  | 292.19 | 20 |
| 32  | 柳城 05-136×云瑞 03-393     | -8.1195  | 0.0087  | 0.1997  | 0.9669  | 0.1178  | 0.0166  | 286.65 | 21 |
| 33  | 美引-8×云瑞 11-95           | 19.7882  | -0.0853 | 0.5735  | -0.2579 | 0.2938  | 0.0206  | 271.12 | 22 |
| 87  | 云瑞 15-125×云瑞 11-230     | 15.1369  | 0.0392  | 0.1997  | 0.2856  | 0.2362  | 0.0206  | 269.29 | 23 |
| 59  | 云瑞 10-1256×柳城 05-129    | 6.5320   | 0.1849  | 0.0127  | 0.6064  | 0.3303  | 0.0314  | 250.14 | 24 |
| 60  | 云瑞 10-1256×盈育 91-58     | -2.3054  | 0.0627  | -0.7350 | 1.8577  | -0.2949 | -0.0150 | 236.26 | 25 |
| 46  | 云瑞 15-45×云瑞 14-246      | -22.5385 | 0.0063  | -0.1742 | 1.6403  | -0.2327 | -0.0101 | 230.38 | 26 |
| 55  | 云瑞 07-3802×云瑞 12-60 (组) | -19.9803 | 0.0557  | 0.1997  | 1.0385  | -0.0172 | 0.0057  | 228.69 | 27 |
| 107   | 云野 07-45×云瑞 11-225      | 8.1600   | 0.1168  | 0.5735  | -0.2553 | 0.3136  | 0.0206  | 220.42 | 28 |
| 82  | 云瑞 14-234×桂糖 94-119     | -19.7477 | -0.2098 | 0.5735  | 0.6408  | -0.1993 | -0.0121 | 216.78 | 29 |
| 44  | 粤糖 91-976×云瑞 10-979     | -5.0962  | 0.1050  | 0.1997  | 0.5666  | 0.1709  | 0.0146  | 212.36 | 30 |
| 88  | 云瑞 15-126×德蔗 09-78      | -9.5149  | 0.0251  | 0.1997  | 0.7150  | 0.1269  | 0.0166  | 209.11 | 31 |
| 40  | 崖城 93-25×云瑞 15-148/149  | 37.2305  | -0.0453 | -0.1742 | -0.0326 | 0.1466  | 0.0136  | 186.72 | 32 |
| 11  | Q152×云瑞 11-218          | 13.2764  | 0.0698  | -0.3611 | 0.7601  | -0.0795 | -0.0002 | 183.56 | 33 |
| 92  | 云瑞 15-143×云瑞 2015281-2  | -4.1659  | 0.4151  | -0.1742 | 0.7416  | 0.8174  | 0.0749  | 177.77 | 34 |
| 79  | 云瑞 14-232×云瑞 05-2       | -9.9800  | -0.2615 | 0.3866  | 0.5268  | -0.2024 | -0.0121 | 177.33 | 35 |
| 86  | 云瑞 15-125×粤糖 91-976     | 15.6020  | -0.2591 | 0.9473  | -0.8889 | 0.0890  | 0.0018  | 177.09 | 36 |
| 41  | 崖城 93-25×云瑞 15-154      | -3.0031  | -0.0712 | -0.1742 | 0.8821  | -0.0779 | -0.0032 | 147.55 | 37 |
| 25  | 桂糖 97-40×云瑞 99-601      | 3.7413   | 0.0721  | 0.1997  | 0.1106  | 0.0389  | 0.0048  | 143.78 | 38 |
| 112   | 云蔗 05-51×云瑞 15-96       | 22.3464  | -0.0547 | 0.3866  | -0.5973 | 0.3136  | 0.0206  | 130.17 | 39 |
| 74  | 云瑞 13-49×云瑞 14-208      | -2.5380  | -0.0218 | -0.7350 | 1.4706  | -0.3010 | -0.0180 | 113.30 | 40 |
| 28  | 柳城 03-182×云瑞 03-393     | 13.5089  | -0.1064 | 0.0127  | 0.0788  | 0.0086  | 0.0028  | 106.94 | 41 |
| 90  | 云瑞 15-132×云瑞 14-263     | 13.9741  | 0.2225  | 0.0127  | -0.1492 | 0.3469  | 0.0255  | 99.37  | 42 |
| 17  | SP84-1431×云瑞 99-601     | -13.9336 | -0.1440 | 0.1997  | 0.5136  | -0.1417 | -0.0061 | 94.17  | 43 |
| 96  | 云瑞 15-46×云瑞 09-928      | 7.6948   | 0.0392  | -0.3611 | 0.5825  | -0.0719 | -0.0002 | 89.04  | 44 |
| 50  | 云瑞 06-1717×PS45         | -17.6546 | 0.0040  | 0.1997  | 0.5003  | -0.0825 | -0.0022 | 87.34  | 45 |
| 93  | 云瑞 15-145×ROC11         | -8.8172  | 0.0510  | 0.0127  | 0.4950  | -0.0006 | 0.0048  | 87.22  | 46 |
| 23  | 福农 0335×云瑞 10-979       | -13.4685 | 0.0463  | -0.3611 | 1.0995  | -0.1098 | -0.0032 | 81.71  | 47 |
| 114   | 云蔗 08-1406×云瑞 15-93     | 20.2533  | -0.1111 | 0.3866  | -0.7325 | 0.1618  | 0.0107  | 68.44  | 48 |
| 106   | 云野 07-44×云瑞 14-235      | 4.9041   | 0.1003  | -0.1742 | 0.2856  | 0.1011  | 0.0127  | 65.81  | 49 |
| 84  | 云瑞 14-98×柳城 03-182      | -1.8403  | -0.0853 | 0.7604  | -0.6927 | 0.1421  | 0.0077  | 64.13  | 50 |
| 69  | 云瑞 11-306×云蔗 01-1073    | 15.1369  | -0.1229 | 0.0127  | -0.1095 | 0.0419  | 0.0048  | 63.63  | 51 |
| 16  | SP84-1413×云瑞 10-463     | -7.4218  | 0.1872  | 0.0127  | 0.2829  | 0.0935  | 0.0107  | 60.00  | 52 |
| 71  | 云瑞 11-96×云瑞 14-186      | 8.6251   | -0.2380 | -0.3611 | 0.5957  | -0.3329 | -0.0229 | 55.12  | 53 |
| 116   | 云蔗 89-7×云瑞 06-4806      | -3.2357  | 0.1591  | -0.3611 | 0.6302  | 0.0632  | 0.0097  | 42.77  | 54 |
| 18  | VMC76-16×云瑞 11-129      | -1.1426  | -0.1605 | 0.3866  | -0.2579 | 0.0495  | 0.0028  | 38.63  | 55 |
| 45  | 粤糖 96-86×云瑞 03-393      | -7.6544  | 0.1027  | 0.0127  | 0.2511  | 0.0784  | 0.0097  | 35.95  | 56 |

|     |                     |         |         |         |         |         |         |       |    |
|-----|---------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|-------|----|
| 67  | 云瑞 11-306×ROC22     | -9.7474 | -0.0477 | -0.3611 | 0.8927  | -0.1735 | -0.0071 | 35.92 | 57 |
| 64  | 云瑞 11-159×ROC10     | 10.0205 | -0.1934 | -0.1742 | 0.1609  | -0.2084 | -0.0140 | 21.03 | 58 |
| 81  | 云瑞 14-232×云瑞 10-299 | -4.1659 | -0.0265 | 0.3866  | -0.3216 | 0.2210  | 0.0156  | 20.55 | 59 |
| 72  | 云瑞 11-97×CP72-2086  | 4.6715  | -0.0876 | 0.9473  | -1.2787 | 0.3454  | 0.0186  | 17.30 | 60 |
| 102 | 云瑞 15-90×德蔗 09-78   | 25.6023 | 0.1074  | -0.3611 | -0.1837 | 0.0177  | -0.0022 | 15.55 | 61 |
| 36  | 黔糖-4×云瑞 15-105/106  | 12.5787 | 0.0580  | -0.3611 | 0.1769  | -0.0142 | -0.0012 | 14.27 | 62 |
| 4   | FR93-1045×云瑞 11-89  | 5.6018  | -0.0289 | 0.1997  | -0.3693 | 0.0829  | 0.0048  | 7.44  | 63 |

## 2.6 云瑞创新亲本及组合的丛含糖量的配合力(GCA、SCA)与经济育种值(EBV)、经济遗传值(GBV)比较

在实生苗的丛含糖量计算中,株高、茎径、丛有效茎数是从重(蔗产量)的构成因子,从重和糖分是从含糖量的构成因子。在表 4、表 5、表 6 中可看出,亲本的经济育种值或组合的经济遗传值为正值时,亲本或组合的丛含糖量及从重的一般配合力、特殊配合力均不完全是正值,原因主要在于构成丛含糖量的初始因子株高、茎径、丛有效茎数、糖分对后代的遗传效能有正效应和负效应,对 4 个性状的权重赋值差异产生的结果。

## 3 讨论

群体遗传力分析结果表明,母本、父本、组合对 F<sub>1</sub> 群体 6 个主要性状的遗传贡献顺序表现为:组合(58.51%)>母本(57.59%)>父本(52.90%),说明组合对后代主要性状的贡献最大,其次是母本,最小的是父本,这与姚丽等(2017)、安汝东等(2014)的分析一致,与经艳芬等(2019)的组合>父本>母本不一致,母本、父本、组合对后代的株高、茎径、有效茎数、糖分、蔗产量、含糖量等性状的贡献大小,也不完全一致。主要是参试亲本的种性及选配组合类型的差异引起,不同亲本对后代性状的遗传影响不同,不同的组合对后代性状的影响也不一样,所以不同的试验分析结果存在差异。

经济育种值综合了亲本及组合后代相关遗传性状的经济价值,是衡量亲本育种潜力高低的重要尺度,它反映亲本的育种价值,其符号和大小表示亲本作用的方向和程度。本研究筛选出云瑞创新亲本对后代经济育种值为正效应的 26 份母本、21 份父本,及其 63 个家系(组合),对这些云瑞创新亲本的利用提供了依据。同时研究结果表明,亲本的经济育种值或组合的遗传值为正值时,亲本或组合的丛含糖量及从重的一般配合力、特殊配合力均不完全是正值,所以,不能简单地以含糖量的遗传效应排序来判断和评价亲本或组合。

## 参考文献

- [1]吴才文. 澳大利亚甘蔗家系选择技术简介[J]. 甘蔗糖业, 2007(1): 6-9.
- [2]徐良年, 邓祖湖, 陈如凯, 等. CL 系列甘蔗亲本的遗传力及配合力分析[J]. 植物遗传资源学报, 2006., 7(4): 445-449.
- [3]吴才文, 刘家勇, 赵俊, 等. 甘蔗引进亲本创新利用及育种潜力分析[J]. 西南农业学报, 2008, 21(6): 1671-1675.
- [4]贤武, 杨荣仲, 周会, 等. 甘蔗家系配合力研究与应用[J]. 亚热带农业研究, 2010, 6(1): 4-9.
- [5]刘少谋, 王勤南, 符成, 等. 甘蔗常用亲本及杂交组合家系评价[J]. 植物遗传资源学报, 2011, 12(2): 234-240.
- [6]杨荣仲, 周会, 王伦旺, 等. 甘蔗家系农艺性状遗传力分析[J]. 南方农业学报, 2016, 47(3): 337-342.
- [7]唐仕云, 杨荣仲, 王伦旺, 等. 甘蔗家系的遗传测定与选择[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2016, 42(5): 472-479.
- [8]杨昆, 赵培方, 赵俊, 等. 甘蔗家系经济性性状遗传变异分析及综合选择[J]. 热带作物学报, 2016, 37(2): 213-219.
- [9]姚丽, 覃伟, 赵培方, 等. CP 系列甘蔗亲本及杂交组合育种潜力分析[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2017, 43(6): 590-596.
- [10]覃伟, 蔡青, 吴才文, 等. 澳大利亚引进甘蔗花穗在中国育种潜力评价[J]. 植物遗传资源学报, 2018, 19(4): 760-768.
- [11]朱建荣, 桃联安, 董立华, 等. 云南不同生态型甘蔗细茎野生种育种潜力分析[J]. 南方农业学报, 2011, 42(9): 1035-1040.
- [12]经艳芬, 安汝东, 杨李和, 等. 甘蔗部分生产性亲本的育种潜力分析[J]. 西南农业学报, 2011, 24(2): 437-445.
- [13]安汝东, 朱建荣, 周清明, 等. 云瑞系列甘蔗亲本的遗传力和配合力分析[J]. 南方农业学报, 2014, 45(1): 1-6.
- [14]经艳芬, 边芯, 桃联安, 等. 云瑞 10 系列甘蔗亲本及其组合的杂交育种潜力分析[J]. 南方农业学报, 2019, 50(1): 16-24.
- [15]邓祖湖, 徐良年, 韦先明, 等. 经济遗传值在甘蔗选育种的应用研究 I. 经济遗传值及性状经济权重的确定[J]. 中国糖料, 2011, (1): 39-44.
- [16]徐良年, 邓祖湖, 林彦铨, 等. 经济遗传值在甘蔗选育种应用研究系列(二)甘蔗亲本育种值 and 家系遗传值分析[J]. 中国糖料, 2012(4): 5-9.
- [17]徐良年, 邓祖湖, 林彦铨, 等. 经济遗传值在甘蔗选育种应用研究系列(三)甘蔗亲本经济育种值 and 家系经济遗传值分析[J]. 中国糖料, 2013(1): 5-8.
- [18]王勤南, 刘少谋, 符成, 等. 甘蔗常用亲本及杂交组合经济育种值分析[J]. 热带亚热带植物学报, 2013(2):

155-160.

- [19]王勤南, 谢静, 张垂明, 等. 含斑茅血缘甘蔗亲本及组合经济育种评价[J]. 热带作物学报 2017, 38 (7): 1274-1279.
- [20]安汝东, 周清明, 俞华先, 等. 9 个云南甘蔗创新亲本作为父本的经济育种分析[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2015, 41(2): 113-118.
- [21]Aitken K S, Jackson P A, McIntyre C L. 2006. Quantitative trait loci identified for sugar related traits in a sugarcane (*Saccharum spp.*) cultivar  $\times$  *Saccharum officinarum* population [J]. *Theor Appl Genet*, 112: 1306-1317.

# Exogenous *myo*-inositol alleviates salinity-induced stress in *Malus hupehensis* Rehd.

Lingyu Hu<sup>1</sup>, Kun Zhou<sup>1</sup>, Yangtiansu Li, Xiaofeng Chen, Bingbing Liu, Cuiying Li, Xiaoqing Gong\*, Fengwang Ma\*  
State Key Laboratory of Crop Stress Biology for Arid Areas/Shaanxi Key Laboratory of Apple, College of Horticulture, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, PR China

**Abstract** *Myo*-inositol mediates various physiological processes and stress responses. Here, we investigated its role in *Malus hupehensis* Rehd. plants when grown hydroponically under saline conditions. Salt-stressed plants showed reduced growth and marked declines in photosynthetic activity and chlorophyll concentrations. However, pretreatment with 50  $\mu$ M *myo*-inositol significantly alleviated those inhibitions and enabled plants to maintain their photosynthetic capacity. In addition to changing stomatal behavior, exogenous *myo*-inositol inhibited ROS accumulation and Na<sup>+</sup> uptake. In contrast, activities of antioxidant systems were enhanced, and expression was elevated for genes involved in Na<sup>+</sup> uptake (e.g., *HKT1*, *NHX1*, *SOS1*, and *SOS2*). This exogenous application also provoked the accumulation of sugars or sugar alcohols, which partially contributed to the maintenance of osmotic balance, and the scavenging of ROS, either directly or indirectly. In summary, *myo*-inositol appears to alleviate the salt-induced inhibition of physiological processes for *M. hupehensis*, not only by supporting the plant's antioxidant defense system but also by mediating Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> homeostasis and the osmotic balance.



# Phosphoglucan, water dikinase (PWD/GWD3) regulates starch metabolism through protein interactions in cassava (*Manihot esculenta* Crantz)

Xiaomeng Hao<sup>a,b</sup>, Shutao He<sup>a</sup>, Peng Zhang<sup>a,b\*</sup>

<sup>a</sup>National Key Laboratory of Plant Molecular Genetics, CAS Center for Excellence in Molecular Plant Sciences, Institute of Plant Physiology and Ecology, Chinese Academy of Science, Shanghai 200032, China; <sup>b</sup>University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China

**Abstract** Starch phosphorylation is an important part of starch metabolism because of its role in starch degradation. Starch phosphorylation is mediated by dikinases, the glucan, water dikinase (*GWD*) and the phosphoglucan, water dikinase (*PWD/GWD3*). At present, it is still unclear whether genes related to starch phosphorylation are also involved in starch synthesis process. Here, compared with wide type, *GWD3*-RNAi transgenic cassava showed starch accumulated phenotype as well as growth retardation, which indicates that *GWD3* plays an important role in starch degradation. In addition, the properties of starch extracted from *GWD3*-RNAi transgenic cassava storage roots changed significantly, including the chain length distribution of amylopectin. Furthermore, the enzyme activities of soluble starch synthase (SSS), starch branching enzyme (SBE) and isoamylase (ISA) changed significantly in *GWD3*-RNAi transgenic cassava, compared with wide-type. Yeast two-hybridization and Co-IP results showed that *GWD3* can interact with starch biosynthetic enzymes including SS2, ISA1 and ISA2, directly. Our findings suggest that *GWD3* may not only participate in the starch degradation process, but also take part in the starch synthesis process through protein interactions and enzymatic activity regulation. This study shed new light on *GWD3* function in the balance between starch synthesis and starch degradation.

**Keywords** Starch phosphorylation, starch synthesis, starch degradation

---

\* E-mail: zhangpeng@sibs.ac.cn.

# 14 种杀菌剂对咖啡叶枯病原菌的室内毒力测定

巩佳莉<sup>1,2</sup>, 陆 英<sup>2</sup>, 贺春萍<sup>2</sup>, 吴伟怀<sup>2</sup>, 梁艳琼<sup>2</sup>, 黄 兴<sup>2</sup>, 郑金龙<sup>2</sup>, 刁金根<sup>2</sup>, 易克贤<sup>2\*</sup>  
1.南京农业大学植物保护学院, 南京, 210000;2.中国热带农业科学院环境与植物保护研究所, 海口, 571101

**摘 要** 咖啡叶枯病作为一种新的咖啡叶部病害, 由拟茎点霉菌(*Phomopsis sp.*)引起, 目前该病害在田间药剂防治上仍缺少理论依据, 为明确对拟茎点霉菌高效敏感的杀菌剂种类, 本试验采用菌丝生长速率抑制法, 测定了 14 种杀菌剂对拟茎点霉菌的室内毒力。14 种杀菌剂分别为: 97.3% 戊唑醇、95% 苯醚甲环唑、80% 多菌灵、97.2% 咪鲜胺、70% 甲基硫菌灵、50% 啶菌酯、75% 百菌清、50% 异菌脲、40% 腈菌唑、40% 啉霉胺、50% 咪鲜胺锰盐、80% 代森锰锌、80% 烯酰吗啉、70% 丙森锌。结果表明不同杀菌剂对咖啡拟茎点霉菌丝生长的抑制效果存在明显差异, 其中咪鲜胺、咪鲜胺锰盐、苯醚甲环唑、多菌灵、戊唑醇、啶菌酯对拟茎点霉菌的菌丝生长具有较强的抑制作用, 其 EC<sub>50</sub> 值分别为: 0.0680 ug/ml、0.0696 ug/ml、0.1923 ug/ml、0.2360 ug/ml、0.7630 ug/ml、0.8731 ug/ml, 均低于 1 ug/ml; 其次为: 腈菌唑、甲基硫菌灵、啉霉胺、代森锰锌、丙森锌、百菌清, 其 EC<sub>50</sub> 值分别为: 2.2231 ug/ml、2.5048 ug/ml、3.596 ug/ml、5.6887ug/ml、8.0122 ug/ml、8.2823 ug/ml; 效果最差的为烯酰吗啉、异菌脲, 其 EC<sub>50</sub> 值分别为: 13.942 ug/ml、258.2931 ug/ml。该研究结果为咖啡叶枯病的田间药剂防治提供理论依据。

**关键词** 叶枯病; 杀菌剂; 室内毒力测定; 田间药剂防治;

---

**基金项目** 国家重点研发计划项目“特色经济作物化肥农药减施技术集成研究与示范”(2018YFD0201100)资助。

**第一作者** 巩佳莉(1994-), 女, 在读研究生, 资源利用与植物保护专业 e-mail: 2018802222@njau.edu.cn。

**通讯作者** 易克贤(1963-), 男, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 植物病理学 E-mail: yikexian@126.com。

# UV-B 诱导高粱生理机制及光谱特性分析

郭怀刚,林俊俊,张圣也,刘慧敏,王智慧,殷大伟,徐静宇,李佐同,张海燕,赵长江  
黑龙江八一农垦大学农学院,黑龙江大庆 163319;黑龙江省秸秆资源化利用工程技术研究中心,黑龙江大庆 163319);黑龙江省现代农业栽培技术与作物种质改良重点实验室,黑龙江大庆 163319;黑龙江省普通高校寒地作物种质改良与栽培重点实验室,黑龙江大庆 163319

**摘要** 为揭示 UV-B 辐射对粮食作物生理生化机制及光谱特征的影响。本试验以高粱龙杂 19 为材料,在人工气候室培育至三叶一心时,用  $40 \mu\text{w}\cdot\text{cm}^{-2}$  的紫外灯分别照射 0 h、0.5 h、1 h、2 h、3 h,用光合仪测每个处理的光合参数,用近红外光谱仪采集光谱信息,最后取每个处理的样本测生理指标。UV-B 辐射使高粱幼苗叶片逐渐出现褐色斑点,且辐射时间的越长斑点越深。植物叶绿素含量显著减少,净光合速率 (Pn)、气孔导度 (Gs)、蒸腾速率 (Tr) 随 UV-B 辐射时间的增加呈下降的趋势,胞间  $\text{CO}_2$  浓度 (Ci) 呈上升的趋势。随 UV-B 辐射时间增加 SOD、APX、POD 呈“降-升”趋势, CAT 呈上升的趋势;而  $\text{O}_2^-$ 、MDA、可溶性蛋白呈上升的趋势。且 5 个处理中,光合参数和生理指标在 UVB2 时发生明显的转折。近红外光谱信息使用 MATLAB 软件工具箱建立 BP 神经网络模型,对预测集准确率达 85%以上。结果表明,增强的 UV-B 辐射,使光合色素减少,光合系统破坏,导致膜发生氧化损伤,提高抗氧化酶活性,高剂量的 UV-B 辐射使高粱叶片光合产物积累量减少,甚至非正常死亡。而应用近红外光谱技术建立人工神经网络模型,鉴别率达 85%以上。可实现对高粱叶片受紫外辐射程度的快速鉴别。

**关键词** UV-B 辐射;高粱;生理指标;光谱特征

# 喷施不同浓度木醋液对杧果实品质的影响

何堂熹, 何新华\*, 罗 聪, 李 峰, 方中斌

广西大学农学院, 亚热带农业生物资源保护与利用国家重点实验室, 广西南宁, 530004

**摘 要** 为了探索“台农一号”杧果生长期喷施不同浓度木醋液对果实品质的影响, 旨在为木醋液在杧果的实际生产应用中提供实验依据。本实验选用广西大学资源圃内高接换种 15 年的“台农一号杧”为材料, 于盛花期后 25d, 35d, 45d, 55d, 65d, 75d, 85d 后喷施不同稀释浓度 (200 倍、400 倍、600 倍、800 倍、1000 倍) 的木醋液, 对照喷施清水。于采后测定“台农一号”杧的株产、单果质量、果实硬度、果实色泽变化、果胶、可溶性固形物、维生素 C、可溶性糖、可滴定酸、糖酸比等指标。结果表明, 采前喷施适当浓度的木醋液均能提高杧果产量和平均单果重, 其中稀释 200 倍、400 倍的株产比对照增产 34.95%、29.46%, 达到显著差异; 稀释 200 倍木醋液的平均单果重最大, 达 180.47g, 比对照提高 13.37%, 达到显著差异。喷施木醋液可以缩短果实后熟时间, 主要表现在果实硬度下降均比对照快, 在完熟期稀释 400 倍的硬度仅有  $1.26\text{kg}\cdot\text{cm}^{-2}$ , 比对照低 30.51%; 喷施木醋液处理的果实在后熟过程中可促进果实转黄以及可溶性果胶含量的上升和原果胶含量的下降, 其中以稀释 200 倍的果实转黄最快, 可溶性果胶含量和原果胶含量变化最明显, 生理成熟期至完熟期其可溶性果胶含量上升了 55.91%, 原果胶含量下降了 76.19%。喷施木醋液还可以提高果实内在品质, 喷施稀释 200 倍木醋液处理的果实可溶性固形物含量最高, 达 22.3%, 比对照提高 12.06%, 与对照、稀释 800 倍、稀释 1000 倍这三个处理相比达到显著差异; 喷施 400 倍木醋液的维生素 C 含量和可溶性糖含量均最高, 分别达  $18.89\text{mg}/100\text{g}$  和 19.63%, 比对照分别提高了 41.48% 和 26.62%, 除与稀释 200 倍的处理差异不显著外, 与其他各处理差异显著; 可滴定酸百分含量最低的为稀释 400 倍的, 仅有 0.200%, 比对照低 24.72%, 除与稀释 200 倍、稀释 600 倍这两个处理不显著外, 与其余各处理达到显著差异; 稀释 400 倍处理的糖酸比值最高, 达 97.91: 1, 与各处理达到显著差异。因此, 在杧果盛花期后 25d, 35d, 45d, 55d, 65d, 75d, 85d 喷施一定浓度的木醋液可以增加产量, 提高果实品质, 加快杧果成熟, 其中以稀释 200 和 400 倍表现较佳, 稀释 400 倍喷施最佳。

**关键词** 杧果; 木醋液; 果实; 品质; 产量

**基金项目** 国家自然科学基金项目(31660561); 广西创新驱动发展专项资金资助项目(桂科 AA17204097-3; 桂科 AA17204026-2); 广西重点研发计划项目(桂科 AB17292010); 国家重点实验室自主研究课题 (SKLCUSA-a201906; SKLCUSA-c201901); 国家现代农业产业技术体系广西芒果创新团队栽培岗位项目(nycytxgxextd-06-02)

**作者简介** 何堂熹(1993-), 男, 硕士, 主要研究方向为果树学, E-mail:409223601@qq.com

**通讯作者** \*何新华 (1966-), 男, 教授, 博士生导师, 主要研究方向: 果树遗传育种与栽培, Email:honest66222@163.com

# 澳洲坚果果实品质综合评价

贺鹏, 张涛, 宋海云, 郑树芳, 覃振师, 谭秋锦, 黄锡云, 汤秀华, 许鹏, 陈海生, 王文林\*

广西南亚热带农业科学研究所, 广西 龙州 532415

**摘要** 【目的】为确定加工原料最佳采收期, 本研究通过对广西区内 2 个澳洲坚果主栽品种桂热 1 号、695 不同采收期的果实品质进行评价。【方法】以广西区内推广种植面积相对较大的桂热 1 号、695 两个品种为研究对象, 在果实进入成熟期后分 5 个不同采收成熟时期的坚果样品, 对合格率、黏壳率、果仁饱满度 3 个指标进行测定, 同时对不同成熟度原料果仁中的脂肪、总糖、蛋白质、氨基酸等多个营养成分的含量进行检测, 采用氨基酸比值系数法对样品中氨基酸进行营养评价, 计算得出氨基酸比值系数。再运用因子分析法对合格率、黏壳率、果仁饱满度、脂肪含量、总糖含量、蛋白质含量、氨基酸比值系数 7 个果实品质指标提取因子进行综合评价, 对评分最高的样品进行脂肪酸组成分析。【结果】2 个品种不同采收期澳洲坚果中开口合格率在 0.8 以上, 黏壳率在 0.23 以上, 果仁饱满度在 0.77 以上, 蛋白质在 6.09 g/100g 以上, 总糖在 1.83 g/100g 以上, 脂肪在 74.2 g/100g 以上, 氨基酸比值系数在 73 以上; 通过因子分析得出, 2 个品种 4 个因子的累积贡献率达 100%, 可包含澳洲坚果香气品质指标的大部分信息。【结论】果实品质综合评价可知, 桂热 1 号在 9 月 9 日附近采收果实品质最佳, 695 在 8 月 30 日附近采收果实品质最佳; 2 个品种中果实不饱和脂肪酸比例高达 83.03% 以上, 其中不饱和脂肪酸油酸含量 (62.76%~62.88%) 最高。

**关键词** 澳洲坚果; 开口效果; 营养成分; 因子分析; 综合评价

中图分类号: S664.9; TS262.7

文献标志码: A

## Comprehensive Evaluation of Macadamia Fruit Quality

He Peng, Zhang Tao, Song Haiyun, Zheng Shufang, Qin Zhenshi, Tan Qiuji, Huang Xiyun, Tang Xiuhua, Xu Peng, Chen Hai-sheng, Wang Wenlin\*

1. South Subtropical Agricultural Science Research Institute of Guangxi, Long Zhou, Guangxi, 532415, China; 2. Agricultural Product Processing Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Zhanjiang, Guangdong, 524001, China

**Abstract** 【Objective】In this study, the fruit quality in nutlet at different maturity of two main *macadamia* varieties (Guire 1, HAES695) grown in Guangxi was evaluated to deepen the understanding of the internal components of *macadamia* and provide theoretical basis for the selection of processing materials. 【Method】In this study, two varieties, GUIRE 1 and 695, which had relatively large generalized planting area in Guangxi region, were used as the research object. Nut samples of different maturity were harvested in batches after the fruit entered the mature stage. Three indexes, qualified opening ratio, rate of sticky caryopsis, plumpness of nutlet were determined, At the same time, the content of fat, total carbohydrate, protein and the nutritional value of amino acids in different maturity raw nuts was tested, Then, factor analysis was used to extract the principal component and comprehensive evaluation. Analysis of fatty acid composition of the-highest-score sample. 【Result】The contents of qualified opening ratio, rate of sticky caryopsis, plumpness of nutlet in different maturity raw nuts were above 0.8, 0.23, 0.77; The contents of fat, total carbohydrate, protein and the nutritional value of amino acids in different maturity raw nuts were above 6.09 g/100g, 1.83 g/100g, 74.2 g/100g, 73. The contents of unsaturated fatty acids were above 83.03%, the contents of oleic acid (62.76%~62.88%) were the highest. The PCA analysis showed that their cumulative percentage contribution was 100%. Therefore, these four components which contribution to all of fruit quality information were obtained. 【Conclusion】The results of fruit quality components comprehensive evaluation model show Guire 1 fruits should be harvested around September 9<sup>th</sup>, 695 fruits should be harvested around August 30<sup>th</sup>.

**Keywords** *Macadamia spp.*; open effect; nutritional ingredient; factor analysis; comprehensive evaluation

**基金项目** 广西培养新世纪学术和技术带头人专项资金资助项目 (2018); 广西创新驱动发展专项项目广西科技重大专项 (桂科 AA17202037-9); 广西公益基金项目 (GXNYRKS201802, GXNYRKS201912)

**作者简介** 贺鹏(1990-), 男, 助理研究员, 硕士, 研究方向为果品加工与贮藏方向。E-mail: 727250894@qq.com

**通讯作者** 王文林 (1980-), 男, 高级农艺师, 硕士, 研究方向为热带亚热带果树栽培及育种。E-mail: 3858533@163.com

# Crosstalk of drought resistance and hormone response mediated by apple MdMYB88

刘小芳, 赵才德, 李超硕, 徐 焱, 张德辉, 管清美  
旱区作物胁迫生物学国家重点实验室, 西北农林科技大学园艺学院

**Abstract** MdMYB88 play important roles in drought resistance of apple (*Malus x domestica*). Here, we found that MdMYB88 also mediated homeostasis of Brassinolide (BR). Exogenous applying BR to *MdMYB88* transgenic plants, they cannot completely restore *MdMYB88* RNAi plants phenotype. In addition, by yeast-one hybrid, we screen two transcription factors *MdBES1*, which can directly bind to the promoter of *MdMYB88*. *MdBES1*. So *MdMYB88* may play an important role in BR signaling pathway. Furthermore, *MdMYB88* transgenic plants shows positive influence endogenous BR content. In the meanwhile, MdMYB88 regulates BR biosynthetic gene expression. So *MdMYB88* have function in BR biosynthetic. In this study, we find that *MdBES1* is a negative regulator in apple drought resistance. *MdBES1* over-expression transgenic plants show negative response to drought tolerance. *MdBES1* RNAi transgenic plants positive response to drought tolerance. *MdBES1* negative regulative *MdMYB88* in drought. *MdMYB88* plays an important role of a crosstalk of drought stress response and hormones signaling and biosynthetic.

# 茶树成花相关基因的鉴定

刘莹<sup>1,2</sup>, 卢秦华<sup>2</sup>, 王新超<sup>2\*</sup>, 杨亚军<sup>1,2\*</sup>

1. 西北农林科技大学园艺学院, 陕西 杨陵 712100; 2. 中国农业科学院茶叶研究所/国家茶树改良中心/农业部茶树生物学与资源利用重点实验室, 浙江 杭州 310008

**摘要:** 开花是植物进入生殖生长的重要标志, 花器官的形成在遗传信息传递中起着重要作用。茶树是起源于我国西南地区的重要经济林木, 具有开花多、花期长的特点。生产上, 茶树旺盛的生殖生长会消耗大量营养, 影响茶叶的产量和品质。而在杂交育种中, 茶树又具有自交不亲和与结实率低等特点。对茶树成花机理的研究有助于深入了解茶树花芽分化和发育的时间、影响因素及分子调控机制, 为茶树良种选育、绿色高效生产和育种效率提高等提供理论依据。而茶树成花相关基因的鉴定为揭示茶树成花机理奠定研究基础。本文通过生物信息的方法在基因组水平鉴定了茶树两个亚种 *Camellia sinensis* var. *assamica* (CSA)<sup>[1]</sup> 和 *Camellia sinensis* var. *sinensis* (CSS)<sup>[2]</sup> 中成花相关基因, 数目分别为 346 条、401 条。根据已报道的成花通路, 可以将茶树成花基因分为九类, 分别为: 自主途径基因, 光周期途径 (包含生物钟) 基因, 激素途径基因, 春化途径基因, 糖途径基因, 年龄途径基因, 外界温度途径基因, 成花时间整合子以及花发育基因。茶树中不同类别的成花相关基因数目分布趋势大体与拟南芥相同, 其中, 自主途径基因数目最多, 在 CSS 和 CSA 中分别有 152 和 149 个; 而数目最少的是成花时间整合子, 在 CSS 中含有 4 个, CSA 中含有 2 个; 光周期在成花时间调控中起着决定性的作用, 我们在 CSS 中鉴定了 93 个光周期基因, CSA 中鉴定了 84 个。每个类别的成花相关基因数目见表 1。

# 杧果 *MiCOL8A* 和 *MiCOL8B* 基因克隆与表达模式分析

刘源, 罗 聪, 张秀娟, 卢新喜, 余海霞, 何堂熹, 范志毅, 谢小杰, 何新华\*  
亚热带农业生物资源保护与利用国家重点实验室/农学院, 广西大学, 南宁, 530004

**摘要** *CONSTANS (CO)* 是植物成花控制网络中的关键基因。在前期研究的基础上, 从杧果转录组数据中获得了 2 个 CO 全长序列基因, 命名为 *MiCOL8A* 和 *MiCOL8B*。生物信息学分析结果显示, 2 个 CO 基因编码区序列长度分别为 801bp 和 792bp, 编码氨基酸长度为 266 个和 263 个, 蛋白质分子量分别为 29.75 KDa 和 29.24KDa, 等电点为 8.69 和 4.95。功能预测表明, 2 个 CO 基因编码的氨基酸序列在 C 端只含有一个二级结构发生变化的锌指蛋白结构域 (B-Box2), 不含 CCT 结构域。通过构建系统进化树, 显示杧果两个 *MiCOL8A* 和 *MiCOL8B* 蛋白均属于第 IIIc 类 CO 蛋白基因家族, 与拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) *AtCOL11* 和 *AtCOL12* 相似性最高而聚类到一起。基因表达分析表明, *MiCOL8A* 和 *MiCOL8B* 基因在杧果不同组织中及一天不同时间内均表达, 但表达水平存在差异。杧果 *MiCOL8A* 和 *MiCOL8B* 基因在叶、茎、花三类组织中的表达模式相似, 都是在花中表达量最高, 其次是成熟茎, 成熟叶中表达量最低, 在花中的表达量约是成熟茎中的 2 倍, 约是成熟叶中的 4 倍。*MiCOL8A* 和 *MiCOL8B* 基因均在上午 09:00 时表达量最高, 此时 *MiCOL8B* 基因的表达量约为 *MiCOL8A* 基因的 2.3 倍。以上结果说明, *MiCOL8A* 和 *MiCOL8B* 基因与杧果成花有关, 但两个基因的调控模式可能存在差异。

**关键词** 杧果; *MiCOL8A*; *MiCOL8B*; 生物信息学分析; 表达模式

---

**基金项目** 国家自然科学基金项目(31660561); 广西创新驱动发展专项资金资助项目(桂科 AA17204097-3; 桂科 AA17204026-2); 广西重点研发计划项目(桂科 AB17292010); 国家重点实验室自主研究课题 (SKLCUSA-a201906; SKLCUSA-c201901); 国家现代农业产业技术体系广西芒果创新团队栽培岗位项目(nycytgxextd-06-02)

**作者简介** 刘源, 1996 年 8 月, 研究生, 从事果树重要功能基因研究; 联系方式: 18638785643,18638785643@163.com。\*通讯作者 何新华, 1966 年 2 月, 教授, 果树遗传育种与分子生物学, honest66222@163.com



# 杧果 *CONSTANS-Like17* (*MiCOL17*) 基因的克隆与表达分析

卢新喜, 罗 聪, 张秀娟, 余海霞, 刘 源, 黄 方, 谢小杰, 范志毅 何新华\*  
亚热带农业生物资源保护与利用国家重点实验室/农学院, 广西大学, 南宁, 530004

**摘 要** 开花时间是开花植物适应不同环境的重要特征, *CCT* 基因在昼夜节律钟和光周期开花通路中均起重要作用。*CCT* 基因根据其非 *CCT* 结构域可分为 *COL* (*Constant-like*)、*PRR* (*Pseudo-response regulator*) 和 *CMF* (*CCT motif family*) 三个家族。本实验以四季蜜芒为材料, 从转录组测序结果中挖掘得到 1 个 *CO* 全长序列基因, 命名为 *MiCOL17*, 生物信息学分析结果显示该基因编码区序列长度为 1023bp, 编码 340 个氨基酸, 蛋白分子量为 38.6Ka, 等电点为 5.10; 功能结构预测表明该基因仅含一个 *CCT* 结构域, 属于 *CO* 家族基因。组织表达分析结果表明, *MiCOL17* 在四季蜜芒的茎、叶、花三个组织中均有表达, 其中茎中的相对表达量最高, 花次之, 叶中最低; 不同发育时期表达模式结果显示该基因在成花诱导期和花芽分化期的相对表达量较高; 昼夜节律表达模式分析表明: *MiCOL17* 的表达水平在白天逐渐降低, 在夜间积累, 黎明时分达到表达峰值, 符合昼夜节律。该研究结果为研究 *MiCOL17* 基因在四季蜜芒中的功能奠定了基础。

**关键词** 杧果 *CONSTANS-Like17* 基因克隆 表达模式分析

---

**基金项目** 国家自然科学基金项目(31660561); 广西创新驱动发展专项资金资助项目(桂科 AA17204097-3; 桂科 AA17204026-2); 广西重点研发计划项目(桂科 AB17292010); 国家重点实验室自主研究课题 (SKLCUSA-a201906; SKLCUSA-c201901); 国家现代农业产业技术体系广西芒果创新团队栽培岗位项目(nycytgxctd-06-02)

**作者简介** 卢新喜(1993年—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 植物种植资源, E-mail: 2256382462@qq.com; \*通讯作者: 何新华(HE Xinhua), E-mail: honest66222@163.com

# 木薯转录因子 MeERF109 促进淀粉积累并负调控低温耐受

罗 数<sup>1,2</sup>, Maliwan Naconsie<sup>1</sup>, 张 鹏<sup>1,2,\*</sup>

1.中国科学院分子植物科学卓越创新中心/植物生理生态研究所; 2.中国科学院大学

**摘 要** 热带作物木薯(*Manihot esculent Crantz*)具有重大经济和应用价值,但对低温的敏感性成为影响其种植地区的重要因素,解析其低温响应调控机制对培育抗冷新品种具有重大意义。通过基因芯片分析木薯低温表达谱,筛选得到木薯冷胁迫响应基因 *MeERF109*。*MeERF109* 是一类 AP2/ERF 转录因子,此类转录因子在乙烯、茉莉酸、水杨酸激素应答途径中对抵抗植物病虫害等胁迫行使重要的生物学功能,但其在抗冷胁迫下的功能研究却鲜有报道。木薯 *MeERF109* 定位于细胞核,并在 N 端具有半胱氨酸富集区。在木薯中过表达 *MeERF109* 可促进木薯叶片和根部淀粉积累,提高储藏根生物量,并增加木薯冷敏感性,提高叶片电解质渗出率。*MeERF109* 可结合 *MeCBF1* 启动子上游区域,并抑制其表达。这暗示着木薯可能通过 *MeERF109* 参与到淀粉合成的调控中,并在低温胁迫下抑制 *MeCBF1* 的表达以平衡能量积累和抵抗逆境的关系,为提高木薯淀粉产量和培育抗冷新品种提供了新的思路。

# 不同繁育器材对褐带卷蛾茧蜂繁育效果比较

吕朝军<sup>36</sup>, 钟宝珠, 覃伟权, 李朝绪, 阎 伟, 韩民光  
中国热带农业科学院椰子研究所, 海南文昌, 571339

**摘 要** 为提高以大蜡螟为替代寄主繁育棕榈重要害虫红脉穗螟幼虫寄生蜂---褐带卷蛾茧蜂的增殖效果, 比较了 100 目管、60 目管、透明网盒、顶透瓶和透气离心管 5 种繁育器材对褐带卷蛾茧蜂的室内繁育效果。研究表明, 供试的器材均可进行褐带卷蛾茧蜂的繁育, 但繁育效果存在差异, 其中 60 目管寄生效果较佳, 表现在寄主被成功寄生率相对较高, 平均达到 80%, 单雌出蜂数最高, 平均为 24.13 只, 被成功寄生的寄主单头出蜂率亦最高, 为 30.11 头, 其次为 100 目管、透明网盒、顶透瓶, 而透气离心管饲养效果较差。

**关键词** 饲养器材; 褐带卷蛾茧蜂; 繁育效果; 寄生

---

**基金项目** 海南省重大科技计划项目 (zdkj201817); 热带木本油料创新团队项目 (1630152017010)。

**第一作者简介** 吕朝军, 男, 1980 年 7 月生, 博士, 副研究员, 主要从事棕榈有害生物综合防治研究, lcj5783@126.com。

# 黄皮果实发育过程中蔗糖和柠檬酸代谢机理研究

彭程, 陆育生, 邱继水, 林志雄, 常晓晓  
广东省农业科学院果树研究所优稀水果研究室

**摘要** 黄皮属于芸香科黄皮属植物, 在中国有广泛的商业栽培, 其中无核黄皮是商业种植面积最大的黄皮品种。可溶性糖和有机酸是果实风味重要的组成部分以及对果实感官品质有重要的影响。迄今为止, 还未见关于无核黄皮果实发育和成熟过程蔗糖和柠檬酸的积累及其动态变化, 以及调控蔗糖和柠檬酸含量的关键调控基因或代谢通路的报道。本研究以无核黄皮发育过程中不同时期果实为材料, 通过广泛靶向代谢组学测定不同时期蔗糖和柠檬酸及其相关代谢物含量变化情况, 并比较果实发育至成熟中各时期的转录组学数据来鉴定这些物质积累的关键调控基因或代谢通路。果实成熟前 (PDQ 至 ZSQ), 主要是氨基酸、核苷酸等基础物质的合成与利用。本研究可知蔗糖、柠檬酸积累和代谢相关的关键基因被鉴定出来。这些差异表达基因编码 sucrose synthase (SuSy), sucrose-phosphate synthase (SPSs), insoluble acid invertases (IAI), NAD-dependent malate dehydrogenase (NAD-MDH), trehalose 6-phosphate synthase (TPS), ATP citrate lyase (ACL)。本研究利用转录组学和代谢组学联合分析发现在果实成熟过程中柠檬酸主要降解途径 GABA shunt、glyoxylate cycle 未被激活或者活性较低, 只有少量的柠檬酸通过 acetyl-CoA pathways 转化成其他物质。这就是无核黄皮果实成熟后柠檬酸含量大量累积在果肉细胞的主要原因。

# *SlEnY2* 响应非生物胁迫的功能初探

王琪琦, 马 方, 党宁宁, 战祥强  
西北农林科技大学, 陕西, 杨凌, 712100

**摘 要** 番茄 (*Solanum lycopersicum*) 不耐 38°C 以上的高温和 10°C 以下的低温, 对干旱和盐胁迫等非生物胁迫敏感。EnY2 转录因子是一种转录和 mRNA 输出因子, 在番茄非生物逆境胁迫响应中的功能尚未有报道。本研究以野生型番茄品种 *S. lycopersicum* Mill.cv.*Ailsa Craig* (简称 AC) 为材料, 对 AC 进行高温、冷、盐、干旱、外源植物激素 ABA、JA、SA 处理, 发现这些胁迫和激素均能诱导 *SlEnY2* 基因的上调表达, 其中高温最显著。利用野生型、过表达系及 CRISPR-Cas9 敲除株系, 分别进行高温、低温、PEG 模拟干旱和 NaCl 处理, 发现敲除系植株都是最敏感, 电解质渗透最多, 叶绿素含量最低、超氧阴离子及抗氧化酶的活性显著低于野生型和过表达系, 脯氨酸的含量更高, 而过表达系的趋势刚好与之相反, 表明 *SlEnY2* 的上调表达增强了番茄对非生物胁迫的抗性。*SlEnY2* 转录因子不能转录自激活, 利用酵母双杂交筛选出一些候选的互作蛋白, 可能与胁迫响应相关, 因此, *SlEnY2* 转录因子可通过调控与其互作的胁迫应答基因来调节胁迫响应。

**关键词** 番茄; *SlEnY2*; 非生物胁迫;

# 澳洲坚果 MiMYB1 基因克隆及生物信息学分析

王文林<sup>1</sup>, 肖海艳<sup>1</sup>, 郑树芳<sup>1</sup>, 谭秋锦<sup>1</sup>, 覃振师<sup>1</sup>, 黄锡云<sup>1</sup>, 贺鹏<sup>1</sup>, 汤秀华<sup>1</sup>, 许鹏<sup>1</sup>, 王立丰<sup>2</sup>, 陈海生<sup>1</sup>

1.广西南亚热带农业科学研究所, 广西龙州, 532400 ;2.农业农村部橡胶树生物学与遗传资源利用重点实验室/省部共建国家重点实验室培育基地-海南省热带作物栽培生理学重点实验室/农业农村部儋州热带作物科学观测实验站/中国热带农业科学院橡胶研究所, 海南海口, 571101

**摘要** 【目的】克隆澳洲坚果 MiMYB1 基因, 利用生物信息学对 MiMYB 进行分析预测其结构和功能, 为研究澳洲坚果 R2R3-MYB 家族转录因子成员在澳洲坚果产量形成中的作用机制提供理论参考。【方法】利用 PCR 技术从澳洲坚果品种“桂热一号”叶子中克隆 MiMYB1 基因, 将其进行生物信息学分析预测。【结果】克隆获得的 MiMYB1 基因 cDNA 序列全长 1205bp bp, 开放阅读框(ORF)1059 bp, 编码 353 个氨基酸。MiMYB1 具有两个 SANT 保守结构域, 属于 R2R3-MYB 家族, 是无跨膜结构、无信号肽且定位细胞核的不稳定亲水蛋白。系统发育进化分析 MiMYB1 与荷花 NnMYB39 氨基酸序列亲缘关系最近, 在拟南芥中, MiMYB1 与 AtMYB41 亲缘关系最近, MiMYB1、AtMYB41、AtMYB74、AtMYB102 聚类为 S11 亚族。【结论】克隆 MiMYB1 基因并分析其结构及功能, 为深入阐明其在澳洲坚果的产量形成中的机制提供理论参考。

## Cloning and bioinformatics analysis of MiMYB1 gene from *Macadamia Integrifolia*

Wang Wenlin<sup>1</sup>, Xiao Haiyan<sup>1</sup>, Zheng Shufang<sup>1</sup>, Tan Qiu jin<sup>1</sup>, Qin Zhenshi<sup>1</sup>, Huang Xiyun<sup>1</sup>, He Peng<sup>1</sup>, Tang Xiuhua<sup>1</sup>, Xu Peng<sup>1</sup>, Wang Lifeng<sup>2</sup>, Chen Haisheng<sup>1</sup>

1.Guangxi South Subtropical Agricultural Research Institute, Longzhou, Guangxi 532400;2.Key Laboratory of Biology and Genetic Resources of Rubber Tree, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, P. R. China/State Key Laboratory Incubation Base for Cultivation & Physiology of Tropical Crops/ Danzhou Investigation & Experiment Station of Tropical Crops, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, P. R. China/Rubber Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou, Hainan 571101, P. R. China

**Abstract** 【Objective】The MiMYB1 gene from *Macadamia Integrifolia* was cloned and analyzed by bioinformatics to predict the structure and function of MiMYB1, which provided the theoretical reference in the yield formation mechanism of *Macadamia Integrifolia*. 【Method】The MiMYB1 gene was cloned from the leaves of *Macadamia Integrifolia* “GUIRE1” variety by PCR technique and predicted by Bioinformatics analysis. 【Result】The cDNA sequence of MiMYB1 (MN254975) gene obtained by cloning is 1205 bp in length, has 1059 bp open reading frame (ORF), encoding 353 amino acids. MiMYB1 has two SANT conserved domains belonging to the R2R3-MYB family. It is an unstable hydrophilic protein that has no transmembrane structure, no signal peptide and localizes the nucleus. Phylogenetic analysis showed that the relationship between the amino acid sequence of *Macadamia Integrifolia* and the NnMYB39 was the closest. In Arabidopsis, MiMYB1 was clustered into S11 subfamily, share high similarity with AtMYB41, AtMYB41, AtMYB74, and AtMYB102. 【Conclusion】The MiMYB1 gene was cloned and the structure and function of MiMYB1 were predicted. It provides a theoretical reference for clarification of the yield formation mechanism in *Macadamia Integrifolia*.

**Keywords** *Macadamia Integrifolia*; MiMYB1; gene cloning; Bioinformatics analysis

# 木薯蔗糖转化酶 MeCWINV3 通过调控糖的源库分配影响储藏根产量

吴晓运<sup>1,2, #</sup>, 严 炜<sup>1,3,4, #</sup>, 李亚男<sup>3</sup>, 刘光华<sup>3</sup>, 崔展飞<sup>1,2</sup>, 姜太玲<sup>3</sup>, 马秋香<sup>1</sup>, 罗丽娟<sup>4\*</sup>, 张 鹏<sup>1,2,\*</sup>

1.中国科学院分子植物科学卓越创新研究中心/植物生理生态学研究所; 2.中国科学院大学; 3.云南省农业科学院热带亚热带经济作物研究所; 4.海南大学热带农林研究所热带生物资源可持续利用重点实验室

**摘 要** 储藏根是光合同化产物积累的主要库器官, 直接反映木薯的产量和生产力。然而, 从木薯叶片到储藏根的糖分配调控机制尚未阐明。细胞壁转化酶参与维管束植物韧皮部卸载过程中蔗糖的水解, 控制植物的发育和库容, 但在木薯等根类作物中却很少被研究。*MeCWINV3* 编码木薯典型的细胞壁转化酶, 主要表达于维管束中。该基因在叶片中高度表达, 尤其是成熟叶片, 且响应昼夜节律。当木薯中过表达 *MeCWINV3* 时, 叶片向储藏根的糖输出受到显著抑制, 叶片中的蔗糖水解过程加速, 临时性淀粉降解受到抑制, 临时性淀粉积累增加, 植株生长受阻。在过表达植株中, 叶片衰老进程加快, 衰老相关基因表达上调。由于叶片中的可溶性糖向库的分配显著减少, 储藏根发育也被延迟。结果表明, 由于转基因植物储藏根中的可溶性糖不足, 淀粉合成基因如 ADP 葡萄糖焦磷酸化酶 (*ADPase*)、淀粉粒结合淀粉合成酶 I (*SSI*) 和淀粉分支酶 I (*SBEI*) 的转录水平显著降低。这些结果说明, *MeCWINV3* 调控木薯可溶性糖的源库分配, 维持木薯的糖平衡, 从而影响木薯储藏根的产量。

---

**第一作者** 吴晓运, 1990 年生, 女, 博士研究生。研究方向: 木薯蔗糖代谢。联系方式: xywu@sibs.ac.cn。# 共同第一作者, \* E-mail: 990908@hainu.edu.cn; zhangpeng@sibs.ac.cn。

# 马铃薯叶缘黄化基因克隆以及功能验证

杨中敏<sup>1</sup> 冯爽爽<sup>2</sup> 唐 蝶<sup>3</sup> 张黎冬<sup>4</sup> 张春芝<sup>3</sup>

1.陕西, 杨陵 西北农林科技大学, 园艺学院; 2.江苏, 南京 南京农业大学, 园艺学院; 3.广东, 深圳 中国农业科学院, 深圳农业基因组研究所; 4.云南, 昆明 云南师范大学, 马铃薯科学研究院

**摘要** 马铃薯为茄科茄属植物, 是一种粮菜兼用的重要作物, 是世界第三大粮食作物。马铃薯的块茎繁殖方式以及四倍体遗传特性使得马铃薯育种进程缓慢。因此越来越多的科学家呼吁在二倍体水平进行马铃薯的再驯化, 将马铃薯驯化成种子繁殖作物。实生种子育种是以四倍体或者二倍体亲本自交的方式进行, 自交不亲和和自交衰退是培育自交系过程中的绊脚石。本实验在此前提下, 发现了一个与植物叶片生长相关的衰退基因。对控制该性状的基因进行图位克隆以及候选基因的筛选, 将 *StYM* 定位在 ch 05 约 30kb 的区间, 并初步确定了候选基因。对 *StYM* 进行序列分析以及表达特征分析, 结果表明 *StYM* 衰退表型与正常表型基因结构上有 4000bp 的缺失, 同时定量分析显示, 衰退植株该基因的表达量明显低于正常植株的。目前, 该基因正在进行马铃薯的遗传转化。本研究将为了了解马铃薯自交衰退的分子机制提供一个小案例, 另外还可了解马铃薯在生长发育过程中的一些遗传机理。

**关键词** 马铃薯; 自交衰退; 图位克隆; 表达分析; 功能验证



# *NHX1* 和 *eIF4A1* 双价的转基因甘薯显示出对干旱胁迫增强的耐受性

张延娣<sup>1,2</sup>, 邓改芳<sup>1,2</sup>, 范维娟<sup>1</sup>, 袁 凌<sup>3</sup>, 王红霞<sup>1,3</sup>, 张 鹏<sup>1,2\*</sup>

1.中国科学院分子植物科学卓越创新中心/植物生理生态研究所,上海 200032;2.中国科学院大学,北京 100049;  
3.美国肯塔基大学植物与土壤科学系和肯塔基州烟草研究与发展中心,肯塔基州 40546

**摘 要** 植物在自然界中进化出多种应激适应策略。为了提高甘薯对干旱胁迫的抗性,过表达拟南芥  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  逆向转运蛋白基因 *NHX1* 和翻译起始因子基因 *eIF4A1* 的转基因甘薯表现出抗旱的特征。在没有干旱处理的情况下, *NHX1-eIF4A1* 双价系 (NE 系) 与野生型 WT (苏薯 2 号) 正常地生长,无明显差异。在干旱处理 18 天后, NE 系植株显示出正常生长,延迟叶片衰老并且比 WT 植物产生更多的根。与 WT 植株相比,在 NE 系中检测到更高水平的活性氧清除能力,如通过减少的  $\text{H}_2\text{O}_2$  积累以及增加的超氧化物歧化酶活性和脯氨酸含量所表明的。NE 植株的相对离子渗漏率和丙二醛含量降低,表明完整膜系统的维持得到改善。与干旱胁迫条件下的 WT 植株相比, NE 植株和过表达 *NHX1* 的植株系 (N 系) 显示出较大的地上部分和发育良好的根系,这可能是由于抗氧化能力的提高导致的,且 NE 植株显示出比 N 系植株更好的 ROS 清除能力。在正常生长条件下,所有 N 和 NE 系植株都能产生正常的贮藏根,其产量与 WT 相似。这些结果证明了可以通过双价过表达参与离子区室化和翻译起始因子的基因来增强甘薯生产力的潜力。

**关键词** 甘薯; 干旱胁迫; *NHX1*; *eIF4A1*; 基因堆积; 过表达; 生理参数; 表型

---

**第一作者** 张延娣, 1994 年生, 女, 博士在读, 研究方向: 甘薯储藏根发育的分子机制。E-mail: ydzhang2016@sibs.ac.cn。

\* E-mail: zhangpeng@sibs.ac.cn。

# 莲雾上桔小实蝇发生规律

周双云<sup>1,2</sup>, 龙 兴<sup>1,2</sup>, 唐文忠<sup>1,2</sup>, 刘增亮<sup>3</sup>, 方 仁<sup>1,2</sup>, 邓 彪<sup>1,2</sup>, 尧金燕<sup>1,2\*</sup>

1.广西农业科学院园艺研究所; 2.广西特色水果产业创新团队热带优稀水果综合试验站(南宁站); 3.广西农业科学院微生物研究所

**摘 要** 通过人工诱捕、定期田间观察,对2018年广西南宁市莲雾上桔小实蝇雄虫种群动态及日活动规律进行了调查,研究了该虫对不同品种莲雾趋性,以期了解桔小实蝇在莲雾上发生规律,为控制桔小实蝇对莲雾的危害奠定基础,进而为莲雾种质资源保存及利用提供保障。结果表明,南宁莲雾上桔小实蝇发生规律跟气候条件、果实成熟期有关,其对果实的颜色、气味、方位等有一定的趋性。桔小实蝇始见期是3-4月,终见期为11月,发生动态呈双峰型,最高峰在8月中旬;每天9:00-10:00 活动较多,18:00-19:00次之,最佳诱捕期为5-9月。此外,桔小实蝇更趋于树的西面取食,且偏嗜颜色鲜艳、叶片遮盖少的莲雾;产卵偏向于颜色鲜艳、成熟的果实。

**关键词** 莲雾; 桔小实蝇; 发生规律

---

**基金项目** 广西农业科学院科技发展基金(桂农科2016ZX08)和广西热带优势果树种质资源收集引进与育种利用(2015YT48)资助。

**第一作者** 周双云,女,硕士,助理研究员,主要从事果树种质资源保存与病虫害防治。E-mail:shuangyunzhou@163.com。

**\*通讯作者** 尧金燕,女,博士,副研究员。jinyan.yao@gxaas.net。

# 嗜菌异小杆线虫 H06 品系对红棕象甲幼虫的室内致病力

钟宝珠，吕朝军，李朝绪，阎伟，黄山春，覃伟权  
中国热带农业科学院椰子研究所 海南 文昌 571339

**摘要** 【目的】为探讨利用昆虫病原线虫嗜菌异小杆线虫 H06 防治红棕象甲的可行性，在室内研究了昆虫病原线虫对红棕象甲幼虫的致死效果和毒力水平。【方法】采用微量点滴法测试线虫不同施药剂量和时间对红棕象甲 3 龄幼虫的致病效果，并观察感染后红棕象甲幼虫的形态学特征。【结果】嗜菌异小杆线虫 H06 对红棕象甲具有一定的致死作用，随着线虫接种剂量的增加，红棕象甲死亡率增加；毒力测定结果显示，随着处理时间的延长，LD<sub>50</sub> 值呈现降低的趋势，同时随线虫接种剂量的提高，对红棕象甲幼虫的 LT<sub>50</sub> 逐渐减少；形态学观察结果显示，红棕象甲幼虫被嗜菌异小杆线虫 H06 感染后，虫体呈现出僵硬皱缩、体色变褐、身体肿胀直至最后虫体腐烂、线虫游离出的过程。【结论】嗜菌异小杆线虫 H06 品系对红棕象甲低龄幼虫具有一定的控制潜力。

**关键词** 昆虫病原线虫；嗜菌异小杆线虫；红棕象甲；致病力；毒力

---

**基金项目** 海南省自然科学基金项目 (318MS105)；海南省重大科技计划项目 (zdkj201817)；热带木本油料创新团队项目 (1630152017010)。

**第一作者简介** 钟宝珠，1981 年 2 月，女，副研究员，主要从事热带害虫生物防治技术研究，baozhuz@163.com。

# Genome-wide analyses of genes that encode Light-Harvesting Chlorophyll a/b-Binding Protein in apple (*Malus domestica*) allows the identification of *MdLHcb4.3* conferring tolerance to drought and osmotic stresses in plants

Shuang Zhao <sup>a,†</sup>, Ke Mao <sup>a,†</sup>, Jiawei Luo <sup>a</sup>, Bingyao Xu <sup>a</sup>, Haibo Wang <sup>b</sup>, Qinglong Dong <sup>a</sup>, Yanpeng Wang <sup>a</sup>, Kaiyan Yang <sup>a</sup> and Fengwang Ma <sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> State Key Laboratory of Crop Stress Biology for Arid Areas/Shaanxi Key Laboratory of Apple, College of Horticulture, Northwest A&F University, Yangling, 712100, China; <sup>b</sup> Shandong Institute of Pomology, Tai'an, 271000, China

**Abstract** In higher plants, the light-harvesting chlorophyll a/b-binding (LHC) gene family includes LHCA and LHCB subfamilies, which encode proteins that are associated with the light-harvesting complexes of photosystem I and photosystem II. LHC proteins play different roles in various critical processes in plant growth, development, and abiotic stress responses. At present, the *LHC* gene family in the important fruit crop apple (*Malus domestica* Borkh.) has not been well studied. In this study, we identified 28 *LHC* genes in the apple genome, and 20 of them were cloned. Phylogenetic analysis showed that the *LHC* gene family could be classified into three major classes. Sequence alignment, phylogenetic, and conserved domain analyses showed that the apple LHC proteins were highly conserved between different groups. Moreover, multiple sequence alignments of LHC family members of apple, *Arabidopsis*, and *Oryza* showed that LHC proteins were highly structurally conserved in various species. Promoter analysis of apple *MdLHCs* found multiple cis-acting elements, which were involved in light, biotic stress, abiotic stress, and hormonal responses. Expression analysis indicated that *MdLHCs* expressed in all assayed apple organs at different levels, and they showed different expression patterns under water deficit stress. To investigate the function of *MdLHC* genes in regulating plant stress resistance, transgenic experiments were carried out. Over-expression of *MdLHcb4.3* in *Arabidopsis* and in apple calli conferred tolerance to drought and osmotic stress. Taken together, these results demonstrate important roles of LHC proteins in regulating resistance to drought and osmotic stress and provide valuable information for further study of their function in apple.

---

Shuang Zhao: [zhsh812972738@126.com](mailto:zhsh812972738@126.com); Ke Mao: [maoke2002@163.com](mailto:maoke2002@163.com); Jiawei Luo: [2812991088@qq.com](mailto:2812991088@qq.com); Bingyao Xu: [1014426381@qq.com](mailto:1014426381@qq.com); Haibo Wang: [wanghaibo992@126.com](mailto:wanghaibo992@126.com); Qinglong Dong: [dong19850412@163.com](mailto:dong19850412@163.com); Yanpeng Wang: [1107306445@qq.com](mailto:1107306445@qq.com); Kaiyan Yang : [1018548658@qq.com](mailto:1018548658@qq.com); Corresponding author. Postal address: State Key Laboratory of Crop Stress Biology for Arid Areas/Shaanxi Key Laboratory of Apple, College of Horticulture, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China. E-mail address: [fwm64@sina.com](mailto:fwm64@sina.com) (F. Ma); Tel: +86-029-8708-2648 (F. Ma).

# 不同繁育器材对褐带卷蛾茧蜂繁育效果比较

吕朝军，钟宝珠，覃伟权，李朝绪，阎伟，韩民光  
中国热带农业科学院椰子研究所，海南文昌，571339

**摘要** 为提高以大蜡螟为替代寄主繁育棕榈重要害虫红脉穗螟幼虫寄生蜂——褐带卷蛾茧蜂的增殖效果，比较了 100 目管、60 目管、透明网盒、顶透瓶和透气离心管 5 种繁育器材对褐带卷蛾茧蜂的室内繁育效果。研究表明，供试的器材均可进行褐带卷蛾茧蜂的繁育，但繁育效果存在差异，其中 60 目管寄生效果较佳，表现在寄主被成功寄生率相对较高，平均达到 80%，单雌出蜂数最高，平均为 24.13 只，被成功寄生的寄主单头出蜂率亦最高，为 30.11 头，其次为 100 目管、透明网盒、顶透瓶，而透气离心管饲养效果较差。

**关键词** 饲养器材；褐带卷蛾茧蜂；繁育效果；寄生

---

**基金项目** 海南省重大科技计划项目 (zdkj201817)；热带木本油料创新团队项目 (1630152017010)。

**第一作者简介** 吕朝军，男，1980 年 7 月生，博士，副研究员，主要从事棕榈有害生物综合防治研究，lcj5783@126.com。

# 木薯块根均一化酵母双杂交 cDNA 文库构建

潘冉冉<sup>1,2</sup>

1.中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所 农业部木薯种质资源保护与利用重点实验室,海口 570228;2.海南大学热带作物学院,海口 570228

**摘要** 淀粉是木薯的主要贮存物质,其合成是复杂的生化过程,受到一系列酶的调控,包括蔗糖合成酶(SUS)、ADPG 焦磷酸化酶(AGPase)、淀粉合成酶(SSS)、淀粉分支酶(SBE)、淀粉去分支酶(DBE)以及淀粉磷酸化酶(PHO)等。这些酶之间相互协作、相互影响,共同决定淀粉含量和结构。为筛选出淀粉合成中新的关键蛋白,解析木薯块根淀粉积累中蛋白间的相互作用机制,本研究以木薯 SC9 形成期的块根组织样品为材料,构建酵母双杂交文库,并对其进行了评价。试验采用 SMART<sup>®</sup> cDNA 合成技术反转录合成 cDNA 第一链,并通过 LD-PCR 合成双链 cDNA(ds-cDNA),采用双链特异性核酸酶(DSN)对 ds-cDNA 进行均一化处理,并经过 CHROMA SPIN+TE-400 柱子去除短片段的 cDNA,纯化后的 cDNA 和线性化载体 pGADT7-Rec 共转化酵母 Y187 感受态细胞构建均一化酵母双杂交 cDNA 文库。对转化后的菌落进行统计和计算,得出:初始文库独立克隆为  $1.02 \times 10^8$  cfu。取收集后的文库菌液进行稀释涂布,计算文库滴度。结果显示,所构建文库的滴度  $2.94 \times 10^7$  cfu·mL<sup>-1</sup>。重组率为 96%,平均插入片段在 1.0kb 左右。本研究构建了一个木薯块根均一化酵母双杂交 cDNA 文库,为进一步研究木薯淀粉合成途径及其调控的分子机制提供借鉴。

**关键词** 木薯;淀粉;酵母双杂交 cDNA 文库;均一化

# 南瓜芋香味挥发性物质解析

李俊星<sup>1</sup>, 钟玉娟<sup>1</sup>, 王雯雯<sup>2</sup>, 罗剑宁<sup>1</sup>, 吴海滨<sup>1</sup>, 龚浩<sup>1</sup>, 黄河勋<sup>1</sup>

1.广东省农业科学院蔬菜研究所/广东省蔬菜新技术研究重点实验室, 广东 广州 510640; 2.安捷伦科技(中国)有限公司, 北京 100102

**摘要** 芋香味是南瓜种质资源中一种特殊的香味性状。本研究以芋香味南瓜资源的果实与叶片作为研究对象, 通过顶空固相微萃取结合气相色谱-质谱联用技术全面解析南瓜芋香味挥发性物质组分。结果表明: 芋香味南瓜果实共定性鉴别香气物质 31 种。从化合物分类上看, 31 种化合物主要包括醛、醇、酮、酯、含氮化合物、内酯、苯及烯类等物质, 其中醛类物质最多达到 12 种, 其次为酮类、含氮化合物和醇类, 分别为 6 种、4 种和 4 种。从单个化合物含量上来看, 反式-2-己烯醛含量最高, 其次为 2-乙酰基-1-吡咯啉。而叶片中定性鉴别香气物质 28 种, 其中醇类物质最多达到 10 种, 其次为醛类和酮类, 分别为 8 种和 4 种。其中单个化合物含量最高的为苯甲醛, 其次分别为苯甲醇、1-辛烯-3-醇、3-己烯-1-醇、2-乙酰基-1-吡咯啉。随后利用气相色谱-嗅闻(GC-O)技术结合物质稀释法进一步明确芋香味性状主要贡献物, 分别对果实与叶片的挥发性物质进行不稀释、1:3 稀释、1:9 稀释、1:27 稀释及 1:81 稀释处理, 结果表明, 在挥发性物质 1:81 稀释条件下, 果实中能检测到 4 种化合物, 其中定性 3 种, 分别是 2-乙酰基-1-吡咯啉、反, 顺-2,6-壬二烯醛及 2,6,6-三甲基-2-环己烯-1,4-二酮。而在叶片中同样检测到 4 种化合物, 定性其中 3 种, 分别为 2-乙酰基-1-吡咯啉、3-辛醇及癸醛。在果实和叶片挥发性物质嗅闻强度最高的均为 2-乙酰基-1-吡咯啉, 结果表明 2-乙酰基-1-吡咯啉(2-AP)为南瓜芋香味主要贡献物。最后, 以芋香味南瓜未授粉、授粉后 5 天、授粉后 15 天、授粉后 25 天、授粉后 35 天、授粉后 45 天果实为研究对象, 比较了 2-AP 在不同发育时期的变化趋势, 2-AP 在授粉后 5 天果实中含量最高, 在未授粉、授粉后 15 天、授粉后 25 天及授粉 25 天的果实中含量相似, 而在成熟后期果实中呈现显著下降。同时, 2-AP 在不同发育时期叶片中的变化趋势表明, 其在植株发育早期叶片和高节位幼嫩叶片中含量要高, 并且随着叶片的衰老含量降低。南瓜芋香味性状挥发性物质解析, 为后续芋香味性状深入研究、南瓜品质管理奠定了基础。

---

**作者简介** 李俊星(1985-), 男, 副研究员, 博士, 研究方向: 南瓜品质分析及遗传育种, 邮箱: lijunxing@gdaas.cn。

# 25%“根康”乳油对橡胶树根病的毒力测定及田间防效评价

贺春萍<sup>1</sup>，李锐<sup>1</sup>，谢立<sup>2</sup>，梁艳琼<sup>1</sup>，吴伟怀<sup>1</sup>，郑金龙<sup>1</sup>，易克贤<sup>1\*</sup>

1.中国热带农业科学院环境与植物保护研究所，农业农村部热带农林有害生物入侵检测与控制重点实验室，海南省热带农业有害生物检测监控重点实验室，海口 571101；2.海南大学林学院，海口 570228

**摘要** 根病是橡胶树的一类重要病害，是由多种不同真菌为害胶树根系而引起的一类传染性土传病害，是限制我国橡胶单产提高的重要生物因子。该病可引起胶树根颈腐烂，植株枯死，使胶农受损巨大。一直以来，国内主要采取挖沟隔离、十三吗啉灌根等措施来防治橡胶树根病，但因劳动力成本高、十三吗啉昂贵等原因难以实现大面积推广应用。为了筛选出防治橡胶树根病的高效环保低成本药剂，作者将前期筛选出的抑菌效果最佳的两种杀菌剂原药按不同比例混配对橡胶树主要根病病原菌进行室内毒力测试和田间药效试验。结果表明，杀菌剂原药 X 对橡胶红根病菌、褐根病菌的 EC<sub>50</sub> 值分别为 0.034mg/L 和 0.0569mg/L，杀菌剂原药 Y 对橡胶红根病菌、褐根病菌的 EC<sub>50</sub> 值分别为 0.4414mg/L 和 0.0929mg/L；当杀菌剂 X 与杀菌剂 Y 的质量比为 20:5 混配时（复配剂暂定名“根康”），对橡胶红根病菌、褐根病菌的共毒系数（CTC）分别达 130.7 和 123.3，具有明显的增效作用。田间药效表明，在橡胶树根病区，使用 25%“根康”乳油 30~40mL/株灌根防治，4 次药后 60d 防效高达 78.67~90.80，同剂量条件下其防效与对照药剂（十三吗啉）相当，但农药使用量较十三吗啉减少了 65%；通过近 5 年田间防效跟踪和定点观测，其防效稳定。25%“根康”乳油对橡胶树根病具有较好的防治效果，具有广阔的应用前景。

**关键词** 橡胶树根病；红根病菌；褐根病菌；毒力测定；田间防效

**基金项目** 国家天然橡胶产业技术体系建设专项资金资助项目（No. CARS-33-GW-BC1）；国家重点研发计划项目（No. 2018YFD0201100）。

**第一作者** 贺春萍（1974-），女，硕士，研究员；研究方向：植物病理学；E-mail：hechunpp@163.com。

**通讯作者** 易克贤，博士，研究员。E-mail：yikexian@126.com。



# 氯化钙处理对菠萝采后黑心病及贮藏品质的影响

谷 会<sup>1</sup>，侯晓婉<sup>1</sup>，贾志伟<sup>1</sup>，宋康华<sup>1</sup>，张鲁斌<sup>1</sup>

1.中国热带农业科学院南亚热带作物研究所/海南省热带园艺产品采后生理与保鲜重点实验室，广东 湛江 524091

**摘 要** 菠萝在我国为热带和亚热带地区四大名果之一，菠萝产业已成为我国热区农民增收的重要途径。然而，目前仍有诸多问题影响着我国菠萝现代化和产业化发展，其中黑心病是菠萝采后主要问题之一，发病严重的年份发病率可达 70-80%，给农民、贮运及加工企业等造成很大的经济损失。因此，本文以我国菠萝主栽品种‘巴厘’为试验材料，研究了氯化钙浸泡果柄处理对菠萝采后黑心病及贮藏品质的影响，并对处理后果实的抗氧化性，酚类物质代谢以及水溶性钙含量进行了测定。研究结果表明：1%的氯化钙处理明显降低菠萝黑心病的病情指数，提高果实过氧化物酶(peroxidase, POD)的活性和总抗氧化能力(total antioxidant capacity, T-AOC)，降低苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia-lyase, PAL)和多酚氧化酶(polyphenol oxidase, PPO)的活性，降低总酚的含量；氯化钙处理还延缓了果实 VC 和可溶性糖含量的下降，提高了果实水溶性总钙和胞内钙的含量，从而延缓了菠萝采后贮藏品质的劣变，氯化钙处理对可滴定酸含量的影响不大。由此推测，氯化钙处理可能通过提高果实的抗氧化性，降低酚类物质的代谢水平和提高水溶性胞内钙的含量而减轻了菠萝黑心病的发生。

**关键词** 菠萝；氯化钙；黑心病；贮藏品质

---

**基金项目** 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助项目(1630062016010,1630062017031, 1630062019027)；湛江市科技计划项目农业攻关专项(2016A03015)；院级创新团队项目(17CXTD-20)

第一作者简介 谷会(1980-), 男, 副研究员, 硕士, 研究方向为果蔬采后贮藏保鲜技术。E-mail: guhui0309@163.com。

# 枯草芽孢杆菌 Czk1 抑菌物质组分分析

梁艳琼, 吴伟怀, 刁金根, 李锐, 郑金龙, 谭施北, 黄兴, 陆英, 贺春萍\*, 易克贤\*  
1. 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所/农业农村部热带作物有害生物综合治理重点实验室/海南省热带农业有害生物检测监控重点实验室/海南省热带作物病虫害生物防治工程技术研究中心, 海口, 571101

**摘要** 枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*) Czk1 是分离自染病橡胶树树根组织的一株拮抗细菌, 对橡胶树炭疽病菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)、白粉病菌(*Oidium heveae*)和五种根病病菌(红根病菌 *Ganoderma pseudoferreum*、褐根病菌 *Phellinus noxius*、紫根病菌 *Helicobasidium compactum*、白根病菌 *Rigidoprus lignosus* 和臭根病菌 *Sphaerostilbe repens*) 均具有较强的抑菌活性。产生抑菌物质是 Czk1 发挥作用的主要因素, 为此, 利用液相色谱-质谱联用(Liquid Chromatography-Mass Spectrometer, LC-MS)法鉴定其抑菌物质, 通过对橡胶树两种主要根病病菌(红根病菌、褐根病菌)和橡胶炭疽病菌进行毒力测定初步确定其关键抑菌物质。通过 LC-MS 正负扫描获得 141 种物质, 再将这 141 种物质进行搜索验证, 最终获得 36 种疑似抑菌物质(15 种酸类、1 种酯类、4 种嘌呤类、4 种胺类、2 种醇类、10 种其他类)。通过毒力测定我们发现对红根病菌、褐根病菌起关键抑菌作用的物质是 DL-B-苯乳酸( $EC_{50}$  分别为 0.00821525 mg/L 9、0.008741231mg/L)和萘啶酸( $EC_{50}$  分别为 0.017347761 mg/L、0.019189969 mg/L), 对炭疽病菌其关键抑菌作用物质是苏尼替尼( $EC_{50}$  为 0.097523 mg/L)。这也表明了不同病原真菌对抑菌物质具有不同的敏感性。该研究结果可为利用这些抑菌物质进行橡胶树病害的防治提供了理论参考和物质基础。

**基金项目** 海南省科协青年科技英才学术创新计划项目(QCXM201714); 国家天然橡胶产业技术体系建设项目(No.nycyt-34-GW2-4-3; CARS-34-GW8)。

**作者简介** 梁艳琼(1985-), 女, 苗族, 助理研究员; 研究方向: 植物病理; 电话: 0898-66969238; E-mail: yanqiongliang@126.com。

**通讯作者** 贺春萍(1974-), 女, 硕士, 研究员; 研究方向: 植物病理; E-mail: hechunpp@163.com; 易克贤(1964-), 男, 博士, 研究员; 研究方向: 分子抗性育种。E-mail: yikexian@126.com。

# 小粒咖啡果皮多酚提取工艺优化及其抗氧化活性研究

王彦兵, 王晓媛, 匡 钰, 李锦红, 李国明, 刘小琼, 黄家卫, 李守岭\*  
云南省德宏热带农业科学研究所, 云南瑞丽 678600

**摘要** 以小粒咖啡果皮为原料, 乙醇溶液为提取剂, 优化咖啡果皮多酚的超声辅助提取工艺条件。在单因素的基础上, 选择料液比、乙醇体积分数、提取时间、提取温度 4 个因素为影响因素, 咖啡果皮多酚提取率为响应值, 采用 Box-Behnken 试验设计方法, 研究各自变量及其交互作用对咖啡果皮多酚提取率的影响, 并比较咖啡果皮多酚体外抗氧化活性。结果表明, 在超声功率 200W 条件下, 咖啡果皮多酚的最佳提取工艺条件为料液比 1:54 g/mL, 乙醇体积分数 56%, 提取时间 42 min, 提取温度 69 °C, 在此条件下多酚提取率为  $34.68 \pm 0.03$  mg/g, 与预测值相符, 表明回归模型拟合度及重现性较好, 优化工艺切实可行。咖啡果皮多酚总还原能力高于相同浓度下 L-抗坏血酸, 对 1, 1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH) 自由基、羟自由基和超氧阴离子自由基有一定的清除能力, 其半清除浓度 ( $IC_{50}$ ) 值分别为  $2.10 \mu\text{g/mL}$ 、 $314.97 \mu\text{g/mL}$ 、 $322.02 \mu\text{g/mL}$ , 其清除能力分别是 L-抗坏血酸的 0.99 倍、0.52 倍、0.12 倍。体外抗氧化实验表明咖啡果皮多酚具有一定的体外抗氧化活性, 可以有效清除 DPPH 自由基、羟自由基和超氧阴离子。本研究结果为咖啡果皮多酚的综合开发利用提供参考依据。

**关键词** 咖啡果皮, 多酚, 超声辅助, 提取工艺, 抗氧化

## Optimization of Extracting Polyphenol from coffee (*Coffea arabica* L.) Peel and Its Antioxidant Activity

WANG Yan-bing, WANG Xiao-yuan, KUANG Yu, LI Jin-hong, LI Guo-ming, LIU Xiao-qiong, HUANG Jia-wei, LI Shou-ling\*  
Dehong Tropical Agriculture Institute of Yunnan, Ruili 678600, China

**Abstract** The optimization of process parameters for ultrasonic-assisted extraction of polyphenol from coffee (*Coffea arabica* L.) peel was investigated in this study. Using coffee peel as raw material, ethanol solution as the extraction agent, coffee peel polyphenol extraction yield as the response value, based on single-factor tests, Box-Behnken center composite experiment was carried out with four factors, including solid-to-liquid ratio, ethanol concentration, extraction time and extraction temperature. Meanwhile, the antioxidant capacity of polyphenol extracted by the optimal process was studied *in vitro*. The results showed that under the condition of ultrasonic power of 200W, the optimal extraction conditions of polyphenols in coffee peel were as follows: solid-to-liquid ratio 1:54 g/mL, ethanol concentration 56%, extraction time 42 min, extraction temperature 69 °C. Under the above optimum conditions, the polyphenol content of coffee peel reached up to  $34.68 \pm 0.03$  mg/g, which was close to the theoretical value. Tests verify the effectiveness of the model.  $IC_{50}$  of coffee peel polyphenol to 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) free radical, hydroxyl free radical and superoxide free radical was  $2.10 \mu\text{g/mL}$ ,  $314.97 \mu\text{g/mL}$ ,  $322.02 \mu\text{g/mL}$ , and the clearance ability was 0.99 times, 0.52 times and 0.12 times of L-ascorbic acid, respectively. Their reducibility were higher than those of L-ascorbic acid at the same concentrations. The antioxidant activity *in vitro* showed that polyphenol from coffee peel had certain total antioxidant capacity and showed scavenging ability towards DPPH free radicals, hydroxyl free radical and superoxide free radical. These results provided a reference for the extraction, further development and utilization of the coffee peel polyphenol.

**Keywords** coffee peel; polyphenol; ultrasonic assisted; extraction process; antioxidant activity

**基金项目** 农业农村部物种资源保护 (热带作物) 项目(15181301354052710); 云南省重大科技专项计划 (2018ZG014); 云南省科技计划项目 (2016DC026)。

**作者简介** 王彦兵 (1989-), 男, 研究实习员, 研究方向为食品安全检测。E-mail: wongyb@126.com。

**\*通讯作者** 李守岭 (1977-), 男, 副研究员, 研究方向为热带作物栽培。E-mail: lishouling@yeah.net。

# 咖啡拟茎点霉菌 *Phomopsis heveicola* 特异性引物 PCR 检测体系建立

陆 英<sup>1</sup>, 巩佳莉<sup>1,2</sup>, 贺春萍<sup>1</sup>, 吴伟怀<sup>1</sup>, 梁艳琼<sup>1</sup>, 黄 兴<sup>1</sup>, 郑金龙<sup>1</sup>, 刁金根<sup>1</sup>, 谭施北, 易克贤<sup>1\*</sup>

1. 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所, 海口, 571101; 2. 南京农业大学植物保护学院, 南京, 210000

**摘 要** 咖啡是重要的农业贸易商品之一, 其产量、产值及消费量均位居世界三大饮料作物(咖啡, 茶叶, 可可)之首, 每年零售额达 700 亿美元。近年我国咖啡产业迅速发展, 2010-2016 年我国咖啡豆产量平均增长率为 30.94%, 为全球的 12.23 倍。2016-2017 年我国咖啡种植面积约为 12 万 hm<sup>2</sup>, 咖啡豆产量 16.03 万 t, 位列全球第 13 位, 亚洲 4 位。由拟茎点霉(*Phomopsis heveicola*)引起的咖啡叶枯病是咖啡生产上一种新发现病害, 我国主要咖啡产区均有不同程度发生, 是咖啡高产、稳产的主要生物限制因子。为了建立对咖啡叶枯病具有高特异性、高敏感度、易操作的分子检测方法, 本研究通过咖啡拟茎点霉 *P. heveicola* DNA 核糖体转录间隔区 ITS1/ITS4 序列与近源序列作多重比较, 设计一对特异性引物 CPF/CPR, 扩增咖啡叶枯病菌 *P. heveicola* 基因组 DNA, 得到一条大小约为 454bp 的条带。扩增条件为: 95℃ 4min, 95℃ 30s, 58℃ 45s, 72℃ 1min, 35 循环, 72℃ 延伸 5min。供试的 15 个 *P. heveicola* 菌株均能扩增出特异性条带, 对咖啡上分离的其它相似或相近的病原菌则无扩增条带。灵敏度试验结果表明, 在 DNA 水平上引物的灵敏度为  $3.01 \times 10^{-5}$  ng/μL。进一步通过田间健康与疑似发病植株的检测, 结果呈现良好的应用前景, 由此表明, 建立的咖啡叶枯病菌分子检测方法可用于该病菌的分子检测和病害流行的预测。

**关键词** 咖啡叶枯病; 拟茎点霉; PCR 检测体系

**基金项目** 国家重点研发计划项目“特色经济作物化肥农药减施技术集成研究与示范”(2018YFD0201100)资助。

**第一作者** 陆 英(1976-), 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 植物病理学; E-mail: ytluy2010@163.com。

**通讯作者** 易克贤(1963-), 男, 博士, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 抗性育种; E-mail: yikexian@126.com。

# 钝叶草叶斑病抗病性鉴定

郑金龙<sup>1</sup>, 刘文波<sup>3</sup>, 易克贤<sup>1\*</sup>, 习金根<sup>1</sup>, 黄 兴<sup>1</sup>, 吴伟怀<sup>1</sup>, 贺春萍<sup>1\*</sup>, 梁艳琼<sup>1</sup>, 陆 英<sup>1</sup>, 高建明<sup>2</sup>, 张世清<sup>2</sup>, 陈河龙<sup>2</sup>

1. 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所; 农业农村部热带作物有害生物综合治理重点实验室 海南海口 571101; 2. 中国热带农业科学院热带生物技术研究所/农业农村部热带作物生物技术重点开放实验室 海南海口 571101; 3. 海南大学植物保护学院 海南海口 570228

**摘 要** 钝叶草 (*Stenotaphrum helferi*) 为禾本科 (Gramineae) 钝叶草属 (*Stenotaphrum Trin*) 的多年生草本植物, 是一种新型、优良的暖季型草坪草。由新月弯孢霉 (*Curvularia Lunata*) 引起的叶斑病是近年来新发生的病害, 并逐步升级为主要病害, 给钝叶草产业带来极为严重的影响。钝叶草的栽培管理要求较为粗放, 很多地方基本不打药或少打药, 因此, 选育和利用抗病品种 (系) 尤为重要。本研究通过叶片离体接种法和扦插水培接种法对 61 种钝叶草品种 (系) 进行抗病性鉴定。叶片离体接种法结果表明, 钝叶草 11 号 (海南)、44 号 (广西)、45 号 (海南)、49 号 (福建)、52 号 (福建)、56 号对新月弯孢表现较好抗性; 扦插水培接种法结果表明, 钝叶草 30 号 (海南)、44 号 (广西)、45 号 (海南)、47 号 (江苏)、52 号 (福建) 对新月弯孢表现中抗。综合分析扦插水培试验和离体接种试验的结果, 我们可大致判断钝叶草 44 号 (广西)、45 号 (海南)、52 号 (福建) 对于钝叶草叶斑病抗性最强。本研究结果可为今后钝叶草的合理应用推广提供可参考资料。

# Effect of Immature zygotic embryo development stage on in vitro culture for Renong 1 mango

Xu Wentian, Wu Hongxia, Gao Yuyao, Li Li, Liang Qingzhi, Ma Xiaowei, Yao Quansheng, ZHAN Rulin, Wang Songbiao\*  
South Subtropical Crop Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Key Laboratory of Tropical Fruit Biology, Ministry of Agriculture, Zhanjiang, 524091

\*Author for correspondence: wsbcjy@163.com

**Abstract** Somatic embryogenesis is a key platform for genetic improvement of fruit trees by the application of biotechnology, and embryo rescue is an important way to solve the early embryo abortion in fruit trees. Immature embryo or nucellus is the most commonly adopted explant of somatic embryo induction in mango. It had been verified that the embryo development phase affect the induction of somatic embryo or embryo rescue in plants. However, the relation between the embryo development phase and the induction of embryogenic cultures (EMs) or embryo rescue in mango is not very clear up to now. In this study, the ‘Renong 1’ mango embryos from 10 days after pollination (DAP) to 60 DAF were used to determine the the embryo development phase according to microscopic and cytological observation. Embryos from 25 DAP to 60 DAP were cultured in PM0-PM7 medium containing different concentrations of auxin analog (i.e., 2,4-D) and cytokinin analogs (i.e., KT and ZT), and the effect of the embryo development phase and plant growth regulators on the induction of Ems, somatic embryo and zygotic embryo germination were compared.

# Vegetative Propagation of Avocado (*Persea americana*) Rootstock

Li Li, Weiming Li, Rulin Zhan, Wentian Xu, Xiaowei Ma, Hongxia Wu, Qingzhi Liang, Songbiao Wang\*

Key Laboratory of Tropical Fruit Biology of Ministry of Agriculture, National Field Genebank for Tropical Fruit, National Infrastructure for Crop Germplasm Resources, South Subtropical Crops Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, No. 1 Huxiu Road, Mazhang District, Zhanjiang, 52 4019

\*Corresponding author: wsbcjy@163.com

Li Li. Female, 1983. Research assistant. Research fields: physiology of fruit quality. Focus on Mango mainly. E-mail: liliaaa666@163.com

**Abstract** Because of resistances to root rot, cold, salt, and alkali conditions, *Persea americana* Mill. cvs Dusa and Duke 7 are expected to become popular common rootstocks for worldwide commercial avocado production. However, in addition to limited seeds, the exclusive seedling propagation produces rootstocks without uniform vegetative and reproductive growth. More unfortunately, avocado is very difficult to root using conventional vegetative propagation methods. This research investigated the effect of various factors on the rooting of avocado cuttings in order to develop a practical and efficient rooting procedure for selected clonal rootstocks. Shoots were divided into three groups (air layering, normal cutting, and stem-buried etiolation) and treated with different combinations (plant growth regulators, PGRs; soaking time; and culture media), in which orthogonal or randomized-block designs were employed. Rooting rate, average length, average root number, average root dry weight, and rooting quality (Q value) were used as evaluation indicators. The results showed that etiolation treatment of the mother shoot and budding from the mother shoot were the two requisite conditions for avocado shoot rooting. The rooting quality of etiolated buds was greatly impacted by PGR type, concentration, and soaking time; but no significant differences were observed among culture media. Among the many factors, the etiolated buds of both cultivars showed optimal rooting quality and survival rate under the conditions of perlite:vermiculite culture at 1:1, indolebutyric acid concentration of 2,500 mg/L, cuttings of 20 cm with five leaves and semi-hardwood, and dip treatment for 5 s. The rooting rate of Dusa was generally higher than Duke 7 and reached up to 82%.

**Keywords** Dusa, Duke 7, resistant rootstock, etiolation, air-layering, cutting

# 海南荔枝炭疽菌优势种群及群体遗传多样性研究

李少卡<sup>1,2</sup>,陈哲<sup>1</sup>,赵亚<sup>1</sup>,胡福初<sup>1</sup>,王祥和<sup>1</sup>,罗志文<sup>1</sup>,邓会栋<sup>1</sup>,郭利军<sup>1</sup>,范鸿雁<sup>\*1</sup>

1.海南省农业科学院热带果树研究所, 农业农村部海口热带果树科学观测实验站, 海南省热带果树生物学重点实验室,海南省热带果树育种工程技术研究中心,海口,571100, 2.海南大学植物保护学院,海口,570228

**摘要** 为进一步明确海南危害不同荔枝产区的炭疽病原菌优势种群及遗传多样性,以期对该病害的诊断、防控提供有力依据。本研究从海南海口、澄迈、琼海等 18 个市县荔枝产区采集了炭疽病样进行系统鉴定及遗传多样性研究,运用形态学与多基因位点系统发育分析相结合鉴定方法,对单孢分离病原菌内转录间隔区(ITS)、 $\beta$ -微管蛋白(TUB2)和 3-磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)、几丁质合成酶(CHS-1)、肌动蛋白(ACT)及 ApMat 基因片段进行 PCR 扩增,建立多基因与 ApMat 基因系统发育树。确定了胶孢炭疽菌复合群(*Colletotrichum gloeosporioides* complex)为海南荔枝炭疽病原菌优势种群。单基因序列比对表明不同种间具有较为丰富的遗传分化,系统发育树聚类分析发现同一地区来源病原菌在系统发育树上未聚类在一起。说明不同地区来源的炭疽菌没有地理特异性,但种内菌株间具有遗传多样性特点。

**关键词** 荔枝炭疽病菌; 优势种群; 多基因; 系统发育



# 柱花草苯丙氨酸解氨酶 SgPALs 抗炭疽病功能的初步探究

高梦泽, 杨丽云, 蒋凌雁, 罗丽娟  
海南大学, 海南海口, 570228

**摘要** 柱花草是一种热带地区广泛种植的重要豆科牧草。由炭疽菌引起的炭疽病是威胁柱花草产量的主要因素。苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 是催化苯丙胺代谢途径的第一步的关键酶。这条途径会产生对植物防御反应起重要作用的次生代谢物。为了分离调控植物抗病性的关键调控因子, 我们开展了炭疽菌侵染柱花草多时间点 (24, 48, 60, 96 小时) 的转录组分析。利用差异转录组和信号通路分析, 我们发现大部分差异表达的转录本集中在接菌后的 60 小时, 并且大部分差异表达基因都参与苯丙胺代谢途径。其中苯丙氨酸解氨酶的基因表达和酶活均增加。这些结果预示苯丙氨酸解氨酶和苯丙胺代谢途径在植物防御反应中起到重要作用。拟南芥是研究病原菌在植物中致病机制的理想模式植物。为了研究柱花草 SgPALs 在调控柱花草抗炭疽菌抗病性的作用, 我们首先筛选可同时侵染柱花草与拟南芥的胶孢炭疽病菌菌种, 同时根据柱花草转录组分析结果, 构建柱花草苯丙氨酸解氨酶基因的过表达拟南芥植株, 进而探究柱花草炭疽菌的致病机理。通过转换实验对象改变对柱花草研究实验基础薄弱的状况, 为后续实验奠定基础。

# 椰子不同种质对灰斑病菌室内抗性评价

余凤玉, 刘蕊, 宋薇薇, 范海阔, 唐庆华, 牛晓庆, 覃伟权  
中国热带农业科学院椰子研究所 文昌 571339

**摘要** 椰子灰斑病是由拟盘多毛孢菌 *Pestalotiopsis palmarum* (Cooke) Steyaert 引起的气传性病害, 是椰子树的常发性病害。该病主要危害老叶, 病斑灰白色, 不规则形, 上面散生黑色分生孢子盘。受害叶片斑点累累, 影响叶片光合作用, 严重时病斑融合成片, 整张叶片干枯萎缩, 似火烧状, 引起产量减少。培育和利用抗病种质是防治该病的最经济有效的途径。为明确不同椰子种质对该病菌的抗病性情况, 本研究对 10 个常见椰子种质进行了抗病性鉴定。试验在室内采用离体叶片菌块接种法进行, 通过发病程度评价椰子种质抗性。测量病斑的方法: 对每个病斑测量其最长和最宽处 (两者成直角), 根据下式计算其面积:  $A=1/4 \times \pi \times \text{长} \times \text{宽}$ , 病斑面积有一次超过  $16\text{mm}^2$ , 即视为成功侵染。病情分级标准和抗性鉴定标准如下: 病斑面积为  $0\text{mm}^2$  为高抗种质, 病斑面积介于  $0\sim 20\text{mm}^2$  之间为抗性种质, 病斑面积介于  $20\sim 50\text{mm}^2$  之间为中抗种质, 病斑面积介于  $50\sim 100\text{mm}^2$  之间为感病种质, 病斑面积大于  $100\text{mm}^2$  为高感种质。结果显示: 不同种质对于灰斑病菌的抗性不同。在供试种质中, 种质 34004-3、34005-2、34023-2 和 34033-1 表现为高抗, 无病斑; 34003-1 和 34011-1 表现中抗, 病斑面积为  $37.56\text{mm}^2$  和  $29.69\text{mm}^2$ ; 29008-1、29013-2 和 34031-3 表现感病, 病斑面积为  $57.63\text{mm}^2\sim 62.08\text{mm}^2$ ; 34027-2 表现高感, 病斑面积为  $103.42\text{mm}^2$ 。

# 草海桐链格孢病菌(*Alternaria longipes*)生物学特性及杀菌剂的室内筛选

王义<sup>1,2</sup>, 李敏<sup>2</sup>, 高兆银<sup>2</sup>, 洪小雨<sup>2</sup>, 张绍刚<sup>1,2</sup>, 赵超<sup>1</sup>, 胡美姣<sup>2</sup>

1. 海南大学生命科学与药学院, 海南海口 570228; 2. 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所/农业农村部热带作物有害生物综合治理重点实验室, 海南海口 571101

**摘要** 西沙群岛草海桐链格孢病发生普遍, 笔者鉴定该病的病原菌为长柄链格孢菌 (*Alternaria longipes*)。为明确该病原菌特性和对杀菌剂的敏感性, 本试验采用生长速率法对长柄链格孢菌 (*A. longipes*) 的生物学特性进行了初步研究, 并测定了苯醚甲环唑等 13 种杀菌剂对该病原菌的毒力。结果表明: 该菌菌落最适生长培养基为 PDA, 其次是 PSA; 适宜生长温度为 25 - 30 °C, 最适生长温度为 28 °C; 适宜生长 pH 值为 5.0 - 7.0, 最适 pH 值为 6.0; 最佳碳源为蔗糖, 而果糖不利于菌落生长; 最佳氮源为甘氨酸, 而尿素不利于菌落生长; 光照时间对菌落生长无显著影响。室内毒力测定表明, 苯醚甲环唑水分散粒剂的抑菌作用最好, EC<sub>50</sub> 值为 0.15 μg/ml, 其次是氟硅唑乳油、己唑醇悬浮剂和戊菌唑乳油, 其 EC<sub>50</sub> 值分别为 0.37、0.44 和 0.51 μg/ml, 而啉菌酯悬浮剂和多菌灵可湿性粉剂的抑菌效果最差, EC<sub>50</sub> 值都大于 3000 μg/ml。本研究结果为指导草海桐链格孢病的科学防控提供了一定参考。

**关键词** 草海桐; 长柄链格孢; 生物学特性; 杀菌剂; 毒力测定

---

**基金项目** 农业农村部财政专项项目 (NFZX2018)。

**作者简介** 王义(1994--), 男, 在读研究生, 研究方向: 热带作物病害研究。通讯作者(Corresponding author): 胡美姣, E-mail: humejiao320@163.com

# 鸡冠刺桐拟茎点霉叶斑病鉴定及防治药剂筛选

李敏<sup>1</sup>, 高兆银<sup>1</sup>, 洪小雨<sup>1</sup>, 王义<sup>2</sup>, 张绍刚<sup>2</sup>, 赵超<sup>2</sup>, 李春霞<sup>1</sup>, 胡美姣<sup>1</sup>

1. 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所/农业农村部热带作物有害生物综合治理重点实验室, 海口 571101; 2. 海南大学生命科学与药学院, 海口 570228

**摘要** 鸡冠刺桐 (*Erythrina crista-galli*) 作为优良绿化树种, 主要种植我国华南地区。2018 年于海南省三沙市永兴岛鸡冠刺桐上发现一种叶斑病, 主要发生于叶尖和叶缘, 呈黄褐色, 严重影响植株健康和观赏价值。为明确鸡冠刺桐拟茎点霉叶斑病的病原种类, 采用组织分离、科赫法则确认分离保存病原菌菌株, 通过形态学及分子生物学方法进行了病原菌鉴定, 并研究了 13 种杀菌剂对该病菌的室内毒力。结果表明, 形态学特征研究发现, 该病菌 (YX110) 在 PDA 上菌落白色薄绒状, 生长较快, 菌落边缘平整, 背面中部为黄褐色, 边缘浅黄色, 基质初白色后呈淡黄色, 后期长出黑色小粒状分生孢子器。分生孢子器聚生或单生, 黑褐色; 产孢细胞瓶梗型; 分生孢子有 2 种类型:  $\alpha$  型分生孢子梭形, 两端钝, 正直, 偶尔微弯, 无色, 单胞,  $6.1\sim 8.4\times 1.7\sim 2.3\ \mu\text{m}$ ;  $\beta$  型分生孢子线形, 一端呈钩状, 无色, 单胞,  $11.5\sim 22.3\times 0.5\sim 1.1\ \mu\text{m}$ 。初步鉴定该病原菌为拟茎点霉 (*Phomopsis* sp.)。分子生物学鉴定结果表明, 扩增获得菌株 Y110 的 ITS、18 S 基因片段 (GenBank 登录号: MN314362 和 MN314363), 其与枫香拟茎点霉 (*Phomopsis liquidambari*) 的相似度分别达到 98.36% 和 99.28% (GenBank 登录号: KX866890.1 和 HG285146.1)。构建的基于 ITS 基因系统发育进化树进一步显示, 菌株 Y110 与枫香拟茎点霉 (*P. liquidambari*) 聚在同一分枝。根据病原菌形态特征、致病力测定、Blast 同源比对以及 ITS 基因系统发育分析结果, 认定引起鸡冠刺桐叶斑病的病原菌为枫香拟茎点霉 (*P. liquidambari*)。13 种杀菌剂对菌株 Y110 的室内毒力测定结果表明, 供试的杀菌剂对 Y110 均有一定的毒力, 其中, 8 种杀菌剂的  $EC_{50}$  值在 0.07~0.69 ug/ml 之间, 毒力自高至低依次为多菌灵、苯醚甲环唑、氟硅唑、己唑醇、戊唑醇、烯唑醇、吡唑醚菌酯和丙环唑。其次为百菌清、腈菌唑、戊菌唑、三唑酮, 它们的  $EC_{50}$  值在 1.27~14.86 ug/ml 之间, 啞菌酯的毒力最差,  $EC_{50}$  值为 179.86 ug/ml。

**关键词** 鸡冠刺桐; 叶斑病; 枫香拟茎点霉; 杀菌剂筛选

**项目资助** 农业农村部财政专项项目 (NFZX2018)。

**第一作者** 李敏, 1976.10 生, 女, 副研究员, 从事热带果蔬采后生物学研究, coldminerer@163.com, 0898-66969242; 通信作者: 胡美姣, 研究员。E-mail:humeijiao320@163.com。

# 贮藏期豇豆绵腐病病原菌初步鉴定

李敏<sup>1</sup>, 洪小雨<sup>1</sup>, 龙海波<sup>1</sup>, 弓德强<sup>1</sup>, 杨衍<sup>2</sup>, 胡美姣<sup>1</sup>

1.中国热带农业科学院环境与植物保护研究所/农业农村部热带作物有害生物综合治理重点实验室, 海口 571101; 2.中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所, 海口 571101

**摘要** 豇豆是海南省冬种瓜菜的主要种类之一, 种植面积达 30 余万亩, 产销量巨大, 其中 80%到 90%的豇豆销往外地。本项目组在开展豇豆采后保鲜试验时发现, 绵腐病在海南豇豆贮藏期间时有发生。该病首先在豇豆上出现水渍状退绿病斑, 病斑快速发展, 并伴随少量汁液流出, 表面长出一层茂密的白色棉絮状菌丝体, 高约 1 cm, 接触菌丝体的健康豇豆 1d 后出现同样症状, 感病豇豆在受害部位易断裂。采用柯赫氏法则 (Koch's Rule) 对该病病原菌进行分离鉴定, 在 PDA 培养基上菌落生长快、白色棉絮状, 菌丝发达、具分枝但无隔膜、粗 3.2-8.3 (5.6)  $\mu\text{m}$ ; 孢子囊瓣状或不规则形, 为膨大菌丝、瓣状菌丝或不规则菌丝组成, 大小不一, 顶生或间生; 孢子囊萌发后形成球状泡囊, 泡囊内含 6-29 个游动孢子, 游动孢子双鞭毛肾形, 休止时呈球状, 大小 10.8-12.1 $\mu\text{m}$ ; 藏卵器球形、平滑、顶生偶尔间生、柄较直, 直径 14.9-23.5 (18.5)  $\mu\text{m}$ 。雄器屋顶状、袋状、宽棍棒状、瓢状、玉米粒状, 同丝生或异丝生, 每个藏卵器有 1-2 个雄器, 雄器多数以顶端、少数以侧面与藏卵器接触; 卵孢子球形, 平滑, 不满器, 直径 13.1-19.8 (17.0)  $\mu\text{m}$ 。致病性测定时发现, 该菌引起豇豆腐烂外, 还引起黄瓜、茄子、番茄等蔬菜发病, 导致严重腐烂。通过形态学观察与致病性测定, 引起豇豆绵腐病的病原菌初步鉴定为瓜果腐霉菌 (*Pythium aphanidermatum*)。

---

**项目资助** 粮经轮作模式关键技术优化提升与集成示范项目。

**第一作者** 李敏, 1976.10 生, 女, 副研究员, 从事热带果蔬采后生物学研究, coldminerer@163.com, 0898-66969242; 通信作者: 胡美姣, 研究员。E-mail:humeijiao320@163.com。

# Independent modulation of replication and transcription of individual genomic component in a multipartite DNA virus

Nai-tong Yu<sup>1</sup>, Hui-min Xie<sup>1</sup>, Jian-hua Wang<sup>1</sup>, Yu-liang Zhang<sup>1</sup>, Xiu-chun Zhang<sup>1</sup>, Zhongguo Xiong<sup>2\*</sup>, Zhi-xin Liu<sup>1\*</sup>

1.Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou, 571101, China.;2.School of Plant Sciences and BIO5 Institute, University of Arizona, Tucson, AZ 85721 USA.

\* Correspondence authors: Zhongguo Xiong; Zhi-xin Liu

**Abstract:** The genome of *Banana bunchy top virus* (BBTV) consists of at least six circular, single-stranded DNA components of ~1 kb in length. Some BBTV isolates may also carry satellite DNA molecules that are not essential for BBTV infection. To understand the coordinated replication and transcription of the multiple genomic components, the absolute amounts of each BBTV DNA component were measured by real-time quantitative PCR (qPCR), and their transcriptional levels were determined by RNAseq and reverse transcription-qPCR (qRT-PCR). Significant differences were found in the absolute amounts of individual BBTV genomic components. Transcriptional levels of each BBTV genomic component obtained from the RNAseq data matched closely to those obtained from qRT-PCR, but did not correspond to the absolute amount of each DNA component. The ratio of transcript over DNA copies ranged from 14.81% to 264.86%, which was regulated by the stem loop common region (CR-SL) in intergenic region of each component. These data suggest that both replication and expression levels are independently modulated for each DNA component, possibly by cis-acting DNA sequence elements.

**Key words:** *Banana bunchy top virus*, Quantitative assessment, DNA content, RNA transcripts

# 澳洲坚果及其果仁油品质研究

涂行浩<sup>1,2</sup>, 郑海彬<sup>1</sup>, 梁晓雯<sup>1</sup>, 吕昕<sup>2</sup>, 魏芳<sup>2</sup>, 陈洪<sup>2</sup>, 杜丽清<sup>1\*</sup>

1. 中国热带农业科学院亚热带作物研究所, 农业部热带果树生物学重点实验室, 广东湛江, 524091; 2. 中国农业科学院油料作物研究所/农业部油料加工重点实验室, 油料脂质化学与营养湖北省重点实验室, 湖北武汉, 430062

**摘要** 澳洲坚果是重要的木本油料经济林树种, 我国通过近 40 年的发展, 总种植面积已超过 300 万亩, 成为了世界最大的种植国, 主要种植区域为云南、广西、广东、贵州等省市区。目前, 国内壳果年产量 1 万余吨(绝大部分果园还未进入丰产期), 随着投产面积的不断扩大, 我国澳洲坚果的产量也将逐步增大, 国内对澳洲坚果产品以及澳洲坚果油的需求将不断增强, 因此有必要对澳洲坚果以及果油品质进行分析研究。本文着重对澳洲坚果和坚果油中营养及活性成分进行检测分析, 结果表明澳洲坚果果仁粗脂肪含量 73.5g/100g、总蛋白含量为 8.7g/100g、总糖含量为 2.35g/100g、膳食纤维含量为 5.8g/100g; 澳洲坚果油相对密度(20°C)为 0.9108、折射率 1.4661、酸价 1.603mg KOH/g、碘价 79g I<sub>2</sub>/100g、皂化值为 198.22mgKOH/g; 其中生物活性物质甾醇含量为 1338 mg/100g (以 β-谷甾醇为主)、母育酚总量为 189 mg/100g、角鲨烯含量为 196mg/100g。澳洲坚果油主要由 12 种脂肪酸组成, 以油酸 (61.7%) 和棕榈油酸(21.6%) 为主, 并含少量的棕榈酸(7.3%)、硬脂酸(4.1%)、花生酸(2.6%) 以及亚麻酸(2.2%) 等脂肪酸。澳洲坚果油是目前所知单不饱和脂肪酸含量最高的植物油, 含量高达 83.3% 以上。在澳洲坚果油中主要检测出 27 种甘油三酯, 主要以 OOO、POO、OP<sub>2</sub>O、POP 为主; 检测出 48 种磷脂, 主要以 PC、PE 为主。另外, 对冷榨澳洲坚果油的氧化稳定性进行了研究, 通过 Rancima 法在 25°C 条件下测得澳洲坚果油的货架期为 1.21 年, 表明澳洲坚果油自身具有良好的稳定性。本实验通过对澳洲坚果及其果仁油品质进行研究, 旨在为澳洲坚果进一步的开发利用提供理论指导。

**关键词** 澳洲坚果; 坚果油; 营养成分; 脂质组成; 氧化稳定性

**基金项目** 油料脂质化学与营养湖北省重点实验室开放基金资助(NO. 201702); 中央级公益性科研院所基本业务费(NO.1630062017009、1630062017034、1630062019029)

**作者简介** 涂行浩(1986—), 男, 助理研究员, 在读博士研究生, 研究方向为热带油料产品加工。E-mail: tuxinghao@126.com, 13590015271

# 41 份黄晶果种质资源遗传多样性和亲缘关系的 SRAP 分析

李玉静, 王祥和, 陈哲, 周文静, 吴凤芝, 周瑞云, 王美香, 胡福初

海南省农业科学院热带果树研究所/海南省热带果树生物学重点实验室/农业部海口热带果树科学观测实验站, 海口, 571100

**摘要** 黄晶果 (*Pouteria caimito* Radlk) 为山榄科胶木属多年生常绿乔木, 是一种新兴热带特色果树, 原产亚马孙河上游。为了探索黄晶果种质资源的遗传多样性和亲缘关系, 本项目以先后引进的 41 份黄晶果种质资源为材料, 分别编号 YF1-YF41, 利用 SRAP 标记技术进行遗传多样性和亲缘关系分析, 研究结果表明: 从 198 对 SRAP 引物组合中筛选获得了 18 对多态性好的引物, 共计产生扩增带 175 条, 多态性条带为 156 条, 多态性比率为 89.14%, 显示较高的遗传多态性, 遗传相似系数介于 0.288~0.876, 其中 YF25 与 YF27 的相似系数最大, 为 0.876, YF23 号和 YF3 两者之间的相似系数最小, 为 0.288; UPGMA 聚类分析结果显示, 在相似系数 0.67 时, 41 份黄晶果种质可聚为 5 大类群, 当遗传相似系数为 0.67 时, 可将 41 份材料分为 5 个类群。第一类群包括: YF1、YF2、YF4、YF18、YF20; 第二类群包括: YF37、YF41; 第三类群包括: YF5; 第四类群包括: YF6、YF8、YF21、YF7、YF14、YF10、YF12、YF23、YF22、YF13、YF15、YF25、YF27、YF34、YF17、YF28、YF24、YF26、YF36、YF30、YF31、YF32、YF33、YF40、YF35、YF39、YF19、YF29、YF38、YF11; 第五类群包括: YF3、YF16、YF9。为验证 SRAP 分析结果的准确性, 进一步调查比较了 41 份黄晶果树的株型、叶子形状、叶面颜色、叶面与枝条角度等植物学性状, 发现亲缘关系相近的, 它们的株型, 叶子形状, 叶面颜色, 叶面与枝条角度比较一致, 说明 SRAP 技术能够用于海南黄晶果种质资源遗传多样性和亲缘关系分析, 同时也表明了黄晶果种质资源具有较复杂的遗传背景, 为后期进一步的遗传改良打下了基础。

**关键词** 黄晶果; 种质资源; SRAP 标记; 遗传多样性; 亲缘关系

## Genetic Diversity Analysis of Forty-one Topaz Fruit Germplasm Resources Based on SRAP Molecular Markers

LI Yujing, WANG Xianghe, CHEN Zhe, ZHOU Wenjing, WU Fengzhi, ZHOU Ruiyun, WANG Meixiang, HU Fuchu\*  
Fruit Tree Institute, Hainan Academy of Agricultural Sciences

**Abstract** To explore the genetic diversity and genetic relationship of topaz fruit germplasm resources in Hainan, and provide a theoretical basis for the identification, innovation and utilization of topaz fruit germplasm resources. Genetic diversity of 41 topaz fruit germplasm resources was analyzed by SRAP markers. A total of 198 pairs of primer combinations were screened, and 18 pairs of primers amplified more bands and had good polymorphism. A total of 177 amplified bands were generated by 18 pairs of primers, and 175 polymorphic bands were obtained. The polymorphic ratio was 98.87%, indicating a high genetic polymorphism. The genetic similarity coefficient ranged from 0.288 to 0.876. When the similarity coefficient was 0.67, 41 topaz fruits could be clustered into five groups, indicating that the tested topaz varieties have rich genetic diversity. Among them, YF25 and YF27 have the largest similarity coefficient, which is 0.876, while the similarity coefficient between YF23 and YF3 is the smallest, which is 0.288. The results of UPGMA cluster analysis showed that YF1 and YF2 were closely related; YF18 and YF20 were closely related; YF6 and YF8 and YF21 and YF7 and YF14 were closely related; YF10 and YF12 and YF23 and YF22 were related. Closer; YF13 is closely related to YF15 and YF25 and YF27 and YF34; YF17 is closely related to YF28; YF24 is closely related to YF26 and YF36; YF30 is closely related to YF31 and YF32; YF33 It is closely related to YF40; YF35 is closely related to YF39; YF3 is closely related to YF16. The above results indicate that SRAP technology can be used to analyze the genetic diversity of Topaz fruit germplasm resources in Hainan, and also shows the complexity of the genetic background of topaz fruit germplasm resources in Hainan.

**Keywords** *Pouteria caimito* Radlk; germplasm resources; SRAP marker; genetic diversity; genetic relationship.

**基金项目** 海南省重点研发计划项目 (ZDYF2018084)。

**第一作者** 李玉静 (1996-), 女, 研究方向为发育生物学, E-mail: 17803640313。

**通信作者** 胡福初 (1982-), 男, 研究方向为果树种质资源与遗传育种, E-mail: hufuchu@163.com。



# 热研二号柱花草及其太空诱变株系对胶孢炭疽菌抗病机制的初步研究

杨丽云, 高梦泽, 蒋凌雁, 罗丽娟  
海南大学, 海南海口, 570228

**摘要** 柱花草 (*Stylosanthes spp.*) 具有粗蛋白含量高、耐旱、耐酸、耐贫瘠等优良特性, 是全球热带地区栽培面积最大、应用最广泛的饲肥兼用的豆科牧草。柱花草炭疽病是严重影响柱花草产量的重要病害, 可导致产量锐减甚至绝收。本项目通过对热研二号柱花草及其七个太空诱变株系在接种胶孢炭疽菌后产生的病斑大小来分析病症情况, 筛选出较热研二号抗病性增强的太空诱变株系作为后续实验的材料。对以上材料接种胶孢炭疽菌, 采用 NBT 染色法分析柱花草接种胶孢炭疽菌后叶片中的过氧化物累积情况, 结果表明抗病植株过氧化物含量相对较高; 通过台盼蓝染色法分析柱花草在接种胶孢炭疽菌后细胞的致死情况, 结果显示抗病植株的染色面积相对感病植株较小; 采用 RT-qPCR 技术分析抗性相关基因的表达模式, 结果显示抗病植株的 APX 基因显著下调, POD2、PPO、PAL、CHS、PR1 基因显著下调, 且差异倍数均高于感病植株。通过以上实验, 旨在初步解析柱花草对胶孢炭疽菌的抗病机制, 为后续抗病品种的选育提供理论基础和候选基因资源。

# 施肥对剑麻园土壤微生物的影响

习金根, 谭施北, 郑金龙, 贺春萍, 吴伟怀, 梁艳琼, 黄 兴, 陆 英, 李 锐, 易克贤  
中国热带农业科学院环境与植物保护研究所/农业部儋州农业环境科学观测实验站, 海南海口 571101

**摘 要** 通过研究不同的施肥对剑麻土壤微生物类群的影响。结果表明, 土壤微生物生长有赖于土壤的肥力水平和环境状况, 微生物和土壤状况之间具有相互促进作用和协同发展的关系。土壤微生物数量的大小可以作为表征土壤状况的重要生物学指标。研究发现, 不同施肥方式下土壤微生物总量各有差异, 在总体数量上以细菌为主, 真菌次之, 再其次是放线菌, 特殊生理类群是解磷菌居多, 纤维素分解菌次之, 固氮菌最少。生物多样性指数是描述生物类型数和均匀度的一个度量指标, 它在一定程度上可反映生物群落中物种的丰富程度及其各类型间的分布比例。从土壤微生物多样性指数来看, 则表现为土壤中主要微生物类群多样性指数是施肥点的土壤高于附近的土壤, 而土壤中特殊生理微生物多样性指数则无此变化趋势, 即微生物总数高的土壤, 其多样性指数不一定高。因此评价土壤生物多样性应将二者结合起来。

**关键词** 剑麻, 施肥, 土壤, 微生物类群

---

**基金项目** 国家麻类产业技术体系建设专项资金资助 (Supported by the earmarked fund for China Agriculture Research System for Bast and Leaf Fiber Crops) (编号: CARS-16-E16)

**作者简介** 习金根 (1966-), 男, 硕士, 副研究员, 从事热带作物营养与施肥研究。E-mail: xijingen@163.com。

# 西沙群岛草海桐叶缘枯病病原菌鉴定

王 义<sup>1,2</sup>, 李 敏<sup>2</sup>, 张绍刚<sup>1,2</sup>, 高兆银<sup>2</sup>, 洪小雨<sup>2</sup>, 李春霞<sup>2</sup>, 弓德强<sup>2</sup>, 赵 超<sup>1</sup>, 胡美姣<sup>2</sup>

1.海南大学生命科学与药学院,海口 5702281; 2.中国热带农业科学院环境与植物保护研究所/农业农村部热带作物有害生物综合治理重点实验室,海口 571101

**摘 要** 草海桐属多年生常绿亚灌木滨海植物,是我国西沙群岛主要的原生植物之一,其对防风固沙和修复退化的热带海岛生态系统具有重要作用,近年来也作为绿化观景植物广泛种植于海滨一带。2018年5月--2019年6月,项目组对西沙群岛植物病害调查时发现草海桐叶缘坏死,且在老熟叶片上常见。该病发病初期叶缘淡黄色水渍状,病斑常沿中脉扩展,病健交界部位黄色,受害部位黄褐色或褐色坏死,有时生黑色小点。从病部分离获得一致分离物 ZD51。采用刺伤接种法,接病原菌于健康草海桐叶片上,24 h 即出现水渍状失绿,48 h 后逐渐变褐,形成近圆形、椭圆形、梭形病斑,3 d 后病斑处密生黑色小颗粒状的分生孢子器。从接种发病组织中的分离物与 ZD51 形态一致。ZD51 菌落生长快,气生菌丝发达,初期基质、菌丝和气生菌丝均为白色,5-6 d 气生菌丝变为浅灰黑色,21 d 后培养基上产生呈黑色颗粒状的分生孢子器,圆球形或梨形,直径 245.6  $\mu\text{m}$  - 418.2 (289.3)  $\mu\text{m}$ ,分生孢子梗无色透明,着生在分生孢子器内壁上,短棒状,有隔,顶端略尖,分生孢子纺锤形至椭圆形、薄壁、单胞,大小 12.5 - 21.5 (17.3)  $\mu\text{m}$   $\times$  4.6 - 7.0 (5.7)  $\mu\text{m}$  (n=100)。根据病原菌的培养性状和形态学特征,参照真菌分类相关文献的描述,初步鉴定该病原菌为壳梭孢(*Neofusicoccum* sp.)。对 ZD51 菌株 ITS、EF-1 $\alpha$  和  $\beta$ -tubulin 基因序列进行扩增,分别获得 566 bp、860 bp 和 451 bp 序列,于 NCBI 网站上 Blast 比对分析,发现所得序列与小新壳梭孢菌(*Neofusicoccum parvum*)的相关基因序列相似性分别达到 98.59%、98.28%、98.86%,下载相关序列,按顺序合并序列,构建系统发育树(Neighbor-joining),进一步确定了西沙群岛草海桐叶缘枯病的病原菌为小新壳梭孢菌(*Neofusicoccum parvum*)。

**关键词** 草海桐; 叶缘枯病; 病原菌; 小新壳梭孢菌

**基金项目** 农业农村部财政专项项目(NFZX2018)。

**作者简介** 王义(1994--),男,在读研究生,研究方向:热带作物病害研究。通讯作者(Corresponding author):胡美姣, E-mail: humeijiao320@163.com

# 咖啡褐斑病的病原菌鉴定及其生物学特性测定

吴伟怀<sup>1</sup>, Gbokie Jr Thomas<sup>2</sup>, 梁艳琼<sup>1</sup>, 黄兴<sup>1</sup>, 陆英<sup>1</sup>, 刁金根<sup>1</sup>, 谭施北<sup>1</sup>, 郑金龙<sup>1</sup>, 李锐<sup>1</sup>, 贺春萍<sup>1\*</sup>, 易克贤<sup>1\*</sup>

1.农业农村部热带作物有害生物综合治理重点实验室/海南省热带农业有害生物监测与控制重点实验室/中国热带农业科学院环境与植物保护研究所, 海口 571101; 2.南京农业大学植物保护学院, 南京 210095

**摘要** 咖啡是世界三大饮料之一, 其产量、产值以及消费量均居三大饮料之首。然而, 咖啡的产量常受各种病害的影响。在近年咖啡病害调查中, 发现咖啡苗圃以及咖啡幼树中出现一种疑似咖啡褐斑病。为此, 本研究通过采集典型病叶, 于实验室通过植物组织分离、纯化获得分离物, 于显微镜下观察其分生孢子形态。将分离物菌丝块接种至微创伤健康中粒种咖啡幼苗叶片, 10 d 后观测其致病性。基于形态鉴定的初步结果, 将分离物采用葡萄糖酵母液体培养基培养, 收集菌丝体并提取其基因组 DNA。利用引物 ITS1/ITS4 及 H3F/R 对病原菌基因组总 DNA 进行 PCR 扩增, 回收其扩增产物连接大肠杆菌, 选取阳性克隆提取质粒进行序列测定。利用平板培养法在含 PDA 平板上培养 10 d 后测定不同温度、光照和 pH 对菌丝体生长的影响。最终, 共分离获得 5 个分离物, 其菌落特征、分生孢子梗及分生孢子形态无明显差异, 其形态特征与尾孢相一致。5 个菌株均能对中粒种咖啡致病, 再分离获得的菌株其菌落形态、分生孢子梗及分生孢子特征均符合尾孢特征。进一步利用 ITS 及组蛋白 *H3* 基因序列进行分子鉴定, 结果表明, ITS 树不能鉴别 5 个菌株的分类地位。而基于 *H3* 基因序列构建的系统发育树中, 5 个待鉴定菌株与 11 株咖啡生尾孢菌 *C. coffeicola* 聚为一支。结合分离物形态特征, 将其鉴定为咖啡生尾孢菌 (*C. coffeicola*)。生物学特性测定结果表明: 该菌生长的温度范围为 13~35℃, 最适温度为 25~28℃; 菌丝体生长的 pH 为 3~11, 最适 pH 为 6~7; 光照条件对菌丝体生长的影响不明显。通过本研究结果表明, *H3* 基因序列可用于咖啡褐斑病病原菌的分子鉴定标签之一。

**关键词** 咖啡生尾孢; 咖啡褐斑病; 分子鉴定; 生物学特性

**基金项目** 本研究由国家重点研发项目“特色经济作物化肥农药减施技术集成研究与示范(2018YFD0201100)”与中国热带农业科学院基本科研业务费专项资金(1630042017021)共同资助。

**第一作者** 吴伟怀, 1977年生, 男, 副研究员; 研究方向: 分子植物病理学; 电话: 089866969238; E-mail: weihuaiwu2002@163.com

\*通讯作者, hechunppp@163.com; yikexian@126.com

# 木薯抗螨种质资源挖掘与创新利用研究进展

陈青, 梁晓, 伍春玲, 刘迎

中国热带农业科学院环境与植物保护研究所; 农业部热带作物有害生物综合治理重点实验室; 海南省热带作物病虫害生物防治工程技术研究中心; 海南省热带农业有害生物监测与控制重点实验室, 海口, 571101

**摘要** 木薯是世界9亿以上人口的主粮和重要的工业原料、饲料、生物质能源、救荒作物。二斑叶螨是危害木薯最严重的四大有害生物之一,主要集中在木薯种植后6-8个月严重暴发成灾,此时的木薯地已封行,药剂防治很难。培育与利用抗虫品种是国内外公认的最经济、最有效、最简便的一项带有方向性的害虫防治途径,但迄今为止,国内外木薯抗螨性研究进展滞后,抗螨木薯种质资源未能得到深度挖掘与创新利用,没有充分发挥抗螨种质在木薯产业持续发展中的重要地位与作用。因此,在国家木薯产业技术体系的支撑下,自2008年以来,本研究团队系统开展了木薯抗螨种质资源挖掘与创新利用研究,取得了如下重要进展:(1)在明确叶绿素含量与不同危害级别相关性的基础上,创建了切实可行的木薯抗螨性评级标准与鉴定技术体系,制定发布了《木薯种质资源抗虫性鉴定技术规程》,并在综合试验站进行了宣贯和普及;(2)完成了海南、广西、云南、江西和湖南共940份材料抗螨性鉴定,分别从国家木薯种质资源圃717份种质资源、云南河口12份种质资源和保山101份种质资源中鉴定筛选出17份、2份和6份抗螨优异种质;分别从福建32个主推品种、江西21个主推品种、武鸣48个主推品种和湖南10个主推品种中鉴定筛选出10个、9个、19个和3个抗螨品种;(3)完成新疆吐鲁番4个品种(系)、山东日照莒县8个品种(系)及武鸣综合试验站25个品种(系)、三明综合试验站28个品种(系)、白沙综合试验站41个品种(系)、儋州国家木薯种质资源圃13个品种(系)的抗螨性鉴定,初步筛选出4个适于木薯北移的抗螨性品种(系)及24个适于木薯粮饲化及机械化生产的抗螨性品种(系),并通过高产品种与抗虫品种、食用品种与抗虫品种等杂交组合配置及其正反杂交F<sub>1</sub>代抗螨性鉴定,获得优良品种×抗虫(螨)品种杂交组合4个,创制抗螨新种质8份共76个株系;(4)系统开展了基于转录组测序的木薯抗螨相关基因克隆与功能验证工作,发现PPO、POD、SOD、CAT酶活性与木薯抗螨性显著正相关,初步建立6类木薯抗螨相关基因资源库,通过转基因获得稳定的转*MeCu/ZnSOD + MeCAT1*双基因过量表达的株系SC2、C4和SC11,发现转*MeCu/ZnSOD + MeCAT1*双基因株系能显著延长二斑叶螨的发育历期和显著抑制二斑叶螨的繁殖,室内与田间精确鉴定证明转*MeCu/ZnSOD + MeCAT1*双基因株系SC2、C4和SC11对二斑叶螨表现出良好的抗螨特性,进一步从分子水平直接证明*MeCu/ZnSOD*和*MeCAT1*基因具有调控SOD、CAT活性增强木薯抗螨性的功能。在此基础上,进一步从发育生物学、营养防御效应、次生代谢物质防御效应、保护酶防御效应、保护酶基因表达特性等多个层面阐明了木薯抗螨性机理,为有效监测和防控木薯害螨的发生和危害提供了理论依据。

**关键词** 木薯种质资源, 抗螨性; 挖掘与创新利用; 研究进展

**基金项目** 国家木薯产业技术体系虫害防控岗位科学家专项 CARS-11-HNCQ; 国家重点研发计划子课题 2018YFD02011; 农业农村部南峰专项子课题 NFZX-20180308; “一带一路”国家热带农业资源联合调查与开发评价项目子课题; 国家自然科学基金青年科学基金 31601649

**第一作者及通讯作者简介** 陈青,男,研究员,博士;研究方向:抗虫资源挖掘与创新利用、昆虫生理生化与分子生物学及生物防治与综合治理;E-mail: chqingztq@163.com

# 热带瓜菜抗蚜性研究进展

陈青, 梁晓, 伍春玲, 刘迎, 徐雪莲

中国热带农业科学院环境与植物保护研究所; 农业部热带作物有害生物综合治理重点实验室; 海南省热带作物病虫害生物防治工程技术研究中心; 海南省热带农业有害生物监测与控制重点实验室, 海口, 571101

**摘要** 蚜虫是世界性重要害虫, 也是辣椒、西瓜等热带瓜菜的主要害虫之一, 不仅以成虫、若虫刺吸汁液为害, 而且还会传播病毒病, 导致受害叶片卷缩、植物生长受抑制, 甚至整株死亡, 危害损失严重。培育和选用抗虫品种, 是利用内因治虫所特有的手段和害虫治理系统中的重要组成部分, 被认为是最积极、最有效、最经济的害虫防治措施, 已成为国内外公认的一项带有方向性的防治途径。为了充分挖掘和创新利用热带瓜菜抗虫种质资源, 自“十五”以来, 本研究团队系统开展了热带瓜菜抗蚜性研究, 取得了如下重要进展: (1) 在国内外每株蚜量鉴定技术基础上, 以桃蚜和瓜蚜为主要试虫, 创建了基于离中率的辣椒和西瓜种质资源抗蚜性田间鉴定技术, 完善了热带瓜菜种质资源抗蚜性鉴定技术体系, 鉴定结果稳定性从每株蚜量鉴定技术的 60%-65% 提高到 95% 以上, 大大降低了以每株蚜量定级进行抗性鉴定存在的结果不稳定风险; (2) 将室内与田间鉴定技术相结合, 完成中国大陆 11 个省和台湾地区共 640 个辣椒品种及 35 个西瓜品种抗蚜性鉴定, 获得抗性稳定的抗蚜参照标准辣椒品种猪大肠与感蚜参照标准辣椒品种大羊角椒, 以及抗蚜参照标准西瓜品种黑皮与感蚜参照标准西瓜品种花绿, 鉴定筛选出新丰五号、辣丰三号、博辣 15 号和苗丰三号共 4 个抗蚜、高产、优质辣椒品种, 以及黑美人、绿美人和惠兰共 3 个抗蚜、高产、优质西瓜品种。目前上述 4 个辣椒品种和 3 个西瓜品种经示范推广已成为热带瓜菜主栽品种之一; (3) 通过遗传分析发现以抗桃蚜辣椒品种猪大肠与感蚜品种大羊角椒、抗瓜蚜西瓜品种黑皮和感蚜品种花绿为亲本的辣椒和西瓜抗蚜性均由单显性核基因控制, 并分别筛选出与辣椒和西瓜抗蚜性基因连锁的 RAPD 标记和 SCAR 标记, 从营养防御效应、次生代谢物质防御效应、酶学防御效应、保护酶基因组织和时空表达特性等多个层面初步阐明了辣椒和西瓜抗蚜性机理; (4) 2014 至 2016 年, 研发出的抗蚜、高产、优质辣椒和西瓜品种在海南累计示范、应用面积 123 万亩, 技术覆盖海南所有万亩大田无公害瓜菜生产基地, 防效达 90% 以上, 亩增产 30% 以上, 节约农药、劳务等 35% 以上, 取得良好的经济、社会和生态效益。

**关键词** 热带瓜菜; 抗蚜性; 研究进展

**基金项目** 海南省重点研发计划项目 (ZDYF2018238)、农业农村部财政专项“南峰专项二期”(NFZX2018)、中央级公益性科研院所基本科研业务费专项 (1630042019025)、农业公益性行业科研专项 (200903034), 海南省重大科技专项 (DZX2013019) 及国家星火计划重点项目 (2015GA800002);

**第一作者及通讯作者简介** 陈青, 男, 研究员, 博士; 研究方向: 抗虫资源挖掘与创新利用、昆虫生理生化与分子生物学及生物防治与综合治理; E-mail: chqingztq@163.com

# Current Progress of Yellowing-related Diseases in Arecanut in Hainan Province

Tang Qinghua, Song Weiwei, Yu Shaoshuai, Yu Fengyu, Niu Xiaoqing, Yang Dejie, Qin Weiquan<sup>65</sup>

Coconut Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences (CATAS), Wenchang, Hainan 571339

**Abstract** Arecanut (*Areca catechu* L.) is the first economically important tropical crop, with a total area of 15.58 hm<sup>2</sup>, in Hainan Province. So far, its output value is more than RMB 28.00 billion, and about 2.3 million farmers' income is mainly from arecanut production. Unfortunately, in recent 20 years, yellowing related diseases (especially yellow leaf disease caused by phytoplasma) have become one of the most important bottlenecks, which dramatically restricted the development of arecanut industry. As a result, it is known as a disputed, complex 'disaster' (yellowing disaster). Currently, 27 arecanut diseases caused by fungi, bacterial or virus have been identified, in which yellowing related diseases include yellow leaf disease (YLD), virus diseases, anthracnose, root rot, bacterial leaf spot/stripe and bud rot. So far, YLD, which was discovered in Tunchang in 1981, is the most destructive one of betel palm. A survey conducted in 2016 revealed that diseased areas arrived at least 2.67 ha, with an incidence of 10 to 30 percent; in the severely infected regions, the incidence was as high as approximately 90 percent. As a result, reduction in yield was up to 70 to 80 percent even arrived at 100%. To date, it has spread to 13 arecanut-growing counties or cities in Hainan. Virus diseases caused by areca palm necrotic ringspot/spindle-spot virus is also serious in areas including Ding'an County and Qionghai City. Anthracnose and bud rot are frequent in regions with high humidity (for example Qiongzong County) while bacterial leaf spot/stripe often burst in typhoon seasons. In addition, root rot is severe in Baoting County and Sanya City.

**Keywords** Arecanut; yellowing disaster; yellow leaf disease

---

**基金项目** 2018年海南省槟榔病虫害重大科技项目(zdkj201817); 中国热带农业科学院基本科研业务费专项资金(1630152017015)。

**第一作者** 唐庆华(1978-), 男, 博士, 副研究员, 研究方向为病原细菌-植物互作功能基因组学及植原体病害综合防治; E-mail: tchuna129@163.com。

**通讯作者** 覃伟权, 研究员, 主要从事植物保护研究; E-mail: QWQ268@sohu.com

# Progress of Lethal Yellowing Caused by Phytoplasma in Coconut in Mexican

Tang Qinghua<sup>1</sup>, Yu Shaoshuai<sup>1</sup>, Song Weiwei<sup>1</sup>, Daniel Zizumbo Villarreal<sup>2</sup>, Yu Fengyu<sup>1</sup>, Niu Xiaoqing<sup>1</sup>, Yang Dejie<sup>1</sup>, Qin Weiquan<sup>166</sup>  
1Coconut Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences (CATAS), Wenchang, Hainan 571339;

2Scientific Research Center of Yucatan, Mexican

**Abstract** Coconut (*Cocos nucifera* L.) is one of the main cash crops in the Mexican tropics, and Mexico was the main producer of coconut in the Americas, with 220,000 ha in the 1980s. Lethal yellowing (LY) caused by phytoplasma is the main environmental limitation for the coconut crop in the Americas and Africa. In Mexico, more than 5 million plants died between 1980 and 1990, with a reduction of the surface from 100,000 to 220,000 Ha, causing abandonment and migration of the rural population. Its casual agent was identified as phytoplasma by electron microscope, and antibiotics assays. Cage transmission trail and PCR assay confirmed that *Myndus crudus* was the insect vector of LY. So far, had tried the managements, including quarantine, control of pathogen and vector, eradication, environment and resistant germplasm, scientists found that replanting with LY-resistant palms is the most efficient way. To date, though resistant varieties was identified and popularize, other challenges to LY in Mexican are how to deal with severe affectation due to LY, host grasses of *Myndus crudus*, host native palms to LY, and coconut varieties which are susceptible to LY.

**Keywords** Coconut; lethal yellowing; resistant varieties

---

**基金项目** 2018年海南省槟榔病虫害重大科技项目(zdkj201817); 中国热带农业科学院基本科研业务费专项资金(1630152017015)。

**第一作者** 唐庆华(1978-), 男, 博士, 副研究员, 研究方向为病原细菌-植物互作功能基因组学及植原体病害综合防治; E-mail: tchuna129@163.com。

**通讯作者** 覃伟权, 研究员, 主要从事植物保护研究; E-mail: QWQ268@sohu.com



# <sup>15</sup>N 示踪法研究生物炭对甘蔗氮素吸收、分配及利用率的影响

李强<sup>1</sup>, Muhammad Anas<sup>1</sup>, 杨柳, 罗献宝<sup>1</sup>, 黄东亮<sup>1</sup>, 廖芬<sup>2</sup>, 李杨瑞<sup>2</sup>

1. 广西大学农学院/广西高校农业环境与农产品质量安全重点实验室, 广西南宁 530004; 3. 广西农业科学院甘蔗研究所/广西甘蔗遗传改良重点实验室/农业部广西甘蔗生物技术与遗传改良重点实验室, 广西南宁 530007

**摘要** 【研究背景】生物炭是一种在低氧或绝氧、低温 (<800 °C) 条件下制备的一种富碳物质, 近年来, 生物炭因其在土壤改良、作物增产及污染环境修复等方面都表现出了巨大的应用潜能, 而受到国内外研究学者广泛关注。广西作为全国主要甘蔗种植大省, 种植面积、蔗糖产量占全国60%以上。施用氮肥是提高甘蔗产量和糖分的重要保证, 目前甘蔗生产中大量施用氮肥, 导致肥料利用率低, 土壤酸化、板结、有毒物质积累、肥力下降等问题。氮肥的过量施用已经成为阻碍我国甘蔗产业发展的主要限制因子之一。生物炭在甘蔗上的效应目前仍不清楚, 因此, 本研究通过利用<sup>15</sup>N示踪技术, 研究生物炭对甘蔗氮素吸收、分配及利用的影响, 以期探明生物炭对甘蔗生长、氮素利用的效应, 为在甘蔗生产上应用生物炭, 减少氮肥依赖提供理论和技术参考。【材料与方法】以甘蔗品种B8 (氮利用效率较高) 和GT11 (氮利用效率较低) 为研究材料, 通过桶栽试验, 采用<sup>15</sup>N示踪法, 以赤红壤为供试土壤, 生物炭设三个水平, C0 (0 t·ha<sup>-1</sup>)、C1 (10 t·ha<sup>-1</sup>) 和C2 (20 t·ha<sup>-1</sup>), 设<sup>15</sup>N标记尿素低氮 (N1, 120 kg·ha<sup>-1</sup>) 和高氮 (N2, 600 kg·ha<sup>-1</sup>) 两个施氮水平, 组合成6个处理, C0N1、C0N2、C1N1、C1N2、C2N1和C2N2。分别于移栽后苗期 (移栽后4个月)、伸长期 (移栽后7个月) 和成熟期 (移栽后12个月) 三个时期采集甘蔗的根、茎、枯叶和绿叶, 测定<sup>15</sup>N丰度和氮含量, 研究生物炭与氮肥互作对两个甘蔗品种不同生长时期不同器官氮素累积、分配、利用的影响。【结果与分析】结果表明, 生物炭可以显著促进低氮条件下GT11分蘖期和伸长期的氮累积, 低氮 (N1) 处理下GT11分蘖期C1、C2处理的氮累积量分别为718.84 和 824.48 mg/pot, 分别比C0处理的665.68 mg/pot增加了7.98%和23.85%, 伸长期与不施炭相比, 则分别提高了14.06%和45.42%, 高氮条件下略高于对照, 但未达到显著差异水平; B8在高、低氮条件下, 各生长期的氮累积量, 与不施炭相比均有提高, 特别是分蘖期, C1、C2处理的氮累积量分别为896.63 和918.79 mg/pot, 比C0处理的704.49 mg/pot 增加了27.27%和30.42%。生物炭促进氮素更多的分配到GT11的绿叶和根系中, 而B8则更多的分配到了绿叶中。GT11各生育期的氮利用率在53.63-369.06 mg/mg 之间, 低氮条件下, 与不施炭相比, 分蘖期C1、C2处理的氮利用率分别提高了7.98和23.85%, 高氮条件下主要是促进伸长期的氮利用率, C1、C2处理比C0分别提高了10.43%和-11.03%; B8各生育期的氮利用率在高、低氮条件下均得到了促进, 与不施炭相比, 低氮条件下, 比C0提高了2.43-30.42%, 高氮条件下提高了4.81 %-36.38 %。GT11根从肥料中来源的氮, 在各生育期经生物炭处理后比纯氮处理增加了30.68-35.98%, 茎的提高了31.27-40.78%, 绿叶的提高了31.32-37.73%。【结论】研究结果显示, 生物炭确实可以促进甘蔗的氮累积, 提高甘蔗的氮利用率, 促进甘蔗从肥料中获得更多的氮素营养。两个不同氮利用效率甘蔗品种对生物炭的响应不同, GT11在低氮条件下的氮累积和氮利用率均得到较显著的提高, 而B8经生物炭处理后, 虽然氮累积量与对照相比未达到显著提高, 但氮利用率在高、低氮条件下均得到了显著的增加。生物炭对绿叶的生长及氮利用的促进作用显著大于根和茎。本试验主要在温室条件下进行的桶栽试验, 后期仍需进行田间试验以进一步的验证和评估生物炭对甘蔗的氮吸收、利用的效应, 为生物炭在甘蔗栽培、生产上应用提供理论基础。

**关键词** 生物炭; 甘蔗; 氮高效; <sup>15</sup>N示踪法; 氮肥

**基金项目** 国家自然科学基金 (31560353& 31601249), 广西八桂学者团队项目 (2013-3), 广西农业科学院基金项目 (桂农科 2016JZ16 和 2019M20), 广西甘蔗遗传改良重点实验室项目 (2019), 广西高校农业环境与农产品质量安全重点实验室开放项目 (2018)。

**第一作者简介** 李强(1992-), 男, 在读硕士生, 生物炭对甘蔗氮素利用, Email: liqiang920415@qq.com; 通讯作者: 廖芬 (1978), 女, 广西宾阳人, 副研究员, 研究方向: 生物炭与氮素利用, T el: 0771-3899996, Email: chganxi@163.com; 李杨瑞 (1957—), 男, 教授, 甘蔗栽培与育种, E-mail: liyr5745@126.com

# 甘蔗叶部病害田间抗性评价体系的建立

田春艳<sup>1,2</sup>, 桃联安<sup>1,2</sup>, 周清明<sup>1,2</sup>, 孙有芳<sup>1,2</sup>, 俞华先<sup>1,2</sup>, 安汝东<sup>1,2</sup>, 边 蕊<sup>1,2</sup>, 董立华<sup>1,2</sup>, 郎荣斌<sup>1,2</sup>, 张 钰<sup>1,2</sup>, 经艳芬<sup>1,2</sup>

1.云南省甘蔗遗传改良重点实验室/云南省农业科学院甘蔗研究所, 开远 661699; 2.云南省农业科学院甘蔗研究所瑞丽育种站, 瑞丽 678600

**摘要** 甘蔗叶部病害种类多, 常发生混合侵染, 目前缺乏简便有效和系统的田间评价体系。本研究以 129 份云瑞甘蔗种质为研究对象, 3 个生产性品种为对照, 采用 3 重复随机区组试验, 分别调查 132 份材料新植蔗和宿根蔗叶部病害发生情况, 建立甘蔗叶部病害分级标准和抗性评价体系。结果表明: 新植蔗与宿根蔗叶部病害病情指数差异极显著 ( $P<0.01$ ), 新植蔗叶部病害病情指数平均值为 14.69, 宿根蔗为 22.10, 相较增长了 50.44%。根据建立的评价标准可将参试的 129 份云瑞种质划分为抗病 (9.30%)、中抗 (24.81%)、中感 (33.33%)、感病 (22.48%) 和高感 (10.08%) 5 个抗性水平, 未发现免疫和高抗种质。建立的甘蔗叶部病害分级和评价标准, 可为甘蔗选育种中的甘蔗叶部病害抗性评价提供参考依据。

**关键词** 甘蔗; 种质资源; 梢腐病; 抗病性评价

## Establishment of An Evaluation System for Field Resistance Against Sugarcane Leaf Disease

TIAN Chun-yan<sup>1,2</sup>, TAO Lian-an<sup>1,2</sup>, ZHOU Qing-ming<sup>1,2</sup>, SUN You-fang<sup>1,2</sup>, YU Hua-xian<sup>1,2</sup>, AN Ru-dong<sup>1,2</sup>, BIAN Xin<sup>1,2</sup>, DONG Li-hua<sup>1,2</sup>, LANG Rong-bin<sup>1,2</sup>, ZHANG Yu<sup>1,2</sup>, JING Yan-fen<sup>1,2\*</sup>

1.Yunnan Key Laboratory of Sugarcane Genetic Improvement/Sugarcane Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kaiyuan 661699, China; 2.Ruili Breeding Station, Sugarcane Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Ruili 678600, China

**Abstract** Leaf disease of sugarcane, it has many kinds and often infect mixed. A simple, effective and systematic evaluation system in the field is urgently needed at present. A total of 129 accessions of Yunrui sugarcane germplasm were used as tested materials, 3 commercial varieties were used as control with random block test of 3 repeats. The incidence of leaf disease on the new planted canes and ratoon canes were surveyed, and the grading standard on sugarcane leaf disease and the resistance evaluation system were established. The results showed that it had a significant difference ( $P<0.01$ ) between the new planted canes and ratoon cane on disease severity index (DSI). Average of DSI for the new planted cane was 14.69, the ratoon cane was 22.10, increasing by 50.44%. 129 accessions of Yunrui could be divided into five resistance levels including resistant (9.30%), moderately resistant (24.81%), moderately susceptible (33.33%), susceptible (22.48%), highly susceptible (10.08%) based on the grading standard established. Immune and highly resistant clones were not found in our tested materials. The grading standard and resistance evaluation system established could offer reference basis for field resistance against leaf disease in sugarcane selection breeding.

**Key words** sugarcane; germplasm resources; leaf disease; evaluation of disease resistance

# 云南割手密 F<sub>1</sub> 代种质的抗旱性研究

边 蕊, 郎荣斌, 桃联安, 安汝东, 田春艳, 周清明, 董立华, 俞华先, 孙有芳, 杨李和, 张 钰, 经艳芬\*

云南省农业科学院甘蔗研究所瑞丽育种站, 云南瑞丽 678600

**摘要** 本研究对云南 4 种不同生态型割手密 F<sub>1</sub> 代材料抗旱性评价, 研究根系性状、生物量、株高与抗旱性的关系, 筛选抗旱性强种质材料。以 15 个含云南割手密血缘 F<sub>1</sub> 代创新种质为试验材料, 在反复水分胁迫的条件下, 测定根重、根长、地上、地下生物量以及绿叶、枯叶等的性状, 对比分析甘蔗割手密 F<sub>1</sub> 代种质受干旱胁迫的影响。结果表明: 各根部性状指标对干旱胁迫的敏感程度排序为: 根冠比 > 根鲜重 > 根体积 > 最长根长; 地上部分全部枯死的材料, 地下部分的生物量亦不高, 绿叶生物量占从总生物量比例越高的材料, 其地下部分生物量亦越大。株高生长受水分胁迫影响越小的材料, 抗旱性越强。根冠比和绿叶干重可以作为鉴定不同生态型割手密种质抗旱性鉴定的指标及抗旱性种质材料筛选依据。云割 F<sub>1</sub>08-391、云割 F<sub>1</sub>08-518 和云割 F<sub>1</sub>08-607 等材料可在甘蔗抗旱育种中加以重点利用。

**关键词** 甘蔗; 割手密; 抗旱性; 根冠比

## Study on Drought Resistance of F<sub>1</sub> Generation from *Saccharum spontaneum* L in Yunnan

BIAN Xin, LANG Rongbin, TAO Lianan, AN Rudong, TIAN Chunyan, ZHOU Qingming, DONG Lihua, YU Huaxian, SUN Youfang, YANG Lihe, ZHANG Yu, JING Yanfen\*

Ruili Breeding Station, Sugarcane Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Ruili, Yunnan 678600, China

**Abstract** To evaluation drought resistance of F<sub>1</sub> generation from four ecotypes *Saccharum spontaneum* L. with Yunrui innovation parents, and to explore the relationship between drought resistance with root characters, biomass and plant height, the comprehensive evaluation of drought resistance of *Saccharum spontaneum* L. from different ecotypes were performed. The characters of root weight, root length, the above ground, the underground biomass, the green leaf and the dry leaf were measured under the condition of repeated water stress, and the effects of the F<sub>1</sub> generation of the wild species of the sugarcane on the drought stress were compared. The results show that the order of sensitivity of each root character index to drought stress was as follows: root-shoot ratio > root fresh weight > root volume > longest root length. The biomass of the underground part is not high, the higher the biomass of the green leaves, the higher the total biomass of the green leaves, and the lower part of the ground. The smaller the effect of water stress on plant height growth, the stronger the drought resistance. Therefore, the ratio of root to shoot and green leaf dry weight can be used as the index of drought resistance identification and the screening basis of drought resistant germplasm. In all thirty-six tested materials, YGF108-391, YGF108-518 and YGF108-607, were exhibited strong resistance under water stress. These materials could be utilized emphatically in drought resistance breeding.

**Keywords** sugarcane; *Saccharum spontaneum* L.; drought resistance; root:shoot ratio

**基金项目** 云南省青年基金(2018FD128); 国家自然科学基金(31360358); 云南省重点基金(2015FA034); 云南省科技惠民计划(2014RA059); 云南省甘蔗遗传改良重点实验室开放基金(2015DG015-05、2015DG015-09)。

**作者简介** 边蕊(1989-),女,助理研究员,研究方向:甘蔗种质创新研究,E-mail:rlbianxin@163.com.\*通讯作者:经艳芬;E-mail:rljyf@126.com。