



2020年全国热带作物学术年会

CHINA TROPICAL CROPS ANNUAL MEETING 2020

助力科技经济融合发展 促进国际国内双向循环

会议论文集

2020/10/27-31

中国·佛山

目 录

| | |
|---|----|
| 1. 55 份杨桃种质主要经济性状综合评价..... | 1 |
| 2. 不同成熟期荔枝果实品质及糖含量变化研究..... | 2 |
| 3. 不同的基质配比对彩椒生长的表现情况..... | 3 |
| 4. 鼓槌石斛扦插育苗技术研究..... | 6 |
| 5. 化橘红产业 SWOT 分析与发展对策研究..... | 12 |
| 6. 基于 ISSR 和 SRAP 标记的红毛丹种质资源遗传多样性分析..... | 16 |
| 7. 基于 SSR 标记的海南栽培槟榔遗传多样性分析..... | 25 |
| 8. 咖啡气孔性状与倍性相关性研究..... | 26 |
| 9. 苦瓜 MAP30 基因序列多态性与苦瓜瓜形连锁分析..... | 27 |
| 10. 苦瓜应答白粉病菌侵染的分子机制..... | 28 |
| 11. 龙眼 bZIP 转录因子的克隆及表达模式分析..... | 29 |
| 12. 杧果 SC-SSR 分子标记分析体系的建立与优化..... | 31 |
| 13. 三个蓝莓不同品种花微形态结构比较..... | 39 |
| 14. 外源磷缓解地毯草铝毒害的机制研究..... | 51 |
| 15. 油茶果实和种子生长动态观察..... | 52 |
| 16. 早熟荔枝新品种“桂早荔”引种区试及发展优势展望..... | 62 |
| 17. 柱花草磷饥饿响应基因 <i>SgPHRs</i> 的克隆与表达分析..... | 64 |
| 18. 百香果-槟榔套种栽培技术..... | 65 |
| 19. 槟榔林下间作平托花生土壤细菌群落及多样性研究..... | 66 |
| 20. 溶解性有机质极性组分的化学多样性及与二甲四氯的络合作用..... | 68 |
| 21. 枯草芽孢杆菌 <i>Czk1</i> 脂肽类物质抑菌活性及防病效果..... | 69 |
| 22. 弯柄灵芝菌丝体代谢物分析..... | 70 |
| 23. 热带沿河流域稻菜轮作区土壤中农药残留分布特征、影响因素及风险评价..... | 71 |
| 24. 基质固相分散萃取-悬浮固化分散液液微萃取-气相色谱质谱法测定土壤中 16 种多环芳烃..... | 72 |
| 25. 柑橘黄龙病菌对柑橘木虱及其寄生蜂行为的影响研究..... | 73 |
| 26. 暗黑赤眼蜂交配及寄生行为研究..... | 74 |
| 27. 咖啡新发露湿拟漆斑叶斑病原鉴定及其生物学研究..... | 75 |
| 28. 枯草芽孢杆菌 <i>Czk1</i> 挥发性物质对橡胶灵芝菌的抑制作用..... | 76 |
| 29. 木薯叶总黄酮指纹图谱与其抗氧化活性的谱效关系..... | 77 |
| 30. 苏云金杆菌 <i>Bt 00-50-5</i> 发酵液对辣椒根结线虫的田间防效评价..... | 87 |
| 31. 不同能量水平发酵鸡粪对蚯蚓生物转化效果的影响..... | 88 |
| 32. 噻唑膦制剂对辣椒根结线虫病田间防治作用评价..... | 90 |

| | |
|---|-----|
| 33. 基于种特异性 COI 标记的新入侵害虫咖啡果小蠹快速鉴定技术..... | 91 |
| 34. 湛江农垦甘蔗生产机械化研究与规模经营实践分析..... | 93 |
| 35. 荔枝三种新重要病害的研究进展..... | 98 |
| 36. 香蕉新品种‘南天红’..... | 99 |
| 37. 不同施用量下 25%双环磺草酮对水稻苗期生长及防效的影响..... | 100 |
| 38. 盐碱胁迫下芸豆 bZIP 转录因子的鉴定及分析..... | 101 |
| 39. 喀斯特地区不同植被类型下土壤有机碳矿化差异分析..... | 102 |
| 40. 耐铅菌 A5 在砖红壤中的定殖规律研究..... | 103 |
| 41. 槟榔叶部细菌的分离与分子鉴定..... | 104 |
| 42. 木瓜秀粉蚧对不同木薯种质的寄主选择性研究..... | 112 |
| 43. 木薯对朱砂叶螨抗性的防御反应机制研究..... | 113 |
| 44. 厚藤尾孢叶斑病病原鉴定..... | 114 |
| 45. 鸡冠刺桐炭疽病病原鉴定..... | 115 |
| 46. 鸡冠刺桐叶缘枯病病原鉴定及生物学特性研究..... | 116 |
| 47. 六点始叶螨转录因子 <i>EsNrf2</i> 调控抗氧化酶的功能研究..... | 124 |
| 48. 矮龙船花枝枯病病原菌的分离鉴定及生物学特性研究..... | 125 |
| 49. 5 种棕榈植物对椰子织蛾幼虫生长发育的影响..... | 135 |
| 50. 鸦胆因 D 抑制斜纹夜蛾生长发育作用机理初探..... | 136 |
| 51. 水杨酸采前处理对芒果采后品质、抗病性和相关基因表达的影响..... | 138 |
| 52. 万宁市槟榔黄化病与椰心叶甲发生现状调查初报..... | 146 |
| 53. 椰子叶螨 <i>Aceria (Eriophyes) guerreronis</i> (K.)入侵我国的风险性分析..... | 150 |
| 54. 火龙果果腐病菌 (<i>Gilbertella persicaria</i>) 生物学特性及抑菌植物精油筛选..... | 151 |
| 55. <i>In vitro</i> evaluation of fungicides against <i>Ceratocystis paradoxa</i> causing stem bleeding and trunk rot of coconut in Hainan..... | 160 |
| 56. 解淀粉芽孢杆菌 F1 对芒果炭疽病菌的抑菌机理及其生防效果研究..... | 166 |
| 57. 党建与科技创新双驱动, 服务乡村产业兴旺..... | 174 |
| 58. HbMYB44 转录调控橡胶树天然橡胶生物合成的分子机制..... | 180 |
| 59. 巴西橡胶树转录中介体 <i>HbMed25</i> 基因克隆与表达分析..... | 181 |
| 60. Gene cloning and expression analysis of mediator <i>HbMed25</i> in <i>Hevea brasiliensis</i> | 181 |
| 61. 不同成土母质胶园土壤磷素形态研究..... | 199 |
| 62. 不同刈割方式对三尖叶猪屎豆生长和养分积累的影响..... | 200 |
| 63. 大量元素影响橡胶树花药愈伤组织诱导效果的评价..... | 201 |
| 64. 西双版纳橡胶林与其他林分类型生物量及碳储量的比较..... | 209 |
| 65. 橡胶树胶乳高表达的两个同源法尼基焦磷酸合成酶的功能研究..... | 218 |

| | |
|---|-----|
| 66. 橡胶树魏克汉种质成龄树预割诱导次生乳管分化的比较研究..... | 219 |
| 67. 花椰菜和西兰花采后生理生化与质构特性变化比较..... | 229 |
| 68. 2020 年剑麻集团剑麻产业技改发展及展望..... | 241 |
| 69. 夹杂物对甘蔗糖分等影响的分析与查定..... | 245 |
| 70. 关于广东收获罐头食品有限公司发展的探索..... | 253 |
| 71. 海南热带沿河流域稻菜轮作地表水中农药的分布特征、影响因素及风险评价..... | 258 |
| 72. 花椰菜和西兰花采后生理生化与质构特性变化比较..... | 259 |
| 73. 农药残留混合样本检测模型的建立与应用..... | 272 |
| 74. 潜心研发模压技术保持行业领先地位..... | 281 |
| 75. 剑麻纤维抗紫外及抗菌性能的研究..... | 284 |
| 76. 基于转录组的剑麻 SSR 标记开发与筛选..... | 290 |
| 77. 剑麻“3414”肥料效应试验研究..... | 299 |
| 78. 剑麻麻茎还田及配施不同水平钾肥对土壤肥力和剑麻生长的影响..... | 300 |
| 79. 广东剑麻农业机械化历程及发展建议..... | 302 |
| 80. 剑麻纤维基锂离子电池负极材料的制备及其电化学性能研究*..... | 306 |
| 81. 东方剑麻集团产业技改与展望..... | 307 |
| 82. 杂元素掺杂生物质炭在储能电极中的应用..... | 310 |
| 83. 剑麻麻渣还田对土壤肥力和微生物组成的影响..... | 326 |
| 84. 广前公司水果产业发展问题及对策..... | 327 |
| 85. 不同光质 LED 灯补光对火龙果生长发育的影响..... | 332 |
| 86. 红江橙产业情况及发展对策探讨..... | 338 |
| 87. 加快推进品牌化建设 全面提升农垦竞争力..... | 343 |
| 88. 雷州民系传统农业技术知识调查——以雷州市博袍村为例..... | 347 |
| 89. 广西八桂田园提升发展的实践与探索..... | 353 |
| 90. 酱油生产工艺及风味的研究进展..... | 357 |
| 91. 农业工具乐器化的意义及其可能形式..... | 362 |
| 92. 农业文化的类型..... | 367 |
| 93. 浅谈农业旅游的食品品尝..... | 379 |
| 94. 食品中阿苯达唑及其代谢物检测方法的研究进展..... | 386 |
| 95. 武藤式生物肥对烟叶生长及质量的影响..... | 390 |
| 96. 蔗渣基质斥水性消除和其种植效果的研究..... | 395 |
| 97. Study on elimination of water repellency of bagasse substrate and its planting effect.. | 406 |
| 98. 环境意识、知识如何影响城镇居民天然橡胶园生态治理参与意愿? ——来自中国海南省的证据..... | 407 |
| 99. 香蕉种质资源的保存、评价与利用..... | 408 |
| 100. 抗枯萎病粉蕉新品种‘粉杂1号’的选育..... | 415 |

55 份杨桃种质主要经济性状综合评价

欧景莉, 朱杨帆, 黄雪梅, 莫干辉, 陈豪军*, 周俊岸, 何江, 宁琳, 陈燕, 周海兰

(广西壮族自治区亚热带作物研究所, 广西 南宁 530001)

摘要: 本研究对广西壮族自治区亚热带作物研究所名优水果示范园内种植的 55 份杨桃种质资源的单果重、果实大小、有机酸、可溶性固形物含量、果肉质地、果肉颜色等经济性状进行观测, 探讨了杨桃主要经济性状变异规律: 杨桃果实在风味、颜色和形状上体现出丰富的变异和多样性。可食率、平均单果重等 13 个数量经济性状指标变异系数分布范围在 4.03%~88.97%, 平均值 29.35%; 除可食率外, 其余指标变异系数均在 10%以上, 表明杨桃的经济性状变异较大。19 个经济性状多对性状指标间存在显著或极显著相关性。根据杨桃的 19 个性状采用欧式距离法进行聚类分析, 可将 55 份杨桃种质资源分为 4 个类群, 第 1 类群为果型最大的类群; 第 2 类群为平均总酸含量最低、糖酸比最高的大果型类群, 第 3 类群为平均总酸含量较低、糖酸比较高的小果型类群, 第 4 类群是中果型类群。基于经济性状的主成分分析综合评价, 筛选出 10 份综合经济性状较好的种质, 可为杨桃育种亲本筛选提供参考, 为生产者对不同杨桃品种经济性状的了解以及品种的选择提供数据支持和依据。

关键词: 杨桃; 经济性状; 主成分分析; 综合评价

中图分类号: S662.3

文献标识码: A

第一作者简介: 欧景莉, 1986 年生, 女, 助理研究员, 研究方向为植物种质资源保护、果树栽培。Email: caoyinglinglan@163.com。

不同成熟期荔枝果实品质及糖含量变化研究

周瑞云, 王祥和, 陈哲, 吴凤芝, 周文静, 吴文碟, 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, 海南 海口 571100)

摘要 【目的】本研究对“妃子笑”和“紫娘喜”两个荔枝品种不同成熟期的果实品质和糖含量进行分析, 了解荔枝果实品质发育与形成的一般规律, 为荔枝合理采摘提供参考依据。【方法】以“妃子笑”、“紫娘喜”两个品种为研究对象, 在果实进入成熟阶段分6个不同时期进行采样, 分别为(I. 青果期(50 DAF)、II. 退绿期(55 DAF)、III. 转黄期(58 DAF)、IV. 转红期(62 DAF)、V. 完熟期(65 DAF)、VI. 过熟期(70 DAF))的果实样品, 对果实的单果重、可溶性固形物、总酸、糖含量、可食率等指标进行测定, 并采用高效液相色谱法对样品中的糖组分及含量进行检测, 计算分析得出主要糖组分及其含量。【结果】“妃子笑”荔枝果实单果重和可溶性固形物分别在第III个成熟阶段达到最大值26.6g和19.4%。整个发育过程总酸含量呈下降趋势, 在第V个成熟期有小幅度的上升后下降; 糖组分以葡萄糖和果糖为主, 到第IV个成熟期总糖含量达到最大值19.94%。“紫娘喜”荔枝果实单果重和可溶性固形物分别在第V个成熟期达到最大值60.6g和14.8%。果实总酸整体呈现下降趋势; 糖组分以蔗糖为主, 到第IV个成熟期总糖含量达到最大值13.39%。【结论】“妃子笑”荔枝果实在第III个成熟期达采摘标准, 第V个成熟期果实可溶性固形物开始下降, 糖含量减少, 故第III个成熟期到第V个成熟期采摘果实风味较好; “紫娘喜”荔枝果实第IV个成熟期符合采摘标准, 第V个成熟期可溶性固形物达到最大值, 糖含量明显减少, 故第IV个成熟期开始采摘果实风味较好。

关键词: 荔枝; 果实; 品质分析; 糖含量; 糖组分

*作者简介: 周瑞云, 研究实习员, 研究方向为果树栽培生理, E-mail:

通信作者: 胡福初, 研究方向为果树种质资源与遗传育种, E-mail: hufuchu@163.com

基金项目: 海南省重点研发计划项目(ZDYF2018036); 国家荔枝龙眼产业技术体系(CARS-32-26)

不同的基质配比对彩椒生长的表现情况

钟晓萍, 黄春华

广东农垦热带作物科学研究所

摘要 以彩色甜椒品种红太极和黄太极两个品种为种植材料, 开展排水处理方法及不同的基质配比试验。结果表明, 在温室设施无土栽培, 采取开沟架空法效果最佳; 栽培基质以椰糠: 珍珠岩=6: 1 的效果最佳。

关键词 彩色甜椒, 设施无土栽培, 基质配比, 排水处理。

彩色甜椒的原产地是荷兰。具有色泽艳丽、果型大、果肉厚、果皮光滑、口感甜脆、多色多彩而且闻名, 与普通大椒相比, 具有丰富维生素 C 和 B 及胡萝卜素为强抗氧化剂, 主要用于适合生食或切丝拌沙拉酱, 也可为多种菜肴的配料, 是一种高档蔬菜。

随着国家对绿色农业的支持, 蔬菜设施栽培产业化已成为趋势。在南亚热带地区, 通过特色蔬菜品种引进与设施栽培, 可有效地节约能源, 提高土地利用率和经济效益, 并减少环境污染, 推进本区域现代农业生产可持续发展。为了将设施无土栽培投资降到合理水平, 最大限度地提高彩椒设施栽培的可控性和种植水平, 增加产量, 稳定市场供应, 逐步形成规模化、区域化的特色产业, 本文对彩色甜椒设施无土栽培基质、合理的排水方法进行了研究试验, 有效降低生产成本, 为推广无土栽培技术提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验地点: 在广东农垦热带作物科学研究所 4 号温室, 面积 3000 平方米。

1.1.2 供试品种: 荷兰瑞克斯旺种子有限公司的红太极(35-127) Gospel RZ F1 杂交种、黄太极(35-209) Bachata RZ F1 杂交种两个彩色甜椒品种;

1.2 试验设计

1.2.1 棚内不同排水方式对比试验

试验采取利用不同模式的排水方式来定植同一品种彩椒, 利用聚乙烯泡沫种植箱作为栽培工具, 在每亩摆放种植箱量相同前提下, 按以下 2 种方式进行处理、对比:

开沟架空法 (A 组): 在温室内平整场地后, 沿着种植线方向, 每隔 1m 开一条排水小沟, 沟宽度 10cm、沟深 15cm; 再次将土地平整后, 全部覆盖 0.15mm 白色防草地膜、压实, 然后摆放种植箱于沟面上。面积 667 平方米。

沟内放石粒法 (B 组): 在温室内平整场地后, 沿着种植线方向, 每隔 70cm 开一条宽度 30cm、深度 15cm 的排水沟, 清理泥土后, 在沟内放石粒并铺平。然后将种植箱放置与同一水平石粒上, 使得排出的水经过石粒流走, 行间铺 0.15mm 白色防草地膜与土壤隔离。面积 667 平方米。

1.2.2 不同基质配方对比试验²

设计三种不同处理, 每个处理为 1000 个种植箱, 3 次重复:

处理一 (A): 椰糠+珍珠岩, 体积比例为 6: 1;

处理二 (B): 泥土+珍珠岩, 体积比例为 6: 1;

处理三 (C): 泥土+腐熟有机肥, 体积比例为 6: 1

CK: 土壤栽培为对照。

所有基质均用福尔马林 20 倍液进行消毒处理。

1.3 试验方法

作者简介: 钟晓萍 (1979-), 女, 农艺师, 长期从事南亚热带经济作物、果蔬、种苗繁育等方面的科研及生产栽培管理工作。

E-mail:1368007982@qq.com

1.3.1 设施准备工作

先在温室内部四周开一条宽度为 40cm 的主排水沟，然后按照不同排水方式试验的设计开挖排水沟，多余泥土全部运出棚外。最后平整场地。

1.3.2 温室清理与消毒

每亩设施用 37%福尔马林兑水稀释成 4%溶液对温室熏蒸、闷棚消毒 3-5 天，消毒后打开门窗通风 15 天。

1.3.3 基质装箱

选用规格为 50.5cm×38cm×31cm 的聚苯乙烯泡沫塑料作为种植箱，每个泡沫箱各个侧面底部中央刺穿 1 个直径为 3cm 的小孔，以增加透水性和透气性。

将经过消毒处理后的基质装入箱中，基质表面离箱面 3cm，然后表面刮平、压实。

基质消毒处理后，用 1.1.3 试验材料：基质材料选用经过处理的椰糠+珍珠岩；种植箱选厚度 0.15mm 的白色地膜；

聚苯类白色硬质泡沫箱，常用规格为长 52 厘米，宽 38 厘米，高 25 厘米。

1.3.3 栽培管理

根据彩椒生长情况，用 2.0mm 高强度尼龙绳作为牵引线；配套完善的水肥一体化滴灌设施。后期抚管过程中，按照彩椒生产要求，及时控制天窗、侧窗、遮阳网、风机等设备来调节设施温度和湿度。

1.4 数据收集

1.4.1 棚内不同排水方式对比试验：每亩成本核算、外观效果、排水效果、可行性效果。

1.4.2 不同基质配方对比试验：N、P、K、有机质、水分、PH 值、果实产量等。

2 结果与分析

2.1 棚内不同排水方法对比试验

本试验对开沟架空法（A 组）、沟内放石粒法（B 组）两种不同排水方式的外观、排水效果进行比较发现，两种排水方式的外观效果均比较美观，排水效果均比较好。但成本有所差异，其中沟内放石粒法（B 组）成本相对较高，操作较为繁琐，可行性较低；开沟架空法（A 组）排水效果良好，且简便又实惠，适合推广。

因此，利用开沟架空法进行大面积设施无土蔬菜栽培可行性最高。

表 1 棚内不同排水方法对比

| 处理 | 每亩成本/元 | 外观效果 | 排水效果 | 可行性效果 |
|-----|--------|------|------|-------|
| A 组 | 180 | 良好 | 好 | 90% |
| B 组 | 230 | 好 | 好 | 60% |

（每亩成本包括场地清理与平整、开沟人工费用、石粉与地膜铺设费用、石粉材料费用等）。

2.2 不同基质配方对比试验

2.2.1 不同基质的性能对比

对不同基质材料的抽样检测结果来看，不同基质的 N、P、K、有机质、水分、PH 值、单个重量等指标存在一定差异（具体见表 2）。处理 A 的 N、P、K、有机质及保水性、通透性能都相其它两种处理好；处理 B、处理 C 这两个处理的基质容易板结，透气性差，且装填基质后，种植箱相对偏重，平均重量达 30kg 以上，操作不方便。

因此，在设施栽培上，利用基质材料椰糠+珍珠岩（6: 1）可行性较高。

表 2 不同基质材料处理抽样检测结果对比

| 处理 | N | P | K | 有机质 | 水分 | PH 值 | 平均重量 |
|----|------|------|------|-------|-------|------|------|
| A | 0.18 | 0.43 | 1.75 | 34.39 | 43.85 | 5.55 | 20 |

| | | | | | | | |
|----|------|------|------|------|-------|------|------|
| B | 0.07 | 0.63 | 0.57 | 0.86 | 15.89 | 4.63 | 29.3 |
| C | 0.12 | 0.75 | 0.58 | 1.82 | 19.16 | 6.47 | 31.5 |
| CK | 0.08 | 0.49 | 0.28 | 1.69 | 18.90 | 5.46 | 32 |

2.2.2 不同基质对彩椒生产与产量的影响

而且在运用相同肥水管理情况下, 处理一、处理二的苗木生长也比较旺盛, 平均径粗相差 0.15cm 左右, 平均单果重量相差 1.82g 左右, 表面相对光滑。因此适合大面积推广运用。

表 3 不同基质对彩椒生产与产量的影响

| 处理 | 株高 | 茎粗(cm) | 结果数量(个) | 平均单果重量(g) | 平均每株产量 |
|----|------|--------|---------|-----------|--------|
| A | 2.05 | 5.60 | 11 | 196.50 | 2200 |
| B | 1.98 | 5.55 | 10 | 194.68 | 1946.8 |
| C | 1.95 | 5.43 | 10 | 190.17 | 1901.7 |
| CK | 1.89 | 5.30 | 10 | 180.86 | 1808.6 |

参考文献

- 1、宋一武, 彩色甜椒高产栽培技术, 安徽省: 由安徽省农业科学院出版 CN 刊号为: 34-1278/S 2013 年第 05 期
- 2、李宗全, 无土栽培配方, 含基质配方和营养液配方, 广东省: 广东农垦总局, ISSN: 1004-0447; CN: 44-1103/F; 2019-05-10
- 3、邵靖霞, 大棚彩椒种植技术, 吉林省: 吉林蔬菜花卉所, ISSN: 1672-0180, CN: 22-1215/S, 2018 (000) 006
- 4、汪晓云, 彩色甜椒无土栽培技术, 北京: 中国农业工程研究设计院 CN 11-2263/S, ISSN 1002-6827, 2001 年 10 期

鼓槌石斛扦插育苗技术研究³

高燕, 姜艳*, 李桂林, 罗凯, 周侯光, 李泽生
(云南省德宏热带农业科学研究所, 云南 瑞丽 678600)

摘要: 本论文研究了鼓槌石斛扦插繁殖育苗中不同基质与不同阴干时间、不同部位与不同生长调节剂对其抽芽率的影响, 并探讨了扦插育苗技术, 以提高鼓槌石斛插穗出芽率。结果表明: 利于插穗的基质为树皮+刨花(1:1), 阴干保存时间为30d; 假鳞茎不同部位抽芽率: 上部>中部>下部; 生长调节剂组合6-BA 200 mg·L⁻¹ + NAA 200 mg·L⁻¹ 浸泡20 min, 扦插90天后, 抽芽率为76.7%。

关键词: 鼓槌石斛; 扦插繁殖; 育苗技术

Research on Cuttage Seedling Technology of *Dendrobium Chrysotoxum*

Abstract: This research studies the effect of varying media, time for drying in the shade, organ parts and growth regulators on the germination rate of the *Dendrobium Chrysotoxum* in cottage propagation. The cutting technology to improve the sprouting rate has been investigated. According to results, it was concluded that: the best medium for cuttings was bark + shavings (1:1), and with the storage time was 30 days in the shade; the budding rate of different parts of pseudobulb was: upper part > middle part > lower part; the combination of growth regulator 6-BA 200 mg·L⁻¹ + NAA 200 mg·L⁻¹ soaked for 20 min, the budding rate could be 76.7% after 90 days for cutting.

Key words: *Dendrobium chrysotoxum*, cutting propagation, seedling technology.

鼓槌石斛 (*Dendrobium chrysotoxum* Lindl.), 又名粗黄草、金弓石斛^[1], 为兰科石斛属多年生附生草本植物, 是一种新兴的石斛类药材^[2], 2010年被列入《中国药典》^[3], 以茎入药, 气微, 味淡, 嚼之有黏性, 具有美容明目、生津益胃、安神补血、增强免疫力等功效^[4-7], 是常用的名贵中药材, 也是脉络宁、通塞脉片、石斛液光丸等著名中成药的主要原料之一^[8-12]。近年来, 由于需求量的增加, 鼓槌石斛野生资源过渡采挖和自然环境的破坏。目前, 生产上使用的鼓槌石斛种苗多数是通过果荚无菌播种获得, 即鼓槌石斛的有性繁殖, 这种途径培育的种苗性状不稳定、植株差异明显, 加上无菌播种组培苗种植生长缓慢, 大田种植要5—7年才开花^[13]。鼓槌石斛无性繁殖主要有扦插繁殖、高芽位繁殖、分株繁殖, 而扦插繁

³ 基金项目: 中华人民共和国农业部专项(16RZZY-07-07); 云南省科技厅专项(2016DC025); “省农垦热带作物科技创新专项(C153000002608-149019)”。

第一作者简介: 高燕(1965-), 女, 本科, 研究员, 研究方向为药用植物资源收集与种苗培育、栽培技术研究。E-mail: dbdygy@163.com.

通讯作者: 姜艳(1983-), 女, 汉族, 贵州人, 副研究员, 主要从事药用植物选育种与组培快繁技术研究。E-mail: yandady@163.com.

殖为无性繁殖最常见的一种方法，具有繁殖速度快、插穗易采集、遗传性状稳定、管理方便等优点，扦插育苗是保持母本性状较为理想的一种繁殖方法，因此，鼓槌石斛扦插繁殖势在必行。据文献查阅，关于不同种石斛扦插育苗技术研究，金钗石斛 (*D. nobile* Lindl)、齿瓣石斛 (*Dendrobium parishii* Rehb. f.)、铁皮石斛 (*D. officinale* Kimura et Migo) 等都有相关报道^[14-16]，但关于鼓槌石斛扦插育苗技术未见报道。为了探讨鼓槌石斛扦插育苗技术，以提高插穗出芽率，2017—2018年作者选用2—3年生鼓槌石斛假鳞茎为材料，研究不同基质、不同阴干时间、不同部位和生长调节剂对鼓槌石斛扦插抽芽率的影响，为鼓槌石斛的扦插繁殖提供技术支持。

1 材料和方法

1.1 试验地点和时间

扦插试验于2017年12月至2018年2月在云南省德宏热带农业科学研究所温室大棚内进行。

1.2 试验材料

2017年12月选择从缅甸引入鼓槌石斛植株假鳞茎作为试验材料。鼓槌石斛开花期3月下旬至5月上旬，抽芽生长期5—8月，假鳞茎膨大生长期8—10月。2018年2月选择未开花且发育完整的生长健壮、无病虫害的2—3年生鼓槌石斛植株假鳞茎从母株的根基部往上2-3cm处剪断，作为扦插材料。

1.3 试验方法

1.3.1 扦插容器

选择长×宽×高为42cm×42cm×6cm的正方形黑色育苗盘（按株行距6cm×8cm，每盘扦插30株），作为扦插容器。

1.3.2 扦插基质

选用树皮、刨花、锯木渣等为原料设5种基质，A、树皮，B、刨花，C、锯木屑，D、树皮+刨花（1:1），E、树皮+锯木屑（1:1）。基质采用1000倍液多菌灵消毒浸泡4h，捞出晾干水分备用。

1.3.3 扦插材料处理

用75%酒精先将锋利小刀消毒，将假鳞茎切成上部、中部、下部3种插穗。（1）消毒。用1000倍液多菌灵消毒浸泡10min。（2）失水处理。选取插穗消毒处理后设3种阴干处理，3d、30d、60d晾干水后，置于阴凉暗环境下保存。（3）生长调节剂处理。将失水处理后的插穗浸泡于生长调节剂组合溶液中20min，生长调节剂组合为① 6-BA200mg.L⁻¹，② NAA200mg.L⁻¹，③ 6-BA200mg.L⁻¹+NAA200mg.L⁻¹，CK清水作为对照，每种假鳞茎部位3个

处理，共12个处理，每个处理用一个育苗盘，每盘30个插穗。

1.3.4 扦插插穗

扦插时将准备好的插穗芽眼朝上，按株行距6cm×8cm，平铺于基质表面，扦插后及时浇透水，以后每天早晚补充水分，保持扦插基质的湿度。

1.3.5 插穗管理

采用全光时控雾插技术进行水分管理，光照控制3000Lx—5000Lx，基质湿度70%-80%，随时观察基质湿度，根据湿度情况适时浇水。待新芽基部形成5条长3cm以上新根和新芽长至高6cm以上，茎膨大呈纺锤形，叶片3—5片，即可进行移栽。

1.3.6 观测指标

扦插后定期观察插穗生长情况，观察记录抽芽时间，扦插90d后，统计插穗萌芽数、抽芽率。

2 结果与分析

2.1 不同基质与不同阴干时间对鼓槌石斛插穗出芽率的影响

插穗扦插后，不同基质与不同阴干时间对鼓槌石斛插穗出芽率的影响较大。从表1可以看出，在选择基质方面以树皮+刨花=1:1体积比复合基质为好，原因是复合基质可以集合多种基质的优点，克服单一基质的不足，复合基质即可达到保水、透气的良好效果，又能保持插穗的湿度，更能满足插穗抽芽生长对营养的需要。在阴干时间方面以阴干失水保存时间30d较好，原因是鼓槌石斛茎呈纺锤形，茎粗壮，失水保存时间相对较长，假鲜茎消毒处理后置于阴凉暗环境下保存30d更利于萌发；D、E两种复合基质的组合抽芽率分别达70%和66.7%。复合基质对鼓槌石斛扦插的效果优于单一基质，萌芽率高，最适宜鼓槌石斛插穗阴干失水时间30d后扦插的是D复合基质，即树皮+刨花=1:1。

表 1 不同基质、不同阴干时间对鼓槌石斛插穗出芽率的影响

| 处理 | 基质 | 不同阴干时间处理 | 插穗数/个 | 萌芽数/个 | 抽芽率/% |
|----|------------|----------|-------|-------|-------|
| A | 树皮 | 60d | 30 | 9 | 30 |
| | | 30d | 30 | 10 | 33.3 |
| | | 3d | 30 | 8 | 26.7 |
| B | 刨花 | 60d | 30 | 13 | 43.3 |
| | | 30d | 30 | 15 | 50 |
| | | 3d | 30 | 11 | 36.7 |
| C | 锯木屑 | 60d | 30 | 12 | 40 |
| | | 30d | 30 | 14 | 46.7 |
| | | 3d | 30 | 10 | 33.3 |
| D | 树皮+刨花（1:1） | 60d | 30 | 18 | 60 |
| | | 30d | 30 | 21 | 70 |

| | | | | | |
|---|--------------|-----|----|----|------|
| | | 3d | 30 | 16 | 53.3 |
| | | 60d | 30 | 17 | 56.7 |
| E | 树皮+锯木屑 (1:1) | 30d | 30 | 20 | 66.7 |
| | | 3d | 30 | 15 | 50 |

2.2 不同部位与不同生长调节剂对鼓槌石斛插穗出芽率的影响

把插穗的不同部位（上部、中部、下部）用植物生长调节剂浸泡处理与 CK 清水作对照插入相同的复合基质中统计各部位插穗的出芽数和抽芽率。从表 2 可以看出，假鳞茎不同部位与不同植物生长调节剂对鼓槌石斛插穗出芽率影响较大，在相同植物生长调节剂 6-BA200mg.L⁻¹+NAA200mg.L⁻¹ 组合处理与不同部位插穗抽芽率大小顺序为：上部>中部>下部，其中，上部插穗的出芽率高达 76.7%，中部出芽率为 46.7%，下部出芽率为 20%，不同植物生长调节剂处理的插穗比 CK 清水处理的插穗抽芽率要高，说明不同植物生长调节剂对鼓槌石斛插穗出芽具有一定的促进作用。

表 2 不同部位与不同生长调节剂对鼓槌石斛插穗出芽率的影响

| 处理 | 假鳞茎部位 | 生长调节剂处理 | 插穗数/个 | 萌芽数/个 | 抽芽率/% |
|----|-------|---------|-------|-------|-------|
| 1 | | ① | 30 | 18 | 60 |
| 2 | 假鳞茎上部 | ② | 30 | 19 | 63.3 |
| 3 | | ③ | 30 | 23 | 76.7 |
| 4 | | CK | 30 | 14 | 46.7 |
| 5 | | ① | 30 | 10 | 33.3 |
| 6 | 假鳞茎中部 | ② | 30 | 12 | 40 |
| 7 | | ③ | 30 | 14 | 46.7 |
| 8 | | CK | 30 | 9 | 30 |
| 9 | | ① | 30 | 3 | 10 |
| 10 | 假鳞茎下部 | ② | 30 | 4 | 13.3 |
| 11 | | ③ | 30 | 6 | 20 |
| 12 | | CK | 30 | 2 | 6.7 |

注：下部以假鳞茎切口往上第 1—2 节，中部第 3—5 节，上部第 6—9 节。

3 小结与讨论

不同阴干时间与不同基质配比对插穗出芽率影响较大，在本试验 3 种阴干时间和 5 种基质方案中，在阴干时间 30d 更适合插穗扦插，不同基质对插穗抽芽率影响较大，复合基质比单一基质更适合扦插，复合基质树皮+刨花=1:1（体积比）出芽率高达 70%，说明不同插穗基质中的水分、温度、湿度、PH 值、营养成分与扦插抽芽率有直接关系^[17]，而复合基质可以集合多种基质的优点，克服单一基质的不足，复合基质即可达到保水、透气的良好效果，又能保持插穗的湿度，更能满足插穗抽芽生长对营养的需要。

在相同植物生长调节剂 6-BA200mg.L⁻¹+NAA200mg.L⁻¹ 组合处理与不同部位插穗抽芽率大小顺序为:上部>中部>下部,其中,上部插穗的出芽率高达 76.7%,中部出芽率为 46.7%,下部出芽率为 20%,这与敖茂宏^[18]报道的结果一致,原因有可能是新根萌芽率与插穗营养物质有关^[19],上部插穗节间密集、中部插穗粗壮且分生组织旺盛,更容易满足新芽生长所需要的营养物质,出芽率较高,而下部插穗细弱木质化程度高,不能满足新芽生长所需要的营养物质,出芽率低。不同植物生长调节剂处理的插穗比 CK 清水处理的插穗抽芽率要高,说明不同植物生长调节剂对鼓槌石斛插穗萌发具有一定的促进作用。

本试验方案所选择3种不同阴干失水时间与5种不同基质配比、3个不同部位与3种不同植物生长调节剂组合,根据萌芽数、抽芽率的综合指标考虑以阴干失水处理时间为30d较好;插穗基质以复合基质树皮+刨花=1:1(体积比)较好;插穗的选择以上部或中部为好,下部插穗因木质化程度较高,抽芽率低,可留在母株上作为茎基部萌芽的材料,避免繁殖材料浪费;生长调节剂组合6-BA200mg.L⁻¹+NAA200mg.L⁻¹浸泡20min为好。新芽萌发后,加强水肥管理,待新芽基部形成5条长3cm以上新根和新芽长至高6cm以上,茎膨大呈纺锤形,叶片3—5片,即可进行移栽。

参考文献:

- [1]王雁,李振坚,彭红明. 石斛兰:资源.生产.应用[M].北京:中国林业出版社,2007:32-33.
- [2]中国药典.一部[S]12010:851.
- [3]2010版中国药典石斛质量标准.<http://www.docin.com/p-442027888.html>.
- [4]唐德英.野生鼓槌石斛引种和栽培技术[J].中国中药杂志,2006(15):1297—1298.
- [5]马国祥,徐国钧,徐珞珊,等.鼓槌石斛及其化学成分的抗肿瘤活性作用[J].中国药科学报,1994(03):188-189.
- [6]付开聪.鼓槌石斛快繁育苗技术的研究[J].中草药,2009,40(S1):259-262.
- [7]肖春宏,黄飞燕,杨波.鼓槌石斛研究进展[J].山西农业科学,2014,42(6):647-649.
- [8]马国祥,徐国钧,徐珞珊,等.鼓槌石斛及其化学成分的抗肿瘤活性作用[J].中国药科学报,1994(03):188-189.
- [9]龚燕晴,杨虹,刘赟,等.鼓槌石斛化学成分的研究III[J].中国中药杂志,2006(04):384-386.
- [10]李长田,李成博,范卫卫,等.鼓槌石斛干花正己烷提取物的GC-MS研究[J].云南师范大学学报(自然科学版),2011(05):75-78.
- [11]杨红,王峥涛,徐珞珊,等.鼓槌石斛化学成分的研究[J].中国医科大学学报,2002,33(5):367—369.
- [12]郑志新,金亚征,瞿金玲.鼓槌石斛分株繁殖研究[J].北方园艺,2013(20):134-136.
- [13]高燕,李桂琳,周侯光,等.鼓槌石斛的种源鉴定及种植情况[J].北方园艺,2018(10):149—156.

- [14]李荣英, 王艳芳. 金钗石斛扦插试验[J]. 热带农业科技, 2011, 34 (3): 31-32.
- [15]李桂琳, 白燕冰, 胡永亮, 等. 齿瓣石斛育苗技术研究[J]. 中国热带农业, 2012, 44 (1): 70-72.
- [16]陈艺荃, 叶秀仙, 林兵. 铁皮石斛育苗技术研究[J]. 福建农业科技, 2018, (10): 1-3.
- [17]华宏, 倪田. 激素和基质对红叶楠嫩枝扦插生根的影响[J]. 林业科技开发, 2008, 22 (2): 99-100.
- [18]敖茂宏, 吴明开, 罗晓青, 等. 流苏石斛扦插育苗基质与插穗部位优选研究[J]. 浙江农业科学, 2011, (5): 1037-1039.
- [19]张雪平, 汪圣华. 不同基质对一串红扦插生根的影响[J]. 中国林副特产, 2008, 93 (2): 24-26.

高燕, 1965.07, 女, 云南省德宏热带农业科学研究所, 研究员/副主任。主要从事石斛、辣木、白芨等药用植物种质资源、选育种、种苗培育、栽培示范及推广应用等研究工作。

联系地址: 云南省德宏州瑞丽市瑞京路 29 号

邮编: 678600

高燕 电话: 13759238251

E-mail: dbdygy@163.com

化橘红产业 SWOT 分析与发展对策研究

黄春华

(广东农垦热带作物科学研究所, 广东化州 525100)

摘要: 本研究运用 SWOT 分析法, 对化州市橘红产业的优势、劣势、机遇和风险进行分析。结果表明, 化州市化橘红产业发展优势远大于劣势, 机遇远大于挑战, 并提出相适宜的发展策略。

关键词: 化州市; 化橘红产业; SWOT 分析; 发展对策

0 引言

化橘红为芸香科植物化州柚或柚未成熟或近成熟的干燥果皮, 是著名的“十大广药”之一, 化州市作为化橘红传统优势产区, 在种植面积、产量均居全国首位。目前利用 SWOT 分析法对化橘红产业进行分析研究的相关报道较少, 因此, 本研究对化州地区的橘红产业利用 SWOT 方法进行全面综合分析, 并提出相应对策, 为促进化橘红产业发展提供参考。

1 化州橘红产业 SWOT 分析

1.1 优势(S)

1.1.1 自然资源禀赋 药材道地

化州市属亚热带季风气候, 地形多为低海拔丘陵山地, 土壤多属砖红壤, 富含礞石矿物质, 是形成化橘红表面金黄色绒毛的重要因素。化橘红早在汉朝以前已有种植, 种植历史悠久。2006 年至今, 先后被列入国家地理标志产品、广东省首批立法保护的岭南中药材品种、农业农村部评定为国家级区域公共品牌, 因此化橘红具有极强的道地性。

1.1.2 种植面积不断扩大, 产量持续提高

化州市现有化橘红种植面积 6133 hm², 2015-2019 年新增种植面积 1400 多 hm², 基本覆盖了全市所有乡镇, 1000 亩以上的连片化橘红种植基地 10 个, 建成平定、中垌、丽岗、新安、官桥、合江、江湖等化橘红专业镇 9 个^[1], 年鲜果产量从 2015 年的 3865 吨, 增加到 2019 年的 6000 多吨^[2]。化橘红种植品种类型以金钱化橘红和凤尾化橘红为主, 良种覆盖率达 98%。

1.1.3 产业链条完整 三产深度融合

全市有化橘红为主要原料的大小加工企业 65 家, 生产的化橘红系列产品 20 多种, 产品种类从原料加工发展为药品、保健品、美容品、干果、橘红片、橘红花、橘红茶、工艺品等八大类^[3]。创建“橘星”、“橘利”等一批名优品牌, 全产业链累计总产值超过 35 亿元, 形成完整的化橘红产业链。同时通过深度挖掘化橘红产业文化, 打造了一批以化橘红文化为主题, 集养生、观光、休闲为一体的景观工程, 形成了现代农业休闲旅游产业, 化橘红品牌建设持续加强。

1.1.4 科技力量支撑 主推产业发展

化橘红产业长期与北京中医药大学、广东中医药大学、华南农业大学等国内知名科研院校合作, 在化橘红的精深加工方面加强产学研联动, 加快了科研成果转化速度。与广东省农科院、茂名市农作物技术推广站、广东农垦热带作物科学研究所等科研院所开展合作, 在化橘红种质资源的保护和优良品种的选育方面, 开展技术攻关, 并制定出相关技术规程及苗木标准, 保证化橘红健康纯正种苗供应。

1.2 劣势(W)

1.2.1 产品品质不一

作者简介: 黄春华, 男, 1985 年, 热作工程师, 主要从事热作栽培、农艺。通信地址: 广东省化州市石湾街道广东农垦热带作物科学研究所, Tel: 15986249857, E-mail: 253573896@qq.com。

近年来,随着化橘红产业不断发展,区域公共品牌宣传不到位、品质认证体系还未健全、以假充真、以次充好等问题也日渐暴露。由于《中国药典》中对化橘红与橘红这两种药材功能与主治的描述基本一样,给人一种两种药可以互相替代的印象,但是化橘红与橘红在来源、药性、用法用量等方面均有不同^[4]。

表 1 化橘红与橘红对比

| | 化橘红 | 橘红 |
|------|---|---|
| 药材来源 | 芸香科植物化州柚或柚未成熟或近成熟的干燥外层果皮,有效成分为柚皮柑,乃化州特有药材 | 芸香科植物橘及其栽培变种的干燥外层果皮,有效成分为橙皮柑 |
| 功能主治 | 化痰理气,健脾消食,胸中痰滞,咳嗽气喘,饮食积滞,呕吐呃逆、解酒护肝。对部分呼吸道疾病,其临床有效率达 80%左右 | 具有理气宽中,燥湿化痰的功效,适用于咳嗽痰多及食积不化等症而无热象者,还可用于心血管系统疾病的辅助治疗 |

1.2.2 鲜果收购价格波动大

因受以次充好的市场环境与外部市场冲击等因素影响,近几年化橘红的收购价格呈下降趋势,出现了果贱伤农的情况。2014 年化橘红鲜果收购价最高时可达 70 元/公斤,但随后几年价格逐步走低,2018-2019 年,鲜果均价只有 9-10 元/公斤,使得种植户经济收益受损。

1.2.3 产品开发力度不足

目前化橘红产品大多以化痰止咳类药品为主,在健胃、解酒护肝等其他功效保健品的产品开发力度存在短板,与枇杷、陈皮等同等功效的止咳类产品竞争中不占据明显优势,局限性较为明显。

1.3 机遇(O)

1.3.1 产业政策扶持力度加大

这些年国家陆续出台扶持现代农业产业发展相关政策,以促进农村“三产”融合发展。化州市依托独特的资源优势,先后出台相关招商引资奖励办法,鼓励、引导资本、人力、财力、物力向化橘红产业集聚,同时将化橘红产业列入精准扶贫项目,带动产业发展、农民脱贫。通过扶持龙头企业,进一步强化化橘红产业结构优化组合,为提升化橘红产业奠定新台阶。

1.3.2 市场前景广阔

由于近年来的环境问题的影响,呼吸道疾病的患病率正在逐步上升,呼吸类疾病的中成药与保健品越来越受到群众青睐。化橘红因具备化痰理气、健脾消食、燥湿化痰等功效,可以用于中药处方、中成药和保健品产品开发,2020 年化橘红被列入新冠肺炎普通型湿度郁肺证的推荐处方用药^[5],加上中药材市场需求正不断增长,发展化橘红产业具有广阔前景。

1.4 风险 (T)

1.4.1 种苗质量参差不齐

种苗质量是决定种植业经济效益的关键因素。由于育苗设施条件限制,以及缺乏育苗技术标准,化橘红种植采用化橘红裸根苗成为普遍现象,这部分苗木容易存在假苗、劣质苗、非良种苗等质量问题,造成造林成活率低下;再者,品系配置也不尽合理,有些品种未经过试种、筛选、充分论证,便规模化种植,导致成林产量达不到预期。

1.4.2 外地市场冲击

由于广西气候与广东相近,广西的陆川、南宁、崇左、贵港、百色、河池、来宾等市县陆续发展橘红产业,种植面积接近化州市,其中广西陆川更是将橘红作为一个特色产业来扶持,而且“陆川橘红”已于 2016 年成为国家地理标志产品,其橘红产业从育苗、种植到加工销售的产业链已基本形成,其产业市场竞争力对化州市有较大的影响。

1.4.3 农民持续增收难度加大

农业产业的劳动力价格不断上升,直接增加了化橘红种植经营成本,同时还存在阶段性

用工短缺，机械化程度不足，导致生产作业的不及时，产业风险加大。近年来国内经济增速放缓，化州市是经济欠发达地区，财政资金扶持产业持续发展的能力有限。因此，实现产业增效、农民增收难度增大。

1.4.4 经营资金断缺

化橘红生长周期长，前期投资大，效益回收期较长。而大多数化橘红种植户与经营主体资金准备不足，后期投入跟不上，鲜果价格提升空间有限，致使管理粗放甚至处于失管、丢荒状态，严重制约了化橘红产业发展。

2 综合分析 with 战略选择

基于对化州市化橘红产业的优势、劣势、机遇和风险等方面的综合分析，与其他地区相比，化州市化橘红产业发展优势远大于劣势，机遇远大于挑战。根据 SWOT 分析方法原理，SO 为增长型战略，WO 为扭转型战略，ST 为多种经营战略，WT 为防御型战略^[6]，因此，应重点考虑应采取 SO 战略和 ST 战略，同时也应考虑 WO 战略和 WT 战略（见表 2）。

表 2 SWOT 交叉分析矩阵

| 内部及外部因素 | 优势 (S) | 劣势 (W) |
|---------|------------------|------------|
| 机遇 (O) | SO 战略 | WO 战略 |
| | 合理产业布局，扩大产业规模 | 提高产品科技含量 |
| | 完善产业链条，拓展精深加工 | 增加产品附加值 |
| 风险 (T) | 完善品牌营销体系，增加市场占有率 | 加大财政资金扶持力度 |
| | ST 战略 | WT 战略 |
| | 密切关注外部市场变化 | 提升标准化种植程度 |
| | 政策引导资源聚集 | 提高产品质量标准 |
| | 深化“三产”融合 | 完善产业保障机制 |

3.具体发展对策

3.1 发挥区域品牌优势，明确发展定位

化州市可依托独特的区域资源优势，以及现有化橘红产业基础，明确未来发展方向：一是打造国内化橘红一二三产业融合领先区，实现产业跨越式发展；二是深化产业工业化程度，打造国家级化橘红产业深加工示范区；三是强化产学研合作机制，打造成化橘红现代产业技术与装备的集成区；四是构建化橘红中医药文化产业体系，建成全国化橘红中医药文化传承基地。

3.2 深化化橘红产品研发与加工

以现有化橘红加工产业为基础，加强对化橘红加工企业的整合和升级改造，培育一批综合实力较强的化橘红加工龙头企业。进一步完善化橘红科研开发平台建设，充分发挥产学研联动机制的优势，加快科研成果转化，促进化橘红产业发展。

3.3 加强化橘红产品贸易与流通

强化和推行市场准入制度，从市场环节控制投入品质量以及产品销售，保证化橘红产品质量，保持药材的道地性。加强化橘红产业信息化建设，整合产业相关数据，创新拓展化橘红现代物流体系，建立高效、安全、有序的化橘红流通及其服务体系。

3.4 融合发展化橘红文化和旅游产业

结合品牌化战略与“一村一品”建设，打造一批化橘红特色小镇，带动乡村振兴、美丽乡村建设，推动化橘红文化产业与健康、养生、旅游、休闲和饮食深度融合。

3.5 完善保障体系，全方位推进产业可持续发展。

以政府为引导，企业为主体，认真落实化橘红产业发展相关政策，在土地流转、规模化经营、农业组织建设、投资鼓励优惠、农业基础设施、融资公共服务平台建设、农民利益保

障等方面进行政策支持，保障化橘红产业可持续发展。

参考文献

- [1] 化州市地方志编纂委员会.化州年鉴 2019[M].河南：中州古籍出版社,2019:107.
- [2] 化州市地方志编纂委员会.化州年鉴 2016[M].广东：广东人民出版社,2016:143.
- [3] 化州市地方志编纂委员会.化州年鉴 2018[M].河南：中州古籍出版社,2018:121.
- [4] 化橘红的一些事 . 化州：化橘红产业发展的劣势
[.https://www.huajuhong1.com/article/305.html](https://www.huajuhong1.com/article/305.html),2019-12-08.
- [5] 国家卫生健康委办公厅. 新型冠状病毒肺炎诊疗方案（试行第七版），2020：16-18.
- [6] 孟俊杰，贾小虎，乔璐等，豫南丘陵山区生态农业 SWOT 分析与发展策略研究——以新县为例[J].农业学报, 2015，5(12):121-126.

基于 ISSR 和 SRAP 标记的红毛丹种质资源遗传多样性分析

林兴娥, 高宏茂, 明建鸿, 丁哲利, 毛海涛, 唐跃东, 周兆禧*
(中国热带农业科学院海口实验站, 海口 571101)

摘要: 为了解海南岛收集保存的红毛丹种质资源遗传多样性, 利用筛选出的 9 条 ISSR 和 18 对 SRAP 分子标记对 68 份红毛丹种质资源进行了遗传多样性分析。9 条 ISSR 引物和 18 对 SRAP 引物分别扩增出 425 条和 1319 条有效条带, 多态性比率分别为 99.76% 和 99.77%。通过基于模型的聚类分析, 68 份红毛丹种质主要分为 3 大类群, 分别包含 25、15 和 29 份材料, 分子方差分析 (AMOVA) 结果表明, 红毛丹种内的遗传变异主要存在于居群内 (93%), 居群间变异仅为 7%。各居群内的多态性位点为 62.43%~73.62%, 群体间 Nei's 遗传相似性和 Nei's 遗传距离分别为 0.983 和 0.017, 表明群体间具有较高的相似性和较近的遗传距离, 结论与主成分分析 (PCA) 结果相同。由此表明, 我国现有保存的红毛丹种质资源遗传基础较窄, 这为今后红毛丹资源引进和辅助育种提供了有益的指导。

关键词: 红毛丹; ISSR; SRAP; 群体结构, 遗传多样性, 分子标记

Genetic diversity analysis of Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) accessions in China based on ISSR and SRAP Markers

LIN Xing'e, GAO Hongmao, MING Jianhong, DING Zheli, MAO Haitao, TANG Yuedong, ZHOU Zhaoxi*
(Haikou Experimental Station, Chinese Academy of Tropical Agricultural Science, Haikou 571101, Hainan, China)

Abstract: The object of this work was to assess the genetic diversity of rambutan accessions present in China by using molecular markers. 69 accessions were evaluated for polymorphisms after amplification with 9 ISSR primers and 18 SRAP primer pairs. A total of 425 ISSR and 1319 SRAP bands were produced which revealed 99.76% and 99.77% polymorphism respectively. By using model-based clustering analysis, the accessions were separated into 3 groups comprised 25, 15 and 29 members respectively. Molecular variance analysis revealed that the major proportion of the total genetic variation of existed within populations (93%) and the minor variations existed among populations (7%). The percentage of polymorphic loci within each population range from 62.43% to 73.62%, while the average of Nei's genetic identity and Nei's genetic distance among populations were 0.983 and 0.017 respectively, which indicated that there were high similarity and closer genetic distance between populations. The result was confirmed by the principal components analysis (PCA). This study indicated that these accessions with a narrow genetic basis in China, it provided some useful guides for the *introduction* of genetically diverse *varieties* and assisting rambutan breeding.

Keywords: *Nephelium lappaceum* L., ISSR, SRAP, Population structure, Genetic diversity, Molecular markers

红毛丹 (*Nephelium lappaceum* L.) 为无患子科的著名热带水果之一, 果肉多汁, 口感清甜, 富含维生素、碳水化合物、蛋白质和重要的矿物质营养, 既可鲜食, 也可加工成果酱、果汁、果冻和罐头等^[1]。红毛丹起源于印度尼西亚、马来西亚等东南亚地区, 目前已在泰国、菲律宾、新加坡、越南、叙利亚、南非、马达加斯加和澳大利亚等地区广泛种植^[2]。我国最早于 20 世纪 60 年代初从马来西亚引进, 于 90 年代初开始大规模商业化种植。由于红毛丹对温度、湿度、土壤等环境条件的要求, 红毛丹仅能在海南保亭、云南西双版纳、四川攀枝花

作者简介: 林兴娥 (1981-), 女, 助理研究员, 研究方向: 热带果树种质资源收集、保存和评价研究。*通讯作者 (Corresponding author): 周兆禧 (Zhaoxi Zhou), E-mail: zhzx81@163.com。

花、台湾等地区少量种植。

丰富的红毛丹种质资源，有利于红毛丹遗传改良和新品种选育。红毛丹种质资源评价多在植物学特征和生物学特性等方面。根据叶片形状和果实性状等（果实大小、性状、色泽、口感、果皮厚度、黏核性等）评价红毛丹遗传群体多样性和遗传距离^[3-6]。一般来说，形态学特征分析比较简单且成本较低，但是红毛丹生产周期很长，需要很多年才能挂果，而且，形态学特征受环境影响较大，稳定性较差，因此，形态学鉴定用于种质资源评价具有很大的局限性。分子标记可以有效、准确地鉴定种质资源的遗传多样性。在过去的二十年间，各种类型的分子标记（RAPD、AFLP 和 ISSR）已经在东南亚地区被广泛用于鉴定红毛丹种质资源的遗传差异^[7-9]。研究结果表明，马来西亚、泰国和印度地区的红毛丹种质资源遗传多样性最高。

我国引进的红毛丹种质主要保存于保亭热带作物研究所红毛丹种质资源圃内，关于红毛丹种质资源的系谱来源不清晰，遗传变异和多样性等不明确，不利于后续开展红毛丹种质创新利用和品种改良等研究。本研究采用 ISSR 和 SRAP 分子标记对保亭热作所保存的部分红毛丹种质的遗传多样性和遗传结构进行评价，以期为今后红毛丹育种亲本选择和种质资源保护等提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

供试红毛丹材料共 68 份，其中 65 份红毛丹种质来源于保亭热带作物研究所红毛丹种质资源圃，3 份来源于儋州热带植物园（表 1）。采集供试材料的幼嫩叶片，于-80℃保存。

表 1 供试红毛丹种质信息

Table 1 The list of rambutan accessions

| 序号 No | 种质 Accessions | 基础信息 Basic information | 保存地 Loci. | 序号 No. | 种质 Accessions | 基础信息 Basic information | 保存地 Loci. |
|----------|------------------|---------------------------|--------------|-----------|------------------|---------------------------|--------------|
| 1 | BR2 | 黄果、实生选育品系 | 保亭热作所 | 35 | R28 | 不详 | 保亭热作所 |
| 2 | BR4 | 红果、实生选育品系 | 保亭热作所 | 36 | R29 | 不详 | 保亭热作所 |
| 3 | BR5 | 红果、实生选育品系 | 保亭热作所 | 37 | R30 | 不详 | 保亭热作所 |
| 4 | BR6 | 红果、实生选育品系 | 保亭热作所 | 38 | R31 | 不详 | 保亭热作所 |
| 5 | BR7 | 红果、实生选育品系 | 保亭热作所 | 39 | R32 | 不详 | 保亭热作所 |
| 6 | ZWY1 | 不详 | 儋州植物园 | 40 | R33 | 不详 | 保亭热作所 |
| 7 | ZWY2 | 不详 | 儋州植物园 | 41 | R34 | 不详 | 保亭热作所 |
| 8 | R1 | 不详 | 保亭热作所 | 42 | R35 | 不详 | 保亭热作所 |
| 9 | R2 | 不详 | 保亭热作所 | 43 | R36 | 不详 | 保亭热作所 |
| 10 | R3 | 不详 | 保亭热作所 | 44 | R37 | 不详 | 保亭热作所 |
| 11 | R4 | 不详 | 保亭热作所 | 45 | R38 | 不详 | 保亭热作所 |
| 12 | R5 | 不详 | 保亭热作所 | 46 | R39 | 不详 | 保亭热作所 |
| 13 | R6 | 不详 | 保亭热作所 | 47 | R40 | 不详 | 保亭热作所 |
| 14 | R7 | 不详 | 保亭热作所 | 48 | R41 | 不详 | 保亭热作所 |
| 15 | R8 | 不详 | 保亭热作所 | 49 | R42 | 不详 | 保亭热作所 |
| 16 | R9 | 不详 | 保亭热作所 | 50 | R43 | 不详 | 保亭热作所 |
| 17 | R10 | 不详 | 保亭热作所 | 51 | R44 | 不详 | 保亭热作所 |
| 18 | R11 | 不详 | 保亭热作所 | 52 | R45 | 不详 | 保亭热作所 |
| 19 | R12 | 不详 | 保亭热作所 | 53 | R46 | 不详 | 保亭热作所 |
| 20 | R13 | 不详 | 保亭热作所 | 54 | R47 | 不详 | 保亭热作所 |
| 21 | R14 | 不详 | 保亭热作所 | 55 | R48 | 不详 | 保亭热作所 |

| | | | | | | | |
|----|-----|----|-------|----|-----|----|-------|
| 22 | R15 | 不详 | 保亭热作所 | 56 | R49 | 不详 | 保亭热作所 |
| 23 | R16 | 不详 | 保亭热作所 | 57 | R50 | 不详 | 保亭热作所 |
| 24 | R17 | 不详 | 保亭热作所 | 58 | R51 | 不详 | 保亭热作所 |
| 25 | R18 | 不详 | 保亭热作所 | 59 | R52 | 不详 | 保亭热作所 |
| 26 | R19 | 不详 | 保亭热作所 | 60 | R53 | 不详 | 保亭热作所 |
| 27 | R20 | 不详 | 保亭热作所 | 61 | R54 | 不详 | 保亭热作所 |
| 28 | R21 | 不详 | 保亭热作所 | 62 | R55 | 不详 | 保亭热作所 |
| 29 | R22 | 不详 | 保亭热作所 | 63 | R56 | 不详 | 保亭热作所 |
| 30 | R23 | 不详 | 保亭热作所 | 64 | R57 | 不详 | 保亭热作所 |
| 31 | R24 | 不详 | 保亭热作所 | 65 | R58 | 不详 | 保亭热作所 |
| 32 | R25 | 不详 | 保亭热作所 | 66 | R59 | 不详 | 保亭热作所 |
| 33 | R26 | 不详 | 保亭热作所 | 67 | R60 | 不详 | 保亭热作所 |
| 34 | R27 | 不详 | 保亭热作所 | 68 | R61 | 不详 | 保亭热作所 |

1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA 提取

称取 0.1 g 红毛丹幼嫩叶片采用改良 CTAB 法提取基因组 DNA^[10]。DNA 浓度与纯度检测分别采用紫外吸收光谱和琼脂糖凝胶电泳方法，将 DNA 样品稀释至 20 ng/μl 保存备用。

1.2.2 引物筛选与 PCR 扩增

ISSR 和 SRAP 引物合成均由上海生工生物工程股份有限公司合成。从 50 条 ISSR 引物中筛选出 9 条有多态性条带的 ISSR 引物，引物序列见表 2，ISSR-PCR 扩增体系为 20 μL，包括 DNA 模板 30 ng、dNTPs 0.10 mmol·L⁻¹、引物 0.2 μmol·L⁻¹、Mg²⁺ 2.0 mmol·L⁻¹ 和 Taq DNA 聚合酶 1.0 U。ISSR-PCR 扩增程序为 94℃ 预变性 5 min；94℃ 变性 45 s，50~54℃ 退火 90 s（引物退火温度见表 2），72℃ 延伸 90 s，共 40 个循环；最后 72℃ 延伸 5 min，4℃ 保存。ISSR-PCR 扩增产物采用 6% 聚丙烯酰胺凝胶电泳（PAGE）检测，银染显色。

从 116 对 SRAP 引物组合中筛选出 18 对具有多态性条带的 SRAP 引物组合，SRAP 引物序列见表 3。20 μL 体系中包含 DNA 模板 20 ng、dNTPs 0.25 mmol·L⁻¹、引物 0.6 μmol·L⁻¹、Taq DNA 聚合酶 1.0 U、Mg²⁺ 2.5 mmol·L⁻¹。SRAP-PCR 扩增程序为：95℃ 预变性 5 min，94℃ 变性 1 min，35℃ 复性 1 min，72℃ 延伸 70 s，5 个循环；94℃ 变性 1 min，50℃ 复性 1 min，72℃ 延伸 70 s，35 个循环，72℃ 延伸 5 min，4℃ 保存。SRAP-PCR 扩增产物采用 6% 聚丙烯酰胺凝胶电泳（PAGE）检测，银染显色。

表 2 ISSR 引物和退火温度

Table 2 ISSR primers and corresponding annealing temperatures

| 引物编号 Primers | Oligonucleotides (5'-3') | Annealing temperatures (°C) |
|--------------|--------------------------|-----------------------------|
| ISSR1 | CTCTCTCTCTCTCTRG | 54.0 |
| ISSR2 | CTCTCTCTCTCTCTTG | 50.0 |
| ISSR4 | CTCTCTCTCTCTCTRC | 50.0 |
| ISSR5 | CACACACACACARY | 54.0 |
| ISSR6 | CACACACACACARG | 54.0 |
| ISSR7 | GTGTGTGTGTGTYR | 50.0 |
| ISSR9 | AGAGAGAGAGAGAYC | 50.0 |
| ISSR13 | GAGGAGGAGGAGRC | 50.0 |

| | | |
|--------|----------------|------|
| ISSR16 | CTCCTCCTCCTCRC | 50.0 |
|--------|----------------|------|

R= (A, G); Y= (C, T).

表3 SRAP 引物序列
Table 3 SRAP Primer sequences

| 引物编号 Primers | 正向引物 Forward primers (5'-3') | 引物编号 Primers | 反向引物 Reverse primers (5'-3') |
|-----------------|---------------------------------|-----------------|---------------------------------|
| Me1 | TGAGTCCAAACCGGATA | Em1 | GACTGCGTACGAATTAAT |
| Me2 | TGAGTCCAAACCGGAGC | Em2 | GACTGCGTACGAATTTGC |
| Me3 | TGAGTCCAAACCGGAGT | Em3 | GACTGCGTACGAATTGAC |
| Me4 | TGAGTCCAAACCGGATT | Em4 | GACTGCGTACGAATTTGA |
| Me5 | TGAGTCCAAACCGGAAG | Em5 | GACTGCGTACGAATTAAC |
| Me6 | TGAGTCCAAACCGGTAA | Em6 | GACTGCGTACGAATTGCA |
| Me7 | TGAGTCCAAACCGGACT | Em7 | GACTGCGTACGAATTCAG |
| Me8 | TGAGTCCAAACCGGATG | Em8 | GACTGCGTACGAATTCTG |
| Me9 | TGAGTCCAAACCGGACA | Em9 | GACTGCGTACGAATTTCA |
| Me10 | TGAGTCCAAACCGGGAT | Em10 | GACTGCGTACGAATTATG |

1.2.3 数据分析

ISSR 和 SRAP 标记均为显性标记，将胶片上有条带的记为 1，无条带的记为 0，将图形文件转换为 Excel 格式的 0/1 数据矩阵。采用 NTSYS-pc 2.10 软件计算种质间的遗传相似性系数 GS，同时用非加权平均数法 (UPGMA) 进行聚类分析^[11]；采用 MVSP 3.1 软件进行主坐标分析 (PCO)^[12]；采用 GenAEx 6.5 软件并通过假设 Hardy-Weinberg 平衡来计算多态位点百分比 (PPL)、有效等位基因数 (Ne)、Nei's 的遗传多样性 (H)、Shannon 指数 (I)、期望杂合度 (He) 等相关遗传参数^[13]。

采用 Structure 2.3.4 软件中的贝叶斯 (Bayesian) 聚类方法分析红毛丹种质群体遗传结构，设置群体分组范围 K 值为 1~10，选择不含任何种群来源信息的混合祖先模型 (Admixture model) 和独立位点变异发生频率相关模型 (independent-allele-frequency model) 来进行分析，设定参数 iterations 和 burn-in period 分别为 10 000 次和 100 000 次，重复 10 次。以似然值最大的原则，通过对 ΔK 的计算确定 K 值。

2 结果与分析

2.1 ISSR 和 SRAP 标记的遗传多样性分析

利用筛选出的 9 条 ISSR 引物在供试的 68 份红毛丹种质中共扩增出 425 条条带，平均每个引物 47.2 个条带，多态性条带百分比为 99.76%。18 对 SRAP 引物组合在供试的 68 份红毛丹种质中共扩增出 1319 条条带，其中多态性条带为 1316 条，多态性比例为 99.77%，每对引物的平均条带数和多态性条带数分别为 73.28 和 73.11 条。

2.2 遗传相似性系数聚类分析

利用 SHAN 程序构建了一个基于 dice 相似系数的 UPGMA 树状图，用于分析种质的遗传关系。如图 1a 所示，68 份红毛丹种质间的遗传相似系数为 0.26~0.71。GS 值在 0.440 处，可将供试材料分为 3 大类，第一类包含 17 份种质，第二类包含 30 份种质，其中又可分为许多亚群，ZWY₁、ZWY₂ 和 R₂ 三份种质聚为第一类。仍有 19 份红毛丹种质来源不清晰。

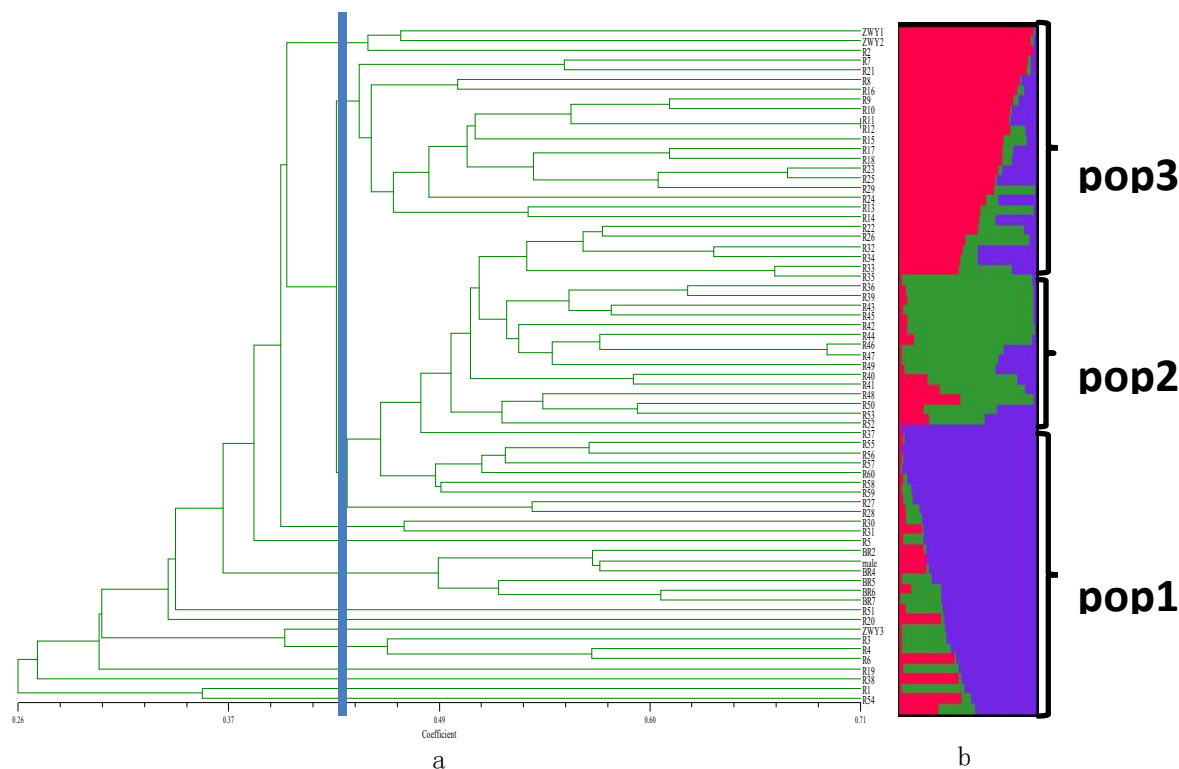


图 1 基于距离聚类(a)和基于模型聚类(b)的 68 份红毛丹种质的树状图。

Fig. 1 Dendrogram of 68 rambutan accessions based on distance-based cluster (a) and model-based cluster method (b).

2.3 群体结构分析

利用 Structure 2.3.4 软件对 68 份红毛丹种质进行群体结构分析表明，当 $K=3$ 时 ΔK 值达最大（图 2）。68 份红毛丹种质被分为 3 个亚群，群体结构图如图 1b 所示。三个亚群分别包括 25、15 和 29 份红毛丹种质。根据最大 Q 值分布（表 4），Q 值 < 0.6 的有 16 份种质，占 23.2%；Q 值 ≥ 0.8 的有 32 份种质，占 46.4%。每个群体都含有少量其他群体的遗传成分，例如 R₅₆ 含有 44.2% 的第一亚群的遗传成分和 54.5% 第二亚群的遗传成分。

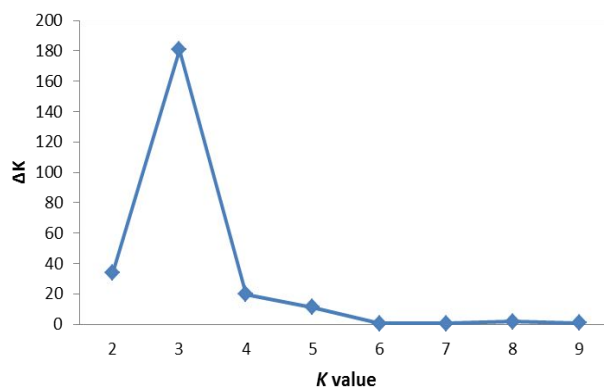


图 2 K 值与 ΔK 值折线图

Fig. 2 Change curve in the log probability of data between successive K-values (ΔK)

表 4 数学模型各类群最大 Q 值分布

Table 4 Distribution of Q-value of 69 accessions in three groups by model-based cluster method

| 群 体 Population | 个数 Number of accessions in each group | Q 值范围 Amount of accessions (%) | | | |
|-------------------|---|--------------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------|
| | | Q<0.6 | 0.8 \geq Q \geq 0.6 | 0.9 \geq Q \geq 0.8 | Q \geq 0.9 |
| pop1 | 25 | 7(28.0) | 7(28.0) | 6(24.0) | 5(20.0) |
| pop2 | 15 | 3(20.0) | 5(33.3) | 1(6.7) | 6(40.0) |
| pop3 | 29 | 6(20.7) | 9(31.0) | 6(20.7) | 8(27.6) |

分别采用基于模型的聚类分析和系统聚类分析对 68 份红毛丹种质的遗传结构分析结果不一致。系统聚类法对大部分红毛丹种质的聚类结果与模型聚类法结果一致，其中 19 份种质在系统聚类法中没有清晰的聚类结果，而在模型聚类分析中被聚为一类。由于大多数红毛丹种质为国外引进，受地理环境的限制，采用基于模型的聚类方法得到的分类结果更符合真实情况。

主坐标分析 (PCoA) 结果验证了种群间的分化，如图 3 所示，前两个主成分分别解释了总变异的 18.56%和 26.93%。

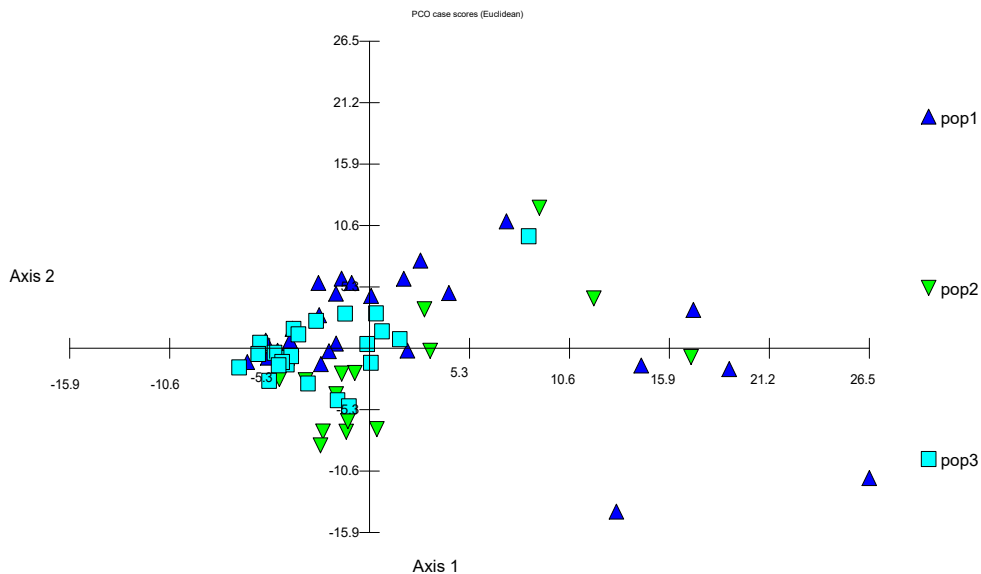


图 3 基于遗传相似矩阵的主坐标分析(PCoA)。由前两个组成部分解释的总变异的百分比分别为 18.56%(轴 1) 和 26.93% (轴 2)

Fig.3 Principal coordinate analysis (PCoA) based on the genetic similarity matrix. The percentage of the total variability explained by the first two components is 18.56% (Axis 1) and 26.93% (Axis 2).

2.4 群体遗传多样性分析

各群体的多态性位点比例为 62.43%~73.62%，平均为 69.74% (表 4)。遗传参数 N_a 、 N_e 、 I 和多态性条带 (PPB) 以第一亚群最高，第二亚群最低，表明第一亚群的遗传多样性较丰富。68 份红毛丹种质的平均 Shannon's 指数为 0.205，以第一亚群最高，为 0.211，第二亚群最低，为 0.197。68 份红毛丹种质中固定指数 (F_{st}) 以第一亚群最高，为 0.274，第三

亚群的固定指数最低，说明第一亚群的遗传分化显著，第三亚群的遗传分化较低。

表 4 三个种群遗传多样性参数

Table4 Parameters of genetic diversity of three populations

| Population | N | Na (\pm SE) | Ne (\pm SE) | I (\pm SE) | He (\pm SE) | Fst | PPB |
|------------|----|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------|--------|
| pop1 | 25 | 1.485 \pm 0.024 | 1.184 \pm 0.007 | 0.211 \pm 0.006 | 0.124 \pm 0.004 | 0.274 | 73.62% |
| pop2 | 15 | 1.252 \pm 0.027 | 1.170 \pm 0.007 | 0.197 \pm 0.006 | 0.116 \pm 0.004 | 0.256 | 62.43% |
| pop3 | 29 | 1.469 \pm 0.024 | 1.175 \pm 0.007 | 0.206 \pm 0.006 | 0.120 \pm 0.004 | 0.242 | 73.17% |
| Mean | - | 1.402 \pm 0.014 | 1.176 \pm 0.004 | 0.205 \pm 0.003 | 0.120 \pm 0.002 | 0.257 | 69.74% |

说明：N = Sample number of each population; PPB = Percentage of polymorphic loci; Na = Number of different alleles; Ne = Number of effective alleles; I = Shannon's information index; He = Expected heterozygosity; Fst = Fixation index.

为进一步阐明种群间的遗传分化，对 3 个亚群的 Nei 遗传相似性和遗传距离进行了分析，如表 4 所示，Nei 遗传一致性为 0.980~0.986，平均为 0.983；Nei 遗传距离为 0.014~0.020，平均为 0.017，表明种群间具有较高的相似性和较近的遗传距离。

表 4 Nei 的遗传同一性(对角线上)和三个亚群之间的遗传距离(对角线下)

Table4 Nei's genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal) between three subpopulations

| | pop1 | pop2 | pop3 |
|------|-------|-------|-------|
| pop1 | | 0.980 | 0.986 |
| pop2 | 0.020 | | 0.984 |
| pop3 | 0.014 | 0.016 | |

分子方差分析 (AMOVA) 结果表明, 大部分遗传多样性发生在种群内 (93%), 种群间的变异对观测到的遗传多样性的贡献率为 7% (表 5), 群体内 PhiPT 距离差异无统计学意义 (PhiPT = 0.072, P>0.001)。

表 5 组间和组内分子方差分析(AMOVA)
Table 5 Analysis of molecular variance (AMOVA) among and within groups

| Source of variation | df | Sum of squares | Mean of squares | Estimated variance | Percentage of variation (%) |
|---------------------|----|----------------|-----------------|--------------------|-----------------------------|
| Among groups | 2 | 635.940 | 317.970 | 9.028 | 7 |
| Within groups | 66 | 7731.245 | 117.140 | 117.140 | 93 |
| Total | 68 | 8367.185 | | 126.168 | 100 |

注: df, degrees of freedom.

3 讨论

利用不同分子标记如 RAPD、ISSR、fAFLP 等研究红毛丹种质资源遗传多样性已有大量报道^[14-16]。Clyde 等分别利用 RAPD 和 ISSR 标记对来自 MARDI Kemaman 的 24 份红毛丹种质进行遗传多样性分析, 结果表明 RAPD 标记比 ISSR 标记显示出更高的遗传多样性^[17]。本研究利用 ISSR 和 SRAP 标记对 68 份红毛丹种质资源的遗传多样性进行了分析。由于 ISSR 和 SRAP 扩增区域不同, 与单纯使用 ISSR 和 SRAP 标记相比, ISSR 和 SRAP 数据聚合分析更能有效地检测红毛丹种质的基因组变异, 更准确地评估红毛丹种群的遗传变异程度。

分子方差分析结果表明, 红毛丹种质资源总遗传变异大部分存在于种群内, 次要变异存在于种群间。各群体的多态位点比例为 62.43%~73.62%。从遗传多样性参数和固定指数 (Fst) 来看, 第一亚群的遗传多样性和遗传分化程度最高。但种群间的遗传相似性和遗传距离的平均值分别为 0.983 和 0.017, 说明种群间具有较高的相似性和较近的遗传距离。

综上所述, 基于模型聚类分析结果, 68 份红毛丹种质材料表现出较高的相似性, 这表明这些遗传基础较窄的材料可能来自同一个地区。然而, 低分子多样性和高表型变异性可能是由表达模式的改变引起的, 而不是 DNA 序列的改变。因此, 应将分子表型标记和农艺表型性状结合起来进行分析, 以确定可供选育、收集和保存的经济性状。

参考文献

- [1] Sakuanrungrisirikul S, Suntonnon S, Supakaesorn S, Wongwarat T (2005) Genetic Diversity of Cultivated Rambutan Cultivars (*Nephelium lappaceum* L.) in Thailand as Revealed by Intersimple Sequence Repeat (ISSR) Markers. *Agricultural Sciences* 36(5-6) (suppl.): 256-267.
- [2] Wall MM (2006) Ascorbic acid and mineral composition of longan (*Dimocarpus longan*), lychee (*Litchi chinensis*) and rambutan (*Nephelium lappaceum*) cultivars grown in Hawaii. *Journal of Food Composition & Analysis* 19: 655-663.
- [3] Whitehead C (1959) The rambutan: a description of the characteristics and potential of more important varieties. *Malaysia Agriculture Journal* 42(2): 53-75.
- [4] Andrade RAD, Lemos EGDM, Martins ABG, Paula RCD, Pitta Junior JL (2008) Morphologic and chemical characterization of rambutan fruits. *Revista Brasileira de Fruticultura* 30(4): 958-963.
- [5] Andrade RAD, Lemos EGDM, Martins ABG, Paula RCD (2009) Morphological characterization of rambutan plants. *Acta Scientiarum Agronomy* 31(4): 613-619.
- [6] Barreto LF, De Andrade RA, Barreto LF, De Paula RC, De Lima LL, Martins ABG (2015) Characterization of rambutan plants by foliar aspects. *African Journal of Agricultural Research* 10(36): 3607-3613.
- [7] Chew PC, Clyde MM, Normah MN, Salma I (2002) 5 DNA polymorphisms in accessions of *Nephelium lappaceum* L. *Managing Plant Genetic Diversity*. UK: CABI Publishing, pp 57-60.
- [8] Andrade RAD, Wickert E, Martins ABG, Andrade MMCD, Macedo LEGD (2011) Diversidade genética de acessos de *Nephelium lappaceum* L. através de caracterização morfológica e molecular. *Comunicata Scientiae* 2(2): 91-99.
- [9] Manuel RR, David WR, Miguel AG, Miguel SF, Lourdes AA, Isidro O (2015) High yields and bee pollination

- of hermaphroditic rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) in Chiapas, Mexico. *Fruits* 70(1): 23-27.
- [10] Doyle J. (1991). DNA protocols for plants. *Mol Tech Taxon*, 57, 283-293.
- [11] Rohlf FJ (2000) NTSYS-pc: numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 2.1., New York, USA.
- [12] Kovach WL (1999) MVSP: A multivariate statistical package for Windows, version 3.1., Pentraeth Wales UK.
- [13] Peakall R, Smouse P (2012) GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research - an update. *Bioinformatics*, 28: 2537-2539.
- [14] Chew PC, Clyde MM, Normah MN, Salma I (2005) Genetic diversity and relatedness among accessions of rambutan (*Nephelium Lappaceum* L). *Malaysian Applied Biology Journal* 34(1): 21-29.
- [15] Tongtao S, Srilaong V, Kanlayanarat S, Noichinda S, Bodhipadma K, Khumjareon S, Leung DWM (2015) Sugar status at harvest and during postharvest storage of *Nephelium lappaceum* cv. 'Sri-Chompoo' fruit from different maturity stages. *International Food Research Journal* 22(1):190-195.
- [16] Andrade RAD, Wickert E, Martins ABG, Lemos EGDM (2012) Genetic diversity among stock plants and progenies of rambutan. *Revista Brasileira de Fruticultura* 34(2): 630-634.
- [17] Clyde MM, Chew PC, Normah MN, Rao VR, Salma I (2005) Genetic diversity of *Nephelium ramboutan-ake* Leenh. Assessed using RAPD and ISSR markers. *ISHS Acta Horticulturae* 665: II International Symposium on Lychee, Longan, Rambutan and other Sapindaceae Plants.

基于 SSR 标记的海南栽培槟榔遗传多样性分析

齐兰¹, 王世正², 黄丽云¹, 周焕起¹, 刘立云¹

(¹中国热带农业科学院椰子研究所/海南省槟榔产业工程研究中心, 文昌, 571339; ²海南热带海洋学院生态环境学院, 三亚, 572022)

摘要: 槟榔是海南重要的热带特色经济作物, 具有很高的药用价值高, 被列为四大南药之首。其基础研究落后, 对种质资源缺乏的系统研究, 遗传多样性不明确。利用 SSR 分子标记技术对海南岛 58 份栽培槟榔资源进行遗传多样性分析, 旨在明确槟榔栽培种的亲缘关系, 为槟榔杂交育种、功能基因的挖掘提供理论依据。结果表明: 从 500 对 SSR 引物中筛选出 32 对多态性好、条带清晰的引物, 在 58 份种质资源中共检测到 79 个等位基因, 每个 SSR 位点 2-5 个, 平均 2.4688 个, 其中有效等位变异占观测等位变异的 58.92%。各引物 PIC 值变幅为 0.0169~0.5969, 平均值 0.2254, Shannon 信息指数 (I) 范围 0.0496~1.2552, 平均为 0.4496; Nei's 遗传多样性指数 (Nei) 变幅范围为 0.0171~0.6492, 平均值 0.2596, 说明所选 SSR 引物在供试样品中检测等位基因遗传多样性偏低。利用 UPGMA 构建 58 份栽培槟榔的遗传聚类树状图, 第 V 组材料遗传多样性最丰富, 其他分组群体遗传多样性较低, 聚类结果说明海南栽培槟榔品种没有明显的区域划分, 表明海南槟榔不同地区间的种苗交流频繁, 总体遗传多样性水平较低, 该研究为槟榔遗传育种亲本选择提供依据, 也为今后引进种质增补差异资源提供参考。

关键词: 槟榔; SSR 标记; 聚类分析; 遗传多样性

咖啡气孔性状与倍性相关性研究

罗琴，白学慧，匡钰，赵明珠，杨学雨，殷德奎，郭铁英
(云南省德宏热带农业科学研究所 云南德宏 678600)

摘要：采集咖啡成熟嫩叶下表皮，通过观察大粒种、中粒种、小粒种咖啡气孔密度、周长、保卫细胞叶绿体数目，研究咖啡气孔性状与倍性的相关性。研究发现：不同倍性咖啡叶表皮气孔性状有存在明显差异，其中大粒种和中粒种咖啡气孔密度、周长差异不显著；小粒种咖啡与大粒种、中粒种咖啡气孔密度、周长有显著差异，并且四倍体的小粒咖啡保卫细胞叶绿体数目远高于其他两种二倍体咖啡，因此，认为通过观察咖啡气孔性状可以判定咖啡染色体倍性。

第一作者简介：罗琴，1989年生，女，助理研究员，研究方向为咖啡遗传育种，联系邮箱 luo1989qin@163.com

苦瓜 MAP30 基因序列多态性与苦瓜瓜形连锁分析

于仁波¹, 牛玉¹, 王笑一², 刘子记¹, 杨衍¹

1. 中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所, 海南海口 571101; 2. 中国热带农业科学院海口实验站, 海南海口 571101

摘要: MAP30 蛋白具有抗病毒、降血糖、抗肿瘤和抗菌等多种功效。对从世界各地收集的 177 份种质资源通过自交获得表型稳定的纯系, 通过扩增 MAP30 基因编码区域并测序, 分析这些材料中 MAP30 基因的多态性。经分析发现 MAP30 在遗传进化中非常保守, 与参考基因组序列相比只有两个位点存在 SNP (single nucleotide polymorphism)。分别为 20 份材料的第 6 位 (G/A) 和 24 份材料第 206 位 (G/A), 对应氨基酸的变化分别为蛋氨酸-异亮氨酸和组氨酸-精氨酸。良好的瓜形是苦瓜品质的重要指标, 对 177 份材料的瓜形分析发现这两个氨基酸的变化主要影响了瓜长和瓜刺, 其中第二位蛋氨酸转换为异亮氨酸的 20 份材料中没有或极少有瓜刺, 且瓜长在 (22 厘米~36 厘米), 并且这些材料主要从中国南方收集; 而第 69 位组氨酸-精氨酸的 24 份材料大都带有瓜刺, 并且果实长度在 (8.3 厘米~40.8 厘米), 这些材料主要从印度等南亚国家收集, 更像野生品种。以上表明 MAP30 基因的第 6 位碱基与瓜刺和果实长度连锁, 并且可能是这两个性状的数量性状基因; 同时也反应出南亚等国家因经济相对落后导致作物育种也相对滞后, 中国育种家在苦瓜选育中根据大众的需求更多的选育了果实形状更好的带有第 6 位 (G/A) 的材料。

关键词: MAP30 蛋白; SNP(single nucleotide polymorphism); 多态性; 瓜刺; 果实长度

第一作者简介: 于仁波, 1982 年生, 男, 博士, 助理研究员, 研究方向: 苦瓜分子育种, E-mail: yurenbo612@163.com, Tel: 13488765641

苦瓜应答白粉病菌侵染的分子机制

商桑

摘要: 为探究苦瓜白粉病菌的生物学特性和苦瓜应答其侵染的分子机制,以白粉病菌分生孢子为材料,进行不同光质及光照时间、温度、湿度、pH、供氧、碳氮源处理;以苦瓜高代自交系 hai09-1(感)与 hai09-2(抗)为材料,分别对接种前和接种后 12h、24h、36h、48h、72h、96 h 的苦瓜叶片进行转录组分析。结果表明,苦瓜白粉病菌分生孢子萌发的最适温度和致死温度分别为 25℃和 48 ℃,喜高湿、黑暗和中性环境,好氧,喜葡萄糖,萌发不需氮源,长波光较短波更有利于苦瓜白粉菌分生孢子萌发。苦瓜品系抗病能力差异体现在接种后 36-72 hpi,抗病品系能快速的调动更多基因响应白粉菌侵染,在抗病信号转导、自噬等代谢通路上,接种前期抗病苦瓜比感病苦瓜能更迅速的响应白粉菌侵染,后期感病苦瓜在以上途径被显著抑制;白粉菌侵染下抗病苦瓜能更迅速传递 Ca²⁺信号,诱导植物细胞壁强化与超敏反应等防御反应;在白粉菌侵染中期诱导抗病苦瓜合成抵御病原物的病程相关蛋白 PR1,代谢通路和相关基因的表达差异可能导致苦瓜不同品系的抗性差异。本研究探究了苦瓜应答白粉菌侵染的分子机制,对筛选和克隆白粉病抗性基因有重要的参考价值。

关键词: 苦瓜; 应答; 白粉病菌; 分子机制; 转录组

个人简介:

商桑: 博士, 硕导, 海南省其他类高层次人才。美国威斯康星大学麦迪逊分校和密苏里州立大学访问学者, 主要从事植物逆境生理与分子生物学研究。主持国家自然科学基金、省基金多项。出版专(编)著 5 部, 发表学术论文 50 余篇。获得“海南省教学十佳”提名奖、海南大学“教学能手”、海南大学“教学成果奖”一等奖等奖励。

龙眼 bZIP 转录因子的克隆及表达模式分析

王金英¹, 张树伟^{1,3}, 李浩然², 范志毅¹, 李琳¹, 王颖¹, 黄幸¹, 彭宏祥³,

何新华¹, 徐炯志¹, 丁峰^{1,2,3*}, 潘介春^{1*}

1 广西大学, 广西南宁 530004; 2 广西农业科学院/广西作物遗传改良生物技术重点开放实验室, 广西南宁 530007; 3 广西壮族自治区农业科学院园艺研究所, 广西南宁 530007

摘要 为揭示龙眼 bZIP 转录因子的功能, 本实验从龙眼全基因组中克隆 39 个 *DlbZIP* 基因, 并对其理化性质、进化关系、蛋白质保守基序和亚细胞定位进行综合分析, 同时, 以“石硃”龙眼和“四季蜜”龙眼为实验材料, 采用 qRT-PCR 方法对 DlbZIP 转录因子在不同组织和年周期下的表达模式进行分析。结果显示: DlbZIPs 的氨基酸数量介于 165~659 aa, 分子量 18.40~71.53kDa, 等电点为 4.93~9.51, 亚细胞定位预测 DlbZIPs 主要定位于细胞核。系统进化树分析表明, 39 个 DlbZIP 分为 9 个亚科。qRT-PCR 表达分析结果表明, DlbZIP 基因在“石硃”和“四季蜜”龙眼的不同组织和年周期中具有不同的表达模式, 同时获得了几个可能参与成花调控的候选 *DlbZIP* 基因。本文的研究结果有助于我们对 DlbZIP 家族进行跟深入的了解, 同时为进一步研究 *DlbZIP* 基因参与龙眼成花调控机制和生物学功能提供理论基础。

关键词 龙眼; bZIP; 表达分析; 不同组织; 年周期

Cloning and expression pattern analysis of longan bZIP transcription factor gene family

WANG Jinjing¹, ZHANG Shuwei^{1,3}, LI Haoran², FAN Zhiyi¹, LI Lin¹, WANG Ying¹, HUANG Xing¹, PENG Hongxiang³, HE Xinhua¹, XU Jiongzhi¹, DING Feng^{2,3*}, PAN Jiechun^{1*}

1 Guangxi University, Nanning, Guangxi 530004, China

2 Guangxi Key Laboratory of Genetic Improvement of Crops/Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning, Guangxi 530007, China

3 Horticultural Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning, Guangxi 530007, China

Abstract To reveal the functions of longan basic leucine zipper (bZIP), using a genome-wide domain, we cloned 39 DlbZIP genes in longan. In addition, the physical and chemical characteristics, evolutionary characteristics, subcellular location, and protein conservative motif were analyzed, the gene expression levels of bZIP family under different tissues and annual cycles were detected by qRT-PCR using ‘SX’ (shixia) and ‘SJ’ (sijimi) as experimental material. The DlbZIP were featured with amino acid numbers among 165–659, molecular weight of 18.40–71.53kDa, and isoelectric point of 4.93–9.51. DlbZIPs were predicted mainly located on nucleus. Evolutionary tree analysis showed that 39 DlbZIPs were divided into six subfamilies. The results of expression analysis revealed that DlbZIP genes expressed differently in different tissues and annual cycles of ‘SX’ and ‘SJ’ and obtained several candidate bZIPs which may be involved in the regulation of flowering. The results presented here help us to understand much about bZIP family in fruit

trees and it provided reference for further study on the role of bZIP gene in the flowering mechanism and biological function of longan.

Key words longan; bZIP; expression analysis; different tissues; annual cycles

资助项目 国家荔枝龙眼产业技术体系建设项目(CARS-32-10); 广西研究生教育创新计划项目(YCSW2020028)。

作者简介 王金英(1996—), 女, 硕士研究生; 研究方向: 果树栽培生理与分子生物学。通讯作者(Corresponding author): 丁峰(DING Feng), E-mail: dingfeng418@163.com; 潘介春(PAN Jiechun), E-mail: markpan2004@126.com

芒果 SC-SSR 分子标记分析体系的建立与优化

张宇, 黄国弟, 李日旺, 唐玉娟, 罗世杏, 莫永龙

(广西壮族自治区亚热带作物研究所, 广西 南宁 530001)

摘要: 为了获得适用于芒果 SC-SSR-PCR 反应的反应体系以及适用于该体系的 SC-SSR 引物, 首先利用正交试验的方法对芒果 SC-SSR 反应体系的五因素 (Mg^{2+} 、Taq DNA 聚合酶、dNTPs、引物和模板 DNA) 的工作浓度或用量进行优化。然后, 利用优化的芒果 SC-SSR-PCR 反应体系对 10 对 SC-SSR 引物进行筛选, 筛选得出应用于芒果的 SC-SSR 引物。通过试验与分析, 确定芒果 SC-SSR-PCR 反应体系是模板 DNA 用量 $100\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、 Mg^{2+} 浓度 $2.00\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、引物浓度 $0.40\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、Taq DNA 聚合酶浓度 1.00 U 、dNTPs 浓度 $0.15\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 总反应体系 $25\text{ }\mu\text{L}$ 。五因素对 PCR 反应体系影响强弱依次是模板 DNA $> Mg^{2+} >$ 引物 $> Taq$ DNA 聚合酶 $>$ dNTPs。10 对 SC-SSR 引物均能扩增出清晰、明亮、特异的电泳条带, 适用于芒果遗传亲缘分析的要求。

关键词: 芒果; 反应体系; 正交试验; 引物

中图分类号: S667.7

文献标识码: A

文章编号:

Establishment and optimization of SC-SSR molecular marker analysis system for mango

ZHANG Yu, HUANG Guo-di, LI Ri-wang, TANG Yu-juan, LUO Shi-xing, MO Yong-long

(Guangxi Subtropical Crops Research Institute, Guangxi Nanning 530001)

Abstract: In order to obtain the reaction system and the primers suitable for the SC-SSR-PCR system of mango, the working concentration of the five factors (Mg^{2+} , Taq DNA polymerase, dNTPs, primer, DNA template) in the system was optimized by orthogonal experiment. Then, there were 10 pair of SC-SSR primers screened by using the optimized system. It was the first time that SC-SSR primers were screened for mango. The results showed that the SC-SSR-PCR reaction system of mango was $100\text{ ng}\cdot\text{ml}^{-1}$ template DNA, $2.00\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Mg^{2+} , $0.40\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ primer, 1.00 u Taq DNA polymerase, $0.15\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ dNTPs and $25\text{ }\mu\text{L}$ total reaction system. The order of influence of five factors on PCR reaction system was template DNA $> Mg^{2+} >$ primer $> Taq$ DNA polymerase $>$ dNTPs. 10 pairs of SC-SSR primers could amplify clear, bright and specific electrophoresis bands, which were suitable for genetic analysis of mango.

Key words: mango; reaction system; orthogonal experiment; primers

第一作者简介: 张宇(1983-), 男, 高级农艺师, 主要热带果树遗传育种及分子生物学, Phone: 13737032381, E-mail: chengyanli9981@163.com。*通讯作者, 黄国弟, E-mail: gxhgd@126.com。

杧果(*Mangifera indica* L.)为漆树科重要常绿经济果树,原产印度,其果实风味极佳^[1]。国内海南、广东、广西、福建、云南、贵州、四川均有栽培^[2-3]。起始密码子-微卫星扩增多态性(start codonsimple sequence repeat,SC-SSR)标记技术是郭大龙结合SCoT和ISSR分子标记技术开发出来的一种既能将标记位点与表达序列紧密联系,又具有相对较高的多态性的新型分子标记^[4]。目前在葡萄、猕猴桃中得到了应用,该技术在SCoT基础上扩增了SSR区间,多态性更加丰富,引物来源于SCoT引物和ISSR引物的自由组合,极大的增加了引物的选择范围,减少了引物合成费用。在辅助选择育种时目标性更强,选择范围更大^[5]。

目前,SC-SSR分子标记技术在杧果中尚未有报道发现。由于杧果高度异花授粉,种子高度杂合,且生产交易中往往存在同物异名和异物同名等问题,给杧果育种工作带来了诸多阻碍^[6-8]。为了在杧果育种过程中提供有效的分子标记辅助手段,本研究较全面地建立并优化杧果的SC-SSR反应体系,为其在杧果种质资源评价、优良基因挖掘、分子育种等领域的应用提供技术支撑及参考素材。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与仪器

5份杧果材料(表1)采集自广西大学农学院果树种质资源圃。所用的10条SCoT引物和10条ISSR引物(表2)由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。dNTPs、*Taq* DNA聚合酶、marker购买欲北京天根生化科技有限公司。实验仪器:凝胶成像系统(Bio-rad Geldoc XRt)、三恒电泳仪(HAD-JY600C)、Eppendorf离心机5810R、超微量分光光度计、Applied Biosystems 2720 Thermal Cycler PCR仪。

表1 供试杧果材料及来源

Table 1 Tested mango materials and their origins

| 编号 No. | 杧果材料 Mango material | 来源 Origin |
|-----------|------------------------|--------------|
| 1 | 吕宋杧 | 菲律宾 |
| 2 | 凯特杧 | 美国 |
| 3 | 白象牙 | 泰国 |
| 4 | 贵妃杧 | 中国台湾 |
| 5 | 金穗杧 | 中国广西 |

表2 用于SC-SSR分析的引物序列

Table 2 The primers used in SC-SSR analyses for papaya

| 编号 code | ISSR 引物 | 编号 code | SCoT 引物 |
|------------|--------------------|------------|--------------------|
| | ISSR primer | | SCoT primer |
| | 序列 (5'-3') | | 序列 (5'-3') |
| | Sequence (5'-3') | | Sequence (5'-3') |
| 807 | AGAGAGAGAGAGAGAGT | SC8 | CAACAATGGCTACCACGT |
| 808 | AGAGAGAGAGAGAGAGC | SC12 | ACGACATGGCGACCAACG |
| 809 | AGAGAGAGAGAGAGAGC | SC16 | ACCATGGCTACCACCGAC |
| 811 | GAGAGAGAGAGAGAGAC | SC20 | ACCATGGCTACCACCGCG |
| 812 | GAGAGAGAGAGAGAGAA | SC23 | CACCATGGCTACCAGGAG |
| 815 | CTCTCTCTCTCTCTG | SC27 | ACCATGGCTACCACCGTG |
| 827 | ACACACACACACACACG | SC29 | CCATGGCTACCACCGGCC |
| 830 | TGTGTGTGTGTGTGTGG | SC31 | CCATGGCTACCACCGCCT |
| 864 | ATGATGATGATGATGATG | SC33 | CCATGGCTACCACCGCAG |
| 881 | GGGTGGGGTGGGGTG | SC36 | GCAACAATGGCTACCACC |

1.2 基因组 DNA 提取及质量检测

选取健康无病虫害以及机械损伤的砖红色芒果叶片，选取芒果材料见表 1，放入冰盒中迅速带回实验室，采用试剂盒提取法，获取芒果基因组 DNA，通过测定 230 nm、260 nm 和 280 nm 波长下的 OD 值和琼脂糖凝胶电泳成像检测 DNA 的纯度和浓度，保存于-30℃冰箱以备后续研究^[9-11]。

1.3 正交试验确定 SC-SSR-PCR 反应体系

参考芒果 CDDP-PCR 反应体系研究的方法^[7]，设计 5 因素 4 水平的 $L_{16}(4^5)$ 正交优化试验方案(表 3)。5 因素分别为： Mg^{2+} 浓度、*Taq* DNA 聚合酶、dNTPs、引物和模板 DNA。该试验设计方案共产生 16 份处理，每份处理做三次重复，各处理总体系均为 25 μ L。通过肉眼直观观察对每个处理结果进行打分，打分范围 1-16，且打分为整数分，打分标准为条带清晰度、整齐度、明亮度、丰富性、特异性^[12]。打分结果用 SPSS10.0 软件分析。

表 3 芒果 SC-SSR-PCR 反应体系 $L_{16}(4^5)$
Table 3 Mango SC-SSR-PCR reaction system $L_{16}(4^5)$

| 处理 Treatm ent | 因素 Factor | | | | | 打分结果 Mark | | |
|---------------------|---|---|---|--|------------------------------------|---------------------|----------------------|----------------------|
| | Mg^{2+} 浓度 Mg^{2+} concentration / ($mmol \cdot L^{-1}$) | <i>Taq</i> DNA 聚合酶用 量 <i>Taq</i> DNA polymerase concentration /U | dNTPs 浓度 dNTPs Concentration / ($mmol \cdot L^{-1}$) | 引物浓度 Primer Concentrat ion / ($\mu mol \cdot L^{-1}$) | DNA 用 量 DNA dosage /ng | 重复 1 Repeat 1 | 重复 2 Repea t 2 | 重复 3 Repea t 3 |
| 1 | 1.00(1) | 0.25(1) | 0.10(1) | 0.40(1) | (1)30 | 3 | 2 | 4 |
| 2 | 1.00(1) | 0.50(2) | 0.15(2) | 0.60(2) | (2)65 | 8 | 7 | 9 |
| 3 | 1.00(1) | 0.75(3) | 0.20(3) | 0.80(3) | (3)100 | 10 | 9 | 10 |
| 4 | 1.00(1) | 1.00(4) | 0.25(4) | 1.00(4) | (4)135 | 9 | 9 | 10 |
| 5 | 1.50(2) | 0.25(1) | 0.15(2) | 0.80(3) | (4)135 | 9 | 7 | 8 |
| 6 | 1.50(2) | 0.50(2) | 0.10(1) | 1.00(4) | (3)100 | 11 | 11 | 12 |
| 7 | 1.50(2) | 0.75(3) | 0.25(4) | 0.40(1) | (2)65 | 11 | 12 | 12 |
| 8 | 1.50(2) | 1.00(4) | 0.20(3) | 0.60(2) | (1)30 | 4 | 5 | 4 |
| 9 | 2.00(3) | 0.25(1) | 0.20(3) | 1.00(4) | (2)65 | 10 | 11 | 12 |
| 10 | 2.00(3) | 0.50(2) | 0.25(4) | 0.80(3) | (1)30 | 5 | 3 | 4 |
| 11 | 2.00(3) | 0.75(3) | 0.10(1) | 0.60(2) | (4)135 | 13 | 14 | 13 |
| 12 | 2.00(3) | 1.00(4) | 0.15(2) | 0.40(1) | (3)100 | 15 | 16 | 15 |
| 13 | 2.50(4) | 0.25(1) | 0.25(4) | 0.60(2) | (3)100 | 10 | 11 | 11 |
| 14 | 2.50(4) | 0.50(2) | 0.20(3) | 0.40(1) | (4)135 | 13 | 13 | 14 |
| 15 | 2.50(4) | 0.75(3) | 0.15(2) | 1.00(4) | (1)30 | 6 | 5 | 6 |
| 16 | 2.50(4) | 1.00(4) | 0.10(1) | 0.80(3) | (2)65 | 5 | 4 | 4 |

括号中数字代表水平。

Numbers in parentheses represented the level.

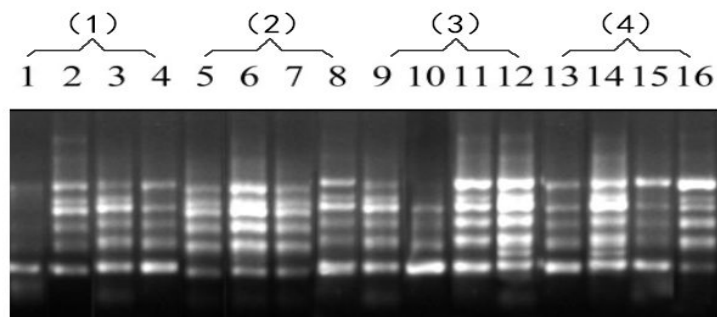
1.4 扩增程序及引物适用性、稳定性验证

扩增程序为：95℃预变性 5 min；前 2 个循环：95℃变性 1 min，40℃退火 1min，72℃延伸 100 s；后 28 个循环：95℃变性 1 min，50℃退火 1 min，72℃延伸 100 s；最后 72℃延伸 8 min。将扩增产物在 1.5%质量浓度的琼脂糖凝胶中电泳，并在凝胶成像仪内拍照，分析图片。

2 结果与分析

2.1 正交实验结果及各因素对 PCR 反应的影响

以 ISSR 引物 807 和 SCoT 引物 8 作为组合引物为例,进行 16 个处理的 SC-SSR-PCR 扩增,结果差别较大。处理 1 肉眼可见的扩增条带只有一条;处理 11、12、14 扩增出的条带数量多、亮度高且条带整齐,扩增效果较为理想;其余处理也可以扩增出多条条带,但整齐度和亮度远不及处理 11、12、14 所得结果。



(1)、(2)、(3)、(4) 对应表 1 中的处理水平。

(1)、(2)、(3) and (4) correspond to the treatment level in Table 1.

图 1 杧果 SC-SSR-PCR 正交试验设计 $L_{16}(4^5)$ 电泳结果(引物 ISSR807 和 SCoT8)

Table 1 Electrophoresis analysis of SC-SSR-PCR $L_{16}(4^5)$ product for mango with primer ISSR807 and SCoT8

依据表 3 的评分结果最终得到极差 R, 结果见表 4。其中 R 是反映某一因素对该反应体系构建影响的强弱, R 越大代表该因素对 PCR 结果影响越大, 由表 4 数据可知: 模板 DNA > Mg^{2+} > 引物 > Taq DNA 聚合酶 > dNTPs, 是该反应体系中 5 因素对 PCR 结果影响强弱的最终排序。通过差异显著检测, 模板 DNA 与 Mg^{2+} 、引物、Taq DNA 聚合酶、dNTPs 存在差异显著; Mg^{2+} 和引物之间不存在差异显著, Taq DNA 聚合酶和 dNTPs 之间不存在差异显著。

表 4 杧果 SC-SSR-PCR 反应正交试验 $L_{16}(4^5)$ 结果均值

Table 4 Result of orthogonal test for mango SC-SSR-PCR reaction

| 因素 Factor | $X1$ | $X2$ | $X3$ | $X4$ | R |
|-----------------------------------|--------|--------|--------|--------|-------------|
| 模板 DNA DNA template | 17.000 | 35.000 | 47.000 | 44.000 | 30.000 a |
| Mg^{2+} | 30.000 | 35.333 | 47.000 | 34.000 | 17.000 b |
| 引物 Primer | 43.333 | 36.333 | 26.000 | 37.333 | 11.333 b |
| Taq DNA 聚合酶 Taq DNA polymerase | 32.667 | 36.667 | 40.333 | 33.333 | 7.666c |
| dNTPs | 32.000 | 37.000 | 38.333 | 35.667 | 6.333c |

$X1 \sim X4$, 为每一因素同一水平下的打分平均值; R, 极差; 同一因素不同水平的数据后没有相同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

$X1 \sim X4$, Mean of every factor under the same level; R, Range; The values in the same column of the same factor with different letters showed the significant difference($P < 0.05$).

DNA 模板用量为 100 ng 和 135 ng 时, 对试验结果无差异显著影响, 但与 65 ng、30 ng 用量相对比试验结果影响存在差异显著; Mg^{2+} 浓度为 1.50 $mmol \cdot L^{-1}$ 和 2.0 $mmol \cdot L^{-1}$ 时, 对试验结果无差异显著影响, 但与 1.0 $mmol \cdot L^{-1}$ 、2.5 $mmol \cdot L^{-1}$ 浓度相对比试验结果影响存在差异显著; 引物浓度为 0.60 $\mu mol \cdot L^{-1}$ 和 1.00 $\mu mol \cdot L^{-1}$ 时, 对试验结果无差异显著影响, 但引物浓度为 0.4 $\mu mol \cdot L^{-1}$ 、1.0 $\mu mol \cdot L^{-1}$ 时, 对试验结果影响存在差异显著; *Taq* DNA 聚合酶用量为 0.25 U 和 1.00 U 时, 对试验结果无差异显著影响, 但与 0.50 U、0.75 U 用量相对比试验结果影响存在差异显著; dNTPs 浓度仅为 0.10 $mmol \cdot L^{-1}$ 时, 与其它三个浓度水平存在差异显著, 而其它三个浓度水平之间不存在差异显著。

表 5 不同因素不同水平的差异显著情况

Table 5 Significant differences in different factors and levels

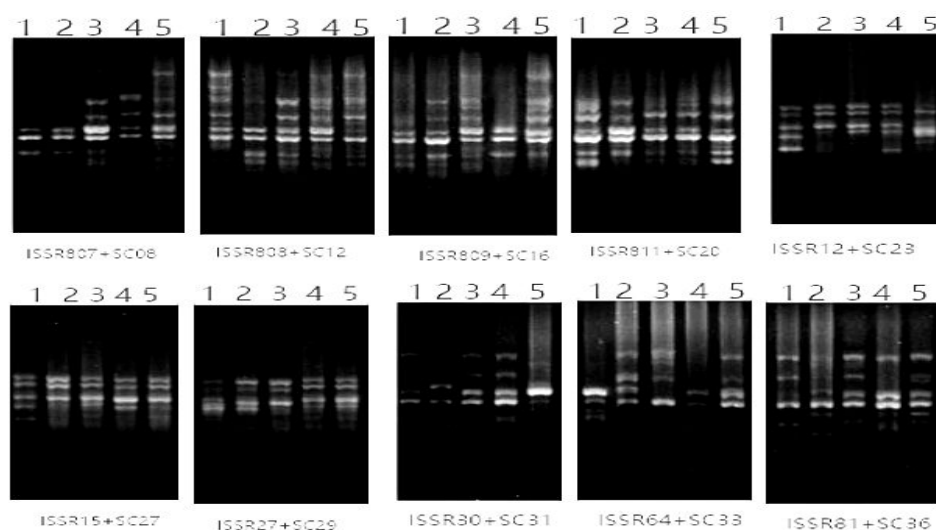
| 因素 Factor | <i>T1</i> | <i>T2</i> | <i>T3</i> | <i>T4</i> |
|--|-----------|-----------|-----------|-----------|
| DNA 模板 DNA template | 51c | 105b | 141a | 132a |
| Mg^{2+} | 90c | 106b | 131a | 102b |
| 引物 Primer | 130a | 109b | 78c | 112b |
| <i>Taq</i> DNA 聚合酶 <i>Taq</i> DNA polymerase | 98c | 140a | 121b | 100c |
| dNTPs | 96b | 111a | 115a | 107a |

T1~T4, 每一因素同一水平下的打分总和; 同一因素不同水平的数据后没有相同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

T1~T4, Sum of every factor under the same level; The values in the same column of the same factor with different letters showed the significant difference($P < 0.05$).

2.2 SC-SSR-PCR 反应体系稳定性验证及引物筛选

SC-SSR 标记技术采用的是双引物锚定供试材料, 再进行 PCR 扩增, 根据扩增结果分析供试材料的遗传亲缘关系。引物见表 2, 其中一条引物来自 ISSR 标记所用引物, 另一条引物来自 SCoT 标记所用引物。将表 2 中左右两列引物对应组合成 10 对 SC-SSR 标记引物, 并将表 1 中的供试材料进行 PCR 分析, 结果见图 2。10 对 SC-SSR 引物均可以扩增出清晰明亮的琼脂糖凝胶电泳条带, 只是不同的 SC-SSR 引物扩增出的共有性和特异性条带数量有所不同, PCR 图谱中的共有性条带表现了枳果种内的稳定遗传性, 特异性条带体现了品种间的遗传差异, 表明该优化体系以及引物适用于枳果 SC-SSR-PCR 分析。



1、2、3、4、5 见表 1，每幅图的下方注明了该 PCR 结果所用引物组合名称。

1, 2, 3, 4 and 5 are shown in Table 1, and the primers combination used for the PCR results were indicated at the bottom of each figure.

图 2 10 个引物组合对 5 个芒果品种的 PCR 扩增结果

Fig. 2 PCR amplification of 5 mango varieties with 10 primer-combination

3 结论与讨论

与单因素多水平逐级优化法相比，正交优化分析法将反应体系内不同因素之间的相互影响考虑入内，大大降低了只针对某一因素确定最佳浓度或用量的片面性^[13-19]。正交优化试验设计除了考虑到各因素之间的综合效应，同时兼具省时、省力的特点优势^[20-21]。

由表 3 和图 1 构成的 5 因素 4 水平共计 16 分处理，所得的打分情况和琼脂糖电泳成像结果存在较大差异。肉眼可见处理 1 的扩增条带数量最少；处理 11、12、14 扩增出的条带数量多、亮度高且条带整齐，扩增效果较为理想；其余处理也可以扩增出多条条带，但整齐度和亮度不如处理 11、12、14。由打分情况来看：处理 1 分值为 9，在 16 个处理中分数最低；处理 12 分值为 46，在 16 个处理中分数最高；其次是处理 11 和处理 14 分值同为 40；处理 6、7、9 和 13 分值在 32~35 之间；处理 2、3、4 和 5 分值在 24~29 之间；处理 8、10、15 和 16 分值在 12~17 之间；分数越高代表该处理所得结果越好，处理 1 分值最低同时也是凝胶电泳成像效果最差的处理，处理 12 分值最高同时也是凝胶电泳成像效果最好的处理，不论通过打分判断还是通过凝胶电泳图谱识别，两种方法所得的结果基本一致。

通过极差 R 值可以判断在一个反应体系内不同的影响因素对该体系影响能力的强弱。由表 4 可知：在本反应体系的 5 因素中，模板 DNA、Mg²⁺、引物、Taq DNA 聚合酶、dNTPs 的 R 值分别为 30.000、17.000、11.333、7.666 和 6.333，所以模板 DNA > Mg²⁺ > 引物 > Taq DNA 聚合酶 > dNTPs，是该反应体系中 5 因素对 PCR 结果影响强弱的最终排序。再通过 SPSS10.0 软件计算各个因素之间的差异显著性，对该反应体系影响最大的模板 DNA 与其他 4 因素存在差异显著；Mg²⁺和引物之间不存在差异显著，但与 Taq DNA 聚合酶、dNTPs 存在差异显著；Taq DNA 聚合酶和 dNTPs 不存在差异显著，但与 Mg²⁺、引物存在差异显著。差异显著性验证了模板 DNA 在该反应体系中的重要性。

表 3 结合图 1 可以得出处理 11、处理 12 和处理 14 可作为该反应体系的最佳优化候选组合。结合表 4 进行分析可知：DNA 模板用量在水平(3)和(4)之间不存在差异显著，处理 11、12 和 14 在模板 DNA 用量水平分别为(4)、(3)和(4)，因此无法从模板 DNA 用量水平来简单判断哪一个处理较优；Mg²⁺浓度在水平(2)和(4)之间不存在差异显著，处理 11、12 和 14 在 Mg²⁺浓度水平分别为(3)、(2)和(4)，因此处理 11 与处理 12、14 在 Mg²⁺浓度存在差异显著；引物浓度在水平(2)和(4)之间不存在差异显著，处理 11、12 和 14 在引物浓度水平分别为(2)、(1)和(1)，因此处理 11 与处理 12、14 在引物浓度存在差异显著；Taq DNA 聚合酶浓度在水平(1)和(4)之间不存在差异显著，处理 11、12 和 14 在 Taq DNA 聚合酶浓度水平分别为(3)、(4)和(2)，因此处理 11、12、14 三者之间都存在差异显著，无法从 Taq DNA 聚合酶浓度水平来断定哪一个处理较优；dNTPs 浓度仅在水平(1)与其它水平存在差异显著，而其它三个水平之间不存在差异显著，处理 11、12 和 14 在 dNTPs 浓度水平分别为(1)、(2)和(3)，因此处理 11 与处理 12、14 在引物浓度存在差异显著；处理 11 与处理 12、14 在 Mg²⁺浓度水平、引物浓度水平和 dNTPs 浓度水平三个因素都存在显著差异，但处理 11 在打分值和凝胶电泳成像结果都为能优于处理 12、14，因此淘汰处理 11 作为该反应体系的最佳优化组合。结合表 3、图 1 和表 5，再遵循原材料节省原则，处理 12 在模板 DNA 用量、dNTP 浓度以及 Mg²⁺浓度均低于处理 14，且处理 12 在打分值和凝胶电泳成像效果方面优于处理 14，因此确定处理 12 为芒果 SC-SSR 标记反应体系各因素水平的最佳组合。

SC-SSR 标记是基于双引物的 PCR 扩增技术, 两条引物分别来自 ISSR 标记和 SCoT 标记, 这样的双引物组合呈指数形式扩张了引物的数量, 也为该标记提供了极大的多态性。由表 2 内的引物组合成了不同的 SC-SSR 引物, 引物见图 2。每条 SC-SSR 引物都囊括了表 2 内的引物, 观察图 2, 可以得出条带清晰、层次分明、多态性丰富的凝胶电泳图谱, 不同的引物经过 PCR 扩增出的凝胶电泳图谱即可表现出清晰的共有条带也可表现出差异丰富的多态性条带, 说明了不同杧果品种之间既有稳定的内部遗传共性, 也存在品种之间的差异性, 该标记采用的 SC-SSR 引物均适用于杧果 SC-SSR 标记技术的应用。

依据上述分析, 可以判断反应体系内 5 因素对 PCR 结果影响强弱的最终排序是: 模板 DNA > Mg²⁺ > 引物 > Taq DNA 聚合酶 > dNTPs。正交反应体系各因素的最佳浓度或用量组合是: 模板 DNA 用量 100 ng·mL⁻¹、Mg²⁺ 浓度 2.00 mmol·L⁻¹、引物浓度 0.40 μmol·L⁻¹、Taq DNA 聚合酶浓度 1.00 U、dNTPs 浓度 0.15mmol·L⁻¹。10 对 SC-SSR 引物均能扩增出条带整洁、主次分明、特异丰富的凝胶电泳结果, 表明 SC-SSR 引物以及反应体系适用于杧果的亲缘关系分析。

参考文献

- [1] 张 继, 黄国弟, 张 宇, 等. 杧果矮化基因 GA2ox 的克隆、亚细胞定位及表达分析[J]. 经济林研究, 2020, 38(1):90-98.
- [2] 郑 斌, 武红霞, 王松标, 等. 基于转录组的杧果 MYB 家族基因的鉴定及分析[J]. 热带作物学报, 2017, 38(7):1285-1294.
- [3] 武红霞, 许文天, 罗 纯, 等. 芒果果实转录组数据组装及基因功能注释[J]. 热带作物学报, 2016, 37(11):2191-2198.
- [4] 张安世, 张中海, 齐秀娟, 等. 猕猴桃 SC-SSR 遗传多态性分析及指纹图谱构建[J]. 分子植物育种, 2017, 15(11):4706-4714.
- [5] 郭大龙, 侯小改, 刘崇怀, 等. 一种新的 DNA 分子标记技术——起始密码子-微卫星扩增多态性[J]. 植物生理学报, 2012, 48(4):408-412.
- [6] 张 宇, 黄国弟, 莫永龙, 等. 适合转录组测序的芒果不同组织 RNA 试剂盒提取方法研究[J]. 经济林研究, 2019, 37(1):32-36.
- [7] 张 宇, 黄国弟, 黄 强, 等. 芒果 CDDP 分子标记正交优化设计及引物筛选[J]. 福建农林大学学报 (自然科学版), 2017, 46(5):546-551.
- [8] 张 宇, 王长江, 唐志鹏, 等. ISSR 分子标记对杧果实生苗父本的早期鉴定[J]. 南方农业学报, 2014, 45(1): 7-11.
- [9] 张 宇, 唐志鹏, 高 兴, 等. 不同颜色类群芒果的 ISSR 分析[J]. 经济林研究, 2014, 32(3): 72-75.
- [10] 田艳伶, 李志辉, 杨模华, 等. 钩栗 ISSR-PCR 反应体系的建立与优化[J]. 中南林业科技大学学报, 2015, 35(2):32-36.
- [11] 张 宇, 黄国弟, 唐志鹏, 等. 芒果总DNA提取方法比较分析[J]. 经济林研究, 2014, 32(2):62-65.
- [12] 何正文, 刘运生, 陈立华, 等. 正交设计直观分析法优化PCR条件[J]. 湖南医科大学学报, 1998, 23(4):403-404.
- [13] 石 琳, 胡延萍, 王建科, 等. 云生毛茛 ISSR-PCR 体系优化与引物筛选[J]. 生物技术报, 2016, (9):65-71.
- [14] 胡延萍, 包 蕊, 王 莉, 等. 西藏嵩草ISSR-PCR反应体系优化研究[J]. 广西植物, 2016, 36(8):915-922.
- [15] JIANG L Y, ZANG D K. Analysis of genetic relationship in *Rosa rugosa* using conserved DNA-derived polymorphism markers[J]. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 2018,

32(1):88-94.

- [16] 王心迪, 黄如葵, 冯诚诚, 等.正交设计直观分析法优化苦瓜SSR-PCR反应体系[J].北方园艺, 2016, (10):99-103.
- [17] 闵学阳, 刘文献, 张正社, 等.苜蓿 DUS 测试标准品种 SSR 分子标记指纹图谱的构建[J].草业学报, 2017, 26(11):47-56.
- [18] 贾新平, 孙晓波, 梁丽建, 等.绣球 SSR-PCR 反应体系的建立与优化[J].华北农学报(自然科学版), 2016, 31(4):68-73.
- [19] 尚小红, 严华兵, 曹 升, 等.葛根 SCoT-PCR 反应体系优化及引物筛选[J].南方农业学报, 2018, 49(1):1-7.
- [20] 黄志峰, 李得堂, 等.正交试验法优化丹七活血丸成型性工艺研究[J].中国药业, 2020, 29(13):42-43.
- [21] 巨秀婷, 梁银娟, 唐 楠, 等.基于正交设计优化兰州百合鳞片埋培环境条件[J].南方农业学报, 2020, 51(6):1392-1399.

三个蓝莓不同品种花微形态结构比较

钟敏婷¹, 莫爱琼¹, 胡晓颖², 肖更生¹, 徐国辉³, 高丽霞^{1*}

1.仲恺农业工程学院园艺园林学院, 广东广州 510225; 2.中国科学院华南植物园, 广东广州 510650;

3.大连大学现代农业研究院, 辽宁大连 116622

摘要 蓝莓 (*Vaccinium* spp.) 是一种营养和经济价值都高的水果。花的结构是影响蓝莓结实率和产量重要因素。本文利用光学显微镜 (LM) 和扫描电子显微镜技术 (SEM) 对蓝莓兔眼‘灿烂’、兔眼‘园蓝’和南高‘V3’三个品种的花器官进行解剖, 观察其微观形态结构特征, 并对花粉超微形态结构特征进行观察比较。结果表明: 蓝莓花药为管状, 花粉靠蜂振动翅膀 (或者是风媒震动) 让花粉流出管口到达柱头, 以完成传粉; 三个蓝莓品种在花器官的微形态特征、雄蕊及雌蕊的微形态结构、花粉的超微形态结构上均有差异, 其中兔眼蓝莓中结实不稳定、需要授粉树的‘园蓝’品种花药距离柱头最远, 长达 2211.45 μm , 而‘灿烂’是 1375.84 μm , ‘V3’是 1721.89 μm 。花药距离柱头远, 说明花粉由花药到达柱头的自花授粉机率低。另外, ‘园蓝’花药管状结构的管口开口面积、开口宽度及花粉粒都小于结实率高的‘灿烂’和‘V3’, 导致长势强壮的兔眼‘园蓝’品种自花授粉率低, 结实不稳定。这些结果说明花微形态结构与蓝莓自花授粉率、结实率有密切的关系。

关键词 蓝莓; 花微形态结构; 雄蕊; 雌蕊; 结实率;

Comparison of Flower Micromorphology Structure between Tuyan and Nangao Varieties of Blueberry

ZHONG Minting¹, MO Aiqiong¹, HU Xiaoying², XIAO Gengsheng¹, XU Guohui³, GAO Lixia^{1*}

1. College of Horticulture, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou, Guangdong 510225, China

2. South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China;

3. Institute of Modern Agriculture Research, Dalian University, Dalian, Liaoning 116622

Abstract: Blueberry (*Vaccinium* spp.) is a fruit with high nutritional and economic values. Flower structure is an important factor that affects the setting rate and yield of blueberry. In this study the pollen features and vegetative organs anatomical structure (stamens, pistils) of three blueberry varieties including ‘Brightwell’, ‘Gardenblue’, and ‘V3’ were examined using light microscopy(LM) and scanning electron microscopy(SEM). The results show that blueberry anther is tubular, and the pollen is polluted by the bee's vibrating wings (or wind-mediated vibration) to allow the pollen to flow out of the nozzle to the stigma to complete the pollination. The three blueberry varieties show obvious differences in the micromorphological characteristics of the floral organs, the micromorphological structure of the stamen and pistil, and the ultramicroscopic structure of the pollen. The distances between anther and stigma in ‘Brightwell’, ‘Gardenblue’, and ‘V3’ are 1375.84, 2211.45, 1721.89 μm , respectively. The

资助项目 广州市科技创新委员会重大民生科技攻关计划 (No. 201803020029); 广东省林业科技创新项目 (No. 2017KJXC042); 广州市海珠区科普计划项目 (No.海科工商信计 2018-49)

作者简介 钟敏婷 (1994-), 女, 在读硕士研究生, 研究方向:蓝莓栽培, E-mail: 373536052@qq.com。通讯作者 (Corresponding author): 高丽霞 (1964-), 女, 硕士, 园艺研究员, 研究方向:南方蓝莓高效种植技术及抗性品种选育, E-mail: gaolixia58@163.com。

‘Gardenblue’ that shows the lowest probability of self-pollination displayed the longest distances between anther and stigma. In addition, the opening area, opening width and pollen grains of the ‘Gardenblue’ anther tube structure were less than the ‘Brightwell’, and ‘V3’ with a high seed setting rate, resulting in a strong self-pollination rate of the strong rabbit eye ‘Gardenblue’ variety, which is not strong stable. These results indicate that the flower micromorphology structure is closely associated with the rate of self-pollination and seed setting of blueberry.

Keywords: Blueberry; flower micromorphology; stamens; pistil; seed setting rate

蓝莓 (*Vaccinium* spp.) 广泛分布于北半球, 品种约有 400 多种。全球人工栽培的蓝莓总共有 200 余种, 主要由美国选育而成^[1]。蓝莓根据其生长特性, 可分为高丛蓝莓、矮丛蓝莓和兔眼蓝莓三大系列类型, 其中高丛蓝莓又可分为南高丛蓝莓、北高丛蓝莓和半高丛蓝莓三个系列类型^[2]。蓝莓性喜冷凉气候和疏松的微酸性土壤环境。我国南方地区拥有大面积微酸性土壤资源, 山区冷凉气候十分适合耐热的部分兔眼和南高丛系列蓝莓品种的种植^[3,4]。近十年来我们在广东及湖南等地已引进兔眼和南高系列蓝莓, 筛选到适宜的品种并种植成功。

兔眼蓝莓原产北美, 栽培驯化始于美国^[5], 20 世纪 80 年代中后期引入我国, 近十多年前在我国南方各省市开始试种推广, 对促进我国丘陵山区果树品种结构的调整发挥了重要作用^[6-8]。其中兔眼系列‘园蓝’‘灿烂’‘巴尔德温’等几个品种在国内引进最早。而‘园蓝’因其繁殖容易、抗性强、生长快, 种植后能够快速成园的特性在南方早期的蓝莓园中种植比例最大。南高丛蓝莓原产于美国东南强部亚热带, 是利用北方耐寒性较差的种类和适宜温暖地区生长的兔眼类越橘杂交培育而来的品种类群^[9]。南高丛蓝莓喜欢湿润、温暖气候条件, 适宜生长在土壤呈酸性反应的红壤和黄红壤^[10]。广东地区因其自然的红壤属性, 很多南高品种落户, 其中南高蓝莓的‘V3’品种是最适宜的品种之一, 不但抗高湿抗高温, 结果量大, 还可以单一种植, 不需要授粉树。

表 1.1 三个蓝莓品种在南方生长特性

Tab.1.1 Three blueberry varieties introduced profiles

| 种名 | 品系 | 苗龄 (年) | 苗高度 (cm) | 结实率 | 广东种植表现特点 |
|------|-------|-----------|-------------|--------|-----------------------------------|
| ‘灿烂’ | 兔眼蓝莓 | 5 | 120 | 90-95% | 生长势较强, 6 月 10 日结果, 没有授粉树结果率也很高。 |
| ‘园蓝’ | 兔眼蓝莓 | 5 | 160 | 20-40% | 生长势极强, 6 月 20 日开始结果。需要蜂媒配置授粉树才能结实 |
| ‘V3’ | 南高丛蓝莓 | 5 | 80 | 95-98% | 生长势极强, 4 月 25 日开始结果。不需要授粉树。 |

‘园蓝’在其抗逆性方面表现优秀, 不但长势强, 扦插或组培的繁殖率也很高。果虽小, 但其具有独特风味, 是加工蓝莓酒、蓝莓酱等最好的原材料, 这也是‘园蓝’作为早批引进中国大量推广种植的原因。但目前广东、湖南、等很多地区出现了大树花盛果少的现象 (表 1.1), 大面积种植的园蓝品种花繁果少, 结实不稳定, 很多蓝莓园效益较差。湖南 1000 多亩的蓝莓基地已种植近 12 年, 园蓝品种种植比例高达 60%, 树高已达 2 米, 全部更换品种损失巨大, 而同是兔眼系列的灿烂, 在同一种植区域, 结实稳定, 不需要授粉树就大量结实。南高‘V3’品种抗性强, 不需要授粉树也可以大量结实。南高‘V3’和兔眼‘灿烂’都是在广东地区种植效益较高的品种。

为了探究兔眼‘园蓝’结实率低的原因, 帮助种植企业解决‘园蓝’收益问题, 作者在中科

院华南植物园公共实验室电镜实验室进行了‘园蓝’及其他高产品种的花微形态结构观察对比,拟从花微形态结构探析中寻找它们之间结实的秘密。

电子显微镜能够提供高分辨率的观察,透射电子显微镜(TEM)能够观察薄片样品的结构,而扫描电镜(SEM)常用来观察植物表面的形态特征。多年来,植物科学和扫描电镜一直是密切相关的^[11]。

目前,国内杜鹃花科一些品种的植物花粉形态已有少量报道^[12-14],毛子军等进行了杜鹃花科4属植物花粉形态的研究^[15],沈玉英有关于兔眼蓝莓花粉形态的相关研究^[16],也有兔眼蓝莓花粉跟花粉不育性的相关研究^[17,18],莫爱琼等观察了两个蓝莓品种的花器官的形态特征^[19]。但是总的来看,国内学者在蓝莓花微形态结构方面的研究比较少,尚有很多值得探究的地方。

从文献资料中看到已有对花粉粒活性进行的研究报道,如大豆染色单体与花粉不稔的研究^[20],四倍体西瓜的低稔性的研究^[21],以及对东北地区越橘属植物染色体数目的研究,认为我国越橘属植物的染色体有二倍体和四倍体之分^[22],这些报道启发本文对蓝莓结实率低的品种从蓝莓花粉微形态结构特性进行研究的思路。

1 材料与方法

1.1 植物材料

广东地区种植蓝莓三个品种‘灿烂’(5年生)‘园蓝’(5年生)‘V3’(5年生)盆栽大树(表2.1),采样地点在仲恺农业工程学院番禺钟村教学科研基地(113°30'E,23°00'N),花微结构分析的花采样时间是2016年3月下旬—4月蓝莓开花期,均取各品种有代表性的各个阶段的花样。结实率调查时间为4月20日-7月10日。

1.2 药品与器材

固定液(2.5%戊二醛+2%多聚甲醛)、0.1M磷酸缓冲液、阶梯浓度乙醇、日本电子JSM-6360LV扫描电子显微镜、Leica EM CPD300临介点燥仪、JFC-1600日本电子离子溅射镀膜仪、蔡司ZEISS SV11体视显微镜、离心机等。

1.3 实验方法

1.3.1 蓝莓花器官显微结构解剖观察 取3个品种的蓝莓花样品,用2.5%戊二醛+2%多聚甲醛固定液固定12h(4℃冰箱)以上,在体视显微镜下将花蕾的花冠拔掉,对雄蕊、雌蕊进行解剖,再在光学显微镜下观察其形态结构并拍照。

1.3.2 蓝莓花器官扫描电镜制样及观察 取3个品种蓝莓花药、柱头样品,用2.5%戊二醛+2%多聚甲醛固定液固定12h(4℃冰箱)以上,用0.1M磷酸缓冲液清洗,乙醇逐级梯度脱水(30%、50%、70%、80%、90%、100%),每级10min。经临界点干燥仪进行干燥后,用碳双面胶带固定样品台上,镀铂金后,置于扫描电子显微镜仪下按照埃尔特曼(1962)对花粉形态的描述和观察方法观察结果并拍照^[25]。

1.3.3 数据处理 测量所得数据采用Excel 2007和Spss 19.0软件进行统计、方差分析、差异显著性检测及相关性分析。

2 结果与分析

2.1 蓝莓花器官的微形态结构特征

2.1.1 蓝莓花冠的观察 通过观察得到，蓝莓花总状花序，花两性，呈倒钟形，花瓣基部联合，外缘5裂，白色（图版II-J）。在果树育种上，花的大小常作为选育大果品种的早期指标，一般认为花冠越宽，果实越大，因此，花冠宽度反映了果实的大小^[24]。蓝莓成熟花的花药均在花冠内，花冠的宽度在反映果实的大小的同时，还一定程度限制了蜂、虫进入花内传媒授粉的几率。在光学显微镜下测量3个品种的花冠直径，结果统计如表2.1所示。

由表可知，‘V3’品种的花冠宽度最宽，为6856.12 μm，与‘灿烂’、‘园蓝’差异显著，其次是‘灿烂’，‘园蓝’的花冠宽度最窄。综上所述，在这3个蓝莓品种之中，‘园蓝’的花型最小，花冠最窄，蜂、虫进入授粉机率最小，可能是导致其结实率低的原因。

表 2.1 不同品种蓝莓花冠宽度比较 ($\bar{x} \pm s$, n=30)

Tab. 2.1 Comparison of corolla width of different varieties of blueberry

| 种名 | 花冠宽度 (μm) |
|------|-----------------|
| ‘灿烂’ | 6109.40±204.85b |
| ‘园蓝’ | 5625.55±223.84b |
| ‘V3’ | 6856.12±155.30a |

注：采用 Duncan’s multiple range test 方法分析，同一列不同小写字母表示组间差异显著 (P<0.05)，有相同小写字母者，表示组间差异不显著 (P>0.05)。

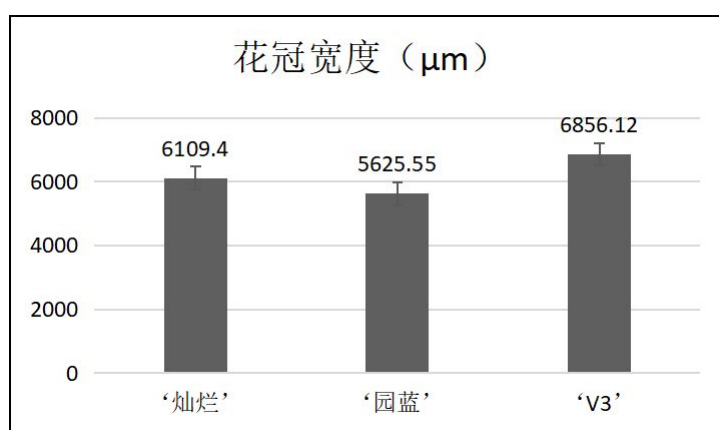
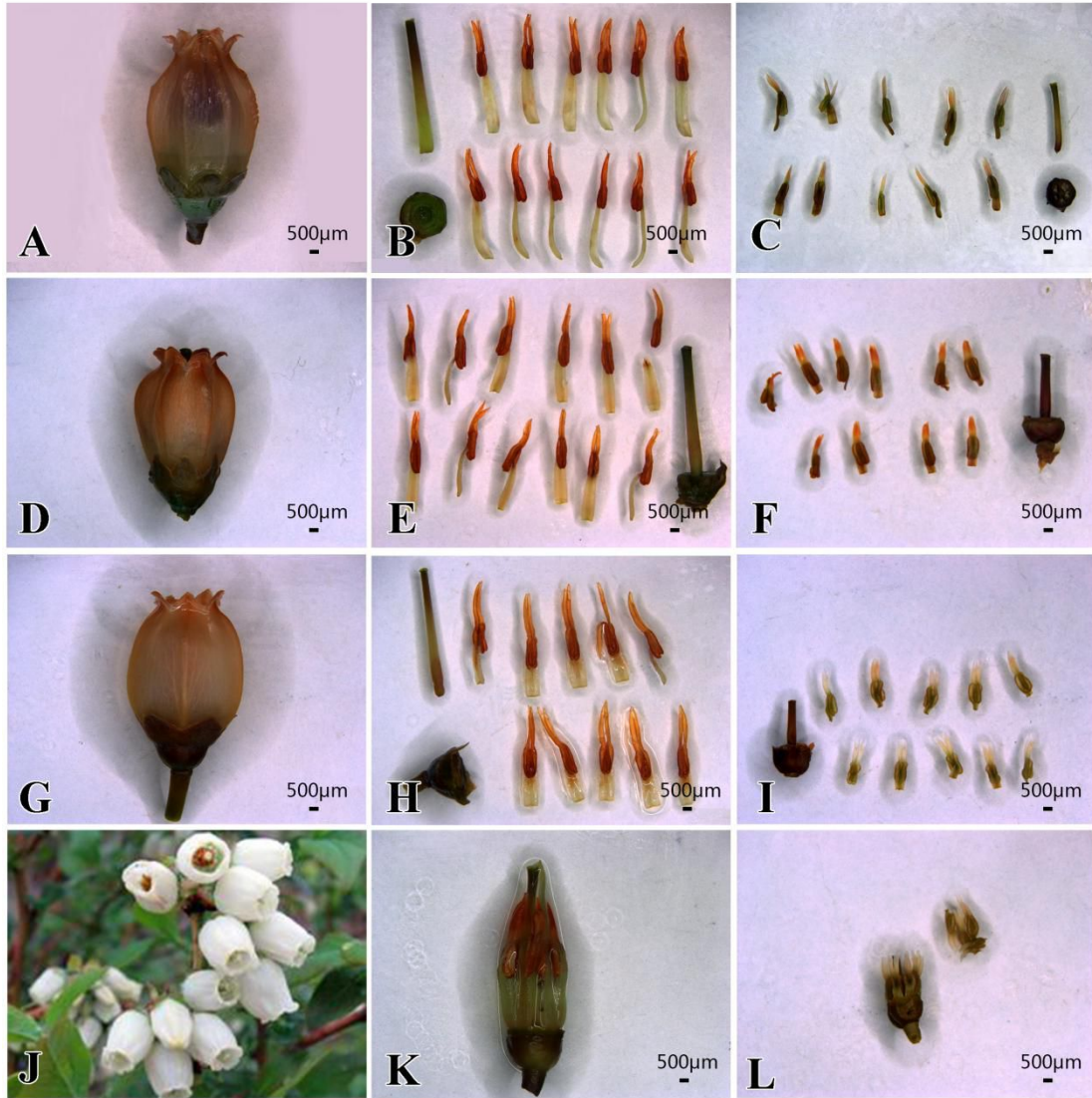


图 I 不同品种蓝莓花冠宽度比较

Fig. I Comparison of corolla width of different varieties of blueberry



图版 II 光学显微镜观察的花形态结构

A、B、C 分别为‘灿烂’花外观形态结构、雄蕊、雌蕊不同时期解剖形态结构；D、E、F 分别为‘园蓝’花外观形态结构、雄蕊、雌蕊不同时期解剖形态结构；G 为‘V3’的花外观形态结构，H、I、K、L 为‘V3’的雄蕊、雌蕊不同时期解剖形态结构；J. 蓝莓完整花序。Bar=500 µm。

Fig. II Optical microscopically floral structure. ‘Brightwell’: A. The whole flower appearance structure under the light microscope; B,C. The anatomical morphology of stamen and pistil; ‘Gardenblue’: D. The whole flower appearance structure under the light microscope; E,F. The anatomical morphology of stamen and pistil; ‘V3’: G. The whole flower appearance structure under the light microscope; H,I,K,L. The anatomical morphology of stamen and pistil; J. The whole inflorescence. Bar=500µm.

2.1.2 蓝莓花药的观察 在体视镜下解剖花样，统计得到兔眼系列蓝莓‘灿烂’、‘园蓝’的花药均为 10~12 枚，而南高丛系列蓝莓‘V3’的花药均为 10 枚。在光学显微镜（LM）下解剖观察，经过测量发现，在发育早期，蓝莓的花药长于花柱，而在成熟期时的花药短于花柱（图版 II）。蓝莓花在自然状态为倒扣的钟型，花柱长于花药，说明花粉由花药向下到达柱头完成授粉。影响植物自交率的主要因素是花药柱头间的距离^[23]，若距离过远，会导致出现昆虫减少访问，风媒传粉时花粉成熟后流失严重等情况，使自花授粉概率降低。在光学显微镜下测量 3 个品种的花药（雄蕊）与花柱（雌蕊）的长度，计算花药到柱头的距离，结果统计如表 2.2 所示。

由表得到，比较花药的长度，‘灿烂’花药长度最长，为 7667.53 μm ，与‘园蓝’、‘V3’差异显著；比较花柱的长度，3 个品种的花柱长度差异不显著，‘灿烂’花柱长度最长，‘园蓝’次之，‘V3’花柱最短；比较花药到柱头的距离，得到‘园蓝’的花药距离柱头最远，为 2211.45 μm ，其次是‘V3’，距离最短的是‘灿烂’。综上所述，3 个蓝莓品种之中，‘园蓝’的花药与柱头距离最远，花粉由花药到达柱头几率最低，可能是导致其结实率低的原因。

表 2.2 不同品种蓝莓雄蕊、雌蕊长度比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=30$)

Tab. 2.2 Comparison of stamen and pistil lengths of different blueberry varieties

| 种名 | 雄蕊（花药）长度 (μm) | 雌蕊（花柱）长度 (μm) | 花药到柱头的距离 (μm) |
|------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| ‘灿烂’ | 7667.53 \pm 397.69a | 9043.37 \pm 388.84a | 1375.84 |
| ‘园蓝’ | 5744.85 \pm 283.91b | 7956.30 \pm 298.48a | 2211.45 |
| ‘V3’ | 5995.37 \pm 288.82b | 7717.25 \pm 431.47a | 1721.89 |

注：采用 Duncan's multiple range test 方法分析，同一列不同小写字母表示组间差异显著 ($P < 0.05$)，有相同小写字母者，表示组间差异不显著 ($P > 0.05$)。

在光学显微镜下观察，蓝莓花药基部与一个片状的花丝顶端相连接，花药在花丝上的着方式为底背着药。花药呈棒状，由 4 个花粉囊组成，分成左、右两半，两侧花粉囊中间无药隔相连，成为独立的两半花粉囊。花药同侧的两个花粉囊之间的药隔沟明显，呈深沟状。用刀片从一侧的花粉囊中间切开，观察发现蓝莓的花药为管状花药。在扫描电子显微镜下观察（图版 IV-K），可以看到每个花粉囊与一条管状结构相连且相通，花粉出现在管状结构管口处。另外还发现其中一个花粉囊中有一个白色虫卵，但在此次观察中仅发现一个，需要探讨其授粉是由花粉囊中的虫媒传播，或者是昆虫食花粉、靠花粉的营养物质维持生命，又或者是植株感染病菌等原因，还需要进一步研究考证。

在扫描电镜下还观察到：花药发育早期，管状结构还未形成，花粉囊顶端闭合，呈圆形；随着花药的生长发育，管状结构由花粉囊顶端闭合处延伸，逐渐开裂成孔；成熟花药的花粉囊顶端形成 2 个管状结构，管口背腹面呈不对等伸长，圆形管口被拉长，开口朝向花柱（图版 IV）。

管状花药在花粉成熟时不是花粉囊开裂散放花粉，而是花粉由花粉囊经管状结构流出，再经风媒、虫媒等途径流向柱头。花药管口的开口面积大小对花粉散放有一定影响，开口面积越大，花粉散放相对通畅。已知管状结构的管口伸长为近椭圆形，取3个品种蓝莓成熟期的花药，测量花药管口的长轴和短轴的长度，计算管口的开口面积，统计如表2.3所示：

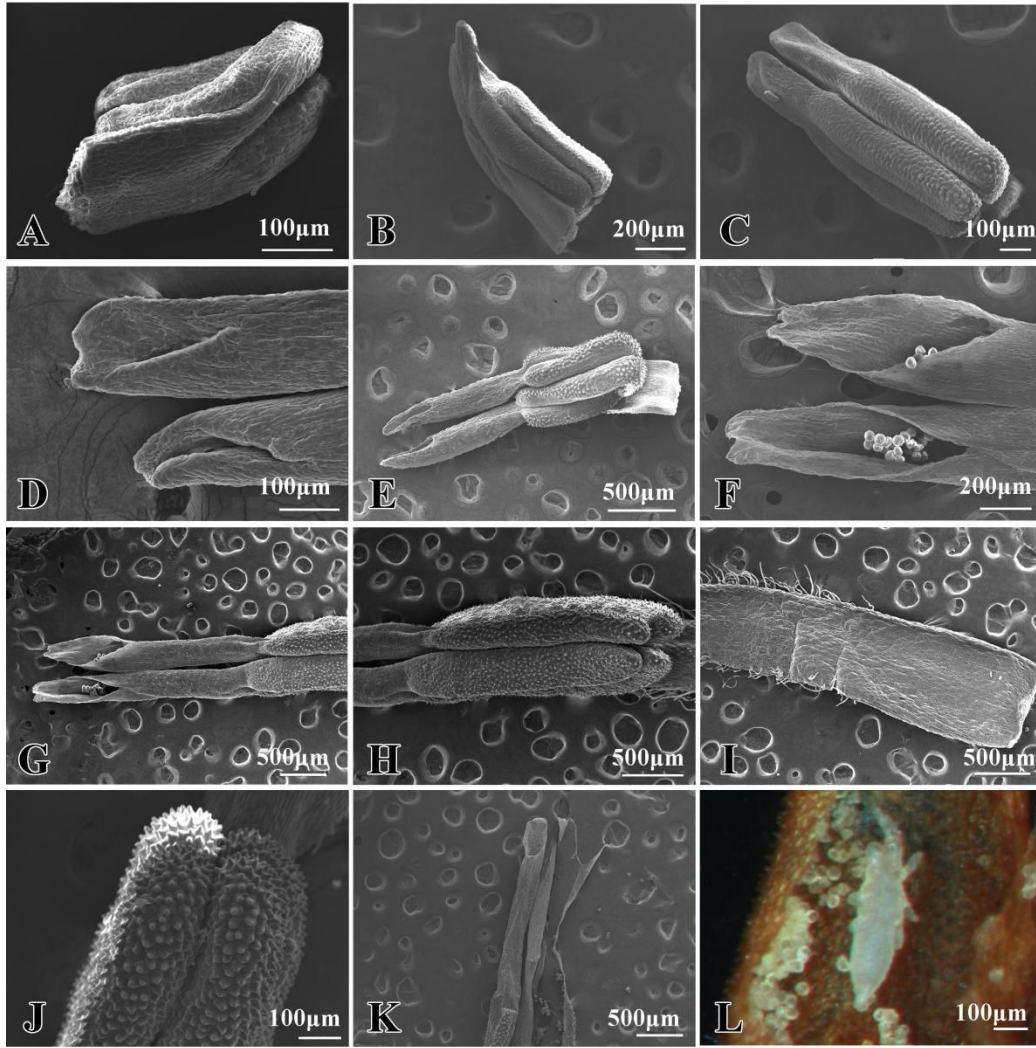
通过比较3个品种蓝莓花药管口长轴的长度，‘灿烂’花药管口长轴最长，为899.25 μm，与‘V3’差异不显著，与‘园蓝’差异显著；比较蓝莓花药管口短轴的长度，‘灿烂’花药管口短轴最长，但与‘V3’、‘园蓝’差异不显著；计算花药管口开口面积得到，‘灿烂’管口开口面积最大，与之相近的是‘V3’，‘园蓝’开口面积最小。综上所述，3个蓝莓品种之中，‘园蓝’花药管状结构管口开口面积最小，开口最窄，花粉从管口散放的通畅度较低，可能是导致其成功传粉机率低，结实率低的原因。

表 2.3 不同品种蓝莓花药管状结构比较 ($\bar{x} \pm s, n=9$)

Tab. 2.3 Comparison of anther tube structure of different varieties of blueberries

| 种名 | 管口长轴长 (μm) | 管口短轴长 (μm) | 管口面积 (μm ²) |
|------|-----------------|-----------------|-------------------------|
| ‘灿烂’ | 899.25 ± 12.26a | 265.60 ± 19.79a | 187490.03 |
| ‘园蓝’ | 697.60 ± 50.51b | 232.20 ± 15.53a | 127156.44 |
| ‘V3’ | 856.33 ± 26.46a | 256.90 ± 34.46a | 172693.75 |

注：采用 Duncan's multiple range test 方法分析，同一列不同小写字母表示组间差异显著 (P<0.05)，有相同小写字母者，表示组间差异不显著 (P>0.05)。



图版IV 花药结构形成过程及形态结构。扫描电镜：A. 发育初期，管状结构未形成；B. 管状结构初形态；C. 管状结构伸出；D. 管状结构开始孔裂；E. 管状结构管口形成；F. 管状结构管口伸长；G,H,I. 成熟期的花药，管状结构形成，花药和连接的花丝正面观；J. 花药外壁乳状突起；K. （切开管状结构）管状结构与花粉囊相通；光镜：L. 花粉囊内发现虫卵。A,C,D,J,L. Bar=100 μm；B,F. Bar=200 μm；E,G,H,I,K. Bar=500 μm。

Fig. IV Morphological characteristics and anther structure formation observed by scanning electron microscopy.V3:A,B,C; Brightwell:E,E,F,G,H,M,N; Gardenblue:I,J,K,L,O. A.Development of medium-term anther; B,C,D,E,F.Anthers of maturity; A,B,D.The tubular structure of anthers; C,E.Anthers and connective filament views; F.Filaments; G.The tubular structure communicates with the pollen sac; H,I.The breast of anther wall; J.Early development of anthers; K.Tube structure sticking out; L.The anther tubular structure was not dehiscent; M.The anther tubular structure begins to crack; M,O.Tube structure tube elongation.A,B,C,D,E,F,G,I,O. Bar=500μm; H,J,L,M, Bar=100μm; K,N, Bar=200μm.

2.2 蓝莓花粉的超微形态结构特征

扫描电镜下观察蓝莓花粉的超微形态结构，发现蓝莓的花粉为四合花粉。由顶部1个花粉分体与基部3个花粉分体组成，呈四面体排列，在花粉的赤道面及极面观察均为三角圆形；花粉粒的外壁均具不规则皱纹饰呈脑纹状雕纹（雕纹形成弯曲的线条，犹如脑纹路）（图版VI）。花粉粒长轴长度为40 μm左右，属于中等大小的花粉^[28]。花粉粒比例、饱满程度、花粉萌发孔沟的大小、孔盖形状及大小等表现不一，可能影响花粉萌发^[17]。一般认为花粉粒越大，花粉粒表面皱褶越多，则花粉萌发越好。观察评价3个品种蓝莓花粉粒的纹饰状况，

量取花粉粒长轴长度，统计如表 2.4 所示：

由表可知，‘灿烂’的花粉长轴长度最长，为 41.31 μm ，与‘V3’差异不显著，与‘园蓝’差异显著；3 个品种的花粉外壁均具脑纹状纹饰，其中‘V3’脑纹状纹饰凸起，而‘园蓝’花粉的脑纹状纹饰较平滑；综上所述，花粉长轴长度表示花粉粒大小，3 个品种之中，‘园蓝’的花粉粒最小，花粉粒外壁纹饰最平滑，可能是导致其结实率低的原因。

表 2.4 三个品种花粉形态比较 ($\bar{x} \pm s$, n=30)

Tab. 2.4 Comparison of pollen morphology of three varieties

| 种名 | 纹饰 | 花粉长轴长度 (μm) |
|------|--------|--------------------------|
| ‘灿烂’ | 脑纹状 | 41.31 \pm 0.24a |
| ‘园蓝’ | 脑纹状较平滑 | 38.11 \pm 1.12b |
| ‘V3’ | 脑纹状凸起 | 41.37 \pm 0.47a |

注：采用 Duncan's multiple range test 方法分析，同一列不同小写字母表示组间差异显著 ($P < 0.05$)，有相同小写字母者，表示组间差异不显著 ($P > 0.05$)。

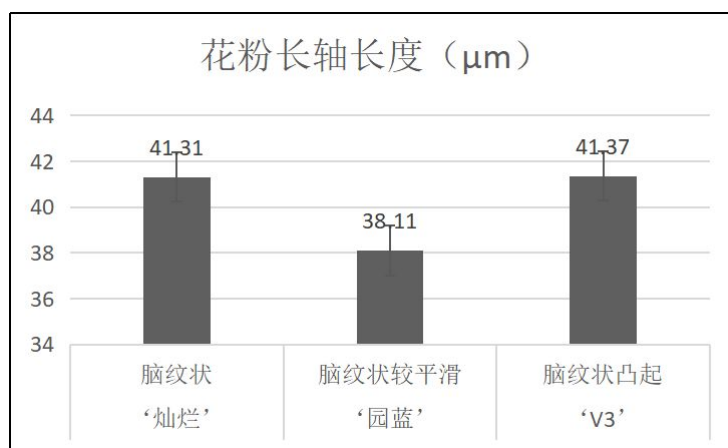
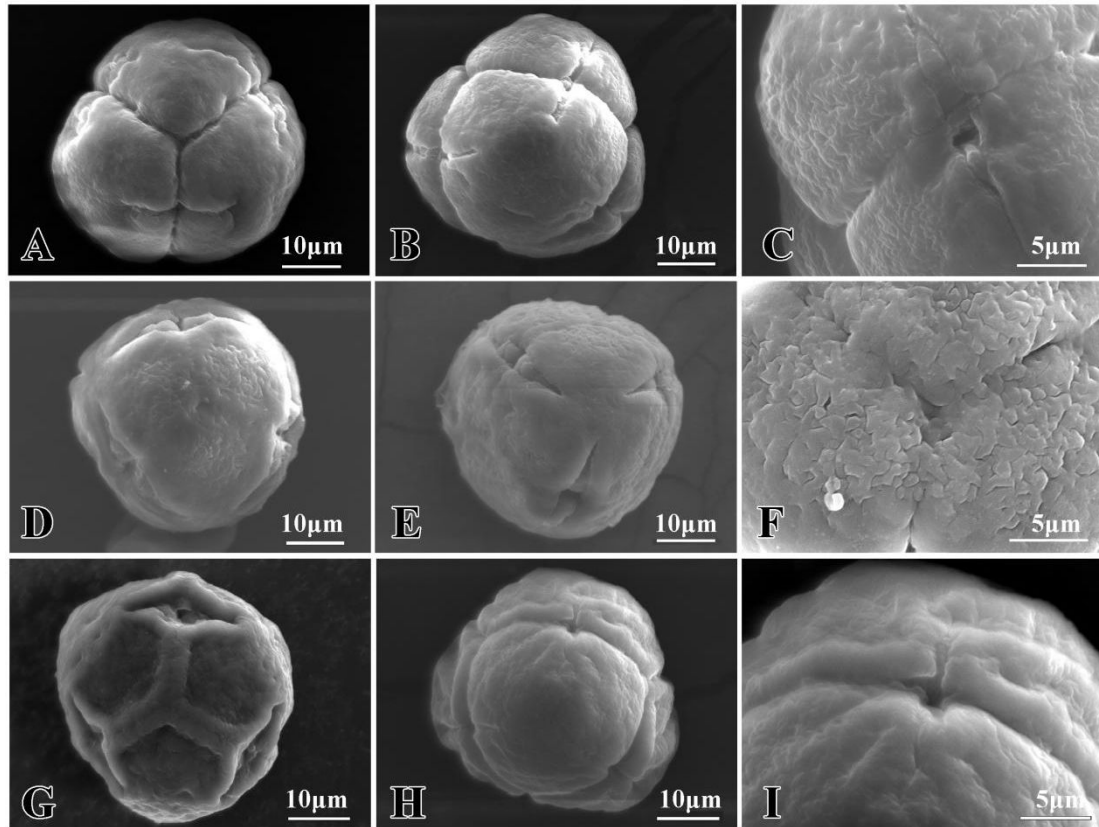


图 V 三个品种花粉形态比较

Fig. V Comparison of pollen morphology of three varieties



图版VI 扫描电镜下花粉形态特征 ‘灿烂’: A,B,C; ‘园蓝’: D,E,F; ‘V3’: G,H,I。花粉极面 A,D,G; 花粉赤道面 B,E,H; 花粉外壁纹饰 E,F,I。A,B,D,E,G,H, Bar=10 μ m ;C,F,I, Bar=5 μ m。

Fig. VI Pollen morphology observed by scanning electron microscopy. ‘Brightwell’:A,B,C; ‘Gardenblue’:D,E,F; ‘V3’:G,H,I. A,D,G.Polar view; B,E,H.Equatorial view; E,F,I.Exine sculpture.

A,B,D,E,G,H, Bar=10 μ m ;C,F,I, Bar=5 μ m.

3 讨论

从微观角度观察, ‘灿烂’、‘园蓝’、‘V3’ 这 3 个蓝莓品种的以下特征存在差异: 成熟花花冠宽度、花药到柱头的距离、花药管口开口面积、花粉粒大小等。三个蓝莓品种之中, ‘园蓝’ 的花型最小, 花冠最窄, 导致蜂、虫授粉几率最小。‘园蓝’ 的花药与柱头距离最远, 长达 2211.45 μ m, 而灿烂是 1375.84 μ m; ‘V3’ 是 1721.89 μ m。花药距离柱头远, 说明花粉由花药到达柱头的自花授粉机率低。‘园蓝’ 花药管状结构的管口开口面积最小, 开口最窄, 花粉从管口散放的通畅度较低, 成功传粉机率较低。‘园蓝’ 的花粉粒最小, 花粉粒外壁纹饰最平滑。综上因素可能是导致 ‘园蓝’ 结实率低的原因。

在蓝莓花微形态结构的观察中得到: 蓝莓花药为管状花药, 花粉靠蜂振动翅膀 (或者是风媒) 让花粉流出管口到达柱头, 以完成传粉。

国内关于蓝莓的微形态结构的研究很少, 本试验在研究蓝莓花粉粒超微形态时, 发现 ‘园蓝’ 的花粉粒为四合花粉, 体积较小, 花粉粒纹饰较平滑, 与沈玉英^[8]的研究基本相符。国内外已有研究证明, 放蜂授粉能有效提高蓝莓的产量和品质^[28-30]。唐伟斌提出虫媒花的花粉体积一般相对较大, 表面有复杂的凸起和棘刺, 能比较容易钩挂上虫体^[31]。初步推测蓝莓主要靠蜂传粉, 而非风媒传粉。

桂明珠等在研究笃斯越橘花发育解剖观察中, 使用实体显微镜切片观察, 发现花药背部

有两枚长角^[32]。本研究在扫描电镜下观察,能够清楚的看到蓝莓花药的结构,“两枚长角”是在花药花粉囊伸出的两条管状结构,并且在管状结构中发现花粉,初步猜测其作用是让花粉顺着管状结构从花粉囊中散发流向柱头。关于管状花药的传粉机制还需要进一步通过传粉观察试验来研究。

植物的传粉机制与其繁殖适应性息息相关,通过研究蓝莓花的微形态结构,探讨其传粉机制,对探究部分蓝莓结实率低的原因,并用以指导生产有重要意义。这对解决当前已经定植‘园蓝’的果园的果树收益问题有重要指导意义,也为今后蓝莓新优品种的早期鉴定、选育提供参考,为植物传粉机制的研究提供科学理论依据。

建议在生产管理过程中,兔眼‘园蓝’品种在开花早、中期,一定要利用大量蜂或树体震动等方式协助完成授粉过程,以提高授粉率和结实率,增加产量。

参考文献

- [1]顾姻,王传永,吴文龙,等.美国蓝浆果的引种[J].植物资源与环境,1998,(04):34-38.
- [2]詹菁,郑日华,朱芳.蓝莓品系及栽培繁育技术概述[J].黑龙江农业科学,2017,(02):144-146.
- [3]李亚东,吴林,张志东,等.三种类型越橘引种栽培品种评价[J].吉林农业大学学报,2003,(01):62-65.
- [4]叶泉锋,林月,杨照渠.南高丛蓝莓的生物学特性与盆栽技术[J].现代园艺,2016,(11):52-53.
- [5]贺善安,李达,於虹.我国蓝浆果产业发展途径的研究[J].现代农业科技,2008,(04):12-14.
- [6]於虹,贺善安.世界的蓝莓产业及研究现状[J].落叶果树,2013,45(03):19-22.
- [7]聂飞.我国兔眼蓝莓栽培研究进展与发展前景[J].贵州农业科学,2009,36(01):153-155+161.
- [8]杨燕林,王朝文,杨洪涛,和加卫,和文佳,杨正松,和建平,王宇萍.兔眼蓝莓品种主要农艺性状的相关分析[J].广东农业科学,2015,42(03):31-34.
- [9]郑琪,孙叶芳,赵虎,等.几种“南高丛”蓝莓新品种的组培快繁技术研究[J].上海农业科技,2011(2):21-24.
- [10]顾姻,贺善安.蓝浆果与蔓越橘[M].北京:中国农业出版社,2001.
- [11]贾敬鸾.扫描电镜在植物方面的应用[J].遗传,1984(06):18-50.
- [12]毛加宁.杜鹃花属4种植物花粉形态特点研究[J].西南农业大学学报,2000(06):525-529.
- [13]高连明,张长芹,李德铎,等.杜鹃花属花粉形态及其系统学意义[J].云南植物研究,2002(04):471-482.
- [14]杨瑞林,魏学智,毕润成.杜鹃花属照山白叶表皮及花粉形态的研究[J].西北植物学报,2003(05):806-810.
- [15]毛子军,杨永富,侯丽君.东北杜鹃花科4属植物花粉形态的研究[J].植物研究,2000,(02):168-172+245-248.
- [16]沈玉英.兔眼越橘花粉的超微结构和营养成分与其育性关系研究[J].西北植物学报,2008(08):1601-1609.
- [17]沈玉英,孙新政,吕家龙.越橘稔性与花粉超微结构相关性研究[J].果树学报,2006,(03):392-396.
- [18]沈玉英,商世能,刘茂泉,等.兔眼越橘(杜鹃花科)花粉形态——兼谈用极坐标测量四合体花粉的一种新方法[J].武汉植物学研究,2006,(04):316-319.
- [19]莫爱琼,胡晓颖,高丽霞.两个蓝莓品种花器官的形态特征观察[J].热带亚热带植物学报,2015,23(03):295-300.
- [20]XU S J, SINGH R J, HYMOWITZ T. Monosomics in soybean origin, identification, cytology, and breeding behavior[J]. Crop Science, 2000,40: 985- 989.
- [21]梁毅,谭素英,黄贞光.同源四倍体植物低稔性研究概况[J].北京农业科学,1998,(03):22-24+28.

- [22] 曲路平, 李亚东, 郝瑞. 中国东北地区越橘属植物染色体数目研究[J]. 园艺学报, 1992, 19(1) : 11-14.
- [23] 徐柏森, 杨静. 植物花粉扫描电镜技术与观察[J]. 西南林学院学报, 2007, (05):21-24.
- [24] 张德巧, 於虹, 徐增莱, 等. 蓝浆果花冠形态特征及其与果实横径相关性的分析[J]. 植物资源与环境学报, 2008(01):1-6.
- [25] Chang S M, Rausher M D. Frequency-dependent pollen discounting contributes to maintenance of a mixed-mating system in the common morning glory, *Ipomoea purpurea*[J]. *American Naturalist*, 1998, 152:671-683.
- [26] 中国科学院植物研究所古植物室孢粉组, 华南植物研究所形态研究室. 中国热带亚热带被子物花粉形态[M]. 北京:科学出版社, 1979. 4.
- [27] 贺善安. 蓝浆果的引种驯化与栽培[A]. 中国植物学会植物园分会. 中国植物园(第十二期)[C]. 中国植物学会植物园分会, 2009:9.
- [28] Selim D, Keith S D. Honey Bee (Hymenoptera: Apidae) Pollination of rabbiteye blueberry *Vaccinium vitis-idaea* var. 'Climax Climax' is pollinator density-dependent[J]. *Horticultural Entomology*, 2003, 96(4):1215-1220.
- [29] 张根柱, 窦连登, 段海彬, 等. 蜜蜂授粉对蓝莓产量、品质的影响[J]. 浙江柑橘, 2016, 33(04):36-40.
- [30] 龙世林, 王瑶, 聂飞, 等. 不同授粉方式对兔眼蓝莓坐果率的影响[J]. 贵州农业科学, 2014, 42(03):117-119.
- [31] 唐伟斌, 李海燕. 异花传粉植物对传粉者适应机制浅析[J]. 生物学教学, 2007(04):71-72.
- [32] 桂明珠, 李桂琴, 胡宝忠, 等. 笃斯越橘(*Vaccinium uliginosum* L.)花发育的解剖学观察[J]. 东北农学院学报, 1992(04):411-414.

外源磷缓解地毯草铝毒害的机制研究

张郎织¹, 李季肤¹, 王志勇¹, 陈志坚^{1,2,*}

1. 海南大学热带作物学院, 海南海口 570228; 2. 中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所/农业部华南作物基因资源与种质创制重点实验室, 海南海口 571101

摘要: 低磷胁迫和铝毒害被认为是酸性土壤上同时存在的抑制植物生长的重要因素。以往研究发现, 磷铝存在交互作用, 添加外源磷可以有效地缓解植物铝毒害, 但不同植物间有所差异。地毯草 (*Axonopus compressus*) 是重要的禾本科地毯草属多年生草本植物, 对热带酸性土壤具有良好的适应性, 但其适应性机制仍不清楚。本研究以地毯草为材料, 对其进行 2 个铝浓度 (0 mM 和 2.1 mM AlCl₃) 和 3 个磷浓度 (0、100 和 500 μM KH₂PO₄) 的交互处理, 分析外源磷处理对缓解地毯草铝毒害的影响及其可能的作用机制。结果发现, 在不添加外源磷 (0 μM) 条件下, 相对 0 mM 铝处理, 2.1 mM 铝处理显著抑制了地毯草地上部和根部的生长, 地上部和根部干重分别降低了 43.5% 和 55.8%。然而, 在 2.1 mM 铝处理下, 添加外源磷在一定程度上缓解了地毯草铝毒害, 特别是添加 500 μM 磷条件下。在 2.1 mM 铝处理下, 相对 0 μM 磷处理, 添加 500 μM 磷显著增加了地毯草总根长、总茎长、叶片数以及地上部和根干重。类似的, 在 2.1 mM 铝胁迫下, 虽然添加 100 μM 磷条件下的叶片叶绿素含量和最大光化学效率 (*Fv/Fm*) 与 0 μM 磷处理下相比无明显差异, 但是, 相对 0 μM 磷处理, 添加 500 μM 磷处理下的叶绿素含量和 *Fv/Fm* 分别增加了 63% 和 23.3%。为探索外源磷处理缓解地毯草铝毒害的可能机制, 本研究首先分析了磷铝交互对地毯草抗氧化系统的影响。结果发现, 在 2.1 mM 铝胁迫下, 相对 0 和 100 μM 磷处理, 500 μM 磷处理显著降低了地毯草叶片过氧化物酶 (POD) 和谷胱甘肽还原酶 (GR) 活性, 但增加了抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 和还原型谷胱甘肽 (GSH) 含量, 而 500 μM 磷处理则增加了地毯草根系 GR 酶活性和降低了 GSH 含量, 表明不同抗氧化酶和抗氧化物质对磷铝交互的响应不一样。本研究进一步分析了磷铝交互对地毯草有机酸代谢相关酶活性的影响。结果发现, 在 2.1 mM 铝胁迫下, 相对 0 μM 磷处理, 100 和 500 μM 磷处理均显著增加了地毯草叶片 NAD-苹果酸脱氢酶 (MDH)、NADP-苹果酸酶 (ME)、柠檬酸合酶 (CS) 和磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶 (PEPC) 活性; 类似的, 相对 0 μM 磷处理, 100 和 500 μM 磷处理显著增加了铝胁迫下地毯草根系 ME、CS 和 NADP-异柠檬酸脱氢酶 (ICDH) 酶活性, 酶活性增加了 14.5% 以上, 表明磷铝交互增强了地毯草有机酸代谢的相关酶活性。综上所述, 本研究结果表明外源磷可能通过调控铝胁迫下地毯草内源有机酸含量从而缓解铝毒害。

关键词: 磷铝交互; 抗氧化酶; 有机酸; 地毯草

作者简介: 张郎织 (1995-), 女, 安徽安庆人, 硕士研究生, 主要从事草坪草抗逆性研究。E-mail: 810503043@qq.com。*通信作者: 陈志坚, 主要从事植物营养胁迫研究。E-mail: jchen@scau.edu.cn。

油茶果实和种子生长动态观察

沈进华,穆香,何亚华,张明俊*

(广东农垦热带作物科学研究所, 525145)

摘要: 油茶 (*Camellia vietnamensis*) 是我国热带南亚热带地区的特产油茶造林树种, 但对油茶种子发育过程中果实、种子的生长变化动态和水分含量变化等研究较少。有必要对这个问题开展研究, 以期了解果实、种子的生长动态和水分对果实、种子生长发育的影响, 从而制定合理的越南油茶水分管理技术来提高产量。本次试验所选取的越南油茶采自于广东农垦热带作物科学研究所, 选取其中 4 株丰产单株为试验树, 分别为 1 号、2 号、3 号、4 号, 自 4 月 13 日起, 每隔一个月采果, 采用常规方法测定 4-10 月油茶果实和种子体积、鲜重、干重和含水量的变化, 结果表明:

(1) 种子和果皮的鲜重、干重和含水量的变化均随着果实生长而逐步增加, 且呈单 S 型曲线变化。

(2) 总体上, 各性状指标均出现增长高峰。种子含水量高峰出现在 8 月 5 日, 果实鲜重、果皮鲜重和种子鲜重等性状指标高峰出现在 9 月 5 日。从各性状指标高峰期可知, 在 4 月 13 日至 9 月 5 日为果实和种子生长膨大期。

(3) 各性状月份多重比较结果得出, 7 月和 8 月的油茶果实表型生长变化较为显著, 其余各月份不显著。说明早期果实膨大源自果实不断增加“吸水”和积累干物质, 后期果实“吐水”引起果实体积和重量下降。因此果实膨大期是油茶果实和体积生长发育的水分临界期, 在果实和种子生长发育过程中应注意水分供应充足, 在 4 月 13 日至 10 月 24 日不能出现干旱, 尤其 7 月 5 日至 8 月 5 日更为关键, 应加强油茶园水分管理。

关键词: 越南油茶; 果实生长; 种子; 体积; 质量

Abstract: *Camellia vietnamensis* is a special oil tea afforestation tree species in the tropical south subtropical region of China. However, there are few studies on the growth dynamics and water content changes of fruits and seeds during the development of *Camellia oleifera* seeds. It is necessary to carry out research on this issue in order to understand the growth dynamics of fruits and seeds and the effects of water on the growth and development of fruits and seeds, so as to formulate reasonable Vietnamese camellia water management techniques to increase production. The fruits and seeds of *Camellia oleifera* from April to October were determined by conventional methods using "No. 1", "No. 2", "No. 3" and "No. 4", which are rich in Vietnamese camellia. Fresh weight, dry weight and water content change, the results are as follows. In general, all the traits showed a peak of growth. The peak of seed water content appeared on August 5, and the peak of dry weight, dry weight of seeds and dry weight of seeds appeared on October 5, and the peaks of other traits appeared at 9 Month 5th. From the peak of each trait indicator, it is known that the fruit and seed growth period is from April 13 to September 5. The results of multiple comparisons of various traits showed that the phenotypic growth of *Camellia oleifera* fruits in July and August was significant, and the other months were not significant. It indicates that the early fruit

作者简介: 沈进华 (1996-), 男, 助理农艺师, 主要从事油茶栽培技术。

通讯作者: 张明俊 (1982-), 男, 农艺师, 长期从事油茶繁育及丰产栽培技术研究, 邮箱 mjj0124@163.com.

enlargement is derived from the continuous increase of "water absorption" and accumulation of dry matter, and the late fruit "spitting water" causes the fruit volume and weight to decrease. Therefore, the fruit expansion period is the critical period of the growth and development of *Camellia oleifera* fruit and volume. During the growth and development of fruits and seeds, attention should be paid to the sufficient water supply. No drought can occur from April 13 to October 24, especially on July 5 August 5 is even more critical, and the water management of the oil tea garden should be strengthened.

Key words: Vietnamese camellia; fruit growth; seed; volume; quality

1 引言

油茶属山茶科 (*Theaceae*) 山茶属 (*Camellia L.*), 又名茶籽树、茶油树, 为果实中含有油脂的一类常绿小乔木或灌木^[1, 2], 通常我们所说的油茶是指学名为 *Camellia oleifera Abel.* 的普通油茶, 而广义上油茶是个总称, 除了普通油茶外还包括许多其他品种的油茶, 如常见的小果油茶、红花油茶等, 它们的特点是都属于山茶属, 并且含油量高, 栽培经济价值高等^[3]。油茶是我国及南方重要的木本油料树种和主要的经济林树种之一^[4], 被人们誉为“东方橄榄油”、“绿色油库”、“绿色金库”、“油中珍品”等^[5], 是世界四大油料树种之一 (其余三种包括油橄榄、袖掠以及椰子), 除此之外, 油茶还属于我国国内的四大木本油料植物之一 (剩余的三个树种包括乌桕、核桃还有油桐)^[6]。油茶浑身上下 (包括叶、材、果等) 都是极具利用价值的宝, 尤其果实经济利用价值极高。油作为一种具有理想疗效的优质保健营养油脂, 对于患有目前常见疾病如高血压、心脏病等的人群具有很好的食疗效果^[3], 长期食用有益人体健康。益寿油、多维油以及无公害油等都是人们对其功效夸赞之称^[7], 国家对于油茶食用油的重视也是极大的, 并且要求大力发展茶油, 在已颁布的《中国食物结构改革与发展规划纲要》中就有明确指出^[2]。油茶除了主要产品茶油外, 其可以加工成农副产品, 体现出作用丰富多样的, 触及带动各行各业, 且渐渐日益广泛起来, 这其中就包括工业、农业、医药、旅游业等, 其农副产品种类繁多如栲胶、木糖醇、天然皂等, 再如饲料、抛光粉和高级活性炭等^[8]。果皮是提制栲胶的原料。叶子部位含有茶碱和花黄素等, 是医药加工的原料, 而木材可用做农业上的小型器材^[9]。油茶适应性强, 长寿且耐瘠薄, 素有“搭土明珠”之称^[2], 不与粮争地且具有生物防火功能, 能够保持水土、涵养水源, 减少森林水土流失, 起到调节气候的作用, 不仅如此, 它还能够净化绿化环境, 其中主要是因为油茶可以吸收地球大气中的一些有害气体, 例如氟、氯、二氧化硫等^[5]。由此可见, 其功效和应用是非常多的, 集合了三大效益: 经济效益、社会效益、生态效益于一体的优良树种之一, 开发前景十分广阔。

果实的生长, 主要实质是果实细胞的不断分裂、增大和分化, 通常发生于开花座果之后

[10], 对于果实生长的研究也多是动态和静态的比较角度出发, 结合果实大小和质量常见形态指标的调查来研究[11]。果实从开花至完全成熟, 体积和重量一般都会增大许多倍, 这是果实经过一定时期的生长和发育而形成的结果。果树坐果后形成幼果后, 幼果不断生长, 其生长动态通过果实的体积、鲜重或干重等形态指标为基础做累加曲线即为果实的生长曲线果实的生长具有周期性, 且不同的果实, 其生长曲线也不尽相同, “慢-快-慢”的动态变化过程是 S 型曲线的典型特征, 也就是说果实在起始时生长较为缓慢, 随后逐渐加快, 至生长速度达到最大值后逐渐变慢, 最后趋于停止, 且果实达到最大体积或重量, 属于此种类型的常见林木果实有梨、苹果、枇杷(仁果类), 核桃、板栗、棒(干果类), 草莓、香蕉以及菠萝(浆果类)等; 而“快-慢-快”的生长动态变化过程是 S 型曲线的一般特征, 其主要特点是两个快速生长时期中间有个滞缓生长期, 常见的如核果类的李、梅、杏等, 浆果类的葡萄、醋栗等, 还有仁果类中的山楂等[4]。随着果实逐渐成熟, 其内部进行了各种复杂的生理活动和变化, 如果实的质量大小、体积和含水量的变化等。种子是植物的新生命, 储备物种繁衍的遗传信息, 同时也是植物适应和抵抗恶劣环境的进化措施, 对栽培作物农民来讲, 栽培的目的是能够获得抗压、高品质和高产量的种子。

研究目的为油茶果实与种子成熟过程中形态变化规律, 水分对其影响。得到油茶果实在稳果后的生长发育期间果实、果皮的鲜重、干重和体积的变化曲线, 同时推导计算出果实含水量的动态变化曲线, 并分析各曲线的结果。比较 4 条动态曲线的变化特点, 进一步研究果实鲜重、干重、水分和体积动态变化关系, 尤其分析水分分别与果实鲜重和干重的互变关系; 油茶种子跟果实动态变化方法一样, 并分析各曲线的结果。进一步比较 3 条动态曲线的变化特点, 得到种子鲜重、干重和水分等 3 者间的动态变化关系, 尤其分析水分分别与种子鲜重和干重的互变关系, 揭示出水分对种子增大和干物质积累的影响特点, 本研究基本明确了油茶果实和种子发育过程中形态、组分的变化规律, 分析了油茶果实和种子发育过程中重量、体积和含水量等指标的变化规律, 为今后更加系统深入的研究油茶种子发育调控打下基础, 也为改进育种和栽培措施, 提高油茶效益。目前关于果实和种子生长发育的规律的研究, 对于生产实践中指导林木施肥管理, 提高果实产量(尤其是经济林果实产量)具有极为重要的意义。因而以广东农垦热带作物科协研究所油茶资源圃的油茶为材料, 选取 1 号、2 号、3 号、4 号等 4 个不同丰产单株。

2 材料与方法

2.1 材料

2.1.1 试验地点

供试的油茶选自于广东农垦热带作物科学研究所油茶资源圃，总面积 30 亩，油茶林中心地理位置为 110°24'E、21°49'N,于 2011 年采用越南油茶实生苗种植建园。油茶园采用常规管理方法作精细管理，全年未遭遇光、热、水灾害。试验园所在地属热带季风气候，年平均气温 22.9℃，年平均日照时数 1870.1h，年均降雨量 1890mm，且热雨同季，终年无霜。处于静风环境区，台风影响较弱。土壤以砖红壤，土地肥沃。

2.1.2 试验材料

果实样品采自广东农垦热带作物科学研究所油茶资源圃 6 年生实生油茶园中的大果油茶，选连续 2 年生长健壮、鲜果株产 10kg 以上的单株 4 株，编号为“1 号”-“4 号”。于 2018 年 4 月 13 日至 2018 年 10 月 24 日，稳果后，选定全树冠果实中等大小的果实 5 个作为标准果，用于后续观测果实鲜重和干重取样的标准果，往后依其果实中等大小的果实作为取样对象；每隔 1 个月取样和观测 1 次，直至 10 月下旬果实采摘为止。共采样 8 次，采摘后及时按品种将果实装入自封袋带回研究室。

2.2 测定方法

2.2.1 主要仪器设备 量筒、烧杯、电子天平、恒温干燥箱

2.2.2 试验方法

将每一时期每株已采摘的 5 个油茶果实，分别采用排水法测定果实体积。用量筒盛水把果实放入记下体积($V_{后}-V_{前}$)。

将每一时期每株已采摘的 5 个油茶果实，采用百分之一电子天平对果实分别称鲜重。将果实解剖为果皮、种子，采用百分之一电子天平分别称鲜重。先在 110℃下杀青 15min，然后在 70℃恒温烘干果皮和种子，采用百分之一电子天平分别称干重。果实干重等于果皮和种子的干重之和。根据烘干前后鲜重和干重的重量变化，计算含水量。

2.3 数据分析

采用 SAS 软件作数据统计分析，采用 MEANS 过程作描述性统计分析，采用 ANOVA 过程作方差分析，采用 DUNCAN 法作多重比较分析。

3 结果与分析

3.1 油茶果实生长动态变化

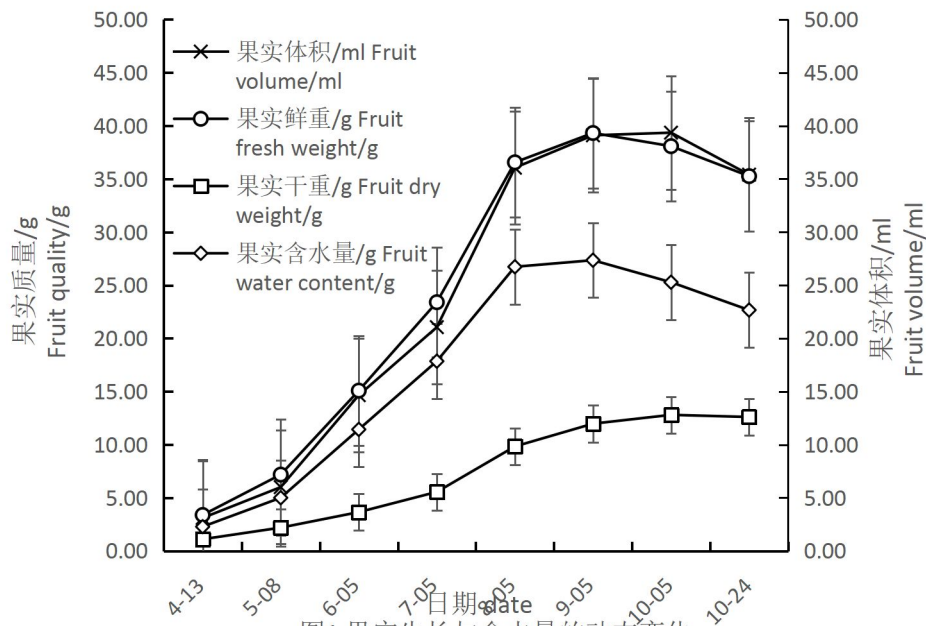


图1 果实生长与含水量的动态变化
Fig. 1 Dynamic Changes of Fruit Growth and Water Content

果实生长与含水量变化结果如图 1，果实体积、鲜重、干重和含水量均呈单“S”型曲线动态变化。果实质量和体积增长的过程就是油茶果实物质积累的过程，所以通过油茶果实质量与体积的变化趋势从侧面反映油茶果实内含物质的变化趋势。果实鲜重和体积在 4-9 月份为迅速膨大期，9 月份开始缓慢下降，10 月下旬停止增大。4-9 月份为果实干重迅速增长期，9 月份开始缓慢增长，基本变化不明显。果实含水量平均值从 4 月到 9 月是急促上升的，9 月份开始缓慢下降，其中 7 月份最高为 76.28%，10 月份果实含水量最低为 64.26%。由此可知在 9 月份以前果实含水量、果实体积、鲜重和干重增长至最高点，此后干重不明显增长，但果实体积、鲜重和含水量均下降，得出前期果实质量不断的增加膨大，是来源果实不断吸水 and 积累干物质造成的，后期果实和体积的质量开始下降，是果实生长过程出现“吐水”现象，引起果实和体积质量的下降。

3.2 油茶单果果皮生长动态变化

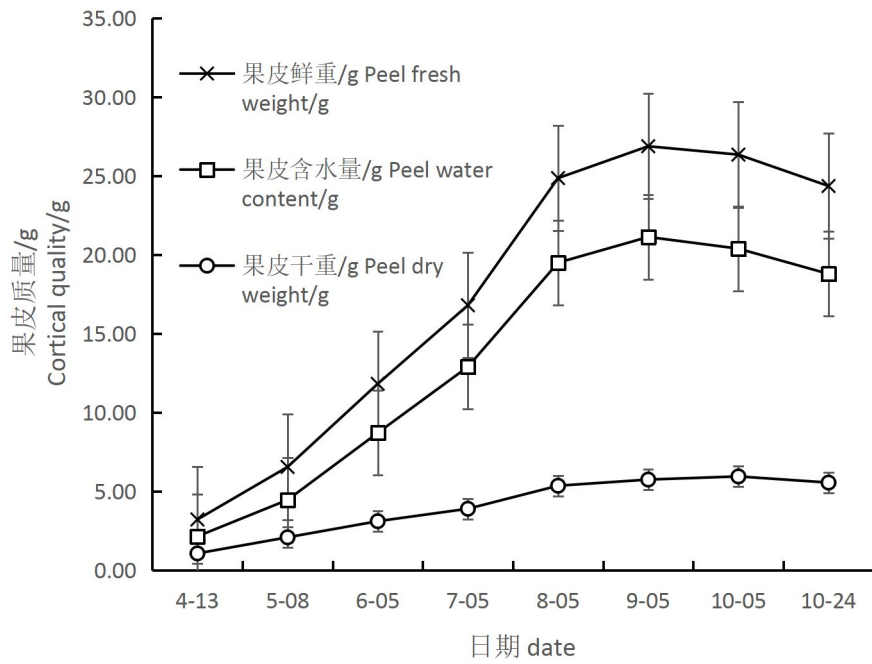


图2 果皮生长与含水量的动态变化
Fig. 2 Dynamic Changes of Pericarp Growth and Water Content

果皮生长变化结果如图 2 可知，果皮鲜重、含水量均呈“S”型曲线动态变化，果皮鲜重和果皮含水量 4-9 月份为迅速增长期，9 月份后开始缓慢减轻，10 月份后停止增大。果皮干重 4-8 月份为迅速增长期，8 月份后开始缓慢增长，变化不大。果皮鲜重前期增加是由含水量和干重增加引起，果皮鲜重后期降低是由含水量下降导致的；果皮生长在 8 月份之前生长期要控制水量，不能出现缺水，否则影响果实生长膨大。

3.3 油茶种子生长动态变化

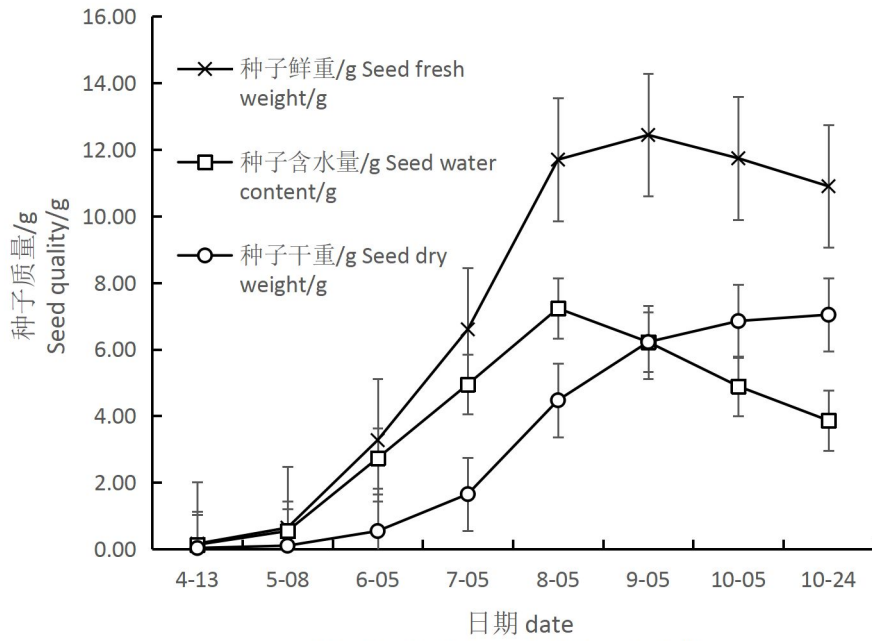


图3 种子生长与含水量的动态变化
Fig. 3 Dynamic Changes of Seed Growth and Water Content

种子生长变化结果如图 3 可知，种子鲜重、干重和含水量均呈“S”型曲线动态变化。种子鲜重在 4-9 月份增长达到最高点，但在 8 月-9 月增长不明显，9 月份以后鲜重开始下降；而种子干重 9 月份以前迅速增长，尤其 7 月至 9 月增长最快，10 月初增长几乎不明显。种子含水量 4-8 月份处于急促上升趋势，然后 8 月份后种子成熟含水量开始急剧下降。可知种子鲜重前期在增长是含水量和干重增加，后期下降是由种子成熟导致含水量下降；在 8 月份之前，种子生长不断吸收水分，并伴随干重和鲜重的迅速增长。因此，这段时间是种子生长的水分临界期，避免种子遭受干旱影响。

3.4 油茶果实和种子各性状月份间多重比较

| 表 1 果实各性状月份间多重比较 Table 1 Multiple comparisons of fruit traits in different months | | | | | | | |
|--|--------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|---|--------------------------------------|---------------------------------|--|
| 日期 Date | 果实体积 /ml Fruit volume/ml | 果实鲜重/g Fruit fresh weight/g | 果实干重 /g Fruit dry weight/g | 果实含水量 /g Fruit water content/g | 果皮鲜重 /g Peel fresh weight/g | 果皮干重 /g Peel dry weight/g | 果皮含水量 /g Peel water content/g |
| 4-13 | 3.1±1.51C | 3.38±1.63C | 1.1±0.51C | 2.28±1.14B | 3.22±1.57B | 1.07±0.50 C | 2.15±1.08 B |
| 5-08 | 6±2.29C | 7.18±3.53C | 2.19±1.07 | 5±2.46B | 6.55±3.31B | 2.09±1.03 | 4.46±2.28 |

| | | | | | | | |
|-------|-------------------|-------------------|-----------------|-------------------|------------------|------------------|------------------|
| | | | C | | | BC | B |
| 6-05 | 14.65±1.67B C | 15.08±11.5 5BC | 3.65±2.23 BC | 11.43±9.34A B | 11.82±8.22 AB | 3.11±1.70 ABC | 8.71±6.52 AB |
| 7-05 | 21.05±9.96 ABC | 23.4±13.71 ABC | 5.55±2.65 BC | 17.85±11.12 AB | 16.80±8.78 AB | 3.90±1.44 ABC | 12.90±7.3 5AB |
| 8-05 | 36.05±18.76 AB | 36.56±18.7 9AB | 9.83±5.11 AB | 26.73±13.80 A | 24.86±12.3 3A | 5.36±2.50 AB | 19.50±9.8 2A |
| 9-05 | 39.1±17.59 A | 39.32±17.2 7A | 11.97±5.21 A | 27.35±12.33 A | 26.88±12.5 0A | 5.75±2.68 A | 21.13±9.8 2A |
| 10-05 | 39.35±18.97 A | 38.08±18.3 8A | 12.8±5.99 A | 25.28±12.63 A | 26.35±13.2 6A | 5.95±2.95 A | 20.39±10. 31A |
| 10-24 | 35.4±16.28 AB | 35.26±15.8 5AB | 12.6±5.36 A | 22.66±10.51 A | 24.36±11.6 7A | 5.56±2.77 A | 18.79±8.9 0A |

| 表 2 种子各性状月份间多重比较 Table 2 multiple comparisons of seed traits in the month | | | |
|--|----------------------------|--------------------------|------------------------------|
| 日期 Date | 种子鲜重/g Seed fresh weight/g | 种子干重/g Seed dry weight/g | 种子含水量/g Seed water content/g |
| 4-13 | 0.16±0.09B | 0.03±0.02C | 0.13±0.08C |
| 5-08 | 0.64±0.37B | 0.1±0.05C | 0.54±0.32C |
| 6-05 | 3.27±3.51B | 0.54±0.60C | 2.73±2.91BC |
| 7-05 | 6.6±5.31AB | 1.65±1.50BC | 4.95±3.81AB |
| 8-05 | 11.7±6.87A | 4.47±3.10AB | 7.23±4.01A |
| 9-05 | 12.44±4.77A | 6.22±2.71A | 6.22±2.73AB |
| 10-05 | 11.74±5.13A | 6.85±3.18A | 4.89±2.49AB |
| 10-24 | 10.9±4.21A | 7.04±2.60A | 3.86±1.80BC |

注：同列数字后不同字母表示差异显著 ($p<0.05$)，相同字母表示差异不显著，下同

对果实体积、果实鲜重、果实干重、果实含水量、果皮鲜重、果皮干重、果皮含水量、种子鲜重、种子干重和种子含水量 10 个性状进行按各月份生长动态情况进行多重比较，从表 1 和表 2 中各性状数值后不同字母表示差异显著，相同字母表示差异不显著。从表中可以得出，果实体积与果实鲜重变化的情况除 6 月、7 月和 8 月有较明显的变化显著，其他各月份变化情况基本一致；而果实干重 8 月份变化情况差异显著，其他月份基本保持不变；果实含水量、果皮鲜重和果皮含水量三个性状变化情况一致，8 月份变化显著期；而果皮干重 8 月份变化明显，其他月份基本保持不变；种子鲜重 7 月份变化明显，其他月份基本保持不变；种子干重和种子含水量变化情况 7 月和 8 月有较明显的变化显著，其他各月份变化情况大致

相同。从 10 个性状各月份变化情况多重比较结果得出, 7 月和 8 月的油茶果实表型生长变化最多的月份。同时也是油茶果实生长最快时期。

4 讨论与结论

本研究以越南油茶为对象, 油茶果实成熟过程中果实和种子的重量等性状, 结果表明油茶果实所有研究的性状各月份变化趋势基本一致, 差异不大。并且 10 月份油茶成熟时果实所含水分的平均值和变异范围与前人^[1]油茶果实组分研究结果基本一致, 推测油茶综合分析基本能代表油茶果实和种子生长规律。

越南油茶的果实生长发育的动态变化均呈“S”型曲线, 这与其他核果类果实的生长发育动态曲线相类似, 在年周期内油茶果实生长与新梢生长相互交替进行。油茶从秋季开花受精座果后, 受精果进入冬季休眠期, 翌年 3 月, 当果实开始膨大进入生长期, 正是春梢生长最旺盛的季节, 所以果实生长缓慢, 4 月中旬春梢停止生长后果实开始快速增长, 特别是从 4 月 13 日至 8 月 5 日, 正是油茶果实生长最快时期, 这时高温天气逐步缓和, 夏梢生长停止, 8 月 5 日至 9 月 5 日有一个相对缓慢的增长时期, 秋梢尚未开始生长, 成为油茶果实在成熟前的最后增长机会, 9 月 5 日后果实质量开始下降, 这时油茶果处于成熟、稳定, 最佳采收时间在霜降后 (10 月底)。因此果实中水分增加主要在 4-9 月, 所以在栽培生产中, 此时应及时灌溉, 保证水分充足供应是油茶果实生长发育良好的前提。

各月份间相关性分析结果表明, 海南越南油茶除 7 月和 8 月有较明显的变化显著, 其它各月份基本差异不显著, 是油茶果实表型生长变化最大的月份。说明油茶果实在 7 月和 8 月生长过程中是与各性状增长变化息息相关, 随着果实的正常生长和发育, 果实的质量、含水量和体积发生较变化显著, 果实的质量等迅速增大可能是果实在发育过程不断吸收水分形成的, 因此在油茶栽培过程中 7 月和 8 月注意及时灌溉, 防止出现缺水现象, 影响果实正常生长。

根据上述研究结论, 总结出越南油茶果实各性状指标均出现增长高峰, 种子含水量高峰出现在 8 月 5 日, 其余各性状指标高峰出现在 9 月 5 日。从各性状指标高峰期可知, 在 4 月 13 日至 9 月 5 日为果实和种子生长膨大期, 而 9 月份以后为有机物积累果实逐渐成熟。因此, 在栽培管理中, 应遵循果实的生长发育规律, 在增长高峰来临前, 加强灌水、促进果实生长, 为丰产打下基础, 果实增长膨大期正是水分临界期, 注意灌溉水分供应充足, 避免遭遇干旱, 特别是 7 月和 8 月高温天气水源不能断, 以提高果实产量、改善果实品质。

参考文献:

[1]吕翠萍,罗正伟,刘虹,等.我国油茶研究进展[J].安徽农业科学,2011,39(26): 16177-16179.

- [2]庄端林.中国油茶[M].第2版.北京:中国林业出版社,2008.
- [3]朱彬,钟海雁,曹清明,等.油茶活性成分研究进展与展望[J].经济林研究,2010,28(3):140-145.
- [4]黄敦元,郝家胜,余江帆,等.油茶研究现状与展望[J].生命科学研究,2009,13(5):459-465.
- [5]李远发,胡灵,王凌阵.油茶资源研究利用现状及其展望[J].广西农业科学,2009,40(4):450-454
- [6]王斌,王开良,童杰洁,等.我国油茶产业现状及发展对策[J].林业科技开发,2011,25(2):11-15.
- [7]雷治国,黄永芳,何会蓉.油茶及其种质资源研究进展[J].经济林研究,2003,21(4):123-125.
- [8]周杨,徐倒.油茶的营养价值及开发利用[J].贵州林业科技,2011,39(1):40-43.
- [9]唐津平,黄永康.发展前景广阔的油茶产业[J].大众科技,2008,(3):99-101.
- [10]解冰冰.黄山栲树的果实生长和色彩变化规律研究[D].浙江:浙江农林大学,2012.
- [11]刘洪章,齐洁.沙棘果实生长动态研究[J].沙棘,2006,19(2): 1-3.
- [12]李学强,李作轩,李秀珍.南果梨果实外观品质的形成[J].果树学报,2003,20(1):27-30
- [13]彭邵锋,张日清,杨小胡.油茶果形果色分类及经济性状[J].中南林业科技大学学报,2007,27(5):33-39
- [14]陈永忠,肖志红,彭邵锋,等.油茶果实生长特性和油脂含量变化的研究[J].林业科学研究,2006,19(1):9-14.
- [15]周长富.油茶种子发育过程组分及脂类代谢相关基因表达变化研究[D].中国林业科学研究院,2013.
- [16]陈永忠,肖志红,彭邵锋,杨小胡,李党训,王湘南,段玮.油茶果实生长特性和油脂含量变化的研究[J].林业科学研究,2006(01):9-14.

早熟荔枝新品种“桂早荔”引种区试及发展优势展望

彭宏祥¹,李鸿莉¹,秦献泉¹,丁峰²,胡福初³,张树飞⁴,徐宁¹,李冬波¹,侯延杰¹,张树伟¹,朱建华¹,陈利芳⁵,黄川⁶

1 广西农业科学院园艺研究所,广西南宁 530007; 2 广西作物遗传改良生物技术重点开放实验室,广西南宁 530007; 3 海南省农业科学院热带果树研究所,海南海口 571100; 4 深圳职业技术学院,广东深圳 518055; 5 广西林业干部学校,广西南宁 530001; 6 灵山县农科所,广西灵山 535408

目的与意义:荔枝(*Litchi chinensis* Sonn.)原产于中国,是我国亚热带地区广泛栽培的优势特产果树,发展荔枝生产已成为当地产区经济发展、农业增收、农民致富的好途径。但近年来,一些严重影响荔枝产业发展及经济效益提高的问题逐渐显露,如品种结构不合理,早熟品种少,中晚熟品种多,缺少特早熟或特迟熟品种,过于单一品种结构除增加种植风险外,往往造成产期集中和季节性过剩,给市场鲜果销售带来较大压力。因此,选育引进优良早熟荔枝品种进行区域适应性试验与示范,增加早熟品种多样化类型选用,对促进当地荔枝品种结构调整及产业可持续发展具有重要意义。“桂早荔”是广西农业科学院园艺研究所牵头选育并通过广西审定(2012年6月)和全国热带作物品种审定委员会审定(2019年12月)的早熟荔枝新品种,母株原产地为广西灵山县佛子镇青湖村。选择原产地以外的广东省惠东县和海南陵水市荔枝产区引种“桂早荔”,并开展田间区试系统研究,旨在评价该品种在不同生态区域引种地的适应性,了解各主要性状表现与原产地表现的差异,从中得出综合评价的结论。

材料与方法:参试品种“桂早荔”接穗、嫁接苗,高接换种砧木及嫁接苗砧木品种均为“怀枝”。海南陵水区试点2005年春从广西引种“桂早荔”嫁接苗,砧木为“怀枝”,株行距5.0m×6.0m,种植后观察物候期及田间生物学性状,结果投产进入丰产期后于2017~2019年连续三年果实成熟时进行果实性状分析测定。广东惠东区试点于2017年2月从广西灵山引进“桂早荔”接穗,高接换种于该县荔龙种养专业合作社荔枝园约28年树龄的“怀枝”母树主枝上,株行距4.9m×5.5m,嫁接成活后观察物候期及田间生物学性状。嫁接成活第二年(2018年)即开花结果,2018~2020年连续三年果实成熟时进行果实性状分析测定。通过与原产地测定结果进行对比分析,进一步明确“桂早荔”品种发展优势并得出综合评价的结论。

结果与分析:在海南陵水引种“桂早荔”嫁接苗长势旺盛,每年可抽生7批新梢,比原产地广西灵山多抽3批新梢;11月中下旬顶端开始露白点,12月中下旬抽花穗,1月中下旬进入开花期,4月中旬果实成熟,早结丰产;生长结果物候期与原产地广西灵山比均提早一个月以上;三年平均单株产量55.40kg,单果重26.70g,可溶性固形物含量15.90%,可食率67.20%,与原产地比较单果重高1.7g,可食率高1.8个百分点,可溶性固形物含量略低3.1个百分点,口感及风味感观均相当。广东惠东引进“桂早荔”接穗高接于“怀枝”砧木母树上亲和性好,成活率高。嫁接成活后长势旺,每年抽生4批新梢,易成花,早熟且丰产性好,其枝梢生长、开花、果实发育及成熟期等生物学特性与原产地广西灵山表现相当。广东惠东引种区试高接成活第二年就能正常结果投产,成熟期5月下旬,三年平均单株产量54.67kg,单果重为22.17g,可溶性固形物含量分别17.30%,可食率65.31%,与原产地比较果实性状除单果重略低2.9g外,其余指标及口感风味均相当。

该品种适应性广、嫁接亲和性好,长势旺、易成花、早结丰产稳产、特早熟等性状稳定,外观和品质均优于“三月红”,成熟期比“妃子笑”早15d刚好填补“三月红”采后至“妃子笑”成熟的空档期,鲜果卖价高,经济效益极显著。“桂早荔”在荔枝产区均可种植,但更适宜在早熟产区种植,只要其熟期占据“三月红”采后至“妃子笑”成熟的空档期就具有明显市场优势,如在海南陵水种植“桂早荔”管理投入成本相对较低,近年果实平均地点批发价均稳定达40元/kg,经济效益十分显著。“桂早荔”已成为早熟产区品种结构调整选用的优势品种。

关键词:早熟荔枝;桂早荔;引种;区试;优势

中图分类号:

文献标识码: A

资助项目：国家荔枝龙眼产业技术体系良种繁育与生产配套技术岗位（CRARS-32-04）；广西灵山荔枝试验站（TS2014030）；广西荔枝龙眼创新团队（nycytxgextd-03-12）；广西自然科学基金面上项目（2017GXNSFAA198350）；“广西八桂青年学者”专项经费共同资助。

作者简介：彭宏祥（1958-），男，研究员，从事果树遗传育种及配套技术研究。E-mail: penghongxiang@126.com

柱花草磷饥饿响应基因 *SgPHRs* 的克隆与表达分析

黄杰¹, 邹晓燕¹, 罗丽娟¹, 陈志坚^{1,2,*}

1. 海南大学热带作物学院, 海南海口 570228; 2. 中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所/农业部华南作物基因资源与种质创制重点实验室, 海南海口 571101

摘要: 磷是植物生长所必需的大量营养元素之一, 参与了植物光合作用、能量和脂类代谢等多种重要的生理生化过程, 因此, 低磷胁迫会显著抑制植物的生长和产量。磷饥饿响应因子 PHR (Phosphate Starvation Response) 是植物磷信号网络中的关键调节因子, 具有调控植物磷稳态的生物学功能。柱花草 (*Stylosanthes* spp.) 是一种重要的热带豆科牧草, 对低磷胁迫具有较强的适应性。迄今为止, 对柱花草磷信号网络调控因子的研究较少。因此, 本研究以热研 2 号柱花草为材料, 对柱花草 *SgPHRs* 进行克隆及表达分析, 以期解析柱花草适应低磷胁迫的分子调控网络提供基因资源。本研究结果发现, 低磷处理显著抑制了柱花草植株干重和磷含量。低磷处理下的植株干重仅为正常磷条件下的 54%, 而低磷处理下的地上部和根部磷含量分别仅为正常磷条件下的 17% 和 15%。本研究进一步以低磷胁迫下柱花草根系 cDNA 为模板, 克隆获得 6 个转录因子基因, 并命名为 *SgPHR1*~*SgPHR6*。*SgPHR1*~*SgPHR6* 基因 cDNA 全长为 849~1413 bp, 编码 282~470 个氨基酸残基, 蛋白分子量为 30.9 kD~51.4 kD。柱花草 *SgPHRs* 蛋白均为 SANT 家族成员蛋白, 包含 MYB 蛋白结构域和 CC 蛋白结构域, 并包含有多个潜在的磷酸化位点。亚细胞定位预测表明, *SgPHR1*~*SgPHR6* 均定位于细胞核中。系统进化树分析表明, 植物 PHR 同源蛋白可以分为 3 大组。柱花草 *SgPHR1/2/3/5* 被分在第 I 组中, 其中 *SgPHR1/5* 与拟南芥 *AtPHR1* 属于同一分枝, 而 *SgPHR2/3* 与截形苜蓿 *MtPHR1* 属于同一分枝, 同源性最高。柱花草 *SgPHR4/6* 与菜豆 *PvPHR1* 和 *GmPHR25* 同源性最高, 被分在第 II 组中。实时定量 PCR 结果表明, *SgPHR1*, *SgPHR2*, *SgPHR3* 和 *SgPHR4* 基因在柱花草叶中的表达量最高, 根部次之, 在茎中的表达量最低; 而 *SgPHR5* 和 *SgPHR6* 在叶中表达量最高, 根和茎次之。本研究进一步分析了低磷处理对 *SgPHRs* 基因表达的影响。结果发现, 低磷处理增强了 *SgPHR2*、*SgPHR4* 和 *SgPHR6* 在柱花草根中的表达, 抑制了 *SgPHR3* 和 *SgPHR5* 在柱花草根中的表达, 但低磷处理对 *SgPHR1* 基因表达影响不明显。另外, 随着低磷处理时间的延长, *SgPHR2*, *SgPHR4* 和 *SgPHR6* 基因表达量逐渐增加, 并在低磷处理第 7 天基因表达量达到最高。因此, 本研究结果暗示了 *SgPHR2*, *SgPHR4* 和 *SgPHR6* 可能参与了柱花草对低磷胁迫的应答。

关键词: 低磷胁迫; 柱花草; PHR; 基因表达; 转录因子

作者简介 黄杰 (1993), 男, 河南信阳, 硕士研究生, 主要从事柱花草耐低磷胁迫研究; E-mail: 260633452@qq.com。*通信作者: 陈志坚, 主要从事植物营养胁迫研究。E-mail: jchen@scau.edu.cn。

百香果-槟榔套种栽培技术

张世青¹, 芮凯², 颜彩缤¹, 赵亚¹, 胡福初¹, 陈哲¹, 范鸿雁¹

(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 海南省农业科学院植物保护研究所)

摘要 针对热区土地面积有限, 而槟榔单一种植致土地利用率高、土壤易板结、农民收益低等现状, 本文提出以槟榔植株为栽植百香果的立柱材料, 从园地、品种、定植等方面全方位的介绍百香果-槟榔套种的栽培技术, 并对槟榔、百香果分别单作的产量及百香果-槟榔套种的产量进行比较, 以期为进一步研究奠定理论基础, 推动槟榔产业的发展。

关键词 百香果-槟榔; 套种; 栽培技术

Cultivation Techniques of Passion Fruit-Betel Nut Intercropping

Zhang Shiqing¹ Rui Kai² Yan Caibin¹ Zhao Ya¹ Hu Fuchu¹ Chen Zhe¹ Fan Hongyan¹

(1 Institute of Tropical Fruit Trees, Hainan Academy of Agricultural Sciences/Haikou Tropical Fruit Tree Scientific Observation and Experimental Station, Ministry of Agriculture and Rural Affairs/Hainan Key Laboratory of Tropical Fruit Trees Biology/Hainan Tropical Fruit Tree Breeding Engineering Research Center, Haikou of Hainan, 571100; Institute of Plant Protection of Hainan Academy of Agricultural Sciences, Haikou of Hainan, 571100)

Abstract In view of the limited land area in tropical regions, and situations such as the low land utilization rate, soil easy to freeze, farmers' low income and so on caused by single planting of Areca, this paper puts forward the areca plant as the column material for planting passion fruit, and introduces the cultivation techniques of intercropping passion fruit under the betel nut forest from the aspects of garden, variety, planting and the like. Apart from this, it also compares the yield of betel nut and passion fruit separately as well as the yield of passion fruit-betel nut intercropping, which are expected to lay a theoretical foundation for the further research of areca intercropping cultivation technology and promote the development of betel nut industry.

Keywords passion fruit - betel nut; intercrop; cultivation techniques

基金项目: 海南省重大科技计划项目 (zdkj201817); 五指山市科技成果示范推广专项; 海南省农业科学院农业科技创新专项经费项目 (槟榔高效健康栽培技术、黄化症状成因分析及加工产业提质增效技术研究)。

作者简介: 张世青 (1997—), 女, 本科, 研究实习员, 研究方向: 果树植物保护, E-mail: 2025507580@qq.com

通讯作者: 范鸿雁 (1979—), 女, 硕士, 研究员, 研究方向: 果树栽培与植物保护, E-mail: Fanhongyan_1979@126.com

槟榔林下间作平托花生土壤细菌群落及多样性研究

颜彩缤¹ 赵亚¹ 胡福初¹ 芮凯² 陈哲¹ 张世青¹ 范鸿雁^{4*}

(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 海南省农业科学院植物保护研究所)

摘要: 为探索槟榔间作平托花生是否能改善槟榔地的土壤微生物环境, 本试验选取槟榔林下间作平托花生 10~20 cm 土层的土壤样本, 以槟榔单作为对照, 通过 Illumina MiSeq 测序平台对槟榔—平托花生间作和槟榔单作模式下土壤的细菌群落特征进行 16S rRNA V4-V5 区检测。结果表明: 槟榔—平托花生间作模式下的土壤细菌多样性、丰富度和群落结构与槟榔单作模式下存在一定差异。其中, 间作模式较单作模式 Chao1 指数、ACE 指数分别显著增加 4.95%、4.6%, Shannon 指数和 Simpson 指数分别增加 0.64%、3.8%, 说明物种丰富度和群落多样性均有所提高。从门水平分析, 2 组样本的主要优势菌门为变形菌门

(*Proteobacteria*)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)、放线菌门(*Actinobacteria*)、绿弯菌门(*Chloroflexi*); 从属水平上分析, 主要优势菌属为 Gp1~Gp6、亚硝化球菌属(*Nitrososphaera*)、*Gaiella*、芽单胞菌属(*Gemmatimonas*)、*Pseudolabrys*, 说明间作提高了土壤有益菌群数量, 可见, 槟榔林下间作平托花生对土壤细菌群落结构有一定改善作用。冗余分析表明速效氮、有机碳、全氮和全钾是主要影响土壤细菌群落结构的理化因子。代谢功能预测分析表明, 间作后能量代谢、幽门螺杆菌感染中的上皮细胞信号转导、VEGF 信号通路等的功能基因增加, 苯丙素、类黄酮、甜菜红色素等生物合成、影响昼夜节律-植物以及行使导致人类疾病等的功能基因减少, 说明, 间作能改善代谢功能, 为持久耕作提供依据和技术支撑。

关键词: 槟榔—平托花生间作; 理化因子; 细菌群落结构; 多样性

Soil bacterial community and diversity of *Areca Catechu-Arachis pinto* intercropping

YAN Cai-bing¹, ZHAO Ya¹, ZHANG Shi-qing¹, FAN Hong-yan^{1*}

Institute of Tropical Fruit Trees, Hainan Academy of Agricultural Sciences. Haikou
Tropical Fruit Tree Scientific Observation Laboratory Station, Ministry of Agriculture.
Hainan Key Laboratory of Tropical Fruit Tree Biology. Hainan Tropical Fruit Breeding
Engineering Research Center. Haikou 571100, china

Abstract: in order to explore whether *Areca catechu-Arachis pinto* intercropping can improve soil microbial environment, soil samples of 10~20 cm soil layer *Areca catechu-Arachis pinto* intercropping and *Areca catechu* monoculture were selected as control, and soil samples under *Areca catechu* intercropping and monoculture were analyzed by Illumina miseq sequencing platform Soil bacterial community characteristics were detected in 16S rRNA V4-V5. The results showed that the soil bacterial diversity, richness and community structure of intercropping were different from that of monoculture pattern. Chao1 index and ACE index increased by 4.95% and 4.6%, Shannon index and Simpson index by 0.64% and 3.8%, respectively, indicating that species richness and community diversity were improved. At the phylum level, the dominant bacteria were *Proteobacteria*, *acidobacteria*, *actinobacteria* and *Chloroflexi*; at the subordinate level, the dominant bacteria were *GP1~GP6*, *nitrososphaera*, *gaiella*, *gemmatimonas* and *pseudolabrys*, intercropping can increase the number of beneficial bacteria in soil. It can be seen that intercropping peanut under betel nut forest can improve soil bacterial

收稿日期: 2020- - ; 修回日期: 2020- -

基金项目: 海南省重大科技计划项目 (zdkj201817); 农业农村部物种资源保护费项目 (111821301354052033); 海南省农业科学院农业科技创新专项经费项目 (槟榔高效健康栽培技术、黄化症状成因分析及加工产业提质增效技术研究)。

作者简介: *为通讯作者, 颜彩缤 (1994—), 女, 本科, 研究实习生, 研究方向: 果树植物保护, E-mail: 1746872621@qq.com。范鸿雁 (1979—), 女, 硕士, 研究员, 研究方向: 果树栽培与植物保护, E-mail: Fanhongyan_1979@126.com

community structure. Redundancy analysis showed that an, SOC, TN and TK were the main physicochemical factors affecting soil bacterial community structure. The prediction analysis of metabolic function showed that the functional genes of energy metabolism, epithelial cell signal transduction and VEGF signal pathway in *Helicobacter pylori* infection increased after intercropping, while the functional genes of phenylpropanoid, flavonoid and beet red pigment, which affected the circadian rhythm of plants and caused human diseases, were decreased, which indicated that intercropping could improve metabolic function and was a sustainable cultivation Provide basis and technical support.

Key words: *Areca catechu-Arachis pintoii* intercropping; Physical and chemical factors; Bacterial community structure; diversity

溶解性有机质极性组分的化学多样性及与二甲四氯的络合作用

吴东明, 李怡, 邓晓, 李勤奋*, 武春媛*

(1.中国热带农业科学院 环境与植物保护研究所, 海口 571101; 2. 国家农业环境儋州观测实验站, 海南儋州 571737)

溶解有机物 (DOM) 在环境中普遍存在, 具有较高的生物/化学活性, 可通过络合作用改变有机污染物的生物有效性、毒性、迁移性。堆肥还田、秸秆还田、土壤均是 DOM 的重要来源。苯氧羧酸类农药是一类使用量居世界第三的农药, 用于阔叶杂草的防控, 二甲四氯是其本体结构农药 (MCPA)。MCPA 生物毒性强, 环境风险大, 了解它的环境行为, 对 MCPA 的环境风险防控、田间使用指导具有重要意义。然而, 目前关于 DOM 与 MCPA 的络合行为及机制未见报道。从物质组成与结构等化学本质出发, 是当前环境化学领域研究的热点。基于 MCPA 极性性强, 同时含有羧基、苯环的化学特性, 推测 DOM 的极性物质是与 MCPA 络合的关键组分; 极性物质间的特异性作用力、非极性物质与苯环间的非特异性作用力是络合作用发生的关键机制。

为此, 选取了堆肥、水稻秸秆、土壤 3 种来源 DOM 作为研究对象, 以柱层析法逐级分离获得了不同极性的 DOM 组分, 以谱学技术分析了 DOM 组分的化学多样性。进一步, 以红外光谱技术评估和考察了 DOM 极性组分与 MCPA 的络合作用及机制, 验证假说。结果表明: 中等极性的疏水性酸 (HOA) 是堆肥 DOM 的主要组分, 约占 49.6%; 低极性的亲水性物质 (HIM) 是水稻秸秆 DOM 和土壤的 DOM 的主要组分, 约占 44.2%~52.2%。不同 DOM 极性组分与 MCPA 的相互作用具有显著异质性。富含富里酸物质和极性基团的 HOA 与 MCPA 的络合作用最大, 主要通过疏水作用力、配体交换和氢键结合。疏水中性部分 (HON) 和酸不溶物 (AIM) 与 MCPA 络合作用次之, 由于含有丰富的高芳香性的腐殖酸类物质、缺少极性基团, 而导致了芳香结构受到 MCPA 羧基的约束和斥力, 妨碍了偶极间作用力的形成。HIM 因富含碳水化合物等糖类物质, 与 MCPA 的特异性和非特异性络合作用难以形成。整体上, DOM 组分中带有极性基团的芳香族骨架主导了与 MCPA 的络合作用, 最终影响了 MCPA 的可降解性、毒性和迁移性。

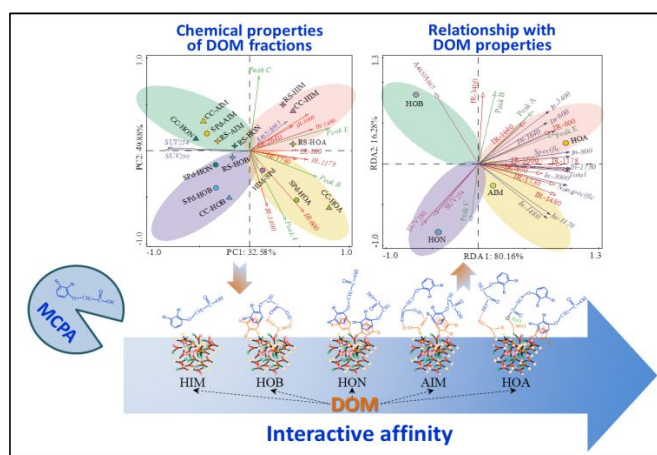


图 1 DOM 极性组分与 MCPA 的络合机制图

作者简介: 吴东明, 1991 年, 男, 助理研究员, 土壤有机化学与污染物环境行为, E-mail: wudomy@126.com。

资助项目: 国家自然科学基金项目 (41371465 和 42007135); 海南省重大科技计划 (ZDKJ2017002)。

枯草芽孢杆菌 Czk1 脂肽类物质抑菌活性及防病效果

贺春萍¹, 樊兰艳², 梁艳琼¹, 吴伟怀¹, 李锐¹, 易克贤^{1*}

(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监测与控制重点实验室/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; 2. 海南大学植物保护学院, 海口 570228)

摘要 枯草芽孢杆菌 Czk1 是从橡胶树根部分离获得, 前期研究发现该菌株分泌的脂肽类以及挥发性物质均能有效抑制植物病原真菌的生长。为解析枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis* Czk1 脂肽类物质的拮抗机制, 使其能尽早开发应用, 本实验采用共培养法研究菌株 Czk1 脂肽类粗提物对橡胶树炭疽病菌菌丝生长形态、分生孢子发育的影响, 采用脂肽粗提物和孢悬液法进行离体和盆栽试验评价其对橡胶树炭疽病、白粉病的生防潜能。结果显示, Czk1 脂肽类粗提物可导致橡胶树炭疽病菌菌丝顶端成念珠状畸形膨大和出现大量断裂, 抑制橡胶树炭疽病菌的最低浓度为 0.04g/L, 抑制其分生孢子萌发 EC₅₀ 值为 3.80mg/L; 活性检测表明, 当粗提物浓度为 0.04g/L 时对橡胶树炭疽病菌孢子萌发抑制率达 68.84%; 并发现脂肽类粗提物对橡胶树炭疽病、白粉病的发生和扩展都有明显抑制作用。在不同处理中, 炭疽病发病率分别降低 43.40%和 49.90%; 橡胶树白粉病发病率分别降低 22.97%和 6.19%, 病情指数分别降低 32.60 和 21.60, 对橡胶树白粉病的防治效果为 45.60%。本研究结果为进一步利用 Czk1 菌株提供理论依据。

关键词 枯草芽孢杆菌; 脂肽类化合物; 抑菌机理; 防效评价

资助项目 国家重点研发计划项目 (No. 2018YFD0201100); 国家天然橡胶产业技术体系建设专项资金资助项目 (CARS-33-BC1)。

作者简介 贺春萍 (1974-), 女, 硕士, 研究员; 研究方向: 植物病理学; E-mail: hechunppp@163.com。*通讯作者 (Corresponding author): 易克贤, 博士, 研究员。E-mail: yikexian@126.com。

弯柄灵芝菌丝体代谢物分析

徐林¹, 吕尧宣¹, 丁野¹, 李勤奋¹

(1 中国热带农业科学院环境与植物研究所, 海口, 571101)

灵芝属 (*Ganoderma P. karst*) 隶属担子菌门 (Basidiomycota)、多孔菌目 (Polyporales)、灵芝科 (Ganodermataceae), 其中赤灵芝是我国传统的药用真菌, 有广阔的开发与利用前景。弯柄灵芝有别于赤灵芝, 其形态较小, 菌柄细长, 菌盖偏生且具有漆状光泽, 菌肉为浅黄褐色至褐色, 广泛分布于热带及亚热带地区, 在海南民间代替赤灵芝使用。

灵芝三萜类化合物是灵芝的次生代谢产物, 也是灵芝主要活性成分之一, 具有保肝护肝、抗肿瘤、抗癌等多种重要的药理活性, 是灵芝研究的热点。目前灵芝三萜类化合物合成的研究主要以灵芝为对象, 而弯柄灵芝三萜类化合物的成分组成及构型与灵芝存在明显差异, 因此, 找出灵芝与弯柄灵芝的三萜类差异代谢物可能有助于解析和完善灵芝类真菌三萜代谢机制。

基于弯柄灵芝的独特性, 本课题采用二步液体发酵法策略和广泛靶向代谢组技术研究了弯柄灵芝菌株 *G. flexipes* sp.dz 025 和灵芝菌株 *G. lingzhi* CGMCC 5.616 菌丝体代谢物差异。共检测出 399 种代谢物, 从弯柄灵芝菌丝体中检测出 384 种, 其中 14 种未在灵芝菌丝体中检出; 从灵芝菌丝体中检测出 385 种, 其中 15 种未在弯柄灵芝菌丝体中检出。本研究为明确灵芝生长发育生理机制以及后续深入研究灵芝类真菌三萜化合物合成途径, 深度挖掘弯柄灵芝生理活性成分奠定基础。

关键词 弯柄灵芝; 代谢组; 三萜

基金项目 海南省自然科学基金 319QN273

作者简介 徐林 (1985—), 男, 助理研究员, 研究方向为食药菌资源收集与利用。E-mail: xulin@catas.cn

热带沿河流域稻菜轮作区土壤中农药残留分布特征、影响因素及风险评价

谭华东^{1,2,3}, 李勤奋^{1,2,3}, 武春媛^{1,2,3*}, 张汇杰^{1,4}, 邓晓^{1,2,3}, 李怡^{1,2,3}

1 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所, 海南海口 571101; 2 农业农村部儋州农业环境科学观测实验站, 海南儋州, 571737; 3 海南省农业面源和重金属污染防治工程研究中心, 海南儋州 571737; 华中农业大学 资源与环境学院, 湖北武汉 430070

摘要 稻菜轮作过程中有大量的农药使用, 然而目前关于热带稻菜轮作土壤中农药的污染与环境风险的信息非常有限。为摸清热区稻—菜轮作土壤中当前使用的农药 (CUPs) 的残留特征与生态风险, 本研究采集了典型稻菜轮作区—南渡江沿河流域稻—菜轮作区168个土壤样品, 采用QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱 (UPLC-MS/MS) 检测其中25种CUPs残留, 结合土壤因子与作物类型解析CUPs残留关键驱动因素, 并以风险熵法 (RQ) 评估其生态风险。结果显示, 25种CUPs总浓度处于 $0.30 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ~ $11.625 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 检出率与浓度最高的吡虫啉与多菌灵; 25种CUPs总浓度呈现辣椒>大白菜>豆角>线瓜>水稻>未种植, CUPs残留种类与含量随作物类型显著不同。冗余分析结果表明有机质、黑炭与其中多菌灵、甲基硫菌灵成正相关, 而土壤总氮、总磷、pH与CUPs残留量与种类相关性不高。单一和联合风险熵 (RQ) 显示多菌灵、吡虫啉与甲基硫菌灵呈现高生态风险, 同时需关注辣椒、7月及部分中游点位此三者生态风险, 其他CUPs的RQ均<1, 无高生态风险。土壤中25种CUPs、杀菌剂与杀虫剂的RQ均>1, CUPs多残留生态风险不可忽略。研究结果可为稻—菜轮作产地环境农药污染监测与风险识别提供基础数据。

关键词 农药; 分布; 土壤; 风险; 稻菜轮作

基金项目 中国热带作物学会青年人才托举工程项目 (NO. CSTC-QN201901); 海南省重大科技计划 (NO. ZDKJ2017002); 中央级公益性科研院所基本业务费 (NO.1630042019020); 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所自由选题项目 (NO. hzszy2018003)

作者简介 谭华东 (1991—), 男, 研究实习员, 研究方向为有机污染物的环境行为及效应研究。E-mail: tanhuadong1991@163.com, 18389381056

基质固相分散萃取-悬浮固化分散液液微萃取-气相色谱质谱法测定土壤中 16 种多环芳烃

谭华东^{1,2,3}, 李勤奋^{1,2,3}, 武春媛^{1,2,3*}, 张汇杰^{1,4}, 邓晓^{1,2,3}, 李怡^{1,2,3}

1 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所, 海南海口 571101; 2 农业农村部儋州农业环境科学观测实验站, 海南儋州, 571737; 3 海南省农业面源和重金属污染防治工程研究中心, 海南儋州 571737; 4 华中农业大学 资源与环境学院, 湖北武汉 430070

摘要 多环芳烃 (PAHs) 是一类典型的持久性有机物污染物, 具有“三致效应”和内分泌干扰效应, 威胁人体健康。为了快速评价土壤中痕量水平多环芳烃 (PAHs) 的环境健康风险, 开发了一种简便、灵敏、环境友好的土壤中 16 种优控 PAHs 快速、灵敏检测方法。采用 QuEChERS 技术, 结合悬浮有机液凝固的分散液液微萃取 (DLLME-SFO), 对土壤中 PAHs 进行快速提取、纯化和浓缩, GC-MS 外标法定量分析。通过单因素实验设计, 对关键影响参数进行了优化。目标物线性范围超过 3 个数量级 (0.1~500 $\mu\text{g}/\text{kg}$); 除了萘以外 (62.6%~74.7%) 平均回收率 83.7%~102.5%, 相对标准偏差 < 15.0%; 定量限为 0.01~0.04 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。应用海南澄迈县南渡江段土壤中 PAHs 分析, 结果令人满意, 显示所建方法检测性能优越且可靠性高。

关键词 土壤; 多环芳烃; QuEChERS; 分散液液微萃取; 快速测定

基金项目 中国热带作物学会青年人才托举工程项目 (NO. CSTC-QN201901); 海南省重大科技计划 (NO. ZDKJ2017002); 中央级公益性科研院所基本业务费 (NO.1630042019020); 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所自由选题项目 (NO. hzszy2018003)

作者简介 谭华东 (1991—), 男, 研究实习员, 研究方向为有机污染物的环境行为及效应研究。E-mail: tanhuadong1991@163.com, 18389381056

柑橘黄龙病菌对柑橘木虱及其寄生蜂行为的影响研究

张瑞敏¹, 曾继吾¹, 吴文¹, 黄永敬¹, 朱从一¹, 何时雨²

1. 广东省农业科学院果树研究所/农业部南亚热带果树生物学与遗传资源利用重点实验室/广东省热带亚热带果树研究重点实验室, 广州, 510640; 2. 华南农业大学, 农学院, 广州, 510640

摘要:

柑橘黄龙病是柑橘产业的毁灭性病害。柑橘木虱是柑橘黄龙病田间传播的唯一媒介昆虫, 因此, 防控柑橘木虱是控制柑橘黄龙病的主要途径。本研究的目的是明确柑橘黄龙病菌感染柑橘木虱后, 对其行为的影响及其寄生蜂对带菌和健康柑橘木虱的寄生选择。研究表明, 在雄性竞争条件下, 带菌的雌性木虱成虫更倾向与带菌的木虱雄虫交配, 而健康的雌性更倾向与健康雄虫交配; 在雌性竞争条件下, 健康的雄虫更倾向与健康的雌虫交配, 而带菌的雄虫也倾向与正常的雌性木虱交配, 但此选择倾向并未达到显著水平。木虱寄生蜂寄生选择实验表明, 健康的柑橘木虱跳小蜂在寄生时更倾向寄生健康状况良好的柑橘木虱, 但是二者并未达到显著水平。

关键词: 柑橘黄龙病, 柑橘木虱, 交配竞争, 跳小蜂, 寄生选择

Effects of *Candidatus Liberibacter asiaticus* (CLAs) on the behaviors of Asian citrus psyllid and its parasitoids

Zhang Ruimin¹, Wuwen¹, Huang Yongjing¹, Zhu Congyi¹, Zeng Jiwu¹, He Shiyu²

1. Institute of Fruit Tree Research, Guangdong Academy of Agricultural Sciences; Key Laboratory of South Subtropical Fruit Biology and Genetic Resource Utilization (MOA); Guangdong Province Key Laboratory of Tropical and Subtropical Fruit Tree Research, Guangzhou, 510640, China

2. College of Agriculture, South China Agricultural University, Guangzhou 510000, Guangdong, China

Abstract:

Citrus Huang Long Bing (HLB) is a destructive disease in citrus industry. Asian citrus psyllid (ACP) *Diaphorina citri* Kuwayama are the only insect vectors of the fastidious plant pathogen, *Candidatus Liberibacter asiaticus* (CLAs) in the field. Then the control of ACP is the main way to control HLB. The purpose of this study was to determine the effects of CLAs on the behavior of ACP and the parasitic selection of parasitoids on infected and healthy ACP. The same sex ACP with or without CLAs was dyed with organic dyes, and the mating competition or parasitic selection experiments were carried out, respectively. The results showed that in the male mating competition, the female adults with CLAs were more likely to mate with the CLAs-infected male, while the healthy females were more likely to mate with the healthy male; in the female mating competition, healthy males were more likely to mate with healthy females, while CLAs-infected males also tended to mate with healthy females, but this selection tendency did not reach a significant level. Parasitic selection of *Diaphorencyrtus aligarhensis* (Hymenoptera: Encyrtidae) showed that they were more likely to parasitize healthy ACP, but it did not reach a significant level.

Keywords: Citrus Huang Long Bing, Asian citrus psyllid, *Diaphorencyrtus aligarhensis*; mating competition, parasitic selection

第一作者简介: 张瑞敏, 1984年生, 女, 博士, 副研究员, 主要从事柑橘病虫害研究。邮箱: xmingz@163.com 电话: 13926162597。

暗黑赤眼蜂交配及寄生行为研究

严珍¹, 岳建军^{2,3*}

1 中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所云南分所, 云南景洪 666100; 2 滇西应用技术大学傣医药学院, 云南景洪 666100; 3 中山大学药学院, 广东广州 510006

摘要: 黄野螟 (*Heortia vitessoides* Moore) 为白木香的重要害虫之一, 暗黑赤眼蜂 (*Trichogramma pintoi* Voegelé) 是笔者在云南省西双版纳州首次发现的黄野螟本地优势天敌, 可作为黄野螟的生物控制剂进一步开发利用。本文对该蜂的交配和寄生行为进行了较为系统的研究。暗黑赤眼蜂在室内用米蛾卵繁殖多代, 在人工气候箱内进行饲养, 温度为 (25±1) °C, 湿度为 (75±5) %, 光周期为 12L: 12D。新羽化的蜂用 10% 蔗糖水作为补充营养饲喂, 进行配对, 在指形管内观察交配行为; 提供寄主米蛾卵卵卡, 观察记录产卵行为, 寄生蜂的后足胫节长度作为蜂大小划分的依据。研究结果表明: 暗黑赤眼蜂的交配行为可分为搜索、求偶、交配和交配后离开共四个阶段。该蜂的交配时间平均为 38.58 s, 体型大的雄蜂偏好体型小的雌蜂, 但对体型大的雌蜂也有相对较高的交配率; 而体型大的雌蜂则只有少数接受体型小的雄蜂求偶交配, 可见个体大的蜂具有显著的交配优势。该蜂的寄生行为分为搜索寄主、触角敲拍寄主卵、产卵器刺穿寄主、排卵、拔出产卵器和产后处理共六个阶段。在寄生过程中该蜂产雌卵与产雄卵的区别在于其排卵时腹部是否出现停顿现象, 有停顿现象的为产雌卵, 停顿持续时间平均为 15.11±1.40 s。其余产卵阶段持续时间差异均不显著。研究该蜂的交配和寄生行为规律, 可为该蜂的扩繁和促进田间生物防治效果奠定基础。

关键词: 暗黑赤眼蜂; 黄野螟; 交配行为; 产卵行为; 生物防治

基金项目: 云南省教育厅科学研究基金项目(No. 2020J0665); 国家重点研发计划(No. 2017YFC1701102); 北京协和医学院中央高校基本科研业务费项目(No. 3332018099); 滇西应用技术大学傣医药学院院级项目(No. 2019DYKY004)。

作者简介: 严珍(1987-), 女, 助理研究员, 博士; 研究方向: 昆虫生态学及害虫生物防治。E-mail: yanzhenjenny@163.com, ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-6032-6588> *通讯作者(Corresponding author): 岳建军(YUE Jianjun), E-mail: beiduofen81@163.com, ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-4263-4960>

咖啡新发露湿拟漆斑叶斑病原鉴定及其生物学研究

吴伟怀⁸, 朱孟烽^{1,2}, 贺春萍¹, 梁艳琼¹, 陆英¹, 黄兴¹, 习金根¹, 谭施北¹, 易克贤^{*1}

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: 针对云南咖啡苗圃出现的一种未知叶斑病进行了病原菌鉴定及其生物学研究。感病植株叶片初期会出现不规则斑点, 并逐渐向周围蔓延; 病健交界处出现轻微黄色晕圈, 随着病情发展黄色晕圈逐渐变淡。后期病斑连成片, 呈棕褐色, 最后叶片干枯。通过组织分离法从典型病叶种获得 DRL3 和 DRL4 两株代表菌株。在 PDA 培养基上, 菌落形态呈圆形菌落, 边缘整齐, 白色菌丝, 菌落表面出现墨绿色黏状物质, 呈环形, 菌落背面呈现淡褐色, 内含大量孢子。孢子为棒形或长椭圆形, 中间无色, 无隔膜, 长 4.8~6.4 μm , 宽 1.6~2.6 μm 。致病性测定表明, 产生的症状以及再分离后获得的分生孢子形态特征均与初始接种菌株的一致。分子鉴定结果表明, 无论是 ITS、 β -tubulin、rpb2、cmda 单个基因聚类树, 还是 ITS- β -tubulin-rpb2-cmda 加合基因序列聚类结果均一致表明, 菌株 DRL3 和 DRL4 均为露湿拟漆斑菌 (*Paramyrothecium roridum*)。经查阅相关文献, 这是我国露湿拟漆斑菌危害咖啡叶片的首次报道。病原菌的生物学特性研究表明, 咖啡露湿拟漆斑菌可在 13°C-30°C 的环境下生长, 适宜生长温度在 25-30°C 之间, 病原菌能够在 pH 为 3-11 的环境下生长, 最适 pH 值为 11, 在 24 小时全黑暗的条件下生长最缓慢, 在中性和偏弱碱性的环境下有利于菌丝生长。致死温度为 75°C, 10min。在燕麦粉琼脂培养基上生长得最好, 在萨氏培养基上生长最慢。不同的碳源培养基生长差异不大, 生长最快的是可溶性淀粉, 利用率最低的是蔗糖、乳糖。在不同氮源上, 生长最快的牛肉浸膏, 利用率最低的是硝酸钠、半胱氨酸、硫酸铵、硝酸铵。氟菌戊唑醇和戊唑醇对露湿拟漆斑菌的抑菌效果最好, EC_{50} 值分别为 24.7609g/mL、24.3134g/mL。

关键词: 咖啡; 露湿拟漆斑菌; 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)、中国热带农业科学院基本科研业务费专项资金(1630042017021)、FAO/IAEA 合作研究项目 (NO.20380) 共同资助。

第一作者: 吴伟怀, 1977 年生, 男, 副研究员; 植物病理学; E-mail: weihuaiwu2002@163.com

通讯作者: 易克贤, 男, 博士, 研究员; E-mail: yikexian@126.com

枯草芽孢杆菌 Czk1 挥发性物质对橡胶灵芝菌的抑制作用

梁艳琼^α, 李锐, 吴伟怀, 习金根, 谭施北, 黄兴, 陆英, 贺春萍*, 易克贤*
(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, 海口 571101)

摘要: 由橡胶灵芝菌 (*Ganoderma pseudoferreum* (Wakef.) Over.et Steinm) 引起的红根病是橡胶树的一类重要病害, 在我国植胶区普遍发生, 也是限制我国橡胶单产提高的重要生物因子。目前根病的防治措施途径甚少。生产上仅依赖单一化学药剂进行防治, 然而大量使用化学药剂可能会导致诸如病原体抗性、农药残留和环境污染等问题。因此, 迫切需要开发新的橡胶根病防治剂。微生物产生的 VOCs 促进植物生长, 诱导植物防御或作为抗菌剂抑制病原菌生长。枯草芽孢杆菌 Czk1 菌株由本实验室分离自橡胶树根部, 其挥发性物质对橡胶树红根病菌 *Ganoderma pseudoferreum*、褐根病菌 *Phellinus noxius*、紫根病菌 *Helicobasidium compactum*、白根病菌 *Rigidoprus lignosus*、臭根病菌 *Sphaerostilbe repens* 和炭疽病菌 *Colletotrichum gloeosporioides* 具有较好的抑制作用。利用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用技术鉴定获得 33 种 VOCs, 为了研究 Czk1 菌株 VOCs 潜在的化学农药替代品, 本研究从 33 种 VOCs 中筛选疑似抑菌物质, 测定这些挥发性化合物的抑菌活性, 筛选获得具有高效抑菌活性的挥发性气体组分, 探讨其对病原菌菌丝及细胞的影响。结果表明苯甲醛、2-己基-1-癸醇、3,5-二叔丁基-4-羟基苯甲醛、邻苯二甲酸二异丁酯、N-苄基-2-氯乙酰胺、3,5-二甲氧基苯乙酮、2,6-二叔丁基对甲酚、4-(4-甲氧苯基)-2-丁酮和甲烷这些化合物对橡胶灵芝菌具有抑制作用, 其中苯甲醛抑制效果最佳, 抑制率达到 100%。9 种具抑菌活性挥发性化合物纯品对病菌的毒力测定中, 苯甲醛、3,5-二甲氧基苯乙酮、2,6-二叔丁基对甲酚 EC₅₀ 均小于 45 μg/mL, 分别为 20.30、30.62、40.96 μg/mL。该三种混合组分浓度为 25 μg/mL 时, 其对橡胶灵芝菌的抑制率为 67.00%。经三种混合活性组分处理后的病菌菌丝缠绕成一团, 细胞壁变薄, 部分膜结构不完整。Czk1 产生的挥发性物质具有良好的抑菌活性是由这些挥发性物质协同作用的结果, 这些挥发性物质应用前景巨大, 可作为化学农药替代品防治橡胶树红根病。

关键词: 枯草芽孢杆菌, 挥发性物质, 橡胶灵芝菌, 抑菌活性

^α 基金项目: 海南省科协青年科技英才学术创新计划项目(QCXM201714); 国家重点研发计划项目(2018YFD0201100); 国家天然橡胶产业技术体系建设专项基金资助项目(CARS-33-BC1)。

联系方式: 梁艳琼(1985-), 女, 助理研究员, E-mail: yanqiongliang@126.com; *通信作者 贺春萍 E-mail: hechunppp@163.com; 易克贤 E-mail: yikexian@126.com

木薯叶总黄酮指纹图谱与其抗氧化活性的谱效关系

詹春莲¹, 陈新富³, 麦力文^{2,4}, 杨霞^{2,4}, 李勤奋^{2,4}, 王定美^{2,4*}

1 海南省文昌市会文镇中心卫生院, 海南 文昌 571343; 2 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所, 海南 海口 571101; 3 海南省海口市海南医学院热带医学与检验医学院, 海南 海口 571199; 4 海南省热带生态循环农业重点实验室, 海南 海口 571101

摘要: 运用高效液相色谱法 (HPLC) 建立木薯叶总黄酮的指纹图谱, 并从 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH) 自由基清除能力和铁离子还原能力 (Ferric reducing antioxidant power, FRAP) 评价其抗氧化能力, 应用偏最小二乘法研究木薯叶总黄酮成分色谱峰和抗氧化活性的相关性, 筛选活性色谱峰。结果表明: 建立了木薯叶总黄酮 HPLC 指纹图谱, 相似度均大于 0.88, 确定了其中 5 个色谱峰为共有峰, 其中 1 个峰的峰面积与抗氧化活性成正比, 并且其变量投影重要性大于 1 (VIP=1.60), 说明木薯叶总黄酮 HPLC 指纹图谱中 1 个色谱峰对木薯叶总黄酮抗氧化活性发挥重要作用; 通过与对照品比对, 指认该色谱峰为穗花杉双黄酮。该文提供了一种基于 HPLC 指纹图谱评价木薯叶总黄酮质量的可靠方法, 明确了木薯叶总黄酮抗氧化活性的物质基础, 为开发利用木薯叶保健功能提供了依据。

关键词: 木薯叶; 总黄酮; HPLC 指纹图谱; 抗氧化活性; 谱效分析

中图分类号 S533 Q946.889

文献标识码 A

Fingerprint of Total Flavonoids in Cassava Leaves and Its Spectrum - effect Relationship of Antioxidant Activity

ZHAN Chun-lian¹, CHEN Xin-fu³, MAI Li-wen^{2,4}, Yang Xia^{2,4}, LI Qinfen^{2,4}, WANG Ding-mei^{2,4*}

1 Huiwen Town Health Center, Hainan Wenchang 531343, China

2 Environment and Plant Protection Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Hainan Haikou 571101, China

3 School of Tropical and Laboratory Medicine, Hainan Medical University, Hainan Haikou 571199, China

4 Hainan Key Laboratory of Tropical Eco-circulating Agriculture, Hainan Haikou 571101, China

Abstract: The fingerprint of total flavonoids in cassava leaves was prepared by using high pressure liquid chromatography (HPLC) method, and their antioxidant activity was determined by 1,1-diphenyl-2-trinitrophenyltoluene (DPPH) free radical scavenging ability and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays. The spectrum-effect correlation was studied by partial least squares (PLS) method, to screen out the active peaks. The results showed that HPLC fingerprint of total flavonoids in cassava leaves was established, and the similarities were more than 0.88. Five common peaks were identified, and only one of these peaks showed a positive relationship with the antioxidant activity, whose variable projection importance (VIP) values was more than 1.0 (VIP=1.60), indicating that the compound corresponding to this peak plays a critical role in the antioxidant activity of total flavonoids in cassava leaves. By comparison with the reference substances, the peak was determined as amentoflavone. This paper provides a reliable method for evaluating the quality based on HPLC

收稿日期 2020-10-00

修回日期 2020-10-00

资助项目 海南省自然科学基金项目 (318QN273)。

作者简介 詹春莲 (1984-), 女, 大学本科, 主治医师, 研究方向: 热带食药植物与妇幼保健。通讯作者 (Corresponding author): 王定美 (WANG Dingmei), E-mail: mywdm0911@163.com。

fingerprint and clarifies the material basis of antioxidant activity of total flavonoids in cassava leaves. The results from this study can help further development and utilization of health functions of cassava leaves.

Key words cassava leaves; total flavonoids; HPLC fingerprint; antioxidant activity; spectrum-efficiency analysis

木薯 (*Manihot esculenta* Crantz) 是与马铃薯、番薯并称为世界三大薯类的重要的热带作物之一, 为世界第五大粮食作物, 在全世界热带地区广泛栽培。木薯属于大戟科, 此科植物多供药用, 广泛具有抗癌、抗菌、保肝和抗炎等功效^[1]。已有研究表明, 木薯叶经捣烂、煮熟后食用, 不仅可以作为蔬菜食用, 可以治疗膀胱炎, 并且孕妇和哺乳期的妇女都可以食用^[2], 对于妇幼保健具有极大开发潜力。木薯叶中还蕴含有可观的黄酮、胡萝卜素、三萜类等生物活性物质^[3-5], 而且, 木薯叶乙醇提取物中的总黄酮比维生素 C 表现出更强的抗氧化活性^[6]并已作为畜禽水产养殖饲料添加剂进行应用^[7, 8], 极具研究开发价值。但总黄酮作为一种植物体内代谢产物, 其种类和组成受品种、产地、气候、生态环境、栽培技术等多因素共同影响, 往往有一定的区别, 有些还差异明显^[9-12]。木薯叶片中总黄酮的高抗氧化性与黄酮成分组成及比例的关系还未清楚。

中药谱效学(谱效关系)为揭示木薯叶片总黄酮抗氧化活性的物质基础提供了方法学上的借鉴。中药指纹图谱是指中药材或中成药经适当处理后, 采用现代信息采集技术及质量分析手段, 得到能够标志该中药材或中成药特征的色谱或光谱图谱即能够反映出多组分复杂样品的整体性、特征性, 是目前公认的最适合中药及天然药物物质群质量控制的手段之一^[13]。中药谱效关系是在中药指纹图谱研究基础上, 开展的关于中药指纹图谱与中药药效相关性的一种科学研究方法, 该方法揭示了药效相关峰, 阐明了药效活性成分, 为探索建立反映中药内在质量的评价方法和中药药效物质基础的研究提供了一种新的方法和思路, 已广泛应用于中药药效成分研究、组分配伍研究、炮制机制研究、药效预测、工艺优化研究及中药毒性成分筛选等方面^[14]。但目前未见有关于木薯叶总黄酮抗氧化谱效关系的文献报道。基于此, 本研究从 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH) 自由基清除能力和铁离子还原能力 (Ferric reducing antioxidant power, FRAP) 两方面评价木薯叶总黄酮的抗氧化活性, 并分析 HPLC 指纹图谱与抗氧化活性之间的关系, 从而确定木薯叶总黄酮抗氧化作用的物质基础, 旨在为木薯叶保健功能的开发利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

1.1.1 样品 所用样品共 21 个, 分别为 7 个木薯品种(SC06、SC07、SC09、SC10、SC13、SC205、BC)的 120 d、180 d 和 240 d 植龄的叶片样品, 并按“品种-植龄”进行编号, 如 SC 06 - 120, 表示木薯品种 SC06 的 120 d 植龄叶片样品。木薯品种来自海南省儋州市的农业农村部门木薯种质资源圃, 叶片样品采自海南省海口市三江镇美达农园农场种植基地 (19.0°55.0'9.196"N, 110.0°34.0'34.939"E)。新鲜木薯叶片洗净后经 60°C 烘干至恒重后, 粉碎至粒径 0.3 mm 后, -20°C 保存备用。

1.1.2 试剂 标准品芦丁 (rutin, 含量≥98.1%, 批号: 1022799)、二氢黄酮甙 (hesperidin, 含量 95.3%, 批号: 110721-201316)、槲皮素 (quercetin, 含量≥96.5%, 批号: 100081-200907)、穗花杉双黄酮 (amentoflavone, 含量≥90.2%, 批号: 111902-201102): 购自中国食品药品检定研究院; 山奈酚 (kaempferol, 含量≥98.0%, 编号: K107144) 购自阿拉丁公司; 甲醇、乙腈为色谱纯; 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH): 日本东京化成工业株式会社; Fe³⁺-三吡啶三嗪 (TPTZ): 比利时 Acros organics 公司, 试剂均为分析纯。

1.1.2 仪器 Waters e2605 高效液相色谱仪 (HPLC, 沃特世科技上海有限公司), ME204E 电子分析天平 (梅特勒-托利多仪器有限公司), JL-721DTH 数控超声波清洗器 (南京科捷分析仪器有限公司), Rotavapor R-215 旋转蒸发器 (瑞士步琪实验室技术服务有限公司), 色谱柱 (Athena C18-WP 4.6 × 250 mm, 5 μm)。

1.2 方法

1.2.1 样品预处理

1.2.1.1 木薯叶总黄酮测试母液制备 参考周宁的方法^[6], 采用超声波辅助法制备木薯叶总黄酮, 具体为: 精确称取 1 g 样品于 50 mL 带螺旋纹的聚乙烯管中, 加入 40 mL 90%的乙醇提取液。以优化的超声波辅助法进行提取, 提取条件为: 超声功率 90 W, 提取温度 70°C, 提取时间 20 min。提取液分装于 EP 管中, -20°C 保存作为待测木薯叶总黄酮母液备用。

1.2.1.2 样品色谱上机前预处理 取待测木薯叶总黄酮母液于圆底烧瓶中, 在 50°C、55 r/min 下旋转蒸发浓缩上清液至膏状, 用 90%乙醇清洗至 5 mL 离心管中, 直立放置于 4°C 冰箱中 12 h, 在 4000 rpm 离心 10 min 后, 上清液转至圆底烧瓶中, 50°C、55 r/min 下旋转蒸发浓缩至膏状, 用乙腈清洗膏状物再次转蒸发浓缩, 以保证乙醇彻底挥发, 用乙腈清洗膏状物至 25 mL 容量瓶中, 定容后贮存在-20 °C 下作为液相分析备用液。HPLC 上机分析前, 吸取备用液过 0.22 μm 滤膜。

1.2.2 抗氧化活性测试

1.2.2.1 DPPH 清除率测定 参考王金梅的方法^[15], 将 1 mL 经梯度稀释后的总黄酮母液与 2×10^{-4} mol/L 的 DPPH 乙醇液 1 mL, 摇匀后暗处反应 30 min, 于 517 nm 下测定 OD 值。同时以无水乙醇代替样品同程序操作测定溶剂空白, 以无水乙醇代替 DPPH 乙醇液同程序测定样品空白。计算 DPPH 清除率及清除率为 50%时的提取液母液质量百分浓度, 记为 EC₅₀。DPPH 清除率按下述公式计算:

$$\text{DPPH清除率} = \frac{A_0 - (A_1 - A_2)}{A_0} \times 100\%$$

式中: A_0 为 1 mL DPPH 乙醇液与 1 mL 无水乙醇在 517 nm 处的吸光度; A_1 为 1 mL 样品液与 1 mL DPPH 乙醇液在 517 nm 处的吸光度; A_2 为 1 mL 样品液与 1 mL 无水乙醇在 517 nm 处的吸光度。将各种母液浓度的待测液 DPPH 清除率数据, 导入 Origin 2018, 通过最优模型计算 DPPH 清除率为 50%时的提取液母液浓度(EC₅₀)。

1.2.2.2 FRAP 测定 参考徐晶晶的方法^[16], 以不同浓度的 FeSO₄ 溶液在 590 nm 下的吸光度制得工作曲线。精密吸取 0.3 mL 提取液母液, 加入 2.7 mL 预热至 37 °C 的 TPTZ 工作液, 摇匀后放置 10 min, 于 590 nm 测其吸光度值, 以无水乙醇代替样品做空白, 每个样品做 3 个平行, 求平均值。以相应吸光度在工作曲线上求得的 Fe²⁺ 当量定义 FRAP 值, 通过 FRAP 值表征样品的抗氧化活性, 单位 mmol·g⁻¹。FRAP 按下述公式计算:

$$\text{FRAP} = \frac{C \times V \times N}{1000M}$$

式中: C 为样品扣除空白后的吸光度代入回归方程得到的 Fe²⁺ 当量, μmol/L; V 为待测液总体积, 取 3 mL; N 为样品稀释倍数; M 为样品质量, g。

1.2.3 木薯叶 HPLC 指纹图谱建立

1.2.3.1 色谱条件 以实验室前期建立的色谱条件为基础^[10], 结合指纹图谱分析要求, 本实验的色谱条件如下: 色谱柱 CNW Athena C18 - WP (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相为乙腈(A) - 0.02%乙酸水溶液(B), 梯度洗脱(0 ~ 50 min, 10 ~ 80% A; 55 ~ 57 min, 100% A; 57 ~ 59 min, 100 ~ 10% A; 59 ~ 68 min, 10% A), 流速 1.0 mL/min, 柱温室温, 进样量 10 μL, 检测波长 270 nm。

1.2.3.2 方法学考查 按以下试验条件, 在 1.2.3.1 部分所述的色谱条件下进行测样分析, 计算各色谱峰保留时间和峰面积的相对标准偏差 RSD: (1) 精密度试验: 同一份样品 6 次平行连续进样分析; (2) 重复性试验: 同一样品, 平行称取 6 份, 进样分析; (3) 稳定性试验: 同一份样品分别于 0、4、8、12、16、24 h 进样分析。

1.3 数据分析

采用 EXCEL 2010 软件进行数据整理和计算。用《中药色谱指纹图谱相似度评价软件》(2004 A 版) 校正特征图谱的各峰保留时间并进行数据匹配, 生成木薯叶总黄酮指纹图谱

共有模式，并进行量化特征峰筛选和特征图谱的相似度评价。采用 SIMCA14.0 软件，进行偏最小二乘法回归分析，筛选与抗氧化活性显著相关的木薯叶总黄酮色谱峰。

2 结果与讨论

2.1 木薯叶总黄酮指纹图谱的建立

2.1.1 方法学考查结果 采用 1.2.3.1 所述色谱条件，木薯叶总黄酮样品连续测定 6 次，各共有峰保留时间和峰面积的 RSD 分别小于 0.14%和 0.91%，说明该方法具有较高的精密度。同一样品在 24 h 内的 6 次测定结果中，各共有峰保留时间和峰面积的 RSD 分别为 0.03%~0.18%和 0.03%~1.65%，说明该方法在 12 h 内稳定性良好。同时，重复性试验结果显示，各共有峰保留时间和峰面积的 RSD 分别为 0.04%~0.19%和 1.06%~3.67%，表明该方法具有较好的重复性。

2.1.2 指纹图谱共有模式的确定 采用《中药色谱指纹图谱相似度评价软件》(2004 A 版)，以 SC06-120 的色谱图为参照，时间窗口设为 0.5，选择样品中均含有的、含量相对较高且分离度较好的色谱峰位进行多点校正，采用平均数法生成对照图谱。结果见图 1、图 2。以 21 个品种木薯叶总黄酮样品的共有模式 (R) 为对照指纹图谱，进行相似度评价，结果见表 1。21 个品种木薯叶总黄酮样品与对照指纹图谱的相似度范围为 0.885~0.998，相似度均在 0.88 以上，说明不同木薯叶样品总黄酮表现出较好的相似度。不同品种的木薯叶总黄酮的相似度较为接近，说明各品种各植龄的木薯叶总黄酮成分稳定，进一步证明 HPLC 指纹图谱可以作为评价不同植龄、品种的木薯叶的统一基准。

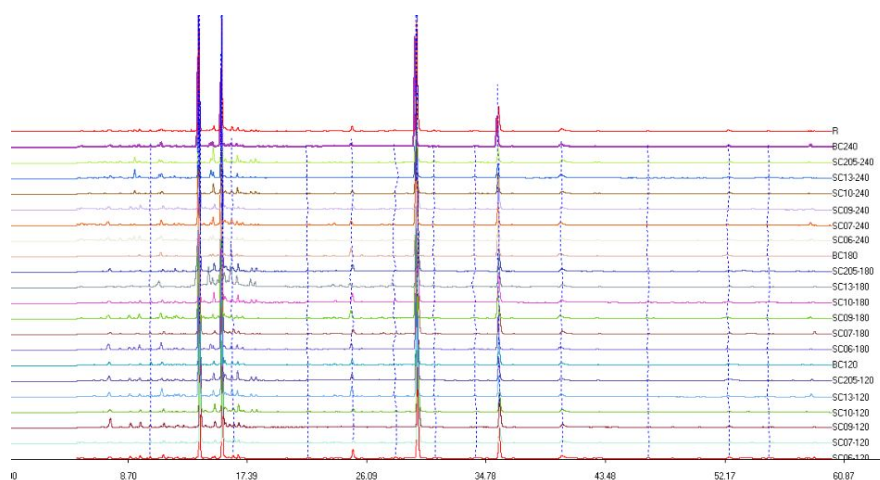


图 1 木薯叶总黄酮 HPLC 指纹图谱

Fig. 1 HPLC fingerprints of total flavonoids from cassava leaves

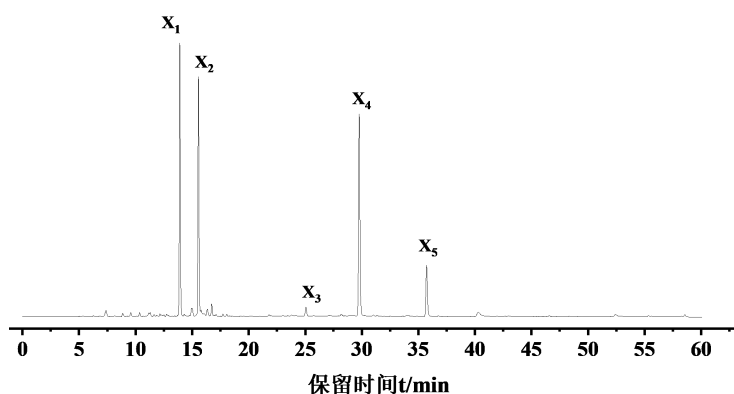


图 2 木薯叶总黄酮 HPLC 指纹图谱共有模式

Fig. 2 Common pattern of HPLC fingerprints from cassava leaves total flavonoids

表 1 21 个木薯叶样品的总黄酮 HPLC 指纹图谱的相似度评价结果

Table1 Similarity evaluation of total flavonoids HPLC fingerprints from 21 cassava leaves samples

| 样品 | 相似度 | 样品 | 相似度 | 样品 | 相似度 |
|-----------|------------|-----------|------------|-----------|------------|
| Samples | Similarity | Samples | Similarity | Samples | Similarity |
| SC06-120 | 0.944 | SC06-180 | 0.928 | SC06-240 | 0.956 |
| SC07-120 | 0.983 | SC07-180 | 0.930 | SC07-240 | 0.963 |
| SC09-120 | 0.991 | SC09-180 | 0.980 | SC09-240 | 0.996 |
| SC10-120 | 0.998 | SC10-180 | 0.998 | SC10-240 | 0.885 |
| SC13-120 | 0.983 | SC13-180 | 0.986 | SC13-240 | 0.994 |
| SC205-120 | 0.997 | SC205-180 | 0.982 | SC205-240 | 0.930 |
| BC120 | 0.998 | BC180 | 0.915 | BC240 | 0.971 |
| | | | | R | 1.000 |

从 21 张图谱中匹配出 5 个共有峰 (X₁、X₂、X₃、X₄、X₅)，这些共有峰的峰面积之和均大于整张色谱图峰面积的 90%，证明本文建立的指纹图谱符合中药色谱指纹图谱的评价要求。以此 5 个共有峰作为特征峰，以色谱峰 X₂ 为参照，计算各样品特征峰的相对保留时间，结果见表 2。由上述结果可见，各特征峰稳定、具有指纹图谱特征性，可初步视为木薯叶总黄酮的指标成分群。

表 2 各特征峰的相对保留时间 (以 X₂ 为基准)

Table2 Relative retention time of each characteristic peak (based on X₂)

| 样品 | X ₁ | X ₂ | X ₃ | X ₄ | X ₅ |
|-----------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| Samples | | | | | |
| SC06-120 | 0.894 | 1.000 | 1.612 | 1.914 | 2.296 |
| SC07-120 | 0.895 | 1.000 | 1.611 | 1.912 | 2.294 |
| SC09-120 | 0.895 | 1.000 | 1.611 | 1.912 | 2.293 |
| SC10-120 | 0.894 | 1.000 | 1.611 | 1.913 | 2.295 |
| SC13-120 | 0.893 | 1.000 | 1.611 | 1.915 | 2.300 |
| SC205-120 | 0.893 | 1.000 | 1.610 | 1.914 | 2.299 |
| BC-120 | 0.894 | 1.000 | 1.610 | 1.913 | 2.298 |
| SC06-180 | 0.893 | 1.000 | 1.611 | 1.915 | 2.301 |
| SC07-180 | 0.895 | 1.000 | 1.611 | 1.913 | 2.294 |
| SC09-180 | 0.893 | 1.000 | 1.611 | 1.916 | 2.302 |
| SC10-180 | 0.893 | 1.000 | 1.612 | 1.915 | 2.298 |
| SC13-180 | 0.892 | 1.000 | 1.606 | 1.920 | 2.306 |
| SC205-180 | 0.894 | 1.000 | 1.612 | 1.914 | 2.297 |
| BC-180 | 0.893 | 1.000 | 1.611 | 1.916 | 2.302 |
| SC06-240 | 0.893 | 1.000 | 1.612 | 1.916 | 2.302 |
| SC07-240 | 0.893 | 1.000 | 1.612 | 1.915 | 2.301 |
| SC09-240 | 0.894 | 1.000 | 1.610 | 1.912 | 2.294 |
| SC10-240 | 0.893 | 1.000 | 1.614 | 1.914 | 2.299 |
| SC13-240 | 0.893 | 1.000 | 1.613 | 1.913 | 2.298 |

| | | | | | |
|-----------|-------|-------|-------|-------|-------|
| SC205-240 | 0.893 | 1.000 | 1.614 | 1.914 | 2.299 |
| BC-240 | 0.893 | 1.000 | 1.614 | 1.915 | 2.301 |

2.2 木薯叶总黄酮抗氧化活性

2.2.1 还原力测定结果 FRAP 法通过测定化合物的还原能力来表征其抗氧化活性，FRAP 值的大小与抗氧化活性成正比。表 3 为各木薯叶样品 FRAP 抗氧化能力测定结果，可见，不同植龄下同一品种的 FRAP 值差别不大，但不同品种的 FRAP 值差别显著，各植龄下各品种的 FRAP 值差别显著程度均为 SC13>BC、SC205>SC06、SC07、SC09、SC10 ($P < 0.05$)。说明木薯叶的 FRAP 抗氧化能力不受植龄影响，存在明显的基因型差异，品种 SC13 具有较强的 FRAP 抗氧化活性，达到 20 mmol·g⁻¹ 以上。

表 3 21 个木薯叶片样品总黄酮 FRAP 抗氧化活性

Table3 FRAP antioxidant activity of total flavonoids from 21 cassava leaves samples

| 品种 Cultivars | FRAP mmol/g | 品种 Cultivars | FRAP mmol/g | 品种 Cultivars | FRAP mmol/g |
|-----------------|---------------------------|-----------------|---------------------------|-----------------|---------------------------|
| SC06-120 | 14.86 ± 0.60 ^c | SC06-180 | 14.87 ± 0.60 ^c | SC06-240 | 14.89 ± 0.60 ^c |
| SC07-120 | 15.95 ± 0.26 ^c | SC07-180 | 15.92 ± 0.23 ^c | SC07-240 | 15.97 ± 0.26 ^c |
| SC09-120 | 14.71 ± 0.08 ^c | SC09-180 | 14.71 ± 0.06 ^c | SC09-240 | 14.74 ± 0.07 ^c |
| SC10-120 | 15.37 ± 0.73 ^c | SC10-180 | 15.41 ± 0.75 ^c | SC10-240 | 15.41 ± 0.75 ^c |
| SC13-120 | 21.69 ± 0.49 ^a | SC13-180 | 21.67 ± 0.49 ^a | SC13-240 | 21.68 ± 0.50 ^a |
| SC205-120 | 18.15 ± 0.37 ^b | SC205-180 | 18.17 ± 0.37 ^b | SC205-240 | 18.14 ± 0.39 ^b |
| BC-120 | 19.13 ± 0.49 ^b | BC-180 | 19.14 ± 0.49 ^b | BC-240 | 19.10 ± 0.52 ^b |

说明：同一列不同小写字母表示不同样品间存在显著差异($p < 0.05$)。下同。

Note: The lowercase letters in the same row indicate significant differences among different samples ($p < 0.05$). The same as below.

2.2.2 DPPH 自由基清除能力 结合对 DPPH 自由基的清除率测定结果，计算 50%清除率下的提取液浓度(EC_{50})以表征抗氧化活性， EC_{50} 与抗氧化活性成反比，各样品的 EC_{50} 值如表 4。由表 4 中可看出，品种和植龄对 EC_{50} 的影响程度不一，21 个样品的 EC_{50} 平均值在各植龄下分别是 120 d (22.65%) ≈ 180 d (22.33%) > 240 d (17.94%)。120 d 和 180 d 下 DPPH 自由基的清除力较高(EC_{50} 小于 20%)的样品数量均为 1 个，240 d 下为 3 个。基于植龄和品种的 EC_{50} 值变异系数如图 3 所示，可以看出 EC_{50} 变异系数与植龄成正相关，说明随着植龄上升，清除 DPPH 自由基能力与品种间的差异程度均增大。同一品种下，随植龄增大，各品种的 EC_{50} 变异系数差异较大，离散程度不一，说明植龄和品种共同影响木薯叶清除 DPPH 自由基的能力。其中，品种 SC13 在各植龄下，清除 DPPH 自由基能力均处于最高水平($EC_{50} < 20\%$)，但其在各植龄间离散程度较大，变异系数为 25.43%，仅低于 BC，说明植龄对 SC13 的 DPPH 自由基清除能力影响较大。

表 4 21 个木薯叶片样品总黄酮 DPPH 自由基清除率的 EC_{50} 值

Table4 EC_{50} value of total flavonoids DPPH free radical scavenging rate from 21 cassava leaves samples

| 品种 Cultivars | DPPH EC_{50} % | 品种 Cultivars | DPPH EC_{50} % | 品种 Cultivars | DPPH EC_{50} % |
|-----------------|---------------------------|-----------------|---------------------------|-----------------|---------------------------|
| SC06-120 | 25.21 ± 0.82 ^b | SC06-180 | 22.00 ± 0.12 ^b | SC06-240 | 24.28 ± 0.09 ^a |
| SC07-120 | 25.88 ± 0.28 ^a | SC07-180 | 27.55 ± 0.16 ^a | SC07-240 | 23.90 ± 0.06 ^b |
| SC09-120 | 23.71 ± 0.28 ^c | SC09-180 | 20.27 ± 0.13 ^d | SC09-240 | 20.68 ± 0.20 ^c |
| SC10-120 | 23.50 ± 0.04 ^c | SC10-180 | 21.96 ± 0.15 ^b | SC10-240 | 22.63 ± 0.23 ^b |
| SC13-120 | 18.56 ± 0.07 ^c | SC13-180 | 19.60 ± 0.22 ^c | SC13-240 | 11.80 ± 0.02 ^f |

| | | | | | |
|-----------|---------------------------|-----------|---------------------------|-----------|---------------------------|
| SC205-120 | 22.37 ± 0.05 ^d | SC205-180 | 21.53 ± 0.07 ^c | SC205-240 | 14.81 ± 0.29 ^d |
| BC-120 | 22.19 ± 0.15 ^d | BC-180 | 25.09 ± 0.13 ^b | BC-240 | 13.49 ± 0.30 ^e |

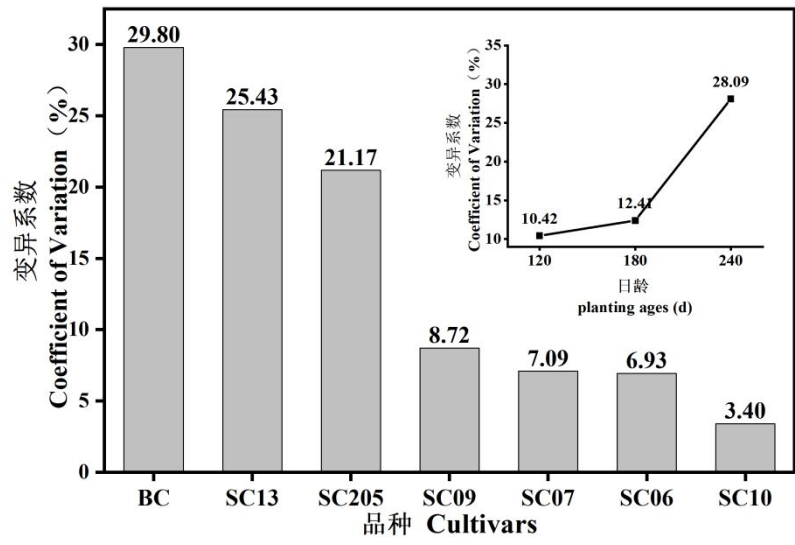


图 3 不同品种和植龄间 EC₅₀ 的变异系数

Fig. 3 Variation coefficients of EC₅₀ between different cultivars and planting ages

2.3 抗氧化活性谱效分析

2.3.1 偏最小二乘回归方程的建立

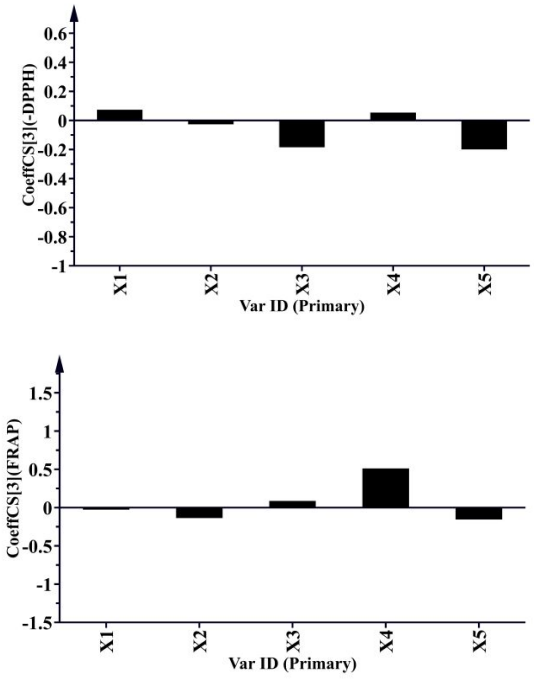


图 4 木薯叶总黄酮抗氧化活性谱-效相关性的 PLSR 模型回归系数

Fig. 4 PLSR model regression coefficients of antioxidant activity spectrum - effect correlation of total flavonoids in cassava leaves

以筛选出的 5 个共有色谱峰面积为自变量，木薯叶总黄酮的抗氧化活性数据为因变量，进行偏最小二乘法回归分析(PLSR)，结果见图 4，建立起两种抗氧化活性指标与特征峰的方程分别为：

$$Y1 = -4.809 + 0.046X1 - 0.053X2 - 0.164X3 + 0.079X4 - 0.204X5$$

$$Y2 = 6.905 + 0.101X1 - 0.101X2 - 0.011X3 + 0.394X4 - 0.135X5$$

式中 Y1 表示 DPPH 法中 EC50 的相反数, Y2 表示 FRAP 值, X 代表特征峰。方程系数的代数大小正比于特征峰对抗氧化活性影响的大小, 正负号分别代表正负相关。

2.3.2 变量投影重要性分析

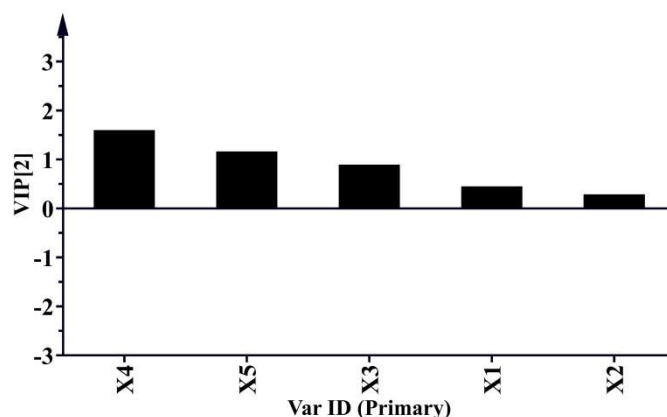


图 5 共有色谱峰对木薯叶总黄酮抗氧化活性的 VIP 贡献率

Fig. 5 VIP contribution rates of common chromatographic peaks to antioxidant activity of total flavonoids in cassava leaves

变量投影重要性(Variable importance in projection, VIP)是反映自变量对因变量解释能力的 1 个重要指标, 其值越大说明该自变量对因变量的解释能力越强。一般认为当 $VIP > 1$ 时, 自变量在解释因变量时具有显著重要性^[15]。各共有特征峰对木薯叶总黄酮抗氧化活性的 VIP 分析结果见图 5, 可见, 特征峰 X4 和 X5 的 VIP 值分别为 1.60、1.16, 均大于 1, 排序为 $X4 > X5$, X4 和 X5 对木薯叶总黄酮的抗氧化活性存在显著影响。结合偏最小二乘回归方程, X4 的回归系数和 Y1、Y2 呈正相关关系, X5 的回归系数和 Y1、Y2 呈负相关关系, 且回归系数较其他特征峰更大, 说明当 X4 的含量增加时, 抗氧化活性增强, X5 的含量增加时, 抗氧化活性下降。说明在木薯叶总黄酮中, 特征峰 X4 代表的黄酮单体含量决定总黄酮抗氧化能力的大小。

2.4 色谱峰成分指认

结合现有文献已报道木薯叶黄酮成分, 制备由 6 个黄酮单体标准品组成的混合标准品, 进行 HPLC 分析, 如图 6。结合样品 HPLC 图谱, 指认出特征峰 X1 为芦丁、X2 为二氢黄酮苷、X4 为穗花杉双黄酮、X6 为山奈酚。特征峰 X3、X5 未能成功指认。

经文献检索表明, 穗花杉双黄酮确实具有较高的抗氧化活性, 其利用价值早在 20 世纪 60 年代就已被发掘, 主要应用于心血管疾病的治疗, 随着研究的进一步深入, 穗花杉双黄酮在抗氧化、抗炎、抗肿瘤等方面的价值被进一步开发^[17]。张皎等人的研究指出, 含酚羟基数量较多的黄酮类化合物抗氧化活性较数量较少者更强^[18]。木薯叶中已鉴定的黄酮类化合物的结构式如图 7, 可见, 穗花双黄酮的酚羟基数量最多(6 个), 色谱峰面积较大的芦丁的酚羟基数量仅为 4 个, 结合 PLSR 分析结果, 进一步表明木薯叶总黄酮抗氧化活性的主要贡献单体为穗花杉双黄酮。

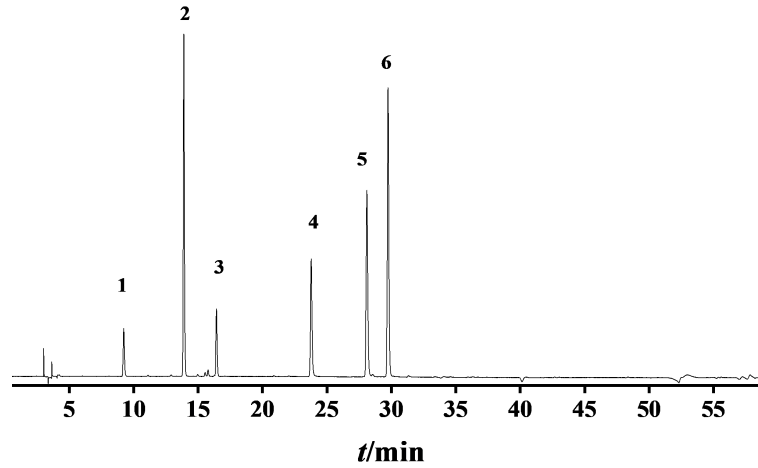


图6 对照品儿茶素(1)、芦丁(2)、二氢黄酮苷(3)、槲皮素(4)、山奈酚(5)、穗花杉双黄酮(6) HPLC 色谱谱

Fig.6 HPLC chromatogram of Catechin (1), Rutin (2), Hesperidin (3), Quercetin (4), Kaempferol(5), Amentoflavone (6)

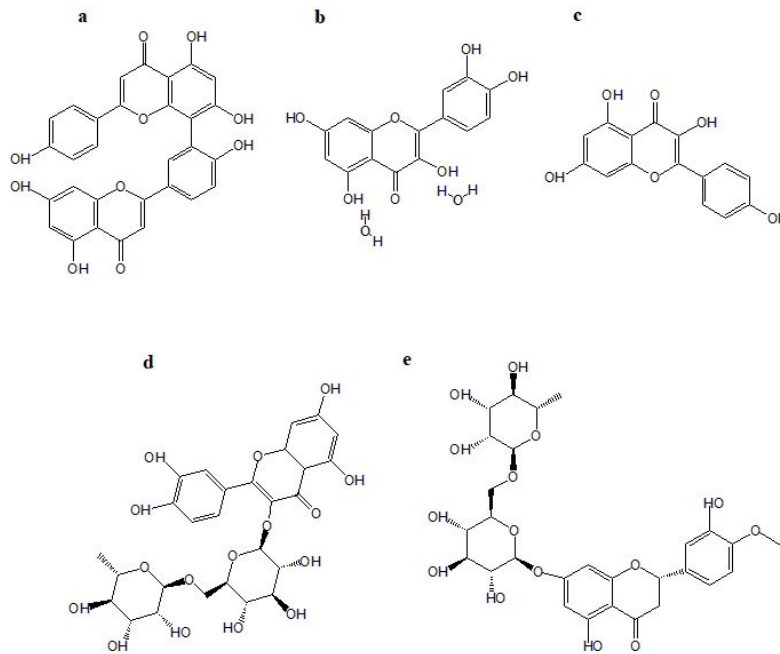


图7 穗花杉双黄酮(a)、槲皮素(b)、山奈酚(c)、芦丁(d)、二氢黄酮苷(e)的结构式

Fig.7 Structural formulas of Amentoflavone (a), Quercetin (b), Kaempferol (c), Rutin (d), Hesperidin (e)

3 结论

(1) 建立了木薯叶总黄酮的 HPLC 指纹图谱, 各样品指纹图谱与对照图谱的相似度都大于 0.88, 确立了以 HPLC 指纹图谱为统一基准研究木薯叶质量的方法。

(2) 7 个品种中, SC13 在各植龄下其叶片总黄酮的还原力均最大 (FRAP 大于 20 mmol/g)、DPPH 自由基清除率的能力均最小 (EC_{50} 小于 20%), 抗氧化活性最强。其中, 还原力不受植龄影响, 存在明显的基因型差异; DPPH 自由基清除能力因植龄和品种离散程度各异。

(3) 应用偏最小二乘法回归与变量投影重要性进行抗氧化活性谱效分析, 发现 1 个成分对其抗氧化活性贡献度较高, 通过与标准品的对比, 指认为穗花杉双黄酮, 确定了木薯叶总黄酮抗氧化活性的物质基础。

参考文献

- [1] 李思茹, 韩冰, 李文欣, 等. 常见大戟科药用植物的药效物质基础[J]. 环球中医药, 2018,11(6):967-972
- [2] Sajid, Latif, Joachim, et al. Potential of cassava leaves in human nutrition: A review[J]. Latif S , Müller, Joachim. Potential of cassava leaves in human nutrition: A review[J]. Trends in Food Science & Technology, 2015, 44(2):147-158
- [3] 何翠薇, 陈玉萍, 覃洁萍, 等. 木薯茎秆及叶化学成分初步研究[J]. 时珍国医国药, 2011,22(4):908-909
- [4] WU Qiufei, XU Huan , WANG Qinfei, et al. A Comprehensive Review of the Utilization of Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) Leaf[J]. Agricultural Science & Technology, 2017,18(12):2576-2579
- [5] Kubo I, Masuoka N, Nihei K I, et al. Maniçoba, a quercetin-rich Amazonian dish[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2006, 19(6-7): 579-588
- [6] 周宁, 赵晓璐, 谢庆武. 超声波辅助提取木薯叶总黄酮及抗氧化性研究[J]. 粮食与油脂, 2016,29(10):21-24
- [7] 吕飞杰, 张振文, 尹道娟, 等. 木薯叶乙醇提取物对图丽鱼和罗非鱼生长影响的研究[J]. 中国热带农业, 2015(1):5-8
- [8] 杨霞, 李勤奋, 赵建国, 等. 木薯叶乙醇提取物对热应激下文昌鸡生产性能及血清抗氧化性能的影响[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2020(4):82-86
- [9] 王伟, 王定美, 李玮, 等. 3个木薯品种嫩茎叶中氢氰酸、总黄酮及主要营养成分含量的变化[J]. 植物资源与环境学报, 2017,26(01):84-90.
- [10] 王定美, 王伟, 麦力文, 等. HPLC法同时测定不同采收期木薯叶中6种类黄酮的含量[J]. 食品研究与开发, 2017,38(18):132-137.
- [11] 王琴飞, 吴秋妃, 徐缓, 等. 木薯叶片中黄酮醇类物质的提取与检测[J]. 西南农业学报, 2018,31(08):1694-1699.
- [12] 何翠薇, 覃洁萍, 黄俏妮. HPLC法测定木薯叶中芦丁的含量[J]. 中国药房, 2011,22(23):2160-2161.
- [13] 姚令文, 刘燕, 郑笑为, 等. 指纹图谱、特征图谱技术在中药材和中成药中的应用[J]. 中国新药杂志, 2018,27(08):934-939.
- [14] 曾令军, 林兵, 宋洪涛. 中药谱效关系研究进展及关键问题探讨[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(8): 1425 - 1432.
- [15] 王金梅, 姚辰, 李昌勤, 等. 基于DPPH、ABTS和FRAP法的红花抗氧化谱效关系研究[J]. 中国药学杂志, 2017, 52(10): 825-831.
- [16] 徐晶晶. 基于抗氧化谱效关系分析的薄荷药材质量控制和评价方法研究[D]. 北京中医药大学, 2014.
- [17] Yu Sheng, Yan Hui, Zhang Li, et al. A Review on the Phytochemistry, Pharmacology, and Pharmacokinetics of Amentoflavone, a Naturally-Occurring Biflavonoid[J]. Molecules., 2017, 22(02): <https://doi.org/10.3390/molecules 22020299>.
- [18] 张姣, 德吉, 付爱玲, 等. 密枝圆柏的化学成分及其抗补体、抗氧化活性[J]. 中草药, 2019, 50(13): 3008-3016.

苏云金杆菌 Bt 00-50-5 发酵液对辣椒根结线虫的田间防效评价

孙燕芳^{1**}, 裴月令¹, 陈园¹, 李周容^{1,2}, 冯推紫¹, 龙海波^{1***}

(¹中国热带农业科学院环境与植物保护研究所, 海南海口 571100;

²海南大学植物保护学院, 海南海口 570228)

摘要: 本研究评价测定了生防细菌苏云金杆菌 Bt00-50-5 发酵液对辣椒根结线虫病的田间防治效果。通过在辣椒移栽时进行灌根施用, 用量为 25 毫升发酵液兑水至 400 毫升每株, 45 天后土壤中线虫平均减退率达到 53.10%。在防治效果方面, Bt00-50-5 发酵液处理 60 天后对辣椒根结线虫病的防效为 66.30%, 而对照药剂阿维菌素防效为 58.89%, 两者之间具有显著差异性。在产量方面, 与清水对照相比, Bt00-50-5 发酵液灌根处理后辣椒增产率达到 96.30 %。试验结果表明, 苏云金杆菌 Bt00-50-5 对辣椒根结线虫病害具有良好的田间防治效果, 并且在辣椒的整个生长周期均表现安全, 具有良好的应用前景。

关键词: 根结线虫; 苏云金杆菌; 防效评价; 生物防治;

*基金项目: 国家重点研发计划项目 2018YFD0201209; 农业农村部部门预算项目“粮经轮作模式关键技术优化提升与集成示范”

**作者简介: 孙燕芳 (1986-), 女, 助理研究员, 从事植物线虫生物防治技术研究; E-mail:syf18289369980@163.com

***通讯作者: 龙海波, 男, 副研究员, 硕士生导师, 主要从事植物线虫学研究; E-mail:longhb@catas.cn

不同能量水平发酵鸡粪对蚯蚓生物转化效果的影响

麦力文^{1,2}, 王定美^{1,2}, 李勤奋^{1,2*}

1 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所, 海南 海口 571101; 2 海南省热带生态循环农业重点实验室, 海南 海口 571101

摘要: 食料中能量水平是影响蚯蚓转化效果的重要因素。在鲜鸡粪食用菌渣共发酵饲料基础上, 分别添加 5%、10%、15% 的玉米粉制成能量水平递增的发酵饲料作为黑水蚯蚓食料, 开展生物转化实验, 通过分析蚯蚓对营养物质的转化利用及蚯蚓可溶性有机物 (DOM) 组分变化特征, 评价蚯蚓对不同能量水平发酵鸡粪的生物转化效果。结果显示: 虫体生物量、蚯蚓对粗蛋白质、粗脂肪的转化效率及虫体粗脂肪含量随能量水平提高而增大, 蚯蚓产率、粗蛋白质与粗脂肪转化率、虫体粗脂肪含量分别达到 33.55%、29%、33.97%、31.51%; 在 5% 玉米粉添加量下, 虫体蛋白质含量、对虫料降解效率最高, 虫体蛋白质含量、减量率和降解速率分别为 39.61%、39.81% 和 913.03 mg/g/d。利用平行因子分析法对转化前后食料中水溶性有机物的三维荧光光谱分析发现, 食料转化前后样品含有 3 种荧光组分, 分别为类腐殖质物质、富里酸和类蛋白质物质。通过计算 3 种组分的荧光强度 (F_{max}), 发现蚯蚓转化前后, 类蛋白质物质荧光强度降低, 而富里酸及类腐殖质物质荧光强度增强, 说明蚯蚓转化过程是不稳定的有机类蛋白质物质转化为更稳定的富里酸和类腐殖质物质; 其中玉米粉添加量为 10% 时, 蚯蚓粪的类腐殖质物质荧光强度最高 (F_{max}=1807.99), 食料的腐殖化程度最高。该研究结果表明, 蚯蚓生物转化过程中, 蚯蚓转化营养物质效率最高与食料腐殖化进程最优的发酵鸡粪能量水平不一致, 提示在实际生产中需结合产物利用方式选择最优的食料能量水平。

关键词 发酵鸡粪; 蚯蚓生物转化; 能量水平; 营养物质; 腐殖化。

Impact of different energy level of fermentative chicken manure on bio-transformation by larvae of black soldier fly (*Hermetia illucens*)

MAI Liwen^{1,2}, WANG Dingmei^{1,2}, LI Qinfen^{1,2*}

1. Environment and Plant Protection Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou, Hainan 571101, China

2. Hainan Key Laboratory of Tropical Eco-circular Agriculture, Haikou, Hainan 571101, China

Abstract The energy level of feedstock is significant factor that impacts bio-transformation by larvae of black soldier fly. In this study, using different ratios of corn meal, was 0, 5%, 10% and 15%, to control gradient of energy level of feedstock which corn meal blend with mushroom dregs and chicken manure for fermentation. The objective in this study was evaluate effect of bio-transformation by larvae in different energy level of feedstock, through effect of nutrient content transformation in larvae body and

资助项目 中国热带农业科学院基本科研业务费专项资金 (1630042017001)

作者简介 麦力文, 男, (1990—), 实习研究员; 研究方向为废弃物循环利用。通信作者 (Corresponding author): 李勤奋 (LI Qinfen), E-mail: qinfenli2005@163.com。

change of dissolved organic matter (DOM) in larvae manure. The result indicates that larvae biomass, transformation efficiency of crude protein and crude fat, content of crude fat in larvae body was higher with energy level increasing and achieved highest at 33.55%、29%、33.97%、31.51% respectively. But content of crude protein in larvae, loss ratio and degradation rate of feedstock was achieved highest (39.61%,39.81% and 913.03 mg/g/d) when corn meal proportion was 5%. On the other hand, using excitation-emission matrix-parallel factor (EEM-PARAFAC) to analysis three-dimensional excitation-emission (3D-EEM) fluorescence spectrum was applied to ensure 3 different fluorescence components, that humic-like substance, fulvic acid and protein-like substance in sample of feedstock and larvae manure. The maximum fluorescence intensity (Fmax) of protein-like substance was stronger in feedstock than in larvae manure, but Fmax of humic-like substance was increase with bio-transformation. Thus process of larvae bio-transform organic waste was unstable substance protein substance change to more stable humic-like substance essentially. Especially when corn meal proportion was 10%, the Fmax of humic-like substance achieved highest 1807.99 than other treatment. Implying that the humic acid with larger molecular weight and higher degree of aromatization in this treatment. In general, the transform efficiency of nutrient content by larvae and the process of feedstock humification can not achieved best at the same time, it is suggest that choosing best energy level of feedstock should according to product use pattern.

Key words fermentation of chicken manure; bio-transformation; energy level; nutrient content; humification

噻唑膦制剂对辣椒根结线虫病田间防治作用评价

裴月令, 孙燕芳, 陈园, 冯推紫, 龙海波*

(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, 海南省热带农业有害生物监测与控制重点实验室, 海南 海口 571101)

摘要 根结线虫是辣椒生产中的重要病害。噻唑膦是防治根结线虫的常用药剂, 但市面上销售的不同浓度、剂型的噻唑膦制剂对根结线虫的防治效果的比较还缺少研究。笔者选择了来自7个厂家3类剂型及一种复配剂共11种噻唑膦制剂, 在海南省文昌市根结线虫常发的辣椒田内评价了其对该病的防治作用。结果表明来自日本石原产业株式会社的10%噻唑膦颗粒剂对根结线虫的防效最好为83.55%。其次为自河北三农农用化工有限公司的5%噻唑膦微乳剂, 防效为82.02%; 来自佛山市盈辉作物科学有限公司的6%噻唑膦和5%氨基寡糖素复配微乳剂, 防效为70.95%; 来自山东华阳农药化工有限公司的20%噻唑膦水乳剂, 防效为64.94%; 来自山东申达作物科技有限公司的20%噻唑膦水乳剂, 防效为63.96%; 来自山东申达作物科技有限公司的10%噻唑膦颗粒剂, 防效为61.38%; 来自佛山市盈辉作物科学有限公司的10%噻唑膦颗粒剂防效为46.69%。来自美国默赛技术有限公司的10%噻唑膦颗粒剂和来自河北威远生化农药有限公司的10%噻唑膦颗粒剂以及来自山东华阳农药化工有限公司的10%噻唑膦颗粒剂防治效果最差, 防效分别为27.67%, 25.67%和25.46%。

关键词: 辣椒 根结线虫 噻唑膦 防效

资助项目 国家重点研发计划(2018YFD0201209); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(1630042017003); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(NO.2016hzs1J014)

作者简介 裴月令(1981-), 女, 硕士, 助理研究员, E-mail: peiyueling@126.com, 研究方向: 蔬菜病害研究。通讯作者(Corresponding author); 龙海波(Long Haibo), E-mail: longhb@catas.cn。

基于种特异性 COI 标记的新入侵害虫咖啡果小蠹 快速鉴定技术

王政¹, 孙世伟¹, 孟倩倩¹, 陈华燕², 林伟³, 高磊⁴, 高圣风¹, 苟亚峰¹, 刘爱勤^{1*}

1. 中国热带农业科学院香料饮料研究所, 海南省热带香辛饮料作物遗传改良与品质调控重点实验室, 万宁, 571533; 2. 中山大学, 广州, 510275; 3. 拱北海关, 珠海, 519020; 4. 上海市园林科学规划研究院, 上海, 200232

摘要 咖啡果小蠹 *Hypothenemus hampei* Ferrari 是世界咖啡产业的重要害虫, 也是我国新入侵的检疫性有害生物。针对咖啡果小蠹体型微小、难以准确快速识别的问题, 本文以田间常见 12 种小蠹为参照, 采用基于线粒体 DNA 细胞色素 C 氧化酶亚基 I (mitochondrial DNA cytochrome c oxidase subunit I, mtDNA COI) 基因的种特异性 (species-specific COI, SS-COI) PCR 方法, 研究该虫快速分子检测技术。结果表明, 13 种小蠹均能通过通用引物 S1718/A2237 扩增得到约 520 bp 的条带, 基于此片段设计了一对咖啡果小蠹种特异性 COI 引物 (HHTYF1/HHTYR3), 优化 PCR 扩增条件和程序, 从咖啡果小蠹不同发育阶段和组织样本中均可成功扩增出一条特异性的 453 bp 的 DNA 条带, 而在其他 12 种小蠹中未得到该条带。灵敏性结果显示, 该特异性引物的最低检测阈值为 203.13 pg/μL, 相当于 1/512 头咖啡果小蠹成虫。研究结果可用于咖啡果小蠹的快速鉴定及检疫监管, 对有效阻止其进一步传播扩散具有重要意义。

关键词 咖啡果小蠹; 种特异性引物; mtDNA COI; 快速鉴定

分类号 Q966

文献标识码 A

Rapid identification technique of *Hypothenemus hampei*

Ferrari (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), a new

invasive pest in China, based on species-specific COI marker

WANG Zheng¹, SUN Shiwei¹, MENG Qianqian¹, CHEN Huayan², LIN Wei³, GAO Lei⁴, GAO Shengfeng¹, GOU Yafeng¹, LIU AiQin^{1*}

1. Spice and Beverage Research Institute, CATAS, Hainan Provincial Key Laboratory of Genetic Improvement and Quality Regulation for Tropical Spice and Beverage Crops, Wanning 571533, China

2. Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China

3. Gongbei Customs, Zhuhai 519020, China

4. Shanghai Academy of Landscape Architecture and Planning, Shanghai 200232, China

Abstract Coffee borer berry (*Hypothenemus hampei*) is an important pest of the world coffee industry. It is also an invasive quarantine pest newly found in China. Morphological identification of *H. hampei* is limited by small size. This study aimed to develop a one-step PCR procedure for rapid identification of *H. hampei* using species-specific COI (SS-COI) marker based on mitochondrial DNA cytochrome c oxidase subunit I (mtDNA COI) gene, and other 12 common bark beetle species in the field were used as the control. The result showed that a single band of about 520 bp was amplified and sequenced from *H. hampei* and the other 12 common bark beetle species by mtDNA COI gene universal primers S1718/A2237. And then one pair SS-COI primers for *H. hampei*, HHTYF1/HHTYR3, was designed. After optimization for the amplification procedure, these primers were used successfully to obtain a 453 bp PCR production from all developmental stages and different tissues of *H. hampei*. This band was not found in other 12 common bark beetle species. Sensitivity test results demonstrated that successful amplification could

be obtained with the concentration of template DNA as low as 203.13 pg/ μ L, equal to 1/512 of a whole adult of *H. hampei*. This rapid identification method here of *H. hampei* could be useful in port quarantine and interception in national and international transportation of agricultural products, and should be significant in blocking further spreading and developing targeted prevention and control measures of *H. hampei*.

Key words *Hypothenemus hampei* Ferrari; species-specific primers; mtDNA COI; rapid identification

资助项目: 中国科协“一带一路”国际科技组织合作平台建设项目 (No. 2020ZZGJB072046); 农业农村部政府购买服务项目 (No. 15206018)。

作者简介: 王政 (1986-), 男, 助理研究员, 研究方向: 昆虫分子生物学及化学生态学。通讯作者 (Corresponding author): 刘爱勤 (LIU Aiqin), E-mail: laq3680@163.com

湛江农垦甘蔗生产机械化研究与规模经营实践分析

刘建荣¹，田夏红¹，陈海燕²，何益盖³

(¹广东省湛江农垦科学研究所，广东湛江 524086；²广东省湛江农垦集团公司，广东湛江 524022；³广东农垦糖业集团有限公司，广东湛江 524022)

摘要：通过对湛江农垦甘蔗生产机械化技术推广情况总结，并与人工作业进行成本、工效、周期效益对比研究分析，挖掘其节本优势、效率和效益优势，总结农机农艺结合技术要求，对湛江地区乃至全国应用推广甘蔗机械化技术具有现实的指导意义。同时对甘蔗机械化收获含杂率高的问题进行剖析，测算造成的产糖损失，提出对机收甘蔗的去杂处理工序和去杂原理建议。

关键词：甘蔗；机械化；规模经营；实践研究

一、湛江农垦甘蔗机械化生产现状

湛江农垦是湛江地区产糖大型国有企业，常年种植面积约 40 万亩，占湛江地区的 25%，年产工业甘蔗 210—220 万吨。广东农垦糖业集团有限公司拥有五家全资制糖企业，年产糖能力约 60 万吨，约占湛江地区总产糖量的 60%以上，约占广东省总产糖量的 50%以上，是广东农垦蔗糖板块专业化、产业化集团之一，也是广东省最大甘蔗制糖产业集团之一。随着改革深入和经济发展，我国农村劳动结构发生深刻变化，机械化已成为甘蔗产业的迫切需求，机械化更是提高劳动生产率，降低生产成本，减轻农民劳动强度，促进我国糖业发展的关键。

甘蔗机械化生产包括耕整地（深耕、深松、整地），开行种植、中耕施肥、植保、灌溉、收获、装载运输，以及宿根蔗的破垄平茬和蔗叶粉碎还田等各个环节的机械化作业。甘蔗深耕深松及整地、开沟种植、中耕培土、植保、灌溉及运输等方面的机具机型已经成熟，并已发湛江垦区大面积推广应用，甘蔗耕整地 100%机械化实施。2016 年，湛江农垦甘蔗总面积 32.98 万亩，机械化种植 5.6 万亩，节水灌溉 1.43 万亩，机械化中耕施肥 9.78 万亩；2017 年，甘蔗总面积 37.7 万亩，机械化种植 8.82 万亩，机械化中耕施肥 19.4 万亩，机械化收获 3.6 万亩 15.36 万吨；2018 年甘蔗总面积 39.86 万亩，机械化种植 9.12 万亩，机械化中耕施肥 20.06 万亩，机械化收获 3.99 万亩 14.84 万吨；2019 年，甘蔗总面积 38.99 万亩，机械化种植 8.02 万亩，机械化中耕施肥 17.63 万亩，机械化收获 3.5 万亩 13.85 万吨。

二、甘蔗机械化与人工作业对比研究

1、作业成本与工效比较

我们收集了 2017—2019 年甘蔗机械化与人工作业方式的有关成本和工效数据，综合在甘蔗机械化与人工作业方式对比分析表中（表 1）。从表 1 可以看出，甘蔗地机耕整地平整后，随即进行甘蔗机械化种植工序，由 1 台甘蔗种植机配 1 名司机和 5 名工人，1 天 8 小时种植 30 亩甘蔗，每亩甘蔗种植成本（含农机、人工费用）110 元，比人工作业降低 140 元，平均每人每天作业工效 5 亩，是人工作业的 5 倍，且劳动强度低。在甘蔗拔节期进行破垄施肥培土作业工序，由 1 台大型破垄施肥机和 1 台培土机作业，配 2 名机手，2 名工人，1 天 8 小时作业 100 亩，每亩甘蔗中期田管成本 55 元，与人工牛犁作业的相同，但机械工效是人工的 12.5 倍，且劳动强度低。在甘蔗收获期进行收获作业工序，由 Case8000 收割机配 2 名转运车 3 名技术工人 1 天 15 小时收割 250 吨甘蔗，每吨甘蔗机收

基金项目 现代农业产业技术体系建设专项“国家糖料产业技术体系湛江综合试验站”(No.CARS-170708)。

第一作者简介 刘建荣(1971—)，男，高级农艺师，研究方向：热带作物栽培、植保研究等；联系电话：13828288406；E-mail: zjnkys@163.com。

成本 71.6 元，比人工砍收的降低 68.4 元，平均每人每天机械工效 83 吨，是人工作业的

69 倍，且劳动强度低。以亩产甘蔗 5.5 吨计，每亩机收成本 394 元，比人工节约 376 元。综合上述研究分析，甘蔗机械化每亩生产成本比人工成本节约 525 元，机械化作业生产效率大幅提升，劳动强度大幅降低，这为甘蔗规模经营提供了技术支撑。

2、多年成本和综合效益比较

湛江农垦有关甘蔗农场是以承包甘蔗 40—55 亩为 1 个岗位，一般实行甘蔗机械化种植，机械化田管，人工收获方式进行经营。如是地块较小，且分散或坡度大的土地，职工对种管收工序采取人工作业方式经营。我们对种管收人工作业方式与机种机管+人工收获方式比较，以 2017—2019 年三年的生产成本、平均亩产量、甘蔗平均单价等进行单位成本效益分析，其具体数据结果见表 2。种管收人工作业方式为对照，以 1 年新植、2 年宿根的 1 个生产周期指标进行统计，种植每亩用种量为 0.6 吨，种植时进行人工淋水，第 2 年宿根蔗一般要进行补植蔗种 0.2 吨，以保证单位产量，新植蔗每亩产量 6.7 吨，宿根蔗每亩产量 5.5 吨，湛江农垦三年甘蔗平均价格每吨 410 元。三年生产成本平均每年为 1807 元，平均每亩甘蔗产值 2419 元，土地使用费每亩每年 600 元，甘蔗平均每年每亩经营利润 12 元，劳务收入平均每年 1095 元，以 1 个人工经营的岗位 40 亩计，职工承包甘蔗年平均纯收入 44280 元。机种机管+人工收获方式，以 1 年新植、2 年宿根为 1 个生产周期的指标进行统计，机种每亩用种量 0.75 吨，第 2 年宿根蔗一般进行补植蔗种 0.2 吨，新植蔗每亩 6.7 吨，宿根蔗每亩 5.5 吨，则三年生产成本平均每年为 1745 元，平均每亩甘蔗产值 2419 元，甘蔗每亩经营利润 73.83 元，劳务收入 1012.67 元，以 1 个半机械化经营岗位 55 亩计，职工承包甘蔗年平均纯收入 69757 元，比人工经营岗位年平均增加纯收入 15477 元。

三、甘蔗规模经营的实现方式

由于甘蔗经营采取人工作业方式，其经营利润极低，在当前季节性劳动力大量需求又无法满足的情况下，湛江地区的土壤、地貌、气候、地块

大小等均适合甘蔗机械化作业，这就使甘蔗生产机械化作业成为必然。湛江农垦实现甘蔗机械化作业规模经营的方式有以下几种，一是农场独立经营，农场集中连片土地，进行土地整理、道路、地块大小、形状规划，经营种植甘蔗，如广东广垦农机服务有限公司经营 7.6 万亩，平均每人经营 1246 亩。有关农场经营的甘蔗基地共 19 个，面积 15414 亩。二是职工模拟股份经营体，即农场生产队组织队内职工，集中土地，以职工自愿参与、自愿购股方式出资，由模拟股份经营体自购农业机具，选举有经营能力、掌握甘蔗机械化技术的干部和能人经营，其作业工人也由队内职工组成，按市场作业价格结算劳务费，次年甘蔗结算时按股分红的经营方式。2019 年湛江垦区职工模拟股份经营体 3 个，经营面积 1057 亩，初始出资额 158 万元，2017—2019 年实现盈利并分红 19 万元。三是职工个体经营户，即农场有经济实力的职工干部单独承包大面积甘蔗（100 亩以上），实施甘蔗机械化生产作业，实现规模经营利润为目的的经营体。2019 年湛江垦区职工个体经营户 477 户，经营面积 8.13 万亩，三年累计实现盈利 5004 万元。

四、甘蔗机械化农机农艺结合技术要求

1、甘蔗品种要求：蔗茎不倒伏，中茎品种（茎径 2.0—2.8cm），株高 230—310cm，亩有效茎 4000 条以上，易脱叶，亩产量 5—6.5 吨之间为好，人工收获其宿根发株率 95%以上。

2、土地地块要求：地块坡度小于 8 度，地块方形，长为 250—300 米，宽为 75—200 米，面积 28—90 亩之间为好，地块平整无障碍物，田间道路宽 4 米，主路宽 6 米。

3、大型收获机要求的行距：行距 120cm，或大小行距 140cm+40cm，适合 Case7000 和 Case8000 收获机机型，经测试，机收含杂率 4—8%，视天气、机手熟练度、品种等有关。

表1 甘蔗机械化与人工作业方式成本工效对比分析表

| 作业方式 | 作业工序 | 机械作业具体程序、配置和完成面积描述 | 机械和劳务成本 | | | | | 机械化除草 | | | 机械与人工比较 | | |
|-------|----------|--|----------------|-----------|---------------|------------|--------|-------|--------------|--------|------------------|---------------|-----------|
| | | | 行距 (CM) | 下蔗种量 (kg) | 机械每亩或每吨成本 (元) | 劳务每亩成本 (元) | 小计 (元) | 次数 | 每亩每次劳务成本 (元) | 小计 (元) | 平均每人每天作业工效 (亩/吨) | 单位成本比人工节约 (元) | 作业工效是人工倍数 |
| 机械化作业 | 机械化种植 | 1台甘蔗种植机配1名机手和5名工人，一天8小时种植30亩。 | 120cm或140+40cm | 750kg | 50 | 60 | 110 | | | | 5 | 140 | 5 |
| | 机械化除草 | 在甘蔗种后且土壤有湿润或下雨后甘蔗田长出杂草在3叶期内化除第1次，在破垄施肥前且土壤湿润杂草开始长出时喷第2次，在施肥培土后土壤湿润时喷第3次。1台喷药机配机手1名和工人1名，一天8小时作业120亩。 | | | | | | 3 | 12 | 36 | 60 | 3 | 12 |
| | 机械破垄施肥培土 | 1台大型破垄施肥机和1台培土机，配2名机手和2名工人，一天8小时作业100亩。 | | | 46 | 9 | 55 | | | | 25 | 0 | 12.5 |
| | 机械化收获 | 1台Case8000收割机配2台转运车3名技术工人，一天15小时收割250吨甘蔗。 | | | 71.6 | | 71.6 | | | | 83 | 68.4 | 69 |
| 人工作业 | 牛犁人工种植 | 机耕两犁一旋耕后，再机械开沟，组织3名工人种植，1天8小时种植3亩。 | | | 20 | 230 | 250 | | | | 1 | | |
| | 人工除草 | 1名工人一天8小时作业5亩。 | | | | | | 3 | 15 | 45 | 5 | | |
| | 牛犁破垄施肥培土 | 1头牛配置2名工人，一天8小时作业10亩。 | | | | 55 | 55 | | | | 2 | | |
| | 人工收获 | 平均每人每天砍收甘蔗1.2吨。 | | | 140 | | 140 | | | | 1.2 | | |

表2 甘蔗机械化与人工作业方式成本效益分析表

| 项 目 | 作业方式 植期 | 人工作业 | | | | 机种和机管+人工收获 | | | |
|----------------------|------------|-----------------------------|-------|-------|---------|------------------------------|-------|-------|---------|
| | | 新植 | 第1年宿根 | 第2年宿根 | 年平均 | 新植 | 第1年宿根 | 第2年宿根 | 年平均 |
| 1、种苗 | (元) | 246 | 0 | 82 | 109.33 | 307.5 | 0 | 82 | 129.83 |
| 2、土地机耕费 | (元) | 150 | 0 | 25 | 58.33 | 180 | 0 | 25 | 68.33 |
| 3、农资费用 | 小计(元) | 625 | 474 | 504 | 534.33 | 625 | 474 | 504 | 534.33 |
| | 肥料 | 530 | 420 | 450 | | 530 | 420 | 450 | |
| | 农药 | 50 | 50 | 50 | | 50 | 50 | 50 | |
| | 农膜 | 40 | | | | 40 | | | |
| | 竹箴 | 5 | 4 | 4 | | 5 | 4 | 4 | |
| 4、劳务费 | 小计(元) | 1385 | 925 | 975 | 1095.00 | 1156 | 916 | 966 | 1012.67 |
| | 种植环节(含淋水) | 280 | 0 | 50 | | 60 | 0 | 50 | |
| | 中期破垄施肥 | 55 | 55 | 55 | | 55 | 55 | 55 | |
| | 3次除草 | 45 | 45 | 45 | | 36 | 36 | 36 | |
| | 砍收环节 | 1005 | 825 | 825 | | 1005 | 825 | 825 | |
| 5、其他 | (元) | 10 | 10 | 10 | 10.00 | | | | |
| 合 计 | (元) | 2416 | 1409 | 1596 | 1807.00 | 2268.5 | 1390 | 1577 | 1745.17 |
| 6、亩产量 | (吨) | 6.7 | 5.5 | 5.5 | 5.90 | 6.7 | 5.5 | 5.5 | 5.9 |
| 7、2017—2019年平均 单价 | (元) | 410 | 410 | 410 | | 410 | 410 | 410 | |
| 8、亩产值 | (元) | 2747 | 2255 | 2255 | 2419.00 | 2747 | 2255 | 2255 | 2419 |
| 9、土地使用费 | (元) | 600 | 600 | 600 | 600.00 | 600 | 600 | 600 | 600 |
| 10、经营利润 | (元) | -269 | 246 | 59 | 12.00 | -121.5 | 265 | 78 | 73.83 |
| 备 注 | | 土地耕作为：一犁两耙一开沟，甘蔗种植用种量为0.6吨。 | | | | 土地耕作为：一犁两耙再机种，甘蔗种植用种量为0.75吨。 | | | |

五、甘蔗机械化技术推进存在的问题与讨论

机械化收获的甘蔗质量不符合糖厂甘蔗加工的技术要求。据 2019/2020 榨季湛江农垦华丰糖业有限公司抽样测定，机收甘蔗实际含杂率达 5.15%，同时其含有蔗笋和蔗尾不合格甘蔗量占 12.49%，如是人工砍收甘蔗，这些蔗笋不能砍收进糖厂，蔗尾砍收要求砍到见鸡蛋黄蔗肉，之上部分不能砍收进糖厂。以平均日榨量 5700 吨计，当机收甘蔗量占比 3.17%，甘蔗产糖率这 11.83%；当机收甘蔗量占比 15.4%，其甘蔗产糖率为 10.87%；当机收甘蔗量占比 22.36%，其甘蔗产糖率为 10.12%。2019/2020 榨季湛江垦区机收量为 13.85 万吨，机收有效天数为 60 天，即除去雾水天占时，平均每天机收量为 2308 吨，而广丰、华丰、调丰三家垦区糖厂日榨总量为 14900 吨，即机收量占比为 15.5%，其对应产糖率为 10.87%，与占比 3.17%的产糖率比较，按榨季机收 60 天计，则损失产糖 8582 吨，按白糖平均市场价 5300 元计，则机收甘蔗造成产糖减少的经济损失 4548 万元。这就是糖厂不愿大量接收机砍甘蔗的问题所在，也是影响湛江农垦进一步推进甘蔗机械化收获的关键因素。

在甘蔗糖厂对机械化收获的甘蔗进行除杂处理是一项技术性很强的工艺，其技术指标要求：除杂处理甘蔗量要大，与糖厂日榨量的 30—60%相当；除杂效果要好，含杂率从 17.6%下降到 5%以下，且不影响原料甘蔗的变质；耗能要低、操作要较简便。对于机收甘蔗含蔗叶和泥土杂质的问题，我们提出采取热风干燥并鼓吹分离甘蔗与蔗叶泥土杂质的办法进行第一步除杂；对于蔗笋和蔗尾不合格甘蔗的除杂采取红外线照射光学原理区别出笋蔗尾蔗，再对其高速弹击分离办法进行第二步除杂，这需要进行可行性试验研究，得出可靠的实际技术指标和成本测定才能说明问题。

荔枝三种新重要病害的研究进展

习平根¹, 于戈¹, 张荣², 孔广辉¹, 姜子德^{1*}

(1 华南农业大学植物保护学院植物病理学系, 2 华南农业大学园艺学院, 广州 510642)

Research Progress on three new important diseases in litchi

XI Pinggen¹, YU Ge¹, ZHANG Rong², KONG Guanghui¹, JIANG Zide^{1*}

(1 Department of Plant Pathology, College of Plant Protection, 2 College of Horticulture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

摘要: 荔枝 (*Litchi chinensis* Sonn.) 是中国南方亚热带地区广泛栽培的特产果树, 具有极高的经济价值和营养食用价值。近十年来, 随着植物化学保护技术进步及各主产区对荔枝霜疫病和炭疽病监测与防控的高度重视, 该两大病害基本得到了有效控制; 随着荔枝控梢促花技术水平不断提高, 荔枝“大小年”结果现象逐渐被克服, 年年丰产或“大中年”结果在各主产区越发普遍; 在荔枝病害管理上则出现了一些新情况, 其一次要病害在个别产区严重发生, 如荔枝线疫病, 其二少数荔枝果园肥水管理不善, 导致荔枝抗病能力降低, 于是出现了新的严重病害, 如白粉病和干腐病。经近几年的系统调查、研究和田间防控试验, 获得如下主要结果:

1. 荔枝白粉病主要为害“黑叶”荔枝和“白糖罂”荔枝果实, 发病严重时, 病果率超过 50%。病初期仅幼果果皮的龟裂片间隙间有白色粉层, 随着果实的膨大和病害的发展, 白色粉层扩至龟裂片上, 龟裂片则由绿色变成褐色; 果实转红期, 果皮因白粉菌为害变成褐色, 果皮僵硬, 严重影响了果实的品质和外观。经形态学和分子鉴定, 病原菌为夏栎生白粉菌 (*Erysiphe quercicola*)。田间药剂防治试验结果表明, 在发病初期, 喷施粉锈宁、戊唑醇 2-3 次, 间隔期 10-15 天, 该病可得到有效控制。

2. 荔枝干腐病主要发生在“妃子笑”和“仙进奉”荔枝, 病初期多于主干嫁接口或环剥/环割部位出现流胶、凹陷, 病部不断发展导致皮层及木质部大面积褐变坏死、树皮龟裂, 当坏死环绕一周后则整株枯死。经对病原菌分离培养、接种试验、形态学比较及分子鉴定, 认为该病由葡萄座腔菌 (*Botryosphaeria rhodina*) 和白丛赤壳菌 (*Albonectria rigidiuscula*) 复合侵染所致。病原菌的生物学特性测定结果表明, 两菌的最适生长温度为 30 °C。室内药剂筛选与田间防控试验结果表明, 苯甲丙环唑和吡唑醚菌酯可有效控制该病害。

3. 荔枝线疫病多发生于“白糖罂”荔枝, 病原菌在树干形成一层白色丝状物, 自树干基部沿茎干逐渐向上扩展蔓延, 直至小枝和叶片; 当白色丝状物蔓延至小枝和叶片, 小枝和叶片将会干枯, 故发病中度严重则半边枯死, 重度发病的则整株枯死。该病的发生与果园湿度大、枯枝落叶不清理关系极大。经病原菌分离培养、接种试验和分子鉴定, 为一种伏革菌 (*Corticium* sp.), 具体种名待诱导产生子实体后确定。该菌最适生长温度为 25 °C, 百菌清、溴菌腈和苯甲丙环唑均有较好的抑菌效果。

关键词: 荔枝白粉病; 荔枝干腐病; 荔枝线疫病

基金项目 国家荔枝龙眼产业技术体系“病害防控岗位”(No. CARS-32-11); 农业农村部农作物病虫害疫情综合防控项目 (No. 18200005)。

作者简介 习平根 (1969—), 男, 副教授, 研究方向: 植物病原真菌及其病害防治研究。通讯作者 (Corresponding author): 姜子德 (JIANG Zide), E-mail: zdjiang@scau.edu.cn.

香蕉新品种‘南天红’¹⁰

杨兴玉¹, 肖维强¹, 许林兵^{1*}, 李华平², 黄秉智¹, 叶春海³, 陈彪³, 陈谷⁴, 吕庆芳³, 梁钾贤³, 吴元立¹, 胡玲玉¹,

(1 广东省农业科学院果树研究所, 农业部南亚热带果树生物学与遗传资源利用重点实验室, 广东省热带亚热带果树研究重点实验室, 广州 510640 ; 2 华南农业大学; 3 广东海洋大学; 4 华南理工大学)

摘要: ‘南天红’香蕉是以‘南天黄’为母株通过自然突变选育出来的品种。植株生长较直立, 假茎平均高度 2.59 米, 幼树假茎基部外深紫红至暗红色, 抽蕾后转绿。假茎上部颜色较‘南天黄’绿深, 较‘宝岛蕉’绿浅; 果轴常不带绒毛; 苞片外色较‘南天黄’红色深, 花苞卷曲, 常不脱落; 种植到收获 11-13 个月, 单株产量 25 千克。因其品质好, 中高抗香蕉枯萎病 4 号小种, 采用配套的栽培技术可在所有香蕉种植区推广。

关键词: 香蕉; 品种; 自然突变

¹⁰收稿日期: 接收日期:

基金项目: 广东省科技厅产学研项目: 抗枯萎病香蕉品种选育、基因组序列测序、繁殖及配套栽培技术推广应用研究

(2015b020202005), 广东省农业科学院果树研究所所长基金 (201908), 农业部南亚热带果树生物学与遗传资源利用重点实验室开放课题 (2017B030314113)。

作者简介: 杨兴玉, 女, 助理研究员, 从事香蕉种质资源鉴定及创新利用研究工作。Tel:020-38694296,E-mail:yangxingyu@gdaas.cn

通讯作者: Author correspondence. E-mail:270791965@qq.com

不同施用量下 25%双环磺草酮对水稻苗期生长及防效的影响

秦猛, 刘丽华*, 郑桂萍, 崔士泽, 陶博, 王召君

(黑龙江八一农垦大学农学院 黑龙江大庆 1633119 中国)

【研究背景】水稻是我国重要的粮食作物之一,但在水稻大面积生产的同时会受到禾本科杂草、阔叶杂草和莎草科杂草的危害。双环磺草酮是一种以对-羟苯基丙酮酸双氧化酶(HPPD)为作用靶标的双环辛烷类化学除草剂,可以有效的解决对磺酰脲类、ALS 抑制剂类除草剂产生抗性的杂草,对水稻的生长发育起到积极的作用。为明确其对水稻秧苗素质的影响及对苗期内常见杂草的防除效果,开展以不同浓度对不同水稻品种苗期生长及杂草防效的研究。**【材料与amp;方法】**该试验于黑龙江八一农垦大学水稻中心进行,采用随机区组试验设计;分别以长粒品种“龙稻 18”(A1)和圆粒品种“垦粳 8 号”(A2)为供试品种;将双环磺草酮设置为 0.6 L/hm² (B1)、1.5 L/hm² (B2)、2.4 L/hm² (B3) 3 种不同浓度梯度;共 8 个处理: A1B1、A1B2、A1B3、A2B1、A2B2、A2B3、清水对照为 CK1、CK2;采用秧盘育苗试验,每盘面积 0.17m²,每处理 4 次重复;水稻肥料分两次施用,基肥 8g/盘,追肥 10g/盘;待水稻出苗后分别测定株高、叶龄、茎基宽、叶绿素含量等生理指标,并进行药效评价。**【结果与分析】**结果表明, A1B1、A1B2 较 CK1 株高生长效果较好,但未达到显著差异,而 A1B3 较 CK1 显著降低; A2B1 较 CK2 略有降低,但未达到显著差异, A2B2、A2B3 较 CK1 显著降低; A1B1、A1B2、A1B3 叶龄较 CK1 都存在降低趋势,但未达到显著差异; A2B1、A2B2 对叶龄影响较小,较 CK2 降低不显著, A2B3 较 CK1 显著降低;茎基宽 A1B1 低于 CK1 但不显著, A1B2、A1B3 显著低于 CK1; A2B1 与 CK2 相比显著的提高了茎基宽,但 A2B2、A2B3 较 CK2 降低且达到显著差异水平;叶绿素含量 A1B1 较 CK1 降低但不显著, A1B2、A1B3 较 CK1 降低且达到显著差异水平; A2B1、A2B2 较对照略有降低但不显著, A2B3 则显著低于 CK2; A1B1、A1B2、A1B3 对禾本科杂草株防效分别为 84.90%、87.66%、89.43%; A2B1、A2B2、A2B3 分别为 86.11%、91.11%、91.81%; A1B1、A1B2、A1B3 对阔叶杂草株防效分别为 80.80%、83.93%、88.92%; A2B1、A2B2、A2B3 分别为 81.75%、83.07%、87.09% **【结论】**在本试验条件下,施用 3 种不同浓度的 25%双环磺草酮对两个不同水稻品种的秧苗素质及防效的效应不同,0.6 L/hm² 对水稻的秧苗素质有较好的促进作用,但防效低于高浓度处理,其次为 1.5 L/hm², 2.4 L/hm² 效果最差;所以,施用 25%双环磺草酮 0.6 L/hm²~1.5 L/hm², 对防除水稻苗期禾本科杂草、阔叶杂草等常见恶性杂草有较好的效果,且对水稻苗期生长较为安全,具有较好的推广潜力。

关键词: 水稻; 除草剂; 双环磺草酮; 秧苗素质; 防效

基金项目:国家重点研发计划项目(2018YFD0300104);黑龙江省自然科学基金委员会(C2018048);黑龙江八一农垦大学科研团队平台支持计划(TDJH201802)
作者简介:秦猛(1996-),男,吉林省长岭县人,硕士研究生,主要从事水稻高产栽培与耕作, E-mail: 1519815464@qq.com;
通讯作者:刘丽华*(1979-),女,黑龙江绥化人,副教授,硕士生导师,研究方向为水稻栽培学研究。E-mail: 11887352@qq.com

盐碱胁迫下芸豆 bZIP 转录因子的鉴定及分析

翟玲侠, 于崧, 侯玉龙, 于立河

(黑龙江八一农垦大学 作物品质分子生物学实验室 大庆 1633129)

摘要: bZIP 转录因子在植物逆境反应中起着关键性作用。本研究利用 Illumina HiSeq 技术, 构建了盐处理(NaHCO_3)和碱处理(NaCl)下的芸豆叶片组织转录组。从转录组数据中共筛选出 17 条盐碱相关 bZIP 转录因子, 其中包括一条膜结合转录因子, 17 条中 6 条为上调表达基因, 11 条为下调表达基因。17 个 *PvbZIPs* 分为 8 个亚族 (a-h), 同一亚族内, 蛋白结构域和内含子及外显子结构相对保守。不同的芸豆 bZIP 基因在不同位置、不同时期表达量有所不同。对 17 条 bZIP 启动子元件分析发现它们富集多种重要的非生物胁迫响应相关的启动子元件。本研究为后续芸豆相关盐胁迫 bZIP 转录因子机理探讨提供了一定的理论基础。

关键词: 芸豆; bZIP; 生物信息学; 盐碱

作者简介: 翟玲侠(1996-), 女, 吉林省延吉市人, 硕士研究生, 研究方向为寒地作物逆境生理生态, E-mail:1246534514@qq.com; 通讯作者: 于立河(1960-), 男, 黑龙江五常人, 教授, 博士, 从事麦类作物遗传研究与种质资源创新研究, E-mail:yulihe2002@126.com

喀斯特地区不同植被类型下土壤有机碳矿化差异分析

程汉亭, 周小慧, 李勤奋

(中国热带农业科学院环境与植物保护研究所, 海口, 571101; 海南省热带生态循环农业重点实验室, 海口 570100; 农业部儋州农业环境科学观测实验站, 海口 570100)

摘要:【目的】为探讨喀斯特地区不同植被类型对土壤有机碳矿化的影响, 研究了不同植被类型土壤有机碳累积矿化量和矿化速率。【方法】应用室内土壤培养法, 测定并分析玉米地、芒果地、灌草地和次生林 4 种植被类型的土壤在 25°C 和 60% 田间持水量条件下培养 21d 土壤有机碳累积矿化量和矿化速率的差异。【结果】不同植被类型下土壤有机碳矿化速率均表现为在培养的第 1 天至第 10 天逐渐上升, 随后呈下降趋势, 在第 21 天时又出现小幅度上升。有机碳累积矿化量随培养时间的增加而增加, 并在培养一周后, 随着时间的延长各土壤有机碳累积矿化量差异逐渐增大。4 种不同植被类型的土壤有机碳矿化速率和累积矿化量均存在显著差异, 且均表现为次生林 > 灌草地 > 玉米地 > 芒果地。【结论】结果表明, 喀斯特地区不同植被类型会显著影响土壤有机碳矿化, 土壤有机碳矿化速率随次生林变成灌草地或种植地而下降, 因此, 在植被恢复过程中需要考虑土壤碳动态变化, 以减少土壤碳储量以矿化形式损失。

耐铝菌 A5 在砖红壤中的定殖规律研究

李怡^{1,2}, 邓晓^{1,2}, 吴东明^{1,2}, 谭华东^{1,2}, 武春媛^{1,2*}

1 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所, 海南海口 571101; 2 海南省热带生态循环农业重点实验室, 海南海口 571101

摘要 我国热区砖红壤面积广阔。铝是地壳中最丰富的金属元素, 在酸性土壤中交换铝含量较高, 铝易活化成离子态, 土壤和地下水中高浓度的活性铝可毒害土壤生物, 影响作物产量, 危害生态系统。可通过筛选耐铝微生物, 研究其在酸性砖红壤中的定殖规律, 筛选出能改善土壤生态环境的定殖能力强的菌株, 进行应用。以耐铝菌A5为研究对象, 采用抗生素标记的方法, 逐级提高培养基中利福平的浓度, 筛选可在高浓度利福平下稳定生长的突变株A5。将初始浓度为 1.0×10^7 cfu/mL的菌悬液均匀施入砖红壤中, 保持一定的湿度和温度, 定时取样, 在利福平平板上稀释涂布, 计数, 测定不同时期菌株A5的存活数量。结果表明, 菌株A5接种于砖红壤7d后, 与初始接种量相比, 定殖数量略有下降; 14d后定殖数量小幅增加, 21d后缓慢下降; 接种35d后, 仍可从土壤中检测到利福平标记的菌株A5。结果表明菌株A5在砖红壤中的定殖能力较强, 为菌株A5的进一步应用提供了科学依据。基金项目: 国家自然科学基金资助项目(41701307)。

关键词 耐铝菌; 定殖规律; 砖红壤

作者简介 李怡(1986—), 女, 副研究员; 研究方向: 环境微生物学。通讯作者(Corresponding author): 武春媛(WU Chunyuan), E-mail: wuchunyuan1981@126.com。

槟榔叶部细菌的分离与分子鉴定

唐庆华¹, 孙贞菊², 王慧卿¹, 余凤玉¹, 宋薇薇¹, 于少帅¹, 牛晓庆¹, 孟秀利¹, 杨德洁¹, 林兆威¹, 覃伟权^{1,3*}

(1 中国热带农业科学院椰子研究所, 院士团队创新中心, 海南省槟榔产业工程研究中心, 海南 文昌 571339; 2 海南热带海洋学院水产与生命学院, 海南 三亚 572022)

摘要 对 2010-2020 年采集的槟榔病叶样品进行了细菌分离和分子鉴定。16S rDNA 序列比对、系统发育分析结果表明, 供试 35 个细菌菌株分属于 8 属, 分离比例最多的为伯克霍尔德氏属 (*Burkholderia*), 其次为短小杆菌属 (*Curtobacterium*)、鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas*)、芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、泛菌属 (*Pantoea*) 和叶居菌属 (*Frondehabitans*)。其中, 伯克霍尔德氏属菌株数占全部分离菌株的 54.29%, 这些菌株可以进一步鉴定为须芒草伯克霍尔德氏菌 (*Burkholderia andropogonis*; synonym: *Robbsia andropogonis*)。分析结果表明由其引起的槟榔细菌性叶斑病为当前海南省占据优势地位的细菌性病害。同时, 本研究还丰富了槟榔叶部内生细菌的资源。

关键词 槟榔; 叶部病害; 内生细菌; 分离; 分子鉴定

Bacterial Isolation on Arecanut leaves and Its Molecular Identification

TANG Qinghua¹, SUN Zhenju², WANG Huiqing¹, YU Fengyu¹, YU Shaoshuai¹, SONG Weiwei¹, Niu Xiaqing¹, MENG Xiuli¹, YANG Dejie¹, Qin Weiquan¹

(1 Hainan Innovation Center of Academician Team, Hainan Engineering Research Center of Arecanut Industry, Coconut Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Wenchang Hainan 571339; 2 College of Fisheries and Life Science of Hainan Tropical Ocean University, Sanya Hainan 572022)

Abstract: Bacterial was isolated from diseased leaves of areca nut which were collected from 2010 to 2020 and was identified. The results of 16S rDNA sequence homology and phylogenetic tree showed that the 31 endophytic bacterial strains belonged to 8 genera, including *Burkholderia*, *Curtobacterium*, *Sphingomonas*, *Bacillus*, *Pantoea* and *Frondehabitans*. Among these isolates, *Burkholderia* isolates, accounted for 54.29% of the total isolated strains, were all further identified as *Burkholderia andropogonis* (synonym: *Robbsia andropogonis*). The results indicated that betel nut bacterial leaf spot caused by *B. andropogonis* (synonym: *R. andropogonis*) was the most prevalent bacterial disease in Hainan Province currently. The pool of endophytic bacterial from leaves of areca nut was also broadened in this research.

Key words: arecanut; leaf disease; endophytic bacterial; isolation; molecular identification

槟榔 (*Areca catechu* L.) 属棕榈科常绿乔木, 是印度和中国等种植国的重要经济作物。在中国, 海南省槟榔种植面积和总产量均占中国的 95% 以上。迄今, 槟榔已发展成为海南省第一大支柱产业 (丁晓军等, 2014; 谭乐和, 2006)。至 2018 年, 全省槟榔种植面积超过 11.0 万 hm^2 , 产值达 287.3 亿元, 现已成为中东部地区 230 多万农民 (约占全省常住总人口的 1/4) 的主要收入来源之一 (唐庆华等, 2019)。例如, 在“槟榔之乡”一万宁, 2018 年槟榔在全市农民人均收入中的贡献率为 32%, 2017 年则达到 38% (万宁市槟榔产业局数据)。此外, 槟榔在海南“精准扶贫”以及“乡村振兴”战略实施中起着重要作用。

据统计, 槟榔叶部病害约有 20 种 (李增平和罗大全, 2007; 覃伟权和范海阔, 2010; 覃伟权和朱辉, 2012), 大部分为真菌病害, 少部分为细菌和病毒病害。在这些叶部病害中, 为害比较严重的有炭疽病、病毒病 (Yang et al, 2018、2019) 和植原体引起的槟榔黄化病 (覃伟权和唐庆华, 2015)。细菌性病害也是槟榔叶部重要病害之

基金项目: 海南省槟榔病虫害重大科技计划项目 (zdkj201817)、槟榔产业技术创新团队项目 (1630152017015) 资助。

作者简介: 唐庆华 (1978—), 男, 副研究员, 博士, 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 (1969—), 男, 研究员, 硕士, 主要从事棕榈植物害虫生物防治研究; E-mail: QWQ268@sohu.com

一，因其常在台风和雨季爆发，严重影响槟榔的生长和产量。迄今，国内外已报道的细菌性病害有细菌性条斑病和细菌性叶斑病。细菌性条斑病于 1947 年首次在印度发现 (Balasimha & Rajagopal, 2004); 1976 年 Rao 和 Mohan 将病原鉴定为 *Xanthomonas arecae* (Rao and Mohan, 1970, 1976), 1981 年 Sampath Kumar 将病原进一步鉴定为野油菜黄单胞菌槟榔致病变种 (*Xanthomonas campestris* pv. *arecae*, *Xca*) (Sampath Kumar, 1981)。1989 年, 文衍堂和洪祥千报道海南省发生细菌性条斑病 (文衍堂和洪祥千, 1981)。槟榔细菌性叶斑病于 2007 在中国台湾省首次报道 (Hseu et al, 2007), 由须芒草伯克霍尔德氏菌 (*Burkholderia andropogonis*, *Ba*; synonym: *Robbsia andropogonis*) 侵染引起; 我们于 2014 年报道海南省发生细菌性叶斑病 (唐庆华等, 2013)。最近, Lopes-Santos 等通过 16S rDNA 基因序列系统发育分析及多位点分析, 发现 *B. andropogonis* 与 *Burkholderia* 属其他种基因型存在差异, 代表新的基因型, 故将其命名为一个新属种—*Robbsia andropogonis* (Lopes-Santos et al, 2017)。因文献采用 “*R. andropogonis*” 尚不多见, 故本文以 “*B. andropogonis* (syn: *Robbsia andropogonis*)” 进行表述。

目前, 植物内生菌已成为微生物资源研究的热点之一, 然而关于槟榔内生细菌的研究报道较少。目前, 如谢颖等从槟榔健康组织中分离到 2 株细菌, 但未做菌株鉴定 (谢颖等, 2011)。槟榔内生真菌也有相关研究 (宋薇薇等, 2017)。此外, 宋薇薇等在实验过程中还在健康槟榔叶片中分离到 3 株芽孢杆菌 (本实验未发表资料)。据报道内生菌具有参与防御反应、提高植物抗病和抗逆境能力的功能 (宋薇薇等, 2017), 感染内生菌的植物比未感染植株更具生存竞争力 (刘波等, 2011)。因此, 槟榔内生细菌资源尚待进一步挖掘。

在槟榔细菌性叶斑病或 (或叶部细菌性病害) 调查、分离鉴定过程中, 除了 *B. andropogonis* 外我们还分离到菌落形态或颜色与之不同的其他几种细菌。为了 (1) 明确为害槟榔叶片的病原细菌及病害, 从而为槟榔细菌性病害防治提供理论依据; (2) 明确槟榔叶部细菌种类, 为挖掘槟榔内生菌资源奠定基础, 我们对 2010—2020 年分离获得的部分细菌菌株做了分子鉴定, 现将初步结果报告如下。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 槟榔病叶及供试菌株

2010—2020 年于海南省文昌市 (昌洒镇、迈号镇及南阳镇)、琼海市 (白石岭、龙湾港)、定安县龙河镇发生细菌性病害的槟榔园内采集新鲜病叶。须芒草伯克霍尔德氏菌 *Ba* 参照菌株 Y11、Y30 分离于 2010 年, 现保存于中国典型培养物保藏中心, 编号分别为 CCTCC AB2014034 和 CCTCC AB2014035; 野油菜黄单胞菌槟榔致病变种 *Xca* 菌株 NCPPB2496 由英国植物病原细菌保藏中心 (National Collection of Plant Pathogenic Bacteria) 惠赠。

1.1.2 试剂及仪器

细菌基因组 DNA 提取试剂盒购自天根生化科技 (北京) 有限公司; $2 \times$ Taq PCR Master mix 以及供试引物 F27/1492R 购自生工生物工程 (上海) 股份有限公司; 全自动灭菌器为致微 (厦门) 仪器有限公司的 ZEALWAY GR-85 型; 高速冷冻离心机为德国 Hettich 公司的 Universal 320R 型; 培养箱为金坛市晶玻实验仪器厂的 LHP-400P 型智能人工气候箱; 超净工作台为上海智城分析仪器制造有限公司的 ZHJH-1109B 型; 摇床为上海世平实验设备有限公司的 SPH-2102CS 型恒温恒湿摇床; 超低温冰箱为海尔集团的 DW-86L828J 型医用低温保存箱; PCR 仪为德国 Biometra 公司的 TProfessional Standard 96 Gradient; 电泳仪为北京六一生物科技有限公司的 DYY-6C 型; 核酸凝胶成像系统为英国 Syngene 公司的 GBOX F3 型; 其他试剂为进口或国产分析纯产品。

1.1.3 培养基

细菌分离使用肉汁胨培养基 (又称牛肉膏蛋白胨培养基; Nutrient Agar, NA), 菌液摇培用 NB 培养液 (除不加琼脂粉外与 NA 培养基一致)。

1.2 方 法

1.2.1 槟榔叶部细菌的分离与保存

病原菌分离参考方中达 (方中达, 1998)、许秀惠等 (Hseu et al, 2007)、唐庆华等 (唐庆华等, 2013) 方法。取新鲜病叶, 自来水冲洗干净后在超净工作台将病叶用 75% 酒精表面消毒 2 次, 然后用酒精消毒的剪刀将病叶病

健交界处剪成 2~3 × 5~7 mm 的小段，将 10~20 个小段移入灭菌研钵（内径 7 cm），滴加 3~5 mL 灭菌蒸馏水后充分研磨，静置 15~20 min。采用平板划线法在 NA 培养基平板上分离细菌，然后将 NA 平板置于 28 °C 培养箱黑暗培养 2~3 d。待细菌长出后挑取单菌落于新的 NA 平板上划线、纯化。菌株保存用 NB 培养液摇培（28 °C、180 转/min，约 24 h）后吸取 800 mL 菌液于 2.0 mL 灭菌离心管，加入 800 mL 灭菌 50%甘油（甘油：蒸馏水=1：1）混合，用封口膜封好后于-80 °C 冰箱保存。所用菌株信息见表 1。

1.2 DNA 提取与 16S rDNA 序列扩增

用细菌基因组 DNA 提取试剂盒（货号 DP302-02）提取。所用引物为细菌通用引物 F27/1492R（唐庆华等，2014；韩宏伟等，2017）。PCR 反应体系为 2 × Taq PCR Master mix 25 μL、引物（20 μmol/L）各 1 μL，模板 DNA 1.0 μL，补 ddH₂O 至 50 μL。扩增条件：95 °C 5 min，94 °C 1 min，55 °C 1 min，72 °C 1 min，30 个循环，72 °C 延伸 8 min（Hseu 等，2007；唐庆华等，2014）。

1.2.3 序列测定及系统发育树构建

PCR 扩增产物经 1.0%琼脂糖电泳验证后直接快递至广州生工生物测序部测序。将测序获得的 16S rDNA 序列在美国国立生物技术信息中心（National Center for Biotechnology Information, NCBI）的 GenBank 核酸序列数据库中进行比对、分析，下载同源性较高的 16S rRNA 序列，聚类分析用 ClustalX 2.1 软件进行，系统发育树的构建用 MEGA 6.0 软件采用邻接法（Neighbour—Joining method）进行。

2 结果与分析

2.1 槟榔叶部细菌的分离

2010—2020年，在发生细菌性病害的槟榔园采集病叶样品，经NA平板划线分离、纯化，共获得112个细菌菌株。我们随机选取了27个细菌菌株以及先前已鉴定的4个*B. andropogonis*菌株Y11、Y30、W15、W20和NCPB2496共计35个作为供试菌株。



图 1、细菌性叶斑病重病园



图 2、细菌性叶斑病田间症状



图 3、细菌性叶斑病叶片症状



图4、菌株Y30菌落



图5、菌株NCPB2496菌落



图6、菌株X3菌落

2.2 槟榔叶部细菌的鉴定

对供试的35个菌株进行了基因组DNA提取、16S rDNA序列PCR扩增、测序。将所获得的细菌16S rDNA片段和GenBank中已知序列进行同源性比对，最终将槟榔叶部细菌确定为8个属，分别为伯克氏菌属（*Burkholderia*）、短小杆菌属（*Curtobacterium*）、鞘氨醇单胞菌属（*Sphingomonas*）、芽孢杆菌属（*Bacillus*）、泛菌属（*Pantoea*）、短波单胞菌属（*Brevundimonas*）、明串珠菌属（*Leuconostoc*）和葡萄球菌属（*Staphylococcus*）（结果见表1）。

该结果表明槟榔叶部细菌具有一定的生物多样性。

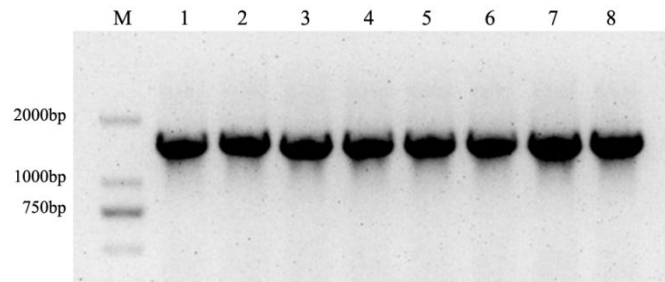


图7、部分菌株 16S rDNA 基因 PCR 产物电泳结果

注：M，Marker DL 2000；泳道1-8，部分菌株PCR产物电泳结果。

表1、不同细菌分离物采样信息及16S rDNA序列分析结果

| 编号 | 分离物 | 采样时间 | 采样地点 | 同源菌株 | 序列号 | 相似性 |
|----|--------|---------|--------|-----------------------------------|-----------|---------|
| 1 | Y11 | 2010.09 | 文昌市昌洒镇 | <i>B. andropogonis</i> * | - | - |
| 2 | Y30 | 2010.09 | 文昌市昌洒镇 | <i>B. andropogonis</i> * | - | - |
| 3 | W15 | 2010.09 | 文昌市昌洒镇 | <i>B. andropogonis</i> * | - | - |
| 4 | W20 | 2010.09 | 文昌市昌洒镇 | <i>B. andropogonis</i> * | - | - |
| 5 | TC1 | 2012.09 | 定安县龙河镇 | <i>B. andropogonis</i> * | NR_104960 | 99.72% |
| 6 | TC2 | 2012.09 | 定安县龙河镇 | <i>B. andropogonis</i> * | NR_104960 | 99.65% |
| 7 | TC3 | 2012.09 | 定安县龙河镇 | <i>B. andropogonis</i> * | NR_104960 | 99.65% |
| 8 | BSL1 | 2012.09 | 琼海市白石岭 | <i>B. andropogonis</i> * | NR_104960 | 99.72% |
| 9 | BSL2 | 2012.09 | 琼海市白石岭 | <i>B. andropogonis</i> * | NR_104960 | 99.72% |
| 10 | BSL3 | 2012.09 | 琼海市白石岭 | <i>B. andropogonis</i> * | NR_104960 | 99.58% |
| 11 | Ye1 | 2019.12 | 万宁市山根镇 | <i>B. andropogonis</i> | NR_104960 | 99.65% |
| 12 | Ye2 | 2019.12 | 万宁市山根镇 | <i>B. andropogonis</i> | NR_104960 | 99.65% |
| 13 | Ye3 | 2019.12 | 万宁市山根镇 | <i>B. andropogonis</i> | NR_104960 | 99.86% |
| 14 | NY1 | 2020.03 | 文昌市南阳镇 | <i>B. andropogonis</i> | NR_104960 | 99.58% |
| 15 | NY2 | 2020.03 | 文昌市南阳镇 | <i>B. andropogonis</i> | NR_104960 | 99.79% |
| 16 | NY3 | 2020.03 | 文昌市南阳镇 | <i>B. andropogonis</i> | NR_104960 | 99.58% |
| 17 | WSD1 | 2020.03 | 文昌市迈号镇 | <i>B. andropogonis</i> | NR_104960 | 99.79% |
| 18 | WSD2 | 2020.03 | 文昌市迈号镇 | <i>B. andropogonis</i> | NR_104960 | 99.51% |
| 19 | WSD3 | 2020.03 | 文昌市迈号镇 | <i>B. andropogonis</i> | NR_104960 | 99.58% |
| 20 | TY4 | 2012.06 | 琼海市塔洋镇 | <i>Curtobacterium albidum</i> | LC110196 | 99.72% |
| 21 | LWG9 | 2012.06 | 琼海市龙湾港 | <i>C. albidum</i> | LC110196 | 99.86% |
| 22 | LWG10 | 2012.06 | 琼海市龙湾港 | <i>C. albidum</i> | LC110196 | 99.93% |
| 23 | LWG3 | 2012.06 | 琼海市龙湾港 | <i>C. citreum</i> | MF319766 | 98.23% |
| 24 | TCa | 2012.09 | 定安县龙河镇 | <i>Sphingomonas yangtingensis</i> | MF101149 | 99.93% |
| 25 | TCb | 2012.09 | 定安县龙河镇 | <i>S. yangtingensis</i> | MF101149 | 99.93% |
| 26 | BSLb | 2012.09 | 琼海市白石岭 | <i>S. yangtingensis</i> | MF101149 | 99.85% |
| 27 | XJ1040 | 2019.11 | 文昌市南阳镇 | <i>Bacillus cereus</i> | MN227492 | 99.93% |
| 28 | XJ1042 | 2019.11 | 文昌市南阳镇 | <i>Ba. cereus</i> | HQ833025 | 99.93% |
| 29 | W10 | 2012.03 | 文昌市昌洒镇 | <i>B. albus</i> | MT023381 | 100.00% |
| 30 | X3 | 2010.09 | 文昌市昌洒镇 | <i>Pantoea ananatis</i> | DQ133545 | 99.86% |

| | | | | | | |
|----|--------------|---------|--------|--|----------|--------|
| 31 | X10 | 2010.09 | 文昌市昌洒镇 | <i>P. ananatis</i> | DQ133545 | 99.74% |
| 32 | X16 | 2010.09 | 文昌市昌洒镇 | <i>P. ananatis</i> | DQ133545 | 99.62% |
| 33 | Y16 | 2012.03 | 文昌市昌洒镇 | <i>Brevundimonas nasdae</i> | KC494331 | 99.70% |
| 34 | W18 | 2012.03 | 文昌市昌洒镇 | <i>Leuconostoc mesenteroides</i> | LC260033 | 99.93% |
| 35 | Y18 | 2012.03 | 文昌市昌洒镇 | <i>Staphylococcus epidermidis</i> | KY753228 | 99.86% |
| 36 | NCPB2 496 | 1974 | 印度 | <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>arecae</i> | - | - |

注：*为致病菌。

由表2可见：在分离的35株叶部细菌中，伯克氏菌属(*Burkholderia*)分离比例最高，占分离菌株总数的54.29%；其次是短小杆菌属(*Curtobacterium*)、鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)和泛菌属(*Pantoea*)，占总株数的11.43%、8.578%、8.57%和8.57%；而短波单胞菌属(*Brevundimonas*)、明串珠菌属(*Leuconostoc*)和葡萄球菌属(*Staphylococcus*)各仅分离到1株，各自占总株数的2.86%。

表2、槟榔叶部不同细菌的统计结果

| 菌株编号 | 属 | 菌株数量/ 株 | 分离比例 /% |
|--|--------------------------------|------------|------------|
| Y11、Y30、W15、W20、TC1、TC2、 TC3、BSL1、BSL2、BSL3、Ye1、 Ye2、Ye3、NY1、NY2、NY3 | 伯克氏菌属 <i>B. andropogonis</i> * | 19 | 54.29 |
| TY4、LWG9、LWG10、LWG3 | 短小杆菌属 <i>Curtobacterium</i> | 4 | 11.43 |
| TCa、TCb、BSLb | 鞘氨醇单胞菌属 <i>Sphingomonas</i> | 3 | 8.57 |
| XJ1040、XJ1042、W10 | 芽孢杆菌属 <i>Bacillus</i> | 3 | 8.57 |
| X3、X10、X16 | 泛菌属 <i>Pantoea</i> | 3 | 8.57 |
| Y16 | 短波单胞菌属 <i>Brevundimonas</i> | 1 | 2.86 |
| W18 | 明串珠菌属 <i>Leuconostoc</i> | 1 | 2.86 |
| Y18 | 葡萄球菌属 <i>Staphylococcus</i> | 1 | 2.86 |

2.4 槟榔叶部细菌系统发育树的构建

选取Y30、TC1、Ye1、TY4、LWG3、TCa、XJ1040、W10、X3、Y16、W18、Y18共12株作为8个不同属的细菌代表，槟榔细菌性条斑病菌野油菜黄单胞菌槟榔致病变种*Xca*菌株NCPB2496作为参考菌株。采用Neighbor—Joining方法将代表菌株的16S rDNA序列和与之同源性相似性最高的序列(表1)以及参考菌株的相应序列构建系统发育树，结果见图1。图1显示，在建立的系统发育树中，选取的12个菌株均与各自同源最高的菌株处于同一个分枝，遗传距离非常近，表明这12株叶部细菌可以归类到*Burkholderia*、*Curtobacterium*、*Sphingomonas*、*Bacillus*、*Pantoea*、*Brevundimonas*、*Leuconostoc*和*Staphylococcus*。

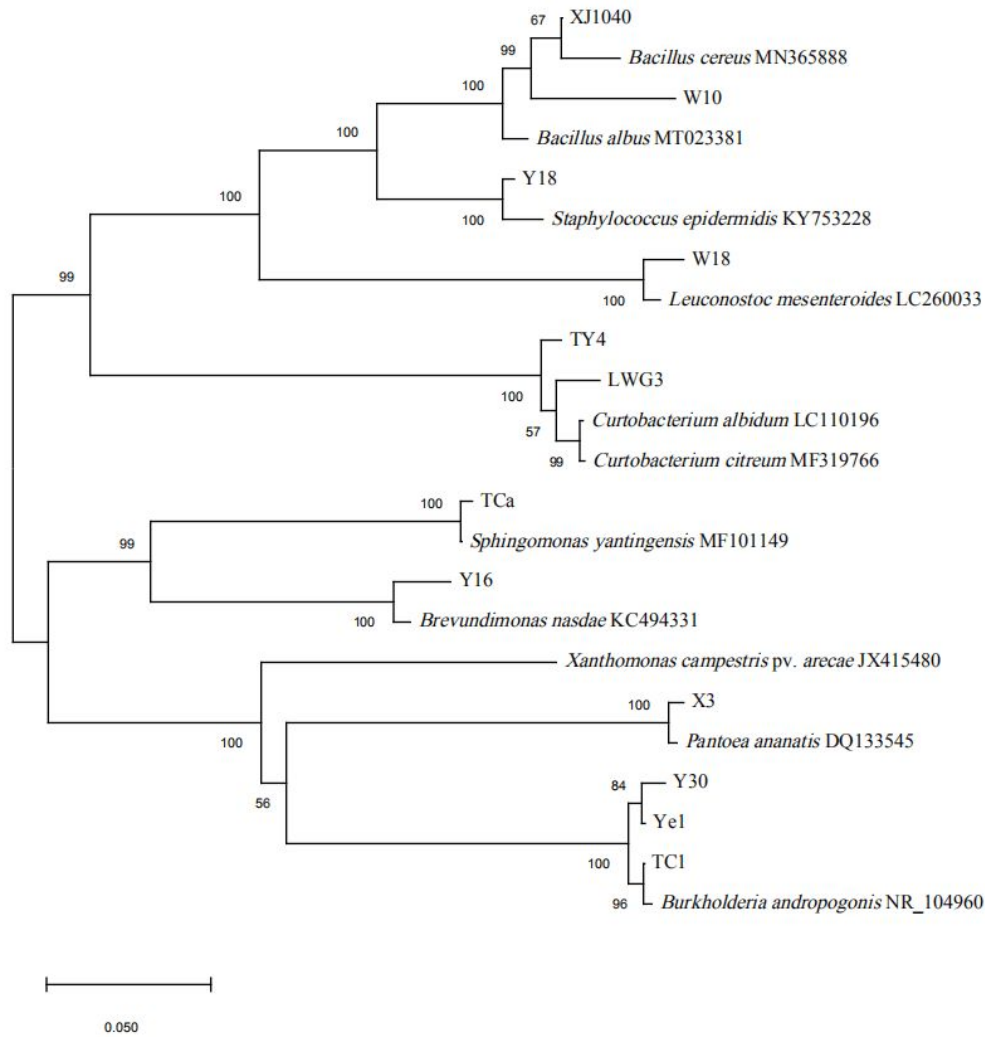


图8、基于16S rDNA序列构建的槟榔叶部细菌系统发育树

3 结果与讨论

目前，已报道的槟榔叶部细菌性病害有条斑病（文衍堂和洪祥千，1989）和叶斑病（唐庆华等，2013）2种。其典型症状表现为叶片上出现褐色坏死病斑，圆形、椭圆形至不规则形，病斑周围有黄色晕圈，严重者整片叶片黄化干枯。我们2010—2020年从文昌、琼海、定安、万宁4市县表现细菌性条斑病或细菌性叶斑病症状的槟榔园中采集病叶样品，通过分离共获得112个细菌菌株，选取了其中35个进行分子鉴定，根据16S rDNA序列比对、系统发育树分析，我们将其划分到伯克氏菌属（*Burkholderia*）、短小杆菌属（*Curtobacterium*）、鞘氨醇单胞菌属（*Sphingomonas*）、芽孢杆菌属（*Bacillus*）、泛菌属（*Pantoea*）等8个属。

通常情况下，如果两个分类单位间的16S rDNA序列相似性大于97.5%，被鉴定菌株可视为与模式菌株同种（Clayton et al, 1995; Kollbert & Persing, 1999）的划分原则。据此，分离比例最大的Y11、Y30、W15、W20、TC1、BSL1、Ye1、Ye2、Ye3等19个菌株与标准菌株LMG2129序列同源性均超过99.00%，故这15个菌株均被鉴定为须芒草伯克霍尔德氏菌 *Burkholderia andropogonis*。分离比例次之的TY4、LWG9、LWG10被鉴定为 *Curtobacterium albidum*；TCa、TCb、BSLb被鉴定为 *Sphingomonas yangtingensis*；XJ1040和XJ1042被鉴定为 *Bacillus cereus*；X3、X10、X16被鉴定为菠萝泛菌（*Pantoea ananatis*）。

在本研究中，我们的关注点之一是探究槟榔叶片上主要病原细菌及所致病害。采样地点定安县龙河镇荖叶基地和琼海市白石岭公园先前曾发生槟榔细菌性条斑病（洪祥千等，1992；文衍堂，个人联系）。我们在这2个地点样品上分离获得的TC1、BSL1等6个菌株被鉴定 *B. andropogonis* (synonym: *R. andropogonis*)，菌株TCa、TCb、BSLb被鉴定为 *Sphingomonas yangtingensis*；我们在文昌、万宁等地采集的其他22个菌株鉴定后均非黄单胞菌或

野油菜黄单胞菌槟榔致病变种 (*Xanthomonas campestris* pv. *arecae*)。因此, 我们未能分离获得槟榔细菌性条斑病菌野油菜黄单胞菌槟榔致病变种 (*Xca*), 且 35 个菌株中须芒草伯克霍尔德氏菌 *B. andropogonis* (synonym: *R. andropogonis*) 比例最高(为 54.29%), 这表明由须芒草伯克霍尔德氏菌 *B. andropogonis* (syn: *Robbsia andropogonis*) 引起的细菌性叶斑病可能是当前琼北部地区占据优势地位的槟榔叶部细菌性病害。通过调查, 我们发现槟榔细菌性叶斑病(和/或细菌性条斑病)在海南省琼海、万宁、陵水、三亚、保亭、琼中、定安、澄迈等市县均发生(另文发表), 且常在台风和雨季爆发, 严重影响槟榔的生长和产量。因此, 有必要开展防治技术研究, 从而确保海南省槟榔健康生长。

本研究的意义还体现在丰富槟榔内生菌资源方面。宋薇薇等在健康槟榔叶片上分离到芽孢杆菌属 3 株细菌, 而罹病植株上则未分离到。我们则从表现细菌病害症状的槟榔病叶上分离获得 8 个属(包括芽孢杆菌属)的细菌, 这可能预示着染病槟榔植株和健康植株内生细菌种类存在较大差异。这种情况在其他植物上也有报道。张杰发现水稻健康叶片与白叶枯病叶内生微生物群落丰度不同(张杰, 2019)。根据与寄主植物之间潜在的互作关系, 内生细菌可分为植物病原细菌、其他有害内生菌、非致病性内生菌、固氮菌四类(黄贵修和刘先宝, 2012)。目前, 已知槟榔病原细菌有 *B. andropogonis* (syn: *Robbsia andropogonis*) 和 *Xca* 共 2 种(本研究不包括难以人工培养的槟榔黄化植原体)。菌株 X3、X10、X16 被鉴定为菠萝泛菌 (*Pantoea ananatis*), 接种实验表明该菌不能侵染槟榔(本实验室未发表资料)。迄今, 已知菠萝泛菌 (*P. ananatis*) 是一种植物条件致病菌, 可引起桑枯萎病、玉米干茎腐病、洋葱腐心病、桉树细菌性叶斑病、玉米细菌性褐腐病等(顾沁等, 2016)。对于其他 6 种细菌, 表皮葡萄球菌 (*Staphylococcus epidermidis*) 是一种动物和人体条件致病菌(韩美丽等, 1999), 该菌在德国鸢尾组培扩繁中可引起污染(韩宏伟等, 2017); 短小杆菌菌株 L7 (与 *Curtobacterium albidum* DM20512 菌株序列相似为 98.93%) 可引起蓝莓在贮藏期间腐败(邓佳等, 2015); 鞘氨醇单胞属细菌 *Sphingomonas yangtingensis* 具有矿物风化作用(Huang et al, 2014)。有意思的是, 研究发现一些萎蔫短小杆菌 (*Curtobacterium flaccumfaciens*) 可明显抑制杂色褪绿病(由苛养木杆菌 *Xylella fastidiosa* 引起的)症状(Lacava et al, 2004; Lacava et al, 2007); 某些芽孢杆菌 (*Bacillus* sp) 可分泌抗生素(Tabbene et al, 2009)、激素(Ali et al, 2009)等生长因子, 在病害防御中起重要作用或促进植物生长。这 6 种细菌尤其是分离比例较高的鞘氨醇单胞属 (*Sphingomonas*)、短小杆菌属 (*Curtobacterium*) 和芽孢杆菌属 (*Bacillus*) 细菌是否对寄主植物槟榔具有致病性尚待进一步研究。同时, 除 *B. andropogonis* (syn: *Robbsia andropogonis*) 外其他 7 种细菌是否对细菌性叶斑病的发生或症状表现有影响尚待进一步研究。

总之, 本研究结果既又有利于指导槟榔叶部细菌性病害防治, 又丰富了槟榔内生菌资源, 为今后内生菌资源的进一步开发和利用奠定了基础。

致谢: 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所王国芬副研究员给本文提出了宝贵修改意见和建议, 在此一并表示衷心感谢。

参考文献:

- [1] 邓佳, 郭晓月, 史正军, 等. 蓝莓贮藏期病原细菌的分离与鉴定[J]. 现代园艺, 2015(7): 18-19, 147.
- [2] 丁晓军, 唐庆华, 严静, 等. 中国槟榔产业中的病虫害现状及面临的主要问题[J]. 中国农学通报, 2014, 30(7): 246-253.
- [3] 方中达. 植病研究方法(第三版)[M]. 北京: 中国农业出版社 1998: 203-211.
- [4] 顾沁, 张昊, 黄海, 等. 一种玉米新型细菌性褐腐病的病原鉴定[J]. 植物保护, 2016, 42(3): 87-90.
- [5] 韩宏伟, 廖晴, 玛尔哈巴·吾斯满, 等. 德国鸢尾组培快繁过程中内生菌的分离、鉴定及控制药剂筛选[J]. 新疆农业科学, 2017, 54(4): 652-659.
- [6] 韩美丽, 陆荣生, 黄华艳, 等. 绿巨人组培苗继代过程中玻璃化苗及细菌污染的消除方法研究[J]. 广西林业科学, 1999, 28(1): 16-19.
- [7] 洪祥千, 陈家俊, 叶清仰, 等. 海南岛槟榔细菌性条斑病的发生规律[J]. 热带作物学报, 1992, 13(1): 87-94.
- [8] 黄贵修和刘先宝. 植物内生菌[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2012.
- [9] 李增平, 罗大全. 槟榔病虫害田间诊断图谱[M]. 北京: 中国农业出版社, 2007: 1-62.

- [10] 刘波, 郑雪芳, 孙大光, 等. 柑橘黄龙病株不同部位内生细菌群落结构的多样性[J]. 生态学报, 2011, 31(24): 7325-7342.
- [11] 覃伟权, 范海阔. 槟榔[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2010.
- [12] 覃伟权, 朱辉. 棕榈科植物病虫害的鉴定及防治[M]. 北京: 中国农业出版社, 2012.
- [13] 覃伟权, 唐庆华. 槟榔黄化病[M]. 北京: 中国农业出版社, 2015.
- [14] 宋薇薇, 牛晓庆, 余凤玉, 等. 槟榔内生真菌的分离与初步鉴定[J]. 江西农业学报, 2017, 29(6): 66-69.
- [15] 谭乐和. 海南槟榔生产的现状、问题及对策[J]. 海南大学学报(自然科学版), 2006, 24(1): 55-59.
- [16] 唐庆华, 宋薇薇, 于少帅, 等. 槟榔黄化病综合防控一问题及展望. 中国热带作物学会南药专业委员会2019年学术年会暨南药、黎药产业发展研讨会, 2019: 195-201.
- [17] 唐庆华, 张世清, 牛晓庆, 等. 海南槟榔细菌性叶斑病原鉴定[J]. 植物病理学报, 2014, 44(6): 700-704
- [18] 文衍堂, 洪祥千. 海南岛槟榔细菌性条斑病原菌鉴定[J]. 热带作物学报, 1989, 10(1): 77-82.
- [19] 谢颖, 张孝峰, 王瑛莹, 等. 香蕉枯萎病拮抗内生菌的分离、筛选及盆栽防效试验[J]. 植物检疫, 2011(5): 4-7.
- [20] 许秀惠, 赖婉绮, 潘雅碧, 等. *Burkholderia andropogonis* 引起之槟榔叶斑病及药剂筛选[J]. 植物病理学会刊, 2007, 16: 131-139.
- [21] 张杰. 水稻健康叶片与白叶枯病叶内生微生物群落分析和白叶枯病菌南方菌株生理小种和分子型鉴定(硕士论文)[D]. 北京: 中国农业科学院植物保护研究所, 2019.
- [22] Ali B, Sabri A N, Ljung K, et al. Quantification of indole-3-acetic acid from plant associated *Bacillus* spp. and their phyto-stimulatory effect on *Vigna radiata* (L.)[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2009, 25(3): 519-526.
- [23] Balasimha D, Rajagopal V. Arecanut [M]. Mangalore: Indian Council of Agricultural Research- Central Plantation Crops Research Institute, Karavali Colour Cartons Ltd., 2004.
- [24] Clayton R A, Sutton C, Jr H P, et al. Intraspecific variation in small-subunit rRNA sequence in genbank: why single sequences may not adequately represent prokaryotic taxa[J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1995, 45(3): 595-599.
- [25] Huang J, Huang Z, Zhang Z D, et al. *Sphingomonas yangtingensis* sp. nov., a mineral weathering bacterium isolated from purplish paddy soil[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2014, 64: 1030-1035.
- [26] Kollbert C P and Persing D H. Ribosomal DNA sequencing as a tool for identification of bacterial pathogens[J]. Current Opinion in Microbiology, 1999, 2(3): 299-305.
- [27] Lopes-Santos L, Castro D B A, Ferreira-Tonin M, et al. Reassessment of the taxonomic position of *Burkholderia andropogonis* and description of *Robbsia andropogonis* gen. nov., comb. nov.[J]. 2017, 110: 727-736.
- [28] Lacava P T, Araújo W L, Marcon J, Maccheroni W Jr, Azevedo J L. Interaction between endophytic bacteria from citrus plants and the phytopathogenic bacteria *Xylella fastidiosa* causal agent of citrus variegated chlorosis[J]. Letters in Applied Microbiology, 2004, 39(1): 55-59.
- [29] Lacava P T, Li W, Araújo W L, Azevedo J L, Hartung J S. The endophyte *Curtobacterium flaccumfaciens* reduces symptoms caused by *Xylella fastidiosa* in *Catharanthus roseus*[J]. Journal of Microbiology, 2007, 45(5): 388-393.
- [30] Rao Y P and Mohan S K. A new bacterial leaf stripe disease of arecanut (*Areca catechu*) in Mysore state[J]. Indian Phytopathology, 1970, 23: 702-704.
- [31] Rao Y P and Mohan S K. Bacterial leaf stripe of arecanut caused by *Xanthomonas arecae* sp. nov.[J]. Indian Phytopathology, 1976, 29: 251-255.
- [32] Sampath Kumar S. N. Bacterial leaf stripe disease of arecanut (*Areca catechu* L.) caused by *Xanthomonas campestris* pv. *arecae*. Ph. D. Thesis. Indian Institute of Science, Bangalore, India. 1981: pp 190.
- [33] Tabbene O, Ben Slimene I, Mangoni M L, et al. Production of anti-methicillin-resistant Staphylococcus activity from *Bacillus subtilis* sp. strain B38 newly isolated from soil[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2009, 157(3): 407-419.
- [34] Yang K, Ran M Y, Li Z P, et al. Analysis of the complete genomic sequence of a novel virus, areca palm necrotic spindle-spot virus, reveals the existence of a new genus in the family Potyviridae[J]. Archives of Virology, 2018, 163(12): 3471-3475.
- [35] Yang K, Shen W T, Li Y, et al. Areca palm necrotic ringspot virus, classified within a recently proposed genus 'Arepavirus' of the family Potyviridae, is associated with necrotic ringspot disease in areca palm[J]. Phytopathology, 2019, 109(5): 887-894.

木瓜秀粉蚧对不同木薯种质的寄主选择性研究

陈青*, 梁晓, 伍春玲, 刘迎, 陈谦

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, 海南海口 571101

摘要: 木薯是世界重要的粮食、饲料、工业原料、生物质能源和救荒作物。木瓜秀粉蚧是世界危险性检疫害虫, 严重威胁我国木薯产业健康持续发展。探讨木瓜秀粉蚧的寄主选择性, 可为有效监控与生态调控木瓜秀粉蚧的发生与危害提供重要的理论依据。研究通过分析 15 个木薯种质对木瓜秀粉蚧发育繁殖及体内消化酶、解毒酶和抗氧化酶的影响差异, 旨在明确木瓜秀粉蚧对 15 个木薯种质的寄主选择性。结果表明, 与取食 BRA900、ZM9066、瑞士 T7、糯米木薯、SC6068、GR5 相比, F0 代木瓜秀粉蚧雌成虫取食 J1301、东莞红尾、SC11、SC8002、SC8、缅甸种和 C1115 后死亡率显著升高、发育历期显著延长、每雌产卵量、卵孵化率显著减少、雌性百分比显著降低。表明前者是木瓜秀粉蚧的适宜寄主, 后者不是木瓜秀粉蚧的适宜寄主, 进一步研究发现非适宜木薯种质显著抑制木瓜秀粉蚧体内淀粉酶、蔗糖酶和脂肪酶等消化酶, 羧酸酯酶和谷胱甘肽 S 转移酶等解毒酶, 超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、过氧化物酶和多酚氧化酶等抗氧化酶活性, 初步阐明了木瓜秀粉蚧对不同木薯种质寄主选择的生活力与繁殖力以及消化酶、解毒酶和抗氧化酶响应机制, 为深入开展木瓜秀粉蚧对木薯种质寄主选择的分子机理、抗虫木薯新种质创制及绿色防控技术研发提供理论依据和参试材料

木薯对朱砂叶螨抗性的防御反应机制研究

陈青*, 梁晓, 伍春玲, 刘迎, 张哲

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, 海南海口 571101

摘要: 木薯是世界重要的粮食、饲料、工业原料、生物质能源和救荒作物。朱砂叶螨是世界木薯主栽区发生危害最严重的四大有害生物之一, 药剂防治非常困难。培育与利用抗虫品种防治虫害已成为国内外公认的最经济、有效、简便的一项带有方向性的害虫防治途径。本研究以感螨参照标准木薯品种 BRA900 为对照, 在前期研究明确抗螨参照标准木薯品种 C1115 对朱砂叶螨的发育与繁殖具有显著抑制作用基础上, 进一步从营养物质、次生代谢物质、保护酶三个层面阐明了木薯对朱砂叶螨抗性的防御反应机制。结果表明, 木薯对朱砂叶螨的抗性与叶组织中糖氮比、总酚和单宁酸含量、过氧化物酶 (POD)、多酚氧化酶 (PPO)、超氧化物歧化酶 (SOD) 和过氧化氢酶 (CAT) 活性显著正相关, 与游离氨基酸、可溶性糖、可溶性氮、游离脯氨酸、丙二醛含量显著负相关, 进一步研究发现抗螨参照标准木薯品种 C1115 对朱砂叶螨成螨体内 POD、PPO、SOD、CAT 等保护酶, GSTs、CarE、MFO 等解毒酶, 淀粉酶、蔗糖酶和脂肪酶等消化酶的活性具有显著抑制作用。上述结果初步阐明木薯在朱砂叶螨取食为害的反馈抑制防御反应机制, 为深入开展木薯对朱砂叶螨的抗性分子机理及抗螨木薯分子设计育种提供了理论依据。

厚藤尾孢叶斑病原鉴定

李敏^{1,6}, 高兆银¹, 弓德强¹, 洪小雨¹, 张绍刚², 胡美姣^{1,3}

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; 3 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 厚藤(*Ipomoea pes-caprae* L.) 又名马鞍藤, 为旋花科(Convolvulaceae)番薯属(*Ipomoea*)多年生匍匐蔓生草本植物, 广布于全球热带及亚热带沿海地区, 在我国分布于海南、台湾、福建、广东、广西、浙江等海滩, 对滨海景观生态保持及恢复发挥重要的作用。2018年, 笔者在西沙群岛多个岛礁调查时在厚藤上发现一种叶斑病, 发病率可达10-25%。症状表现为病斑自叶两面生。初期为点状褐色斑点, 进一步扩展为圆形、近圆形或不规则型褐色或黑褐色病斑, 略凹陷, 病部中心多枯黄色。一般病斑直径扩展不超过5mm。直接镜检可观察到病菌从气孔侵入, 子座小或无, 菌丝体内生, 孢子梗束状, 松散, 偶见单生, 浅橄榄色, 4-12根, 0-3隔膜, 大小27.9-115.8 (63.4±22.5) μm×3.2-5.3 (4.3±0.87) μm, 分生孢子痕增厚明显。分生孢子单生, 透明, 丝线形, 针形至倒卵形, 直至稍弯曲, 顶端尖至钝, 基部平截, 多隔膜, 大小21.0-125.5 (60.2±20.1) μm×2.0-5.0 (3.8±0.83) μm。采用单孢分离法分离保存菌株HTW-1, 采用活体刺伤接种法, 将该菌株菌块接种于健康厚藤叶片上, 8d后, 刺伤点处出现明显的病斑, 接种发病组织中的重新分离物与HTW-1形态一致。HTW-1在PDA上培养时, 菌落生长缓慢, 初期菌丝灰白色, 致密、中央突起, 边缘墨绿色、光滑。培养10d时菌落直径达22~25mm, 培养30d, 菌落直径57~62mm, 分生孢子梗直接产孢, 分生孢子与镜检时分生孢子大小、形态相似。分别用ITS1/ITS4、EF-1/EF-2和CYLH3F/CYLH3R引物扩增了HTW-1的ITS、TEF1和HIS3部分基因序列, 并提交到GenBank, 登录号分别为MT410467, MT418903, MT418904。该菌株的ITS、TEF1和HIS3基因序列经BLAST同源性比对, 发现其与*Cercospora. cf. citrulina* (MUCC 588; MAFF 239409)具有100%的相似性。根据形态特征和分子生物学特征, 该病原菌被鉴定为*C.cf.citrulina*。这是我国首次发现该病害。

关键词 厚藤; 叶斑病; *Cercospora. cf. citrulina*

¹⁶项目资助: 农业农村部财政专项项目 (No. NFZX2018)。

第一作者: 副研究员。E-mail:coldminerer@163.com。

通信作者: 研究员。E-mail:humeijiao320@163.com。

鸡冠刺桐炭疽病原鉴定

李敏^{1,7}, 高兆银¹, 弓德强¹, 洪小雨¹, 张绍刚², 胡美姣^{1,3}

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; 3 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 鸡冠刺桐 (*Erythrina crista-galli*) 属豆科 (Leguminosae) 刺桐属 (*Erythrina*) 落叶灌木或小乔木, 它不仅是优良的绿化树种, 还被用作伤口愈合的药物提取原材料, 用于如收敛剂、麻醉剂和止痛剂。2019年笔者在海口市鸡冠刺桐上发现一种叶斑病。发病初期, 叶片出现针尖状红棕色圆斑, 然后逐渐扩大为红褐色的圆形、卵圆形或不规则的病斑, 周围有清晰的黄色晕圈。在潮湿条件下, 病斑迅速扩展, 呈褐色、卵圆形或不规则状病斑, 上附着菌丝和橙红色分生孢子团。病叶易脱落, 发病率在5-30%, 对植株健康和观赏价值产生了明显影响。为明确病原种类, 采用组织分离法、致病性测定 (科赫法则确认), 共分离保存4株病原菌菌株 (编号: JG-1、JG-3-1、SWS-1-3、SWS-2-1), 并通过形态学及分子生物学鉴定病原菌种类。形态学特征研究发现, 病菌在PDA上菌落圆形, 边缘整齐, 菌丝较粗壮, 菌落白色后期易出现扇变现象。分生孢子盘产于病斑中心, 呈小黑粒状; 产孢细胞单孢, 圆柱形, 无色透明; 分生孢子着生于产孢细胞顶端, 呈椭圆形或圆柱形, 单胞, 无色透明, 大小为14.2-18.6 μm (16.4 μm) \times 3.8-5.4 μm (4.7 μm); 分生孢子萌发或菌丝伸长时遇硬物易产生近圆形或不规则型附着孢, 附着孢暗褐色, 不规则状, 大小为8.0~11.8 μm (9.6 μm), \times 4.8~6.0 μm (5.4 μm)。初步鉴定该病原菌为炭疽菌属 (*Colletotrichum* sp.)。对4株病原菌的rDNA转录间隔区 (ITS)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH)、钙调蛋白 (CAL)、肌动蛋白 (ACT) 和几丁质合成酶 (CHS) 基因片段进行扩增和测序。GenBank 登录号分别为ITS:MT229427-

MT229430, GAPDH:MT250821-MT250824, CAL:MT258893-MT258896, ACT:MT258897-MT258900和CHS:MT258901-MT258904。该4菌株的ITS、GAPDH、CAL、ACT 和CHS序列与NCBI 上*Colletotrichum siamense*相关序列的Blast比对同源性均在99%以上。利用ITS、GAPDH、CAL、ACT和CHS 5基因构建系统发育树, 发现4菌株均与*C.siamense*聚为一枝。根据病原菌形态特征、致病力测定、Blast同源性比对以及多基因系统发育分析结果, 我们认定引起鸡冠刺桐叶斑病的病原菌为暹罗炭疽菌 (*C.siamense*)。

关键词 鸡冠刺桐; 炭疽病; 暹罗炭疽菌

⁷项目资助: 农业农村部财政专项项目 (No. NFZX2018)。

第一作者: 副研究员。E-mail:coldminerer@163.com。

通信作者: 研究员。E-mail:humeijiao320@163.com。

鸡冠刺桐叶缘枯病病原鉴定及生物学特性研究¹⁸

李敏¹, 高兆银¹, 洪小雨¹, 王义², 李春霞¹, 弓德强¹, 张绍刚², 胡美姣^{1*}

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 2018年在海南省三沙市永兴岛鸡冠刺桐上发现一种严重的叶斑病。通过病原菌组织分离、科赫法则确认、形态学及分子生物学方法进行了病原菌鉴定,并研究了该病原菌的生物学特性及进行室内杀菌剂筛选。形态学特征观察及分子生物学鉴定结果表明,病原菌为枫香拟茎点霉(*Phomopsis liquidambaris*)。生物学特性研究结果表明,病原菌菌丝生长最适温度是30℃,最适宜pH值为8,全光照最有利于菌丝生长。供试的13种杀菌剂中,8种药剂毒力较强,分别为50%多菌灵可湿性粉剂、10%苯醚甲环唑水分散粒剂、40%氟硅唑乳油、10%己唑醇悬浮剂、43%戊唑醇悬浮剂、12.5%烯唑醇可湿性粉剂、25%吡唑醚菌酯悬浮剂和25%丙环唑乳油,它们的EC₅₀值在0.07 μg/mL - 0.69 μg/mL之间。其次为40%百菌清悬浮剂和40%腈菌唑悬浮剂,其EC₅₀值分别1.27 μg/mL和3.00 μg/mL。此研究结果为鸡冠刺桐叶斑病防治提供理论依据。

关键词 鸡冠刺桐; 叶斑病; 枫香拟茎点霉; 生物学特性; 杀菌剂筛选

Pathogen identification and biological characteristics of *Erythrina crista-galli* leaf edge blight

LI Min^{1,9}, GAO Zhaoyin¹, HONG Xiaoyu¹, WANG Yi², LI Chunxia¹, GONG Deqiang¹, Zhang Shaogang², HU Meijiao^{1*}

1 Environment and Plant Protection Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences/ Key Laboratory of Integrated Pest Management on Tropical Crops, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Haikou, 571101; China;

2 School of Life and Pharmaceutical Sciences, Hainan University, Haikou, 570228; China

Abstract we observed leaf edge blight on *E. crista-galli* in Yongxing island, Sansha City, Hainan Province, China. We isolated the pathogen from diseased samples by Koch's postulate, and identified based on morphological characters and using rDNA-ITS sequence analysis, while biological characteristics and fungicide selection indoor of the pathogen were studied. The result showed that the pathogen was identified as *Phomopsis liquidambaris*. The optimal temperature for mycelium growth was 30 °C. Mycelium could grow optimally at pH 8. The effect of constant light on mycelial growth was significant. Eight fungicides including 50% carbendazimwetable powder, 10% difenoconazole water dispersible granule, 40% flusilazoleemulsifiable oil, 10% hexaconazolesuspension concentrate, 43% tebuconazole suspension concentrates, 12.5% diniconazolewetable powder, 25% pyrazole ester suspension agent and 25% propiconazole emulsion had very high toxicity against *P. liquidambaris*. their EC₅₀ values were from 0.07 μg/mL to 0.69 μg/mL, followed by 40% chlorothalonil suspension and 40% myclobutanil suspension, and their EC₅₀ value is 1.27 μg/mL and 3.00 μg/mL, respectively. The results provide a theoretical basis for the control of leaf spot disease on *E. crista-galli*.

Key words cockspur coral tree (*Erythrina crista-galli*); leaf edge blight; *Phomopsis liquidambaris*; biological characteristics; fungicide screening

鸡冠刺桐(*Erythrina crista-galli*)为豆科(Leguminosae)刺桐属(*Erythrina*)落叶灌木或小乔木,原产巴西^[1]。鸡冠刺桐树身挺拔、枝叶茂盛、喜高温高湿强光照。它不仅是优良的绿化树种,还被用作伤口愈合的药物,用于如收敛剂、麻醉剂和止痛剂^[2]。自上世纪50年代开始,印度、马来西亚、巴西、美国等地陆续有鸡冠刺桐病害的报道,研究发现引起鸡冠刺桐病害的病原菌较为复杂。造成根腐的病原种类包括 *Armillaria mellea*、*Armillaria tabescens*、*Botryodiplodia theobromae*、*Fomes auberianus*、*Fusarium javanicum*、*Fusarium moniliforme*、*Rhizoctonia ramicola*。叶部病害包括 *Meliola bicornis* 引起的煤烟病, *Mycosphaerella erythrinae*、*Cercospora erythrinicola* 引起的叶斑病, *Dicheimia binata* 引起的锈病以及 *Elsinoe erythrinae* 引起的疮痂病^[3-4]。淡褐奥德蘑(*Oudemansiella canarii*)可寄生鸡冠刺桐,引起树体衰弱^[5]。在我国,鸡冠刺桐主要种植于海南、广东、广西、福建、台湾等华南地区。目前国内未见对鸡冠刺桐病害的详细报道。

永兴岛是我国西沙群岛、南沙群岛、中沙群岛的经济、军事、政治中心,也是海南省三沙市人民政府驻地,

¹⁸项目资助: 农业农村部财政专项项目 (No. NFZX2018)。

作者简介: 第一作者: 李敏 副研究员。E-mail:coldminerer@163.com。通讯作者: 胡美姣 研究员。E-mail:humeijiao320@163.com。

战略意义重大。鸡冠刺桐作为优良的园林绿化树，自2012年7月海南省三沙市自成立伊始，随着永兴岛等岛礁的植树绿化行动启动，被引种到永兴岛。2018年笔者在永兴岛进行植物病害调查时均发现，鸡冠刺桐发生了一种叶斑病，感病叶片表现为叶尖和叶缘发病，出现黄褐色病斑，严重影响植株光合作用和观赏价值。为了明确引起该病害的病原种类，本文进行了病原菌的分离、鉴定及生物学特性研究，以为该病害防治提供技术支撑，为三沙市永兴岛的市政园林绿化建设提供参考。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌株

供试菌株于2018年自发病的鸡冠刺桐病叶分离获得。

1.1.2 供试药剂

25%嘧菌酯悬浮剂SC（先正达南通作物保护有限公司），43%戊唑醇悬浮剂SC（美国默赛技术有限公司），25%吡唑醚菌酯悬浮剂SC（河北三农农用化工有限公司），10%戊菌唑乳油EC（意大利艾格汶生命科学有限公司），12.5%烯唑醇可湿性粉剂WP（江苏辉丰农化股份有限公司），25%丙环唑乳油EC（陕西恒润化学工业有限公司），40%腈菌唑悬浮剂SC（江西禾益化工股份有限公司），40%氟硅唑乳油EC（陕西恒润化学工业有限公司），10%己唑醇悬浮剂SC（扬州市苏灵农药化工有限公司），10%苯醚甲环唑水分散粒剂为WG（利民化工有限公司），15%三唑酮可湿性粉剂WP（江苏剑牌农化股份有限公司），40%百菌清悬浮剂SC（日本史迪士生物科学株式会社），50%多菌灵可湿性粉剂WP（四川国光农化股份有限公司）。

1.2 方法

1.2.1 病害调查及样本采集

2018年5月-10月在永兴岛发现该病害为害。采集典型的发病叶片进行病原菌分离，观察并记录病害症状。

1.2.2 病原的分离及纯化

采用组织分离法即剪取病健交界处叶片组织大小约0.3×0.3 cm，在PDA培养基上分离培养后，挑取菌丝体最尖端进行纯化。将纯化的菌株于PDA培养基斜面上培养，置于4℃保存备用。

1.2.3 致病性测定

采用无损伤及针刺接种法接种嫩茎、嫩叶和老叶。即取PDA培养基上生长5 d，直径为5 mm的病原菌菌块，接种健康鸡冠刺桐叶片、嫩茎，以刺伤接种PDA培养基块作为对照，接种点用蘸水的无菌脱脂棉保湿24 h，置于铺有无菌水浸湿滤纸的保鲜盒内。28℃下保湿培养。逐日观察发病情况。

1.2.4 形态特征观察

观察病菌菌落在PDA平板上的形态特征；显微观察病原菌的产孢结构、孢子形态和大小等显微特征，初步确定病菌种属。

1.2.5 分子生物学鉴定

刮取培养5 d供试菌株菌丝体，置于研钵中，加液氮充分研磨，采用Ezuzp柱式真菌基因组DNA抽提试剂盒（B518259，上海生工生物工程股份有限公司）抽提供试菌株基因组DNA。ITS（ITS1: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'，ITS4: 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'）和18S rRNA（NS1: GTAGTCATATGCTTGTCTC，NS6: GCATCACAGACCTGTTATTGCCTC）基因引物参照文献^[6-7]。PCR反应体系（50 μL）：病菌DNA 1.0 μL、10×buffer（含2.5 mM Mg²⁺）5.0 μL、10 μmol/L dNTP 2.0 μL、Primer（±10 μmol/L）各2.0 μL、5 u/μL的Taq DNA聚合酶0.5 μL，ddH₂O补足至50 μL。PCR扩增程序：94℃预变性4 min；94℃变性45 s，55℃退火45 s，72℃延伸1 min，重复扩增30个循环，72℃下延伸10 min，将扩增产物送往上海生工生物工程股份有限公司进行测序。获得的基因序列采用BLAST软件进行同源性比对，测序结果上传GenBank并获取登录号。并从GenBank中下载相关参比序列，用MEGA 7软件对实验菌株及下载的序列进行比对分析，通过Mega 7.0的Neighbor-joining法构建基于系统发育树。

1.2.6 病原菌的生物学特性研究

1.2.6.1 温度对病原菌生长的影响

将培养7 d的病原菌菌块（Φ=5.0 mm）接种于PAD平板中央，分别置于5℃、10℃、15℃、20℃、25℃、28℃、30℃、35℃和40℃恒温培养箱中培养，5 d后观察其生长情况，十字交叉法测量菌落直径，每处理3皿，实验重复3次。

1.2.6.2 pH 对病原菌生长的影响

用1 mol/L HCl 和1 mol/L NaOH 将灭菌的PDA培养基pH 值分别调至3、4、5、6、7、8、9、10、11、12，将培养7 d的病原菌菌块（Φ=5.0 mm）接于不同PH 值的PAD平板中央，28℃下培养，5 d 后测量菌落直径，每处理3皿，实验重复3次。

1.2.6.3 光照对病原菌生长的影响

将培养7 d的病原菌菌块（Φ=5.0 mm）接种于PAD平板中央，分别于全光照、12 h光照/12 h 黑暗和全黑暗条件下，28℃恒温培养，每处理重复3次，5 d后测量菌落直径，每处理3皿，实验重复3次。

1.2.7 供试药剂对病原菌菌丝生长的EC₅₀值测定

将各杀菌剂制成10 μg/mL，1.0 μg/mL，0.1 μg/mL 3个浓度含药培养基平板，接种在PDA 平板上28℃培养6 d的供试菌株菌块（直径0.5 cm），置于28℃恒温培养箱培养3 d，十字交叉法量菌落直径，计算生长抑制率，根据抑制率结果，选择各杀菌剂对供试菌株抑制率在10%-90%范围内的7个质量浓度，做成含药培养基平板，以加入无菌蒸馏水的PDA 培养基为对照。接种供试菌株菌块，28℃的恒温培养箱内培养3 d，十字交叉法量菌落直径，计算生长抑制率。以药剂的浓度对数（x）与抑制菌落生长百分率的机率值（y）求取各药剂对供试菌株的毒力回归方程，并计算抑制菌丝体生长的EC₅₀值及比较各药剂毒力。

$$\text{生长抑制率 (\%)} = \frac{(\text{CK菌落直径}-0.5)-(\text{处理菌落直径}0.5)}{\text{CK菌落直径}-0.5} \times 100$$

2 结果与

分析

2.1 病害调查和症状

2018年5月及10月，笔者2次在永兴岛调查均发现鸡冠刺桐一种严重叶斑病，调查病株率达到100%。感病初期叶片表现为叶尖和叶缘感病，出现褐色斑点，随病情发展，病斑持续扩展，病部呈现黄色至灰白色，边缘褐色（图 1-A）。

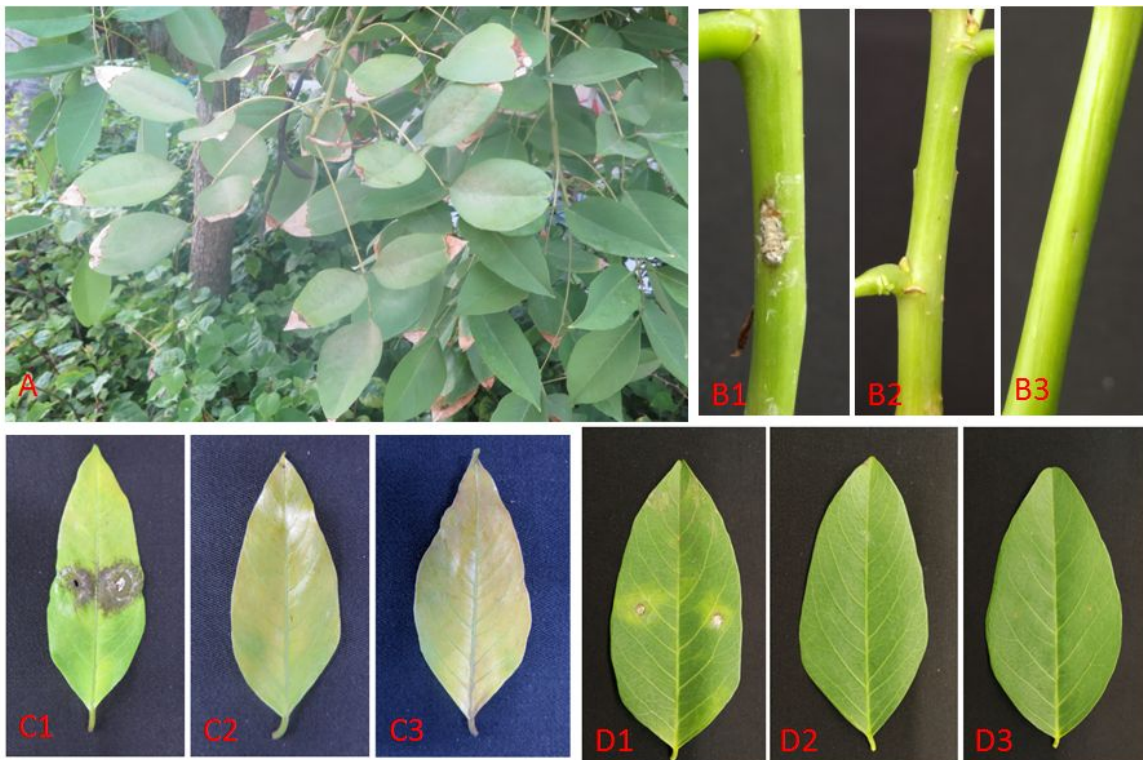


图1 鸡冠刺桐拟茎点霉（YX110）叶斑病

A: 自然症状；B1, C1, D1: YX110 刺伤后病原菌接种嫩茎、嫩叶及老叶症状；B2, C2, D2: YX110 无损伤接种嫩茎、嫩叶及老叶症状；B3, C3, D3: PDA 琼脂块刺伤接种嫩茎、嫩叶及老叶症状（对照组）

Fig.1 *E. crista-galli* Leaf Spot caused by *Phomopsis* sp (YX110) .

A: Symptoms in the field; B1, C1, D1: Symptoms with young stems, young leaves and old leaves using needle punch inoculated with the strain YX110; B2, C2, D2: Symptoms with young stems, young leaves and old leaves unwounded inoculated with the strain YX110; B3, C3, D3: Symptoms with young stems, young leaves and old leaves using needle punch inoculated with PDA block (control).

2.2 病原菌的分离和致病性结果

将分离获得的菌株接种鸡冠刺桐健康叶片和嫩茎，发现编号YX110、YX112、YX117 3菌株的致病作用明显，症状相似。采用菌块刺伤接种后，嫩茎和嫩叶接种部位出现水渍状褐色病斑，病斑扩展较快，病部覆盖一层白色菌丝（图1-B1、C1），老叶在接种部位产生黄褐色斑点。随病情发展，病斑不断扩展，后期病部也覆盖白色霉层（图1-D1）。无损伤方式接种病原菌后均无病症（图1-B2、C2、D2），对照组接种点处变黑，始终无扩展（图1-B3、C3、D3）。病斑处有子实体产生，压破后可以发现有大量 α 型分生孢子和少量 β 型分生孢子。从病斑上能够再次分离纯化出相同菌落特征的病原菌。且3株致病菌株的菌落特征、分生孢子形态没有明显差异，认定为同一类型真菌。选择YX110为代表菌株开展后续试验。

2.3 病原菌的形态特征

供试菌株YX110在PDA上菌落白色薄绒状，生长较快，菌落边缘平整，其背面中部为黄褐色，边缘为浅黄色，基质初白色后呈淡黄色，后期长出黑色小粒状分生孢子器（图2-B1、B2）。分生孢子器块茎状或不规则状（图2-C、D、E），产孢细胞无色，瓶梗型（图2-F）；分生孢子有 2 种类型： α 型分生孢子梭形，两端钝，正直，偶尔微弯，无色，单胞，内含2个油滴， $6.1\sim 8.4\times 1.7\sim 2.3\mu\text{m}$ （图2-M、N、O、P）； β 型分生孢子线形，一端为钩状，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.）（图2-H、I、J、K、L）。

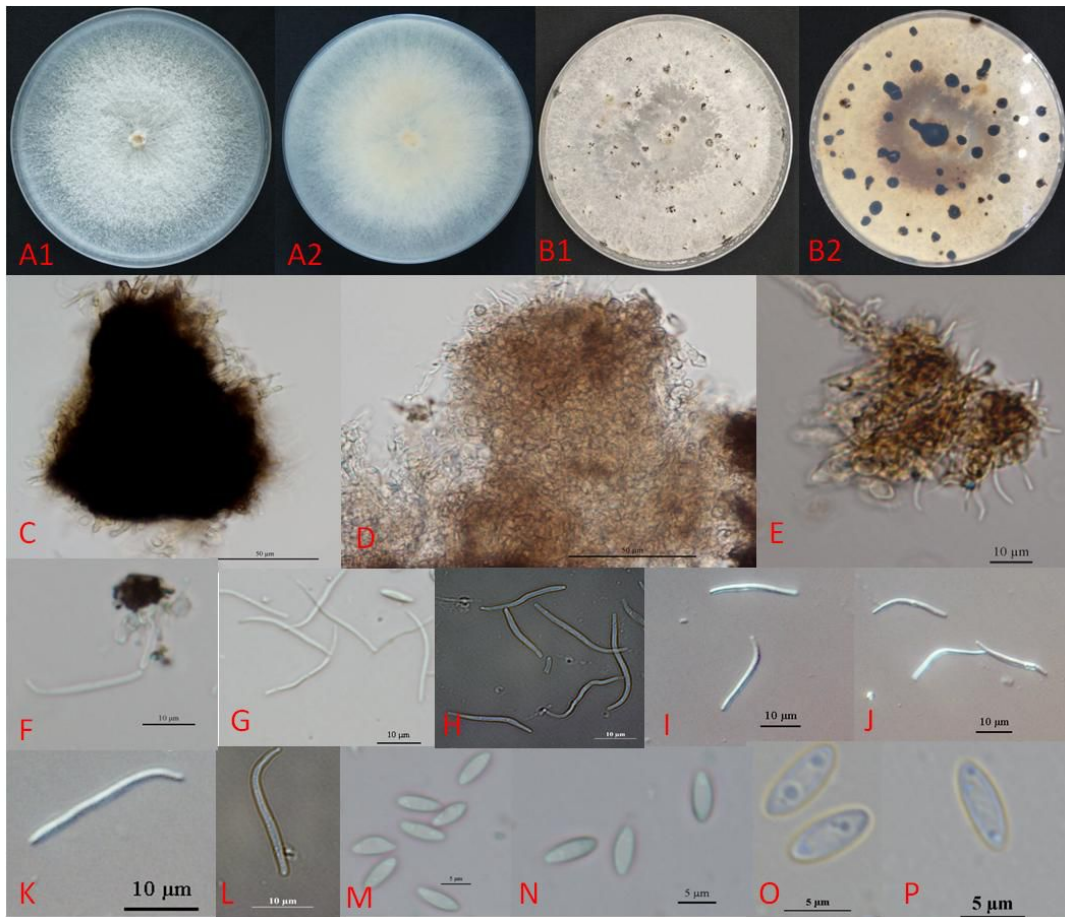


图2 菌株 YX110 的菌落和形态特征

A1, A2: 菌株 YX110 在 PDA 上培养 7 d 的菌落; B1, B2: 菌株 YX110 在 PDA 上培养 25 d 的菌落; C, D, E: 分生孢子器; F: 产孢细胞、及 β 型分生孢子; G: α 型和 β 型分生孢子; H, I, J, K, L: β 型分生孢子; M, N, O, P: α 型分生孢子

Fig.2 Colonial and morphological characteristics of the isolate YX110

A1, A2: Colony of the isolate YX110 cultivated on PDA for 7 d; B1, B2: Colony of the isolate YX110 cultivated on PDA for 25 d; C, D, E: pycnidium; F: Conidiogenous cells and β -type conidia; G: α -type conidia and β -type conidia; H, I, J, K, L: β -type conidia; M, N, O, P: α -type conidia.

2.4 病原菌的分子鉴定

对供试菌株YX110的ITS、18 S 基因进行扩增与测序,获得长度分别为551 bp和1339 bp 的片段(GenBank 登录号: MN314362和 MN314363), 利用 Blast 对分离菌株进行同源性比对, 结果表明该菌株与枫香拟茎点霉 (*Phomopsis liquidambari*) 的相似度分别为 98.36%和99.28% (KX866890.1和HG285146.1)。ITS基因系统发育进化树结果进一步显示, 菌株YX110 与*P. liquidambari*聚在同一分枝上(图3)。根据病原菌形态特征、致病力测定、Blast同源性比对以及ITS基因系统发育树分析, 认为引起鸡冠刺桐叶斑病的病原菌为枫香拟茎点霉 (*P. liquidambari*) [8-9]。

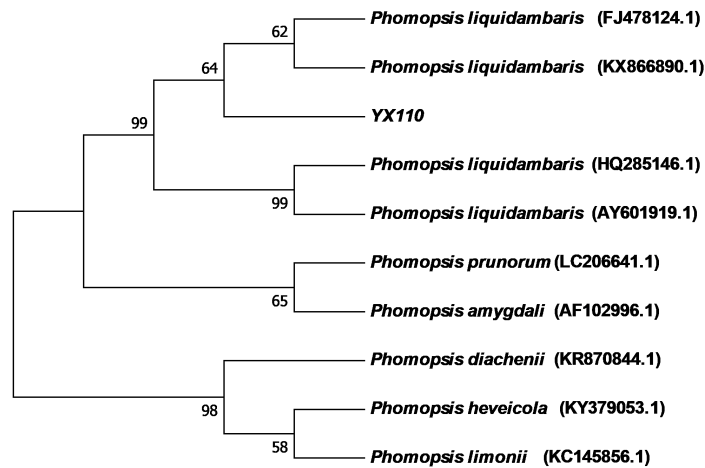


图 3 基于 ITS 基因构建的菌株 YX110 的系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree of strain YX110 based on ITS sequence

2.5 *P. liquidambari*的生物学特性

2.5.1 不同温度对*P. liquidambari*生长的影响

结果表明, 10~30 °C 之间, 病原菌菌落直径随温度升高而逐渐增大。菌丝生长适宜温度为25~30°C, 最适宜温度为30 °C, 温度低于5 °C或高于40 °C病原菌将不能生长(见图4)。

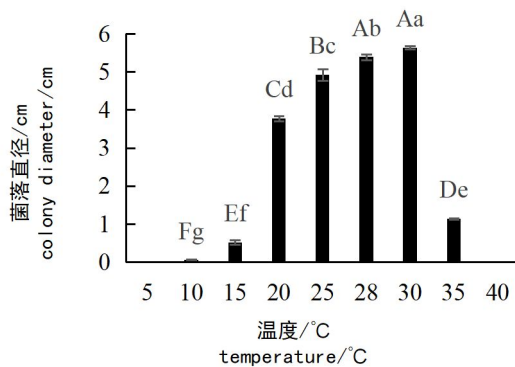


图 4 温度对 *P. liquidambari* 生长的影响

Fig. 4 the effect of temperature on pathogen *P. liquidambari* growing

说明: 图中不同英文大写字母表示经 Duncan 多重比较, 大写字母表示相互间达极显著 (P=0.01) 差异, 小写字母表示达显著 (P=0.05) 差异, 以下同。 Note: In each column, means followed by different capital letters are significantly at the 1% level by DMRT, and small letter are significantly at the 5% level, the same as below.

2.5.2 不同pH对*P. liquidambari*生长的影响

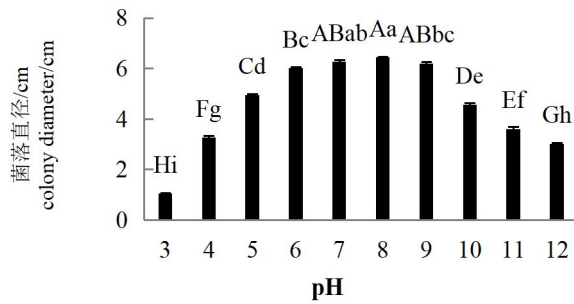


图5 pH对 *P. liquidambaris* 生长的影响

Fig. 5 the effect of pH on pathogen *P. liquidambaris* growing

研究表明, 病原菌在 pH 3~12 条件下均能生长, 随 pH 不断增大, 菌落生长速度呈现先增加后减弱的趋势, 病原菌适宜 pH 为 7~9, 最适 pH 为 8 (见图 5)。

2.5.3 不同光照对 *P. liquidambaris* 的影响

实验结果表明, 全光照条件下对菌丝生长较为迅速, 全黑暗培养菌落扩展最慢。(见图6)。

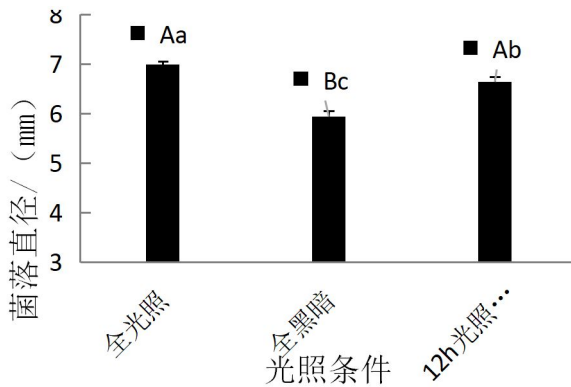


图6 光照对 *P. liquidambaris* 生长的影响

Fig. 6 the effect of light on pathogen *P. liquidambaris* growing

2.6 13种杀菌剂对 *P. liquidambaris* 的室内毒力测定

结果表明, 供试的13种杀菌剂对枫香拟茎点霉 (*P. liquidambari*) 均有一定的毒力 (表1), 其中, 8种药剂的 EC_{50} 值小于 $1.0 \mu\text{g}/\text{mL}$, 毒力自高至低依次为50%多菌灵可湿性粉剂, EC_{50} 值为 $0.07 \mu\text{g}/\text{mL}$; 10%苯醚甲环唑水分散粒剂, EC_{50} 值为 $0.09 \mu\text{g}/\text{mL}$; 40%氟硅唑乳油, EC_{50} 值为 $0.18 \mu\text{g}/\text{mL}$; 10%己唑醇悬浮剂, EC_{50} 值为 $0.43 \mu\text{g}/\text{mL}$; 43%戊唑醇悬浮剂, EC_{50} 值为 $0.59 \mu\text{g}/\text{mL}$; 12.5%烯唑醇可湿性粉剂, EC_{50} 值为 $0.64 \mu\text{g}/\text{mL}$; 25%吡唑醚菌酯悬浮剂, EC_{50} 值为 $0.68 \mu\text{g}/\text{mL}$; 及25%丙环唑乳油, EC_{50} 值为 $0.69 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。其次为40%百菌清悬浮剂和40%腈菌唑悬浮剂, 它们的 EC_{50} 值分别为 $1.27 \mu\text{g}/\text{mL}$ 和 $3.00 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。25%啉菌酯悬浮剂的毒力最差, EC_{50} 值为 $179.86 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。

表1 13种杀菌剂对 枫香拟茎点霉 (*P. liquidambari*) 的室内毒力测定结果

Table 1 Indoor toxicity of 13 fungicides against the pathogen *P. liquidambaris*

| 药剂 | 毒力回归方程 | R | $EC_{50}(\mu\text{g}/\text{mL})$ |
|----------------|------------------------|----------|----------------------------------|
| 25%啉菌酯悬浮剂 SC | $y = 0.2683x + 4.395$ | 0.9718** | 179.86 |
| 15%三唑酮可湿性粉剂 WP | $y = 3.0223x + 1.4581$ | 0.9873** | 14.86 |
| 10%戊菌唑乳油 EC | $y = 1.7283x + 4.0151$ | 0.9635** | 11.86 |
| 40%腈菌唑悬浮剂 SC | $y = 2.5227x + 3.7987$ | 0.9962** | 3.00 |
| 40%百菌清悬浮剂 SC | $y = 1.0976x + 4.8874$ | 0.9267** | 1.27 |
| 25%丙环唑乳油 EC | $y = 3.8037x + 5.6246$ | 0.9740** | 0.69 |
| 25%吡唑醚菌酯悬浮剂 SC | $y = 0.9171x + 5.1539$ | 0.9801** | 0.68 |

| | | | |
|------------------|------------------------|----------|------|
| 12.5%烯唑醇可湿性粉剂 WP | $y = 2.3747x + 5.4559$ | 0.9540** | 0.64 |
| 43%戊唑醇悬浮剂 SC | $y = 3.0091x + 5.6868$ | 0.9803** | 0.59 |
| 10%己唑醇悬浮剂 SC | $y = 2.8037x + 6.0413$ | 0.9645** | 0.43 |
| 40%氟硅唑乳油 EC | $y = 4.3995x + 8.3318$ | 0.9826** | 0.18 |
| 10%苯醚甲环唑水分散粒剂 WG | $y = 2.0114x + 7.0702$ | 0.9785** | 0.09 |
| 50%多菌灵可湿性粉剂 WP | $y = 4.1428x + 9.8938$ | 0.9646** | 0.07 |

注: **代表毒力回归方程极显著相关

Note: ** Means the toxicity regression equation were extremely significant correlation.

3 结论和讨论

拟茎点霉属 (*Phomopsis*) 真菌迄今报道已有超过1000个种^[10-14]。它们在自然生态系统中占有极为重要的地位^[15]。既是植物重要的致病菌,也是植物的内生菌和腐生菌,甚至可以侵染人类和哺乳动物^[16-18]。此外还有研究表明, *Phomopsis* 属下的一些种既是某作物的致病菌,亦能以内生菌的方式寄生于该作物的健康植株内^[19]。2005年, *P. liquidambaris* 作为枫香的内生菌被首次报道和命名^[8]。2013年, A. Danggomien^[9]等发现枫香拟茎点霉 (*P. liquidambari*) 不仅是菠萝蜜的内生菌,还是酸角的致病菌,其可以侵染酸角,引起皂荚严重腐烂。早在2004年, Weber等^[20-21]自鸡冠刺桐健康的枝条中分离获得内生真菌 *Phomopsis. sp.*, 并证明其发酵产物有抑制细菌、真菌及抗炎活性, 但未有 *Phomopsis. sp.* 侵染致病的报道。本文自鸡冠刺桐发病叶片中分离获得 *Phomopsis* 属真菌, 通过形态学与DNA 序列分析将其鉴定为枫香拟茎点霉 (*P. liquidambari*)。刺伤接种结果表明该病菌可侵染鸡冠刺桐叶片和嫩茎, 未损伤接种病原菌则不能产生侵染症状。说明枫香拟茎点霉 (*P. liquidambari*) 不仅作为内生菌, 也可作为机会致病菌, 在叶片或枝条受伤时进行侵染为害。

拟茎点霉属 (*Phomopsis*) 真菌是一类重要的植物病原菌。对该属病菌的生物学特性有较多报道。但不同种间的生物学特性间均存在较大差异^[22-24]。本次分离的 *P. liquidambari* 菌株菌丝生长最适温度是 30 °C, pH 3~12 均适合菌丝生长, 最适宜 pH 为 8, 全光照更有利于菌丝生长。结果表明该病菌喜高温, 耐酸碱和喜光照, 这初步解释了其为何能很好的适应多变的热带海洋性气候, 并在条件适宜时对寄主植物造成侵染为害。目前对拟茎点霉属 (*Phomopsis*) 真菌病害的有效防治措施仍是筛选及如何合理使用低毒高效的化学药剂。本文测定了 13 种杀菌剂对枫香拟茎点霉 (*P. liquidambari*) 的室内毒力水平, 发现多菌灵、氟硅唑、戊唑醇、烯唑醇、丙环唑 5 种药剂不仅 EC₅₀ 值低, 同时枫香拟茎点霉 (*P. liquidambari*) 对这些杀菌剂也非常敏感 (毒力回归方程中, 斜率越高敏感性越强), 表现出较高杀菌活性, 可作为防治鸡冠刺桐叶斑病的首选药剂, 这与对芦笋茎枯病菌 (*P. asparagi*) 等的研究结果基本相同^[25]。多菌灵属苯并咪唑类杀菌剂, 通过抑制作用病原菌的细胞分裂, 但位点专一, 病原菌容易产生抗药性。氟硅唑、戊唑醇、烯唑醇、丙环唑均属于三唑类杀菌剂, 其作用机理为影响甾醇类生物合成, 使菌体细胞膜功能受到破坏。上述几种杀菌剂可交替使用, 以期达到防治病害和避免抗药性产生的目的。本研究只测定杀菌剂对病原菌的室内毒力, 其在田间的使用方式及防治效果还有待进一步试验研究。

鸡冠刺桐为引种到三沙市永兴岛绿化植物, 在海岛土壤贫瘠、盐渍化的大环境下其适生性受到考验。叶斑病 (*P. liquidambaris*) 的发生, 让我们认识到一方面需要适度改善肥、水等环境, 增强鸡冠刺桐的树势, 另一方面需及时了解内生菌向机会致病菌转变的动态, 以制定新发病害对应防范策略。

参考文献

- [1] 李树刚. 中国植物志41卷[M]. 北京: 科学出版社, 1990: 166.
- [2] Toursarkissian, M. Plantas medicinales de la Argentina[M]. Hemisfério Sur, Buenos Aires, 1980: 70.
- [3] Eric B, Jillian L. Diseases of Nitrogen Fixing Trees in Developing countries: an annotated listBook[M]. Hobbs the Printers of Southampton, 1994, 26-27.
- [4] Pirnia M. Additions and corrections to names published in *Cercospora* in Iran[J]. Mycologia Iranica, 2014, 1(2): 65-74.
- [5] Silvana M. Sede, Silvia E Lopez. Xylophagous fungi of urban trees in Buenos Aires City[J]. Mycologist, 1999, 13(4) :173-175.
- [6] 李如, 龙韦韦, 陈倩茜, 等. 一株拟茎点霉(*Phomopsis sp.* SC1104)菌株的分离鉴定及对桑椹的致病性试验[J]. 蚕业科学, 2016, 42(1): 40-44.
- [7] White T, Bruns T, Lee S, et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics [J]. PCR Protocols, 1994, 38:315-322.
- [8] 常长青, 程颖慧, 向梅梅, 等. 福建省木本植物上的拟茎点霉新种[J]. 菌物学报, 2005, 24(1):6-11.
- [9] Danggomien A, Visarathanonth N, Manoch L, et al. Morphological Studies of Endophytic and Plant Pathogenic *Phomopsis liquidambaris* and *Diaporthe haseolorum* (*P. phaseoli* anamorph) from Healthy Plants and Diseased Fruits[J]. Thai Journal of Agricultural Science, 2013, 46(3): 157-164.
- [10] Uecker F. A world list of *Phomopsis* names with notes on nomenclature, morphology and biology[J]. Mycologia Memoir, 1988, 13: 1-231.

- [11] Rehner S, Uecker F. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer phylogeny and host diversity in the coelomycete *Phomopsis*[J]. Canadian Journal of Botany, 1994, 72: 1666-1674.
- [12] Rossman A, Farr D, Castlebury L. A review of the phylogeny and biology of the *Diaporthales*[J]. Mycoscience, 2007, 48: 135-144.
- [13] Rossman A, Palm-Hernández M. Systematics of plant pathogenic fungi: why it matters[J]. Plant Disease, 2008, 92: 1376-1386.
- [14] 徐成楠, 迟福梅, 冀志蕊, 等. 辽宁梨树间座壳菌枝枯病的病原鉴定[J]. 植物病理学报, 2018, 48(5): 577-581.
- [15] Udayanga D, Liu X, McKenzie E, *et al.* The genus *Phomopsis*: biology, applications, species concepts and names of common phytopathogens [J]. Fungal diversity, 2011, 50(1): 189-225.
- [16] Van W, Marasas W. *Phomopsis leptostromiformis*: the causal fungus of lupinosis, a mycotoxicosis, in sheep[J]. Mycologia, 1972, 64: 316-324.
- [17] Uecker F. A world list of *Phomopsis* names with notes on nomenclature, morphology and biology[J]. Mycologia Memoir, 1988, 13: 1-231.
- [18] Garcia-Reyne A, López-Medrano F, Morales J. Cutaneous infection by *Phomopsis longicolla* in a renal transplant recipient from Guinea: first report of human infection by this fungus[J]. Transplant Infectious Disease, 2011, 13: 204-207.
- [19] Udayanga D, Liu X, Cai L, *et al.* The genus *Phomopsis*: biology, applications, species concepts and names of common phytopathogens[J]. Fungal Diversity, 2011, 50: 189-225.
- [20] Weber D, Sterner O, Anke T, *et al.* a new antiinflammatory metabolite from an endophyte of the medicinal plant *Erythrina crista galli*[J]. Journal of Antibiotics, 2004, 57: 559-563.
- [21] Weber D, Gorzalczy S, Martino V, *et al.* Metabolites from endophytes of the medicinal plant *Erythrina crista-galli* [J]. Z. Naturforsch, 2005, 60: 467-477.
- [22] 李雪光, 潘凤娟, 宋洁, 等. 拟茎点霉属及其病害研究进展[J]. 大豆科技, 2012(6): 32-37.
- [23] 谢玲, 黄思良, 岑贞陆, 等. 芒果褐色蒂腐病菌(*Phomopsis mangiferae*)生物学特性研究[J]. 微生物学杂志, 2002, 22(1): 15-17.
- [24] 符致蕾, 杨石有, 张蕊, 等. 芒果枝枯病拟茎点霉菌生物学特性研究[J]. 中国南方果树, 2017, 46(2): 74-80.
- [25] 卢松茂, 陈振东, 林秀香, 等. 福建省防治芦笋茎枯病菌的药剂筛选[J]. 农药, 2014, 53(7): 523-524.

六点始叶螨转录因子 *EsNrf2* 调控抗氧化酶的功能研究

梁晓, 陈青*, 伍春玲, 刘迎, 范东哲

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, 海南海口 571101

摘要:天然橡胶是关系到国计民生的重要战略物质,在国防和国民经济建设中具有不可替代的作用。六点始叶螨是危害我国橡胶树最严重的一种世界危险性害螨,但橡胶树高大,药剂难以靶标,防治难度很大。目前,培育抗性品种被国内外确定为能从根本上持久防控害螨的最有效、经济、简便的防治途径。研究表明,转录因子 Nrf2 对脊椎动物抗氧化酶的调控起关键作用,然而当前 Nrf2 对害虫(螨)抗氧化酶调控功能相关研究报道较少。本研究拟克隆六点始叶螨转录因子 *EsNrf2*,并分析采用 RNAi 沉默 *EsNrf2* 对六点始叶螨取食感螨橡胶树种质 IAN2904 和抗螨橡胶树种质 IRC112 后抗氧化酶 *EsCu/ZnSOD*、*EsCAT1* 基因表达水平和 SOD、CAT 酶活性的影响。结果表明,采用 RACE-PCR 从六点始叶螨体内克隆得到全长为 1719bp 的编码区序列,进一步采用 RNAi 沉默 *EsNrf2* 基因,当饲喂浓度为 50ng/μL 的 *dsEsNrf2* 48 h 后对 *EsNrf2* 基因的沉默效率达到 90.6%,并且与 *EsNrf2* 沉默前相比,*EsNrf2* 沉默后六点始叶螨取食抗、感螨橡胶树种质后体内 *EsCu/ZnSOD* 和 *EsCAT1* 的基因表达量、SOD 和 CAT 的酶活性均显著降低 ($P<0.05$)。上述结果从分子水平证明 *EsNrf2* 能够调控六点始叶螨抗氧化酶 SOD 和 CAT 的表达,并为橡胶抗螨分子机理及分子设计育种研究提供理论依据。

矮龙船花枝枯病原菌的分离鉴定及生物学特性研究

张绍刚^{1,2}, 李敏¹, 赵超², 王义¹, 高兆银¹, 胡美姣^{1*}

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. 海南大学生命科学与药学院, 海南海口 570228;

摘要: 笔者于 2019 年在西沙群岛进行植物病害调查时发现, 矮龙船花病害发生普遍, 主要表现为枝枯和叶斑症状, 发病面积大, 严重影响三沙市岛礁景观绿化建设。通过组织分离法和单孢分离法获得纯化菌株 YXD-918-1。通过形态学特征观察、rDNA-ITS、EF1- α 和 Bt2 序列分析及柯赫氏法则验证, 确定该病原菌为 *Lasiodiplodia hormozganensis*。这是 *Lasiodiplodia hormozganensis* 所致矮龙船花枝枯病的在国内首次发现。生物学特性测定结果表明, 病菌最适温度 30 °C, 最适 pH 为 5.0, 以蔗糖为碳源的菌落长势最好, 最适氮源为酵母粉, 不同光照条件对菌丝生长影响不显著。

关键词 矮龙船花; 枝枯; *Lasiodiplodia hormozganensis*; 生物学特性

Identification and Biological Characteristics of the Pathogen Causing Stem Blight of *Ixora chinensis* in Xisha Islands

ZHANG Shaogang^{1,2}, LI Min², ZHAO Chao², WANG Yi¹, GAO Zhaoyin¹, HU Meijiao^{1*}

1 Institute of Environment and Plant Protection, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences / Key Laboratory of Integrated Pest Management on Tropical Crops, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Haikou, Hainan 571101, China

2 School of Life and Pharmaceutical Sciences, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China

Abstract: The author discovered during a plant disease survey in the Xisha Islands of Hainan Province in 2019, that the disease of *Ixora chinensis* was widespread, mainly manifested as branch withered and leaf spot symptoms. The area of the disease was large, which seriously affected the greening construction of Sansha city Island reef landscape. The pathogen strain YXD-918-1 was isolated and purified by methods of tissue isolation and single spore isolation. The pathogen was identified as *Lasiodiplodia hormozganensis* by morphological observation, sequence analyses of rDNA-ITS and EF1- α and Bt2, and its pathogenicity was confirmed by Koch's postulate. The fungal species is reported the first time as the pathogen of *Ixora chinensis* Stem Blight. The measurement results of biological characteristics showed that the optimum temperature of the pathogen was 30 °C, the optimum pH was 5, the colony growing with sucrose as the carbon source was the best, and the optimum nitrogen source was the yeast powder. Different light conditions had no significant effect on mycelial growth.

Key words: *Ixora chinensis*; branch withered; *Lasiodiplodia hormozganensis*; biological characteristic

矮龙船花 (*Ixora williamsii* Sandwith 'unkist') 又称小叶矮龙船花, 为茜草科矮龙船花属常绿灌木或小乔木, 花期几乎全年, 是我国亚热带重要的优良绿化树种, 因株姿优美、花色丰富、花期长而备受人们喜爱^[1-3]。除了观赏价值外, 其还有药用价值, 矮龙船花全株入药, 有止痛, 行气, 活血之效^[4-6]。矮龙船花原产于中国南部地区和马来西亚, 分布于越南、菲律宾等热带地区^[7]。海南省三沙市自 2012 年 7 月成立伊始, 就开始了植树绿化岛礁行动。矮龙船花因其优美花姿具有很好的观赏性, 作为主要的景观配置植物被引种到我国西沙群岛的多个岛礁上。

笔者于 2018 年在海南省三沙市进行植物病害调查时发现, 矮龙船花病害发生普遍, 主要表现为叶斑和枝枯症状, 严重时导致整株死亡, 发病面积大, 严重影响三沙岛礁景观绿化建设。为了明确引起该病害的种类, 通过对矮龙船花

枝枯病病原菌结合形态学、柯赫法则及分子生物学方法进行种类鉴定，并对其进行了生物学特性初步研究，以期为矮龙船花枝枯病的诊断、药剂筛选及防治技术提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 病害调查及采样

2018年5月、10月及2019年4月、7月从海南省三沙市永兴岛、赵述岛、晋卿岛等岛礁对矮龙船花病害进行调查及采样。

1.1.2 培养基

马铃薯葡萄糖琼脂（potato dextrose agar, PDA）培养基：去皮马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g、琼脂粉 17 g、蒸馏水 1000 mL、pH 自然。具体配制方法参阅《微生物学实验》^[8]配制。

1.2 方法

采用常规组织分离法，选择有典型症状的叶片，自病健交界处切取组织块，经过消毒处理后，将组织块移于 PDA 平板上，28℃培养 2~3 d，进行纯化，将菌株转入斜面培养基，斜面长满后置于 4℃冰箱保存备用。

待纯化的菌株生长 25 d 后，采用单孢分离法，将纯化的单孢菌株接种于 PDA 平板上，置于 28℃恒温培养 3 d 后，观察记录菌落形态、菌丝特征。待产生孢后，在高倍显微镜下观察它们的形态和测量大小。

1.3 矮龙船花枝枯病病原菌致病性测定

采集健康矮龙船花嫩叶和嫩枝，采用针刺伤法，将在菌落边缘打取直径为 5 mm 的菌饼接种到刺伤部位，用无菌棉花进行保湿处理，以无菌 PDA 培养基菌饼作为对照，置于温度为 25℃、湿度为 95% 的保鲜盒中，逐日观察叶片和枝条的发病情况。3 d 后参考 1.2.1 的分离方法对发病再分离，若分离得到的病原物与原接种菌株一致，则确定该病原物为致病菌，完成柯赫氏法则的验证。

1.4 矮龙船花枝枯病病原菌形态学鉴定

将分离得到的菌株接种在 PDA 培养基上，观察记录菌落的颜色、形状、表面特征、生长速度、边缘生长状况。在显微镜下观察孢子的类型、着生方式、大小、颜色、分生孢子梗的特征等。

1.5 矮龙船花枝枯病病原菌分子生物学鉴定

将分离得到的菌株培养 7 d 左右，送往生工生物工程（上海）股份有限公司采用的通用引物 ITS1（5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGCGG-3' ITS4 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'）^[9]和特异性引物 EF-1 α（EF-728F: 5'-CATCGAGAAGTTCGAGAAGG-3'）、（EF-986R: 5'-TACTTGAAGGAACCCTTA
CC-3'）^[10]，及特异性引物 Bt2a（5'-GGTAACCAAATCGGTGCTGCTTTC-3'）、Bt2b（5'-ACCCTCAGT
GTA GTG ACCCTTGGC-3'）^[11]及进行测序。将获得的序列在 NCBI 上进行比对分析，然后对测序后的 rDNA-ITS、EF1-α 和 Bt2a/Bt2b 序列进行序列联配比较、编辑。利用 MEGA 6.0 软件用邻接法（neighbor-joining, NJ）以 *Lasiodiplodia margaritacea* 为外群，构建系统发育树^[12]。

1.6 矮龙船花枝枯病病原菌生物学特性测定

1.6.1 温度对菌丝生长的影响

将活化的病原菌在 PDA 培养基上培养 7 d 后，在菌落边缘用打孔器($\Phi=5.0\text{ mm}$)打取菌饼，接种于 PDA 平板中央，置 5、10、15、20、25、28、30、35、40℃下，在明暗交替的培养箱中培养7 d 后，用十字交叉法测量菌落直径。每个处理重复 3 次。使用 IPSS 数据处理系统对数据进行方差分析。

1.6.2 光照对菌丝生长的影响

设连续光照、12 h 光暗交替、连续黑暗 3 种不同光处理，28℃下恒温培养，其余同 1.6.1。

1.6.3 pH对菌丝生长的影响

用无菌 1 mol/L HCl 和 1 mol/L NaOH 调节无菌 PDA 培养基的 pH 至 3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0、11.0、12.0。其余同 1.6.1。

1.6.4 碳源和氮源对菌丝生长的影响

以查氏固体培养基为基础培养基，分别用等量的乳糖、麦芽糖、可溶性淀粉、葡萄糖、果糖、蔗糖、木糖、纤维素置换其中的碳源。同样分别用等量的硫酸铵、氯化铵、尿素、蛋白胨、丙氨酸、甘氨酸、缬氨酸、硝酸钠替换其中的氮源。其余同 1.6.1。

1.6.5 菌丝的致死温度测定 应用恒温水浴锅，设置45℃、50℃、55℃和60℃计4个温度梯度，将菌饼移入预热好的装有2 mL 无菌水试管中，分别加热10 min、20 min和30 min，迅速冷却，移植菌饼于PDA平板中，每个处理3次重复，28℃恒温培养，48 h后观察菌丝生长情况。

2 结果与分析

2.1 矮龙船花枝枯病病害症状

该病主要危害矮龙船花叶片及枝条（图1）在叶边缘出现病斑，逐渐向整片叶子扩散，橙褐色，整株均由上而下表现出坏死和严重枯萎症状。该病扩展较快，在4月、10月份调查都发现发病较为普遍。发病严重时会造成叶片枯死、脱落，甚至整株死亡。



图1 矮龙船花枝枯病病害症状

Fig. 1 Field symptoms of *L. hormozganensis* on *Ixora chinensis*

2.2 矮龙船花枝枯病病原菌致病性测定

致病性测定结果表明，用YXD-918-1菌的菌病接种到消毒针刺伤的嫩叶上3 d 后，刺伤部位出现橙褐色病斑，病健交界明显，与西沙群岛上发现的病害症状相似（图2）继续保湿观察，10 d 后与后期岛上的症状相似，对照未发病。镜检孢子与第1次分离得到的孢子形态一致。从接种发病部位再次分离、培养得到了相同形态的病原菌，结果符合柯赫氏法则。



图2 矮龙船花枝枯病菌致病性测定

Fig. 2 Pathogenicity test of the pathogen from *Ixora chinensis*

2.3 矮龙船花枝枯病原菌的鉴定

2.3.1 形态特征

菌落生长特性：病原菌 YXD-918-1 菌株在 PDA 培养基上的菌落初期呈白色，菌落边缘不整齐，气生菌丝丰富，中心为浅绿色。随着时间推移，整个菌落变成了深绿色，最终变成黑色。

分生孢子：在 PDA 培养基上培养 25 d 后均可产生分生孢子，分生孢子器半埋生于培养基上，呈独立球状突起，铅黑色并被菌丝包裹，形态是椭圆形的，具有圆形和尖端，单孢，未成熟的分生孢子透明，壁厚，呈腹膜状，密生。成熟时呈深褐色有纵条纹和一个隔膜（图3）成熟孢子大小为(19.3~22.9) μm ×(11.5~13.2) μm 。

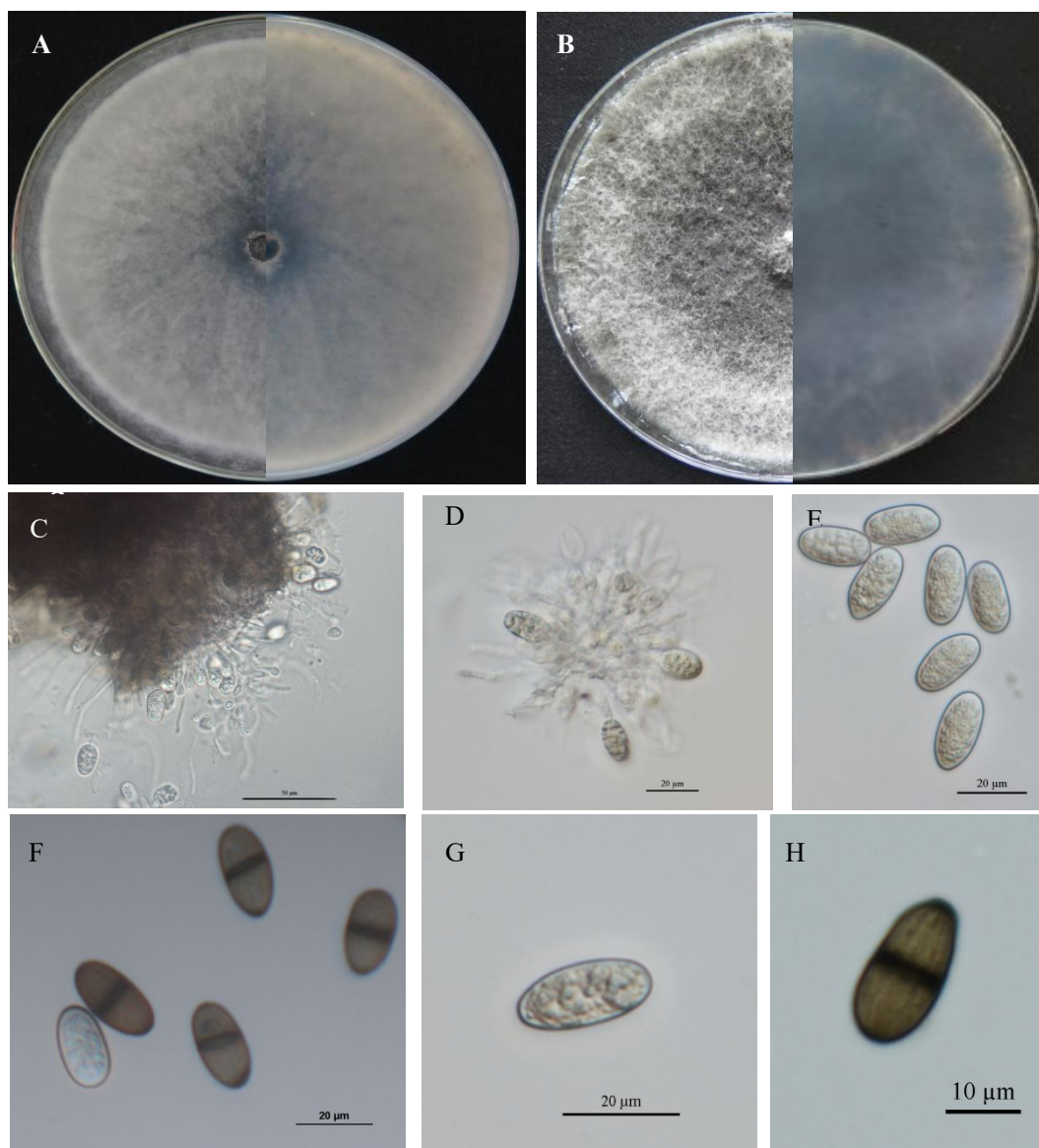


图 3 矮龙船花枝枯病菌形态学特征

Fig. 3 Morphological characteristics of the pathogen

2.3.2 基因序列分析

测序结果显示，YXD-918-1 菌株的 rDNA-ITS、EF1- α 和 Bt2a/ Bt2b 分别为 518 bp、303 bp 和 436 bp，该菌株的 rDNA-ITS、EF1- α 和 Bt2a/ Bt2b 基因的登录号分别为 MT482621、xxxxxx 和 xxxxxx。将 YXD-918-1 菌株 rDNA-ITS、EF1- α 和 Bt2a/ Bt2b 序列与 GenBank 中已有的 rDNA-ITS、EF1- α 和 Bt2a/ Bt2b 基因序列进行同源性比较，发现与 KP822968、MK500926 和 MK294118 的相似度达到 100%、99% 和 100%。GenBank 中选取含模式菌株在内的相关菌株 *Lasiodiplodia pseudotheobromae*、*Lasiodiplodia theobromae*、*Lasiodiplodia parva* 等菌株的 rDNA-ITS、EF1- α 和 Bt2a/ Bt2b 序列，选取 *Lasiodiplodia margaritacea* 为外群，使用 3 种序列联合建树，进行多重序列比较及系统发育学分析，结果显示，YXD-918-1 菌株与模式菌株 *L.*

hormozganensis CERC2043 和 *L. hormozganensis* CERC2043 在系统发育树上聚为一支 (图 4), 表明该病原菌 YXD-918-1 与 *L. hormozganensis* 菌遗传距离最小。结合形态学特征观察及分子生物学技术鉴定结果, 确定该病原菌为 *L. hormozganensis* 。

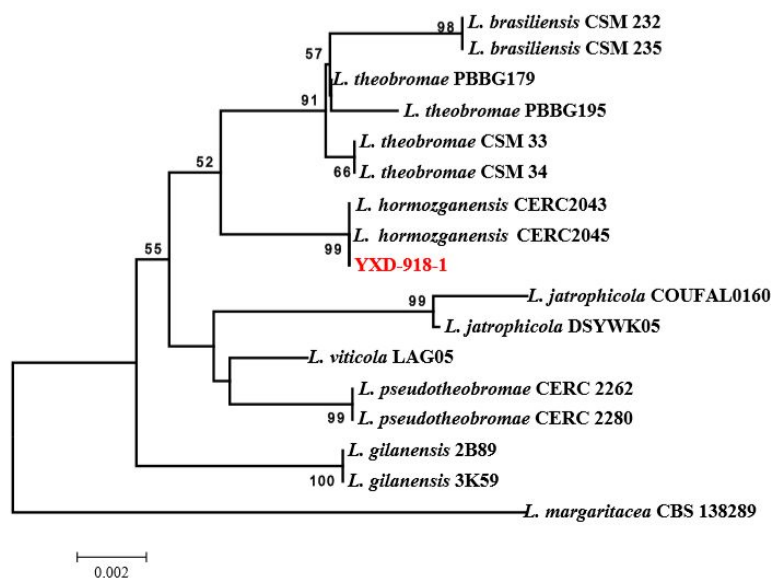


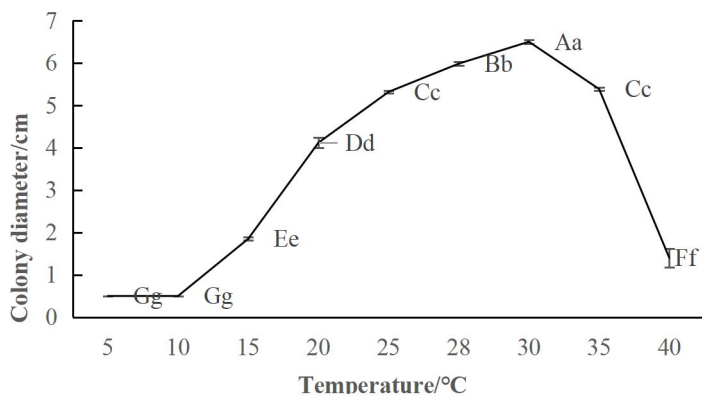
图 4 基于 ITS 序列、EF1- α 和 Bt 基因的系统发育树

Fig. 4 Phylogenetic tree of isolate YXD-918-1 and species of *Lasiodiplodia* based on combined ITS, EF1- α and Bt gene sequences

2.4 矮龙船花枝枯病病原菌生物学特性

2.4.1 温度对 *L. hormozganensis* 菌丝生长的影响

病原菌 5~40 °C 温度范围正常生长。低于 10 °C 和高于 40 °C 条件下菌丝生长受限。病原菌 30 °C 条件下平均直径最大, 与其他处理相比达到极显著, 5 °C 条件下直径较小。结果表明, 病原菌最适生长温度条件 30 °C, 25~35 °C



温度范围内菌丝生长速率快（图 5）。

图 5 温度对菌丝生长的影响

Fig.5 Effect of the temperature on mycelial growth of *L. hormozganensis*

2.4.2 光照对 *L. hormozganensis* 菌丝生长的影响

病原菌在 36 h 连续光照、12 h 光暗交替、12 h 光交替和连续黑暗条件下均正常生长。12 h 暗光交替条件下平均直径最大，连续黑暗条件下平均直径最小。结果表明，病原菌在 12 h 暗光交替条件下生长速率快于其他条件，最适合菌丝生长。但是不同光照对菌丝的生长影响不显著（图 6）

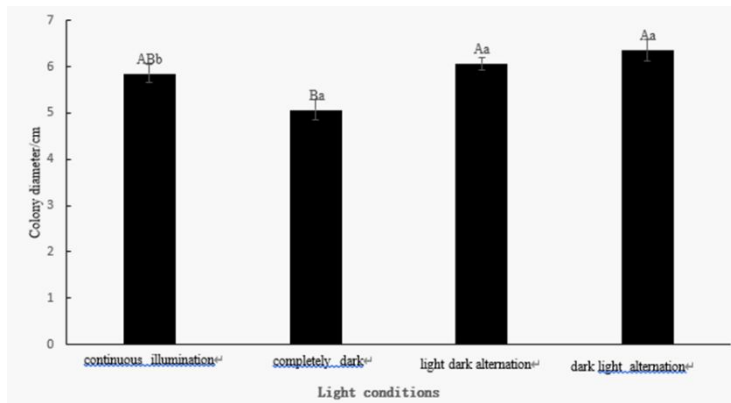


图 6 光照对菌丝生长的影响

Fig. 6 Effect of the light on mycelial growth of *L. hormozganensis*

2.4.3 pH 对 *L. hormozganensis* 菌丝生长的影响

病原菌在 pH 3.0~12.0 范围内均正常生长。pH 5.0 条件下平均直径最大，pH 3.0 与 pH 12.0 条件下平均直径较小。pH 5.0~6.0 条件下菌丝直径明显大于其他条件，其中 pH 8.0 与 pH 7.0 相比差异达显著，与 pH 5.0、6.0、11.0 相比差异达极显著。结果表明，pH 5.0~9.0 范围内菌丝生长速率较快，pH 5.0 碱性条件最适合病原菌生长，酸性和过碱性条件不利于菌丝生长（图 7）

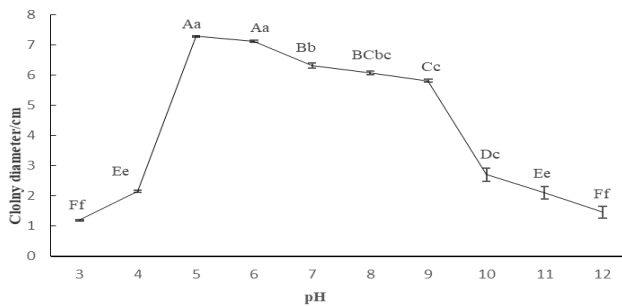


图 7 pH 值对菌丝生长的影响

Fig. 7 Effect of the pH value on mycelial growth of *L. hormozganensis*

2.4.4 碳源和氮源对 *L. hormozganensis* 菌丝生长的影响

以乳糖、麦芽糖、可溶性淀粉、葡萄糖、木糖、果糖、纤维素、蔗糖为培养基碳源时病原菌可正常生长。但不同碳源对菌丝生长影响显著，当培养基以蔗糖为碳源时，平均直径最大，与其他条件相比差异达极显著，说明蔗糖条件下菌丝生长速率最快，最利于病原菌生长；以木糖为碳源时，直径最小，木糖不利于菌丝生长（表 1）以硫酸铵、氯化铵、尿素、蛋白胨、酵母粉、丙氨酸、甘氨酸、缬氨酸、硝酸钠为培养基氮源时病原菌可正常生长。但不同的氮源对菌丝生长也有影响，当培养基以酵母粉为氮源时，平均直径最大，与其他条件相比差异极其显著。以甘氨酸为氮源时，平均直径最小，与缬氨酸相比无显著差异，最利于菌丝生长的氮源为酵母粉（表 2）

表 1 不同碳源对菌丝生长的影响

Tab. 1 Effect of different carbon sources on mycelia growth

| 碳源/Carbon source | 菌落直径/Colony diameter/cm |
|-----------------------|-------------------------|
| 乳糖/Lactose | 4.15+0.12Bb |
| 麦芽糖/Maltcose | 3.85+0.09Bbc |
| 可溶性淀粉/ Soluble starch | 4.28+0.12Bb |
| 葡萄糖/Glucose | 3.90+0.07BCbc |
| 木糖/Xylose | 1.92+0.09Ec |
| D-果糖/D-Fructose | 4.07+0.18BCb |
| 纤维素/Cellulose | 3.22+0.12Dd |
| 蔗糖/Sucrose | 4.87+0.30CDcd |
| 对照/control | 3.47+0.06Aa |

表 1 不同氮源对菌丝生长的影响

Tab. 2 Effect of different nitrogen sources on mycelia growth

| 氮源 Nitrogen source | 菌落直径 Colony diameter/cm |
|---|-------------------------|
| 硫酸铵 (NH ₄) ₂ SO ₄ | 5.77+0.11BCbc |
| 氯化铵 NH ₄ Cl | 5.97+0.07Bb |
| 尿素 CH ₄ N ₂ O | 6.00+0.04Bb |
| 蛋白胨 Peptone | 5.40+0.07Ccd |
| 酵母粉 Yeast powder | 6.57+0.16Aa |
| 丙氨酸 C ₃ H ₇ NO ₂ | 5.33+0.06CDd |
| 甘氨酸 C ₂ H ₅ NO ₂ | 3.35+0.16Ef |
| 缬氨酸 C ₅ H ₁₁ NO ₂ | 3.47+0.04Ef |
| 硝酸钠 NaNO ₃ | 4.87+0.30De |
| 对照/control | 3.20+0.06Ef |

2.4.5 *L. hormozganensis*的致死温度

菌丝块经 40~55 °C、10 min、20 min、30 min水浴后均存活, 60 °C、10 min以上则无菌丝生长, 说明该病菌致死温度在60 °C以上, 结果表明, 在60 °C以上水浴10 min可杀死病原菌(表 3)

表 3 致死温度

Tab. 3 Lethal temperature of *L. hormozganensis*

| 温度 Temperature/°C | 时间 Time/min | 菌落 Colony growth | 温度 Temperature/°C | 时间 Time/min | 菌落Colony growth |
|----------------------|----------------|---------------------|----------------------|----------------|--------------------|
| 45 | 10 | + | 55 | 10 | + |
| | 20 | + | | 20 | + |
| | 30 | + | | 30 | - |
| 50 | 10 | + | 60 | 10 | - |
| | 20 | + | | 20 | - |
| | 30 | + | | 30 | - |

3 讨论及结论

通过对西沙群岛矮龙船花发现的枝枯病原菌的形态特征观察、致病性测定、分子鉴定及生物学特性研究, 确定该病菌为 *L. hormozganensis*, 这也是该病原菌所致矮龙船花枝枯病在国内首次发现。该病原菌主要危害矮龙船花嫩叶及枝条, 先从叶边缘出现病斑, 逐渐向整片叶子扩散, 然后逐渐沿枝条向下延伸, 最终导致整株枯死。该病原菌也是重要的农业病原菌, Custódio 曾报道了 *L. hormozganensis* 导致蓖麻茎腐病^[13], Joubert 在海地发现 *L. hormozganensis* 导致茄子果实腐烂^[14], Mariote 还发现 *L. hormozganensis* 对番木瓜的致病性在同种属中最强^[15], 对经济作物造成巨大损失。

菌株在 PDA 培养基上的菌落初期呈白色, 中心为浅绿色, 菌落逐渐变成了深绿色, 最终变成黑色。分生孢子器半埋生于培养基上, 呈独立球状突起, 形态是椭圆形的, 单孢, 未成熟的分生孢子透明, 壁厚, 成熟时呈深褐色有纵条纹和一个隔膜。该病原菌适宜生长温度范围为 28~35 °C, 最适生长温度为 30 °C; 吴如慧等^[16]研究的同种属毛色二孢菌最适生长温度范围是 25~35 °C, 与笔者研究基本一致。在四种光照条件下没有明显差别, 黑暗对其生长存在一定抑制作用; 最适 pH 为 5.0, 与吴如慧等^[23]在海南省三亚市的橡胶树种植区发现一种新的橡胶树毛色二孢菌最适 pH 是 5.0 一致; 在测定的几种碳源中, 以蔗糖为碳源的菌落长势最好; 在氮源方面, 单一氮源以酵母粉为氮源的菌落长势最好; 而吴如慧等^[23]等研究认为 D-果糖为适碳源、硝酸铵为适氮源不符合, 造成上述差异的原因不仅是种的不同, 还可能和病原菌分离地方和寄主的不同等原因。该病害在西沙群岛引种的矮龙船花上发生普遍, 本次研究为有效防治 *L. hormozganensis* 菌导致的枝枯病提供理论依据。

参考文献

- [1] 韦运谢, 蒲金基, 张贺, 等. 龙船花赤枯病原菌鉴定及其生物学特性测定[J]. 中国植保导刊, 2012, 32(8): 5-10.
- [2] 李颖欣, 翁殊斐, 张波. 龙船花属(*Ixora*)植物研究现状及其园林应用[J]. 热带农业科学, 2013, 33 (1): 96-101.
- [3] 范体凤, 李颖欣, 翁殊斐, 等. 国内 12 种常见龙船花属观赏植物鉴别与分类检索[J]. 热带农业科学, 2017, 37(8): 101-106.
- [4] 吕水平. 龙船花属植物临床应用探究[J]. 北方药学, 2015, 12(10): 60-61.
- [5] 张秋燕, 张福平. 粤东地区茜草科药用植物资源研究[J]. 中医药临床杂志, 2015, 27(6): 857-861.

- [6] 黄秀珍, 邹秀红. 福建泉州茜草科药用植物资源的调查研究[J]. 种子, 2015, 34(5): 55-59.
- [7] 《分子植物育种》编辑团队. 龙船花[J]. 分子植物育种, 2020, 18(9): 3116.
- [8] 沈萍. 微生物学实验[M]. 北京: 高等教育出版社, 12007: 242.
- [9] White T J, Bruns T, Lee S, et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetic Ics [M]//Innis M A, Gelfand D H, Sninsky J J, et al (eds). PCR protocols: A guide to methods and applications. New York: Academic Press, 1990: 315-322.
- [10] Carbone I, Kohn L M. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous Ascomycetes[J]. Mycologia, 1999, 91(3): 553-556.
- [11] Glass N L, Donaldson G C. Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes[J]. Applied and environmental microbiology, 1995, 61(4).
- [12] Tamura K, Stecher G, Peterson D, et al. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0[J]. Molecular Biology and Evolution, 2013, 30(12): 2725.
- [13] Custódio Fábio Alex, Reis M A, Dartanhã José Soares, et al. *Lasiodiplodia hormozganensis* causing basal stem rot on *Ricinus communis* in Brazil[J]. Australasian Plant Disease Notes, 2018, 13(1): 25.
- [14] Fayette J, Bec S, Loubeau S, et al. First report of *Lasiodiplodia hormozganensis* causing fruit rot of eggplant in Haiti[J]. Plant Disease, 2019.
- [15] Netto M S B , Iraíldes P. Assunção, Lima G S A , et al. Species of *Lasiodiplodia* associated with papaya stem-end rot in Brazil[J]. Fungal Diversity, 2014, 67(1):127-141.
- [16] 吴如慧, 李增平, 张宇, 等. 橡胶树毛色二孢叶斑病原菌的鉴定及其生物学特性研究[J]. 热带作物学报, 2019, 040(1): 107-114.

5 种棕榈植物对椰子织蛾幼虫生长发育的影响

李朝绪, 黄山春, 吕朝军, 覃伟权, 钟宝珠

(中国热带农业科学院椰子研究所, 院士团队创新中心(槟榔黄化病综合防控), 海南文昌 571339)

摘要: 为了解椰子织蛾幼虫对海南主要棕榈植物的适应能力。在实验室内分别采用椰子、大王棕、槟榔、中东海枣和蒲葵 5 种棕榈植物叶片饲喂初孵化的椰子织蛾幼虫, 并观察其发育情况。结果表明: 椰子织蛾幼虫取食槟榔叶片不能完成发育, 很快就死亡。取食其他 4 种棕榈植物叶片的椰子织蛾发育历期具有明显的差异。其中, 取食大王棕叶片的椰子织蛾幼虫发育历期最长, 平均为 64.66 ± 5.32 天; 取食蒲葵叶片的椰子织蛾幼虫次之, 平均为 48.83 ± 4.82 天, 再次为取食中东海枣的椰子织蛾幼虫, 平均发育历期为 45.82 ± 6.59 天, 取食椰子叶片的椰子织蛾发育历期最短, 为 41.18 ± 5.20 天。本研究结果为正确预测椰织蛾在海南主要棕榈植物的种群变化, 及时开展防治工作, 保护海南棕榈产业健康发展, 具有重要的指导意义。

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)

鸦胆因 D 抑制斜纹夜蛾生长发育作用机理初探²¹

毛根林^{1,2}, 邱迪洋^{1,2}, 樊睿怡^{1,2}, 张欣欣^{1,2}, 曾继吾^{1,2*}

1 广东省农业科学院果树研究所; 2 农业农村部南亚热带果树生物学与遗传资源利用重点实验室, 广东广州, 510642

摘要 从鸦胆子废渣中分离得到的鸦胆因D拥有优异的内吸性, 对多种鳞翅目害虫表现出优良的拒食与生长发育抑制活性, 具有巨大的开发应用潜力。本研究以斜纹夜蛾(*Spodoptera litura*)为对象, 采用RNA-Seq、HE染色等方法, 研究了鸦胆因D抑制斜纹夜蛾幼虫生长发育的作用机理。结果表明: 低浓度鸦胆因D处理2 d后, 共有1947个基因表达发生显著变化, 其中952个基因上调, 995个基因下调, 主要富集在营养物质的消化与吸收(蛋白、糖类与脂类), 同时发现与细胞基质结构、氧化应激、溶酶体等相关的通路均发生了显著变化; 测定喂食鸦胆因D 4 d的斜纹夜蛾幼虫中肠中主要消化酶活性, 与对照组相比, α -淀粉酶、脂肪酶和胰蛋白酶活性分别下降了28.03%、70.53%、60.98%, 胰凝乳蛋白酶则上升了34.57%; 采用微孔板法测定了鸦胆因D饲喂4 d的斜纹夜蛾幼虫中肠SOD、CAT、POD抗氧化酶活性显著降低, 分别降低了19.58倍、1.40倍、2.14倍, 导致中肠ROS、MDA含量发现相比对照处理组分别提高1.24与2.47倍; 随后利用HE染色中肠的石蜡切片发现鸦胆因D处理7 d后幼虫中肠结构受损严重, 中肠体积缩小, 基膜变薄, 肠壁上的细胞从肌肉层脱落向内腔挤, 柱状细胞膨大, 刷状缘稀疏分布, 围食膜结构破损严重。综上所述, 鸦胆因D引起了斜纹夜蛾幼虫中肠的氧化应激反应, 导致积累了过量的ROS并破坏了中肠的膜结构的完整性, 影响了中肠对营养物质的消化吸收, 从而抑制了幼虫的正常生长发育。

关键词 鸦胆因 D; 斜纹夜蛾; 中肠; 氧化应激

A Preliminary Study on the Mechanism of Bruceine D Inhibiting the Growth and Development of *Spodoptera litura*

MAO Genlin^{1,2}, QIU Diyang^{1,2}, FAN Ruiyi^{1,2}, ZHANG Xinxin^{1,2}, ZENG Jiwu^{1,2*}

1 Institute of Fruit Tree Research, Guangdong Academy of Agricultural Sciences

2 Key Laboratory of South Subtropical Fruit Tree Biology and Genetic Resources Utilization, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guangzhou 510642, China

Abstract Bruceine D isolated from the waste residue of *Brucea javanica* showed good systemic property and excellent antifeedant and growth inhibition activity against lepidoptera pests. In this study, *Spodoptera litura* was conducted to investigate the mechanism of bruceine D in inhibiting the growth and development of lepidoptera pests. RNA-Seq was employed to determine the effect of bruceine D against *Spodoptera litura* larvae. The results showed that after fed with bruceine D for 2 days, there were a total of 1947 different expression genes (DEGs), of which 952 genes were up-regulated and 995 genes were down-regulated, mainly concentrated in the digestion and absorption of nutrients (protein, carbohydrate and Lipids), and significant changes in the pathways related to cell matrix structure, oxidative stress, lysosomes, etc. The main digestive enzyme activities in the midgut after fed bruceine D for 4 days were measured, and Compared with the control group, the activities of α -amylase, lipase, and trypsin decreased by 28.03%, 70.53%, and 60.98%, respectively, while chymotrypsin increased by 34.57%. The activities of SOD, CAT, and POD were determined in the meantime, and all of them were significantly reduced by 19.58 times, 1.40 times, and 2.14 times, respectively, which resulting ROS and MDA content in midgut increased by 1.24 and 2.47 times. Then the midgut separated from the larvae after treatment with bruceine D for 7 days was paraffined and sectioned, after strained with HE, it was found that the structure of were enlarged, the brush borders were sparsely distributed, and the peritrophic

收稿日期 2020-10-14

资助项目 广东省农业科学院人才引进项目(No. R2019YJ-YB3005)

作者简介 毛根林(1989—), 男, 助理研究员; 研究方向: 果树学。通讯作者(Corresponding author): 曾继吾(ZENG Jiwu), E-mail: jiwuzeng@163.com。

matrix was seriously damaged. In summary, bruceine D triggered the oxidative stress response in the midgut, giving rise to the accumulation of excessive ROS and destroying the integrity of the midgut membrane structure, affecting the digestion and absorption of nutrition, causing growth and development inhibiting of larvae.

Key words Bruceine D; *Spodoptera litura*; Midgut; Oxidative Stress

水杨酸采前处理对芒果采后品质、抗病性和相关基因表达的影响

弓德强^{1,4}, 胡美姣¹, 高兆银¹, 李敏¹, 陈千付³, 黄慧俐³, 杨谨瑛³, 黄台明³, 朱世江^{2*}

1 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, 海南海口 571101; 2 华南农业大学园艺学院, 广东广州 510642; 3 广西百色市现代农业技术研究推广中心, 广西百色 533612; 4 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 以‘红芒6号’芒果为试材, 研究应用 40 mg/L 的水杨酸 (SA) 采前喷施处理对采后芒果常温 (22~25℃) 贮藏期间果实品质、抗病性和相关基因表达的影响。结果表明: 采前 SA 处理显著抑制接种炭疽病菌芒果果实病斑的扩展, 降低未接菌芒果的病情指数。与对照相比, 采前 SA 处理能显著抑制采后芒果果实内源乙烯的产生、果实硬度的降低和维生素 C (Vc) 的降解, 延缓可溶性固形物 (TSS) 的升高过程, 保持较高的可滴定酸 (TA) 含量, 从而抑制固酸比 (TSS/TA) 的升高, 有效延缓采后芒果的后熟衰老进程。同时, 采前 SA 处理芒果中 ACC 氧化酶基因 (*MiACO*) 和内切- β -1,4-葡聚糖酶基因 (*MiEG*) 的表达受到显著抑制, 而 β -1,3-葡聚糖酶基因 (*MiGLU*) 和几丁质酶基因 (*MiCHI*) 的表达显著增强。这些结果表明, 采前 SA 处理提高采后芒果品质和抗病性与芒果乙烯合成、软化相关基因表达的抑制和防御相关基因表达的增强密切相关。

关键词 芒果; 水杨酸; 采后品质; 抗病性; 基因表达

中图分类号 S667.1 文献标识码 A

Effects of Pre-harvest Salicylic Acid Treatment on the Quality, Disease Resistance and related Gene Expression in Harvested Mango Fruits

GONG Deqiang^{1,4}, HU Meijiao¹, GAO Zhaoyin¹, LI Min¹, CHEN Qianfu³, HUANG Huili³, YANG Jinying³, HUANG Taiming³, ZHU Shijiang^{2*}

1 Environment and Plant Protection Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences/Key Laboratory of Integrated Pest Management on Tropical Crops, Ministry of Agriculture, Haikou, Hainan 571101, China

2 College of Horticulture, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642, China

3 Management Committee of Baise National Agricultural Science and Technology Zone of Guangxi, Baise, Guangxi 533612, China

4 Hainan Province Key Laboratory for Postharvest Physiology and Technology of Tropical Horticultural Products, Zhanjiang, Guangdong 524091, China

Abstract Effects of pre-harvest salicylic acid (SA) spraying treatment with 40 mg/L on the quality, disease resistance and related gene expression in harvested mango (*Mangifera indica* L. cv. Zill) fruits during storage at ambient temperature (22~25°C). The results showed that pre-harvest SA treatment significantly suppressed the expansion of lesions in mango fruits inoculated with *Colletotrichum Gloeosporioides*, and significantly reduced the disease index in non-inoculated mango fruits during storage. Compared with the control, pre-harvest SA treatment significantly suppressed the production of endogenous ethylene, decrease of fruit firmness and degradation of vitamin C (Vc), delayed the ascent of total soluble solids (TSS), maintained higher titratable acidity (TA) content, and thus inhibited the ascent of TSS/TA ratio and effectively delayed the ripening and senescence processes of harvested mango fruits during storage. Meanwhile, in pre-harvest SA-treated mango, the expressions of ACC oxidase gene (*MiACO*) and endo- β -1,4-glucanase gene (*MiEG*) were significantly inhibited, however, the expressions of β -1,3-glucanase gene (*MiGLU*) and chitinase gene (*MiCHI*) were significantly enhanced. These results indicated that the improvement of the quality and disease resistance of harvested mango fruits by pre-harvest SA treatment was closely

资助项目 国家重点研发计划项目 (2017YFD0202103-9); 广西科技计划项目 (桂科 AB17292039); 中国热带农业科学院基本科研业务费专项资金项目 (2016hzs1J017、1630042017026);

作者简介 弓德强 (1977—), 男, 博士, 副研究员; 研究方向: 果蔬采后生理与保鲜技术。*通讯作者 (Corresponding author): 朱世江 (ZHU Shijiang), E-mail: shijiangzhu@yahoo.com.

related to the inhibition of ethylene synthesis and softening related gene expression and the enhancement of defense related gene expression.

Keywords mango; salicylic acid; postharvest quality; disease resistance; gene expression

芒果 (*Mangifera indica* L.) 是著名的热带水果, 已经成为我国广西、海南、四川和云南等热区农业的支柱产业。但芒果是一种不耐贮运的热带水果。由于芒果果实在采前田间易受病原菌潜伏侵染, 而且采后极易后熟软化, 导致芒果在采后贮运中极易发病而腐烂^[1]。目前, 生产上常使用化学杀菌剂浸泡处理防治芒果采后病害, 但增加劳动力成本和采后损耗, 同时也不利于食品安全^[2]。近年来, 采后病害的防控和保鲜越来越侧重于从采前措施入手, 其中采前利用抗病性诱导技术防控芒果采后病害已经成为研究热点之一。

研究表明, 水杨酸 (salicylic acid, SA) 作为一种诱导植物抗病性的天然诱抗剂, 于采前处理可提高樱桃^[3]、梨^[4]、脐橙^[5]、枣^[6]和杏^[7]等果实对采后病害的抗性, 并有效保持果实的品质, 从而达到较好的防腐保鲜效果。SA 采前应用控制芒果采后病害也有一些研究报道。曾凯芳和姜微波^[8]研究表明, 采前应用较低浓度 (0.1 mmol/L) 的SA处理不仅能延缓‘紫花’芒果采后衰老进程, 而且能有效控制芒果采后病害的发生。Reddy等^[9]研究发现, 采前喷施SA (200 mg/L) 可抑制采后芒果乙烯的产生, 从而延缓果实后熟衰老, 并维持较高的果实品质。弓德强等^[1, 10]系统研究了SA采前处理对‘红芒6号’芒果采后品质和抗病性的影响, 筛选了SA采前处理适宜的浓度、时期和次数, 并进一步研究发现, 采前SA提高采后芒果果实品质和抗病性与抗氧化酶活性的增强、膜脂过氧化程度的降低及后熟衰老进程的推迟密切相关。近年来对SA采前处理提高芒果采后抗病性与品质的机理研究越来越多, 但仍然不够深入, 如从分子水平上探讨SA采前处理诱导芒果采后抗病性的相关机理研究鲜有报道。本研究以‘红芒6号’芒果为材料, 研究SA采前处理对采后芒果果实品质和抗病性的影响, 并探讨其与乙烯合成、果实软化及防御酶相关基因表达的关系, 以期改进和完善SA应用于芒果防腐保鲜提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

本试验于2019年在广西百色市田阳区百育镇一芒果生产园进行。供试芒果品种为“红芒6号” (*Mangifera indica* L. cv. Zill), 选择生长良好、树势健壮、树龄在15 a左右的芒果树为试验树。SA为分析纯 (99.9%), 购自Sigma公司。

1.2 方 法

1.2.1 采前SA处理 采前处理时间为2019年6月3日 (即谢花后约60 d), 此时果实发育已接近正常果大小。SA处理浓度为40 mg/L, 以清水为对照 (CK), 芒果果面喷匀后套上黑色纸质果袋。处理与对照各重复3次, 每次重复3株试验树。

1.2.2 采收与选果 于2019年7月28日采收, 芒果成熟度约7-8成熟, 此时果实中TSS含量在6.7%左右。挑选出大小、颜色基本均匀、无机械损伤、无明显病斑或虫咬的果实作为后续试验用果。

1.2.3 接种炭疽菌与病斑直径测定 采前SA处理和对照各30个果, 分别接种芒果炭疽菌, 接种炭疽菌参照弓德强等^[11]的方法, 并用直尺测量接种后8 d和10 d时果实的病斑直径 (cm), 以10个测定数值取平均值表示病斑直径, 每处理重复3次。

1.2.4 常温贮藏 采前SA处理和对照各120个果, 装入带孔的硬纸箱中, 每个果箱装入20个果, 然后放在温度为22~25℃、相对湿度为80~90%的常温库中贮藏。定期调查自然发病的病情指数, 测定乙烯释放速率, 并取样测定果实硬度、内在品质及相关基因的表达情况。

1.2.5 自然发病的病情指数调查 在常温条件贮藏的芒果中, 采前SA处理和对照各固定3箱共60个芒果, 参照弓德强等^[12]的方法调查每箱芒果常温贮藏8 d和10 d时的病情指数, 每处理重复3次。

1.2.6 乙烯释放速率的测定 采用封罐法定期 (0、2、4、6、8、10、12 d) 测定芒果乙烯释放速率。在常温条件贮藏的芒果中, 处理和对照各固定5个芒果放入4.5 L的密封塑料盒中, 密封放置在常温条件下3 h, 然后用1 mL的注射器从盒内吸取1 mL气体, 通过Agilent (美国) 5795型气相色谱仪测定, 每处理重复测定3次。

1.2.7 果实硬度的测定 在常温条件贮藏的芒果中, 定期 (0、2、4、6、8、10 d) 取样6次, 每次取5个果实。

果实硬度采用GY-B型硬度计进行测定，每个果实去皮后在两面中间位置各测定1次果肉硬度，共测定10次数据取平均值表示；然后将果肉和果皮分别切成小块并混匀后用液氮速冻处理，并放在-80℃冰箱中保存，分别用于其它品质测定和相关基因的表达。

1.2.8 果实品质的测定 参照梁清志等^[13]的方法。Vc含量采用2,6-二氯酚靛酚滴定法测定，结果表示为mg/100 gFW；TSS含量采用手持折光仪测定；TA含量采用碱中和滴定法测定，按柠檬酸的含量计算TA含量；用TSS和TA含量的相对比值表示固酸比。

1.2.9 目的基因相对表达量分析 参考Hong等^[14]的方法,用实时荧光定量PCR(qRT-PCR)分析目的基因 *MiACO*、*MiEG*、*MiGLU* 和 *MiCHI* 的相对表达量，以 *ACTIN* 作为内参基因。4个目的基因和1个内参基因的引物序列信息见表1。将对照芒果0d取样时间点的基因表达量设为1，计算各处理不同取样时间点样品的基因相对表达量。

表 1 用于基因表达分析的引物序列
Tab. 1 Primer sequences for expression analysis of target genes

| 基因名称 Gene name | NCBI登录号 Accession in NCBI | 引物名称 Primer name | 引物序列 (5'-3') Primer sequence (5'-3') |
|-------------------|------------------------------|---------------------|---|
| <i>ACO</i> | AY700081.1 | ACO-F | AGATGGGCAGTGGATTGATGTG |
| | | ACO-R | TGCATCACTGCCAGGGTTGTAG |
| <i>EG</i> | EF608067.1 | EG-F | GACAACCCAAGAGCCACA |
| | | EG-R | TGTCATAGGCATCAGGTC |
| <i>GLU</i> | DQ366708.1 | GLU-F | TAGGTGTATGCTATGGAAGAAATG |
| | | GLU-R | CGAGGATGAGTTCAATGTTGG |
| <i>CHI</i> | EU513279.1 | CHI-F | ATGGACTCAACGCTCCCGAAAC |
| | | CHI-R | GTTGCTTTCCACCGCATTCAAG |
| <i>ACTIN</i> | HQ585999.1 | ACTIN-F | CCACTGCTGAACGGGAAAT |
| | | ACTIN-R | GTGATGGCTGGAAGAGGAC |

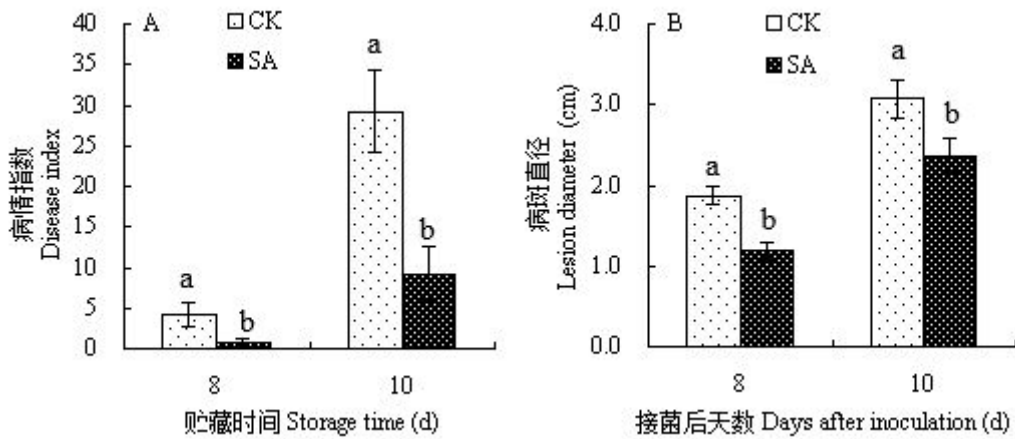
1.3 数据处理

采用 Microsoft Excel 2003 软件和 DPS 数据统计系统对试验数据进行处理和统计分析，利用 LSD 法进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 SA 采前处理对采后芒果病斑直径和病情指数的影响

图 1A 显示，在贮藏 8 d 和 10 d 时，SA 采前处理芒果自然发病的病情指数显著低于对照果 ($P < 0.05$)；图 1B 显示，SA 采前处理可以提高采后芒果果实对炭疽菌侵染的抗性，处理芒果接种炭疽菌后 8 d 和 10 d 时的病斑直径分别低于同期的对照果，差异均达到显著水平 ($P < 0.05$)。结果表明，SA 采前处理能够提高采后芒果的抗病性，对芒果采后病害具有防控作用，起到了防腐保鲜效果。



图中竖线表示标准误差, 不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Bar indicated standard error, different lowercase letters were significantly different at 5% level.

图 1 SA 采前处理对采后芒果贮藏期间的病情指数(A)和接种炭疽菌芒果的病斑直径(B)的影响

Fig.1 Effects of pre-harvest SA treatment on the disease index (A) and lesion diameter (B) in harvested mango fruits inoculated with *C. gloeosporioides* during storage

2.2 SA 采前处理对采后芒果乙烯释放速率的影响

图 2 可看出, SA 采前处理芒果在采后贮藏期间乙烯释放速率的变化趋势与对照果相似, 呈先升高后降低的变化趋势, SA 采前处理降低了采后芒果乙烯释放速率的峰值, 并使乙烯峰值的到来推迟了 4 d, 其中贮藏前期 (0~8 d) 的乙烯释放速率显著低于同期的对照果 ($P < 0.05$)。结果表明, SA 采前处理能够抑制芒果内源乙烯的产生。

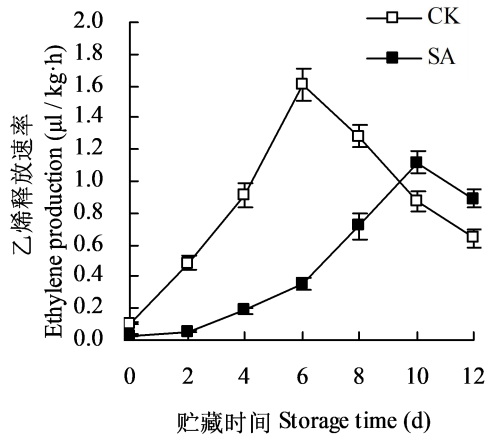


图 2 SA 采前处理对采后芒果贮藏期间乙烯释放速率的影响

Fig.3 Effects of pre-harvest SA treatment on ethylene production rate of the harvested mango fruits during storage

2.3 SA 采前处理对采后芒果果实硬度的影响

由图 3 可看出, 采后芒果在常温贮藏中果实硬度逐渐降低, SA 采前处理延缓了采后芒果果实硬度的降低, 其中贮藏后期 (4~10 d) 果实硬度显著低于同期对照果 ($P < 0.05$)。

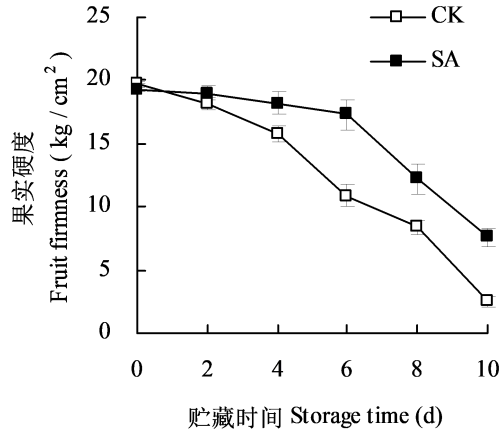


图3 SA采前处理对采后芒果贮藏期间果实硬度的影响

Fig.3 Effects of pre-harvest SA treatment on fruit firmness of the harvested mango fruits during storage

2.4 SA采前处理对采后芒果Vc、TSS、TA含量和固酸比的影响

图4可看出,在采后贮藏过程中,SA采前处理和对照果实Vc、TSS和TA含量的变化趋势相似,即先升高后降低。其中SA采前处理和对照果的Vc含量均在贮藏6 d时达到最大值(图4A),并且在贮藏4~10 d,处理果Vc含量显著高于对照果($P<0.05$); SA采前处理和对照果TSS含量分别在贮藏6 d和8 d时达到最大值(图4B),并且贮藏前期(2~6 d)低于对照,贮藏后期(8~10 d)高于对照,差异均达到显著水平($P<0.05$); SA采前处理和对照果TA含量分别在贮藏4 d和6 d时达到最大值(图4C),并且整个贮藏期均显著高于对照($P<0.05$);图4D显示,对照芒果固酸比在贮藏前期(0~4 d)变化平缓,6 d后急剧升高,而SA采前处理果固酸比在贮藏前期(0~6 d)变化平缓,8 d后略有升高,并且在整个贮藏期间均显著低于对照($P<0.05$)。

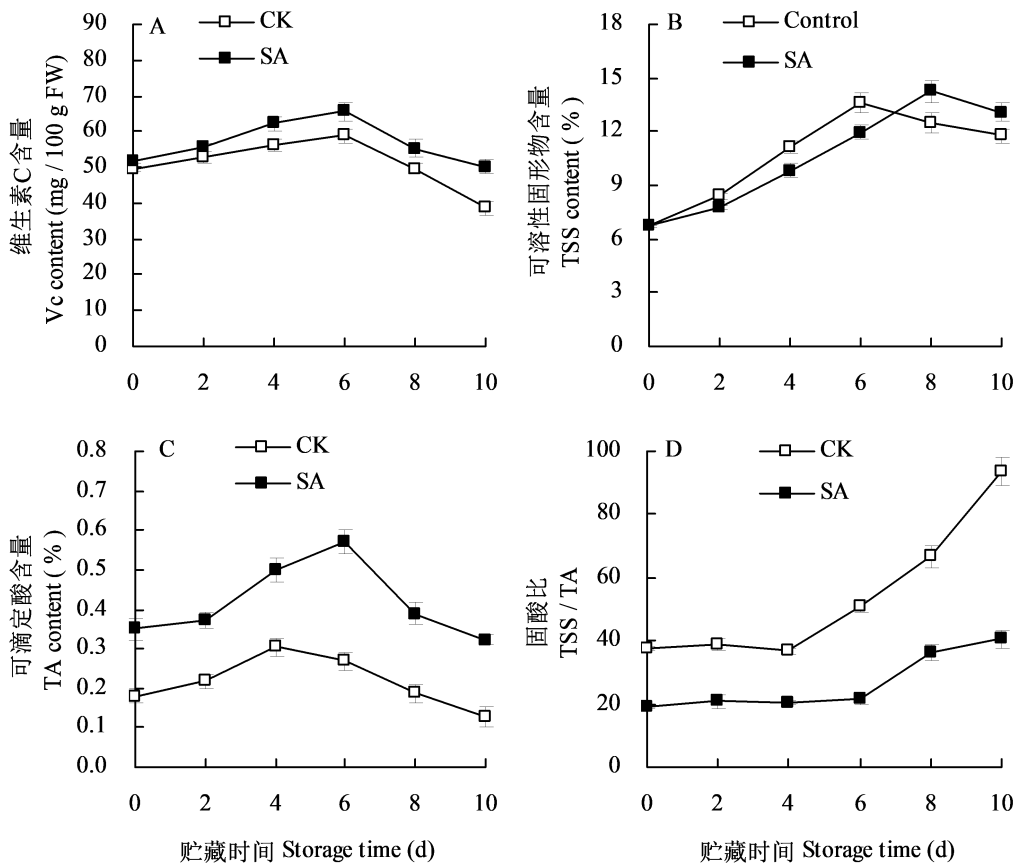


图4 采前SA处理对采后芒果贮藏期间Vc (A)、TSS (B)、TA (C) 含量和固酸比 (D) 的影响

Fig.4 Effects of pre-harvest SA treatment on Vc (A), TSS (B), TA (C) and TSS-TA ratio (D) of the harvested mango fruits during storage

2.5 SA 采前处理对采后芒果 *MiACO* 和 *MiEG* 表达量的影响

图5A显示, 在贮藏前期 (0~4 d), 对照芒果 *MiACO* 的表达变化较缓, 6 d后开始迅速升高, 8 d时达到峰值, 然后有所降低; 而SA采前处理芒果 *MiACO* 的表达变化一直较为平缓, 并且在整个贮藏过程中均低于对照。表明SA采前处理抑制了采后芒果 *MiACO* 的基因表达。图5B显示, 在贮藏前期 (0~4 d), 对照芒果 *MiEG* 的表达变化较缓, 6 d后开始迅速升高, 10 d时达到最大值, 而SA采前处理抑制了采后芒果 *MiEG* 的表达, 整个贮藏期间一直处于较低水平, 其中贮藏后期 (6~10 d) 显著低于对照 ($P < 0.05$)。

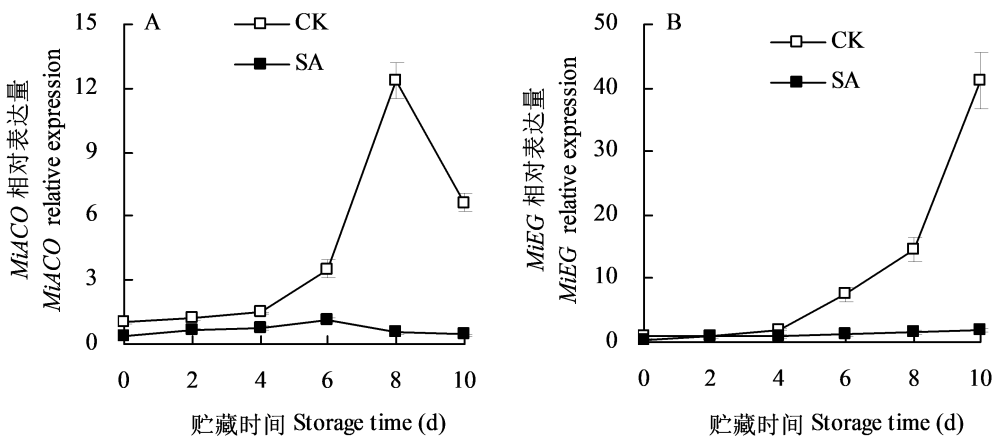


图5 SA 采前处理对采后芒果贮藏期间 *MiACO* (A)和 *MiEG* (B)表达量的影响

Fig.5 Effects of pre-harvest SA treatment on *MiACO* (A) and *MiEG* (B) expression of the harvested mango fruits during storage

2.6 SA 采前处理对采后芒果 *MiGLU* 和 *MiCHI* 表达量的影响

从图 6A 和图 6B 可看出, 采后芒果在贮藏过程中 *MiGLU* 和 *MiCHI* 表达变化趋势基本一致, 均在贮藏 6 d 时表达上调, 达到峰值, 然后降低; 而 SA 采前处理提高了 *MiGLU* 和 *MiCHI* 的表达, 均在贮藏 4 d 时表达上调, 6 d 时达到最大值, 然后逐渐降低, 其中贮藏期 (4~10 d) 均显著高于对照 ($P < 0.05$)。

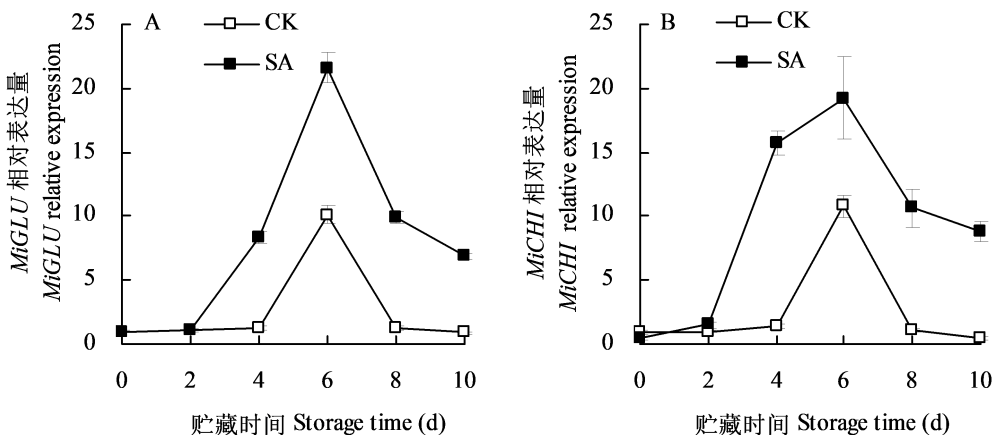


图6 SA 采前处理对采后芒果贮藏期间 *MiGLU* (A)和 *MiCHI* (B)表达量的影响

Fig.6 Effects of pre-harvest SA treatment on *MiGLU* (A) and *MiCHI* (B) expression of the harvested mango fruits during storage

3 讨论

本试验结果表明, 采前SA (40 mg/L) 喷施处理能够显著抑制采后芒果果实硬度的降低和Vc的降解, 延缓TSS的升高过程, 保持较高的TA含量, 从而抑制TSS/TA的升高, 表明采前SA处理能够推迟采后芒果果实的后熟衰老进程, 从而延缓果实品质的下降, 达到防腐保鲜的目的。这与我们前期的研究结果基本一致^[10, 14], 在桃^[15]、甜瓜^[16]、枣^[17]和葡萄^[18]等果实上也有类似的研究结果。关于SA采前处理延缓果实采后成熟衰老及保持果实品质的相关机理, 已经有大量的研究报道。张帆等^[19]研究发现, SA采前处理主要通过诱导次生代谢物质产生和增强清除DPPH自由基能力来提高树莓果实采后保鲜效果。敬媛媛等^[16]研究表明, SA采前处理可通过抑制纤维素酶、 β -葡萄糖苷酶和多聚半乳糖醛酸酶等酶的活性有效延缓甜瓜果实硬度的下降, 从而延缓果实的后熟软化进程。Reddy等^[9]研究结果表明, SA采前处理能通过抑制芒果内源乙烯的产生进而延缓芒果后熟衰老进程, 从而保持较高品质, 延长保鲜期。这与本试验的研究结果相似。ACC氧化酶 (ACO) 是乙烯生物合成中的两个关键酶之一, 主要催化由1-氨基环丙烷-1-羧酸 (ACC) 到乙烯 (C_2H_4) 的转化过程^[20]。在本试验中, SA采前处理显著抑制了芒果ACC氧化酶基因 (*MiACO*) 的表达, 降低了果实乙烯释放速率的峰值, 并推迟乙烯峰值到来时间达4 d, 表明SA采前处理可通过抑制*MiACO*的表达进而抑制内源乙烯的产生。果实软化是芒果成熟的重要标志之一, 内切-1,4- β -葡聚糖酶 (EG) 作为一种纤维素酶, 在果实后熟软化中起着重要的作用^[21]。EG是一类由多基因家族编码的细胞壁代谢酶之一, EG基因的表达与内源乙烯关系密切, 与果实早期成熟软化的启动有关^[22]。在本研究中, SA采前处理显著抑制了采后芒果贮藏过程中*MiEG*表达水平的升高及果实硬度的降低, 从而延缓了果实的后熟软化, 保持了较高的内在品质。可见, *MiEG*在芒果果实后熟软化中起着重要的正调控作用。

SA是植物抗病性的重要诱导因子, 是植物体内自身合成的一种类似植物激素的酚类化合物, 能诱导多种植物对病毒、真菌及细菌病害产生抗性^[23]。本研究结果显示, 采前SA处理可显著抑制采后接种芒果炭疽病菌的果实病斑的扩展, 并且显著降低芒果在自然贮藏条件下的病情指数。该结果与我们前期的研究结果是基本一致的^[10], 表明采前SA处理能够诱导采后芒果果实产生抗病性, 从而减轻采后果实发病的严重程度。SA采前处理提高采后果实的抗病性与其能诱导一系列抗性相关的防御酶活性及其相关基因表达水平的提高密切相关, 其中苯丙氨酸解氨酶 (PAL)、多酚氧化酶 (PPO)、过氧化物酶 (POD)、几丁质酶 (CHI) 和 β -1,3-葡聚糖酶 (GLU) 是几种重要的防御酶, 相关研究报道较多。Qin等^[24]在樱桃果实上喷施SA, 诱导了果实PAL、PPO以及GLU活性的增强。Yao和Tian^[3]研究发现, SA采前喷施和采后浸泡都能显著增强樱桃果实中PAL、POD和GLU的活性, 从而提高采后果实的抗病性。Cao等^[4]研究表明, SA采前处理提高鸭梨果实抗病性与诱导PAL、CHI和GLU等酶活性的增强有关。SA作为植物抗病反应的信号分子, 能诱导植物产生抗病性, 促使多种病程相关蛋白 (PRs) 的表达^[25]。其中GLU和CHI是研究比较多的两个重要的PRs, 分别属于PR-2和PR-3家族^[26]。Xu等^[27]研究表明外源SA处理桃果实能够诱导*CHI*和*GLU*基因表达的增强, 从而提高果实的抗病性。在本试验中, SA采前处理显著增强了采后芒果*MiCHI*和*MiGLU*的表达水平, 激发果实内在的防御反应机制, 从而增强果实的抗病性, 延缓采后病害的发生。

总之, SA采前处理对提高采后芒果果实品质和抗病性具有较好的效果。SA采前处理对芒果防腐保鲜的作用机制主要表现在两个方面: 一是通过抑制乙烯合成相关基因*MiACO*和软化相关基因*MiEG*的表达, 抑制内源乙烯的生物合成, 从而延缓果实软化及后熟衰老进程; 二是通过诱导防御相关基因*MiGLU*和*MiCHI*的表达, 激发果实的防御反应, 从而提高抗病性, 达到防腐保鲜的目的。

参考文献

- [1] 曾凯芳, 姜微波. 水杨酸处理对采后绿熟芒果炭疽病抗病性的诱导[J]. 中国农业大学学报, 2005, 10(2): 36-40.
- [2] 弓德强, 黄训才, 黄光平, 等. 采前水杨酸处理对‘红芒6号’芒果采后抗病性的影响[J]. 山东农业科学, 2017, 49(5): 111-115.
- [3] Yao H J, Tian S P. Effects of pre- and post-harvest application of salicylic acid or methyl jasmonate on inducing disease resistance of sweet cherry fruit in storage[J]. Postharvest Biology and Technology, 2005, 35(3): 253-62.
- [4] Cao J K, Zeng K F, Jiang W B. Enhancement of postharvest disease resistance in Ya Li pear (*Pyrus bretschneideri*) fruit by salicylic acid sprays on the trees during fruit growth[J]. European Journal of Plant Pathology, 2006, 114(4): 363-370.
- [5] Huang R H, Xia R X, Lu Y M, et al. Effect of pre-harvest salicylic acid spray treatment on post-harvest antioxidant in the pulp and peel of ‘Cara cara’ navel orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2008, 88(2): 229-236.

- [6] Cao J K, Yan J Q, Zhao Y M, *et al.* Effects of four pre-harvest foliar sprays with β -aminobutyric acid or salicylic acid on the incidence of post-harvest disease and induced defence responses in jujube (*Zizyphus jujuba* Mill.) fruit after storage[J]. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 2013, 88(3): 338-344.
- [7] 赵亚婷, 朱璇, 马玄, 等. 采前水杨酸处理对杏果实抗病性及苯丙烷代谢的诱导[J]. *食品科学*, 2015, 36(2): 216-220.
- [8] 曾凯芳, 姜微波. 杠果生长期喷施水杨酸处理对果实采后品质和病害的影响[J]. *园艺学报*, 2008, 35(3): 427-432.
- [9] Reddy S V R, Sharma R R, Srivastav M, *et al.* Effect of pre-harvest application of salicylic acid on postharvest behaviour of 'Amrapali' mango fruits during storage[J]. *Indian Journal of Horticulture*, 2016, 73(3): 405-409.
- [10] 弓德强, 高兆银, 李敏, 等. 采前水杨酸处理对芒果采后品质及抗病性的影响[J]. *山东农业科学*, 2019, 51(8): 91-96.
- [11] 弓德强, 谷会, 张鲁斌, 等. 杠果采前喷施茉莉酸甲酯对其抗病性和采后品质的影响[J]. *园艺学报*, 2013, 40(1): 49-57.
- [12] 弓德强, 梁清志, 黄光平, 等. BABA处理对采后芒果果实抗病性的影响[J]. *热带作物学报*, 2015, 36(11): 2067-2072.
- [13] 梁清志, 弓德强, 黄光平, 等. 植酸处理对采后芒果常温贮藏品质及生理特性的影响[J]. *广东农业科学*, 2015, 42(22): 86-91.
- [14] Hong K Q, Gong D Q, Xu H B, *et al.* Effects of salicylic acid and nitric oxide pretreatment on the expression of genes involved in the ethylene signalling pathway and the quality of postharvest mango fruit[J]. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 2014, 42(3): 205-216.
- [15] Brar J S, Navjot G, Gill M S. Effect of pre and post-harvest treatments of salicylic acid on quality characteristics of peach (*Prunus persica* L.) fruits during storage[J]. *Progressive Horticulture*, 2014, 46(2): 217-221.
- [16] 敬媛媛, 李娜, 王英, 等. 采前水杨酸处理对甜瓜果实熟软化的影响[J]. *包装工程*, 2015, 36(9): 7-11, 59.
- [17] Zeraatgar H, Davarynejad G H, Moradinezhad F, *et al.* Preharvest application effect of salicylic acid and calcium nitrate on physicochemical characteristics of fresh jujube fruit (*Zizyphus jujuba* Mill) during storage[J]. *Erwerbs-Obstbau*, 2019, 61(2): 119-127.
- [18] 何庆, 张健, 吴斌, 等. 采前水杨酸喷施对红地球葡萄采后品质的影响[J]. *保鲜与加工*, 2020, 20(4): 50-56.
- [19] 张帆, 王友升, 刘晓艳, 等. 采前水杨酸处理对树莓果实贮藏效果及抗氧化能力的影响[J]. *食品科学*, 2010, 31(10): 308-312.
- [20] Prasanna V, Prabha T N, Tharanathan R N. Fruit ripening phenomena-An overview[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2007, 47(1): 1-19.
- [21] 欧阳杰, 蒋建雄, 张天真, 等. 内切-1,4- β -葡聚糖酶在植物细胞生长发育中的作用[J]. *西北植物学报*, 2007, 27(4): 844-851.
- [22] Trainotti L, Ferrarese L, Casadoro G. Characterization of cCel3, a member of the pepper endo- β -1,4-glucanase multigene family. *Hereditas*, 1998, 128(2): 121-126.
- [23] 李兆亮, 原永兵. 黄瓜细胞中水杨酸的信号传递研究[J]. *植物学报*, 1998, 40(5): 430-436.
- [24] Qin G Z, Tian S P, Xu Y, *et al.* Enhancement of biocontrol efficacy of antagonistic yeasts by salicylic acid in sweet cherry fruit[J]. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2003, 62(3): 147-154.
- [25] Lu X H, Sun D Q, Mo Y W, *et al.* Effects of post-harvest salicylic acid treatment on fruit quality and anti-oxidant metabolism in pineapple during cold storage[J]. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 2010, 85(5): 454-458.
- [26] Van Loon L C, Van Stien E A. The families of pathogenesis related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-I type proteins. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 1999, 55: 85-97.
- [27] Xu X B, Chan Z L, Xu Y, *et al.* Effect of *Pichia membranaefaciens* combined with salicylic acid on controlling brown rot in peach fruit and the mechanisms involved[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2008, 88(10): 1786-1793.

万宁市槟榔黄化病与椰心叶甲发生现状调查初报

唐庆华^{1#}, 李朝绪^{1#}, 林兆威^{1#}, 吕朝军^{1#}, 黄山春¹, 付登强¹, 刘小玉¹, 符之学², 翁书旭², 余凤玉, 于少帅, 王慧², 车海彦³, 周焕起¹, 王政⁴, 林雅婷³, 董云平⁴, 朱辉¹, 田威⁵, 孟秀丽¹, 牛晓庆¹, 宋薇薇^{1*}, 覃伟权^{22*}

(1 中国热带农业科学院椰子研究所, 院士团队创新中心, 海南省槟榔产业工程研究中心, 海南 文昌 571339; 2 万宁市槟榔和热作产业局, 海南 万宁 571500; 3 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所, 海南 海口 571101; 4 中国热带农业科学院香料饮料研究所, 海南 兴隆 571553; 5 海南省农业科学院植物保护研究所, 海南 海口 571100)

摘要 2020年9月-10月对万宁市12个镇以及兴隆区的槟榔黄化病和椰心叶甲为害情况进行了系统调查。调查结果表明槟榔黄化病和椰心叶甲在调查的149个村委会/居委会/农场均有发生,前者平均发病率为41.06%,整体达到中度危害,后者平均发生率为32.75%,系重度危害。调查结果还表明不同镇/区以及相同镇/区的不同村委会/居委会/农场的发病率及发生率存在较大差异。最后,从技术培训、种苗、,本研究还丰富了槟榔叶部内生细菌的资源。

关键词 槟榔; 槟榔; 内生细菌;

槟榔 (*Areca catechu* L.) 是一种非常重要的热带经济作物。在中国, 槟榔已发展成为海南省第一大支柱产业 (丁晓军等, 2014; 谭乐和, 2006), 是中东部地区 230 多万农民 (约占全省常住总人口的 1/4) 的主要收入来源之一 (唐庆华等, 2019), 在海南“精准扶贫”和“乡村振兴”战略实施中发挥着举足轻重的作用。近年来, 随着槟榔产业的发展, 海南“黄化”问题日趋严重, 其中尤以“一病一虫”(槟榔黄化病和椰心叶甲) 为害最重, 现已成为严重威胁中国槟榔产业可持续发展的瓶颈, 引起了海南省政府以及社会各界的普遍关注。

在“2018年海南省槟榔病虫害重大科技计划项目”的资助下, 项目团队经过2两年多的努力尽管在病原检测、高效栽培技术等方面取得了较可喜的进展, 然而从全局角度看, 全省槟榔黄化病和椰心叶甲等主要病虫害分布、为害程度等家底尚不清楚。在海南省, 万宁市是最重要的槟榔主产区之一, 全市槟榔种植面积 3.55 万 hm^2 , 约占全省槟榔种植面积的 40%, 有“海南槟榔半万宁”之称, 是“中国槟榔之乡”和“国家槟榔示范基地”。据统计, 全市 62 万人口中有 30 万人从事槟榔相关产业 (符之学, 2018); 槟榔收入占农民总收入的近 1/3。目前, 槟榔已成为万宁市最大的热作产业。鉴于全省槟榔黄化病以及椰心叶甲本底数据不清以及槟榔在万宁市经济、政治、社会地位突出的现实, 为了更好地推进项目的顺利开展, 给万宁市乃至省政府提供科学的防控依据, 中国热带农业科学院联合海南省农业科学院、万宁市槟榔和热作产业局组织专业队伍于 2020 年 9 月-10 月对万宁市槟榔黄化病和椰心叶甲发生为害情况进行了系统调查, 现将初步结果报告如下。

1 材料与方 法

1.1 材料

数码相机、GPS、高枝剪、枝剪、采样袋、记号笔、中性笔、75%酒精等。

1.2 方法

本次调查按病理、昆虫、栽培与营养等专业背景将参与调查人员分为 4 个调查组, 分区进行调查。采用随机踏查和样地详细调查相结合的方法对万宁市 12 个镇和兴隆区进行调查。采用 5 点法对槟榔黄化病和椰心叶甲进行调查, 每个槟榔园调查 5 个点, 每个点调查 20 株槟榔。标准样地设置: 村委会槟榔种植面积不足 33.33 hm^2 时设 1 个标准地, 33.33 hm^2 至 66.67 hm^2 设 2 个标准地, 66.67 hm^2 至 133.33 hm^2 设 3 个标准地, 133.33 hm^2 至 333.33

基金项目: 海南省槟榔病虫害重大科技计划项目 (zdkj201817)、槟榔产业技术创新团队项目 (1630152017015) 资助。

[#], 在组织调查与数据整理、分析中具有同等贡献。

第一作者简介: 唐庆华 (1978—), 男, 副研究员, 博士, 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。

hm²以上设4个标准地, 333.33 hm²以上设5个标准地, 小于6.67 hm²亩时不设标准地。每个村委会采样10份黄化槟榔叶片样品, 若村委会槟榔种植面积小于1.33 hm²则不采样。选择树冠中部表现典型黄化症状的叶片, 每采集1株槟榔叶片样品后, 用酒精对高枝剪进行消毒处理。每天下午6时-7时将4个组采集的样品收集后由专人、专车送回中国热带农业科学院椰子研究所, 由检测小组进行样品总DNA和总RNA提取和植原体与病毒检测, 最后统计两种病原单独感染和复合感染率。

1.3 数据记录及分析

1.3.1 据记录及分析

各组由专人分别在踏查和调查表上记录调查的槟榔园所在的镇/区、村委会/居/农场、经纬度、海拔、面积、槟榔黄化病发病率、椰心叶甲为害率、及生理性黄化发生率、树龄、除草剂使用、灌溉设施等基本信息。各组组长在调查完毕后分别统计本组调查的各镇/区槟榔黄化病发病率、椰心叶甲为害率, 然后汇总进行最终分析。

1.3.2 黄化病危害程度划分标准

轻度危害: 全园发病率(病株树占总株数比例)20%以下;

中度危害: 全园发病率20%-50%;

重度危害: 全园发病率0%-70%;

特重度危害: 全园发病率70%以上。

1.3.3 椰心叶甲危害程度划分标准

轻度危害: 全园椰心叶甲危害率(受害株树占总株数比例)5%以下;

中度危害: 全园发病率5%-15%;

重度危害: 全园发病率15%以上。

2 结果与分析

2.1 槟榔黄化病发生为害情况

调查结果显示万宁市13个镇/区均有槟榔黄化病发生, 平均为41.06%, 但发生率及危害程度存在较大差异。其中, 长丰镇发病率最高, 为71.56%; 危害最重, 达到特重度危害。南桥镇、礼记镇、大茂镇发病率介于50.00-65.00%, 达到重度危害, 后安镇、和乐镇、山根镇发病率介于10.00-20.00%, 为轻度危害。其余镇/区为中度为害。调查发现, 单个镇/区不同村委会/居委会/农场或分公司的自然村/队/组发病也存在较大差异。例如, 尽管南桥镇整齐为重度危害, 但实际上部分村委会达到特重度危害, 如小管、桥南、南桥以及高龙村委会, 山中种植的槟榔绝大部分已染病, 弃管、砍伐情况较多。总体而言, 万宁槟榔黄化病发病较重。

表1、万宁市槟榔黄化病及椰心叶甲危害调查统计结果

| 调查乡镇 | 村委会/居/农场 | 踏查点数量 | 调查面积(亩) | 黄化病(%) | 为害程度 | | | | 椰心叶甲(%) | 为害程度 | | |
|------|----------|-------|---------|--------|------|----|----|-----|---------|------|----|----|
| | | | | | 轻度 | 中度 | 重度 | 特重度 | | 轻度 | 中度 | 重度 |
| 南桥镇 | 8 | 25 | 1147 | 58.60 | | | √ | | 42.28 | | | √ |
| 兴隆区 | 3 | 9 | 643 | 46.11 | | √ | | | 43.89 | | | √ |
| 三更罗镇 | 12 | 38 | 2853 | 43.68 | | √ | | | 56.05 | | | √ |
| 万城镇 | 19 | 38 | 1575 | 26.45 | | √ | | | 37.89 | | | √ |
| 后安镇 | 15 | 38 | 6205 | 19.44 | √ | | | | 11.74 | | √ | |
| 和乐镇 | 9 | 15 | 1245 | 19.60 | √ | | | | 13.13 | | √ | |
| 龙滚镇 | 16 | 31 | 1640 | 30.48 | | √ | | | 27.10 | | | √ |
| 长丰镇 | 10 | 36 | 610 | 71.56 | | | | √ | 44.44 | | | √ |
| 北大镇 | 21 | 83 | 886 | 48.37 | | √ | | | 32.89 | | | √ |
| 礼记镇 | 15 | 35 | 2343 | 64.06 | | | √ | | 40.66 | | | √ |
| 大茂镇 | 12 | 22 | 1120 | 51.23 | | | √ | | 37.73 | | | √ |

| | | | | | | | | | | | | |
|-----|----|----|------|-------|---|---|--|--|-------|--|---|---|
| 东澳镇 | 9 | 19 | 2644 | 42.58 | | √ | | | 28.74 | | | √ |
| 山根镇 | 10 | 23 | 604 | 11.61 | √ | | | | 9.22 | | √ | |

2.2 椰心叶甲发生为害情况

调查结果显示万宁市13个镇/区均有椰心叶甲发生，平均为32.75%，但发生率及危害程度存在较大差异。共有10个镇/区为严重危害，其中，三更罗镇发生率最高，为56.05%；后安镇、和乐镇、山根镇为轻度为害。总体而言，万宁槟榔黄化病发病较重。

3 讨论与建议

3.1 槟榔黄化病及椰心叶甲发生发展趋势

万宁市因气候条件优越，非常适宜槟榔生长，现已将小槟榔做出了大产业，然而槟榔黄化病以及椰心叶甲发生、危害情况尤为突出，严重制约了槟榔产业的持续发展和农民的增收。本次调查，共对13个镇/区的149个村委会/居委会/农场进行了调查，调查的槟榔园达到376个，面积22905亩，占全市面积的4.3%（3.55万hm²，合计53.25万亩；引自符之学2018年数据）。调查内容涉及地形、树龄、除草剂使用、灌溉设施等，调查结果对于万宁市市委市政府掌握本市槟榔种植现状以及病虫害发生情况等具有非常大的参考价值，有助于采取针对性措施对槟榔黄化病以及椰心叶甲进行有效防控。

基于近10年来我们对槟榔黄化病以及椰心叶甲为害、扩散的经验，我们预计发生为害较轻的后安镇、和乐镇、山根镇、万城镇以及兴隆区的橡胶二、三分公司、南桥镇的桥北村委会、三更罗镇的加润村委会、加苗村委会、加朝村委会等发生面积会逐渐增大，而其他发生率较高的镇/区等为害会进一步加重。总体而言，若不采取强有力的防控措施万宁市槟榔黄化病及椰心叶甲的发生、为害会进一步加重。

迄今，我们发现生产引起槟榔黄化的病原有两种，分别为槟榔黄化植原体(车海彦等, 2010)和线状病毒(Wang et al, 2020)，前者引起槟榔黄化病(phytoplasma yellow leaf disease of areca nut)(覃伟权和唐庆华, 2015)，后者导致槟榔病毒黄叶病(为了区分槟榔植原体黄化病，建议病害名称采用virus yellow leaf disease of areca nut or virus leaf yellowing of areca nut)。因2种病原引起的症状非常相似，田间不易准确诊断，故本次调查暂以槟榔黄化病统一进行调查，采样、检测后再根据检测结果进行进一步的区分。

3.2 防控建议

- (1) 邀请中国热带农业科学院椰子研究所、海南大学、海南省农业科学院从事黄化病及椰心叶甲研究的专家对农业局、槟榔局、各镇农技人员及槟榔大户进行防控技术培训，增强病害识别及防控技术应用能力。
- (2) 严把种苗关口，禁止用发病槟榔园老果育苗，禁止在周边有黄化病的地点育苗，禁止种苗跨镇/区调运，从源头上有效控制。
- (3) 保护和乐、后安等轻病区，零星发病或发病率小于20%者砍除病株并销毁。
- (4) 对于南桥镇、三更罗镇、长丰镇等重度、特重度槟榔园有计划地进行更新或改种其他经济作物。
- (5) 对于轻病园和中病园，加强管理，尤其是水、肥、病虫管理，施用诱导抗性制剂，提高树势及产量。
- (6) 强化椰心叶甲及红脉穗螟、潜在媒介昆虫防治，尤其是椰心叶甲，危害非常严重时喷施化学农药应急防治，危害中度至轻度时通过大量释放寄生蜂防治。
- (7) 林下养鸡鸭鹅牛羊猪等牲畜、种植咖啡、胡椒、益智等经济作物，改善园内生态，增加经济效益。
- (8) 组织农技人员及槟榔大户到槟榔高产及管理措施精细的乐东黎族自治县取经，学习管理经验，提高管理意识。
- (9) 改变传统槟榔懒人种植的观念，建立槟榔合作社，由槟榔管理、病虫害防控经验丰富的农老师带领，讲好、用好槟榔致富经。

致谢：万宁槟榔和热作产业局及中国热带农业科学院另有10位同志也参与了本次调查工作，限于篇幅不能将全部名单列出，在此一并表示衷心感谢和歉意。

参考文献：

- [36] 丁晓军, 唐庆华, 严静, 等. 中国槟榔产业中的病虫害现状及面临的主要问题[J]. 中国农学通报, 2014, 30(7): 246-253.
 [37] 谭乐和. 海南槟榔生产的现状、问题及对策[J]. 海南大学学报(自然科学版), 2006, 24(1): 55-59.

- [38] 唐庆华, 宋薇薇, 于少帅, 等. 槟榔黄化病综合防控—问题及展望. 中国热带作物学会南药专业委员会2019年学术年会暨南药、黎药产业发展研讨会, 2019: 195-201.
- [39] 符之学. 万宁市槟榔种植业现状及健康持续发展措施[J]. 现代农业科技, 2018(9): 123-124.
- [40] 覃伟权, 唐庆华. 槟榔黄化病[M]. 北京: 中国农业出版社, 2015.
- [41] HX Wang, RB Zhao, HW Zhang, et al. Prevalence of yellow leaf disease (YLD) and its associated areca palm velarivirus 1 (APV1) in betel palm (*Areca catechu*) plantations in Hainan, China[J]. Plant Disease, 2020, 104(10): 2556-2562.

椰子叶螨 *Aceria (Eriophyes) guerreronis* (K.)入侵我国的风险性分析

吕朝军, 钟宝珠²³, 韩超文, 李朝绪

(中国热带农业科学院椰子研究所, 海南省热带油料作物生物学重点实验室, 海南文昌, 571339)

摘要: 椰子叶螨主要危害椰子嫩果, 在部分椰子产出国已经成为最严重的果实害虫之一, 可对椰子产量造成最直接的损失。目前该虫在我国还未有发生危害的报道。从该虫的国内外分装状况、潜在危害性、受害寄主的经济重要性、定殖与扩散蔓延的可能性以及发生后的危险性管理难度等方面, 对其在我国的风险性进行定性和定量评估。结果表明, 椰子叶螨主要危害椰子, 其常聚集于椰果果蒂处的幼嫩部位, 通过吸食果蒂的汁液生存。该虫个体较小尚未有其携带其它检疫性有害生物的报道, 尚未有国家将其列为检疫对象。根据有害生物风险评估体系及多指标综合评估方法, 统计得出椰子叶螨的 R 值为 1.80, 属于中度危险有害生物。

关键词: 椰子叶螨; 椰子产业; 风险分析; 风险管理

²³基金项目: 中国热带农业科学院基本科研业务费专项 (项目编号 1630152017010); “一带一路”热带项目 (No. BARTP-06)”
作者简介: 吕朝军 (1980-), 男, 博士, 副研究员; 研究方向: 棕榈有害生物综合防治研究。E-mail: lcj5783@126.com。
通信作者 (Author for correspondence): 钟宝珠, E-mail: baozhz@163.com。

火龙果果腐病菌 (*Gilbertella persicaria*) 生物学特性及抑菌植物精油筛选²⁴

于婧^{1,2}, 李敏¹, 高兆银¹, 弓德强¹, 张绍刚^{1,3}, 洪小雨¹, 花静静^{1,4}, 胡美姣^{1*}

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. 海南大学植物保护学院, 海南海口 570228; 3. 海南大学生命科学与药学院, 海南海口 570228; 4. 海南大学园艺学院, 海南海口 570228

摘要: 桃吉尔霉 (*Gilbertella persicaria*) 是引起贮藏期火龙果果腐病的病原菌之一。为了明确该菌的生物学特性及对植物精油的敏感性, 本文系统地研究了该菌的生物学特性, 并测定了 12 种植物精油对该菌的抑制作用。结果表明: 该菌在 PDA 培养基上生长状况最好, 最适生长温度为 32°C, 最适 pH 值 5, 最适碳源和氮源分别是可溶性淀粉和酵母粉, 光照条件对该菌生长无显著性影响, 致死温度为 56°C、10 min。室内毒力测定结果表明, 供试 12 种植物精油对该菌均有抑制作用, 其中牛至精油抑菌效果最好, 其 EC₅₀ 值为 94.1 μg/mL, 其次为香茅精油、肉桂精油、芥末精油和丁香精油, 其 EC₅₀ 值依次为 122.9、174.0、254.3 和 261.1 μg/mL; 使用浓度 1000 μL/L 的精油浸果处理后, 发现芥末精油对该病害的控制率达到 100%。研究结果对桃吉尔霉引起的火龙果果腐病的绿色防控提供了依据。

关键词: 火龙果; 桃吉尔霉; 生物学特性; 植物精油

Biological characteristics of *Gilbertella persicaria* caused Dragon fruit rot and screening of plant essential oils for their antifungal properties

YU Jing^{1,2}, LI Min¹, GAO Zhaoyin¹, GONG Deqiang¹, ZHANG Shaogang^{1,3}, HONG Xiaoyu¹, HUA Jingjing^{1,4}, HU Meijiao^{1*}

1. Institute of Environment and Plant Protection, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences / Key Laboratory of Integrated Pest Management on Tropical Crops, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Haikou, Hainan 571101, China; 2. College of Plant Protection, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China; 3. School of Life and Pharmaceutical Sciences, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China; 4. College of Horticulture, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China

Abstract: *Gilbertella persicaria* is one of the pathogens that causes pitaya fruit rot in storage period. In order to clarify the biological characteristics of the pathogen and its sensitivity to plant essential oils, this article systematically studied the biological characteristics of the *G. persicaria* and determined the inhibitory effect of 12 plant essential oils on it. The results showed that the optimum growth medium was Potato Dextrose Agar Medium (PDA). The optimum growth temperature was 32°C, and the optimum pH value was 5. The optimum carbon source was soluble starch and the optimum nitrogen source was yeast. Light condition had no significant effect on pathogen growth, and the

资助项目 热科院创新团队项目 (1630042017027); 贵州省科技计划项目 (黔科合成果[2019]4261 号)

作者简介 于婧 (1996 --), 女, 在读研究生; 研究方向: 热带果蔬病害研究。

* 通讯作者 (Corresponding author): 胡美姣, E-mail: humeijiao320@163.com

lethal temperature of the pathogen was 56°C for 10 min. The laboratory toxicity test results showed that the tested 12 plant essential oils had inhibitory effect on *G. persicaria*. Oregano essential oil had the best inhibitory effect, with the EC₅₀ value of 94.1 µg/mL, followed by citronella essential oil, cinnamon essential oil, mustard essential oil and clove essential oil, with EC₅₀ value of 122.9, 174.0, 254.3 and 261.1 µg/mL. After soaking pitaya with essential oil with a concentration of 1000 µL/L, the mustard essential oil had the best control effect, with control-rate of 100%. The results of this study provide the basis for the green prevention of pitaya fruit rot caused by *G. persicaria*.

Key words: Dragon fruit; *Gilbertella persicaria*; Biological characteristics; Plant essential oil

火龙果 (*Hylocereus* spp.), 又称红龙果, 属于仙人掌科 (Cactaceae) 量天尺属 (*Hylocereus*) 植物; 果实呈椭圆形, 果皮呈鳞状结构, 果肉多汁香甜^[1-2], 风味独特, 食用价值高。近年来随着火龙果种植面积的不增加, 采后病害的发生越来越严重, 常常带来巨大的经济损失。火龙果采后贮藏期病害主要有炭疽病

(*Collectotrichum* spp.)、果腐病 (*Scytalidium dimidiatum*)、溃疡病 (*Neoscytalidium dimidiatum*)、黑斑病 (*Botryosphaeria cactivora*)、软腐病 (*Fusarium* spp.)、葡枝根霉病 (*Rhizopus stolonife*)、可可球二孢焦腐病 (*Botryodiplodia theobroma*) 等^[3]。桃吉尔霉 (*G. persicaria*) 引起的火龙果果腐病 2014 年于我国云南省首次发现并报道该菌为新的火龙果致病菌; 同年台湾发现并报道该菌为害火龙果, 随后贵州、广西和海南等地相继报道^[4-8]。2019 年, 笔者于海南省东方市一果园发现贮藏期间该病害为害严重, 笔者采用组织分离法^[9]进行病原菌分离纯化后, 通过形态学及分子生物学鉴定后, 确定引起火龙果果腐病的病原菌为桃吉尔霉 (*G. persicaria*)。

植物精油是一类植物源次生代谢物质, 分子量较小且具有一定挥发性^[10], 具有天然安全无毒且对环境友好的优势, 植物精油在抑菌方面和果蔬采后保鲜方面均表现出较好的效果^[11]。鉴于该病害对火龙果生产销售的威胁, 本文从病原菌的生物学特性及 12 种植物精油对其抑菌效果等几方面进行了研究, 以期为后期使用天然植物精油对其进行防治提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 材料

供试菌株: 桃吉尔霉 (*G. persicaria*) 编号为 HLG-T, 分离自海南省东方市一果园贮藏期病果。由中国热带农业科学院环境与植物保护研究所采后病害及贮运保鲜课题组分离鉴定, 经致病性测定后纯化保存备用。

供试植物精油: 牛至精油、香茅精油、肉桂精油、芥末精油、丁香精油、樟脑精油、玫瑰草精油、草果精油、山茶花精油、茶树精油、柠檬精油和橄榄精油等 12 种精油, 上述精油均购于上海源叶生物科技有限公司。

供试果实: 接种果实采购于海南省海口市南北水果市场, 选取新鲜健康、表面无损伤、大小一致、成熟度一致的果实。

1.2 方法

1.2.1 生物学特性测定

1.2.1.1 培养基对菌落生长的影响 参照陈萍等^[12]和潘玲玲等^[13]方法配制马铃薯葡萄糖固体培养基 (PDA)、马铃薯蔗糖固体培养基 (PSA)、V8 培养基 (V8)、胡萝卜培养基 (CA)、玉米粉培养基 (CMA)、燕麦片培养基 (OMA)、查氏培养基 (Czapek) 和马丁氏琼脂培养基 (Martin) 等 8 种培养基, 将病原菌菌饼 (d = 5 mm) 分别接种至上述 8 种不同培养基平板中央, 置于 28°C 恒温培养箱中培养, 24 h 后采用十字交叉法测量菌落直径, 每个处理设置 3 次重复, 每重复 3 皿。

1.2.1.2 温度对菌落生长的影响 参照真那郑樊等^[8]和王义等^[14]方法, 选择相同型号的恒温培养箱, 设置 5、10、15、20、25、28、30、32、35 和 40°C 共 10 个温度梯度, 将菌饼接种至 PDA 平板中央, 其余方法同 1.2.1.1。

pH 值对菌落生长的影响：参照王义等^[14]方法稍作修改，采用无菌的 1 mol/L HCl 和 1 mol/L NaOH 将 PDA 培养基的 pH 值分别调至 3 - 11 共 9 个梯度，将菌饼接种至相应 pH 值的平板中央，其余方法同 1.2.1.1。

1.2.1.3 光照对菌落生长的影响 参照郑樊等^[8]方法设置全光照、光暗交替和全黑暗 3 种光照条件，将病原菌菌饼接种至 PDA 平板中央，其余方法同 1.2.1.1。

1.2.1.4 碳源和氮源对菌落生长的影响 参照王义等^[14]方法，以察氏培养基作为基础培养基，分别以等质量的可溶性淀粉、乳糖、麦芽糖、果糖、葡萄糖、木糖及纤维素替代蔗糖为碳源；以等质量的硫酸铵、氯化铵、脲、蛋白胨、酵母粉、丙氨酸、甘氨酸及缬氨酸替代硝酸钠为氮源，以不加碳、氮源的 Czapek 固体培养基为空白对照 (CK)，将菌饼至对应的培养基平板中央，其余方法同 1.2.1.1。

1.2.1.5 致死温度测定 设置 50、53、56 和 59°C 共 4 个温度梯度，将病原菌菌饼 (d = 5 mm) 加入含 2 mL 无菌水的离心管中，置于相应温度的恒温水浴锅中分别加热 10 min、20 min 和 30 min，待冷却至室温后，将菌饼接种至 PDA 培养基中央，每隔 12 h 观察菌落生长情况，其余方法同 1.2.1.1。

1.3 不同植物精油的抑菌效果

采用含药平板法^[15]。将各植物精油配制成 10、100 和 1000 μg/mL 3 个浓度梯度进行预试验，计算抑菌率。

根据预试验结果，设置 12 种植物精油的不同浓度梯度，每种植物精油设置 5 个供试浓度 (见表 1)，以无菌水为空白对照，将病原菌菌饼 (d = 5 mm) 接种于 PDA 平板中央，置于 28°C 恒温培养箱中培养，24 h 后采用十字交叉法测量菌落直径，每处理 3 次重复。计算抑菌率，且以质量浓度的对数值为横坐标，以抑菌率几率值为纵坐标求毒力回归方程，计算相关系数、EC₅₀ 值，比较供试 11 种植物精油对供试菌株的毒力大小。

$$\text{抑菌率 (\%)} = \frac{(\text{对照菌落直径} - 0.5) - (\text{处理菌落直径} - 0.5)}{(\text{对照菌落直径} - 0.5)} \times 100\%$$

表 1 供试精油种类及浓度

Tab.1 Essential oil type and the concentration

| 精油 Essential oil | 浓度 (μg/mL) Concentration (μg/mL) | 生产厂家 Manufacturer |
|---------------------|-------------------------------------|---|
| 牛至精油 Oregano oil | 15.62、31.25、62.5、125、250 | 上海源叶生物科技有 限公司 (Shanghai Yuanye Bio-Technology Co., Ltd) |
| 香茅精油 Citronella Oil | 50、100、200、400、600 | |
| 肉桂精油 Cinnamon oil | 31.25、62.5、125、250、500 | |
| 芥末精油 Mustard oil | 31.25、62.5、125、250、500 | |
| 丁香精油 Clove oil | 31.25、62.5、125、250、500 | |
| 樟脑精油 Camphor oil | 62.5、125、250、500、1000 | |
| 玫瑰草精油 Palmarosa oil | 62.5、125、250、500、1000 | |
| 草果精油 Tsaoko oil | 62.5、125、250、500、1000 | |
| 山茶花精油 Camellia oil | 125、250、500、1000、2000 | |
| 茶树精油 Tea tree oil | 125、250、500、1000、2000 | |
| 柠檬精油 Lemon oil | 250、500、1000、2000、4000 | |
| 橄榄精油 Olive oil | 250、500、1000、2000、4000 | |

1.4 病害控制效果

采用浸泡法，参照缪应林^[16]等方法稍作修改，选用抑菌效果较好的 5 种植物精油，配制浓度为 1000 μL/L 的精油溶液，将已用打孔器打好孔（d = 5 mm）的火龙果果实，用所配制药液浸泡 10 min，晾干后接种病原菌菌饼（d = 5 mm），装入密封保鲜盒中，于 25℃ 恒温保湿培养，每处理设置 3 次重复，以无菌水处理为空白对照。2 d 后采用“十字交叉法”测量病斑直径，按下列公式进行计算。

$$\text{控制效果 (\%)} = \frac{(\text{对照病斑直径} - 0.5) - (\text{处理病斑直径} - 0.5)}{\text{对照病斑直径} - 0.5} \times 100\%$$

1.5 数据分析

采用 Microsoft Excel 2016 软件进行数据统计、分析和制表，使用 IBM SPSS Statistics 22.0 软件进行差异显著性检验（LSD 检验）。

2 结果与分析

2.1 生物学特性

2.1.1 培养基对菌落生长的影响

该菌株在 8 种供试培养基上均能生长，在 PDA 上生长最好，培养 24 h 直径达 6.95 cm；PSA 和 V8 次之；CA、CMA 和 OMA 等 3 种培养基上生长无显著性差异，均生长缓慢；在 Martin 培养基上，生长最差，菌落直径仅为 1.08 cm（见图 1）。

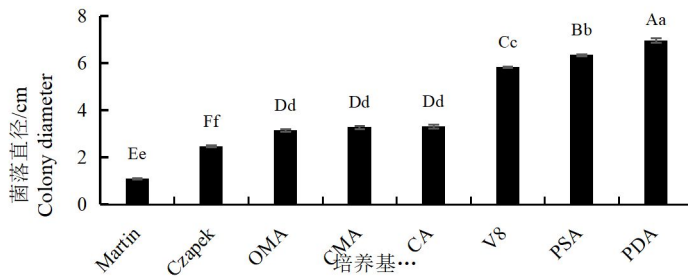


图 1 不同培养基对桃吉尔霉 (*G. persicaria*) 生长的影响

Fig.1 Effects of different mediums on colony growth of *G. persicaria*

注：图中菌落直径中的大写字母表示经最小显著差异法比较，相互间达极显著(P= 0.01)差异，小写字母表示相互间达显著(P= 0.05)差异；下同。

Note: In the column of colony diameter, means followed by different capital letters are significantly at the 1% level by LSD test, and small letter are significantly at the 5% level; the same as below.

2.1.2 温度对菌落生长的影响

该菌株在 20 - 40℃ 均能生长，其中 32℃ 生长最好，30℃ 和 32℃ 处理下生长无显著差异，28℃ 次之。40℃ 不利于该菌生长，温度低于 15℃ 时不能生长（见图 2）。

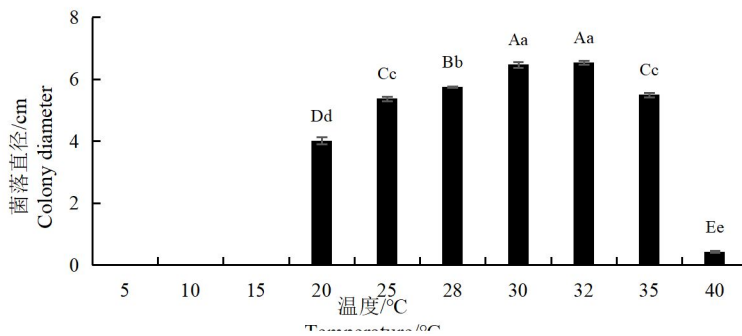


图 2 不同温度对桃吉尔霉 (*G. persicaria*) 生长的影响

Fig.2 Effects of different temperatures on colony growth of *G. persicaria*

2.1.3 pH 值对菌落生长的影响

该菌株对 pH 值适应范围广，pH 值 3 - 11 均可生长，不同 pH 值对其生长均有影响，其中 pH 值 5 时生长最好，pH 值 6 时生长情况次之，当 pH 值大于等于 8 时，不利于生长。整体来看，该菌株适宜在弱酸性环境下生长，弱碱性及碱性条件下不利于生长（见图 3）。

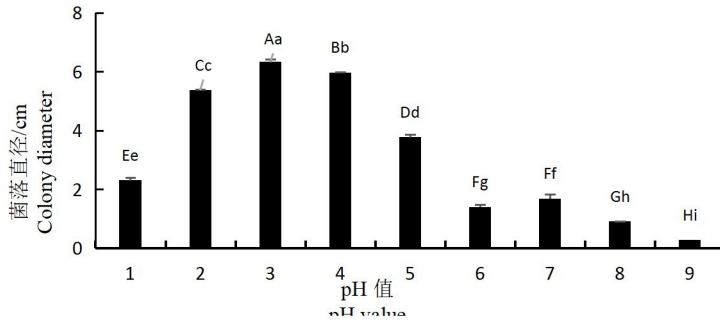


图 3 不同 pH 值对桃吉尔霉 (*G. persicaria*) 生长的影响
Fig.3 Effects of different pH values on colony growth of *G. persicaria*

2.1.4 碳源和氮源对菌落生长的影响

该菌株在不同碳源和氮源上均可生长，以可溶性淀粉为碳源的培养基上生长最好，培养 24 h 直径达 6.45 cm；以乳糖、蔗糖和麦芽糖为碳源的培养基上生长次之，培养 24 h 直径均达 5.5 cm 以上；以果糖和纤维素碳源的培养基上生长差，以木糖为碳源的培养基上生长最差；表明其能较好地利用可溶性淀粉、乳糖、蔗糖和麦芽糖作为碳源供其生长（见图 4）。该菌株在以酵母粉、蛋白胨和氯化铵为氮源的培养基上生长均很好，培养 24 h 直径均达 6.9 cm 以上，其中以酵母粉为氮源的培养基上生长最好，培养 24 h 直径达 7.73 cm；以硫酸铵、甘氨酸和丙氨酸为氮源的培养基上生长情况次之；以脲为氮源的培养基上生长最差，培养 24 h 后直径仅有 4.3 cm；表明其能较好地利用酵母粉、蛋白胨和氯化铵为氮源供其生长（见图 5）。

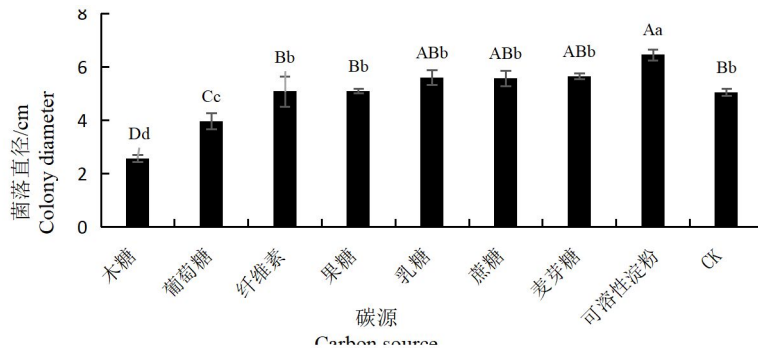


图 4 不同碳源对桃吉尔霉 (*G. persicaria*) 生长的影响
Fig.4 Effects of different carbon sources on colony growth of *G. persicaria*

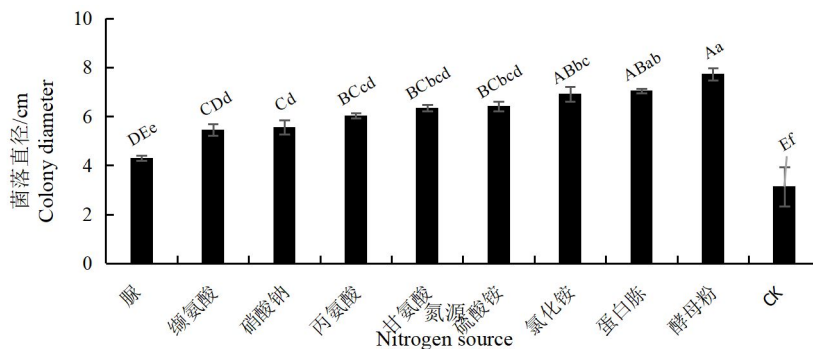


图 5 不同氮源对桃吉尔霉 (*G. persicaria*) 生长的影响
Fig.5 Effects of different nitrogen sources on colony growth of *G. persicaria*

2.1.5 光照对菌落生长的影响

不同光照条件对该菌株的生长无显著影响，培养 24 h 直径均达 6.3 cm 以上，其中全光照条件下直径最大，达 6.6 cm，而全黑暗条件下的菌落直径为 6.3 cm（见图 6）。

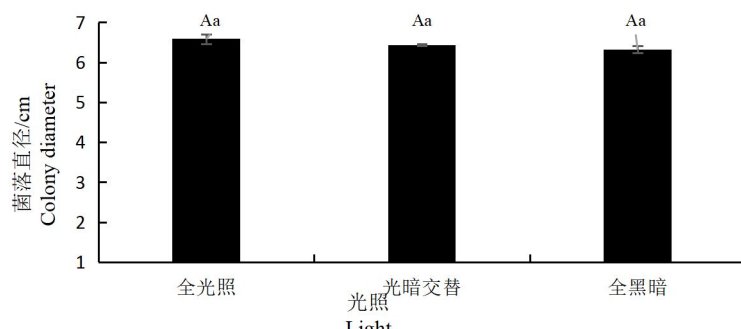


图 6 不同光照条件对桃吉尔霉 (*G. persicaria*) 生长的影响

Fig.6 Effects of different light conditions on colony growth of *G. persicaria*

2.1.6 致死温度测定

该菌株在 50℃ 处理 10 - 30 min 和 53℃ 处理 10 - 20 min 后接种至 PDA 平板上均能再生长，但在 53℃ 处理 30 min 和 56℃（包括 56℃ 以上）处理 10 min（包括 10 min 以上）后接种至 PDA 平板上均不能生长，表明该菌株的致死温度为 56℃、10 min（见表 2）。

表 2 桃吉尔霉 (*G. persicaria*) 热致死温度测定结果

Tab.2 Thermal lethal temperature measurement results of *G. persicaria*

| 温度/℃ Temperature/°C | 时间/min Time/min | 菌落直径/cm Colony diameter |
|------------------------|--------------------|----------------------------|
| 50 | 10 | 4.52±0.50 ^{Aa} |
| | 20 | 2.50±0.53 ^{Cd} |
| | 30 | 2.17±0.08 ^{Ce} |
| 53 | 10 | 4.20±0.26 ^{Ab} |
| | 20 | 2.97±0.31 ^{Bc} |
| | 30 | 0.00±0.00 ^{Df} |
| 56 | 10 | 0.00±0.00 ^{Df} |
| | 20 | 0.00±0.00 ^{Df} |
| | 30 | 0.00±0.00 ^{Df} |
| 59 | 10 | 0.00±0.00 ^{Df} |
| | 20 | 0.00±0.00 ^{Df} |
| | 30 | 0.00±0.00 ^{Df} |

注：表中菌落直径中的大写字母表示经最小显著差异法比较，相互间达极显著(P= 0.01)差异，小写字母表示相互间达显著(P= 0.05)差异。

Note: In the column of colony diameter, means followed by different capital letters are significantly at the 1% level by LSD test, and small letter are significantly at the 5% level.

2.2 不同植物精油对病原菌的抑菌效果

在供试的 12 种植物精油中牛至精油的抑菌效果最好，EC₅₀ 值仅为 94.1 μg/mL；其次是香茅精油、肉桂精油、芥末精油、丁香精油、樟脑精油、玫瑰草精油和草果精油，其 EC₅₀ 值依次为 122.9、174.0、254.3、261.1、311.6、349.6、372.7 μg/mL，均在 500.0 μg/mL 以下；而山茶花精油、茶树精油、柠檬精油、橄榄精油抑菌效果不好，其 EC₅₀ 值均在 500.0 - 1000.0 μg/mL 之间（见表 3）。

表 3 12 种植物精油对桃吉尔霉 (*G. persicaria*) 菌落生长的抑制效果

Tab.3 Inhibitory effect of 12 plant essential oil on colony growth of *G. persicaria*

| 精油 Essential oil | 回归方程 Regression equation | 相关系数 R Correlation coefficient | EC ₅₀ 值(μg/mL) EC ₅₀ value (μg/mL) |
|---------------------|-----------------------------|-----------------------------------|---|
| 牛至精油 Oregano oil | y = 2.0108x + 7.0642 | 0.9911** | 94.1 |

| | | | |
|---------------------|------------------------|----------|-------|
| 香茅精油 Citronella Oil | $y = 1.7682x + 6.6100$ | 0.9911** | 122.9 |
| 肉桂精油 Cinnamon oil | $y = 3.2241x + 7.4489$ | 0.9785** | 174.0 |
| 芥末精油 Mustard oil | $y = 2.9442x + 6.7507$ | 0.9956** | 254.3 |
| 丁香精油 Clove oil | $y = 1.3648x + 5.7960$ | 0.9667** | 261.1 |
| 樟脑精油 Camphor oil | $y = 1.9724x + 5.9989$ | 0.9665** | 311.6 |
| 玫瑰草精油 Palmarosa oil | $y = 2.3006x + 6.0501$ | 0.9987** | 349.6 |
| 草果精油 Tsaoko oil | $y = 1.8163x + 5.7786$ | 0.9856** | 372.7 |
| 山茶花精油 Camellia oil | $y = 1.3826x + 5.3923$ | 0.9743** | 520.3 |
| 茶树精油 Tea tree oil | $y = 1.7154x + 5.2535$ | 0.9519** | 711.6 |
| 柠檬精油 Lemon oil | $y = 2.1807x + 5.1216$ | 0.9903** | 879.5 |
| 橄榄精油 Olive oil | $y = 2.0330x + 5.0291$ | 0.9831** | 967.6 |

注：表中**表示差异达极显著 (P>0.01)。

Note: In the table ** means the difference is extremely significant (P>0.01).

2.3 病害控制效果

在供试的 5 种精油中, 芥末精油对该病害的控制效果最好, 其控制率达到 100%; 其次是牛至精油和丁香精油, 其控制率达到 91.96%和 56.80%; 香茅精油和肉桂精油抑菌效果最差, 其控制率均在 50%以下 (见表 4)。虽然牛至精油对该病害的控制率达到 91.96%, 但使用牛至精油浸果后, 极易对果面造成药害。

表 4 5 种植物精油对桃吉尔霉 (*G. persicaria*) 果实上控制效果

Tab.4 Control effect of 5 plant essential oil on pitaya of *G. persicaria*

| 精油 Essential oil | 病斑直径/cm Diameter/cm | 控制效果/% Control effect/% | 浓度/ $\mu\text{L/L}$ Concentration/ $\mu\text{L/L}$ |
|---------------------|------------------------|----------------------------|---|
| 芥末精油 Mustard oil | 0.00 | 100.00% | |
| 牛至精油 Oregano oil | 0.52 | 91.96% | |
| 丁香精油 Clove oil | 2.78 | 56.80% | 1000 $\mu\text{L/L}$ |
| 香茅精油 Citronella oil | 3.80 | 40.90% | |
| 肉桂精油 Cinnamon oil | 3.96 | 38.48% | |

注：表中菌落直径中的大写字母表示经最小显著差异法比较, 相互间达极显著(P= 0.01)差异, 小写字母表示相互间达显著(P= 0.05)差异。

Note: In the column, capital letter are significantly at the 1% level by LSD test, and small letter are significantly at the 5% level.

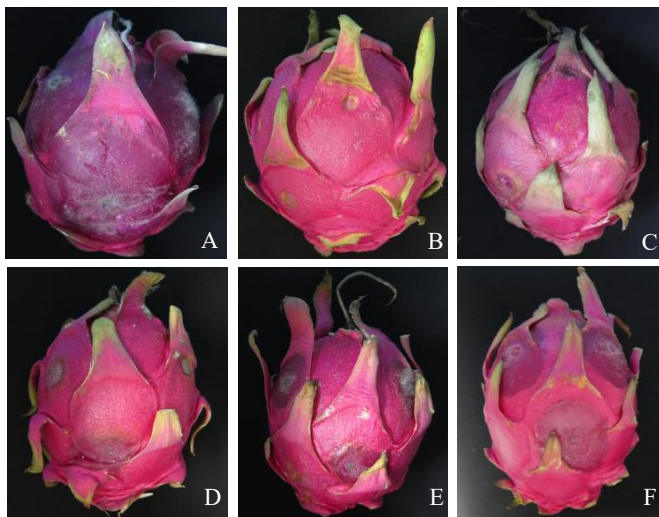


图 7 5 种植物精油对桃吉尔霉 (*G. persicaria*) 果实上控制效果

A. 清水处理接种 2 d 后发病症状; B. 芥末精油浸果处理接种 2 d 后发病症状; C. 牛至精油浸果接种 2 d 后发病症状; D. 丁香精油浸果接种 2 d 后发病症状; E. 香茅精油浸果接种 2 d 后发病症状; F. 肉桂精油浸果接种 2 d 后发病症状

Fig.7 Inhibitory effect of 5 plant essential oil on pitaya of *G. persicaria*

A.Symptoms of pitaya inoculation for 2 d with water; B.Symptoms of pitaya inoculation for 2 d with mustard oil; C.Symptoms of pitaya inoculation for 2 d with oregano oil; D.Symptoms of pitaya inoculation for 2 d with clove oil; E.Symptoms of pitaya inoculation for 2 d with citronella oil; F.Symptoms of pitaya inoculation for 2 d with

3 讨论

桃吉尔霉 (*G. persicaria*) 属于霜霉目 (Peronosporales) 白秀科 (Albuginaceae) 吉尔霉属 (*Gilbertella*), 可导致多种果蔬的腐烂, 例如引起番茄、梨、桃、蒲桃、木瓜、茄子^[17-22]等果实的腐烂。笔者系统地研究了其生物学特性, 结果表明该菌落的适宜培养温度为 28°C - 32°C, 最适生长温度为 32°C, 30°C 与 32°C 培养其生长无明显差异; pH 值 3 - 11 均可生长, 最适 pH 值为 5, 适宜 pH 值范围为 4 - 6, 适合偏酸环境培养; 光照对其生长影响无显著性差异, 其中连续光照菌落直径最大, 这与郭力维等^[4]和郑樊等^[8]研究结果基本一致。最适碳源和氮源分别是可溶性淀粉和酵母粉, 在 PDA 培养基上生长状况最好, 热致死温度为 56°C, 10 min。

植物精油是从植物组织中提取的物质, 具有抑菌谱广、绿色安全、高效长效和不易产生抗性等特点, 是一种很有潜力的新型杀菌物质^[23-24]。自发现桃吉尔霉 (*G. persicaria*) 为害火龙果以来, 对使用植物精油防治由该菌引起的火龙果贮藏期果腐病开展了一定的研究。赖柏羽等^[25]研究表明, 肉桂叶、丁香叶及百里香精油在浓度为 500 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 时对该菌的孢子萌发及菌丝生长的抑制率均为 100%。张绿萍等^[26]研究采用平板对扣法测定植物精油对桃吉尔霉的抑菌效果时发现, 肉桂精油添加量为 6 μL 时, 抑制率达 96.71%; 罗勒、丁香叶和姜油精油抑制效果相对较差, 在精油添加量为 12 μL 时抑制率分别为 31.48%、29.14% 和 3.96%; 采用熏蒸法处理损伤接种该病原菌的果实时发现, 接种 3 d, 果皮 50% 面积出现水浸状病斑。本研究试验结果表明, 供试 12 种植物精油对于桃吉尔霉 (*G. persicaria*) 在离体条件下的生长均有抑制作用, 其中牛至精油抑菌效果最好, 其 EC_{50} 值为 94.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 浓度达 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时抑菌率为 100%, 其次是肉桂精油、芥末精油和丁香精油的抑菌效果也较强, 其 EC_{50} 值分别为 122.9、174.0、254.3、261.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 选取本研究中抑菌效果较好的 5 种植物精油进行浸果试验后, 结果表明芥末精油对该病害的控制效果最好, 其控制率达到 100%; 牛至精油其次, 其控制率达到 91.96%; 虽然牛至精油对该菌有很好的抑菌效果, 但是牛至精油处理果实后, 出现药害, 造成较为严重的果面损伤, 影响果实商品价值。本研究发现, 供试 12 种植物精油中, 对桃吉尔霉 (*G. persicaria*) 引起的火龙果果腐病控制效果最好的是芥末精油, 该精油处理可抑制该病原菌的生长, 减少该菌引起的火龙果果腐病的发生。

参考文献

- [1] Quiroz G. B., García M. M. R., Corrales G. J., et al, Pitaya (*Stenocereus* spp.): An under-utilized fruit[J]. Journal of the Professional Association for Cactus, 2018, 12(20): 82-100.
- [2] 易润华, 甘罗军, 晏冬华, 等. 火龙果溃疡病病原菌鉴定及生物学特性[J]. 植物保护学报, 2013, 40(2): 102-108.
- [3] 朱迎迎, 陈亮, 祝庆刚, 等. 火龙果采后病害与防控技术研究进展[J]. 中国热带农业, 2014(4): 55-58.
- [4] 郭力维, 吴毅歆, 何汉兴, 等. 云南省火龙果采后果腐病研究(英文)[J]. 果树学报, 2014, 31(1): 111-114+167.
- [5] 林建平, 安宝贞, 蔡志浓, 等. 台湾新记录真菌 *Gilbertella persicaria* 引起之红龙果湿腐病[J]. 植物病理学会刊, 2014, 23(2): 109-124.
- [6] 李国林, 钱其军, 孟繁博, 等. 贵州地区“紫红龙”火龙果采后病原菌分离鉴定[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(21): 5647-5652.
- [7] 林珊宇, 贤小勇, 韦小妹, 等. 广西火龙果采后病害主要病原菌分离与鉴定[J]. 中国南方果树, 2018, 47(2): 6-12.
- [8] 郑樊, 徐刚, 仇芳, 等. 海南省火龙果软腐病病原菌的鉴定及生物学特性[J]. 植物保护, 2019, 45(4): 137-142.
- [9] 方中达. 植病研究方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [10] 王巨媛, 翟胜. 植物精油应用进展及开发前景展望[J]. 江苏农业科学, 2010(4): 1-3.
- [11] 李亚茹, 周林燕, 李淑荣, 等. 植物精油对果蔬中微生物的抑菌效果及作用机理研究进展[J]. 食品科学, 2014, 35(11): 325-329.
- [12] 沈萍, 陈向东. 微生物学实验[M]. 北京: 高等教育出版社, 2007.
- [13] 潘玲玲, 王峰, 莫斌, 等. 加拿大进境油菜籽茎基溃疡病菌的生物学特性[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(10): 96-99.
- [14] 王义, 胡美姣, 李敏, 等. 草海桐链格孢叶斑病菌生物学特性及杀菌剂的室内筛选[J]. 热带作物学报, 2020, 41(08): 1634-1641.
- [15] 暴增海, 马桂珍, 杨文兰, 等. 玉米弯孢霉叶斑病的初侵染来源及几种杀菌剂的室内毒力测定[J]. 吉林农业大学学报, 2002,

24(4): 53-57.

- [16] 缪应林. 90种植物精油对水果防腐保鲜活性的筛选[D]. 西北农林科技大学, 2010.
- [17] Mehrotra, M. D. Fruit rot of tomato caused by *Gilbertella persicaria*[J]. Sydowia, 1964, 17: 17-19.
- [18] Mehrotra, M. D. Fruit rot of pear caused by *Gilbertella persicaria* var. indica[J]. Sydowia, 1963,17: 124-125.
- [19] Mehrotra, M. D. Fruit rot of peach by *Gilbertella persicaria* var. indica from India[J]. Mycopathologia et mycologia applicata, 1966,29(1-2): 151-154.
- [20] Pinho, D B., Olinto L. P, Dartanha J. S., et al. irst report of *Gilbertella persicaria* as the cause of soft rot of fruit of *Syzygium cumini*[J]. Australasian plant disease notes, 2014,9(1): 143.
- [21] Lachica C. I., Marquez Z. I., Garciae E. R. S., et al. First report of *Gilbertella persicaria* causing papaya fruit rot[J]. Plant Disease, 2016, 100(1): 227.
- [22] Vieira, J. C. B., Câmara, M. P. S., Bezerra, J. D. P.,et al. First report of *Gilbertella persicaria* causing soft rot in eggplant fruit in Brazil[J]. Plant disease, 2018 102(6): 1172.
- [23] 孙常青, 施俊凤. 植物精油及其控制果蔬采后病害的研究进展[J]. 江西农业, 2020(2): 104-105.
- [24] 龙娅, 胡文忠, 李元政, 等. 植物精油对果蔬霉菌的抑制及在果蔬保鲜中的应用[J]. 食品工业科技, 2020, 41(6): 311-317.
- [25] 赖柏羽. 结合植物精油与覆膜材料对红龙果仓储病害之防治效果研究[M]. 国立台湾大学, 2017.
- [26] 张绿萍, 袁启凤, 解璞, 等. 贵州火龙果采后病害主要病原菌分离鉴定及抑菌植物精油筛选[J]. 贵州农业科学, 2019, 47(11): 58-63.

***In vitro* evaluation of fungicides against *Ceratocystis paradoxa* causing stem bleeding and trunk rot of coconut in Hainan**

YU Feng-yu, NIU Xiao-qing, ZHU Hui, TANG Qing-hui, and SONG Wei-Wei²⁵

(Coconut Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences / Hainan Innovation Center of Academician Team, Wenchang 571339, Hainan Province, China)

Abstract: Ten chemical fungicides (carbendazim, thiophanate-methyl, dimethomorph, prochloraz-manganese chloride complex, kresoxim-methyl, tridemorph, chlorothalonil, propiconazole-difenoconazole, iprodione and mancozeb) were tested against *Ceratocystis paradoxa* to evaluate the inhibition of mycelial growth and spore germination. Propiconazole-difenoconazole was the most effective fungicide showing 100% inhibition of mycelial growth at all concentrations whereas kresoxim-methyl was the least effective. As for spore germination, chlorothalonil showed 100% inhibition and the least inhibition was recorded with iprodione.

Key words: *Ceratocystis paradoxa*; chemical fungicides; mycelial growth; spore germination

INTRODUCTION

The coconut tree (*Cocos nucifera* L.) is widely grown in the Hainan Province of China. There is a large and increasing demand for immature coconuts that are harvested and marketed for the consumption of their liquid endosperm (“coconut water”). This is mostly supplied by cv. green tall plantations but the productivity has been limited by pests and diseases. In March 2011, Yu et al (5,6), noted the occurrence of what appeared to be a novel coconut disease in China: severe stem bleeding and trunk rot on the stem of about 15-20-year-old coconuts growing in some plantations in Hainan and identified the pathogen as *Ceratocystis paradoxa*. The trunk began to bleed from cracks or fissures of the bark at 1.5-2 m from the ground level. Cross-sections revealed brown rot confined to one side of the trunk where the rot was spreading inward from the surface (Figs. 1). Eventually the affected plants died 3-4 months after the symptoms were first observed. No attempt was made to treat the diseased plants. The disease was first reported in Srin Lanka (13), caused severe damage to PB-121 hybrids in Indonesia (4), and is now known to occur in many other coconut-producing countries.



Figure 1 “stem bleeding” and “trunk rot” on a *C. nucifera* due to infection from *C. paradoxa*.

The objective of this study was to evaluate, *in vitro*, the effectiveness of ten different fungicides against the mycelial growth and spore germination of *C. paradoxa*, as a prelude to the disease control.

MATERIALS AND METHODS

*Funding: High level talent project of Hainan basic and applied basic research program (Natural Science Field) (2019RC339)

Yu Fengyu: female (1978.12 -), associate researcher, mainly engaged in tropical plant disease control technology research. E-mail: yufengyu17@163.com

The material and the methods followed in the present study are based on poisoned food technique. All glasswares were thoroughly washed with detergent powder and running tap water and dried in a hot oven. The glass Petri dishes (9-cm diameter) and pipettes were wrapped in clean paper and autoclaved at 121 °C for 20 min. Potato Dextrose Agar (PDA) medium with 2 % dextrose, 20% potato and 1.5-2.0 % agar was also similarly autoclaved and used as the basal culture medium for the assay of fungicides .

Ten fungicides: carbendazim, thiophanate-methyl, dimethomorph, prochloraz-manganese chloride complex, kresoxim-methyl, tridemorph, chlorothalonil, propiconazole-difenoconazole, iprodione and mancozeb (Table 1) were used to study their effects on the mycelial growth and spore germination of *C. paradoxa*. They were tested at concentrations of 0.05, 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 50, and 100 µg/ml, by considering the percentage of active ingredient in the fungicides.

Table1. The fungicides used and their description characteristics

| Trade name | Formulation | Distributor/Manufacturer |
|---------------------------------------|-------------|--|
| carbendazim | 5 WP | Chongqing Treerong Chemical Co., Ltd. |
| thiophanate-methyl | 70 WP | Jiangsu Rotam Chemistry co., Ltd. |
| dimethomorph | 50 WP | BASF (China) Co., Ltd. |
| prochloraz-manganese chloride complex | 50 WP | Bayer Crop Science |
| kresoxim-methyl | 50 WDG | Basf Company Ltd. |
| tridemorph | 750 g/l EC | Shanghai zealing Chemical Co., Ltd. |
| chlorothalonil | 75 WP | Syngenta crop protection Co. Ltd. (Hangzhou) |
| propiconazole-difenoconazole | 300 g/l EC | Shanghai zealing Chemical Co., Ltd. |
| iprodione | 50 WP | Bayer Crop Science |
| mancozeb | 80 WP | The United States Dow AgroSciences LLC |

Effect of different fungicides on mycelial growth of *C. paradoxa*

For each fungicide, the PDA plates were amended with one the above eight concentrations. A 5-cm diameter disk was removed with a sterilized cork borer from the growing margin of a 2-day old colony of the fungus and transferred to the center of a PDA plate in which the chemical was incorporated. Three replicates for each concentration (0.05, 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 50, 100 µg/ml) for each chemical were used whereas the agar plates without any chemical would serve as the control. All the plates were incubated at 25 °C for 2 days. Fungal growth was measured by crossing method after 2 days of inoculation.

The inhibition percentage of fungal growth was calculated using the following formula:

$$I = \frac{C - T}{C} \times 100$$

Where:

I = Inhibition Percentage of fungal growth

C = Mean colony diameter (mm) in control

T = Mean colony diameter (mm) in treatment

Effect of fungicides on spore germination

The PDA medium was amended with 10 µg/ml of each fungicide. Spores of *C. paradoxa* were taken from 7 day-old cultures on PDA plates. Spore suspension ($\times 10^5$ conidia/ml) was prepared with sterile distilled water. 20 µl spore suspension was spread on the surface of the PDA plate. Three replicates for each chemical including control (without chemical) were maintained. All the plates were incubated at 25 °C and spore germination was checked under an inverted microscope after 10 hours of incubation to record the percentage of conidial germination by the following formula:

$$\text{Percentage of spore germination} = \frac{\text{Number of germinated spores}}{\text{Number of spores examined}} \times 100$$

Statistical analyzing

For analyzing the experimental data, arcsine angular transformations were made. The means were compared by Duncan's Multiple Range Test at 5% level of significance to determine the significant difference between different treatments.

RESULTS

Effect of different fungicides on mycelial growth of *C. paradoxa*

The results presented in Tables 2 showed that all ten fungicides had inhibitory effects against the mycelial growth at all tested concentrations. However, complete inhibition of mycelial growth was observed with propiconazole-difenoconazole, carbendaxim, prochloraz-manganese chloride complex, tridemorph, iprodione and mancozeb at the concentration of 0.05, 0.5, 1, 5, 50 and 50 µg/ml, respectively. Anova on the mycelial growth inhibition data showed highly significant effects of the fungicides on *C. paradoxa*.

Effect of different fungicides on spore germination of *C. paradoxa*

Data presented in Figure 2 revealed that all ten chemical fungicides exhibited significant inhibition of spore germination in *C. paradoxa*. However, chlorothalonil was the most effective fungicide against *C. paradoxa*, whereas iprodione had the least effect.

DISCUSSION

It is evident from the results that there was a significant reduction in mycelial growth with the increase in concentration of each fungicide. Ten different fungicides at their different test concentrations inhibited the mycelial growth of *C. paradoxa* with the highest sensitivity recorded for propiconazole-difenoconazole, prochloraz-manganese chloride complex, carbendazim and tridemorph. Iprodione, thiophanate-methyl and mancozeb exhibited an intermediate, whereas dimethomorph, chlorothalonil and kresoxim-methyl showed least effectiveness in controlling mycelial growth. However, chlorothalonil at 10 µg/ml showed 51.67% inhibition of spore germination, whereas iprodione showed the least effectiveness in inhibiting spore germination.

Many plant pathologists reported that several fungicides inhibited the growth of *C. paradoxa* (3, 7, 11, 12, 14 and 15). Our results are in line with the findings of Ramnujam *et al.* (1,2) who found that carbendazim, tridemorph, propiconazole and thiophanate methyl were highly inhibitory to *C. paradoxa*. Similarly, Vijaya *et al.* (8, 9, 10), also reported that propiconazole and carbendazim were effective in complete inhibition (100 %) of *C. paradoxa* at both the concentrations tested (0.05 and 0.1 percent). The results of current study suggested that the use of carbendazim, tridemorph and propiconazole-difenoconazole should help in the control of stem bleeding and trunk rot disease of coconut.

Table 2. Effect of fungicides on mycelial growth of *C. paradoxa*. (mean of 3 replications)

| fungicides | inhibition percentage at different concentrations after 2 days in PDA ($\mu\text{g/ml}$) | | | | | | | |
|---------------------------------------|--|-------------------|-------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|----------------------|
| | 0.05 | 0.1 | 0.5 | 1 | 5 | 10 | 50 | 100 |
| propiconazole-difenoconazole | 100 \pm 0.00a | 100 \pm 0.00a | 100 \pm 0.00a | 100 \pm 0.0 0a | 100 \pm 0.0 0a | 100 \pm 0.0 0a | 100 \pm 0.0 0a | 100 \pm 0.0 a |
| carbendazim | 55.49 \pm 16.13c | 78.82 \pm 1.18c | 100 \pm 0.00a | 100 \pm 0.0 0a | 100 \pm 0.0 0a | 100 \pm 0.0 0a | 100 \pm 0.0 0a | 100 \pm 0.0 a |
| prochloraz-manganese chloride complex | 80.20 \pm 1.23b | 83.33 \pm 0.34b | 86.47 \pm 2.69b | 100 \pm 0.0 0a | 100 \pm 0.0 0a | 100 \pm 0.0 0a | 100 \pm 0.0 0a | 100 \pm 0.0 a |
| tridemorph | 26.67 \pm 1.80d | 33.92 \pm 3.02d | 50.59 \pm 1.02c | 67.25 \pm 3.91b | 100 \pm 0.0 0a | 100 \pm 0.0 0a | 100 \pm 0.0 0a | 1100 \pm 0.0 0a |
| iprodione | 10.20 \pm 1.23e | 15.29 \pm 1.56g | 18.43 \pm 1.22f | 22.55 \pm 1.36d | 60.98 \pm 6.82b | 90.39 \pm 1.48b | 100 \pm 0.0 0a | 100 \pm 0.0 a |
| mancozeb | 4.11 \pm 2.04ef | 4.71 \pm 1.77i | 6.67 \pm 0.34h | 10.39 \pm 2.65e | 35.29 \pm 6.94d | 63.92 \pm 3.35d | 100 \pm 0.0 0a | 100 \pm 0.0 a |
| thiophanate-methyl | 0.00 \pm 0.00f | 1.76 \pm 0.59j | 3.33 \pm 0.90i | 10.20 \pm 2.65e | 46.67 \pm 14.12 | 66.27 \pm 10.01d | 91.96 \pm 7.68b | 100 \pm 0.0 a |
| dimethomorph | 27.26 \pm 2.22d | 28.82 \pm 1.02e | 32.55 \pm 0.68d | 34.55 \pm 3.77c | 32.55 \pm 2.65d | 46.27 \pm 6.01e | 46.08 \pm 2.38c | 66.27 \pm 3.45b |
| chlorothalonil | 6.28 \pm 1.89ef | 9.02 \pm 0.68h | 19.22 \pm 1.36f | 26.28 \pm 7.45d | 30.19 \pm 2.78d | 44.90 \pm 1.48e | 45.88 \pm 1.02c | 48.82 \pm 2.57c |
| kresoxim-methyl | 5.49 \pm 0.34ef | 6.67 \pm 0.90i | 10.78 \pm 1.36g | 22.35 \pm 3.58d | 25.10 \pm 0.68d | 30.00 \pm 1.02f | 28.63 \pm 2.90d | 34.51 \pm 5.56d |

Column values followed by the same letter are not significant as Duncan test ($P=0.05$)

Figure 2. Effect of different fungicides on the inhibition of spore germination of *C. paradoxa*. (mean of 3 replications)

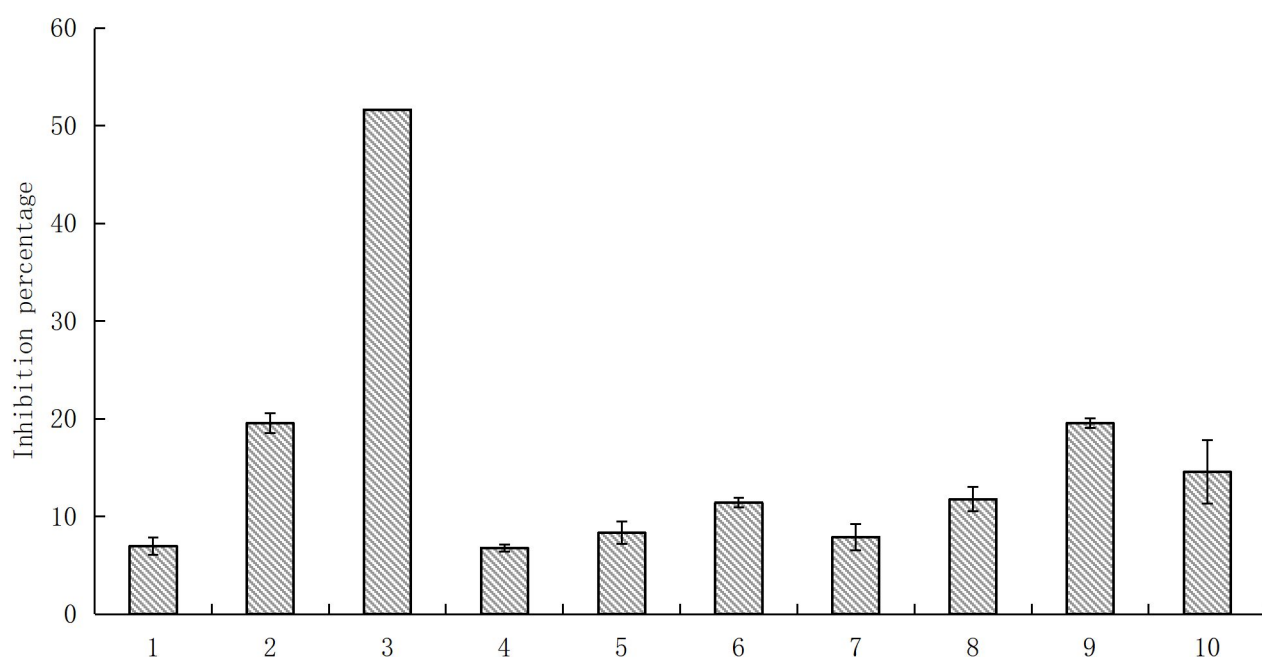


Figure 2 Effect of ten fungicides on the inhibition of spore germination of *C. parado*

References

- [1] Ramanujam B, Nambiar K K N, Rohini I. Management of stem bleeding disease of coconut with fungicides and a biocontrol agent [J]. Journal of Plantation Crops, 1997, 25 (2): 175-179.
- [2] Ramanujam B, Nambiar K K N, Rohini I. Effect of systemic fungicides, aqueous extracts of oil cakes and inorganic soil amendments on *Thielaviopsis paradoxa* and its antagonistic fungi *in vitro* [J]. Journal of Plantation Crops, 2005, 33 (2): 107-111.
- [3] Tewari D K, Srivastava R C, Katiyar N, *et al.* Chemical control of *Thielaviopsis* rot of papaya [J]. Indian Phytopathology, 1988, 41 (3): 491-492.
- [4] Warwick D R N and Passos E E M. Outbreak of stem bleeding in coconuts caused by *Thielaviopsis paradoxa* in Sergipe, Brazil [J]. Tropical Plant Pathology, 2009, 34 (4): 175-177.
- [5] Yu F Y, Lin C H, Zhu H, *et al.* Biological characteristics of the pathogenic fungus causing stem bleeding disease of coconut [J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2011, 32(6):1122-1127.
- [6] Yu F Y, Niu X Q, Tang Q H, *et al.* First report of stem bleeding in coconut caused by *Ceratocystis paradoxa* in Hainan, China [J]. Plant Disease, 2012, 96(2):290.
- [7] Mubarak H F, Riaz M, As-Saeed I, *et al.* Physiological studies and chemical control of black

- scorch disease of date palm caused by *Thielaviopsis (Ceratocystis) paradoxa* in Kuwait [J]. Pakistan Journal of Phytopathology, 1994, 6 (1): 7-12.
- [8] Vijaya H K. Studies on sett rot of sugarcane and its management with special reference to *Acetobacter diazotrophicus* Gillis and de Ley [D]. Master's Degree Thesis, Department of Plant Pathology College of Agriculture, Dharwad University of Agricultural Sciences Dharwad, 2005.
- [9] Vijaya H K, Srikantkulkarni and Yashoda R. Hegde. Chemical control of sett rot of sugarcane caused by *Ceratocystis paradoxa* [J]. Karnataka Journal of Agricultural Sciences, 2007, 20(1): 62-64.
- [10] Vijaya H K, Yadahalli K B. Bio-efficacy of systemic and non-systemic fungicides against sett rot in sugarcane causing *Ceratocystis paradoxa* [J]. Mysore Journal of Agricultural Sciences, 2009, 43 (3): 493-496.
- [11] Comstock J C, Ferreira S A, Ching S A, *et al.* Hilton. Control of pineapple disease of sugarcane with propiconazole [J]. Plant disease, 1984, 68(12): 1072-1075.
- [12] Bachiller N C S J, Abad R G. Host range and control studies of stem bleeding disease of coconut (*Cocos nucifera* L.) in the Philippines [J]. Philippine Journal of Crop Science, 1998, 23: 44.
- [13] Alfieri S A. Stem bleeding disease of coconut palm, *Cocos nucifera* [J]. Plant Pathology Circular No. 53. Florida Department of Agriculture Division of Plant Industry, 1967.
- [14] Rao S C, Patil K D, Dhandar D G. Stem bleeding disease of coconut (*Cocos nucifera*) in Goa - present status and strategy for its management [J]. Indian Coconut Journal (Cochin), 1992, 23 (8): 2-4.
- [15] Radhakrishnan T C. Control of stem bleeding disease of coconut [J]. Indian Coconut Journal (Cochin), 1990, 20 (9): 13-14.

解淀粉芽孢杆菌 F1 对芒果炭疽病菌的抑菌机理及其生防效果研究

赵超²⁶, 高兆银², 李敏², 弓德强², 赵德庆³, 胡美姣^{2*}

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. 3 中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所 海南海口 571101.

摘要: 从芒果果皮上分离获得一株芒果炭疽病菌 (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) 拮抗菌-解淀粉芽孢杆菌 *Bacillus amyloliquefaciens* (F1), 该研究对其抑菌机制及其生防效果进行了探索。研究表明: F1 发酵上清液可导致 *C. gloeosporioides* 菌丝变形, 内容物外泄, 菌丝干瘪, 菌丝蛋白含量下降, 纤维素酶和果胶酶的活性降低, 损伤分生孢子质膜, 使其萌发率降低。发酵上清液有 5 种具抑菌活性的物质, 其中 2-氨基-5-甲氧基苯甲酸抑菌效果最好。以浓度为 1 mg/mL 的甲基麦芽酚、DL-4-氯苯丙氨酸、2-氨基-5-甲氧基苯甲酸 3 种试剂处理芒果果实, 2-氨基-5-甲氧基苯甲酸防病效果最好, 对接种 *C. gloeosporioides* 处理果实的防效为 60.98%, 自然发病的防治效果达到了 73.35%。F1 在防治芒果炭疽病方面具有巨大潜力, 具有进一步研究开发价值。

关键词: 解淀粉芽孢杆菌; 芒果; 胶孢炭疽菌; 抑菌机制; 生防效果

Study on Antifungal Mechanism of *Bacillus Amylolyquefaciens*(F1) against *Colletotrichum Gloeosporioides* and its Biocontrol Effect on Mango Anthracnose

ZHAO Chao¹, GAO Zhaoyin² ZHAO Deqing³, LI Min², HU Meijiao^{2*}

1 School of Life and Pharmaceutical Sciences, Hainan University, Haikou, Hainan, 570228, China; 2 Environment and Plant Protection Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Science, Haikou, Hainan, 571101, China ; 3 Tropical Crops Genetic Resources Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Science, Haikou, Hainan, 571101, China;

Abstract In the present study, a *Bacillus amylolyquefaciens* strain with good antifungal effect on *Colletotrichum gloeosporioides* was isolated. The antifungal mechanism of that strain on *C. gloeosporioides* and biocontrol effect against mango anthracnose were explored. The results showed the *C. gloeosporioides* treated with *cell-free*

²⁶基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项 (No. 1630042017026, No.1630042017027, No.1630042020016)

作者简介: 赵超, 博士, 主要从事农业微生物研究; E-mail: 244062891@qq.com。通讯作者: 胡美姣, 博士, 研究员, 主要从事热带水果采后病害及保鲜研究; E-mail: humeijiao320@163.com;

fermentation supernatant (CFF-supernatant) of strain F1 demonstrated local swelling and irregular deformation of mycelium, decrease in mycelial protein content, suppressed activities of cellulase and pectinase. F1 CFF-supernatant destructed the spore plasma membrane, and reduced spore germination rate. Five metabolites in CFF-supernatant of F1 demonstrated antifungal activities. Among them, 2--amino-5-methoxybenzoic acid had the best antifungal effect against *C. gloeosporioides*. The results of methyl maltol, DL-4-Chlorophenylalanine and 2--amino-5-methoxybenzoic acid, their concentration 1 mg mL⁻¹, treated mango fruits demonstrated 2--amino-5-methoxybenzoic acid had the best control effect on mango anthracnose and control effect was 73.68%, and control effect of inoculation *C. gloeosporioides* treatment was 60.98%.

Keywords: *Bacillus amyloliquefaciens*, mango, *Colletotrichum gloeosporioides*, ; antifungal mechanism, control effect

芒果 (*Mangifera indica* L.) 是一种重要的热带经济水果, 因其外观靓丽、口感丰富、营养价值高而深受人们的喜爱。2017 年我国芒果栽培面积 3.86×10^9 亩, 产量达 2.0535×10^7 t^[1]。芒果成熟季节高温、多雨, 采后病害发生严重。其中由胶孢炭疽菌 (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) 引起的芒果炭疽病是芒果主要采后病害之一。果实感病后, 果皮表面变黑或褐色, 病斑发展快, 往往造成大量损失。在贮运期间, 特别是在果实成熟期发病, 病果率一般为 30%~50%, 严重时可达 100%^[2]。虽然化学药剂的使用对果蔬采后保鲜具有明显的效果, 但同时导致环境安全、食物安全和病菌耐药性等问题的出现限制了化学药剂的使用。如在我国 *C. gloeosporioides* 已对部分农药产生了抗药性^[3]。生物防治没有化学药剂残留, 与生态农业、农业的可持续发展相一致, 成为替代化学防治的研究热点。广泛分布于土壤与植物表面的解淀粉芽孢杆菌能够产生大量的抑菌活性物质, 已有研究表明解淀粉芽孢杆菌对水稻白叶枯病、水稻纹枯病^[4], 小麦赤霉病^[5], 茶花灰斑病^[6]等的防治效果良好。解淀粉芽孢杆菌对芒果炭疽的研究也有报道, 例如 Luna-Bulbarela 等分离到解淀粉芽孢杆菌 83, 其产生的杆状毒素 D 同系物可以一直菌丝生长和孢子萌发^[7]。靳鹏飞获得的解淀粉芽孢杆菌 HAB-2, 其正丁醇粗提物和化合物 H2 可以有效抑制芒果炭疽病菌侵染芒果叶片和果实^[8]。目前还没有针对芒果采后炭疽病拮抗菌的商业化产品。本研究从健康芒果表皮分离到一株对芒果炭疽病菌具有较好抑制效果的解淀粉芽孢杆菌-F1, 探讨其对芒果炭采后疽病菌的抑菌机制及其生防效果, 为开发利用该菌提供支撑。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 芒 果

采用‘台农 1 号’芒果, 采自海南省三亚市天涯区海南水果岛农业发展有限公司凤凰机场芒果基地。选择选绿熟期 (七-八成熟), 大小均匀, 目测无病斑且表面无明显损伤的果实。

1.1.2 供试菌株

芒果胶孢炭疽病菌 (*C. gloeosporioides*) 由中国热带农业科学院环境与植物保护研究所保存提供。拮抗菌株 F1 从健康芒果表皮分离得到, 经过形态学、生理生化与分子生物学特征鉴定为解淀粉芽孢杆菌 *Bacillus amyloliquefaciens* (F1), 登录号 MN733027.1。

1.1.3 拮抗菌株与发酵上清液

将菌株 F1 在 LB 培养基 28℃、180rpm 震荡培养 48h, 4000rpm 离心 10min, 再 0.22 μm 无菌滤膜过滤获得无菌发酵上清液。

1.1.4 纤维素酶与果胶酶诱导培养基

参考金勤等的方法^[9]。

1.2 方法

1.2.1 菌株 F1 对 *C. gloeosporioides* 的抑菌活性及其对采后炭疽病的防效。

抑菌活性参考赵超等^[10]的方法；F1 生防效果，自然发病：F1 无菌发酵液 10 倍稀释液浸泡芒果；接种发病：接种 *C. gloeosporioides* 分生孢子后用 F1 无菌发酵液 10 倍稀释液浸泡芒果，在 25℃、相对湿度 80%~90%贮藏。观察发病情况，计算病情指数与防效^[10]。

$$\text{病情指数} = \frac{\sum (\text{各级发病芒果数} \times \text{该病级值})}{(\text{总芒果数} \times \text{最高级值})} \times 100$$

$$\text{防治效果} = \frac{(\text{对照病情指数} - \text{处理的病情指数})}{\text{对照病情指数}} \times 100\%$$

1.2.2 菌株 F1 对 *C. gloeosporioides* 菌丝形态及生理的影响

F1 对 *C. gloeosporioides* 菌丝形态、孢子萌发的影响参考宋光桃与周国英^[11]的方法。*C. gloeosporioides* 孢子质膜完整性采用碘化丙啶 (PI) 染色法^[12]观察。对 *C. gloeosporioides* 菌丝体蛋白质含量的影响采用 Bradford 法测定^[13]，*C. gloeosporioides* 菌丝体纤维素酶与果胶酶活性检测参考刘西莉^[12]的方法。

1.2.3 F1 发酵上清液中抗菌物质分析

样本准备：将 F1 在 LB 液体培养基中 30℃，180 r/min 培养 48 h，再 4℃、1000 g，离心 1 min，取上清液在液氮中浸泡≥10 min，-80℃冰箱保存备用。

F1 的代谢产物检测：内标 L-2-氯苯丙氨酸，在安捷伦 1290 超高效液相控制下进行色谱分离。色谱柱为 UPLChSS T3 色谱柱 (Waters) (2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm)，Thermo Q ExactiveOrbitrap 质谱仪，具体方法参考张丽等^[14]方法。

1.2.4 菌株 F1 代谢物抑菌活性测定

将筛选鉴定到的抑菌代谢物，与 PDA 培养基混合，设置 5 个浓度梯度：0.1 μg/mL、0.3 μg/mL、0.5 μg/mL、0.8 μg/mL、1 μg/mL，接种 *C. gloeosporioides* 菌饼(Φ=5 mm)，以 PDA 培养基为对照。28℃ 培养 5 d，观察病菌生长状况并计算抑菌率。

$$\text{抑菌率} (\%) = \frac{\text{对照组菌落直径} - \text{处理组菌落直径}}{\text{对照组菌落直径} - \text{菌饼直径}}$$

1.2.5 菌株 F1 代谢物对芒果采后炭疽病防治效果

根据 1.2.4 结果，选择 3 种抑菌效果较好的的化合物：甲基麦芽酚、DL-4-氯苯基丙氨酸、2-氨基-5-甲氧基苯甲酸，配置成浓度 1 mg/mL 水溶液，浸泡芒果 3min，在 25℃、相对湿度 80%~90%贮藏，统计三种化合物对芒果炭疽病的防效参考赵超等^[10]的方法。

1.3 数据分析

利用 EXCEL2007 软件对数据进行统计整理并制图，使用 IBM SPSS Statistics 19.0 软件处理和分析数据。采用单因素方差分析（ANOVA）对数据进行分析，采取 Duncan's 新复极差法（ $P < 0.05$ ）用于差异显著性分析。

2 结果分析

2.1 菌株 F1 对 *C. gloeosporioides* 的抑菌活性及其对芒果炭疽病的防效

平板对峙试验发现，F1 对 *C. gloeosporioides* 抑菌率达到了 69.69%。果实在不接种 *C. gloeosporioides* 情况下，果实发病率达到 81.67%，F1 处理发病率下降了 33.34%，防效达到 70.32%。果实在接种 *C. gloeosporioides* 情况下，防效达到 56.10%（表 1）。

表 1 F1 对芒果采后炭疽病防治效果

Tab. 1 The control effect of strain F1 on mango anthracnose

| 处理 Treatment | 自然发病 | | | 接种处理 | |
|-----------------|---------------------------------|-----------------------|--------------------------|-----------------------|--------------------------|
| | 发病率 Disease incidence (%) | 病情指数 Disease index | 防效 Control effect (%) | 病情指数 Disease index | 防效 Control effect (%) |
| 对照 control | 81.67 | 40.56 ^a | - | 65.08 ^a | - |
| F1 | 48.33 | 12.04 ^b | 70.32 | 28.57 ^b | 56.10 |

说明：同一栏不同小写字母表示不同处理间存在显著差异（ $p < 0.05$ ），下同。

Note: The lowercase letters in the same row indicate significant differences among different treatments ($p < 0.05$).

2.2 菌株 F1 对 *C. gloeosporioides* 菌丝形态及生理的影响

C. gloeosporioides 菌丝受 F1 的影响，菌丝出现膨大、肿胀，部分菌丝内容物外泄，菌丝干瘪，部分菌丝扭曲变形（图 1，B-D）。

C. gloeosporioides 孢子经 F1 发酵上清液处理质膜受到不同程度的破坏，处理 6 h 孢子质膜完整性为 84.49%，12 h 处理质膜完整性则下降到 69.21%（图 2）。

F1 无菌发酵上清液处理后，孢子萌发率分别为 24.03%和 29.95%，比对照分别下降了 13.71%和 30.79%（表 2）。

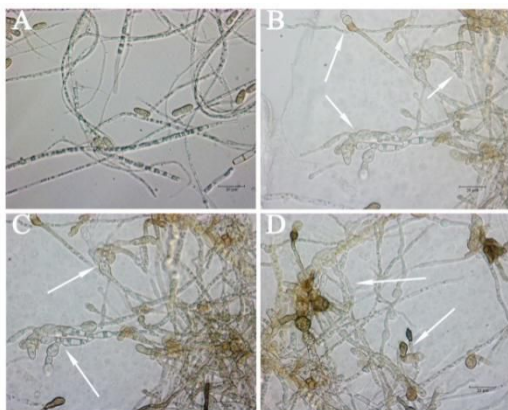


图 1 *C. gloeosporioides* 菌丝形态变化

A: 对照; B-D: F1 处理

Fig. 1 Morphology of *C. gloeosporioides*

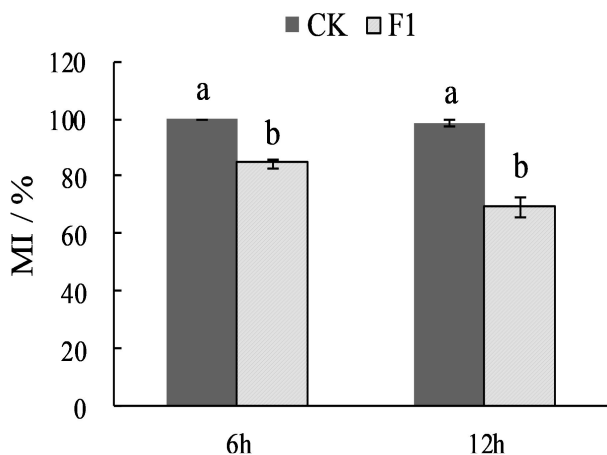


图 2 F1 对 *C. gloeosporioides* 孢子质膜完整性的影响

Fig. 2 Effect of strain F1 on integrity of spore plasma

表 2 F1 发酵液上清液对 *C. gloeosporioides* 孢子萌发的影响

Tab. 2 Effect of strain F1 CFF-supernatant on spores germination of *C. gloeosporioides*

| 处理 Treatment | 萌发率 Spores germination rate (%) | | 抑制率 Control rate(%) | |
|-----------------|---------------------------------|-------|---------------------|-------|
| | 对照 Control | F1 | 对照 Control | F1 |
| 6h | 37.47 | 24.03 | - | 35.86 |
| 12h | 60.74 | 29.95 | - | 50.69 |

C. gloeosporioides 菌丝经不同浓度 F1 无菌发酵上清液处理后，蛋白质含量显著下降，发酵液浓度越高，蛋白质含量越低（表 3）。

表 3 F1 对 *C. gloeosporioides* 菌丝蛋白含量的影响

Tab. 3 Effect of strain F1 CFF-supernatant on protein content of *C. gloeosporioides*

| F1 无菌发酵上清液 F1 CFF-supernatant | 蛋白质含量 Protein content (mg/g) |
|----------------------------------|---------------------------------|
| 10 稀释液 | 0.089 ^d |
| 20 倍稀释液 | 0.111 ^c |
| 30 倍稀释液 | 0.146 ^b |
| 对照 | 0.171 ^a |

F1 发酵上清液处理使 *C. gloeosporioides* 菌丝纤维素酶和果胶酶活性均显著低于对照，其中 10 倍稀释液两种酶的活性分别比对照下降了 22.03%和 20.76%（表 4）。

表 4 F1 发酵液对菌丝胞外酶活性的影响

Tab. 4 Effect of strain F1 CFF-supernatant on extracellular enzyme activity of *C. gloeosporioides*

| F1 发酵上清液 F1 CFF-supernatant | 纤维素酶 Cellulase (Cx) | | | 果胶酶 Pectinase (PG) | |
|-----------------------------------|----------------------------|---------------------|---------------------|--------------------|----------------------|
| | 还原糖含量 | 活性 | 活性 | 还原糖含量 | 活性 Activity |
| | Reducing content(mg/ml) | | | sugar | |
| 10 倍稀释液 | 0.5522 | 0.0184 ^c | 0.0184 ^c | 0.5611 | 0.0187 ^c |
| 20 倍稀释液 | 0.5825 | 0.0194 ^c | 0.0194 ^c | 0.5932 | 0.0197 ^{bc} |
| 30 倍稀释液 | 0.6449 | 0.0215 ^b | 0.0215 ^b | 0.6253 | 0.0208 ^b |
| 对照 | 0.7074 | 0.0236 ^a | 0.0236 ^a | 0.7074 | 0.0236 ^a |

2.3 F1 发酵上清液中抗菌物质分析

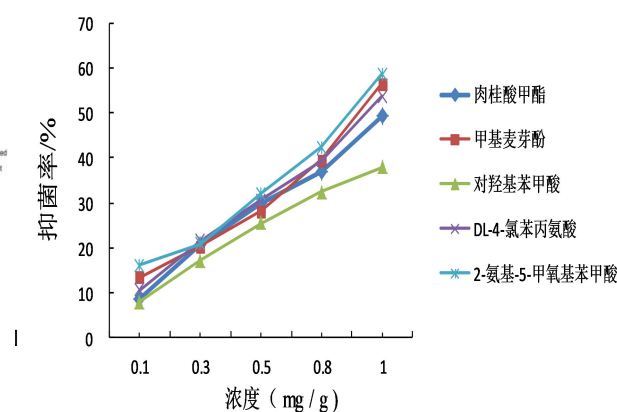
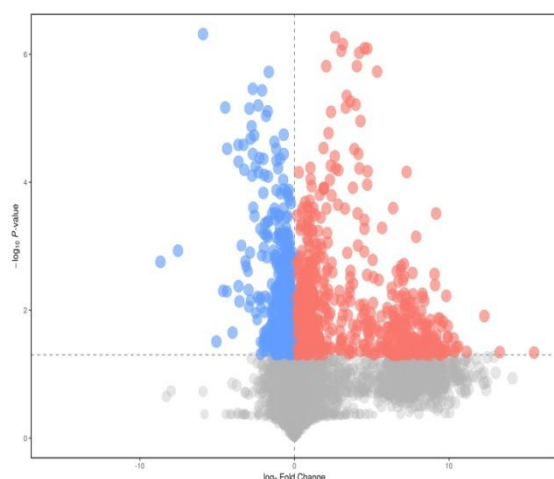
经过抑菌试验，从 F1 差异代谢物中筛选到 5 种对 *C. gloeosporioides* 有抑制作用的物质，分别是肉桂酸甲酯、甲基麦芽酚、对羟基苯丙酸、DL-4-氯苯丙氨酸、2-氨基-5-甲氧基苯甲酸。抑菌试验表明随着化合物浓度的增加，各药剂对 *C. gloeosporioides* 抑制效果增强，其中在 1 mg/ml 浓度时，甲基麦芽酚、DL-4-氯苯丙氨酸、2-氨基-5-甲氧基苯甲酸抑菌率均大于 50%，分别达到了 56.49%、53.69%和 58.75%（图 3、图 4、表 5）。

表 5 菌株 F1 差异代谢物

Tab. 5 Differential metabolites of strain F1

| 差异代谢物 Differential metabolites | 保留时间 Retention | 匹配得分 Match score | VIP | P 值 P value | 差异倍数 Difference multiple |
|-----------------------------------|-------------------|---------------------|-----|----------------|-----------------------------|
|-----------------------------------|-------------------|---------------------|-----|----------------|-----------------------------|

| | time(s) | | | | |
|-------------------|---------|------|------|----------|--------|
| D-葡萄糖-6-磷酸 | 26.05 | 0.93 | 1.55 | 0.000039 | 6.12 |
| (S)-2-乙酰氨基-5-氨基戊酸 | 32.26 | 0.89 | 1.42 | 0.049214 | 19.11 |
| 2-异丙基苹果酸 | 33.70 | 0.90 | 1.55 | 0.016606 | 25.33 |
| 叶酸 | 35.39 | 0.95 | 1.55 | 0.016871 | 32.06 |
| 4-羟基-4-(3-吡啶)丁酸 | 102.52 | 0.94 | 1.40 | 0.042055 | 4.24 |
| 对羟基苯丙酸 | 130.64 | 0.85 | 1.32 | 0.009849 | 2.08 |
| 脯氨酸-酪氨酸 | 147.47 | 0.96 | 1.43 | 0.008670 | 18.90 |
| 甲基麦芽酚 | 148.04 | 0.87 | 1.19 | 0.039483 | 2.24 |
| 2-氨基-5-甲氧基苯甲酸 | 170.00 | 0.87 | 1.40 | 0.002161 | 2.24 |
| DL-4-氯苯丙氨酸 | 191.55 | 0.89 | 1.40 | 0.000257 | 21.07 |
| 苯丙氨酸-丙氨酸-亮氨酸 | 213.40 | 0.96 | 1.42 | 0.040063 | 330.18 |
| 柠檬酸 | 359.86 | 0.89 | 1.47 | 0.012725 | 2.95 |
| 肉桂酸甲酯 | 436.95 | 0.85 | 1.29 | 0.013923 | 2.04 |
| N-乙酰基-L-亮氨酸 | 483.73 | 0.88 | 1.35 | 0.023293 | 2.25 |



2.4 F1 代谢物对芒果采后炭疽病防治作用

用 1 mg/mL 的甲基麦芽酚、DL-4-氯苯丙氨酸、2-氨基-5-甲氧基苯甲酸水溶液处理芒果，芒果炭疽病自然发病处理的病情指数和接种病原菌处理的病情指数均显著低于对照，对芒果炭疽病的防效均超过 50%，其中以 2-氨基-5-甲氧基苯甲酸对炭疽病的防治效果最好，自然发病防效达到了 73.35%，接种处理的防效稍低，为 60.98%（表 6）。

表 6 F1 代谢物对芒果采后炭疽病防治作用

Tab. 6 Control effect of strain F1 metabolites on mango anthracnose

| 处理 Treatment | 自然发病 | | | 接种 | |
|---------------------|------------------------------------|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| | 发病率 Disease incidence (%) | 病情指 数 Disease index | 防效 Control effect (%) | 病情指 数 Disease index | 防效 Control effect (%) |
| 对照 control | 73.33 | 35.19 ^a | - | 65.08 ^a | - |
| 甲基麦芽酚 Methyl Maltol | 28.33 | 11.34 ^b | 67.76 | 26.19 ^c | 59.76 |
| DL-4-氯苯丙氨酸 | 50.00 | 12.96 ^b | 63.16 | 31.75 ^b | 51.22 |

| | | | | | |
|-------------------------------|-------|-------|-------|--------|-------|
| DL-4-Chlorophenylalanine | | | | | |
| 2-氨基-5-甲氧基苯甲酸 | 37.50 | 9.26° | 73.68 | 25.40° | 60.98 |
| 2-Amino-5-methoxybenzoic acid | | | | | |

3 结论与讨论

利用拮抗菌来控制采后病害的发生已成为一种新途径。很多研究证明解淀粉芽孢杆菌能够产生对真菌具有抑制效果的代谢物,具有广谱抑菌活性。Li^[15]等用解淀粉芽孢杆菌发酵液防治葫芦白粉病, Wu^[16]等用解淀粉芽孢杆菌的细胞悬浮液防治油菜茎腐病都取得了较好的效果。Hao^[17]等发现解淀粉芽孢杆菌发酵上清液使接种致病菌的柑桔绿霉病、蓝霉病与酸腐病发病率降低, Mari^[18]等研究结果表明解淀粉芽孢杆菌发酵上清液使番茄接种灰霉病菌发病率降低。本研究发现菌株 F1 对 *C. gloeosporioides* 的抑制效果较好, F1 发酵上清液处理芒果, 降低了芒果炭疽病发病率, 防效达到 70.32%。接种 *C. gloeosporioides*, 再用 F1 无菌上清液处理, 同样降低了炭疽病的发病率, 防效达到 56.10%。

质膜对于维护孢子功能, 抵抗外界不良环境具有重要作用^[19]。通过显微镜观察发现 *C. gloeosporioides* 菌丝产生不规则扭曲, 产生局部凹陷, Deora^[20]等、段春华^[21]等也发现类似的现象。杀菌物质能够破坏病菌质膜, 使其释放内含物, 达到杀菌作用^[22]。F1 使 *C. gloeosporioides* 孢子质膜受到破坏, 并且处理时间越长, 破坏越严重, 孢子的萌发率也受到抑制。

真菌侵染植株, 一般释放一些胞外水解酶, 例如几丁质酶、纤维素酶、果胶酶和蛋白酶等, 并且这些酶的活性与其致病性直接相关^[23, 24]。*C. gloeosporioides* 菌丝中的蛋白含量下降, 纤维素酶与果胶酶的活性下降, 导致其侵染寄主的能力降低, 且 *C. gloeosporioides* 纤维素酶与果胶酶的活性与 F1 发酵上清液稀释倍数正相关。

在 F1 发酵上清液中筛选到 5 种物质, 对芒果炭疽具有抗菌活性, 当其浓度为 1 mg/mL 时, 自然发病防效达到了 73.35%, 接种处理的防效为 60.98%, 防效高于 F1 的发酵上清液。F1 在防治芒果炭疽病方面具有巨大潜力, 具有进一步研究开发价值。

参考文献

- [1] 农业部发展南亚热带作物办公室. 全国热带、亚热带作物生产情况[M]. 北京: 农业部发展南亚热带作物办公室, 2018.
- [2] 胡美姣, 李敏, 高兆银, 等. 热带亚热带水果采后病害及防治[M]. 北京: 中国农业出版社, 2010.
- [3] 高兆银, 胡美姣, 李敏, 等. 芒果采后生物学与贮运保鲜技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2014.
- [4] Wu L, Wu H, Chen L, et al. Difficidin and bacilysin from *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 have antibacterial activity against *Xanthomonas oryzae* rice pathogens[J]. Scientific Reports, 2015, 5(1): 12975.
- [5] Gu Q, Yang Y, Yuan Q, et al. Bacillomycin D produced by *Bacillus amyloliquefaciens* is involved in the antagonistic interaction with the plant-pathogenic fungus *Fusarium graminearum*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2017, 83(19): AEM. 01075 _ 17.
- [6] 张静, 冉晓潇, 朱天辉, 等. 解淀粉芽孢杆菌对山茶灰斑病菌的抑制作用[J]. 东北林业大学学报, 2014, 42(7): 122-125.
- [7] Luna-Bulbarela Agustín, Raunel T V, Gerardo C, et al. Effects of bacillomycin D homologues produced by *Bacillus amyloliquefaciens* 83 on growth and viability of *Colletotrichum gloeosporioides* at different physiological stages[J]. Biological Control, 2018, 127: 145-154
- [8] 靳鹏飞, 解淀粉芽孢杆菌 HAB-2 抑菌化合物分离鉴定及关键基因调控机制研究[D], 海南: 海南大学

硕士学位论文, 2016.

- [9] 金勤, 周国英, 刘君昂, 等. 细胞壁降解酶在油茶炭疽病菌致病过程中的作用研究[J]. 植物保护, 2017, 43(3): 97-102
- [10] 赵超, 胡美姣, 李敏, 等. 芒果采后病害拮抗菌的筛选、鉴定及其生防效果研究[J]. 西南农业学报, 2016, 29(2): 385-389
- [11] 宋光桃, 周国英. 拮抗链霉菌 F10 抗油茶炭疽病菌抑菌机理的研究[J]. 中南林业科技大学学报, 2012, 32(8): 90-93.
- [12] 王冬梅, 吕淑霞, 王金胜. 生物化学试验指导[M]. 北京: 科学出版社, 2015.
- [13] 刘西莉. 芽孢杆菌 HL29 的生物学特性和抗菌活性物质研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2004.
- [14] 张丽, 王添琦, 朱臻宇. 栀子化学成分的 UHPLC-Q-TOFMS 分析[J]. 中药材, 2013, 36 (3) : 407-409.
- [15] Li Y, Gu Y, Li J, et al. Biocontrol agent *Bacillus amyloliquefaciens* LJ02 induces systemic resistance against cucurbits powdery mildew[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 883.
- [16] Wu Y, Yuan J, Raza W, et al. Biocontrol traits and antagonistic potential of *Bacillus amyloliquefaciens* strain NJZJSB3 against *Sclerotinia sclerotiorum*, a causal agent of canola stem rot[J]. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2014, 24: 1327-1336.
- [17] Hao W, Li H, Hu M, et al. Integrated control of citrus green and blue mold and sour rot by *Bacillus amyloliquefaciens* in combination with tea saponin[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2011, 59: 316-323.
- [18] Mari M, Guizzardi M, Brunelli M, et al. Postharvest biological control of grey mould (*Botrytis cinerea* Pers.: Fr.) on fresh-market tomatoes with *Bacillus amyloliquefaciens*[J]. *Crop Protection*, 1996, 15: 699-705.
- [19] Wyatt T T, Wösten H A & Dijksterhuis J. Fungal spores for dispersion in space and time[M]. *Advances in applied microbiology*. 2013.Elsevier, p. 43 - 91.
- [20] Deora A, Hashidoko Y, Islam M T, et al. Antagonistic rhizoplane bacteria induce diverse morphological alterations in Peronosporomycete hyphae during in vitro interaction[J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2005, 112: 311-322.
- [21] 段春华, 刘幸红, 牛贻光, 等. 一株拮抗细菌的鉴定及对植物炭疽病菌作用效果测定[J]. 江西农业学报, 2014, 26(3): 94-97.
- [22] Ojeda-Sana A M, van Baren C M, Elechosa M A, et al. New insights into antibacterial and antioxidant activities of rosemary essential oils and their main components[J]. *Food Control*, 2013, 31: 189-195.
- [23] Rajeswari P. In vitro inhibition of pectinolytic enzymes of *Fusarium oxysporum* by *Trichoderma* spp and *Pseudomonas fluorescens* on *Arachis hypogaea* L[J]. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2015, 4: 604 - 613.
- [24] Udhayakumar R, Usharani S & Muthukumar A. Effect of bacterial antagonists on the in vitro production of cellulolytic and pectinolytic enzymes by *Colletotrichum Gloeosporioides*[J]. *Plant Archives*, 2019, 19: 923- 926.

党建与科技创新双驱动，服务乡村产业兴旺

林培群 马子龙 于钦华 王定美

(中国热带农业科学院环境与植物保护研究所 海南海口 571101)

摘要：党的十九大报告提出了实施乡村振兴战略总要求，把产业兴旺摆在乡村振兴的首位。农业科研院所是农业科技创新的主力军，是推动农村产业兴旺实现乡村振兴战略的中坚力量，在新时期如何利用党建促进科技创新服务产业兴旺是一个极其重要的研究课题。本文章以科研院所与企业党支部共建为例，介绍新时期科研院所党建与科技双轮驱动，联合企业共同促进产业兴旺，助力乡村振兴的新模式新做法。

关键词：产业兴旺 党支部共建 科研院所

Service rural industry prosperity through the combination of Party construction and science and technology innovation

Lin Peiqun, Ma Zilong, Yu Qinhu, Wang Dingmei

(Institute of Environment and Plant Protection, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China)

Abstract: The report of the 19th National Congress of the Communist Party of China put forward the general requirement of implementing the rural revitalization strategy, and put the industrial prosperity in the first place of the rural revitalization. Agricultural scientific research institutes are the main force of agricultural science and technology innovation and the backbone force of promoting the prosperity of rural industry and achieving the rural revitalization strategy. How to use Party construction to promote the innovation of science and technology and service rural industry prosperity in the new era is an extremely important research topic. Taking the co-construction of Party branches of a scientific research institute and an enterprise as an example, this paper introduces a novel mode and approach of impelling rural revitalization in the new era, in which, the cooperation of research institutes and enterprises are driven by both Party construction and science and technology innovation, and promote the rural industrial prosperity.

Key words: Industrial prosperity, Co-construction of Party branches, Research institutes

1. 引言

党的十九大报告中提出了实施“产业兴旺、生态宜居、乡风文明、治理有效、生活富裕”的乡村振兴战略总要求，把乡村产业兴旺列为首要任务^[1]。习近平总书记指出：“非公有制企业是发展社会主义市场经济的重要力量。非公有制企业的数量和作用决定了非公有制企业党建工作在整个党建工作中越来越重要，必须以更大的工作力度扎扎实实抓好。”要求广大科技工作者要把论文写在祖国的大地上，把科技成果应用在实现现代化的伟大事业中。要探索各类党组织结对共建，通过贫困村同城镇居委会、贫困村同企业、贫困村同社会组织结对等多种共建模式，为扶贫带去新资源、输入新血液^[2-4]。俗话说闻道有先后、术业有专攻。科研院所的优势在于闻道在先，在于科学发现和技术发明，在于取得先进的科技成果，企业的优势则在于实现科技成果价值，两者的有机结合将充分发挥各自的特长和优势，取长补短，相互促进、互相成就，共同服务乡村产业兴旺。探索出一条科研院所与企业产学研领域的

可持续合作成为我们当前迫切需要解决重点。中国热带农业科学院环境与植物保护研究所（以下简称“环植所”）认真践行习总书记讲话精神和乡村振兴战略，不断探索党建与科技创新双轮驱动，联合企业共同促进产业兴旺，助力乡村振兴的新模式新做法，成效显著。

2. 环植所的初心与使命

环植所作为中国热带农业科学院 5 个非营利研究所之一，一直秉承为热带生态农业和绿色植保科技进步做贡献，为农业谋发展、为乡村谋振兴、为农民谋幸福、为职工谋福利的初心。科技人员勇担热带生态农业和绿色植保科研国家队的职责使命，围绕热带农业环境安全、生态安全、植物保护和农产品质量安全等重大战略需求，针对热带作物开展病虫害监测与绿色防控、农业环境保护与污染治理、生态循环农业等基础与应用基础及应用技术研究，全面提升自主创新能力与核心竞争力、培养高水平人才队伍，勇挑科技支撑热区乡村振兴、科技兴农强国和服务中国农业走出去的责任担当。用高标准、严要求查找差距和不足，不断推进环植所改革创新，加快提升热带生态农业科技创新能力，促进热带生态农业科技成果转化，服务乡村振兴战略。

3、环植所服务乡村产业兴旺的主要做法和成效

3.1 发挥科技创新优势，支撑农业产业发展

非营利性科研机构是国家科技体制改革的产物，以推进国家科技进步为宗旨，从事社会公益为主体的研究、技术咨询与服务活动，其运行主要依靠国家财政的支持、科研经费以及为社会提供的有偿服务^[5]。近年来，环植所结合单位职能和科研项目执行需求，通过实施“百名专家兴百户”、建设农业科技示范基地、派出科技副县/镇长、举办新型农民培训班、专家深入田间地头指导病虫害绿色防控和农业生态环境保护等方式服务农业产业发展，促进农业产业兴旺。其中，以党建与科技创新双轮驱动，联合定安龙湖南科食用菌有限公司搭建产学研平台，共同促进产业兴旺，助力乡村振兴的成效最为显著，这种新模式新做法俨然成为党建引领科技促进产业兴旺服务乡村振兴的一面旗帜。

3.2 加强组织领导，完善科企合作机制

环植所积极响应习总书记号召，围绕农业农村部的工作部署，以农业产业问题和需求为导向，一手抓党建，一手抓科研，注重服务农业产业，支持派驻科研人才深入企业基地，鼓励科技工作者服务乡村振兴。基于产业发展和企业技术需求，环植所结合自身党建和技术优势，组织生态农业领域专家为定安县龙湖南科食用菌有限公司提供深度技术支持，促进食用菌循环农业发展。科企双方在签订科技战略合作协议和党支部共建协议的基础上，建立了党建引领科技支撑产业兴旺和企业长效发展机制。环植所长期派出专家团队驻公司生产基地，

开展技术指导、研发关键技术，解决产业发展瓶颈问题。同时，派出一名党员专家出任公司党支部副书记，加强思想政治教育，从党建引领科技支撑企业发展角度，使科企双方在协同发展上实现了无缝对接，党建、科研、推广等方面融合发展。

3.3 重视思想引导，扶智与扶志相结合

习近平总书记在主持召开打好精准脱贫攻坚战座谈会上强调，要加强扶贫同扶志、扶智相结合，激发贫困群众积极性和主动性，激励和引导他们靠自己的努力改变命运。改进帮扶方式，提倡多劳多得，营造勤劳致富、光荣脱贫氛围。农业农村部在深入学习习近平总书记关于“三农”工作重要论述中强调，要坚持学深悟透，为党解决“三农”问题出力，为农民谋福祉办实事。要用好思想武器，激发动力源泉，提高履职尽责的使命感责任感，坚定信心决心，推动农业农村工作开创新局面。环植所在党建引领科技支撑企业发展上下功夫、做文章、找出路。一方面指导企业党建工作，着力扶出好班子、好思路、好机制、好作风，让队伍成长、产业生根；另一方面激发员工及地方农民积极性和主动性，改变农民落后的思想观念和发展的斗志。注重人才培养，通过培训班的课堂教学和现场技术指导，生产过程中的答疑解惑等形式，着力培养技术人员和熟练工人。以共产党员为表率，以一带一，一带多，树立标杆，让食用菌产业的花儿在定安枝繁叶茂。共建成效显著，企业快速崛起，产业快速发展，村民脱贫致富。企业员工人数 2015 年为 16 人，2018 年增加到 220 人，增幅 13 倍以上，共产党员人数由 4 人增加到 10 人，年均有 2 人加入中国共产党。公司年产值从 460 万元增加到 4300 万元，产值增幅超过 9 倍；工人月均到手工资由 2400 元增加到 2800 元，使村民真真正正脱贫。蘑菇产业发展的同时，也带动了村庄养猪、养鸡和光伏等产业的发展。

3.4 围绕产业技术创新需求，破解产业难题

校企合作，加强了技术合作和人员交流，科研单位派出专家团队，深入企业生产基地，指导企业开展食用菌生产技术。并根据产业发展需求，持续开展科研攻关，不断创新集成关键技术，并以合作平台为成果转化基地，技术示范基地，利用平台将成果真正转化成为产业发展的生产力，解决产业问题和打破产业瓶颈，延长产业链，提升产业效益和竞争力。经过团队的努力，研制出食用菌循环产业链审查技术，解决了废弃菌棒处理问题，直接将菌棒加工成饲料、有机肥料等产品，实现生产有机循环，同时延伸出菌-鸡；菌-猪、菌-肥等产业链。解决产业实际问题的同时，将本来易引起环境问题的废弃物变成了产业发展的原料，变废为宝。真正做到把论文写在祖国的大地上，把科技成果应用在现代化的伟大事业中。

3.5 提高技术示范影响力，提升企业品牌知名度

习近平总书记在参加十二届全国人大二次会议贵州代表团审议指出，各级领导干部一定

要多到农村去，多到贫困地区去，了解真实情况，带着深厚感情做好扶贫开发工作，把扶贫开发工作抓紧抓紧再抓紧、做实做实再做实，真正使贫困地区群众不断得到真实惠。通过党建引领技术支撑企业产业发展，企业一二三产业得到融合发展，员工待遇得到提高，为更多的贫苦村民提供就业岗位，配套二三产服务，当地村民得到更多实惠。联合建成的食用菌生态循环生产示范基地，已成为定安乃至周边市县食用菌生产技术的典范，在向周边市县菌农和贫困农民提供菌棒的同时，提供技术指导，并实行产品保价收购，增加农民收入。该基地作为循环农业技术示范基地，不仅吸引了大量同行前来交流和学习，同时也得到部省级政府、科技厅、农业厅、市县局等各级政府的关注，纷纷组织前往基地参观指导，并给予政策和资金扶持。同时，相关媒体对共建基地的报告，也加深了各界对企业的了解和关注，提升了企业知名度，扩展了企业合作空间。

4、党建与科技创新双驱动服务乡村产业兴旺的思考

4.1 围绕产业抓党建，抓好党建促发展

支部共建，党建引领，产业富民（科技支撑和党建指导）双驱动，切实加强基层党组织建设，不断增强区域竞争能力，探索出一条富有特色的基层党建之路。着力打造科技创新支撑产业的“富民党建”^[6]发展新模式。以党建富民工程为载体，积极寻找党建工作服务经济建设的最佳切入点，提高合作双方领导班子的政策水平和决策能力。实践证明，共建党支部时，要结合单位使命和充分发挥单位自身在农业科学技术、模式、品种优势，与合作单位的主导产业相结合；且双方应该具备胸怀产业兴旺，心系农民脱贫致富，重视农村生态和农业文化，这样才能增强目标向心力。建立合作长效机制，充分发挥共建支部政治优势，将“合作共赢”的理念转化为持久的生产力，互相学习、互相借鉴，共享党建经验，共推企业创新，共助乡村振兴，为农民谋福祉。

4.2 引导思想，改变观念修正意识

唯有“扶心扶志”与“扶知扶智”并举，使精神与物质同时脱贫，才能激发贫困农民脱皮支付的自主性、自觉性、能动性和创造性^[7]。通过党支部共建，不断提高企业党员和技术人员的政治理论水平和技术水平，企业党员带动其他员工开展技术学习，提高他们的本领；同时丰富他们见识，修正意识，激发员工的自觉性和自主性以使其自主、自信，提高员工能动性与创造性以使其自立、自强，进而推动农业农村产业向纵深发展；乡村产业发展，文化进步，思想脱贫，才能从根脱贫，杜绝返贫。

4.3 要协调推进，形成发展的合力

产业兴旺需要发挥地方政府、科研院所、农业经营主体多方优势，及时掌握市场需求，

突破产业技术瓶颈，形成特色技术优势，拓宽拓深产业链，促进产业发展。通过党建合作，推动合作方理性的审视本地的情况，依据当地的资源优势、区位优势和发展过程中积累的其他优势，在仔细研究市场实际需求的基础上，确定能够充分利用自身资源的主导产业，着重发展特色产业。应该加强农产品加工业发展，摆脱生产初级农产品附的现状，科企融合促进农副产品的精深加工，提高科技研发水平，进一步完善产业链。在此基础上带动电子商务、休闲农业、生态旅游等新业态发展，有机融合一二三产业发展，打造生态循环产业园。重视农产品品牌创建与维护，加快农业生产及农产品质量提升，聚力打造一批有影响力的农产品金字招牌，以品牌赢市场、增效益。

4.4 重视技术人才培养，提升产业竞争力

授人以鱼，不如授人以渔。要不断培养出优秀的农村工作人才和致富带头人，完善激励机制与社会保障机制，增强人民群众的获得感、幸福感和安全感，促进乡村本土人才回流。通过党员干部围绕工人及做大做强产业，建立“一帮一”、“一帮多”、“传帮带”的带富机制，积极开展结对帮扶活动。同时开展技能培训等方式，培养造就新型职业农民，让每个员工都能成为有担当，有能力的能手，打造一支本土化技术人才队伍，激活本地发展的内生动力，不断优化产业从业者结构，打开产业后续发展空间。

5 参考文献

[1]姜长云. 乡村产业兴旺作为实施乡村振兴战略的“首要任务”[J]. 学术界, 2018,7: 5-14.

[2]周英峰,全国非公有制企业党建工作会议在京召开[N]. 经济日报, 2012-3-22(2)

[3] 中共中央文献研究室.《十八大以来重要文献选编》(下)[M], 中央文献出版社, 2018年: 47-48.

[4]白羽, 新华网, 全国科技创新大会 两院院士大会 中国科协第九次全国代表大会在京召开[OL], 2016-5-30.

[5]陈燕羽, 马子龙, 胡盛红, 等. 非营利性科研机构绩效考评体系探讨[J]. 农业科技管理, 2014, 3(02): 90-93.

[6]杜浩.“富民”党建谱写和谐曲——记灵台县什字镇基层党建工作[J]. 党的建设, 2009(11): 25-26.

[7]张志胜. 精准扶贫领域贫困农民主体性的缺失与重塑——基于精神扶贫视角[J]. 西

北农林科技大学学报 (社会科学版), 2018, 18(03): 72-81.

作者简介及联系方式

第一作者: 林培群, 助理研究员, 主要从事科技管理和党务工作; 地址: 海南省海口市龙华区学院路 4 号中国热带农业科学院环境与植物保护研究所, 邮编: 571101, 联系电话: 13627524942, 邮箱: linpeiqun520@163.com

通讯作者: 马子龙, 研究员/党委书记。主要从事党建研究和热带农业病虫害防治研究; 邮编: 571101, 联系电话: 13907508635, 邮箱: hzs23304892@vip.163.com

HbMYB44 转录调控橡胶树天然橡胶生物合成的分子机制

覃碧^{1#}, 樊松乐^{2#}, 余海洋^{2#}, 陆燕茜², 王立丰^{1*}

1 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; 2 热带农林生物灾害绿色防控教育部重点实验室, 海南大学, 海南海口 570228

摘要 天然橡胶生物合成作为典型的植物次生代谢途径, 与植物激素信号传导、伤害等胁迫反应密切相关, 其合成还受光和病虫害等逆境因子调控。MYB 蛋白家族是一个庞大且功能多样的家族。在模式植物中证明 MYB44 参与调控水杨酸、茉莉酸、脱落酸和干旱等胁迫的信号转导过程。橡胶草(*Taraxacum kok-saghyz* Rodin) 是研究天然橡胶生物合成的理想模型系统, 橡胶草与橡胶树相同, 天然橡胶生物合成途径都是通过 MVA 和 MEP 途径合成的。从橡胶树转录组数据进行生物信息学和荧光定量分析筛选出来 HbMYB44, 分析其与机械损伤、干旱、ABA、ETH、MeJA、SA 等多种信号相关。生物信息学分析表明 HbMYB44 存在两个保守结构域且聚类为 S22 亚族, 与抗逆相关。酵母自激活、亚细胞定位证明 HbMYB44 存在自激活活性且定位于细胞核。我们构建 *HbMYB44* 过表达载体, 转化拟南芥获得 T3 代, 进行抗逆机制分析, 通过转化了橡胶草, 证明转录调控机制。与拟南芥野生型 WT 相比, *HbMYB44-OE* 拟南芥提高了对干旱、盐抗性和赤霉素响应。酵母双杂交和双分子荧光互补技术证明了 HbMYB44 与天然橡胶生物合成关键酶 HbSRPP1 互作。在橡胶草中过表达 *HbMYB44* 显著提高天然橡胶合成途径关键基因 *TkSRPP*、*TkREF*、*TkCPT* 的表达。提出 HbMYB44 通过与 HbSRPP1 结合调控橡胶产量和抗逆性的模型, 为阐明 HbMYB44 转录调控天然橡胶生物合成的分子机制奠定基础。

关键词 巴西橡胶树; *HbMYB44*; 抗逆; 激素信号; 橡胶生物合成

个人简介: 樊松乐, 男, 海南大学与中国热带农业科学院橡胶研究所联合的在读硕士研究生, 研究方向植物逆境信号转导。硕士期间以第一作者发表北大中文核心两篇, 两篇 SCI 在审, 获海南省研究生创新科研项目 1 项。

巴西橡胶树转录中介体 *HbMed25* 基因克隆与表达分析

张世鑫¹, 吴绍华¹, 杨署光¹, 晁金泉¹, 李招娣^{1,2}, 田维敏¹²⁷

(1. 中国热带农业科学院橡胶研究所/农业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, 海南 儋州 571737; 2. 重庆医科大学, 基础医学院, 细胞生物学与遗传学实验室, 重庆 400016)

摘要: 转录中介体(Mediator, Med)中的 *Med25* 基因在植物中组织发育、器官发生、胁迫响应以及调控茉莉酸(JA)信号途径等多方面起重要调控作用。在巴西橡胶树基因组序列中找到了橡胶树 *HbMed25* 的基因序列, 通过 RT-qPCR 和 RACE 技术克隆 *HbMED25* 基因的全长序列并进行生物信息学预测分析: *HbMed25* 基因包含 2 655 bp 的开放阅读框, 编码 884 个氨基酸, 蛋白分子量为 95 KD, 理论等电点为 8.68, 疏水性蛋白, 亚细胞定位最可能为细胞核。Real-time PCR 分析结果表明, *HbMed25* 在树皮中表达量最高; 在植物激素 JA 的处理的形成层和胶乳材料中, *HbMed25* 在处理早期(1 h 和 2~4 h)上调表达; 受割胶处理, *HbMed25* 在处理早期上调表达, 且对高产的橡胶树品系 (CATAS 8-79 和 CATAS 7-33-97) 的割胶处理响应更明显。实验结果表明, *HbMed25* 有极大可能地参与 JA 信号途径的调控, 对阐明 JA 诱导橡胶树次生乳管分化的分子调控机制有促进作用。

关键词: 巴西橡胶树, *HbMed25*, 表达分析, 茉莉酸信号途径, 乳管分化, 橡胶合成

Gene cloning and expression analysis of mediator *HbMed25* in *Hevea brasiliensis*

ZHANG Shixin¹, WU Shaohua¹, YANG Shuguang¹, CHAO Jinqian¹,
Li Zhaodi^{1,2}, TIAN Weimin^{1*}

(1. Rubber Research Institute, CATAS / Key Laboratory of Biology and Genetic Resources of Rubber Tree, Ministry of Agriculture/State Key Laboratory Incubation Base for Cultivation & Physiology of Tropical Crops, Danzhou 571737, Hainan, China; 2. Department of Cell Biology And Genetics, School Of Basic Medicine, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China.)

Abstract: The *Med25* gene in the transcription mediator(Med) played an important regulatory role in many processes: tissue development, organogenesis, stress response, and regulation of jasmonate acid(JA) signaling pathway in plants. The *HbMed25* gene sequence was found in the genome of *Hevea brasiliensis*, and the full-length sequence of *HbMed25* gene was cloned by RT-qPCR and RACE technology, and the biological information was predicted and analyzed. The *HbMed25* gene included an open reading frame for 2 655 bp, encoded 884 amino acids, the molecular weight was 95 KD and theoretical isoelectric point was 8.68, hydrophobic protein, and most likely localized in the nucleus in subcellular localization analysis. Real-time PCR analysis results showed that *HbMed25* was the highest expressed in the bark; *HbMed25* was up-regulated at the early stage of treatment (1 h and 2-4 h) in the cambium and latex treated by the plant hormone of JA. After tapping, *HbMed25* had the highest expression in the early stage of tapping treatment, and up-regulates expression in high-yield rubber clones(CATAS 8-79 and CATAS 7-33-97). The results show that *HbMed25* was highly likely to participate in the

基金项目: 国家重点研发计划资助(2018YFD1000502); 现代农业产业技术体系建设专项资金资助(CARS-3-YZ1); 国家自然科学基金(31800577)[Supported by the National Key R & D Program of China(2018YFD1000502); the Earmarked Fund for China Agriculture Research System(CARS-3-YZ1); the National Natural Science Foundation of China(31800577)].

作者简介: 张世鑫 (1986-), 男(土家族), 湖南桑植人, 博士, 助理研究员, 主要从事橡胶树发育生物学研究, (E-mail) zhangshixin_1@163.com。

²⁷**通信作者:** 田维敏, 博士, 教授/研究员, 主要从事橡胶树发育生物学研究, (E-mail) wmtian@163.com。

regulation of the JA signal pathway, and it had a role in promoting the molecular regulation mechanism of JA-induced secondary laticifer differentiation.

Key words: *Hevea brasiliensis*, *HbMed25*, gene expression, jasmonate signaling pathway, laticifer differentiation, rubber synthesis

中介体复合物(Mediator, Med)在植物不同组织发育、花期和花的结构、植物抗逆性等方面有重要的作用,如: Med8、17、18、20A 可以调控植物的花期(Kidd et al., 2009; Kim et al., 2011); MED18、21 参与植物响应生物逆境胁迫(Kidd et al., 2009; Dhawan et al., 2011); Med16 参与植物对非生物逆境响应(Wathugala et al., 2011)。而在众多的 MED 成员中, Med25 的研究相对较多且基因功能了解的更详细。 *AtMed25* 可调控拟南芥中光敏色素信号的 PFTI(Wollenberg et al., 2007; Backstrom et al., 2011), 在植物响应逆境胁迫过程中有显著的作用(Kidd et al., 2009; Elfving et al., 2011)。 *AtMed25* 的缺失突变体植株, 细胞体积变大、细胞数目增加, 并导致植物的器官体积增大; 且过量表达 *AtMed25* 的植株, 细胞体积变小、细胞数目变少, 从而导致植物器官体积减小。可见 *AtMed25* 可以调控植物细胞的增殖速度和体积大小, 是植物器官体积大小的负调控因子(Xu & Li., 2011)。最近, 李传友实验室发现 Med25 与抗逆相关的茉莉酸(jasmonate acid, JA)信号途径有密切的联系, *AtMed25* 通过与 *AtMYC2* 直接相互作用, 从而使 RNA 聚合酶 II 招募到 *AtMYC2* 的靶标启动子区域来调控茉莉酸响应基因表达(Chen et al., 2012), 后面又发现 Med25 参与调控茉莉酸信号途径的关键环节 COI1-JAZ-MYC2。在植物处于自然状态下, Med25 与 JAZ 蛋白是竞争关系, 竞争结合 MYC2 的结合位点, 但 Med25 与 MYC2 间的相互作用相对较弱; Med25 还可以与 JA 受体 COI1 直接发生相互作用, 将 COI1 招募到茉莉酸途径的核心转录因子 MYC2 的靶标基因启动子区域。而植物发育或应对逆境胁迫时, 产生活性茉莉酸(JA-Ile), Med25 促进依赖于活性形式茉莉酸的“COI1-JAZ”受体复合物的形成, 引起 JAZ 蛋白的降解, 使 Med25 与 MYC2 的相互作用增强, MYC2 由转录抑制转变为转录激活, 并招募 RNA 聚合酶 II 等转录机器, 激活茉莉酸下游的响应基因的表达(Zhai et al., 2008; Chen et al., 2012; Zhai & Li, 2019; Wu et al., 2019)。

天然橡胶(natural rubber)是四种重要的工业原料和战略物资之一, 世界上 99%的天然橡胶来自于巴西橡胶树(*Hevea brasiliensis*) (祁栋灵等, 2012)。巴西橡胶树的乳管是天然橡胶合成和贮存的地方, 与天然橡胶产量直接相关的是树干树皮中的次生乳管(郝秉中和吴继林, 1982; Hao & Wu, 2000), 由维管形成层细胞分化而来, 是一种特化的分泌组织。维管形成层细胞分化成次生乳管的过程, 称为次生乳管分化。我们前期研究发现: 割胶、机械伤害和茉莉酸类物质都可以诱导橡胶树的次生乳管分化(郝秉中和吴继林, 1982; 郝秉中等, 1984; Hao & Wu, 2000; 刘惠芳等, 2001; Wu et al., 2002; 张世鑫等, 2011; Zhang et al., 2015; Tian et al., 2015, 2002), 并建立了一套稳定的体外诱导橡胶树萌条次生乳管分化的实验系统。而且发现橡胶树的乳管细胞中存在特定的茉莉酸信号通路 HbCOI1-HbJAZ3-HbMYC2, 其通过上调法尼基焦磷酸合酶(FPS)基因和小橡胶粒子蛋白(SRPP)基因的表达从而增强天然橡胶生物合成(Deng et al., 2018)。因此, 我们提出了调节橡胶树次生乳管分化和橡胶生物合成的茉莉酸信号途径可能是乳管细胞的一条主要信号途径, 而且推测植物中介体 Med25 在 JA 信号途径中起重要的调控作用。

模式植物中 Med25 的研究较多, 其功能也越来越多地被揭示出来, 然而在橡胶树中关于 Med25 的研究相对滞后。本文克隆了巴西橡胶树的 *HbMed25* 基因, 通过 Real-time PCR 技术分析其在组织特异性、茉莉酸处理的形成层和胶乳样品以及不同植物激素处理的胶乳样品中的基因表达, 为揭示 Med25 参与茉莉酸信号途径调控橡胶树次生乳管分化和橡胶生物合成的分子调控机理提供了理论意义。

1 材料与方法

1.1 *HbMed25* 基因克隆

HbMed25 基因的开放阅读框(ORF)信息来自于巴西橡胶树无性系 CATAS 7-33-97 基因组测序结果(Tang et al., 2016), 得到的基因序列信息经过 Blast 比对后, 设计 ORF 引物扩增出基因开放阅读框并测序确认。引物序列为 *HbMed25*-OF:5'-ATGGCGGAGAAGCAGCTGGT-3', *HbMed25*-OR: 5'-TTAACTCATAAATCCACCTCCAGGC-3'。使用橡胶树无性系 CATAS 7-33-97 的胶乳 cDNA 作为模板, 进行 PCR 扩增 *HbMed25* 基因的全长 cDNA。PCR 程序: 95 °C 预变性 3 min; 95 °C 变性 30 s, 56 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 2 min, 循环 35 次; 72 °C 延伸 20 min; 16 °C 终止反应。PCR 产物通过 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测, 回收并纯化目的条带, 连接转化到 pEASY-Blunt Simple 载体上, 挑取阳性单克隆, 使用 M13 引物进行菌落 PCR 筛选, 选取插入 DNA 片段正确的阳性单克隆, 送到广州天一测序公司进行测序, 以确定克隆基因 cDNA 序列的准确性。

1.2 同源性分析和系统进化分析

通过 NCBI ORF finder 工具对获得的 *HbMed25* 基因序列进行 ORF 预测和确定, 并使用 DNAMAN 7.0 软件将 ORF 序列翻译为相应的氨基酸序列, 并进行序列同源性比对。使用 NCBI Conserved Domains 工具和 SMART 工具获取 *HbMed25* 蛋白的保守结构域信息。分别使用 ExPASy 网站的 ProtParam、ProtScale 和 TMpred Server 等工具进行 *HbMed25* 蛋白的理化性质、亲疏水性以及跨膜结构的推测。使用 The predicted NLS 进行氨基酸序列的核定位信号的预测。使用 SWISS-MODEL 工具对 *HbMed25* 蛋白的三级结构进行预测。

使用 JGI 网站 Phytozome 工具检索到来源于陆生植物和藻类的 65 个 *Med25* 的蛋白序列。本文将橡胶树 *HbMed25* 蛋白序列和其他陆生植物和藻类的 65 个 *Med25* 的蛋白序列进行系统进化分析, 使用 MEGA 6 软件绘制 Neighbor joining 系统进化树, 并进行 1 000 bootstrap 的统计学检测。

1.3 组织特异性表达

试验材料为巴西橡胶树无性系 CATAS 7-33-97 的开割成龄树和一年生萌条, 均种植在中国热带农业科学院试验场三队基地。同一时间采集同一棵橡胶树的侧根、幼茎、稳定期叶片、雌花、种仁(外胚乳)、树皮、萌条的形成层区和胶乳等样品进行组织特异性表达, 每个样品均来自 3 棵树样品的混合。采集胶乳样品时, 弃去前 1 min 流出的胶乳, 取割胶后 2~5 min 流出的胶乳, 胶乳直接在 1.5 mL RNase free 离心管中与裂解液 SL (TIANGEN RNAPrep Pure PlantKit, DP441) 以胶乳与裂解液的体积比为 1:5 进行混合, 置于冰上, 立即提取总 RNA 或 -80 °C 保存备用; 其他组织样品采集后, 液氮速冻, 液氮研磨后提取总 RNA 或 -80 °C 保存备用。

1.4 割胶处理

由于一天时间中橡胶树的韧皮部组织膨压在凌晨时段最高, 割胶后的排胶动力最大, 随后在一天中逐步降低, 到了晚上逐步恢复(Buttery & Boatman, 1966); 凌晨时环境温度低, 能够降低黄色体破裂导致的胶乳凝集, 增加排胶的时间(Shi et al., 2019); 而且橡胶生物合成关键酶基因表达也有明显的昼夜节律性(杨鹏等, 2019)。为避免割胶时间、环境温度和节律性等因素对本实验的干扰, 割胶组和对照组需在同一时间进行割胶和采集胶乳。选取同一林段且割龄一致的巴西橡胶树无性系 CATAS 7-33-97 的开割树, 分为割胶和对照两组, 割胶组的橡胶树 35 株, 在同一时间进行割胶处理后, 分别在割胶后的 0.5 h, 2 h, 6 h, 12 h, 1 d, 2 d 和 3 d 等时间点进行第二次割胶, 采集第二次割胶的胶乳作为不同时间割胶处理的样品。而对照组的 35 株橡胶树不进行同一时间割胶处理, 只是在割胶组第二次割胶时进行割胶, 采集的胶乳样品作为不同时间割胶处理的对照。每个时间点的开割树胶乳样品来自各 5 棵树胶乳样品的混合, 并采集三个生物学重复。

1.5 植物激素等化学因子处理

选取用单面刀片刮去面积为 $2 \times 4 \text{ cm}^2$ 的茎表皮及部分皮层，用灭菌的脱脂棉包裹处理部位，分别施加含有 $4\ 500 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 6-BA（对照组为灭菌水）、 $50\ 000 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ GA（对照组为灭菌水）、 $5\ 000 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ET（对照组为灭菌水）、 $0.032 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 曲古抑菌素 A(Trichostatin A, TSA)（对照组为 5% DMSO 溶液）、 $6.39 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 冠菌素(Coronatine, COR)（对照组为灭菌水）的溶液，然后用塑料封口膜包裹，分别处理 1 h, 2 h, 8 h, 1 d, 2 d, 3 d 和 5 d，然后拆去脱脂棉和塑料封口膜，收集处理部位的胶乳。每个时间点的胶乳样品来自于 5 根萌条的胶乳混合，并采集三个生物学重复。

同样的方法使用 $6.39 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ COR（对照组为灭菌水）的溶液处理，分别处理 0.5 h, 1 h, 2 h, 8 h, 1 d, 2 d 和 3 d，切取处理部位的萌条树皮，通过冰冻切片和激光显微切割的方法，分离形成层区样品。每个时间点的形成层样品来自于 15 根萌条样品的混合，并采集三个生物学重复。

1.6 Real-time PCR 分析

使用总量为 $1 \mu\text{g}$ 的总 RNA 样品，参照 Thermo Scientific RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit (K1622)的说明书，反转录合成 cDNA 的第一链。反转录得到的 cDNA 模板，稀释 10 倍以后，进行 Real-time PCR 分析。本研究使用 Bio-Rad CFX Manager 3.0 的分析系统(Bio-Rad Laboratories Inc, Ca,USA)进行 Real-time PCR 分析，采用巴西橡胶树的肌动蛋白基因 *HbACTIN* (Gene bank: JF270598) (Zhao et al., 2011)为内参基因，分析 *HbMed25* 基因在橡胶树的各个组织和各种处理样品中的相对表达量。Real-time PCR 的引物序列为 *HbMed25*-QF:5'-GCAGCACCATGATTCCAAC-3'，*HbMed25*-QR:5'-AGCCGAAGCACTCCTGTAAC-3'。参照 TransStart Tip Green qPCR SuperMix (AQ141-04)的使用说明配制 Real-time PCR 的反应体系，使用 Bio-rad CFX Manager 3.0 配套的 384 孔板进行 Real-time PCR 的反应，每个反应配制 $10 \mu\text{L}$ 的反应体系，成分如下： $1 \mu\text{L}$ cDNA 模板， $0.6 \mu\text{L}$ 的正向引物和反向引物， $5 \mu\text{L}$ TransStart Tip Green qPCR SuperMix，用 ddH₂O 补齐至 $10 \mu\text{L}$ 。基因的相对表达量，使用 Bio-Rad CFX Manager 3.0 的分析系统自带的 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 方法进行统计。每个样品进行三次实验技术重复。

2 结果与分析

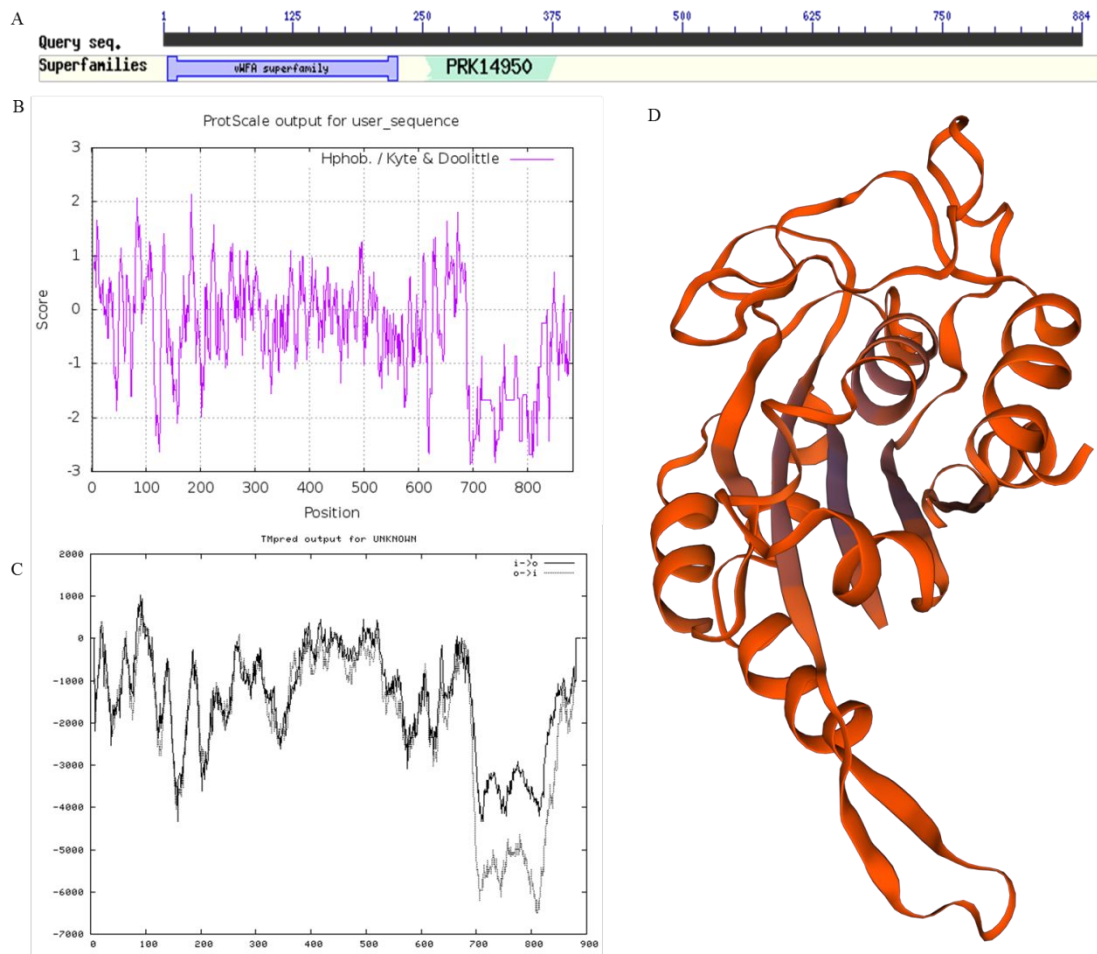
2.1 橡胶树 *HbMed25* 基因克隆和生物信息学分析

通过基因克隆及测序验证,从巴西橡胶树胶乳中扩增获得*HbMed25*基因的全长ORF-cDNA序列2 655 bp(图1)。使用ExPASy ProtParam在线分析工具分析*HbMed25*推导氨基酸序列的蛋白质理化性质,发现*HbMed25*氨基酸数量为884(图1),并存在特有的Med25蛋白的Med25_VWA保守结构域(图2: A);相对分子量为95 kD;理论等电点8.68, *HbMed25*蛋白为偏碱性蛋白。*HbMed25*蛋白的脂肪系数为76.45, *HbMed25*蛋白的不稳定系数为34.83,为稳定蛋白。使用ExPASy-TMpred Server在线分析工具进行*HbMed25*蛋白的跨膜结构分析,发现*HbMed25*蛋白没有跨膜结构(图2: B), *HbMed25*蛋白的总平均疏水指数均为-0.401, *HbMed25*蛋白为亲水性蛋白(图2: C)。使用SignalP4.1 Server的神经网络算法预测蛋白质的信号肽,结果表明*HbMed25*蛋白可能不存在信号肽。使用WoLF PSORT在线分析工具预测*HbMed25*蛋白的亚细胞定位,结果表明*HbMed25*蛋白能够定位到细胞核且得分较高。并通过The predicted NLS工具进行核定位信号预测,发现*HbMed25*含有较强的核定位信号,预测的核定位信号得分高达0.86分(分数范围: 0~1),核定位信号序列为: EKKLCA(图3: 红点所示)。利用SWISS-MODEL全自动蛋白质结构同源性建模的方法,建立*HbMed25*的蛋白三级结构,如图2: D所示。

2.2 *HbMed25* 基因的系统发育和同源性分析

将*HbMed25*推导的氨基酸序列,与其他模式植物的Med25基因所编码的氨基酸序列进行比对,结果显示*HbMed25*蛋白序列与拟南芥AtMed25(AT1G25540.2)、木薯MeMed25(LOC110600417)、蓖麻RcMed25(LOC8260402)和杨树PtMed25(PF11265)蛋白(图4: 白色箭头所示)的序列相似性分别为61.34%、87.01%、51.91%和73.63%,且均具有Med25_VWA结构域(图3)。*HbMed25*蛋白与不同种类植物Med25蛋白序列一致性较高,说明该基因在植物进化过程中较保守。

使用MEGA 6软件将橡胶树*HbMed25*氨基酸序列和其他陆生植物和藻类的65个Med25的氨基酸序列进行系统进化分析,从图4可见,65个Med25共分为6个组别(通过不同颜色区分),这些组别主要是按照植物的进化程度进行分类,如:*HbMed25*与拟南芥(*Arabidopsis thaliana*),杨树(*Populus trichocarpa*),蓖麻(*Ricinus communis*),木薯(*Manihot esculenta*)等高等植物聚类在一起,分在第一组中(分别用红色和蓝色五角星形标示);黄瓜(*Cucumis sativus*)和胡萝卜(*Daucus carota*)两种植物分在第二组;矾山耧斗菜(*Aquilegia coerulea*)单独在第三组;二穗短柄草(*Brachypodium distachyon*)和团藻(*Volvox carteri*)等12种植物单分在第四组;紫萍(*Spirodela polyrhiza*)单独分在第五组;凤梨(*Ananas comosus*)和卷柏(*Selaginella moellendorffii*)等8种植物分在第六组(图4)。



A. 保守结构域; B. 亲疏水性; C. 跨膜结构; D. 蛋白三级结构。

A. Conserved domain; B. Hydrophobicity; C. Transmembrane structure; D. Tertiary structure of HbMed25 protein.

图 2 HbMed25 蛋白的结构与特性

Fig. 2 Transmembrane structure and hydrophilicity of HbMed25 protein



蓝色框表示 vWFA super family(cl00057)结构域(氨基酸编号: 6-226); 绿色框表示 PRK14950 super family(cl36446)结构域(氨基酸编号: 252-378); 红色圆点表示核定位信号(EKKLCA)。

The blue box indicates the vWFA super family domain (cl00057) (amino acid number: 6-226); The green box indicates the PRK14950 super family domain (cl36446) (amino acid number: 252-378); The red dots indicates the nuclear localization signals (EKKLCA).

图 3 HbMed25 蛋白的氨基酸序列比对

Fig. 3 Amino acid sequence alignment of HbMed25 protein

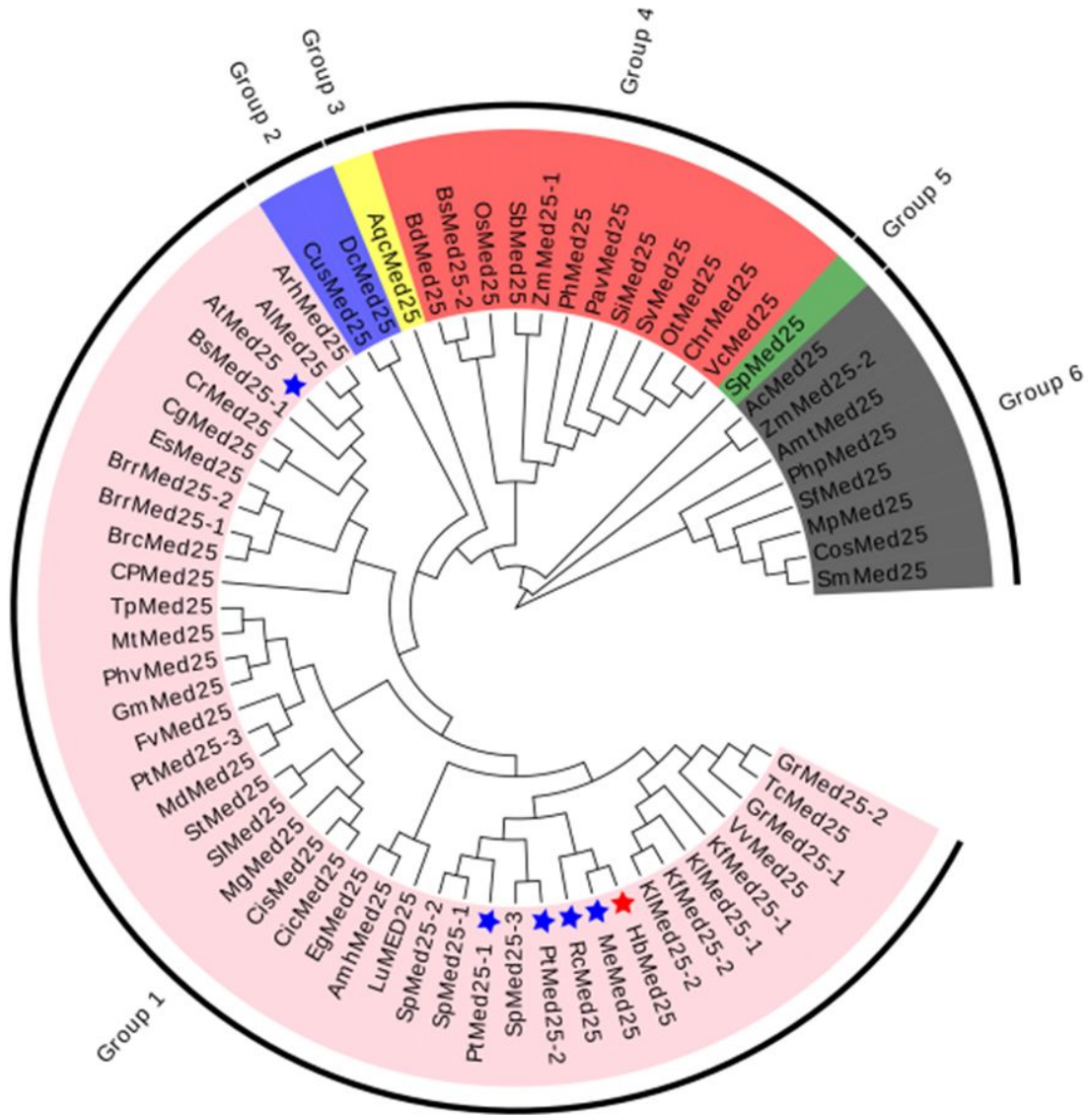
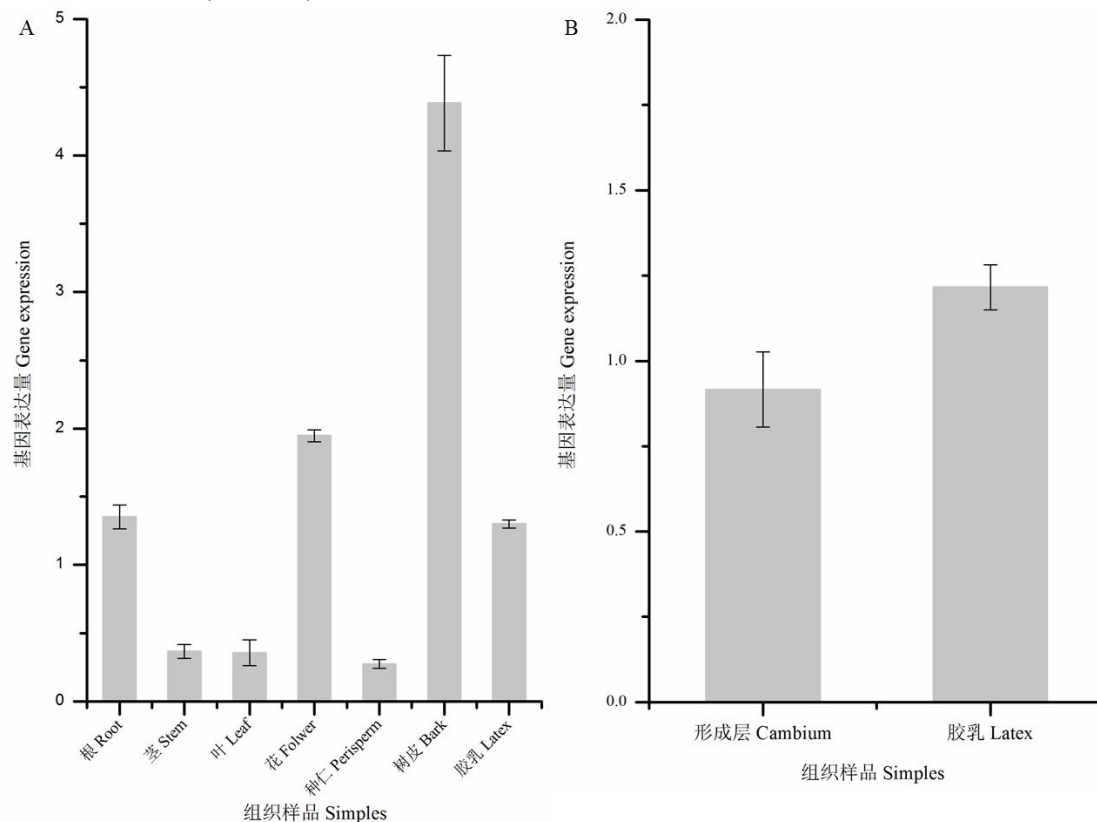


图 4 HbMed25 与其他 65 种植物 Med25 蛋白的系统进化树
 Fig. 4 Phylogenetic tree of HbMed25 and Med25 proteins of other 65 plants

2.3 *HbMed25* 基因的组织特异性表达

本文对橡胶树无性系 CATAS 7-33-97 的侧根、幼茎、叶片、雌花、种仁、开割树皮、开割树胶乳，以及一年生萌条的形成层和初生胶乳等不同组织的样品中 *HbMed25* 的基因表达进行 Real-time PCR 分析，结果表明 *HbMed25* 基因在开割树皮中表达丰度最高，在侧根、雌花、开割胶乳中表达丰度较高，在幼茎、叶片和胚乳中表达丰度较低(图 5: A)。而在自然状态下的橡胶树一年生萌条的形成层和初生胶乳样品中 *HbMed25* 的基因表达丰度较低，差异不大(图 5: B)。



A 为 *HbMed25* 在橡胶树侧根(Root)、幼茎(Stem)、叶片(Leaf)、雌花(Flower)、种仁 (Perisperm)、树皮(Bark)和胶乳(Latex)等样品中的组织特异性表达结果，B 为 *HbMed25* 在形成层组织(Cambium)和初生胶乳(Latex)的组织特异性表达结果。Real-time PCR 结果为三个生物学重复的平均值 \pm 标准差，下同。

A is the tissue-specific expression of *HbMed25* gene in samples of root, stem, leaf, flower, perisperm, bark and latex. B is the tissue-specific expression of *HbMed25* gene in layered tissue (cambium) and primary latex (latex). The results real-time PCR are the mean \pm standard deviation of three biological replicates, the same below.

图 5 *HbMed25* 的组织特异性表达分析

Fig. 5 Tissue-specific expression analysis of *HbMed25* gene

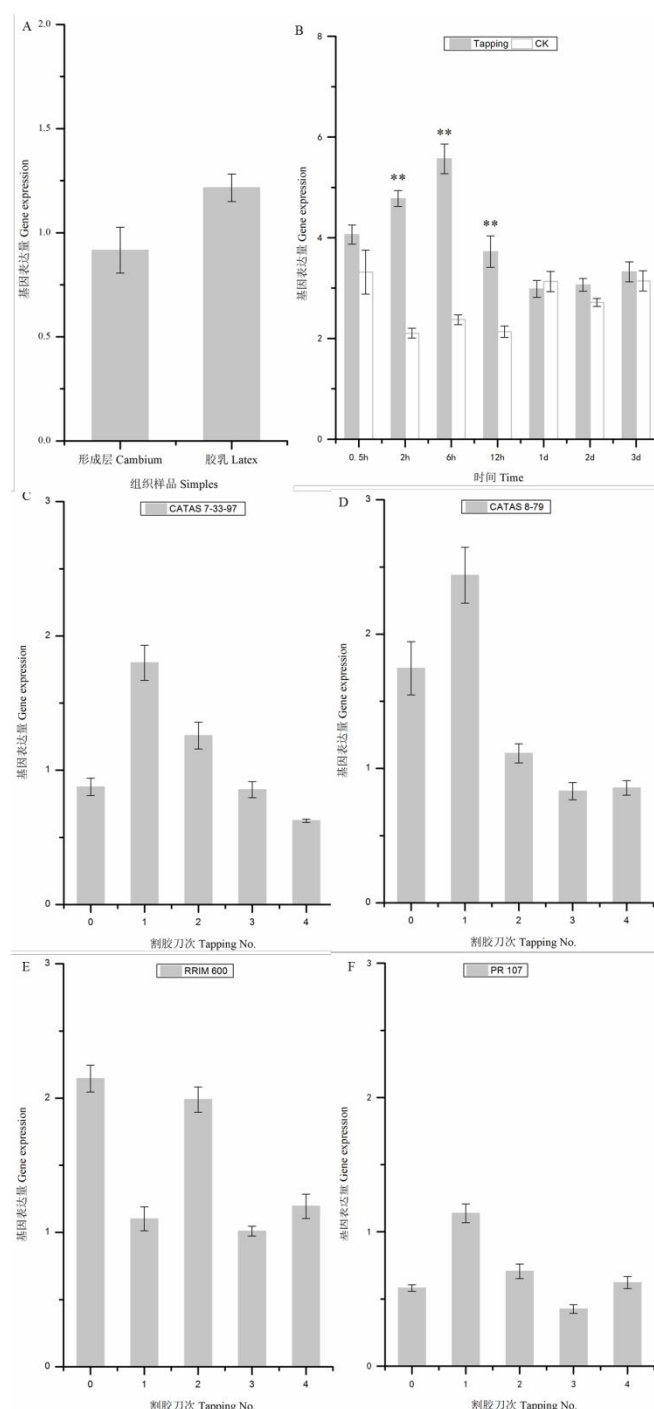
2.4 割胶对 *HbMed25* 基因表达的影响

对橡胶树无性系 CATAS 7-33-97 的未开割树和开割成龄树的胶乳进行比较，分析割胶对 *HbMed25* 基因表达的影响。通过 Real-time PCR 结果发现，*HbMed25* 基因割胶处理的胶乳中的表达量比未开割树的稍微高一些，但没有达到显著差异 (图 6: A)。

为了进一步验证割胶对 *HbMed25* 基因的影响，通过统一时间割胶后，在不同时间内第二次割胶，收集第二次割胶的胶乳来研究橡胶树的胶乳生物合成，以消除割胶过程中机械伤害对胶乳生物合成过程中的影响。Real-time PCR 结果表明，割胶处理的胶乳中 *HbMed25* 基因受割胶处理上调表达，从割胶后 2 h 显著上调表达，在 6 h 达最大值，12 h 时有所恢复，

仍有极显著的上调表达，到 1 d 时才逐渐恢复至对照水平，整个割胶过程中对 *HbMed25* 的基因表达模式呈正向抛物线型（图 6: B）。

为了进一步了解割胶在橡胶树不同品系中 *HbMed25* 基因表达的变化，本文对橡胶树 PPIM600、PR 107、CATAS 7-3-97 和 CATAS 8-79 等 4 个品系的未开割树进行割胶处理，每三天割一刀，共割 5 刀（第 0、1、2、3 和 4 刀），采集不同刀次的胶乳，分析割胶在橡胶树不同品系中 *HbMed25* 基因表达的变化。Real-time PCR 结果表明，除了 RRIM 600 在第 0 刀的表达量最高，然后几刀的表达量都低于第 0 刀，整体呈现下调模式外。在 PR 107、CATAS7-3-97 和 CATAS 8-79 等三个品系的胶乳中，割胶处理的胶乳中 *HbMed25* 基因均表现出上调表达的趋势，且在第 1 刀的表达量最高，呈现上调后下调的正向抛物线型变化（图 6: C-F）。



A 为 *HbMed25* 在未开割树胶乳和开割树胶乳中的基因表达; B 为 *HbMed25* 在割胶不同时间的胶乳中的表达; C-F 为 *HbMed25* 在橡胶树 RRIM 600、PR 107、CATAS 7-3-97 和 CATAS 8-79 等 4 个品系的未开割树在割胶 5 刀胶乳中的基因表达。*表示显著性差异 ($P<0.05$), **表示极显著性差异 ($P<0.01$)。下同。

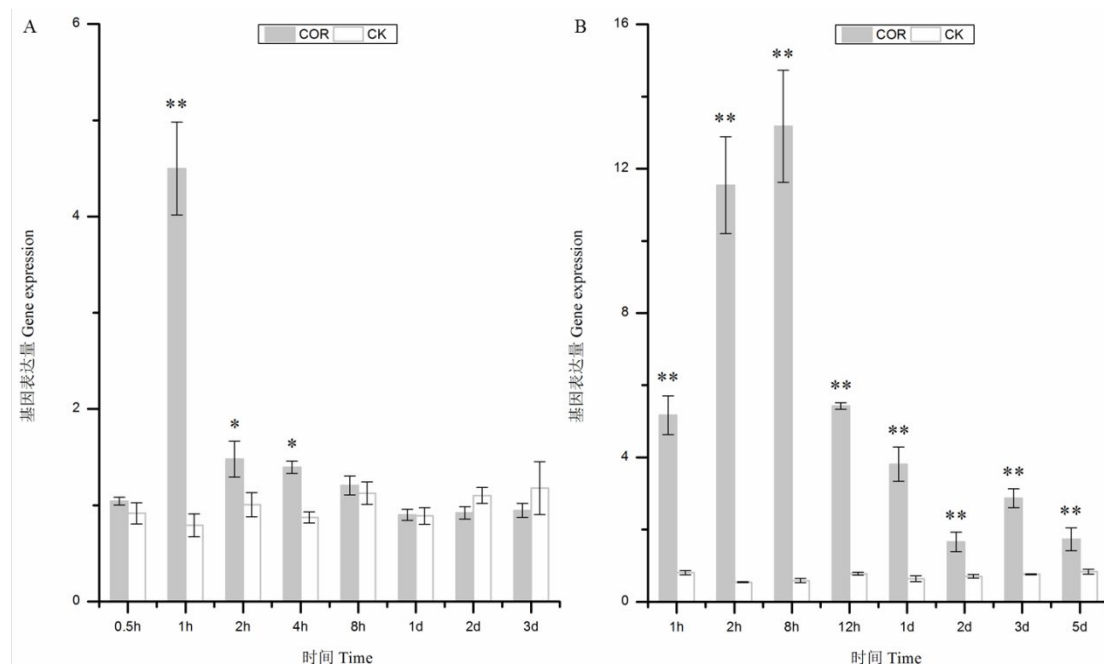
A is the *HbMed25* gene expression of latex in virgin tree and tapped tree; B is the *HbMed25* gene expression at different times in latex by tapping; C-F are the *HbMed25* gene expression of latex by 5-tapped in four rubber tree clones RRIM 600, PR 107, CATAS 7-3-97 and CATAS 8-79. * means significant differences ($P<0.05$), ** means great significant differences ($P<0.01$). The same below.

图 6 *HbMed25* 在割胶处理的胶乳中的表达

Fig. 6 Expression of *HbMed25* gene in rubber latex by tapping treatment

2.5 茉莉酸对 *HbMed25* 基因表达的影响

利用茉莉酸活性形式结构的类似物——冠菌素 (COR) 体外诱导橡胶树萌条次生乳管分化实验系统, 使用 COR 处理橡胶树无性系 CATAS 7-33-97 的一年生萌条并采集处理部位的形成层区样品和初生胶乳样品。Real-time PCR 结果表明, *HbMed25* 基因在 COR 处理后的形成层区和初生胶乳样品中均上调表达。根据基因在形成层区和胶乳中的表达丰度、上调表达的时间点、上调表达持续时间和上调表达倍数几个指标分析, 发现以下的一些规律: 在形成层区和初生胶乳中的表达丰度比较, *HbMed25* 基因在形成层区中的表达丰度低于初生胶乳 (图 7)。 *HbMed25* 基因在 COR 处理的形成层样品中主要在早期时间段 (1~4 h) 显著的上调表达, 且在形成层材料中在 1 h 达最高峰值, 约为对照水平的 5 倍, 呈正向抛物线型变化 (图 7: A); 在 COR 处理的初生胶乳中 *HbMed25* 在各时间段持续高水平的上调表达, 且在 2 和 4 h 达最高峰值, 约为对照水平的 10~20 倍, 也呈现正向抛物线型变化, 说明 COR 处理可以明显上调 *HbMed25* 基因在橡胶树中的表达 (图 7: B)。



A 为 *HbMed25* 在 COR 处理形成层中的表达; B 为 *HbMed25* 在 COR 处理初生胶乳中的表达。

A is the expression of *HbMED25* gene in cambium by COR treatment; B is the expression of *HbMed25* gene in primary latex by COR treatment.

图 7 *HbMed25* 在 COR 处理的形成层和初生胶乳中的表达

Fig. 7 Expression of *HbMed25* gene in cambium and primary latex by COR treatment

2.6 植物激素对 *HbMed25* 基因表达的影响

使用 COR 体外诱导巴西橡胶树萌条次生乳管分化类似的实验系统, 分析乙烯(ET)、赤霉

素(GA)、生长素(IAA)、细胞分裂素(6-BA)等植物激素处理的初生胶乳样品中 *HbMed25* 的基因表达。Real-time PCR 结果表明, ET 处理的初生胶乳样品中, *HbMed25* 基因最开始是下调表达, 然后在 2~8 h 明显的上调表达, 且在 8 h 达最高峰值, 随后又下调表达(图 8: A)。IAA 处理的初生胶乳中, *HbMed25* 基因处于下调模式, 在 1 h、8 h 和 3 d 都是极显著的下调表达, 表达模式相对比较混乱, 没有明显的规律(图 8: B)。而 GA 和 6-BA 处理的初生胶乳中, *HbMed25* 基因的表达模式大致相似, 在整个处理时间段内都是处于下调表达, 且在最早期(1 h)和中期(8 h~3 d)都是显著或者极显著的下调表达(图 8:C, D)。

根据基因在初生胶乳中的表达丰度、表达的时间点、上调表达持续时间和上调表达倍数几个指标分析, 发现以下的一些表达规律。在四种植物激素处理初生胶乳中的表达丰度与 COR 处理相比较要低很多, 与未处理的未开割树和开割树胶乳的丰度差不多。与 *HbMed25* 基因在 COR 处理的初生胶乳样品中整体的显著上调表达且呈正向抛物线型变化, 在其他四种植物激素处理的初生胶乳中, 除了 ET 处理的初生胶乳中在前期(2~8 h)有明显上调表达外, 其他植物激素处理都是下调表达, 表达模式相反。与 COR 处理的初生胶乳中 *HbMed25* 在 2 和 4h 达最高峰值, 约为对照水平的 10~20 倍相比较, 其他植物激素处理的初生胶乳中, 只有 ET 处理的前期(2~8 h)有上调表达, 但与也没有达到对照水平相的 2 倍。可见, 其他四种植物激素处理对 *HbMed25* 基因表达没有直接作用。

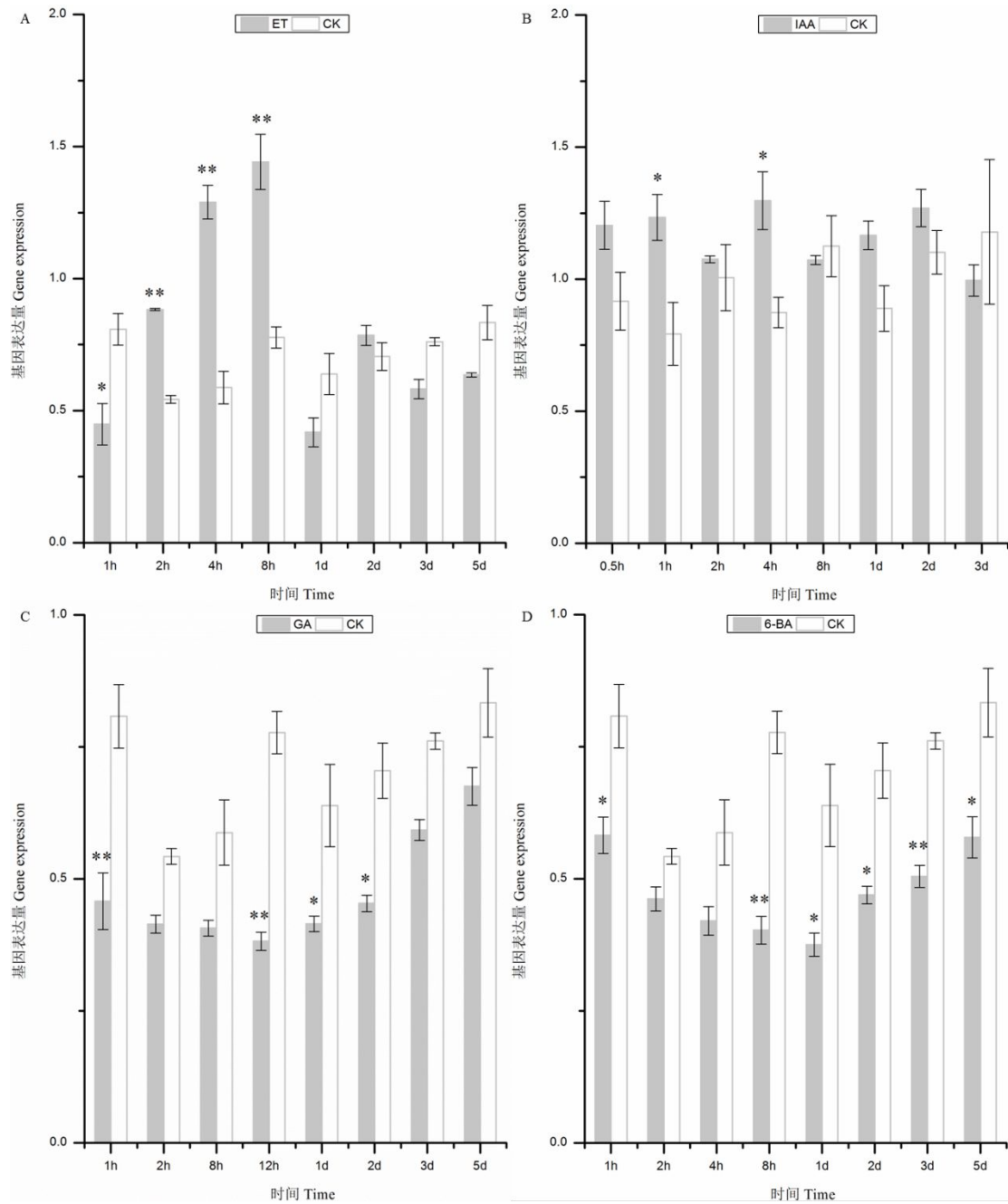


图 8 *HbMed25* 在植物激素处理的初生胶乳中的表达

Fig. 8 Expression of *HbMed25* gene in primary latex by phytohormone treatment

3 讨论与结论

本文克隆得到巴西橡胶树 *HbMed25* 基因, 通过生物信息学分析发现橡胶树 *HbMed25* 与木薯、杨树等高等植物的 *Med25* 蛋白序列相似性较高, 可能编码亲水性蛋白, 亚细胞定位于细胞核, 这些信息与中介体复合物作用于 RNA 聚合酶 II 的功能是相吻合的。通过组织特异性表达的结果, 发现 *HbMed25* 在橡胶树的树皮, 侧根和雌花中的表达丰度较高, 与拟南芥(Elfving et al., 2011)、红掌(任保兰等, 2019)的组织特异性研究的结果类似。这些结果是与 *Med25* 在根中可以调节活性氧分布、生长素的浓度、细胞壁基因表达等, 以及调控根毛的发育过程(Xu & Li, 2011); 在花中可以调节花期、花的生成和花器官发育(Wollenberg et al., 2011); 并调节猕猴桃的花期和果实的大小(郭洋涛等, 2014)等方面发挥特殊功能是密切相关的。

天然橡胶在巴西橡胶树树干树皮韧皮部中的特化组织——次生乳管中合成的(郝秉中和吴继林, 1982; Hao & Wu, 2000), 这些次生乳管的数量与天然橡胶的产量密切相关, 是由维管形成层的纺锤状原始细胞分化而来(Hao & Wu, 2000)。我们前期研究的证据表明, 茉莉酸(JA)(Hao & Wu, 2000; 刘惠芳等, 2001)、机械伤害(郝秉中等, 1984; Wu et al., 2002; 张世鑫等, 2011; Tian et al., 2015)和茉莉酸活性形式的类似物——冠菌素(COR)都可以诱导橡胶树次生乳管分化, 而且COR诱导橡胶树乳管分化的效果比茉莉酸和茉莉酸甲酯

(MeJA)要更强(Zhang et al., 2015)。在COR处理形成层区中, *HbMed25*在处理的早期就表现出极显著的上调表达, 且表达模式与茉莉酸处理的树皮中JAZ成员、MYC成员早期就明显上调的模式(Zhao et al., 2011; Deng et al., 2018)是相似的。在模式植物拟南芥的JA信号转导途径中, MYC2是茉莉酸信号转导途径中的核心转录因子, 调控JA反应的多个方面, 包括根生长发育、机械损伤反应、抗病抗虫等逆境胁迫反应等(Kidd et al., 2009; Kim et al., 2011; Dhawan et al., 2011; Wathugala et al., 2011)。最近研究证明, 李传友实验室发现AtMed25通过与AtMYC2直接相互作用, 从而使RNA聚合酶 II 招募到AtMYC2的靶标启动子区域, 来调控茉莉酸响应基因表达(Zhai et al., 2008; Chen et al., 2012; Zhai & Li, 2019; Wu et al., 2019)。后来又发现, Med25参与调解茉莉酸信号途径的关键环节COI1-JAZ-MYC2, 在植物处于自然状态下, 体内没有活性形式的茉莉酸(JA-Ile)时, JA受体COI1与抑制子蛋白JAZ不能发生互作, JAZ蛋白相对稳定, 并与MYC2相互作用以抑制MYC2的转录活性。在此过程中, JAZ蛋白与Med25是处于竞争关系的, 竞争结合MYC2的结合位点, 此时的Med25与MYC2间的相互作用相对较弱; Med25还可以与JA受体COI1直接发生相互作用, 将COI1招募到JA的核心转录因子MYC2的靶标基因启动子区域。可见转录中介体Med25在茉莉酸信号转导途径中起重要调控作用。据此我们推测Med25在JA橡胶树次生乳管分化的进程中也起重要的调控作用, 而*HbMed25*在COR处理的早期就表现出极显著的上调表达, 可以印证*HbMed25*是参与橡胶树体内的JA信号转导途径的调控的。

外施 MeJA 上调橡胶合成相关基因及增强橡胶合成的作用是相似的(Deng et al., 2018), 并能够增加橡胶产量(杨署光等, 2019)。乙烯利作为最有效的排胶刺激剂, 能显著延长排胶时间, 增加胶乳产量(史敏晶等, 2015; 张世鑫等, 2018), 但与橡胶生物合成没有直接关系(Deng et al., 2018)。割胶和 JA 促进橡胶树次生乳管分化和胶乳再生(郝秉中和吴继林, 1982), 割胶可以引起两方面的反应: 机械伤害反应和排胶导致膨压的变化, 而机械伤害会诱导乙烯生物合成关键酶基因 ACS 的表达, 合成大量内源乙烯(Argueso et al., 2007), 机械伤害和膨压的变化会产生内源 JA(Howe & Schilmiller, 2002)。目前割胶引起胶乳产量增加是 ET 还是 JA 导致的还不甚明了。但是 ET 是一种强刺激剂, ET 处理会引起诸多反应, 如 ET 促进 HEVB7、44KD 蛋白等胶乳凝集因子的增加, 延长排胶时间延长(Shi et al., 2016); ET 提高水通道蛋白基因 *HbPIP* 的表达, 增强水分向乳管细胞的运输, 增加胶乳的水稀释效应, 增加胶乳产量等(An et al., 2015)。*HbMed25* 是转录中介体基因, 可以在组织发育、器

官形成、植物抗逆性等方面有重要调控作用, *HbMed25* 可以参与胶乳凝集反应、水分调节等进程是很有可能, 但目前尚没有相关的研究进行验证。

从本文的 *HbMed25* 基因表达的模式发现, *HbMed25* 在割胶处理胶乳中上调表达, 且在产量相对较高的橡胶树品系 (CATAS 8-79 和 CATAS 7-33-97) 的胶乳中也呈现上调表达模式, 可以看出割胶是促进 *HbMed25* 表达的。在 JA 活性形式结构类似物——COR 处理的初生胶乳中, *HbMed25* 在早期就表现出极显著的上调表达模式与茉莉酸处理的胶乳样品中 *HbCOI1* 和 *HbJAZ1* 成员上调表达模式(Deng et al., 2018; Howe et al., 2019)是相似的, 而在 ET 处理的胶乳中 *HbMED25* 基因基本处于下调表达。从基因表达的丰度方面分析, *HbMed25* 在割胶、COR 处理胶乳中的表达丰度也要远高于 ET 处理。最近我们发现割胶树的乳管细胞茉莉酸含量显著高于未开割树, 割胶促进天然橡胶生物合成与激活乳管细胞中的茉莉酸信号途径密切相关(Deng et al., 2018; 杨署光等, 2019)。所以我们推测割胶促进橡胶生物合成的效应大部分来自于机械伤害诱导的内源 JA 的功效, 而非内源 ET 的作用。

由此可见, *HbMed25* 是极有可能参与橡胶树茉莉酸信号转导途径调控橡胶树的次生乳管分化和橡胶生物合成反应的。下一步, 我们将对 *Med25* 与 JA 信号途径的关键环节成员 *COI1*-*JAZ*-*MYC2* 进行蛋白互作分析, 为阐明巴西橡胶树次生乳管分化和橡胶生物合成的分子调控机制打下了良好基础。

参考文献:

- AN F, ZOU Z, CAI X, et al., 2015. Regulation of HbPIP2;3, a latex-abundant water transporter, is associated with latex dilution and yield in the rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) [J]. PLoS One, 10(4):e0125595.
- ARGUESO CT, HANSEN M, KIEBER JJ, 2007. Regulation of ethylene biosynthesis [J]. J Plant Growth Regul, 26 (2):92-105.
- BACKSTROM S, ELFVING N, NILSSON R, et al, 2007. Purification of a plant mediator from *Arabidopsis thaliana* identifies PFT1 as the Med25 subunit [J]. Mol Cell, 26(5):717-729.
- BUTTERY BR, BOATMAN SG, 1966. Manometric Measurement of Turgor Pressures in Laticiferous Phloem Tissues[J]. J Exp Bot, 17(2): 283-296.
- CHEN R, JIANG H, LI L, et al, 2012. The Arabidopsis mediator subunit MED25 differentially regulates jasmonate and abscisic acid signaling through interacting with the MYC2 and ABI5 transcription factors [J]. Plant Cell, 24(7):2898-2916.
- DENG XM, GUO D, YANG S, et al, 2018. Jasmonate signalling in the regulation of rubber biosynthesis in laticifer cells of rubber tree, *Hevea brasiliensis* [J]. J Exp Bot. 69(15):3559-3571.
- DHAWAN R, LUO H, FOERSTER AM, et al, 2009. HISTONE MONOUBIQUITINATION1 interacts with a subunit of the mediator complex and regulates defense against necrotrophic fungal pathogens in *Arabidopsis* [J]. Plant Cell, 21(3):1000-1019.
- ELFVING N, DAVOINE C, BENLLOCH R, et al, 2011. The Arabidopsis thaliana Med25 mediator subunit integrates environmental cues to control plant development [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 108(20):8245-8250.
- HAO BZ, WU JL, 2000. Laticifer differentiation in *Hevea brasiliensis*: induction by exogenous jasmonic acid and linolenic acid [J]. Ann Bot London, 85(1): 37-43.
- HOWE GA, SCHILMILER AL, 2002. Oxylin metabolism in response to stress [J]. Curr opin plant boil, 5(3):230-236.
- KIDD BN, EDGAR CI, KUMAR KK, et al, 2009. The mediator complex subunit PFT1 is a key regulator of jasmonate-dependent defense in *Arabidopsis* [J]. Plant Cell, 21(8):2237-2252.

- KIM YJ, ZHENG B, YU Y, et al, 2011. The role of Mediator in small and long noncoding RNA production in *Arabidopsis thaliana* [J].EMBO J, 30(5):814-822.
- SHI MJ, CAI FG, TIAN WM. 2016.Ethrel-stimulated prolongation of latex flow in the rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.): an Hevb7-like protein acts as a universal antagonist of rubber particle aggregating factors from lutoids and C-serum.[J] J Biochem. 159(2):209-216.
- SHI MJ, LI Y, DENG SM, et al, 2019. The formation and accumulation of protein-networks by physical interactions in the rapid occlusion of laticifer cells in rubber tree undergoing successive mechanical wounding.[J] BMC Plant Biol. 19(1):8.
- TANG CR, YANG M, FANG YJ, et al, 2016. The rubber tree genomereveals new insights into rubber production and species adaptation [J]. Nat Plants, 2(6): 16073.
- TIAN WM, SHI MJ, YU FY, et al, 2002. Localized effects of mechanical wounding and exogenous jasmonic acid on the induction of secondary laticifer differentiation in relation to the distribution of jasmonic acid in *Hevea brasiliensis* [J]. Acta Botanica Sinica. 45 (11):1366-1372
- TIAN WM, YANG SG, SHI MJ, et al, 2015. Mechanical wounding-induced laticifer differentiation in rubber tree: An indicative role of dehydration, hydrogen peroxide, and jasmonates [J]. J Plant Physiol, 182: 95-103.
- WATHUGALA DL, RICHARDS SA, KNIGHT H, et al, 2011. OsSFR6 is a functional rice orthologue of SENSITIVE TO FREEZING-6 and can act as a regulator of COR gene expression, osmotic stress and freezing tolerance in *Arabidopsis* [J]. New Phytol, 191(4):984-995.
- WOLLENBERG AC, STRASSRE B, CERDAN PD, et al, 2008. Acceleration of flowering during shade avoidance in Arabidopsis alters the balance between FLOWERING LOCUS C-mediated repression and photoperiodic induction of flowering [J].Plant Physiol, 148(3):1681-1694.
- WU FM, DENG L, ZHAI QZ, et al, 2019. Mediator Subunit MED25 Couples Alternative Splicing of JAZ Genes with Fine-Tuning of Jasmonate Signaling [J]. Plant Cell, 32: 429–448.
- WU JL, HAO BZ, TAN HY, 2002. Wound-induced differentiation in *Hevea brasiliensis* shoots mediated by jasmonic acid [J]. J Rubber Res. 5(5):53-63
- XU R, LI Y, 2011. Control of final organ size by Mediator complex subunit 25 in *Arabidopsis thaliana* [J]. Development, 138(20):4545-4554.
- YOU YR, ZHAI QZ, AN CP, et al, 2019. LEUNIG_HOMOLOG Mediates MYC2-Dependent Transcriptional Activation in Cooperation with the Coactivators HAC1 and MED25 [J]. Plant Cell, 31: 2187–2205.
- ZHAI QZ, LI CY, 2019. The plant Mediator complex and its role in jasmonate signaling [J]. J Exp Bot, 70(13):3415–3424.
- ZHAI QZ, LI L, AN CP, et al, 2008. Conserved function of mediator in regulating nuclear hormone receptor activation between plants and animals [J]. Plant Signa Behav, 13(5): e1403709.
- ZHANG SX, TIAN WM, 2015. Cross talk between cytokinin and jasmonates in regulating the secondary laticifer differentiation in rubber tree [J]. J Rubber Res, 18(1): 38-48.
- ZHAO Y, ZHOU LM, CHEN YY, et al, 2011. MYC genes with differential responses to tapping, mechanical wounding, ethrel and methyl jasmonate in laticifers of rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) [J]. J plant physiol, 168 (14):1649-1658.

- GUO YT, LIN MM, QI XJ, et al, 2014. Cloning and expression analysis of *AcMED25* and its relationship with fruit growth and size in kiwifruit[J]. *J Fruit Sci*, 31(4):558-565.[郭洋涛, 林苗苗, 齐秀娟, 等, 2014. 猕猴桃 *AcMED25* 克隆、表达分析及其与果实生长和大小的关系[J].*果树学报*, 31(4):558-565.]
- Hao BZ and Wu JL, 1982. Effects of wound (tapping) on laticifer differentiation in *Hevea brasiliensis*[J].*Acta botanica sinica*, 24(4):388-391.[郝秉中, 吴继林, 1982. 创伤(割胶)对乳管分化的影响[J].*植物学报*, 24(4): 388-391.]
- Hao BZ and Wu JL, 1984. Acceleration of laticifer differentiation in *Hevea brasiliensis* by latex drainage[J]. *Chin J Trop Crop*, 5(2): 19-23.[郝秉中, 吴继林, 云翠英, 1984. 排胶对橡胶树乳管分化的促进作用[J]. *热带作物学报*, 5(2):19-23.]
- LIU HF, WU JL, HAO BZ, 2001. Effect of jasmonic acid and other plant growth regulators on laticifer differentiation in *Hevea brasiliensis*[J]. *Chin J Trop Crop*, 22(3):6-16.[刘惠芳, 吴继林, 郝秉中, 2001. 茉莉酸和其它激素对巴西橡胶树乳管分化的协同作用[J].*热带作物学报*, 22(3):6-16.]
- QI DL, WANG XQ, ZHANG ZY, et al, 2013. Current situation of chinese natural rubber industry and development suggestions *Chin J Trop Agric*, 33(2): 79-87. [祁栋灵, 王秀全, 张志扬, 等, 2013. 中国天然橡胶产业现状及其发展建议[J]. *热带农业科学*, 33(2): 79-87.]
- REN BL, NIU JH, ZHANG L, et al, 2016. Cloning and expression analysis of *AaPFT1/MED25* gene from *Anthurium andraeanum*[J].*Mol Plant Breeding*, 14(3): 554-561.[任保兰, 牛俊海, 张凌, 等, 2016. 红掌基因 PFT1/MED25 类基因 *AaPFT1* 的克隆与表达分析[J].*分子植物育种*, 14(3):554-561.]
- SHI MJ, CHENG C, TIAN WM, 2015. Effects of ethrel on physiological parameters of latex flow in rubber tree clones RY8-79 and PR 107[J]. *Chin J Trop Crop*, 36(5):926-932.[史敏晶, 程成, 田维敏, 2015. 乙烯利刺激对橡胶树无性系 RY8-79 和 PR 107 排胶生理参数的影响[J]. *热带作物学报*, 36(5): 926-932.]
- YANG P, ZHANG SX, CHEN HP, et al, 2015. Rhythmic Expression of Genes Encoding Enzymes for Rubber Biosynthesis in Rubber Trees[J]. *Chin J Trop Crop*, 36(9): 1587-1592.[杨鹏, 张世鑫, 陈惠萍, 等, 2015. 巴西橡胶树乳管细胞中 5 个橡胶合成关键酶基因节律性表达研究[J]. *热带作物学报*, 36(9): 1587-1592.]
- YANG SG, ZHAO Y, CHEN YY, et al, 2019. Correlation between the expression level of genes related to Jasmonate signaling and rubber yield[J]. *Guihaia*, 40(5): 641-649.[杨署光, 赵悦, 陈月异, 等, 2019. 橡胶树茉莉酸信号途径相关基因表达与橡胶产量的相关性[J]. *广西植物*, 39(5):641-649.]
- ZHANG SX, LIU SB, TIAN WM, 2011. Effect of vascular cambium activity on secondary laticifer differentiation induced by mechanical wounding in rubber tree (*Hevea brasiliensis* Mull. Arg.) [J]. *Chin J Trop Crop*, 32(6):1 037-1 041. [张世鑫, 刘世彪, 田维敏, 2011. 形成层活动对机械伤害诱导巴西橡胶树次生乳管分化的影响[J]. *热带作物学报*, 32(6):1 037-1 041.]
- ZHANG SX, YANG SG, BAO J, et al, 2018. Effects of strong tapping on physiological and biochemical parameters in latex of rubber tree with different latex flow characteristics[J]. *Chin J Trop Crop*, 39(11): 2160-2168. [张世鑫, 杨署光, 包杰, 等, 2018. 强割对不同排胶特性的橡胶树品系胶乳生理生化参数的影响[J]. *热带作物学报*, 39(11): 2160-2168.]

不同成土母质胶园土壤磷素形态研究

杨丽萍 刘忠妹 许木果 丁华平 杨春霞*

云南省热带作物科学研究所, 云南景洪 666100

摘要: 通过研究云南一代、二代胶园不同成土母质土壤的全磷、速效磷、无机磷 (Ca-P、Al-P、Fe-P、O-P) 的形态变化, 表明不同种植代数、不同成土母质间土壤全磷、速效磷、无机磷的含量无一致的规律性; 一代、二代胶园不同成土母质中无机磷形态的分配比例呈现 $\text{Ca-P} > \text{Fe-P} > \text{Al-P} > \text{O-P}$, Ca-P、Fe-P 是土壤磷固定的主要形态, 也是有效磷转化的主要来源。通过施用有机肥, 改善施肥方法等措施, 可减少土壤对无效态磷的固定, 提高磷肥利用率。

关键词: 土壤; 成土母质; 磷素形态

不同刈割方式对三尖叶猪屎豆生长和养分积累的影响

赵志平，杨春霞*

(云南省热带作物科学研究所，云南 景洪 666100)

摘要 通过研究不同刈割时间(营养生长期、花期)、年刈割次数(一次、两次)、留茬高度(20cm、30cm、40cm、50cm)对三尖叶猪屎豆生长、养分积累的影响，探索三尖叶猪屎豆在橡胶园种植时的刈割方式，为橡胶园覆盖绿肥提供技术指导。研究表明，营养生长期刈割，不同留茬高度对绿肥产量影响不大；花期刈割，绿肥产量随留茬高度升高而降低；留茬高度为20cm、30cm、40cm的处理，花期刈割产量高于营养生长期刈割，而50cm处理差异不大。不同留茬高度，年刈割两次的产量均高于年刈割一次；除留茬高度20cm处理外，其余处理年刈割两次的氮、磷、钾、钙、镁养分积累量均高于年刈割一次。年刈割一次的产量随留茬高度升高而降低；氮积累量随留茬高度先升高后降低，留茬高度为30cm处理最高；磷、钾积累量则随留茬高度升高而降低；钙、镁积累量则随留茬高度先降低后升高；年刈割两次的产量、氮、磷、钾、钙、镁养分积累量随留茬高度升高而升高，留茬高度为40cm处理最高。刈割后，绿肥的萌发率、高度随留茬高度升高而升高，留茬高度为40cm、50cm差异不大。因此三尖叶猪屎豆的最佳刈割方式为：营养期刈割、一年刈割两次，留茬高度为40cm。

关键词 三尖叶猪屎豆；刈割方式；产量；养分积累

大量元素影响橡胶树花药愈伤组织诱导效果的评价

管艳, 唐敏, 桂明春, 李玲, 梁国平*

(云南省热带作物科学研究所, 云南 景洪 666100)

摘要: 为优化橡胶树花药组织培养通用的 MS 基本培养基, 提高其离体培养效果, 该研究以橡胶树 (*Hevea brasiliensis* Müll. Arg.) 品种 RR1105 花药为外植体, 采用正交试验法探讨了 MS 基本培养基中大量元素 KNO₃ (A)、NH₄NO₃ (B)、KH₂PO₄ (C) 及 MgSO₄ (D) 对花药愈伤组织诱导的影响。结果表明: 4 种化合物对花药愈伤组织诱导率及正常体胚比率的影响极显著 ($P < 0.01$); KNO₃ 和 NH₄NO₃ 对体胚发生率的影响极显著 ($P < 0.01$), KH₂PO₄ 和 MgSO₄ 对体胚分化率的影响不显著。4 种化合物的影响效果及优组合在 3 个指标间存在差异, 愈伤组织诱导率的影响效果为 B>A>D>C, 优组合为 1600 mg · L⁻¹ KNO₃+1900 mg · L⁻¹ NH₄NO₃+170 mg · L⁻¹ KH₂PO₄+320 mg · L⁻¹ MgSO₄; 体胚发生率的影响效果为 A>B>C>D, 优组合为 1900 mg · L⁻¹ KNO₃+1400 mg · L⁻¹ NH₄NO₃+140 mg · L⁻¹ KH₂PO₄+320 mg · L⁻¹ MgSO₄; 正常体胚比率的影响效果为 B>C>A>D, 优组合为 2200 mg · L⁻¹ KNO₃+1650 mg · L⁻¹ NH₄NO₃+200 mg · L⁻¹ KH₂PO₄+370 mg · L⁻¹ MgSO₄。综合 4 种化合物对 3 指标的影响情况, 最终筛选出适宜橡胶树品种 RR1105 花药愈伤组织诱导的优组合为 1900 mg · L⁻¹ KNO₃+1650 mg · L⁻¹ NH₄NO₃+200 mg · L⁻¹ KH₂PO₄+370 mg · L⁻¹ MgSO₄, 该组合未在试验的 9 个组合中出现, 验证发现该组合的愈伤组织诱导率高达 89.60%, 体胚发生率为 70.86%, 正常体胚比率为 51.50%。

关键词: 橡胶树, 大量元素, 花药, 愈伤组织, 体胚发生率, 正常体胚

中图分类号: Q945

文献标识码: A

文章编号:

Evaluation of the effect of macronutrients on the induction of *Hevea brasiliensis* anther callus

GUAN Yan, TANG Min, GUI Mingchun, LI Ling, LIANG Guoping*

(Yunnan Institute of Tropical Crops, Jinghong, Yunnan 666100, China)

Abstract: in order to improve the anther culture effect of *Hevea brasiliensis* Müll.Arg.by optimizing the component of MS medium. In this study, the anthers of clone RR1105 were used as explants to study the effects of KNO₃(A) , NH₄NO₃ (B), KH₂PO₄ (C) and MgSO₄(D) on the induction of anther callus by using orthogonal experiment.The results showed that: Four compounds very significantly affected the induction frequency of callus and rate of normal somatic embryo ($P < 0.01$); KNO₃ and NH₄NO₃ very significantly affected the induction frequency of somatic embryo($P < 0.01$), while KH₂PO₄ and MgSO₄ were not significantly affected.The main orders and the optimal combinations were different among the three indexes when induced by the four compounds.The main orders and optimal combinations were: Induction frequency of callus: B>A>D>C, 1600 mg · L⁻¹ KNO₃+1900 mg · L⁻¹ NH₄NO₃+170 mg · L⁻¹ KH₂PO₄+320 mg · L⁻¹ MgSO₄; The induction frequency of somatic embryo: A>B>C>D, 1900 mg · L⁻¹ KNO₃+1400 mg · L⁻¹ NH₄NO₃+140 mg · L⁻¹ KH₂PO₄+320 mg · L⁻¹ MgSO₄; Rate of normal somatic embryo:B>C>A>D, 2200 mg · L⁻¹ KNO₃+1650 mg · L⁻¹ NH₄NO₃+200 mg · L⁻¹ KH₂PO₄+370 mg · L⁻¹ MgSO₄.Comprehensively, judging from the effects of four compounds on three indexes, the optimal combination for anther callus induction of rubber clone RR1105 was selected as 1900 mg·L⁻¹ KNO₃+1650 mg·L⁻¹ NH₄NO₃+200 mg·L⁻¹ KH₂PO₄+370 mg·L⁻¹ MgSO₄, which was not included in the 9

combinations in the experiment. The verification test of this combination showed that induction frequency of callus was as high as 89.60%, the induction frequency of somatic embryo was 70.86%, with a rate of normal somatic embryo of 51.50%.

Key words: *Hevea brasiliensis*, macronutrients, anther, callus, induction frequency of somatic embryo, normal somatic embryo

橡胶树体胚植株（自根幼态无性系）因具有完整根系、定植后生长快、林相整齐度高、干胶产量高及抗逆性强等优点（陈雄庭等，2002；杨加伟等，2012）而被认为是具有广阔应用前景的种植材料（顾晓川等，2018），在天然橡胶产业中占有举足轻重的地位。组织培养技术是繁育橡胶树体胚植株的唯一途径，橡胶树组织培养技术始于 50 年代初，直到 70 年代才成为国内外学者竞相研究的课题之一。诸多国家投入大量的人力物力对该技术展开全面深入研究，目前已从花药（谭德冠等，2011）、子房（谭德冠等，2005）、未授粉胚珠（梁国平等，2016）、内珠被（黄天带等，2008）及未授粉胚株（谭德冠等，2005）等离体培养中通过体胚发生途径获得再生植株，少数无性系品种通过体胚循环增殖技术实现了体胚规模化繁殖（华玉伟等，2007；Hua et al, 2010），可扩展大量体胚植株应用于生产（桂明春等，2019）。但橡胶树花药离体培养效果在基因型间存在较大差异（谭德冠等，2005；管艳等，2015），大部分良种的花药体胚植株快繁技术尚未成熟，无法实现规模化扩繁。橡胶树体胚植株的培育有赖于胚性愈伤组织的诱导，花药培养是获得胚性愈伤组织的主要技术途径之一（戴雪梅等，2016）。此外，目前对于橡胶树花药离体培养基组分的研究报道多集中于外源激素（黄凤翔等，2014；李玲等，2014；戴雪梅等，2016）、椰子汁、活性炭、植物凝胶及蔗糖（顾晓川等，2018）等方面，而对培养基营养成分的研究罕见。

MS 基本培养基是 Murashige 和 Skoog 设计的，最初是为了培养烟草细胞，目前被广泛用于植物组织培养，亦是橡胶树花药离体培养通用的基本培养基。为了优化橡胶树花药离体培养基，提高其培养效果，本课题组于 2015 年开始对 MS 基本培养基组分影响橡胶树组织培养效果展开研究，已筛选出体胚植株茎段和茎尖两种不同材料离体培育幼态芽条的适宜 MS 基本培养基各营养成分的用量（桂明春等，2016），并证明了 MS 基本培养基中大量元素、微量元素、有机成分及铁盐均对橡胶树花药愈伤组织及胚状体诱导率具有极显著的影响效应（桂明春等，2019）。但每种营养成分由多种化合物组成，如大量元素由不同含量的 KNO_3 、 NH_4NO_3 、 KH_2PO_4 、 MgSO_4 及 CaCl_2 等 5 种化合物组成，每种化合物是否对花药离体培养效果具有显著影响及最适用量均不得而知。因此，本研究以橡胶树品种 RR1105 的花药为外植体，采用正交试验法系统地研究了 KNO_3 、 NH_4NO_3 、 KH_2PO_4 及 MgSO_4 对橡胶树花药愈伤组织诱导效果的影响，以期找出 4 种化合物对花药愈伤组织诱导的影响规律，并筛选出最适用量，进一步提高花药离体培养效果，为扩繁橡胶树良种的体胚植株提供理论依据。

1. 材料与方法

1.1 材料

以橡胶树（*Hevea brasiliensis* Müll. Arg.）品种 RR1105 未成熟雄花（黄绿色）为供试材料，于 2019 年 3 月 19 日—20 日采自于云南省热带作物科学研究所热带花卉园授粉园。

药品：配制 MS 基本培养基大量元素、微量元素、铁盐和有机成分所需的药品采购于昆明云南泰朗宣科技有限公司；植物凝胶（Sigma）和植物激素采购于上海生物工程技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 培养基和培养条件

无特殊说明，培养基中添加 $60 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖、 $2.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 植物凝胶、 $50 \text{ ml} \cdot \text{L}^{-1}$ 椰子汁，

pH 5.8~6.4;培养基均在 121°C 高温下灭菌 28 mins,暗培养,愈伤组织诱导温度为(27±0.5)°C,体胚分化温度为(24±0.5)°C。

1.2.2 大量元素对橡胶树花药愈伤组织诱导率的影响

采用 $L_9(3^4)$ 正交表进行 4 因子 3 水平正交试验, A、B、C、D 四个因子分别为 MS 基本培养基大量元素 (2200、1900、1600 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) KNO_3 、(1900、1650、1400 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) NH_4NO_3 、(200、170、140 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) KH_2PO_4 及 (420、370、320 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) MgSO_4 。额外附加 0.8 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 2,4-D, 0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA, 0.8 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ KT。每个处理接 10 瓶,每瓶接 10 个雄蕊,3 次重复。培养 45 d 时统计花药愈伤组织的诱导率,并观察其形态结构,愈伤组织诱导率=诱导愈伤的雄蕊数/接种雄蕊数 $\times 100\%$ 。

1.2.3 花药愈伤组织体胚分化能力的比较

将上述 9 种培养基中诱导出的愈伤组织分别转至同一种体胚分化培养基中进行体胚的诱导,体胚分化培养基:MS + 1.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA + 0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ KT + 0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ GA₃ + 0.2 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ABA + 0.2 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA + 1 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 活性炭。用培养皿进行培养,每皿接种 20 块愈伤组织,培养 60 d 时统计体胚发生率及正常体胚比率,体胚发生率=分化出体胚的愈伤组织数/接种愈伤组织数 $\times 100\%$,正常体胚比率=正常体胚数/体胚数 $\times 100\%$ 。

1.2.4 数据分析

采用 SPSS 23.0 的邓肯式新复极差进行差异性分析。

2. 结果与分析

2.1 橡胶树花药愈伤组织诱导率的比较

培养 15~20 d 后,在 9 种培养基中均有部分雄蕊膨大产生少量淡黄色、结构疏松的愈伤组织,继续培养至 45 d 时,愈伤组织的直径可达 0.4~0.9 cm (图 1),此后愈伤组织不再继续长大,而是随着培养时间的延长逐渐从表面开始褐化衰老或在表面产生白色球形小胚。试验结果说明,橡胶树愈伤组织的形态结构在 9 个组合间存在差异(图 1),其中 D2、D6 和 D8 为 I 类,表现为黄色、结构疏松、颗粒状有光泽,表面无褐化衰老;D1、D3 和 D4 和 D5 为 II 类,表现为浅黄绿色,结构疏松、颗粒状有光泽,部分愈伤组织表面变褐衰老;D7 和 D9 为 III 类:浅黄色,结构疏松、颗粒状有光泽,少部分愈伤组织表面变褐衰老。

表 1 统计了橡胶树花药在 9 种培养基中愈伤组织的诱导率,由表 1 可知,橡胶树品种 RR1105 花药的愈伤组织诱导率普遍较高,总体均值为 79.68%,变幅为 67.43%~92.55%。这充分说明,RR1105 花药愈伤组织的诱导率随 KNO_3 、 NH_4NO_3 、 KH_2PO_4 及 MgSO_4 的用量改变而发生变化的幅度较大,受 4 种化学物的综合影响较大。

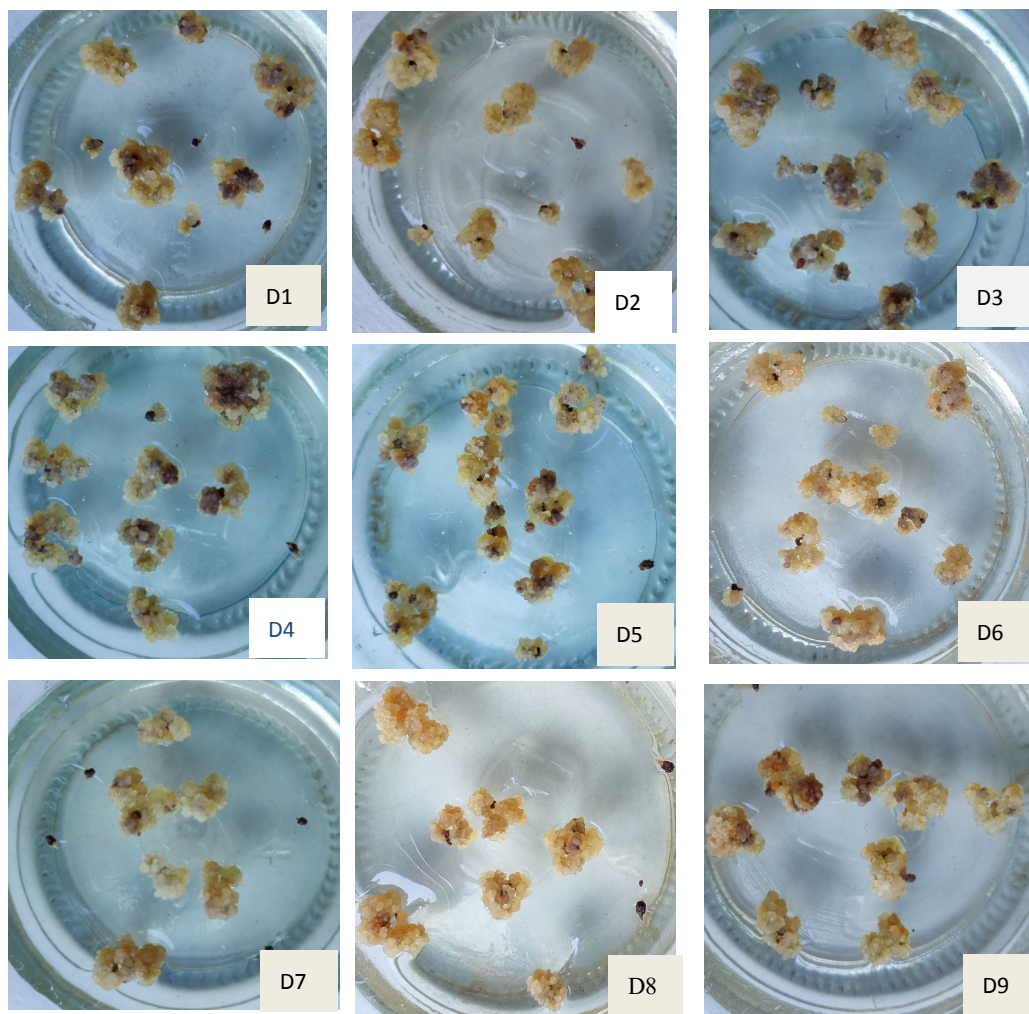


图 1 橡胶树花药愈伤组织形态结构比较

Fig. 1 The comparison of anther callus in morphological feature of *Hevea brasiliensis*

表 1 正交试验愈伤组织诱导率分析结果

Table 1 The results of induction frequency of callus of anter in orthogonal experiment

| 培养基 Medium | 因素 Factor | | | | 愈伤组织诱导率 Induction frequency of callus |
|---------------|-----------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|------------------------|--|
| | A (KNO ₃) | B (NH ₄ NO ₃) | C (KH ₂ PO ₄) | D (MgSO ₄) | |
| D1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 78.79 ± 0.88dD |
| D2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 67.43 ± 1.88eE |
| D3 | 1 | 3 | 3 | 3 | 78.71 ± 1.42dD |
| D4 | 2 | 1 | 2 | 3 | 92.55 ± 2.95aA |
| D5 | 2 | 2 | 3 | 1 | 67.55 ± 3.28eE |
| D6 | 2 | 3 | 1 | 2 | 88.33 ± 2.66bB |
| D7 | 3 | 1 | 3 | 2 | 83.95 ± 0.84cC |
| D8 | 3 | 2 | 1 | 3 | 78.20 ± 0.71dD |
| D9 | 3 | 3 | 2 | 1 | 81.60 ± 1.31cdCD |
| K1 | 74.97bB | 85.10aA | 81.77aA | 75.98cC | |
| K2 | 82.81aA | 71.06cC | 80.53aA | 79.90bB | |

| | | | | |
|----|---------|---------|---------|---------|
| K3 | 81.25aA | 82.88bB | 76.74bB | 83.15aA |
| R | 7.84 | 14.04 | 5.03 | 7.17 |

注：同列数据中不同大小写字母表示 0.01 和 0.05 水平上的差异显著性，下同。

Note: Different letters in a column mean significant different at 0.01 and 0.05 level, the same as below.

试验结果说明，KNO₃、NH₄NO₃、KH₂PO₄ 及 MgSO₄ 对 RR1105 花药愈伤组织诱导率的影响极显著 ($P<0.01$)，且随 4 个参试因子用量的改变而发生的变化存在差异 (表 1)，KNO₃ 和 MgSO₄ 用量的减少，愈伤组织诱导率呈上升趋势，NH₄NO₃ 用量的减少，愈伤组织诱导率呈先降低后增加趋势，KH₂PO₄ 用量的减少，愈伤组织诱导率呈降低趋势；4 个参试因子的影响效果为：B>A>D>C，这表明不同因子组合对愈伤组织诱导率的影响趋势不同；极差分析结果表明，B 和 D 因子的优水平分别为 B₁ 和 D₃，A 因子优水平为 A₂ 和 A₃，根据效果相同最少用量的原则，则 A 因子优水平为 A₃，同理得 C 因子的优水平为 C₂，据此，4 个参试因子的优组合为 A₃B₁C₂D₃。

2.2 愈伤组织体胚分化能力的比较

试验结果表明，4 个参试因子对正常体胚比率的影响极显著 ($P<0.01$)，KNO₃ 和 NH₄NO₃ 对体胚发生率的影响极显著 ($P<0.01$)，KH₂PO₄ 和 MgSO₄ 对体胚分化率的影响不显著；4 个参试因子对 2 指标的影响情况存在差异 (表 2)，相对于体胚发生率来说，D4、D5 及 D6 较高，均大于 67.00%，极显著高于其余处理，其次是 D3，为 46.88%，其余 5 个处理分化能力较弱，均低于 38.0%；对于正常体胚比率而言，D6 最高，达 49.43%，极显著高于其它余处理，其次是 D2 和 D8，分别为 42.00%和 42.92%，最差的是 D4、D7 和 D9，均低于 10%，极显著低于其余处理。

表 2 花药愈伤组织体胚分化能力的比较结果

Table2 The results of induction of somatic embryo of anter callus

| 培养基 Medium | 因素 Factor | | | | 体胚发生率/% Induction frequency of somatic embryo | 正常体胚比率/% Rate of normal embryoid |
|----------------|-----------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|------------------------|--|--|
| | A (KNO ₃) | B (NH ₄ NO ₃) | C (KH ₂ PO ₄) | D (MgSO ₄) | | |
| D1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 38.02±4.51cC | 29.37±0.55dD |
| D2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 38.54±0.90cC | 42.00±3.14bB |
| D3 | 1 | 3 | 3 | 3 | 46.88±1.56bB | 38.40±0.64cC |
| D4 | 2 | 1 | 2 | 3 | 67.19±1.56aA | 8.45±0.33eE |
| D5 | 2 | 2 | 3 | 1 | 68.75±3.13aA | 28.06±0.57dD |
| D6 | 2 | 3 | 1 | 2 | 72.40±3.93aA | 49.43±0.11aA |
| D7 | 3 | 1 | 3 | 2 | 34.38±3.13cC | 8.75±0.62eE |
| D8 | 3 | 2 | 1 | 3 | 35.94±3.13cC | 42.92±0.68bB |
| D9 | 3 | 3 | 2 | 1 | 36.98±5.02cC | 8.32±0.40eE |
| k1 | 41.15bB | 46.53bB | 48.78aA | 47.92aA | | |
| k2 | 69.44aA | 47.74bB | 47.57aA | 48.44aA | | |
| k3 | 35.76bB | 52.08aA | 50.00aA | 50.00aA | | |
| R ₁ | 33.68 | 5.55 | 2.43 | 2.08 | | |
| k1' | 36.59aA | 15.52cC | 40.57aA | 21.91cC | | |
| k2' | 28.65bB | 37.66aA | 19.59cC | 33.39aA | | |
| k3' | 20.00cC | 32.05bB | 25.07bB | 29.93bB | | |

| | | | | |
|----------------|-------|-------|-------|-------|
| R ₂ | 16.59 | 22.14 | 20.98 | 11.48 |
|----------------|-------|-------|-------|-------|

注: k₁~k₃, R₁ 为体胚发生率的直观分析, k_{1'}~k_{3'}, R₂ 为正常体胚的直观分析。

Note: k₁~k₃, R₁ were intuitionistic analysis of induction frequency of somatic embryo; k_{1'}~k_{3'}, R₂ were intuitionistic analysis of rate of normal embryoid.

数据还说明, 两指标随 4 个参试因子改变而产生的变化存在差异 (表 2), 体胚发生率随 KNO₃ 用量的减少呈先上升后降低趋势, 随 NH₄NO₃ 用量的减少表现出上升趋势, 随 KH₂PO₄ 及 MgSO₄ 用量的减少而产生的变化幅度不大, 均在 47.00%~50.00%, 影响效果为 A>B>C>D, 优组合为 A₂B₃C₃D₃; 正常体胚比率随 KNO₃ 用量的减少呈降低趋势, 随 NH₄NO₃ 和 MgSO₄ 用量的减少呈正态分布, 随 KH₂PO₄ 用量的减少呈先降低后增加趋势, 影响效果为 B>C>A>D, 优组合为 A₁B₂C₁D₂。

2.3 优组合的筛选

表 1、表 2 表明, 分别以 RR1105 花药愈伤组织诱导率、体胚发生率和正常体胚比率筛选出的 4 个参试因子的优组合存在差异, 现对 4 个因子进一步分析。相对于 A 因子来说, 愈伤组织诱导率的优水平为 A₃, 体胚发生率的优水平为 A₂, 正常体胚比率的优水平为 A₁。3 指标的优水平不同, 且 A 因子对 3 个指标的影响均极显著, 但 R 体胚发生率 (33.68) > R 正常体胚比率 (16.59) > R 愈伤组织诱导率 (7.84), 说明体胚发生率对于 A 因子用量改变而产生的响应较其它 2 个指标敏感, 因此, A 因子的优水平为 A₂, 同理得 B 因子的优水平为 B₂; 相对于 C 因子而言, 3 指标的优水平不同, 依次为 C₂ (愈伤组织诱导率)、C₃ (体胚发生率) 及 C₁ (正常体胚比率), 其对愈伤组织诱导率和正常体胚比率的影响极显著, 而对体胚发生率的影响不显著, 加之 R 正常体胚比率 (20.98) > R 愈伤组织诱导率 (5.03), 因此 C 因子优水平为 C₁, 同理得 D 因子的优水平为 D₂。

综上所述, 适合 RR1105 花药愈伤组织诱导的 4 个参试因子的优组合为 A₂B₂C₁D₂, 该组合未在试验的 9 个组合中出现, 验证发现该组合的愈伤组织诱导率高达 89.60%, 仅比 D4 少 2.95%, 体胚发生率为 70.86%, 虽比 D4 少 1.54%, 但正常体胚比率却提高至 51.50%。

3. 讨论与结论

在橡胶树组织培养中, 再生植株多由花药或内珠被离体脱分化产生愈伤组织, 愈伤组织再分化形成体胚, 再由成熟体胚萌发抽枝展叶发育而来。体胚发生率偏低、畸形率较高及植株再生频率低一直是制约橡胶树体胚植株快速繁殖的瓶颈 (谭德冠等, 2005)。其中愈伤组织的诱导是体胚发生的第一步, 亦是提高植株再生频率的关键环节, 其诱导成功是否及质量的优劣是获得高频率优质体胚的前提条件, 也是实现规模化扩繁体胚植株的保障。培养基组成是影响愈伤组织诱导的关键因子之一 (徐康等, 2019), 通过优化培养基组成 (营养成分及激素种类和浓度等) 来提高愈伤组织诱导效果便成了橡胶树体胚植株快速繁殖的首要解决技术问题。为了攻克这个困难, 橡胶树研究者们进行了大量研究, 但多集中于激素种类及浓度等方面, 而对营养成分的研究罕见。黄德贵等 (1982) 以 4 个有性系和 3 个无性系共 7 种材料的花药为外植体, 比较了花药在 MB 和 MS 两种基本培养基上愈伤组织的诱导效果, 结果表明, 花药在 MB 中的诱导效果较 MS 理想; 桂明春等 (2019) 以 RR1105、RR1600、GT1 及热垦 628 等 4 个品种的花药为外植体研究了 MS 基本培养基中 4 种营养成分对花药愈伤组织诱导的影响, 结果表明, 4 种营养成分影响花药愈伤组织诱导效应及优组合在基因型间存在差异, RR1105 的优组合是全量 MS。该试验结果与上述研究结果略有差异, 综合考虑 4 种参试因子对花药愈伤组织诱导率、体胚发生率及正常体胚比率的影响情况, 最终筛选出适宜 RR1105 花药愈伤组织诱导的优组合是 1900 mg · L⁻¹ KNO₃+1650 mg · L⁻¹ NH₄NO₃+200 mg · L⁻¹ KH₂PO₄+370 mg · L⁻¹ MgSO₄, 与全量 MS 相比, KNO₃、NH₄NO₃、MgSO₄ 用量相

同, 而 KH_2PO_4 却增加了 $30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。这可能与基因型、外植体的发育程度、及花序白粉病的严重程度等有关。黄德贵等(1982)选用7种材料的花蕊未包括本试验的 RR1105, 2019 和 2017 年橡胶树花序患白粉病的严重程度不同。此外, 桂明春等(2019)与该研究在挑选外植体时, 虽均选择未成熟、黄绿色雄花的雄蕊为外植体, 但未在显微镜下进行微观挑选, 仅靠肉眼选择出的雄蕊, 其发育程度很难保持一致。

试验结果表明, 在试验所设的9个组合中, 花药愈伤组织诱导率、体胚发生率及正常体胚比率3者间并无严格相关性。在9个组合中, 花药愈伤组织诱导率最高的为 D4 (92.55%), 其体胚发生率和正常体胚比率并非最高, 分别为 67.19% 和 8.45%, 较 D6 分别少 5.21% 和 40.98%; 体胚发生率和正常体胚比率最高的是 D6, 分别为 72.40% 和 49.43%, 其愈伤组织诱导率为 88.33%, 显著低于 D4; 正常体胚比率最高的是 D8, 达 42.92%, 其体胚发生仅为 35.94%, 显著小于 D3、D4、D5 和 D6 等4个处理, 愈伤组织诱导率为 78.60%, 极显著小于 D4、D6、D7。因此, 在后续橡胶树花药愈伤组织诱导技术研究中, 需综合3个指标来筛选最佳培养基组成或培养条件等。本研究分别评价了 KNO_3 、 NH_4NO_3 、 KH_2PO_4 和 MgSO_4 对橡胶树无品种 RR1105 花药愈伤组织诱导率及愈伤体胚分化能力的影响效果, 再综合4个参试因子对愈伤组织诱导率、体胚发生率及正常体胚比率3个指标的影响效应, 最终筛选出了适宜 RR1105 花药愈伤组织诱导的优组合, 这为提高橡胶树良种花药离体培养效果及其体胚植株快速扩繁提供了理论参考。

参考文献:

- CHEN XT, WANG ZY, WU HD, et al, 2002. A new planting material of *Hevea brasiliensis* self-rooting juvenile-type clone [J]. Chin J Trop Crop, 23 (1): 19-23. [陈雄庭, 王泽云, 吴胡蝶, 等, 2002. 橡胶树新种植材料—自根幼态无性系[J].热带作物学报, 23 (1): 19-23.]
- DAI XM, HUANG TD, LI J, et al, 2016. Effects of AgNO_3 on morphology and somatic embryogenesis of anther callus of *Hevea brasiliensis* [J]. Guihaia, 36 (12): 1426-1431. [戴雪梅, 黄天带, 李季, 等, 2016. AgNO_3 对橡胶树花药愈伤组织形态及体胚发生的影响[J]. 广西植物, 36 (12): 1426-1431.]
- GUAN Y, LI L, LIANG GP, et al, 2015. Comparison of callus induction, somatic embryogenesis and plant regeneration from different clones of *Hevea brasiliensis* anther [J]. Chin Agric Sci Bull, 31(4): 40-44. [管艳, 李玲, 梁国平, 等, 2015. 不同品种橡胶树花药愈伤组织诱导、分化及植株再生的比较[J].中国农学通报, 31 (4): 40-44.]
- GUI MC, LI L, GUAN Y, et al, 2016. Effects of MS elements on in vitro culture of micro-shoots of *Hevea brasiliensis* [J]. Chin J Trop Crop, 37 (10): 1849-1854. [桂明春, 李玲, 管艳, 等, 2016. MS 营养成分对橡胶树幼态微型芽条培育的影响[J].热带作物学报, 37 (10): 1849-1854.]
- GU XC, XU ZW, CHENG J, et al, 2018. Effects of phytagel and sucrose on regeneration efficiency of somatic embryos and growth of regenerated plants in *Hevea brasiliensis* [J]. Guihaia, 38(9): 1164-1171. [顾晓川, 徐正伟, 成镜, 等, 2018. 植物凝胶和蔗糖对橡胶树体胚植株再生的影响[J]. 广西植物, 38 (9): 1164-1171.]
- GUI MC, LI L, GUAN Y, et al, 2019. Effects of MS medium nutrients on anther callus induction of *Hevea brasiliensis* [J]. Plant Physiology Journal, 55 (08): 1239-1246. [桂明春, 李玲, 管艳, 等, 2019. MS 营养成分对橡胶树花药愈伤组织诱导效果的评价[J].植物生理学报, 55 (08): 1239-1246.]

- HUANG DG, CHEN MY, Lü MN, et al, 1982. Study on anther culture in rubber tree [J]. Fujian Sci Technol Trop Crop: 1-11. [黄德贵, 陈曼雅, 吕美娜, 等, 1982. 巴西橡胶花药培养的研究[J].福建热作科技: 1-11.]
- HUA YW, HUANG HS, HUANG TD, et al, 2007-10-25. Rapid propagation of *Hevea brasiliensis* self-rooting juvenile-type clone with embryos: 200710184892.5 [P]. [华玉伟, 黄华孙, 黄天带, 等, 2007-10-25.利用胚状体快速繁殖巴西橡胶树自根幼态无性系的方法: 200710184892.5 [P].]
- HUANG TD, HUANG HS, LI WG, et al, 2008-1-17. Method for establishing rubber tree internal integument regeneration system: 200810001452.6 [P]. [黄天带, 黄华孙, 李维国, 等, 2008-1-17. 一种建立橡胶树内珠被再生体系的方法: 200810001452.6 [P].]
- HUA YW, HUANG TD, HUANG HS, 2010. Micropropagation of self—rooting juvenile clones by secondary somatic embryogenesis in *Hevea brasiliensis* [J]. Plant Breed, 129(2): 202-207.
- LI L, GUAN Y, LIANG GP, et al, 2014. Effects of TDZ on callus induction and somatic embryogenesis of *Hevea brasiliensis* anther [J].Chin Agric Sci Bull, 30(1): 20-25. [李玲, 管艳, 梁国平, 等, 2014. TDZ 对橡胶树花药愈伤组织诱导和体细胞胚发生的影响[J].中国农学通报, 30 (1): 20-25.]
- LIANG GP, GUAN Y, LI L, et al, 2016. Studies on ovule in vitro and somatic embryo regeneration of *Hevea brasiliensis* [J]. Trop Agric Sci & Technol, 39 (3): 1-5+47. [梁国平, 管艳, 李玲, 等, 2016. 橡胶树胚珠离体培养与体胚植株再生的研究[J].热带农业科技, 39 (3): 1-5+47.]
- TAN DG, SUN XP, ZHANG JM , 2005. Tissue culture of *Hevea brasiliensis* Muell. Arg [J]. Plant Physiology Communications, 41 (5): 675. [谭德冠, 孙雪飘, 张家明, 2005.巴西橡胶树的组织培养[J].植物生理学通讯, 41 (5): 675.]
- TAN DG, SUN XP, Fu LL, et al, 2011. Classification and improved cultural conditions for the somatic embryogenesis of *Hevea* anther [J]. Chin J Trop Crop, 32 (7): 1290-1295. [谭德冠, 孙雪飘, 付莉莉, 等, 2011.巴西橡胶树花药体胚发生类型及其培养条件的改良[J].热带作物学报, 32 (7): 1290-1295.]
- YANG JW, HUANG TD, HUA YW, et al, 2012. Cold tolerance analysis of the self-rooting juvenile clones of *Hevea brasiliensis* [J]. Chin J Trop Crop, 33 (7): 1235-1238. [杨加伟, 黄天带, 华玉伟, 等, 2012. 巴西橡胶树自根幼态无性系耐低温分析[J]. 热带作物学报, 33 (7): 1235-1238.]
- XU K, CHEN QQ, YANG CX, et al,2019. Induction and proliferation of embryogenic callus on improved varieties of fastgrowing *Pinus elliottii* [J/OL]. Guihaia, 1-8[2020-07-21]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/45.1134.Q.20191112.0936.002.html>. [徐康, 程强强, 杨春霞, 等, 2019. 速生湿地松良种胚性愈伤组织诱导与增殖[J/OL].广西植物: 1-8[2020-07-21].<http://kns.cnki.net/kcms/detail/45.1134.Q.20191112.0936.002.html>.]

西双版纳橡胶林与其他林分类型生物量及碳储量的比较

徐睿*, 谢江*, 岩香甩, 张勇波, 陈国云, 黄菁, 周会平**
云南省热带作物科学研究所, 云南景洪 666100

摘要: 为探明橡胶林的生物量和碳储量, 以更好地了解橡胶林在区域生态系统中的碳汇作用, 研究了西双版纳地区成龄橡胶林及另外 2 种主要人工林分类型——澳洲坚果林和茶园的生物量与碳储量及其分配特征。采用完全收获法采集平均标准木全株, 划取样方采集土壤、林下植被和枯落物, 并对所有样品进行实际称重和含碳量测定, 进而计算生物量和碳储量。结果表明: 橡胶林的总生物量为 $(289.18 \pm 15.15) \text{t/hm}^2$, 其中林木生物量占比 97.09%; 橡胶林的总碳储量为 $(285.02 \pm 15.12) \text{t/hm}^2$, 其中土壤碳储量占比 54.18%、林木碳储量占比 45.30%。橡胶林的总生物量远高于茶园 $[(56.82 \pm 12.10) \text{t/hm}^2]$ 和澳洲坚果林 $[(44.46 \pm 3.83) \text{t/hm}^2]$, 但三者生物量分配特征相同, 均是林木生物量占绝对大部分而枯落物和林下植被占比很小; 橡胶林的总碳储量也远高于澳洲坚果林 $[(162.70 \pm 3.83) \text{t/hm}^2]$ 和茶园 $[(112.03 \pm 8.52) \text{t/hm}^2]$, 且三者都是土壤碳储量占比最大、林木碳储量其次, 但澳洲坚果林和茶园都是土壤碳储量的占比(88.18%和 77.64%)远高于林木碳储量的占比(10.76%和 21.70%)。尽管与热带雨林相比(平均生物量 362~424 t/hm^2 , 平均碳储量 210~311 t/hm^2), 橡胶林的植物体生物量和碳储量确实低很多, 但与其他类型人工林或种植园相比, 成熟橡胶林的生物量和碳储量是比较高的, 而橡胶林复合种植模式可进一步显著促进林分生物量的积累和储碳固碳能力, 提高橡胶林生态系统的生产力和碳汇功能。本研究为评估橡胶树种植对区域生态系统碳平衡的影响提供了基础依据。

关键词: 橡胶林; 生物量; 碳储量; 澳洲坚果林; 茶园; 西双版纳
中图分类号: **文献标识码:**

Comparison on Biomass and Carbon Storage of Rubber Plantation with Other Forest Types in Xishuangbanna

XU Rui, XIE Jiang, YAN Xiangshuai, ZHANG Yongbo, CHEN Guoyun, HUANG Jing, ZHOU Huiping*
Yunnan Institute of Tropical Crops, Jinghong, Yunnan 666100

Abstract In order to better understand the role of rubber plantation in carbon sink of local system, the biomass, carbon storage and distribution characteristics of mature rubber plantation, macadamia plantation and tea plantation in Xishuangbanna were studied. The whole plants of average woods were completely harvested, and the samples of soil, undergrowth and litter were collected by quadrat sampling method. After the weight and C content of all samples were practically measured, the biomass and carbon storage were calculated. The results showed that the total biomass of rubber plantation was $(289.18 \pm 15.15) \text{t/hm}^2$, and of which wood biomass accounted for 97.09%. The total carbon storage of rubber plantation was $(285.02 \pm 15.12) \text{t/hm}^2$, and of which soil carbon reserve accounted for 54.18% and wood carbon reserve accounted for 45.30%. The total biomass of rubber plantation was much higher than that of tea plantation $[(56.82 \pm 12.10) \text{t/hm}^2]$ and macadamia plantation $[(44.46 \pm 3.83) \text{t/hm}^2]$, but showing same distribution characteristics that wood biomass was the majority while litter and undergrowth was the fraction. The total carbon storage of rubber plantation was also much higher than macadamia plantation $[(162.70 \pm 3.83) \text{t/hm}^2]$ and tea plantation $[(112.03 \pm 8.52) \text{t/hm}^2]$, and the proportion of soil carbon reserves was the largest, followed by wood carbon reserves. However, in macadamia plantation and tea plantation, the proportion of soil carbon reserves (88.18% and 77.64%) was far higher than that of wood carbon reserves (10.76% and 21.70%). Although the biomass and carbon storage of rubber plantation were much lower than that of tropical rainforest (average biomass 362~424 t/hm^2 , average carbon storage 210~311 t/hm^2), mature rubber plantation indeed had higher biomass and carbon storage than other types of plantation. Furthermore, adopting mixed rubber plantation can significantly promote biomass accumulation as well as carbon storage and sequestration, improving the net productivity and carbon sink of rubber plantation ecosystem. This study can provided basis for assessing the impact of rubber plantation on the carbon balance of regional ecosystem.

Keywords rubber plantation; biomass; carbon storage; macadamia plantation; tea plantation; Xishuangbanna

土地利用/覆被变化会对陆地生态系统生产力、碳储量及其分配格局产生巨大影响, 尤

收稿日期 2020-02-20; 修回日期

基金项目 云南省热带作物科技创新体系建设专项资金 (No. RF2019)。

*第二作者是开展实地实施的主要负责人, 是本研究第一作者的同等贡献作者。

作者简介 徐睿 (1989—), 女, 硕士, 助理研究员, 研究方向: 热带作物生理与生态; 谢江 (1986—), 男, 硕士, 助理研究员, 研究方向: 热带作物生理与生态。 **通信作者 (Corresponding author): 周会平 (Zhou Huiping), E-mail: pingse77@163.com。

其是在热带地区,热带雨林具有最高的生产力、物质积累能力和碳汇功能,转变为生产和固碳能力较弱的其他林地或农田,将造成净生产力和碳储量的严重下降^[1-2]。处于热带北缘的我国云南省西双版纳地区,土地总面积约 196 万公顷,拥有独特的热带气候条件和丰富的热带生物资源,分布着目前我国最完整、最典型、面积最大的热带雨林^[3-6]。然而,近半个多世纪里,西双版纳地区经历了最为剧烈的土地利用和地表覆被变化。上世纪 50 年代西双版纳的天然林覆盖率为 70%~80%,到 1984 年已大幅下降至 34%,而目前可能只有 10%左右,且破碎化严重,主要分布在西双版纳国家自然保护区内。而与此同时,橡胶种植面积一直在不断扩大,尤其是经过 2000 年前后的爆发式增长,曾一度达到 30 万公顷以上,超过全区土地面积的 16%,其中很大一部分是由热带雨林砍伐开垦成的,另外还有一部分是次生林及其他农用耕地^[7-11]。除了天然林和橡胶林,目前西双版纳的林分类型还有一些人工开垦的其他经济林或种植园,其中面积较大的是传统发展产业茶园(约 6 万公顷)和新兴发展中的产业澳洲坚果林(约 1 万公顷)。这些土地利用状况的变化,改变了西双版纳地区的植被覆盖成分和生态系统的组成,对区域气候环境和生态平衡等很多方面产生了极大影响,包括区域碳储量和碳循环方面^[12-17]。

近些年来,橡胶林作为西双版纳地区面积最大的人工林生态系统,已成为众多研究者关注的对象,对其生物量与碳储量开展过一些调查研究。贾开心等^[18]对不同海拔树龄 14 a 的橡胶林进行了地上生物量测定,并分析了橡胶林生物量随海拔呈现的变化趋势;唐建维等^[19]和庞家平^[20]利用 30 株不同年龄和径阶的橡胶树样木数据生物量回归模型,推算了不同林龄橡胶林的生物量,并结合实测植物和土壤样品碳含量分析了不同林龄橡胶林生态系统的碳储量;宋清海等^[21]实测了 6 个年龄段橡胶林的生长参数,利用生物量回归方程得到了橡胶林的生物量和固碳量,并探讨了橡胶林的固碳潜力;此外,还有研究采用雷达和遥感技术估测橡胶林地上生物量^[22-23]。总的来看,已有研究主要是采用实测法和模型估算法对不同林龄和海拔的橡胶林进行了生物量和碳储量测算,建立了生物量估算模型,这些工作为准确客观地评估西双版纳地区的生产力和碳循环提供了基础。但是,由于各研究采用的测算方法、取样地点、研究尺度等不尽一致,导致测算结果有所差异。一般来说,实际测量法更为准确,但其工作量大,可测样品量有限;模型估算法准确性低些,但快速简便,可实现较大尺度测算。此外,以往这些研究主要都是单一针对橡胶林开展测算,而针对橡胶林与其他林分进行测算比较的研究较少。因此,本研究通过对西双版纳地区面积最大的人工林生态系统——橡胶林,以及另外 2 种面积较大的人工林类型——澳洲坚果林和茶园,开展生物量与碳储量及其分配格局的研究,并与热带雨林进行比较分析,研究区域内橡胶林与其他主要人工林以及热带雨林的生物量及碳储量差异,有助于客观评价橡胶林在整个生态系统中的地位和作用,为研究该区域生态系统碳储量的时空演变特征提供基础数据,也可为深入探讨土地利用方式和覆盖植被改变对区域碳循环和碳平衡的影响提供依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究地位于云南省西双版纳傣族自治州(21°08'~22°36'N, 99°56'~101°50'E),属北热带季风气候。一年可分为干热季、雨季及雾凉季 3 季,干热季(3—5 月)气温较高,雨量少;雨季(6—10 月)气候湿热,85%的雨水集中在此期间降落;雾凉季(11 月—翌年 2 月份)降水量减少,但早晚浓雾弥漫,空气湿度较大。年均降雨量 1557 mm,年均相对湿度 86%。年均气温 21.5 °C,最热月(5 月)均温 25.3 °C,最冷月(1 月)均温 15.5 °C;终年无霜。土壤为砖红壤,pH 值为 6.0 左右,土层较厚^[6,24]。

在研究区内分布的大面积的橡胶林、茶园和澳洲坚果林选取样地。橡胶林样地位于西双版纳州景洪市的云南省热带作物科学研究所江北试验基地(22°02'37.2" N, 100°47'35" E),是以高大橡胶树为唯一优势树种的单优人工群落,群落高 11 m~12 m,冬季完全落叶;橡胶树种植密度为 495 株/hm 左右;取样橡胶树龄 26 a。茶园样地位于景洪市大渡岗乡关坪村(22°15'25.9" N, 100°53'20.4" E),是以小灌木茶树为唯一优势树种的单优人工群落,群落为高约 1.18 m 左右的台地茶,全年常绿,不完全落叶;茶树种植密度为 8746 株/hm²左右;取样茶树龄 24 a。澳洲坚果林样地位于景洪市景哈乡的云南省热带作物科学研究所澳洲坚果试验基地(21°48'41.3" N, 100°59'11.2" E),是以小乔木澳洲坚果树为唯一优势树种的单

优人工群落，群落高 6 m~7 m，全年常绿，不完全落叶；澳洲坚果树种植密度为 357 株/hm²左右；取样澳洲坚果树龄 14 a。3 种林分样地的基本情况见表 1。

表 1 3种林分研究样地的基本信息
Tab. 1 Base information of study sites of 3 plantation types

| 样地 Site | 海拔 Altitude /m | 品种 Variety | 株行距 Spacing | 株数 Plant number /(plant·hm ⁻²) | 平均高度 Average height /m | 定植年份 Planting year | 林下植物 Undergrowth |
|------------|----------------------|---------------|----------------|--|------------------------------|-----------------------|--|
| 橡胶林 | 814 | GT1 | 3 m×7 m | 495 | 11.99 | 1985 | 藿香蓟 (<i>Ageratum conyzoides</i>)、弓果黍 (<i>Cyrtococcum patens</i> (L.) A. Camus)、毛蕨 (<i>Cyclosorus interruptus</i> (Willd.) H. Ito)、肾苞草 (<i>Phaulopsis oppositifolia</i> (J.C. Wendl.) Lindau)、革命菜 (<i>Gynura crepidioides</i> Benth)、飞机草 (<i>Eupatorium odoratum</i>)、潺槁木姜子 (<i>Litsea glutinosa</i> (Lour.) C.B. Rob.)、绞股蓝 (<i>Gynostemma pentaphyllum</i>)、粗毛刺果藤 (<i>Byttneria pilosa</i> Roxb.)、四裂算盘子 (<i>Glochidion assamicum</i> (Muell. Arg.) Hook. f.)、葛藤 (<i>Pueraria lobata</i> (Willd.) Ohwi)、白花酸藤子 (<i>Embelia ribes</i> Burm. f. var. <i>ribes</i>)、鬼针草 (<i>Bidens pilosa</i>)、多脉莎草 (<i>Cyperus diffusus</i> Vahl), 等等 |
| 澳洲坚果林 | 843 | OC、H2 | 4 m×7 m | 357 | 6.70 | 1997 | 小蓬草 (<i>Conyza canadensis</i> (L.) Cronq.)、升马唐 (<i>Digitaria ciliaris</i> (Retz.) Koel.)、藿香蓟、阔叶丰花草 (<i>Borreria latifolia</i> (Aubl.) K. Schum.)、山菅兰 (<i>Dianella ensifolia</i>)、蓝花野苘蒿 (<i>Crassocephalum crepidioides</i>)、飞机草, 等等 |
| 茶园 | 887 | 大叶种茶 | 0.4 m×1.5 m | 8746 | 1.18 | 1987 | 小蓬草、蓝花野苘、藿香蓟、阔叶丰花草、白花蛇舌草 (<i>Hedyotis diffusa</i>)、飞机草, 等等 |

1.2 方法

1.2.1 林木生物量及碳含量测定 分别在橡胶林、澳洲坚果林和茶园内划 30 m×50 m 标准样地，然后进行每木（茶园选取 30 株）检尺，计算出样地内植株平均胸径和平均树高。每个林分样地内选取 3 株平均木作为标准木，采用全株收获法进行生物量测定。为了便于准确计算植株各部位的生物量分配特征，采取了器官分类、分级收获和称重的方法^[20]。所有叶片采集装袋，按袋称取鲜重；树枝分粗、中、细 3 个等级，分别称重；树干锯成多个 1 m 茎段，分别称重；根系分成主根、粗根、中细根和细根，分别称重。称完鲜重后，根据后期测量需要，每器官每等级均按比例称取 2 份样品：一份置于恒温（叶 75 °C，干、枝、根 105 °C）烘箱中烘干至恒重后，测定各器官样品的干重和含水率；另一份于室内自然风干后，采用重铬酸钾-外加热硫酸氧化法测定有机碳含量^[25]。

1.2.2 林下植被与枯落物生物量及碳含量测定 在每个标准样地内随机选取 5 个 2 m×2 m 的样方，采用全部收获法采集样方内的植被，带回实验室称量鲜重后分成两份样品，其中一份样品放置于 75 °C 的恒温烘箱中烘至恒重，称干重；待另一份风干后，采用重铬酸钾-外加热硫酸氧化法测定有机碳含量。

在每个标准样地内以“Z”形设置 10 个面积为 1 m×1 m 的样方，完全收集样方内的所有枯落物，将收集到的叶、枝、花果及其他杂物等带回实验室称量鲜重。然后按比例称取 2 份样品：其中一份置于恒温（叶 75 °C，干、枝、根 105 °C）烘箱中烘干至恒重，称干重；另一份风干后，采用重铬酸钾-外加热硫酸氧化法测定有机碳含量。

1.2.3 土壤碳含量测定 在每个标准样地内随机划取 3 个“S”形，每个“S”形上选取 5 个样点，每个样点处用土钻钻取 5 个深度层次（0~10 cm、10~20 cm、20~40 cm、40~60 cm、60~100 cm）的土壤样品。将所有钻取得的土壤样品带回实验室，待风干之后粉碎、过筛，然后采用重铬酸钾-外加热硫酸氧化法测定土壤碳含量。

1.2.4 林分碳储量计算 3 种人工林分碳储量的计算包括林木层、林下植被层、枯落物层和土壤层四个方面的碳储量。以植株各器官生物量乘以各器官的碳含量得到各器官的碳储量，然后累计相加得到植株碳储量，再根据样地内植株种植密度核算出单位面积上的林木碳储量。林下植被和枯落物的碳储量也是由单位面积上的生物量与其碳含量相乘而得。

土壤碳储量通过土壤容重和其碳含量计算，公式如下：

$$S_{SOD} = \sum_{i=1}^n R_i \times D_i \times C_i$$

式中： S_{SOD} 为特定深度的土壤有机碳储量 (t/hm^2)， R_i 第 i 层土壤容量 (g/cm^3)， D_i 为第 i 层土壤厚度 (cm)， C_i 为第 i 层土壤有机碳含量 (%)， n 为土层数^[26]。

1.3 数据分析

所有样地的野外调查数据、生物量测量数据和碳含量的测定值均输入 Excel 10.0 软件进行整理和统计。在 SPSS 17.0 软件上采用单因素方差分析 (ANOVA) 进行差异显著性检验，以对各林分之间生物量及碳储量做比较分析。采用 SigmaPlot 14.0 软件作图。

2 结果与分析

2.1 林分生物量特征

2.1.1 林木生物量及其分配特征 三种林木的生物量在植株各器官的分配比例存在很大差异 (图 1)。在橡胶树的生物量中，茎干是占绝对优势的 (>65%)，其次是枝 ($\approx 21\%$) 和根 ($\approx 12\%$)，而叶所占的比例很小 (<2%)；澳洲坚果树的生物量以枝占主要部分 ($\approx 45\%$)，其次是叶 ($\approx 20\%$) 和根 ($\approx 20\%$)，而茎干所占比例较小 (<15%)；茶树的生物量主要集中在枝 ($\approx 50\%$)，其次是根 (<35%)，其次是叶 (<15%)，而茎干所占比例极小 (<1%)。

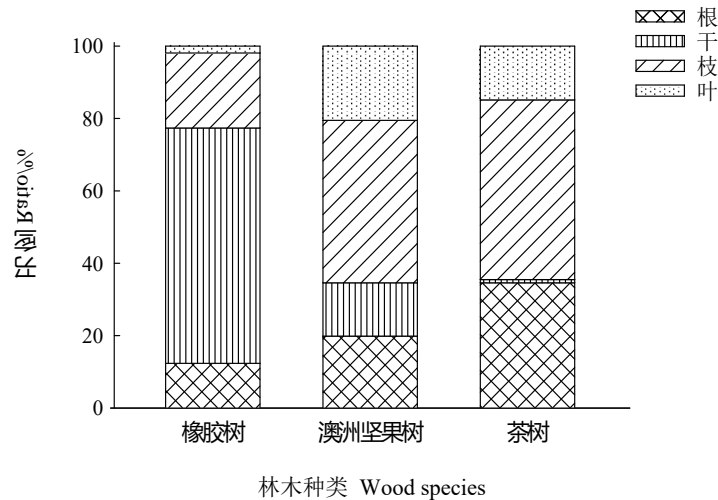


图 1 3 种林木各器官生物量分配特征

Fig. 1 Allocation characteristics of biomass in various organs of 3 studied wood species

3 种人工林分单位面积内积累的林木生物量存在差异。表 2 表明，总体上，橡胶林的林木生物量远远大于茶园和澳洲坚果林 ($P < 0.05$)。按器官分别来看，橡胶林茎干的生物量远大于澳洲坚果林和茶园 ($P < 0.05$)；橡胶林枝和根的生物量也显著大于澳洲坚果林 ($P < 0.05$)，但与茶园差异不显著 ($P > 0.05$)；三者叶的生物量基本相当 ($P > 0.05$)。

表 2 3 种林分的林木生物量及其分配特征
Tab. 2 Wood biomass and allocation of 3 studied plantation types

| 林分类型 Plantation type | 林木株数 Number of woods /(plant·hm ⁻²) | 叶 Leaf /(t·hm ⁻²) | 枝 Branch /(t·hm ⁻²) | 干 Trunk /(t·hm ⁻²) | 根 Root /(t·hm ⁻²) | 总生物量 Total biomass /(t·hm ⁻²) |
|-------------------------|--|-------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|---|
| 橡胶林 | 495 | 5.33±0.46 ^{Aa} | 57.97±9.8 ^{Ab} | 182.12±5.94 ^{Ac} | 34.52±6.67 ^{Ad} | 279.94±21.58 ^{Ae} |
| 澳洲坚果林 | 357 | 7.84±1.07 ^{Aa} | 17.12±3.72 ^{Bb} | 5.62±0.52 ^{Bac} | 7.59±0.85 ^{Bad} | 38.16±5.68 ^{Be} |
| 茶园 | 8746 | 7.97±3.24 ^{Aa} | 26.61±14.6 ^{ABabc} | 0.48±0.32 ^{Cab} | 18.55±6.42 ^{ABcd} | 53.60±18.84 ^{Bd} |

注：同一列不同大写字母表示不同林分间碳含量差异显著 ($P<0.05$)，同一行不同小写字母表示不同器官间碳含量差异显著 ($P<0.05$)。

Note: The lowercase letters in the same row indicate significant differences among different organs ($P<0.05$), and the capital letters in the same column indicate significant differences among different plantations ($P<0.05$).

2.1.2 林分生物量特征 如表 3 所示，橡胶林的林下植被层生物量和枯落物层生物量与澳洲坚果林差异不大 ($P>0.05$)，但显著高于茶园 ($P<0.05$)。三种林分的总生物量（包括林木层、林下植被和枯落物）大小顺序与林木生物量大小趋势一致，也是橡胶林远大于茶园和澳洲坚果林 ($P<0.05$)。其原因是，各林分生物量组成中均是林木生物量比例占绝对优势 (85.5%~97.06%)，而枯落物生物量占比较小 (2.82%~12.76%)，林下植被层生物量占比更是极小 (0.12%~1.74%)。

表 3 3种林分的生物量及其分配特征
Tab. 3 Carbon storage and allocation of 3 studied plantation types

| 林分类型 Plantation type | 指标 Index | 林木层 Wood | 林下植被层 Undergrowth | 枯落物层 Litter | 总生物量 Total |
|-------------------------|---------------------------|----------------------------|--------------------------|-------------------------|----------------------------|
| 橡胶林 | 生物量/(t·hm ⁻²) | 279.94±21.58 ^{Aa} | 0.35±0.14 ^{Ab} | 8.13±2.51 ^{Ac} | 289.18±15.15 ^{Ad} |
| | 比例/% | 97.06 | 0.12 | 2.82 | |
| 澳洲坚果林 | 生物量/(t·hm ⁻²) | 38.16±5.68 ^{Ba} | 0.78±0.37 ^{ABb} | 5.70±1.86 ^{Ac} | 44.46±3.83 ^{Bd} |
| | 比例/% | 85.50 | 1.74 | 12.76 | |
| 茶园 | 生物量/(t·hm ⁻²) | 53.60±18.84 ^{Ba} | 0.81±0.10 ^{Bb} | 2.94±1.00 ^{Bc} | 56.82±12.10 ^{Bd} |
| | 比例/% | 93.45 | 1.42 | 5.13 | |

注：同一列不同大写字母表示不同林分间碳含量差异显著 ($P<0.05$)，同一行不同小写字母表示不同器官间碳含量差异显著 ($P<0.05$)。

Note: The lowercase letters in the same row indicate significant differences among different organs ($P<0.05$), and the capital letters in the same column indicate significant differences among different plantations ($P<0.05$).

2.2 林分碳含量特征

每种林木各器官的碳含量不同。橡胶树叶、枝、干、根的碳含量分别为 505.17、463.14、463.05、447.33 g/kg，高低顺序为叶>枝≈干>根；澳洲坚果树叶、枝、干、根的碳含量分别为 497.00、473.56、469.58、452.19 g/kg，高低顺序为叶>枝>干>根；茶叶、枝、干、根的碳含量分别为 465.49、457.67、462.50、442.20 g/kg，高低顺序为叶>干>枝>根；总体来看，都是叶的含碳量最高，根的含碳量最低，枝和干介于二者之间。

不同林分各部分的碳含量有所不同。就各器官的碳含量来说，叶碳含量的高低顺序为橡胶树>澳洲坚果树>茶树；枝、干和根碳含量的高低顺序为澳洲坚果树>橡胶树>茶树。就林下植被的碳含量来说，三种林分表现为茶园[(24.75±11.83)g/kg]≈橡胶林[(24.47±3.32)g/kg]>澳洲坚果林[(18.75±0.23)g/kg]；就枯落物的碳含量来说，三者表现为澳洲坚果林[(27.13±5.34)g/kg]>茶园[(21.44±4.28)g/kg]≈橡胶林[(21.26±2.67)g/kg]。就土壤碳含量来说，除表层(0~10 cm)橡胶林土壤的碳含量(24.69 g/kg)高于澳洲坚果林(24.10 g/kg)外，而其他各土层均是澳洲坚果林高于橡胶林，二者各层土壤碳含量均显著高于茶园；从总体趋势来看，三种林分土壤碳含量的垂直分布特征均表现为随着土层深度的增加而逐渐降低，其中橡胶林和澳洲坚果林下降的变幅较大，而茶园下降的变幅较小一些；随土层深度的增加，橡胶林和澳洲坚果林的土壤碳含量与茶园的土壤碳含量差距逐渐缩小(图 2)。

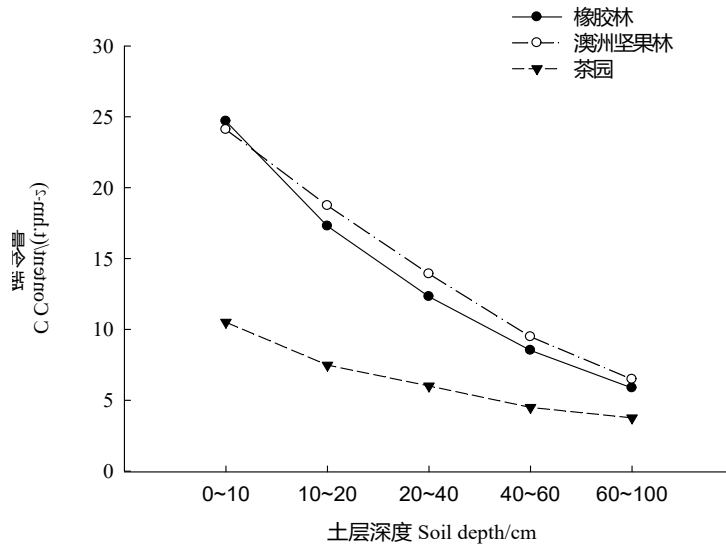


图 2 3 种林分土壤碳含量特征
Fig. 2 The characteristics of soil carbon content of 3 studied plantation types

2.3 林分碳储量特征

橡胶林、澳洲坚果林和茶园的总碳储量主要包括林木层、林下植被层、枯落物层和土壤层共四部分的碳储量。表 5 显示，三种林分的碳储量均是以土壤层碳储量占主要部分（54.18%~88.18%），其次是林木层（10.76%~45.3%），而枯落物层和林下植被层的碳储量占比很小（0.49%~0.98%和 0.04%~0.13%）。三种林分比较而言，总碳储量大小表现为橡胶林>澳洲坚果林>茶园，其中橡胶林的林木层碳储量显著高于澳洲坚果林和茶园（ $P<0.05$ ），土壤层碳储量与澳洲坚果林接近（ $P>0.05$ ）但均显著高于茶园（ $P<0.05$ ）。

表 4 3 种林分的碳储量及其分配特征
Tab. 4 Carbon storage and allocation of three studied plantation types

| 林分类型 Plantation type | 指标 Index | 林木层 Wood | 林下植被层 Undergrowth | 枯落物层 Litter | 土壤层 Soil | 总计 Total |
|-------------------------|---|---------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|----------------------------|
| 橡胶林 | 碳储量 Carbon storage/ (t·hm ⁻²) | 129.11±9.87 ^{Aa} | 0.10 ± 0.04 ^{Ab} | 1.39±0.47 ^{ABc} | 154.42±4.84 ^{Aa} | 285.02±15.12 ^{Ad} |
| | 比例 Ratio/% | 45.30 | 0.04 | 0.49 | 54.18 | 100 |
| 澳洲坚果林 | 碳储量 Carbon storage/ (t·hm ⁻²) | 17.51±2.58 ^{Ba} | 0.13 ± 0.04 ^{Ab} | 1.59±0.08 ^{Ac} | 143.47±1.78 ^{Ad} | 162.70±3.83 ^{Bc} |
| | 比例 Ratio/% | 10.76 | 0.08 | 0.98 | 88.18 | 100 |
| 茶园 | 碳储量 Carbon storage/ (t·hm ⁻²) | 24.31±8.60 ^{Ba} | 0.15±0.08 ^{Ab} | 0.60±0.07 ^{Bc} | 86.98±0.50 ^{Bd} | 112.03±8.52 ^{Cc} |
| | 比例 Ratio/% | 21.70 | 0.13 | 0.54 | 77.64 | 100 |

注：同一列不同大写字母表示不同林分间碳含量差异显著（ $P<0.05$ ），同一行不同小写字母表示不同器官间碳含量差异显著（ $P<0.05$ ）。

Note: The lowercase letters in the same row indicate significant differences among different organs ($P<0.05$), and the capital letters in the same column indicate significant differences among different plantations ($P<0.05$).

3 讨论

3.1 橡胶林的生物量与碳储量

本研究为确保数据的精确性和可靠性，采用的是直接收获和实际测量法得出的生物量和碳储量值，这与庞家平^[20]的研究较为类似，二者研究结果也更具可比性。

经过实测，得出树龄 26 a 的橡胶林总生物量为(289.18±15.15)t/hm²，其中林木层积累生物量(279.94±21.58)t/hm²，枯落物生物量为(8.13±2.51)t/hm²，林下植被生物量为

(0.35±0.14)t/hm²。该研究结果远高于庞家平^[20]测得的树龄 25 a 的橡胶林（林木层+凋落物）的生物量[(176.86 t/hm²)]。测得橡胶林的林木层积累碳储量为(129.11±9.87)t/hm²，也显著高于庞家平^[20]的测量结果（85.46 t/hm²）。但是，本研究最终核算出的总储碳量[(285.02±15.12)t/hm²]明显低于庞家平^[20]的研究结果（312.24 t/hm²），这主要是由于后者测得的土壤层碳储量值（223.87 t/hm²）远高于本研究[(154.42±4.84)t/hm²]所导致的。可见，除了研究方法，样地条件、土壤质量、林木树龄、种植方式与管理水平以及测量误差大小等方面的差异，均有可能导致研究结果产生差异。但总的来看，成熟橡胶林生态系统的总生物量不到 300 t/hm²，其中植物体生物量在 200 t/hm² 上下；橡胶林总碳储量约为 300 t/hm²，其中植物体碳储量在 100 t/hm² 上下。以上这些研究结果显示，成熟的橡胶林生态系统具有较高的生物量和储碳量，可以被看做是一个碳汇，对区域碳平衡发挥着重要作用^[27-28]。

3.2 橡胶林与其他林分的比较

西双版纳的热带雨林植被类型为热带雨林、热带季节性湿润林、热带季雨林和热带山地常绿阔叶林四个主要植被型^[29]，均为群落层次结构复杂、物种多样性丰富的原始森林生态系统，具有高效的物质能量循环能力和罕见的高生产力^[30-33]。而以高大乔木橡胶树为唯一优势物种的橡胶林，林下植被稀少，群落层次结构极为简单，与热带雨林是完全不同的森林生态系统类型，二者在碳吸收和固碳方面也存在很大差异^[34-36]。沙丽清^[34]的研究表明，西双版纳季节雨林的碳储量（180.46 t/hm²）高于树龄 22 a 的橡胶林碳储量（169.75 t/hm²）。宋清海等^[21]发现适宜和次适宜种植区橡胶林碳储量最大值均明显低于西双版纳热带季节雨林生态系统的总固碳量。本研究测得的成熟橡胶林的生物量[(289.18±15.15)t/hm²]和碳储量[(285.02±15.12)t/hm²]远低于同区域的热带季节雨林的生物量[(423.91±109.70)t/hm²]和碳储量[(311.41±66.46) t/hm²]^[37]，也低于石灰山季雨林的生物量[(361.59±100.64)t/hm²]和碳储量[(210.01±58.13)t/hm²]^[38]。因此，热带雨林转变为橡胶林其生物量和碳储量的确会显著减少。另外，也有研究对橡胶林和次生林进行过比较研究，唐建维等^[39]发现除幼龄期橡胶林的生物量积累稍低于次生林外，此后各林龄的橡胶林生物量均远大于林龄相近的次生林；而方丽娜等^[36]的研究却表明，次生林转变为橡胶林后，土壤养分及植物碳输入均明显减少，土壤微生物生物量碳显著降低。可见，次生林转变成橡胶林后的情况较为复杂些，尚需开展更多研究。

一般来讲，天然林转变为人工林或种植园，生物量都会显著降低^[40-41]。但是，由于不同人工林或种植园其优势种不同，种植密度及管理等方面也存在很大差异，因此天然林转变为不同的人工林或种植园其生物量的降低程度是不同的。本研究对橡胶林的生物量和储碳量进行测算的同时，对同区域内分布面积较大的另外 2 种人工林群落澳洲坚果林和茶园也进行了对比，发现澳洲坚果林和茶园的生物量[(44.46±3.83)t/hm²和(56.82±12.10)t/hm²]和碳储量[(162.70±3.83)t/hm²和(112.03±8.52)t/hm²]是远远低于橡胶林的，其中二者林木层的生物量[(38.16±5.68)t/hm²和(53.60±8.84)t/hm²]远低于橡胶林，也比同地区近龄的次生林（林龄 14 a 的 53.72 t/hm²和林龄 22 a 的 100.90 t/hm²）低很多^[39]。可见，相比其他人工经济林或种植园，橡胶林确是一种生物量和碳储量相对较高的人工林分类型。然而，近几年由于国际胶价暴跌，为维持经济收入或追求短期收益，西双版纳地区已有许多橡胶林被砍伐改种澳洲坚果、茶、香蕉或其他经济作物，而这些经济作物在生物量积累和碳汇能力方面明显低于橡胶树。该状况若持续发生更长时间或更大规模，西双版纳地区可能又要经历一次土地利用方式的显著转变和生态系统的剧烈扰动，这正是目前该地区的天然橡胶产业、生态环境保护以及农业经济与社会发展都面临的巨大挑战。

3.3 橡胶林复合种植模式

由于橡胶林单一物种大规模种植模式造成了土质下降、水土流失、生物多样性降低等负面生态影响。对于这个问题，除了多年来在退胶还林和植被恢复等方向开展了很多尝试外，橡胶林复合生态系统是相关学者和从业者努力的另一个方向。实际上，前些年在环境保护意识较弱、高胶价高收益的状况下，相关研究实验或者实践推广并未被十分重视，而近年的形势发展正在逐渐证明其应该是西双版纳地区实现天然橡胶产业可持续发展、生态环境保护、经济与社会发展多方面需求的最为有效的途径。

这些年，已有研究者对某些橡胶林复合种植模式进行了生物量和碳储量方面的研究。冯耀宗^[42]比较了几种橡胶林复合群落发现，种类相对简单的复合群落其生物量、生物生产力及其经济生产力均明显地低于较复杂的复合群落；沈守良^[43]对高低不同海拔区橡胶纯林与

胶茶复合群落进行研究发现,高海拔区的胶茶群落单位面积的生物量、干胶产量和地上部分净初级生产力均大于纯林种植;张森等^[44]比较研究了橡胶树+萝芙木、橡胶树+大叶千斤拔复合系统与橡胶纯林的年生长量及生物量,发现在橡胶林下种植其他植物种类,能显著提高林分的生物量积累;萧自位等^[45]研究了橡胶+茶和橡胶+咖啡和橡胶+多种植物以及橡胶纯林共4种不同橡胶林种植模式的生物量,结果也表明各复合种植模式能显著促进其生物量的积累。莫慧珠等^[46]研究西双版纳不同复合农林模式橡胶林碳储量及固碳潜力发现,构建橡胶+大叶千斤拔、橡胶+可可等复合农林橡胶林可总体提高橡胶林植被碳储量与固碳潜力,提高土壤碳储量,但固碳潜力因增汇植物种类、种植密度、生长速度不同而大小不一。可见,以往研究均表明,与单一种植模式相比,橡胶林复合种植模式可显著提升林分生产力和碳汇能力。

总之,本研究表明橡胶林的生物量与碳储量远低于热带雨林,但是显著高于本地区的次生林、其他人工经济林或种植园,在西双版纳地区是一种仅次于热带雨林、生产力较高的森林生态系统;同时橡胶林复合种植模式能够显著提升生态系统的生物量生产力和储碳固碳能力。由于热带雨林的破坏几乎是不可逆的,即使通过退胶还林或植被恢复等措施重造人工雨林或者恢复成次生林,其生产力和碳汇能力都很难再还原到原状态和水平,有的甚至还不如橡胶林。因此,今后应大力推动橡胶林复合种植或者环境友好型生态胶园建设,一方面能够大大提升橡胶林的生态功能或碳汇效益,另一方面亦能增加胶园经济产出,以及提高产业抵御市场风险的能力,促进橡胶树种植业的健康与可持续发展。此外,必须加大力度保护好现有热带雨林,坚决禁止砍伐,而次生林可考虑进行选择性和科学性合理开发利用,发展成有较高经济效益和生态效益的经济林或种植园。

参考文献

- [1] 杨景成, 韩兴国, 黄建辉, 等. 土地利用变化对陆地生态系统碳贮量的影响[J]. 应用生态学报, 2003, 14(8): 1385-1390.
- [2] Houghton R A, Hackler J L. Emissions of carbon from forestry and land-use change in tropical Asia[J]. Global Change Biology, 1999, 5(4): 481-492.
- [3] Zhu H. Ecological and biogeographical studies on the tropical rainforest of south Yunnan, SW China with a special reference to its relation with rain forests of tropical Asia[J]. Journal of Biogeography, 1997, 24: 647-662.
- [4] 朱 华, 王 洪, 李保贵, 等. 西双版纳热带季节雨林的的研究[J]. 广西植物, 1998, 18(4): 370-383.
- [5] 杨 清, 韩 蕾, 陈 进, 等. 西双版纳热带雨林的的价值、保护现状及其对策[J]. 广西农业生物科学, 2006, 25(4): 341-348.
- [6] 周会平, 魏丽萍, 谢 江, 等. 西双版纳橡胶林、澳洲坚果林凋落物动态[J]. 安徽农业大学学报, 2017, 44(3): 422-428.
- [7] 刘文俊, 马友鑫, 胡华斌, 等. 滇南热带雨林区土地利用/覆盖变化分析—以西双版纳勐仑地区为例[J]. 山地学报, 2005, 23(1): 71-79.
- [8] Li H M, Ma Y X, Aide T M, *et al.* Past present and future land-use in Xishuangbanna, China and the implications for carbon dynamics[J]. Forest Ecology and Management, 2008, 255: 16-22.
- [9] Xu J C, Grumbine R E, Beckschafer P. Landscape transformation through the use of ecological and socioeconomic indicators in Xishuangbanna Southwest China Mekong Region[J]. Ecological Indicators, 2014, 36: 749-756.
- [10] 宋艳红, 史正涛, 王连晓, 等. 云南橡胶树种植的历史、现状、生态问题及其应对措施[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(8): 179-183.
- [11] 刘怡媛, 肖池伟, 李 鹏, 等. 基于 CR_{NBR} 物候算法的西双版纳橡胶成林提取及时空变化研究[J]. 地球信息科学学报, 2019, 21(3): 467-474.
- [12] Li H M, Aide T M, Ma Y X, *et al.* Demand for rubber is causing the loss of high diversity rain forest in SW China[J]. Biodiversity and Conservation, 2007, 16(6): 1731-1745.
- [13] 张修玉, 宋巍巍, 许振成, 等. 西双版纳区域植被碳储量时空演变特征[J]. 生态环境学报, 2013, 22(7): 1105-1110.
- [14] Fox J, Castella J C, Ziegler A D, *et al.* Rubber plantations expand in mountainous Southeast Asia: What are the consequences for the environment?[J]. Asia Pacific Issues, 2014, 114: 1-8.
- [15] Ahrends A, Hollingsworth P, Ziegler A, *et al.* Current trends of rubber plantation expansion may threaten biodiversity and livelihoods[J]. Global Environmental Change, 2015, 34: 48-58.
- [16] Yang X, Blagodatsky S, Lippe M, *et al.* Land-use change impact on time-averaged carbon balances: Rubber expansion and reforestation in a biosphere reserve, South-West China[J]. Forest Ecology and Management, 2016, 372: 149-163.
- [17] 刘佳丽, 杜荣祥, 温 馨, 等. 西双版纳景观格局时空变化及其生态效应研究[J]. 环境科学与管理, 2016, 41(9): 167-171.

- [18] 贾开心, 郑 征, 张一平. 西双版纳橡胶林生物量随海拔梯度的变化[J]. 生态学杂志, 2006, 25(9): 1028-1032.
- [19] 唐建维, 庞家平, 陈明勇, 等. 西双版纳橡胶林的生物量及其模型[J]. 生态学杂志, 2009, 28(10): 1942-1948.
- [20] 庞家平. 西双版纳橡胶林的碳储量及其分配格局[D]. 西双版纳: 中国科学院西双版纳热带植物园, 2009.
- [21] 宋清海, 张一平. 西双版纳地区人工橡胶林生物量、固碳现状及潜力[J]. 生态学杂志, 2010, 29(10): 1887-1891.
- [22] 罗洪斌, 舒清态, 王 强, 等. 运用机载激光雷达和陆地卫星数据对橡胶林地上生物量的估测[J]. 东北林业大学学报, 2019, 47(7): 56-61.
- [23] 王云飞, 庞 勇, 舒清态. 基于随机森林算法的橡胶林地上生物量遥感反演研究—以景洪市为例[J]. 西南林业大学学报, 2013, 33(6): 38-45.
- [24] 卢华正, 沙丽清, 王 君, 等. 西双版纳热带季节雨林与橡胶林土壤呼吸的季节变化[J]. 应用生态学报, 2009, 20(10): 2315-2322.
- [25] 农业部全国土壤肥料总站. 土壤分析技术规范[M]. 北京: 农业出版社, 1993: 70-75.
- [26] 朱美玲, 王 旭, 王 帅, 等. 海南儋州橡胶树、桉树人工林碳储量及其动态变化[J]. 生态科学, 2016, 35(3): 43-51.
- [27] Song Q H, Tan Z H, Zhang Y P, *et al.* Do the rubber plantations in tropical China act as large carbon sinks?[J]. *Forests*, 2014, 7: 42-47.
- [28] Liu C G, Pang J P, Jepsen M R, *et al.* Carbon stocks across a fifty year chronosequence of rubber plantations in tropical China[J]. *Forests*, 2017, 8(6): 209.
- [29] 朱 华. 论滇南西双版纳的森林植被分类[J]. 云南植物研究, 2007, 29(4): 377-387.
- [30] 冯志立, 郑 征, 张建侯, 等. 西双版纳热带湿性季节雨林生物量及其分配规律研究[J]. 植物生态学报, 1998, 22(6): 481-488.
- [31] 郑 征, 冯志立, 曹 敏, 等. 西双版纳原始热带湿性季节雨林生物量及净初级生产[J]. 植物生态学报, 2000, 24(2): 197-203.
- [32] 吕晓涛, 唐建维, 何有才, 等. 西双版纳热带季节雨林的生物量及其分配特征[J]. 植物生态学报, 2007, 31(1): 11-22.
- [33] 戚剑飞, 唐建维. 西双版纳石灰山季雨林的生物量及其分配规律[J]. 生态学杂志, 2008, 27(2): 167-177.
- [34] 沙丽清. 西双版纳热带季节雨林、橡胶林及水稻田生态系统碳储量和土壤碳排放研究[D]. 西双版纳: 中国科学院西双版纳热带植物园, 2008.
- [35] 张 敏, 邹晓明. 热带季节雨林与人工橡胶林土壤碳氮比较[J]. 应用生态学报, 2009, 20(5): 1013-1019.
- [36] 方丽娜, 杨效东, 杜 杰. 土地利用方式对西双版纳热带森林土壤微生物生物量碳的影响[J]. 应用生态学报, 2011, 22(4): 837-844.
- [37] 吕晓涛. 西双版纳热带季节雨林碳储量的研究[D]. 西双版纳: 中国科学院西双版纳热带植物园, 2006.
- [38] 戚剑飞. 西双版纳石灰山季雨林碳储量及其分配特征[D]. 西双版纳: 中国科学院西双版纳热带植物园, 2007.
- [39] 唐建维, 张建侯, 宋启示, 等. 西双版纳热带次生林生物量的初步研究[J]. 植物生态学报, 1998, 22(6): 489-498.
- [40] Troumbis A Y, Mwmtsas D. Observational evidence that diversity may increase productivity in Mediterranean shrub-lands[J]. *Oecologia*, 2000, 125(1): 101-108.
- [41] 李高飞, 任 海. 中国不同气候带各类型森林的生物量和净第一性生产力[J]. 热带地理, 2004, 24(4): 306-310.
- [42] 冯耀宗. 物种多样性与人工生态系统稳定性探讨[J]. 应用生态学报, 2003, 14(6): 853-857.
- [43] 沈守良. 西双版纳两个海拔胶—茶群落结构和生产力研究[D]. 西双版纳: 中国科学院西双版纳热带植物园, 2007.
- [44] 张 森, 谢志英, 陈蕾西, 等. 西双版纳橡胶-萝芙木-大叶千斤拔复合生态系统的生物量及年生长量[J]. 生态学杂志, 2016, 35(7): 1704-1712.
- [45] 萧自位, 王秀华, 郑 丽, 等. 西双版纳不同胶林复合生态系统的生物量及其分配特征[J]. 中南林业科技大学学报, 2014, 34(2): 108-116.
- [46] 莫慧珠, 沙丽清. 西双版纳不同复合农林模式橡胶林碳储量及固碳潜力[J]. 山地学报, 2016, 34(6): 707-715.

橡胶树胶乳高表达的两个同源法尼基焦磷酸合成酶的功能研究

邓小敏, 杨署光, 晁金泉, 史敏晶, 田维敏

中国热带农业科学院橡胶研究所; 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 海口 570100

【目的】天然橡胶生物合成途径是典型的植物异戊二烯代谢途径, 法尼基焦磷酸是乳管细胞天然橡胶生物合成的起始前体, 弄清楚该起始物的合成酶学性质不仅有助于阐明天然橡胶生物合成机制, 同时也为天然橡胶遗传改良提供坚实的酶学理论基础。**【方法】**对橡胶树热研 7-33-97 基因组中同源的 3 个预测的法尼基焦磷酸合成酶进行序列特征分析, 优选胶乳中高表达的 2 个法尼基焦磷酸合成酶基因构建原核表达载体, 经蛋白纯化和质谱确证后, 进行体外橡胶合成效率检测。**【结果】**橡胶树基因组含有的 3 个预测的法尼基焦磷酸合成酶都含有特征性的两个保守结构域 “DDIMD”和“DDYXD”和相似的三维空间结构, 其中胶乳中高表达的 *HbFPS1* 和 *HbFPS2* 基因编码的蛋白氨基酸序列相似性达到 95%, 说明 *HbFPS1* 和 *HbFPS2* 两个冗余基因可能是进化后期发生的基因拷贝事件。同时 *HbFPS1* 和 *HbFPS2* 基因能够正确地在大肠杆菌中表达, *HbFPS3* 却难以正确折叠而形成包涵体, 体现了这两类蛋白的序列和性质差异。*HbFPS1* 和 *HbFPS2* 蛋白在体外橡胶合成效率检测体系中能够提高橡胶合成效率且存在蛋白剂量相关性特征, 与对照相比, 在特定的反应体系中, 橡胶合成效率随蛋白添加量增加时有不同程度的提高, 且在 100 μg 时促进作用最明显。**【结论】**橡胶树胶乳中高表达的两个冗余基因 *HbFPS1* 和 *HbFPS2* 与 *HbFPS3* 基因编码蛋白的序列差异可能影响酶的活性。*HbFPS1* 和 *HbFPS2* 蛋白确证是胶乳中能够促进天然橡胶合成的功能酶, 并且在一定的含量下能够显著提升天然橡胶合成效率。通过调控 *HbFPS1* 和 *HbFPS2* 酶活性将有助于橡胶树优质高产品种的改良与选育。

关键词: 橡胶树; 法尼基焦磷酸合成酶; 天然橡胶生物合成; 橡胶合成效率; 胶乳

橡胶树魏克汉种质成龄树预割诱导次生乳管分化的比较研究

史敏晶, 卢亚莉, 张世鑫, 晁金泉, 吴绍华, 杨署光, 李言, 邓小敏, 田维敏

中国热带农业科学院橡胶研究所; 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 海口 570100

【目的】橡胶树树干中次生乳管列数的多少与胶乳产量密切正相关,而割胶伤害能诱导树干中次生乳管的分化。分析不同魏克汉种质成龄树在预割伤害后次生乳管的分化, 不仅为鉴定和评价不同种质提供依据, 也为成龄大树割胶后次生乳管分化能力提供早期预测。**【方法】**选取魏克汉种质 110 份, 于茎干 2 米处进行 1/4 茎围三天一刀连续割胶 10 刀的预割处理, 停割一个月后采集割口树皮, 预割前采集处理部位树皮作对照。碘-溴处理制备石蜡切片。显微镜下观察统计预割诱导分化的乳管列数, 并进行分析。**【结果】**不同的魏克汉种质预割后次生乳管分化的列数不同, 具有明显的种质特征。根据分化次生乳管列数的多少, 将预割诱导分化乳管的级别由低到高分为 1、2、3、4 级。在 110 份种质中, 对应 1、2、3、4 级的种质数分别为 32 份、49 份、24 份以及 5 份, 所占比例分别为 29.09%、44.55%、21.82%和 4.55%, 可见分化能力强的种质占比较低, 大部分种质为 2 级分化。魏克汉种质国外直接引种的和国内自主选育的在预割诱导分化能力上也表现出明显差异。国外引种的 58 份种质中对应 1、2、3、4 级的种质占比分别为 29.31%、44.83%、22.41%以及 3.45%; 而国内选育的 52 份种质中对应 1、2、3、4 级的种质占比分别为 28.85%、44.23%、21.15%和 5.77%; 可见, 国内选育的种质整体上分化能力优于国外引种的种质; 尤其具 4 级分化能力的种质比例明显高于国外引种的种质。在不同的育种系列中, 国外的 PB、RRIM 和 RRIC 系列和国内的大岭、海垦和大丰系列表现出较强的乳管分化能力。分析两个杂交组合后代的乳管分化情况, 其中 PB86×PR107 的 4 份子代中有 3 份为 3 级, 1 份为 4 级, 表现出较强的乳管分化能力; RRIM600×PR107 的 6 份子代中 1 级 2 份, 2 级 2 份, 3 级 2 份, 乳管分化能力略差。**【结论】**不同魏克汉种质成龄树对预割诱导分化次生乳管的反应不同, 具有明显的种质特征。国内自主选育的种质被诱导分化次生乳管的能力整体高于国外引进的种质。不同系列来源的种质乳管分化能力也存在差异。PB86 和 PR107 后代的乳管分化表现出较强的双超亲现象, 可作为优良的育种亲本。通过预割判断乳管分化能力不仅为魏克汉种质鉴定和评价奠定基础, 也为橡胶树高产育种以及早、晚熟品种的早期预测提供一个有效指标。

关键词: 橡胶树; 魏克汉种质; 预割; 次生乳管分化; 早期预测

第一作者简介:

史敏晶, 1974 年 10 月生, 女, 研究员。主要从事植物形态结构与发育以及蛋白质分析等相关研究。邮箱: pzbsmjzifeng@163.com

橡胶树是人工栽培最重要的一种产胶植物, 提供了世界所需 98% 以上的天然橡胶 (田维敏等, 2015)。作为原产南美亚马孙河流域的热带雨林树种, 橡胶树主要生长在南纬 10° 至北纬 15° 之间的区域, 形成了典型的喜高温、多雨和静风等的生态习性 (何康等, 1987)。与世界主要植胶国家相比, 我国属于国际公认的非传统植胶区, 橡胶树在我国的种植面积很有限 (何康等, 1987; 李达等, 2020), 因此提高单位面积产量一直是我国天然橡胶产业面临的最主要的问题, 筛选高产、稳产的种质一直是橡胶树育种研究的重点 (黄华孙, 2005; 吴春太等, 2013)。当前选育种的主要方法是试割 3-4 龄幼树后统计橡胶树胶乳产量, 根据其高低来选择优良单株种质, 但胶乳产量是一个典型的综合数量性状, 受多种因素的影响, 并不能完全真实的反应种质自身产胶的潜力, 另外, 试割这一方法本身也存在诸多缺陷 (田维敏等, 2015)。如何寻找有效指标, 减少具有高产潜力的种质漏选的几率并缩短育种年限, 提高育种效率一直是橡胶树育种中亟待解决的问题。

橡胶树中胶乳产生和贮藏在一种特化的组织-乳管中, 橡胶树树干中的次生乳管是由维管形成层中的纺锤状原始细胞切向分裂形成的, 与形成层呈同心圆状排列(田维敏等, 2015), 生产中割胶获取的胶乳都来自于成龄大树的次生乳管, 其数量的多少与天然橡胶的产量显著正相关 (Gomez, 1982)。目前已有研究表明, 乳管分化能力、2次割胶之间的胶乳再生能力以及排胶时间长短是决定橡胶树产胶能力的三个最核心的因素 (郝秉中等, 2004), 可以作为产量的构成性状对种质的产胶潜力进行筛选。其中, 橡胶树树干中的次生乳管分化能力, 即最终反映出乳管列数量的多少是当前最受关注的因素 (郝秉中等, 1982; 于俊红等, 2007; 张世鑫等, 2011, 曾霞等, 2013; Tian *et al.*, 2015; 张世鑫等, 2018; Wu *et al.*, 2016; Chao *et al.*, 2019)。研究表明, 割胶造成的机械伤害和排胶都能诱导成龄树树干次生乳管分化, 并且排胶在其中起主要作用 (郝秉中等, 1982)。征对 7-8 龄大树的预割既造成了机械伤害也导致了排胶, 经证明也能诱导乳管分化 (于俊红等, 2007)。预割和常规割胶具有基本一致的操作, 分析不同的种质在预割伤害后成龄树次生乳管的分化特征能有效预测正式割胶后橡胶树的乳管分化情况, 为更早、更有效的筛选出具有高产潜能的种质提供依据。

魏克汉种质普遍产量高、综合性状好, 是目前橡胶树生产栽培中的核心种质, 是我国最重要的种质资源 (Clement-Demange *et al.*, 2007)。分析其成龄大树在预割伤害后次生乳管分化的特征, 不仅为鉴定和评价魏克汉种质提供依据, 也为成龄大树割胶后乳管分化的能力提供早期预测, 这对于缩短橡胶树产量育种时间和提高产量育种效率具有重要的应用价值。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 试验材料

选取种植于中国热带农业科学院儋州试验场三队 (海南儋州宝岛新村) 8 年生魏克汉种质 110 份 (国外直接引种 58 份, 我国自主选育 52 份, 见表 1), 当年 8 月于树高 2 米处以 1/4 树围开割线并同时采集割线上垂线处树皮一份作为对照。按照 3 天 1 刀的割制, 阴刀连续割胶 10 刀, 然后停割 1 个月, 在当前割线上垂线位置再采集树皮一份。树皮经 80% 酒精固定后, 碘溴染色处理, 制备石蜡切片。

表 1 110 份魏克汉种质

Tab.1 110 kinds of Wickham germplasms

| | 种质名称 | Germplasm name | |
|---------|------------------------------|----------------|----------------------------------|
| AV1659 | RRIC89 | | 桂研 77-1 Guiyan77-1 |
| AV1734 | RRIM05 | | 海垦 2 Haiken2 |
| AV2037 | RRIM18 | | 海垦 4 Haiken4 |
| AV255 | RRIM513 | | 海垦 6 Haiken6 |
| AV290 | RRIM600 | | 台口 3-11 Hekou3-11 |
| AV385 | RRIM612 | | 红山 67-15 Hongshan67-15 |
| AV427 | RRIM703 | | 红星 1 Hongxing1 |
| Fx3899 | RRIM707 | | 化州 59-2 Huazhou59-2 |
| GT1 | RRIM712 | | 化州 38-26 Huazhou38-26 |
| IAN2887 | RRIM717 | | 马矮 Maai |
| IAN2904 | RRIM722 | | 闽林 71-211 Minlin71-211 |
| IAN6645 | RRIM725 | | 南俸 37 Nanfeng37 |
| IAN717 | Tjir1 | | 南俸 70 Nanfeng70 |
| IAN879 | 泰 1 Tai1 | | 南俸 76-1 Nanfeng76-1 |
| KRS13 | 印尼 1 Indonesia 1 | | 南华 1 Nanhua1 |
| KRS156 | 印尼 2 Indonesia 2 | | 南强 1-97 Nanqiang1-97 |
| KRS33 | 印尼 3 Indonesia 3 | | 热垦 165 Reken165 |
| KRS46 | 印尼 5 Indonesia 5 | | 热垦 523 Reken523 |
| KRS48 | 印尼 6 Indonesia 6 | | 热垦 525 Reken525 |
| LCB1320 | 印尼 7 Indonesia 7 | | 热研 2-14-39 Reyan2-14-39 |
| LCB870 | 印尼 10 Indonesia 10 | | 热研 4 Reyan4 |
| N110 | 保亭 155 Baoting155 | | 热研 7-18-55 Reyan7-18-55 |
| Nab17 | 保亭 933 Baoting933 | | 热研 72059 Reyan72059 |
| PB217 | 边沁 Bianqin | | 热研 7-33-97 Reyan7-33-97 |
| PB260 | 大丰 117 Dafeng117 | | 热研 88-13 Reyan88-13 |
| PB86 | 大丰 318 Dafeng318 | | 热研 8-9(多倍体) Reyan8-9 (polyploid) |
| PR107 | 大丰 78-184 Dafeng78-184 | | 色宝 1 Sebao1 |
| PR228 | 大丰 95 Dafeng95 | | 色宝 2 Sebao2 |
| PR255 | 大岭 17-155 Daling17-155 | | 文昌 11 Wenchang11 |
| PR303 | 大岭 21-65 Daling21-65 | | 文昌 193 Wenchang193 |
| PR305 | 大岭 64-36-101 Daling64-36-101 | | 文昌 217 Wenchang217 |
| RRIC102 | 大岭 68-35 Daling68-35 | | 湛试 366-2 Zhanshi366-2 |
| RRIC103 | 大沙 65-19 Dasha65-19 | | 湛试 393-2 Zhanshi393-2 |
| RRIC110 | 岗美 12-11-59 Gangmei12-11 | | 湛试 477-6 Zhanshi477-6 |
| RRIC121 | 光亮 2 Guangliang2 | | 湛试 511-1 Zhanshi511-1 |
| RRIC130 | 广西 6-68 Guangxi6-68 | | 湛试 511-2 Zhanshi511-2 |
| RRIC52 | 桂研 74-1 Guiyan74-1 | | |

1.1.2 主要试剂和仪器

制备石蜡切片所需的乙醇、正丁醇、冰醋酸、二甲苯为国产分析纯，石蜡为生物组织切片专用。切片机为Leica RM2235 型旋转切片机，成像显微镜为德国Leica DMLB 型光学显微镜。

1.2 实验方法

1.2.1 光学显微切片的制备

材料采集后分割，并经 80% (V/V) 乙醇固定 24 h，乙醇梯度脱水，碘-溴冰醋酸试剂

60 °C处理 48 h，乙醇脱水后经正丁醇透明，石蜡包埋，具体方法参见史自强等（1965）方法并稍作修改。树皮横切，切片厚度 15 μm，二甲苯脱蜡后固绿染色 1 h，中性树胶封片。

1.2.2 数据统计分析

光学显微镜下观察横切面切片并成像。光镜下统计每份切片材料新生的次生乳管分化列数情况，采用 Excel 2003 制作图表。

2 结果及分析

2.1 预割对 8 年生不同橡胶树魏克汉种质次生乳管分化的诱导

对 110 份 8 年生的魏克汉种质大树的树干进行预割处理，采样时间与第一刀割胶伤害的间隔约为 2 个月，根据次生乳管形成到脱离有输导功能韧皮部至少一年的时间可知，新形成的乳管列距离形成层较近，而预割前自然形成的乳管列相对远离形成层，在新乳管列的外侧。新的乳管列之间间隔薄壁细胞的层数少，有密集趋势，而自然形成的乳管列之间间隔的细胞层数较多，间距较远。研究表明，不同的魏克汉种质在预割期间新形成的次生乳管列数不同，具有明显的种质特征。根据新形成次生乳管列数的多少，将成龄树被诱导的乳管分化能力分为 1、2、3 和 4 级，分别对应于分化乳管列数少于 2 列、2 列至 3 列之间(含 2 列)、3 列至 4 列之间(含 3 列)和 4 列及以上(图 1)。根据这一分级，在 110 份魏克汉种质中，1 级分化的种质有 32 份，占比为 29.09%；2 级分化的种质有 49 份，占比为 44.55%，二者合计为 73.64%，可见大部分种质的乳管分化能力处在较弱的 1 级和 2 级。分化出 3 列及以上次生乳管的被认为具有较好的乳管分化能力，分别对应于 3 级和 4 级分化，其中 3 级分化的种质有 24 份，占比为 21.82%；4 级分化的种质仅有 5 份，占比为 4.55%，可见分化能力强的种质总体占比较低(图 2, A)。

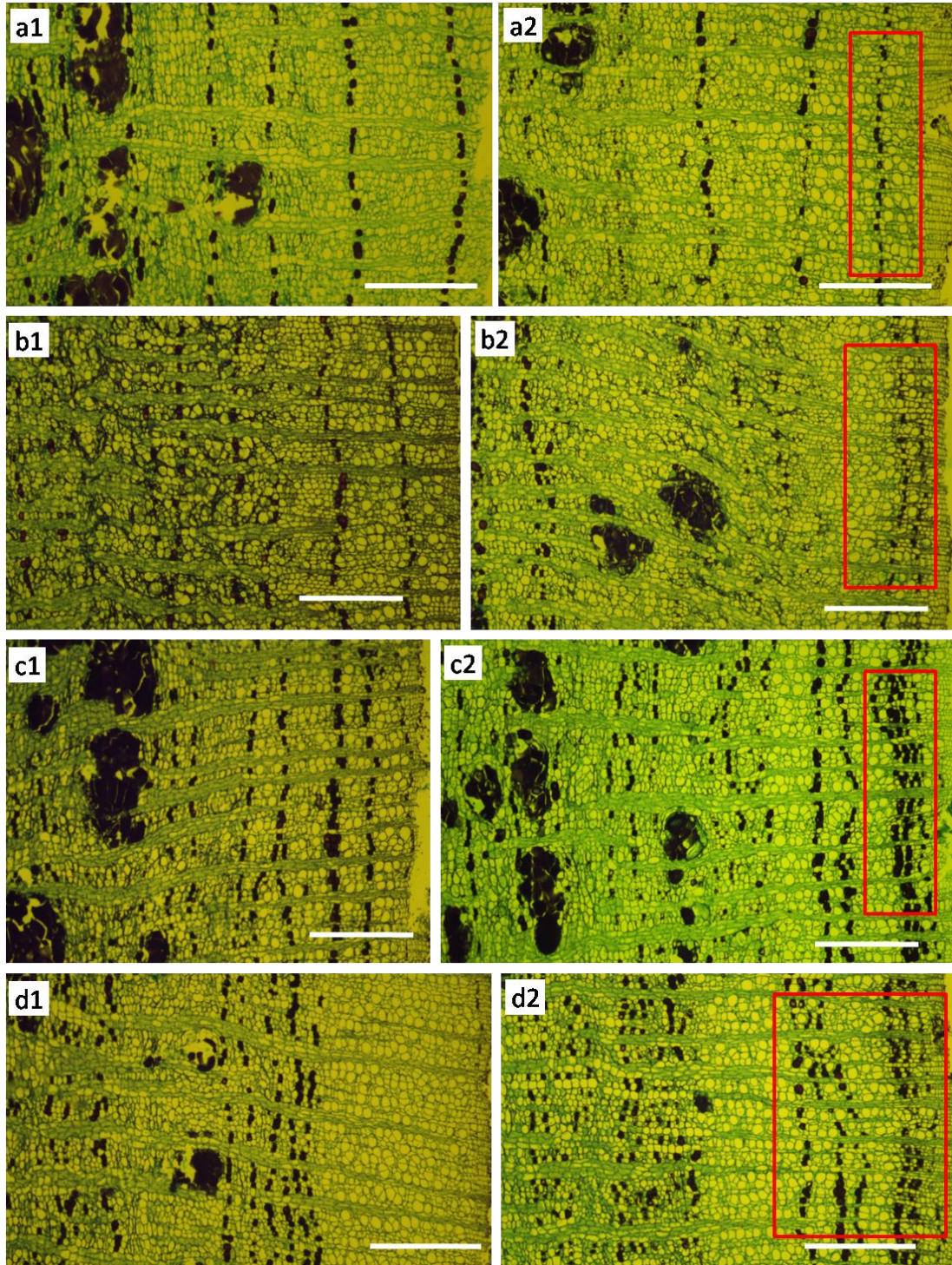


图1 预割诱导1-4级乳管分化能力的代表性魏克汉种质

a1-d1: 分别为热研 72059、热垦 525、大丰 318 和大岭 68-35 自然条件下次生乳管分化情况（对照）； a2-d2: 分别为热研 72059、热垦 525、大丰 318 和大岭 68-35 预割处理后诱导次生乳管分化（红框示）情况，分别显示 1-4 级的分化能力。标尺 500 微米。

根据魏克汉种质的来源，可将之分为国外直接引进和国内自主选育两部分。

国外引进种质有 58 份，对应分化能力为 1 级的种质为 17 份，占比为 29.31%，代表种质有 PR107、RRIM600、IAN2887 等；分化能力 2 级的种质数量明显增加至 26 份，占比高达 44.83%，代表种质有 GT1、PB86、RRIC110 等；分化能力 3 级的种质数量减少至 13 份，占

比为 22.41%，代表种质有 IAN2904、PB260、RRIM725、泰 1 等；具有 4 级分化能力的种质数量极少，仅 2 份，分别为 KRS33 和 RRIC130，占比低至 3.45%（图 2，B）。国外引种种质根据其来源系列的不同，乳管分化能力高低也有区别。将分化能力 1、2 级的合并记为低分化类型，3、4 级的合并记为高分化类型，则这些系列中具有高分化能力的比例由高到低分别为 PB 系列、RRIM 系列、RRIC 系列、KRS 系列、PR 系列、IAN 系列、其他合并系列（少于 3 份种质的系列合并统计）、AV 系列以及 Indonesia 系列（图 2，D），这与生产中 PB 系列、RRIM 系列种植比较广泛、有良好的产量表现相对应。

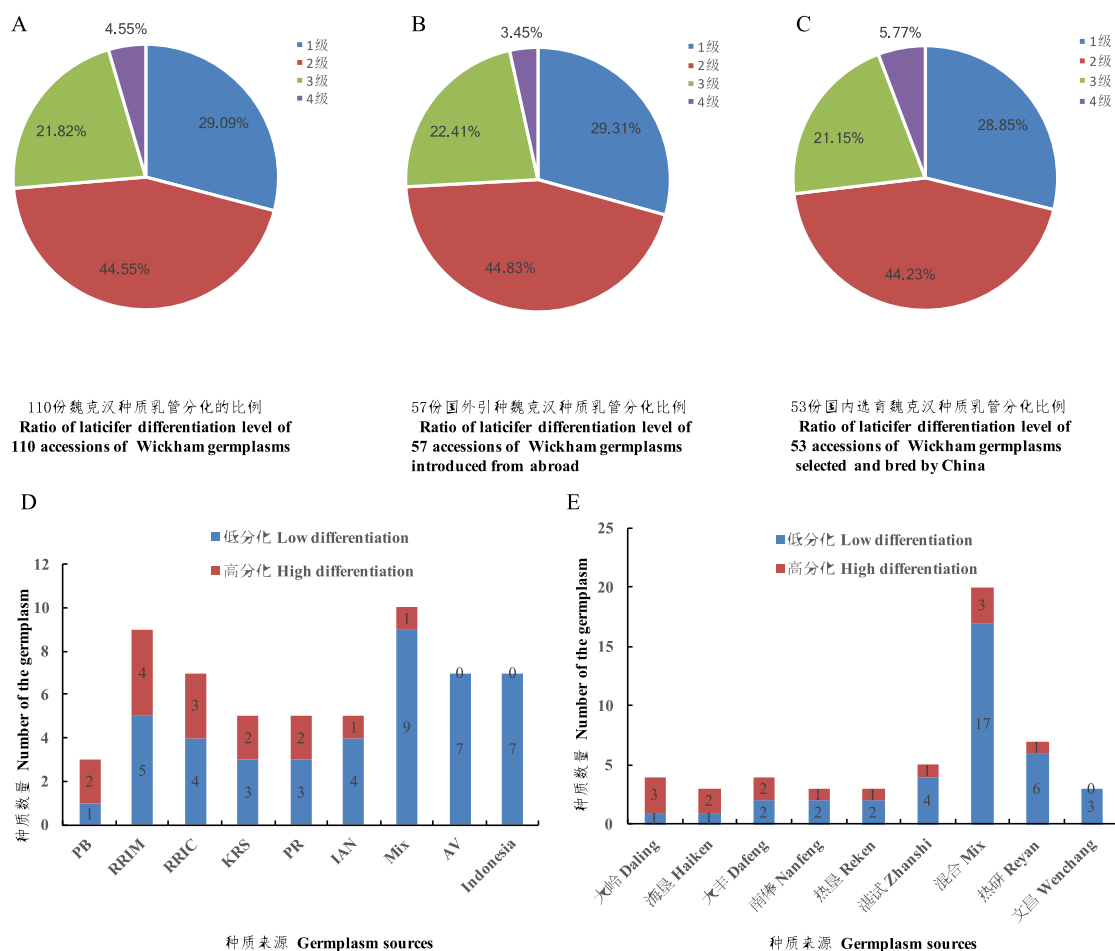


图 2 魏克汉种质次生乳管分化能力比较分析

A-C: 分别为 110 份魏克汉种质、58 份国外引进的魏克汉种质以及 52 份国内选育的魏克汉种质中不同级别乳管分化能力的比例；D-E: 分别为国外引进和国内选育的魏克汉种质不同系列乳管分化能力高低的比较分析。

国内选育的种质共 52 份，对应次生乳管分化能力为 1 级的种质有 15 份，占比为 28.85%，代表种质有热研 72059、红星 1、大丰 117 等；分化能力 2 级的种质数为 23 份，占比为 44.23%，代表种质有保亭 155、桂研 74-1、热垦 525 等；分化能力 3 级的种质有 11 份，占比为 21.15%，代表种质有大丰 318、热研 7-33-97、热垦 165、海垦 2、海垦 6 等；具有 4 级分化能力的种质数量也是最少的，仅 3 份，分别为大丰 95、大岭 68-35、南俸 37，但占比为 5.77%，明显高于国外引进的种质（图 2，C）。可见，国内选育的种质整体分化能力优于国外引种的种质。我国自主选育的种质根据系列不同预割诱导分化次生乳管的能力也有差异，由高到低分别为大岭系列、海垦系列、大丰系列、南俸系列、热垦系列、湛试系列、其他、热研系列以及文昌系列（图 2，E）。

比较分析预割前后树皮中的次生乳管列，即分析包括有输导功能韧皮部、黄皮层和砂皮内层中的成列的有效乳管，发现自然条件下有效乳管列少、乳管列间距大的种质在预割诱导后普遍新形成的乳管列数量少，表明分化能力较弱；而自然条件下有效次生乳管列数量多、乳管列之间间距小的种质在预割诱导后通常新形成的乳管列数量也较多，表现出较强的分化能力。

2.2 预割诱导不同杂交组合后代的次生乳管分化情况

征对两组来自不同亲本的杂交后代，分别对后代和亲本胶树预割后次生乳管分化能力进行了分析。来自 PB86×PR107 的 4 份子代分别是大丰 95、海垦 2、海垦 6 和大丰 318。作为亲本，PB86 和 PR107 均是从国外引进的初生代无性系，定植 8 年的植株尚处于成龄幼树阶段，无论是自然条件下还是预割伤害诱导，次生乳管的分化能力都较差，评级分别为 2 级和 1 级(图 3, a1-a2;b1-b2)；但在其杂交子代中出现了 3 份分化能力为 3 级的种质，分别为海垦 2、海垦 6 和大丰 318，1 份分化能力为 4 级的种质，即大丰 95，可见，该组合的后代表现出较强的次生乳管诱导分化能力。

对于 RRIM600×PR107 的杂交后代，6 份子代中次生乳管分化能力 1 级的有 2 份，分别为热研 72059 和热研 7-18-55；分化能力 2 级的有 2 份，为文昌 11 和保亭 155；分化能力 3 级也有 2 份，分别为热研 7-33-97 和大岭 21-65。作为亲本，RRIM600 和 PR107 的乳管分化能力均为较差的 1 级(图 3, c1-c2;b1-b2)，其后代种质的次生乳管诱导分化差异比较明显，从 1 级到 3 级都具有。

由此可见，亲本的乳管分化能力不强，但后代仍有可能出现较强的乳管分化能力这一性状。培育优良品种的主要关键之处是选择优良的亲本，从优化乳管分化能力方面，PB86×PR107 组合可能优于 RRIM600×PR107 组合。

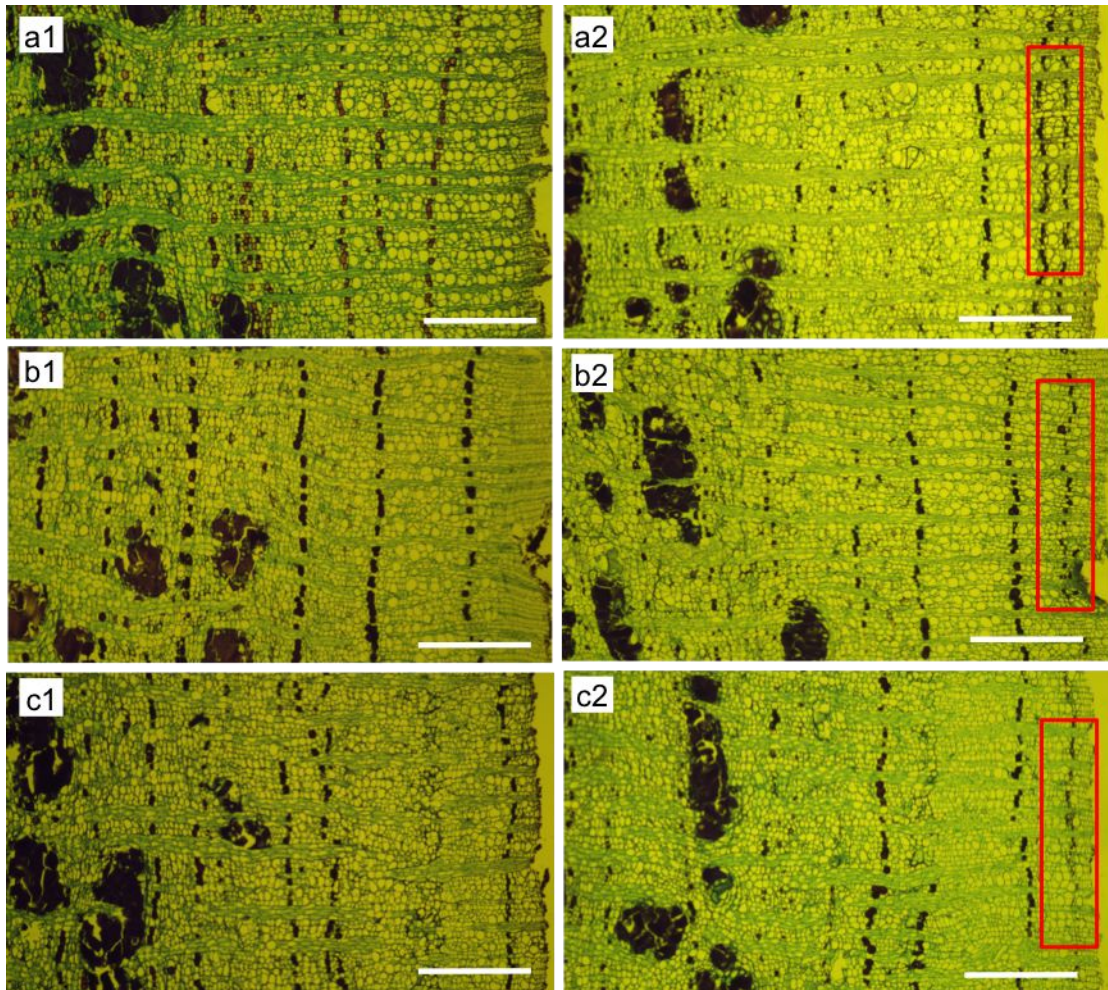


图 3 PB86、PR107 和 RRIM600 预割后次生乳管的分化

a1-c1: 分别为 PB86、PR107 和 RRIM60 自然条件下次生乳管分化情况（对照）； a2-c2: 分别为 PB86、PR107 和 RRIM60 预割处理后诱导次生乳管分化（红框示）情况。标尺 500 微米。

3 讨论

橡胶树育种周期长达 30 多年，耗费大量的人力、物力，占地面积极大，并且一直以来都是以胶乳产量这一数量性状来筛选种质的优劣，而不是按照产胶量的相关构成性状选配杂交组合，导致真正互补的性状极少，杂交后代很难大幅度超亲（黄华孙，2005；林位夫，2012）。随着研究的进展，与胶乳产量密切相关的因子主要被分解为三个，其中，作为天然橡胶产生和贮存的主要组织的次生乳管，其数量的多少是决定天然橡胶产量的最关键因子之一（郝秉中等，2004），因此，选育具有更多的有效次生乳管列的品种是当前橡胶树育种工作中的重点，而如何在早期就预判一个种质的次生乳管分化能力进而筛选出具有高产潜能的种质对于缩短橡胶树选育种年限、提高育种效率具有重要的意义。

为建立起一套有效、准确的次生乳管分化能力早期鉴定方法，田维敏团队分别对处在不同年龄段的橡胶树种质进行了次生乳管分化能力的分析，其中包括机械伤害诱导幼嫩萌条分化次生乳管（Tian et al., 2003; Yu et al., 2008; 史敏晶等，2020），模拟割胶 2 年生幼树（张世鑫等，2018）、试割诱导 3-4 龄的幼龄树分化次生乳管（Chen et al., 2016），结果都表明，伤害诱导次生乳管分化的能力在不同种质中存在明显差异，是种质本身一种稳定的遗传特性。由于橡胶树产胶存在早熟、晚熟等特性，为更好的了解不同种质在不同年龄段割胶伤害后乳管分化的特征，对与常规割胶树状态最为接近的 8 龄树进行预割，分析预割诱导次生乳管分

化的能力,可对橡胶树天然橡胶生产中在不断的割胶伤害下次生乳管的分化能力进行科学的预判,同时进一步完善乳管分化能力的早期鉴定方法。

本研究对 110 份魏克汉种质 8 龄大树进行了预割,发现不同的种质对预割伤害的反应不同,具有种质特征。从伤害开始到取材的 2 个月时间内,大部分种质只能分化出 1-2 列的次生乳管,占有种质的 70% 以上;能分化出 3 列及以上乳管的种质占比不足 30%。根据分化能力高低,我们将之划分为 4 个等级,其中分化能力最强的 4 级占比最低,不足 5%;分化能力 2 级的占比最高,接近 50%,可见在乳管分化这一性状上表现很好的种质只有少数。比较国外直接引进和国内自主选育以及不同系列来源的种质,可知国内选育的种质分化能力普遍强于国外引进的,而其中又以海南选育的大岭系列、海垦系列、大丰系列表现最好,这可能与国内尤其是海南选育种主要以高产为定向目标有关,长期的高产选育对于高乳管分化能力有一定的选择作用。

大丰 95、大岭 68-35 以及南俸 37 在预割时诱导乳管分化的能力强,为 4 级,在生产中,尤其在海南省是分别作为大规模和中规模推广级种植的品种(刘作基等, 1996; 黄华孙, 2005); 但 PR107、RRIM600 以及热研 72059 等品种预割时表现差,乳管分化能力仅 1 级,但在海南省同样为大规模以及中规模推广等级。这可能与被广泛推广的品种往往是有较好的综合产量表现这一要求有关,在生产中,除考虑乳管数量多少外,也会考虑抗风、抗寒以及耐死皮等相关性状(王祥军等, 2015; 李小琴等, 2019)。PR107、热研 72059 等品种属于晚熟品种(黄华孙等, 2000; 吴明等, 2013),即在最初几年割胶时产量不高,但随着割龄增加,到中晚期产量大幅提升,我们分析认为这种晚熟特性可能与这些品系的大树在割胶初期次生乳管增加并不明显有关,即如本研究中预割的效果,但割胶中、后期有效乳管数量增多,且具有抗风及其他良好的性状表现(张晓飞等, 2015; 王祥军等, 2015),因此能成为高产品种而被推广种植。

比较史敏晶等(2020)利用机械伤害诱导幼嫩萌条的次生乳管分化系统和本研究中 8 龄树预割伤害诱导次生乳管分化的系统,我们发现大丰 95、大岭 68-35、热研 7-33-97、海垦 6 和泰 1 等很多品种在两种系统中都有优良的表现; PR107、RRIM600 以及 PB86 在萌条诱导中表现出良好的次生乳管分化能力,但在大树预割中却分化能力差,二者呈现出相反的趋势。可见,两个不同的实验系统在预测不同树龄种质的次生乳管分化能力方面既有一致性,也有差异。在两个系统中都表现出高乳管分化能力的种质,基本都对应于生产中的早熟、高产品种;在苗期具有高乳管分化能力、在预割分化能力一般的如 PR107 等种质,我们认为这种类型的种质具备较强的乳管分化能力,在幼苗时期这种潜力比较敏感容易体现出来,但大树在割胶初期对诱导的反应不强,所以表现出高产、晚熟的特性。综合分析幼苗期和成龄期橡胶树对伤害的反应,能够更全面的反映不同的种质次生乳管分化潜力以及树龄对次生乳管分化能力的影响,为生产中判断高产以及早熟、晚熟特性提供参考依据。

对两个杂家系后代的乳管分化这一性状的分析可知,在预割时乳管分化能力差的亲本同样可以获得乳管分化能力强的子代,关键是看亲本之间是否具有较好的互补性。所以,单从乳管分化能力这一性状来看,培育具有高乳管分化能力的后代其亲本的选择是比较广泛的,可以是本身分化能力并不很强的种质。PB86×PR107 组合中,后代表现出较明显的超亲趋势,且 PB86 具有多花多果的特质,而 PR107 雌花发育不良,所以二者可以作为优良的育种亲本,筛选出乳管分化能力强的后代。利用已经具有很强的乳管分化能力的种质作为亲本是否可以获得更强分化能力的后代在育种工作中也值得进一步尝试。

4 结论

不同魏克汉种质成龄树对预割诱导分化次生乳管的反应不同,具有明显的种质特征。国内自主选育的种质被诱导分化次生乳管的能力整体高于从国外直接引进的种质,尤其是次生乳管分化能力 4 级的种质国内占比明显高于国外引种的。在不同系列中,国外的 PB 系列、

RRIM 系列、RRIC 系列和国内的大岭系列、海垦系列、大丰系列表现出较强的乳管分化能力，通常对应于生产中的高产品种。PB86 和 PR107 作为亲本，其后代在乳管分化这一性状上表现出较强的双超亲现象，可以作为优良的育种亲本。本研究不仅为魏克汉种质鉴定和评价奠定基础，也为橡胶树高产育种以及早、晚熟品种的早期选择提供一个有效指标。

参考文献

- 曾霞, 李维国, 高新生, 黄华孙. 2013. 巴西橡胶树选育种研究现状、趋势及我国的研究策略. 热带农业科学, 33 (6): 30-36.
- 郝秉中, 吴继林. 1982. 创伤(割胶)对乳管分化的影响. 植物学报, 24 (4): 388-391.
- 郝秉中, 吴继林. 2004. 巴西橡胶树乳管生物学与胶乳生产. 热带作物学报, 25 (4): 1-7.
- 何康, 黄宗道. 1987. 热带北缘橡胶树栽培. 广东: 广东科技出版社.
- 黄华孙, 方家林, 卓书蝉, 等. 2000. 橡胶树优良品种热研72059的选育. 热带作物学报, 21 (2): 1-6.
- 黄华孙, 吴云通. 2005. 橡胶树育种五十年. 北京: 中国农业出版社.
- 李达, 张绍文. 2020. 天然橡胶产业发展政策分析: 红线与红利. 林业经济问题, 40 (2): 208-215.
- 李小红, 赵祺, 张国雄, 等. 2019. 橡胶树魏克汉种质资源抗寒性研究. 热带农业科技, 42 (1): 11-14.
- 林位夫. 2012. 作物次生产量特性及其利用对策探讨. 热带作物学报, 33 (4): 602-604.
- 刘作基, 马伟, 谭振强, 等. 1996. 橡胶树大规模推广级无性系大丰95的研究. 热带作物学报, 17 (2): 19-24.
- 史敏晶, 杨曙光, 张世鑫, 等. 2020. 橡胶树魏克汉种质萌条机械伤害诱导的次生乳管分化特征. 林业科学, 56 (3): 28-37.
- 史自强, 胡正海. 1965. 植物含胶组织的制片方法. 植物学报, 13(2): 179-182.
- 田维敏, 史敏晶, 谭海燕, 等. 2015. 橡胶树树皮结构与发育. 北京: 科学出版社.
- 王祥军, 张源源, 张华林, 等. 2015. 巴西橡胶树抗风研究进展. 热带农业科学, 35 (3): 88-93.
- 吴春太, 李维国, 黄华孙. 2013. 近年来国内外橡胶树种质资源与育种方法研究新进展. 西北林学院学报, 2013, 28 (2): 118-124.
- 吴明, 刘世忠, 杨文凤, 等. 2013. 橡胶树热研 7-20-59、PR107、RRIM600 品种生理特性比较. 安徽农业科学, 41 (8): 3465-3467.
- 于俊红, 杨曙光, 黄绵佳, 等. 2007. 季节、采胶和外源茉莉酸对成龄树橡胶树乳管分化的影响. 热带作物学报, 28(4): 1-5.
- 张世鑫, 刘宁涛, 杨曙光, 等. 2018. 巴西橡胶树次生乳管分化能力的早期评价方法研究. 热带作物学报, 39(7): 1266-1275.
- 张世鑫, 刘世彪, 田维敏. 2011. 形成层活动对机械伤害诱导巴西橡胶树次生乳管分化的影响. 热带作物学报, 32 (6): 1037-1041.
- 张晓飞, 胡彦师, 黄华孙, 等. 2015. 橡胶树优良亲本 PR107 的研究与利用. 热带农业科学, 35 (4): 39-44.
- Chao J Q, Zhao Y, Jin J, et al. 2019. Genome-wide identification and characterization of the JAZ gene family in rubber tree (*Hevea brasiliensis*). *Frontiers in Genetics*, 10: 372. doi: 10.3389/fgene.2019.00372.
- Chen Y, Gao X, Zhang X, et al. 2016. Relationship between the number of tapping-induced secondary laticifer lines and rubber yield among *Hevea* germplasm. *Frontiers of Agricultural Science & Engineering*, DOI: 10.15302/J-FASE-2016122.
- Clement-Demange A, Priyadarshan P M, Thuy Hoa T T, et al. 2007. *Hevea* rubber breeding and genetics. *Plant Breeding Reviews*, 29(6): 177-279.
- Gomez J B. 1982. *Anatomy of Hevea and its influence on latex production*. Kula Lumpur: Malaysia Rubber Research and Development Board.
- Tian W M, Shi M J, Yu F Y, et al. 2003. Localized effects of mechanical wounding and exogenous jasmonic acid on the induction of secondary laticifer differentiation in relation to the distribution of jasmonic acid in *Hevea brasiliensis*. *Acta Botanica Sinica*, 45(11): 1366-1372.
- Tian W M, Yang S G, Shi M J, et al. 2015. Mechanical wounding-induced laticifer differentiation in rubber tree: An indicative role of dehydration, hydrogen peroxide, and jasmonates. *Journal of Plant Physiology*, 182: 95-103.
- Wu S, Zhang S, Chao J, et al. 2016. Transcriptome analysis of the signaling networks in coronatine-induced secondary laticifer differentiation from vascular cambium in rubber trees. *Scientific Reports*, 6: 36384. DOI: 10.1038/srep36384.
- Yu J H, Zeng X, Yang S G, et al. 2008. Relationship between rate of laticifer differentiation, number of laticifer rows and rubber yield among 1981' IRRDB germplasm collections of *Hevea brasiliensis*. *Journal of Rubber Research*, 11(1): 43-45.

花椰菜和西兰花采后生理生化与质构特性变化比较

李雪瑞¹, 冯艳芳^{1,2}, 李宏¹, 屈云慧¹, 普红梅¹, 板兴全^{1,3}, 侯朝祥¹, 杨芳¹,
于丽娟^{1*}

(1. 云南省农业科学院农产品加工研究所, 云南省昆明市 650205; 2. 云南农业大学热带作物学院, 云南省普洱市 665000; 3. 云南农业大学植物保护学院, 云南省昆明市 650201)

摘要: 为比较花椰菜和西兰花采后生理变化规律及贮藏特性, 本研究分析了贮藏过程中两种花菜花、茎组织的失水率、电导率、丙二醛(MDA)含量、维生素C(Vc)含量、抗氧化酶活性和质构特性的变化。研究发现, 在8 d贮存期内, 西兰花失水率(91%)略小于花椰菜(93%), 但相对电导率和MDA含量上升程度、Vc含量下降程度均显著高于花椰菜。进一步分析超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、多酚氧化酶(PPO)三个抗氧化酶活性, 发现西兰花中花(437.06 U/g)、茎组织(343.38 U/g) SOD活性下降程度均高于花椰菜(209.10 U/g; 295.02 U/g); 西兰花花组织(25.84 mmol/min/g) CAT活性下降程度高于花椰菜花(21.06 mmol/min/g)、茎组织(20.71 mmol/min/g); PPO酶活先降后升再降, 最终花椰菜茎组织PPO酶活性(42.07 U/g)下降程度分别低于西兰花的茎(78.00 U/g)、花(82.06 U/g)。从质构特性来看, 硬度先升后降, 内聚性、弹性、咀嚼性均随贮藏时间的延长而降低, 且花椰菜下降趋势更为明显。以上指标的变化规律, 认为花椰菜较西兰花更耐贮藏。其茎组织在失水、膜透性方面对这两种菜的贮藏性起主导作用, 而Vc、酶活性的损失却主要在发生在花组织中。

关键词: 花椰菜和西兰花; 采后; 生理变化; 酶活性; 贮藏特性

Comparison of Postharvest Physiological Changes and Characteristics between Cauliflower and Broccoli

LI Xuerui¹, FENG Yanfang^{1,2}, LI Hong¹, QU Yunhui¹, PU Hongmei¹, Ban Xingquan^{1,3},
HOU Chaoxiang¹, YANG Fang¹, YU Lijuan^{1*}

(1. The Institute of Agro-Products Processing Science and Technology, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming, Yunnan, China, 650205; 2. College of Tropical Crops Yunnan Agricultural University, Puer, Yunnan, China, 665000; 3. College of Plant Protection Yunnan Agricultural University, Kunming, Yunnan, China, 650201)

Abstract: In order to compare the physiological changes and characteristics in postharvest cauliflower and broccoli during storage. In this study, the water loss rate, relative conductivity, malondialdehyde (MDA) content, vitamin C content, antioxidant enzyme activity and texture characteristics of the two cauliflower flowers and stem tissues were determined during storage. The study found that the water loss rates of broccoli (91%) is a little less than cauliflower (93%), but the relative electrical conductivity-added, MDA content-added and the decrease rate of Vc content of it were significantly higher than cauliflower within 8 days of storage. The activities of SOD, CAT and

基金项目: 云南省重大专项(2019ZG001-3-1); 云南省重大专项(2019ZG002-3-6); 云南农业大学学生科技创新创业基金项目(2020ZKY081)。

作者简介: 李雪瑞(1990-), 女, 硕士研究生, 研究实习员, 主要从事农产品初加工及贮藏保鲜研究。邮箱: lxr@ynncpjjg.org.cn
通讯作者: 于丽娟(1981-), 女, 博士研究生, 副研究员, 主要从事农产品初加工及贮藏保鲜研究。邮箱: yulijuan1000@163.com

PPO were further analyzed. The drop-out value of SOD enzyme activity of broccoli flowers, stems were higher

than the white flowers (209.10 U/g)、white stems (295.02 U/g); the drop-out value of CAT enzyme activity of green flowers (25.84 mmol/min/g) is higher than the stems (18.16 mmol/min/g)、stems (20.71 mmol/min/g) of cauliflower; PPO enzyme activity showed a trend of decreasing at first and then increasing and then decreasing, the drop-out value of PPO enzyme activity of white stems (42.07 U/g) is below to the green stems (78.00 U/g)、green flowers (82.06 U/g), respectively. Its texture characteristics: the hardness increases at first and then decreases. The cohesiveness, elasticity and chewability decrease with the extension of storage time, and the trend of cauliflower reduction is more obvious. In summary, the cauliflower is more resistant to storage than broccoli. Its stem tissue plays a leading role in the storage of these two vegetables in terms of water loss and membrane permeability, while the loss of Vc and enzyme activity mainly occurs in the floral tissue.

Key words : Cauliflower and Broccoli; postharvest; physiological changes; enzymatic activity; storage characteristics

花椰菜 (*Brassica oleracea var. botrytis L.*)^[1]和西兰花 (*Brassica oleracea var. italica P.*)^[2]均属十字花科甘蓝类蔬菜,外形美观、风味清香、质地嫩脆、营养丰富,深受广大消费者的喜爱^[3]。但由于其生产具有较强的季节性、区域性及本身的易腐性,往往贮藏期短,各地市场供应短缺。关于花椰菜和西兰花营养价值及其贮藏保鲜的研究已屡见不鲜。花椰菜在贮藏和运输过程中易失水萎蔫、易褐变(变黄、变暗、出现褐色斑点及腐烂)、易受病原菌感染,从而品质下降,失去商品价值^[4-6];西兰花采后花蕾极易开放和黄化,比花椰菜更难保鲜^[7];有研究分析花椰菜不同品种类型间营养成分及抗氧化活性,发现不同品种类型间具有较大差异^[8-9]。

近年来人们生活节奏日益加快,催动鲜切果蔬产业快速发展。鲜切花椰菜和西兰花产品也因营养丰富而受到人们的欢迎。但由于切割造成的机械伤害,鲜切果蔬更容易组织褐变、质构劣变、受病原菌侵染而腐烂变质。花椰菜和西兰花鲜切产品在生产和销售过程中也存在此类共性问题,产品销售和质量安全受到严重影响,但目前对于花椰菜和西兰花鲜切产品不同组织结构的贮藏特性的研究还相对较少,比如贮藏过程中花椰菜和西兰花中花和茎组织的营养成分、质构特性的差异。因此分析花椰菜和西兰花的花、茎组织采后生理生化变化和质构特性变化规律,了解其贮藏特性对于生产花椰菜和西兰花鲜切产品具有一定指导意义。为此本研究通过对贮藏过程中花椰菜和西兰花中花、茎组织的失水率、维生素C (Vitamin C, Vc)含量、膜透性(电导率、丙二醛(malondialdehyde, MDA))、质构特性(硬度、内聚性、弹性、咀嚼性)、抗氧化酶活性(超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(Catalase, CAT)、多酚氧化酶PPO (Polyphenol oxidase, PPO))的观察,比较花椰菜和西兰花的花、茎组织的贮藏特性,为利用采后处理技术提高花椰菜和西兰花鲜切产品品质及延长其货架期提供理论参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

花椰菜和西兰花均购于云南省农业科学院农产品加工研究所农产品展示平台;选取无病虫害,无机械损伤,成熟度一致,大小均匀,花球紧密的两种花菜为试材。用无菌刀具切分成直径约为3~4 cm的花球,装入托盘,置于室温贮藏。每次取样时用无菌刀具分别取花球的花蕾和花蕾下部的花茎取样观察。

1.2 主要仪器

酶标仪 Thermo Fisher Scientific, MULTISKAN GO; 离心机 Eppendorf, Centrifuge 5424 R; 质谱仪 (TMS-TOUCH); 电子分析天平 日本岛津, AUY220; 电热恒温水浴锅 天津市泰斯特仪器有限公司, DK-98-II; 电热恒温鼓风干燥箱 天津市泰斯特仪器有限公司, DK-98-II。

1.3 试验方法

1.3.1 失水率的测定

采用差量法测定失水率, 取样后测定样品初始重量, 记为 M_0 ; 之后分别于各取样点测定样品重量记为 M 。按照以下公式计算失水率:

$$\text{失水率 (\%)} = \frac{M_0 - M}{M_0} \times 100\%$$

1.3.2 Vc 含量测定

称取样品 2 g, 加入 6 ml 1% HCl 研磨成匀浆, 10 000 r/min 离心 10 min; 取 0.20 ml 上清液, 加入 4 ml 10% HCl, 定容至 10 ml, 于 243 nm 下测定吸光值。待测碱处理液的制备: 取 0.20 ml 上清液, 加入 2ml 蒸馏水和 0.80 ml 1N NaOH 溶液, 混匀; 15 min 后加入 0.80 ml 10% HCl 混匀, 定容于 10ml 容量瓶中, 于 243nm 下测定吸光值。按以下公式计算样品中维 C 的含量:

$$Vc (\text{ug/g}) = u * V_{\text{总}} / V_1 * W$$

式中, u ——从标准曲线上查得的抗坏血酸的含量 (ug); V_1 ——测消光值时吸取样品溶液的体积 (ml); $V_{\text{总}}$ ——样品定容体积(ml); W ——称样重量 (g)。

1.3.3 电导率的测定

用剪刀将样品剪成大小、形状一致的组织, 称取 2 g 样品放入盛有 20 mL 蒸馏水的烧杯中, 振荡后浸泡 1 h, 测定电导率 C_1 ; 测定后各样液煮沸 5 min, 冷却后, 蒸馏水补充至 20 mL, 测定电导率 C_0 。按以下公式计算电导率。

$$Le(\%) = \frac{C_1}{C_0} * 100\%$$

1.3.4 丙二醛 (MDA) 的测定

采用硫代巴比妥酸(TBA)法测定 MDA 含量: 称取样品 2 g, 加入 5 mL 三氯乙酸(TCA), 冰浴研磨、离心, 取上清即为 MDA 提取液。取 4 mL MDA 提取液, 加入 4 mL 0.6% TBA 溶液。摇匀后置于沸水浴中 15 min, 迅速冷却, 4000 r/min 离心 10 min, 取上清液于 450 nm、532 nm 和 600 nm 下测定吸光值, 按以下公式计算 MDA 含量:

$$C\left(\frac{\text{umol}}{L}\right) = 6.45(A_{532} - A_{600}) - 0.56A_{450}$$

样品中的 MDA 含量 = $(C_{\text{MDA}} * V_1 * V_3) / (V_2 * W * 1000)$ ($\mu\text{mol/g}$);

式中, C_{MDA} 为 MDA (的量 umol/L); V_1 为反应液体积(mL); V_2 为测定时提取液的用量 (mL); V_3 为提取液的总体积 (mL); W 为取样量 (g); 1000 为 1 L=1000 mL。

1.3.5 SOD、CAT、PPO 的测定

取 15 g 西兰花花球小花组织, 均匀破碎后采用云南弛恩科技有限公司生产的 SOD、CAT 和 PPO 试剂盒, 参照试剂盒说明书测定各抗氧化酶的活性^[10]; 测定 450 nm 处的吸光值,

以每克样品（鲜重）每分钟吸光度变化值增加 1 为 1 个 SOD 活性单位；测定 405 nm 处的吸光值，以每克样品（鲜重）每分钟催化 1 nmol H₂O₂ 降解为 1 个 CAT 活性单位；测定 525 nm 处的吸光值，以每分钟每克样品（鲜重）在每 ml 反应体系中吸光度值变化 0.01 为 1 个 PPO 活性单位。

1.3.6 质构特性的测定

使用（TMS-TOUCH）质构仪进行质地多面分析（Texture Profile Analysis, TPA）测试^[11]。截取花椰菜和西兰花花朵下方的茎，将其平放于质构仪的载物台上，进行 TPA 穿刺测试，每个实验组重复测定 20 次。仪器配件及测试参数设置如下：负载单元为 400 N，探头为穿刺，测试速度为 60 mm/s，距样品上升高度为 10 mm，目标形变量为 20%，最小触发力为 0.1 N，两挤压循环之间的停留时间为 0 s。

1.3.7 数据处理

以上试验重复 3 次，结果以 $\pm s$ 表示，应用 Excel 软件做误差分析，SPSS 软件做两两比较的邓肯多重分析差异显著性。

2 结果与分析

2.1 贮藏过程中水分含量下降

水分是保证果蔬新鲜品质的必要条件，当果蔬失水率超过 5% 时，萎蔫变软，新鲜度下降^[12]；对新鲜果蔬低温贮藏失水机理研究得到，当失水超过一定量时，不但重量减轻，而且品质显著下降，其商品属性和市场竞争力降低^[13-14]。本研究分析贮藏过程中花椰菜和西兰花中花、茎组织的失水规律，结果如图 1 所示，随着贮藏时间的延长，两种花菜的花和茎的失水率均呈现增长趋势。在贮藏 2 d 后，花椰菜和西兰花的失水率分别为 42%、46%，其中白花和青花的失水率为 15%、19%，白茎和青茎的失水率分别为 30%、26%，两两差异不显著；在贮藏 4 d 后，各部分失水率变化趋势同上，直至贮藏第 6 d，花椰菜和西兰花的失水率分别达到了 93%、91%，其中白花和青花的失水率均达到 44%，白茎和青茎的失水率分别为 78%、72%，两两之间仍然差异不显著。贮藏第 8 d，失水率同样呈现如上趋势，但与第 6 d 相比，增加量不大。从上可以得到，常温下贮藏，花椰菜和西兰花的贮藏期大概是 6 d 左右，此时的花菜已失水严重，丧失了食用价值。从第 2 d 至第 8 d，花椰菜和西兰花植株的茎失水比花严重，前 4 d，茎的失水率约是花失水率的 2 倍，后 4 d，约是 1.7 倍。这可能是由于整朵的白花和青花组织紧密，与空气接触面积小，水分不易散失，而茎的地方采摘时有机械伤口，气孔裸露，其细胞呼吸代谢旺盛、蒸腾作用强，更易失水^[15]。

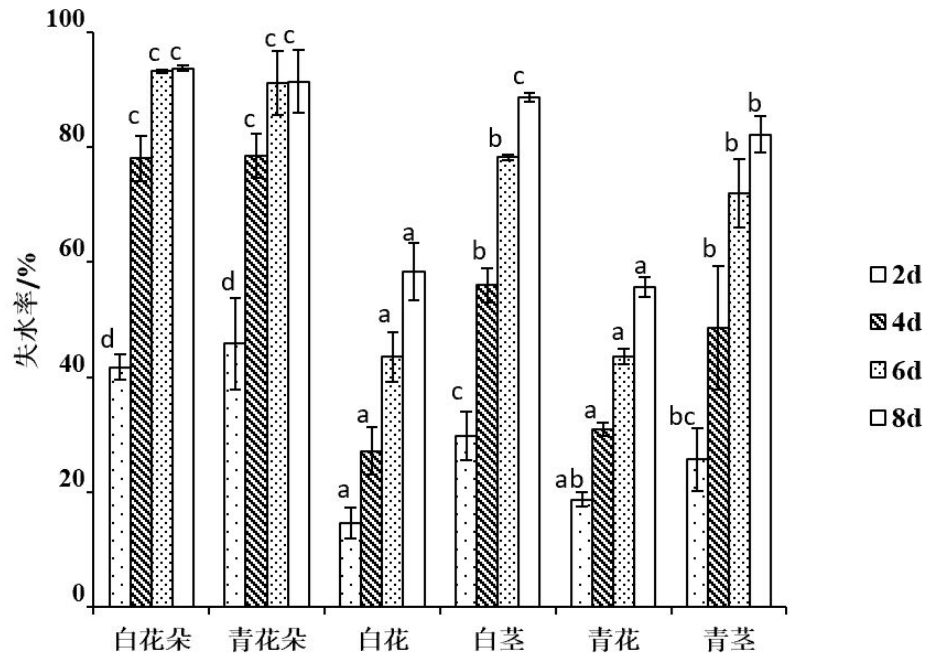


图 1 两种花椰菜贮藏期间失水情况

Fig. 1 Changes of water loss rate in two kinds of cauliflower during storage

注：不同小写字母表示两种花椰菜不同贮藏时间失水率间差异显著 ($p < 0.05$)，单位：%

2.2 贮藏过程中 Vc 含量下降

Vc 参与人体内氨基酸代谢、神经递质合成等，具有诸如抗衰老、抗肿瘤、增强人体抵抗等作用；但人体自身却不能合成，需要通过食物补充，其中果蔬是人体摄取补充 Vc 的重要来源^[16]。但在贮藏期间，果蔬 Vc 易氧化降解，含量逐渐降低^[17-18]。从图 2 中可以看出，在贮藏过程中花椰菜、西兰花中花、茎组织中的 Vc 含量均呈下降趋势，且贮藏前期下降速度快，后期下降速度缓慢，这与张彩芳等人对果蔬中 Vc 稳定性的研究进展中得到的一样^[16]。贮藏 8 d 后白花、青花 Vc 含量依次下降了 58.61%、73.73%；白茎和青茎下降趋势相对较缓，分别为 25.31%、31.13%。表明花中 Vc 含量下降比茎组织快，且西兰花的花、茎组织中 Vc 含量下降程度均高于花椰菜。对于鲜切西兰花的花组织中 Vc 含量与其他有显著性差异的原因，徐飞等研究显示，西兰花的 Vc 含量比花椰菜的要高^[19]。

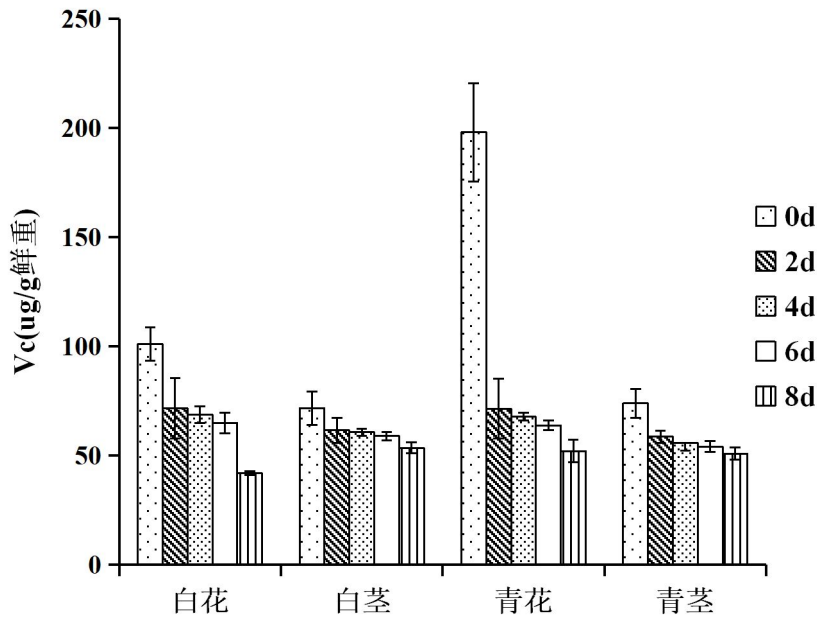


图 2 两种花椰菜贮藏期间 Vc 含量下降规律

Fig. 2 Changes of Vc content in two kinds of cauliflower during storage

注：不同小写字母表示两种花椰菜不同贮藏时间 Vc 间差异显著 ($p < 0.05$)，单位： $\mu\text{g/g}$ 。

2.3 贮藏过程中相对电导率、MDA 含量上升

果蔬在贮藏过程中电导率的变化反映了其细胞膜透性的变化情况，通常随着果蔬的后熟衰老和细胞膜结构的破坏，其电导率会不断升高^[20]。MDA 是果实衰老或受逆环境胁迫时膜脂过氧化分解的主要产物，与果实衰老、逆境伤害之间存在着密切的关系，其含量可反映细胞膜的稳定性和植物的抗逆性强弱^[21-22]。如下图所示，花椰菜和西兰花的花、茎组织的电导率、MDA 含量均随贮藏时间延长而增加，这与张淑萍等对枣的研究结论相同^[23]。贮藏 8 d 后，最终相对电导率：白花 (32%) < 白茎 (46%) < 青花 (50%) < 青茎 (51%)，最终 MDA 含量：白茎 ($0.35 \mu\text{mol/g}$) < 白花 ($0.36 \mu\text{mol/g}$) < 青花 ($0.46 \mu\text{mol/g}$) < 青茎 ($0.51 \mu\text{mol/g}$)。结果表明贮藏 8 d 后，花椰菜和西兰花两种十字花科甘蓝类蔬菜中花组织的电导率、MDA 含量均较茎组织小；且花椰菜不论是花还是茎，电导率、MDA 含量均小于西兰花的。

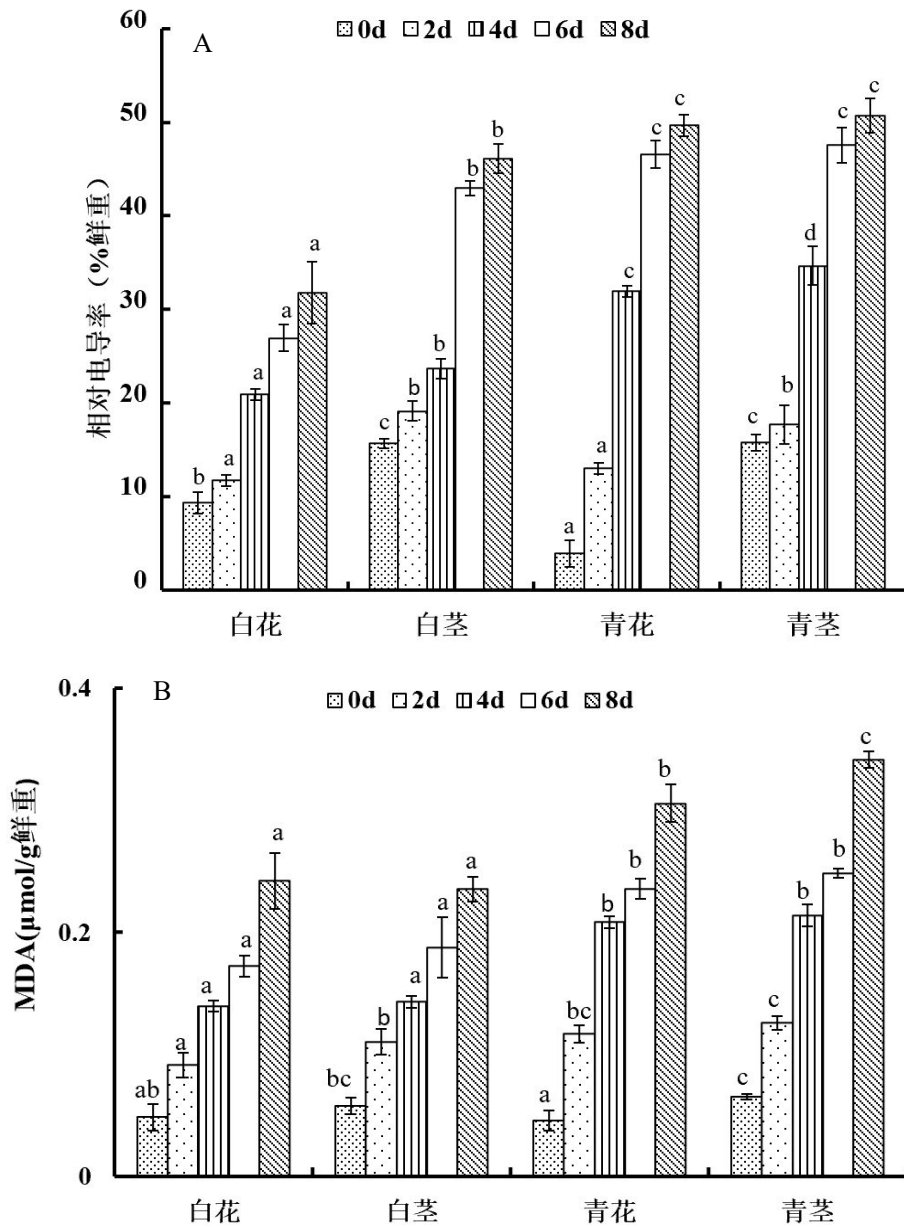


图3 两种花椰菜贮藏期间电导率、MDA 上升规律

Fig. 3 Changes of relative conductivity and malondialdehyde in two kinds of cauliflower during storage.

2.4 贮藏过程中抗氧化酶 SOD、CAT、PPO 酶活性下降

果蔬为了延缓衰老和品质下降，通过抗氧化防御酶系统对活性氧进行清除^[24-25]。其中 SOD 是第一道抗氧化防线，能清除细胞中多余的超氧阴离子^[26-27]。CAT 虽然不直接消除自由基，但可以催化 H_2O_2 歧化成水和氧分子，降低细胞中 H_2O_2 浓度，间接地抑制自由基的生成^[28]。从图 4 A、B 中可看出，花椰菜和西兰花的花、茎组织的 SOD、CAT 酶活性均随贮藏时间延长而降低。贮藏 8 d 后，西兰花的花、茎组织中 SOD 酶活性分别从 522.22 U/g、425.60 U/g 下降至 85.16 U/g、82.21 U/g，下降了 437.06 U/g、343.38 U/g，而花椰菜的花、茎中 SOD 酶活性分别从 324.69 U/g、393.07 U/g 下降至 115.58 U/g、98.05 U/g，下降了 209.10 U/g、295.02 U/g。数据显示西兰花的花、茎组织中 SOD 酶活下降幅度大于花椰菜相应组织，且花椰菜的茎组织 SOD 酶活性下降幅度大于花组织，西兰花的花组织 SOD 酶活性下降幅度大于茎组织；

贮藏 8 d 后, 西兰花的花、茎组织中 CAT 酶活性分别从 29.99 mmol/min/g、21.67 mmol/min/g 下降至 4.15 mmol/min/g、3.51 mmol/min/g, 下降了 25.84 mmol/min/g、18.16 mmol/min/g, 花椰菜的花、茎组织中 CAT 酶活性分别从 24.68 mmol/min/g、23.63 mmol/min/g 下降至 3.62 mmol/min/g、2.92 mmol/min/g, 下降了 21.06 mmol/min/g、20.71 mmol/min/g。西兰花的花组织中 CAT 酶活性降低得最多, 且两种花菜花组织中的 CAT 活性下降幅度均大于茎组织。

PPO 可以催化酚类物质氧化成为醌类物质, 醌类物质再经非酶促聚合形成褐色物质, 有利于果蔬防御病菌侵染^[29-30]。如图 4C 所示, 与 SOD 酶、CAT 酶活性变化规律相比, 花椰菜的花、茎组织及西兰花的花组织中 PPO 酶略有不同: 贮藏过程中 PPO 酶活性先降后升再降, 初期即贮藏 0~4 d 时发现花椰菜的花、茎中 PPO 酶活性分别从 144.92 U/g、109.06 U/g、125.71 U/g 骤降至 52.16 U/g、61.00 U/g、65.80 U/g, 但贮藏 6 d 时 PPO 酶活性分别上升至 63.56 U/g、68.95 U/g、71.04 U/g, 之后一直呈下降趋势, 至贮藏 8 d 后显著低于刚采收的样品, 这与王成涛等人对金针菇的贮藏保鲜中的酶活性研究结果一样^[29]; 而西兰花的茎组织中 PPO 酶活性变化趋势与 SOD 酶、CAT 酶一致, 从采收后 102.81 U/g 下降至 24.81 U/g。最后一次取样, 即贮藏 8 d 后, 花椰菜花、茎组织中酶活降低了 94.24 U/g、42.07 U/g, 西兰花的花、茎组织中酶活性降低了 82.06 U/g、78.00 U/g, 仍是同一种蔬菜中花组织 PPO 酶活性降低得多于茎组织。

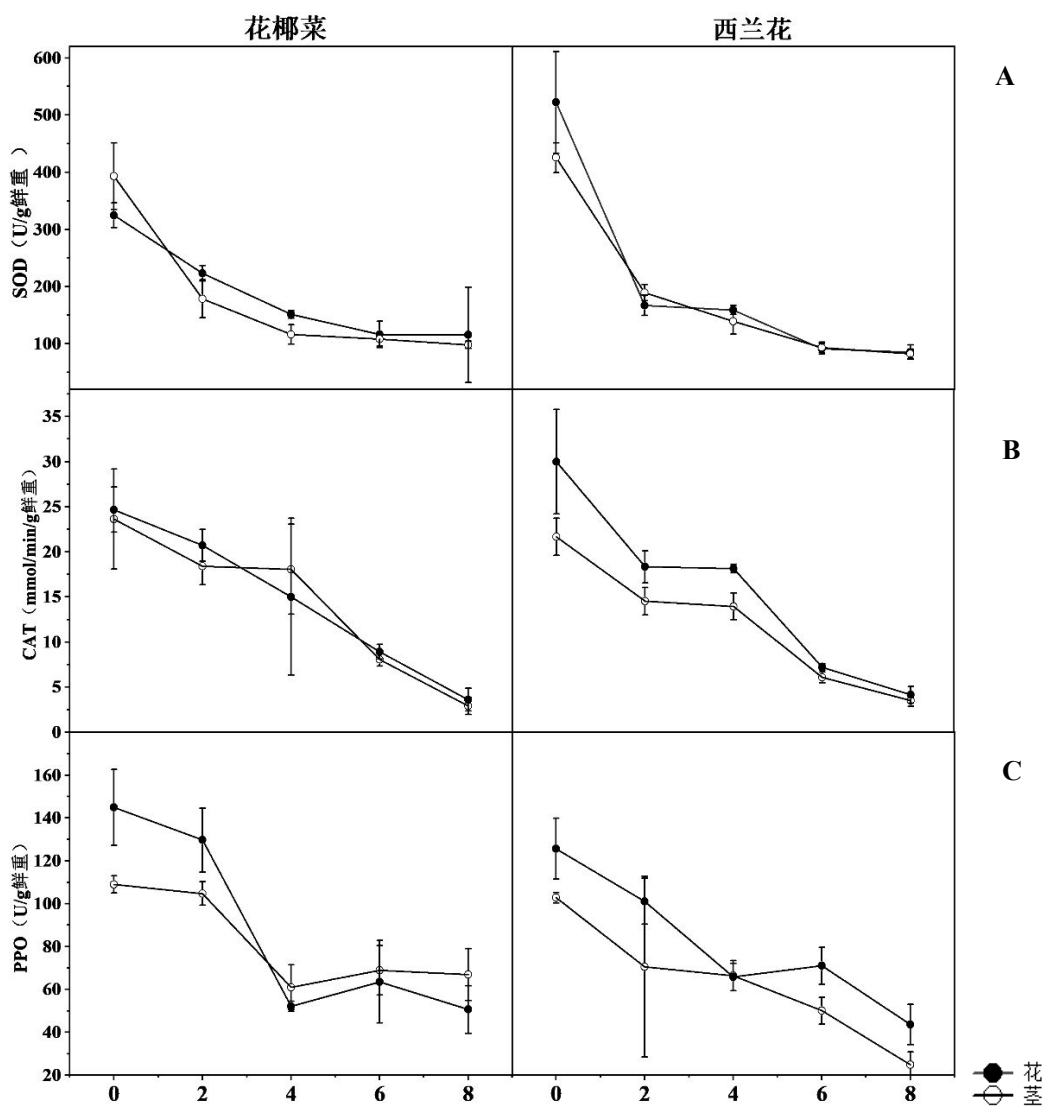


图 4 两种花椰菜贮藏期间 SOD、CAT、PPO 的变化规律

Fig. 4 Changes of SOD、CAT、PPO in two kinds of cauliflower during storage

注：不同小写字母表示两种花椰菜不同贮藏时间酶活性间差异显著($p < 0.05$)，单位：U/g.

2.5 贮藏过程中质构特性变化规律

果蔬在贮藏过程中，在经历了复杂的生理生化后可能形态结构和质构特性也会发生巨大变化，从而商品属性和经济价值受到影响。比如随着细胞壁果胶多糖的降解，细胞壁逐渐溶解，果蔬逐渐软化；或者随着木质素合成，果蔬逐渐硬化。所以质构特性是评价果蔬品质的重要指标。其中 TPA 质构测定法主要是质构仪通过对样品进行 2 次挤压，模拟牙齿的咀嚼过程^[31]，检测样品的硬度、内聚性、弹性、咀嚼性，通过仪器测定消除人为主观因素带来的实验误差^[32]。

其中硬度为第一次挤压时的压力最大值，是果蔬组织达到变形时所需要外力的大小^[33]。由图 5 A 可以看出两种花菜茎组织的硬度均先上升后下降，硬度最高值在贮藏 2 d 的时候，白茎和青茎的硬度分别为 8.30，8.35。内聚性为样品维持组织形态所需的内部结合力，反映的是各组织结构间结合作用的强弱与抵抗外力、维持自身结构的能力^[34]。由图 5 B 可知，花椰菜和西兰花的内聚性均随贮藏时间的延长而降低，花椰菜降低的趋势较为明显，这可能与花椰菜在贮藏过程中失水率较为严重，高达 94%，致使维持组织内部结合力减小，所以下降更快，且由上得到花椰菜的电导率、MDA 比西兰花的值低，说明其膜通透性也比西兰花的要小，这也证实了花椰菜的内聚性降低得快。弹性为样品经过第一次挤压后能够恢复的程度，表现为第一次挤压结束后第二次挤压开始前样品恢复的高度^[35]。如图 5 C 所示，在贮藏初期，即 0 d 后，花椰菜和西兰花的弹性均呈快速下降趋势。2~4 d 时，两者的弹性相对平稳，均在 2.70 左右，4 d 后又迅速下降。咀嚼性为硬度、弹性、内聚性三者乘积，与硬度、内聚性、弹性密切相关^[36-37]，可以反映样品耐咀嚼的能。由图 5 D 可知，两种花椰菜在贮藏 2 d 时便均呈快速下降趋势，白花菜的趋势要较为明显，这在前三个指标的变化趋势中也可以看出。0 d 时，花椰菜与西兰花的咀嚼性分别为 14.86 mj，10.54 mj，2 d 时分别降为 5.87 mj、6.28 mj，4d 时，与第 2 d 变化不明显，6 d 时，花椰菜与西兰花的咀嚼性分别为 1.45 mj、4.43 mj，8 d 时，数据显示的趋势仍然是花椰菜降低得要高。

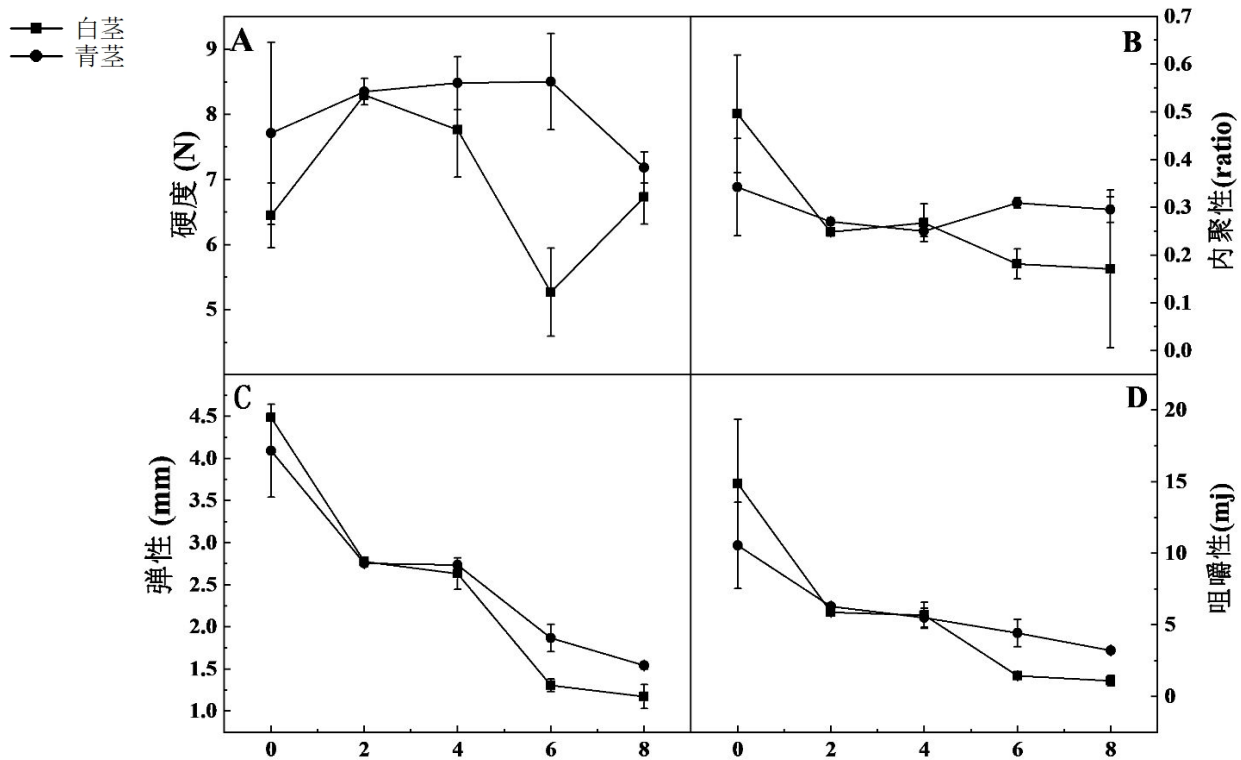


图5 两种花椰菜贮藏期间质构特性的变化规律(A-硬度；B-内聚性/ratio；C-弹性/mm；D-咀嚼性/mj)

Fig. 5 Changes of texture properties in two kinds of cauliflower during storage(A-hardness; B-cohesiveness(ratio); C- elasticity(mm);D- chewiness (mj)

3.结论

花椰菜和西兰花的贮藏特性不一样，各植株的花和茎组织在耐贮性中也表现不同。花椰菜和西兰花的贮藏期大概是 6 d 左右。随着贮藏时间的延长，两种花菜的花和茎的失水率均呈现增长趋势，至第 8 d, 西兰花 (91%) <花椰菜 (93%)，其中茎组织的失水率约是花组织的 1.7 倍；最终相对电导率：白花 (22%) <白茎 (30%) <青茎 (35%) <青花 (46%)，MDA 含量增加值：白茎(0.30 $\mu\text{mol/g}$)<白花(0.31 $\mu\text{mol/g}$)<青花(0.41 $\mu\text{mol/g}$)<青茎(0.45 $\mu\text{mol/g}$)，花椰菜不论是花还是茎，电导率、MDA 含量均小于西兰花的，西兰花不耐贮藏，且花组织的电导率、MDA 含量均较茎组织小，说明花组织更易衰老；这一点与 Vc 含量的变化结果正好对应，白茎 (25.31%) <青茎 (31.13%) <白花 (58.61%) <青花 (73.73%)，花中 Vc 含量下降比茎组织快，但西兰花的花、茎组织中 Vc 含量下降程度却高于花椰菜，西兰花中 Vc 更易损失。失水率、电导率、MDA、Vc 含量的变化差异更加说明了西兰花在贮藏中更加容易发生黄化。SOD 酶活下降值：白花 (209.10 U/g) <白茎 (295.02 U/g) <青茎 (343.38 U/g) <青花 (437.06 U/g)，西兰花的花、茎组织中 SOD 酶活下降幅度大于花椰菜相应组织，西兰花的花组织 SOD 酶活性下降幅度大于茎组织，但花椰菜的茎组织 SOD 酶活性下降幅度大于花组织；CAT 酶活下降值：青茎 (18.16 mmol/min/g) <白茎 (20.71 mmol/min/g) <白花 (21.06 mmol/min/g) <青花(25.84 mmol/min/g)，两种花菜花组织中的 CAT 活性下降幅度均大于茎组织，且西兰花的花组织中 CAT 酶活降低得最多；PPO 最终的下降值：白茎 (42.07 U/g) <青茎 (78.00 U/g) <青花 (82.06 U/g) <白花 (94.24 U/g)，花椰菜的花、茎组织及西兰花的花组织中 PPO 酶活性先降后升再降，但西兰花的茎组织中 PPO 酶活性变化趋势与

SOD 酶、CAT 酶一致,同时同一种蔬菜中花组织的 PPO 酶活性降低得多于茎组织;两种花菜茎组织质构特性正好验证了前面的结果,其硬度先上升后下降,内聚性、弹性、咀嚼性均随贮藏时间的延长而降低,且花椰菜降低的趋势较为明显,其弹性空间大。

综上所述,花椰菜比西兰花更耐贮藏,这从质构特性中也可以看出,这与徐飞等人对西兰花中 Vc 的论述一样^[19]。同时其茎组织在失水、膜透性方面对这两种菜的贮藏性起主导作用,而 Vc,酶活性的损失却主要发生在花组织中。但前人的研究表明花椰菜在贮藏中容易发生霉变^[4],这是由病原菌污染导致的,后续试验将进一步开展这方面研究。

参考文献:

- [1]陈淳,李惠华.厦门地区夏季播种的松花型花椰菜营养品质评价[J].亚热带植物科学,2019,48(04):349-353.
- [2]曹阳理惠.西兰花 CYP83A1 基因的克隆及功能验证[D]. 2015,6-7.
- [3]刁小琴,关海宁,郭丽等.花椰菜贮藏特性及保鲜技术发展方向[J].陕西农业科学,2010,(5):36-37.
- [4]王蓉蓉.酸处理对鲜切花椰菜贮藏品质的影响[J].南京晓庄学院学报,2015,31(06):41-45.
- [5]安建强,王殿宏,马建辉等.花椰菜贮藏技术[J].现代农村科技,2014(19):35.
- [6]彭丹.花椰菜速冻及冰温保鲜技术研究[D].湖南农业大学,2010:15-17.
- [7]赵维琦,孟赞,董斌等.采用真空预冷处理提升西兰花贮藏品质[J].食品与发酵工业,2019,45(19):213-218.
- [8]马蓉,梁颖,王树林等.花椰菜不同品种类型间营养成分差异及烹饪对其含量的影响[J].食品工业科技,2019,1-10.
- [9]丁云花,何洪巨,赵学志等.不同类型花椰菜主要营养品质分析[J].中国蔬菜,2016(04):58-63.
- [10]王学奎.植物生理生化实验原理和技术[M].2版.北京:高等教育出版社,2010:190-281.
- [11]罗斌,赵有斌,尹学清等.质构仪在果蔬品质评定中应用的研究进展[J].食品研究与开发,2019,40(05):209-213.
- [12]陈守江.果蔬贮藏过程中总抗氧化能力与后熟衰老生理的关系研究[D].江苏大学,2003.
- [13]王艳红.新鲜果蔬低温贮藏失水机理研究[D].天津商业大学,2010.
- [14]Gloria S. Salato,Nora M.A. Ponce,María D. Raffo,Ariel R. Vicente,Carlos A. Stortz. Developmental changes in cell wall polysaccharides from sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars with contrasting firmness[J]. Postharvest Biology and Technology,2013,84.
- [15]杨天乐,吴峰峰,刘涛等.作物气孔的作用及其影响因素的研究进展[J].北方园艺,2020(03):143-148.
- [16]张彩芳,任亚敏,罗双群等.果蔬及其制品加工中维生素 C 稳定性的研究进展[J].粮食与食品工业,2017,24(05):26-29.
- [17]范新光.鲜切西兰花减压冷藏保鲜技术与货架期预测模型的研究[D].烟台大学,2014.
- [18]单云辉,郜海燕,房祥军等.不同包装材料对草莓果浆贮藏品质的影响[J].食品科学,2018(13):251-257.
- [19]徐飞,徐康明.西兰花(青花菜)[J].福建农业,1997(03):17.
- [20]千春录,林晨,殷健东等.1-MCP 和自发气调对猕猴桃果实贮藏品质和色素的影响[J].江苏农业科学,2018,46(13):189-192.
- [21]高雪,杨绍兰,王然等.近冰温贮藏对鲜切西兰花保鲜效果的影响[J].中国食品学报,2013,13(8):140-146.
- [22]邵婷婷,张敏,刘威等.采后热水处理对青椒果实低温贮藏期间活性氧代谢及抗氧化物质的影响[J].食品与发酵工业,2019,45(12).
- [23]张淑萍,张小康,袁雪等.1-甲基环丙烯对早中熟鲜食枣的保鲜及采后生理效应[J].食品科学,2018,39(13).
- [24]侯素莹,黄嘉慧,陈建林等.鲷鱼诺卡氏菌 SOD 基因克隆与表达及其酶活性测定[J].基因组学与应用生物学,2019,38(11):4894-4901.

- [25]张丽改,张秀超,程润等.果蔬中超氧化物歧化酶活性与生命动力源量子统计参数之间关系的研究[J].北京化工大学学报(自然科学版),2013,40(04):30-34.
- [26]CHEN K T,RENAUT J,SERGEANT K,et al.Proteomic Changes Associated with Freeze-Thaw Injury and Post-Thaw Recovery in Onion(*Allium cepa*L.)Scales[J].Plant,Cell&Environment,2013,36(4):892-905.
- [27]刘浩然.不同大豆品种对干旱和盐胁迫的生理响应机制[D].河北:河北大学,2018:20-28.
- [28]李哲,黄磊.植物叶片和采后果蔬的过氧化氢酶活性[J].生态科学,2010,29(06):573-578.
- [29]王成涛,王昌涛,赵磊等.不同氧分压条件下金针菇贮藏保鲜相关酶活性的研究[J].食品科学,2011,32(8):300-304.
- [30]JIA H, ZHAO P, WANG B, et al. Overexpression of polyphenol oxidase gene in strawberry fruit delays the fungus infection process[J]. Plant Molecular Biology Reporter, 2016,34(3):592 - 606.
- [31]贾艳茹,魏建梅,高海生.质构仪在果实品质测定方面的研究与应用[J].食品科学,2011,32(S1):184-186.
- [32]范新光,张长峰,郭风军等.TPA测试在评价板栗质地特性方面的研究[J].食品科技,2013,38(5):280-284.
- [33]李云飞,殷涌光,徐树来.食品物性学[M].北京:中国轻工业出版社,2011:237-246.
- LI Yun-fei,YIN Yong-guang,XU Shu-lai.Food physics[M].Beijing: China Light Industry Press,2011: 237-246.
- [34]宋肖琴,张波,徐吕杰等.采后枇杷果实的质构变化研究[J].果树学报,2010,27(3):379-384.
- SONG Xiao-qin,ZHANG Bo,XU Lv-jie,et al.Texture profile analysis of postharvest loquat fruit[J].Journal of Fruit Science,2010,27(3):379-384.
- [35]刘萌.蓝莓MAP贮藏及物流保鲜技术研究[D].烟台:烟台大学,2012.
- LIU Meng.Study on the Modified Atmosphere Packaging Storage of Blueberries and Logistics Technology[D].Yantai University,2012.
- [36]Alvarez M, Canet W, LopezM. Influence of deformation rate and degree of compression on textural parameters of potato and apple tissues in texture profile analysis[J]. European Food Research and Technology,2002,215(1):13-20.
- [37]郭风军.冬枣活性包装贮藏及物流保鲜技术研究[D].烟台:烟台大学,2013.140-146.
- GUO Feng-jun.Study on storage and logistics technology of active packaging of Winter jujube[D].Yantai:Yantai University,2013.140-146.

2020 年剑麻集团剑麻产业技改发展及展望

广东省东方剑麻集团有限公司，524022

岑业忠、林胜、廖积刚、何韶、汪生林、张光辉^①

剑麻又称西沙尔麻，是龙舌兰麻类的一种，属龙舌兰科龙舌兰属，原产于墨西哥。中国因国防和国民经济的需要，广东农垦于上世纪五十年代末、六十年代初从建立全国剑麻样板场（东方红农场）开始，已有 60 多年的发展历史，目前推广种植 H·11648（即俗称“东 1 号”剑麻）；目前剑麻是湛江农垦的支柱产业，也是热带作物机械化耕作程度最高的特色优势产业，产品可开发性强，潜力大，全身是宝，是我国热带地区重要的出口创汇产品。湛江垦区陆续取得了包括“剑麻快速繁殖法”、“H·11648 麻引进试种、技术改造和示范推广”、“剑麻高产栽培措施研究”和“剑麻地毯及装饰用品开发”等 18 项省部以上科研成果奖（其中有 4 项为国家科技奖），剑麻种植水平创下当时全世界叶片及纤维单产最高纪录。

根据剑麻产业发展需要，1997 年成立广东省东方剑麻集团有限公司（以下简称“集团”），目前是一家以剑麻生产为主体，农、工、贸一体化，产、供、销一条龙综合经营的国有大型企业。集团现有剑麻种植基地 12500 亩，辐射各农场规模种植 40000 余亩，专业剑麻加工厂 18 座。加工产品有白棕绳、剑麻纱、剑麻地毯、剑麻抛光布、工艺品、墙纸和化工品等，2000 年度被广东省人民政府确认为“广东省农业龙头企业”。2002 年获“农业部亚热带作物名优基地”，2006 年获得“湛江剑麻纤维地理标志保护产品”，“太阳”牌剑麻地毯、剑麻纤维、剑麻白棕绳、剑麻细纱等产品在连续五届中国（国际）农业博览会上获金奖或名牌奖。

（一）农业基地建设情况

依据 2018 年中央“一号文件”和广东省印发的《2018 年全省现代农业产业园建设工作方案》，将建设现代农业产业园作为优化产品产业结构，实现农业提质增效的重要手段，提出以规模化种养基地为基础，依托农业产业化龙头企业带动，聚集现代农业生产要素，建设“生产+加工+科技”的现代农业产业园现代农业布局思路。依据湛江农垦，剑麻集团抓住机遇，迎难而上，积极组织申报，因剑麻产业特色鲜明、要素高度聚集、设施装备先进、生产方式绿色、一二三产业融合等条件，2018 年获批广东农垦湛江垦区剑麻产业园（省级），2019 年升级为广东农垦湛江农垦（雷州半岛）现代农业产业园（国家级）；要求今后着重围绕打造高起点、高标准的生产基地，培育农业发展新动能、打造农业建设样板区和乡村产业兴旺引领区，推进的现代农业产业园建设体系，为农业农村现代化建设和乡村振兴提供有力支撑。

通过项目建设，在湛江垦区东方红农场 12 个连队、幸福农场 10 个连队和金星农场 15 个连队累计流转剑麻种植土地 12500 余亩，每年缴交土地使用费 1000 万元；项目建设完成后，预计平均年产剑麻叶片 70000 吨，年产纤维 2700 吨，年经济收入 3000 万元以上；新增就业岗位 300 余个。在产业园项目建设过程中，剑麻集团采用了“机械化+职业团队”的种管模式，克服时间紧、任务重、请工贵等问题，改良了剑麻大田种植起畦农机具，研发了剑麻麻渣粉碎回田装置，大

大提高了用工效率，解决了麻渣回田综合利用难题，按期完成了项目建设任务。主要采用以下几个方面做法：

一是在剑麻种植方面，因地制宜大力推进剑麻机械化生产，为了全方面的机械化推广，改良传统“飞机犁”起高畦开大沟的种植模式，推行剑麻株行距种植4米*1米*1米规格（每亩种植266株），从而提高生产效率，有利于今后剑麻田管、采收等机械化进场安全作业，有效减少后期麻田管理成本投入。

二是在剑麻田管方面，全面推行“职业团队”经管模式，剑麻集团先后组建了“除草队伍”、“施肥、防病队伍”和“割麻队伍”，不断提高劳动生产率，引领剑麻产业向高效、绿色发展。

三是在剑麻综合利用方面，剑麻新鲜麻渣的回田，为了解决回田中短乱纤维造成堵塞问题，公司先后投入研发了剑麻渣乱纤维粉碎施放一体车，能够与一定量生物肥开沟混施，扩大有机肥应用范围，促进产业园生态循环、健康持续发展。

（二）工业制品加工情况

坚持以市场为导向，抓好产品升级，进一步加快制品资源整合力度，通过强化管理，按一厂一策，采取定员、定成本，联产计酬，多劳多得、以效取酬，提高产品市场竞争力及产品附加值。

1、推进产品升级，实现由低端产品逐步向中高端产品的生产突破，参与高端剑麻制品市场的竞争，重点推出高端剑麻制品。

——合理优化产品结构，坚持以销定产，根据客户需要进行排单生产。同时重点开发和生产适销对路的新产品，减少传统低端制品的生产，走差异化发展路线，做到扬长避短，避免价格竞争。主要加大了漂白绳、染色纤维、宠物绳等产品的生产力度，取得了较好的效果。宠物绳比同等批次产品毛利增加8%，销售收入占据公司制品收入近50%。

——降低原料成本，利用巴西3DB纤维代替国内生产同等次的合格品纤维，生产漂白与染色制品，大幅节约成本。据统计，自产烘干纤维12500元/吨，进口纤维9700元/吨，成本每吨可节2800元/吨。

2、更新工业设备，优化工艺，提升制品生产水平及生产效率。

——剑麻纤维加工部分，目的是符合社会发展的需要，绿色发展，减少废弃物的排放和环境污染。主要包括两个方面，一是升级改造剑麻湿纤维烘干设备配套加热负载装置，原料由烧煤改为液化天然气；二是纤维洗涤后渣水的分离回收处理装置。

——淘汰落后产能，升级机器设备，解放人力资源。通过对原有加工厂设备升级、工艺更新，加强纤维加工能力，并提升剑麻等综合利用水平，发展生物制药和菠萝纤维加工，延长产业链，增加附加值，带动产业园区发展升级。对原场区的加工废弃物处理设备设施进行改造，有效提高农副资源利用率。

3、推进制品资源整合，加快推进集团公司剑麻制品精、深加工项目生产线筹建，力争下半年投产。

——建设万吨剑麻制品加工项目，整合园区内剑麻加工产能，引导加工企业采用新技术、更新工艺设备、延伸加工链、设计新产品、开拓新市场。购置项目建设用地，实施三通一平及建设加工厂房，配套污水处理管网及机器设备等。以合作控股方式，整合剑麻制品加工业。

——引进广东、广西、浙江及江苏等地剑麻制品公司共同投资，于雷州半岛建设万吨剑麻制品工业园，建设高端制品生产线8条以上。

（三）当前存在问题及措施

1. 投资回收期长。剑麻属长期作物，生长周期约为12年，前三年为生长期，直至第四年才能开展叶片收割，导致剑麻种植前期投资大，成本回收周期长。近些年，湛江农垦出台产业扶持政策，对种植户实施种管费免息借款，引进粤垦小贷公司为种植户提供贴息贷款等。

2. 病虫害影响大。剑麻受致病生物及不良天气等影响，容易引发真菌及生理性病虫害，例如斑马纹病、粉蚧、叶斑病、炭疽病等。经过多年的摸索与研究，以上病虫害通过培育健康种苗，加强麻田管理及研究特效农药等方式已实现可防可控。

3. 加工设施陈旧。剑麻加工设施设备陈旧，多采用传统工艺技术，生产过程自动化、生产环境清洁化、节能降耗等方面的现代化水平亟待提高。

4. 产品开发深度不够。产业园加工基地对剑麻的加工多停留在剑麻纤维初步阶段，对剑麻的精深加工及产品的开发深度不够，产品种类较少，市场占有率较低。

5. 剑麻种苗抗病性问题。研发团队人员的建设不够合理，应科学选育剑麻种苗，采取剑麻种植轮作计划，多施生物有机肥。

（四）今后展望

剑麻属国家政策扶持的特色绿色产业，其生物质能源的独特性，在特定时空中具有一定的不可替代性，使其在国民经济中具有一定的地位和作用，在国防保障和国家经济安全中具有一定的战略意义。从剑麻的发展来看，产业的转型升级发展是必需的。

——实施订单农业 在产业园内开展龙头企业、新型经营主体、专用种植基地一体化经营，与农户建立以订单农业为核心，以供应链融资、社会化服务为特征的稳定契约关系。龙头企业提供种苗、技术、培训等服务，带动周边农户种植剑麻，与农户签订“保底价+联动价”的收购合同。剑麻叶片达到企业标准的按市场价收购（根据纤维市场价核定该收购价），因不可抗力因素导致剑麻未达标的，按保底价收购。引导农产品加工企业向前端延伸，带动农户建设生产基地，向后端延伸建设物流营销和服务网络，整合农业生产经营产业链，将农业生产的产前、产中和产后环节纳入企业经营的内部价值链，降低农户生产经营风险，持续提升农民收入水平。

——探索折股量化 探索实施财政投入股权化试点项目。将财政补助给产业园的财政奖补资金划出一定比例以股份形式入股园区剑麻加工企业、生产基地等，并将该股份无偿分配给园区剑麻种植户，实现职工、农户、企业和产业的共同发展。通过财政补助资金股权化改革，提高财政资金使用效益，构建紧密的农企利益联结机制，推动集体资源变股权、农户变股东、财政资金变股金，实现农户持续增收、企业发展壮大的多方共赢局面。

——建设共享工厂 由农户或农村合作社种植剑麻，产业园提供技术支持；纤维厂提供有偿加工与物流运输，按剑麻加工量收取加工费，量大从优；再由纤维厂牵头，将剑麻粗制品售卖给精深加工企业。这种流水线式资源共享，形成产加销一体化，创新加工厂共享模式，农户可以委托加工厂对剑麻叶片代加工，直接分享产业二产红利。

——夯实金融扶持 为降低剑麻种植户的投资压力，撬动社会金融资本，鼓励龙头企业为剑麻种植户签订订单农业合同，为种植户提供生产资料免息借款；引进粤垦小贷公司，利用产业园财政奖补资金为剑麻种植户提供贴息贷款。

——创新保险机制 加大农业保险的覆盖面和保险额度，创新保险机制，

加强保险服务，提高农业保险保障水平。探索有利于剑麻产业可持续发展的保险服务机制，确保种植户的持续稳定增收。

——加大技术研发合作和品牌建设。主要包括剑麻收割机研发、剑麻农业技术与试验、纤维加工设备技术改造、剑麻纤维加工技术与新产品开发及品牌建设等。

①**通讯作者简介** 张光辉(1982—)，男，热作工程师；研究方向：剑麻种植、生产标准化及纤维质量技术研究。E-mail: zhgh301@163.com。

夹杂物对甘蔗糖分等影响的分析与查定

林国栋, 李智军, 高春荣

(广东广垦华丰糖业有限公司, 广东湛江 524132)

摘要: 从多个方面论述甘蔗夹杂物对制糖工艺生产的影响, 用数据分析说明了甘蔗夹杂物对甘蔗蔗糖分、压榨抽出率、煮炼收回率以及产糖率的降低程度。通过相关数据计算分析得知, 一般情况下, 甘蔗夹杂物增加 1%, 甘蔗蔗糖分将降低 0.12%, 压榨抽出率降低 0.31%, 煮炼收回率降低 0.2% 左右, 最终会导致产糖率降低 0.16%。

关键词: 夹杂物; 蔗糖分; 抽出率; 煮炼收回率, 产糖率

1 引言

在甘蔗糖厂生产中, 进厂原料甘蔗由于砍收方面的影响, 往往带有一定数量的夹杂物。甘蔗夹杂物即原料甘蔗中夹带的蔗叶、叶鞘(壳)梢、蔗花、须根、蔗笋(1m 以下的后生分蘖茎)、蔗茎地下部节密集部位(俗称烟斗头)、泥沙和干枯茎、腐败茎、严重病虫鼠害茎及其它非糖物的重量百分率。夹杂物的存在不但会降低甘蔗糖分, 加重压榨机的负担, 无形中也降低了压榨量, 同时, 夹杂物不仅带走了糖分, 而且夹杂物中的可溶性不纯物又增加澄清的困难。

甘蔗夹杂物含量的高低是收获是否精细的问题, 在手工收获时, 良好的标准是夹杂物量应在 1% 以下。在采用机械收获甘蔗时, 甘蔗夹杂物往往会达到 7% 甚至更高, 特别是在雨天时其数量更是难于控制。

对夹杂物的影响进行一些定量的分析, 有助于我们对其有一个更直观的了解。

2 夹杂物对蔗糖分的影响

夹杂物对蔗糖分的影响是显而易见的, 为便于分析, 一般情况下可假设夹杂物的含糖分为零。

设进厂的原料蔗重量为 100, 夹杂物为 T%, 除杂后的干净甘蔗蔗糖分为 $S_0\%$, 原料蔗蔗糖分为 S%, 则:

除杂后的甘蔗净重 = $100 - T$

$$\text{原料蔗蔗糖分}(\%) \quad S = \frac{(100 - T) \times S_0}{100} \times 100 = (100 - T) \times S_0 \dots \dots (1)$$

例如, 当净蔗蔗糖分为 12%, 夹杂物为 1% 时, 原料蔗蔗糖分(%)

$$S = (100 - T) \times S_0 \% = (100 - 1) \times 12\% = 11.88$$

将 $T = 1 \sim 20$ 代入(1)式计算出 S 后可得同一干净甘蔗蔗糖分, 不同夹杂物下的原料蔗蔗糖分结果对比表如下:

表 1

夹杂物对蔗糖分的影响

| 原料甘蔗重量 | 夹杂物 % | 甘蔗净重 | 净蔗蔗糖分 % | 原料蔗蔗糖分 % |
|--------|-------|------|---------|----------|
| 100 | 1 | 99 | 12 | 11.88 |
| 100 | 2 | 98 | 12 | 11.76 |
| 100 | 3 | 97 | 12 | 11.64 |
| 100 | 4 | 96 | 12 | 11.52 |

| | | | | |
|-----|----|----|----|-------|
| 100 | 5 | 95 | 12 | 11.40 |
| 100 | 6 | 94 | 12 | 11.28 |
| 100 | 7 | 93 | 12 | 11.16 |
| 100 | 8 | 92 | 12 | 11.04 |
| 100 | 9 | 91 | 12 | 10.92 |
| 100 | 10 | 90 | 12 | 10.80 |
| 100 | 11 | 89 | 12 | 10.68 |
| 100 | 12 | 88 | 12 | 10.56 |
| 100 | 13 | 87 | 12 | 10.44 |
| 100 | 14 | 86 | 12 | 10.32 |
| 100 | 15 | 85 | 12 | 10.20 |
| 100 | 16 | 84 | 12 | 10.08 |
| 100 | 17 | 83 | 12 | 9.96 |
| 100 | 18 | 82 | 12 | 9.84 |
| 100 | 19 | 81 | 12 | 9.72 |
| 100 | 20 | 80 | 12 | 9.60 |

上表显示，随着甘蔗夹杂物的增加，原料蔗糖分相应地按比例减少。对于一定的工艺设备和工艺流程来说，总回收率会保留在一定的水平上，则蔗糖分的降低意味着产糖率的降低。

3 夹杂物对抽出率的影响

当压榨机规格一定的情况下，压榨机列的抽出率与压榨量不能无限制地提高，它们之间存在着一个互相约束的关系。如果确定了抽出率，则要求机列有足够的压榨面积，以便将每平方米压榨面积的日榨量（t 蔗/m²·d）或纤维负荷量（t 纤维/m²·d）限制在某一限度以内。或者说当纤维负荷量在一定数值的情况下，抽出率会被限制在某一范围之内。理论抽出率与纤维负荷量之间存在以下经验修正公式：

$$E_x = 100 - (kq)^{0.93} \dots\dots\dots (2)$$

式中 k—系数，m²·d/ t 纤维，k=0.74

q—纤维负荷，t /m²·d

为了分析夹杂物对抽出率的影响，现假定某一系列压榨机组要求达到的抽出率为 96%，则当甘蔗在无夹杂物的情况下允许的纤维负荷量为：

$$q = \frac{0.93\sqrt[0.93]{(100 - E_x)}}{k} = \frac{0.93\sqrt[0.93]{(100 - 96)}}{0.74} = 6 \quad (\text{t 纤维/m}^2 \cdot \text{d})$$

当无夹杂物甘蔗即净蔗的纤维分为 12% 时，允许的净蔗负荷量 G 为：

$$G = \frac{q}{12\%} = \frac{6}{12\%} = 50 \quad (\text{t 蔗/m}^2 \cdot \text{d})$$

当甘蔗带有夹杂物时，由于夹杂物以纤维类成分为主，相当于增加了机列的纤维负荷量，从(2)式可知会相应地降低机列的理论抽出率。

夹杂物中除纤维类成分为主外，还含有一定量的泥沙等非纤维物质，由于这些物质占据了有效的压榨面积，并且容易堵塞排汁通道，因此可以把这些非纤维物质看作是阻碍抽出率提高的类纤维物，这样就可以把夹杂物全部等效为额外的纤维分，简化其对抽出率影响的分析。

当夹杂物为 T%时，额外增加的纤维量为 $\frac{G \times T\%}{1 - T\%}$ ，则纤维负荷 q 将增加，变为：

$q = 6 + \frac{G \times T\%}{1 - T\%}$ ，比如，当夹杂物为 1%时，纤维负荷 q 将增加为：

$q = 6 + \frac{G \times T\%}{1 - T\%} = 6 + \frac{50 \times 1\%}{1 - 1\%} = 6.51$ 。相应地，抽出率 E_x (%) 将降低为：

$E_x = 100 - (kq)^{0.93} = 100 - (0.74 \times 6.51)^{0.93} = 95.69$ ，比原来的 96 降低了 0.31 个百分点。

点。

同样，将 T=1~20 取连续整数重复上述计算，可得不同夹杂物下的抽出率结果对比表如下：表 2

夹杂物对抽出率的影响

| 夹杂物 % | 净蔗纤维负荷 t /m ² ·d | 净蔗纤维分 % | 净蔗负荷 G t /m ² ·d | 原料蔗纤维负荷 q t /m ² ·d | 抽出率 E _x % |
|-------|-----------------------------|---------|-----------------------------|--------------------------------|----------------------|
| 0 | 6 | 12.00 | 50.00 | 6.00 | 96.00 |
| 1 | 6 | 12.00 | 50.00 | 6.51 | 95.69 |
| 2 | 6 | 12.00 | 50.00 | 7.02 | 95.37 |
| 3 | 6 | 12.00 | 50.00 | 7.55 | 95.05 |
| 4 | 6 | 12.00 | 50.00 | 8.08 | 94.72 |
| 5 | 6 | 12.00 | 50.00 | 8.63 | 94.39 |
| 6 | 6 | 12.00 | 50.00 | 9.19 | 94.05 |
| 7 | 6 | 12.00 | 50.00 | 9.76 | 93.71 |
| 8 | 6 | 12.00 | 50.00 | 10.35 | 93.36 |
| 9 | 6 | 12.00 | 50.00 | 10.95 | 93.00 |
| 10 | 6 | 12.00 | 50.00 | 11.56 | 92.64 |
| 11 | 6 | 12.00 | 50.00 | 12.18 | 92.27 |
| 12 | 6 | 12.00 | 50.00 | 12.82 | 91.90 |
| 13 | 6 | 12.00 | 50.00 | 13.47 | 91.51 |
| 14 | 6 | 12.00 | 50.00 | 14.14 | 91.12 |
| 15 | 6 | 12.00 | 50.00 | 14.82 | 90.72 |
| 16 | 6 | 12.00 | 50.00 | 15.52 | 90.32 |
| 17 | 6 | 12.00 | 50.00 | 16.24 | 89.90 |
| 18 | 6 | 12.00 | 50.00 | 16.98 | 89.48 |
| 19 | 6 | 12.00 | 50.00 | 17.73 | 89.04 |
| 20 | 6 | 12.00 | 50.00 | 18.50 | 88.60 |

从上表可看出，在无夹杂物的净蔗负荷一定的情况下，甘蔗所带的夹杂物越多，压榨机列的抽出率就越低。在甘蔗带有一定量的夹杂物的情况下，如果保持某一水平的抽出率，在其它条件不变时，就必须降低日榨量以避免纤维负荷的额外增加。

4 夹杂物对煮炼收回率的影响

《甘蔗制糖原理与技术》第一分册《甘蔗提汁》中论述：夹杂物多，带入的非糖分及微生物多，影响蔗汁纯度。据统计，通常甘蔗夹杂物增加 1%，蔗汁纯度下降 0.32%，根据纯度与煮炼收回的关系可推算煮炼收回降低 0.2%左右。

5 夹杂物对产糖率的影响

从上面的论述可知，夹杂物直接影响到原料甘蔗的蔗糖分、压榨抽出率和煮炼收回率，这三个方面的综合影响最终会导致产糖率的降低。按上表保守计算，甘蔗夹杂物增加 1%，甘蔗蔗糖分降低 0.12%，压榨抽出率降低 0.31%，煮炼收回率降低 0.2% 左右。

为了对比产糖率的变化情况，假设无夹杂物甘蔗的蔗糖分为 12%，压榨抽出率为 96%，煮炼收回率为 89%，则无夹杂物甘蔗的产糖率 = $12\% \times 96\% \times 89\% = 10.25\%$ 。

当夹杂物增加 1% 时，甘蔗的蔗糖分将降低为 $12\% - 0.12\% = 11.88\%$ ；

压榨抽出率降低为 $96\% - 0.31\% = 95.69\%$ ；

煮炼收回率降低为 $89\% - 0.2\% = 88.8\%$ ；

此时的产糖率 = $11.88\% \times 95.69\% \times 88.8\% = 10.09\%$ ，比无夹杂物甘蔗产糖率 10.25% 降低 0.16 个百分点。

也就是说，一般情况下，夹杂物增加 1%，产糖率将降低 0.16%。

6 实验查定

为了验证以上分析是否符合实际，对受夹杂物影响最大的甘蔗蔗糖分进行了多次实验查定。

查定方法：在同一时间、同一甘蔗品种的种植地块，用两种不同的砍收方式同时采集相应数量的甘蔗样品分别化验其甘蔗糖分与夹杂物。

第一种砍收方式为低夹杂物方式，第二种砍收方式为高夹杂物方式。两种方式的每一个样品均化验其甘蔗糖分。因夹杂物剥离后会影响到甘蔗糖分的真实数据，故夹杂物采用抽样方式单独分析若干次后取平均值。实际化验数据如下表：

第一种低夹杂物砍收方式蔗糖份测验结果表

| 序号 | 分析日期 | 采样地点 | 甘蔗蔗糖份% | 压 碎 汁 | | | | 夹杂物% |
|----|-----------|--------|--------|-------|-------|-------|------|------|
| | | | | 糖锤度% | 糖度% | 筒纯度% | 还原糖% | |
| 1 | 2019/1/1 | H08 队 | 11.86 | 16.51 | 13.74 | 83.22 | 0.84 | 1.75 |
| 2 | 2019/1/1 | H09 队 | 11.83 | 16.42 | 13.47 | 82.03 | 0.88 | |
| 3 | 2019/1/1 | RS9 队 | 11.63 | 16.37 | 13.42 | 81.98 | 0.82 | |
| 4 | 2019/1/1 | RS11 队 | 11.69 | 16.4 | 13.45 | 82.01 | 0.71 | |
| 5 | 2019/1/14 | RS7 队 | 13.2 | 18.38 | 15.86 | 86.29 | 0.63 | |
| 6 | 2019/1/14 | H04 队 | 11.97 | 17.11 | 13.93 | 81.41 | 0.83 | |
| 7 | 2019/1/14 | H09 队 | 12.53 | 17.68 | 14.72 | 83.26 | 0.6 | |
| 8 | 2019/1/15 | H016 队 | 13.02 | 18.38 | 15.86 | 86.29 | 0.42 | |
| 9 | 2019/1/15 | RS11 队 | 12.73 | 17.84 | 14.69 | 82.34 | 0.77 | |
| 10 | 2019/1/15 | H09 队 | 11.51 | 16.31 | 13.2 | 80.93 | 0.79 | |
| 11 | 2019/1/15 | H016 队 | 12.63 | 17.84 | 14.55 | 81.56 | 0.48 | |
| 12 | 2019/1/16 | RS11 队 | 11.83 | 16.51 | 13.74 | 83.22 | 0.84 | |
| 13 | 2019/1/16 | RS7 队 | 12.78 | 17.71 | 14.88 | 84.02 | 0.71 | |
| 14 | 2019/1/16 | RS4 队 | 13.37 | 18.38 | 15.86 | 86.29 | 0.45 | |
| 15 | 2019/1/16 | H09 队 | 11.65 | 17.11 | 13.93 | 81.41 | 0.82 | |
| 16 | 2019/1/16 | H016 队 | 12.97 | 18.32 | 15.25 | 83.24 | 0.7 | |
| 17 | 2019/1/16 | H09 队 | 12.02 | 16.58 | 13.69 | 82.57 | 0.85 | |
| 18 | 2019/1/17 | RS11 队 | 11.91 | 16.98 | 14.04 | 82.69 | 0.79 | |
| 19 | 2019/1/17 | RS4 队 | 12.09 | 17.15 | 14.5 | 84.55 | 0.52 | |

| | | | | | | | |
|----|------------|--------|-------|-------|-------|-------|------|
| 20 | 2019/1/17 | RS7 队 | 12.06 | 16.68 | 13.62 | 81.65 | 0.56 |
| 21 | 2019/1/17 | RS11 队 | 12.71 | 17.98 | 14.82 | 82.42 | 0.48 |
| 22 | 2019/1/17 | HO16 队 | 11.31 | 15.71 | 13.14 | 83.64 | 0.42 |
| 23 | 2019/1/18 | HO9 队 | 11.65 | 16.52 | 13.59 | 82.26 | 0.52 |
| 24 | 2019/1/18 | HO16 队 | 13.07 | 18.08 | 15.16 | 83.85 | 0.4 |
| 25 | 2019/1/18 | RS12 队 | 11.63 | 17.11 | 13.79 | 80.6 | 0.6 |
| 26 | 2019/1/18 | RS7 队 | 12 | 17.01 | 14.04 | 82.54 | 0.48 |
| 27 | 2019/1/18 | RS11 队 | 12.01 | 17.15 | 14.67 | 85.54 | 0.42 |
| 28 | 2019/1/19 | RS4 队 | 11.19 | 15.62 | 13.09 | 83.8 | 0.79 |
| 29 | 2019/1/19 | RS7 队 | 11.98 | 17.01 | 14.28 | 83.95 | 0.72 |
| 30 | 2019/1/19 | RS5 队 | 11.61 | 16.49 | 13.56 | 82.23 | 0.88 |
| 31 | 2019/1/19 | RS4 队 | 12.11 | 17.49 | 14.63 | 83.65 | 0.52 |
| 32 | 2019/1/19 | RS7 队 | 12.83 | 18.12 | 14.93 | 82.4 | 0.62 |
| 33 | 2019/1/19 | HO8 队 | 11.68 | 17.12 | 13.96 | 81.54 | 0.74 |
| 34 | 2019/1/19 | HO5 队 | 12.5 | 17.29 | 14.38 | 83.17 | 0.47 |
| 35 | 2019/1/19 | HO16 队 | 11.54 | 16.98 | 13.85 | 81.57 | 0.86 |
| 36 | 2019/1/20 | RS5 队 | 11.75 | 17.16 | 14.01 | 81.64 | 0.76 |
| 37 | 2019/1/20 | RS4 队 | 12.97 | 18.32 | 15.25 | 83.24 | 0.41 |
| 38 | 2019/1/20 | HO8 队 | 11.62 | 17.11 | 13.93 | 81.41 | 0.78 |
| 39 | 2019/1/20 | HO5 队 | 12.99 | 18.32 | 15.25 | 83.24 | 0.47 |
| 40 | 2019/1/20 | HO8 队 | 13.4 | 18.38 | 15.86 | 86.29 | 0.56 |
| 41 | 2019/12/14 | RS13 队 | 11.95 | 16.89 | 14.11 | 83.54 | 0.8 |
| 42 | 2019/12/14 | HO10 队 | 11.11 | 16.51 | 13.86 | 83.95 | 0.78 |
| 43 | 2019/12/14 | HO14 队 | 12.48 | 17.68 | 15.32 | 86.65 | 0.31 |
| 44 | 2019/12/15 | HO16 队 | 12.17 | 16.98 | 14.23 | 83.80 | 0.74 |
| 45 | 2019/12/15 | HO10 队 | 12.15 | 16.9 | 14.13 | 83.61 | 0.76 |
| 46 | 2019/12/15 | RS11 队 | 11.95 | 16.95 | 14.19 | 83.72 | 0.82 |
| 47 | 2019/12/15 | RS13 队 | 12.05 | 17.05 | 13.89 | 81.47 | 0.63 |
| 48 | 2019/12/17 | RS11 队 | 11.75 | 16.98 | 13.72 | 80.80 | 0.78 |
| 49 | 2019/12/17 | RS13 队 | 11.54 | 16.54 | 13.56 | 81.98 | 0.89 |
| 50 | 2019/12/17 | HO16 队 | 11.22 | 16.51 | 13.86 | 83.95 | 0.92 |
| 51 | 2019/12/18 | HO16 队 | 12.71 | 17.68 | 15.32 | 86.65 | 0.4 |
| 52 | 2019/12/18 | HO10 队 | 11.4 | 16.54 | 13.22 | 79.93 | 0.89 |
| 53 | 2019/12/18 | RS11 队 | 12.78 | 17.52 | 15.06 | 85.96 | 0.47 |
| 54 | 2019/12/18 | RS13 队 | 11.2 | 16.52 | 13.69 | 82.87 | 0.82 |
| 55 | 2019/12/19 | HO16 队 | 12.95 | 17.47 | 14.84 | 84.95 | 0.42 |
| 56 | 2019/12/19 | HO10 队 | 11.44 | 16.52 | 13.5 | 81.72 | 0.68 |
| 57 | 2019/12/19 | RS11 队 | 12.34 | 17 | 14.61 | 85.94 | 0.56 |
| 58 | 2019/12/21 | RS13 队 | 11.51 | 16.24 | 13.67 | 84.17 | 0.72 |
| 59 | 2019/12/21 | HO1 队 | 12.17 | 16.97 | 14.53 | 85.62 | 0.43 |
| 60 | 2019/12/21 | RS9 队 | 12.14 | 16.89 | 14.44 | 85.49 | 0.46 |
| 61 | 2019/12/23 | RS11 队 | 12.59 | 17.42 | 14.92 | 85.65 | 0.49 |
| 62 | 2019/12/23 | HO1 队 | 12.75 | 17.59 | 15.1 | 85.84 | 0.3 |

| | | | | | | | | |
|----|------------|--------|-------|-------|-------|-------|------|------|
| 63 | 2019/12/24 | H09 队 | 12.81 | 17.89 | 15.35 | 85.80 | 0.32 | |
| 64 | 2019/12/24 | RS11 队 | 11.22 | 16.16 | 13.49 | 83.48 | 0.76 | |
| 65 | 2019/12/26 | RS13 队 | 13.06 | 18.18 | 15.5 | 85.26 | 0.61 | |
| 66 | 2019/12/26 | RS9 队 | 12.53 | 17.48 | 14.9 | 85.24 | 0.52 | |
| 67 | 2019/12/27 | H09 队 | 13.32 | 18.02 | 15.38 | 85.35 | 0.58 | |
| 68 | 2019/12/27 | H05 队 | 11.5 | 16.37 | 13.59 | 83.02 | 0.62 | |
| 69 | 2019/12/29 | H09 队 | 12.22 | 16.24 | 13.8 | 84.98 | 0.51 | |
| 70 | 2019/12/29 | RS9 队 | 13.02 | 18.16 | 15.67 | 86.29 | 0.67 | |
| 71 | 2019/12/31 | RS13 队 | 13.81 | 18.12 | 16.38 | 90.40 | 0.2 | |
| 72 | 2019/12/31 | H01 队 | 15.22 | 19.32 | 18.01 | 93.22 | 0.25 | |
| 73 | 2019/12/31 | RS9 队 | 12.49 | 16.52 | 14.5 | 87.77 | 0.27 | |
| 74 | 2019/12/31 | RS11 队 | 15.16 | 19.89 | 17.72 | 89.09 | 0.2 | |
| 75 | 平均 | | 12.28 | 17.23 | 14.47 | 83.89 | 0.61 | 1.75 |

第二种高夹杂物砍收方式蔗糖份测验结果表

| 序号 | 分析日期 | 采样地点 | 甘蔗蔗糖份% | 压 碎 汁 | | | | 夹杂物% |
|----|-----------|--------|--------|-------|-------|-------|------|-------|
| | | | | 糖锤度% | 糖度% | 简纯度% | 还原糖% | |
| 1 | 2019/1/1 | H08 队 | 9.96 | 16.34 | 13.72 | 83.05 | 0.54 | 16.16 |
| 2 | 2019/1/1 | H09 队 | 9.93 | 15.31 | 12.46 | 80.47 | 0.87 | |
| 3 | 2019/1/1 | RS9 队 | 9.73 | 15.75 | 12.88 | 81.78 | 0.86 | |
| 4 | 2019/1/1 | RS11 队 | 9.69 | 15.58 | 12.53 | 79.53 | 0.89 | |
| 5 | 2019/1/14 | RS7 队 | 11.2 | 16.12 | 13.23 | 81.2 | 0.84 | |
| 6 | 2019/1/14 | RS4 队 | 10.07 | 15.11 | 12.36 | 80.87 | 0.78 | |
| 7 | 2019/1/14 | RS9 队 | 10.63 | 16.74 | 13.98 | 83.51 | 0.68 | |
| 8 | 2019/1/15 | H016 队 | 11.02 | 16.57 | 13.66 | 83.34 | 0.87 | |
| 9 | 2019/1/15 | RS11 队 | 10.63 | 16.74 | 13.78 | 82.32 | 0.83 | |
| 10 | 2019/1/15 | H09 队 | 9.61 | 15.42 | 12.79 | 82.94 | 0.69 | |
| 11 | 2019/1/15 | H016 队 | 10.73 | 16.37 | 13.41 | 81.92 | 0.79 | |
| 12 | 2019/1/16 | RS11 队 | 9.83 | 15.31 | 12.79 | 83.54 | 0.69 | |
| 13 | 2019/1/16 | RS7 队 | 10.79 | 16.37 | 13.41 | 81 | 0.87 | |
| 14 | 2019/1/16 | RS4 队 | 11.47 | 16.75 | 13.86 | 82.75 | 0.56 | |
| 15 | 2019/1/16 | H09 队 | 9.75 | 15.47 | 12.5 | 80.86 | 0.76 | |
| 16 | 2019/1/16 | H016 队 | 10.97 | 15.92 | 13.36 | 82.98 | 0.46 | |
| 17 | 2019/1/16 | H09 队 | 10.1 | 15.89 | 13.08 | 81.43 | 0.49 | |
| 18 | 2019/1/17 | RS11 队 | 10.01 | 15.32 | 12.53 | 80.94 | 0.86 | |
| 19 | 2019/1/17 | RS4 队 | 10.18 | 15.29 | 12.14 | 79.36 | 0.96 | |
| 20 | 2019/1/17 | RS7 队 | 10.13 | 15.05 | 12.04 | 79.14 | 1.22 | |
| 21 | 2019/1/17 | RS11 队 | 10.81 | 15.88 | 12.94 | 80.6 | 0.87 | |
| 22 | 2019/1/17 | H016 队 | 9.41 | 15.82 | 12.54 | 79.28 | 0.92 | |
| 23 | 2019/1/18 | H09 队 | 9.75 | 15.17 | 12.14 | 80.02 | 0.65 | |
| 24 | 2019/1/18 | H016 队 | 11.17 | 15.92 | 13.36 | 82.98 | 0.46 | |

| | | | | | | | |
|----|------------|--------|-------|-------|-------|-------|------|
| 25 | 2019/1/18 | RS12 队 | 9.73 | 15.07 | 12.29 | 81.55 | 0.79 |
| 26 | 2019/1/18 | RS7 队 | 10.08 | 15.29 | 12.27 | 79.4 | 0.96 |
| 27 | 2019/1/18 | RS11 队 | 10.1 | 15.36 | 12.56 | 81.82 | 0.87 |
| 28 | 2019/1/19 | RS4 队 | 9.29 | 15.07 | 12.03 | 79.82 | 0.96 |
| 29 | 2019/1/19 | RS7 队 | 10.08 | 15.29 | 12.27 | 80.23 | 0.89 |
| 30 | 2019/1/19 | RS5 队 | 9.7 | 15.14 | 11.89 | 77.68 | 1.04 |
| 31 | 2019/1/19 | RS4 队 | 10.21 | 15.04 | 12.1 | 80.45 | 0.97 |
| 32 | 2019/1/19 | RS7 队 | 10.93 | 15.85 | 13.6 | 84.92 | 0.55 |
| 33 | 2019/1/19 | H08 队 | 9.78 | 15.41 | 12.2 | 79.17 | 1.07 |
| 34 | 2019/1/19 | H05 队 | 10.6 | 15.98 | 13.16 | 82.35 | 1.09 |
| 35 | 2019/1/19 | H016 队 | 9.64 | 14.58 | 11.47 | 77.85 | 1.29 |
| 36 | 2019/1/20 | RS5 队 | 9.8 | 15.14 | 11.97 | 79.06 | 0.76 |
| 37 | 2019/1/20 | RS4 队 | 11.01 | 16.04 | 13.93 | 85.25 | 0.38 |
| 38 | 2019/1/20 | H08 队 | 9.7 | 15.04 | 12.16 | 79.52 | 0.48 |
| 39 | 2019/1/20 | H05 队 | 11.05 | 15.84 | 13.32 | 83.14 | 0.48 |
| 40 | 2019/1/20 | H08 队 | 11.4 | 16.3 | 13.81 | 83.8 | 0.74 |
| 41 | 2019/12/14 | RS13 队 | 10.05 | 14.37 | 12.14 | 84.48 | 0.85 |
| 42 | 2019/12/14 | H010 队 | 9.39 | 14.44 | 11.34 | 78.56 | 0.87 |
| 43 | 2019/12/14 | H014 队 | 10.48 | 15.27 | 12.35 | 80.88 | 0.85 |
| 44 | 2019/12/15 | H016 队 | 10.27 | 15.29 | 12.29 | 80.37 | 0.79 |
| 45 | 2019/12/15 | H010 队 | 10.89 | 15.33 | 12.62 | 82.32 | 0.91 |
| 46 | 2019/12/15 | RS11 队 | 10.05 | 15.71 | 12.59 | 80.16 | 0.96 |
| 47 | 2019/12/15 | RS13 队 | 9.82 | 15.4 | 12.51 | 81.26 | 0.67 |
| 48 | 2019/12/17 | RS11 队 | 9.75 | 14.75 | 11.82 | 80.16 | 0.71 |
| 49 | 2019/12/17 | RS13 队 | 9.54 | 15.07 | 12.03 | 79.82 | 0.8 |
| 50 | 2019/12/17 | H016 队 | 9.22 | 15.01 | 11.96 | 79.71 | 0.61 |
| 51 | 2019/12/18 | H016 队 | 10.61 | 15.92 | 12.68 | 79.65 | 0.67 |
| 52 | 2019/12/18 | H010 队 | 9.5 | 14.99 | 12.01 | 80.17 | 0.64 |
| 53 | 2019/12/18 | RS11 队 | 10.78 | 15.26 | 12.9 | 83.55 | 0.85 |
| 54 | 2019/12/18 | RS13 队 | 9.3 | 15.24 | 12.07 | 79.22 | 0.91 |
| 55 | 2019/12/19 | H016 队 | 10.85 | 15.66 | 12.78 | 80.72 | 0.78 |
| 56 | 2019/12/19 | H010 队 | 9.44 | 14.87 | 11.87 | 79.82 | 0.99 |
| 57 | 2019/12/19 | RS11 队 | 10.24 | 14.98 | 12.13 | 80.04 | 0.9 |
| 58 | 2019/12/21 | RS13 队 | 9.51 | 15.17 | 11.74 | 76.66 | 1.02 |
| 59 | 2019/12/21 | H01 队 | 10.07 | 15.58 | 12.44 | 79.82 | 0.8 |
| 60 | 2019/12/21 | RS9 队 | 10.04 | 15.37 | 12.24 | 79.62 | 0.86 |
| 61 | 2019/12/23 | RS11 队 | 10.49 | 15.82 | 12.68 | 80.13 | 0.8 |
| 62 | 2019/12/23 | H017 队 | 10.65 | 15.91 | 12.75 | 80.14 | 0.49 |
| 63 | 2019/12/24 | H09 队 | 10.71 | 16.06 | 12.91 | 80.39 | 0.42 |
| 64 | 2019/12/24 | RS11 队 | 9.22 | 15.61 | 12.43 | 79.63 | 0.66 |
| 65 | 2019/12/26 | RS13 队 | 10.86 | 15.63 | 12.52 | 80.09 | 0.53 |
| 66 | 2019/12/26 | RS9 队 | 10.53 | 15.51 | 12.36 | 78.85 | 0.92 |
| 67 | 2019/12/27 | H09 队 | 11.22 | 16.68 | 13.47 | 79.92 | 0.8 |

| | | | | | | | | |
|----|------------|--------|-------|-------|-------|-------|------|-------|
| 68 | 2019/12/27 | H05 队 | 9.52 | 15.82 | 12.54 | 79.24 | 0.88 | |
| 69 | 2019/12/29 | H09 队 | 10.22 | 15.84 | 12.14 | 75.95 | 0.66 | |
| 70 | 2019/12/29 | RS9 队 | 10.92 | 15.67 | 12.63 | 80.66 | 0.73 | |
| 71 | 2019/12/31 | RS13 队 | 11.44 | 16.56 | 13.87 | 83.76 | 0.3 | |
| 72 | 2019/12/31 | H01 队 | 10.75 | 16.02 | 13.29 | 82.96 | 0.74 | |
| 73 | 2019/12/31 | RS9 队 | 11.66 | 16.86 | 14.25 | 84.52 | 0.52 | |
| 74 | 2019/12/31 | RS11 队 | 12.5 | 17.56 | 14.43 | 82.18 | 0.47 | |
| 75 | 平均 | | 10.29 | 15.62 | 12.69 | 80.91 | 0.77 | 16.16 |

从以上两表可见：第一种方式砍收的甘蔗平均蔗糖分为 12.28%，夹杂物为 1.75%；第二种方式砍收的甘蔗平均蔗糖分为 10.29%，夹杂物为 16.16%。当夹杂物从 1.75% 增加到 16.16% 时，甘蔗糖分从 12.28% 减少到 10.29%，夹杂物每增加 1%，甘蔗糖分减少 0.14%。与上述理论分析的结论（夹杂物每增加 1%，甘蔗糖分减少 0.12%）相差不大。

7 结语

通过上面的有关分析和实验查定数据计算可知，夹杂物的存在对制糖工艺生产会产生较大的影响。一般情况下，甘蔗夹杂物增加 1%，甘蔗蔗糖分将降低 0.12%，压榨抽出率降低 0.31%，煮炼回收率降低 0.2% 左右，最终会导致产糖率降低 0.16%。

参考文献

- [1] 国家质量监督检验检疫总局，国家标准化管理委员会. 糖料甘蔗. GB/T10498-2010, 2011.
- [2] 陈维均，许斯欣. 甘蔗提汁[M]. 北京：中国轻工业出版社，2001.
- [3] 李墉，郑长庚. 甘蔗制糖化学管理分析方法
广州：中国轻工总会甘蔗糖业质量监督检测中心，1995.
- [4] 广东轻工业出版社，四川轻工业出版社. 甘蔗制糖工艺学. 北京：轻工业出版社，1983.

关于广东收获罐头食品有限公司发展的探索

李强有¹，李盖²，苏增生¹

(1 湛江农垦现代农业发展有限公司, 2 广东收获罐头食品有限公司, 广东 湛江 524000)

【摘要】在广东省和广东农垦大力支持发展菠萝产业的背景下, 本文在分析广东收获罐头食品有限公司生产销售等基础上, 立足企业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, 提出广东收获罐头食品有限公司发展的探索, 推动广东农垦菠萝产业转型升级, 实现可持续发展。

【关键词】 菠萝种植 菠萝加工 菠萝产业 发展探索

2020年是一个特殊年, 受持续旱情影响, 湛江垦区农业受灾比较严重, 对许多农作物都造成了严重影响, 特别是干旱造成甘蔗严重减产; 但是干旱天气对菠萝影响较小, 主要是菠萝耐高温耐旱, 所以雷州半岛非常适合菠萝的种植。经过近几年的发展经营, 垦区菠萝种植和加工正在形成以统一规划、注重科技投入和新产品研发的发展新模式。菠萝产业的发展需要龙头带动, 广东收获罐头食品有限公司正是这个龙头企业, 公司不断的深化经营体制改革、加快内外销、加快新产品研发, 正逐步走出了一条新路。本文试着在广东农垦菠萝产业发展规划中, 力图在广东收获罐头食品有限公司的发展路径与措施作出思考与探索。

一、公司简介

广东收获罐头食品有限公司地处雷州半岛中南部, 是以生产菠萝罐头、菠萝浓缩汁等热带水加工为主的企业。公司始建于1983年, 现已发展成为全国最大的菠萝产品专业生产企业, 公司拥有原料生产基地约3万亩, 厂区面积185亩, 厂房面积3.3万平方米。公司现有员工约250人, 其中技术人员80多人, 生产主要设备从德国、意大利、瑞士、台湾引进, 配套齐全, 工艺先进, 生产加工能力强, 所有产品的理化和卫生指标均优于国家或行业相关标准。

公司生产的“三叶牌”菠萝罐头系列产品, 以果肉鲜脆、成熟度一致、色泽金黄、酸甜适中得到广大消费者青睐。公司产品远销欧洲、美国、中东等四十多个国家和地区, 以及国内高档餐饮企业, 是国家菠萝罐头生产和出口的重要基地。

二、公司生产情况

公司当前生产的产品主要有菠萝罐头和菠萝浓缩汁。菠萝罐头目前的年产量约8000吨, 菠萝罐头型号主要有: 3005g圆片、3005g小扇块、3005g碎块、850g碎块、567g圆片、454碎块、230g扇块(3005g圆片和3005g小扇块市场需求量大, 其产量占年产量的70%左右)。菠萝浓缩汁年产约500吨, 其规格为60度、250公斤/桶装。

三、公司销售情况

近几年农垦不断加强菠萝产业的发展, 有了菠萝基地, 产品的质量和品质不断提升, 同时不断加强与客户深入沟通, 销售量也不断增大。

(一) 公司产品出口市场分析。

产品出口需要一定资质才可以出口, 公司通过了英国BRC审核和美国FDA注册, 具有出口资质, 目前国内菠萝罐头出口的企业极少。公司出口产品主要是以菠萝碎块和碎米为主, 2019年到现在公司出口罐头1026.5吨, 产品远销欧洲、美国、中东等多个国家和地区。

1. 与中粮集团有很长时间的合作关系, 从公司有出口业务开始, 中粮集团就与公司建立了合作关系。近年来, 中粮集团的菠萝罐头出口量增加, 平均每月均有3005g菠萝碎块或850g菠萝碎块5个集装箱出口(约90吨), 旺季一个月可同时出口3005g、850g菠萝碎块

各 5 个集装箱约 180 吨。基于国企的背景，中粮集团非常愿意加大同公司合作，但是目前公司的产能有限，远远不能满足中粮集团的采购需求（据了解，中粮集团全年采购量在 2000 吨左右，2019 年从公司采购出口仅 400.8 吨）。

2. 美国曾是公司出口业务的主要区域，具有一定客户基础，出口菠萝罐头的型号有 3005g 圆片、3005g 长块、3005g 碎米，但是在 2008 年金融危机后出口量减少。2019 年公司做好了美国 FDA 注册，立即与安徽客户合作出口两个柜（约 40 吨）产品到美国休斯顿。

3. 广西客户和江苏客户从公司出货 3005g、850g 碎块出口到英国供超市和餐厅（据了解，广西客户全年菠萝罐头贸易量为 500 吨、江苏客户每年菠萝罐头贸易量为 300 吨）。

4. 中东地区人喜爱菠萝罐头，市场前景广阔，公司出口中东地区的产品为 454g 菠萝碎块。2019 年，公司尝试通过中间人把产品出口到中东地区的迪拜和阿曼（伊朗市场广大，但是受到美国制裁不能直接出口，据了解出口到迪拜的部分产品销售到了伊朗）。

（二）公司产品国内市场分析。

1. 百胜餐饮。作为全球最大的餐饮链锁，中国百胜餐饮每年都在扩张，其采购餐饮原料分为国产和进口。国产的餐饮原料生产加工厂必须通过百胜餐饮审核才可以作为百胜餐饮的供应商。今年受疫情影响，百胜餐饮出货量减少，但是百胜餐饮正在逐步恢复经营，采购量正在恢复，且有进一步加大的趋势（据了解，百胜餐饮全年采购量约为 6000 吨）。

2. 喜之郎集团公司曾与公司有过合作，2019 年，公司菠萝基地扩大，公司进一步与喜之郎沟通，达成合作协议，采购公司的菠萝罐头用于生产果冻等产品（据了解，喜之郎的全年采购量约为 3000 吨）。

3. 其他客户情况，菠萝罐头产品主要用于披萨店、糕点店、西餐店，随着国民生活的升级，国内对罐头产品的需求量日渐增加。近段时间，公司与深圳的乐凯撒披萨联系，计划合作开发产品；据了解该公司计划在他们主打产品榴莲披萨里面加入菠萝块，菠萝的酸甜味中和榴莲甜腻，烘焙出来的披萨深受顾客喜爱。

四、公司发展的探索

根据上述，公司的产品单一，产能不足，而菠萝系列产品的需求量又在不断增加；介于此矛盾；公司应加强菠萝种植管理、加强生产、调整产品结构、改进设备、提高产能、降低成本，以缓解当前供需矛盾。

（一）菠萝罐头成本分析。

菠萝产业健康发展离不开菠萝深加工企业的龙头带动作用，菠萝深加工首先要分析成本，从而做好成本控制，这样才能在市场竞争中处于优势。下面以规格型号 3005g 菠萝罐头、菠萝罐头年产量 7000 吨、菠萝鲜果单价 1500 元/吨等条件为参照进行预算，每吨罐头成本 6933.12 元/吨（不含税），具体如下：

罐头每吨成本预算表

| 序号 | 项 目 | 单位 | 数量 | 单价 | 金额 | 占成本% | 备注 |
|----|-----------|----|------|------|---------|-------|------|
| 1 | 工资 | 元 | | | 1400.00 | 20.19 | |
| 2 | 电 | 度 | 90 | 1.15 | 103.50 | 1.49 | 1.3 |
| 3 | 生物质 | 公斤 | 250 | 0.85 | 212.50 | 3.06 | 0.96 |
| 4 | 菠萝鲜果 | 公斤 | 2050 | 1.26 | 2583.00 | 37.26 | 1.5 |
| 5 | 白糖 | 公斤 | 80 | 5.31 | 424.80 | 6.13 | |
| 6 | 其他材料 | | | | 50.00 | 0.72 | |
| 7 | 包装物(纸箱商标) | | | | 266.00 | 3.84 | |
| 8 | 马口铁 | 公斤 | 82 | 7.76 | 636.32 | 9.18 | |
| 9 | 空罐其他费用 | 元 | | | 10.00 | 0.14 | |

| | | | | | | | |
|----|---------------------|---|--|--|---------|------|--|
| 10 | 管理费用 | 元 | | | 600.00 | 8.65 | |
| 11 | 销售费用(不含运费 100万元) | 元 | | | 15.00 | 0.22 | |
| 12 | 财务费用 | 元 | | | 120.00 | 1.73 | |
| 13 | 税金及附加 | 元 | | | 60.00 | 0.87 | |
| 14 | 研发费用 | 元 | | | 2.00 | 0.03 | |
| 15 | 其他费用 | 元 | | | 450.00 | 6.49 | |
| 16 | 总计(不含税) | | | | 6933.12 | | |

上表中反应出，菠萝鲜果占总成本比重最大，达到了 37.26%，第二个占比重较大的是人工工资达 20.19%，如果加上管理费用 8.65%，那整个人工成本占到罐头总成本的 28.84%，可以说这个比例是比较高了。原料成本受市场影响较大，可控的程度较小，通过自建基地可减少一定的风险。而人工成本则是可控的，企业可以通过提升管理水平、调整生产结构、技术改造升级提高劳动生产率等方面来降低人工的成本。

(二) 加强菠萝种植管理，提升质量，控制成本。

菠萝深加工的主要成本就是菠萝原料，而产品品牌发展的关键也是需要优良菠萝原料作保障，所以应加大菠萝种植管理很有必要。做好菠萝基地的种植与罐头加工的无缝对接，加强菠萝种植管理，利用好质量追溯系统，从生产资料来源、投入，农业生产过程，加工过程，销售过程的全程质量追溯与监控。

菠萝基地每亩投入成本预算表

| 序号 | 项目 | 投入(元/亩) | 次(株)数 | 备注 |
|----|--------|---------|-----------|-----------|
| 1 | 清地 | 60 | | 备耕前 |
| 2 | 备耕 | 120 | 二犁二把 | |
| 3 | 菠萝种苗 | 2150 | 4300 | 一级估 0.5 元 |
| 4 | 种植 | 250 | | 人工、开沟费 |
| 5 | 种植用肥 | 300 | 磷肥 100 公斤 | 含人工、肥 |
| | | | 复合肥 50 公斤 | |
| | | | 杀虫药 4 公斤 | |
| 6 | 植后封闭 | 30 | 一次 | 含人工、药 |
| 7 | 叶面肥 | 500 | 十次 | 含人工、肥 |
| 8 | 冬管肥 | 200 | 复合肥 50 公斤 | 含人工、肥 |
| 9 | 春后肥 | 460 | 复合肥 50 公斤 | 含人工、肥 |
| | | | 磷肥 50 公斤 | |
| | | | 甲肥 50 公斤 | |
| 10 | 催花前壮果肥 | 190 | 复合肥 25 公斤 | 含人工、肥 |
| | | | 甲肥 25 公斤 | |
| 11 | 催花、壮果 | 150 | 三次 | 含人工、药 |
| 12 | 人工除草 | 60 | 三次 | |
| 13 | 地租 | 2600 | | |
| 14 | 合计 | 7070 | | |

上表中反应出，菠萝从种植到采摘，每亩菠萝的成本在 7070 元左右；其中主要成本的主要成本在菠萝种苗、地租。要做好菠萝成本首先就要做好菠萝种苗的培育工作，种苗培育的最佳办法是控制第一次菠萝点花时间，争取每年的农历 6、7、8 月对菠萝点花，为下一次菠萝种植提供更多更优质的菠萝苗，最终降低菠萝种植成本。菠萝种植的地租成本过高，为了更好菠萝产业更好更快的发展，建议农垦应该把菠萝种植的地租降低到与甘蔗种植的地租水平上。

（三）以菠萝为主，开发菠萝系列产品，打造菠萝产业集团。

1. 深入市场调研，跟进市场需求开发市场产品。开发菠萝果酱、菠萝果馅、菠萝干、速冻菠萝粒等产品，不断丰富公司产品，多元化经营。

2. 加强与有关科研院所合作，与百胜集团、徐福记、喜之郎等大客户协调，有针对性的开展技术攻关，研发菠萝罐头、速冻菠萝粒、菠萝果汁、菠萝干等深加工产品；同时与养牛养猪等客户合作，开发菠萝皮、菠萝叶饲料产品；实现菠萝产业的循环全产业链发展模式。

（四）公司技术改造建议。

随着国内疫情控制和中国经济不断发展，未来菠萝产品的国内市场需求量也会不断增大，公司应顺应时代潮流，进一步加快改革发展。菠萝罐头生产的主要方向就是不断进行自动化、机械化，降低成本，进一步加大国内外市场的销售，提高产品的市场占有率和品牌影响力。

1. 实罐车间果棚，引进大型分级、分流设施设备，实现整车原料清洗、分级、计重、分流到相对应的各级通芯除皮机旁。引进自动通芯除皮刮肉机，降低人工成本，实现切头尾、通芯、除皮、刮皮肉全自动化，施行降级除皮（菠萝价格低于 0.4 元/斤左右时），大幅度的降低劳动强度。进一步与有关公司合作，开发机械手臂，安置在冲芯除皮机旁，替代人工放置菠萝。

2. 打片设备改进，菠萝修正好后需要进行打片，在打片工序进行新设备改进，不仅可以节省劳动力，还可以提升产品的高档率。

3. 实罐车间各工段衔接问题，公司将进一步与有关科研单位合作，科学合理规划各工段的衔接，减少各生产环节之间靠人工传递的方式，减少人力，提高生产效率。

4. 抹水班，罐头经过杀菌后通过机械手臂装放在木板上；同时打包的时候也通过机械手臂输送在打包机上。装车，制作一个平台，叉车可以直接上货车上，不仅减少工人的负担，且装车速度快。

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.

【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/YrB09JgfAkTMOT1VYoedtQ>.

【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】童彤. 亚洲：菠萝消费持续增长[J]. 中国果业信息, 2018, 35(09): 38.

作者介绍：李强有（1971-），男，广东湛江人，本科，就职湛江农垦现代农业发展有限公司
李盖（1985-），男，湖北恩施人，本科，就职广东收获罐头食品有限公司
苏增生（1982-），男，广西宾阳人。本科，就职湛江农垦现代农业发展有限公司

海南热带沿河流域稻菜轮作地表水中农药的分布特征、影响因素及风险评价

谭华东^{1,2,3}, 李勤奋^{1,2,3}, 武春媛^{1,2,3*}, 张汇杰^{1,4}, 邓晓^{1,2,3}, 李怡^{1,2,3}

1 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所, 海南海口 571101; 2 农业农村部儋州农业环境科学观测实验站, 海南儋州, 571737; 3 海南省农业面源和重金属污染防治工程研究中心, 海南儋州 571737; 4 华中农业大学 资源与环境学院, 湖北武汉 430070

摘要 热带水稻-蔬菜轮作过程中有大量的农药被使用, 然而目前关于我国热区稻菜轮作区地表水中当前使用农药 (CUPs) 和残留农药 (LPs) 的污染和风险信息非常有限。本研究对两个典型热带沿河流域流域 (南渡江和万泉河) 稻菜轮作区256个地表水中农药进行了分析, 41种农药总浓度为ND (未检出) ~24.2 $\mu\text{g L}^{-1}$ 。多菌灵、吡虫啉和丁草胺是主要的CUPs种类, 地表水在0.1 $\mu\text{g L}^{-1}$ 以上的分别为17.6%、59.8%和19.5%, 而毒死蜱是主要的LPs, 地表水在0.1 $\mu\text{g L}^{-1}$ 以上的占2.7%。地表水最大残留数达22种, 地表水中57.4%含有7~12种残留物。41种农药总浓度的季节性排序为7月>1月>11月>9月。在空间上, 检测到的CUPs (而不是LPs) 的组成存在显著差异, 并且随着季节变化而变化。作物/害虫类型和丰枯季节是影响地表水中CUPs和LPs时空分布的关键因素。对暴露于当前水平下单个农药以及CUPs或LPs与 ≥ 8 种杀虫剂的混合组合的评估表明, 多种农药对地表水中的水生生物具有显著的风险, 而非致癌与致癌风险并不显著。本研究为更好地了解我国热带稻菜轮作系统水体中农药的污染和生态风险提供了有价值的信息。

关键词 地表水; 农药; 分布特征; 风险; 稻菜轮作

基金项目 中国热带作物学会青年人才托举工程项目 (NO. CSTC-QN201901); 海南省重大科技计划 (NO. ZDKJ2017002); 中央级公益性科研院所基本业务费 (NO.1630042019020); 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所自由选题项目 (NO. hzsjy2018003)

作者简介 谭华东 (1991—), 男, 研究实习员, 研究方向为有机污染物的环境行为及效应研究。E-mail: tanhuadong1991@163.com, 18389381056

花椰菜和西兰花采后生理生化与质构特性变化比较

李雪瑞¹, 冯艳芳^{1,2}, 李宏¹, 屈云慧¹, 普红梅¹, 板兴全^{1,3}, 侯朝祥¹, 杨芳¹,
于丽娟^{1*}

1 云南省农业科学院农产品加工研究所, 云南省昆明市 650205

2 云南农业大学热带作物学院, 云南省普洱市 665000

3 云南农业大学植物保护学院, 云南省昆明市 650201

摘要: 为比较花椰菜和西兰花采后生理变化规律及贮藏特性, 本研究分析了贮藏过程中两种花菜花、茎组织的失水率、电导率、丙二醛(MDA)含量、维生素C(Vc)含量、抗氧化酶活性和质构特性的变化。研究发现, 在8 d贮存期内, 西兰花失水率(91%)略小于花椰菜(93%), 但相对电导率和MDA含量上升程度、Vc含量下降程度均显著高于花椰菜。进一步分析超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、多酚氧化酶(PPO)三个抗氧化酶活性, 发现西兰花中花(437.06 U/g)、茎组织(343.38 U/g) SOD活性下降程度均高于花椰菜(209.10 U/g; 295.02 U/g); 西兰花花组织(25.84 mmol/min/g) CAT活性下降程度高于花椰菜花(21.06 mmol/min/g)、茎组织(20.71 mmol/min/g); PPO酶活先降后升再降, 最终花椰菜茎组织PPO酶活性(42.07 U/g)下降程度分别低于西兰花的茎(78.00 U/g)、花(82.06 U/g)。从质构特性来看, 硬度先升后降, 内聚性、弹性、咀嚼性均随贮藏时间的延长而降低, 且花椰菜下降趋势更为明显。以上指标的变化规律, 认为花椰菜较西兰花更耐贮藏。其茎组织在失水、膜透性方面对这两种菜的贮藏性起主导作用, 而Vc, 酶活性的损失却主要在发生在花组织中。

关键词 花椰菜和西兰花; 采后; 生理变化; 酶活性; 贮藏特性

Comparison of Postharvest Physiological Changes and Characteristics between Cauliflower and Broccoli

LI Xuerui¹, FENG Yanfang^{1,2}, LI Hong¹, QU Yunhui¹, PU Hongmei¹, Ban Xingquan^{1,3}, HOU Chaoxiang¹, YANG Fang¹, YU Lijuan^{1*}

1 The Institute of Agro-Products Processing Science and Technology, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming, Yunnan, China, 650205

2 College of Tropical Crops Yunnan Agricultural University, Puer, Yunnan, China, 665000

3 College of Plant Protection Yunnan Agricultural University, Kunming, Yunnan, China, 650201

Abstract In order to compare the physiological changes and characteristics in postharvest cauliflower and broccoli during storage. In this study, the water loss rate, relative conductivity, malondialdehyde (MDA) content, vitamin C content, antioxidant enzyme activity and texture characteristics of the two cauliflower flowers and stem tissues were determined during storage. The study found that the water loss rates of broccoli (91%) is a little less than cauliflower (93%), but the relative electrical conductivity-added, MDA content-added and the decrease rate of Vc content of it is were significantly higher than cauliflower within 8 days of storage. The activities of SOD, CAT and PPO were further analyzed. The drop-out value of SOD enzyme activity of broccoli flowers, stems were higher than the white flowers (209.10 U/g), white stems (295.02 U/g); the drop-out value of CAT enzyme activity of green flowers (25.84 mmol/min/g) is higher than the stems (18.16 mmol/min/g), stems (20.71 mmol/min/g) of cauliflower; PPO enzyme activity showed a trend of decreasing at first and then increasing and then decreasing, the drop-out value of PPO enzyme activity of white stems (42.07 U/g) is below to the green stems (78.00 U/g), green flowers (82.06 U/g), respectively. Its texture characteristics: the hardness increases at first and then

decreases. The cohesiveness, elasticity and chewability decrease with the extension of storage time, and the trend of cauliflower reduction is more obvious. In summary, the cauliflower is more resistant to storage than broccoli. Its stem tissue plays a leading role in the storage of these two vegetables in terms of water loss and membrane permeability, while the loss of Vc and enzyme activity mainly occurs in the floral tissue.

Key words Cauliflower and Broccoli; postharvest; physiological changes; enzymatic activity; storage characteristics

花椰菜 (*Brassica oleracea* var. *botrytis* L.)^[1]和西兰花 (*Brassica oleracea* var. *italica* P.)^[2]均属十字花科甘蓝类蔬菜,外形美观、风味清香、质地嫩脆、营养丰富,深受广大消费者的喜爱^[3]。但由于其生产具有较强的季节性、区域性及本身的易腐性,往往贮藏期短,各地市场供应短缺。关于花椰菜和西兰花营养价值及其贮藏保鲜的研究已屡见不鲜。花椰菜在贮藏和运输过程中易失水萎蔫、易褐变(变黄、变暗、出现褐色斑点及腐烂)、易受病原菌感染,从而品质下降,失去商品价值^[4-6];西兰花采后花蕾极易开放和黄化,比花椰菜更难保鲜^[7];有研究分析花椰菜不同品种类型间营养成分及抗氧化活性,发现不同品种类型间具有较大差异^[8-9]。

近年来人们生活节奏日益加快,催动鲜切果蔬产业快速发展。鲜切花椰菜和西兰花产品也因营养丰富而受到人们的欢迎。但由于切割造成的机械伤害,鲜切果蔬更容易组织褐变、质构劣变、受病原菌侵染而腐烂变质。花椰菜和西兰花鲜切产品在生产 and 销售过程中也存在此类共性问题,产品销售和质量安全受到严重影响,但目前对于花椰菜和西兰花鲜切产品不同组织结构的贮藏特性的研究还相对较少,比如贮藏过程中花椰菜和西兰花中花和茎组织的营养成分、质构特性的差异。因此分析花椰菜和西兰花的花、茎组织采后生理生化变化和质构特性变化规律,了解其贮藏特性对于生产花椰菜和西兰花鲜切产品具有一定指导意义。为此本研究通过对贮藏过程中花椰菜和西兰花中花、茎组织的失水率、维生素 C (Vitamin C, Vc) 含量、膜透性(电导率、丙二醛(malondialdehyde, MDA))、质构特性(硬度、内聚性、弹性、咀嚼性)、抗氧化酶活性(超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(Catalase, CAT)、多酚氧化酶 PPO (Polyphenol oxidase, PPO))的观察,比较花椰菜和西兰花的花、茎组织的贮藏特性,为利用采后处理技术提高花椰菜和西兰花鲜切产品品质及延长其货架期提供理论参考依据。

1 材料与amp;方法

1.1 试验材料

花椰菜和西兰花均购于云南省农业科学院农产品加工研究所农产品展示平台;选取无病虫害,无机械损伤,成熟度一致,大小均匀,花球紧密的两种花菜为试材。用无菌刀具切分成直径约为 3~4 cm 的花球,装入托盘,置于室温贮藏。每次取样时用无菌刀具分别取花球的花蕾和花蕾下部的花茎取样观察。

1.2 主要仪器

酶标仪 Thermo Fisher Scientific, MULTISKAN GO; 离心机 Eppendorf, Centrifuge

5424 R; 质构仪 (TMS-TOUCH); 电子分析天平 日本岛津, AUY220; 电热恒温水浴锅 天津市泰斯特仪器有限公司, DK-98-II; 电热恒温鼓风干燥箱 天津市泰斯特仪器有限公司, DK-98-II。

1.3 试验方法

1.3.1 失水率的测定

采用差量法测定失水率, 取样后测定样品初始重量, 记为 M_0 ; 之后分别于各取样点测定样品重量记为 M 。按照以下公式计算失水率:

$$\text{失水率 (\%)} = \frac{M_0 - M}{M_0} \times 100\%$$

1.3.2 Vc 含量测定

称取样品 2 g, 加入 6 ml 1% HCl 研磨成匀浆, 10 000 r/min 离心 10 min; 取 0.20 ml 上清液, 加入 4 ml 10% HCl, 定容至 10 ml, 于 243 nm 下测定吸光值。待测碱处理液的制备: 取 0.20 ml 上清液, 加入 2ml 蒸馏水和 0.80 ml 1N NaOH 溶液, 混匀; 15 min 后加入 0.80 ml 10% HCl 混匀, 定容于 10ml 容量瓶中, 于 243nm 下测定吸光值。按以下公式计算样品中维 C 的含量:

$$Vc (\text{ug/g}) = u * V_{\text{总}} / V_1 * W$$

式中, u ——从标准曲线上查得的抗坏血酸的含量 (ug); V_1 ——测消光值时吸取样品溶液的体积 (ml); $V_{\text{总}}$ ——样品定容体积(ml); W ——称样重量 (g)。

1.3.3 电导率的测定

用剪刀将样品剪成大小、形状一致的组织, 称取 2 g 样品放入盛有 20 mL 蒸馏水的烧杯中, 振荡后浸泡 1 h, 测定电导率 C_1 ; 测定后各样液煮沸 5 min, 冷却后, 蒸馏水补充至 20 mL, 测定电导率 C_0 。按以下公式计算电导率。

$$Le(\%) = \frac{C_1}{C_0} * 100\%$$

1.3.4 丙二醛 (MDA) 的测定

采用硫代巴比妥酸(TBA)法测定 MDA 含量: 称取样品 2 g, 加入 5 mL 三氯乙酸(TCA), 冰浴研磨、离心, 取上清即为 MDA 提取液。取 4 mL MDA 提取液, 加入 4 mL 0.6% TBA 溶液。摇匀后置于沸水浴中 15 min, 迅速冷却, 4000 r/min 离心 10 min, 取上清液于 450 nm、532 nm 和 600 nm 下测定吸光值, 按以下公式计算 MDA 含量:

$$C\left(\frac{\text{umol}}{\text{L}}\right) = 6.45(A_{532} - A_{600}) - 0.56A_{450}$$

样品中的 MDA 含量 = $(C_{\text{MDA}} * V_1 * V_3) / (V_2 * W * 1000)$ ($\mu\text{mol/g}$);

式中, C_{MDA} 为 MDA (的量 umol/L); V_1 为反应液体积(mL); V_2 为测定时提取液的用量 (mL); V_3 为提取液的总体积 (mL); W 为取样量 (g); 1000 为 1 L=1000 mL。

1.3.5 SOD、CAT、PPO 的测定

取 15 g 西兰花花球小花组织, 均匀破碎后采用云南弛恩科技有限公司生产的 SOD、CAT 和 PPO 试剂盒, 参照试剂盒说明书测定各抗氧化酶的活性^[10]; 测定 450 nm 处的吸光值, 以每克样品 (鲜重) 每分钟吸光度变化值增加 1 为 1 个 SOD 活性单位; 测定 405 nm 处的吸光值, 以每克样品 (鲜重) 每分钟催化 1 nmol H_2O_2 降解为 1 个 CAT 活性单位; 测定 525 nm 处的吸光值, 以每分钟每克样品 (鲜重) 在每 ml 反应体系中吸光度值变化 0.01 为 1 个 PPO 活性单位。

1.3.6 质构特性的测定

使用(TMS-TOUCH)质构仪进行质地多面分析(Texture Profile Analysis, TPA)测试^[11]。截取花椰菜和西兰花花朵下方的茎,将其平放于质构仪的载物台上,进行TPA穿刺测试,每个实验组重复测定20次。仪器配件及测试参数设置如下:负载单元为400 N,探头为穿刺,测试速度为60 mm/s,距样品上升高度为10 mm,目标形变量为20%,最小触发力为0.1 N,两挤压循环之间的停留时间为0 s。

1.3.7 数据处理

以上试验重复3次,结果以 $\pm s$ 表示,应用Excel软件做误差分析,SPSS软件做两两比较的邓肯多重分析差异显著性。

2 结果与分析

2.1 贮藏过程中水分含量下降

水分是保证果蔬新鲜品质的必要条件,当果蔬失水率超过5%时,萎蔫变软,新鲜度下降^[12];对新鲜果蔬低温贮藏失水机理研究得到,当失水超过一定量时,不但重量减轻,而且品质显著下降,其商品属性和市场竞争力降低^[13-14]。本研究分析贮藏过程中花椰菜和西兰花中花、茎组织的失水规律,结果如图1所示,随着贮藏时间的延长,两种花菜的花和茎的失水率均呈现增长趋势。在贮藏2 d后,花椰菜和西兰花的失水率分别为42%、46%,其中白花和青花的失水率为15%、19%,白茎和青茎的失水率分别为30%、26%,两两差异不显著;在贮藏4 d后,各部分失水率变化趋势同上,直至贮藏第6 d,花椰菜和西兰花的失水率分别达到了93%、91%,其中白花和青花的失水率均达到44%,白茎和青茎的失水率分别为78%、72%,两两之间仍然差异不显著。贮藏第8 d,失水率同样呈现如上趋势,但与第6 d相比,增加量不大。从上可以得到,常温下贮藏,花椰菜和西兰花的贮藏期大概是6 d左右,此时的花菜已失水严重,丧失了食用价值。从第2 d至第8 d,花椰菜和西兰花植株的茎失水比花严重,前4 d,茎的失水率约是花失水率的2倍,后4 d,约是1.7倍。这可能是因为整朵的白花和青花组织紧密,与空气接触面积小,水分不易散失,而茎的地方采摘时有机械伤口,气孔裸露,其细胞呼吸代谢旺盛、蒸腾作用强,更易失水^[15]。

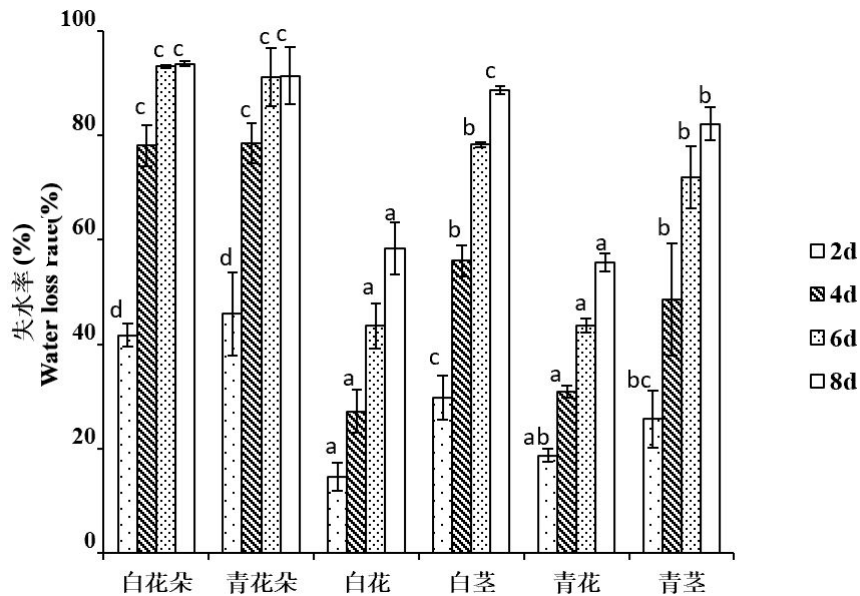


图 1 两种花椰菜贮藏期间失水情况

Fig. 1 Changes of water loss rate in two kinds of cauliflower during storage

注：不同小写字母表示两种花椰菜不同贮藏时间失水率间差异显著($p < 0.05$)，单位：%

2.2 贮藏过程中 Vc 含量下降

Vc 参与人体内氨基酸代谢、神经递质合成等，具有诸如抗衰老、抗肿瘤、增强人体抵抗等作用；但人体自身却不能合成，需要通过食物补充，其中果蔬是人体摄取补充 Vc 的重要来源^[16]。但在贮藏期间，果蔬 Vc 易氧化降解，含量逐渐降低^[17-18]。从图 2 中可以看出，在贮藏过程中花椰菜、西兰花中花、茎组织中的 Vc 含量均呈下降趋势，且贮藏前期下降速度快，后期下降速度缓慢，这与张彩芳等人对果蔬中 Vc 稳定性的研究进展中得到的一样^[16]。贮藏 8 d 后白花、青花 Vc 含量依次下降了 58.61%、73.73%；白茎和青茎下降趋势相对较缓，分别为 25.31%、31.13%。表明花中 Vc 含量下降比茎组织快，且西兰花的花、茎组织中 Vc 含量下降程度均高于花椰菜。对于鲜切西兰花的花组织中 Vc 含量与其他有显著性差异的原因，徐飞等研究显示，西兰花的 Vc 含量比花椰菜的要高^[19]。

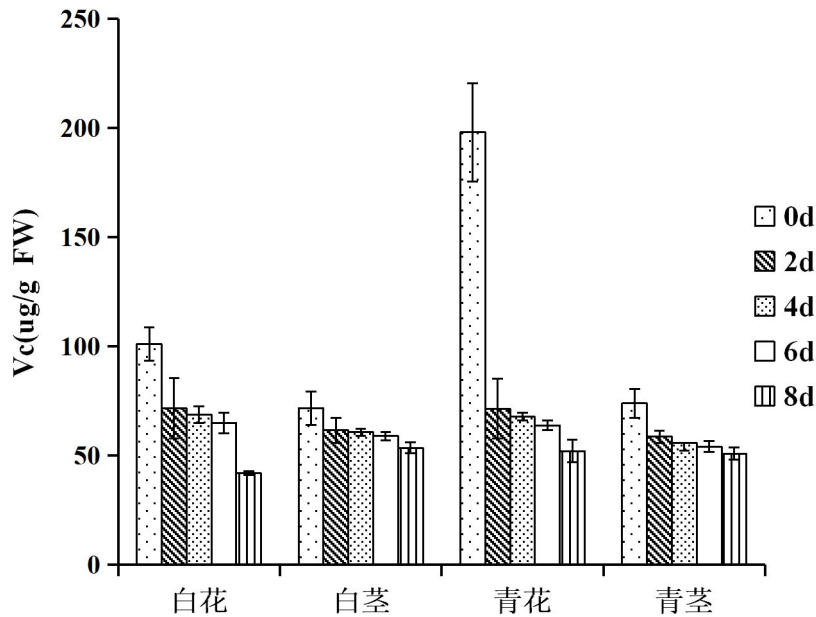


图 2 两种花椰菜贮藏期间 Vc 含量下降规律

Fig. 2 Changes of Vc content in two kinds of cauliflower during storage

注：不同小写字母表示两种花椰菜不同贮藏时间 Vc 间差异显著 ($p < 0.05$)，单位：µg/g.

2.3 贮藏过程中相对电导率、MDA 含量上升

果蔬在贮藏过程中电导率的变化反映了其细胞膜透性的变化情况，通常随着果蔬的后熟衰老和细胞膜结构的破坏，其电导率会不断升高^[20]。MDA 是果实衰老或受逆环境胁迫时膜脂过氧化分解的主要产物，与果实衰老、逆境伤害之间存在着密切的关系，其含量可反映细胞膜的稳定性和植物的抗逆性强弱^[21-22]。如下图所示，花椰菜和西兰花的花、茎组织的电导率、MDA 含量均随贮藏时间延长而增加，这与张淑萍等对枣的研究结论相同^[23]。贮藏 8 d 后，最终相对电导率：白花 (32%) < 白茎 (46%) < 青花 (50%) < 青茎 (51%)，最终 MDA 含量：白茎 (0.35 µmol/g) < 白花 (0.36 µmol/g) < 青花 (0.46 µmol/g) < 青茎 (0.51 µmol/g)。结果表明贮藏 8 d 后，花椰菜和西兰花两种十字花科甘蓝类蔬菜中花组织的电导率、MDA 含量均较茎组织小；且花椰菜不论是花还是茎，电导率、MDA 含量均小于西兰花的。

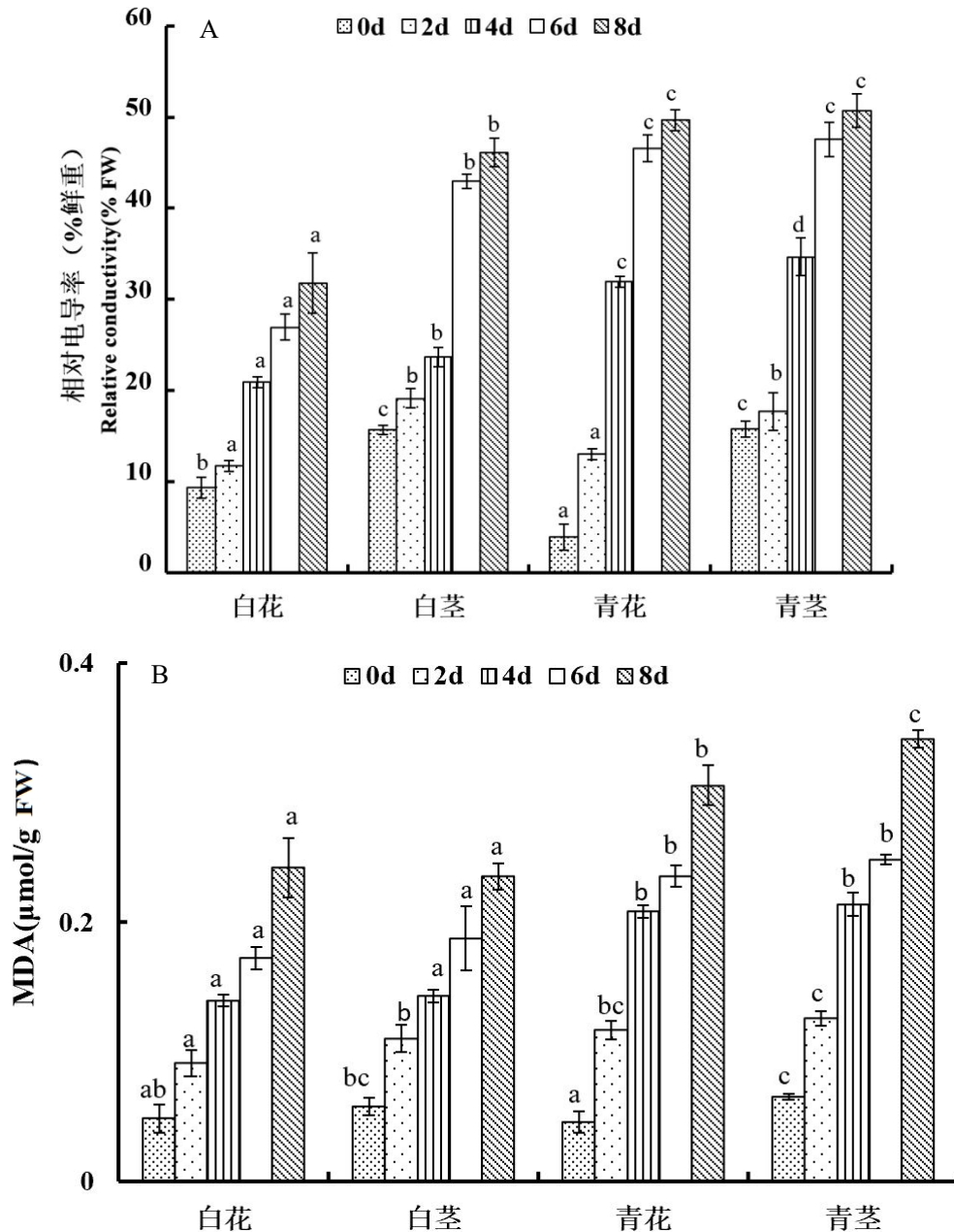


图3 两种花椰菜贮藏期间电导率、MDA 上升规律

Fig. 3 Changes of relative conductivity and malondialdehyde in two kinds of cauliflower during storage.

2.4 贮藏过程中抗氧化酶 SOD、CAT、PPO 酶活性下降

果蔬为了延缓衰老和品质下降，通过抗氧化防御酶系统对活性氧进行清除^[24-25]。其中 SOD 是第一道抗氧化防线，能清除细胞中多余的超氧阴离子^[26-27]。CAT 虽然不直接消除自由基，但可以催化 H₂O₂ 歧化成水和氧分子，降低细胞中 H₂O₂ 浓度，间接地抑制自由基的生成^[28]。从图 4 A、B 中可看出，花椰菜和西兰花的花、茎组织的 SOD、CAT 酶活性均随贮藏时间延长而降低。贮藏 8 d 后，西兰花的花、茎组织中 SOD 酶活性分别从 522.22 U/g、425.60 U/g 下降至 85.16 U/g、82.21 U/g，下降了 437.06 U/g、343.38 U/g，而花椰菜的花、茎中 SOD 酶活性分别从 324.69 U/g、393.07 U/g 下降至 115.58 U/g、98.05 U/g，下降了 209.10 U/g、295.02 U/g。数据显示西兰花的花、茎组织中 SOD 酶活下降幅度大于花椰菜相应组织，且花椰菜的

茎组织 SOD 酶活性下降幅度大于花组织, 西兰花的花组织 SOD 酶活性下降幅度大于茎组织; 贮藏 8 d 后, 西兰花的花、茎组织中 CAT 酶活性分别从 29.99 mmol/min/g、21.67 mmol/min/g 下降至 4.15 mmol/min/g、3.51 mmol/min/g, 下降了 25.84 mmol/min/g、18.16 mmol/min/g, 花椰菜的花、茎组织中 CAT 酶活性分别从 24.68 mmol/min/g、23.63 mmol/min/g 下降至 3.62 mmol/min/g、2.92 mmol/min/g, 下降了 21.06 mmol/min/g、20.71 mmol/min/g。西兰花的花组织中 CAT 酶活降低得最多, 且两种花菜花组织中的 CAT 活性下降幅度均大于茎组织。

PPO 可以催化酚类物质氧化成为醌类物质, 醌类物质再经非酶促聚合形成褐色物质, 有利于果蔬防御病菌感染^[29-30]。如图 4C 所示, 与 SOD 酶、CAT 酶活性变化规律相比, 花椰菜的花、茎组织及西兰花的花组织中 PPO 酶略有不同: 贮藏过程中 PPO 酶活性先降后升再降, 初期即贮藏 0~4 d 时发现花椰菜的花、茎中 PPO 酶活性分别从 144.92 U/g、109.06 U/g、125.71 U/g 骤降至 52.16 U/g、61.00 U/g、65.80 U/g, 但贮藏 6 d 时 PPO 酶活性分别上升至 63.56 U/g、68.95 U/g、71.04 U/g, 之后一直呈下降趋势, 至贮藏 8 d 后显著低于刚采收的样品, 这与王成涛等人对金针菇的贮藏保鲜中的酶活性研究结果一样^[29]; 而西兰花的茎组织中 PPO 酶活性变化趋势与 SOD 酶、CAT 酶一致, 从采收后 102.81 U/g 下降至 24.81 U/g。最后一次取样, 即贮藏 8 d 后, 花椰菜花、茎组织中酶活降低了 94.24 U/g、42.07 U/g, 西兰花的花、茎组织中酶活性降低了 82.06 U/g、78.00 U/g, 仍是同一种蔬菜中花组织 PPO 酶活性降低得多于茎组织。

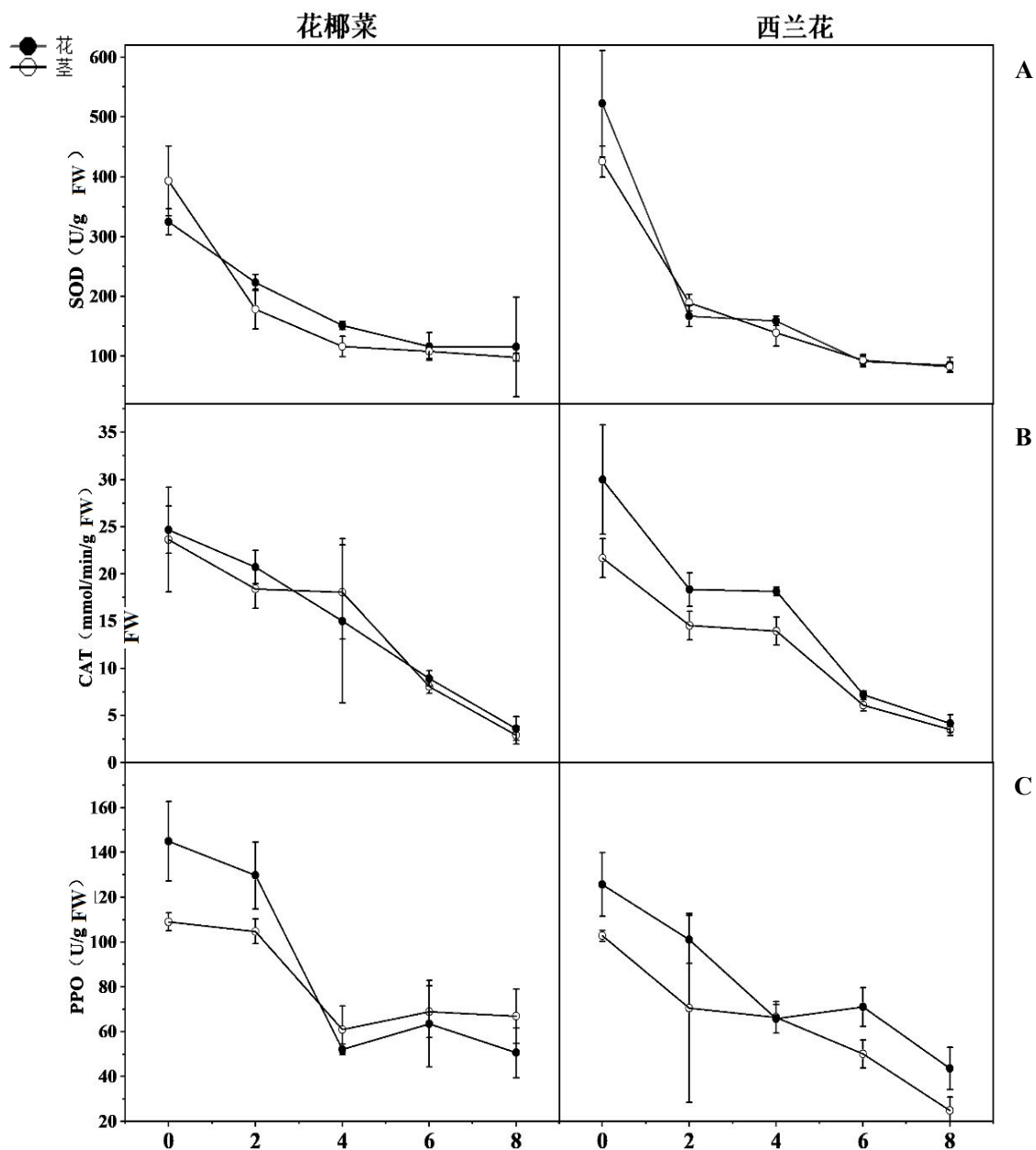


图 4 两种花椰菜贮藏期间 SOD、CAT、PPO 的变化规律

Fig. 4 Changes of SOD、CAT、PPO in two kinds of cauliflower during storage

注：不同小写字母表示两种花椰菜不同贮藏时间酶活性间差异显著($p < 0.05$)，单位：U/g。

2.5 贮藏过程中质构特性变化规律

果蔬在贮藏过程中，在经历了复杂的生理生化后可能形态结构和质构特性也会发生巨大变化，从而商品属性和经济价值受到影响。比如随着细胞壁果胶多糖的降解，细胞壁逐渐溶解，果蔬逐渐软化；或者随着木质素合成，果蔬逐渐硬化。所以质构特性是评价果蔬品质的重要指标。其中 TPA 质构测定法主要是质构仪通过对样品进行 2 次挤压，模拟牙齿的咀嚼过程^[31]，检测样品的硬度、内聚性、弹性、咀嚼性，通过仪器测定消除人为主观因素带来的实验误差^[32]。

其中硬度为第一次挤压时的压力最大值，是果蔬组织达到变形时所需要外力的大小^[33]。由图 5 A 可以看出两种花椰菜茎组织的硬度均先上升后下降，硬度最高值在贮藏 2 d 的时候，白茎和青茎的硬度分别为 8.30，8.35。内聚性为样品维持组织形态所需的内部结合力，反映的是各组织结构间结合作用的强弱与抵抗外力、维持自身结构的能力^[34]。由图 5 B 可知，花椰菜和西兰花的内聚性均随贮藏时间的延长而降低，花椰菜降低的趋势较为明显，这可能与花椰菜在贮藏过程中失水率较为严重，高达 94%，致使维持组织内部结合力减小，所以下降更快，且由上得到花椰菜的电导率、MDA 比西兰花的值低，说明其膜通透性也比西兰花的要小，这也证实了花椰菜的内聚性降低得快。弹性为样品经过第一次挤压后能够恢复的程度，表现为第一次挤压结束后第二次挤压开始前样品恢复的高度^[35]。如图 5 C 所示，在贮藏初期，即 0 d 后，花椰菜和西兰花的弹性均呈快速下降趋势。2~4 d 时，两者的弹性相对平稳，均在 2.70 左右，4 d 后又迅速下降。咀嚼性为硬度、弹性、内聚性三者乘积，与硬度、内聚性、弹性密切相关^[36-37]，可以反映样品耐咀嚼的能。由图 5 D 可知，两种花椰菜在贮藏 2 d 时便均呈快速下降趋势，白花菜的趋势要较为明显，这在前三个指标的变化趋势中也可以看出。0 d 时，花椰菜与西兰花的咀嚼性分别为 14.86 mj，10.54 mj，2 d 时分别降为 5.87 mj、6.28 mj，4d 时，与第 2 d 变化不明显，6 d 时，花椰菜与西兰花的咀嚼性分别为 1.45 mj、4.43 mj，8 d 时，数据显示的趋势仍然是花椰菜降低得要高。

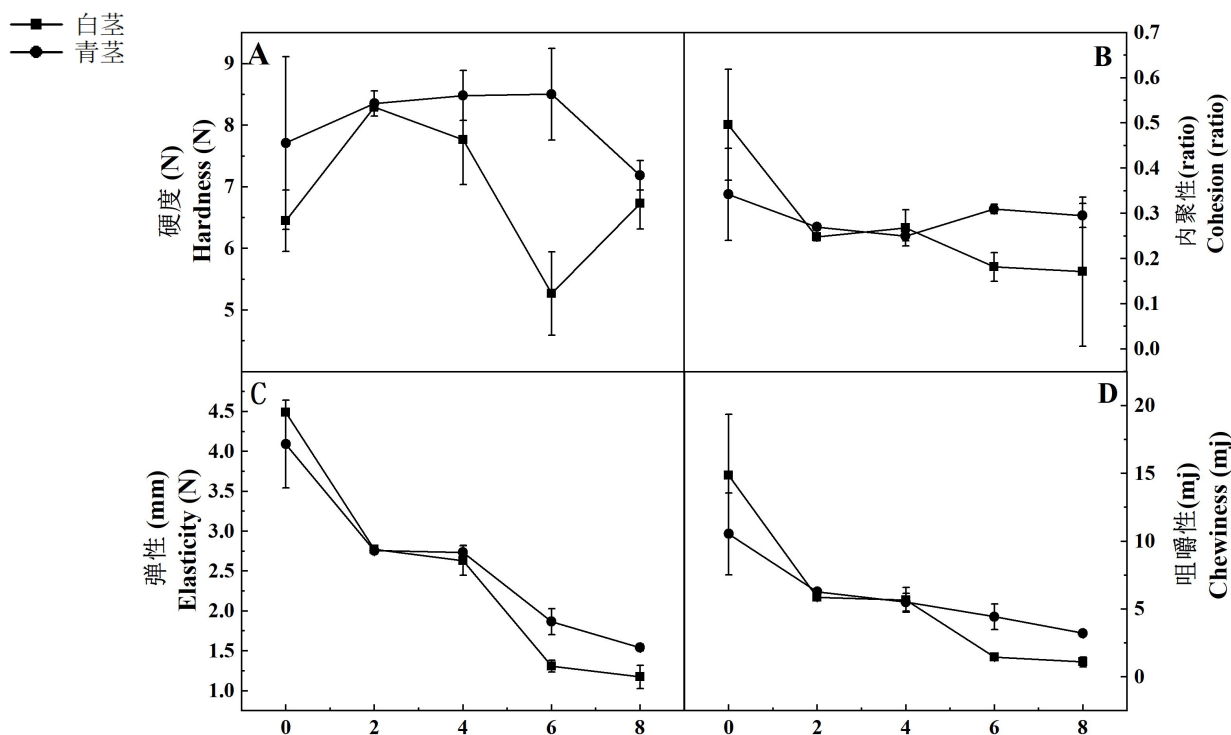


图 5 两种花椰菜贮藏期间质构特性的变化规律(A-硬度；B-内聚性/ratio；C-弹性/mm；D-咀嚼性/mj)

Fig. 5 Changes of texture properties in two kinds of cauliflower during storage(A-hardness; B-cohesiveness(ratio); C- elasticity(mm);D- chewiness (mj)

3.结论

花椰菜和西兰花的贮藏特性不一样,各植株的花和茎组织在耐贮性中也表现不同。花椰菜和西兰花的贮藏期大概是6d左右。随着贮藏时间的延长,两种花菜的花和茎的失水率均呈现增长趋势,至第8d,西兰花(91%)<花椰菜(93%),其中茎组织的失水率约是花组织的1.7倍;最终相对电导率:白花(22%)<白茎(30%)<青茎(35%)<青花(46%),MDA含量增加值:白茎(0.30 μmol/g)<白花(0.31 μmol/g)<青花(0.41 μmol/g)<青茎(0.45 μmol/g),花椰菜不论是花还是茎,电导率、MDA含量均小于西兰花的,西兰花不耐贮藏,且花组织的电导率、MDA含量均较茎组织小,说明花组织更易衰老;这一点与Vc含量的变化结果正好对应,白茎(25.31%)<青茎(31.13%)<白花(58.61%)<青花(73.73%),花中Vc含量下降比茎组织快,但西兰花的花、茎组织中Vc含量下降程度却高于花椰菜,西兰花中Vc更易损失。失水率、电导率、MDA、Vc含量的变化差异更加说明了西兰花在贮藏中更加容易发生黄化。SOD酶活下降值:白花(209.10 U/g)<白茎(295.02 U/g)<青茎(343.38 U/g)<青花(437.06 U/g),西兰花的花、茎组织中SOD酶活下降幅度大于花椰菜相应组织,西兰花的花组织SOD酶活性下降幅度大于茎组织,但花椰菜的茎组织SOD酶活性下降幅度大于花组织;CAT酶活下降值:青茎(18.16 mmol/min/g)<白茎(20.71 mmol/min/g)<白花(21.06 mmol/min/g)<青花(25.84 mmol/min/g),两种花菜花组织中的CAT活性下降幅度均大于茎组织,且西兰花的花组织中CAT酶活降低得最多;PPO最终的下降低值:白茎(42.07 U/g)<青茎(78.00 U/g)<青花(82.06 U/g)<白花(94.24 U/g),花椰菜的花、茎组织及西兰花的花组织中PPO酶活性先降后升再降,但西兰花的茎组织中PPO酶活性变化趋势与SOD酶、CAT酶一致,同时同一种蔬菜中花组织的PPO酶活性降低得多于茎组织;两种花菜茎组织质构特性正好验证了前面的结果,其硬度先上升后下降,内聚性、弹性、咀嚼性均随贮藏时间的延长而降低,且花椰菜降低的趋势较为明显,其弹性空间大。

综上所述,花椰菜比西兰花更耐贮藏,这从质构特性中也可以看出,这与徐飞等人对西兰花中Vc的论述一样^[19]。同时其茎组织在失水、膜透性方面对这两种菜的贮藏性起主导作用,而Vc,酶活性的损失却主要发生在花组织中。但前人的研究表明花椰菜在贮藏中容易发生霉变^[4],这是由病原菌污染导致的,后续试验将进一步开展这方面研究。

参考文献

- [1] 陈淳,李惠华. 厦门地区夏季播种的松花型花椰菜营养品质评价[J]. 亚热带植物科学, 2019, 48(04): 349-353.
- [2] 曹阳理惠. 西兰花CYP83A1基因的克隆及功能验证[D]. 2015, 6-7.
- [3] 刁小琴,关海宁,郭丽等. 花椰菜贮藏特性及保鲜技术发展方向[J]. 农业科学, 2010, (5): 36-37.
- [4] 王蓉蓉. 酸处理对鲜切花椰菜贮藏品质的影响[J]. 南京晓庄学院学报, 2015, 31(06): 41-45.
- [5] 安建强,王殿宏,马建辉等. 花椰菜贮藏技术[J]. 现代农村科技, 2014(19): 35.
- [6] 彭丹. 花椰菜速冻及冰温保鲜技术研究[D]. 湖南农业大学, 2010: 15-17.
- [7] 赵维琦,孟赞,董斌等. 采用真空预冷处理提升西兰花贮藏品质[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(19): 213-218.
- [8] 马蓉,梁颖,王树林等. 花椰菜不同品种类型间营养成分差异及烹饪对其含量的影响[J]. 食品工业科技,

2019, 1-10.

- [9] 丁云花, 何洪巨, 赵学志等. 不同类型花椰菜主要营养品质分析[J]. 中国蔬菜, 2016(04): 58-63.
- [10] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 2版. 北京: 高等教育出版社, 2010: 190-281.
- [11] 罗斌, 赵有斌, 尹学清. 质构仪在果蔬品质评定中应用的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(05): 209-213.
- [12] 陈守江. 果蔬贮藏过程中总抗氧化能力与后熟衰老生理的关系研究[D]. 江苏大学, 2003.
- [13] 王艳红. 新鲜果蔬低温贮藏失水机理研究[D]. 天津商业大学, 2010.
- [14] Gloria S Salato, Nora M A. Ponce, María D. Raffo, Ariel R. Vicente, Carlos A Stortz. Developmental changes in cell wall polysaccharides from sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars with contrasting firmness[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2013, 84.
- [15] 杨天乐, 吴峰峰, 刘涛等. 作物气孔的作用及其影响因素的研究进展[J]. 北方园艺, 2020(03): 143-148.
- [16] 张彩芳, 任亚敏, 罗双群等. 果蔬及其制品加工中维生素 C 稳定性的研究进展[J]. 粮食与食品工业, 2017, 24(05): 26-29.
- [17] 范新光. 鲜切西兰花减压冷藏保鲜技术与货架期预测模型的研究[D]. 烟台大学, 2014.
- [18] 单云辉, 郇海燕, 房祥军等. 不同包装材料对草莓果浆贮藏品质的影响[J]. 食品科学, 2018(13): 251-257.
- [19] 徐飞, 徐康明. 西兰花(青花菜)[J]. 福建农业, 1997(03): 17.
- [20] 千春录, 林晨, 殷健东等. 1-MCP 和自发气调对猕猴桃果实贮藏品质和色素的影响[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(13): 189-192.
- [21] 高雪, 杨绍兰, 王然等. 近冰温贮藏对鲜切西兰花保鲜效果的影响[J]. 中国食品学报, 2013, 13(8): 140-146.
- [22] 邵婷婷, 张敏, 刘威等. 采后热水处理对青椒果实低温贮藏期间活性氧代谢及抗氧化物质的影响[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(12).
- [23] 张淑萍, 张小康, 袁雪等. 1-甲基环丙烯对早中熟鲜食枣的保鲜及采后生理效应[J]. 食品科学, 2018, 39(13).
- [24] 侯素莹, 黄嘉慧, 陈建林等. 鳕鱼诺卡氏菌 SOD 基因克隆与表达及其酶活性质测定[J]. 基因组学与应用生物学, 2019, 38(11): 4894-4901.
- [25] 张丽改, 张秀超, 程润等. 果蔬中超氧化物歧化酶活性与生命动力源量子统计参数之间关系的研究[J]. 北京化工大学学报(自然科学版), 2013, 40(04): 30-34.
- [26] CHEN K T, RENAUT J, SERGEANT K, *et al.* Proteomic Changes Associated with Freeze-Thaw Injury and Post-Thaw Recovery in Onion(*Allium cepa*L.) Scales[J]. *Plant, Cell&Environment*, 2013, 36(4): 892-905.
- [27] 刘浩然. 不同大豆品种对干旱和盐胁迫的生理响应机制[D]. 河北: 河北大学, 2018: 20-28.
- [28] 李哲, 黄磊. 植物叶片和采后果蔬的过氧化氢酶活性[J]. 生态科学, 2010, 29(06): 573-578.
- [29] 王成涛, 王昌涛, 赵磊等. 不同氧分压条件下金针菇贮藏保鲜相关酶活性的研究[J]. 食品科学, 2011, 32(8): 300-304.
- [30] JIA H, ZHAO P, WANG B, *et al.* Overexpression of polyphenol oxidase gene in strawberry fruit delays the fungus infection process[J]. *Plant Molecular Biology Reporter*, 2016, 34(3): 592-606.
- [31] 贾艳茹, 魏建梅, 高海生. 质构仪在果实品质测定方面的研究与应用[J]. 食品科学, 2011, 32(S1): 184-186.
- [32] 范新光, 张长峰, 郭风军等. TPA 测试在评价板栗质地特性方面的研究[J]. 食品科技, 2013, 38(5): 280-284.
- [33] 李云飞, 殷涌光, 徐树来. 食品物性学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2011: 237-246.
- [34] 宋肖琴, 张波, 徐吕杰等. 采后枇杷果实的质构变化研究[J]. 果树学报, 2010, 27(3): 379-384.
- [35] 刘萌. 蓝莓 MAP 贮藏及物流保鲜技术研究[D]. 烟台: 烟台大学, 2012.

[36] Alvarez M, Canet W, LopezM. Influence of defomation rate and degree of compression on textural parameters of potato and apple tissues in texture profile analysis[J]. European Food Research and Technology, 2002, 215(1): 13-20.

[37] 郭风军. 冬枣活性包装贮藏及物流保鲜技术研究[D]. 烟台: 烟台大学, 2013. 140-146.

收稿日期

基金项目 云南省重大专项 (No. 2019ZG001-3-1); 云南省重大专项 (No. 2019ZG002-3-6); 云南农业大学学生科技创新创业基金项目 (No. 2020ZKY081)。

作者简介 李雪瑞 (1990-), 女, 硕士研究生, 研究实习员, 主要从事农产品初加工及贮藏保鲜研究。邮箱: lxr@yuncpjpg.org.cn.
通讯作者, 于丽娟 (1981-), 女, 博士研究生, 副研究员, 主要从事农产品初加工及贮藏保鲜研究。邮箱: yulijuan1000@163.com

农药残留混合样本检测模型的建立与应用

黄世强^{1,2*}, 谢季青², 陈叶海², 陈明文², 吴伟翹¹, 周子嫣¹, 张沐棠³

1. 广东广垦农产品质量安全检测中心有限公司, 广东广州 510507; 2. 广东农垦热带农业研究院有限公司, 广东广州 511365; 3. 仲恺农业工程学院, 广东广州 510225

摘要 本文参考我国新冠病毒核酸筛查技术, 借助其他行业和领域的经验, 通过数学建模的模拟运算, 建立了一个适用于农产品中农药残留快速筛查的混合样本检测模型, 并模拟不同不合格率、混合数模拟计算出混合检测模型。通过模拟混合计算表明, 本文建立的模型适用于农产品中部分农药残留的检测, 但需要根据不同样品和检测项目综合评估样品不合格率、基质的干扰、检测重复性、方法检出限与物质限量等因素对混合样本筛选结果的影响, 继而进一步确定和优化混合测试模型。

关键词: 新冠肺炎 快速筛查 农药残留 混合样本 数学模型

中图分类号 Q949.748.5

文献标识码 A

Establishment and application of detection model for mixed samples of pesticide residues

HUANG Shiqiang^{1,2*}, XIE Jiqing², CHEN Yehai², CHEN Minwen², WU Weiqiao¹, ZHOU Ziyang¹, ZHANG Mutang³

1. Guangdong Agribusiness Produce Quality Safety Testing Center Co., Ltd, Guangzhou, Guangdong 510507, China; 2. Guangdong Agribusiness Tropical Agriculture Research Institute, Guangzhou, Guangdong 511365, China; 3. Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou, Guangdong 510225, China

Abstract With reference to the COVID-19 screening technology of China and with the experience of other industries and fields. This paper established a hybrid sample detection model suitable for rapid screening of pesticide residues in agricultural products through mathematical modeling simulation operation, and calculated the hybrid detection model by simulating different fail rates and mixing numbers. By simulating mixture calculation show that the established model is suitable for the analysis of pesticide residues in agricultural products. However, factors such as sample fail rate, matrix interference, repeatability, method detection limit and limit of pesticide residues will affect the results, so a comprehensive evaluation is needed to further determine and optimize the mixed test model.

Keywords COVID-19; rapid screening; pesticide residues; mixed sample; mathematical model

doi XXXXXXXXXXXX

收稿日期 XXXX-XX-XX; 修回日期 XXXX-XX-XX

基金项目 XXXXXX

作者简介 黄世强(1988—), 男, 硕士, 工程师; 研究方向: 农产品和种养环境质量安全。通信作者(Corresponding author): 黄世强(Huang Shiqiang), E-mail: huangshiqiang24@163.com。

混合样本检测法,又称为分组检测法,对同一类型样品进行混合样本检测,是一项有效的快速筛查方法,在传染病学中比较常见,特别是在今年全球新型冠状病毒肺炎(Corona Virus Disease 2019, COVID-19)疫情中,我国采取混合样本检测法,最大限度提高筛查效率,节约社会成本。例如2020年5月,武汉市启动全员核酸筛查,17天内检测近1000万份样本,平均一天检测量在50万份以上,除了武汉市,国际上也对混合样本检测有相关报道,国际权威医学期刊JAMA杂志发表了来自斯坦福大学研究团队的文章^[1],认为9-10个样本混合后进行联合筛查的策略,有助于发现新型冠状病毒肺炎的早期社区传播,2020年10月14日,青岛市政府召开疫情防控新闻发布会,表示选择采取“十合一混采”检测技术,预计5天内将完成1100万人的核酸筛查。国务院应对新型冠状病毒肺炎疫情联防联控机制医疗救治组分别于7月21日和8月17日分别发布《关于印发新冠病毒核酸筛查稀释混样检测技术指引的通知》^[2]和《关于印发新冠病毒核酸10合1混采检测技术规范的通知》^[3],正式赋予混合样本检测明确的技术地位。

混合样本检测法,主要是通过把若干样本混合为一个样品组,选择合适的检测方法对样品进行处理,如检测结果低于风险值,则只需检测一次,可认为混合样本总体风险较低,均为合格,如结果为不合格或高于风险值,则分别对每个样本进行单独检测,这样使得检测效率大大提高,但混合检测会使检测灵敏度降低。因此,选择简单便捷、灵敏度高、安全快速的快速筛选方案则十分重要。

目前,在不同行业中,例如流行病学^{[4][5][6][7]}、动物学^[8]和玩具纺织品^{[9][10][11]}检测中均有文献或标准方法报道。但由于方法影响因素较多,在实际测试中有一定概率会造成误判,因此该方法只能用于快速筛选定性,并不能用于准确定量。目前在食品、农产品检测特别是农药残留检测领域中,对混合样本检测进行报道的文献较少。

根据统计学文献^{[12][13]}报道,混合样本检测筛选方法主要有以下三种:1)一次混合样本检测法,即首先把样本混合检测,若检验结果为低于风险值,则认为所有样本合格;若高于风险值,则所有样品全部进行单次检测。2)对半拆分检测方案,如混合样本检测结果高于风险值,则把所有样本对半为两组,然后对这两组混合样本分别检测,如此类推至全部检测结果均低于风险值。3)所有样本不混合,单次检测。当不合格率很小甚至接近“0”时,使用混合测试,可以大大降低测试成本,目前,有文献报道^[14]通过公式推导计算不合格率和可信区间的上下限,但是在不同的检测方法或基质不同时,不合格率、样品加标回收率、样品检测重复性都会受到一定影响。因此,有必要建立一个适用于农产品中农药残留检测的混合测试计算简单模型,去评估样本的不合格风险,以最大限度提高检测效率,节省检测费用和缩短检测时间,以解决农产品时效性的问题。

目前农药残留快速检测常用方法是GB/T 5009.199-2003《蔬菜中有机磷和氨基甲酸酯类农药残留量的快速检测》中的酶抑制率法,该法优点在于快速得到检测结果,缺点在于仪器和试剂盒质量参差不齐,仅适用于蔬菜,不适用于水果,而且特定蔬菜如辣椒、番茄、茭白、萝卜等容易产生假阳性,如采取全浸泡方法,稀释倍数非常大,导致方法检出限较高。目前市场上也有其他快速检测手段能对农产品中农药残留^[15]或兽药残留进行检测^[16],但这些方法大部分尚未得到国家权威部门正式文件认可,定性、定量的准确度也有待市场进一步考证。对于常见水果蔬菜样品,有机磷和氨基甲酸酯类农药残留限量和常用快速检测、定量检测标准方法检出限/定量限如下表所示:

表1 常见有机磷、氨基甲酸酯农药残留限量和方法检出限/定量限

Tab. 1 Limits and methods of detection/quantitative limits of common organophosphorus and carbamate pesticide residues

| 农药种类 Types of pesticides | GB 2763-2019 限量 Limit of GB 2763-2019 (mg/kg) | GB/T 5009.199-2003 检 出限 Detection limit of GB/T 5009.199-2003 (mg/kg) | NY/T 761-2008 检 出限 Detection limit of NY/T 761-2008 (mg/kg) | GB 23200.113-2018 定量限 Quantitative limit of GB 23200.113-2018 (mg/kg) |
|--------------------------------|--|---|---|---|
| 敌敌畏 | 0.1-0.5 | 0.1 (酶抑制率法) | 0.01 | 0.01 |
| 对硫磷 | 0.01 | 1.0 (酶抑制率法) | 0.02 | 0.01 |
| 辛硫磷 | 0.05-0.3 | 0.3 (酶抑制率法) | 0.3 | / |
| 甲胺磷 | 0.05-0.1 | 2.0 (酶抑制率法) | 0.01 | 0.01 |
| 马拉硫磷 | 0.02-10 | 4.0 (酶抑制率法) | 0.03 | 0.01 |
| 乐果 | 0.05-2 (临时限量) | 3.0 (酶抑制率法) | 0.02 | 0.01 |
| 氧化乐果 | 0.02 | 0.8 (酶抑制率法) | 0.02 | 0.01 |
| 甲基异柳磷 | 0.01-0.05 (临时限量) | 5.0 (酶抑制率法) | / | 0.01 |
| 灭多威 | 0.2 | 0.1 (酶抑制率法) | / | / |
| 丁硫克百威 | 0.05-1 | 0.05 (酶抑制率法) | / | / |
| 敌百虫 | 0.1-2 | 0.2 (酶抑制率法) | 0.06 | / |
| 克百威 | 0.02 | 0.05 (酶抑制率法) | / | 0.01 |
| 水胺硫磷 | 0.01-0.05 | 3.1 (纸片法) | 0.03 | 0.01 |
| 乙酰甲胺磷 | 0.3-1 | 3.5 (纸片法) | / | 0.01 |
| 久效磷 | 0.03 | 2.5 (纸片法) | 0.03 | 0.01 |
| 甲萘威 | 0.02-1 | 2.5 (纸片法) | / | / |
| 毒死蜱 | 0.3-2 | / | 0.02 | 0.01 |
| 甲拌磷 | 0.01 | / | 0.02 | 0.01 |
| 丙溴磷 | 0.05-10 | / | 0.04 | 0.01 |
| 氯唑磷 | 0.01 | / | / | 0.01 |
| 杀扑磷 | 0.05-2 | / | 0.03 | 0.01 |

1 混合样本检测模型的建立

1.1 条件假设

假设有 a 个样本需要检测, 如果根据不合格率统计, 把样本分成若干组, 每组 n 个样本, 每个样本的称样量尽量平均, 选择合适的前处理和检测方法对混合样本进行检测。

1.2 可能对结果产生影响的因素

对于农产品中农药残留分析, 按照重要性排序, 影响检测结果主要有以下因素: 检测方法、农药检出限、农药残留限量、加标回收率、检测重复性、混合样品类型、样品均匀性等, 除以上条件之外, 如果需要对样本进行混合检测, 还需要考虑样本的不合格率、混合样品基体间的相互影响, 根据以上控制条件, 选择合适的数据模型, 计算出合适的样本混合数, 对于降低检测成本和检测时间具有非常重要的意义。

1.3 最大混合数量简单模型的建立

例如某个单项农药残留检测项目, 方法检出限为 0.1mg/kg , 而该物质限量是 2.0mg/kg , 如果不考虑其他干扰因素, 最大混合数等于物质限量除以方法检出限, 则最大允许 20 个样本进行混合检测, 但在实际应用中, 需要考虑样品量、检测方法差异、测量不确定度、混合样品类型、样品均匀性、样本的不合格率、混合样品基体间的相互影响等, 因此在最大混合数模型中, 综合引入风险系数 X , 来总体评估其他干扰因素, 从而建立最简单的最大混合数模型, 因此建立最大混合数模型如下:

$$A = \frac{L}{MDL} X \quad (1)$$

式中, A 为混合样本数的最大值, 去尾取整, L 为检测项目的限量, 单位 mg/kg, X 为风险系数, 根据检测项目的难易程度设置, 一般为 60%-80%, MDL 为方法检出限, 单位 mg/kg。

1.4 通过一次混合样本检测法建立最大混合数量模型

数学模型在统计学上应用非常广泛, 建立可行、便捷的数学模型^[7], 对于提高检测效率是至关重要的, 因此我们参考了相关统计公式和模型, 逐步通过以下推导建立消费品中混合测试中经典混合方案的一次混样法总测试量数学模型。

1.4.1 一次混样法不合格率、混合样本数和检测总次数的模型建立 假设现有有 a 个样本, 样本农药残留单项不合格率是 K%, 拟取 n 个样本混合作为一组, 那么每组样本不合格概率最大值为 n×K%, 如用 100%除以 n×K%, 则可以推断在此条件下每测多少组会出现一例统计学上的不合格, 如果每出现一例不合格组马上对该组所有样本进行单次检测, 出现一例统计学上的不合格总检测次数 N 公式如下:

$$N = \frac{100\%}{nK\%} + n \quad (2)$$

式中, N 为出现一例统计学上的不合格总检测次数, K%为不合格率, n 为每组样本混合数。

根据公式(2)假设不合格概率 K%为 10%, 则每组混合样本数 n 与出现一例统计学上的不合格总检测次数 N 关系见下表和下图:

表 2 每组混合样本数与总检测次数关系表

Tab. 2 Relationship between the number of mixed samples and the test times in each pool

| 不合格率 (K%) | 每组混合样本数 n | 总检测次数 N |
|-----------|-----------------------------|-----------------------------|
| Fail rate | The number of mixed samples | The test times in each pool |
| 10% | 2 | 7.00 |
| | 3 | 6.33 |
| | 4 | 6.50 |
| | 5 | 7.00 |
| | 6 | 7.67 |
| | 7 | 8.43 |
| | 8 | 9.25 |
| | 9 | 10.11 |
| | 10 | 11.00 |

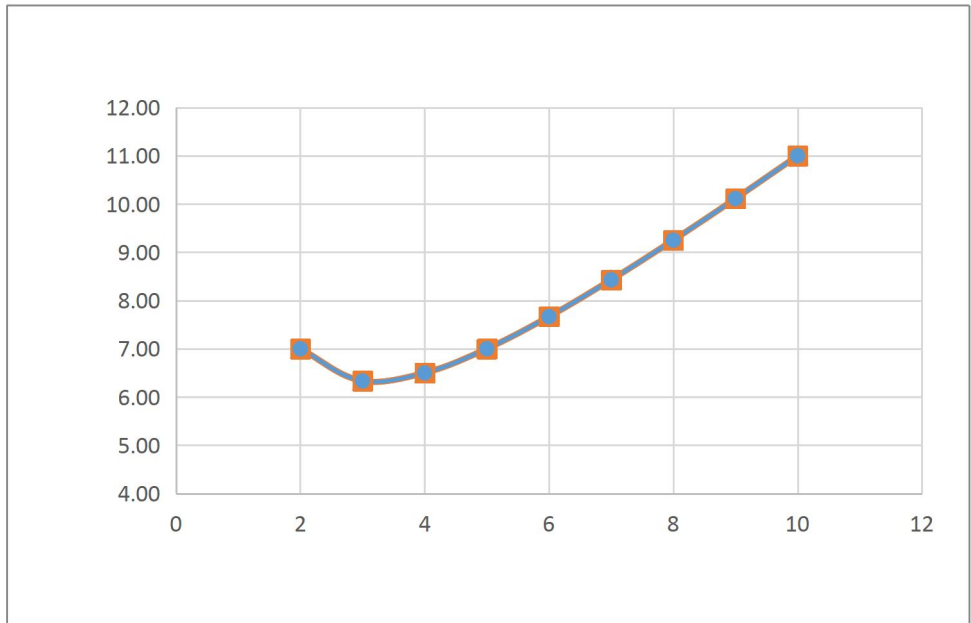


图 1 每组混合样本数与总检测次数关系图

Fig. 1 Relationship between the number of mixed samples in each pool and the total test times

1.4.2 混合样本最大值的确定 由公式(1)和公式(2)，得到混合样本最大值的限制条件，即混合样本最大值不得超过公式(1)通过物质限量和检出限计算出来的理论值，并且混合后检测总次数应根据公式(2)，选择尽可能效率高的混合次数，例如在表 2 中，每组混合样本数在 2-5 个，总检测次数都在 7 次以内，如果根据公式(1)算出最大混合数比 5 次大，那么可以信泽 5 个样本混合检测进行，但如果根据公式(1)算出最大混合数比 5 次小，那么只能按照公式(1)算出的结果设置混合检测数。

1.4.3 总检测次数效率统计 根据公式(2)，统计出在不同不合格率情况下，总检测次数和混合样本数的关系，具体最优化模型统计见下统计表和统计图：

表 3 一次混样法不同不合格率最优化模型统计表

Tab. 3 Statistical table of the optimization models of different fail rates in the one time mixing method

| 每组样本混合数 n The number of samples mixed for each pool | 不合格率 K% | | | | |
|---|------------------|-------|-------|-------|--------|
| | 10% | 5% | 3% | 1% | 0.50% |
| | Fail rate | | | | |
| | 总检测次数 N | | | | |
| | Total test times | | | | |
| 2 | 7.00 | 12.00 | 18.67 | 52.00 | 102.00 |
| 3 | 6.33 | 9.67 | 14.11 | 36.33 | 69.67 |
| 4 | 6.50 | 9.00 | 12.33 | 29.00 | 54.00 |
| 5 | 7.00 | 9.00 | 11.67 | 25.00 | 45.00 |
| 6 | 7.67 | 9.33 | 11.56 | 22.67 | 39.33 |
| 7 | 8.43 | 9.86 | 11.76 | 21.29 | 35.57 |
| 8 | 9.25 | 10.50 | 12.17 | 20.50 | 33.00 |
| 9 | 10.11 | 11.22 | 12.70 | 20.11 | 31.22 |
| 10 | 11.00 | 12.00 | 13.33 | 20.00 | 30.00 |
| 11 | / | 12.82 | 14.03 | 20.09 | 29.18 |
| 12 | / | 13.67 | 14.78 | 20.33 | 28.67 |

| | | | | | | |
|---|---|-------|-------|-------|-------|-----|
| 13 | / | 14.54 | 15.56 | 20.69 | 28.38 | |
| 14 | / | 15.43 | 16.38 | 21.14 | 28.29 | |
| 15 | / | 16.33 | 17.22 | 21.67 | 28.33 | |
| 16 | / | 17.25 | 18.08 | 22.25 | 28.50 | |
| 17 | / | 18.18 | 18.96 | 22.88 | 28.76 | |
| 18 | / | 19.11 | 19.85 | 23.56 | 29.11 | |
| 19 | / | 20.05 | 20.75 | 24.26 | 29.53 | |
| 20 | / | 21.00 | 21.67 | 25.00 | 30.00 | |
| 单次检测时, 根据统计学不 合格率叠加到 100%时的检 测次数 ($\frac{100\%}{n \times K\%}$) | | 10 | 20 | 33.3 | 100 | 200 |

1.4.4 最优混合数的确定 如上表所示, 当不合格率为 1%时, 混合数为 10 个, 可达理论最优的效率的测试次数, 而当不合格率降低为 0.5%时, 最优混合数甚至到达 14 个, 但最优混合数因受到方法检出限和物质限量的限制, 原则上不得超过公式(1)中的可以混合样本数的最大值。

2 混合测试结果的判定和质量控制

2.1 混合测试结果的表示

对于混合样本检测可能的最大单个样品结果, 与样本中的检测浓度和前处理稀释倍数有关, 也与混合样本中的每个样本的样品量有关, 可模拟为以下公式表示:

$$W = c \times \frac{V}{m_{\min}} \times D \quad (3)$$

式中, W 为单个测试样本待测物质可能的最高含量, 单位 mg/kg , c 为混合样本检测溶剂中待测物质的浓度, 单位 mg/L , V 为定容溶液的体积, 单位 mL , m_{\min} 为混合组测试样本中单个样品的样品量最小值, 单位 g , 例如 5 个样本混合为 1 组, 样品量分别为 2g, 2.1g, 2.2g, 1.8g, 1.9g, m_{\min} 则取 1.8g, D 为稀释倍数

2.2 混合测试结果的判定

根据数据模型的可能影响因素, 其中使用的测试方法、样品基质、待测物质等可能会对结果判定造成影响, 因此引入限量值 L 附近的相对扩展不确定度 U_{Rel} 对结果进行判定, 即 $W < L \times (1 - U_{\text{Rel}})$, 则不需要进行单独检测, 此时混合组所有样本可认为通过初筛, 风险较低, 可以下合格的结论, 但结果相反时, 需要对混合样本进行进一步单独检测确证。

2.3 质量控制

2.3.1 实验室内部质控 每批上样检测应设置 1 个加标质控样本 1 个阴性质控样本, 如加标回收在一定范围内, 例如 60%-120%, 阴性质控全部测定为阴性, 视为在控。反之, 则为失控, 应分析原因, 必要时重新检测样本, 必要时应绘制质控图, 定期统计质控情况。

2.3.2 实验室间比对 必要时应定期开展实验室比对工作, 以确保检测结果的准确性。

3 混合测试的应用案例

我中心统计了 2018 年上半年国家和各省市场监督管理局 (原食药监局、质监局) 公开发布的食品及其相关产品监督抽检信息, 在农药残留不合格项目中, 腐霉利、毒死蜱和克百威分别位列前三位, 以下通过蔬菜水果中毒死蜱和克百威的检测方法, 分别应用混合样本检测模型对其进行案例分析。

3.1 蔬菜水果中毒死蜱检测 NY/T 761-2008 的应用

3.1.1 最大混合数的计算 在 GB 2763-2019 要求的常见蔬菜水果样品中, 毒死蜱比较严格

的限量为 0.1mg/kg, 如果按照 NY/T 761-2008 方法检测, 方法检出限 MDL 为 0.02mg/kg, 限量浓度附近的相对扩展不确定度 U_{Rel} 假设为 8%, 安全系数 F 假设为 80%, 混合测试样品总质量为 25g, 最后定容体积按照 25g 样品量进行计算, 相当于 25mL, 根据公式(1), 计算出可以混合的样本数最大值为 4, 平均每个混合样本中单个样品样品量为 6.25g。

3.1.2 通过不合格率计算出最优工作量的混合数 假设水果蔬菜中毒死蜱不合格率为 5%, 根据公式(2), 计算出混合样本数为 4 或 5 时效率最高, 因最优工作量混合数不得大于最大混合数, 因此选择 4 个样本进行混合, 能达到最优工作量。

3.1.3 结果判定 假设对 4 个样本混合检测中毒死蜱结果为 0.02mg/L, 假设混合样品中单个样品最低的样品量为 6.00g, 根据公式(3), 计算出混合样本单个测试样本待测物质的最高含量 W 为 0.083mg/kg, 计算过程如下:

$$W = \frac{0.02\text{mg} / L \times 25\text{mL}}{6.00\text{g}} = 0.083\text{mg} / \text{kg}$$

毒死蜱的限量为 0.1 mg/kg, 混合检测警戒限量 L_1 由扩展相对不确定度 U_{Rel} 来决定, 即 $L_1=L \times (1-U_{Rel})$ 假设 U_{Rel} 取 8%, 则 L_1 为 0.092mg/kg, 因为 W 等于 0.083mg/kg 小于 L_1 , 可判定该检测值可通过混合测试初筛, 混合的 4 个样本均合格。

3.2 蔬菜水果中克百威检测 GB 23200.113-2018 的应用

3.2.1 最大混合数的计算 在 GB 2763-2019 要求的常见蔬菜水果样品中, 克百威的限量为 0.02mg/kg, 如果按照 GB 23200.113-2018 方法进行检测, 方法定量限为 0.01mg/kg, 推算出方法检出限为 0.003mg/kg, 限量浓度附近的相对扩展不确定度假设为 10%, 安全系数假设为 80%, 混合测试样品总质量为 10g, 最后定容体积按照 10g 样品量进行计算, 相当于 5mL, 根据公式(1), 计算出可以混合的样本数最大值为 5, 平均每个混合样本中单个样品样品量为 2.0g。

3.2.2 通过不合格率计算出最优工作量的混合数 假设蔬菜水果中克百威不合格率为 5%, 根据公式(2), 计算出混合样本数为 5 时效率最高, 因最优工作量混合数不得大于最大混合数, 因此选择 5 个样本进行混合, 能达到最优工作量。

3.2.3 结果判定 假设对 5 个样本混合测试的混合样本中克百威结果为 0.008mg/L, 假设混合样品中最低样品量为 1.85g, 根据公式(3), 计算出混合样本单个测试样本待测物质的最高含量 W 为 0.022mg/kg, 计算过程如下:

$$W = \frac{0.008\text{mg} / L \times 5\text{mL}}{1.85\text{g}} = 0.022\text{mg} / \text{kg}$$

蔬菜水果克百威的限量为 0.1 mg/kg, 混合测试警戒限量 L_1 由扩展相对不确定度 U_{Rel} 来决定, 即 $L_1=L \times (1-U_{Rel})$ 假设 U_{Rel} 取 10%, 则 L_1 为 0.018mg/kg, 因为 W 等于 0.022mg/kg 大于 L_1 , 可判定该检测值可能存在风险, 混合样本中可能存在样品不合格, 需要对混合的 5 个样本进行单独测试。

4 讨论

混合样本检测是化学分析重要节省资源和增加效率的途径之一, 本文通过模拟分析检测最大混合测试样本数, 根据检测项目的不合格率建立了一个混合样本检测模型, 并模拟应用到实际检测中。综上所述, 对于化学分析方法, 建议建立混合样品检测模型的顺序为:

- 1) 判断分析体系是否能满足混合测试条件;
- 2) 按照公式(1)计算最大混合数 n;
- 3) 统计待测项目的不合格率 K%和不确定度 U_{Rel} ;
- 4) 通过公式(2)模型计算最优的理论混合数;

- 5) 按标准方法检测样本;
- 6) 通过混合检测结果计算可能的最大单个样品结果;
- 7) 对可能的最大单个样品结果进行判定, 确定是否进行单独测试。

5 展望

如通过快速的前处理, 简单的仪器运行方法检测混合样品, 未来本模型可用于移动实验室快速筛查农产品中高风险农药残留的情况, 从抽样开始预计 2 小时内能完成定量快速筛查检测, 而且仪器定量快速检测筛查无论准确度和检出限都要优于现有国标快速检测方法, 因此, 通过本模型的应用, 运用速度快, 准确度高的仪器定量方法, 能降低检测成本, 增加检测效率, 快速排查潜在不合格样品, 适合于农产品自身的销售特点, 为农产品的快速流通保驾护航。

参考文献:

- [1] Catherine A, Hogan, Malaya K. Sahoo, *et al.* Sample Pooling as a Strategy to Detect Community Transmission of SARS-CoV-2[J]. The Journal of the American Medical Association, 2020, 323(19): 1967-1969.
- [2] 国务院应对新型冠状病毒肺炎疫情联防联控机制医疗救治组.关于印发新冠病毒核酸筛查稀释混样检测技术指引的通知[EB/OL].[2020-07-22]. <http://www.nhc.gov.cn/zyygj/s7659/202007/90d971adb7e146bb8a4ad80c4c7c5eb0.shtml>.
- [3] 国务院应对新型冠状病毒肺炎疫情联防联控机制医疗救治组.关于印发新冠病毒核酸 10 合 1 混采检测技术规范的通知[EB/OL].[2020-08-19].<http://www.nhc.gov.cn/zyygj/s7659/202008/fa5057afe4314ef8a9172edd6c65380e.shtml>.
- [4] Dorfman R. The Detection of Defective Members of Large Populations[J] The Annals of Mathematical Statistics, 1943, 28(4): 1033-1036.
- [5] 顾卫东. 混合样本方法估测媒介感染率[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 1998, 16(1): 29-33.
- [6] 孙庆文, 宋茂海, 朱淮民, 等. 基于孢子阳性率和混合样本对疟疾进行早期预警时的临界感染率检验[J]. 第二军医大学学报, 2007, 28(5): 465-469.
- [7] 高林林, 张明亚, 何柏芳, 等. 混合样本中不同比例 STR 检出率的比较[J]. 法医学杂志, 2014, 30(4): 296-297.
- [8] 孙庆文, 朱淮民, 陆柳, 等. 混合样本方法检测蚊虫孢子阳性率数学模型的再研究[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2002, 20(6): 351-353.
- [9] 中国国家标准化管理委员会. 玩具及儿童用品中邻苯二甲酸酯增塑剂的测定: GB/T 22048-2015[S].北京: 中国标准出版社, 2016:3.
- [10] Safety of toys-Part 6:Certain phthalate esters in toys and children's products: ISO 8124-6:2018[S/OL]. [2018-11]. <https://www.iso.org/standard/70008.html>.
- [11] Textiles-Methods for determination of certain aromatic amines derived from azo colorants-Part1:Detection of the use of certain azo colorants accessible with and without extracting the fibres: ISO 14362-1:2017[S/OL]. [2017-02]. <https://www.iso.org/standard/68330.html>.
- [12] 陈元爱. 混合检验法筛查丙型肝炎病毒和人类免疫缺陷病毒的理论及实验研究[D].江苏: 东南大学, [2009-03-10]. http://med.wanfangdata.com.cn/Paper/Detail?id=DegreePaper_Y1386167
- [13] 陈元爱, 刘沛, 陈启光. 筛检低患病率疾病的四种方案比较研究[J]. 中华预防医学杂志, 2008, 42(2): 130-133.
- [14] 俞潇潇, 刘沛. 混合检验总体率可信区间估计方法[J]. 中国卫生统计, 2007, 24(1): 74-75.
- [15] 马洁颖, 黄世强, 李生斌, 等. 农产品中农药残留检测的研究进展和展望[J]. 食品安全导刊, 2019(12): 53.
- [16] Shiqiang Huang, Mingwen Chen, Zhe Xuan, *et al.* Aptamer-based Electrochemical Sensors for Rapid Detection of Veterinary Drug Residues[J]. International Journal of ELECTROCHEMICAL SCIENCE,

2020(15):4102-4116.

[17] 刘沛,王灿楠.混合血清法筛检丙型肝炎抗体可行性的理论研究[J].徐州医科大学学报, 1994(2): 107-110.

潜心研发模压技术保持行业领先地位

班华新

湛江碧丽华模压木制品有限公司

摘要：本文就湛江碧丽华模压木制品有限公司进行了概述，介绍公司近年来的生产、销售、创新和人才建设情况，指出公司在模压技术产品研发、经营过程中存在的突出问题，并提出了其相应的对策与建议：一是立足模压产业，做精做强模压产品；二是延伸产业链，开拓新领域；三是做好产业的转型升级；四是加快设备技术改造；五是加大新产品开发力度；六是建立模压技术研发中心，专注模压技术的研究；七是提高设备自动化程度，降低经营成本；八是改进模压工艺，加强生产现场管理，提高产品质量；九是加强人才建设，发挥人才是第一资源的作用。旨在解决公司存在的四大突出问题，提高公司模压产品竞争力，保持行业领先地位提供参考。

湛江碧丽华模压木制品有限公司位于广东省遂溪县黄略镇南亭(湛江至广州线 325 国道南边)，于 1985 年引进德国模压技术和成套设备建设起来的模压木制品加工企业，现有机关 9 个科室 6 个车间 53 套大型设备和南亭厂房公司(出租)，目前在职职工 245 人，离退休职工 457 人。公司拥有的模压木制品技术填补了国内空白，目前公司已形成模压家具、模压运输货盘(卡板)、模压学生课桌椅、模压板材、室内外休闲产品五大系列多个品种的“碧丽华”产品体系，年产模压家具 180 万件、学生课桌椅 200 万套、运输货盘 50 万个、板材 35 万平方米、室内外休闲产品 100 万个；同时配套建成年产量 5000 吨环保胶和年产量 1200 万平方米浸渍纸生产线。碧丽华模压木制系列产品是应用木材和合成树脂经高温高压一次成型，技术独特，工艺精湛，经久耐用，美观典雅，具有防水、耐磨擦、耐酸碱、耐炽热等优点，以卓越的性能和可靠的质量保证体系，深受用户信赖。先后荣获国家优质产品银质奖、省优质新产品奖、省级先进企业、湛江市 3A 级和谐企业、广东省名牌(学生面板系列)产品、湛江市平安企业和湛江市诚信协会会员单位等荣誉称号。2015 年公司总产值 8146.00 万元，利润 560.12 万元；2016 年总产值 8249 万元，利润 1163.22 万元；2017 年总产值 8500 万元，利润 877 万元；2018 年农垦社会总产值 9579.07 万元，利润 699.825529 万元；2019 年农垦社会总产值 8782 万元，利润 510.719889 万元。

一、企业现状

生产情况。2016-2019 年，公司持续稳定向前发展，海内外市场进一步扩大，社会和经济效益较好，这 4 年公司总产值 35110.00 万元，模压家具 5173.00 万件，模压运输货盘 12.28 万个，建筑组件 1433.00 立方米。

销售情况。公司充分利用国内外会展、实地走访和互联网营销等途径开发市场，客户逐渐增多，国内市场份额逐年扩大；还开发了北美、南美、中东、东南亚、欧洲、北非、东亚和南非等国外市场，产品销往国外 30 多个国家和地区，2016 年出口收入比 2009 年增长 390%，出口连续多年突破 1000 万元。

改革创新。近年来，公司积极推进技术创新，节能降耗，降低经营成本。

公司对供热车间的烧煤蒸汽锅炉供热设备进行改造，引进、安装可用废弃木材、树皮和粉尘作为燃料的 3000MA 的有机热载体加热炉，每年可节约燃煤 2000 多吨，年节约燃料、人工成本 200 万元。

对家具车间原进口的高压油泵因负载过重而停止工作进行国产化改造，不再购买该进口设备，每台高压油泵节约 1.1 万元的改造资金。

公司对浸纸车间、家具车间、板材车间和制胶车间的稳压阀(原蒸汽阀)改造成三检点式的温度控制方式，使温度偏差控制在 $\pm 1^{\circ}\text{C}$ 范围，稳定了热压温度，满足了热压温度工艺

要求，彻底解决了以往设备温度波动大、难以平衡的问题，同时保证了产品质量。对刨花车间 2 台干燥机加热装置进行温度自动调节控制，使其干燥能力提高 30%，降低了电耗，节约了经营成本。

公司改进供热油炉对流室清灰技术，既加快了木质废料的燃烧速度，又解决了粉尘污染和管道堵塞问题；还对 250 万大卡油炉进行技术改造，大油炉节能技术应用效果显著。

公司成功研发圆形产品自动修边机，降低人工修边的劳动强度，改善修边质量，降低用工成本。

公司对浸渍纸生产线备件进行了国产化改造，生产线匀速运行，浸纸生产全程自动化；增加裁纸自动记录仪，减少人工计数环节，降低了用工成本。

公司引进江苏省常州长城能源设备有限公司进 4600MA 的有机热载体加热炉，对其加热炉油泵改进升级，每班操作工减少 3 人，可节约用工成本。对新旧油炉主体实行 PIP 控制，每个油炉年节电 26 万千瓦时。

公司对刨花制备进行智能化改造。在刨片机增加自动变频调速控制，设备根据负荷量自动变化进刀速度，提高工作效率，降低能耗，每吨刨花可节电 50 千万时，年可节电 350000 千万时。

公司与江门市蓬江区联诚达科技发展有限公司合作，投入资金 35.6 万元，研发公司模压板矩形自动修边机。矩形自动修边机的研发及投入正常运行，既可以提高矩形模压板的修边质量，减少人员，节约人工成本，又可以减少粉尘污染，改善工作环境。

公司与深圳、江门、东莞等多家公司合作改进三聚氰胺胶、共缩胶，降低游离甲醛释放量，达到甚至优于国家标准，模压产品更加环保。

研发新品，擦亮品牌。近年来，公司先后开发了 26 种新产品。这两年，我们投入 69 万元，开发了 360*250mm 大方凳、BXT 梯形台学生课桌面板和 $\Phi 350$ mm 衣帽架底座等模具，产品的款式、花色、规格多样化，满足了国内外买家的需求。当前，公司正积极推广户外产品，该产品具有防紫外线、防雨水等功能，可以室外连续使用超过两年以上。关键技术取得了实质性进展，已将首批产品投入美国市场，产品性能良好，防晒、防水功能较好。

人才建设。大力引进人才，推行“能者上，庸者下”机制，打破“大锅饭”传统。推进人事任免、干部考核制度改革，融入市场经济浪潮。一是公司践行“人尽其才，才尽其用”的人才观，大力实施“人才强企”战略。近年来公司党委共引进全日制大中专毕业生 30 多人，其中全日制大学本科毕业生 20 人，全日制大专毕业生 14 人；既极大改善了干部队伍的年龄结构和知识结构，又增强了干部队伍的生机活力。

二、存在的问题

1. 生产工艺单一。模压产品的生产受到模具的限制，难以灵活生产出各种规格的产品，未能满足多样化的市场需求。如板材的结构没有改变，表面平整度、产品颜色也没改观，严重制约模压产品的发展。

2. 生产规模得不到扩大。受制于人力资源的紧缺、人力成本趋高、原材料的缺乏、材料的成本上升，模压未能实现扩大生产。

3. 设备自动化程度不高，人均生产效率低下，产效益的有所降低。

4. 公司人才队伍结构性矛盾突出。一是年龄结构分布不合理，面临着“青黄不接”的局面，如 35—45 岁已出现断层现象；二是专业人才分布不均，缺乏某方面专项技术人才，如

缺失电气自动化类、市场营销、产品研发、管理创新方面人才。

三、存在问题的对策

1. 公司立足模压产业，做精做强模压产品。不断开发新产品、创新工艺、引进新技术，坚持以创新驱动产业发展，推动模压产业技术进步。

2. 延伸产业链，开拓新领域。思考产业链前后延伸。向前延伸，开发原木产品；向后延伸，开发成套产品，提升产品附加值。

3. 做好产业的转型升级。封闭在一个空间，发展的角度有限。在找差距中补短板，在抓落实中见成效，我们可以借鉴一下国内一些优秀企业的发展经验。下一步我们思考如何利用好自身优势，从资源配置角度考虑，发展一些新项目，如标准板的生产、建筑板材生产。

4. 加快设备技术改造。公司将逐年加大对设备改造及更新的投入，新增用于粉尘改造、家具打磨等方面的设备。通过对家具和板材车间后序修边和打包工段、刨花湿料仓的改造和技术创新，提高机械自动化程度，改善工作环境、降低劳动强度、提高生产劳动效率，达到节能减排、增加经济效益和社会效益。

5. 加大新产品开发力度。多元化筹集资金，新增相关设备。一是我们将以学生课桌和餐桌类为主推产品，每年投入资金用于开发新规格、新样式的餐桌椅和学生课桌椅系列模具；二是我们将增加花色品种，利用现有模具，增加产品花色。三是将环保胶、浸渍纸产品市场化；着力把环保胶、浸渍纸产品推向市场，形成新的经济增长点。

6. 建立模压技术研发中心，专注模压技术的研究，将工艺往精专方面攻克，以科技创新促进模压技术的进步，推动企业发展，引领模压技术，推动企业向更高的层次发展。

7. 生产自动化是必走之路。我们将逐步改造设备，努力实现生产自动化，落实矩形自动修边，走自动化道路。

8. 改进工艺，加强生产现场管理，提高产品质量。针对生产中出现的问题，公司认真抓好工艺操作规范，并组织专业人员进行多次试验，以更加完善工艺配方和程序，提高产品质量。加大新工艺、新材料的技术创新力度。继续开展户外产品试验，进一步改善户外产品性能。

9. 加强人才建设。我们务必树立“人才是企业第一资源的观念”，加大人才引进力度，特别是紧缺的专业技术人才，落实待遇留人、平台留人、感情留人政策，为人才创造良好的工作和生活条件，关心、爱护、理解、信赖人才，形成“尊重知识，尊重人才”的良好氛围。加强对年轻人的培养，把大力培养选拔优秀年轻干部作为一项紧迫任务来抓。

作者简介：班华新，男（1982.12-），广西东兰人，现任湛江碧丽华模压木制品有限公司纪委副书记。电话：15913592158 E-mail 地址：282284473@qq.com。

剑麻纤维抗紫外及抗菌性能的研究

毕雪蓉²⁹, 黄香武², 张斌¹, 郁崇文^{1*}, 杨建平¹, 骆争明², 岑业忠³
(1 东华大学 纺织学院, 上海, 201620; 2 广东省湛江农垦集团公司, 广东, 湛江, 524000
3 广东省东方剑麻集团有限公司, 广东湛江, 524000)

摘要: 本文对剑麻、苧麻、黄麻、红麻的原麻及纤维进行了抗紫外性和抗菌性的测试与分析, 结果表明, 剑麻的紫外防护性能优于苧麻, 但不如黄麻和红麻, 而剑麻耐紫外老化性能处于中等水平。在抗菌性方面, 剑麻、苧麻、黄麻均对白色念珠菌具有明显的抗菌性。

关键词: 麻类纤维, 抗紫外性, 抗菌性

中图分类号 TS129 **文献标识码** A

The anti-ultraviolet and antibacterial property of sisal fibers

BI Xuerong¹, HUANG Xiangwu², ZHANG Bin¹, CHEN Yue², YU Chongwen^{1*}, YANG Jianping¹, LUO Zhengming², CEN Yezhong³

1 Donghua University College of Textile, Shanghai, 201620

2 Guangdong Zhanjiang Agribusiness Group Corporation, Guangdong, Zhanjiang, 524000

3 Guangdong Eastern Sisal Group Co. LTD, Guangdong, Zhanjiang, 524000

Abstract: The antibacterial and anti-ultraviolet property of ramie, sisal, jute and kenaf were tested and analyzed in this paper. Results show that the UV protection property of sisal is better than that of ramie but worse than that of jute and kenaf. The anti-UV aging property of sisal is also at a moderate level. As to the antibacterial performance, sisal, ramie and jute show prominent ability to resist *Candida albicans*.

Keywords: bast and leaf fibers, anti-ultraviolet property, antibacterial property

1. 背景

剑麻是一种龙舌兰科植物。剑麻纤维是从其作物叶部提取而得的硬质叶纤维, 现在主要分布在亚洲、非洲和拉丁美洲等^[1]。剑麻纤维较长, 以束纤维的形式存在, 在束纤维中单纤维之间由胶质粘结^[2]。具有色泽光白、质地坚韧、强力高、耐磨、耐腐蚀、耐低温、吸放湿快等优点。且在水湿条件下, 纤维强力更高、伸长率低, 经海水等浸泡不易腐蚀^[3,4]。

目前剑麻产品不断进行多用途开发, 可制作剑麻地毯、剑麻绳、钢丝绳芯、墙布、高级抛光轮等产品, 并且还广泛用于石油、冶金、运输等行业, 经济价值重大, 是当今世界用途最广、用量最大的一种硬质纤维^[5]。基于剑麻纤维多用途应用的现状, 对其功能性的需求也越来越高, 往往不满足于强度高、耐磨性好等基本性能, 还希望剑麻纤维具备抗菌、抗紫外、防霉等功能性以适应更多的应用场合^[6]。

据现有研究表明, 许多麻类纤维具有一定的天然抗菌性^[7,8]和抗紫外性能^[9,10], 但目前的研究还缺乏横向对比。因此本文对剑麻、苧麻、红麻、黄麻原麻进行研究, 并以棉纤维为对照, 系统地测试和对比其紫外防护性、耐紫外老化性能及抗菌性能的强弱, 为以后剑麻纤维功能性应用的开发提供参考。

2. 试验原料及方法

2.1 实验材料

原料: 剑麻(广东)、苧麻原麻(湖南)、红麻原麻(安徽)、黄麻熟麻(湖南)、棉纤维。

作者简介: 毕雪蓉(1993年—), 女, 博士研究生, 研究方向: 麻基功能性材料的开发; **通讯作者:** 郁崇文, 教授, Email: yucw@dhu.edu.cn; **资助项目:** CARS-16

试剂：聚乙烯醇(PVA)，羧甲基纤维素钠(CMC-Na)，硫酸(H₂SO₄)，氢氧化钠(NaOH)，亚硫酸钠(Na₂SO₃)，硅酸钠(Na₂SiO₃)，三聚磷酸钠(Na₅P₃O₁₀)。以上试剂均为分析纯，由国药集团提供。

2.2 试样制备

2.2.1 麻粉/PVA 复合膜的制备

将适量剑麻、苕麻、红麻、黄麻、棉纤维放入 105℃的鼓风烘箱中烘干 4h，取出后剪成 1~2cm 的小段，通过粉碎机进行粉碎并过 200 目的筛网后，保存备用。

热水浴中溶解 PVA 和 CMC，配制成 2wt%PVA/1wt%CMC 的混合溶液。向 PVA/CMC 混合溶液中加入纤维粉末，在超声分散机中分散 15~20min，得到均匀分散的纤维粉末/PVA/CMC 铸膜混合液。分别浇注 2mL、4mL、6mL、8mL、10mL 铸膜混合液于模具中，得到纤维粉/PVA/CMC 复合膜(以下简称复合膜)。同时浇注 2~10mL 未加入粉末的 PVA/CMC 混合溶液于模具中，作为空白样。在 50℃烘箱中烘干后即可得到纤维粉末/PVA/CMC 复合膜。制备过程如图 1 所示，最终得到的复合膜如图 2 所示。在模具相同的条件下，混合液用量越大则得到的复合膜厚度越大。

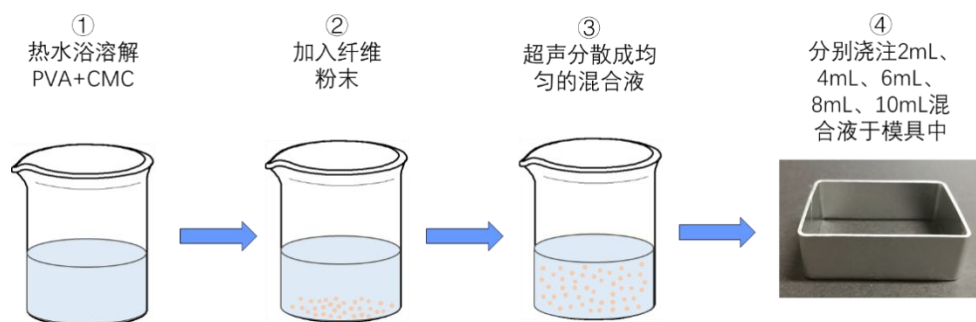


图 1 复合膜的制备流程

Fig.1 Preparation process of composite membranes

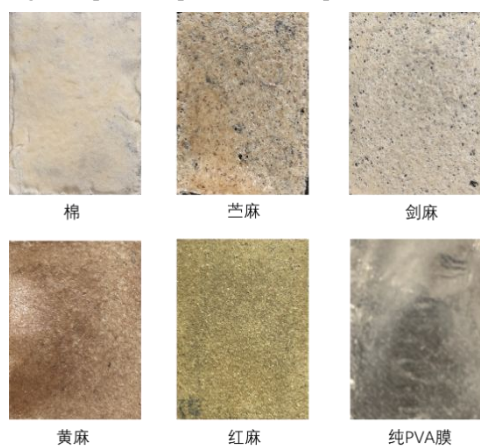


图 2 复合膜的实物图

Fig.2 Picture of the composite membranes

2.2.2 精干麻纤维的提取

将剑麻、苕麻、黄麻、红麻采用传统碱脱胶工艺，通过浸酸→一煮→二煮得到精干麻纤维。

2.3 表征方法

2.3.1 紫外防护性能(UPF)测试

采用 UV3600 型紫外-可见近红外分光光度计(积分球附件)以及 UV2000F 型紫外防护系数分析仪测试并分析复合膜的紫外-可见透过率和紫外防护指数，测试时将纤维集中分布的

一面对准紫外光源,得到复合膜在 200nm~800nm 范围内的透过率及 290nm~400nm 范围内的紫外防护指数(UPF 值)。

GB/T18830-2009《纺织品防紫外线性能的评定》中规定 UPF 的计算公式为:

①

式中: $E(\lambda)$ —日光光谱辐照度, W/nm^2 ; $\epsilon(\lambda)$ —相对的红斑效应; $T(\lambda)$ —试样在波长为 λ 时的光谱透过比; $\Delta(\lambda)$ —波长间隔, nm。

2.3.2 氙灯加速老化后纤维拉伸断裂测试

由于自然老化耗时长、影响因素多,实验条件不稳定且难以人为控制,因此本实验采用 FY3100 型氙灯老化气候箱对几种精干麻纤维及棉纤维进行人工加速老化,探究不同纤维的老化速率从而反应其耐紫外老化性能的强弱。老化条件为温度 25°C、湿度 65%、辐照度 42W/m²、黑板温度 65°C。选定取样时间分别为 0h、6h、12h、24h、48h。

取出加速老化后的纤维样品通过 XQ-1C 型纤维强伸度仪测试其拉伸性能,测试条件为:预加张力 0.2cN,夹持隔距 10mm,拉伸速度 10mm/min,每种纤维拉伸 100 根求平均值。剑麻纤维强力过大,因此其拉伸测试在电子单纱强力仪上进行,夹持隔距 50mm,拉伸速度 50mm/min。

2.3.3 抗菌性测试

采用 GB/T 20944.3-2008 纺织品抗菌性能的评价第 3 部分:振荡法测试各种原麻及棉纤维的抗菌性能,选取革兰氏阴性代表菌大肠杆菌、革兰氏阳性代表菌金黄色葡萄球菌及真菌代表菌白色念珠菌进行测试。过程如下:

(1)取 1mL 扩大培养后的菌液,加入到 9mL 大豆蛋白肉汤中,得到稀释 10 倍的菌液,依此类推,将菌液浓度稀释到 $3\sim 4\times 10^5$ CFU/mL,置于冰箱保存。

(2)向经过灭菌处理的一次性试管中加入 PBS 缓冲液及一定量大豆蛋白肉汤共 10mL,再加入 0.715mL 步骤(1)中菌液。然后向每只试管中加入 0.11g 待测样或对照样,将试管放入温度 $37\pm 1^\circ\text{C}$ 恒温摇床中,在一定转速下恒温振荡培养一段时间。

(3)将试样取出并静置一段时间,然后在 660 nm 波长下,用紫外可见分光光度计测量待测样和对照样所在菌液的吸光度。

振荡法测试抑菌性能的主要评价指标是抑菌率。抑菌率是指振荡接触前后对照样和待测样所在菌液的活菌浓度变化率。依据菌液浓度-吸光度标准曲线,计算菌液浓度,抑菌率(Y)由下式②计算:

②

式中, Y: 试样抑菌率; W_t : 对照样所在菌液活菌浓度(CFU/mL); Q_t : 待测样所在菌液活菌浓度(CFU/mL)。

3. 试验结果与分析

3.1 麻的紫外防护性能

通过 UV3600 型紫外-可见近红外分光光度计得到复合膜在 200nm~800nm 范围内的透过率,并采用 UV2000F 型紫外防护系数分析仪测试 290nm~400nm 范围内的紫外防护指数(UPF 值),结果如图 3 所示。

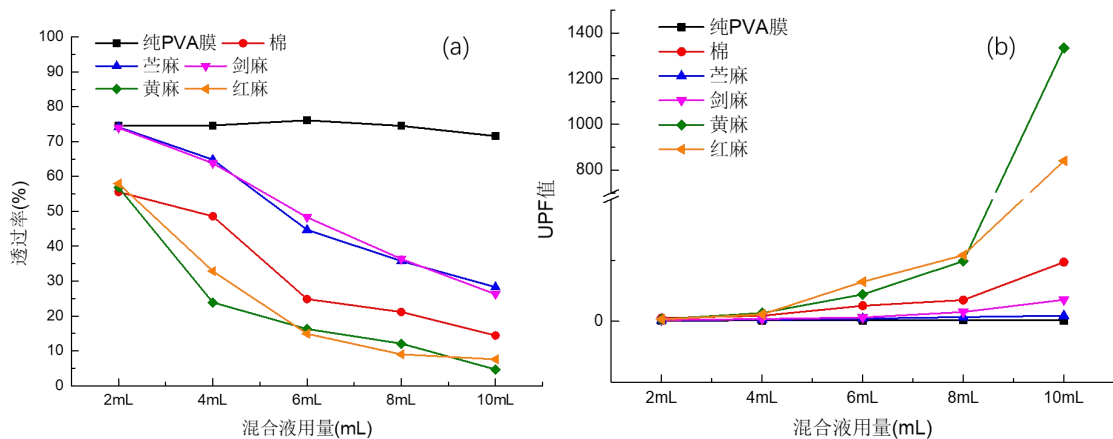


图 3 麻的紫外防护性能

(a)麻复合膜的紫外-可见透过率; (b)麻复合膜的 UPF 值

Fig.3 UV protection performance of bast and leaf fibers

(a)UV-Vis transmittance of composite membranes; (b)UPF value of composite membranes

紫外防护性能是指材料对紫外线的遮蔽作用，当材料的透过率越低、UPF 越高，意味着该材料的紫外防护性能优异。由图 3 可知，纯 PVA 膜的紫外防护性能不随混合液用量的增加而提高。当加入不同的纤维时，复合膜的紫外防护性能显著增加，这正是来自于纤维对光的屏蔽作用。随着混合液用量的增加，纤维复合膜的透过率呈明显下降趋势，如图 3(a) 所示。其中，剑麻与苧麻的透过率变化趋势相近，但这二者对紫外-可见光的屏蔽效果不及棉和黄麻、红麻。由图 3(b)也可以看出，在混合液用量为 10mL 时，黄、红麻的 UPF 值要远高于其他几种材料，剑麻复合膜的 UPF 值为 35.15，略高于苧麻复合膜。

材料对紫外线的防护作用取决于很多因素：包括颜色、成分、空隙率等。剑麻复合膜的颜色洁白可能是其对光的屏蔽效果较差的一个影响因素。

3.2 麻的耐紫外老化性能

评价材料的抗紫外性能还有一个重要指标，即耐紫外老化性能。耐紫外老化性能是指材料在一段时间紫外辐射之后，保持原有性能不发生明显劣化的能力。将几种精干麻纤维经过氙灯加速老化不同时间后，分别测试老化后纤维的拉伸强力，计算老化一定时间下的强力保留率，结果如图 4 所示。

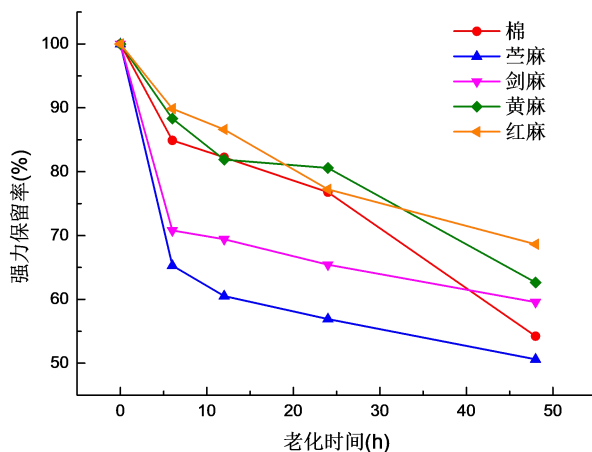


图 4 老化后纤维的强力保留率

Fig.4 Strength retention of aging fibers

由图 4 可知，经过一段时间的氙灯加速老化后，纤维的拉伸性能均下降明显。在加速老化的初期(即老化时间为 6h 时)，苧麻和剑麻纤维的强力下降明显，老化速度较快，强力损

失达到了 30%~35%。红麻纤维在前 6h 老化的最慢，强力损失在 10%左右，在老化的初期显示出较好的耐老化性能。剑麻纤维在老化的前 6h，性能下降较快，从 6h 到 48h 内剑麻的强力下降趋于平缓。在人工加速老化 24h 后，黄麻纤维展现出最高的强力保持率，在 85%左右。经过 48h 的人工加速老化后，红麻纤维耐紫外老化性能最优，强力保留率在 70%以上。苧麻的老化现象较明显，强力损失了 50%左右。苧麻纤维脱胶后呈现单纤维状态，受到紫外光辐射后易发生光化学反应使得大分子链断裂，强力受损严重。黄麻和红麻纤维在脱胶后呈束纤维状态，部分胶质残留在纤维之间，起到良好的保护作用，因此紫外光辐射后强力受损较小。

3.3 麻的抗菌性能

不同麻的抗菌性能依据《GB/T 20944.3-2008 纺织品抗菌性能的评价：第 3 部分》进行评价，结果如图 5 所示。GB/T 20944.3-2008 中规定，对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌率在 70%以上，对白色念珠菌的抑菌率在 60%以上认为该材料具有抑菌性能。

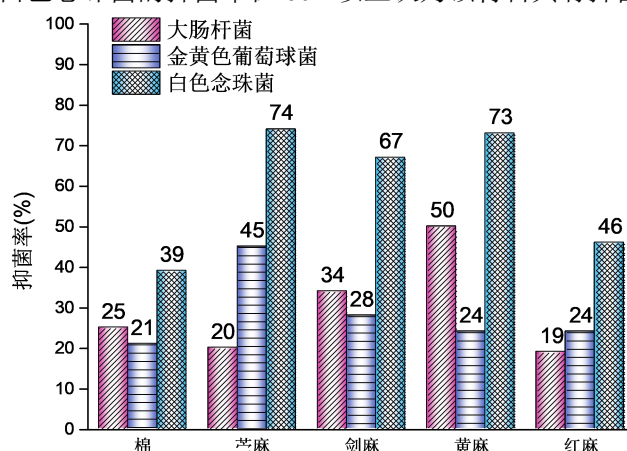


图 5 麻的抗菌性能

Fig.5 Antibacterial property of bast and leaf fibers

由图 5 可知，苧麻、黄麻、剑麻对白色念珠菌有明显的抑菌效果，抑菌率均在 70%左右。而几种材料对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌效果不显著。其中，黄麻对大肠杆菌的抑菌率较高，苧麻对金黄色葡萄球菌的抑菌率较高，而剑麻对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌率均处于第二位，优于棉纤维和红麻的抑菌性。众多学者在麻的抗菌性能研究中均发现麻材料中含有一些黄酮类、甾醇类和萜类物质，对微生物具有一定的抑制和杀灭作用^[11,12]。有研究证明，在剑麻叶片抽取纤维后的叶汁中含有具甾体骨架的成分剑麻皂素，据初步估计，仅雷州半岛地区种植剑麻约十多万亩，估计可年产 1300 多吨，为我国生产甾体药物提供了新的原料^[13]。剑麻皂素及蕃麻皂素作为薯蓣皂素的重要替代产品，已广泛应用于甾体激素的合成研究：除生产倍他米松、地塞米松外，还应用于肌松药、蛋白同化激素、避孕药等品种的生产。这些小分子醇类、酮类物质与细菌、真菌细胞膜的磷脂双分子层亲和，能够破坏膜结构的完整性，影响细胞的能量代谢，导致细胞内溶酶体膜破裂。但由于麻材料的品种、部位、加工方式等差异较大，使得不同麻材料中所含抑菌成分的品种和含量不尽相同，因此显示出不同的抑菌性，使得麻基材料在医疗方面有广阔的应用前景。

4.结论

本文研究了剑麻、苧麻、黄麻、红麻的抗紫外性能和抗菌性能，并以棉纤维为对对照，测试分析了几种材料的紫外可见透过率、紫外防护指数(UPF 值)及抑菌率，结论如下：

- (1) 对于紫外防护性能，黄麻、红麻的紫外可见透过率较低，UPF 值高，具有优异的紫外防护性。剑麻的紫外防护性优于苧麻，紫外防护性能受材料成分、颜色、孔隙率等因素的影响；

- (2) 对于耐紫外老化性能,黄麻、红麻的耐紫外老化性能较好,在经过 48h 的光老化后,强力保留率在 70%左右。剑麻的耐紫外性能居中,要优于苧麻;
- (3) 剑麻、苧麻、黄麻对白色念珠菌有明显的抗菌性,抑菌率均在 60%以上。

参考文献

- [1] 兰碧. 二恶唑啉改性剑麻纤维增强聚乳酸复合材料的制备及性能研究[D]. 华南理工大学, 2018.
- [2] 高洪. 剑麻的性能及应用[J]. 山东纺织科技, 2010, 51(03):44-45.
- [3] 王清,孙小寅,朱厚军,徐振洋,王婷. 非洲剑麻生物酶脱胶工艺研究[J]. 纺织科学与工程学报, 2020, 7(03): 38-43+124.
- [4] 姜繁昌. 剑麻纤维的性能研究[J]. 中国麻业, 2003(05): 20-26.
- [5] 常瑶,胡呈元,聂琴,周晓东. 表面处理对剑麻纤维性能及与淀粉相容性的影响[J]. 工程塑料应用, 2018, 46(02): 16-21.
- [6] 陈梓润. 剑麻纳米纤维素/石墨烯/聚苯胺复合材料的制备及其电化学性能研究[D]. 桂林理工大学, 2017.
- [7] 孟令翔.黄麻纤维抗菌性能的研究[D].天津工业大学, 2010.
- [8] 王群,齐鲁,刘国忠,等. 麻类纤维抗菌机理和性能的研究现状[J].上海纺织科技.2010,38(10):11-13.
- [9] 周永凯,赵莉,张建春. 大麻织物的抗紫外线性能评价[J]. 中国麻业, 2005(05): 259-264.
- [10] 俞春华,乔鹏娟,袁利华等. 大麻织物的抗紫外线性能及其影响因素[J]. 上海纺织科技, 2011, 39(02):4-6.
- [11] 郑丽莎. 罗布麻纤维抗菌性能及机理研究[D].青岛大学, 2004.
- [12] 安利霞. 汉麻有效抗菌成分提取及抗菌机理的研究[D]. 北京服装学院, 2013.
- [13] 韩广甸,马兆扬.我国利用剑麻皂素合成甾体药物的研究进展[J].中国医药工业杂志,2002(09):45-50.

基于转录组的剑麻 SSR 标记开发与筛选³⁰

张燕梅, 李俊峰, 杨子平, 鹿志伟, 陆军迎, 周文钊*

(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)

摘要 本研究基于剑麻转录组测序获得的 96 821 条 Unigene 序列, 采用 MISA1.0 软件查找 SSR 位点, 利用 Primer3.0 设计 SSR 引物, 通过聚丙烯酰胺凝胶电泳技术对其中的 100 对 SSR 引物有效性进行验证。总计获得了 16 305 个 SSR 位点, SSR 的分布频率为 16.84%。96 821 条 Unigene 序列总计包括 141 种重复单元, 其中单核苷酸重复为主导重复类型(40.81%), 其次是二核苷酸重复和三核苷酸重复, 比例分别为 32.65% 和 25.37%, 四、五、六核苷酸重复所占比例总计为 1.17%。A/T, AG/CT 和 AAG/TTC 分别为单核苷酸、二核苷酸和三核苷酸重复的优势单元。100 对 SSR 引物中有 68 对引物可扩增出目标产物, 其中 18 对引物在 6 份剑麻种质中表现出多态性, 以上结果为利用 SSR 分子标记技术开展剑麻种质资源鉴定、遗传多样性分析等奠定了基础。

关键词 剑麻; 转录组测序; SSR

SSR marker development and primer screening from the RNA-Seq data of Sisal

ZHANG Yanmei, LI Junfeng, Lu Zhiwei, YANG Ziping, LU Junying, ZHOU Wenzhao*

South Subtropical Crops Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences /Zhanjiang City Key Laboratory for Tropical Crops genetic improvement, Zhanjiang, Guangdong 524091, China

Abstract In this study, high-throughput sequencing of the transcriptome of sisal was used to seek SSR loci and develop SSR markers by MISA1.0 and Primer3.0 software, respectively, and preliminary primer verification and polymorphic primer analysis were performed by vertical acrylamide gels. A total of 16,091 of SSR loci were found in the 96 821 unigene sequences. The SSR distribution frequency is 16.84%. In total, 141 repeat elements were obtained, among them, mono-nucleotides were the dominant repeat motif (40.81%), followed by di-nucleotides (32.65%), and tri-nucleotides repeats (25.37%), the other repeat types occupied 1.17% in all. The most dominant mono-nucleotide, di-nucleotide and tri-nucleotide repeat motif was A/T, AG/CT and AAG/TTC, respectively. Among 100 pairs of SSR primers randomly selected from designed SSR primers of H.11648, Sixty-eight pairs of primers could amplify the expected size bands, and eighteen primers showed polymorphism among six sisal germplasm. The obtained primers would provide effective molecule markers for genetic diversity analysis and germplasm utilization of sisal.

Keywords sisal; RNA-seq; Simple sequence repeats (SSRs)

剑麻是一种重要的热带纤维作物, 有重要的经济价值。由于剑麻自然条件下变异频发且倍性复杂^[1], 现有保存的种质资源中, 主要是通过麻园选育、杂交和引种获得, 遗传背景模糊, 命名极不规范, 有的很难从表型加以辨别, 给种质资源的保存利用以及育种工作带来极大不便。分子标记技术的出现给遗传育种研究注入了新的活力, 并且在剑麻品种鉴定以及遗传多样性分析等方面得到广泛的应用^[2-8]。

微卫星 DNA (Microsatellite DNA) 又称简单重复序列 (Simple Sequence Repeat, SSR), 是由 1-6 个核苷酸为重复单位串联而成的长达几十个核苷酸的重复序列, 按其来源可分为基因组 SSR (gSSR) 和表达序列标签 SSR (EST-SSR)。与其它分子标记相比, SSR 标记具有多态性高、重复性好、共显性遗传等优点, 可以区分纯合子和杂合子, 广泛应用于遗传多样性分析^[9]、种质资源鉴定^[10]、以及遗传作图^[11]等领域。目前剑麻中报道的 SSR 引物仅有 7 对,

基金项目 广东省甘蔗剑麻产业技术体系创新团队(No. 2019KJ104-03); 国家麻类产业技术体系项目(No.CARS-16); 中国热带农业科学院基本科研业务费专项资金 (No. 1630062019021)。

作者简介 张燕梅(1975—), 女, 博士, 副研究员; 研究方向: 作物育种。通信作者(Corresponding author): 周文钊(ZHOU Wenzhao), E-mail: zwenzhao@163.com。

由于剑麻 SSR 引物偏少, 获得的信息量有限, 因此, 开发剑麻 SSR 标记引物对开展剑麻遗传研究十分必要。剑麻基因组较大 ($1\text{Cx}\approx 7.5\text{pg}$)^[1], 基因组信息未知, 在短时间内开发 gSSR 标记几乎不可能, 随着生物信息学和测序技术的飞速发展, EST 序列数据剧增, 利用 EST 序列开发 SSR 标记引物成为可能, 并且在其它物种中已有许多成功的报道^[12]。鉴于此, 本研究基于前期获得的剑麻转录组序列, 利用 MISA 软件查找 SSR 位点, 开发剑麻 SSR 标记引物, 即可解决剑麻 SSR 标记引物缺乏等实际问题, 同时为剑麻遗传研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 剑麻转录组数据来源 剑麻转录组序列主要来源于本课题前期获得的 H.11648 的 96 821 个 Unigenes 序列。

1.1.2 剑麻材料 植物材料为 1 年生的 H.11648、肯 1、肯 2、热麻 1 号、无刺番麻和普通剑麻走茎苗。每份材料至少取 3-5 株, 每株取 1 克叶片等量混合后用于提取基因组 DNA。

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取 DNA 提取采用天泽公司的柱式植物 DNAout 试剂盒提取, 实验材料用液氮快速研磨后取少量粉末, 加入裂解液、经抽提、漂洗最后过柱, 洗脱后 4℃ 保存备用, 具体操作参照试剂盒说明书。

1.2.2 SSR 位点查找 采用 MISA1.0 软件对每个 Unigene 进行简单序列重复 (SSR) 位点查找, SSR 位点筛选参数为: 单核苷酸的重复次数大于或等于 10 次, 二核苷酸重复次数大于或等于 6 次, 三核苷酸、四核苷酸、五核苷酸、六核苷酸的重复次数大于或等于 5 次。

1.2.3 SSR 引物开发 采用 Primer Premier 3.0 设计引物, 引物长度 18-25bp, GC 含量在 40%-60% 之间, 退火温度 T_m 在 56-65℃, 预期产物长度为 100-300bp, 尽量避免二聚体和发卡结构。引物由上海生工生物工程有限公司合成。

1.2.4 SSR 引物有效性验证 随机选取 100 对 SSR 引物, 以 H.11648、肯 1、肯 2、热麻 1 号、无刺番麻、普通剑麻等 6 份种质的基因组 DNA 混合池为模板, 进行 PCR 扩增, 扩增产物用 8% 的聚丙烯酰胺凝胶电泳检测, 150V, 2.5 小时后取下胶板, 银染后拍照保存。PCR 扩增程序为: 首先 94℃ (15s), 60℃ (15s), 72℃ (30s), 16 个循环, 每个循环退火温度降低 0.7℃; 然后进入下一个扩增阶段: 94℃ (15s), 50℃ (15s), 72℃ (30s), 15 个循环, 最后 72℃ 延伸 60min, 扩增产物加入 1/3 体积的上样缓冲液, 混匀后 4℃ 保存备用。

1.2.5 SSR 引物多态性筛选 分别以 H.11648、肯 1、肯 2、热麻 1 号、无刺番麻、普通剑麻等 6 份种质的基因组 DNA 为模板, 对检测有目标产物条带的 SSR 引物进行扩增, 扩增产物经 8% 聚丙烯酰胺凝胶电泳检测, 银染后拍照保存。扩增程序和检测方法同 SSR 引物有效性验证。

2 结果与分析

2.1 剑麻 SSR 位点的分布与数量

H.11648 96 821 条 Unigenes 序列全长总计 62 816 101bp, 经 MISA 分析后发现共有 13 267 条 Unigenes 序列共含有 16 305 个 SSR 位点 (1/3.85), SSR 发生频率 (含 SSR 的 Unigene 数/总 Unigene 数) 为 13.70%, SSR 出现频率 (SSR 位点数/总 Unigene 数) 为 16.84%, 其中有 2 296 条序列含有 2 个或 2 个以上的 SSR 位点, 1 023 个 SSR 位点以复合形式存在。H.11648 转录组 SSR 类型丰富, 单核苷酸至六核苷酸重复均存在, 其中单核苷酸为主导重复基元, 比例为 41.58%, 其次是二核苷酸和三核苷酸重复, 分别为 32.22% 和 25.04%, 四核苷酸、五核苷酸和六核苷酸比例较低, 分别为 0.97%、0.10% 和 0.08%。从基元重复次数来看, H.11648 转录组 SSR 单核苷酸重复中 9-12 次重复较多, 占单核苷酸 SSR 的 64.20%, 二核苷酸至六核苷酸重复中 5-8 次重复较多, 分别占相应 SSR 的 61.89%、99.92%、100% 和 100% (表 1)。

表 1 剑麻转录组 SSR 类型及重复次数分布

Tab. 1 SSR type and distribution of SSR repeat motif in sisal transcriptome

| 重复次数 Repeat number | SSR 类型 SSR type | | | | | |
|-----------------------|-------------------------|-----------------------|------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|
| | 单核苷酸 Mono-nucleotide | 二核苷酸 Di-nucleotide | 三核苷酸 Tri-nucleotide | 四核苷酸 Tetra-nucleotide | 五核苷酸 Penta-nucleotide | 六核苷酸 Hexa-nucleotide |
| 5-8 | 0 | 3252 | 4079 | 159 | 17 | 13 |
| 9-12 | 4353 | 1788 | 3 | 0 | 0 | 0 |
| 13-16 | 1160 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 17-20 | 1053 | 214 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| >20 | 214 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 总计 Total | 6780 | 5254 | 4082 | 159 | 17 | 13 |
| 所占比例 ratio | 41.58% | 32.22% | 25.04% | 0.97% | 0.10% | 0.08% |

2.2 剑麻 SSR 基序频率特征及重复类型

剑麻 H.11648 16 305 个 SSR 位点，共包含有 141 种重复基元，其中单核苷酸、二核苷酸、三核苷酸、四核苷酸、五核苷酸和六核苷酸的重复基元数分别为 2、6、30、79、17 和 13 种。单核苷酸重复基元主要有 A/T 和 C/G 两种类型，其中 A/T 类型有 6 627 个，占单核苷酸重复的 97.74%。二核苷酸有 AC/GT, AG/CT, AT/TA, CA/TG, CG/CG, GA/TC 6 种重复类型，其中 AG/CT 和 GA/TC 最多，分别占二核苷酸重复类型的 22.52%和 23.80%，CG/CG 比例最低（1.31%）。三核苷酸有 30 种重复类型，其中 AAG/TTC、CTT/GAA、CTC/GAG、CCT/GGA、AGA/TCT 和 AGG/TCC 所占比例较高，分别为 6.41%、6.17%、5.82%、5.08%、4.91%和 3.90%，ATA/TAT 比例最低（0.91%）。四核苷酸重复有 79 种重复类型，除 AAAG（6.29%）、AAGA（5.03%）、GAAA（5.03%）和 TTTC（3.14%）外，其它每种类型数量均在 1-3 之间，出现频率较低。五核苷酸重复和六核苷酸重复分别有 17 和 13 种重复类型，每种重复类型数量均为 1（图 1）。

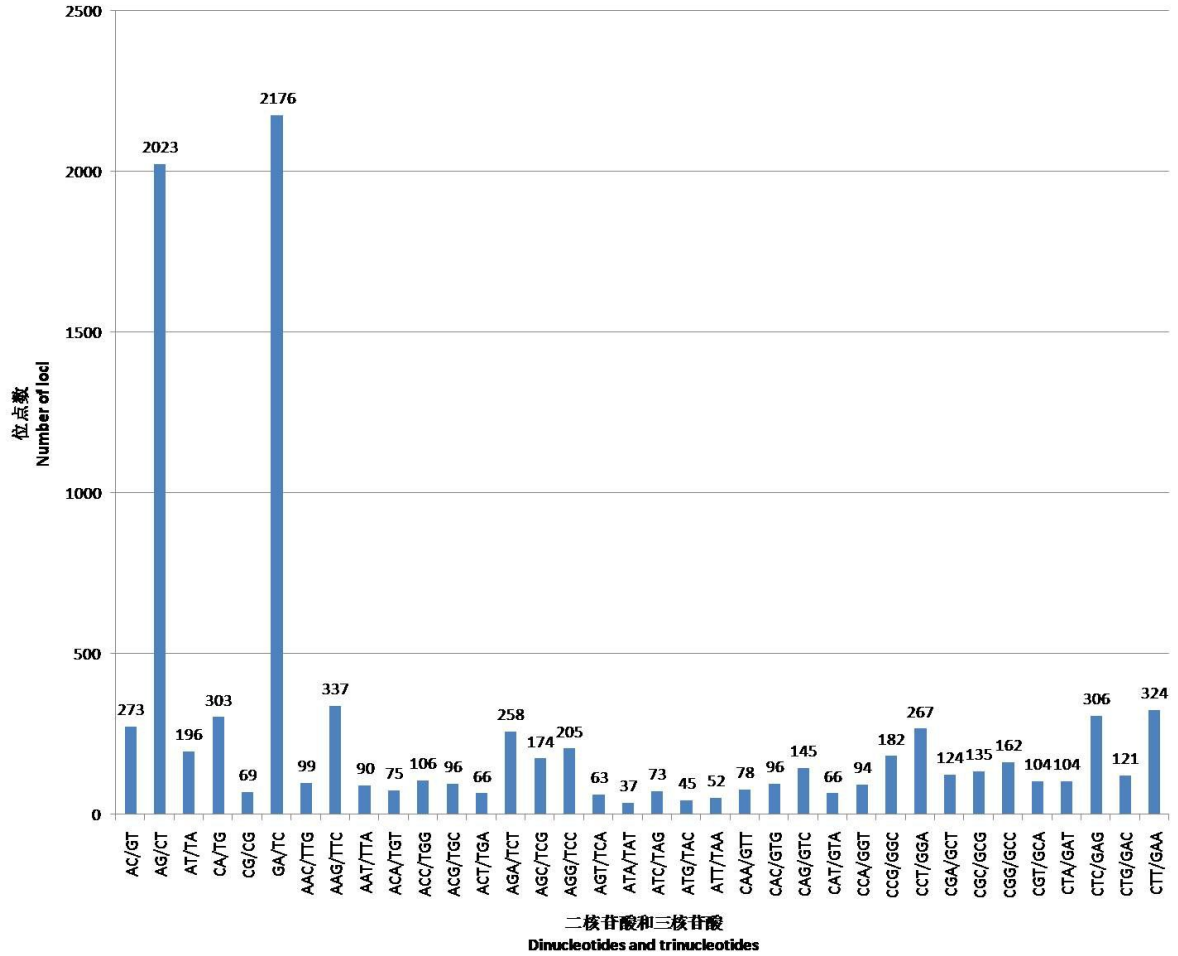


图 1 二核苷酸和三核苷酸重复 SSR 频率特征

Fig.1 Characterization of di-nucleotide and tri-nucleotide microsatellites.

2.3 SSR 引物有效性验证

利用 6 份剑麻种质基因组 DNA 混合池为模板,随机选取 100 对 SSR 引物进行检测分析,有 68 对引物可扩增出稳定的目标产物条带,表明开发的 SSR 引物有效,且引物扩增效率为 68% (图 2,表 2)。

表 2 100 对 SSR 引物 PCR 扩增产物统计表

Tab.2 PCR amplification products of 100 pairs of SSR primers

| 编号 Code | 引物名称 Primer | 扩增情况 Amplification | 编号 Code | 引物名称 Primer | 扩增情况 Amplification | 编号 Code | 引物名称 Primer | 扩增情况 Amplification |
|------------|----------------|-----------------------|------------|----------------|-----------------------|------------|----------------|-----------------------|
| 1 | C21831 | 1 | 35 | C10467 | 1 | 69 | c61237 | 1 |
| 2 | C54328 | 1 | 36 | C64086 | 1 | 70 | c63236 | 1 |
| 3 | C45843 | 1 | 37 | C26992 | 1 | 71 | c66274 | - |
| 4 | C56547 | - | 38 | C75462 | - | 72 | c55565 | 1 |
| 5 | C19780 | 1 | 39 | C101811 | 1 | 73 | c18541 | - |
| 6 | C43674 | 1 | 40 | C91173 | 1 | 74 | c58079 | 1 |
| 7 | C67656 | 1 | 41 | C65805 | 1 | 75 | c65594 | - |
| 8 | C56805 | 1 | 42 | C56099 | 1 | 76 | c67350 | 1 |
| 9 | C31941 | 1 | 43 | C59174 | 1 | 77 | c64114 | - |
| 10 | C65804 | 1 | 44 | C48397 | 1 | 78 | c61476 | 1 |

| | | | | | | | | |
|----|--------|---|----|---------|---|-----|----------|----|
| 11 | C65124 | 1 | 45 | C67158 | 1 | 79 | c50377 | 1 |
| 12 | C64583 | 1 | 46 | C67379 | - | 80 | c62978 | - |
| 13 | C61730 | 1 | 47 | C62884 | 1 | 81 | c57223 | - |
| 14 | C78304 | 1 | 48 | C62635 | 1 | 82 | c57470 | 1 |
| 15 | C51844 | 1 | 49 | C65567 | 1 | 83 | c61688 | - |
| 16 | C65836 | 1 | 50 | C62310 | - | 84 | c64073 | - |
| 17 | C61418 | 1 | 51 | C102808 | 1 | 85 | c66012 | 1 |
| 18 | C25161 | 1 | 52 | C65059 | 1 | 86 | c58983 | 1 |
| 19 | C34816 | 1 | 53 | C28017 | 1 | 87 | c11719 | - |
| 20 | C59833 | - | 54 | C42060 | 1 | 88 | c25268 | - |
| 21 | C61872 | 1 | 55 | C35432 | - | 89 | c43210 | - |
| 22 | C62970 | 1 | 56 | C67587 | 1 | 90 | c67682 | - |
| 23 | C53504 | 1 | 57 | C50689 | - | 91 | c58728 | - |
| 24 | C40617 | 1 | 58 | C58213 | 1 | 92 | c65623 | - |
| 25 | C60020 | 1 | 59 | C56245 | 1 | 93 | c62937 | - |
| 26 | C62622 | 1 | 60 | C55030 | - | 94 | c62565 | - |
| 27 | C52045 | 1 | 61 | C65037 | 1 | 95 | c54676 | - |
| 28 | C62733 | 1 | 62 | C60419 | 1 | 96 | c31941 | - |
| 29 | C66517 | - | 63 | C59567 | 1 | 97 | c66822 | - |
| 30 | C53444 | 1 | 64 | C61599 | - | 98 | c1566 | - |
| 31 | C54120 | 1 | 65 | C57253 | 1 | 99 | c56478 | - |
| 32 | C63771 | 1 | 66 | C45325 | 1 | 100 | c63836 | - |
| 33 | C51788 | 1 | 67 | C24110 | 1 | | | |
| 34 | C55311 | 1 | 68 | c67096 | 1 | | 合计 Total | 68 |

注：“1”表示有目标产物，“-”表示无扩增产物

Notes: “1” indicates the SSR primer could amplify target products, “-” indicates the primer couldn’t amplify target products.

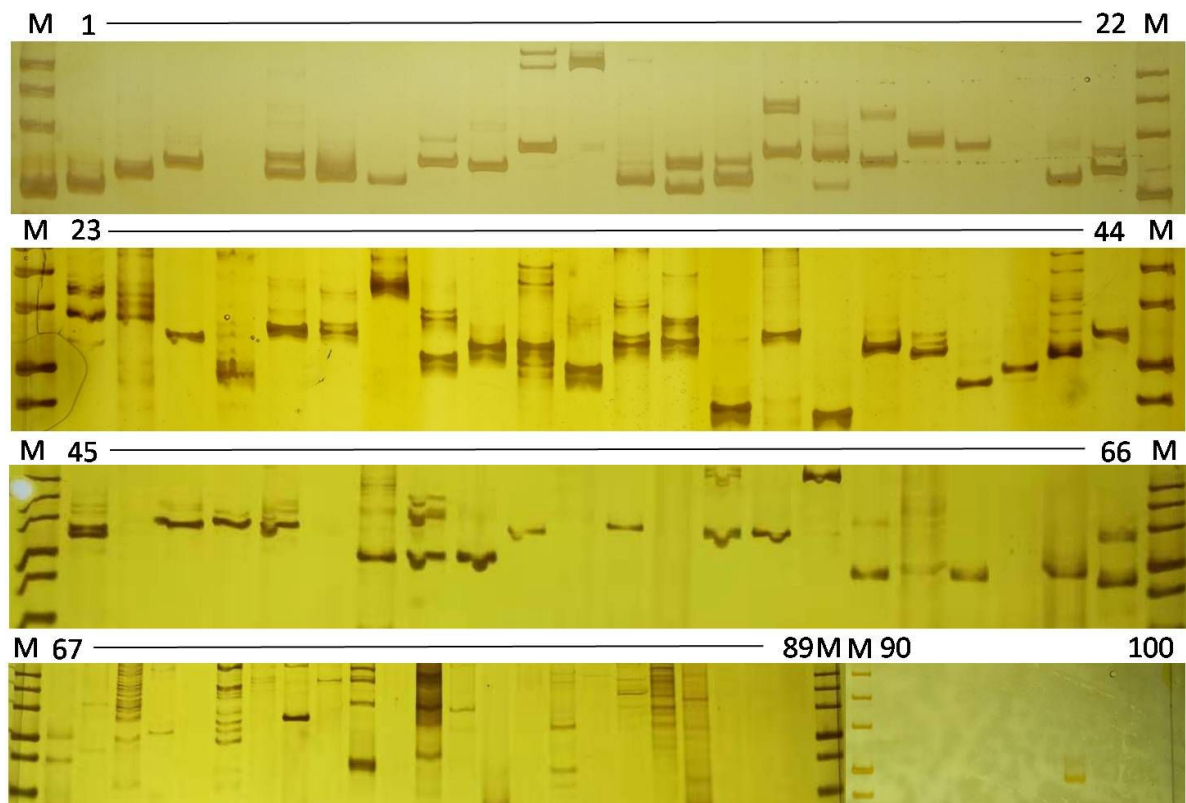


图2 100对SSR引物PCR产物检测

注：1-100为引物编号，与表2同；M为Takara的DL500分子marker

Fig.2 PCR amplification products of 100 pairs of SSR primers detected by 8% vertical acrylamide gel

Notes. 1-100 represent the 100 pairs of SSR primers as shown in table 2; M: DL500 marker

2.4 多态性SSR引物筛选

分别以6份剑麻种质基因组DNA为模板，对68对有目标产物条带的SSR引物进行扩增，经聚丙烯酰胺凝胶电泳检测后筛选出18对有多态性的SSR引物，多态性比率为26.47%（图2），多态性引物及其DNA序列如表2。

表3 18对多态性SSR引物及其序列

Tab.3 DNA sequences of 18 polymorphic SSR primers

| 引物名称 Primer | 正反向引物序列（5' -3'） Forward/reverse primer sequence | 产物大小/bp product size(bp) |
|----------------|--|-----------------------------|
| c52045 | F:AAAATCCATGAGGCGGCTGA; R: TAGTAGCTAGGCCAGGCAA | 280 |
| c62733 | F:GCCTTCTCCCACGGAATCAA; R: TGTGGAGTGTGATGGGAGTG | 260 |
| c53444 | F:GCAGGCCCTGTAGTTTGACT; R: TTCGTGCCAGTTTCTCCTC | 238 |
| c54120 | F: ACCGCATTCATCGGTCTCTC; R: GGTCCTCGCTCTGATCTTGG | 156 |
| c101811 | F: CCTTAGGCTCCCTGCTGTTC; R: CCACAAGAGCCGCTACCATC | 251 |
| c19780 | F: TTGGGCCCTTATCTCATGCC; R: GATCCGAGATCGAGAGGGGA | 245 |
| c67656 | F: GACTTGTCTGCCCTTCTCC; R: TGAGGAGAGCTTCAGCCTCT | 233 |
| c56805 | F:GCGTTGGAGGCTTAAATCCA; R: CGTTTTGCTCAACCACCCAG | 254 |
| c65804 | F: CCTTGCCGTTCTGGTACTGA; R: CAACCAAGAGCGCACGTTAG | 279 |
| c61730 | F:ACCTTCTATTCTTGCCCC; R: TTAGCACATCAACTGCCCC | 214 |
| c78304 | F: GTGTGCTACTTGTTGGTGCA; R: TGCTTCATTGCTTGCAAACCA | 214 |

| | | |
|--------|--|-----|
| c51844 | F:CAAAGGGTTCCCGTTCGAGA; R:ATCAGGGTAAGCAGTGCACC | 277 |
| c65836 | F:GCCTTCGTCAATTCCTCCA; R:CCACCAACTCCTCGATGTCC | 274 |
| c61418 | F:CGAAAGCTCCGAGAATTGCG; R:GAGCCTTACCATCGTCTCCG | 263 |
| c62970 | F:CTCGTCTTCAACACCGGTCA; R:CTCATGGCTCGCTTAAACGC | 231 |
| c65567 | F:GCAGCTCTCGTTACAAGGT; R:GAAGAAGAAGGTGCGGGGAA | 278 |
| c24110 | F:GCGGTTGATGATGGTGATGC; R:CCTTCTCCTCCGCCAACTT | 156 |
| c67656 | F:GACTTGCTGCCCTTCTCC; R:TGAGGAGAGCTTCAGCCTCT | 233 |

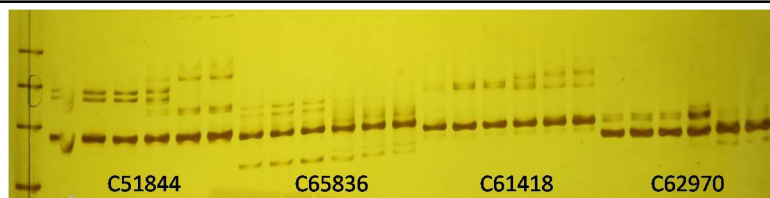


图2 部分多态性 SSR 引物 PCR 产物检测

Fig.2 PCR amplification products of primer C51844,C65836,C61418 and C62970 detected by 8% vertical acrylamide gel

3 讨论

剑麻作为热区重要的经济作物和景天酸代谢的模式物种，有非常重要的经济和理论价值^[13]。然而由于剑麻遗传背景复杂，基因组信息缺乏，使剑麻的遗传改良研究相对滞后。本研究从剑麻 94 681 条 Unigene 序列中搜索到 16 305 个 SSR 位点，分布于 13 267 条 Unigene 序列上，SSR 出现频率为 16.84%，SSR 发生频率为 13.70%，平均距离为 3.85kb。与其它植物相比，剑麻的出现频率与水牛草（14.41%）^[14] 不结球白菜（18.44%）^[15]相当，高于小麦（7.41%）^[16]、甜叶菊（2.26%）^[17]、和红松（7.43%）^[18]，白芷（13.18%）^[19]等，但明显低于芒果^[20]，枇杷（22.02%）^[21]和橡胶树（35.58%）^[22]，不同物种间 SSR 出现频率不同主要与 SSR 搜索时使用的软件工具，重复类型以及最小重复数，长度标准以及分析数据量的大小不同有关^[23,24]。

本研究表明剑麻转录组中单核苷酸 SSR 数量最多（41.58%，表 1），与红松^[18]和太行菊^[25]等植物中报道的相似，与竹子^[26]，老芒麦^[27]、水牛草^[14]，以及水稻^[28]、小麦^[28]等单子叶植物不同。除单核苷酸外，剑麻中二核苷酸 SSR 数量较多（32.22%），二核苷酸优势重复基元为 AG/CT，GA/TC，这与天麻^[29]、小麦^[28]、老芒麦^[27]等大多数单子叶植物相同，Kumpatla^[24]等对 49 种双子叶植物 SSR 分析表明，二核苷酸重复为主导重复类型，其次为三核苷酸重复或单核苷酸重复，重复类型非冗余 EST 序列包含 SSR 数量排名前 20 的 SSR 重复基元进行分析发现，AG/GA/CT/TC 为 20 种双子叶植物样本中的二核苷酸优势重复基元，AAG/AGA/GAA/CTT/TTC/TCT，为三核苷酸优势基元，这与本研究结果相似，Morgante^[28] 和 Varshney^[30]等研究证实植物 eSSR 中，AG/CT 为二核苷酸重复的优势重复基元，这与本研究结果非常吻合，但本研究中 CG 重复比例较低，而 Morgante^[28]等研究显示 AT 重复比例较低。剑麻中三核苷酸比例次于单核苷酸和二核苷酸之后，以 AAG/TTC,CTT/AAG 为优势基元。这与 Morgante^[28]等报道的在水稻、小麦、玉米等单子叶植物中，三核苷酸比例最高，且 CCG 为优势基元结果不同，这种现象在多种植物中均有报道^[24]。Kumpatla^[24]等分析认为，不同物种间以及同一物种内主导核苷酸重复类型以及优势基元不同，主要原因可能为，SSR 分析过程中采用的搜索工具，分析时设置的参数标准以及分析时数据量的大小等，此外，3' UTR 富含三核苷酸和四核苷酸，5' UTR 富含二核苷酸和三核苷酸，EST 序列中 3' UTR 和 5' UTR 的比例对核苷酸重复类型也存在影响。

综上所述，本研究表明利用现有的剑麻 EST-SSR 序列开发 SSR 标记引物是可行且有效的，并且本研究结果是对剑麻 SSR 引物的一个很好补充，利用筛选的 18 对 SSR 引物可以

开展剑麻种质资源鉴定、遗传多样性分析以及亲本鉴定研究，若要开展剑麻遗传图谱构建和比较作图等，还需要筛选更多的 SSR 引物。

参考文献

- [1] Robert M L, Yoong Lim K, Hanson L, *et al.* Wild and agronomically important *Agave* species (Asparagaceae) show proportional increases in chromosome number, genome size, and genetic markers with increasing ploidy[J], *Botanical Journal of the Linnean Society*, 2008, 158: 215-222.
- [2] Gil-Vega K, Chavira G, Octavio Martínez de la Vega, *et al.* Analysis of genetic diversity in *Agave tequilana* var. Azul using RAPD markers[J], *Euphytica*, 2001, 119:335-341.
- [3] Gil-Vega K, Díaz Corina, Nava-Cedillo A, *et al.* AFLP analysis of *Agave tequilana* varieties[J], *Plant Science*, 2006, 170: 904-909.
- [4] Vargas-Ponce O, Zizumbo-Villarreal D, Martínez-Castillo J, *et al.* Diversity and structure of landraces of agave grown for spirits under traditional agriculture: a comparison with wild populations of *A.angustifolia* (agavaceae) and commercial plantations of *A.tequilana*[J], *American Journal of Botany*, 2009, 96(2): 448-457.
- [5] Rodríguez-Garay B, Lomelí-Senci6n J A, Tapia-Campos E, *et al.* Morphological and molecular diversity of *Agave tequilana* Weber var. Azul and *Agave angustifolia* Haw. Var. Line6no[J], *Industrial crops and products*, 2009, 29(1): 220-228.
- [6] Jiangming Gao, Luoping, Chaoming Guo, *et al.* AFLP analysis and zebra disease resistance identification of 40 sisal genotypes in China[J]. *Molecular Biology Reports*, 2012, 39: 6379-6385.
- [7] Trejo L, Limones V, Pe6a G, *et al.* Genetic variation and relationships among agaves related to the production of Tequila and Mezcal in Jalisco[J], *Industrial crops and products*, 2018, 125: 140-149.
- [8] Lindsay D L, Edwards C E, Jung M G, *et al.* Novel microsatellite loci for *Agave parryi* and cross-amplification in *Agave palmeri* (Agavaceae)[J], *American journal of botany*, 2012: e295-e297.
- [9] Bibi A C, Gonias E D, & Doulis A G. Genetic Diversity and Structure Analysis Assessed by SSR Markers in a Large Collection of Vitis Cultivars from the Island of Crete, Greece[J], *Biochemical Genetics*, 2019, doi:10.1007/s10528-019-09943-z.
- [10] Zhao Y, Wang Y, Wang L, *et al.* Molecular identification of mung bean accessions (*Vigna radiate* L.) from Northeast China using capillary electrophoresis with fluorescence-labeled SSR markers[J], *Food Energy Security*, 2019, 00: e182
- [11] Wang Y, Jia H M, Shen Y T, *et al.* Construction of an anchoring SSR marker genetic linkage map and detection of a sex-linked region in two dioecious populations of red bayberry[J], *Horticulture research*, 2020, 7: 53.
- [12] Abdi S, Dwivedi A, Shi S, *et al.* Development of EST-SSR markers in *Cenchrus ciliaris* and their applicability in studying the genetic diversity and cross-species transferability[J], *Journal of Genetics*, 2019, 98: 101.
- [13] Stewart J R. Agave as a model CAM crop system for a warming and drying world[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2015, 6: 684.
- [14] Sazda Abdi, Anuj Dwivedi, Shashi, *et al.* Development of EST-SSR markers in *Cenchrus ciliaris* and their applicability in studying the genetic diversity and cross-species transferability[J], *Journal of Genetics*, 2019, 98: 101.
- [15] 杨丹青, 何晓丽, 杜志杰等, 基于不结球白菜转录组EST-SSR标记开发及多态性分析[J], *农业生物技术学报*, 2020, 28(01): 13-21.
- [16] Peng J H, Lapitan Nora L. V. Characterization of EST-derived microsatellites in the wheat genome and development of eSSR markers[J], *Funct Integr Genomics*, 2005, 5: 80-96.
- [17] Cosson, Patrick, Hastoy Cécile, Errazzu L E, *et al.* Genetic diversity and population structure of the sweet leaf

- herb, *Stevia rebaudiana* B., cultivated and landraces germplasm assessed by EST-SSRs genotyping and steviol glycosides phenotyping[J], BMC Plant Biology, 2019, 19: 436.
- [18] Li Xiang, Liu Xiaoting, Wei Jiatong, *et al.* Development and transferability of EST-SSR markers for *pinus koraiensis* from cold-stressed transcriptome through Illumina sequencing[J], Gene, 2020, 11, 500.
- [19] Liu Qianqian, Lu Zuyu, He Wei, *et al.* Development and characterization of 16 novel microsatellite markers by transcriptome sequencing for *Angelica dahurica* and test for cross-species amplification[J]. BMC Plant Biology, 2020, 20: 152
- [20] 罗纯, 武红霞, 姚全胜等, 芒果转录组中 SSR 位点信息分析与引物筛选[J], 热带作物学报, 2015, 36(7): 1261-1266.
- [21] Li X Y, Xu H X, Feng J J, *et al.* Development and application of genic simple sequence repeat markers from the transcriptome of loquat[J], Journal of the American Society for Horticultural Science, 2014, 139(5): 507-517.
- [22] Mantello C C, Cardoso-Silva C B, da Silva C C, *et al.* De Novo assembly and transcriptome analysis of the rubber tree (*Hevea brasiliensis*) and SNP markers development for rubber biosynthesis pathways[J], PLoS ONE, 2014, 9: e102 665.
- [23] Varshney R K, Graner A, Sorrells M E. Genic microsatellite markers in plants: features and applications[J], Trends in Biotechnology, 2005, 23(1): 48-55.
- [24] Kumpatla S, Mukhopadhyay S. Mining and survey of simple sequence repeats in expressed sequence tags of dicotyledonous species[J], Genome, 2005, 48(6): 985-998.
- [25] Chai M, Ye H, Wang Z, *et al.* Genetic divergence and relationship among *opisthopappus* species identified by development of EST-SSR markers[J], Frontiers in Genetics, 2020, 11: 177. doi:10.3389/fgene. 2020.00177.
- [26] Abhishek B, Vikas S, Pradeep S, *et al.* Discovery and utilization of EST-SSR marker resource for genetic diversity and population structure analyses of a subtropical bamboo, *Dendrocalamus hamiltonii*[J], Biochemical Genetics, 2019, <https://doi.org/10.1007/s10528-019-09914-4>.
- [27] Zhang Zongyu, Xie Wengang, Zhao Yongqiang, *et al.* EST-SSR marker development based on RNA-sequencing of *E.sibiricus* and its application for phylogenetic relationships analysis of seventeen *Elymus* species[J], BMC Plant Biology, 2019, 19: 235.
- [28] Morgante M, Hanafey M, and Powell, W. Microsatellites are preferentially associated with nonrepetitive DNA in plant genomes[J], Nature. Genetics, 2002, 30: 194-200.
- [29] Wang Yunsheng, Shahid M Q, Ghouri F, *et al.* Development of EST-based SSR and SNP markers in *Gastrodia elata* (herbal medicine) by sequencing, de novo assembly and annotation of the transcriptome[J], Biotech, 2019, 9: 292.
- [30] Varshney R K, Thiel T, Stein N, *et al.* In silico analysis on frequency and distribution of microsatellites in ESTs of some cereal species[J], Cellular & Molecular Biology Letters, 2002, 7: 537-546.

剑麻“3414”肥料效应试验研究

习金根, 谭施北, 郑金龙, 陈河龙, 吴伟怀, 梁艳琼,
黄兴, 陆英, 李锐, 贺春萍, 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: 为获得剑麻最佳施肥量, 提高肥料利用率, 开展了剑麻施肥 3414 田间试验, 结果表明, 不同的施肥量对剑麻产量的影响很大, 缺肥或少肥都会影响剑麻产量, 与对照相比各施肥处理的剑麻产量均有提高。施肥处理剑麻叶片长度、叶片宽度有所增加, 但增幅不大, 各施肥处理间变化不明显, 而叶片厚度有所减小。增施氮肥叶片长度有所增加, 叶片宽度变化不明显, 而叶片厚度有所下降。增施磷肥叶片长度、叶片宽度变化不明显, 而叶片厚度有所增加。增施钾肥叶片长度、叶片宽度、叶片厚度变化不明显。在 P2K2 施肥水平条件下, 施氮量在 N2 水平时叶片长度最大。而在 N2K2、N2P2 施肥水平条件下, 叶片长度在施磷量、施钾量为 P2、K1 施肥水平时达到最大。总体上在 N2P2 水平下, 叶片生物学形态表现较好。各施肥处理剑麻单叶鲜重和鲜叶产量都大于不施肥处理。处理 N2P2K1 单叶鲜重和鲜叶产量都最大。通过建立一元二次回归方程分析, 得到尿素、过磷酸钙、氯化钾的最佳施用量, 分别为 328.5 kg/hm²、500.6 kg/hm²、211.6 kg/hm²。
关键词: 剑麻, 3414, 肥效

资助项目: 国家重点研发计划资助 (No. 2018YFD0201100); 国家麻类产业技术体系建设专项资金资助 (No. 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。通讯作者: 易克贤, E-mail: yikexian@21cn.com。

剑麻麻茎还田及配施不同水平钾肥对土壤肥力和剑麻生长的影响

谭施北, 习金根, 陈河龙, 黄兴, 郑金龙, 贺春萍, 吴伟怀,

梁艳琼, 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 为合理利用剑麻麻茎作有机肥还田,采用盆栽试验研究了新鲜麻茎单独还田及配施不同用量钾肥(K1、K2、K3)对土壤理化性质和剑麻生长的影响。结果表明,单独添加麻茎处理土壤 pH 显著提高,与不施钾对照相比增幅达 3.3%。而麻茎配施氯化钾处理土壤 pH 提高效果更明显。其中,麻茎配施全量钾肥处理土壤 pH 比对照提高了 7.9%。添加麻茎处理土壤有机质、碱解氮和速效钾含量也显著提高。其中,单独添加麻茎处理与单独施用氯化钾、不施钾对照相比,有机质含量分别比提高了 218.2%、162.5%,碱解氮含量分别增加了 32.1%、56.7%,而速效钾含量比不施钾对照提高了 33.5%。添加麻茎配施 1/2 氯化钾处理土壤全磷含量也显著高于单独施用氯化钾处理,增幅高达 80.0%。单独添加麻茎处理土壤过氧化氢酶活性、脲酶活性、土壤转化酶活性也显著提高,与不施钾对照(K0)相比分别提高了 11.5%、100.0%、494.2%。添加麻茎能明显提高剑麻叶片全钾含量,单加麻茎处理比对照提高了 61.1%。单独添加麻茎处理(St)或单独施用低水平钾肥处理(K1)剑麻地上部鲜重均显著低于不施钾对照(K0),而麻茎配施不同钾水平处理剑麻地上部鲜重则与对照差异不显著。可见,麻茎还田具有一定的酸性土壤改良效果以及土壤培肥效果,建议生产中积极进行麻茎还田,但新鲜麻茎还田初期宜与化学钾肥配合施用。

关键词 剑麻; 麻茎还田; 钾肥; 土壤肥力; 生长

Effects of Sisal Stalks Returning Field and Combing with Potash Fertilizer Application on the Soil Fertility and Sisal Growth

TAN Shibei, XI Jingen, CHEN Helong, HUANG Xing, ZHENG Jinlong, HE Chunping, WU Weihuai, LIANG

Yanqiong, LI Rui, YI Kexian*

Environment and Plant Protection Institute, CATAS

Danzhou Scientific Observing and Experimental Station of Agro-Environment, Ministry of Agriculture

Haikou, Hainan, China 571101

Abstract: In order to utilize sisal stalks rationally as organic fertilizer by returning field, pot experiment was conducted to study the effects of fresh sisal stalks alone returning to the field and applying with different amounts of potash fertilizer (K1, K2, K3) on soil physical and chemical properties and sisal growth. The results showed that the pH value of soil treated with sisal stalks alone increased significantly, by 3.3% compared with that without potassium treatment. The effect of potassium chloride on soil pH was more obvious. Among them, the pH value of the soil treated with total potassium fertilizer was 7.9% higher than that of the control group. The contents of soil organic matter, alkali-hydrolyzable nitrogen and available potassium were also significantly increased. Compared with potassium chloride and potassium free treatment, the organic matter content increased by 218.2% and 162.5%,

the alkali-hydrolyzed nitrogen content increased by 32.1% and 56.7%, and the available potassium content increased by 33.5%, respectively. The total phosphorus content in the soil treated with sisal stalks and 1/2 potassium chloride was also significantly higher than that treated with potassium chloride alone, with an increase of up to 80.0%. The catalase activity, urease activity and soil invertase activity of the soil treated with sisal stalks applying alone were also significantly increased, respectively by 11.5%, 100.0% and 494.2% compared with those treated without potassium (K0). The total potassium content of sisal leaves was significantly increased by the addition of sisal stalks and the total potassium content of sisal leaves increased by 61.1% compared with the control. The above ground fresh weight of sisal treated with stem alone (St) or low level potassium fertilizer alone (K1) was significantly lower than that of control without potassium (K0), while the fresh weight of sisal treated with stem combined with different potassium levels was not significantly different from that of control. In conclusion, the return of sisal stalks to the field has certain acid soil improvement effect and soil fertility effect. It is suggested that the return of sisal stalks to the field should be carried out actively in the production, but the application of fresh sisal stalks to the field in the early stage should be combined with chemical potash fertilizer.

Keywords : Sisal; Sisal stalks returned to the field; K; Soil fertility; Growth

资助项目 国家重点研发计划资助 (No. 2018YFD0201106); 国家麻类产业技术体系建设专项资金资助 (No. CARS-19)
作者简介第一作者: 谭施北 (1988-), 男, 研究方向: 从事热带作物栽培研究, E-mail: tanshibei915@163.com;
通讯作者: 易克贤, E-mail: yikexian@126.com。

广东剑麻农业机械化历程及发展建议³¹

黄标¹, 赖荣光^{1*}, 黄香武², 文尚华², 黎陞成¹, 赵家流¹, 戚强¹, 余龙¹, 黄秋源¹

1. 湛江农垦东方红农场, 广东雷州 524251; 2. 广东省湛江农垦局, 广东湛江 524200

摘要: 本文总结了广东省剑麻农业机械化发展历程及现状, 提出并分析了存在的问题, 根据剑麻园艺性状特点, 建议剑麻叶片采收设备的研制要充分考虑实用性, 应用机械化和智能化新技术, 重点解决保证产量和割收工效问题。

关键词: 剑麻; 农业机械化; 历程; 发展建议

剑麻是我国热带地区重要出口创汇产品, 是我国热区特色产业和优势产业, 产品开发潜力大, 全身是宝。剑麻纤维及制品与副产品经济价值大, 用途广, 是国防、工业、森林和渔业等部门的重要物资^[1]。

随着我国加入 WTO 后, 国际国内形势对剑麻产业形成巨大的压力, 剑麻的市场竞争日益激烈, 尤其国内西部大开发, 剑麻的种植、管理、收获属劳动强度大的工种, 致劳力缺乏, 迫切需要发展机械化作业, 达到省力、减轻劳动强度、提高效率, 解放生产力, 促进规模化生产, 是我国剑麻产业持续发展的根本出路。

国内最适宜机械化耕作的麻区属广东麻区, 尤其是湛江徐闻、雷州麻区, 其土地平坦, 土壤为玄武岩铁质砖红壤, 土层深厚。通过几十年的努力, 该地区开发应用了一系列的配套机械, 剑麻的经营规模得到了大幅度提高, 且产量不断提升^[2~4], 但剑麻叶片机械化收割难题仍未攻克, 严重制约了剑麻产业的发展^[5]。本文回顾了广东省剑麻机械化耕作发展历程, 印证了机械化对剑麻产业发展的重要性。

1 剑麻农业机械化历程

1.1 初期 (1954 年~1996 年)

此阶段是极其漫长和落后的阶段。剑麻种植管理中, 机械化耕作水平仅应用到耕地、耙地、剑麻大行中耕、开施肥沟 (双沟、单沟), 并研制应用麻头粉碎及淘汰田深松机械, 应用手扶拖拉机及小型四轮农用车进入麻园运输剑麻叶片, 职工人均经营剑麻的岗位 (包括种植、管理、收割叶片等) 面积为 20 亩。

此外, 90 年代初期东方红农场与沈阳飞机制造厂合作研制剑麻叶片收割机械, 未能成功。

1.2 中期 (1997 年~2015 年)

该时期在初期剑麻种植管理机械化耕作发展程度的基础上, 有了较大提升, 主要增加: 研制应用了撒施石灰、麻园大行旋耕松土, 麻园施肥后的覆土及剑麻种植的起畦等机械。应用中大型四轮农用车进入麻园运输剑麻叶片。此外, 麻头粉碎机改进后更简便高效。剑麻耕作机械化程度达 13 项指标 (种植方面: 种植、施基肥、起畦等; 管理方面: 追肥、覆土、防虫、除草、割叶等; 剑麻淘汰方面: 麻头粉碎等。共 13 项作业指标。) 的 38.46% (具体为: 种植方面实现起畦、撒施土壤改良剂; 管理方面实现撒施土壤改良剂、施肥后的覆土; 剑麻淘汰方面实现麻头粉碎回田等。共 5 种机械。), 职工人均经营剑麻的岗位面积达到 40 亩, 比初期提高 1 倍。该时期以撒施石灰机、起畦机械及麻园施肥后的覆土机械成效突出。

1.2.1 撒施石灰机

资助项目 现代农业产业技术体系建设专项 (CARS-16)。

作者简介 黄标(1960—), 男, 研究员; 研究方向: 主要从事剑麻栽培、农机耕作研究, E-mail: dfhnk496@163.com。通讯作者(Corresponding author): 赖荣光, E-mail: hhrongguang@126.com。

该机为牵引式机,由配套机(50 匹马力轮式拖拉机)带动,该机配置有肥箱(装载 3000kg)、肥箱内配置搅龙,此外该机还配置有变速箱、撒灰转盘等。该机由配套机动力输出轴输出动力到石灰机的变速箱,带动搅龙转动,将石灰传送到转盘撒出。该机每班工效达 150~200 亩,该机撒施石灰均匀、质量好,为中和土壤酸性、补充植株钙含量发挥了重要的作用,提高了剑麻的抗性、产量及效益。

1.2.2 起畦机械

一是包揽式起畦机械,由 802 履带式拖拉机带动;二是拨土式起畦机械,由 120 匹马力的轮式拖拉机带动。上述两种起畦机械挂接方式均为后悬挂式连接,并均为折叠式机械,每班工效达 100 亩左右,比人工作业提高工效约 150 倍,极大减轻劳动强度,降低作业成本。

1.2.3 覆土机械

麻园大行施肥后的覆土机械,其悬挂在轮式拖拉机后,每班作业 200 亩以上,比传统人工作业提高工效 80 倍以上,且质量好,并降低了作业成本。

1.3 飞跃期(2016 年至今)

该时期在初期、中期的剑麻种植管理机械化耕作发展程度的基础上,有了新的飞跃。主要是迫于国内西部大开发,劳动力愈发紧缺及工价等成本不断增加,剑麻企业的经营压力越来越大,由此迎来了新的挑战,迫使剑麻机械化耕作进入新一轮的改革创新,加深认识到剑麻种植管理要走出困境的关键在于提高机械化程度。通过各方的努力,已研发应用麻园施放精制有机肥、施放麻渣、深松、深松兼开沟(双沟、单沟)施肥覆土一体化多功能、喷药杀虫及化除杂草、粉碎麻园杂草及绿肥回田、麻园大行旋耕松土等机械,剑麻育苗地施基肥兼起畦一体化多功能机械。此外,还开发了新型剑麻种植的起畦机械。机械化耕作程度达 76.92%,促进了生产效率及规模化生产大幅度提高,生产成本也明显下降,职工经营剑麻的岗位规模比初期的人均 20 亩提高了 2~3 倍,达到人均 60~80 亩,种植大户达 100 亩以上。此阶段成效较为突出的有麻园机械化喷药杀虫、深松开沟兼施肥覆土一体化多功能机械,育苗地施放基肥及起畦一体化多功能机械、施放麻渣机械(种植基肥、麻田管理均适用)。

1.3.1 麻园喷药杀虫机械

该机为牵引式喷药杀虫机械,其药液装载量 1000kg,该机由配套机(50 匹马力的轮式拖拉机)带动,并由配套机动力输出轴输出动力给喷药机。该机设置有升降喷杆装置,即可调节喷药高度,每边喷杆对着单行麻位置设置圆型喷药架,并分 4 等分,每等分各安装 1 喷头,即每边喷杆连接的圆形喷药架安装 4 个喷头,两边共 8 个喷头,喷药压力大,雾化效果好,且没有死角,防虫效果达 95%以上,比飞防的 70%防效高 25 个百分点,并解决了人工喷中老龄麻(植株较高)农药易飞扬致人员中毒等问题。该喷药机械每班作业 80~100 亩,比人工喷药提高工效 20 倍以上,且每亩降低作业成本 10~14 元。该机械可迅速大规模控制剑麻粉蚧虫蔓延为害,使损失减少到最低水平。

1.3.2 深松开沟兼施肥覆土一体化多功能机械

该机械悬挂在配套机(80 匹马力的轮式拖拉机)后,并由配套机动力输出轴输出动力给多功能施肥机,该机配置有肥箱(装载 1000~1100kg 肥料)、犁架及松土开沟覆土装置,还配置有肥料施用量调节器。该机每班作业工效 85 亩左右,比人工作业提高工效约 161 倍,亩节约成本 160 元。此外,改变传统大耕大耙(中耕、开大沟)的做法,避免水土流失严重及不利培肥地力等弊端。

1.3.3 育苗地施放基肥及起畦一体化多功能机械

该机械悬挂在配套机(80 匹马力的轮式拖拉机)后,并由配套机动力输出轴输出动力给该多功能机械,该机配置有肥箱(装载 800~1000kg 肥)、机架及起畦装置。该机每班作业工效 80 亩左右,比传统人工作业提高工效约 79 倍,亩降低作业成本约 75 元。且保证起畦质量(畦面成龟背型),保障排水顺畅,减少剑麻斑马纹病为害。

1.3.4 施麻渣（剑麻加工下脚料）机械

因麻渣混有较多的乱纤维，机械施放有较大困难，致几十年来没有很好研制。而人工施放劳动强度大、成本高等，致近 10 年来没有实施麻渣回田（作肥料），使剑麻种植及追肥施用的有机肥不足，不利培肥地力及促进剑麻增产增效。为此，广东省东方剑麻集团于 2019 年组织攻关，经过研制、调试、改进获得成功，2020 年应用推广，成效突出。

该施麻渣机械挂接方式为牵引式，由配套机（120 匹马力或最低 90 匹马力的轮式拖拉机）带动，由其动力输出轴输出动力给该施麻渣机械，该机配置有肥箱（装载量 3 吨），肥料（麻渣）由输送带输出，出口处配置旋刀以旋松麻渣及旋斩断乱纤维装置，每台机每班作业 25~30 亩，比人工作业提高工效 7~8 倍，该机械解决了麻渣回田难的问题。

2 剑麻农业机械化现状

2.1 种植方面

实现机械化施放基肥及机械化起畦。

2.2 管理方面

实现机械化喷药除麻园杂草及机械化喷药防治剑麻粉蚧虫、机械化粉碎杂草及豆科绿肥回田、机械化施麻渣、机械化深松麻园（松土增强土壤透气性，促进根系发达及保水，改变传统大耕大耙水土流失严重等弊端）、机械化边深松开沟边施肥（有机无机混配的专用配方肥等）覆土、机械化撒施石灰等土壤改良剂。

2.3 淘汰田麻头处理

实现机械化粉碎麻头回田，省时省力，减轻劳动强度及降低作业成本。

3 存在的问题

3.1 剑麻叶片收割机械及配套运输装备的难题尚未攻克，严重制约剑麻产业的发展。近年来，已有多家院校院所的专家与团队着手研制手抓式、挂背式的电动割麻刀或机、机械化的割麻机，均未能达到预期效果，致未能投入应用。

3.2 目前市场大马力的拖拉机均是大机身，使麻园耕作损伤叶片严重，致减产及纤维降质，另外，入麻园运输剑麻叶片也应用较大型农用四轮车，该车同样对剑麻叶片造成较大损伤，迫使近年来不断扩大麻园大行的宽度，如东方红农场剑麻大行宽度由剑麻鼎盛时期（单产最高）的 3.5~3.8m，扩大到 4m，亩种植株数（群体）由 281~296 株下降到 270 株，致难以保障高产、稳产。

4 发展建议

4.1 要解决麻园大行过宽，裸露面积偏多，水土流失严重的问题；要保证有一定的有效生产株数（群体），否则不利于高产稳产，且浪费土地资源。要积极开发应用大马力小型机身的轮式拖拉机，方便进入麻园耕作，减少机械伤麻，降低作业限制，确保产品质量。

4.2 根据剑麻生长园艺特性，要创新思维，改革耕作制度，联合专业研发机构对剑麻叶片收获机械及配套装备进行攻关，可以根据叶片采割工艺，分步骤分解研制设备，逐级破解难题，实现机械化与智能化相结合，研制实用型剑麻叶片采收系列设备。

此外，要争取多方支持，保障研发应用资金的投入及引进激励机制。

参考文献

[1]李道和,谢恩高,范运权,梁庆棠.剑麻[M].广东:广东科技出版社,1981:2.

[2]黄标,黄辉,傅清华,李朝荣,梁明. 剑麻生产专用机械的研制与应用[A]. 中国热带作物学会.热带作物产业建设规划研讨会——其他热带经济作物产业发展论文集[C].中国热带作物学会:中国热带作物学会,2006,4:573-578.

[3]黄标,肖桂泉,梁明,杨荣,陆家荣,戚强.2H-1.8T 型石灰撒灰机研制与应用推广[J].安徽农业科学,2015,43(35):361-363.

[4]黄标,杨荣,戚强,陈超平,李江平,赵家流.剑麻园深松施肥覆土系列机械的研制与应用推广[J].农业机械,2017(07):91-94.

[5]吕江南,龙超海,马兰,刘佳杰.我国麻类作物机械化作业技术装备发展现状与建议[J].中国麻业科学,2013,35(06):307-312+328.

剑麻纤维基锂离子电池负极材料的制备 及其电化学性能研究*

郑爽, 罗媛, 覃爱苗*

桂林理工大学材料科学与工程学院, 有色金属及材料加工新技术教育部重点实验室,
广西 桂林 541004

摘要: 生物质是储量丰富的可再生资源, 是制备锂离子电池负极材料的一种理想炭原料, 可替代不可再生的商业石墨炭。本文以剑麻纤维为原料, 通过水热法结合碳化法制备了水热活化剑麻炭(HSFC)、N, S 共掺杂剑麻炭 (N, S-SFC)、N, S/P 共掺杂二维剑麻炭(N, S/P -2D - SFAC)等多孔剑麻纤维炭材料, 通过 XRD、SEM、TEM、XPS 及拉曼光谱仪对产物的结构和形态进行表征, 获得最佳的制备工艺。在最佳工艺下对各种改性后的多孔剑麻纤维炭进行电化学性能探究, 结果表明, 剑麻纤维炭通过水热活化、掺杂、形成二维结构及复合改性后, 其比容量、循环性能及倍率性能等电化学性能明显优于直接热解碳化得到的剑麻纤维炭, 也优于商用的石墨炭。说明水热活化、N, S/P 共掺杂、形成二维类石墨烯结构及纳米复合是提高剑麻纤维炭的电化学性能的有效途径。高性能的剑麻纤维炭及越来越多的生物质炭材料有望应用于锂离子电池等储能领域。

关键词: 剑麻纤维; 多孔炭; 负极材料; 电化学性能; 改性

*基金项目: 国家自然科学基金 (51564009), 广西自然科学基金(2018JJA160029, 2015GXNSFDA139035)

通讯作者: 覃爱苗

作者简介: 覃爱苗(1974-), 女, 广西贵港人, 博士, 教授, 从事生物质炭材料的研究。

联系方式: Email: 2005032@glut.edu.cn, Tel: 1897381536

东方剑麻集团产业技改与展望

岑业忠，林胜，廖积刚，汪生林，张光辉^①
广东省东方剑麻集团有限公司，524022

摘要：剑麻是我国热带特色优势绿色循环产业，也是湛江农垦的支柱产业。本文立足剑麻产业发展形势和东方剑麻集团实际，分析集团产业存在问题，提出产业技改新思路，助推剑麻产业发展。

剑麻又称西沙尔麻，是龙舌兰麻类的一种，属龙舌兰科龙舌兰属，原产于墨西哥。中国因国防和国民经济的需要，广东农垦于上世纪五十年代末、六十年代初从建立全国剑麻样板场（东方红农场）开始，已有60多年的发展历史，目前推广种植H·11648（即俗称“东1号”剑麻）；目前剑麻是湛江农垦的支柱产业，也是热带作物机械化耕作程度最高的特色优势产业，产品可开发性强，潜力大，全身是宝，是我国热带地区重要的出口创汇产品。湛江垦区陆续取得了包括“剑麻快速繁殖法”、“H·11648麻引进试种、技术改造和示范推广”、“剑麻高产栽培措施研究”和“剑麻地毯及装饰用品开发”等18项省部级以上科研成果奖（其中有4项为国家科技奖），剑麻种植水平创下当时全世界叶片及纤维单产最高纪录。

根据剑麻产业发展，1997年成立广东省东方剑麻集团有限公司（以下简称“集团”），目前是一家以剑麻生产为主体，农、工、贸一体化，产、供、销一条龙综合经营的国有大型企业。集团现有剑麻种植基地12500亩，辐射各农场规模种植40000余亩，专业剑麻加工厂18座。加工产品有白棕绳、剑麻纱、剑麻地毯、剑麻抛光布、工艺品、墙纸和化工品等，2000年度被广东省人民政府确认为“广东省农业龙头企业”。2002年获“农业部亚热带作物名优基地”，2006年获得“湛江剑麻纤维地理标志保护产品”，“太阳”牌剑麻地毯、剑麻纤维、剑麻白棕绳、剑麻细纱等产品在连续五届中国（国际）农业博览会上获金奖或名牌奖。

（一）农业基地建设情况

依据2018年中央“一号文件”和广东省印发的《2018年全省现代农业产业园建设工作方案》，将建设现代农业产业园作为优化产品产业结构，实现农业提质增效的重要手段，提出以规模化种养基地为基础，依托农业产业化龙头企业带动，聚集现代农业生产要素，建设“生产+加工+科技”的现代农业产业园现代农业布局思路。依据湛江农垦，剑麻集团抓住机遇，迎难而上，积极组织申报，因剑麻产业特色鲜明、要素高度聚集、设施装备先进、生产方式绿色、一二三产业融合等条件，2018年获批广东农垦湛江垦区剑麻产业园（省级），2019年升级为广东农垦湛江农垦（雷州半岛）现代农业产业园（国家级）；要求今后着重围绕打造高起点、高标准的生产基地，培育农业发展新动能、打造农业建设样板区和乡村产业兴旺引领区，推进的现代农业产业园建设体系，为农业农村现代化建设和乡村振兴提供有力支撑。

通过项目建设，在湛江垦区东方红农场12个连队、幸福农场10个连队和金星农场15个连队累计流转剑麻种植土地12500余亩，每年缴交土地使用费1000万元；项目建设完成后，预计平均年产剑麻叶片70000吨，年产纤维2700吨，年经济收入3000万元以上；新增就业岗位300余个。在产业园项目建设过程中，剑麻集团采用了“机械化+职业团队”的种管模式，克服时间紧、任务重、请工贵等问题，改良了剑麻大田种植起畦农机具，研发了剑麻麻渣粉碎回田装置，大大提高了用工效率，解决了麻渣回田综合利用难题，按期完成了项目建设任务。主要采用以下几个方面做法：

一是在剑麻种植方面，因地制宜大力推进剑麻机械化生产，为了全方面的机械化推广，改良传统“飞机犁”起高畦开大沟的种植模式，推行剑麻株行距种植4米*1米*1米规格（每

亩种植 266 株), 从而提高生产效率, 有利于今后剑麻田管、采收等机械化进场安全作业, 有效减少后期麻田管理成本投入。

二是在剑麻田管方面, 全面推行“职业团队”经管模式, 剑麻集团先后组建了“除草队伍”、“施肥、防病队伍”和“割麻队伍”, 不断提高劳动生产率, 引领剑麻产业向高效、绿色发展。

三是在剑麻综合利用方面, 剑麻新鲜麻渣的回田, 为了解决回田中短乱纤维造成堵塞问题, 公司先后投入研发了剑麻渣乱纤维粉碎施放一体车, 能够与一定量生物肥开沟混施, 扩大有机肥应用范围, 促进产业园生态循环、健康持续发展。

(二) 工业制品加工情况

坚持以市场为导向, 抓好产品升级, 进一步加快制品资源整合力度, 通过强化管理, 按一厂一策, 采取定员、定成本, 联产计酬, 多劳多得、以效取酬, 提高产品市场竞争力及产品附加值。

1、推进产品升级, 实现由低端产品逐步向中高端产品的生产突破, 参与高端剑麻制品市场的竞争, 重点推出高端剑麻制品。

——合理优化产品结构, 坚持以销定产, 根据客户需要进行排单生产。同时重点开发和生产适销对路的新产品, 减少传统低端制品的生产, 走差异化发展路线, 做到扬长避短, 避免价格竞争。主要加大了漂白绳、染色纤维、宠物绳等产品的生产力度, 取得了较好的效果。宠物绳比同等批次产品毛利增加 8%, 销售收入占据公司制品收入近 50%。

——降低原料成本, 利用巴西 3DB 纤维代替国内生产同等次的合格品纤维, 生产漂白与染色制品, 大幅节约成本。据统计, 自产烘干纤维 12500 元/吨, 进口纤维 9700 元/吨, 成本每吨可节 2800 元/吨。

2、更新工业设备, 优化工艺, 提升制品生产水平及生产效率。

——剑麻纤维加工部分, 目的是符合社会发展的需要, 绿色发展, 减少废弃物的排放和环境污染。主要包括两个方面, 一是升级改造剑麻湿纤维烘干设备配套加热负载装置, 原料由烧煤改为液化天然气; 二是纤维洗涤后渣水的分离回收处理装置。

——淘汰落后产能, 升级机器设备, 解放人力资源。通过对原有加工厂设备升级、工艺更新, 加强纤维加工能力, 并提升剑麻等综合利用水平, 发展生物制药和菠萝纤维加工, 延长产业链, 增加附加值, 带动产业园区发展升级。对原场区的加工废弃物处理设备设施进行改造, 有效提高农副资源利用率。

3、推进制品资源整合, 加快推进集团公司剑麻制品精、深加工项目生产线筹建, 力争下半年投产。

——建设万吨剑麻制品加工项目, 整合园区内剑麻加工产能, 引导加工企业采用新技术、更新工艺设备、延伸加工链、设计新产品、开拓新市场。购置项目建设用地, 实施三通一平及建设加工厂房, 配套污水处理管网及机器设备等。以合作控股方式, 整合剑麻制品加工业。

——引进广东、广西、浙江及江苏等地剑麻制品公司共同投资, 于雷州半岛建设万吨剑麻制品工业园, 建设高端制品生产线 8 条以上。

(三) 当前存在问题及措施

1. 投资回收期长。剑麻属长期作物, 生长周期约为 12 年, 前三年为生长期, 直至第四年才能开展叶片收割, 导致剑麻种植前期投资大, 成本回收周期长。近些年, 湛江农垦出台产业扶持政策, 对种植户实施种管费免息借款, 引进粤垦小贷公司为种植户提供贴息贷款等。

2. 病虫害影响大。剑麻受致病生物及不良天气等影响, 容易引发真菌及生理性病虫害, 例如斑马纹病、粉蚧、叶斑病、炭疽病等。经过多年的摸索与研究, 以上病虫害通过培育健康种苗, 加强麻田管理及研究特效农药等方式已实现可防可控。

3. 加工设施陈旧。剑麻加工设施设备陈旧, 多采用传统工艺技术, 生产过程自动化、生

产环境清洁化、节能降耗等方面的现代化水平亟待提高。

4. 产品开发深度不够。产业园加工基地对剑麻的加工多停留在剑麻纤维初步阶段，对剑麻的精深加工及产品的开发深度不够，产品种类较少，市场占有率较低。

5. 剑麻种苗抗病性问题。研发团队人员的建设不够合理，应科学选育剑麻种苗，采取剑麻种植轮作计划，多施生物有机肥。

（四）今后展望

剑麻属国家政策扶持的特色绿色产业，其生物质能源的独特性，在特定时空中具有一定的不可替代性，使其在国民经济中具有一定的地位和作用，在国防保障和国家经济安全中具有一定的战略意义。从剑麻的长远发展来看，产业的转型升级发展是必需的。

——实施订单农业 在产业园内开展龙头企业、新型经营主体、专用种植基地一体化经营，与农户建立以订单农业为核心，以供应链融资、社会化服务为特征的稳定契约关系。龙头企业提供种苗、技术、培训等服务，带动周边农户种植剑麻，与农户签订“保底价+联动价”的收购合同。剑麻叶片达到企业标准的按市场价收购(根据纤维市场价核定该收购价)，因不可抗力因素导致剑麻未达标的，按保底价收购。引导农产品加工企业向前端延伸，带动农户建设生产基地，向后端延伸建设物流营销和服务网络，整合农业生产经营产业链，将农业生产的产前、产中和产后环节纳入企业经营的内部价值链，降低农户生产经营风险，持续提升农民收入水平。

——探索折股量化 探索实施财政投入股权化试点项目。将财政补助给产业园的财政奖补资金划出一定比例以股份形式入股园区剑麻加工企业、生产基地等，并将该股份无偿分配给园区剑麻种植户，实现职工、农户、企业和产业的共同发展。通过财政补助资金股权化改革，提高财政资金使用效益，构建紧密的农企利益联结机制，推动集体资源变股权、农户变股东、财政资金变股金，实现农户持续增收、企业发展壮大的多方共赢局面。

——建设共享工厂 由农户或农村合作社种植剑麻，产业园提供技术支持；纤维厂提供有偿加工与物流运输，按剑麻加工量收取加工费，量大从优；再由纤维厂牵头，将剑麻粗制品售卖给精深加工企业。这种流水线式资源共享，形成产加销一体化，创新加工厂共享模式，农户可以委托加工厂对剑麻叶片代加工，直接分享产业二产红利。

——夯实金融扶持 为降低剑麻种植户的投资压力，撬动社会金融资本，鼓励龙头企业为剑麻种植户签订订单农业合同，为种植户提供生产资料免息借款；引进粤垦小贷公司，利用产业园财政奖补资金为剑麻种植户提供贴息贷款。

——创新保险机制 加大农业保险的覆盖面和保险额度，创新保险机制，加强保险服务，提高农业保险保障水平。探索有利于剑麻产业可持续发展的保险服务机制，确保种植户的持续稳定增收。

——加大技术研发合作和品牌建设。主要包括剑麻收割机研发、剑麻农业技术与试验、纤维加工设备技术改造、剑麻纤维加工技术与新产品开发及品牌建设等。

①通讯作者简介 张光辉(1982—)，男，热作工程师；研究方向：剑麻种植、生产标准化及纤维质量技术研究。E-mail: zhgh301@163.com。

杂元素掺杂生物质炭在储能电极中的应用

郑爽¹, 廖东亮², 覃爱苗^{1*}

(¹有色金属及材料加工新技术教育部重点实验室, 桂林理工大学材料科学与工程学院, 桂林, 541004; ²西北农林科技大学, 资源环境学院, 咸阳, 712100)

摘要: 近些年, 由于制备工艺的不断优化, 生物质炭材料作为储能器件(锂离子电池、超级电容器、锂硫电池等)的电极材料得到了快速发展。与此同时, 由于存在首次库伦效率低, 不可逆容量大, 电压滞后, 大电流充放电能力弱等问题, 大大阻碍了生物质炭材料作为电极材料的发展。而通过杂元素掺杂生物质炭(尤其是杂原子掺杂), 可以有效地提高炭材料的润湿性和电子传导性, 增加炭材料的缺陷以及活性位点, 使其具有优异的电化学性能。本文归纳了杂元素掺杂生物质炭的研究进展, 分别对其制备方法、在锂离子电池、超级电容器和锂硫电池等能源领域中的应用及前景等进行介绍。

关键词: 生物质炭, 杂元素掺杂, 锂离子电池, 超级电容器, 锂硫电池

中图分类号: TB3

前言

生物质是指利用大气、水、土壤等通过光合作用而产生的有机物质, 包括动植物、微生物及生物的排泄物。生物质是地球上最丰富的碳源。生物质种类繁多, 其组成成分多种多样, 其主要化学组成成分有纤维素、半纤维素、木质素、淀粉、蛋白质及少量组分等^[1]。生物质炭材料一般是把生物质材料在惰性气体保护的氛围下进行热解炭化(通常 1200 °C 以下)而得到, 如从椰子壳^[2]、稻壳^[3]、蜂蜜^[4]、银杏叶^[5]等物质中可获得生物质炭。不同的生物质可以得到形貌不同的生物质炭, 如碳纳米片^[6]、碳纳米球^[7-8]、碳纳米管^[9-10]等。生物质炭材料具有丰富的孔隙结构、较大的比表面积和优良的导电性优点, 已广泛应用于便携式电子设备^[11], 但作为电极材料存在首次库伦效率低、首次不可逆容量高、电压滞后、大电流充放电能力弱等缺点。研究表明通过改性的方法可以改善其性能, 其中杂元素掺杂是改性中最常用的方法, 杂元素掺杂改性就是在炭材料表面引入一些杂元素官能团, 改善材料的润湿性, 有利于电解液离子在炭材料内部进行充分传输, 提高炭材料的比表面积利用率, 同时杂元素官能团可以发生氧化还原反应产生赝电容, 提高炭材料的电化学性能^[12]。本文重点介绍生物质炭的杂元素掺杂, 主要从杂元素掺杂生物质炭的掺杂方法, 生物质炭的杂元素掺杂在锂离子电池、超级电容器和锂硫电池中的应用及其电化学表征这几个方面介绍。

1 生物质炭的杂元素掺杂

1.1 生物质炭的杂元素掺杂的分类

元素掺杂改性分为金属元素掺杂和非金属元素掺杂。元素掺杂是有效调整生物质炭材料表面化学和电子特性的方法^[13-14]。金属元素掺杂主要是 Fe^[15]、Al^[16]、Mn^[17]、Na^[18], 如 Na⁺掺杂在锂离子电池中, 由于 Na⁺半径较大加宽锂离子的迁移通道, 从而增强锂离子电池的电化学性能^[19]; Cr³⁺掺杂能够降低锂离子所处位置的电荷转移电阻, 提高锂离子的扩散系数^[20]; 非金属元素掺杂主要是杂元素掺杂, 如, N^[21]、B^[22]、S^[23]、P^[24]、F^[25]。由于氮、磷具有与 C 原子类似的尺寸和不同的电负性, 它们与炭掺杂可以修改电子的运输特性并且提高炭材料的电催化活性^[26]。当 N 元素掺杂入炭材料中, 碳晶格中的一些 C 原子被 N 原子取代, C 原子的 sp² 杂化被破坏, 而具有具有较大电负性的 N 原子将电子给予共轭体系, 导致经过掺杂的炭材料电负性增强^[27]。炭材料中引入 P 元素, 不仅可以修饰电子结构, 影响材料的结构, 还可以显著提升炭质材料数个能量级的电子电导率^[28]。B 元素的引入不仅可以提升炭材料的电化

学活性而且作为成核和锚定位点,有利于赝电容材料的扩散和装填^[29]。硫元素本身具有电负性,炭材料中掺杂硫,可以引发键的极化,以提升炭材料的电活性^[30]。当将杂元素掺杂入炭材料中,不但可以提高炭材料的电子电导率、电活性以及电负性等,还可以引入大量缺陷,并且这些缺陷位点带有局部电荷,这是由于C原子的尺寸、键长与杂原子之间的配位差异引起的^[31-33]。目前杂元素掺杂炭材料的类型常见的有单一元素掺杂和双元素共掺杂,其中共掺杂比单掺杂具有更明显的效果,共掺杂通过两种原子之间的协同作用,可大大提高炭材料的电化活性^[34-35]。

1.2 生物质炭的杂元素掺杂的制备方法

杂元素掺杂生物质炭的制备方法层出不穷,归纳起来可以分为两条途径:一种是后处理法,即利用含有杂原子的物质与生物质炭相互作用,使原本不含杂元素的生物质炭转变为杂元素掺杂生物质多孔炭的策略;另一种是原位掺杂法,即基于生物质前驱体本身含有杂元素,直接制备杂元素掺杂生物质多孔炭的策略。其中后处理法掺入的杂元素官能团主要位于材料的表面,以化学键连接,但在掺杂的过程中容易造成炭材料孔道结构的阻塞。而原位掺杂法制备得到的杂元素掺杂生物质炭材料具有较高的掺杂量,而且杂元素能掺入到生物质炭材料的骨架中。

1.2.1 后处理法

后处理法根据具体实验方式不同分为:干法(直接将生物质炭材料与含杂元素的物质进行高温热处理)和湿法(先在液相含杂元素的物质中使生物质炭材料功能化,随后热解)。常用的含杂元素的物质有氨气^[36]、尿素^[37]、聚苯胺(PANI)^[38]、聚吡咯(Ppy)^[39]、三聚氰胺^[40]等等

后处理法的目的是为了提提高炭材料的比表面积及调节材料的空隙结构,从而提高材料的电化性能。如Wei^[41]等通过纤维素在氨气气氛下直接热解制备氮掺杂纳米多孔炭,所得材料的比表面积随着热处理温度的升高和处理时间的延长而得到增大,所对应的电化性能有所提升。Chen^[42]等将炭质纳米纤维和聚吡咯以模板导向热液炭化法制备氮掺杂多孔炭,通过改变热处理温度可以调节氮含量以及碳氮的键合类型,在热解温度为900℃时,材料的含氮量为7.22%以及碳氮的键合类型为吡啶型氮(N-6, 398.5eV)和石墨氮(N-Q, 401.18eV)。N-6可以提供一部分电子与 π 电子环连接,产生赝电容效应,从而提高材料的电化性能;N-Q位于石墨烯层,可以显著提高材料的导电能力,并且由氮原子造成的缺陷可以提供更多的储锂位点,从而使材料的倍率性能和储锂容量都得到提高^[43]。

1.2.2 原位掺杂法

原位掺杂法可以通过直接热解法^[44]及模板法^[45]等直接在制备过程中引入杂原子。相对于后处理法,原位合成法操作简单,原料来源广,并且杂元素能比较均匀的掺入到炭材料中,且含量相对较高。

1.2.2.1 热解法

热解法^[46]是杂元素掺杂改性比较常用的方法,将含有杂元素物质与生物质炭进行热解处理,并且通过调节热解温度、掺杂剂的用量以及热解时间来控制材料中杂元素的含量。

Rehman^[47]等以葡萄糖为生物质前驱体,三聚氰胺为氮源,KOH为活化剂利用热解法制备了氮掺杂多孔炭。Zheng^[48]等利用了浮萍自身含有杂元素的特点,用直接热解法处理浮萍,以制备氮掺杂多孔炭材料。

1.2.2.2 模板法

模板法是元素掺杂生物质多孔炭材料常用的一种方法,由于含有杂元素的前驱体与模板的混合需要在液相中进行,故又被称为液相模板法。

Lu^[49]等以蜂蜜作为氮和碳源,SBA-15为模板,通过高温热解制备出了氮掺杂生物质多

孔炭。通过调节热解温度使氮掺杂生物质多孔炭具有较高比表面积，如在热解温度为 800℃ 时，比表面积达到最大为 1273m²/g，孔容为 1cm³/g，孔径为 3.71nm，含氮量为 0.93at%；而当热解温度为 950℃ 时，含氮量达到最大为 1.13at%，比表面积为 1179m²/g，孔容为 0.84cm³/g，孔径为 3.92nm。Ma^[23] 等以蔗糖为原料，MaSO₄ 多孔晶须为模板和 S 源，采用炭化法制备了 S 掺杂介孔炭纤维。通过调节煅烧温度来影响 S 的掺杂水平，当煅烧温度为 600℃，含 S 量达到最大为 14at% (29.4wt.%)，比表面积为 615m²/g，孔径为 3-50nm。

2 杂元素掺杂生物质炭在储能器件电极中的应用

2.1 杂元素掺杂生物质炭在锂离子电池中的应用

锂离子电池，是目前发展最快和最具有发展前景的化学储能器件^[50]。锂离子电池的充放电原理就是锂离子在正负极之间交换，如图 1 所示(以石墨为负极，层状金属氧化物为正极)。

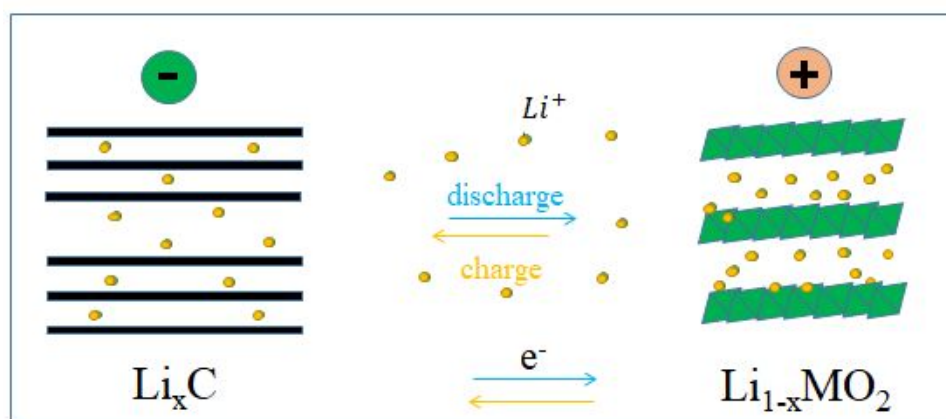


图 1 锂离子电池的充放电原理示意图

大多数的负极材料使用的是石墨化炭材料和无定形炭材料^[51]。生物质炭通常属于无定型炭，其理论比容量远高于传统石墨类负极材料(372mAh/g)的原因主要是其内部结构排列无序，形成大量纳米孔洞和缺陷，因此不仅可以通过化学计量算出其理论容量，还可以通过非化学计量的方式进行锂离子的脱嵌，大大提高了理论容量。此外，生物质炭丰富的孔隙结构以及较高的比表面积可以为电荷转移反应提供一个大的电解质界面，从而促进锂离子通过短的扩散途径传输^[52]。但生物质炭作为锂离子电池的负极材料存在不可逆容量高以及电压滞后等缺点，要提高生物质炭的电化学性能，通常通过杂元素掺杂的方法实现。

如 Tasi^[53] 等以咖啡渣为前驱体，以六亚甲基四胺 (C₆H₁₂N₄, HMT) 为氮源，制备出了氮掺杂生物质炭 (N-CGC)，咖啡渣直接炭化得 CGC，作为阳极材料组装成纽扣电池。通过对比发现，在 0.1A/g 的电流密度下，100 次循环后 N-CGC 的可逆容量远比 CGC 高，分别为 691mAh/g 和 372mAh/g。此外，由于 N 掺杂使生物质炭具有更多的电化学位点，使 N-CGC 的电化学性能更好，并且 N-CGC (1.6863m²/g, 0.00765cm³/g) 具有比 CGC (0.5407m²/g, 0.0026cm³/g) 更高的比表面积和孔体积。N-CGC 的合成方法及其在 0.1A/g 的电流密度下的循环性能如图 2 所示。

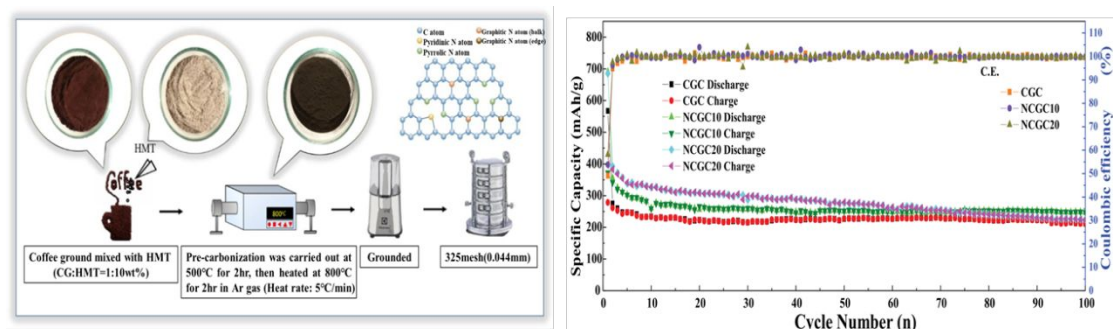


图 2 N-CGC 的合成示意图及其在 0.1 A/g 下的循环性能^[53]

Wang^[54]等人以稻壳为前驱体,三苯基磷为磷源通过简单的酸处理和热处理制得磷掺杂多孔炭,与未掺杂的多孔生物质炭对比,电化学性能明显提高。这是因为磷掺入具有高比表面积的多孔炭中,使炭的表面产生强共价键,再加上三维互联多孔结构与磷的协同作用,从而使其保持良好的导电性和增强储锂的电化学活性,提高材料的电化学性能^[55]。

本课题组率先以剑麻为原料制备剑麻纤维炭(SFC)并应用于锂离子电池电极材料中,首次利用水热技术应用于剑麻纤维炭的改性^[56-57]。本课题组的研究结果表明杂元素掺杂^[58-59]是提高剑麻纤维炭电化学性能的有效改性途径,深入的改性机理还需进一步研究,图 3 为 N, S 掺杂的剑麻纤维炭(N, S-SFC)的形貌变化及其循环性能图。

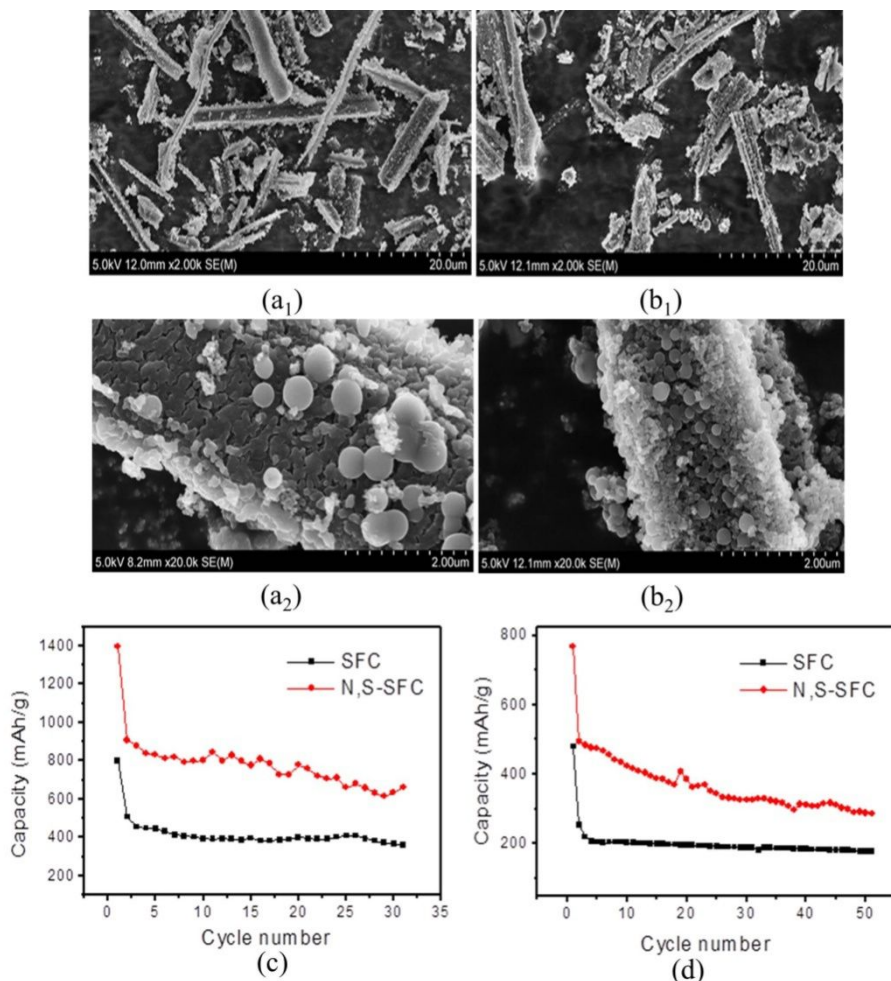


图 3 SFC 与 N, S-SFC 的 SEM 图 (a₁, a₂; b₁, b₂) 及其循环性能 (c, d)^[59]

表 1 为利用不同方法合成的一些杂元素掺杂的生物质炭作为锂离子电池的电极材料时,掺杂后的生物质炭的电化学性能均较未掺杂的明显提升。

表 1 杂元素掺杂的生物质炭作为锂离子电池的电极材料

| 炭前驱体 | 掺杂元素 | 掺杂方法 | 电流密度 | 掺杂前可逆比容量 | 掺杂后可逆比容量 | 参考文献 |
|------|-------|-------|--------|----------|-----------|------|
| 蛋黄 | N, P | 原位合成法 | 1A/g | 372mAh/g | 660mAh/g | [60] |
| 大米 | P | 热解法 | 0.1A/g | 525mAh/g | 757mAh/g | [61] |
| 棉花 | N, S | 热解法 | 0.2A/g | 637mAh/g | 1101mAh/g | [62] |
| 面粉 | Cl, P | 热解法 | 0.2A/g | 371mAh/g | 535mAh/g | [63] |

2.2 杂元素掺杂生物质炭在超级电容器中的应用

超级电容器又叫法拉第电容，不同于电池，超级电容器在充/放电时不发生化学反应，电极和电解液几乎不会老化，因此使用寿命长，并能实现快速充电和大电流放电。炭基超级电容器的储能依赖于碳/电解质界面区域的电荷吸收，这与生物质炭的表面化学结构和电子结构有关。因此可以通过掺杂改性来改变生物质炭的表面结构以提高其比电容，这是由于电解质与电极表面引入的其它元素的相互作用从而诱导电极表面电荷分布不均匀，产生伪电容显著增加界面电容，以提高其比容量^[64]。

Wang^[65]等人以蔗糖为前驱体、以硼酸为硼源、以 SBA-15 硅胶为硬模板制备掺杂硼介孔炭，做为超级电容器的电极材料，通过对比电化学性能发现通过掺杂明显提高。这主要是因为硼掺入生物质炭晶格后，由于硼有三个价电子，可作为电子受体，使费米能级向导电带转移，从而改变生物质炭的电子结构，影响材料的电化学电容，并且低浓度硼掺杂对生物质炭表面的化学吸附具有催化作用，促进炭表面的氧化还原反应，产生赝电容，提高材料的电化学性能^[66]。

Zou^[67]等以甘蔗渣为前驱体，尿素为氮源，通过热解活化法制备出了氮掺杂分层互连多孔炭 (HPNDC)，并作为超级电容器的电极材料，展现出了良好的电化学性能。这是由于氮掺杂可以增加炭基材料的亲水性和极性，使炭材料具备良好的电容性能。

Huang^[68]等通过水热炭化法和活化法的组合工艺，以竹笋皮为前驱体，三聚氰胺为氮源，制备出了氮掺杂分级多孔炭 (AMBC-800)，并以相同的方法直接处理竹笋皮得到无氮掺杂分级多孔炭 (ABC-800)。通过对比发现，AMBC-800 具有更高的比表面积 (图 4 (a))、更明显的分级孔结构 (图 4 (b)) 及更良好的循环性能 (图 4 (c), (d))。在电流密度为 0.1A/g 下达到 288F/g，而 ABC-800 电容为 207F/g；在 0.5A/g 的电流密度下，AMBC-800 的电容为 209F/g，而 ABC-800 电容为 185F/g。这种性能上的差异是因为氮掺杂后，使得炭的比表面积增大，微中孔高比例分布，并且中孔可以促进毛孔可及性，增加电子转移，产生伪电容，使 AMBC-800 电极具有高导电率和优异的循环稳定性。

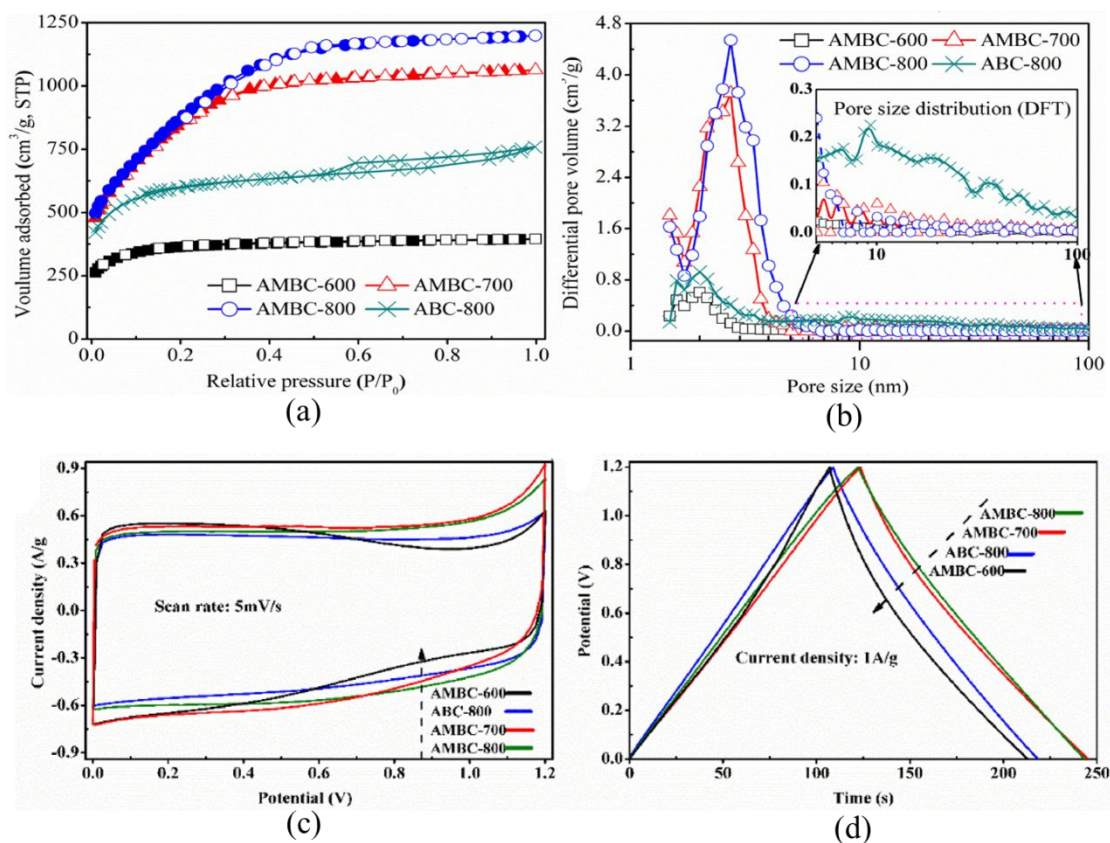


图 4 不同活化温度处理前驱体所得炭材料的 N_2 吸附曲线 (a)、孔径分布曲线 (b) 和电化学性能 (c, d) [68]

表 2 为杂元素掺杂生物质炭, 作为超级电容器的电极材料时, 掺杂后的生物质炭的电化学性能均较未掺杂的明显提升。

表 2 杂元素掺杂的生物质炭作为超级电容器的电极材料

| 炭前驱体 | 掺杂元素 | 掺杂方法 | 电流密度 | 掺杂前比电容 | 掺杂后比电容 | 参考文献 |
|------|------|------|---------|--------|--------|------|
| 柚子皮 | N, B | 热解法 | 1 A/g | 144F/g | 190F/g | [69] |
| 木质素 | P | 热解法 | 10 A/g | 92F/g | 133F/g | [70] |
| 生物废料 | N | 热解法 | 0.5 A/g | 279F/g | 367F/g | [71] |
| 木屑 | | | | | | |
| 蔗糖 | S | 模板法 | 1 A/g | 80F/g | 150F/g | [72] |

2.3 杂元素掺杂生物质炭在锂硫电池中的应用

在各种能源存储设备中, 锂硫电池因其资源丰富、成本低廉、环境友好、理论比容量 (1675 mAh/g) 和能量密度 (2600 Wh/Kg) 高而备受关注 [73]。但单质硫的电子导电性和离子导电性差, 硫材料在室温下电导率极低, 反应的最终产物 Li_2S_2 和 Li_2S 是电子绝缘体, 不利于电池的高倍率性能, 并且锂硫电池的中间放电产物会溶解到电解液中产生 Shuttle 效应, 增加电解液的黏度, 降低离子导电性。锂离子能在正负极之间迁移, 导致活性物质损失和电能的浪费。溶解的多硫化物会跨越隔膜扩散到负极, 与负极反应, 破坏了负极的固体电解质界面膜 (SEI 膜)。锂硫电池的最终放电产物 Li_2S_n ($n=1\sim 2$) 电子绝缘且不溶于电解液, 沉积在导电骨架的表面; 部分硫化锂脱离导电骨架, 无法通过可逆的充电过程反应变成硫或者是高阶的多硫化物, 造成了容量的极大衰减 [74]。为解决这些问题可以从两个方面着手, 一是电解液, 二是正

极材料。正极材料可通过硫和炭材料复合，或者把硫和含杂元素的有机物进行复合，可以解决硫的不导电和体积膨胀问题。其工作原理^[75]如图 5 所示。

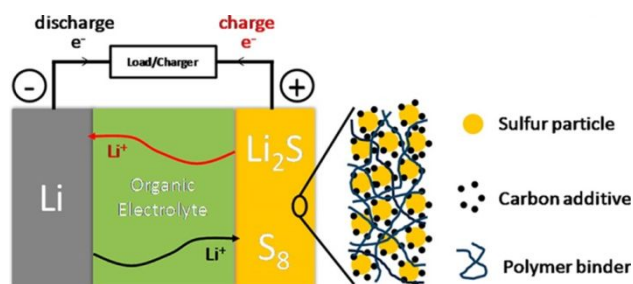


图 5 锂硫电池的充放电原理示意图^[75]

目前已有不少通过掺杂复合元素的方法来提高锂硫电池的电化学性能，如 Song^[76] 等以蒲公英为前体，用直接炭化的方法制备了掺氮中空炭（NHCF），作为沉淀活性硫的载体（NHCF/S）。通过对 NHCF/S 电极与纯硫电极的性能进行对比发现，NHCF/S 电极具有更好的性能，在 0.5C 的电流密度下，500 次循环后，NHCF/S 电极的可逆容量约为 700mAh/g，库仑效率超过 98%，平均容量衰减率为每循环的 0.049%，而纯硫电极以 13.0% 的低容量保持率和每循环 0.17% 的快速容量衰减率。这种性能上的差异是因为氮的掺杂使 NHCF 具有连续的一维空腔结构，加快了电极转移速度，实现了快速、高效的硫电化学反应，同时为截留聚硫化物提供了较强的物理硫约束和高密度锚固位点。

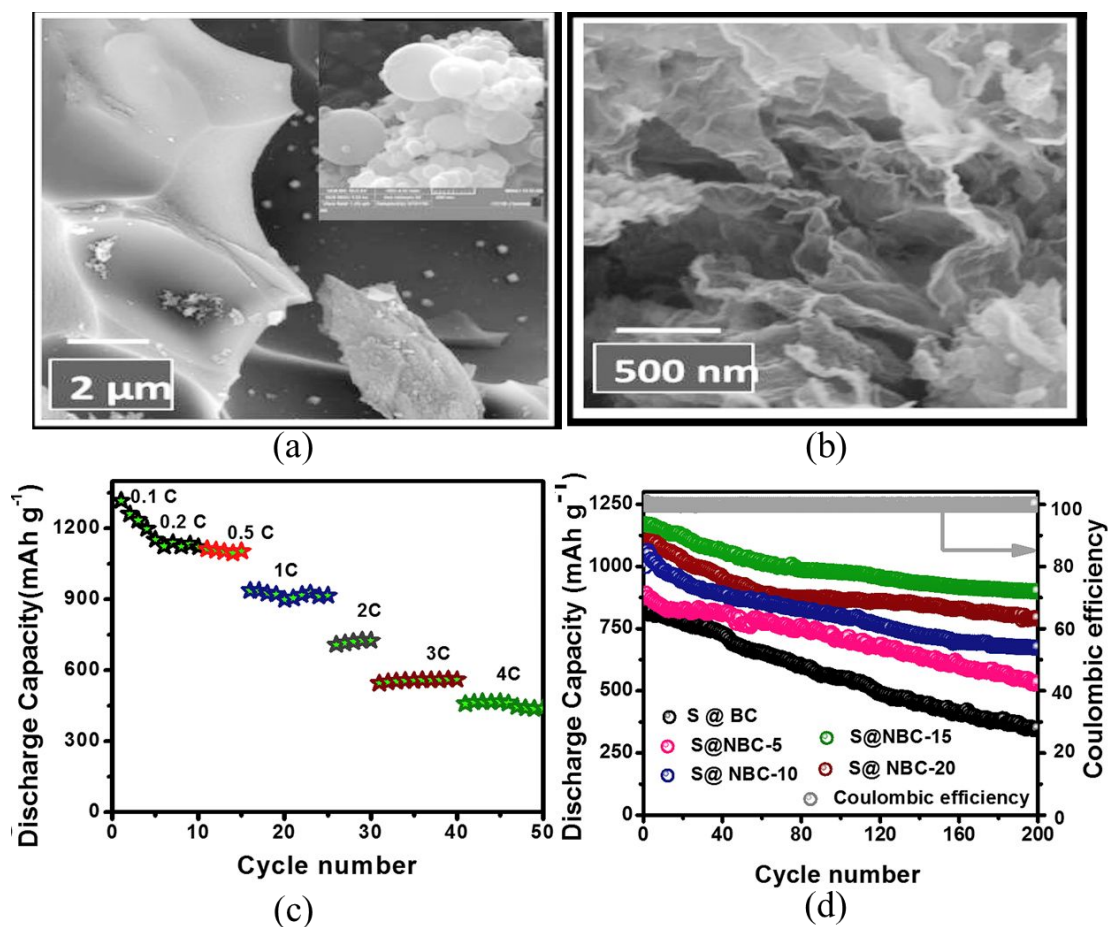


图 6 S @ NBC 和 S @ BC 的 SEM 图(a, b)、倍率性能(c) 及循环性能(d)^[77]

Babu^[77]等以甘蔗渣为前驱体,三聚氰胺为氮源,用直接炭化法制备出了氮掺杂生物质炭,与硫粉混合溶于DMF的溶液中超声处理后抽滤干燥,得S@NBC复合材料作为锂硫电池的阴极材料,甘蔗渣直接炭化后与硫粉混合处理得的产物命名为S@BC。通过对比发现,S@NBC具有层状结构(图6(a),(b))及更好的循环性能(图6(c),(d))。S@NBC和S@BC在0.2C的速率下,200次循环后,可逆容量分别为1169mAh/g,347mAh/g,且保留高阶多硫化物的保留率分别为85%,36.5%。这种性能上的差异源于杂原子掺杂炭,增加了离子吸收的活性位点,增强了对多硫化物的吸收,从而抑制多硫化物的溶解改善硫负载(能量密度)和循环能力(容量保持)^[78]。

表3为不同生物质前驱体制备生物质炭作为锂硫电池的电极材料,经比较表明,杂元素掺杂后的生物质炭的电化学性能均较未掺杂的明显提升。

表3 杂元素掺杂的生物质炭作为锂硫电池的电极材料

| 炭前驱体 | 掺杂元素 | 掺杂方法 | 电流密度 | 掺杂前可逆比容量 | 掺杂后可逆比容量 | 参考文献 |
|------|------|------|--------|------------|------------|------|
| 柚子皮 | B/N | 热解法 | 0.1C | 593.4mAh/g | 902.4mAh/g | [79] |
| 紫菜 | N,S | 热解法 | 1.6A/g | 548mAh/g | 647mAh/g | [80] |
| 黄芪树皮 | N | 热解法 | 0.2C | 243mAh/g | 880mAh/g | [81] |
| 竹子 | N | 热解法 | 0.1C | 376mAh/g | 683mAh/g | [82] |

3 结语与展望

生物质是地球上最丰富的物质,将其制备成生物质炭,既能保护环境又能提高生物质的利用率。生物质炭作为电极材料也展示了高比容量、高导电性、耐酸碱等良好的电化学性能。但生物质炭作为锂电池、超级电容器及锂硫电池等储能器件的电极材料还存在不可逆比容量大、电压滞后、大电流充放电能力弱等问题,为提高生物质炭的电化学性能,可对其进行杂元素掺杂。杂元素掺杂生物质炭的制备方法层出不穷,但如何控制生物质炭材料的杂元素掺杂程度以及杂元素掺杂的确切机理等问题依然是研究的重点和难点。杂元素掺杂生物质炭要在市场上得到广泛应用,还需要研究人员克服倍率性能不稳定和电压滞后以及产率不高等大量的难题。

参 考 文 献

- [1] 杜锐, 覃爱苗, 韦春, 等. 生物质炭材料的制备及电化学应用研究进展[J]. 材料导报. 2014, 28(05):93-97.
- [2] Sun L, Tian C, Li M, et al. From coconut shell to porous graphene-like nanosheets for high-power supercapacitors[J]. Journal of Materials Chemistry A. 2013, 1(21):6462.
- [3] Fey G T K, Chen C L. High-capacity carbons for lithium-ion batteries prepared from rice husk[J]. Journal of Power Sources. 2001, 97-8:47-51.
- [4] Zhang Y, Chen L, Meng Y, et al. Lithium and sodium storage in highly ordered mesoporous nitrogen-doped carbons derived from honey[J]. Journal of Power Sources. 2016, 335:20-30.
- [5] Ou J, Yang L, Xi X. Biomass inspired nitrogen doped porous carbon anode with high performance for lithium ion batteries[J]. Chinese Journal of Chemistry. 2016, 34(7):727-732.
- [6] Li Y, Wang H, Huang B, et al. Mo₂C-induced solid-phase synthesis of ultrathin MoS₂ nanosheet arrays on bagasse-derived porous carbon frameworks for high-energy hybrid sodium-ion capacitors[J]. Journal of Materials Chemistry A. 2018, 6(30):14742-14751.
- [7] Yao C, Shin Y, Wang L Q, et al. Hydrothermal dehydration of aqueous fructose solutions in a closed system[J]. Journal of Physical Chemistry C. 2007, 111(42):15141-15145.
- [8] Wang Q, Li H, Chen L Q, et al. Monodispersed hard carbon spherules with uniform nanopores[J]. Carbon. 2001, 39(14):2211-2214.
- [9] Chen Y, Xiang K, Zhu Y, et al. Bio-templated fabrication of lotus root-like Li₃V₂(PO₄)₃/C composite from dandelion for use in lithium-ion batteries[J]. Ceramics International. 2019, 45(10):13438-13446.
- [10] Chen Y, Xiang K, Zhu Y, et al. Bio-template fabrication of nitrogen-doped Li₃V₂(PO₄)₃/carbon composites from cattail fibers and their high-rate performance in lithium-ion batteries[J]. Journal of Alloys and Compounds. 2019, 782:89-99.
- [11] 覃韬, 林起浪, 郑敏枝. 锂离子电池炭负极材料结构及嵌锂机理研究进展[J]. 材料导报. 2009, 23(05):34-37.

- [12] 刘芳延. 基于棕纤维素制备炭基复合材料及其电化学性能[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2015:6-9.
- [13] Jin H, Wang X, Gu Z, et al. Distillers dried grains with soluble (DDGS) bio-char based activated carbon for supercapacitors with organic electrolyte tetraethylammonium tetrafluoroborate[J]. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 2014, 2(3):1404-1409.
- [14] Shen T, Xia X H, Xie D, et al. Encapsulating silicon nanoparticles into mesoporous carbon forming pomegranate-structured microspheres as a high-performance anode for lithium ion batteries[J]. *Journal of Materials Chemistry A*. 2017, 5(22):11197-11203.
- [15] Huang Z, Yao M, Jiang Z, et al. Impact of Fe doping on performance of $\text{NaNi}_2(\text{PO}_4)_3/\text{C}$ anode for aqueous lithium ion battery[J]. *Solid State Ionics*. 2018, 327:123-128.
- [16] Jia G F, Liu S Q, Yang G W, et al. The multiple effects of Al-doping on the structure and electrochemical performance of $\text{LiNi}_{0.5}\text{Mn}_{0.5}\text{O}_2$ as cathode material at high voltage[J]. *Ionics*. 2018, 24(12):3705-3715.
- [17] Cho W, Lim Y J, Lee S M, et al. Facile Mn surface doping of Ni-rich layered cathode materials for lithium ion batteries[J]. *Acs Applied Materials & Interfaces*. 2018, 10(45):38915-38921.
- [18] Yi T F, Yang S Y, Li X Y, et al. Sub-micrometric $\text{Li}_{4-x}\text{Na}_x\text{Ti}_5\text{O}_{12}$ ($0 \leq x \leq 0.2$) spinel as anode material exhibiting high rate capability[J]. *Journal of Power Sources*. 2014, 246:505-511.
- [19] Lee S H, Kim H K, Yun Y-S, et al. A novel high-performance cylindrical hybrid supercapacitor with $\text{Li}_{4-x}\text{Na}_x\text{Ti}_5\text{O}_{12}$ /activated carbon electrodes[J]. *International Journal of Hydrogen Energy*. 2014, 39(29):16569-16575.
- [20] Wang P, Li P, Yi T F, et al. Enhanced lithium storage capability of sodium lithium titanate via lithium-site doping[J]. *Journal of Power Sources*. 2015, 297:283-294.
- [21] Song J, Yu Z, Gordin M L, et al. Advanced sulfur cathode enabled by highly crumpled nitrogen-doped graphene sheets for high-energy-density lithium-sulfur batteries[J]. *Nano Letters*. 2016, 16(2):864-870.

- [22] Tabassum H, Zou R, Mahmood A, et al. A universal strategy for hollow metal oxide nanoparticles encapsulated into B/N co-doped graphitic nanotubes as high-performance lithium-ion battery Anodes[J]. *Advanced Materials*. 2018, 30(8).
- [23] Ma X, Ning G, Kan Y, et al. Synthesis of S-doped mesoporous carbon fibres with ultrahigh S concentration and their application as high performance electrodes in supercapacitors[J]. *Electrochimica Acta*. 2014, 150:108-113.
- [24] He H, Huang D, Tang Y, et al. Tuning nitrogen species in three-dimensional porous carbon via phosphorus doping for ultra-fast potassium storage[J]. *Nano Energy*. 2019, 57:728-736.
- [25] Wang Y, Gu H T, Song J H, et al. Suppressing Mn Reduction of Li-Rich Mn-Based Cathodes by F-Doping for Advanced Lithium-Ion Batteries[J]. *Journal of Physical Chemistry C*. 2018, 122(49):27836-27842.
- [26] Jia H, Gao P, Yang J, et al. Novel Three-dimensional mesoporous silicon for high power lithium-ion battery anode material[J]. *Advanced Energy Materials*. 2011, 1(6):1036-1039.
- [27] Liu P, Zhang Y, Yan J, et al. Synthesis of lightweight N-doped graphene foams with open reticular structure for high-efficiency electromagnetic wave absorption[J]. *Chemical Engineering Journal*. 2019, 368:285-298.
- [28] Zhang Y, Mori T, Ye J, et al. Phosphorus-doped carbon nitride solid: enhanced electrical conductivity and photocurrent generation[J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2010, 132(18):6294-+.
- [29] Liu D, Yu S, Shen Y, et al. Polyaniline coated boron doped biomass derived porous carbon composites for supercapacitor electrode materials[J]. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 2015, 54(50):12570-12579.
- [30] Denis P A, Faccio R Mombro A W. Is it possible to dope single-walled carbon nanotubes and graphene with sulfur?[J]. *Chemphyschem*. 2009, 10(4):715-722.
- [31] Hu X, Long Y, Fan M, et al. Two-dimensional covalent organic frameworks as self-template derived nitrogen-doped carbon nanosheets for eco-friendly metal-free catalysis[J]. *Applied Catalysis B-Environmental*. 2019, 244:25-35.
- [32] Tang C, Wang H F, Chen X, et al. Topological defects in metal-free nanocarbon for oxygen electrocatalysis[J]. *Advanced Materials*. 2016, 28(32):6845-+.

- [33] Latorre-Sanchez M, Primo A Garcia H. P-doped graphene obtained by pyrolysis of modified alginate as a photocatalyst for hydrogen generation from water-methanol mixtures[J]. *Angewandte Chemie-International Edition*. 2013, 52(45):11813-11816.
- [34] Duan C C, Kee R, Zhu H Y, et al. Highly efficient reversible protonic ceramic electrochemical cells for power generation and fuel production[J]. *Nature Energy*. 2019, 4(3):230-240.
- [35] Gao K, Wang B, Tao L, et al. Efficient metal-free electrocatalysts from N-doped carbon nanomaterials: mono-doping and co-doping[J]. *Advanced Materials*. 2019, 31(13).
- [36] Guo N, Li M, Wang Y, et al. N-doped hierarchical porous carbon prepared by simultaneous-activation of KOH and NH₃ for high performance supercapacitors[J]. *RSC Advances*. 2016, 6(103):101372-101379.
- [37] Xiang C, Lv T, Okonkwo C A, et al. Nitrogen-doped bagasse-derived carbon/low Pt composite as counter electrodes for high efficiency dye-sensitized solar cell[J]. *Journal of the Electrochemical Society*. 2017, 164(4):H203-H210.
- [38] Wang B, Wang Y, Peng Y, et al. 3-dimensional interconnected framework of N-doped porous carbon based on sugarcane bagasse for application in supercapacitors and lithium ion batteries[J]. *Journal of Power Sources*. 2018, 390:186-196.
- [39] Wang B, Wang Y, Peng Y, et al. Nitrogen-doped biomass-based hierarchical porous carbon with large mesoporous volume for application in energy storage[J]. *Chemical Engineering Journal*. 2018, 348:850-859.
- [40] Wan L, Li X, Li N, et al. Multi-heteroatom-doped hierarchical porous carbon derived from chestnut shell with superior performance in supercapacitors[J]. *Journal of Alloys and Compounds*. 2019, 790:760-771.
- [41] Luo W, Wang B, Heron C G, et al. Pyrolysis of cellulose under ammonia leads to nitrogen-doped nanoporous carbon generated through methane formation[J]. *Nano Letters*. 2014, 14(4):2225-2229.
- [42] Chen L F, Zhang X D, Liang H W, et al. Synthesis of nitrogen-doped porous carbon nanofibers as an efficient electrode material for supercapacitors[J]. *ACS NANO*. 2012, 6(8):7092-7102.
- [43] Shi N, Jiang X, Zhang Y, et al. Preparation and performance of N-doped carbon coated Li₄Ti₅O₁₂ as anode material for lithium-ion batteries[J]. *Chemical Journal of Chinese Universities-Chinese*. 2015, 36(5):981-988.

- [44] Lin G, Ma R, Zhou Y, et al. KOH activation of biomass-derived nitrogen-doped carbons for supercapacitor and electrocatalytic oxygen reduction[J]. *Electrochimica Acta*. 2018, 261:49–57.
- [45] Imtiaz M, Chen Z, Zhu C, et al. In situ growth of beta-FeOOH on hierarchically porous carbon as anodes for high-performance lithium-ion batteries[J]. *Electrochimica Acta*. 2018, 283:401–409.
- [46] Wang C, Wu D, Wang H, et al. Biomass derived nitrogen-doped hierarchical porous carbon sheets for supercapacitors with high performance[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2018, 523:133–143.
- [47] Rehman A Park S J. Tunable nitrogen-doped microporous carbons: Delineating the role of optimum pore size for enhanced CO₂ adsorption[J]. *Chemical Engineering Journal*. 2019, 362:731–742.
- [48] Zheng F, Liu D, Xia G, et al. Biomass waste inspired nitrogen-doped porous carbon materials as high-performance anode for lithium-ion batteries[J]. *Journal of Alloys and Compounds*. 2017, 693:1197–1204.
- [49] Lu J, Bo X, Wang H, et al. Nitrogen-doped ordered mesoporous carbons synthesized from honey as metal-free catalyst for oxygen reduction reaction[J]. *Electrochimica Acta*. 2013, 108:10–16.
- [50] Bing X U E, Yi T A N. Research progress on lithium titanate as anode material in lithium-ion battery[J]. *Journal of Inorganic Materials*. 2018, 33(5):475.
- [51] Li Y, Wei L, Liao L, et al. Ultrathin porous interconnected carbon nanosheets derived from sisal fibers for efficient Li-ion battery anodes[J]. *Materials Express*. 2019, 9(2):112–122.
- [52] Bruce P G, Scrosati B Tarascon J M. Nanomaterials for rechargeable lithium batteries[J]. *Angewandte Chemie-International Edition*. 2008, 47(16):2930–2946.
- [53] Tsai S Y, Muruganatham R, Tai S H, et al. Coffee grounds-derived carbon as high performance anode materials for energy storage applications[J]. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. 2019, 97:178–188.
- [54] Wang J, Yang Z, Pan F, et al. Phosphorus-doped porous carbon derived from rice husk as anode for lithium ion batteries[J]. *RSC Advances*. 2015, 5(68):55136–55142.

- [55] Paraknowitsch J P Thomas A. Doping carbons beyond nitrogen: an overview of advanced heteroatom doped carbons with boron, sulphur and phosphorus for energy applications[J]. *Energy & Environmental Science*. 2013,6(10):2839-2855.
- [56] Yu X, Zhang K, Tian N, et al. Biomass carbon derived from sisal fiber as anode material for lithium-ion batteries[J]. *Materials Letters*. 2015,142:193-196.
- [57] Du R, Tong Z, Wei C, et al. Preparation of activated carbons from sisal fibers as anode materials for lithium ion batteries[J]. *International Journal of Electrochemical Science*. 2016,11(10):8418-8429.
- [58] Du R, Tong Z, Wei C, et al. Sulfur/sisal fiber carbons composites as anode materials for lithium-ion batteries[J]. *International Journal of Electrochemical Science*. 2017,12(6):5581-5586.
- [59] Wang D, Zhang K, Liao L, et al. Synthesis of nitrogen and sulfur co-doped sisal fiber carbon and its electrochemical performance in lithium-ion battery[J]. *International Journal of Electrochemical Science*. 2019,14(1):102-113.
- [60] Zhao H, Gao Y, Wang J, et al. Egg yolk-derived phosphorus and nitrogen dual doped nano carbon capsules for high-performance lithium ion batteries[J]. *Materials Letters*. 2016,167:93-97.
- [61] Ma W, Xie L, Dai L, et al. Influence of phosphorus doping on surface chemistry and capacitive behaviors of porous carbon electrode[J]. *Electrochimica Acta*. 2018,266:420-430.
- [62] Xiong J, Pan Q, Zheng F, et al. N/S co-doped carbon derived from cotton as high performance anode materials for lithium ion batteries[J]. *Frontiers in Chemistry*. 2018,6.
- [63] Wu P, Shao G, Guo C, et al. Long cycle life, low self-discharge carbon anode for Li-ion batteries with pores and dual-doping[J]. *Journal of Alloys and Compounds*. 2019,802:620-627.
- [64] Wu F C, Tseng R L, Hu C C, et al. Physical and electrochemical characterization of activated carbons prepared from firwoods for supercapacitors[J]. *Journal of Power Sources*. 2004,138(1-2):351-359.
- [65] Wang D W, Li F, Chen Z-G, et al. Synthesis and electrochemical property of boron-doped mesoporous carbon in supercapacitor[J]. *Chemistry of Materials*. 2008,20(22):7195-7200.

- [66] Xianxian Wu L R R. Ab Initio molecular orbital study on the electronic structures and reactivity of boron-substituted carbon[J]. *The Journal of Physical Chemistry A*. 2004,108(42):9180-9187.
- [67] Zou K, Deng Y, Chen J, et al. Hierarchically porous nitrogen-doped carbon derived from the activation of agriculture waste by potassium hydroxide and urea for high-performance supercapacitors[J]. *Journal of Power Sources*. 2018,378:579-588.
- [68] Huang G G, Wang Y, Zhang T Y, et al. High-performance hierarchical N-doped porous carbons from hydrothermally carbonized bamboo shoot shells for symmetric supercapacitors[J]. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. 2019,96:672-680.
- [69] Han J, Ping Y, Li J, et al. One-step nitrogen, boron codoping of porous carbons derived from pomelo peels for supercapacitor electrode materials[J]. *Diamond and Related Materials*. 2019,96:176-181.
- [70] Yi J, Qing Y, Wu C, et al. Lignocellulose-derived porous phosphorus-doped carbon as advanced electrode for supercapacitors[J]. *Journal of Power Sources*. 2017,351:130-137.
- [71] Guo D, Xin R, Wang Y, et al. N-doped carbons with hierarchically micro- and mesoporous structure derived from sawdust for high performance supercapacitors[J]. *Microporous and Mesoporous Materials*. 2019,279:323-333.
- [72] Xiao L, Cao Y, Xiao J, et al. A Soft approach to encapsulate sulfur: polyaniline nanotubes for lithium-sulfur batteries with long cycle life[J]. *Advanced Materials*. 2012,24(9):1176-1181.
- [73] Schuster J, He G, Mandlmeier B, et al. Spherical ordered mesoporous carbon nanoparticles with high porosity for lithium-sulfur batteries[J]. *Angewandte Chemie-International Edition*. 2012,51(15):3591-3595.
- [74] Qu D, Li R, Zhu X, et al. Performances of platinum and nitrogen dual-doped ordered mesoporous carbon as sulfur host for Li-S battery[J]. *International Journal of Electrochemical Science*. 2018,13(11):11294-11322.
- [75] Manthiram A, Fu Y Su Y-S. Challenges and prospects of lithium-sulfur batteries[J]. *Accounts of Chemical Research*. 2013,46(5):1125-1134.

- [76] Song Y, Wang H, Ma Q, et al. Dandelion derived nitrogen-doped hollow carbon host for encapsulating sulfur in lithium sulfur battery[J]. ACS Sustainable Chemistry & Engineering. 2018, 7(3):3042-3051.
- [77] Babu D B Ramesha K. Melamine assisted liquid exfoliation approach for the synthesis of nitrogen doped graphene-like carbon nano sheets from bio-waste bagasse material and its application towards high areal density Li-S batteries[J]. Carbon. 2019, 144:582-590.
- [78] Hou T Z, Chen X, Peng H J, et al. Design principles for heteroatom-doped nanocarbon to achieve strong anchoring of polysulfides for lithium-sulfur batteries[J]. Small. 2016, 12(24):3283-3291.
- [79] Zhu L, Jiang H, Ran W, et al. Turning biomass waste to a valuable nitrogen and boron dual-doped carbon aerogel for high performance lithium-sulfur batteries[J]. Applied Surface Science. 2019, 489:154-164.
- [80] Huang M, Yang J, Xi B, et al. Enhancing kinetics of Li-S batteries by graphene-like N,S-codoped biochar fabricated in NaCl non-aqueous ionic liquid[J]. Science China-Materials. 2019, 62(4):455-464.
- [81] Zhu Q, Deng H, Su Q, et al. A free-standing nitrogen-doped porous carbon foam electrode derived from melaleuca bark for lithium-sulfur batteries[J]. Electrochimica Acta. 2019, 293:19-24.
- [82] Wei Y, Yan Y, Zou Y, et al. The ternary PANI@BDC/S composite cathode with enhanced electrochemical performance in lithium-sulfur batteries[J]. Journal of Electroanalytical Chemistry. 2019, 839:149-159.

剑麻麻渣还田对土壤肥力和微生物组成的影响

陈涛, 金刚, 覃旭, 黄显雅, 彭欣怡, 杨祥燕, 吴密, 崔明勇

广西壮族自治区亚热带作物研究所, 广西南宁

摘要: 为研究剑麻麻渣还田对土壤肥力、酶活性及微生物组成的影响, 本研究于中国广西农垦山圩农场有限公司进行试验, 设剑麻麻渣还田与未还田两个处理, 研究连续 4 年麻渣还田对土壤肥力、酶活性及微生物组成的影响。结果表明: 与对照相比, 剑麻麻渣还田后剑麻产量提高了 24.91%。剑麻麻渣还田对土壤 pH 无明显影响, 提高了土壤有机质、全氮、速效钾含量, 分别比对照提高了 2.83%、4.58%、39.34%; 显著降低了速效磷含量, 降低率为 25.04%。麻渣还田对土壤过氧化氢酶的酶活力无显著影响, 但显著提高了脲酶、酸性磷酸酶活性, 分别比对照提高了 26.4%、22.75% ($P < 0.05$); 极显著提高了蔗糖酶活性, 增幅高达 171.64%。微生物测序分析表明, 麻渣还田组中的细菌丰度始终较高, 而真菌丰度却呈现出下降的趋势, 当计算细菌/真菌比率时, 能观察到较高的细菌/真菌比率。微生物多样性分析显示: 麻渣还田后细菌群落的 α -多样性升高, 真菌群落的 α -多样性降低, 麻渣还田对真菌的 β 多样性影响较大。最后对微生物群落进行了功能分析发现, 与转录、细胞运动、其他次生代谢产物的生物合成途径相关的微生物群在麻渣还田组中更为明显。总之, 这项研究证明了麻渣还田是通过对土壤微生物的影响来改善土壤的生态环境进而改善剑麻的生产力。

关键词: 剑麻; 麻渣还田; 土壤肥力; 酶活性; 微生物组成

广前公司水果产业发展问题及对策

鲁胜德¹，杨运萍^{*1}，苏是泚¹，陈悦²，文尚华²

(1 广东省广前糖业发展有限公司，2 广东省湛江农垦集团公司)

摘要：近年来，广东省广前糖业发展有限公司（以下简称“广前公司”）发挥资源优势，进一步加快产业优化调整，积极发展水果生产。水果产业已成为公司仅次于甘蔗产业的第二大产业，目前广前公司水果产业发展中还存在着较多问题，为促进公司水果产业向可持续高质量方向发展，本文从主产品定位、经营方式、品牌建设、提质增效和市场营销等方面提出了发展对策。

前言

广前公司位于广东省湛江市遂溪县，地处雷州半岛，属热带气候。年平均气温 23.5℃，1 月平均气温 16.3℃，7 月平均气温 29℃。年平均降水量 1417~1804 毫米，有明显的干、湿季之分，全年无霜冻，光热资源充沛，土壤条件良好，非常适宜香蕉、火龙果等南亚热带果树生长。广前公司拥有土地面积约 18.66 万亩，耕种土地面积约 12.25 万亩，长期以甘蔗种植为主，农业种类较单一。近年来，为提高企业抗风险能力和综合效益，积极推进产业结构优化调整。近十年来，广前公司的农业产业结构布局发生了较大的变化，虽然水果产业起步较晚，但发展较快，种植面积由 2010 年的不足 5000 亩发展到 2020 年的 5 万多亩。目前水果种植面积已占耕种土地总面积的 45%；水果种类也由早期的单一品种香蕉发展到目前拥有香蕉、火龙果、菠萝、芒果、番石榴和葡萄等多个种类。

广前公司是湛江农垦直属企业，其姓“国”又姓“农”的独特属性，加上垦区良好的产业实力和集群规模基础，发展高质量水果产业有着独特的优势，主要表现在三个方面：一是区位优势，广前公司位于广东省雷州半岛中部，海、陆、空交通便利，207 国道从公司门口经过，公司总部所在地距湛海高速、湛渝高速出入口约 20 公里，距湛江港 57 公里、湛江西站（高铁站）30 公里、遂溪火车站 35 公里、湛江机场 50 公里。广前公司地势平坦，主要为旱坡地，地下水资源丰富，对发展南亚热带水果种植具有得天独厚的生态环境，发展二三产业也有着良好的地缘优势；二是文化优势，在水果产业的发展中注入独特的文化因素，就等于赋予产业独特的生命活力，农垦文化是在特殊的历史时期，为完成特殊的使命而形成的一种独特的文化，在艰苦卓绝的创业中形成的“艰苦奋斗，勇于开拓”的农垦精神，激励了几代农垦人，是农垦文化的灵魂。在农垦文化发展过程中，深受岭南文化滋养和熏陶，形成了独具岭南特色的农垦文化，是由多种文化融合形成的一种包容性强、务实和创新性的文化；三是政策优势，打造现代沿海经济带，粤港澳大湾区的发展，湛江农垦的改革政策等一系列利好政策的落实和推进，为广前果业高质量发展提供了新的机遇和发展空间，广前公司需在果业发展上做好顶层设计，及早谋划，加强垦地合作，融合地方现有的优势资源和平台，把握良机，推动广前果业再上一个新台阶。

目前，广前公司水果产业已经成为职工收入的重要来源，成为仅次于甘蔗产业的第二大产业。随着农垦改革工作的不断深入，在两级集团公司的领导和部署下，广前公司水果产业将朝着绿色化、标准化、专业化、品牌化及特色化的持续推进，转变水果生产方式，保证水果质量，促进一二三产业融合发展，不断提高水果产业经济效益。

1 广前公司水果产业发展基本情况

1.1 基本概况

广前公司水果种植总面积 51987 亩，其中公有经营面积为 1956 亩，占比 3.76%。个体经营面积为 50031 亩，主要以职工承包和外包户分散经营为主，占比 96.24%。水果的种类也呈现多样化，目前种植香蕉 38912 亩，火龙果 11864 亩，番石榴 301 亩，芒果 294 亩，柑橘类 144 亩，龙眼 187 亩，荔枝 65 亩，牛油果 100 亩，澳洲坚果 50 亩，阳光玫瑰葡萄 50 亩，其他水果 70 亩。其中香蕉和火龙起步较早，在广前地区具备一定的规模效应和产业特

色，为公司下一步创建香蕉、火龙果等水果品牌打下了基础。

1.2 广前公司水果产业经营模式

广前公司水果产业的经营模式主要个体经营和公有经营，个体经营以职工承包和外包户为主，生产管理粗放，没有长远统一规划，职工（农户）喜欢种什么品种或者说觉得什么有钱赚就种什么，其销售渠道较为狭窄，主要为传统的商贩式的交易；公有经营虽然占比较小，但在对整个广前地区的水果产业起到关键的引领和示范作用，广前公司利用自身的资源优势积极推进水果产业的绿色化、标准化、专业化、品牌化及特色化的建设，从种苗选择、生产资料投入、田间管理等一系列环节规范统一标准，多举措确保果品质量和稳定，销售即以大宗收购批发为主，相对与个体经营，销售渠道丰富了很多，具有较大发展潜力，例如尝试农超对接、与垦区内的“佳鲜农庄”销售平台对接建立合作关系等。据此，下文重点阐述广前公司公有经营的几种具体模式。

1.2.1 广前公司火龙果种植经营联合体

2018年，公司组建“火龙果种植经营联合体”，采用“公司+经营能手+职工”的模拟股份制的经营形式，初次规划面积为300亩左右，计划投资约450万元，公司占股47%，经营能手占股45%，职工占股8%。经过近一年的筹划建设，经营联合体于2020年开始投产，目前已收获375吨，预计今年总产量为600吨，以大宗销售为主，2020年产值240万元。由经营能手负责联合火龙果的种、管、收、售等具体经营管理工作。

1.2.2 广前公司香蕉合作种植基地

2019年4月，广前公司与湛江农垦下属现代农业公司合作，采用“公司+公司”经营模式，以市场为导向，成立“广前公司香蕉合作种植基地”，面积约500亩。总投资约500万，广前公司与现代农业公司按6:4投资比例入股。广前公司委派专职管理人员负责基地的日常管理工作，现代农业公司主要负责技术管理规程，总体规划、产品销售等，全力打造垦区优质香蕉供应基地。目前，香蕉基地已投产，共收获产量3780吨，产值455万元。

1.2.3 广前名优水果公司

广前名优水果公司始建于2018年底，立足广东农垦湛江垦区国家现代农业产业园的资源优势，利用2018年农业生产发展项目资金，组建专业团队，总体规划2000亩，种植火龙果、番石榴、阳光玫瑰葡萄、牛油果、澳洲坚果等9种热带名优特色水果，共计1469亩。配套农资仓库401平方米，初加工厂房以及生产管理用房622平方米，田管机具24套。为推进公司水果产业高效优质发展，广前名优水果公司于2020年7月正式成立，为进一步做大做强公司水果产业，落实两级集团公司的决策部署，2020年9月湛江农垦“双创”示范基地并入广前名优水果公司统筹运作。目前广前名优水果公司水果生产总面积已达3000亩，为符合标准化的生产要求，水果生产从种苗选择、生产资料投入、田间管理等一系列环节统一标准，为生产优质稳定的水果产品打下坚实的基础，同时配备水肥一体化智能灌溉系统，该系统集成了全球先进水肥一体化设备和以色列仙剑灌溉技术，结合物联网远程控制、GIS地理信息系统、气象墒情检测等信息技术，实现现代农业的数字化运作，农业大数据采集功能，从而指导果品的标准化现代化生产。

2 主要存在问题

在广前公司水果产业蓬勃发展的过程中，也存在一系列的矛盾和问题，比如专业人才、产品品质、品牌建设、销售渠道^[1]等诸多不完善的环节制约着广前公司水果产业的进一步发展。

2.1 专业人员培养配备有待加强

水果产业是技术密集型产业，发展高质量绿色水果产业对专业人才素质要求较高，需要大量的专业经营管理人员、专业技术人才、技术工人^[2]。由于公司一直以来以甘蔗产业为主，管理人员、技术人才、技术工人主要对甘蔗生产管理较为熟练，作业质量较高，运行管理成

本相对较低。果树类、市场管理营销类人才比较缺乏，这在很大程度上限制了公司水果产业的发展^[3]。另外，由于青壮年劳动力大多都外出打工，参与果树管理的工人大多以老龄和女性为主，这极大的影响了作业质量和效率，增加管理成本^[4]。

2.2 果品品质不高且欠稳定

优良品种是水果产业基础，稳定的品质是基本命脉，没有稳定的产品品质，多好的品牌建设和营销渠道都是空谈。如目前广前公司的火龙果产品，品质总体不高^[5]，主要表现在同一果园不同批次鲜果的口感、风味差别较大，今年与去年差别也较大，这样的果品很难在市场上找到定位，在市场上缺乏竞争力，这是水果产业发展的最大障碍。

2.3 品牌建设管理有待配套加强

广前特色（或者农垦特色）不明显。现有果品公或私的经营，名称包装宣传等都有雷同之处，造成同类产品之间的恶性竞争。另外由于生产环节的规模有限，尤其是众多的散户，面积为几亩到几十亩不等，他们不可能为自己种植的水果产品申请品牌，形成“星星多了，月亮不亮”的局面，品牌再乱，相互牵制，无法形成整体品牌，这需要做好配套规划和规范管理。

2.4 市场流通环节多和销售方式总体滞后

一是市场流通现代化水平偏低，流通成本较大，这已成为制约水果产业发展的重要影响因素之一^[6]。突出表现在收贮运输的手段上，由于水果在贮运过程中极易发生损耗和腐烂，而目前广前公司的农产品市场流通尚处于“四散”（即散装、散卸、散储、散运）阶段，加上冷链仓储及物流发展严重滞后，水果在市场流通过程中还是以常温物流或自然物流形式为主，导致水果在市场流通过程中损耗、腐烂严重^[7]。二是销售流通环节过多，流通效率较低，现有水果一般要经过各级商品采购批发商、产地（销地）批发市场、城乡农贸市场、超市等多个市场流通环节之后才最终到达消费者手中。市场流通中间环节过多，流通链条过长^[8]，每经过一个市场流通环节都要层层加价，不仅增加了水果的流通成本和中间损耗，而且也大大降低了市场流通效率。三是目前广前公司水果的生产经营方式还是以个人或家庭承包种植经营为主，缺少统一的领导、指导和规范，他们大多是以个体为单位进行零星、分散的买卖交易，果农在与采购商的谈判往往单打独斗，供方多且为弱方，缺乏市场产品定价权，无法在市场流通中占据有利地位^[9]。

2.5 组织化程度不高

广前公司水果产业组织化发展程度仍处于比较低的水平，总体上说，合作社、经营联合体等经济组织建设还处于起步探索阶段^[10]。近几年，随着广前水果产业的不断发展，各种合作组织不断出现，虽然这些合作组织的出现具有重要的意义和一定的推广价值，但是很多合作组织还是处在技术交流阶段，没有进行紧密的联合。合作组织和种植户之间的关系更多的是购销关系，对于二次利益分配种植户几乎是没有参与的，因此广前水果产业的这些合作社与种植户之间尚未形成“风险共担，利益共享”的紧密关系。

近两年，虽然公司开始适当组织和统一规划水果种植户，引导集约化经营，对种植户之间的横向交流进行强化，积极推广典型合作组织发展经验，但是种植户之间各自为政，广前公司难以使栽培技术、采收、采后处理和病虫害防治等规范化、标准化。组织化程度偏低，导致标准化生产难以推广，产品质量呈参差不齐状态，只能面对城市中的中低端消费和广大的农村市场，产品出口方面也难以应对国外的技术壁垒。

3 发展对策

3.1 引进专业技术人才，强化技术培训

完善人才激励机制，注重果树方面管理人才和专业技术人才的培养。积极吸纳懂技术、懂管理、懂营销的综合型人才，给予优厚待遇，使其能够在基层全身心的投入到水果产业的发展建设中去。加强培训，邀请行业资深专家，采取培训班、现场观摩等多种形式，定期对

管理人员,种植能手、技术工人进行培训,传授种植管理经验,不断提高产业队伍专业素养。

3.2 坚持走品质至上,为品牌化铺路

加强源头管理,从基地管理进行深度切入,坚持水果品质的全程把控,从田间做起,不断改进栽培技术措施,完善植物营养方案,统筹做好病虫害防治,不断完善和提升果树生产过程的农艺措施,全面提升和稳定产品品质^[11]。

加强品质监管,为做好品牌服务,根据行业要求和公司水果产业发展的生产实际,立足将种苗、商品果、市场销售、品牌建设等全部纳入监测范围,根据要求定期开展例行抽样监测。坚持品牌化水果发展的长远思路,立志打造水果知名品牌,绿色食品、有机食品、地理标志产品等全国知名品牌体系。

加强技术体系建设,确保质量稳定可控,为品牌保驾护航。注重加强与国际国内果树产业权威机构、科研院所进行合作,加强联合攻关,建设包括品种选育与繁殖、脱毒种苗快繁中心、质量检测监督中心、技术研发中心、培训中心、学术交流中心、产品展览厅、专家试验基地等一系列技术支撑体系内容的建设,确保所产出的水果从产前、产中、产后环节都能稳定。

3.3 坚持走文化营销,建立品牌效应

农业作为传统的产业,赋予产品以文化,以思想,以精神,以坚实的生命力,我们种植出的每一种水果,都自带农垦国家队的光环,深深凝聚农垦艰苦奋斗的足迹,我们的每一种水果,从开垦种植、田间管理、产业工人教育与技术培训,到果实采摘、初加工、精加工、仓储、运输、销售,经过了多少环节,凝聚了多少人的辛勤劳动^[12]。每一种水果都凝结着我们对农业的理解、敬畏和尊重,凝结着我们健康优质水果的不懈追求^[13]。所以,对每一款产品,我们都根据其内质外质的不同特性和综合表现,提炼出其特有的精神内核,赋予其鲜活的生命力,让人很容易就将我们的水果与别的水果很好地区别开来,久而久之就会牢牢树立起其独特而鲜明的形象。

3.4 立足物联网建设,构建营销体系

一是建设广前水果产业大数据中心,实时收集有关水果市场信息、气象农情、新闻消息等相关数据,推动广前成为区域具有影响力的水果产业物流集散中心、价格形成中心、信息发布中心、科技交流中心、展览展示中心。二是抓好产业园建设的契机,争取与阿里、淘宝等国内领先的平台进行对接,加快构建集信息发布、展览展示、仓储购销、电子商务、检验检测等于一体的现代服务体系和仓储物流体系,打造线上交易、线下配送和期货市场、农超对接等现代流通模式,实现淡贮旺销、均衡供应^[14]。三是实施“互联网+现代农业”行动,推进现代信息技术应用于农业生产、经营、管理和服务,鼓励对大田种植等进行物联网改造,健全农业信息监测预警体系^[15]。大力发展名优特水果等特色农产品电子商务,完善配送及综合服务网络。按照电子商务“进农村、进社区、进企业、进市场、进园区”的发展思路,建立广前公司电子商务创业园。四是大力尝试促进广前的名优水果等特色农产品进高校、进企业、进机关、进超市,构建“线上线下融合、农超农校对接”的营销体系。五是积极推行现代营销模式。建立广前名优水果网购专用平台,适时共享和发布名优水果主产区和终端市场相关价格信息,实现区域有关水果及其制品线上线下销售有机结合。

3.5 依托水果产业,发展休闲农业

充分利用广前公司位于国家现代农业示范区核心区和国家现代农业产业园等优势资源,围绕特色水果产业做文章,大力发展一二三产业融合发展的综合休闲农业区,全方位全要素展示水果产业的特色。依托遂溪火龙果优势产业区,建设火龙果文化特色小镇,以火龙果栽培为核心,整合百果园采摘、火龙果多品种展示、火龙果补光栽培技术以及国内外火龙果文化等旅游资源,营造核心区产业园火龙果文化氛围,集生产、科研、收储、展览、避暑纳凉、采摘体验、烧烤烹饪、民俗风情于一体,成为农旅主体文化度假区、农旅文化科普教育培训

基地。依托农垦文化馆、航天农业馆、蔗糖文化馆，带动健康养生、科技创新、现代金融、信息产业、文化旅游、创意设计等服务业聚集发展，打造区域知名的农旅文化旅游区。实现传统农业——现代农业——休闲农业转变，推动广前公司农业全产业链相互渗透，将广前公司打造成为区域水果产业一二三产业融合发展先导区。

3.6 明确种植思路及目标，发挥种植端的示范引领作用

从当前实际出发，主要通过打造公司香蕉、火龙果、综合性名优热带水果三大基地为主要手段，充分发挥生产引领和综合示范展示的带动效应，助推公司水果产业的转型升级，力争 2025 年建成一批规模突出、综合水平高的优质水果生产示范基地。三大基地建设主要集成先进种植栽培技术、精细化管理理念、标准化栽培技术，力求通过高投入，最终实现水果高品质，取得良好的经济效益、社会效益。

通过种植端的深入发展，注重同步配套水果产业链冷链物流、果品分选系统等一系列的设备设施，最终实现水果产业的种植端良性与可持续发展。2025 年前种植完成的目标主要是夯实三大基地建设，第一香蕉基地，种植面积 3000 亩，经营方式主要以广前公司自主经营或者公有股份制经营。第二，火龙果基地，种植面积 2000 亩，经营方式主要以广前公司自主经营或者公有股份制经营。第三，培植壮大现有的广前水果公司（3000 亩），经营方式为自主经营，旨在建成精品果树生产示范园，立志建成湛江地区名优热带水果龙头企业。

通过自主经营和股份经营水果基地，示范辐射带动公司内部职工及周边发展水果种植，进而通过公司扶持一大批水果产品购销大户和购销组织，不断培育形成以专业批发市场为骨干、集贸市场为主体的城乡贯通的果蔬市场网络。进一步发挥广前水果产业公有经营部分的引领示范和带动效应，加快公司水果产业的升级。

参考文献

- [1]齐雪,高俊儒,刘新利,等.景县水果产业发展现状及规划[J].基层农技推广.2020,7:51-53.
- [2]盖明媚,刘丽,高秀玉,等.智利水果产业发展分析及启示[J].中国果树,2020,5:130-135.
- [3]王萍,卢琨.种植户视角下的供应链协调机制研究-以海南热带水果产业为例[J].热带农业科学.2019,39(12):96-100.
- [4]陈君婷,周汉杰,袁艺菲,等.水果产业发展调研报告-以化州市新安镇为例[J].广东蚕业.2020,54(07):87-90.
- [5]任建辉.构建新型农业经营体系的探索与实践[J].科技资讯.2014,12(05):218.
- [6]孙德俊.南京市水果物流配送模式研究[D].南京:南京农业大学,2013.
- [7]郭敏婧.CAFTA 框架下广西水果产业安全性研究[D].南宁:广西大学,2012.
- [8]程秉瑞.农业产业化发展现状及存在的问题和建议[J].种业导刊.2013,12:28-29.
- [9]唐述安.澧县果树生产现状及其发展对策[D].长沙:湖南农业大学,2003.
- [10]孙玮.互联网+背景下咸阳市农产品电子商务网络生态体系构建研究[D].西安:西安理工大学,2016.
- [11]韩长铭.R 果品公司营销组合及转型升级对策研究[D].成都:西南交通大学,2016.
- [12]王新娥.新疆特色果品营销策略研究[D].成都:西南财经大学,2011.
- [13]贾娟琪.兵团棉花购销体制改革研究[D].石河子:石河子大学,2014.
- [14]陈惠娟.把握机遇 主动作为 以改革创新推动科协事业新突破[J].科协论坛.2014,6:51-54.
- [15]周立夫.创新农村党员干部教育培训工作新路径[J].新长征.2014,2:50-51.

第一作者简介: 鲁胜德, 1970 年生, 男, 农艺师, 主要研究水果、甘蔗产业发展, 联系方式: 电话: 13702696321, 邮箱: gqgskjb@163.com。

通讯作者简介: 杨运萍, 1987 年生, 女, 农艺师, 主要研究方向为甘蔗、水果等热带作物栽培, 联系方式: 15013402211, 邮箱: gqgskjb@163.com。

不同光质 LED 灯补光对火龙果生长发育的影响

尤小婷¹, 李栋宇², 张曼其¹, 姚雷业¹, 张正贺², 刘伟清¹
广东省湛江农垦科学研究所, 广东湛江, 524000; 2.岭南师范学院, 广东湛江, 524000。)

摘要: 以火龙果为试验材料, 设计 9 种不同光质的 LED 灯进行补光处理, 以不补光处理为空白对照组 (CK), 通过比较不同光质补光处理的新芽数量、花芽数量、成花枝率、锤度、单果重和单产, 筛选出比较适宜的补光光质。结果表明, ZJ1 处理新芽数量最多, 但与对照组无差异显著 ($P > 0.05$); 补光处理的花芽数量和成花枝率基本高于对照组, 组间存在差异显著性 ($P < 0.05$), 且以 PTFDD 处理最高, 与对照组存在差异显著性 ($P < 0.05$); 果实发育曲线基本上呈现先急速增长, 然后缓慢增长的趋势; 果实锤度以 PTFDD 处理最高, 其次是 PTDJHG 处理, 两者均与对照组存在差异显著性 ($P < 0.05$); 果实单果重与对照组之间不存在差异显著 ($P > 0.05$); 单产以 ZJ2 处理最大为 2.97kg/株, 与对照组差异显著 ($p < 0.05$), 所有补光处理单产高于对照组, 大多数补光处理单产显著高于对照组 ($p < 0.05$)。

关键词: 光质; 火龙果; 补光; 新芽; 花芽; 成花枝率; 单果重; 锤度; 单产; 生长发育曲线

中图分类号: S667.9

Effects of supplementary light from different light quality light-emitting diode(LED) on the growth and development of Pitaya

You-XiaoTing¹, Li-DongYU², Zhang-ManQi¹, Yao-LeiYE¹, Zhang-ZhengHe², Liu-WeiQing¹

(Guangdong Zhanjiang State Farm Research Institute, Zhanjiang Guangdong, 524000; Lingnan Normal University, Zhanjiang Guangdong, 524000。)

Abstract: Taking pitaya as test material, 9 kinds in light-emitting diode(LED) with different light qualities were designed to treat the pitaya and no light treated as the control(CK). Comparing the Buds, Flower buds, Percentage of flowering of branches, Brix, Yield per plant of different light qualities, selected the suitable light qualities. The results showed that Buds in ZJ1 treatment was the best, but there was no significant difference between ZJ1 treatment and control group ($p > 0.05$), Flower buds and percentage in flower of branches in light qualities treatment was higher than that in control group ($p < 0.05$), and PTFDD treatment was the highest, significantly different from that of the control group ($p < 0.05$), fruit development curve showed a trend of rapid increase and then slow increase, fruit Brix was highest in PTFDD treatment, followed by PTDJHG treatment, there was no significant difference in fruit weight between the different groups ($p > 0.05$), and the maximum Yield per fruit of ZJ2 treatment was 2.97 kg/plant, which was significantly different from that of the control group ($p < 0.05$), the Yield per plant of all light supplement treatments was higher than that of Control Group, and most light supplement treatments were significantly higher than that of control group ($p < 0.05$).

Key words: Light Quality; Pitaya; Light supplement; Buds; Flower Buds; Percentage of flowering of branches, Brix, Yield per plant; Growth and development curve

火龙果 (*Hylocereus undatus* 'Foo-Lon') 是仙人掌科、量天尺属量天尺的栽培品种, 攀援肉质灌木, 具气根。分布中美洲至南美洲北部, 世界各地广泛栽培, 藉气根攀援于树干、岩石或墙上, 海拔 3-300 米, 集鲜食、加工、观赏、药用等于一体, 具有较高的经济、药用和保健价值^[1]。另外, 由于火龙果喜光耐阴、耐热耐旱、喜肥耐瘠, 具有投产快、开花到采果时间短、年采果批次多、产量高、市场需求缺口大等特点, 是我国热区产业调整和产业扶贫比较理想的亚热带水果之一^[2]。

火龙果是长日照植物, 但冬季日照时间不足, 目前还存在夏冬产季统筹不均匀、生产规模较小、配套技术不成熟等问题^[3-4]。实践证明, 利用火龙果灯光控花技术对火龙果进行补光处理, 可以实现提早或延迟开花, 实现反季节生产, 能使果农获得比较高的市场价, 也能增加果实生产批次, 提高产量和经济效益^[5-7]。但目前火龙果补光技术上, 使用什么光质灯光补光效果最好还未有定论, 不同火龙果种植户使用的灯具光质也各有不同^[3], 因此笔者通过设计不同光质灯光补光试验, 旨在获取最佳的补光光源, 通过灯光控花是实现其调节花期、实现优质高产, 为火龙果产业发展提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试验的灯具均为功率 15W 的 LED 灯, 具体参数见表 1。

表 1 不同光质 LED 灯的参数

| 代号 | 蓝光峰值波长 (nm) | 红光峰值波长 (nm) | 不同光质比例 |
|-------|----------------|----------------|-----------------|
| ZH1 | 450 | 656 | 红: 绿: 蓝 28:68:4 |
| ZH2 | 450 | 634 | 红: 绿: 蓝 24:73:3 |
| ZH3 | 450 | 661 | 红: 绿: 蓝 16:80:4 |
| ZJ1 | 453 | 665 | 红: 蓝 3:2 |
| ZJ2 | 453 | 665 | 红: 蓝 4:1 |
| ZJ3 | 453 | 665 | 红: 蓝 9:1 |
| PTFDD | 450 | 600 | 红: 绿: 蓝 23:75:2 |
| PTD | 450 | 593 | 红: 绿: 蓝 18:78:4 |
| PTJHG | 450 | 660 | 红: 绿: 蓝 19:79:2 |
| CK | | 不进行补光措施 | |

1.2 试验地点

试验地点位于广东省湛江农垦科学研究所基地, 地处南亚热带雷州半岛北部, 海洋性季风气候, 常年高温, 年平均气温 23.2℃, 终年无雪, 年均降水量为 1 417~1 802 mm, 年日照时长为 1 864~2 160 h, 年太阳辐射总量为 102~118 kcal/m², 积温 8 309~8 519℃。

1.3 试验方法

1.3.1 试验设计

选择“大红 1 号火龙果”作为供试品种, 在种植区内选 0.6 公顷试验基地, 采用 9 种不同光质的 LED 灯进行补光, 灯距间隔 1.5m, 灯到植株的距离为 50cm。试验为随机排列, 设 3 个重复, 以不补光为对照组 (CK)。

火龙果灯光控花试验补光时间为2020年1月5日至2020年5月1日，补光时间段为17:30-21:30，每天补光时长5小时。

1.4 试验处理

统计不同补光处理期间新芽数量、花芽数量、成花枝率（成花枝率=花枝数量/总枝条数量）、果实生长发育曲线、果实锤度、单果重和单产（单产是每株火龙果的产果重）。所有数据均在SPSS 21.0软件完成。

2 结果与分析

2.1 不同光质补光对火龙果生物学特性的影响

2.1.1 不同光质补光火龙果新芽数量

由表2可得，不同光质补光新芽数量最多的是ZJ1处理，平均为13.48个，其中CK处理与ZH1、ZH2、ZH3、ZJ1、ZJ2、ZJ3处理无显著差异（ $p>0.05$ ），与PTDJHG、PTD处理的新芽数量差异显著（ $p<0.05$ ），且不同灯光处理之间存在差异显著（ $p<0.05$ ），说明补光对促进新芽数量增加影响不大。

2.1.2 不同光质补光火龙果花芽数量

由表2可知，所有灯光处理火龙果花芽数量均高于CK处理，其中以PTFDD处理花芽数量最多平均为52.00个，且显著高于CK处理（ $p<0.05$ ）。另外ZH2、ZH3、ZJ3、PTD处理花芽数量均显著高于CK处理（ $p<0.05$ ），且不同光质处理间也存在差异显著性，说明不同光质处理对花芽数量有差异性影响，选择合适光质的灯光补光有利于增加花芽。

2.1.3 不同光质补光对火龙果成花枝率的影响

由表2可得，PTFDD处理成花枝率最高，且显著高于CK处理（ $p<0.05$ ），这与不同光质处理花芽数量的差异性结果一致。补光处理成花枝率基本高于CK处理，且存在差异显著性（ $p<0.05$ ）。说明补光处理有利于提高成花枝率。

表2 不同光质补光火龙果的新芽、花芽和成花枝率情况

| 处理 | 新芽数（个） | 花芽数（个） | 成花枝率（%） |
|-------|---------------|----------------|-------------|
| ZH1 | 10.93±3.59abc | 29.33±16.86abc | 0.01±0.09cd |
| ZH2 | 12.00±4.17a | 34.00±17.35ab | 0.20±0.05bc |
| ZH3 | 13.87±4.27a | 33.33±17.62ab | 0.01±0.09cd |
| ZJ1 | 13.48±1.61a | 17.33±10.26bc | 0.09±0.05cd |
| ZJ2 | 13.17±2.13a | 8.67±3.21bc | 0.06±0.03cd |
| ZJ3 | 10.76±4.62abc | 36.33±28.59ab | 0.19±0.17bc |
| PTJHG | 4.20±0.00d | 21.00±0.00bc | 0.01±0.01e |
| PTFFD | 6.40±1.00bcd | 52.00±1.00a | 0.38±0.16a |
| PTD | 6.00±0.00cd | 37.00±0.00ab | 0.32±0.00ab |
| CK | 11.47±1.53ab | 1.00±1.73c | 0.02±0.02e |

2.1.4 不同光质补光果实生长发育规律

图1和图2分别表示在不同光质补光条件下果实的生长发育曲线，果实最大是ZH1处理。由图可以看出2020年5月8日至2020年5月15日是果实快速生长期，2020年5月15日至2020年5月22日果实生长变缓慢，2020年5月22日至2020年5月29日果实生长缓慢趋向于成熟。

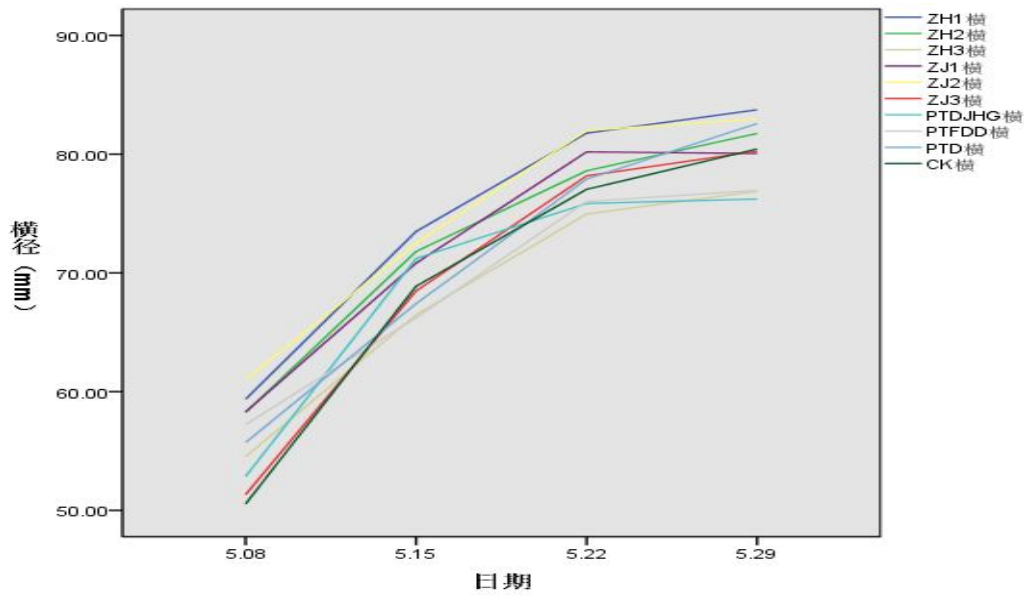


图 1 不同光质补光的火龙果发育曲线（横径）

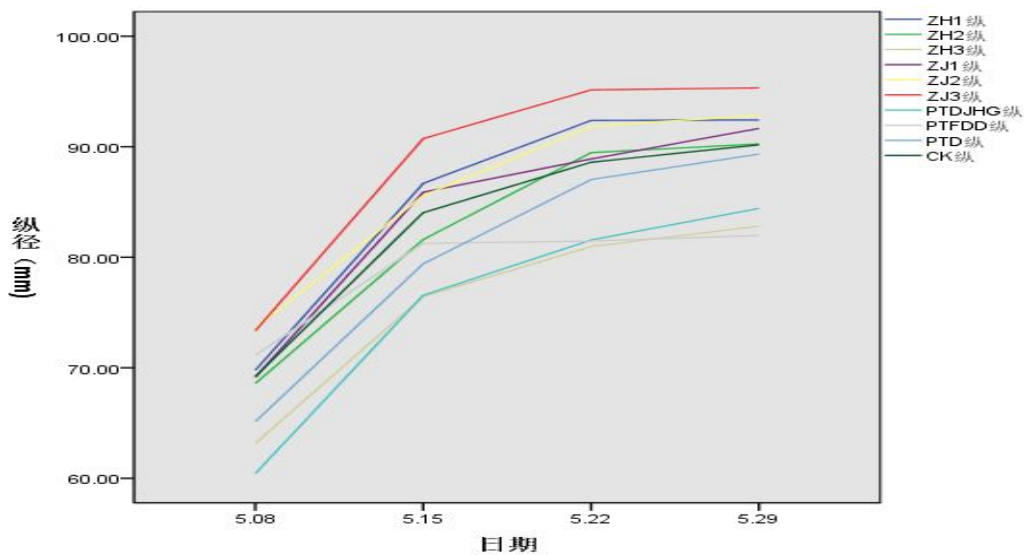


图 2 不同光质补光的火龙果发育曲线（纵径）

2.2 不同光质补光对火龙果果实品质的影响

2.2.1 不同补光处理对火龙果果实锤度的影响

从表 3 可得，PTFDD 处理锤度最高，风味最好，其次是 PTDJHG 处理，均且显著高于对照组 ($p < 0.05$)。其他处理与对照组无差异显著 ($p > 0.05$)。说明适宜的补光措施有利于改善火龙果的风味，提高商品性。

2.2.2 不同补光处理对火龙果单果重的影响

从表 3 可知，所有处理单果重与对照组差异均不显著，但不同处理间差异显著，其中 PTFDD 处理单果重最大，PTFDD、ZH1、ZJ3 处理单果重显著高于 ZH3 和 PTDJHG 处理。

2.2.3 不同补光处理对火龙果单产的影响

从表 3 可知，不同光质补光处理，单产在 0.50 Kg/株-2.97 Kg/株之间，其中 ZJ2 处理单产最大为 2.97Kg/株，与对照组差异显著 ($p < 0.05$)，所有补光处理单产高于对照组，大多数补光处理单产显著高于对照组 ($p < 0.05$)，说明补光处理有利于提高果实单产。

表 3 不同补光处理对火龙果果实品质的影响

| 指标 | ZH1 | ZH2 | ZH3 | ZJ1 | ZJ2 | ZJ3 | PTJHG | PTFDD | PTD | CK |
|-----------|-----------------|------------------|----------------|------------------|------------------|-----------------|-----------------|---------------|----------------|------------------|
| 锤度 (%) | 19.9 ± 0.70abc | 19.60 ± 0.61bcd | 18.82 ± 0.82d | 18.79 ± 0.70de | 18.69 ± 0.51de | 19.38 ± 0.71cd | 20.44 ± 0.44ab | 20.83 ± 0.00a | 18.33 ± 0.00e | 18.96 ± 0.40cde |
| 单果重 (g) | 383.24 ± 12.57a | 372.93 ± 76.06ab | 274.4 ± 14.28c | 354.30 ± 56.70ab | 374.21 ± 28.25ab | 382.72 ± 39.79a | 304.09 ± 39.85b | 390.9 ± 0.00a | 35.01 ± 0.01ab | 361.14 ± 14.83ab |
| 单产 (kg/株) | 2.81 ± 0.94ab | 1.90 ± 1.06ab | 2.08 ± 0.54abc | 2.81 ± 1.35ab | 2.97 ± 0.46a | 2.83 ± 0.48ab | 1.46 ± 0.00bc | 2.15 ± 0.98a | 0.74 ± 0.08cd | 0.50 ± 0.00d |

3 结论与分析

本试验结果表明,不同补光处理对花芽数量、成花枝率、单产、锤度影响存在差异显著性,而对新芽数量、单果重影响差异不显著。其中以 PTFDD 处理花芽数量、成花枝率和锤度表现最好,单产以 ZJ2 显示结果最高。补光处理的花芽数比不补光的多且存在差异显著性,这与陈心源等^[6]利用补光对火龙果的花芽分化数量的影响研究结果一致。

光质指不同波长的光谱,通过刺激不同光受体,影响植物的光合特性、形态建成、生理代谢等^[7]。光周期是影响植物开花的重要因素之一,对花芽分化、果实品质提高、面积产量等均产生重要影响^[8-10]。Demers 等^[11]研究发现,延长光周期有利于番茄的生长;李海云等^[12]研究发现延长光周期可以促进黄瓜增粗;赖瑞等^[13]研究,补光有利于提高火龙果的抽花蕾率;卓福昌等^[14]研究表明补光有利于诱导火龙果成花。结合本试验结果表明,选择适合的补光措施有利于提高火龙果生物学和果实的品质,达到人们想要的目的。

参考文献:

- [1] 黎舒. 火龙果不同品系品种植物学形态和生物学特性研究 [D]. 广西: 广西大学, 2014.
- [2] 曾曦, 胡桂兵, 秦永华. 广东省火龙果产业发展现状及对策 [j]. 中国果业信息, 2019, 36 (09): 9-12.
- [3] 濮文辉, 李洪立, 胡文斌, 等. 海南西部火龙果反季节生产考察 [j]. 中国热带农业, 2019, 79 (6): 28-30.
- [4] 赖瑞云, 张雪芹, 林建忠, 等. 补光对大棚火龙果冬季促花的影响 [j]. 亚热带植物科学, 2018, 47 (3): 286-288.
- [5] 陈丹, 范万新, 欧善生, 等. 不同光质 LED 灯对火龙果补光催花试验 [j]. 气象研究与运用, 2019, 40 (2): 51-55.
- [6] 陈心源, 田忍国, 沈林章, 等. 不同蓝红光比例二极管对火龙果花芽分化和果实品质的影响 [j]. 浙江大学学报, 2019, 45 (1): 14-22.
- [7] Saradhuldhath P, Kaewsongsang K, Suvittawa K. Induced Off-Season flowering by supplemented fluorescent light in dragon fruit (*Hylocereus undatus*) [J]. Journal of International Society for Southeast Asian Agricultural Sciences,

2009, 15(1):231-258.

- [8] Baurle I, Dean C. The timing of developmental transition in plant [J]. *Cell*, 2006(125):655-644.
- [9] Tran D H, Yen C R, Chen Y K. Flowering response of a red pitayagermplasm collection to lighting addition [J]. *International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering*, 2015, 9(2):175-179.
- [10] 肖图舰, 毛永亚, 王壮, 等。露地补光对贵州热区火龙果产值及产量的影响 [J]. *农技服务*, 2019, 36 (03): 46-47.
- [11] Demer D A D M, Wien G H. Effects of supplemental light duration on greenhouse tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) plant and fruit yields [J]. *Scientia Horticulturae* (Amsterdam), 1998, 74(4):295-306.
- [12] 李海云, 韩国徽, 任秋萍, 等。不同光周期对黄瓜幼苗生长的影响 [J]. *西北农业学报*, 2009, 18 (3): 201-203.
- [13] 赖瑞云, 张雪芹, 林建忠, 等。补光对大棚火龙果冬季促花的影响 [J]. *亚热带植物科学*, 2018, 47 (3) 286-288.
- [14] 卓福昌, 韦 优, 蒋娟娟, 等。火龙果补光催花试验初探 [J]. *中国热带农业*, 2018, 82 (3): 64-65.

红江橙产业情况及发展对策探讨

陈树华¹, 陈悦², 文尚华², 骆争明², 吴家武¹, 曹炳蓝¹

1. 广东省红江农场, 广东廉江 524490; 2. 广东省湛江农垦集团公司, 广东湛江 524022

摘要: 红江橙是我国名优柑橙品种, 原产地为广东省红江农场, 上世纪70年代培育成功, 1986年通过部级品种鉴定。红江橙选育成功后, 推广到广东、广西、海南等省区种植, 总面积最多曾达60多万亩, 衍生出廉江红橙、广西红江橙、海南琼中绿橙等区域性品牌。红江橙的选育与推广, 1986年获农业部科技进步一等奖, 1987年获国家科技进步二等奖。广东省红江农场是红江橙的原产地, 由于独特的土壤气候和环境条件, 近60年柑橘种植历史, 积累了丰富的产业经验, 并选用江西红桔作嫁接砧木苗, 所生产的红江橙具有果型适中、皮薄光滑、果肉橙红、肉质柔嫩、多汁化渣、甜酸适中等独特风味, 与非原产地产品相比有明显优势。本文就原产地红江橙品种起源、产品特色优势、市场竞争力、产业发展历程、品牌发展历史、品种改良情况、产业发展规划、产业发展瓶颈等方面进行回顾和分析, 并提出红江橙产业发展建议, 为做优做强做大红江橙产业, 满足市场需求和效益提升进行一些探讨, 以期形成产业发展共识。

关键字: 红江橙 红江农场 产业发展

一、红江橙的产业情况

(一) 品种起源

1971年, 红江农场科技人员在该场19队新会甜橙园中发现一株果肉为橙红色的变异植株, 这是最早的红江橙母株。1972年, 科技人员将红江橙母株芽条嫁接到苗圃园, 1973年, 第一代红江橙苗出圃, 首批种植面积200亩。1976年, 首批红江橙5吨试销香港, 市场反应热烈, 被消费者誉为比金山橙(新奇士)还好吃的“中国橙王”。

科技人员对嵌合体作了系统的四代筛选纯化, 定向选育, 获得了显著效果, 红肉果纯化率由第一代的89.41%, 上升到第四代的99.36%, 使红江橙在生物学特性、植株形态、红肉果性状等遗传上均表现出稳定性。通过多年的培育筛选, 科研人员成功地把红江橙培育成了一个早结、丰产、品质优良的红肉型甜橙新品种。1986年, 由华南农业大学教授黄昌贤、华中农业大学教授章文才共同主持, 红江橙通过了品种鉴定, 并被农业部正式命名为“红江橙”。

(二) 品种特色及优势

1. 产品品质好。 红江橙是我国少见的红肉型甜橙品种, 其果型适中、皮薄、鲜艳有光泽, 肉色橙红、肉质柔嫩、多汁化渣、甜酸适中, 风味浓郁, 维C含量高, 适宜鲜食和加工果汁。尤其是原产地正宗红江橙具有非常合适的甜酸比和浓郁的橙香味, 吃过后口感清香, 回味无穷, 与其他柑橘类产品相比优势明显。

2. 市场口碑好。 红江橙1976年试销香港就获得了消费者认可, 此后红江农场大力扩大种植面积, 1990年红江农场红江橙总面积达到20000亩, 年产量18000多吨。1980至1990年代, 红江橙在国内市场, 除广东省内是主要销售市场外, 还在上海、南京、北京、贵阳等大中城市成为明星水果。除在国内市场销售外, 红江橙还大量出口新加坡、马来西亚、香港、澳门等国家和地区, 为国家创汇5000多万美元。红江橙优异的品质已经过40年市场检验, 得到国内外广大消费者认可, 在国内被誉为“人间仙桃”, 在国外则被冠为“中国橙王”, 是我国柑橙的优良品种。

3. 品牌有一定知名度。 1987年, 红江农场就为红江橙注册了“红江”牌商标, 是我国第一批水果注册品牌。红江橙曾荣获中国名牌农产品、广东十大名果等荣誉称号, 以及多次被评为省部名优产品, 加上40年的品牌沉淀, 已经具有一定的品牌影响力和知名度。

4. 原产地产品优势明显。 红江橙原产地红江农场, 位于雷州半岛西北部, 廉江市西部, 该区域虽邻近南海和北部湾, 但均受近陆阻隔, 海洋性气候特征不完全, 降雨量相对较少, 年均降雨量约1500mm, 一般11月至翌年3月为旱季, 4-10月为雨季。夏季高温, 7月平均

温度超过 28℃，最高温度超过 36℃，1 月平均温度约 15℃，最低温度约 7℃。年平均日照时数 2045 小时，全年 10℃ 以上有效积温大于 8000℃。红江农场土壤为花岗岩赤红壤和砂页岩赤红壤。土壤土层厚度均在 1 米以上，质地为砂壤土，具有较好的保水保肥性能，有机质含量中等。由于独特的土壤气候和地理环境条件，并选用江西红桔作嫁接砧木苗，因此红江农场所生产的红江橙品质优异，原产地优势明显，非原产地很难复制。

（三）“红江”牌红江橙历年获得的荣誉

1978 年，湛江地区柑橘选种工作会议，把红江橙列为特等橙类；

1980 年，全国农垦南方水果会议品评 64 个柑橘品种，红江橙名列前茅；

1983 年，红江橙参加全国出口商品展览，荣获国家对外经济贸易部优质产品荣誉证书；

1984 年，由南方水果专家、华南农业大学教授黄昌贤主持进行了红江橙品质鉴定，获总分第一，被确认为一个值得推广的优良品种。同年被国家有关部门选定为国宴佳果，允许上国宴招待外宾；

1985 年，红江橙参加在南昌市召开的全国柑桔补评会，红江橙获总分第二，被评为全国优质水果，获银杯奖；

1986 年春，红江橙被评为全国优质水果，同年《红江橙的选育与推广》成果荣获农业部科技进步一等奖，同时被农业部正式命名为“红江橙”；

1987 年，《红江橙的选育与推广》获国家级科技进步二等奖；

1989 年，红江橙又再度被评为全国优质产品，获国家农业部优质产品奖；

2002 年，广东省环境保护局授予广东省红江农场“广东省生态示范场”称号；

2004 年，红江牌红江橙被广东省名牌产品（农业类）推进委员会认定为广东省名牌产品；

2004 年 11 月，农业部认定广东省红江农场为无公害农产品示范基地农场；

2006 年 3 月，农业部认定广东省红江农场红江橙生产基地为南亚热带作物名优基地；

2006 年 10 月，红江牌红江橙被农业部评为中国名牌农产品；

2012 年 12 月，红江橙标准化生产示范园被农业部认定为农业部热作标准化生产示范园；

2016 年，红江牌红江橙被国家质量监督检验检疫总局认定为生态原产地产品，准予使用生态原产地产品保护标志；

2016 年，红江牌红江橙被评为广东省十大名牌农产品，并被评为广东十大最具年味农产品。

2017 年，红江牌红江橙被评为南方奥斯卡十大养生产品。

2018 年，红江牌红江橙被评为第 16 届中国国际农产品交易会参展农产品金奖产品。

2019 年，红江牌红江橙被评为熊猫指南春季榜上榜产品。

2005 年起至今，红江牌红江橙一直被广东省著名商标评审委员会评为广东省著名商标；

1992 年起至今，红江牌红江橙被中国绿色食品发展中心认定为绿色食品 A 级产品。

2020 年，红江牌红江橙又被评为熊猫指南春季榜上榜产品。

（四）产品市场竞争力

红江橙市场竞争力已经过四十年国内外市场检验，上世纪 80-90 年代，红江橙大量出口到新加坡、马来西亚、香港、澳门等国家和地区，出口总量 18000 多吨，在同一卖场，红江橙销售价格比新奇士橙等品牌柑橘产品高；国内市场，上海、南京、北京、广州、贵阳等大中城市是红江橙的主要销售市场，销售价格比其他柑橘品种高 1 倍以上，曾经是上海市民的必备年货。

近几年，由于原产地红江橙产量不多（2019 年产量 6800 多吨，是 1996 年以后的最高年产量），物以稀为贵，平均销售价格 16 元/公斤，红江农场经品质分选的特优果销售价格为 60 元/公斤，已经是国内同类产品的最高销售价格。高品质红江橙虽然销售价格较高，但

产品仍供不应求，红江农场红江橙天猫旗舰店由于符合标准的产品供应不足，近两年都是元旦后即下架产品，没有产品满足消费者春节过节需求。

我国是世界第一柑橘生产大国，但高品质的柑橙品种不多，能够具有国际竞争力的柑橘产品更是少之又少。原产地红江橙凭借优异的品质、独特的口感、风味，能够在国际市场上占有一席之地，充分说明红江橙具有很强的市场竞争潜力，也符合农业供给侧结构性改革，减少低端无效供给，拓展中高端供给，增加销路好、品质优、市场缺的优质农产品生产，促进国内国际两个市场双循环的改革发展方向，做优做强做大红江橙产业，不断满足我国日益壮大的中产阶级对中高端柑橘产品的需求具有重要意义。

（五）红江橙产业发展遭遇的挫折

1. 柑橘黄龙病危害，使原产地红江农场红江橙产业遭遇毁灭性打击。

柑橘黄龙病是国际柑橘业界公认的头号杀手，我国植物疫病防控体系目前仍不完善，甚至还相当薄弱，因此，防控柑橘黄龙病形势还相当严峻。红江农场 1992 年开始发现黄龙病植株，1996 年就几乎全军覆灭，种植面积由近 20000 亩下降到 1000 亩左右，这个教训是相当深刻的。由于柑橘黄龙病蔓延，不但造成此后十几年红江橙在市场上几乎销声匿迹，也几乎毁掉了整个产业，毁掉了红江橙这个极具市场竞争力的产品和品牌。

2. 红江橙产业发展前瞻性研究不足，产业规划和布局滞后，资金投入不足。

红江农场 1996 年红江橙全军覆没后，农场经济陷入困境，没有能力在柑橘黄龙病防控、产业发展规划上做更多前瞻性研究，更没有资金及时布局重新发展，致使红江橙丧失了十几年我国经济发展最快的黄金时期。

（六）凤凰涅槃，产业重生

2012 年起，红江橙产业发展逐步走向快车道。原产地红江农场目前种植面积 11000 亩，预计今年总产量 8500 吨。红江橙同类产品廉江红橙、广西红江橙、海南琼中绿橙业内估计总种植面积 20 多万亩，预计今年总产量超过 15 万吨。

二、红江橙品牌发展和推广

1987 年，红江农场为红江橙注册了“红江”牌商标，是我国第一批水果注册商标。

上世纪 80-90 年代，红江橙生产和品牌发展受到高度重视，不但各级领导亲临视察、指导，著名音乐家贺绿汀还亲自谱写了“红江橙之歌”，每年红江橙在新加坡、香港上市，当地主流媒体如新加坡联合早报、香港星岛日报、文汇报、大公报等均在显著位置发布红江橙上市信息。国内的报纸、电视等也发表（发布）了大量红江橙相关文章、信息，红江橙在各类水果评选、评奖中更是所向披靡，连拔头筹。

但自 1996 年后，红江橙在市场销声匿迹 10 多年，虽然红江牌红江橙有 30 多年品牌历史，但原有消费群体对品牌认知已非常模糊，新生代消费群体对“红江”牌红江橙基本没有认知。因此，红江橙品牌推广工作基本必须从头做起。

近年来，红江农场通过采取多种措施和宣传渠道，加大品牌宣传和推广力度。

1. 2015-2017 年连续举办三届“正宗红江橙”采摘节，并组团参加廉江市“红橙节”，使粤西地区市民对红江橙品牌得到重新认识。

2. 通过电视台、报纸等传统媒体和互联网新媒体宣传，将红江橙品牌在全国进行推广。

3. 参加各种展会进行推广。如中国国际农产品交易博览会、广东省农业博览会、东盟农业博览会等。参与品牌网络投票，提高红江橙品牌知名度和美誉度。

4. 在淘宝、京东、本来生活等线上销售平台建立销售门店（天猫旗舰店、中垦天猫旗舰店、中林天猫旗舰店、京东湛江馆、本来生活网等），线下与水果（食品）连锁门店合作销售（佳鲜农庄、北京优之选等），将红江橙产品送到全国消费者餐桌。

三、品种改良及研究

产品品质是品牌的基础，没有好的产品，品牌只是空中楼阁，迟早会倒塌。

红江橙虽然品质优异，但也存在一些缺点：籽多，果实偏小。籽多影响口感，尤其西方人不适应。与其他甜橙类柑橘相比，红江橙果实明显偏小，影响了产品卖相。

针对红江橙籽多问题，上世纪 80-90 年代出口香港、新加坡就反馈回来了，所以红江农场、湛江农垦科研所和中国农科院柑桔所等单位合作，从 1980 年代末就开始少核红江橙科研攻关。

经过不懈努力，2015 年，红江橙少籽新品系“红优 3 号”种植示范园成功挂果，2016 年 12 月《红江橙少籽新品系红优 3 号选育与配套技术研究》通过湛江市科技成果鉴定，这是第三代少籽品系，品系特征：种植材料脱除了危险性病毒，果实外观在保留红江橙原有特征外更加美观，单果平均质量 176.2 克，优级果率达 33.46%，一级以上果率达 79.26%，单果种籽数量 5 粒以下，达到研究和口感要求，少核品系果肉更加细腻、爽滑、化渣，味道更清甜，口感相比老品系风味更佳。果实直径普遍达到 7.0cm 左右，有更好的商品卖相。

但少籽新品系“红优 3 号”还存在一些缺点：因示范园种苗砧木使用酸桔，初产树果皮较厚，超大果偏多（直径 7.5cm 以上），投产前期有易落果造成挂果数量少，产量偏低的情况（少籽种的普遍特征）。

因此，红江橙品种改良工作还任重道远。

四、打造百年品牌

为打造红江橙百年品牌，红江农场从以下几个方面着手，将品牌做优做强做大：

1. 建立示范种植基地。目前示范种植基地面积 3000 亩，并以示范种植基地为龙头，引导农户在优势核心区发展种植红江橙，目前核心区红江橙种植面积已达到 11000 亩。

2. 严格执行相关标准。现行红江橙栽培种植和产品标准有：《红江橙苗木繁育规程》（NY/T795-2004）、《红江橙主要病虫害防治技术规程》（NY/T1806-2009）、《鲜红江橙》（NY/T453-2001）等三个农业部行业标准以及广东省地方标准《绿色食品 红江橙生产技术规程》（DB44/T 357—2006）。其中，《鲜红江橙》行业标准已完成修订稿编制上报，待主管部门审批发布。

3. 制定企业标准。红江农场已制定《鲜红江橙》企业标准，正在试实施阶段，待《鲜红江橙》行业标准修订版本发布后再提交主管部门备案。

4. 已建立红江橙农产品质量追溯系统。

5. 建立分选加工中心，引进国内先进的智能分选加工设备，产品清洗、保鲜处理、大小（重量）、颜色、外表瑕疵甚至内部品质（糖度、酸度）实现机械智能化处理。

6. 已配套建设冷链保鲜仓库 1200m²和常温保鲜仓库 3600m²，年均可贮存红江橙鲜果 3000 吨以上。

五、产业发展规划

创建红江橙中国特色农产品优势区，已向国家相关部门申报，并已进入公示后的审批阶段。

特色优势区规划设想：力争到 2023 年，湛江垦区红江橙种植面积达 15000 亩。以市场为导向，科技创新为抓手，建设红江橙产业园核心示范基地 3000 亩，继续优选纯化培育应用红江橙脱毒少核新品种，科学防控黄龙病，集成推广高产、优质、高效、生态、安全的标准化生产技术，加快商品化处理和保鲜技术的应用，提高垦区红江橙的产量和品质。实现平均单产达 1 吨/亩，鲜果优质果率达 65%，年产鲜果 1.5 万吨以上，年均产值达 1.5 亿元。新建省级以上龙头企业 1~2 家，创建新型知名品牌，打造建成“中国领先、对接世界”的现代红江橙产业集团（红江橙优势区），以带动红江橙产业带向可持续高质量方向发展。

六、产业发展瓶颈和存在问题

1. 柑橘黄龙病仍然是威胁红江橙产业发展的头号敌人。红江农场通过种植脱毒无病种苗、大袋育苗、加强田间管理等综合防控措施，遏制柑橘黄龙病蔓延势头，已取得了一定成效，

延长了红江橙树的经济寿命，但目前技术水平还无法根治柑橘黄龙病，防控成本也较高，希望能与国内科研院所加快合作技术攻关，早日解决柑橘黄龙病的困扰问题。

2. 目前红江橙种植区红江橙品系鱼龙混杂（接穗和砧木材料不同），品质差异相当大，影响了整个产业的发展和产品声誉。目前，除了红江农场 80%以上为江西红桔砧木芽接苗木外，广东省内其他地方、广西区、海南省等种植的红江橙同类产品，80%以上为柠檬砧木或其他砧木类芽接苗木。柠檬砧木芽接苗，果较大，早结，丰产，早熟，农户喜欢种植，但皮厚、橙味淡、甜酸比不佳、不化渣、肉质纤维化严重，与江西红桔砧木芽接苗的果实质量存在明显的差距。如果任由这种状况继续下去，将严重影响整个产业的健康发展和壮大。

3. 相关标准未能及时修订应用，行业执法监管欠力。如：行业标准《鲜红江橙》从制定到修订时跨近 20 年，营养诊断施肥技术研究还没有形成系统性，对红江橙农资投入、品质控制没有完整系统定量标准，在种苗生产和使用监管方面也相对欠力。

4. 产品深加工与综合利用产业链尚未形成。重生产轻加工是我国柑橘产业存在的普遍问题，红江橙桔橙组织嵌合种质特性，决定生产上会有比较大的甜橙和次品橙产生比例，这部分次品约占总产的 20%左右，其鲜果卖价一般较低，客观上要对其进行加工处理，以有效提高产业的总体效益。

5. 品牌推广和产品营销投入不多，力度不够。亟需建设与时俱进的高水平品牌推广营销团队。

6. 品牌保护工作跟不上，假冒商标、包装问题非常突出，“劣币驱逐良币，李鬼干掉了李逵”现象常有发生。

七、产业发展难题破解措施建议

1. 应加强健全红江橙种苗繁育标准、准入制度和监管体系建设，坚决杜绝带病不合格种苗的生产使用。

2. 定点培育无病红江橙优质种苗，推广大苗种植，提早投产和延长橙树经济寿命，减少感染黄龙病机会。

3. 逐步淘汰低劣品系，大力推广种植江西红桔嫁接苗木和“红优 3 号”少籽品系及配套生产技术，提高整个产业产品品质。

4. 抓紧修订完善栽培管理技术标准，加强营养诊断和测土配方施肥方面技术研究应用。

5. 相关科研院所、大学和龙头企业应加快红江橙产业深加工与综合利用技术联合研发，尽快解决红江橙深加工产业落后状况，补齐产业链短板。

6. 加强品牌建设和品牌推广，提高品牌知名度、美誉度，着力打造我国红江橙百年品牌。不断拓展销售渠道，提高服务水平，方便消费者购买红江橙产品。

7. 加强品牌保护，加大打假力度，保护知识产权，为产业龙头提供良好的市场经营环境。这方面政府应该起到主导作用。

8. 健全红江橙产区综合服务体系，结合橙园观光农业、产地市场、红橙文化和社区服务，配套金融、保险和信息技术服务，打造红江橙产业特色园区经济文化综合体，通过红江橙产业升级和特色优势区建设，发挥示范带动作用，促进区域经济社会高质量发展。

第一作者：陈树华，现任广东省红江农场副场长，出生年：1963 年，性别：男，职称：经济师，长期在广东省红江农场从事企业经营管理、红江橙生产、营销管理工作。联系方式：电话：18320425266，QQ：59353332，邮箱：59353332@qq.com

通讯作者：陈悦，广东省湛江农垦集团公司副总经理，邮箱：zjnkj07@126.com

加快推进品牌化建设 全面提升农垦竞争力

刘胜利¹，陈悦²

(1 广东省友好农场，2 广东省湛江农垦集团公司)

摘要：本文就湛江农垦开展农业品牌化建设情况进行了总结，指出湛江农垦近年来大力实施名牌战略，争创名牌产品取得的丰硕成果和存在问题，并提出了加快推进品牌建设的对策与建议：一是推行农业标准化生产，打牢品牌培育基础；二是纵深推进农业产业化经营，做大品牌培育主体；三是加强品牌创新设计，高位推动宣传农垦品牌；四是整合市场资源，增加销售力度，发挥农垦品牌效应；五是加大培训和政策资金的扶持力度，培育和发展农垦新农业品牌；六是打造优秀农垦企业文化，提高农垦知名度，为农垦品牌的推广和宣传奠定基础。旨在围绕产业经营创新，通过加快推进农业品牌化建设，全面提升农业整体竞争力提供参考。

品牌是农业现代化的核心竞争力，是农业现代化水平的核心标志。加快推进农业品牌建设已经成为我国转变农业发展方式和加快推进现代农业的国家战略。推进农业品牌化建设可以有效地引导土地、资金、技术、劳动力等生产要素向优势产业、优势产品聚集，充分挖掘资源优势，加快实现农业增长方式由数量型、粗放型向质量型、效益型转变。从世界发达国家的农业发展看，都无一例外的把培创品牌产业、名牌产品作为现代农业的重要内容，如法国的葡萄酒、荷兰的花卉、澳大利亚和新西兰的畜牧业、美国的柑桔，都不仅在国际上具有较高知名度，也是本国现代农业的标志。在新农业文明时代，农垦作为农业领域的领头羊，在农业消费升级的大背景下，在国家供给侧改革调整的战略形式下，我们更是要大力实施农产品品牌战略，创建出有市场影响力、有价值的品牌，进而实现农垦资源优势转型升级的战略途径。因此，如何加快推进农业品牌化建设，全面提升湛江农垦农业整体竞争力，已成为农垦农业发展与新农村建设进程中急待解决的重大论题。本文就湛江农垦开展农业品牌化建设情况进行了总结，指出湛江农垦近年来大力实施名牌战略，争创名牌产品取得的丰硕成果和存在问题，并提出了加快推进品牌建设的对策与建议，旨在围绕产业经营创新，通过加快推进农业品牌化建设，全面提升农业整体竞争力提供参考。

一、湛江农垦品牌建设情况

湛江农垦创建于 1951 年。现已发展成为以开发、种植、加工热带和亚热带作物为主，集生产、科研、经营于一体，一二三产业均具规模的大型国有农业企业集团。现有土地总面积 172 万亩，一级企事业单位 34 家（企业 27 家，事业 7 家），总资产 80.96 亿元，总人口 14.15 万人（在职职工 1.67 万人，离退休人员 3.42 万人）。近年来，湛江农垦以其大基地、大企业、大产业和市场化、专业化、组织化等优势，勇担保障国家战略资源和城市安全食品有效供给的责任，构建“2+5”产业体系，巩固发展橡胶产业基地和蔗糖产业基地，做强做优剑麻、半岛果蔬、房产物业、医疗健康养老和农业休闲旅游等主导产业。先后被定为我国首批国家现代农业示范区和国家现代农业产业园，建有全国规模最大的甘蔗全程机械化试验示范基地和节水灌溉基地，全国最大甘蔗赤眼蜂生物防治基地等，拥有“三叶”牌菠萝罐头、“红江”牌红江橙、“雄鸥”牌蒸青绿茶等中国名牌农产品。截止 2019 年为止，垦区注册的农业品牌共有 12 个。其中已有 2 个中国名牌产品、2 个中国名牌农产品、2 个国家免检产品。同时，有 9 个广东省名牌产品，7 个广东省著名商标，6 个国家 A 级绿色食品基地，5 个农业部亚热带作物标准化生产示范园，4 个亚热带作物名优基地，3 个质量追溯基地，1 个有机食品生产基地，1 个国家地理标志保护产品基地，1 个广东省生态农场。这是湛江农垦近年来大力实施名牌战略，争创名牌产品取得的丰硕成果。

二、湛江农垦品牌建设存在的问题

农垦尽管历史悠久，文化底蕴丰厚，但在农业领域的市场营销、品牌创建相对滞后，很

多产品的销售市场多为自然形成。绝大多数情况还处于批发、零售交易状态或者仅在原产地流通。优势也仅体现在在技术、原料、基地上，在最应该发挥作用的消费者市场影响力较低，没有将资源优势转变为市场优势，也没有从产品优势转变为品牌优势。垦区农业领域品牌存在的问题，主要是品牌流失、品牌维护、经营管理、市场营销及广告投入与现代农业品牌发展需求尚有一定差距。主要表现在：

1、企业生存和品牌成长环境不理想，致部分优势品牌流失以及留存的品牌技术创新、产能转化力较低。我们湛江农垦是已成立了 67 年国企，农垦人最大的特点就是淳朴善良，但对新事物的接受度和适应不是很快，如培育和壮大一些品牌，做的很不够。我记得我是 92 年参加工作，当时海鸥红茶厂正在搞茶叶蒸汽杀青技术攻关，也就是改传统锅炒青为蒸汽杀青。蒸汽杀青在我国历史悠久，但茶的青草气没有解决，这也是国内消费者难以接受的主要原因。如何消除青草气、水闷味、苦涩味，从而综合炒青茶与蒸青茶优点，克服缺点，是我们主要的研究方向。经过 3 年多的技术攻关，解决了这个问题，使我们的绿茶香气具有熟板栗香，滋味鲜爽，达到了绿茶要求的“外形色绿、汤色清绿、叶底嫩绿”的三绿品质特征。当时这个技术得到了省、农垦局的奖励（省级科技进步三等奖和农垦一等奖）。但对这个技术是否要报专利，农场领导却为了省钱而没报专利，采取的办法是蒸汽杀青生产线不能被参观来保护，结果是仅仅过了五年，我们就在广西龙州广西茶科所看到批量生产的蒸汽杀青机械，也正式宣告蒸青茶这个品牌流失。

2、企业对品牌建设重视程度不够。农垦企业对品牌建设重视不够，产品销售大多走大宗货或批发市场，与现代电商产品要求尚有一定差距，没有充分发挥品牌效应。如我们现在销量较大的茶叶、菠萝罐头、红江橙，茶叶现在 15%左右是小包装销售，而绝大多数还是采取散装销售；菠萝罐头也是面向市场终端产品如 230、227 也是不到 10%，绝大部分是为喜之郎、娃哈哈提供原料。

3、资源整合不够。部分产业基础较好的企业（农场）坐拥资源但没有合理规划产业布局发展，同一个系列品牌开发较多较混乱，基地缺乏规范化、标准化管理，产业配套不够完善，限制了农产品品牌的价值提升。

4、品牌营销机制不合理，无专业的品牌推广团队。农垦品牌多为农场职工自行推广，人员也无相应的农产品市场营销经验，多以生产兼营销为主，目前仅有红江、红星农场成立了营销中心，广垦雄鸥茶业公司和收获罐头厂设立了销售部，但人员配备也相对薄弱。其他品牌单位也缺乏从农产品生产、营销策划、销售实施连为一体的综合服务团队，较难融合现代农产品的营销。同时，销售市场多为自然形成，销售渠道比较局限、传统。销售形式绝大多数情况处于批发、零售交易状态或者仅在原产地流通，产品价值没有充分挖掘，品牌传播途径单一、空间狭小。

5、品牌宣传投入不足。每年仅靠携带产品参加一些展销会进行宣传，以及垦区内、当地报刊和少部分广告牌投入，借助现代网络宣传较少、项目建设预算上基本没有产品宣传投入这一项。

6、高层次专业培训较少。垦区的品牌建设培训场次较少，很多培训还仅停留在传统的理论培训，与现代品牌营销尚有差距。

7、农垦优秀文化有被淡化现象。湛江农垦从上世纪 50 年代建垦到现在已有 60 多年历史，在长达半个多世纪的发展过程中，沉淀了许多优秀的企业文化传统。但因没有对这些文化进行过系统的挖掘、梳理、总结、完善和升华形成一套系统的农垦企业文化，加之经济社会的深刻变革，使得现在农垦人对农垦文化的认识越来越淡薄，老一辈农垦人遗留下来的优秀文化传统有被淡化和丧失的危险。

三、湛江农垦建设品牌的优势

湛江农垦创建于 1951 年，从新中国的橡胶事业起步，历经六十余年，现已发展成为一

个以开发、种植加工热带和亚热带作物为主，集生产、科研、经营、服务于一体，一二三产业均具规模的大型国有企业集团，隶属于广东省农垦集团公司。湛江农垦地处祖国大陆最南端的雷州半岛，主要从事糖蔗、剑麻、水果、橡胶、林木、生猪、奶牛、肉牛等产业的种植（养殖）、加工、销售一体化经营，总部设在湛江市，地理位置优越，自然资源丰富。垦区位于亚热带区域，光、热、水资源丰富，土地集中连片，适合大面积开发。得天独厚的战略位置，优良的开发条件，为湛江农垦经济的迅速发展提供了良好保证。现湛江农垦在雷州半岛广袤辽阔的红土地上，逐步建立了蔗糖、剑麻、畜牧、水果、橡胶、林业、茶叶七大生产基地。蔗糖、橡胶、剑麻、亚热带水果、畜牧养殖是垦区的5大优势产业。产品品种丰富、种植农产品历史悠久，有可规模化的土地、可控制的标准化种植管理，专业的技术化人才队伍。使产品质量和供给可以得到有力保障，具备了产业化、品牌化发展的优越条件。

四、加快推进品牌建设的对策与建议

1、推行农业标准化生产，打牢品牌培育基础。农业品牌的核心是品质，而优良的品质必须以标准化生产为基础。从垦区目前情况看，推行农业标准化要着重在建立健全“四个体系”上下功夫。一是农业质量标准体系。要认真借鉴国家标准和国际通行标准，特别是进口国标准，高起点制定和修订主要农产品生产技术规程，使农产品的生产、加工等环节尽快采用具有国际先进水平的技术标准和操作规程，与国际市场接轨。二是农产品质量安全检测体系。要切实增加垦区检测中心的投入，提高装备水平，增强检测能力，打造具有国内领先水平的区域性农产品检测机构，逐步实现对农产品从“田间到餐桌”的全过程质量管理。三是农产品质量安全监控体系。要尽快研究出台相关意见，安排专项资金，建立农产品例行检测制度，定期对农产品生产基地和批发市场开展质量检测，把质量安全监管关口前移，防患于未然。要积极引导农产品加工企业建立农产品质量安全可追溯制度。四是农产品质量认证体系。要建立奖励激励机制，鼓励开展农产品“三品”认证、商标注册和名牌评选认定以及国际认证。对垦区的一些传统和优势品牌农产品，要积极申报国家地理标志保护产品、国家地理标志证明商标和国家农产品地理标志，农垦要争取加入国际地理标志产品保护组织，打造农业产地品牌。

2、纵深推进农业产业化经营，做大品牌培育主体。农业龙头企业、专业合作组织是农业品牌经营的主体。发达国家的经验和农垦的实践证明，一家一户的分散经营方式，不可能培创出市场竞争力强的农业品牌，必须要大力发展农业产业化经营，做大做强农业龙头企业，培育发展专业合作组织。要以“中国农垦”公共品牌为背书，对农垦的农产品品牌进行整合，对同系列如糖系列、剑麻系列、茶叶系列、果蔬系列同品牌的进行合理兼并和收购，最终将农垦高质量、高标准的农产品品牌全部纳入“湛江佳农”商标旗下统一推广。加快品牌形式由数量型、粗放型向质量型、效益型转变，使“湛江佳农”成为高品质品牌的标杆，实现与农场间的资源互补和资源共享，降低品牌运行成本。

3、加强品牌创新设计，高位推动宣传农垦品牌。依托大央企农业国家队，培育知识型品牌，对现有品牌进行创新设计，尝试添加新元素：可以是时尚化元素，也可以是特色人文环境元素，如：三叶牌菠萝罐头（包装盒尽量少一些文字元素宣传，时尚化设计）；雄鸥牌茶叶（可以增加海洋茶或知青元素）等。同时，建议对同一个品牌，创新开展线上包装和线下包装不同风格的产品包装设计，提升产品溢价。在品牌推动上，需要企业各级领导高度重视，积极申报评审和建立品牌建设长效机制，积极参展国内外大型农产品展销活动；在宣传推广方面，以农垦特色为背书，足资源禀赋，定位清晰、目的鲜明，取产品的核心价值塑造产品品牌的黄金支点，从历史文化层面夯实品牌根基，依托传统媒体（cctv7 电视现场录制、广播、报刊《中国农垦》杂志、中国农垦（热作）网等），新媒体（互联网、APP、微信等），活动赞助（体育赛事、文艺演出、社会事业），户外广告（广告牌、车体、电梯、饭桌等）；以及网红直播、网络直播、网络游戏、VR技术等，全力打造“湛江佳农”成为以生态、绿

色、安全、健康为核心的高端农产品品牌。

4、整合市场资源，增加销售力度，发挥农垦品牌效应。农业品牌化建设的最终目的，是使品牌农产品进入市场，在流通中获取高额利润。因此必须把销售环节作为农业品牌化的重要环节，牢牢抓在手上。要实行销售层级管理，利用专业化销售团队+全员化销售模式相结合，建立合理的激励机制，充分调动营销团队的积极性。线下、线上同时发力。线下要对接大的批发市场、大的超市、大的加工或营销企业。如：中国农产品协会、北京新发地批发市场，这些平台都很大，可以充分搭线利用。线上大力发展农产品电商，鼓励职工做微商，主动对接阿里巴巴、京东、苏宁等成熟大型电商企业。

5、加大培训和政策资金的扶持力度，培育和发展农垦新农业品牌。品牌建设是一项专业性较强的工作，垦区各品牌企业应该加强专业人才的引进和培训，同时，对职业经理人及产品销售员要加强培训，让大家对现代品牌建设、支持品牌建设，以及如何提升品牌管理水平有进一步的了解，将品牌意识纳入日常工作生活中。同时要充分发挥政策的导向作用，激励农垦企业组织积极培育和发展农业品牌。对名牌产品生产企业，在技术改造、科研立项、银行贷款等方面优先安排。对创品夺牌，获得国家级驰名商标、省级驰名商标的或其他重要荣誉称号的，上级相关部门应设计要给予奖励，鼓励企业提升品牌影响力。

6、打造优秀农垦企业文化，提高农垦知名度，为农垦品牌的推广和宣传奠定基础。企业文化是企业的灵魂，是支持企业生存、发展的强大精神财富和核心竞争力。湛江农垦从上世纪50年代建垦到现在已有60多年历史，在长达半个多世纪的发展过程中，沉淀了许多优秀的企业文化传统。因此，我们要对这些文化进行过系统的挖掘、梳理、总结、完善和升华形成一套系统的农垦企业文化，要加强农垦企业文化建设，打造优秀企业文化。一是要树立企业与职工命运共同体意识。要培育“以人为本、以场（司）为家、以农垦为荣”的价值理念，把农垦企业的发展与干部职工的职业发展有机结合，增强他们的积极性、主动性和创造性，把企业的生产经营转化为每一位职工的具体责任，使每个农垦职工都变成农垦品牌的宣传员。二是去粗取精，总结提炼，对农垦文化进行升华再造。要对农垦企业现有的价值观、传统习惯、经营理念、管理哲学、工作作风中的积极因素进行分析、总结、提炼，对不合时宜的文化进行改造升华，形成农垦企业特有的制度文化，保证企业分工协作、井然有序、高效运转。三是加强文化阵地建设，增强企业的社会影响力和感召力。要创新企业外在形象建设，包括企业的外貌、产品的包装设计、企业的文化体育生活设施和文化传播的载体等，要既有创新，又不失农垦特色，提高农垦知名度，为农垦品牌的推广和宣传奠定基础。

作者简介:刘胜利,男(1968-),陕西蒲城人,高级农艺师,1992年毕业于西北农业大学植物保专业,2009年取得海南大学农村与区域发展专业农业推广硕士学位。现任广东省友好农场党委副书记、常务副场长。主要从事甘蔗、茶叶、菠萝、橡胶等农作物农技推广及农业机械化推广工作。电话号码:13827147189 E-mail地址:yhliusli@126.com。

雷州民系传统农业技术知识调查

——以雷州市博袍村为例

贾岛

广东农工商职业技术学院，中央民族大学

黎智

广东农工商职业技术学院

贾岛，1986年6月，男，讲师，博士研究生，民族生态学专业，研究方向：传统生态知识

摘要：传统农业知识因其具有社会可持续发展、生物资源可持续利用等相关特性，可对生态文明建设、美丽乡村建设和增强文化自信具有一定的推进作用。雷州民系在独特地自然条件和文化基础的共同作用下，形成了与众不同的创造了独特的传统农业生产实用技术和生产与生活方式。根据我国环境部生物多样性相关传统知识分类、调查与编目技术规定，以博袍村为代表的雷州民系传统农业知识可包括滨海沙土洋田轮作技术、田-畜共生系统、滨海盐土驯化技术等传统农业技术知识。

关键字：传统知识；传统农业知识；雷州民系

一、传统知识的重要性

虽然不同的组织机构，对于传统知识（Traditional Knowledge）有着不同的侧重和表述，诸如传统生态知识（Traditional Ecological Knowledge）、传统环境知识（Traditional Environmental Knowledge）、土著知识（Indigenous Knowledge）、乡土知识（Native or Vernacular Knowledge）、地方性知识（Local Knowledge）、本土技术知识（Indigenous Technical Knowledge）、非物质文化遗产（Intangible Heritage）等^[1,2]，但普遍认为传统知识有着重要的研究价值^[3]。

在《生物多样性公约》第8（j）条和第10（c）条中，都提及了尊重、保护、鼓励与生物多样性的保护和可持续利用相关的传统知识；联合国环境与发展大会也在《21世纪议程》的第26章中承认和保护传统知识；世界知识产权组织（World Intellectual Property Organization, WIPO）也组织了知识产权与遗传资源、传统知识及民间文学艺术表达政府间委员会（Intergovernmental Committee on Intellectual Property and Genetic Resources, Traditional Knowledge and Folklore, IGC）；世界贸易组织（WTO）更是将《与贸易相关的知识产权协定（Trade-Related Aspects of Intellectual Property Rights, TRIPS）》作为支柱法律框架之一^[4,5]。此外，联合国教科文组织（UNESCO）、联合国开发计划署（UNDP）、世界银行、生物多样性与生态系统服务政府间科学政策平台（IPBES）、世界卫生组织（WHO）等，都展开了传统知识保护的相关工作^[5,6]。

我国也在《国家知识产权战略纲要》中明确了“建立健全传统知识保护制度”、“扶持传统知识的整理和传承，促进传统知识发展”的战略方针，并对中国传统知识分成了5类：传统利用农业生物及遗传资源的知识、传统利用药用生物资源的知识、物资源利用传统技术创新与传统生产生活方式、与生物资源保护与利用相关的传统文化与习俗、传统地理标志产品^[7,8]。

尤其是自十八大做出“大力推进生态文明建设”的战略决策以来，不少学者认识到传统

知识因其在技术实践、制度保障和精神支持等方面的作用^[9-11]，与人与自然和谐共生的可持续发展有着密切的联系，可以成为生态文明建设中的资料库和稳定器，进一步推动工业文明向生态文明转型^[10,11]。同时，传统知识也被认为是文化自信的体现和美丽乡村建设的重要根基^[12,13]。

二、传统知识的研究方法

自 80 年代传统知识（TEK）这一概念被广泛使用和研究以来^[14]，经过长期实践，国际、国内均已经形成了较为成熟的调查研究方法。Huntington 总结的四类传统知识调查方法，即半结构式访谈、问卷调查、分析研讨会和实地协作^[15]，已经广为利用在相关研究方面。Butler, Davidson-Hunt, O'Flaherty 和 Martin 等人^[16,17]也在此基础上进行了实践和补充，并形成了世界银行土著知识与实践数据库（Indigenous Knowledge and Practices）和传统生态知识优先技术数据库（Traditional Ecological Knowledge Prior Art Database, TEKPAD）等调查成果。

而我国也在实践案例的基础上，形成了以半结构式访谈、调查问卷、参与观察、滚雪球法为主的一系列传统知识调查方法，并制定了包括文献调查、实地调查、生态学调查、关键人物访谈、问卷调查、参与式调查等具体步骤的《生物多样性相关传统知识分类、调查与编目技术规定（试行）》和《全国中药资源普查技术规范》^[18,19]。

其中，因我国生态环境部编纂的《生物多样性相关传统知识分类、调查与编目技术规定（试行）》规范了传统知识的分类，将其分为传统选育农业遗传资源的相关知识、传统医药相关知识、与生物资源可持续利用相关的传统技术及生产生活方式、与生物多样性相关的传统文化、传统生物地理标志产品相关知识等共 5 类 30 项^[5,8]，因而在众多传统知识调查方法当中提供了较为规范的指导，尤其适用于传统农业知识的相关调查。

三、调查对象与方法

广东省雷州半岛的雷州民系，数千年以来融合了古越人的俚僚文化和不同时间、多批次的广府、闽越、中原移民文化，在长期集中居住和共同影响下，形成了与其他地区不同的热带半岛海洋文化^[20,21]。并在长期的生产生活实践中创造了独特的传统农业（包括农业、林业、畜牧业、渔业和其他相关产业）生产实用技术，以及基于这些技术而形成的传统生产与生活方式。

本次调查选取了雷州市博袍村为调查地点，按照生物多样性相关传统知识调查与分类标准，运用了参与式农村评估（Participatory Rural Appraisal，简称 PRA），非结构性访谈（Unstructured Interview）、半结构访谈（Semi-structured Interview，简称 SSI）、关键人物访谈（Key Informant Interview）、滚雪球法（Snowball Sampling）等方法，结合相关文献记载，收集雷州民系所特有的传统农业生产技术知识，以及基于该技术的传统生产、生活方式相关知识进行记录。

博袍村位于广东省雷州市企水镇，属雷州半岛西侧。面积 106 平方公里、总人口 56947 人，耕地面积 1980 公顷，海岸线 37 公里，开发利用的浅海滩涂 5.6 万亩^[22]。该村土壤主要以滨海沙土、滨海盐土为主，结合部分火山岩基质砖红壤土^[22,23]，光照充足、气候干热，平均日照 2003.6 小时，年总辐射量 108-117 千卡/平方厘米，雨季（4-10 月）降水量大、旱季干燥，年降雨量 1358 毫米，干湿季明显，受台风影响较小。全村共计 200 户，其中 90% 以上为邓姓，相传为 600 年前邓氏先祖自福建迁至雷州，再迁至博袍村定居。而博袍村建村历史则更为久远，其村名据考证既为使用壮、侗语族的古越人所遗留，可意译为“海湾口”

[23]。村北背靠博袍岭，东靠麻茂山（既壮、侬语族中“猪村坡”之意），西侧距北部湾海岸2公里，南接田头村。

四、调查结果

根据《生物多样性相关传统知识分类、调查与编目技术规定（试行）》，调查结果包括了1) 传统知识概况；2) 传统知识的内涵与特征；3) 传统知识产生历史、价值与利用效益；4) 传统知识受威胁因素；5) 保护和传承措施，共五项内容。调查结果如下：

（一）滨海沙土洋田轮作技术

1、背景信息

“洋田”，在雷州民系语境当中即为平坦的耕地。因雷州半岛多为第三纪玄武岩基底与第四纪浅海沉积物所构成，且雨季降雨量大、河网密布，在历史上曾经沼泽连绵、水草纵横。自唐宋以来，经过长期以往的水利建设和垦殖耕作，将雷州半岛上大量滩涂、河岸、沼泽等湿地进行改造，成为高产且平坦的良田，即洋田。

博袍村洋田属一般意义上洋田的一种特殊情况。博袍村洋田其基底多为浅海沉积或沿海滩涂，经历多年自然冲击沉积和人工围海造田而成，与雷州半岛内陆地区洋田相比，其土壤盐碱含量较高。博袍村洋田中还可根据土质进一步分为粘土质洋田和沙土质洋田，其中粘土质洋田盐碱含量更高，因而农业利用率较低；沙土质洋田虽保水保肥率较低，但同时盐碱量也较低，因而成为博袍村传统农业利用的一种主要方式。

2、基本描述

自明清以来，雷州民系就已经形成了一套成体系的洋田轮作技术。轮作技术以水稻种植为核心，结合多种旱地作物，达成一年三熟。常见的轮作体系包括稻-稻-薯、花生-稻-薯、麦-稻-薯、烟-薯-稻等共计15种。在耕种当中，雷州民系总结了“雨水一到、务令早耕”，“俟六月早稻熟后，复耕种翻稿而十月熟”等传统轮作技术知识农业谚语。

博袍村常见的滨海沙土洋田轮作技术为水稻-甘薯-花生和水稻-大蒜-南瓜(西瓜)两种，其中水稻的播种时间为每年农历六月至七月间，立秋前后；甘薯与大蒜播种于每年农历十一月；花生、南瓜、西瓜等播种于次年农历一月，每年往复。

3、传统知识特征与现状

滨海沙土洋田轮作技术是雷州民系结合当地土壤、水文等自然条件和历史水利工程建设环境下形成的传统农业技术知识，体现了雷州民系充分利用地力、精耕细作、增产增收改善民生的特点。目前该项传统知识依旧在博袍村部分地区进行实践，其中的大蒜更成为博袍村知名农业产品。该项传统农业知识具有一定的实用价值和科研、推广潜力。

（二）滨海盐土驯化技术

1、背景信息

粘土质洋田盐碱含量高，围垦初级较难进行农业利用。虽然可以加大灌溉强度进行调节，但因为雷州半岛气候干燥、蒸发量高，地表水资源并不广泛丰富，会造成大量水资源浪费。但另一方面，雷州半岛干湿季区别明显，雨季降雨量大，因而博袍村民利用自然特点，在雨季进行耕作，逐渐改良土壤，并而成为博袍村传统农业利用的一种补充。

2、基本描述

博袍村雨季自每年清明前后开始，至中秋前后结束。博袍村村民在雨季进行粘土质洋田耕种，无需进行额外灌溉。围垦粘土质洋田初期可种植芋头，产量较低；经过多年驯化改造后可逐渐改种水稻，产量逐渐提升；最终一年可种植两季水稻。

3、传统知识特征与现状

滨海盐土驯化改造技术是在博袍村自然环境下形成的地方性传统农业知识，目前村内拥有大量驯化改造后的粘土质洋田，成为该村农业生产的重要土地资源之一，是该传统农业知识的重要成果之一。滨海盐土的驯化改造技术需要时间长，且初期产量少，目前较少应用于新建设的围海垦殖土地。但因其具有低投入、可持续资源利用的特点，具有一定的科研和推广潜力。

（三）田-畜共生系统

1、背景信息

博袍村田-畜共生系统类似于全球重要文化遗产“稻鱼鸭复合系统”^[24]，系统中包括水田、水牛、鸭、鹅，是在长期农业协同发展中形成的近乎闭合的农业生产系统。

2、基本描述

水田耕作时，在秧苗发芽、抽穗时期同时水田中放养鸭、鹅，鸭在觅食当中为水田清除虫害、鹅则清除杂草；水牛可作为水田耕种中的主要畜力，对水牛粪便加入海水进行发酵，可成为水稻上好的有机肥；水田种植物成熟后，又可成为水牛、鸭、鹅的主要饲料。在水田轮作的间期，可放养水牛、鸭、鹅，既可充分利用轮作间期水田中自发生长的杂草和昆虫等动物，在无形当中帮助水田松土，方便进一步的轮作。

3、传统知识特征与现状

田-畜共生系统是雷州民系充分利用地力、精耕细作的表现，最终形成了低资源投入、高可持续利用的复合农业生态系统，系统内物质循环率高。目前这一传统农业知识在博袍村中实践并不完整，村民大量使用现代机械代替水牛进行耕种，使用化肥代替水牛粪便发酵的有机肥，在客观上增加了耕作成本。因其具有一定的实用价值，目前应值得保护和进一步科学研究。

五、结果讨论

博袍村因其具有代表性的自然与气候条件，和典型的古越人与原移民文化融合而形成的社会文化基础，在研究调查雷州民系传统知识中具有一定的代表性。而其中与传统技术及生产生活方式相关的传统知识，因其具有社会可持续发展、生物资源可持续利用等相关特性，进而对生态文明建设、美丽乡村建设和增强文化自信具有一定的推进作用，或可以识别为农业文化遗产，进一步进行研究和保护^[25]。

而在众多雷州民系传统农业技术知识当中，滨海沙土洋田轮作技术、田-畜共生系统、滨海盐土驯化技术等传统知识具有较高的推广利用价值和经济效益，具有进一步科学研究的潜力。

参考文献

- [1] 赵富伟, 武建勇, 薛达元. 《生物多样性公约》传统知识议题的背景、进展与趋势[J]. 生物多样性, 2013, 21(2): 232-237.
- [2] 付广华. 传统生态知识:概念、特点及其实践效用[J]. 湖北民族学院学报(哲学社会科学版), 2012, 30(4): 52-57.
- [3] 成功, 张家楠, 薛达元. 传统生态知识的民族生态学分析框架[J]. 生态学报, 2013, 34(16).
- [4] 薛达元. 遗传资源获取与惠益分享: 背景、进展与挑战[J]. Biodiversity Science, 2007, 15(5): 563-568.
- [5] 薛达元. 生物多样性相关传统知识的保护与展望[J]. 生物多样性, 2019, 27(7).
- [6] 薛达元, 蔡蕾. 《生物多样性公约》新热点:传统知识保护[J]. 环境保护, 2006, (24): 72-74.
- [7] 薛达元, 郭砾. 中国民族地区遗传资源及传统知识的保护与惠益分享[J]. 资源科学, 2009, 31(6): 919-925.
- [8] 薛达元, 郭砾. 论传统知识的概念与保护[J]. 生物多样性(2): 31-38.
- [9] 吴合显, 李玮. 传统生态知识与生态文明建设研究[J]. 贵州民族研究, 2020(3).
- [10] 付广华. 生态文明建设对传统生态知识的影响机理[J]. 北方民族大学学报:哲学社会科学版, 2019, 146(02):23-28.
- [11]付广华. 论传统生态知识对区域生态文明建设的影响机理[J]. 湖北民族学院学报(哲学社会科学版), 2018, 36(02):34-38.
- [12]顾伟军. 林业传统知识在生态文明建设中的作用分析[J]. 农业技术与装备, 2019, No.355(07):63+65.
- [13]刘金龙, 赵佳程, 张明慧, et al. 林业传统知识在生态文明建设中的作用[J]. 原生态民族文化学刊, 2018(3):12-18.
- [14] Chapman P M. Traditional ecological knowledge (TEK) and scientific weight of evidence determinations[J]. Marine Pollution Bulletin54(12): 1839-1840.
- [15] Huntington H P. Using Traditional Ecological Knowledge in Science: Methods and Applications[J]. Ecological Applications10(5): 1270-1274.
- [16] Davidson-Hunt I J, O'flaherty R M. Researchers, Indigenous Peoples, and Place-Based Learning Communities[J]. Society & Natural Resources20(4): 291-305.
- [17] Martin J F, * E D R, Diemont S a W, et al. Traditional Ecological Knowledge (TEK): Ideas, inspiration, and designs for ecological engineering[J]. Ecological Engineering, 2010, (36): 839-849.
- [18] 刘冬梅, 薛达元, 蔡蕾, et al. 中国生物多样性相关传统知识调查与评估指标体系构建 Establishing a national indicator system in China for the assessment of traditional knowledge associated with biodiversity[J]. 生物多样性 026(012): 1350-1357.
- [19] Zhangxiao-Bo. 中药资源传统知识调查基本程序与关键技术方法[J]. 中国中药杂志, 2014, (24).
- [20] 蔡平. 雷州文化及雷州文化的人本研究[J]. 广东海洋大学学报, 2010, 30(005):20-25.

- [21] 王钦峰. 雷州文化的基本类型和发展脉络[J]. 岭南文史, 2013(02):21-25.
- [22] 陈永平. 南粤新市 雷州[M]// 南粤新市, 雷州. 广东人民出版社, 1994.
- [23] 司徒尚纪. 雷州文化概论[M]. 广东人民出版社, 2014.
- [24] 吴平. 全球重要农业文化遗产:稻鱼鸭复合系统[J]. 原生态民族化学刊, 2014(01):2.
- [25] 闵庆文, 孙业红. 农业文化遗产的概念、特点与保护要求[J]. 资源科学, 2009(06):914-918.

广西八桂田园提升发展的实践与探索

韦显恒, 马瑞宁, 覃连红, 黄海生

广西农业职业技术学院

摘要:“八桂田园”建园时间久远,六大功能集于一体,屡获殊荣,声名远扬,取得显著的成绩,但园区经营管理多年来存在人员过多、管理僵化等问题,阻碍公司的可持续性健康发展,需要强力推进重组管理架构、提高经营人员占比等多项改革,通过积极提升园区景点内涵、拓展研学旅游市场等经营措施,提高园区的商业经营绩效和经济效益。

“八桂田园-广西现代农业技术展示中心”位于南宁市高新区相思湖东路19号,是“国家AAAA级旅游景区”。八桂田园属于典型的都市现代农业园,在20多年的发展历程中,为广西的现代农业发展做出了重要贡献,在自身品牌建设中取得了非常显著的成绩。随着经济社会的发展,八桂田园原来的社会功能逐渐退化,传统经营模式愈发不适应市场化发展的需要。鉴于此,八桂田园2021年进行了综合改革,以解放和发展生产力为目标,以增强企业活力、提高国有资产效率为中心,完善现代企业制度,推进园区进一步提升发展。

1 园区基本情况

1.1 六大功能集于一体

“八桂田园-广西现代农业技术展示中心”是广西农业厅1999年在广西农业学校实习农场的基础上创建,现隶属于广西农业职业技术学院,由广西八桂农业科技有限公司运营管理。园区占地400亩,是集“现代农业设施展示;农业新品种、新技术、新成果应用推广;农业观光旅游;农业产业化经营;科普教育基地;农业职业教育实训基地”六大功能于一体的都市现代农业园。此外,“八桂田园-广西现代农业技术展示中心”还是国家援非农业项目——“埃塞俄比亚农业技术示范中心”的实施单位。

1.2 屡获殊荣,声名远扬

“八桂田园”是国家AAAA级旅游景区、全国休闲农业与乡村旅游五星级园区、全国休闲农业与乡村旅游示范点、全国农业旅游示范点、全国农业科普示范基地、全国青少年农业科普示范基地、广西农业引智示范基地。2015年“八桂田园”商标获得“广西著名商标”称号。2018年被评为广西休闲农业“十佳农庄”之首。2020年被评为广西首批“自治区级中小学生研学实践教育基地”,是广西中小学生研学和游学的重要实践教育基地。

1.3 设施齐全,风光秀美

“八桂田园”综合了各类型现代农业设施面积超10万m²,建有观赏瓜类栽培玻璃大棚、花卉生产玻璃大棚、亚热带果树标本设施大棚、“互联网+无土栽培作物”智能化玻璃大棚、“互联网+全园作物水肥一体化”智能管理控制系统、中药科技馆、食品科技馆、动物科技馆、昆虫科技馆、园艺作物科技馆、中草药园、果蔬作物设施栽培区、西甜瓜设施栽培区、观赏瓜菜栽培区、花艺超市、传统农业展示区、集体活动大草坪、趣味儿童乐园、烧烤区和野菜餐馆。园区每年展示生产约200个瓜果品种和蔬菜品种,200多个花卉品种。

1.4 多国元首到访考察

“八桂田园”是广西现代设施农业建设的典范和样板,胡锦涛、李瑞环等多位我国国家领导人,广西壮族自治区多位领导曾到“八桂田园”视察。越南、老挝等11个国家的17位外国元首和政府首脑曾到园区参观考察。园区有广西唯一、全国少有的元首林区,是莅临园区的外国元首和政府首脑亲自栽植。

2 园区发展亮点

2.1 服务都市居民,周年采摘果蔬

“八桂田园”设施栽培果树区为45100m²,主栽品种有甜杨桃、沃柑、茂谷柑、草莓、葡萄、火龙果、台湾大青枣等;同时还种植有季节性果蔬品种,如香瓜、西瓜、小青瓜、甜糯

玉米及各类蔬菜。不同种类的水果瓜菜一年四季都有，可供游客自由采摘。“八桂田园”果蔬农产品是南宁市最著名的农产品品牌，园区的产品优质、安全，口感好，深受广大消费者的喜爱和信任。

表 1 八桂田园主要果蔬品种采摘时间

| 采摘时间 | 1~2 月 | 3~4 月 | 5~6 月 | 7~8 月 | 9~10 月 | 11~12 月 |
|------|-------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------|---------------------------|--------------------------------|-------------------|
| 品种 | 草莓 沃柑 杨桃 大青枣 各类蔬菜 | 沃柑 杨桃 大青枣 茂谷柑 小番茄 各类蔬菜 | 杨桃 葡萄 火龙果 香瓜 西瓜 甜糯玉米 | 葡萄 火龙果 甜糯玉米 各类蔬菜 | 杨桃 火龙果 甜瓜 小青瓜 各类蔬菜 | 草莓 小青瓜 各类蔬菜 |

2.2 产学研学融合，受训人员众多

“八桂田园”发挥园区农业院校教学实训基地的功能，服务职业教育，接待广西区内各类农业技术培训班、大学生入园开展教学和农业科研活动，支持农业科研部门及广西农业职业技术学院教师利用园区设施、作物材料等开展科研工作。据统计，2014~2018 年师生进园开展教学教育活动 2.5 万人次/年以上、6.5 万学时/年以上，园区提供 3600 m² 的场地给广西农业职业技术学院等开展产学研活动；2019 年全年师生进园开展教学教育活动合计 27912 人次共 83128 人·学时，提供约 5000 m² 场地给广西农业职业技术学院、广西农业科学院等科研部门和师生开展科研活动。

2.3 农业科普示范，研学旅游乐园

2.3.1 发挥科普功能，服务各类学校

“八桂田园”近年来发挥园区农业科普教育基地的功能，开展农业科普教育，接待中小學生入园开展农业科普、集体游学和研学实践活动。据统计，2017~2019 年每年到八桂田园游学与开展农业科普活动的中小学和幼儿园有 83 所以上，年均 27058 人次/年，包括南宁市第八中学、星湖路小学、广西农科院幼儿园等中小学校。

2.3.2 开发体验项目，丰富园区活动

2019 年主要开发的项目有插秧体验、种果树体验、小农夫收稻谷、掰玉米和采蘑菇等 8 个农耕体验项目，主题策划活动有“五一”亲子寻宝、“六一”水果 DIY、感恩母亲节等多个活动。启动万人亲子进田园、亲子军民大生产、军事拓展等多项主题活动等，极大丰富了园区的活动项目与内容。

2.4 发展现代农业，服务乡村振兴

2.4.1 农业示范生产，发展现代农业

“八桂田园”坚持做好现代农业示范生产，维护和改建园区约 10 万 m² 各类型现代农业设施，确保正常运行，园区种植的果树、蔬菜、花卉，全部安装自动化微喷或滴灌系统，运用“互联网+全园作物水肥一体化”智能管理控制系统，节水节肥省力环保高效；继续调整优化园区作物种植，淘汰近年收成差或效益低的作物品种，增加种植优良新品种；加强园区设施农业生产的示范工作，制定和修改园区主栽的 12 种瓜果作物生产技术规程。

2.4.2 培养本土人才，服务乡村振兴

“八桂田园”据统计，2014~2019 年平均每年接待新型职业农民培训班学员参观学习超过 4000 人/年。2020 年 6 月至 10 月，虽然受到新冠疫情的影响，但园区一边做好防疫工作一边开展业务，接待广西区内各地市县的贫困村创业致富带头人培训班、高素质农民培训班、新型职业农民中等职业教育班、水库移民蔬菜种植培训班和农村创业青年培训班等共 51 期，

学员 2488 人。

2.5 外事接待频繁，多国元首到访

“八桂田园”在建设和经营过程中，得到了社会各界及有关领导的大力支持和认可，建园以来进园参观人数累计已超过 500 万人次，不仅树立了广西农业在探索发展现代农业进程中的新形象，也成为广西农业对外交流与合作和展示广西农业发展新成果的窗口。八桂田园先后迎来了 17 位外国元首和政府首脑、50 多个国家和地区的农业考察团前来参观考察。平均每年接待国内外重要来宾约 20 批次、500 人以上。胡锦涛等多位党和国家领导人曾前来视察。园区先后与菲律宾、马来西亚进行了“中菲合作现代农业示范园建设”、“中马有机农场建设及农产品销售”等项目的洽谈和合作，并承担了国家援非农业项目——“中国-埃塞俄比亚农业技术示范中心”的建设。

3 存在主要问题

3.1 人员过多，结构性差

在全体员工中，财务部、总经办、人力部和办公室等非经营性的管理人员数量偏多。截止 2019 年 12 月，八桂田园共有员工 80 人，其中非经营部门人员共 22 人，占总人数 27.5%，费用占总人力成本的 33.83%；生产经营部门人员：（1）旅游部 9 人，占总人数 11.25%，占总工资额的 10.91%。（2）生产部 17 人、占总人数 21.25%，占总人力成本的 17.19%。（3）餐饮部共 32 人，占总人数 40%，占总人力成本的 38.07%。

3.2 管理僵化，灵活性低

管理层级多，缺乏目标责任制，员工主动性差，“等靠要”思想严重。公司定位还停留在侧重社会效益的层面，没有适应市场灵活经营项目，缺乏核心竞争产品等。

3.3 疫情影响，损失重大

今年受新冠疫情影响，“八桂田园”2020 年 1 月 26 日至 7 月 12 日暂停营业，于 2020 年 7 月 13 日起才正式对外有序开放，停业历时 5 个半月，是南宁市最后一家开园营业的景区。根据相关文件精神，八桂田园本可以在 3 月 25 日后有序全面开放运营，但由于八桂田园位于广西农业职业技术学院内，为校中园，学院开学期间采取校园封闭管理，所以景区直到 7 月 13 日才能复工复产正常营业。受疫情影响，公司总体收入下降，2020 年 1 月至 9 月收入同比下降了 361 万元，下降 63.5%。景区入园游客人数下降，今年 2 月至 7 月，散客入园人数为 0 人。旅游种植项目投资没有回报，2019 年底园区为 2020 年春季园区旅游而投入的多个观赏种植项目，由于疫情闭园而没有任何收入回报。

4 改革发展之策

4.1 重组公司管理架构，提高经营人员占比

根据公司的实际经营情况，在精简人员的前提下重建公司架构，撤销财务部、人力部、餐饮部，新增开发部，整合财务部、人力部和办公室功能形成行政办，保留总经办、生产部、旅游部，优化管理层级，提高经营人员占比。

4.2 优化经营管理模式，狠抓工作绩效考核

改变园区野菜馆经营主体，野菜馆采取对外招租经营。压缩种植业管理层级，生产部采用专业化独立承包经营管理模式。2020 年 10 月，公司出台《绩效考核管理办法》，首先对公司中层管理人员进行绩效考核，时机成熟后再对全体员工进行岗位工作绩效考核，员工从绩效考核中获取绩效奖金，奖优罚劣，提高工作效率。

4.3 精选优质创业项目，助力广西乡村振兴

公司建立现代农业创新创业孵化园平台，融合科技、人才、信息等优质资源，精选乡村优质创业项目，通过培训与指导，为广大农业从业者提供创业项目孵化服务，助力实现创业致富梦。着眼推进产业链、价值链建设，夯实产业发展的基础，带动乡村产业振兴，助力广西乡村振兴。

4.4 打造特色课程产品，进军农民培训市场

习近平总书记指出：“要推动乡村人才振兴，把人力资本开发放在首要位置，强化乡村振兴人才支撑，加快培育新型农业经营主体。”“八桂田园”将利用自身建设 20 多年形成的技术人才优势、现代农业设施优势以及八桂田园品牌优势，打造符合乡村农民需求的特色课程产品，进军农民培训市场，积极培养本土人才，培养更多爱农业、懂技术、善经营的新型职业农民。

4.5 提升园区景点内涵，拓展研学旅游市场

打开园区北门，连通南宁市相思小镇，让园区融入城市。园区添置雾化降温装饰，让游客在夏天不再感到炎热。新建豆腐磨坊，用最传统的方式制作豆腐，豆腐制作过程向游客展示参观，并开放给游客体验。把所种好的瓜果做创意采摘，让瓜果与游客互动起来，实现更大的价值。加强园区农耕文化建设，传统农耕文化与现代农业文化相结合，突出现代农业文化主题，以契合园区的现代农业技术展示中心之特色；传统农耕文化中突出稻作“那”文化，以体现壮族等骆越后裔民族文化的根。打造现代农业精品研学课程，拓展研学旅游市场。

第一作者简介：韦显恒，1962 年，男，讲师，现代农业企业管理与休闲农业开发，13507866702

酱油生产工艺及风味的研究进展

赵炫, 华彦涛, 李宝玉, 尹凯丹, 袁利鹏*

广东农工商职业技术学院热带农林学院, 广东广州 510507

摘要: 酱油由于其独特的色、香、味已经成为我们日常生活中必不可少的调味品。酱油的生产工艺经历了天然晒露发酵法、低盐固态发酵法和高盐稀态发酵法的过程。酱油发酵过程中形成的特殊香气、色泽、体态和滋味使得其在食品加工、烹调或佐餐中具有至关重要的作用。本文从酱油的历史、研究现状、生产工艺及其风味等多方面进行了介绍, 以期生产高品质的酱油提供参考。

关键词: 酱油; 发酵; 生产工艺; 风味

Research Progress on the Production Technology and Flavor of Soy Sauce

ZHAO Xuan, HUA Yan-tao, YIN Kai-dan, LI Bao-yu, YUAN Li-peng*

College of Tropical Agriculture and Forestry, Guangdong AIB Polytechnic, Guangzhou, 510507

Abstract: Soy sauce had become an indispensable condiment in our daily life due to its unique color, aroma and taste. The production process of soy sauce had undergone the process of natural sun exposure fermentation, low-salt solid-state fermentation and high-salt dilute fermentation. The special aroma, color, body shape and taste formed during the fermentation of soy sauce made it play a vital role in food processing, cooking or catering. This article introduced the history, research status, production technology and flavor of soy sauce, with providing reference for the production of high-quality soy sauce.

Key words: soy sauce; fermentation; production process; flavor

酱油是一种以大豆或脱脂大豆为主要原料, 并辅以小麦、面粉等淀粉质原料, 在微生物(如曲霉、乳酸菌、酵母菌等)的作用下, 水解生成游离氨基酸、小分子肽、糖类及有机酸等, 并以这些物质为基础, 经过一系列复杂的生化反应, 形成具有色泽鲜艳、酱香浓郁、滋味鲜美、体态澄清的调味液^[1]。酱油由于其良好的风味而广泛地作为调味品食用, 目前中式和日式酱油在国际市场占有率最高, 中式酱油主要流行于中国和东南亚国家, 而日式酱油多在日本本土市场, 以及国际上高端酱油市场。中式和日式酱油的不同之处在于生产过程中使用的原料不同, 中式酱油一般以大豆蛋白(大豆或脱脂大豆)作为唯一的蛋白原料, 而日式酱油则综合利用大豆和小麦作为蛋白原料。酱油是由蛋白质原料经过深度发酵形成的, 游离氨基酸为酱油最主要的含氮物质。其中, L-谷氨酸钠是提供酱油鲜味的关键化合物之一。值得注意的是, 酱油中呈味物质间的相互作用会影响酱油的呈味特性, 因此酱油的鲜味强度不能通过单一鲜味组分浓度的简单加和来评价^[2]。

1 酱油的历史与研究现状

1.1 酱油的起源与历史

酱油最早起源于我国。在周朝时,《周礼》就记录了我国人民已经能够混合动物性原料、谷物、酒、香辛料和盐, 来生产多样化的香酱。到汉代时期, 以豆类、谷物等原料制成的豆酱、谷物酱占据着我国调味品的重要地位。在北魏王朝时期, 贾思勰在《齐民要术》中记载着当时人民通过利用自然气温的变化来培养米曲霉发酵制酱的方法, 并记载着季节的选择、原料的选择、原料的配比、原料的加工处理等对豆酱风味的影响。东汉王朝时期, 崔实在《四

作者简介: 赵炫(1995-), 男, 助教, 硕士, 主要从事食品生物技术、食品风味化学等方面的研究, E-mail: xuanzhao@gdaib.edu.cn。

*通讯作者: 袁利鹏(1979-), 男, 教授, 硕士, 主要从事食品安全快速检测的研究, E-mail: lpyuan@gdaib.edu.cn。

基金项目: 广东省自然科学基金项目(2015A030313793); 国家级星火计划面上引导项目(S2015E000181); 广东省教育厅 2016 高等职业教育专业领军人才项目; 教育厅工程技术研究中心(2019GGCZX010)。

民月令》中记载到：“正月可作诸酱。至六七月之交，可以作清酱”，清酱也就是我们现在所食用的酱油。从汉朝到宋朝上千年时间里，酱油还有过酱汁、淋油、豉油等各种名字。直到宋朝的《山家清供》中记载到：“韭叶嫩者，用姜丝、酱油、滴醋拌食，能利小水治淋闭”，酱油一词才被正式提到^[3-5]。7 世纪左右，酱油的生产技术由我国传播到日本，然后影响到东南亚国家甚至世界各地。20 世纪初，酱油的生产技术从日本传播到欧美各国，日本大型酱油公司如龟甲万、雅玛莎等先后在西方国家建立多家酱油加工厂。

1.2 酱油的市场

我国是酱油的生产与消费大国，酱油已经成为我们生活中不可或缺的调味品。在 2006 年我国的酱油年产量就已达 500 多万吨，到 2012 年增至 700 多万吨，到 2015 年更是高达 800 多万吨，年产量稳居世界首位，且近年来我国酱油产量保持着逐年上涨的趋势^[6]。从酱油的市场占有率来看，国内酱油市场占有率较高的企业主要有海天、李锦记、厨邦、欣和、味事达、东古、加加等知名品牌酱油；而国际酱油市场主要以日本酱油为主^[7]。相比于日本，我国酱油市场主要以中低端酱油为主，高端酱油市场占有率较低。但随着我国经济水平的发展、人们生活水平的提高以及对高品质生活的追求，高端酱油将占据着更强大的市场份额^[8]。

1.3 酱油的研究现状

酱油风味是决定酱油品质的重要因素，其中酱油发酵工艺的不同会直接影响酱油的风味。为了提高酱油的风味、提升酱油产品的竞争力，学者们研究了混合酶制剂^[9]、多菌种制曲^[10]、不同固形物浓度发酵^[11]等不同生产工艺对酱油风味的影响，这些研究表明采用外加混合酶制剂、多菌种协同发酵、高浓度固形物发酵等条件会使酱油的风味更加鲜美、浓郁，但这离大规模的产业化生产仍具有一定距离。酱油发酵过程中原料、发酵菌株、发酵时间以及灭菌条件的差异都会影响酱油中的游离氨基酸、小分子肽类、有机酸、糖类、色素和芳香化合物等成分，从而导致酱油具有不同的风味。

酱油除了作为调味品食用之外，还具有十分重要的生理活性功效。酱油原料在制曲过程中，微生物会利用原料中的蛋白质、脂肪和碳水化合物等大分子物质进行新陈代谢，生成游离氨基酸、小分子肽类、脂肪酸、单糖以及维生素等物质^[12]，这些物质不仅有助于人体吸收利用，还具有显著的营养功能。同时这些物质会使得酱油具有抗氧化^[13]、抑菌^[14]、降血压^[15]、抗凝血^[16]、抗癌^[17]等保健功能，引起了国内外学者的广泛研究。

2 酱油的生产工艺

2.1 天然晒露发酵法

天然晒露发酵法是我国较早时期生产酱油的工艺，距今至少有 2000 多年的历史，是以大豆和面粉为原料，在高浓度盐水浸泡的条件下，通过天然微生物的作用，经过长达 6~12 个月的常温高盐晒露，发酵酿造酱油的一种方法^[18]。采用这种方法酿造得到的酱油滋味鲜美、酱香浓郁、体态浓稠、不易腐败，但是由于发酵周期太长，导致资金周转较慢、劳动强度较大、设备占用较多、市场占有率较少以及卫生条件不易控制等问题，现已基本不采用这种方法酿造酱油。

2.2 低盐固态发酵法

低盐固态发酵法以无盐固态发酵工艺为基础演变而来，是以脱脂大豆和麸皮为原料，经蒸煮和制曲后，采用含量在 7%作用的食盐进行固态发酵，快速酿造酱油的一种方法，具有低盐高温的生产工艺、生产周期短、适用于各种规模的酱油厂等特点，这使得我国 70%左右的酱油都采用该法进行生产^[19]。低盐固态发酵法制曲水温一般控制在 50℃~60℃，发酵温度一般控制在 40℃~55℃，初始的高温能杀灭适宜在较低温度生存的微生物。同时酱醅中含量 10%以下的食盐对杂菌也具有较好的抑制作用，但对酶活力的影响较小。该法具有管理方便、生产成本较低、产品质量稳定等优点，但由于固态酱醅中水分含量较少，导致蛋白质水解难度较大，使得氨基酸的生成率较低。

2.3 高盐稀态发酵法

高盐稀态发酵法是以大豆和小麦为原料,经蒸煮和制曲后,与18~20%的盐水混合,再经发酵酿造酱油的一种方法。由于起始温度较低,前期适宜在低温生长和作用的微生物和酶系能在此阶段充分发挥作用,随着温度的缓慢升高,适合在各个温度范围生长和作用的微生物和酶系都可以发挥作用^[20]。由于在成曲中加入了高浓度的盐水,使得酱醪成流动状态发酵,除了能有效地抑制有害微生物的生长繁殖外,还能保证酱油风味的稳定性,而且由于发酵时间较长(一般为6个月),各种物质均能得到充分发酵。高盐稀态发酵法是我国高端酱油和日本酱油的主要生产方式,酿造的酱油具有发酵时间长、产品品质高、香气物质成分复杂、营养物质丰富等特点。

3 酱油的风味

酱油的风味由滋味和香气组成。酱油的滋味丰富,是多种呈味物质共同作用的结果,其中游离氨基酸及其钠盐、小分子肽、糖类、有机酸和美拉德反应产物等是酱油重要的呈味物质,也是酱油质感的物质基础。酱油的香气是多种香气物质协同作用形成的,主要包括醇类、酸类、醛(酮)类、酯类、酚类、呋喃类、吡嗪类以及含硫化合物等挥发性物质^[21]。酱油原料的来源、原料处理方法、生产制造工艺以及生产过程中微生物的作用是影响酱油风味的重要原因^[22]。

3.1 酱油的滋味

3.1.1 鲜味

酱油的滋味以鲜味为主,其中鲜味氨基酸(Glu和Asp)及其钠盐是构成酱油鲜味的主体物质^[2]。同时酱油中一些小分子核苷酸类物质,如5'-肌苷酸二钠(IMP)和5'-鸟苷酸二钠(GMP)不仅本身具有鲜味,还能与味精(MSG)起到协同增鲜作用^[23]。除此之外,研究表明酱油在发酵过程中生成的短肽及其衍生物也具有鲜味和增鲜特性^[24-25],这些物质通常含量较低,但对其他常见的鲜味物质(如MSG以及I+G)有显著的协同增效作用,同时还能赋予酱油独特的滋味饱满感和持久感。

3.1.2 酸味

酱油的酸味主要是由发酵过程中形成的有机酸类物质(乳酸、琥珀酸、酒石酸、柠檬酸等)引起的,其中乳酸和琥珀酸可以使酱油的酸味更加绵长,同时还可以使酱油的整体滋味更加柔和^[26-27]。有研究表明酱油的总酸含量为1.5~2.5 g/100 mL,当酱油的总酸含量<1.0 g/100 mL时,会影响酱油的鲜味;而当总酸含量>2.0 g/100mL,会导致酸味过于强烈,风味变差^[28]。

3.1.3 甜味

酱油的甜味主要来源于淀粉在发酵过程中水解生成的葡萄糖、麦芽糖等小分子糖类以及蛋白质水解产生的Gly、Ala和Thr等甜味氨基酸和一些小分子甜味肽^[29]。除此之外,在酱油调配过程中会人为地添加少量的蔗糖或其他甜味剂,以丰富酱油的滋味。

3.1.4 咸味

酱油的咸味主要由酱油中的高浓度的食盐引起,其含量一般在17%左右,强烈的咸味能够刺激味蕾从而增强人们食欲,同时食盐与酱油中其他呈味物质(如氨基酸、有机酸、糖类等)的相互作用会使酱油的咸味变得柔和。适当的食盐浓度有利于酱油滋味的协调,增加食欲,而过高的食盐浓度则会产生咸苦感,降低产品的滋味品质。

3.1.5 苦味

酱油的苦味主要来源于蛋白原料过度水解产生的Phe、Arg和Tyr等苦味氨基酸和苦味肽;同时食盐中微量的氯化镁、硫酸镁和硫酸钠也对苦味有一定影响。苦味普遍不被人们所接受,但是微量的苦味物质与其他呈味物质的相互作用会对酱油鲜味和浓厚感有一定促进作用,可使酱油的滋味更加醇厚、饱满^[30]。

3.2 酱油的香气

酱油的香气成分主要来源于挥发性的脂肪族化合物和芳香族化合物两大类，包括醇类、酸类、醛（酮）类、酯类、酚类、呋喃类、吡嗪类以及含硫化合物等物质。酱油的香气成分极其复杂，现有研究表明酱油的香气主要在原料物质（淀粉、蛋白质等）分解、微生物（曲霉、耐盐性酵母、乳酸菌等）的代谢作用以及非酶促反应过程中形成，目前已报道的酱油香气成分大约有 300 多种^[21]。醇类物质主要包括乙醇、正丁醇、异丙醇和异戊醇等，其中乙醇含量最多，主要由酵母无氧呼吸发酵而来，具有酒香味；酸类物质主要包括乙酸、丙酸、乳酸和己酸等，其中乳酸有调和各种香味的作用；醛（酮）类物质主要包括乙醛、异丁醛、丙酮、丁酮等，其中以 3-羟基-2-丁酮为代表，具有特殊脂肪香气；酯类主要以乙酯的形式存在，主要包括乙酸乙酯、乳酸乙酯和乙酸丁酯等，能赋予酱油果香、甜香；酚类物质主要包括 4-乙基愈创木酚、4-乙基苯酚和对羟基苯乙醇等，其中 4-乙基愈创木酚为酱油的典型香气成分之一，具有烟熏香味；呋喃类物质主要包括 4-羟基-2-乙基-5-甲基-3-呋喃酮（HEMF）和 4-羟基-2,5-二甲基-3-呋喃酮（HDMF）等，具有水果的香味^[31-35]。酱油的香气表现较为复杂，是由多种香气物质共同作用形成的。酱油香气成分的组成与原料的来源、发酵菌种、生产工艺以及生产技术管理等密切相关^[36]。

4 展望

酱油是一种历史悠久的发酵调味品，酱油的风味是决定酱油品质的重要因素，其风味与原料种类、配方、生产制造工艺及生产过程中微生物作用存在很大的关系。因此，未来在提升酱油品质的研究中，我们应该重点关注酱油生产过程中，不同原辅料（大豆、豆粕、面粉、麸皮等）及其比例对酱油风味的影响，并采用合适的发酵方式、活力较高的微生物生产酱油，监控发酵过程的不同风味物质的变化、微生物之间的相互作用及其对酱油风味物质的影响，以解决目前酱油生产过程存在的工艺问题，优化酱油的生产条件，为酱油品质的提升提供依据。

参考文献：

- [1] 包启安. 酱油科学与酿造技术[M]. 中国轻工业出版社, 2011.
- [2] Nuryani L H, Jinap S, Masaaki Y, et al. Soy sauce and its umami taste: a link from the past to current situation[J]. *Journal of Food Science*, 2010, 75(3): 71-76.
- [3] 彭涛, 杨旭新, 陈韶华. 中国酱油的现状与发展前景[J]. *中国调味品*, 2007(9): 26-29.
- [4] 包启安. 酱及酱油的起源及其生产技术（一）[J]. *中国调味品*, 1992(9): 3-6.
- [5] 鲁肇元. 酱油生产技术（一）酱油的起源及酱油生产工艺的沿革[J]. *中国调味品*, 2002(1): 43-46.
- [6] 白燕. 中国酱油产业发展概况及未来趋势分析[J]. *食品工业科技*, 2016, 37(18): 14-16.
- [7] 黄持都, 鲁绯, 纪凤娣, 等. 酱油研究进展[J]. *中国酿造*, 2009, 28(10): 7-9.
- [8] 彭涛, 杨旭新, 陈韶华. 中国酱油的现状与发展前景[J]. *中国调味品*, 2007(9): 26-29.
- [9] 顾立众. 增强酱油色度和香气的混菌制曲新工艺研究[J]. *中国调味品*, 2008(11): 58-60.
- [10] 何毅婷, 杨汝德, 张广. 混合菌种发酵生产酱油的研究进展[J]. *中国酿造*, 2008(12): 21-23.
- [11] 尹文颖. 不同固形物浓度对高盐稀态酱油发酵影响的研究[D]. 华南理工大学, 2015.
- [12] 李里特, 马艳莉. 发酵食品酿造过程中组分和营养功能因子的变化和调控[J]. *中国食品学报*, 2011, 11(9): 82-92.
- [13] 李莹, 刘敏, 崔春, 等. 酱油抗氧化能力评价及聚类分析[J]. *食品与发酵工业*, 2008, 34(1): 14-19.
- [14] Kataoka S. Functional effects of Japanese style fermented soy sauce (shoyu) and its components[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2005, 100(3): 227-234.

- [15] Nakahara T, Yamaguchi H, Uchida R. Effect of temperature on the stability of various peptidases during peptide-enriched soy sauce fermentation[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2012, 113(3): 355-359.
- [16] Tsuchiya H, Sato M, Watanabe I. Antiplatelet activity of soy sauce as functional seasoning[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1999, 47(10): 4167-4174.
- [17] 宋家乐. 陈年酿造酱油的抗突变性及其抗癌活性[J]. *中国调味品*, 2011, 36(4): 14-17.
- [18] 刘贞诚. 传统酿造酱油风味成分的研究[D]. 华南理工大学, 2012.
- [19] 冯云子. 高盐稀态酱油关键香气物质的变化规律及形成机理的研究[D]. 华南理工大学, 2015.
- [20] 张博华. 高盐稀态酱油中主要风味物质的研究[D]. 天津科技大学, 2010.
- [21] 许瑜. 外加糖源对高盐稀态酱油风味品质影响的研究[D]. 华南理工大学, 2018.
- [22] 高献礼, 赵谋明, 曹鸣凯. 酱油风味物质研究进展[J]. *中国酿造*, 2009, 28(4): 1-4.
- [23] 蒋关昌. 呈味核苷酸在酱油中的应用[J]. *中国调味品*, 1998(11): 10-12.
- [24] Zhao C, Schieber A, Gänzle M. Formation of taste-active amino acids, amino acid derivatives and peptides in food fermentations - A review [J]. *Food Research International*, 2016, 89(1): 39-47.
- [25] 苏国万, 赵炫, 张佳男, 等. 酱油中鲜味二肽的分离鉴定及其呈味特性研究[J]. *现代食品科技*, 2019, 35(5): 7-15.
- [26] Kaneko S, Kumazawa K, Nishimura O. Comparison of key aroma compounds in five different types of Japanese soy sauces by aroma extract dilution analysis (AEDA)[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, 60(15): 3831-3836.
- [27] 吕东津, 梁姚顺, 宋小焱. 酱油的色、香、味[J]. *中国调味品*, 2004(7): 7-9.
- [28] 李露芳. 电子舌技术在酱油滋味评价中的应用研究[D]. 华南理工大学, 2019.
- [29] 张怡洁. 酱油的风味及其生理活性的研究[D]. 浙江工商大学, 2012.
- [30] 陈嘉辉. 酱油中呈味肽的分离鉴定及呈味特性的对比分析[D]. 华南理工大学, 2018.
- [31] Kaneko S, Kumazawa K, Nishimura O. Studies on the key aroma compounds in raw (unheated) and heated Japanese soy sauce[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, 61(14): 3396-3402.
- [32] Yan L, Zhang Y, Tao W, et al. Rapid determination of volatile flavor components in soy sauce using head space solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2008, 26(3): 285-291.
- [33] Kataoka S. Functional effects of Japanese style fermented soy sauce (shoyu) and its components[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2005, 100(3) :227-234.
- [34] 包启安. 酱油科学与酿造技术[M]. 中国轻工业出版社, 2011.
- [35] 冯笑军, 吴惠勤, 黄晓兰, 等. 气相色谱-质谱对天然酿造酱油与含添加剂酱油香气成分的分析比较[J]. *分析测试学报*, 2009, 28(6): 661-665.
- [36] 李丹. 不同季节高盐稀态酱油发酵过程动态分析及作用机理的研究[D]. 华南理工大学, 2011.

农业工具乐器化的意义及其可能形式

罗凯

(广东省徐闻县农业农村局, 广东 徐闻 524100)

摘要: 本文对农业工具乐器化的意义及其可能形式进行了研究。认为农业工具乐器化, 将增加乐器的种类, 改变田园的声音, 形成劳动的情趣, 推动工具的改革, 丰富音乐的世界。乐器型农业工具可存在直接敲打的、播放音乐的、磨擦作用的、声控技术的、生命对话的和其他等形式。

关键词: 农业美学; 农业工具; 乐器化; 意义; 可能形式

The Significance and Possible Forms of the Instrument of Agricultural Instruments

Luo Kai

(Xuwen Agricultural and Rural Bureau, Xuwen, Guangdong 524100, China)

Abstract: In this paper, The Significance and Possible Forms of the Instrument of Agricultural Instruments are studied. It is believed that the instrumentalization of agricultural tools will increase the types of musical instruments, change the sounds of pastoral areas, form the taste of labor, promote the reform of tools, and enrich the world of music. Musical instrument agricultural tools can have direct tapping, playing music, friction, voice-controlled technology, life dialogue, and other forms.

Key words: Agricultural aesthetics; Agricultural tools; Musical instruments; Meaning; Possible form

随着 21 世纪的到来, 农业美学悄然兴起^[1-7], 而农业美学的发展, 又势必催生出农业音乐^[8-10]。在此, 拟探讨农业工具乐器化的意义及其可能形式。

一、农业工具乐器化的必要与意义

农业工具乐器化是存在的、可能的, 也是必要的、有意义的。

农业工具乐器化, 将增加乐器的种类。农业工具乐器化, 意味着农业工具既作为劳动的工具, 也作为音乐的乐器。这时, 农业工具将会分为两大类: 一类是直接用来作为乐器的农业工具, 过去和现在所制造和使用的锄头、镰刀和扁担等农业工具都属此类; 一类是经过乐器化处理的农业工具, 在驾驶室上安装录音设备的农夫车、拖拉机和汽车等农业工具则具备此类之雏形, 当然, 今后所有经过乐器化处理和进一步处理的农业工具, 包括锄头、镰刀和扁担等以及农夫车、拖拉机和汽车等都属于此类。然而, 不管是那一类, 只要用来作乐器, 就意味着乐器中增加了一种新的类别——农业工具乐器或乐器型农业工具。无疑, 农业工具乐器或乐器型农业工具可从各种角度进一步细分, 形成相应的小类。同时, 农业工具乐器或乐器型农业工具会与笛、哨、锣、鼓、二胡、手提琴、琵琶、吉它、钢琴和电子琴等乐器一起构成乐器体系。

农业工具乐器化, 将改变田园的声音。在过去和现在, 农业工具在田园的农业劳动中所发出的声音绝大多数都是无意识的, 都是不能给人类听觉带来愉悦的嘈音。镰刀割稻时发出的“沙、沙……”声是这样, 锄头锄地时发出的“嚓、嚓……”声也是这样, 农夫车运载货物时发出的“哒、哒……”声同样是这样。即使是有意识发出的声音, 大多一样是嘈音。农夫车发出的喇叭声是这样, 渔船发出的汽笛声也是这样, 植物声频控制设备发出的声频同样

是这样。然而，随着乐器型农业工具的制造和使用，田园劳动中出现的声音不再是嘈音，而是乐声，甚至是乐曲，它们具有意识化、组织化、节奏化、适宜化的特点，能够悦耳怡心，能够根据劳动者的需求产生、形成相应的乐声、乐曲。

农业工具乐器化，将形成劳动的情趣。随着乐器型农业工具的制造和使用，人们就能够在劳动中根据需要产生、形成相应的乐声、乐曲。这时的乐声、乐曲不但能够悦耳怡心，而且会成为劳动的伴奏，形成田园音乐的氛围，将田园劳动变成田园舞蹈。锄地是一种农业劳动，是劳动者使用锄头，通过锄刀作用土壤，使田园表土疏松的过程。在这一过程中，劳动者两脚一前一后，双手抓止锄柄，均匀地将锄头作上下运动。这时，当使用的是乐器型锄头，每上下运动一次都发出一次悦耳的声音，并在每一次或每段落的锄地过程中组合、形成一曲优美的旋律的时候，锄地的过程就会成为音乐伴奏的过程，而锄地的行为则会成为锄地舞蹈。其实，在表现农业劳动的歌舞中，已有这类艺术形式，不过，这些歌舞只是模拟农业劳动，只是纯粹的艺术，并不是真正的农业劳动。而音乐型农业工具使用中形成的歌舞却是真正的农业劳动，使用的乐器型农业工具在作为延长人类手脚，作用农业劳动对象这一功能上与传统的农业工具并没有什么两样，在作用农业劳动对象，实现农业劳动目的上也并没有什么两样，乐器型锄头与传统锄头都是用来锄地，作用的都是土壤，目的都是疏松田园表土。显然，这样的农业劳动是有情趣的，或者说，与跳舞在本质上并没有什么两样。

农业工具乐器化，将推动工具的改革。农业工具只是各种工具中的一种，或者说，只是农业的工具。事实上，像农业工具之类的工具有许多，或者说，各个方面、各个领域、各个产业都有其相应的工具。最为明显的莫过于工业工具，如机床、多片锯、电钻、尖嘴钳和电动机等；又如建筑工具就有瓦力、捡拉车、砂浆机、马凳和钢卷尺等；当然，最常见的却是日常生活用具，如碗、筷、盆、罐和抽油烟机。至此，一个十分简单的道理自然就会凸现：既然农业工具能够进行乐器化处理成为乐器型农业工具，那么，其他工具也能够进行乐器化处理成为乐器型工具，工业工具能够成为乐器型工业工具，建筑工具能够成为乐器型建筑工具，日常生活用具能够成为乐器型日常生活用具。在现实上，已有人用碗、筷、盆等日常生活用具来弹奏乐曲。一句话，随着农业工具的乐器化，将会推动其他工具进行乐器化改革。

农业工具乐器化，将丰富音乐的世界。农业工具乐器化，不但意味着乐器型农业工具不断制造和使用，意味着田园充满乐声，出现田园舞蹈，而且意味着乐器的种类和数量将增加，意味着在日常歌舞和舞台歌舞将会使用乐器型农业工具。的确，乐器型农业工具既可在田园中、在农业劳动中使用，也可在日常生活中、在音乐舞台中使用，这就像笛、哨、锣、鼓、二胡、手提琴、琵琶、吉它、钢琴和电子琴等乐器既可在日常生活中、在音乐舞台中弹奏，也可在田园中、在农业劳动中弹奏一样。显然，这样一来，音乐的世界自然会更加丰富。

二、农业工具乐器化的可能形式

农业工具乐器化既是存在与可能的，也是必要与有意义的，然而，至今真正意义的乐器型农业工具还没有研究、生产出来，不过，这只是时间问题。在此，拟对其可能的形式进行探讨。

1、直接敲打的乐器型农业工具

直接敲打的乐器型农业工具，指的是利用手脚或木器、竹器和金属器等直接敲打农业工具，或农业工具间相互敲打，发出乐声，形成乐曲的乐器型农业工具。

客观地说，绝大多数农业工具都可改造成直接敲打的乐器型农业工具，当然，效果较好的应是木料、竹料、石料和金属原料制作的农业工具，操作较易的则是手脚能够抓拿的农业工具，如石锄、铁锄和扁担等。

也客观地说，直接敲打的乐器型农业工具已经有了，甚至可以说，在原始社会或在真正意义的乐器未产生以前就已经有了。在原始社会，人们在庆贺丰收或分享成果时，往往会敲

打木器、竹器和石器等工具，以发出悦耳的声音。

尽管这样，可作为乐器的直接敲打的乐器型农业工具则应在继续作为人类手脚的延伸，作用农业劳动对象，生产农业劳动产品的同时，更具乐器性，音质纯正，耐敲打，不易变形。如果是木料制作锄柄的锄头，其锄柄就有如乐器中的棒棒一般；如果是竹料制作锄柄的锄头，其锄柄则有如乐器中的竹杠一般；如此等等。

2、播放音乐的乐器型农业工具

播放音乐的乐器型农业工具，指的则是通过在农业工具的适当位置上移植安放录音设备，播放音乐的乐器型农业工具。

关于此类乐器型农业工具，上面已提到，就是在农夫车、拖拉机和汽车等农业工具的驾驶室内安装录音设备，播放音乐。不过，值得强调的是，这些客观实在只是此类乐器型农业工具的雏形。

作为乐器型农业工具，移植安放录音设备是必要的，也是关键的，还是基本的，但是，并不限于农夫车、拖拉机和汽车等车辆类的农业工具，也不限于驾驶室这一空间。事实是，随着录音设备的发展、特别是微型录音设备的发展，录音设备可移植安放在很多农业工具上，也可移植安放在很多农业工具的相应空间中，即使是锄头、镰刀和扁担等之类的农业工具都可移植安放，即使是锄柄的上端、中端和下端等之处的空间也都可移植安放。

一般来说，就像安放于家庭里、歌厅中和广场上等空间中的录音设备一样，移植安放于乐器型农业工具上的录音设备通过人手按动开关来播放音乐。不过，为了提高情趣性，特别是为了满足到乡村、到田园参与劳动体验的休闲者、旅游者的情趣需求，乐器型农业工具录音设备的开关最好在乐器型农业工具作用农业劳动对象的时候通过作用而打开或关闭。例如，乐器型锄头录音设备的打开最好在其锄刀作用土壤这一时刻通过锄刀与土壤作用而打开。

当然，更有情趣的应是所播放的音乐能够与所从事的农业劳动相一致。当正在开荒垦殖时，播放《南泥湾》；当正在采茶时，播放《采茶姐妹上茶山》；当在河畔劳动时，播放《尼罗河畔的歌声》；如此等等。这些歌曲的播放，自然会形成相应的劳动氛围，乃至将劳动升华成舞蹈。如果说《南泥湾》的播放会使开荒垦殖这一劳动变成开荒垦殖的舞蹈表演的話，那么，《采茶姐妹上茶山》的播放则会使采茶这一劳动变成采茶的舞蹈表演；《尼罗河畔的歌声》的播放却会使河畔劳动变成河畔舞蹈表演。

3、磨擦作用的乐器型农业工具

磨擦作用的乐器型农业工具，指的却是通过农业劳动中农业工具与农业劳动对象的作用或部件间的相互作用磨擦、碰撞发出乐声，形成乐曲的乐器型农业工具。

上面的研究表明，利用手脚或木器、竹器和金属器等直接敲打农业工具，或农业工具相互敲打，能够发出乐声，形成乐曲。这无不意味着在农业劳动中农业工具与农业劳动对象的作用或部件间的相互作用磨擦、碰撞也能够发出乐声，形成乐曲。因为它们在本质上是相同的，即都是物体间作用磨擦、碰撞的结果。

其实，当我们把眼光投到一般的或传统的或已为人们达成共识的乐器的时候，这一认识会更深刻。笛和哨，通过人体发出的气流对其的作用发出声音，并随着气流的强弱和快慢而发出不同的乐声，形成节奏化、旋律化的乐曲；锣和鼓，通过木槌对其的敲击发出乐声，并随着木槌敲击的轻重和快慢而发出不同的乐声，形成节奏化、旋律化的乐曲；二胡和手提琴，通过弓的拉动磨擦弦对琴皮振动发出乐声，并随着弓拉动的轻重和快慢而发出不同的乐声，形成节奏化、旋律化的乐曲；琵琶和吉它、钢琴和电子琴，以及其他乐器，其原理同样如此。

这些论述虽然简单，但是，已足以使我们坚信磨擦作用的乐器型农业工具的可能和研发、制造和使用。锄头的锄刀与田园表层土壤的作用可以发出声音；当锄头的锄刀的制作材料不同、刀口宽度不同、锋利程度不同的时候，则可发出所期望的声音；当锄头所使用的力度不同、快慢不同、土壤不同，却可进一步发出所期望的声音；当然，这些声音也会以乐声的形

式组合形成节奏化、旋律化的乐曲。

锄头的例举使我们相信农业工具与农业劳动对象作用可以产生乐声，形成乐曲，跟下来农夫车的例举则使我们相信农业工具部件之间的磨擦、碰撞也可产生乐声，形成乐曲。马达的工作原理是：通过通电线圈在磁场中受力转动起动机转子旋转，转子上的小齿轮带动发动机飞轮旋转^[11]。其发出的“哒、哒……”声，就是在这过程中部件之间的磨擦、碰撞产生的。既然锄头可通过上述的改进而实现产生乐声、形成乐曲，那么，农夫车也可通过相应的改进而实现产生乐声、形成乐曲。

4、声控技术的乐器型农业工具

所谓声控技术的乐器型农业工具，就是植物声频控制设备的乐器化，也就是应用植物声频控制技术，发放出既能促进农业动植物生长发育、高产优质和防控农业动植物病虫害，又能愉悦人们听觉的乐声或乐曲的乐器型农业工具。

植物声频控制技术的基本原理是：给农业动植物播放特定频率的声波，与农业动植物自发声的频率产生谐振，促进生产发育，实现高产优质；给农业动植物害虫播放特定频率的声波，与农业动植物害虫自发声产生影响，使其受到防控，甚至致死^[12-17]。

新疆生产建设兵团科技局于 2006 年正式引进植物声频控制技术，到 2008 年共在棉田上推广应用 5000 余项。研究表明，植物声频控制技术提高了植物体内能量代谢的关键物质三磷酸腺苷（ATP）的含量，提高了光能利用率，促进了棉花的营养生长和生殖生长。3 年试验平均增产 12.7%^[11]。

植物声频控制设备及其技术的原理也好，实践也好，都无不表明其具备作为乐器型农业工具的可能和条件，或者说，只要其发出的声频既能作用于农业动植物及其病虫害，又能悦耳怡心，就能成为乐器型农业工具。因此可以说，声控技术的乐器型农业工具是一种共享型的乐器型农业工具，即其发出的乐声、形成的乐曲可同时满足着农业动植物和人类的需求。

5、生命对话的乐器型农业工具

所谓生命对话的乐器型农业工具，则是在作用农业劳动对象的过程中，由于农业劳动对象不同而感应不同，从而产生不同的乐声，形成不同的乐曲的乐器型农业工具。

在这里，农业工具也好，农业劳动对象也好，都是作为生命来对待的。无疑，在农业劳动对象中，不少是有生命的，是生命体，如水稻、甘蔗、花生、猪、牛、羊、鱼、虾和蟹等就是。当然，也有不少是没有生命的，是非生命体，如土壤、气候和水域等则是。也当然，对于农业工具来说，就几乎都是没有生命的，是非生命体了。既然说是“几乎”，就不是全部，因为生物防治中的赤眼蜂、寄生蜂和寄生蝇等生物如果也算是农业工具的话，那么，农业工具也就存在有生命的，存在生命体。其实，关于此，更容易理解的并不是赤眼蜂、寄生蜂和寄生蝇等之类的生物，而是牛、马和驴等之类的生物。当牛、马和驴等作为拖车载货的动力的时候，就成为农业工具了。

不过，这里的生命并不仅限于生物，而是指物体，指具有生命对话特点的物体。的确，当物体具有对话的特点的时候，也就具有生命的特征了。作为生命对话的乐器型农业工具，在作用农业劳动对象的过程中，通过感应，发出乐声，形成乐曲，这其实就是对话，这自然就具有生命性。

显然，生命对话的乐器型农业工具能否存在，关键在于感应器的研究和开发。事实上，在现实上，这类器具已经研发成功。感应发光的灯泡和感应打开的门户等就是例证。当然，还有许多。既然这些器具能够做到通过感应达到人们的目的，那么，农业工具也完全可以做到通过感应，实现发放乐声，形成乐曲。

也显然，既然是对话，是生命对话，乐器型农业工具所发放的乐声、形成的乐曲，就应该与作用的农业劳动对象相对应，这样“生命对话”才名副其实，也才有情趣。

6、其他乐器型农业工具

客观地说,真正意义的乐器型农业工具还未有,以上类型的乐器型农业工具仅是笔者对目前存在的各种客观实在提出来的假设。尽管这样,由于受到知识和见识的局限,难免挂一漏万;或者说,还有可能存在其他类型的乐器型农业工具,有待于大家的共同提出、共同研究、共同制造和使用。

参考文献

- [1]冯荭.农业美学的跋[J].北京农学院学报,1998(2):105-108.
- [2]罗凯.建设雷州半岛亚热带农业示范区中的美学问题探讨[J].热带农业科学,2000(5):50-53.
- [3]陈望衡.一种崭新的农业理念——农业美学[J].湖南社会科学,2004(3):7-9.
- [4]张敏.农业景观中的生产性与审美性的统一[J].湖南社会科学,2004(3):10-12.
- [5]陈李波.我们要建设什么样的农业景观?——城乡景观边界模糊及其应对[J].湖南社会科学,2004(3):13-16.
- [6]赵红梅.建设崭新的乡村生活方式[J].湖南社会科学,2004(3):17-20.
- [7]罗凯.农业美学初探[M].北京:中国轻工业出版社,2007.
- [8]罗凯.关于构建农业美学学科体系的思考[A].陈水雄.2010年两岸休闲农业(海南)论坛论文集[C].北京:台海出版社,2010:143-146.
- [9]罗凯.关于构建农业音乐学的思考[J].温州农业科技,2016(2):6-8.
- [10]罗凯.从农业的发展看拓展农业音乐的可能与必要[J].甘肃农业,2018(1·上):40-43.
- [11]360百科.马达[EB/OL].<https://baike.so.com/doc/1573503-1663254.html>,2017-10-20.
- [12]刘然.棉花长得好“植物声控技术”来帮忙[EB/OL].人民网,2010-7-30.
- [13]张建国.植物声控技术在草莓生产中的应用[J].农机科技推广,2011(8):46.
- [14]范建,刘赞强.声波装置入农田 庄稼听声能增产[Z].科技日报,2012-01-12.
- [15]何遵卫.声波对树木生长及其电参数的影响[D].北京林业大学,2015, 硕士论文.
- [16]汤涛林,唐荣,刘世晶,陈军,苗雷,周荣.罗非鱼声控投饵方法[J].渔业科学进展,2014(3):40-43.
- [17]袁炎长.利用声控技术防治农作物害虫[J].湖南农业,2012(8):29.

2020年9月29日

附:罗凯的工作单位:广东省徐闻县农业农村局,邮政编码:524100,联系电话:13692415793(手机),
电子信箱:luokai8818@163.com或 luokailk@126.com,“博客”址:<http://blog.sina.com.cn/luokai8818>。
网络杂志《农业美学》“博客”址:<http://blog.sina.com.cn/luokailk8888>。

农业文化的类型

罗凯

(广东省徐闻县农业农村局, 广东 徐闻 524100)

摘要: 本文研究了农业文化的类型。认为农业文化可分为产业文化、特产文化、生态文化、地理文化、资源文化、建筑文化、历史文化、名人文化和民俗文化。

关键词: 农业文化; 类型; 研究

Types of Agricultural Culture

Luo Kai

(Xuwen Agricultural and Rural Bureau, Xuwen, Guangdong 524100, China)

Abstract: This paper studies the types of agricultural culture. It is believed that agricultural culture can be divided into industrial culture, specialty culture, ecological culture, geographical culture, resource culture, architectural culture, historical culture, celebrity culture and folk culture.

Key words: Agricultural culture; Type; Study

农业文化伴随着农业的产生、形成、发展而经历了漫长的历史。在这一漫长的历史中, 农业文化异彩纷呈。当然, 从不同角度可对农业文化进行不同的分类归纳, 下面则是笔者的归纳分类。

一、产业文化

农业既是一个最古老、最传统的产业, 也是一个大产业。作为大产业, 它由许多产业组成, 如种植业、林业、畜牧业、水产业和加工业等; 即使是种植业, 也由许多更小的产业组成, 如水稻、甘蔗、花生、蔬菜和水果等。

各地在发展农业中, 往往会根据市场, 结合资源来进行, 即发展那些市场走俏、资源适宜的产业, 也许是种植业、或林业、或畜牧业、或水产业、或加工业, 也许是水稻、或甘蔗、或花生、或蔬菜、或水果。当然, 在发展种植业中, 往往同时也发展林业、畜牧业、水产业和加工业; 在发展水稻生产中, 往往同时也发展甘蔗生产、花生生产、蔬菜生产和水果生产; 在发展林业、或畜牧业、或水产业、或加工业中, 也是这样, 在发展甘蔗生产、或花生生产、或蔬菜生产、或水果生产中, 同样是这样。

在发展农业中, 那些着力发展的产业, 抑或种植业、抑或林业、抑或畜牧业、抑或水产业、抑或加工业, 抑或水稻生产、抑或甘蔗生产、抑或花生生产、抑或蔬菜生产、抑或水果生产, 自然会成为当地的主业, 并表现出面积较大、产量较高。人们的这一行为在政府倡导的“一村一品”、“一镇一业”中得以淋漓尽致的体现。

无疑, 这些产业尽管有大有小, 但是, 都可在其运动、发展中积淀、形成相应的文化, 也就是产业文化。种植业、林业、畜牧业、水产业和加工业可分别形成种植业文化、林业文化、畜牧业文化、水产业文化、加工业文化; 水稻生产、甘蔗生产、花生生产、蔬菜生产和水果生产则可分别形成水稻文化、甘蔗文化、花生文化、蔬菜文化和水果文化。

不过, 这里的产业文化并不是指以上所有的产业之文化, 而是指具备如下条件的产业所积淀、形成的文化: 一是在当地面积较大、甚至最大、起着支柱作用的产业; 二是面积和产

量在其所在地区、甚至全省、全国占有较大份额、甚至最大份额的产业；三是这种情形一般维持若干年、甚至十几年、几十年、上百年。

菠萝在广东省徐闻县就是这样的产业。徐闻于 1860 年开始引种菠萝，时为高麻土种，至今已有 160 年的历史。目前，常年种植面积 26 万亩左右，约占全县耕地面积的 25%，是全县大宗农作物之一，也是当地的主导产业，年产值约 36 亿元，约占全县国民生产总值（GDP）的 21%，占农林牧副渔总产值的 30%，占农业产值的 35%。徐闻被誉为“中国菠萝之乡”，其菠萝总产 65 万吨，约占全国的 30%，即平均全国每三个菠萝中就有一个是徐闻生产的。徐闻菠萝更是以其品牌驰名国内外。生产的菠萝果大、形美、汁多、肉脆、味香、可口、质优。早在 20 世纪 50 年代就享誉东南亚。60 年代，以其为原料加工的“天坛牌”糖水菠萝罐头出口美国、加拿大等 50 多个国家和地区，并多次获得国家轻工业部和广东省优质产品奖。1996 年被国家农业部定为南亚热带作物名优基地——广东省徐闻县愚公楼菠萝生产基地。1997 年、1999 年巴厘菠萝果先后分别被中国农业博览会、中国国际农业博览会确认为名牌产品。2001 年被国家质量监督检验检疫总局列为国家级菠萝综合标准化示范区，被中国绿色食品发展中心认定为国家 A 级绿色食品。2005 年获国家原产地域产品保护认证。2007 年被农业部绿色食品管理办公室和中国绿色食品发展中心列为全国绿色食品原料标准化生产基地^[1]。

菠萝，这一传统、主导、品牌的产业，在徐闻自然形成了菠萝文化。在徐闻，菠萝漫山遍野，进街入巷，驻店排挡，家喻户晓；种植科学，品种巴厘，技术成熟，产高质优；种加一体，鲜果香甜，罐头清甜，产品多样；装运讲究，散装成山，车装成色；吃用情趣，原吃味纯，洗吃味清，蘸吃味甜。当然，更具文化意义的是成片成片的菠萝分布于高低起伏的低丘缓坡地带，宛如“菠萝的海”一般，那自然生成多种色彩的“七彩田园”更是使这一景观锦上添花，目前，其已日益成为人们休闲、旅游的知名目的地之一^[2]。

由此可见，产业文化是一种区域文化。即产业文化以其产业所存在和发展的区域为载体、为范围。徐闻菠萝文化的区域就是徐闻县。

农业文化也是一种经济文化。即产业文化不但以追求产业经济为目的，而且以追求地方经济为目的。徐闻菠萝文化驱动的菠萝产业在徐闻起着支柱作用，所生产产值占有较大的份额，其发展影响着当地经济的发展。

产业文化又是一种品牌文化。即产业文化不但以历史、规模、数量扬名，而且以质量树名。徐闻菠萝历史悠久、规模第一、品质优良，先后荣获一系列荣誉，更是国家原产地域产品，堪称菠萝之品牌产品。

产业文化还是一种大众文化。即产业文化不但为当地人们所知晓，而且融入当地人们的生活之中。菠萝文化就是徐闻人们的生活内容之一。在徐闻，可以说，没有人不知道菠萝，没有人不谈论菠萝，没有人不品尝菠萝，没有人不把自己当作菠萝之乡的人。

二、特产文化

在农业产业中，有的产业往往由于特殊的土壤、气候、水和生物等自然资源的影响而显得特别，抑或在生长发育上特别，抑或在形态特征上特别，抑或在产品成份上特别。无疑，这里的特别，主要是指产品成份上特别。也无疑，这就是这里所说的特产。

其实，就此来说，上面所指的产业、也就是产业文化所依托的产业，其所处区域的土壤、气候、水和生物等自然资源也是独特的，或者可以准确地说，具有相对优势。徐闻菠萝原产地域位于东径 $110^{\circ} 10' - 110^{\circ} 32'$ 、北纬 $20^{\circ} 13' - 20^{\circ} 46'$ ，地处热带北缘，属热带季风气候，光温充足，雨量充沛，土壤肥沃。年均气温 23.5°C ，极端最高气温 38.8°C ，极端最低气温 2.2°C ，年均活动积温 8554.7°C ，有效积温 4929.7°C ，夏长冬短，几乎无霜冻；年均日照时数 1775.5h ，太阳辐射量居广东之最，年均达 118.4 焦耳/平方厘米；年均降雨量 1369.2cm ，相对湿度 84% ；种植地以砖红壤为主，土壤有机质平均含量 29.34g/kg ，全氮平均含量 1.44g/kg ，全磷平均含量 37.24mg/kg ，全钾平均含量 150.37mg/kg ，硅、硫、钙等中量元素含量也较充足。由于没有污染工厂和其他污染源，空气和地表水均未受任何污染，地下水更是有如“矿泉水”一般纯净。可见，这一自然资源十分适宜发展菠萝生产，这就不难理解徐闻为什么能形成菠萝产业^[1]。

尽管这样，特产就是特产，其对土壤、气候、水和生物等自然资源的要求更严格，或者说，更具区域性，从而表现出在分布范围上更小，在种植面积上更少。徐闻良姜这一特产分布于徐闻县的龙塘、南山、城北、海安、曲界、锦和、下洋、前山等中北部地区和广东的惠阳、东莞等县市、广西的陆川、博白等县份、海南的陵水、儋州、屯昌等县市以及台湾、云南等地区，面积约 3 万亩。这样的面积不用说与全国的菠萝面积相比不得好，即使仅与徐闻菠萝面积相比也是 1/10 强一点。况且这约 3 万亩的面积约 80% 集中在徐闻，特别是集中在以龙塘镇良姜村为核心的区域^[3]。

也尽管这样，特产虽然区域性较强，特别是优质特产区域性更强，但是，导致其分布范围小、种植面积少的原因并不完全在于其区域性，而还在于其市场需求量相对较少，即在较小的范围、较少的面积上种植就可满足市场的需求。菠萝是水果，适合大众消费，需求量自然较大。当然，当荔枝、龙眼和黄皮等其他水果较少的时候，需求量更大；当这些水果较多的时候，市场自然会受到冲击。良姜是药材，只适合那些生病或保健的人群消费，需求量自然较小。况且同种疾病或保健目的也可用其他具备相同或相近药效的药材。

同样尽管这样，特产之所以能够成为特产，主要还在于其具有特殊的功能，具有其他产品无法取代或难于取代的功能。徐闻良姜含有由 1,8-桉叶素 (cineole)、桂皮酸甲脂 (Methy-cinnamate)、丁香油酚 (Eugenol)、蒎烯 (pinene) 和毕澄茄烯 (cadinene) 等成份构成的挥发油 $0.5\% - 1.5\%$ ，“其性甘辣、清凉，除烦热、利津小便，通三焦团壅、塞气抗寒、散气之功效，且明目驱瘴。”特产的特殊功能在其优势区域表现得更为明显。调查表明，良姜村出产的良姜色泽金黄，气味馨香，含粉率高，质地好，品质优，其品质比县内其他地区的高 $30\% - 40\%$ ，比海南、广西等地区的高一半。这就不难理解，为什么国家质检总局于 2006 年 8 月 17 日将徐闻良姜列为地理标志产品保护，将徐闻县的龙塘镇、曲界镇、城北乡、南山镇、海安镇、锦和镇、下洋镇、前山镇等 8 个乡镇行政辖区列为徐闻良姜地理标志产品保护范围。同样不难理解，为什么能被评为“广东十件宝”之一^[3-4]。

特产积淀、形成的文化自然是特产文化，或者说，是这样的特产文化。这样的特产文化的最大特点，就是具有特殊性。特就特在以特殊的自然资源为源泉，以特殊的作物为载体，以特殊的功能为生命，以特殊的服务为存在。徐闻良姜文化这一特产文化，就是以热带资源为源泉，以良姜为载体，以医疗和保健为生命，以服务疾病患者和保健对象为存在，形成的文化。

三、生态文化

当我们走进自然保护区，如鼎湖山、神农架和五指山等，我们会发现，那里生长着天然的植物、生活着天然的动物、寄存着天然的石头、遗存着天然的水域，一切都是那么自然，自然存在着、发展着、影响着、平衡着。这就是生态。

无疑，最初的地球到处都是生态的，或者说，一切都在自然力和生态力的作用下形成、发展。然而，由于人类的出现以及其的开发、利用，特别是不当的开发、利用，导致一些地区环境的日益恶化，抑或植被稀少，抑或水土流失，抑或环境污染，抑或空气污浊，等等。因此，人类不得不进行生态保护，而设立自然保护区就是举措之一。到 2018 年 6 月止，我国共设立了 474 处国家级自然保护区。当然，还有各地根据需求和可能自行设立的地方性自然保护区。

显然，从生态的角度来说，目前存在生态的区域或地方和非生态的区域或地方。也显然，在两者之间则存在生态环境不那么好的区域或地方。同样显然，自然保护区就属于生态的区域或地方，而国家级自然保护区则属于生态环境最好的区域或地方。

不少乡村及其田园就处于生态的区域或地方，或者说，不少乡村及其田园环境生态。无疑，鼎湖山、神农架和五指山等自然保护区中的乡村及其田园就是这样。

客观地说，任何区域或地方都存在和表现着生态，即使非生态的区域或地方也一样，问题只是生态的程度高低而已。不过，这里所指的生态是指哪些生态程度较高的区域或地方。就此而言，自然保护区应是生态程度最高的区域或地方了。

在生态的区域或地方，特别是在鼎湖山、神农架和五指山等自然保护区，自然积淀、形成着生态文化。生态是多样的，即使是鼎湖山、神农架和五指山都有所不同，因此，各自形成的生态文化自然不同。尽管这样，既然都是生态，都是生态文化，就会具有共性。笔者认为，生态文化应具有如下几个共性：

生态文化是原始的。在生态的区域或地方，植物天然地生长着，动物天然地生活着，石头天然地寄存着，水域天然地遗存着，一切都以原始的状态存在和表现着。在生态的区域或地方，不但寄存着上百年、上千年、甚至上万年的石头，遗存着上百年、上千年、甚至上万年的水域，而且生长着上百年、上千年的树木。即使是现在才落地生根、发芽、伸茎、分枝、繁枝、长叶、开花、结果的植物，从生理特征到形态特征与上百年、上千年、上万年前的植物也没有什么两样，如果存在和表现着差异的话，那也是自然进化的结果。植物是这样，动物也是这样。世界最古老的树，叫欧洲云杉，又名挪威云杉，生长于瑞典 Fulufjallets 国家公园，已有 9500 年历史。享誉全球的黄山迎客松，树龄至少有 800 年。在自然保护区，银杏树龄动辄就是几百年、上千年。庐山有棵，直径近 2 米。

生态文化是共存的。在生态的区域或地方，一切要素都是共存的。首先，共存是空间的。在生态的区域或地方，其一切要素都共同存在于同一空间中，不但其植物、动物、石头、山岭和水域是这样，而且其土壤、气候、水和生物也是这样。其次，共存是同时的。即生态空间中的要素虽可先后存在着，但也可同时存在着。显然，对新出生的野猪来说，未出生之前不存在共存问题，共存是出生之后的事情。不过，作为共存，其出生之后不但与其他野猪共存，而且与其他动物和植物、石头、山岭、水域共存。又其次，共存是互依的。即生态空间的要素不但独立地存在着，而且相互依存着。山坡上的土壤由于植被的覆盖而得以保持，植被的生长则有赖于土壤肥水的供应；小鸟由于山林的存在而得以栖息，山林则由于小鸟的栖

息而彰显活力,由于小鸟的粪便而获得养分;如此等等。再其次,共存是互抑的。即生态空间的要素不但相互依存着,而且互相抑制着。乔木树木的生长挡住草本植被生长所需的阳光,草本植被的生长争占乔木树木生长所需的肥水;大象可叫虎、豹、狼等奈何不了,却不堪可钻入鼻子的老鼠,而老鼠在虎、豹、狼等的面前只能成为它们的美餐;如此之类还有许多。最后,共存是和谐的。即生态空间的要素虽然存在着互相抑制,但是,总的来说,各要素是和谐的,并在和谐中发展着。植物、动物、石头、山岭和水域等之间是和谐的,其与土壤、气候、水和生物等之间也是和谐的,其与土壤、气候、水和生物等之间也是和谐的,和谐地存在、发展于同一生态空间中。在云南红河哈尼梯田,稻田养鱼、养鸭已有1000多年的历史。但技术含量不高,效益不好。2015年以来,在中国水产科学研究院淡水渔业研究中心的支持下,研究、开发“渔稻共作”,2017年达到3.1万亩,亩均增收1540元。“渔稻共作”有利于减少虫害,有利于生态除草和造肥,有利于改良土壤,有利于降低污染,有利于生物多样性保护,有利于调节旱涝,从而有效地改善了梯田生态环境系统^[5]。

生态文化是循环的。在生态的区域或地方生态空间的要素是不断循环、运动的,并在循环运动中保持活力、不断发展。植物,从种子落地生根、发芽,到茎挺、枝繁、叶茂,到枯枝、落叶、死亡,又到新种子落地生根、发芽;溪水,从源头流到水尾,不断更新;动物,一代又一代;一切,循环往复,周而复始。

生态文化是保护的。上面提到,自然生态是自然在自然力和生态力的作用下形成、发展的,然而,这并不意味着完全是自然力和生态力作用的结果,而往往同时还是人类自觉地、主动地、积极地保护的结果,特别是自从自然环境开始出现恶化的现象以来,人类的这一行为愈来愈明显。主要表现在:制订保护法律,出台保护方案,设置保护区域,明确保护对象,落实保护责任,付以保护行动,采取保护措施,追求保护效果。

四、地理文化

地球上任一存在物体或存在空间都可用经纬度来表达。这就是地理,就是这些存在物体或存在空间的地理所在。

尽管这样,只有那些特殊的地理所在才使得其存在物体或存在空间显得特别,从而引起人们的关注。当然,特殊的地理所在有许多种形式。不过,一般来说,主要有如下几种类型:

(1) 极地地理。即位于极地的区域。最为大家所知晓的莫过于南极和北极。不过,就一个国家来说,在地理上一样存在极地,我国的东、西、南、北、中就存在东极、西极、南极、北极和中央。目前,就村庄来说,最有名的位于北极的“北极村”——漠河。(2) 城市地理。即位于城市之中或附近的区域。北京、上海、广州、深圳、南京、杭州、武汉、天津、沈阳、重庆等城市为我国的著名城市,位于这些城市之中或附近的区域自然会由于这些城市的著名而知名。(3) 山岭地理。即位于山岭之中或附近的区域。我国有许多著名的山岭,如黄山、泰山、庐山、峨眉山、五指山、武夷山、九华山、普陀山、五台山和武当山等。显然,位于这些山岭之中或附近的区域会因山而有名。(4) 水域地理。即位于水域附近的区域。我国也有许多著名的水域,河流有长江、黄河、黑龙江、珠江和塔里木河等,湖泊有鄱阳湖、洞庭湖、太湖、洪泽湖和青海湖等,濒临的海洋有渤海、黄海、东海和南海等。这些水域之名自然会带来附近区域之名。(5) 景区地理。即位于景区附近的区域。我国同样有许多著名的景区,如长城、十三陵、承德避暑山庄和外八庙、清东陵、云冈石窟、孔庙、龙门石窟、东坡赤壁和七星岩等。位于这些景区附近的区域则会由于景区的知名度而知名。

地理所在的存在、特别是特殊地理所在的存在自然会形成地理文化,并且会表现出其固有的特征:

自然性。即形成地理文化的地理所在是自然形成的特征。极地地理、城市地理、山岭地理、水域地理和景区地理的地理所在都是自然形成的,即其所处的经纬度与极地、城市、山岭、水域和景区等无关。例如,位于十三陵水库附近的地理所在并不是由于十三陵水库的存

在而存在，其实，即使不修建十三陵水库，它也存在在那里。反倒是，十三陵水库的地理所在、也就是经纬度却可随着那些设计者的选址而不同，也就是不具有自然性，而具有人为性。当然，现实的选址是合理的、科学的、最佳的。也当然，若十三陵水库的选址不是现在的位置，那么，现在十三陵水库附近的地理所在就不再是十三陵水库附近的地理所在，而是其他附近的地理所在。尽管这样，其地理所在并没有发生变化，即仍然在现在的位置。

特殊性。即形成地理文化的地理所在是特殊的地理所在的特征。上面提到，任何存在物体或存在空间都有地理所在。树木有，石头有，房屋有，等等。不过，这里所指的地理所在，也就是形成地理文化的地理所在却是特殊的。特就特在极地地理位于极地，城市地理位于城市之中或附近，山岭地理位于山岭之中或附近，水域地理位于水域附近，景区地理位于景区。

依附性。即形成地理文化的地理所在的知名程度以其所依附的地理所在为基础的特征。上面提到的产业文化也好，特产文化也好，其知名程度主要取决于其产业或特产及其文化，特别是取决于产业或特产的历史面积、产量和质量，与地理所在几乎无关，与其相关的物体（如土壤、水域和岩石等）也无关。而形成地理文化的地理所在及其文化则不同，其知名程度以其所依附的地理所在为基础，极地地理及其文化以其所依附的极地为基础，城市地理及其文化以其所依附的城市为基础，山岭地理及其文化以其所依附的山岭为基础，水域地理及其文化以其所依附的水域为基础，景区地理及其文化以其所依附的景区为基础。如果说这一论述不好理解的话，那么，跟下来的论述就好理解了。南极、北极是极地，一个国家的地理之极也是极地，南极、北极比国家的地理之极有名，或者说，基础更好，其极地地理及其文化就要有名些或更有基础；位于广州之中或附近的地理的所在是城市地理，位于湛江之中或附近的地理所在也是城市地理，广州比湛江有名，或者说，基础更好，其城市地理及其文化也要有名些，或更有基础；如此类推。

母本性。即地理所在所形成的地理文化无不融入其所依附的地理所在的文化特征。形成地理文化的地理所在既然以其所依附的地理所在为基础，那么，其形成的地理文化或打造的文化自然离不开、也不应该离开其所依附的地理所在。特别是在打造旅游景区的时候，就应该很好地、充分地利用地理文化，使其成为旅游景区的灵魂。旅游胜地之一北极村就是这样。它是黑龙江省漠河县最北的村镇，也是我国最北的城镇，位于北纬 $53^{\circ} 33' 30''$ 、东经 $127^{\circ} 20' 27.14''$ 。在旅游开发中，它既直接地利用北极资源——极昼、极夜、北极光，又间接地利用北极资源——中国北极点、北望垭口、极地冰雪、漠河七星山、观音山、黑龙江、飞来松、元宝山、古驿站、杯酒定边患和四不烧等，形成多维度、多层次的北极文化，铸成美学化、旅游化的旅游风景区。

五、资源文化

资源是多样的、丰富的。就农业来说，主要有土壤、气候、水和生物。土壤，可以稳固农作物，为农作物的生长发育提供肥水；气候，可为农作物的生长发育提供温、光、水、气、热；水，可为农作物的生长发育提供水分；生物，可生产农产品、林产品、畜牧产品和水产品，可为农业品种的培育提供种质资源。

无疑，资源的形成、运动、发展也可形成文化。不过，像产业文化、特产文化、生态文化和地理文化一样，这里所研究的资源文化指的是那些具有优势或典型性、代表性的资源所形成的文化。

土壤，是农业之母，也是主要的农业资源。我国幅员广阔，土壤多样，可分为红壤、棕壤、褐土、黑土、栗钙土、漠土、湖土（包括砂姜黑土）、灌淤土、水稻土、湿土（草甸土、沼泽土）、盐碱土、岩性土和高山土等12个系列，其中红壤系列又分为砖红壤、燥红土、赤红壤、红壤、黄壤、黄棕壤、棕壤和暗红壤等^[15]。砖红壤分布于海南岛、雷州半岛、西双版纳和台湾，尤以雷州半岛的为典型。雷州半岛砖红壤成土母岩为玄武岩，风化壳深厚，达数十米，土层厚度一般超过2米，土壤的风化指数2.5-1.13，矿物的组成以高岭石为主；土

壤的淋溶强烈，淋溶系数 0.698-0.125；富铝化作用强烈，土壤粘粒的硅铝比在 1.7-1.5 左右；土壤的颜色深红；土壤的代换性盐基含量低，代换性钠 0.032me/100g 土-0.288me/100g 土，代换性钾 0.039me/100g 土-0.195me/100g 土，代换性钙 0.246me/100g 土-7.500me/100g 土，代换性镁 0.058me/100g 土-2.5me/100g 土之间，盐基饱和度 10%左右；土壤的有机质和全氮含量高的分别为 5.10%和 0.163%，低的仅分别为 0.97%和 0.039%^[6]。砖红壤，种瓜得瓜，种豆得豆，催生出的与土色一般的红土文化，不但有红土酒家，而且有红土诗社，以红土为名义的广告更是铺天盖地。

气候，是农业之依，同样是主要的农业资源。我国的气候也是多样的，可分为热带、温带和寒带三大气候带，以及 15 个小气候带^[7]。海南岛为我国热带宝岛，属热带季风气候，光照充足，热量丰富，长夏无冬，降水集中，干湿季分明。年均日照时数 1472.6-4418.2 小时，年均太阳辐射量 102.6-140 千卡/平方厘米，年均气温 20.7-25.4℃，极端最高气温 41.5℃，极端最低气温 -1.5℃，≥10℃ 年均活动积温 7400-9289.1℃，年均降雨量 902.6-2691.2 毫米。在热带气候的作用下，生长着海南椎、隆缘桉、野石竹、鸭脚木、乌墨、琼崖、海棠、黑榕、青线、重阳木和母生等热带树木，栽培着橡胶、椰子、油棕、槟榔、胡椒、可可、咖啡、藿香、菠萝蜜和菠萝等热带作物，生活着熊、长臂猿、云豹、猴子、穿山甲、黄猿、果子狸、山鸡、水鹿和野猪等热带动物，饲养着海南猪、屯昌黑猪、黄流猪、高峰黄牛、屯昌水牛、东山羊、文昌鸡、海南白鹅、定安四季鹅和九所鸭等家畜家禽。无疑，最值得一提的椰子这一热带滨海树木，从城市到村庄，从内陆到沿海，从田园到道路，到处都在生长着，不但成为海南岛的代表树种，而且成为海南岛的文化符号——椰岛^[8]。

水，是农业之脉，仍然是主要的农业资源。水有海洋水、陆地水，有湖泊水、江河水、流水、山塘水，有天然水、人工蓄水，有地表水、地下水^[15]。雷州半岛素以干旱著称。该半岛年均降雨量 1100-1800 毫米，是全广东省相对少雨的地区。位于西南海岸的苞西，年均降雨量 1122 毫米，则为全省降雨量少的地方。一年中 10 月至次年 4 月的降雨量仅占全年的 25.6%，开春的第一次透雨（日雨量≥20 毫米）80%保证率的日期中部地区是 4 月 11 日，西部海岸是 4 月 28 日，比回暖（日均温度≥15℃）始期落后 30-50 天。该半岛年均蒸发量 1712.8-1946.3 毫米，除廉江市以外，其他各县的蒸发量均大于降雨量，位于南部的徐闻县年均蒸发量 1946.3 毫米，比降雨量大 606.8 毫米。由此，导致干旱常发生，尤其是冬春连旱。据统计，建国以来该半岛冬春连旱的机率为 82.6-91.7%，其中重旱 58.3-83.3%，最长连旱日数达 234 天。干旱往往给农业生产和群众生活带来严重的影响。1987 年 6 月到 1988 年 4 月，徐闻县发生两次特大干旱，使全县 125 宗大小水库就有 35 宗几乎无水可放，19 宗断流，4 宗库底龟裂；80 多万亩农作物就有 70 万亩受旱，仅甘蔗就有 2.47 万亩旱死；全县有 1092 条自然村、16.43 万人饮水困难，分别占全县自然村数和农业人口的 87.6%和 40.3%，迈陈墟则一度出现卖水市场，每担清水 0.6 元。然而，该半岛地下水资源丰富。该半岛是全广东省地下水最丰富的地区，有可开采资源 40.82 亿立方米/年，补给资源 58.85 亿立方米/年，与地表水资源 43.41 亿立方米/年大体相等。其中，浅层水的可开采量为 570.41 万立方米/日，占全部可开采量 1118.32 万立方米/日的一半以上。基于此，该半岛充分地利用和发挥地下水丰富这一资源特点，实施井灌工程，打井抽水灌溉。1998-2009 年，仅徐闻一个县就先后钻打各类机井 3 万多眼，增加灌溉面积 30 多万亩；同时，推广喷灌、滴灌、微灌、膜下灌等节水技术 20 多万亩。由此，极大地解决耕地缺水问题，使土地生产能力由过去的亩值不足 2000 元提高到 4000 元以上。在雷州半岛，井灌农业、节水农业逐渐形成；或者说，井灌农业、节水农业逐渐成为雷州半岛的一种文化^[9-10]。

生物，是农业之本，同样仍然是主要的农业资源。全世界的植物约有 50 多万种，动物约有 150 多万种。我国是生物种类较多的国家之一，仅农作物就有粮、棉、油、糖、麻、烟、茶、桑、果、菜、药等类型，畜禽就有猪、牛、羊、鸡、鹅、鸭等类型，水产品则有鱼、虾、

蟹等^[15]。众所周知，杂交水稻的选育过程离不开如下四个关键环节：一是袁隆平于1960年7月在安江农校试验田中意外发现一株“鹤立鸡群”、性状特殊的稻株；二是袁隆平于1964年7月5日在安江农校试验田中找到一株天然、奇异的雄性不育稻株；三是袁隆平的助手李必湖、冯克珊于1971年11月23日在海南试验田发现一株野生、难得的雄性不育稻株；四是袁隆平的学生李必湖、邓华风于1987年7月16日在安江农校籼稻三系育种材料中找到一株光敏不育水稻。这些的存在、发现和利用，使杂交水稻的研究、培育成为可能，从而培育出杂交水稻系列品种，孕育出杂交水稻生产，催生出杂交水稻文化。

六、建筑文化

村庄是人类在乡村中的聚集、居住群落。既然如此，在乡村自然建设、存在着许多住宅。当然，除了住宅，还有祠堂、土地庙、文化楼和戏楼等其他建筑。

建筑是设施的一种形式，住宅则是一种主要的建筑。可以说，所有村庄都有住宅，都有建筑，有的甚至有特色，从而使当地存在和表现着建筑文化。

大凡建筑都处于一定的地理位置，或者可以说，都可用经纬度来表示。这样，建筑无不受到地理位置的影响。地形地势的平整与否、高低程度和方位走向无不影响着建筑的坐向、高低和造型。住宅，处于平地，坐北向南较好；处于山地，只能是背高向低；处于山水地区，自然是高低错落的吊脚楼适合了；如此等等。

大凡建筑都是生活、生产的设施，而住宅则完全是生活设施。作为生活、生产之所需，只能占据生活、生产开支之一部份；作为居住设施的住宅，则只能占据吃、穿、住、行开支中住的那部份。也就是，营造建筑、建设住宅无不受到经济的制约。建设住宅，规模愈大、艺术愈强，造价愈高，至于乔家大院、王家大院之类的豪宅只有那些超级富豪才有可能建造。其实，乡村住宅从茅顶泥墙→茅顶石墙→瓦顶石墙→瓦顶砖墙→楼房→别墅，既是住宅水平的提高，也是经济水平的提高。

大凡建筑都存在和表现着一定的习俗，或者可以说，都存在和表现着一定习俗的形式，当然也可以说，在习俗的约束下以相应的形式存在和表现着，雷州半岛和海南岛虽一海之隔，但住宅建设就有所不同。雷州半岛住宅上下座之间正中不能相对；海南岛住宅上下座之间正中却强调相对。这不存在那儿的合理、科学与否，只是习俗，两地不同的习俗。

大凡建筑都是凝固的。建筑由水泥、钢筋、石子、砖块、灰沙和木材等建筑材料组合而成，不同的只是建筑材料不同或组合方式不同，或者可以说，由于这些不同，形成不同的建筑。吊脚楼用杉木搭建而成，蒙古包用布料围捆而成，绝大多数楼房就是水泥加钢筋了；平房屋顶是尖的，平楼屋顶则是平的，别墅却是高低错落的。尽管这样，它们都有一个共同的特征，就是都是凝固的，水泥加钢筋的楼房不用解释都可理解，杉木搭建而成的吊脚楼也可理解，即使布料围捆而成的蒙古包一样可为下面的文字变成可理解：用绳带将苦毡捆搏在架木上，形成顶为圆锥形、围墙为圆柱形的房屋。不但如此，建筑还强调坚固，愈坚固愈好，或者可以说，凝固性在坚固的追求中得以更好的体现。

大凡建筑都是音乐的。客观地说，建筑只是人为作用下的材料组合。人们完全可以使这些材料组合成各种各样的形式，当然包括令人讨厌的形式——丑八怪的建筑。不过，人类具有爱美的天性，不用说在意识里、即使在潜意识里也存在和表现着对美的追求，并将这种追求体现在其行为及行为作用的物体中，当然，包括建筑之中，或者可以说，建筑是人类对美的追求的一种表现形式，而这种形式已被人们形容为“凝固的音乐”。的确，是这样。当柱、窗排列为“柱、窗、柱、窗……”的时候，就有如四分之二的节拍；为“柱、窗、窗，柱、窗、窗……”的时候，则有如圆舞曲的旋律。当然，最具音乐感的是那些高低错落的小别墅；或者可以说，小别墅的音乐感愈强，愈具有艺术性，愈具有美感。吊脚楼实际就有如小别墅一般。

大凡建筑都建于某一时间之中，建于某一时代之中，因此，无不打印着时代的烙印。世

界依然存在的最古老的法国凯恩石墓建于公元前 4850 年；我国的南禅寺则建于 780 年。世界最大的宫殿、也是最大的建筑群故宫，占地面积 72 万平方米，建筑面积约 15 万平方米，宫殿 70 多座，房屋 9000 余间，建于 1406-1420 年。世界最高的建筑迪拜塔，162 层，828 米高，建于 2004-2010 年；我国的上海中心大厦，118 层，632 米高，建于 2017 年。至于时代的烙印，下面的叙述虽简单、却足够：清代的四合院，民国的骑楼，20 世纪 60-70 年代的灰墙，80 年代的石米墙，90 年代后的瓷砖墙。

七、历史文化

人类在漫长的历史长河中生息繁衍、生产生活、一路走来、留下足迹，而那些重大历史事件则往往留在人们的记忆中，形成历史文化。当然，这些历史事件不少发生于乡村中，这些历史文化不少形成于乡村中。

无疑，重大历史事件是相对说的，相对于一般历史事件，相对于一般生产生活的点点滴滴。尽管这样，却难于用一个准确的数字来表达；也尽管这样，却可进行如下描述：

历史文化是历史事件在漫长的历史长河中积淀、形成的。有一种说法，就是“今天的新闻就是明天的历史”。的确，是这样。历史就是已经过去的事情，“今天的新闻”对于“明天”来说都是“过去”的。尽管这样，一般来说，所谓历史指的应是过去较久的事情。如果说雷峰塔的建设可算是历史事件的话，那么，广州塔的建设则只能算是当今的事情；或者说，如果说雷峰塔的建设所积淀、形成的文化是历史文化的话，那么，广州塔的建设所积淀、形成的文化只能算是现代文化。显然，雷峰塔的建设也好，广州塔的建设也好，都是在城市里进行的，而不是乡村，因此，都不属于农业文化的范畴，而都江堰的建设则属于农业的范畴，或者说，仅此足可体现出历史文化的历史性。

历史文化主要由历史上所发生的事件积淀、形成。在历史的长河中，一切事物都在运动着，并都潜藏着发生不同运动方式的可能。当其发生不同的运动方式的时候，就可视为事件。日、月、星、辰每时每刻都在依其运动规律运动着，而当陨石冲进大气层将地面冲出一个陨石坑的时候，就形成了事件；江河、溪流每时每刻都在从上游流向下流，而当河水决堤将周边的土地、田园和村庄泡浸的时候，也就形成了事件。这是自然的，上面提到的雷峰塔和都江堰建设则是人为的。这都形成相应的历史文化，如果说陨石形成的陨石历史文化的话，那么，雷峰塔建设形成的是塔的历史文化，都江堰建设形成的是堰的历史文化。

历史文化所籍以形成的事件主要是重大事件，具体是重大历史事件。客观地说，任何事件的产生、发展都会积淀、形成相应的文化。不过，也客观地说，重大事件不但会起着较大的影响，而且会起着导向的作用。既然是重大事件，影响较大十分自然，而起着导向作用那是由于：重大事件更能深入人心，更能影响人们的行为，从而引导着事物的发展方向。都江堰，这一著名的水利工程，于秦昭王时由蜀郡守李冰父子主持修建而成，当时已灌溉 300 多万亩农田，后经不断整治、扩建，现可灌溉 800 多万亩农田。它由“鱼嘴”、“飞沙堰”、“宝瓶口”三项主要工程以及成千上万条渠道和分堰组成，构成一个完整的水利工程系统，成为水利工程的成功典范、中国古代水利工程的文化符号，一直影响着我国的水利工程建设^[11]。

历史文化既然是由于历史事件、特别是重大历史事件积淀、形成的文化，那么，其所赖以存在的历史事件或重大历史事件只能是遗迹。所谓遗迹，就是与所发事件相关物体留下的痕迹。周口店北京猿人遗址中的石器、灰烬、烧石和烧骨等就是周口店北京猿人曾经生活、生产留下的遗物。唐山大地震中的废墟则是这一地震发生的见证。通过这些遗物，可以品读出历史文化。如果说通过周口店北京猿人遗址中的石器、灰烬、烧石和烧骨等可以品读出周口店北京猿人的生活、生产的话，那么，通过唐山大地震中的废墟则可品读出唐山大地震。历史文化往往都具有历史价值、文化价值、旅游价值，因此，人们往往对其进行保护。当然，保护并不是维持原状，而是包含着修复。也当然，保护之修复是修旧如旧，是“历史的”保

留。周口店北京猿人遗址以周口店北京猿人遗址博物馆的形式存在和表现着；唐山大地震遗迹则以唐山抗震纪念馆的形式存在和表现着；至于都江堰，却通过整治、扩建，既保留了其原始风貌，又展现了其现代新姿。

八、名人文化

在漫长的历史长河中，有的名人出生于乡村，生活于乡村，活动于乡村，留下了痕迹，积淀了文化，形成了影响。

名人，就具体人来说，是属于某一领域的，但就全国、全球来说，却是各行各业的。有政治的、经济的，也有文化的、艺术的，还有学术的、科技的，当然，还有其他的。如果说广东省中山市翠亨村是一代传人孙中山的故乡的话，那么，湘西凤凰则是一代文学大师沈从文的家乡，苏州市吴江区开弦弓村、也就是江村却是著名社会学家、人类学家费孝通的故里及其代表作《江村经济》的调查地。

名人，有地方性的，也有全国性的，还有世界性的。上面提到的孙中山、沈从文和费孝通就是全国性、甚至世界性的名人。

名人文化的最大特征是名人性。即名人文化的文化价值主要取决于名人本身，主要表现在两方面：一是名人的知名度。名人的知名度愈大，其文化价值愈高。显然，全国性的、世界性的名人所积淀、形成的文化价值要比地区性的高。尽管这样，全国性、甚至世界性的名人并不能取代地方性的名人对其当地的影响。无疑，孙中山要比沈从文知名，但对湘西凤凰来说，沈从文更有文化价值，甚至会成为文化名片。二是名人的所属。即文化的所属取决于名人的所属。当名人分别属于政治的、经济的、文化的、艺术的、学术的、科技的或其他的时候，所积淀、形成的名人文化就分别相应地属于这些领域。无疑，不少名人涉及的领域往往不止一个，而是多个。这时，其文化价值则主要取决于其最为突出或最有成就的那一领域。伟大领袖毛泽东既是政治家、革命家，也是军事家、理论家，还是书法家、诗人，但是，其最突出的却是政治家。

名人文化的特征之二是遗迹性。名人既有在世的，也有过世的，但是，更多的是过世的；名人文化一般是名人出生或曾经生活、活动的地方及其相关事物积淀、形成的。因此，名人文化往往表现出遗迹性。所谓遗迹，就是名人曾经生活、活动留存下来的痕迹，包括住过的宅、睡过的床、穿过的衣、用过的碗，当然，还有许多。尽管这样，最有文化价值的是三大类：一是名人亲自制作的遗物。如亲自设计的房屋、亲自种植的树木。翠亨村孙中山故居的住宅就是孙中山亲自设计的。无疑，名人亲自制作的遗物留下名人的痕迹最实在、最深刻。二是与名人所属领域相同或相近的遗物。沈从文属文化名人，其用过的笔、写书的桌、留下的手稿就要比其他遗物重要，更具文化价值、欣赏价值。也无疑，这些遗物更具代表性、典型性、符号性、象征性。三是与特殊事件相关的遗物。如革命志士为躲避敌人的追捕，曾经蹲过的坑洞。同样无疑，这些遗物具有特殊性、故事性。

名人文化的特征之三是雕像性。名人文化的集中体现在于名人本身，而对于已过世的名人来说，只能通过名人雕像来体现了。事实上，在名人故居、公园之类的地方，都雕刻有名人雕像。翠亨村孙中山故居就雕刻有孙中山的雕像。作为名人雕像，特别是安放在名人故居、公园中的名人雕像，不但应做到形象，而且应做到神像、韵像，使人通过品读，能够品读出文化，感悟到情怀，升华了境界。所谓形像，就是名人雕像外部形象像真人一样；所谓神像，则是名人雕像外部形象能存在和表现名人的气质；所谓韵像，却是名人雕像能存在和表现名人所献身的事业，简单地说，就是看起来像“政治家”、或像“文学家”、或像“科学家”或像其他人物。

九、民俗文化

在长期的生活、生产中，人们自觉不自觉形成的行为方式、道德规范、价值理念等，就是民俗文化。

名人文化是一种行为方式，民俗文化也是一种行为方式；不过，前者是个人行为，后者是大众行为。这种大众行为是大家在长期的生活、生产中自觉不自觉的约定俗成、行为规范。就此来说，最为大家所熟知的莫过于“日出而作，日落而归”，这既是一种生活方式，也是一种生产方式，在农耕社会表现得尤为突出。这是整个汉族的，是绝对大众的，下面看看小众的，或者说，小众的大众的。槟榔是岭南地区的一种典型植物，食槟榔则是岭南人的一种生活习俗，一是当作日常口食，二是以槟榔代茶待客，三是作为婚嫁的礼果，四是制作一种专门盛装槟榔的槟榔合^[12]。“日出而作，日落而归”也好，吃槟榔也好，都是民众间互相影响、逐渐形成的。在现实上，民俗文化也存在一人或某些人提倡，大家认可、附和而逐渐形成的。儒家思想是孔子创立，并经其弟子及后人不断完善而形成的。儒家思想所倡导的“礼、义、人、伦”这一儒家文化已逐渐得到中华民族的认同，形成为中华民族文化的重要组成部份^[13]。

我国幅员广阔，各地地理、气候、环境、经济、技术等不同，从而使各地形成的民俗文化不尽相同，表现出区域性。江南地区的稻米饮食文化和草原地区的牛奶饮食文化，既是文化区域性的一种表现，也是农业文化区域性的一种表现，更是民俗文化区域性的一种表现。显然，这一区域性的存在主要在于江南地区的土壤、气候适宜于种植水稻，当地盛产稻米；草原地区的土壤、气候适宜于生长牧草、种植牧草，当地放养奶牛、盛产牛奶。上面提到的岭南人食用槟榔习俗的形成，一方面是由于槟榔适宜于岭南这一热带、亚热带地区生长发育；一方面是由于槟榔味道辛辣可以促进消化，增强食欲，刺激神经，提神减压，让人“上瘾”，引发兴奋，特别是能够祛除瘴气。在古代，岭南山多地瘠、蛇虫成灾、气候炎热、空气潮湿、瘴气横行，抵御瘴毒成为人们求生存、求健康的迫切需求^[12]。

产业文化以产业为载体，特产文化以特产为载体，生态文化以生态区域的存在物为载体，地理文化以地理空间的存在物为载体，资源文化以土壤、气候、水和生物等自然资源为载体，建筑文化以建筑物为载体，历史文化以历史重大事件的遗址为载体，名人文化以名人生活和活动的遗物、遗迹为载体，民俗文化则以人类及其行为为载体。稻米、牛奶和槟榔的食用都是人的吃用，都是人以吃的方式使其存在和表现，因此，其存在和表现出来的文化是以人的吃用这一行为为载体的。这是吃的行为及其文化，下面来看看穿、住、行的行为及其文化。如果说苗族人民穿苗族服饰存在和表现着穿的民俗文化的话，那么，蒙古人民住蒙古包则存在和表现着住的民俗文化，东北人民坐雪橇却存在和表现着行的民俗文化。当然，这些民俗文化都可归类于行为文化。

有一种观点认为，人在6岁之前所受到的影响是植入生命之中的，即使今后其他影响也是不会改变的；而6岁之后所受到的影响则会随着环境的改变而改变。这些影响是多方面的，包括吃、穿、住、行，包括语言、爱好、行为方式和价值取向等。人在6岁之前的母语是最纯正的，后来学习的其他语言即使学得再好都难于做到纯正。我们经常会看电视上看到外国人讲中国话、唱中国歌，其语音怎样都不像中国人的。其实，这些人所讲的中国话、所唱的中国歌是外国人中讲得最好的、唱得最好的，也就是被其国人认为讲得最好的、唱得最好的。基于此，子女一生下来，就会受生活环境的影响，特别是父母的影响，或者说，生活环境、特别是父母的行为方式、习惯习俗就会在有意无意中植入子女生命之中，使其成为子女的行为方式、习惯习俗。这代是这样，下代也是这样，代代同样是这样，从而表现出根深蒂固的特征。其实，这些在现实中到处可见，春节的贴对联、端午节的划龙舟、中秋节的吃月饼代代相传，不但在中国的本土上是这样，即使在国外的华人聚集区（如美国的唐人街等）也是这样。关于春节的贴对联、端午节的划龙舟、中秋节的吃月饼，未见得人人都知道其故事，了解其内涵，懂得其文化，但是，家家户户都会自觉地、主动地这样做。

民俗文化这一行为文化主要以节日庆典、红事白事为其存在和表现的时空。上面提到的春节的贴对联、端午节的划龙舟、中秋节的吃月饼都属于节日庆典，不过，都是一笔提及，

下面描述一个较具体的。乞巧节，系全国唯一的一个全国性的女儿节，是中国非物质文化遗产的一项重要遗产，主要流传于“中国乞巧文化之乡”——甘肃省西和县。乞巧节，源于早期秦文化中的“牛郎织女”，以未婚女性为主，固定于每年农历六月三十日下午至七月初七日下午举行，历时七天八夜，分准备阶段、乞巧活动和送巧活动三个阶段，进行祭巧、唱巧、相互百巧、跳麻姐姐、祈神迎水、转饭卜巧等活动，表达内心的情绪，寻找虔诚的心灵，祈求灵活的手巧，寄托美好的愿望，在乡村文化振兴中又被赋予“小刺绣，大产业”、“巧娘娘，树品牌”、“众乞巧，促旅游”和“更精准，助扶贫”的内涵^[14]。

参考文献

- [1]罗凯. 愚公楼菠萝品牌建设的启示[J]. 广东园艺, 2012 (3): 47-48.
- [2]罗凯. 关于发展菠萝文化旅游产业的思考[J]. 广东农业, 2018 (1): 41-43.
- [3]罗凯. 徐闻良姜产业调查[J]. 海南农垦科技, 2013 (3): 24-27.
- [4][明]李时珍. 本草纲目[M]. 武汉: 湖北辞书出版社, 2012.
- [5]蒋高中, 陈红蕊. 世界文化遗产的可持续保护与乡村振兴战略有机结合的成功实践——以中国云南红河哈尼梯田“渔稻共作”综合种养模式为例[A]. 华南农业大学, 中国农业历史学会. 农耕文明与乡村文化振兴学术研讨会论文集[C]. 广州. 2018: 1-7.
- [6]广东省湛江市土壤普查办公室. 湛江土壤[M]. 广东·湛江: 广东省湛江市土壤普查办公室, 1986.
- [7]全国农业区划委员会. 中国农业自然资源和农业区划[M]. 北京: 农业出版社, 1991.
- [8]广东省农业区划委员会. 广东省农业资源要览[M]. 广州: 广东人民出版社, 1988.
- [9]罗凯. 雷州半岛解决干旱问题的途径[J]. 农业信息探索, 1995 (4): 31-33.
- [10]罗凯. 徐闻农业 60 年的历史回顾与展望[J]. 海南农垦科技, 2009 (4): 11-13+9.
- [11]《农业辞典》编辑委员会. 农业辞典[M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 1980.
- [12]陈秋月. 中国古农书中的棕榈科植物考察[A]. 华南农业大学, 中国农业历史学会. 农耕文明与乡村文化振兴学术研讨会论文集[C]. 广州. 2018: 74-86.
- [13]宋音希. 中华传统文化在当代文化自信中的精神特质与价值意义[A]. 广东中华民族凝聚力研究会, 广东省社会主义学院. “改革开放与中华民族凝聚力”论文汇编[C]. 广州. 2018: 149-153.
- [14]张婷, 秦莹. 甘肃西和县以“乞巧节”为原型创办“中国农民丰收节”探析[A]. 华南农业大学, 中国农业历史学会. 农耕文明与乡村文化振兴学术研讨会论文集[C]. 广州. 2018: 74-86.
- [15]罗凯. 美丽乡村之农业旅游[M]. 北京: 中国农业出版社, 2017.

2020 年 9 月 29 日

附：罗凯的工作单位：广东省徐闻县农业局，邮政编码：524100，联系电话：13692415793（手机），电子邮箱：luokai8818@163.com 或 luokailk@126.com，“博客”址：<http://blog.sina.com.cn/luokai8818>。网络杂志《农业美学》“博客”址：<http://blog.sina.com.cn/luokailk8888>。

浅谈农业旅游的食品品尝

罗凯

(广东省徐闻县农业农村局, 广东 徐闻 524100)

摘要: 食品, 指各种供人食用或者饮用的成品和原料以及按照传统既是食品又是药品的物品, 但是不包括以治疗为目的的物品, 可分为饱腹食品、解渴食品、保健食品和品尝食品。农业旅游之食品品尝具有味道性、特色性、尝试性、多样性、比较性和体验性等特点, 可通过独自品尝、圈子品尝、请客品尝、游戏品尝、文化品尝和劳动品尝等形式来获得情趣。

关键词: 农业美学; 农业旅游; 食品品尝; 研究

Introduction to Agricultural Tourism Food Tasting

Luo Kai

(Xuwen Agriculture Bureau, Xuwen, Guangdong 524100, China)

Abstract: Refers to various foods, for people to eat or drink of finished products and raw materials as well as items that have traditionally served as both food and drugs, but does not include the items for the purpose of treatment, can be divided into full food, quench thirst food, health food and tasting food. The food taste is taste of agricultural tourism, characteristic, tentatively, diversity, comparative and experience etc., can be alone taste, circle is on taste, treat taste, games tasting, cultural taste and labor sample to obtain the form of interest.

Key words: Agricultural aesthetics; Agricultural tourism; Food tasting; Research

食, 饮食, 是旅游的“六要素”之一, 也是农业旅游的“六要素”之一。本文拟探讨的就是农业旅游的食品品尝问题。

一、食品及其类型

食品存在于人们的日常生活中, 并为人们所熟知。《食品安全法》第一百五十五条对“食品”的定义如下: 食品, 指各种供人食用或者饮用的成品和原料以及按照传统既是食品又是药品的物品, 但是不包括以治疗为目的的物品^[1]。显然, 食品很多。不过, 却可作如下归纳:

1、饱腹食品

人体需要热量来维持体能和生命。一般地, 一个中等劳动强度男子每天需要热量 12540KJ (3000 千卡), 女子需要 11704KJ (2800 千卡), 城乡人口平均需要 10032KJ (2400 千卡)。有人则认为人类平均每人每天需要热量 10467KJ (2500 千卡), 与前一指标相比差异不大, 而热量主要通过摄取淀粉、脂肪和蛋白质等营养物质来获得。因此, 饱腹食品就是提供这些营养的食品。

众所周知, 能够提供这些营养的食品有许多。大米、小米和玉米等食品富含淀粉, 猪肉、牛肉和羊肉等食品富含脂肪, 鸡蛋、鸭蛋和鹅蛋等食品富含蛋白质。甘蔗是原料, 食糖是其成品, 都能提供人体所需之营养、之热量, 每克糖可提供热能 16~17KJ (3.83~4.07 千卡)。因此, 这些食品就是饱腹食品, 或者说, 通过食用这些食品, 可以达到饱腹的目的。

一般来说, 饭菜是最普通的饱腹食品。显然, 作为饭菜往往包含以上食品, 也就是包含大米、小米、玉米、猪肉、牛肉、羊肉、鸡蛋、鸭蛋、甘蔗和食糖等。也显然, 大米、小米、玉米、猪肉、牛肉、羊肉、鸡蛋、鸭蛋和鹅蛋等往往以熟化的形式出现, 小米、玉米、猪肉、牛肉、羊肉、鸡蛋、鸭蛋和鹅蛋等往往还加以调味、调制, 甘蔗则往往以鲜食的形式出现,

食糖却往往作为佐料。同样显然，饭菜所包含的食品往往不止于这些，蔬菜和鱼虾就可作为饭菜。仍然显然，作为饱腹食品也不仅仅限于饭菜，单纯的玉米和羊肉熟食也可饱腹。

2、解渴食品

人体含有大量的水分，或者也可以说，水分是人体的主要构成要素。资料显示，水分约占人体组成的 70%。当水分含量低于人体正常水分含量的时候，人体就会出现口渴。这时，必须通过饮用水或含水量多的物品来补充水分，来解渴。显然，这些用来解渴的物品就是解渴食品。

众所也周知，解渴食品也有许多，不过，却可归纳为三大类：一是纯净水。纯净水指的是不含有其他物质或其他物质含量很低的水，如开水、矿泉水和山塘水等。二是饮料。饮料指的则是其他物质含量较高、可以饮用的水，如椰子汁、柠檬汁和芒果汁等。三是水果。这里的水果自然是含水量较多的水果，如西瓜、哈密瓜和木瓜等。显然，以上分类是从水含量的角度进行的，若从是否天然的角度，则可分为天然解渴食品和人工解渴食品，前者如山塘水、天然椰子汁、西瓜、哈密瓜和木瓜等，后者如开水、矿泉水、加工椰子汁、柠檬汁和芒果汁等。也显然，若从其他角度，却可分成其他相应类型。

无疑，最有解渴效果的解渴食品是开水、矿泉水和山塘水等纯净水，不过，却无味，无口感，特别是山塘水卫生也是一个问题；而椰子汁、柠檬汁和芒果汁等饮料则既解渴、又好饮；至于西瓜、哈密瓜和木瓜等水果则既能解渴，又能品尝，当然，解渴效果不如开水、矿泉水和山塘水等纯净水。也无疑，作为旅游，作为农业旅游，最值得用来解渴的不是人工解渴食品，是天然解渴食品，是清甜而又卫生的山塘水，是原汁原味的椰子汁，是果园采摘的西瓜、哈密瓜和木瓜。

3、保健食品

随着生活水平的提高，人们日益追求身体健康、生命长寿，而饮食保健、食物保健不失为一有效的途径。显然，饮食保健、食物保健包含两方面的内容：一是保健食品；二是饮食方法。这样，就存在和需要保健食品。

那么，什么是保健食品？笔者认为，所谓保健食品，就是能为人体提供人体所缺少营养成分，使人体生理实现平衡、协调、健康的食品。如果说圣女果是富含维生素的农产品的话，那么，对身体缺少维生素的人来说，圣女果就是保健食品；又如果说红萝卜是富含胡萝卜素的农产品的话，那么，对身体缺少胡萝卜素的人来说，红萝卜则是保健食品。

由此可见，所有食品都可是保健食品。因为所有食品都含有人体所需的营养成份，问题只是含有什么营养成份及其含量多少而已。不过，一般来说，作为保健食品应是富含人体稀缺的营养成份而又比较珍稀的食品。海参，是海洋棘皮动物，干品含蛋白质 76.5%、脂肪 1.1%，还含有无机盐、糖类及磷、铁、碘等多种营养成份，与人参、燕窝、鱼翅齐名，是世界八大珍品之一，不但是珍贵的食品，而且是名贵的药材，味甘咸，补贤，益精髓，摄小便，壮阳疗痿，其性温补。关于海参的描述无不表明：海参堪称保健食品。

4、品尝食品

大凡食品都有味道，问题只是是什么味道而已，是甜、酸、苦、辣，还是其他味道。西瓜是甜的，酸豆是酸的，苦瓜是苦的，辣椒是辣的，其他食品可能是甜的、酸的、苦的、辣的，也可能是其他的。这样，大凡食品，都可品尝；食用食品，就可品尝味道。

显然，作为品尝，就不是习以为常的味道品尝，就不是习以为常的甜、酸、苦、辣的品尝，而应该是特殊味道的品尝，是特殊甜、酸、苦、辣的品尝，以感受不同的、特殊的味道。如果说西瓜之甜是习以为常的话，那么，哈密瓜之甜则是不同的、特殊的；又如果说一般的哈密瓜之甜是习以为常的话；那么，新疆的哈密瓜之甜则是不同的、特殊的。因此，作为品尝食品，就应该是具有特殊味道的食品，就应该是哈密瓜而不是西瓜，是新疆哈密瓜而不是一般哈密瓜。

也显然，到乡村去，到田园去，到农业园区去，食用农产品，食用农家饭，食用风味小食，固然有饱腹的目的，也固然有品尝甜、酸、苦、辣的可能，但是，更主要的却是品尝，是品尝特有的味道。菠萝、木菠萝、榴莲、鸡蛋果，是水果，也是具有特有味道的水果，菠萝的风梨味、木菠萝的糖蜜味、榴莲的“臭”味、鸡蛋果的蛋黄味的确独特，的确能给人以特有的口感；八宝饭、竹筒饭也是饭，但是，就是不同于白米饭，既可给人以别样口感的感觉，也可给人以适口的感觉；文昌鸡也是鸡，北京鸭也是鸭，但是，风味就是不同，口感就是不同，如果说文昌鸡将鸡的风味推向极致的话，那么，北京鸭则将鸭的风味推向极致。一句话，菠萝、木菠萝、榴莲、鸡蛋果、八宝饭、竹筒饭、文昌鸡和北京鸭可算农业旅游之品尝食品。

二、品尝的特点

在农业旅游中，对食品既有食用，也有饮用，但是，更主要的、更具情趣的是品尝，是在食用和饮用过程中的品尝。作为农业旅游之食品品尝，具有如下几个特点：

1、味道性

味道性，指的是食品品尝以品尝食品味道为主要目的的特性。

品尝食品，尽管免不了要食用其成品或饮料，消费其营养，吸收其淀粉、脂肪和蛋白质，但是，品尝味道、品尝甜、酸、苦、辣等味道却是主要的，却是目的所在；或者说，通过食用而品尝，通过消费营养而品尝味道。玉米富含淀粉，食用之，自然会吸收之，但是，作为品尝，考虑的主要就不应是其淀粉及其含量，而是其味道。这样，当有传统玉米和糯米玉米的时候，选择时，作为品尝，就应该是糯米玉米，而不是传统玉米。因为糯米玉米具有糯性，口感好。

而食用食品，或一般的食用食品，尽管也免不了要品尝其味道，品尝其甜、酸、苦、辣，但是，消费其营养，吸收其淀粉、脂肪和蛋白质等营养却是主要的，却是目的所在；或者说，通过品尝而食用，通过品尝味道而消费营养。对于玉米，作为食用，考虑的主要就应是其淀粉及其含量，而不是其味道。这样，当有传统玉米和糯米玉米的时候，作为食用，就不会加以选择；对于矿泉水和椰子汁，作为饮用，则会选择矿泉水，而不是选择椰子汁。因为尽管椰子汁味道好、口感好，但是，其解渴效果不如矿泉水。

2、特色性

特色性，指的则是农业旅游之食品品尝以品尝特有食品及其味道为出发点和归宿点的特点。

品尝食品，尽管往往也品尝习以为常的味道，也品尝甜、酸、苦、辣，但是，主要考虑品尝的却是具有特色的味道。一般来说，具有特色味道的食品有两类：一类是未品尝过或很少品尝的食品。显然，对未品尝过或很少品尝菠萝、木菠萝、榴莲、鸡蛋果、八宝饭、竹筒饭、文昌鸡、北京鸭的品尝者或旅游者来说，这些食品就是未品尝过或很少品尝的食品。一类是具有典型性、代表性的食品。菠萝，具有典型性、代表性的是广东省徐闻县曲界镇生产的菠萝；芒果，具有典型性、代表性的是广东省雷州市潭斗镇生产的芒果。如果说曲界镇生产的菠萝是品质最优的菠萝的话，那么，潭斗镇生产的芒果则是品质最优的芒果。一般来说，国家地理标志产品产地生产的产品是具有典型性、代表性的食品，也是品质最优的食品。因此，品尝食品，就是品尝曲界镇生产的菠萝、潭斗镇生产的芒果，就是品尝国家地理标志产品产地生产的产品，而不是品尝其他地区生产的菠萝、芒果等产品。

而一般的食品食用或饮用，往往都不考虑食品的特色性，不考虑食品的特有风味，即使考虑味道，往往也是从是否有利于食品的食用或饮用，是是否“适口”，而不是“可口”，更不是具有典型性、代表性的味道。食用菠萝，有菠萝即可，不在意是否是曲界生产的；食用芒果，也是有芒果即可，也不在意是否是潭斗生产的；食用其他食品，同样是有食品即可，同样不在意是否是国家地理标志产品产地生产的。至于是否食过，或曾吃过多少，同样不在

意。

3、尝试性

尝试性，就是农业旅游之食品品尝往往以尝试的形式进行的特性。

在农业旅游中，在品尝食品中，尽管也有饱腹的，也有解渴的，如饭菜的食用、开水的饮用，也如八宝饭的食用、椰子汁的饮用，但是，主要的、更多的却是少量尝试一下，以品尝到味道、品尝出情趣为度。吃菠萝，往往不是吃一个，也不是吃半个，还不是吃一瓣，而是吃一、两小块，尝试一下，品尝一下，试试味道，试试其特有的凤梨味。当然，当人数较多、食品较少时尤会这样。也当然，当同时打算品尝较多食品时也会这样。

作为品尝，除了少量尝试之外，往往还既不为饱腹而食，不为解渴而饮，也不因饱而不食，因不渴而不饮。这是一般食用和饮用的不同之处。作为一般食品之食用和饮用，往往以饱腹为度，以解渴为度，只要饿了就食，只要未饱还食，只要渴了就饮，只要还渴还饮，但是，一旦饱了、不渴了，就不再食了、不再饮了。这时，即使有美味佳肴、可口饮料也一样。

4、多样性

多样性，则是农业旅游之食品品尝往往同时品尝多种食品的特性。

在农业旅游中，在品尝食品中，品尝食品往往是品尝、是尝试，那么，所品尝的食品往往就多种多样，或者说，是尽可能多种多样。因为品尝食品主要追求的是食品的味道，而多种多样食品的品尝自然意味着多种多样味道的获得。

显然，多种多样食品的品尝既存在、发生于不同类型食品之中，也存在、发生于同品种不同质量、不同味道食品之中。品尝饭菜、饮料和水果，是不同类型食品的多种多样品尝；品尝糯米糍、桂味和白糖罂等荔枝，是同类型不同品种食品的多种多样品尝；品尝徐闻县曲界镇、其他乡镇和雷州市生产的巴厘菠萝，是同品种不同质量、不同味道食品的多种多样品尝。

食用或饮用一般食品，尽管也存在多样性，但是，不强调多样性，特别是水果的食用和饮料的饮用，往往都是食用了或饮用了一种，就不再食用或饮用另一种，食用了菠萝，就不再食用香蕉、芒果和荔枝等，饮用了椰子汁，就不再饮用柠檬汁、芒果汁和苹果汁等。

5、比较性

所谓比较性，就是农业旅游之食品品尝往往在品尝的过程进行味道比较的特性。

既然是品尝，就会考虑这个怎样，那个怎样，不同类型的怎样，同类型不同品种的怎样，同品种不同品质的怎样，现在品尝的与曾经吃过的怎样，这就是比较，就是食品品尝之比较。西瓜是甜的，酸豆是酸的，苦瓜是苦的，辣椒是辣的，一品尝，一比较，就清楚了。这是不同类型食品味道之比较。菠萝、香蕉、芒果、荔枝、龙眼都是甜的，一品尝，一比较，也会清楚：虽都是甜的，但各有各的甜味。这也是不同类型食品味道之比较。糯米糍、桂味、白糖罂都是荔枝，都是甜的，一品尝，一比较，同样会清楚：虽都是荔枝甜，但糯米糍清甜、桂味有桂花味、白糖罂有糖蜜味。这则是同类型不同品种食品味道之比较。徐闻县曲界镇、其他乡镇和雷州市生产的巴厘菠萝都有凤梨味，但是，品尝、比较的结果自然是：曲界镇生产的凤梨味更浓郁、更纯正、更可口。这却是同品种不同质量食品味道之比较。至于现在品尝的与曾经吃过的之比较，对虽吃过菠萝而不吃过曲界镇生产的菠萝的品尝者或旅游者来说，品尝一下曲界镇生产的菠萝，其比较、差异自然就会形成。

而一般食品的食用或饮用，尽管也在有意无意中存在和发生味道比较，也会感觉这个更香、那个更甜，但是，往往不会在意，更不会刻意，特别是在非常饿、非常渴的时候更是这样。此时此刻，当有几种食品同时存在的时候，往往是那个更能填饱肚子或更能解渴就食用或饮用那个。大米饭无味，但能填饱肚子，先吃再说，先吃饱再说，即使这时也有八宝饭、金瓜饭，也不会都尝尝，比比味；矿泉水也无味，但能解渴，先饮再说，先解渴再说，即使这时同样有椰子汁、柠檬汁，同样不会都尝尝，比比味。

6、体验性

所谓体验性，则是农业旅游之食品品尝往往既品尝味道，也体验吃法的特性。

食品，对没有消费或很少消费过的人群来说，消费的过程就是一个体验的过程，农家饭、风味小食和农产品对城镇市民、特别是青少年往往就是这样。菠萝是典型的热带水果，对北方游客来说往往是陌生的，抑或没见过，抑或不吃过，抑或很少吃过，这样，第一次食用或再次食用就是一种体验了。要食用菠萝，必须去皮起眼，这要讲究技巧，不然的话，皮去得不好，眼起不了。食用菠萝，不洗是一种味道，用清水来洗是一种味道，用盐水来浸是一种味道，用盐来蘸是一种味道，当然，特有的凤梨味是基本的。这些将会是体验的感觉和收获，都体验一下，菠萝食用的情趣会形成，会多样。

而一般食品所食用或饮用则不考虑体验问题，主要围绕的是营养的摄取。都是菠萝，当作为一般食品食用时，就是去皮起眼食用，不会考虑皮去得怎么样，眼起得怎么样，更不会同时采用几种吃法。

三、品尝的形式及其情趣

品尝食品既在于味道，也在于情趣，农业旅游之食品品尝更是这样，这样，自然就要讲究品尝的形式，或者说，通过形式追求情趣。

1、独自品尝

在农业旅游中，游客一个人单独品尝食品，就是独自品尝。

无疑，独自品尝可根据自身的需要进行，想在那里品尝就在那里品尝，想什么时候品尝就在什么时候品尝，想品尝什么就品尝什么，想怎样品尝就怎样品尝，想品尝多久就品尝多久。既有荔枝，也有龙眼，还有芒果，独自品尝，想品尝其中一种就品尝其中一种，想品尝其中两种就品尝其中两种，想三种都品尝就三种都品尝；一个椰子，开了口子，插入管子，一下子吸了也可，用一个小时来吸也可，即使用半天来吸也可；如此等等。

当然，独自品尝，只能是独自感受，这种感受即使再美好，也没有人与你分享；同时，由于受个人知识的局限，在选择品尝时往往难于达到最佳。

2、圈子品尝。

在农业旅游中，几个旅游伙伴或整个旅游团队聚集在一起，共同品尝食品，则是圈子品尝。

显然，圈子品尝的主要情趣表现在：一是共同品尝。圈子品尝是几个旅游伙伴或整个旅游团队聚集在一起，共同品尝食品，这样，就会自然形成一个比较浓厚的品尝氛围，使品尝食品既成为一个品尝的过程，也成为一个交流的过程。交流的话题自然会涉及方方面面，但是，更多的却往往是与品尝的食品有关的，或者说，使食品成为谈资，使品尝成为情趣。二是形成共识。品尝是对食品味道的感知、认识。显然，不同的食品会有不同的味道，不同的食品品尝会有不同味道的感知、认识；也显然，即使是一种食品对不同的人来说，其品尝所形成的味道感知、认识也不一定相同。这样，独自品尝只能形成一种味道的感知、认识，而圈子品尝则能形成一种味道的共识。

也显然，圈子品尝却不能像独自品尝那样，完全根据自身的需求来进行，而必须服从大家的需求来进行。当大家的需求是荔枝的时候，品尝龙眼、芒果等的需求往往只能是放弃。不过，这里的“大家”应包含如下含义：一是大多数旅游伙伴；二是年长者；三是年幼者；四是女士。

3、请客品尝

在农业旅游中，由游客邀请旅游伙伴一起品尝食品，这就是请客品尝。

请客品尝和圈子品尝有点相同，也不完全相同。相同就相同在都是几个旅游伙伴聚集在一起，共同品尝食品。不同就不同在请客品尝是其中一名游客邀请几个旅游伙伴聚集在一起，共同品尝食品；圈子品尝则是部份或全部旅游伙伴在召集人或倡议者的召集或倡议下自动聚

集在一起，共同品尝食品。

显然，请客品尝是被邀请者围绕邀请者进行品尝，包括品尝的地点、时间、对象、方式等都由邀请者作主，或者说，邀请者处于主导地位，被邀请者处于从属地位；同时，包括邀请者和被邀请者在内的品尝者所品尝的食品不仅仅是食品，而还是邀请者的劳动成果——凝结着邀请者劳动所创造的价值形成的货币所购买的食物；此外，品尝食品的过程既是品尝食品味道过程，也是分享邀请者劳动成果的过程，因此，此时此刻，如果说被邀请者的情趣来源于食品味道的话，那么，邀请者的情趣则来源于被邀请者的情趣及其对邀请者劳动成果分享和认可。

4、游戏品尝

在农业旅游中，采用游戏的形式进行食品品尝，则就是游戏品尝。

食品游戏品尝的方式主要有：一是比赛。主要是比赛吃的速度和数量。一个西瓜，吃完所用的时间就是速度，所用时间愈少，吃的速度愈快。一个游客，吃一个西瓜是数量，吃两个也是数量，吃三个同样是数量，吃三个的数量就要比两个、一个的多。二是组词。有的农产品可通过贴字技术的处理，“长”出人们所期望的字来，如长字苹果等。这样，就可以将这些“长”有各种文字的农产品进行组词，如将“长”有“寿”、“比”、“南”、“山”的长字苹果，组成词组“寿比南山”，将“长”有“福”、“如”、“东”、“海”的长字苹果，组成“福如东海”。然后，根据组词的快慢、多少和内涵来决定胜负，决定奖品，决定食用。三是猜谜。既然长字苹果之类的农产品可以组成词组，那么，也可以组成谜语。这样，就意味着可以进行猜谜活动。通过猜谜，获取食品的食用。四是抛丢。像圣女果、葡萄和黄豆等之类的农产品体积小，完全可以直接抛丢进口中，即完全可以采用抛丢的形式食用、品尝；像苹果、雪梨和李子等之类的农产品虽然体积较大，但也可以进行抛丢戏玩，不过，不是直接抛进口中，而是像抛小球那样将其抛向空中，然后用手来承接，再进行食用、品尝。

游戏品尝的实质在于将食品品尝游戏化、趣味化，通过游戏，引发食欲，品尝食品，获取情趣。

5、文化品尝

在农业旅游中，先品读食品文化再品尝食品的过程，在此定义为文化品尝。

任何事物都会蕴含着相应的文化，不同的只是含义、多少、深浅、厚薄问题，食品也一样。八宝饭等往往有一个故事，奥运西瓜等就以图案来表现着内涵，长字苹果等则以文字来表现着意思，富士苹果等却以形状、颜色等外表特征来表现着文化。如果说八宝饭的文化内涵比较深厚，需要解读才能理解的话，那么，奥运西瓜的文化内涵就比较明显，其“奥运五环”就表现了“五大洲团结和奥林匹克精神”，长字苹果的文化内涵也就比较明显，当其以“寿”、“比”、“南”、“山”的文字出现时，所表现的自然是“寿比南山”的文化内涵，至于富士山苹果的文化内涵则只能认识其外表特征，其文化内涵就不好解读了，或者说，其品种的名称足以彰显其文化了。

这样，在品尝食品的过程中就可以进行文化品读。文化品读形式自然很多，但是，对文化的认识、理解却是基本的，当然，对文化内涵品读得愈准确、愈深入，其情趣愈浓，品尝起食品也愈有味道。此时此刻，品尝的已不是纯粹的食品了，而是文化化的食品或食品化的文化。事实的确是，无疑，在品尝八宝饭时，先你一句我一句地说说八宝饭的故事，特别是美丽的传说，然后，扮演起故事、传说中的角色，品尝起来自然十分有情趣，比纯粹的品尝有情趣，比纯粹的讲故事也有情趣。

6、劳动品尝

在农业旅游中，采用劳动的形式来品尝食品，却是劳动品尝。

显然，劳动品尝的形式主要有两个：一个是自采自尝。即购买农产品采摘园门票，到采摘园，一边采摘，一边品尝。当然，农产品采摘园主要是水果采摘园。无疑，这种品尝的情

趣在于品尝自己的劳动成果——收获农产品。也无疑，采摘的难度愈大和技巧愈讲究，其采摘的情趣愈浓，品尝的情趣也愈浓。同样无疑，情趣的形式和体会还是亲自到荔枝、龙眼和苹果等采摘园中去。另一个是自栽自尝。即到乡村租农户的土地种植农作物，闲时去经营，平时由农户代管，成熟时亲自去收获、去品尝，也就是经营市民农园。或者，在庭院中，或在房屋中，栽植盆景作物；在阳台上，栽植阳台作物；在楼顶，在屋顶，栽植楼顶（或屋顶）作物。无疑，这种品尝的情趣更在于品尝自己的劳动成果——从种植到收获全过程。也无疑，这种品尝的情趣主要在于作物种植全过程的参与。同样无疑，情趣的形成和体会还是亲自租赁、经营市民农园或栽植盆景作物、阳台作物和楼顶（或屋顶）作物。

参考文献

[1]360 百科.食品[EB/OL]. <http://baike.so.com/doc/5353675-7560926.html>, 2016-05-09.

2020年9月29日

附：罗凯的工作单位：广东省徐闻县农业农村局，邮政编码：524100，联系电话：13692415793（手机），
电子信箱：luokai8818@163.com 或 luokailk@126.com，“博客”址：<http://blog.sina.com.cn/luokai8818>。
网络杂志《农业美学》“博客”址：<http://blog.sina.com.cn/luokailk8888>。

食品中阿苯达唑及其代谢物检测方法的研究进展

华彦涛 刘波 尹凯丹 赵炫 袁利鹏*³²

广东农工商职业技术学院

摘要: 阿苯达唑作为治疗动物寄生虫的广谱杀虫剂, 在最新的研究中表明当长时间高剂量使用时, 具有动物致畸和致突变的作用。我国最新发布的安全国家标准食品中兽药最大残留限量中, 正式规定了阿苯达唑及其代谢物在不同种类食品的残留限量。本文综述了阿苯达唑及其代谢物残留的检测方法, 包括液相色谱法、色谱-质谱联用法, 免疫分析法等, 分析总结各种检测方法的优缺点, 以期对后续阿苯达唑及其代谢物的检测方法的研究提供一定的依据和方向。

关键词: 阿苯达唑; 食品残留; 检测

Research Progress on detection methods of albendazole and its metabolites in aquatic products

Hua Yantao, Liu Bo, Yin Kaidan, Zhao Xuan, Yuan Lipeng*
Guangdong AIB Polytechnic

Abstract: Albendazole, as a broad-spectrum insecticide for the treatment of animal parasites, has teratogenic and mutagenic effects when used at high doses for a long time. According to the latest national food safety standards, the residue limits of albendazole and its metabolites in different kinds of food are formally stipulated. In this paper, the detection methods of albendazole and its metabolites were reviewed, including liquid chromatography, chromatography-mass spectrometry, immunoassay, etc. the advantages and disadvantages of various detection methods were analyzed and summarized, to provide a certain basis and direction for the future research on the detection methods of albendazole and its metabolites.

Keyword: Albendazole; Food residue; Detection

阿苯达唑是一种广谱高效低毒的杀虫药, 属于苯并咪唑类药物, 其化学名称为 5-丙硫基苯并咪唑-2-氨基甲酸甲酯, 英文名称为 Albendazole。常用于驱除鱼类肠道寄生虫, 治疗草鱼、鲫鱼等鱼类的绦虫、毛细线虫、棘头虫等寄生虫疾病, 也可用于家畜的驱虫^[1]。阿苯达唑在体内会迅速代谢为阿苯达唑亚砷 (ABZSO)、阿苯达唑砷 (ABZSO₂)、阿苯达唑-2-氨基砷 (ABZ-2NH₂-SO₂), 相关研究表明, 动物给药后 4~10d 内, 阿苯达唑残留只有 20%~30%, 其它残留则以上述 3 种代谢物形式存在。阿苯达唑及其代谢物的结构如图 1 所示。

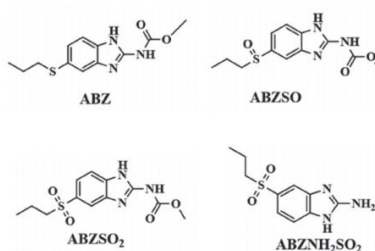


图 1 阿苯达唑及其代谢物化学结构式

随着阿苯达唑等药物的大量使用, 其在动物体内药物残留问题也越来越突出, 而且根据最新动物安全评价实验, 发现阿苯达唑具有致畸和肝脏毒性。因此各国均出台了相应的残留限量, 其中美国规定阿苯达唑在牛羊肉组织的残留限量为 0.05ppm, 欧盟规定阿苯达唑及其代谢物在不同动物的不同组织内的残留限量为 100-1000 μ g/kg, 我国农业部在 2002 年发布的

³² 资助项目: 广东省教育厅 2016 高等职业教育专业领军人才项目; 全国高等职业技术教育研究会教改课题 (GZYLX2015011); 广东省教育厅教学成果奖培育项目 (201572991); 广东省教育厅工程技术研究中心 (2019GGCZX010)

*通讯作者: 袁利鹏 (1979 年), 男, 教授。研究方向: 食品安全与检测, Email:543753927@qq.com

235 号公告中,规定阿苯达唑在牛羊组织中残留限量为 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。在药理学上明确规定阿苯达唑禁止用于孕妇和哺乳期妇女,两岁以下儿童,具有过敏体质和肾功能不全者等人群。

为更好解决阿苯达唑在动物防虫的安全、合理、规范使用问题,我国 2019 年 9 月份最新发布的 GB31650-2019 食品安全国家标准-食品中兽药最大残留限量标准中,增加了阿苯达唑等 28 种兽药残留限量,其中规定阿苯达唑在奶中阿苯达唑的残留标志物为阿苯达唑亚砒、阿苯达唑砒、阿苯达唑-2-氨基砒和阿苯达唑之和,除奶外其他靶组织:阿苯达唑 2-氨基砒。其中靶组织不同,最大限量也不同^[2]。具体限量见表 1。

表 1 GB31650-2019 标准中阿苯达唑及其代谢物残留限量

| 样品种类 | 靶组织 | 残留限量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) |
|--------|-----|----------------------------------|
| 所有动物组织 | 肌肉 | 100 |
| | 脂肪 | 100 |
| | 肝 | 5000 |
| | 肾 | 5000 |
| | 奶 | 100 |

为保护消费者身体健康,除要求阿苯达唑的合理使用外,阿苯达唑的残留问题也变得越来越重要。本文主要对现有的阿苯达唑的检测方法进行简要概述,通过对现有检测方法的总结和分析,提出目前存在的问题,并对进一步研究阿苯达唑残留检测方法提供一些研究思路。

1 液相色谱法

液相色谱法是利用液体作流动相,基于混合物中各组分对两相亲和力的差别进行分析和分离的方法。根据固定相的不同,液相色谱分为液固色谱、液液色谱和键合相色谱,应用最广的是以硅胶为填料的液固色谱和以微硅胶为基质的键合相色谱。高效液相色谱法是在液相色谱系统中加上高压液流系统,使流动相在高压下快速流动,以提高分离效果。目前阿苯达唑的检测方法多为液相色谱法,其中药物、血浆等基质居多,食品基质如牛羊组织、鱼肉等较少。气相色谱法在阿苯达唑的残留检测中用的较少,因为气相色谱法是利用气体作流动相的分离分析方法,在进样前需要汽化试样,而阿苯达唑的沸点目前研究还不是很清楚,所以利用气相色谱检测阿苯达唑的方法尚未发现。

GB 29687-2013 食品安全国家标准中采用高效液相色谱法进行鱼肉中阿苯达唑的残留检测,该标准利用乙酸乙酯反复萃取和正己烷除脂后,乙腈-甲酸-乙酸铵溶液作流动相。阿苯达唑、2-氨基阿苯达唑砒、阿苯达唑亚砒和阿苯达唑砒的检测限分别为 10、2.5、5、0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$,回收率良好。杜红鸽等^[3]建立了测定动物肌肉组织中阿苯达唑及其代谢物阿苯达唑亚砒、阿苯达唑砒的多残留检测的高效液相色谱法。该研究用乙酸乙酯提取,浓缩后过 watersHLB 固相萃取柱净化,反相高效液相色谱紫外检测法进行检测。3 种药物的检测限均为 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$,定量限均为 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。吴宁鹏等^[4]建立了同时测定牛羊组织中阿苯达唑及其代谢物的高效液相色谱-荧光检测方法。该方法采用酸性氧化铝固相萃取柱和 MCX 固相萃取柱净化。在 5~2000 $\mu\text{g}/\text{L}$ 浓度范围内线性关系良好,方法抗干扰能力强、灵敏度高。

2 液相-质谱联用法

液相色谱-质谱联用法是较为前沿的仪器分析方法,液质联用可以将待分析物的分离、确认和定量一次完成,分析过程迅速,灵敏度高,结果精确可靠,特别适合复杂混合物中痕量残留检测。GB/T 22972 2008 国家标准中推荐使用液相色谱-串联质谱法检测牛奶或奶粉中阿苯达唑及其代谢物的检测。该方法采用 C18 萃取柱处理待测样品,以甲醇-甲酸为流动相上机检测。

张小军^[6]等建立了同时测定草鱼肉中阿苯达唑及其 3 种代谢物阿苯达唑亚砒、阿苯达唑砒、阿苯达唑-2-氨基砒的超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)分析方法。方法在线

性范围 0.1~10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 内, 线性相关系数高, 回收率好。分析时间短, 4 种被分析物能同时检测。周海珍^[7]等利用超高效液相色谱-串联质谱联用 (UPLC-MS/MS) 建立了鱼糜中阿苯达唑及其代谢物阿苯达唑亚砷、阿苯达唑砷和阿苯达唑-2-氨基砷多残留同时检测的方法。检测方法的灵敏度更高, 回收率和相对偏差更优。液质联用仪器分析方法的优点非常突出, 但是由于昂贵仪器成本和维护费用, 限制了方法的普及, 在基层检测监察单位难以实现。

3. 免疫分析法

免疫检测技术以免疫学为基础, 基于抗原抗体特异性反应的发展起来的快速分析方法, 具有高灵敏度、高通量、前处理简单、简便快捷等优点, 已被广泛应用于食品、药品和环境中有毒有害物质与违禁添加药物的快速检测^[8-12]。目前常用的免疫分析方法主要有酶联免疫分析法 (ELISA)、胶体金免疫层析法 (GICA)、化学发光酶联免疫 (CLEIA)、荧光免疫分析 (FIA) 等^[13-16]。其中酶联免疫法和胶体金免疫层析法在食品安全检测的各种免疫分析技术中应用最为广泛和成熟, 已成为大家首要青睐的实用技术, 但是关于阿苯达唑的快速检测技术目前的研究较少。

杜伟^[17]等建立鱼样中阿苯达唑代谢物的酶联免疫快速检测方法。该方法采用乙酸乙酯提取, 正己烷去杂质的前处理方法, 方法最低检测限为 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 样品中添加标准物质回收率高, 与他代谢物的交叉反应率低, 与仪器法的一致性良好, 但是遗憾的是该方法并未阐述抗体与检测试剂盒的制备过程。郭玲玲^[18]等制备了针对阿苯达唑等 11 种苯并咪唑类药物的单克隆抗体, 并以该抗体为基础, 建立了能够同时检测牛奶中多种苯并咪唑类药物的胶体金免疫层析试纸条法。该研究以苯并咪唑类结构类似物 2-甲氧基羰基氨基-1, H-苯并咪唑-6-羧酸作为半抗原, 采用活化酯法与钥孔血蓝蛋白 (KLH) 偶联得到免疫原制备了单克隆抗体, 金纳米粒标记该抗体, 利用纳米溶液的可视性以及抗原抗体的特异性反应, 制备了胶体金免疫层析试纸条法。该方法能够同时检测 11 中苯并咪唑类药物, 其中就包括阿苯达唑、阿苯达唑亚砷、阿苯达唑砷, 通过肉眼观测, 该试纸条在牛奶中的消线值分别是 25、6.25、12.5 ng/mL 。但是该方法关于阿苯达唑及代谢物的总量和单量的测定比较模糊, 因此不适合国家最新标准的奶中目标物的检测要求。

4 结论

通过对相关研究的总结分析, 针对阿苯达唑及其代谢物的检测, 基本上是仪器分析方法, 众所周知仪器分析法检测费用高, 对样品前处理要求严格, 且不能进行现场检测, 更多用于实验室确证实验, 另外检测的食品样品种类不多。快速检测方法中, 制备抗体的半抗原结构设计单一, 建立的方法为多残留检测, 交叉反应率比较高, 单指标检测时容易受到其他药物干扰。

随着相关毒理学研究的推进和人类对食品需求的改变, 阿苯达唑等相关药物的危害会逐渐清晰, 残留限量要求会更加严格。后续检测方法的研究, 仪器分析方法的热点会更多的集中在样品种类的增加和前处理方法的改进, 而且类型需要更多的快速检测方法, 包括酶联免疫法、传感器方法等, 能够满足单指标检测和多指标同时检测不同的需要, 同时也要符合国家标准在各种食品中不同的目标物的检测要求。

参考文献

- [1] 李晓婷, 周绪正, 李冰, 等. 广谱抗蠕虫药阿苯达唑研究进展[J]. 中兽医医药杂志, 2019,38(3):26-29.
- [2] GB31650-2019 食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量[S].
- [3] 杜红鸽, 谭旭信, 方忠意, 等. 高效液相色谱法测定动物肌肉中的阿苯达唑及其代谢物[J]. 中国兽药杂志, 2010, 44(1):52-55.
- [4] 付文焕, 施孝金, 王蓓, 等. RP-HPLC 测定人血浆中阿苯达唑及代谢物的浓度[J]. 中国药学杂志, 2009,44(23):1812-1814.

- [5] 吴宁鹏, 彭丽, 孟 蕾, 等. 高效液相色谱-荧光法测定牛羊组织中阿苯达唑及其代谢物的残留量[J]. 中国兽药杂志, 2017, 51(2):35-39.
- [6] 张小军, 郑斌, 张虹, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定草鱼肉中阿苯达唑及其代谢物残留[J]; 分析化学, 2011, 39(6): 815-820.
- [7] 周海珍, 王祎娟, 曹艳云, 等. UPLC-MS /MS 法检测鱼糜中阿苯达唑及其代谢物残留量 [J]. 肉类工业, 2014, 8:40-43.
- [8] Zhang M, Liu S, Zhuang H, et al. Determination of dimethyl phthalate in environment water samples by a highly sensitive indirect competitive ELISA [J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2012, 166(2): 436-445.
- [9] Xu Z L, Shen Y D, Sun Y M, et al. Novel hapten synthesis for antibody production and development of an enzyme-linked immunosorbent assay for determination of furaltadone metabolite 3-amino-5-morpholinomethyl-2-oxazolidinone (AMOZ) [J]. Talanta, 2013, 103: 306-313.
- [10] Liang X, Fang X, Yao M, et al. Direct competitive chemiluminescence immunoassays based on gold-coated magnetic particles for detection of chloramphenicol [J]. Luminescence, 2016, 31(1): 168-172
- [11] Wang C, Hou F, Ma Y. Simultaneous quantitative detection of multiple tumor markers with a rapid and sensitive multicolor quantum dots based immunochromatographic test strip [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2015, 68: 156-162.
- [12] Chen Y, Kong D, Liu L, et al. Development of an ELISA and immunochromatographic assay for tetracycline, oxytetracycline, and chlortetracycline residues in milk and honey based on the Class-Specific monoclonal antibody [J]. Food Analytical Methods, 2016, 9(4): 905-914.
- [13] Li C, Wen K, Mi T, et al. A universal multi-wavelength fluorescence polarization immunoassay for multiplexed detection of mycotoxins in maize [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2016, 79: 258-265.
- [14] 吴长青, 冯俊, 沈滢, 等. 动物源性食品中抗生素残留的分类及检测方法的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(21):7127-7132
- [15] 钮正睿, 王聪, 曹进. 保健食品中非法添加药物种类及其检测方法研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(18):6131-6142
- [16] 李双, 韩殿鹏, 彭媛, 等. 食品安全快速检测技术研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(17):5575-5581
- [17] 杜伟, 张晓辉, 孔蕾, 等; 鱼样中阿苯达唑代谢物快速检测研究[J]; 福建分析测试; 2012, 21(4), 60-62
- [18] Lingling Guo, Xiaoling Wu, Liqiang Liu, Hua Kuang,* and Chuanlai Xu. Gold Nanoparticle-Based Paper Sensor for Simultaneous Detection of 11 Benzimidazoles by One Monoclonal Antibody[J]. Advanced Science News

武藤式生物肥对烟叶生长及质量的影响

马文哲¹, 汤慧敏¹, 庄志雄², 王亚平^{2*}

(1 广东省农工商职业技术学院 广州 510507; 2 福建中烟工业有限责任公司技术中心 厦门 361021)

摘要: 为了探索武藤式生物肥在西南烟区烟叶生产中的作用, 在云南祥云县进行了大区对比试验。结果表明: 武藤式生物肥能改善植烟土壤的理化性状, 提高烟株株高、茎围、节距、叶长和叶宽, 能提高烤后烟叶的外观质量, 增强烟叶化学成分的协调性, 同时烟叶的感官质量明显得到好转。

关键词: 生物肥; 理化性状; 农艺; 烟叶质量

中图分类号: S572.062

The Effect of Muto Type Bio-fertilizer on the Growth and Quality of Tobacco

Ma Wen-zhe¹, Tang Hui-min¹, Zhuang Zhi-xiong², WANG Ya-ping^{2*}

(1 Guangdong Agriculture Industry Business Polytechnic, Guangzhou, Guangdong 510507, China; 2 China Tobacco Fujian Industry co., Ltd, Xiamen, Fujian 361021, China)

Abstract: In order to explore the role of Muto type biofertilizer in the Southwest tobacco-growing areas, large-plot contrast test was conducted in Xiangyun county, Yunnan Province. The results showed that Muto type biofertilizer could improve physical and chemical characteristics of tobacco-planting soil, increase plant height, stem girth, pitch, leaf length and leaf width of tobacco, and it could also the enhance appearance quality of flue-cured tobacco, strengthen the coordination of chemical components, advance the sensory quality of tobacco obviously.

Key words: bio-fertilizer; physical and chemical characteristics; agronomy; tobacco quality

根据调查显示,我国适合耕作的土壤肥力较世界水平普遍偏低,种植出的烟叶品质不高,经济效益差,因此在烟草大田作业环节,非常需要通过精准均匀的施用基肥来提高土壤肥力,以此提高烟叶的产量和质量,进一步提升上等烟所占比例^[1-2]。目前土地污染、水体富营养化、土地板结等对农作物种植不利,需要改善土壤特别是植烟土壤的方法。由于土壤当中的营养成分不能完全满足有机烟草的生长需求,田间施肥能够改善烤烟生长环境。施肥对烤烟土壤结构的改良、土壤肥力的提高和烤烟生长小环境的改善有着很大的作用。施肥还能够减少病虫害,切断了病虫初侵染源,减少病虫危害。

因此,适当使用肥料就是保证有机烟草质量的重要方式。种植人员在选择肥料时,要结合实际情况进行分析,尽量选用生物肥料或有机肥料,避免破坏土壤结构^[3]。生物肥中的有益微生物含量较多,不仅可以改善烟草的营养状况,还能优化土壤环境,进而使烟草能够茁壮生长。武藤式生物肥是日本农业技术专家武藤传太郎研制的烟草栽培的优秀有机肥,能将因使用化肥、农药而降低了保肥抗旱功能的土壤改造成适合烟草生长的土肥相融的土壤^[4]。为此在云南祥云进行了大田比较试验,以探索武藤式生物肥对我国西南烟区烟叶生长的效果,为进一步发展高品质有机烟叶生产提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

本试验所用材料是日本农业技术专家武藤传太郎研制的武藤式生物肥,供试烤烟品种为云烟 87。

1.2 试验设计和处理

2019年选择云南祥云县烤烟表现较好的相邻地块。土壤保育方面重视稻草还田、白云石粉等土壤改良措施,烟田在秋收结束后,结合卫生大清理,清除田间杂草和植株残体,减少病虫害初侵染源。武藤式生物肥和普通有机肥均采用随机区组试验,3次重复,每个小区80 m²,采用密集式烘烤技术和三段式烘烤工艺。

烟叶的播种在2019年的2月25日进行,采用漂浮育苗技术进行壮苗培育,4月25日进行移栽,首先对大田进行深翻耕,移栽前开沟起垄,垄高35 cm,垄底宽80 cm。烟苗移栽前7 d将武藤式生物肥均匀条施入栽培田垄内,一次性施用5500 kg/hm²武藤式生物肥,N、P、K成分总量约15%。普通烟叶采用饼肥、牛粪肥料,施纯氮总量为7 kg/亩。在生产过程中,不再使用其他肥料及农药;烟叶采用单行种植,株行距1.2 m×0.55 m,膜下小苗移栽方法。其余步骤按有机烟叶生产技术方案进行操作^[5-6]。

1.3 观测记载和测试分析

1.3.1 土壤

移栽后30 d在田垄上15 cm深处取样,对土壤有机质含量、土壤容重、土壤孔隙度等进行测定分析。

1.3.2 农艺性状

打顶后3 d在田间取30株烟株,重复三次,测量烟株的株高、有效叶数、茎围、节距、腰叶长、腰叶宽等农艺性状。

1.3.3 外观质量

选取烤后烟叶B2F、C3F和X2F三个等级,每个样品取5.0 kg,试验样品和对照样品共6份分别用于外观质量鉴定、化学成分分析和评吸样品卷制。其中外观质量从烟叶成熟度、叶片结构、身份、油分、色度等方面按行业《烤烟》国标42级品质标准进行评价。

1.3.4 化学成分

对收集到的样品分别进行水溶性总糖、还原糖、总植物碱、钾、氯等常规化学成分测定及两糖比、钾氯比的分析。水溶性总糖、还原糖(YC/T159-2002)、总植物碱(YC/T160-2002)、钾(YC/T217-2007)、氯(YC/T162-2002)的分析用AA3连续流动分析仪进行^[7-9]。烟叶化学成分指标及评价标准如表1。

表1 烟叶化学成分指标及评价标准

| 部位 | 烟碱 % | 总糖 % | 还原糖 % | 氯 % | 钾 % | 钾氯比 | 两糖比 |
|----|---------|---------|----------|--------|--------|-----|------|
| 上部 | 3.0~3.5 | 18~35 | 16~30 | ≤0.6 | ≥2 | ≥4 | ≥0.8 |
| 中部 | 2.0~2.8 | 20~38 | 18~32 | ≤0.6 | ≥2 | ≥4 | ≥0.8 |
| 下部 | 1.5~2.0 | 20~38 | 18~32 | ≤0.6 | ≥2 | ≥4 | ≥0.8 |

1.3.5 感官质量

从香型(浓香、清香、中间香)、甜感、香气质、香气量、杂气、细腻度、浓度、劲头、刺激性、余味等指标由福建中烟工业有限责任公司技术中心7名评吸专家对样品进行感官质量评价,具体指标及程度档次见表2。

表2 烟叶感官评吸指标及程度档次

| 指标 | 档次 | 甜感 | 香气质 | 香气量 | 杂气 | 细腻度 | 浓度 | 劲头 | 刺激性 | 余味 |
|----|----|----|-----|-----|----|-----|----|----|-----|----|
| 程 | 1 | 明显 | 好 | 多 | 少 | 细腻 | 中等 | 适中 | 小 | 舒适 |

| | | | | | | | | | | |
|---|---|-----|---|----|----|----|-------|-------|----|-----|
| 度 | 2 | 有 | 中 | 中等 | 稍有 | 中等 | 较大、较小 | 较大、较小 | 较大 | 较舒适 |
| | 3 | 不明显 | 差 | 少 | 重 | 粗糙 | 大、小 | 大、小 | 大 | 滞舌 |

2 结果与分析

2.1 土壤性质变化分析

由表 3 可知，武藤式生物肥的施用有效提高了土壤有机质含量、通气能力和保肥能力，活化和提高了土壤肥力，改善了土壤理化性状。有机质含量较对照增加 34.10%，容重较对照降低 13.38%，土壤孔隙度较对照增加 7.69%。

表 3 土壤性质变化对比

| 类别 | 有机质含量 | 土壤容重 | 土壤孔隙度 (%) |
|----|-----------|-----------------------|-----------|
| 试验 | 49.31g/kg | 1.10g/cm ³ | 52.2 |
| 对照 | 36.77g/kg | 1.27g/cm ³ | 48.5 |

2.2 农艺性状对比

调查发现，施用武藤式生物肥的烟株叶色深绿，长势明显增强，抗旱性较好。测定农艺性状（表 4），打顶后株高、有效叶数、茎围、节距、腰叶长和腰叶宽都有不同程度的增加，分别比对照增加为打顶后株高 10.43%、有效叶数 11.76%、茎围 10.23%、节距 10.25%、腰叶长 7.41%和腰叶宽 16.67%，所以施用武藤式生物肥对有机烟叶的生长有一定的意义。

表 4 烟叶田间农艺性状

| 类别 | 株高 cm | 有效叶数 | 茎围 cm | 节距 cm | 腰叶长 cm | 腰叶宽 cm |
|----|-------|------|-------|-------|--------|--------|
| 试验 | 127 | 19 | 9.7 | 6.13 | 87 | 28 |
| 对照 | 115 | 17 | 8.8 | 5.56 | 81 | 24 |

2.3 烟叶外观质量对比

试验样品外观质量较好，成熟较为充分，颜色以深橘黄为主，叶片结构较对照表现疏松，身份适中，油分稍多，色度较强。试验样品较对照样品叶片组织细致，油润感强，弹性韧性较好，手感烟叶有分量。

表 5 烟叶样品外观质量比较

| 样品 | 成熟度 | 叶片结构 | 身份 | 油分 | 色度 |
|--------|------|--------|------|------|-----|
| 试验 B2F | 成熟 | 疏松-尚疏松 | 稍厚 | 多-有 | 浓-强 |
| 对照 B2F | 成熟 - | 尚疏松 | 稍厚 | 有 | 强 |
| 试验 C3F | 成熟 | 疏松 | 中等 | 有+ | 中+ |
| 对照 C3F | 成熟 | 疏松 | 中等 - | 有 | 中 |
| 试验 X2F | 成熟 | 疏松 | 稍薄 | 有-稍有 | 中 |
| 对照 X2F | 成熟 | 疏松 | 稍薄 | 稍有 | 中 |

2.4 烟叶化学成分对比分析

初烤后取样测定烟叶主要化学成分(表 6)，可以看出，施用武藤式生物肥后，烟叶烟碱含量趋向适宜，普通种植的有机烟叶烟碱含量偏低；施用生物肥种植的有机烟叶的总糖和还原糖含量高于施用普通有机肥种植的烟叶；钾、氯含量与对照差异不大。施用生物肥种植的有机烟叶的化学成分含量适宜，协调性好。

表 6 有机烟叶试验样品与对照样品常规化学成分含量对比

| 样品 | 烟碱 (%) | 水溶性总糖 (%) | 还原糖 (%) | 钾 (%) | 氯 (%) |
|--------|--------|-----------|---------|-------|-------|
| 试验 B2F | 3.13 | 32.57 | 29.24 | 2.21 | 0.26 |
| 对照 B2F | 2.85 | 30.40 | 27.69 | 2.30 | 0.26 |

| | | | | | |
|--------|------|-------|-------|------|------|
| 试验 C3F | 2.44 | 33.87 | 31.09 | 2.76 | 0.32 |
| 对照 C3F | 2.09 | 31.86 | 30.23 | 2.78 | 0.36 |
| 试验 X2F | 1.65 | 37.58 | 31.94 | 2.90 | 0.29 |
| 对照 X2F | 1.17 | 33.56 | 31.78 | 2.80 | 0.31 |

2.5 烟叶感官质量对比分析

由表 7 可知, 试验样品与对照样品均具有典型的清香型香气风格, 其中试验样品烟叶的甜感明显, 香气质好, 香气量多, 香气较清晰透发, 烟气细腻, 劲头适中, 口感较干净舒适, 各项评价指标优于对照样品。

表 7 试验样品与对照样品感官质量对比

| 样品 | 感官评吸质量描述 |
|--------|--|
| 试验 B2F | 清香风格, 甜感明显, 香气质中+, 香气量较多, 杂气微有, 烟气细腻度高, 浓度中等, 劲头稍大, 喉部刺激较小, 余味舒适, 口腔干净。 |
| 对照 B2F | 清香风格, 甜感有, 香气质中, 香气量中等, 杂气稍有, 烟气较细腻, 浓度较小, 劲头中等, 喉部刺激有, 余味稍舒适, 口腔有残留。 |
| 试验 C3F | 清香风格, 甜感明显, 香气质好, 香气量较多, 杂气不明显, 烟气较细腻柔和, 浓度中等, 劲头中, 喉部刺激不明显, 余味干净舒适。 |
| 对照 C3F | 清香风格, 甜感稍明显, 香气质稍好, 香气量中等, 杂气较少, 烟气稍细腻柔和, 浓度中等偏小, 劲头中偏小, 喉部刺激小, 余味稍干净舒适。 |
| 对照 X2F | 清香风格, 甜感有, 香气质中, 香气量较少, 杂气不明显, 烟气细腻, 烟气浓度小, 劲头较小, 刺激不明显, 余味干净舒适。 |
| 对照 X2F | 清香风格, 甜感微有, 香气质中-, 香气量少, 杂气较少, 烟气较细腻, 烟气浓度偏小, 劲头偏小, 刺激小, 余味较舒适。 |

3 小结与讨论

基于目前烟草农业生产中的大量使用化肥、农药等化学合成的物质, 使环境和食品受到较大程度的污染, 生态系统遭到破坏, 土地生产能力不断下降。为探索绿色烟草农业发展的新途径, 保护自然生态环境, 合理利用自然资源, 实现生态系统的持久发展, 提高植烟土壤有机质则是一种对作物营养有较好供给的一种方法。施肥可以提高肥料利用率, 防止土壤营养流失。有机肥的配施对改善植烟土壤理化性状, 保持、恢复和提高土壤肥力, 消除土壤中的有毒物质效果显著, 促使烟株正常生长、烟叶产量明显提高和有机烟叶品质明显改善。

有机烟叶作为安全性较高的一种烟叶原料, 在烟叶生产过程中, 对产地环境条件, 肥料使用, 病虫害防治, 栽培技术规范等都有较高的要求。本试验初步证明, 武藤式生物肥对有机烟叶生产具有良好的促进作用, 能改善土壤的理化性状, 增加烟株的株高、株距、茎围、叶长和叶宽, 能提高有机烟叶的外观质量, 增强烟叶化学成分的协调性, 改善烟叶的感官质量。但武藤式生物肥的作用机理以及对烟叶风格特色形成的影响在后续工作中还需进行更深入研究。

参考文献

- [1] 杨云高, 王树林, 刘国, 等. 生物有机肥对烤烟产质量及土壤改良的影响[J]. 中国烟草科学, 2012, 33 (04): 70-74.
- [2] 张继光, 申国明, 张久权, 等. 烟草连作障碍研究进展[J]. 中国烟草科学, 2011, 32, (03): 95-99.
- [3] 何帮华. 试论有机烟草生产与烟叶质量安全性[J]. 农业与技术, 2019, 39 (8): 119-120
- [4] 谢明文. 不同浓度腐殖酸对烟草幼苗壮苗机理的探讨[J]. 耕作与栽培, 2002, (2): 23-25.
- [5] 李广才, 李富欣, 王留河. 饼肥和腐殖酸对植烟土壤养分及烤烟生长影响[J]. 烟草科技, 1999 (3): 93-96.

- [6] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 GB/T19630.1~19630.4 有机产品[S]. 北京: 中国标准出版社, 2005.
- [7] 高家合,秦西云,谭仲夏. 烟叶主要化学成分对品吸质量的影响[J].山东农业生物学报, 2004, 23(6):497-501.
- [8] 许寒春,李东亮. 通过常规化学成分综合评价卷烟质量的稳定性[J].烟草科技, 2008, (3):35-39.
- [9] 杜文,谭新良,易建华. 用烟叶化学成分进行烟叶质量评价[J].中国烟草学报, 2007, 13(3):25-31.

第一作者简介: 马文哲, 1976年出生, 女, 讲师, 主要研究方向是植物资源发掘与利用, 联系方式: [电子邮箱wzma@gdaib.edu.cn](mailto:wzma@gdaib.edu.cn),
手机号码13829797319。

蔗渣基质斥水性消除和其种植效果的研究³³

毛敏静^{1,2}, 廖章鹏^{1,2}, 姚小华¹, 孙建鑫^{1,2}, 刘后伟^{1*}

(广东农工商职业技术学院热带农林学院, 广东, 广州, 511365)

(嘉应学院生命科学学院, 广东, 梅州, 514011)

摘要

从糖厂产生的甘蔗渣直接用作人造土壤的基质存在强烈的斥水性, 不利于水肥的保持和植物生根定植, 本文筛选出椰油酰胺丙基甜菜碱 (CAB) 采用 1.0% 浓度按 10:1 体积比与蔗渣混合, 很好解决了蔗渣斥水的问题, 改善了蔗渣基质的空隙度、持水性等性质, 通过的发芽实验、小白菜等植物种植证明这种基质可以与珍珠岩、椰糠、沙、有机肥等混合组成适合植物生长的人造土壤, CAB 处理后的蔗渣价格低廉, 来源广泛持续, 没有二次污染, 可以替代草炭、泥炭等传统基质广泛应用与都市农业。

关键字: 椰油酰胺丙基甜菜碱; 斥水性; 甘蔗渣、基质、

1、前言

蔗渣是制糖工业产生的纤维性甘蔗残渣, 全国每年产生 2000 万吨甘蔗渣, 这些庞大的农业废弃物目前主要用于锅炉燃料、回田、造纸^[1]、纤维板^[2]、活性炭^[3]、菌菇培养基^[4]、发酵乙醇^[5]等等, 还剩下 1600 多万吨的甘蔗渣未得到合理利用^[6], 不仅造成资源浪费, 还严重污染环境^[7]。甘蔗渣的成分中纤维素占 35.4%, 半纤维素 20.6%, 木质素 18.6%^[6], 相比其他的废弃物资源, 甘蔗渣的纤维结构良好, 疏松多孔, 性质稳定均一且具有来源集中, 资源丰富且价格低廉的优势^[7], 替代传统使用的泥炭、草炭, 开发为无土种植的有机基质是甘蔗渣高值利用的潜在发展方向^[8]。但甘蔗渣表面纤维覆盖一层蜡质, 阻碍水分渗入纤维内部, 如果不消除蔗渣对水的排斥性, 直接将甘蔗渣用作基质会导致持水性性能弱、水肥流失, 不利于植物生长。

把甘蔗渣开发为有机基质从上世纪九十年代就开始了。1994 年, 刘士哲等^[9]研究发现, 甘蔗渣自然腐熟后用于番茄育苗, 在栽培过程中追施一定氮素, 其效果与泥炭相当; 2004 年, 龙明华等^[10]发现新鲜甘蔗渣与一定量的速效菌、尿素和鸡粪混合发酵 3 个月, 腐熟产物用于栽培西瓜和甜瓜的效果较好; 韦建玉等^[11] (2006 年) 在甘蔗渣中添加复合肥和钙镁磷肥堆沤 7 个月后, 腐熟甘蔗渣与珍珠岩、煤渣配比, 用于烤烟育苗取得可喜效果; 戴小红等^[12] (2013 年) 研究甘蔗渣分别与鸡粪、牛粪、稻草等混合堆制后对散尾葵生长的影响, 得出以牛粪堆制的甘蔗渣混合基质效果更好; 张硕等^[13] (2015 年) 研究认为在完全发酵后的甘蔗渣中添加相同体积的蛭石配制成基质, 有利于促进黄瓜幼苗的生长。以上提出的甘蔗渣有机基质技术工艺都采用微生物沤肥发酵, 在自然腐熟过程中蔗渣的斥水性得以削弱, 但生产成本低, 腐熟周期长, 质量不可控, 效率较低, 恶臭难闻, 对大气环境造成严重污染, 不利于商业化推广应用。

如何寻求一种低成本, 工艺简单, 对环境友好, 同时又具有亲水性甘蔗渣基质生产方法是当前需解决的问题, 本文筛选到 CAB 这种特殊试剂处理甘蔗渣, 很好地解决了甘蔗渣的赋水的问题, 改性的甘蔗渣容重、孔隙特性、持水性等性质与草炭、椰糠等传

³³ 基金项目: 广东农垦产业链末端有机质废弃物高值利用核心技术协同创新中心项目 (粤教职函[2019]109 号、广东大学生科技创新培育专项资金 (粤财教[2019]93 号)《蔗渣亲水胶团的形成和高品质的有机基质的研制》(项目号: pdjh2019b0798)、《糖厂甘蔗渣开发为养殖场发酵床垫料的研发》(课题编号: xyzd1607)。

作者简介: 毛敏静 (1997-), 女, 本科毕业生, 研究方向为农业废弃物高值利用, 电子信箱:

1633438165@qq.com; *通讯作者: 刘后伟 (1964-), 男, 副教授, 电子信箱, houweiliu@163.com

统基质相当，复配珍珠岩、椰糠、海沙等材料，制备出一种高品质的有机基质，种植小白菜、番茄、生菜等驯化植物，效果良好，该技术直接改性甘蔗渣，工艺简单、高效清洁、低成本，是甘蔗渣基质化利用的一项创新发展方向，具有广阔的发展前景。

二、实验材料与方法

2.1 实验材料

甘蔗渣：购自湛江农垦广东省丰收糖业发展有限公司。

有机肥：采自广州增城一衣口田生态养猪厂甘蔗渣发酵池。

其他材料：珍珠岩（网购），椰糠（网购），园土采自广东农工商职业技术学院校园内，为普通红土，海沙采自阳江银滩，草炭（网购），硫酸钾复合肥（N-P₂O₅-K₂O 比例为 15-15-15）（网购），青帮四季小白菜种子（网购）。

2.2 实验试剂

阴离子表面活性剂月桂酰肌氨酸钠（LS）、两性离子表面活性剂椰油酰胺丙基甜菜碱（CAB）、非离子表面活性剂脂肪醇聚氧乙烯醚（AEO9）、非离子表面活性剂聚山梨醇酯 80（SP）、硫酸、30%过氧化氢、氢氧化钠、硼酸、溴甲酚绿-甲基红指示剂、硝酸、钼酸铵、偏钒酸铵、磷酸二氢钾、2,4-二硝基酚指示剂。

2.3 实验方法

LS、CAB、AEO9、SP 配置为 0.5%，1.0%，1.5%，2.0% 四个浓度梯度，LS 分别用 LS1，LS2，LS3，LS4 表示，其他试剂依此类推。每升甘蔗渣中均匀喷施各浓度表面活性剂溶液 100ml，同时纯水做对照，各处理充分混匀，阴凉处放置 3h，风干基质待测。基质容重测定、孔隙度测定、水分的测量参照国家标准（NY/T 2118-2012）中基质容重测定方法和基质孔隙度测定方法^[14]；基质发芽实验参照赵瑞,张玉龙^[15]；总氮含量测定，采用凯氏定氮法；磷含量测定，采用钒钼黄比色法，磷含量测定，参照国家农业标准(NY525-2012)^[16]；pH 值和 EC 值：各处理取风干样品 5g，添加 50ml 蒸馏水搅拌均匀，浸泡 1h 后振荡，用双层纱布过滤，取浸提液，用笔式 pH 计分别测定 pH 值和 EC 值。

甘蔗渣种植实验的基质处理和配方：取干燥蔗渣粉碎，每升甘蔗渣加入 100ml 一定浓度的 LS、CAB、AEO9、SP 溶液，充分混匀，放置平衡 3h 后，风干备用；椰糠用粉碎机（筛孔直径 4mm）进行粉碎；珍珠岩过 6 目留 10 目；园土过 10 目筛；海沙过 16 目筛备用；有机肥自然风干后粉碎，过 6 目筛备用；硫酸钾复合肥碾压成粉状备用。将处理蔗渣、有机肥、珍珠岩、椰糠、园土、沙子、硫酸钾复合肥（g/L）按下表配置 6 中不同的蔗渣基质。

表 1 甘蔗渣复合基质的配方设计

Table 1 The formulation design of bagasse composite matrix

| 配方编号 | 基本物料配方（体积比%） | | | | | | g/L |
|------|--------------|-----|-----|----|----|---|--------|
| | 甘蔗渣 | 有机肥 | 珍珠岩 | 椰糠 | 园土 | 沙 | 硫酸钾复合肥 |
| T1 | 10 | 6 | 3 | - | - | 1 | 2.25 |
| T2 | 8 | 6 | 2 | 3 | 1 | - | 2.50 |
| T3 | 9 | 5 | 3 | - | 2 | 1 | 3.20 |
| T4 | 9 | 6 | 3 | 1 | - | 1 | 2.50 |
| T5 | 10 | 5 | 2 | 2 | - | 1 | 3.20 |
| T6 | 8 | 6 | 3 | 1 | 2 | - | 2.50 |
| CK | | | | 草炭 | | | 0 |

植物栽培实验，采用塑料盆（外口径 12cm，内口径 13.2cm，底径 9.2cm，高度 12cm），每盆放入 3L 甘蔗渣基质，每处理 3 次重复。种植前先将基质拌湿至手握成团，松手即散开

状态，各处理选取长势一致的 2 叶一心幼苗小白菜进行定植，每盘定植 3 株，每个处理 9 株，后期管理按照常规室外阳台栽培管理进行，定植后不追肥，各处理定期浇灌清水，且保持浇水量一致。

用游标卡尺和卷尺（精度 0.01m）测量株高、叶宽；地上部鲜质量：取植株根以上部位，用电子天平测定；地上部干质量：将植株鲜样置于烘箱中 105℃杀青 15 分钟，80℃烘干至恒重，然后用电子天平称重（1/1000g 精度）。

三、实验结果

3.1 不同处理试剂对甘蔗渣斥水性影响

3.1.1 处理试剂对甘蔗渣湿润与再湿润能力的影响

为了分析蔗渣斥水性的变化，我们从蔗渣浸润时间、持水性以及空隙和容重的变化四个方面来分析。在甘蔗渣初次浸润时间测定中，发现未用处理试剂处理的甘蔗渣（对照）浸润性极差，长时间漂浮在水面上，放置时间超过 15h 才能完全被浸润，属重度斥水性基质。

初次浸润的时间变化见下图 1，从图 1 可知，添加处理试剂处理后，各处理的浸润时间明显缩短，说明四种处理试剂可以有效改善甘蔗渣的可浸润性，且随着处理试剂浓度的增大，浸润能力越强。各处理试剂在相同浓度下（除低浓度 CAB），初次浸润所用时间为 $LS < CAB < AEO9 < SP$ ，其中 LS 的浸润能力最强，CAB 和 AEO9 次之，而 SP 的效果最不明显。且其中 LS 在浓度为 1.0% 时较其以上较高浓度水平浸润时间没有明显差异，可以得出处理试剂 LS 在 1% 的浓度水平就能较好地改善甘蔗渣浸润性。而 CAB 随着浓度的改变可以显著影响甘蔗渣的浸润能力，初步认为 LS 和 CAB 都能够很好解决甘蔗渣的斥水性问题。

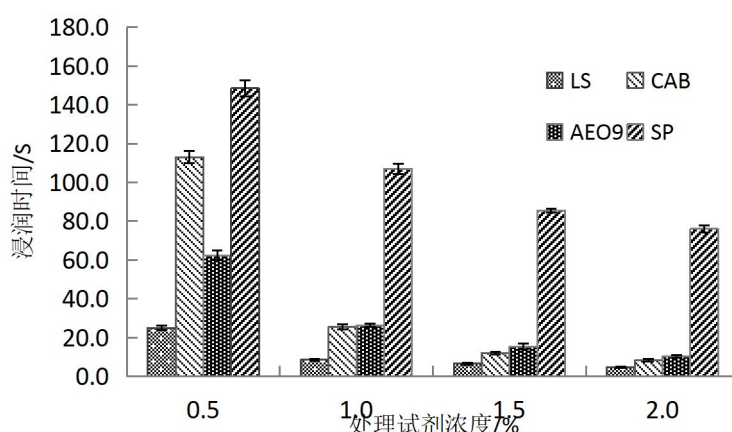


图 1 不同处理试剂各处理的初次浸润时间

Fig. 1 The wetting time of each treatment adding different reagents

再次浸润时间变化见图 2，各处理甘蔗渣经过一次清洗后可浸润性依然显著，且随着处理试剂浓度的增大，浸润能力越强。各处理在相同浓度下，再次浸润时间为 $LS < CAB < AEO9 < CK$ ，与初次浸润能力实验结果一致。与图 1 比较，CAB、AEO9 和 SP 各处理甘蔗渣的再浸润时间较初次浸润时间有不同程度的减小，SP 的一个低浓度除外，这说明处理试剂 CAB、AEO9 和 SP 可以增强基质本身的可润湿性能。而 LS 在各浓度水平下处理甘蔗渣的浸润时间比初次浸润时间有所增加，这说明 LS 处理的甘蔗渣经过一次清洗之后，自身的浸润能力有所降低。

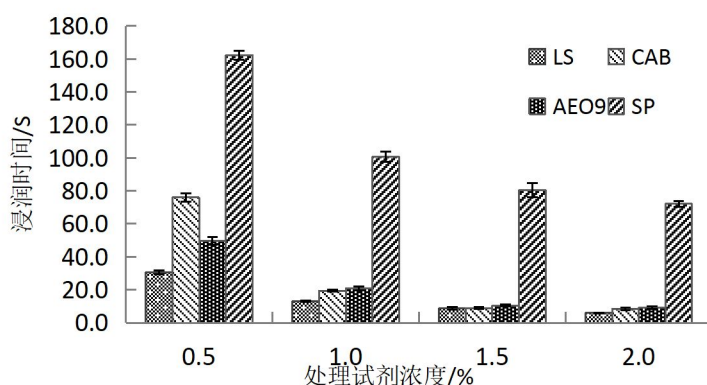


图 2 不同处理试剂各处理的再次浸润时间

Fig. 2 The rewetting time of each treatment adding different reagents

第三次浸润时间变化见图 3, 由图 3 可知, 各处理甘蔗渣经过两次清洗 (模拟多次灌溉), 附着在甘蔗渣上的处理试剂浓度降低, 但甘蔗渣可浸润性依然明显。随着处理试剂浓度的增加, 浸润能力也逐渐增强。各处理试剂在相同浓度下, 三次浸润时间为 CAB<LS<AEO9<SP<CK, 与初次润湿时间及再次润湿时间有所不同, CAB 的一个低浓度除外, CAB 的三次浸润时间最短: 与图 1、2 比较, 相同浓度处理试剂 AEO9、LS 和 SP 的浸润时间均有不同程度的增加, 只有 CAB 例外, 这说明, 处理试剂应用于甘蔗渣基质上, 经过多次浇灌, 处理试剂 LS 和 SP 的效力会逐渐减弱, 这说明 CAB 和 AEO9 的浸润效力在相同条件下持续的时间更长, 而选用 CAB 来处理甘蔗纤维效果会最好。

图 3 不同处理试剂各处理的三次浸润时间

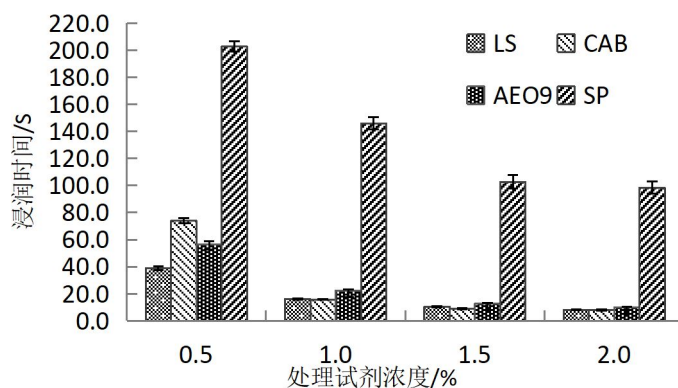


Fig. 3 The third wetting time of each treatment adding different reagents

3.1.2 CAB 处理试剂对甘蔗渣保水性的影响

持水性是蔗渣纤维浸润水后保有的水量, 这些水进入纤维空隙中, 与基质表面对水的吸引力、纤维的表面张力、空隙大小等相关, 间接反映出蔗渣斥水性强弱。CAB 处理饱和甘蔗渣放置 5d 后的失水变化如图 4, 由图可以看出, 对照的保水性相对较差, 处理试剂能在一定程度上可以降低甘蔗渣的水分散失速率, 且随着处理试剂浓度的增加, 甘蔗渣的水分散失速率逐渐减小。随着时间的延长, 处理 CAB-2、CAB-3、CAB-4 间的差异逐渐缩小, 说明 1%浓度水平的 CAB 就能够使得甘蔗渣达到较高的保水效果。四个不同处理甘蔗渣持水性都优于对照, 但在后期它们间的差异缩小, 这可能是持水量主要是与甘蔗渣纤维本身的特

性有关，斥水特性消减后，各种处理效果与 CK 变得一致。

图 4 各处理甘蔗渣的水分散失曲线

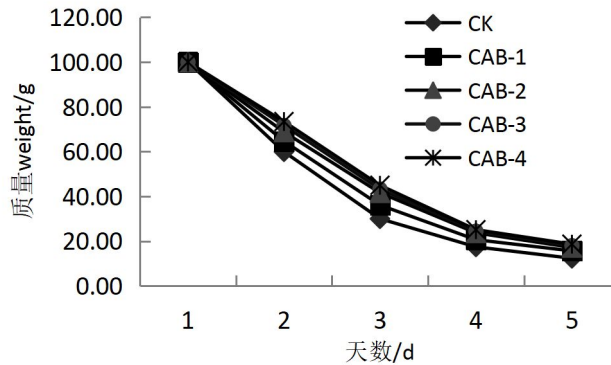


Fig. 4 Water dispersion curve of each treatment

3.1.3 CAB 处理试剂对甘蔗渣孔隙特性、容重的影响

CAB 处理试剂处理甘蔗渣，其孔隙特性、容重的变化见表 2。处理试剂对甘蔗渣孔隙特性的影响显著，明显增加甘蔗渣的通气孔隙度，降低持水孔隙度，而随着处理试剂浓度的增加，甘蔗渣的总孔隙度的变化趋势是小幅递减。各处理甘蔗渣的大小孔隙比均显著大于对照，且在合理的范围内 (0.25-0.5)，随着处理试剂浓度的增加，甘蔗渣大小孔隙比的变化趋势是先增大后减少，这可能是处理试剂的加入虽有效降低甘蔗渣粒子的表面张力，增加水分渗入量，表现为通气孔隙减小、持水孔隙增大，但纤维间的距离增加减弱了甘蔗渣吸附水分的能力，水分可以自由从甘蔗渣粒子间大孔隙流走，所以通气孔隙的增大、持水孔隙的减小。这说明加入适量的处理试剂可以有效调节甘蔗渣的水气分布，增大其通气性能。处理试剂对甘蔗渣的容重的影响较小。

表 2 各处理蔗渣的空隙、容重等变化

Table 2 Some physical properties of different treatment of bagasse

| 处理 | 总孔隙度/% | 通气孔隙度/% | 持水孔隙度/% | 大小孔隙比 | 容重/(g.cm ⁻³) |
|-------|------------|------------|------------|-----------|--------------------------|
| CK | 84.75±0.59 | 6.16±0.79 | 78.59±1.36 | 0.08±0.01 | 0.09±0.01 |
| CAB-1 | 84.84±0.31 | 22.65±0.50 | 62.19±0.62 | 0.36±0.01 | 0.09±0.00 |
| CAB-2 | 83.34±1.14 | 24.53±0.61 | 58.81±1.65 | 0.42±0.02 | 0.09±0.00 |
| CAB-3 | 83.55±0.54 | 23.88±0.58 | 59.67±0.05 | 0.40±0.01 | 0.09±0.01 |
| CAB-4 | 82.52±1.04 | 17.83±0.71 | 64.68±0.93 | 0.28±0.01 | 0.09±0.00 |

综合以上实验结果，可以得出：

(1) 从浸润与再浸润能力实验结果分析：处理试剂改变了甘蔗渣表面疏水性质，使其更迅速均匀被水润湿。处理试剂 LS 的初次及再次浸润时间最短，CAB 和 AEO9 次之，但通过三次润湿时间的测定，发现 CAB 的浸润效果持续时间更长，而三次结果都表明，SP 的效果最差。综合考虑，选择更温和、更易于生物降解的处理试剂 CAB 用于甘蔗渣的斥水性改良。

(2) 从处理试剂对甘蔗渣孔隙特性的影响分析：甘蔗渣由于表面的蜡质结构而使大部分水分子占据了粒子的大孔隙而无法入渗，导致通气孔隙减少，而处理试剂 CAB 的加入可以改变水分子运动，调节甘蔗渣的水气分布，四个浓度水平均能使甘蔗渣的大小孔隙比达到理想水平，但随着 CAB 浓度增大到 2.0%，甘蔗渣的大小孔隙比较其他低浓度明显减小。

(3) 从处理试剂各处理的水分散失曲线分析：CAB 可以改善甘蔗渣的保水性能，其中

浓度为 1.0%时就能使甘蔗渣达到较好的保水效果。时间延长这种处理的效能会减弱。

3.2 CBA 处理试剂基质对发芽率的影响

选用小白菜的种子，放入 CAB 处理后的基质表面，发芽率的变化见表 3。结果表明处理 CAB-1、CAB-2 中小白菜的发芽率与对照相当，均达到 100%，而随着处理试剂浓度的增加，处理 CAB-3、CAB-4、CAB-5 小白菜的发芽率均较对照显著降低，其中处理 CAB-5 中的小白菜发芽率比对照降低了 77%，这说明 CAB 浓度过大会抑制作物发芽甚至会对作物产生毒害。由表 5 小白菜两天的发芽数可以看出，适量的 CAB 加入量能够促进小白菜的发芽和缩短其发芽时间，而过量 CAB 则会抑制小白菜的发芽和延长其发芽时间，其中 1.0%的 CAB 是临界浓度水平。

表 3 CBA 处理试剂对小白菜发芽的影响

Table 3 Effect of surfactants on the germination of Chinese cabbage

| 处理 | 发芽数 | | 发芽率/% |
|-------|-----|-----|-------|
| | 2/9 | 3/9 | |
| CK | 48 | 2 | 100 |
| CAB-1 | 50 | 0 | 100 |
| CAB-2 | 50 | 0 | 100 |
| CAB-3 | 45 | 1 | 92 |
| CAB-4 | 30 | 10 | 80 |
| CAB-5 | 10 | 13 | 23 |

3.3 几种甘蔗渣基质配方种植小白菜效果

3.3.1 不同配方容重、孔隙度、持水孔隙度的分析

不同配比的甘蔗渣基质物理性状有一定差异，其测量值见表 4。各配方基质的容重均在理想范围，除 T3 和 T6 的容重显著大于 CK，其他配方容重与 CK 差异不大，添加的园土和海沙占比越大，复合基质的容重增大，其中 T3 的容重最大，达 0.41g/cm³。各配方基质的总孔隙度除了 T3 和 T6 明显小于 CK，其余配方与 CK 差异不大，只有 T2 和 T4 的通气孔隙达到理想基质要求，分别为 15.87%和 15.40%，而持水孔隙度均显著大于 CK。各配方的大小孔隙比均显著低于 CK。综合以上分析，T2 和 T4 是比较理想的基质候选者。

表 4 不同配方基质的容重、孔隙度、持水孔隙度等值

Table 4 Some physicochemical properties of different formulations

| 处理 | 容重/(g·cm ⁻³) | 总孔隙度/% | 通气孔隙度/% | 持水孔隙度/% | 大小孔隙比 |
|------------------|--------------------------|------------|------------|------------|-----------|
| T1 | 0.27±0.01 | 71.19±1.30 | 11.63±0.39 | 59.56±1.69 | 0.20±0.01 |
| T2 | 0.24±0.01 | 75.62±0.92 | 15.87±0.40 | 59.76±0.91 | 0.27±0.01 |
| T3 | 0.41±0.01 | 68.13±0.32 | 6.87±0.29 | 61.26±0.15 | 0.11±0.00 |
| T4 | 0.29±0.01 | 73.75±1.05 | 15.40±0.45 | 58.35±1.41 | 0.26±0.01 |
| T5 | 0.23±0.02 | 75.68±1.33 | 13.73±0.48 | 61.95±1.30 | 0.22±0.01 |
| T6 | 0.32±0.01 | 69.16±1.21 | 11.53±0.82 | 57.63±2.03 | 0.20±0.02 |
| CK | 0.25±0.01 | 73.63±0.71 | 24.77±0.45 | 48.86±0.72 | 0.51±0.01 |
| 理想水平 [22· 25] | 0.2-0.8 | 70-90 | >15 | >45 | 0.25-0.5 |

不同配方基质的 pH 值、EC 值、氮和五氧化二磷的含量见表 5，其 pH 值、EC 值均大于 CK，pH 值在 6.5 左右，EC 值在 1.457-1.949mS·cm⁻¹ 之间，都在理想栽培基质的要求范围

内^[6]，而各配方基质 N 元素含量和 P₂O₅ 含量均显著高于 CK，其中 T6 的 N 元素含量最高，是 CK 的 1.5 倍，T2 的 P₂O₅ 含量最高，是 CK 的 2.2 倍。由表 5 可以看出，各配方中 P₂O₅ 含量比 N 含量高，这是甘蔗渣本身的 N 含量偏低和有机肥中 P₂O₅ 含量相对 N 含量高的原因。

表 5 不同配方基质的 pH 值、EC 值、氮和五氧化二磷的含量

Table 5 pH value, EC value, N and P₂O₅ content of different matrix formulations

| 处理 | pH 值 | EC 值/ (mS.cm ⁻¹) | N/% | P ₂ O ₅ /% |
|----|----------|------------------------------|-----------|----------------------------------|
| T1 | 6.5±0.05 | 1.562±0.02 | 0.78±0.02 | 0.86±0.02 |
| T2 | 6.6±0.05 | 1.926±0.02 | 0.76±0.02 | 1.30±0.03 |
| T3 | 6.4±0.00 | 1.606±0.05 | 0.60±0.02 | 0.70±0.02 |
| T4 | 6.5±0.00 | 1.457±0.01 | 0.73±0.01 | 0.96±0.03 |
| T5 | 6.5±0.05 | 1.949±0.02 | 0.83±0.03 | 1.07±0.03 |
| T6 | 6.5±0.05 | 1.724±0.01 | 0.92±0.02 | 0.97±0.03 |
| CK | 5.8±0.05 | 0.489±0.01 | 0.60±0.02 | 0.59±0.02 |

3.3.2 不同蔗渣基质种植小白菜的效果

采用独立小盆移栽高度为 4cm、叶片数为 3 的小白菜苗，定植第 5d 开始测定小白菜株高、叶宽、叶片数，每隔 5d 测定一次，共测定 6 次。到定植第 30d，测定各处理植株地上部鲜质量和地上部干质量，效果见图 5。



图 5 不同甘蔗渣基质和草炭栽培小白菜的效果

Fig.5 Growth morphology of Chinese cabbage cultivated with bagasse matrix and peat matrix

小白菜株高的变化见图 6。定植后前 10d，各处理小白菜生长速度缓慢，且各处理的株高均低于 CK，随着种植时间的延长，定植第 15-25d，各处理小白菜生长迅速，CK 的生长开始缓慢，表现出明显的差异性，各处理株高均显著高于 CK，其中 T2 的生长最快，且到第 25d，T2 的株高均高于其他处理。到第 30d，各处理小白菜株高缓慢增长，处理 T2 仍然

保持增长,株高为 T2>T1>T5>T6>T4>T3>CK, 处理 T2 的小白菜株高为最高,为 30.7cm,显著高于其他处理,其次是 T1 为 26.5cm,T2 和 T1 的株高分别比 CK 增加了 162.4%和 126.5%。

图 6 不同配方基质对小白菜株高的影响

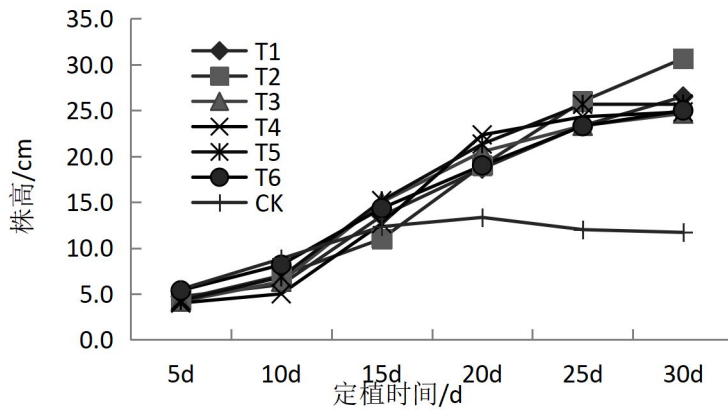


Fig. 6 Effect of different formulations on the plant height of Chinese cabbage

选择小白菜其中最宽的一叶片测量叶宽的变化,结果见图 7。各处理小白菜的叶宽随着植株的增高而增大,定植 10d 内,各处理小白菜叶宽均较 CK 小,而 10d 后,各处理的小白菜生长加速,各处理叶宽的与 CK 差异显著,均较 CK 大,到定植后 30d,各处理叶宽 T6>T2>T1>T4>T3>T5>CK,以处理 T6 的叶宽最大,为 9.4cm,较 CK 增大 56.67%,其次是 T2,为 9.2cm,较 CK 增大 53.33%。

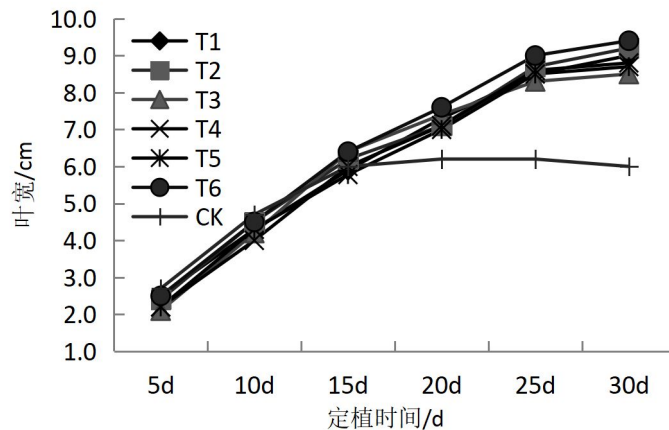


图 7 不同配方基质对小白菜叶宽的影响

Fig. 7 Effect of different formulations on the leaf width of Chinese cabbage

小白菜叶片数的变化见图 8,在定植后 5d 到 25d,各处理小白菜的叶片数逐渐增加,到第 15d 均显著高于 CK,第 25d 植株达到最大叶片数,为 T2>T6>T1=T4>T3=T5>CK,其中 T1 叶片数比 CK 多 83.0%,到第 30d,各处理小白菜的叶片数呈现递减的趋势,处理 T1 除外,这说明到定植第 30d,植株的生长停滞,子叶开始萎蔫,各处理叶片数为 T1>T2>T6>T4=T5>T3>CK,比 CK 增加了 2.4-4.4 片叶子,其中.处理 T1 的叶片数最多,T2 次之。

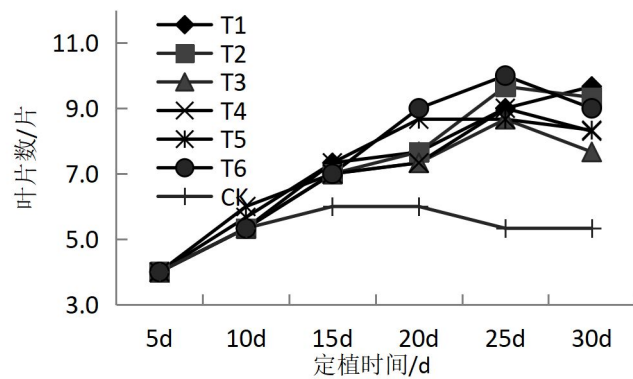


图8 不同配方基质对小白菜叶片数的影响

Fig.8 Effect of different formulations on the number of leaves in Chinese cabbage

不同基质种植小白菜地上和根的比较见图9，与草炭基质栽培（CK）的小白菜相比，各配方甘蔗渣基质栽培的小白菜更加稳健，各形态指标更好，在产量上有明显优势。各处理小白菜的单株干鲜质量均显著优于CK，其中处理T2和T6的单株鲜质量（42.2g和33.6g）分别比CK增加了37.4g和28.8g，干物质量（2.80g和2.37g）分别比CK增加了2.3g和1.87g。



图9 不同基质小白菜地上部分和根部的比较

Fig.9 Comparison of cultivation effects of bagasse matrix and peat matrix

说明：图中“—”表示图片放大倍数不同时，代表10cm标尺；草炭表示单一草炭基质。综合以上种植效果，可以得出如下结论：

(1) 从甘蔗渣基质配方的理化分析结果可以得出：各配方的pH值和EC值均为理想范围；而除处理T3外，各配方的N元素含量和 P_2O_5 含量基本可以满足栽培基质的要求；但容重、孔隙度、持水孔隙度等各项指标有差异，综合以上测量数据T2和T4配方最优。

(2) 从甘蔗渣基质种植实验结果可以得出：相同基质下，小白菜的各项形态的变化是先缓慢增长到增长加速，没有明显的速生期。各配方基质种植的小白菜在定植前10d的生长较CK未见优势，而到生长后期，各配方种植的小白菜株高、叶宽、叶片数等较CK优势明

显,说明各配方基质的养分供应足以满足小白菜的生长需求。综合各项指标分析,处理 T2 种植的小白菜生长势最优。

4 分析讨论

降低甘蔗渣表面的张力可以显著地降低蔗渣纤维的斥水性,而降低的方法有很多,如水沤、堆肥发酵^[17],但通过对表面改性来消除甘蔗渣斥水性是一种新的尝试,通过大量的筛选,我们选择用 CBA 来处理甘蔗渣取得不错的效果,每吨成本增加 50~150 元左右,这样生产的出的甘蔗渣基质价格在 60~310 元/吨,相比草炭 2400~3800 元/吨、椰糠 2000~3600 元/吨有价格优势,而且泥炭、草炭是可以再生资源,不宜大规模开发利用,椰糠含有较高的盐分,影响植物的生长,甘蔗渣基质有明显的优势。

处理试剂可以有效改善甘蔗渣的浸润性,调节甘蔗渣的大小孔隙比,并在一定程度上提高甘蔗渣的保水效果^[18],通过小白菜的发芽试验,得出适量的处理试剂 CAB 不会对小白菜发芽产生不良影响,其中 1.0%为临界浓度。综合分析得出,每升甘蔗渣中加入浓度为 1.0%的 CAB 溶液 100ml 处理,可以很好改善甘蔗渣的不良物理特性,且用于基质中对作物生长的安全性评价最高。

在作物栽培中,基质不仅要有良好物理特性保证植物根系生长,还需持续为植物生长提供养分^[19]。甘蔗渣基质在物理性状稍有缺陷的情况下,通过调整基质的养分含量可作为栽培基质。本试验中缺少基质 K_2O 含量的测定,但由于配方中添加了有机肥和复合肥,且从种植实验的效果分析,甘蔗渣基质中不存在缺 K_2O 的可能性。通过复合配比的甘蔗渣基质中,配方 T2 和 T4 的物理性状在理想基质要求的范围内,其他配方通气孔隙度偏小,可通过改变各材料的粒径大小得以调节。各配方基质中 pH 值和 EC 值均为理想范围,且 N 元素含量和 P_2O_5 含量基本可以满足栽培基质的养分要求。由种植试验得出,甘蔗渣基质栽培小白菜的效果良好,各配方小白菜的生长形态和地上干鲜质量均显著优于 CK,其中配方 T2 (甘蔗渣:有机肥:珍珠岩:椰糠:园土=8:6:2:3:1,每升干基质中配入复合肥 2.5g) 的综合性状表现最好。

5、参考文献

[1]廖锦赤,谢星武.浅谈广西制糖企业用蔗渣制浆造纸的发展前景[J].广西,2010(03):39-43+46.

[2]符彬,郑霞,潘亚鸽,李子慕,蒋廷伟.无胶蔗渣纤维板制备及性能[J].林产工业,2015,42(06):14-17+33.

[3]莫柳珍,廖炳权,黄向阳,邓立高.甘蔗渣活性炭制备研究进展[J].广西糖业,2015(01):31-35.

[4]李莹莹,徐勇士,陆登俊,杨晓光,陆海勤.甘蔗渣栽培食用菌的应用与研究进展[J].中国农学通报,2016,32(17):44-48.

[5]尹雪洋,闭安青,杨作鹏.糖厂蔗渣综合利用的一个新方向,利用蔗渣生产木质纤维素燃料乙醇技术综述[J].广西糖业,2014(05):45-50.

[6]许文婷,杨晓光,王瑞琴,甘积伦,黄清松,陆登俊.一种新型蔗渣高值化产业链的构建[J].中国调味品,2017,42(07):160-164.

[7]劳超,杨晓光,李一,邓立高,陆登俊.甘蔗渣纤维素的改性及应用进展[J].广州化学,2017,42(02):71-76.

[8]孟宪民.我国基质产业面临的问题与对策[J].中国蔬菜,2017(08):16-20.

[9]刘士哲,连兆煌.蔗渣作蔬菜工厂化育苗基质的生物处理与施肥措施研究[J].华南农业

大学学报,1994(03):1-7.

[10]龙明华,唐小付,于文进,黄文浩,李梦梅,梁勇生.甘蔗渣处理物作西瓜、甜瓜栽培基质的效应[J].浙江农业科学,2004(06):16-19.

[11]韦建玉,曾祥难,王军.甘蔗渣在烤烟漂浮育苗中的应用研究[J].中国烟草科学,2006(01): 42-44.

[12]戴小红,樊权,尹俊梅,贺军军,罗萍.甘蔗渣与不同材料混合堆制后作为盆栽基质对散尾葵生长的影响[J].热带作物学报,2013,34(08):1430-1434.

[13]张硕,余宏军,蒋卫杰.发酵玉米芯或甘蔗渣基质的黄瓜育苗效果[J].农业工程报,2015,31(11):236-242.

[14]NY/T2118-2012,蔬菜育苗基质[S].中华人民共和国农业部,2012.

[15]赵瑞,张玉龙,须晖,陈俊琴,马健.保水剂在蔬菜基质育苗中的应用研究(I)保水剂对黄瓜穴盘苗基质水分状况及秧苗质量的影响[J].中国农学通报,2005(08):252-255.

[16]NY525-2012,有机肥料[S].中华人民共和国农业部,2012.

[17]崔敏,张志国,时连辉,刘亚军,李斗争.不同浸润剂对草炭浸润与再浸润能力的影响[J].北方园艺,2007(07):54-56.

[18]刘畅,陈俊英,张智韬,柴红阳,蔡耀辉,砂土斥水性与含水率关系的试验研究及理想模型分析[J],节水灌溉,2017(8):13-16+20

[19]王新右.蔬菜栽培与基质理化性状的关系探讨[J].现代农业科技,2018(13):76-77.

Study on elimination of water repellency of bagasse substrate and its planting effect

Mao Minjin, Liao Zhangpeng, Yao xiaohua, Sun Jianxin, Liu Houwei
(Guangdong AIB Polytechnic College, Guangzhou, Guangdong, 511365, China)

Abstract

Sugarcane bagasse produced by sugar factory is directly used as the substrate of artificial soil, which has strong water repellency, which is not conducive to the maintenance of water and fertilizer and the rooting and planting of plants. In this paper, it is selected that cocoamidopropyl betaine (CAB) is mixed with bagasse at a volume ratio of 10:1 at a concentration of 1.0%, which solves the problem of water repellency of bagasse, improves the porosity and water holding capacity of bagasse matrix, and so on Experiments and planting of Chinese cabbage and other plants have proved that this substrate can be mixed with perlite, coconut bran, sand and organic fertilizer to form artificial soil suitable for plant growth. The sugarcane bagasse after CBA treatment has low price, wide source and no secondary pollution. It can replace the traditional matrix such as peat and peat and be widely used in urban agriculture.

Key words: cocoamidopropyl betaine CBA, water repellency, bagasse, matrix

环境意识、知识如何影响城镇居民天然橡胶园生态治理参与意愿？——来自中国海南省的证据

徐涛

海南大学管理学院

摘要：亚洲地区各发展中国家天然橡胶种植面积的扩张对当地生态系统带来了负面影响，保护和修复区域生态环境成为一个紧迫问题。通过实施公众广泛参与的生态治理项目可以有效缓解生态环境压力，这篇文章以中国天然橡胶生态治理项目为例，研究了居民主观环境意识和客观掌握的环境知识对其生态治理项目参与意愿的影响。本研究将参与意愿划分为参与与否及参与程度两阶段，基于中国海南省 521 户城镇居民入户调查数据，借助 Double Hurdle 模型分析环境意识和环境知识对居民参与治理意愿的影响，并探讨环境知识是否抑制了对环境意识对于居民参与意愿之间关系的促进作用调节效应。结果表明，样本居民具有较强的天然橡胶园生态治理参与意愿，环境意识显著正向影响居民参与与否的决策，但对居民参与程度的觉得没有影响；环境知识显著正向影响居民参与与否与参与程度的决策，且环境知识显著抑制了环境意识对居民参与与否决策的促进作用；受访居民的年龄、受教育程度、工作情况、居住区域显著影响其参与治理意愿。我们的研究可以为政府部门制定天然橡胶园生态治理的有关政策提供有益参考。

关键词：环境意识；环境知识；生态治理；参与意愿；天然橡胶园；Double Hurdle 模型

香蕉种质资源的保存、评价与利用

胡玲玉, 杨兴玉, 吴元立, 许林兵, 黄秉智

(广东省农业科学院果树研究所/农业部南亚热带果树生物学与遗传资源利用重点实验室/广东省热带亚热带果树研究重点实验室, 广州 510640)

摘要: 香蕉是世界上重要的果树和粮食作物之一。但是, 香蕉产业正面临着病虫害和冷害等不利因素的威胁, 因此实现栽培品种的多样化以及选育高抗病、高产和优质的香蕉新品种至关重要, 这项工作需要大量且全面多样性的种质资源的收集和保存。香蕉属于多年生无性繁殖草本植物, 很难通过种子进行繁殖, 所以其种质资源的保存以活体保存方式为主, 包括圃地种植保存、大棚设施土地种植保存和盆栽种植保存以及离体保存(缓慢生长保存和超低温冷冻保存)。以丰富的香蕉种质资源材料为基础, 通过资源筛选、杂交育种和诱变育种等多种途径选育出高抗、优质的新品种, 对香蕉产业的可持续发展和农民的增收作出较大的贡献。国家果树种质广州香蕉荔枝圃共保存香蕉种质资源340份, 包括栽培品种、野生种和野生近缘植物(种), 按照田间圃地种植保存2~3年、大棚设施盆栽保存1~2年以及缓慢生长保存6~12个月的时间间隔进行香蕉种质资源的更新。以国家果树种质广州香蕉荔枝圃丰富的香蕉种质材料为基础, 选育出粉杂1号、中蕉4号和南天黄等多个抗病、优质的香蕉新品种, 对香蕉产业以及乡村振兴和扶贫工作起到重要的支撑作用。

关键词: 香蕉; 种质资源; 保存; 评价; 利用; 抗病; 育种

Conservation, Evaluation and Utilization of Banana Germplasm Resources

HU Lingyu, YANG Xingyu, WU Yuanli, XU Linbing, HUANG Bingzhi

(Institute of Fruit Tree Research, Guangdong Academy of Agricultural Sciences; Key Laboratory of South Subtropical Fruit, Biology and Genetic Resource Utilization, Ministry of Agriculture; Guangdong Key Laboratory of Tropical and Subtropical Fruit Tree Research, Guangzhou 510640, China)

Abstract: Banana is one of the most important fruit and food crops grown worldwide. Unfortunately, banana production is being increasingly threatened by diseases, pests, chilling injury and other unfavorable factors. Therefore, it is crucial to diversify cultivars and breeding new banana varieties with high pest- and disease- resistance, yielding and quality, which requires a large and comprehensive characterized germplasm collection. Banana is perennial asexual herbaceous plant and is extremely difficult to propagated by seeds. Therefore, the conservation of banana germplasm resources is mainly *in vivo* preservation, including nursery planting, greenhouse planting and conservation *in vitro* (slow growth conservation and cryopreservation). Based on the abundant *Musa* germplasm resources, new banana varieties with high resistance and quality were selected through resources screening, hybrid breeding and mutation breeding, which is vital for the sustainable banana production and increase farmers' income. The National Field Genebank for Banana and Litchi (Guangzhou) currently consists of 340 accessions, including cultivated varieties, wild species and wild relatives. The *Musa* germplasm resources are updates every 2-3 years in the field nursery, 1-2 years in the greenhouse and 6-12 months in slow growth conservation. Based on the abundant *Musa* germplasm conservation in the National Field Genebank for Banana and Litchi (Guangzhou), a number of high disease-resistance and quality varieties have been selected, such as Fen Za No. 1, Zhong Jiao No. 4 and Nan Tian Huang, which play a vital role in supporting the banana industry, rural revitalization and poverty alleviation.

Keywords: banana; germplasm resources; conservation; evaluation; utilization; disease-resistance; breeding

资助项目: 科技部国家重点研发计划(2017YFD0202105); 农业农村部“物种品种资源保护费项目”; 科技部、财政部国家科技资源共享服务平台项目(NHGRC2020-NH17); 广东省现代农业产业技术体系创新团队建设(2018LM1069)。

作者简介: 胡玲玉(1993—), 女, 助理研究员, 研究方向为香蕉种质资源、新品种选育、栽培技术, E-mail: hly189182@163.com

通讯作者: 黄秉智(1962—), 男, 研究员, 研究方向为香蕉种质资源、新品种选育、栽培技术, E-mail: huangbingzhi@gdaas.cn

农作物种质资源是农业科技原始创新和现代种业发展的物质基础，是保障粮食安全、建设生态文明以及支撑农业可持续发展的战略性资源。农作物种质资源收集、保存、鉴定评价和分发利用等工作，具有公益性、基础性、长期性等特点，对人们生活水平的提高有重大意义，是一种事在当代、功在千秋的工作。

香蕉是世界主要水果作物和重要粮食作物之一，国际上依照其用途将香蕉作物分为香蕉（Banana）和大蕉（Plantain），香蕉是水果作物，多为鲜食，大蕉是粮食作物，多为煮熟后食用。目前世界上有130多个国家和地区栽培香蕉和大蕉^[1]，年产量达到1.55亿吨（FAO 2020），对亚洲、非洲、拉丁美洲以及太平洋岛屿等许多国家和地区的经济作出了重要贡献。但是在许多产区，香蕉产业正面临着栽培品种单一化以及病虫害和冷害等生物和非生物逆境胁迫的威胁，此外，提高果实产量和品质以及延长果实保质期也是育种者们面临的重要问题^[2,3]。世界上许多香蕉育种组织和机构正在为培育抗病抗虫的高产、优质新品种而努力^[4]。香蕉新品种的选育依靠的是很小的遗传变异基础，因此在育种过程中需要纳入更多的遗传物质多样性，这项工作需要依赖大量且全面的种质资源材料的收集，丰富的种质资源可以为育种者们提供优良的遗传物质来源。香蕉野生种、多样化的品种和近缘植物中蕴含着应对病虫害及不断变化的环境条件所必须的基因。为了确保这些重要的且丰富的种质资源材料可以应用于未来的繁殖和育种工作，必须对香蕉种质资源材料进行收集和安全保存。

1 香蕉的定义与分类

香蕉是指芭蕉科芭蕉属的尖苞片蕉（*Musa acuminata*）和长梗蕉（*Musa balbisiana*）两个野生种以及它们种内突变或种间杂交演化而成的栽培种，芭蕉属的其它种为香蕉的近缘植物。香蕉起源中心在东南亚，主要有印度尼西亚、马来西亚、印度和泰国等；次生起源中心在非洲；我国是香蕉起源地的边缘地区，华南各省可见有大量的栽培蕉，和少量的香蕉野生种和近缘植物^[5,6]，近缘植物以阿宽蕉（*Musa itinerans*，以前曾错称为杂交野生蕉（*M. acuminata* Colla × *M. balbisiana* Colla）、AA型野生蕉或AB型野生蕉）较为普遍，在浙江省、湖南省等地还可见少量的芭蕉（*Musa basjoo*），种类较多的是云南省，有栽培蕉和野生蕉类型。

按照 Simmonds 和 Shepherd 的方法进行香蕉栽培品种的分类，将尖苞片蕉性状的基因称为 A 基因，把长梗蕉性状的基因称为 B 基因^[7]。根据性状分类值及染色体倍数，将栽培香蕉分为 AA、AAA、AB、AAB、ABB、AAAA、AAAB、AABB、BB 和 BBB 等基因型。香蕉的栽培种或杂交栽培种以下分基因组（group），后分栽培品种，有的在基因组后再分亚组（subgroup），AA、AAA、AAB、ABB 等都有很多亚组，如 Cavendish 亚组、Plantain 亚组，国内刊物上学名写法没有统一标准，但多以属名 *Musa*+基因型+亚组名+品种名较为规范，如‘巴西蕉’香蕉的学名可写成 *Musa* AAA Cavendish cv. Baxi Jiao。

2 香蕉种质资源保存现状

2.1 国外香蕉种质资源保存情况

1985年，国际生物多样性组织（Bioversity International）建立了一个种质库。目前，该种质库已经成为世界上最大的香蕉异地保存种质库，保存有1625份香蕉种质，由比利时的国际种质交换中心（International Transit Centre, ITC）保管。自1985年以来，ITC已向109个国家和地区的用户分发了17000多份样品，其中约75%的样本分发给了香蕉的主要种植区（非洲27%，美洲25%和亚太地区23%），其余则分发给了欧洲的大学和研究中心，作为基础和应用研究、育种、保存和开发的资源^[8]。

此外，据香蕉种质信息系统（*Musa Germplasm Information System*, MGIS）截止至2020年9月的数据，喀麦隆非洲香蕉和大蕉研究中心（CARBAP）、乌干达国际农业研究组织（NARO）、苏丹农业植物遗传资源保护与研究中心（APGRC）、古巴热带环境研究所（INIVIT）和印度尼西亚园艺研究与发展中心（ICHORD）分别保存了617份、442份、358份、354份和306份香蕉种质。

2.2 国内香蕉种质资源保存情况

2.2.1 国家果树种质广州香蕉荔枝圃

2.2.1.1 保存数量

广东省农业科学院果树研究所从上世纪六十年代开始收集国内外香蕉种质资源，1989年经农业部组织的专家验收并建立香蕉圃，保存的资源主要为芭蕉属种质资源，包括栽培种、野生种和近缘植物（种）。国家果树种质广州香蕉荔枝圃截至2020年10月入圃保存香蕉种质资源总数为341份，其中国外引进的109份，共有9个物种（含1个亚种）；其中生产上已绝种的约有70份。从2001年保种项目启动以后

新增的物种数为 4 个，新增的份数为 173 份，其中国外引进的 70 份。

2.2.2.2 保存类型

国家果树种质广州香蕉荔枝圃保存的香蕉种质资源有三大类：栽培品种、野生种和野生近缘植物（种）。圃地保存的野生种和野生近缘植物（种）数量不多，共保存 41 份，占圃地全部香蕉资源的 12%。尖苞片蕉和长梗蕉这两个野生种在圃地均有保存，尖苞片蕉野生种 3 份，长梗蕉野生种 10 份；圃地保存的野生近缘种多为我国分布较多的野生近缘植物阿宽蕉，21 份。此外，圃地还保存有芭蕉、云南指天蕉（*Musa paracoccinea*）、芭蕉红（*Musa coccinea*）、毛果蕉（*Musa velutina*）、粉饰蕉（*Musa ornata*）等。

栽培品种资源包括地方品种、育成品种、品系等，共 300 份，其中尖苞片蕉栽培种 185 份，杂交蕉 115 份。

2.2.2 其它单位

国内也有其他单位开展香蕉种质资源的收集保存工作，到目前为止，热科院南亚所保存有近 200 份，热科院品种资源研究所保存近 200 份，广东省东莞市香蕉蔬菜研究所保存 146 份，云南热带作物研究所保存 110 份，农业农村部广州香蕉种质资源圃保存 243 份，华南农业大学保存 72 份。

3 香蕉种质资源安全保存技术

香蕉属于多年生无性繁殖草本植物，一般不产生种子，所以种子保存不适用于无籽的香蕉种质资源。国际上香蕉种质保存方式主要以活体保存为主，包括圃地种植保存、大棚设施保存以及离体保存（缓慢生长保存和超低温冷冻保存）等方式^[9]。

3.1 圃地种植保存

种质圃需要设立在适于种质生长的地区，要求有悠久的栽培历史和资源基础，同时具有开展研究的仪器、设备和场地条件。香蕉种质资源的圃地种植保存依靠吸芽的无性繁殖来实现，优点是这种保存方式更接近生产上的管理水平，可以对保存的种质资源进行田间评价和性状观察描述记载。缺点是占用大量土地和劳动力，且易受自然灾害和病虫害的影响，比如冷害，温度在 0℃，会使香蕉种质材料的地上部枯萎，但球茎一般不会死亡；如果温度长时间维持在-3~5℃以下，大部分香蕉种质材料死亡；此外，一些毁灭性病害如香蕉束顶病、香蕉花叶心腐病以及香蕉镰刀菌枯萎病，导致大部分香蕉植株死亡^[10]，影响香蕉种质资源的长期保存。

通过观察香蕉种质资源材料的生长位置、生长势和病虫害情况等，评估其生长状态和安全性，以确定是否要进行更新。如果观察到以下这些情况发生，就要进行种质资源的更新：香蕉植株吸芽生长位置变化大影响株行距；植株假茎变小、变矮以及果实性状变差；植株感染了香蕉束顶病、花叶心腐病或者枯萎病等毁灭性病害。香蕉资源的更新是通过田间吸芽分蘖繁殖，一株植株一般可长 3-5 个吸芽，选择生长势健壮、无病虫害的吸芽来做繁殖材料，能更好地保证香蕉种质的遗传稳定性。但是吸芽易带病菌，因此要做好吸芽的消毒工作，此外在高温季节，吸芽的种植成活率不高，因此要预留足够数量的吸芽来补种。

香蕉种质材料在圃地种植保存中，预防病虫害十分重要。香蕉病毒病一般可通过杀死其传播媒介比如蚜虫来预防；枯萎病较难防治，主要是通过土壤消毒杀菌、多施有机质肥和生物肥以及轮作等方式减轻发病率。此外，还可以通过扩大保存数量，一般每份香蕉种质资源保存材料 5-10 株，以保证其能够安全保存。圃地种植保存操作按《作物种质资源繁殖更新技术规程—香蕉》进行。

3.2 大棚设施保存

为了防止极端天气和毁灭性病虫害等不利因素造成种质资源材料的死亡，大棚设施保存是十分重要的一种保存方式，主要包括大棚设施种植保存和盆栽种植保存。

3.2.1 大棚设施种植保存

大棚设施种植保存管理方式与圃地种植保存基本一致。大棚设施设置有保温和防虫措施，可以防止冬季低温对耐寒力差的种质材料造成的伤害，同时可以观察低温季节种质材料的结果习性，设置有防虫网可以防止虫害以及虫传病害等，提高了种质异地保存时的安全性。但是夏季温度过高，需要采用降温措施，增加成本；高温高湿造成红蜘蛛和鞘腐病等病虫害增加；遮荫也会造成种质材料的徒长。

注意适当疏植，增加透光性，当植株生长过高时要适当短截降低假茎高度，防止遮阴；高温季节要及时降温，加强肥水管理及病虫害的防治；利用物联网系统监测温度、湿度和光照等因素，实现自动化

管理，使种质材料生长最优化。

3.2.2 大棚设施盆栽种植保存

为了使保存种质植株小型化，进行密植化管理，大棚盆栽种植保存是一个有效的方式。使用无病菌的培养土将吸芽或组培苗种植在塑料大盆中，每份种质保存 3-5 盆，重要的种质材料可保存更多，存放于设施大棚中集中管理，用于保存营养体，不需要观察其结果习性。这种方法可以辅助圃地种植保存，节省占地面积、方便管理以及安全性较强，是国内外领先的一种方法。但是需要定期更换花盆和培养土，增加人力和财力成本。

培养土的选择要考虑其保肥保水性能和透气性能，通过肥水管理措施既保证幼苗的正常生长需要，也要使幼苗生长缓慢，维持幼苗的最低生长速率，一般 1~2 年左右更换培养土和幼苗，重新种植保存。如果培养容器空间太小，根系生长空间不足，植株徒长并且提前衰老。所以在盆栽保存中，要采用较大的花盆和充足的培养土，控制肥水，适当修剪植株的叶片和假茎，控制植株的生长量，保持在 1 平方米保存 4 株左右。植株长得太高时可短截降低假茎高度。植株球茎过大出现生长势差的情况时，需要及时更换培养土和幼苗。此外，要注意防治好叶瘟病和鞘腐病等病害，对培养土进行消毒或者定期喷淋杀菌药，对于保存易感土传病害的品种更为有利。

3.3 离体保存

田间保存易遭受病虫害、冷害和台风等不利环境条件的威胁，而且占用大量的土地和劳动力，维护成本较高。因此，离体培养的方法也常用于香蕉种质资源的保存。香蕉的离体保存分为缓慢生长保存和超低温冷冻保存^[11]。

3.3.1 缓慢生长保存

缓慢生长保存适用于香蕉种质资源的中短期保存^[12]。组培繁殖主要是利用吸芽进行外植体接种，在 MS 培养基上外加生长调节剂进行无菌繁殖，不定芽生根后长成小苗。组培苗在温度 15°C 左右生长缓慢，每年继代 1-2 次，可保存 5-10 年。组培苗长成的植株一般不带病菌，经病毒检测后也可保证不带病毒，有利于种质的分发和利用。随着组培技术的发展，在生产上香蕉种苗基本上都采用组培苗，具有无病菌、繁殖速度快且量大、不受气候因素影响以及成本低、质量好等优点。但是由于每年需要继代培养 1-2 次，所以容易遭受细菌或者真菌污染，而且在体外保存的种质容易发生体细胞克隆性变异，所以需要定期监测保存材料的生长和健康情况以及遗传稳定性。

在缓慢生长保存中，其主要目的是降低生长速度、延长保存的时间以及降低保存空间，主要通过控制生长温度和培养基的营养成分，保证植株遗传稳定并且生长速度极缓慢，多数香蕉的生长临界点温度为 13°C，因此组培保存的室内温度常控制在 15°C 左右。由于种质材料的类型不同，组培的繁殖难易和变异程度有差别，所以种质材料的继代次数一般不超过 15 次。当组培苗出现生长势变差、叶片畸形或分化芽不分化等情况时，要进行材料的更新保存。

3.3.2 超低温冷冻保存

超低温冷冻保存适用于香蕉种质资源的长期保存。由于缓慢生长保存方式存在容易发生污染以及体细胞变异等缺点，所以为了确保对香蕉种质材料进行长期、安全且成本更低的保存，开发了超低温保存方式（在液氮中，-196°C）。在这种保存条件下，植物中绝大多数生物化学和物理过程都被抑制，植物材料可以无限期的存储。

目前，有三种方案可用于香蕉组织的超低温冷冻保存：（1）对在 0.4 M 蔗糖上预培养 2 周的分生组织进行快速冷冻；（2）顶端分生组织玻璃化，对从离体保存的材料上切取的微小的分生组织进行玻璃化冷冻；（3）对蔗糖预培养后的分生组织进行玻璃化冷冻，是前两种方法的结合，是目前最成功的方法，解冻后的再生率高达 75%^[13-15]。超低温冷冻保存技术除了用于种质保存，还可以用于根除植物病毒，通过超低温保存，香蕉花叶病毒（CMV）和香蕉线条病毒（BSV）可以从被感染的香蕉材料中清除^[16]。此外，超低温冷冻方法还可用于保存具有特定特征的植物材料，比如遗传转化组织和转化感受态组织。香蕉的转化感受态组织胚胎细胞悬浮系制备困难且耗时，所以其安全储存至关重要，在液氮中保存 4 年之后，解冻后的组织的生存能力、再生能力以及对农杆菌介导的遗传转化的能力保持不变^[17]。

4 种质资源的鉴定和评价

4.1 粗评

将收集的香蕉种质资源材料种植在引种棚或者观察圃中，参照《香蕉种质资源描述规范和数据标准》

[18]中的标准进行描述和记载,评价其与现有种质资源材料的差异性,排除相同的种质资源材料,将与现有种质不同的材料种植入圃地。

4.2 鉴评

正常管理条件下,参照《农作物种质资源鉴定技术规程—香蕉》(NY/T 1419-2007)和《农作物优异种质资源评价规范—香蕉》(NY/T 2025-2011)进行2年以上的鉴定和评价,将多年采集的数据进行整理和整合,形成一个数据库,根据鉴定评价结果,筛选出优异种质资源,有的直接应用于生产,有的供给相关单位和组织进行科研或育种研究。

对一些重要的抗性进行鉴定时,需要另设条件进行。比如鉴定种质材料的枯萎病抗性,利用病菌与组培苗的互作关系开发了组培苗离体早期枯萎病抗性鉴定技术,同时配合采用病菌组培苗密植早期诊断鉴定技术,定植一段时间后记载外部发病症状和球茎部病斑大小进行抗病性评价^[19-21]。

5 保存资源的有效利用

香蕉种质资源在育种、乡村振兴与扶贫、支撑香蕉产业以及基础研究等方面发挥着重要作用。

5.1 育种

作物种质资源是人类赖以生存和发展最根本的物质基础和战略资源,也是生命科学源头创新的材料基础,是育种的重要材料来源。果树种质资源的有效利用涉及许多方面,包括作为育种材料培育新品种、开发加工和药用保健品等,重点还是在品种选育上。

5.1.1 杂交育种

香蕉栽培品种母本高度不育并且其果实要求绝对无籽化,所以很难通过种子进行繁殖。但是,香蕉种质资源中部分野生种和野生近缘种可杂交产生种子,部分栽培品种比如粉蕉和大蕉的雌花也有一定的育性,可少量或极少量地产生种子,这可为杂交育种提供条件。粉杂1号(母本为广粉1号,父本尚未确定,可能为野蕉)就是自然杂交后育成的重要栽培品种;高产高抗枯萎病的中蕉9号(金手指×SH3142)也是杂交育种选育出来的。我国香蕉产区存在冷害和干旱等非生物逆境胁迫,而杂交育种培育的香蕉品种抗逆性强,将成为我国香蕉产业的主要发展方向。世界上有四个著名的香蕉育种机构(洪都拉斯的FHIA,巴西的EMBRAPA-CNPMP,尼日利亚的IITA,瓜德罗普的CIRAD-FLHOR)从事香蕉的杂交育种工作,育出了FHIA系列等香蕉杂交新品种,在抗枯萎病、叶斑病和根线虫病等方面取得了较大的进展,但是绝大多数品种还不能满足消费者日益增长的需要。

5.1.2 诱变育种

无性繁殖过程中发生的自然突变,以及使用一些诱变的因素使香蕉的体细胞发生变异,筛选出一些具有特定抗性的高产优质的新品种。虽然这些变异具有随机性且难度较大,但是在原有优异种质上进行抗病性的选择比较有效。在台湾地区,香牙蕉种植园中枯萎病发病严重。从1984年开始,台湾香蕉研究所对香蕉组培中发生变异的材料进行抗病选育,1992年后已陆续选育出抗病且优质高产的台蕉1号、台蕉3号和宝岛蕉等新品种和品系^[22],将这些抗枯萎病新品种和品系分发到世界各地,科学家们在此基础上再进行选种和优化,选育出更符合生产和消费的新品种。国家果树种质广州香蕉荔枝圃以丰富的种质资源材料为基础,选育出许多抗病香蕉新品种,比如粉杂1号、中蕉4号和南天黄等,这些品种也成为广东省或农业部南亚办的主导农作物品种,对香蕉产业的可持续发展和农民的增收作出了较大的贡献。

另外,新兴技术如细胞融合技术、基因编辑技术以及转基因技术等,也成为未来香蕉新品种选育的重要有效手段。

5.2 乡村振兴与扶贫

我国是香蕉生产第二大国,产区主要集中在广西、广东、海南、福建和云南5个省份。在当前的乡村振兴与扶贫攻坚战中,香蕉作为高产优质的水果,栽培相对容易,农民容易掌握栽培技术,在贫困地区广泛种植,成为许多地区扶贫的主打作物品种,尤其是在边远革命老区和粤港澳大湾区等乡村的农业计划中具有重要地位。但是,目前香蕉产业正面临枯萎病的严重威胁,生产上为感病品种和抗病品种并存,病区以抗病品种如南天黄、粉杂1号、中蕉9号、中蕉4号、桂蕉9号和海贡蕉等为主;无病区和少病区以易感病品种如巴西蕉、桂蕉1号、广粉1号和金粉1号等为主。比如在贵州省册亨地区,粉杂1号的种植也取得了较好的进展,同时在广西和福建等省份的香蕉产区也大力推广,成为扶贫的重头戏。这些以种质资源材料为基础选育而成的香蕉新品种,是我国香蕉产区目前主栽的品种,对香蕉产业起了

重要的支撑作用。

5.3 支撑香蕉产业

在粤港澳大湾区的珠江三角洲香蕉产区，由于香蕉枯萎病的影响，香蕉种植面积急剧下降。国家果树种质广州香蕉荔枝圃培育成的粉蕉新品种粉杂 1 号，具有抗枯萎病、抗风、耐涝、高产和优质等优势，近几年以‘苹果蕉’为商品名出现在我国大部分地区的消费市场，甚至是东北地区，深受消费者的青睐。在广东省中山市，粉杂 1 号每年的栽培面积达 2000 公顷以上，每公顷利润可达 6 万元以上，在珠江三角洲已成为主栽香蕉品种。在海南和云南等省份的香蕉产区，抗枯萎病香蕉品种南天黄每年的栽培面积可达 1~3 万公顷，许多丢弃或转种的蕉园重新种植香蕉，栽培面积得到恢复。

5.4 基础研究

在基础研究方面，国家果树种质广州香蕉荔枝圃主要开展香蕉种质资源的植物学和生物学性状描述记载、枯萎病抗性评价以及染色体倍性研究。此外，通过分发种质材料给相关的科研教学单位，通过他们的研究成果所反馈的信息完善数据库。同时，圃地每年还接待华南农业大学等学校和其他组织的学生及研究人员前来参观，提供一些珍稀种质给相关单位建设小规模科普观光园，对香蕉科普起了重要的作用。

国际种质交换中心拥有世界上最丰富的香蕉种质资源，除了用于保存，也利用种质库开展研究，选育更具营养和抗性更强的香蕉品种。生活在非洲的儿童每年都会遭受维生素 A 缺乏导致的失明和感染，香蕉是全球第四大粮食作物，因此筛选富含维生素 A 的香蕉品种具有重要的意义^[23]。国际生物多样性组织筛选了 400 多个品种，鉴定出类胡萝卜素含量高的品种，人体可以将类胡萝卜素转化为维生素 A，仅吃一根香蕉即可满足儿童每日的维生素 A 需求。

6 展望

香蕉种质资源材料的保存是占地较多、成本较大而成效较低的一项工作。自 2018 年承担农业部的种质圃改扩建项目以来，国家果树种质广州香蕉荔枝圃在保存条件方面获得较大改善。田间种质圃建设有防虫的网室大棚，可以防止虫害传播；温室大棚安装通风降温、遮阴和物联网控制设备，可用于棚内种植保存和盆栽种植保存；同时，也建设了组培保存室，开展低温离体组培保存。

生产上，由于香蕉易感染毁灭性病害导致死亡，栽培品种商品化程度极高，综合性状不完美或经济效益不高的品种鲜有人种植，品种严重单一化。所以目前除主栽品种和野生种阿宽蕉保存较多外，其他资源基本都处于濒危状态。因此，首先要加强全球香蕉种质资源的收集和保存，重点是粉蕉、龙牙蕉、矮香蕉和野生蕉等；同时，从国内外通过交换引进更多优良的香蕉种质资源材料，扩大保存量；第二，除了对种质资源材料的表型进行鉴定评价外，未来的研究将更着重于性状的精准评价，开展香蕉种质资源表型精准鉴定评价与基因型高通量鉴定，深度发掘与优异性状相关的关键基因，构建分子指纹图谱库，对香蕉种质资源的表型与基因型进行关联分析，同时深度挖掘和利用关键基因，打好育种创新基础，提高种质资源研究的水平和高度，并筛选和创制出更多优异和关键的资源材料供给育种利用；第三，对现有种质，尤其是具有优良性状的种质，加快繁殖速度，开展进一步的观察和利用；第四，开展香蕉种质资源的超低温保存研究，以便多轨并举安全保存香蕉种质；第五，完善香蕉种质资源的共享机制，充分整合利用现有资源，构建香蕉种质资源大数据平台，推进数字化动态监测和信息化监督管理，做好种质资源基本性状鉴定、信息发布及实物分发利用等服务工作，促进种质资源的高效利用和积极创新。随着国家开展种质资源的登记工作，资源利用的行政规定和种子法的实施，以及未来种质资源的交易平台的建立，种质资源的收集保护和利用将会进入一个新的局面。

参考文献：

- [1] 刘文清, 崔广娟, 王芳, 曾莉莎, 吕顺, 杜彩娟, 范镇夷, 黄秉智. 香蕉-甘蔗轮作对土壤养分含量及酶活性的影响 [J]. 广东农业科学, 2019, 46(08):86-96.
- [2] BAIYERI K P, ABA S C, ORTIZ R. Germplasm evaluation and cropping systems enhanced sustainable plantain and banana production in Nigeria [J]. *Nigerian Journal of Crop Science*, 2018, 5(1):62-68.
- [3] PANIS B. Cryopreservation of *Musa* germplasm [M]. Bioversity International, Montpellier, France, 2009.
- [4] KAYA E, SOUZA F V D, SANTOS-SEREJO J A, GALATALI S. Influence of dehydration on cryopreservation of *Musa* spp.

- germplasm [J]. *Acta Botanica Croatica*, 2020, 79(2).
- [5] YAN J Y, QUAN X Q, LONG X, PENG H X. Collecting and conserving wild *Musa* germplasm in Guangxi, China [J]. *Acta Horticulturae*, 2011(897):255-257.
- [6] 冯慧敏, 陈友, 邓长娟, 李博, 武耀廷. 香蕉野生种质资源系统分类研究进展 [J]. *热带农业科学*, 2011, 31(5):38-43.
- [7] SIMMONDS N W, SHEPHERD K. The taxonomy and origin of the cultivated bananas [J]. *Botanical Journal of Linnean Society*, 1955, 55(359):302-312.
- [8] CLERCK C, CREW K, VANDEWALLE I, MCMICHAEL L, BERHAL C, LASSOIS L, HAISSAM M, ROUX N, THOMS J, MASSART S. Lessons learned from the virus indexing of *Musa* germplasm: insights from a multiyear collaboration [J]. *Annals of Applied Biology*, 2017, 171(1):15-27.
- [9] 吴洁芳, 袁沛元, 陈洁珍, 刘岩, 黄秉智, 潘建平, 韩冬梅. 广东主要果树种质资源收集保存现状与展望 [J]. *广东农业科学*, 2011, 38(5):60-63.
- [10] 黄秉智, 许林兵, 杨护, 唐小浪, 魏岳荣, 邱继水, 李贯球. 香蕉种质资源枯萎病抗性田间评价初报 [J]. *广东农业科学*, 2005(06):9-10.
- [11] NORMAH M N, CHIN H F, REED B M. Conservation of tropical plant species [M]. New York: Springer, 2013.
- [12] 吴元立, 易干军, 周碧容, 曾继吾. 与香蕉种质离体保存相关的几个遗传学问题 [J]. *果树学报*, 2004, 21(4):365-369.
- [13] PANIS B, TOTTE N, VAN NIMMEN K, WITHERS L A, SWENNEN R. Cryopreservation of banana (*Musa* spp.) meristem cultures after preculture on sucrose [J]. *Plant Science*, 1996, 121(1):95-106.
- [14] THINH N T, TAKAGI H, YASHIMA S. Cryopreservation of in vitro-grown shoot tips of banana (*Musa* spp.) by vitrification method [J]. *Cryo Letters*, 1999, 20(3):163-174.
- [15] PANIS B, SCHOOF H, THINH N T, SWENNEN R. Cryopreservation of proliferating meristem cultures of banana [M]. Proceedings from the JIRCAS/IPGRI Joint International Workshop: Tsukuba, Japan, 2000.
- [16] HELLIOT B, PANIS B, LOCICERO A, REYNIERS K, MUYLLE H, VANDEWALLE M, MICHEL C, SWENNEN R, LEPOIVRE P. Development of *in vitro* techniques for elimination of virus diseases from *Musa* [J]. *Acta Horticulturae*, 2001, 560(560):535-538.
- [17] PANIS B, HELLIOT B, STROSSE H, REMY S, LEPOIVRE P, SWENNEN R. Germplasm conservation, virus eradication and safe storage of transformation competent cultures in banana: the importance of cryopreservation [J]. *Acta Horticulturae*, 2005(692):51-59.
- [18] 黄秉智. 香蕉种质资源描述规范和数据标准 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2006.
- [19] WU Y L, YI G J, PENG X X. Rapid screening of *Musa* species for resistance to *Fusarium* wilt in an *in vitro* bioassay [J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2010, 128(3):409-415.
- [20] 吴元立, 黄秉智, 张智胜, 杨兴玉. 香蕉枯萎病抗性离体接种鉴定方法的优化 [J]. *园艺学报*, 2020, 47(8):1577-1584.
- [21] CARLIER J, WAELE D D, ESCALANT J V. Global evaluation of *Musa* germplasm for resistance to *Fusarium* wilt, *Mycosphaerella* leaf spot diseases and nematodes [M]. International Network for the Improvement of Banana and Plantain, Montpellier, France, 2003.
- [22] 黄秉智, 杨护, 许林兵, 唐小浪, 魏岳荣, 邱继水. 抗枯萎病香蕉品种新北蕉引种试验初报 [J]. *广东农业科学*, 2005(05):33-34.
- [23] MBABAZI R, HARDING R, KHANNA H, NAMANYA P, ARINAITWE G, TUSHEMERIRWE W, DALE J, PAUL J Y. Pro-vitamin A carotenoids in East African highland banana and other *Musa* cultivars grown in Uganda [J]. *Food Science and Nutrition*, 2020, 8(1):311-321.

抗枯萎病粉蕉新品种‘粉杂1号’的选育

胡玲玉, 吴元立, 杨护, 许林兵, 杨兴玉, 黄秉智

(广东省农业科学院果树研究所/农业部南亚热带果树生物学与遗传资源利用重点实验室/广东省热带亚热带果树研究重点实验室, 广州 510640)

摘要: 香蕉是世界上重要的水果和粮食作物之一, 但是香蕉枯萎病严重威胁着香蕉产业的健康发展, 选育抗病新品种是防治枯萎病最有效也是最根本的途径。‘粉杂1号’粉蕉是以‘广粉1号’为亲本材料, 从其种子实生苗中选种获得的粉蕉新品种。2011年获得广东省农作物品种审定委员会审定, 2018年获得国家非主要农作物品种登记。该品种植株生长势中庸, 生长周期一般为14~16个月, 新植蕉每666.7 m²产量为1800kg, 高产园平均株产可达20kg, 每666.7 m²产量约3000kg。果实可溶性固形物含量为25.72%, 可滴定酸含量为0.45%, 可溶性糖含量为21.06%, 还原糖含量为18.31%, 维生素C含量为14.46 mg/100g, 果实品质优良。‘粉杂1号’对香蕉枯萎病的抗性增强, 尤其是4号生理小种枯萎病的发病率在5%以下, 适合在香蕉枯萎病严重的种植区推广种植。同时, 根据多年试种经验, 从种苗和园地的选择、肥水管理、病虫害防治和田间管理等方面总结了‘粉杂1号’粉蕉的栽培技术。

关键词: 香蕉; 新品种; 粉杂1号; 枯萎病; 优质; 栽培技术

Breeding of a new banana variety ‘Fenza No. 1’ with high resistance to *Fusarium* wilt

HU Lingyu, HUANG Bingzhi, WU Yuanli, YANG Hu, XU Linbing, YANG Xingyu

(Institute of Fruit Tree Research, Guangdong Academy of Agricultural Sciences / Key Laboratory of South Subtropical Fruit, Biology and Genetic Resource Utilization (MOA) / Guangdong Key Laboratory of Tropical and Subtropical Fruit Tree Research, Guangzhou 510640, China)

Abstract: Banana is one of the most important fruit and food crops grown worldwide. Unfortunately, healthy development of banana industry is being increasingly threatened by banana *Fusarium* wilt. Breeding new banana varieties with high disease-resistance is the most effective and fundamental way to prevent banana *Fusarium* wilt. ‘Fenza No. 1’ is a new banana variety, which was selected by hybrid breeding strategy from the seedlings of its parental variety ‘Guangfen No. 1’. It was approved by Guangdong Crops Variety Examination Committee in 2011, and obtained the national non-major crop variety registration in 2018. The growth condition of ‘Fenza No. 1’ is moderate, and the production period of the variant is around 14~16 months for the first cycle, and the yield for 666.7 m² is approximately 1800 kg. In high-yield gardens, the average bunch weight is 20 kg and the yield for 666.7 m² is approximately 3000 kg. The fruit quality of the variant is excellent with the determined quality parameters, i.e., the soluble solid content is 25.72%, the titratable acid content is 0.45%, the soluble sugar content is 21.06%, the reducing sugar content is 18.31% and the vitamin C content is 14.46 mg/100g. Besides, the new variety has high resistance to banana *Fusarium* wilt, especially to *FOC* race 4, and the incidence rate is below 5%. Therefore, the variant is suitable for planting in areas with severe banana *Fusarium* wilt. Based on years of trial planting experience, the cultivation techniques of ‘Fenza No. 1’ were summarized from the selection of seedlings and plantations, fertilizer and water management, pest control and field management.

Keywords: banana; new cultivar; Fenza No. 1; banana *Fusarium* wilt; good quality; cultivation techniques

资助项目: 国家重点研发计划 (2017YFD0202105); 国家科技部成果转化资金项目 (2014GB2E000046)、广东省科技厅农村科技领域项目 (2014A020208066); 广东省现代农业产业技术体系创新团队建设项目 (2018LM1069)。

作者简介: 胡玲玉 (1993—), 女, 助理研究员, 研究方向为香蕉种质资源、新品种选育、栽培技术, E-mail: hly189182@163.com

通讯作者: 黄秉智 (1962—), 男, 研究员, 研究方向为香蕉种质资源、新品种选育、栽培技术, E-mail: huangbingzhi@gdaas.cn

香蕉是广东省重要的水果作物，产量为各水果产量之首，在我省水果产业中有举足轻重的作用。但是，香蕉枯萎病严重威胁着香蕉产业的健康发展，导致许多蕉园弃耕改种。香蕉枯萎病是世界性的严重毁灭性土传病害，病原菌为尖孢镰刀菌孢古巴专化形 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*)，是一种土壤习居菌，厚垣孢子在土壤存活多达 20 多年，可通过泥土、流水、工具和种苗等传播，防治极困难^[1]。病原菌有 4 个生理小种，危害我国香蕉产业的有 2 个生理小种，1 号生理小种 (*Foc 1*) 主要感染粉蕉和过山香龙牙蕉；4 号生理小种 (*Foc 4*) 除感染粉蕉和过山香龙牙蕉外，还感染香牙蕉等。早在 1960 年，*Foc 1* 已经在我省被发现，在我国香蕉产区普遍存在；1966 年，*Foc 4* 在广东省番禺地区被发现，由于未被及时控制，迅速扩散至中山、珠海、东莞、肇庆、信宜等地区，已经导致许多蕉园弃耕改种。据统计，我省已有近 6 670 hm² 蕉园不同程度地受到枯萎病菌的感染，对我省的香蕉产业可持续发展构成了严重的威胁。

香蕉枯萎病菌从植株幼嫩或受伤的根尖侵入，使根系和球茎的维管组织变褐、坏死，通过球茎进一步扩散至假茎，导致老叶边缘黄化，继而新叶开始黄化并且下垂，最后导致植株死亡。现有的防治措施，包括生物防治、化学防治、轮作和施加有机肥改良土壤等^[2-3]，都不能有效的防治香蕉枯萎病，选育抗枯萎病香蕉新品种是最有效也是最根本的途径。

1 选育经过

育种者于 2000 年从‘广粉 1 号’粉蕉的种子中获得一个实生苗，将实生苗种植后，2002 年单株产量为 12 kg，2003 年单株产量为 24 kg，果实外观类似粉蕉。挖取该株系吸芽，通过组培快繁后获得种苗，2004 年 4 月定植，以亲本‘广粉 1 号’为对照品种，在广东省农业科学院果树所香蕉园（前作为粉蕉）开展品种比较试验：试验品种和‘广粉 1 号’各种植 18 株，种植行距为 2.7 m，株距为 2.1 m，试验品种有 4 株感染枯萎病，发病率为 22%；而‘广粉 1 号’枯萎病发病率 100%，全部死亡。2005 年开始，广东省农业科学院果树研究所与中山市农业局合作，在民众镇丰本农业科技园、浪网镇、大涌镇和神湾镇等产区开展多点区试和示范。同时在广州市番禺区和增城区、东莞市的麻涌镇和洪梅镇、珠海市斗门区、汕头市澄海区和金灶镇、潮州市钱东镇、惠州市永汉镇以及海南省乐东县等地区进行试种。经综合评价，该品种丰产、优质并且抗枯萎病能力强，命名为‘粉杂 1 号’。2011 年获得广东省农作物品种审定委员会审定，2018 年获广东省最受欢迎的主导水果品种，2019 年获广东省主导香蕉品种。至 2020 年‘粉杂 1 号’推广面积已达 12 000 hm² 以上，抗枯萎病能力强，品质好，效益高；近几年也在广西、云南、福建、贵州等省种植并获得成功，成为新一代网红水果。

2 主要性状

2.1 植物学特征

与亲本‘广粉 1 号’相比，该品种植株生长势中庸，植株较高，株形下垂，冠幅较小，根系较少。新植蕉假茎高 325 cm，宿根蕉假茎高 410 cm。假茎基周（距地面 30 cm 处）和中周分别为 76.7 cm 和 52.5 cm。假茎颜色为中绿色，有光泽，着紫黑色，内假茎为浅绿色，着紫粉红色。叶姿下垂，叶片长 205 cm，叶片宽 59 cm，叶形比为 3.47，叶片基部形状为两边圆且不对称（表 1）。叶面和叶背颜色为绿色，无光泽，叶面中脉颜色为绿色，叶背中脉颜色为浅绿色，叶背和叶鞘蜡粉较少。叶柄长 57 cm，叶柄边缘颜色为绿色，形状为翼状且不紧抱假茎，基部有稀疏的黑褐色斑点，叶柄槽边缘交叠。

植株的花轴无毛且垂直向下，收获时雄花蕾形状为近椭圆形，长度为 27 cm。雄花苞片形状为卵形，外表面颜色为紫粉红色，内表面颜色为红色，苞片尖微染黄色，苞片蜡粉较多。合生花瓣为闭合状态，底色为粉红色或粉紫色，圆裂片颜色为黄色。游离花瓣形状为卵形，边缘为锯齿状，尖端为三角形，颜色为半透明的白色。花柱形状直立，底色为白色，着色为紫色，柱头为奶油色。

表1 ‘粉杂1号’与‘广粉1号’主要植物学性状比较

Table 1 Comparison of main botanical characters between ‘Fenza No. 1’ and the control cultivar ‘Guangfen No. 1’

| 品种 Cultivar | 假茎高 Psecdostem height (cm) | 假茎基周 Psecdostem base perimeter (cm) | 假茎中周 Psecdostem middle perimeter (cm) | 叶片长度 Leaf length (cm) | 叶片宽度 Leaf width (cm) | 叶形比 Leaf shape ratio | 果穗长度 Cluster length (cm) | 果穗周长 Cluster perimeter (cm) | 果指长度 Fruit length (cm) | 果指周长 Fruit perimeter (cm) |
|------------------------|----------------------------------|--|--|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|------------------------------|---------------------------------|
| 粉杂1号 Fenza No. 1 | 325 | 76.7 | 56.5 | 205 | 59 | 3.47 | 56 | 96.3 | 13.6 | 13.6 |
| 广粉1号 Guangfen No. 1 | 426 | 95 | 63.7 | 234 | 79 | 2.96 | 75 | 115 | 16.9 | 14.1 |

2.2 经济学特性

果穗柄颜色为浅绿色，果穗呈短圆柱形，结构紧凑，果穗长度 56 cm，周长 96.3 cm，果穗柄周长 20.7 cm。果指双排排列且分生，果指呈椭圆形，果形直立，棱角不明显，果顶钝尖且有干枯的花柱和花瓣残存。果指平均长度为 13.6 cm，粗(周长)为 13.6 cm，果柄长度 2.0 cm，果柄无毛。生果皮呈浅绿色，成熟果皮黄色，生果肉为奶油色，无裂果情况。一般条件下平均株产为 13.9kg，每 666.7 m²产量约 1800kg，高产园平均株产可达 20 kg，每 666.7 m²产量约 3000 kg。不同种植时期和地点，‘粉杂1号’与‘广粉1号’产量对比如表 2，与‘广粉1号’相比，‘粉杂1号’增产约 1 098 kg/666.7 m²。成熟果实不脱把，果皮易剥离，果肉主要为奶油色，心室内壁果肉为黄色，质地软滑，可食率 74.2%，风味甘甜带微酸，微具香味，品质优。成熟果实可溶性固形物含量为 25.72%，可滴定酸含量为 0.45%，可溶性糖含量为 21.06%，还原糖含量为 18.31%，蔗糖含量为 2.75%，维生素 C 含量为 14.46 mg/100g (表 3)。果实成熟后期无梅花点，货架期 4-6 天。

表2 ‘粉杂1号’与‘广粉1号’的产量比较

Table 2 Comparison of yields between ‘Fenza No. 1’ and the control cultivar ‘Guangfen No. 1’

| 种植日期 Date | 地点 Location | 粉杂1号 Fenza No. 1 | | 广粉1号 Guangfen No. 1 | |
|--------------|----------------|----------------------------------|--|----------------------------------|--|
| | | 株产 Single plant yield (kg) | 总产量 Total yield (kg/666.7 m ²) | 株产 Single plant yield (kg) | 总产量 Total yield (kg/666.7 m ²) |
| 2005.4 | 广州市番禺南沙 | 12.5 | 1437.5 | 22.0 | 110 |
| 2008.3 | 东莞市麻涌镇 | 13.5 | 1455.3 | 24.5 | 49 |
| 2009.3 | 中山市民众镇 | 14.6 | 1794 | 25.2 | 1260 |
| 2009.4 | 中山市神湾镇 | 13.7 | 1712 | 24.7 | 589 |
| | 平均 Average | 13.6 | 1600 | 24.1 | 502 |

表3 ‘粉杂1号’与‘广粉1号’果实品质比较

Table 3 Comparison of fruit quality characters between ‘Fenza No. 1’ and the control cultivar ‘Guangfen No. 1’

| 品种 Cultivar | 可溶性固形物 Soluble solids content (%) | 可滴定酸 Titratable acid content (%) | 维生素C Vitamin C content (mg/100g) | 还原糖 Reducing sugar content (%) | 蔗糖 Sucrose content (%) | 可溶性糖 Soluble sugar content (%) |
|---------------------------|---|--|---|--|---------------------------------|---|
| 粉杂1号 Fenza No. 1 | 20.8 | 0.386 | 15.3 | 20.6 | 1.04 | 21.7 |
| 广粉1号 Guangfen No. 1 | 20.1 | 0.421 | 14.7 | 19.6 | 1.71 | 21.4 |

2.3 枯萎病抗性

与亲本‘广粉1号’相比,‘粉杂1号’对香蕉枯萎病的抗性增强(表4,5)。种植在感染 *Foc4* 香蕉枯萎病的种植园中,发病率在5%以下;在感染 *Foc1* 香蕉枯萎病的种植园中,发病率20~30%;在未种植过粉蕉和龙牙蕉等的种植园中,可以宿根栽培。抗枯萎病能力强,适合在香蕉枯萎病严重的种植区推广种植。

表4 ‘粉杂1号’与‘广粉1号’田间枯萎病发病率比较

Table 4 Comparison of the incidence of banana *Fusarium* wilt between ‘Fenza No. 1’ and the control cultivar ‘Guangfen No. 1’

| 地点 Location | 粉杂1号 Fenza No. 1 | | | 广粉1号 Guangfen No. 1 | | |
|----------------|---------------------|------------|------------|------------------------|------------|------------|
| | 种植数 (株) | 发病数 (株) | 发病率 (%) | 种植数 (株) | 发病数 (株) | 发病率 (%) |
| 广州番禺南沙 | 200 | 4 | 2.0 | 4800 | 3560 | 95.0 |
| 中山民众镇丰本 | 360 | 8 | 1.8 | 30 | 30 | 100 |
| 中山民众镇黄锐章 | 12500 | 225 | 1.9 | 4000 | 2000 | 50.0 |
| 中山神湾镇欧财添 | 1300 | 18 | 1.4 | 1000 | 808 | 80.8 |
| 东莞麻涌 | 200 | 4 | 2.2 | 200 | 184 | 92.2 |
| 平均 Average | | | 1.9 | | | 83.6 |

表5 ‘粉杂1号’各试点田间枯萎病发病率调查

Table 5 Investigation on the incidence of banana *Fusarium* wilt of ‘Fenza No. 1’ in different pilots

| 地点 Location | 种植数(株) | 发病数(株) | 发病率(%) | 茬数 | 前作 |
|----------------|--------|--------|--------|----|------|
| 广州番禺南沙 | 200 | 4 | 2.0 | 一茬 | 发病香蕉 |
| 中山民众镇丰本 | 360 | 8 | 2.2 | 二茬 | 发病香蕉 |
| 中山浪网镇 | 1300 | 4 | 0.3 | 三茬 | 蔬菜 |

| | | | | | |
|---------------|-------|-----|------|----|------|
| 中山民众镇 | 1250 | 25 | 2.0 | 三茬 | 发病香蕉 |
| 中山大冲镇 | 6000 | 14 | 0.13 | 二茬 | 发病香蕉 |
| 中山神湾镇 | 7000 | 208 | 3.0 | 二茬 | 发病香蕉 |
| 中山民众镇接源 | 6500 | 100 | 1.5 | 二茬 | 发病香蕉 |
| 中山民众镇 | 15000 | 200 | 0.7 | 二茬 | 发病香蕉 |
| 中山横门镇 | 30000 | 630 | 2.1 | 二茬 | 发病香蕉 |
| 中山大冲镇 | 4300 | 40 | 0.93 | 一茬 | 发病香蕉 |
| 东莞麻涌 | 200 | 4 | 2.2 | 一茬 | 发病香蕉 |
| 平均 Average | | | 1.55 | | |

2.4 生物学特性

在广东省广州地区，2月中下旬至5月上旬定植6~8叶龄试管苗，植株生长总叶数为42~44片，11月中下旬至次年3月抽蕾，次年5~7月收获。‘粉杂1号’无明显固定的物候期，其生长周期一般为15~16个月，比其亲本‘广粉1号’短20天左右，新植蕉前期生长较缓慢，中后期生长加快，冬季气温低或肥水管理水平低时其生长周期稍长。

2.5 适应性

‘粉杂1号’对土壤和气候的适应力较强，但是要求土壤肥沃，温度高，光照强，不能有霜冻。结果期要求湿度高、水分供给充足，珠江三角洲地区秋冬季节干燥、低温天气对果实的发育不利。‘粉杂1号’适合种植于感染*Foc4*香蕉枯萎病的种植园，或者未种植过粉蕉或过山香的种植园，不适合种植于感染*Foc1*香蕉枯萎病的种植园。

‘粉杂1号’抗风能力较强，其假茎粗壮且质地韧，根系较发达，叶片短窄，没有防风桩情况下可抵抗8~9级强风，立防风桩情况下可抵抗9~10级强风，在11~12级台风下植株的折倒率为10~20%。‘粉杂1号’耐寒性比香蕉强，叶片耐受2°C~4°C的低温，但不耐霜冻，幼果和嫩叶的耐寒力稍差。

3 主要栽培技术

3.1 种苗的选择

选用健康的、不携带枯萎病菌的组培苗种植，种苗在抽生5~8片叶时可定植。或者在未感染香蕉枯萎病的蕉园挖取冬季抽生的健壮吸芽苗作为种植材料。

3.2 建园与定植

选择未种植过粉蕉、过山香等高感1号生理小种枯萎病的种植园，要求土层深厚、土壤疏松且排水良好，土质最好为肥沃壤土或粘壤土，不要选择沙质土，土壤pH值6.0以上。最好选择水田蕉园，前作为番木瓜最好。在感染4号生理小种枯萎病的香蕉园，‘粉杂1号’可以作为病穴补种品种。种植前深翻土壤，下足基肥。

‘粉杂1号’组培苗定植时间为2月至6月，冬季抽生的吸芽苗定植时间为4月下旬至6月。保证植株在12月至次年5月抽蕾，6月至9月采收。确保果实生长发育期在雨季，产量高且质量好。应避免植株在8月至11月抽蕾，易受台风影响且果实发育不良。宿根栽培种植株行距保持在2.8米×(1.3~1.8)米，每666.7 m²定植150~170株为宜；单茬种植或作为防风树种植可加大密度。

3.3 肥水管理

‘粉杂1号’对钾、氮肥需求较高，应以有机肥为主，化肥为辅，化肥以钾、磷、镁肥为主。贫瘠土壤应施足基肥，最好用土杂肥，也可用堆沤腐熟的鸡屎、猪牛屎和花生麸等有机肥，或者在种植穴底30~40厘米处施加钙、镁、磷肥，放，再加泥填平。追肥按照‘前促中攻后补’的原则，早期以

淋施水肥或施肥后浇水淋溶肥料为主，中期以穴施或沟施为主，后期追肥应施肥后浇水淋溶肥料。‘粉杂 1 号’植株耐涝但不耐旱，生长中后期需水量大，短时间畦面浸水影响不大，所以应选择水源充足的低地或水田种植。

3.4 田间管理

3.4.1 合理留芽

‘粉杂 1 号’可宿根栽培，在植株抽蕾后保留 1 个吸芽为续代株，多余的吸芽应在出土后约 50~80 cm 高时除去，或者用镰刀在贴近地面处割去吸芽，用刀尖挖一下中心生长点同时点涂上柴油或者煤油等除芽剂，使吸芽枯死。留芽应控制好时期，以确保果实产量和质量。感染香蕉枯萎病的植株在使用石灰或者多菌灵等杀菌剂处理后也可以留芽。

3.4.2 土壤管理

春植最好覆盖地布或地膜，植株生长中后期一般不进行锄地松土，可以喷施烯草酮、精禾草克除杀尖叶草，喷施草胺膦除杀圆叶草和尖叶草，一般不喷施草甘磷。秋冬干燥、低温季节使用稻草覆盖土壤用于保温保湿。

3.4.3 保护果实

及时清除病叶、黄叶，避免叶片遮光影响果实生长或者伤害果实。挂果株要设立防风桩支撑果穗。根据树势而定，一般每穗果留 7~8 梳，多余果梳用刀切去，提高果实质量。冬季抽蕾和挂果时，最好将果穗套薄膜袋（内加无纺布和珍珠棉效果更好）防寒，春夏季套防水纸袋。

3.5 主要病虫害防治

除了上述有关栽培措施用于预防香蕉枯萎病以外，可以在整地时以及定植后 4~5 个月时施加石灰，将酸性土壤调整为弱碱性或中性。植株感染枯萎病发病初期可以喷淋全安或多菌灵等杀菌剂，再撒上石灰。植株生长后期，病株附近的健康植株也可以撒上石灰并定期喷淋杀菌剂。此外，还要注意软腐病、鞘腐病的防治，旧蕉园要做好消毒杀菌工作。

喷施敌百虫、灭百可、功夫等杀虫剂用于防治卷叶虫；喷施乐斯本、杀虫双等杀虫剂用于防治象鼻虫；喷施灭百可、功夫等杀虫剂用于防治斜纹夜蛾幼虫；对花蕾喷施灭百可、氧化乐果、万灵粉等杀虫剂可以防治花蓟马；喷施螨代治、速螨酮等杀螨剂用于防治红蜘蛛；撒施地虫宁等农药用于防治蛴螬、蝼蛄等地下害虫；果实 2~3 成成熟度时喷施阿米西达液等杀菌剂用于防治煤烟病。

3.6 采收

‘粉杂 1 号’没有固定的采收季节与标准。在亚热带地区以 6 月至 9 月份收获为宜，过早或者过迟果实的饱满度较差，风味稍偏酸。一般在断蕾后 4~5 个月，果指饱满、横切面近圆形时采收，用于远距离运输、销售的可稍微提早采收，用于近销的可迟些采收。采收时注意不要碰伤果实，采收后用毛毡包裹住果穗便于运输或者就地脱梳装箱。催熟时使用 800 mg/L 的乙烯利溶液喷果或浸果，温度为 22~26 °C。

参考文献

- [1] 王伟英, 邹晖, 林江波, 戴艺民. 香蕉抗枯萎病育种研究进展[J]. 东南园艺, 2019, 4: 56-60
- [2] 田丹丹, 周维, 覃柳燕, 韦莉萍, 龙盛风, 李朝生, 黄素梅, 韦弟, 韦绍龙. 香蕉枯萎病拮抗内生细菌的分离鉴定及防治效果初探[J]. 热带作物学报, 2018, 39(10): 127-133.
- [3] 张建春, 岳建伟, 柳青, 李春, 李芹. 内生菌防治香蕉枯萎病研究进展[J]. 南方农业, 2018, 12(25): 12-18.



主办单位：中国热带作物学会

承办单位：中国热带农业科学院科技信息研究所

广东省农业科学院果树研究所

广东农工商职业技术学院

协办单位：广州泛珠城市发展研究院

中国热带农业科学院广州实验站

《热带作物学报》编辑部

海南兴科热带作物工程技术有限公司

