

陈 汝,冉 昆,薛晓敏,等. 红富士苹果果面酵母菌的分布及多样性分析[J]. 江苏农业科学,2020,48(17):134-139.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.17.025

红富士苹果果面酵母菌的分布及多样性分析

陈 汝,冉 昆,薛晓敏,王金政

(山东省果树研究所,山东泰安 271000)

摘要:以红富士苹果为试验材料,在烟台、威海、临沂、泰安等山东苹果主产区采集成熟健康的红富士苹果,采用稀释分离法从苹果样品果面分离纯化得到酵母菌株;依据核糖体 26S D1/D2 区核苷酸序列的比较结果,并结合形态学特征,得出酵母菌的分类地位,并对红富士果实表面酵母菌的多样性进行系统进化分析。结果表明,红富士果实表面蕴含丰富的酵母菌资源,分离得到 163 株酵母菌菌株,经鉴定属于 13 属 20 种;在分离得到的菌株中,子囊菌占优势,共分离到 95 株子囊菌酵母,属于 6 属 10 种,占酵母总数的 58.3%;共分离得到 53 株担子菌酵母,属于 6 属 9 种,占酵母总数的 32.5%;其余 15 株酵母为普鲁兰短梗霉(*Aureobasidium pullulans*)等,占酵母总数的 9.2%。由研究结果得出,红富士果实表面酵母菌的优势属为毕赤酵母属(*Pichia*) (3 种)、假丝酵母属(*Candida*) (3 种)、隐球酵母属(*Cryptococcus*) (3 种),占总酵母种数的 45%。

关键词:红富士苹果;酵母菌;多样性;系统进化分析

中图分类号: S182 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2020)17-0134-05

苹果(*Malus domestica* Borkh.)是山东省规模最大、竞争力最强的优势果品产业,其中晚熟苹果品种红富士占山东省栽培苹果品种的 70%。在苹果生产过程中,其病虫害防治问题在很大程度上制约着苹果产业的优质、高效及可持续发展^[1-2]。苹果在生长期及贮藏期因病原菌侵染而造成果实腐烂,损失巨大。作为控制植物病害首选的化学杀菌剂,存在农药残留、环境污染及病原菌抗药性等弊端^[3-4]。酵母菌具有抗逆性强、耐贫瘠、繁殖快、不产生毒素等优点,因而被广泛用于植物病害生物防治研究中,具有巨大的应用前景^[5-7]。拮抗酵母菌^[8]单独或与水杨酸^[9]、甜菜碱^[10-11]、几丁质^[12]及氯化钙^[13]等结合能有效抑制植物病害。

近年来的研究表明,果园生态环境中含有丰富的酵母菌资源,酵母菌在系统发育上呈现多样

性,直接的分离源包括水果表面、叶面及土壤^[14-15]。Teixido 等对“金色美味”苹果园的微生物群落进行研究发现,其主要的微生物群为真菌[枝孢属(*Cladosporium*)、链格孢属(*Alternaria*)和酵母(yeasts)]^[16]。鲜食水果表面分布着大量酵母菌群,如假丝酵母属(*Candida*)、隐球酵母属(*Cryptococcus*)、德巴利酵母属(*Debaryomyces*)、克勒克酵母属(*Kloeckera*)、克鲁维酵母属(*Kluyveromyces*)、毕赤酵母属(*Pichia*)、红酵母属(*Rhodotorula*)、酿酒酵母属(*Saccharomyces*)及接合酵母属(*Zygosaccharomyces*)^[17-18]。获得高效拮抗酵母菌的首选方法是从与病原菌具有同一生境并且适应能力强、能够有效定殖的酵母菌中进行筛选^[19-21]。苹果园这个特定生态环境中富含大量酵母菌种资源^[22],从中挖掘出的酵母新菌种^[23]有待进一步开发利用。本研究从山东省苹果主产区采集的健康红富士果实表面分离、鉴定并保藏酵母菌种,分析红富士果实表面酵母菌的多样性,可为苹果生长期及贮藏期病害的生物防治提供菌种资源,对苹果产业的发展具有重要的理论和现实意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以红富士苹果为试验材料,于 2016 年 10 月下旬在山东烟台(栖霞、蓬莱、莱州、招远)、威海(文

收稿日期:2019-10-14

基金项目:国家自然科学基金(编号:31600021、31501742);国家重点研发计划(编号:2016YFD0201100、2017YFD0701400);山东省重点研发计划(编号:2017CXGC0210);山东省自然科学基金(编号:BS2015NY008);山东省农业科学院农业科技创新工程(编号: CXGC2017D01);东营市科技计划(编号:2015GG0104)。

作者简介:陈 汝(1985—),女,山东兖州人,博士,助理研究员,主要从事果园微生物与栽培生理研究。E-mail:chenrugss@163.com。
通信作者:王金政,研究员,主要从事水果育种栽培和设施果树研究。E-mail:wjz992001@163.com。

登、荣成)、临沂(蒙阴、沂水)、泰安(肥城、新泰)等山东苹果主产区随机挑选生长状况及管理水平基本一致并且处于盛果期的红富士苹果园,分别采集成熟健康的红富士苹果,共采集红富士苹果样品 50 份(每份包含 15 个苹果,每个苹果单独用保鲜袋密封)。采后的苹果用保鲜盒保存,运输到实验室后立即进行酵母菌的分离。

1.2 酵母菌株的分离与保藏

采用稀释分离法从不同来源的成熟健康的苹果果实表面分离纯化得到酵母菌株^[22]。称取 1 g 苹果果皮放入 50 mL 三角瓶中,加入 10 mL 液体富集培养基(含有 10.0 g/L 酵母浸粉、20.0 g/L 蛋白胨、20.0 g/L 葡萄糖、200 μg/mL 氯霉素),摇匀,于 25 ℃、150 r/min 培养 2 d 后,稀释涂酵母膏胨葡萄糖琼脂(YPD)平板(含 200 μg/mL 氯霉素)。设 5 个苹果为 1 次重复,共重复 3 次。将涂布均匀的 YPD 平板置于 25 ℃ 培养箱中培养 2~3 d,根据菌落形态特点挑取大小、颜色、形态不同的菌落,纯化后转接至斜面。根据 Yarrow 的方法^[24]对菌落质地、颜色、边缘和表面特征等进行形态学的初步归类。将纯化后的酵母菌活化后 4 ℃ 短期保存,或置于 20% 甘油管中,于 -80 ℃ 冰箱中保存待用。

1.3 酵母菌的鉴定

DNA 的提取参照 Makimura 等的方法^[25]进行。核糖体 26S D1/D2 区核苷酸序列扩增^[26]的引物序列为 NL1:5'-GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG-3'; NL4:5'-GGTCCGTGTTTCAAGACGG-3'。25 μL PCR 反应体系:2.50 μL 10×PCR buffer(2.5 mmol/L, 含 Mg²⁺),2.00 μL dNTPs(2.5 mmol/L),0.50 μL NL1(10 μmol/L),0.50 μL NL4(10 μmol/L),0.75 μL DNA 模板,0.25 μL(5 U/μL)Taq 酶,18.50 μL 灭菌水。PCR 扩增反应在 BIO-RAD S1000™ PCR 扩增仪上进行。PCR 扩增程序如下:94 ℃ 预变性 5 min;94 ℃ 45 s,51 ℃ 45 s,72 ℃ 1 min,35 个循环;72 ℃ 10 min,4 ℃ 保存。将 PCR 产物进行电泳检测、回收纯化后送至铂尚生物技术(上海)有限公司测序。

1.4 数据处理

将所测菌株的 26S D1/D2 区核苷酸序列提交至 GenBank 核酸序列数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>),进行 BLAST 分析,与相关序列进行同源性比较,选取与试验菌株亲源关系较近的菌株,用 Clustal X 软件进行多重序列比对^[27],用

MEGA 5.1 软件中的邻接法(neighbor-joining,简称 N-J)构建系统发育树进行系统进化分析,自展检验重复 1 000 次^[28]。用 Bio-Dap 计算各样点酵母菌的 Shannon 多样性指数^[29]。

2 结果与分析

2.1 红富士苹果果实表面酵母菌类群数量分布

由表 1 可知,从山东烟台、威海、临沂、泰安等盛果期苹果园采集的成熟红富士苹果表面蕴含丰富的酵母菌资源,共分离得到 163 株酵母菌菌株。进一步结合表型特征的观察和生理生化特性,在 GenBank 中通过数据比对确定酵母菌株的分类地位。结果表明,分离的酵母菌属于短梗霉属(*Aureobasidium*)、隐球酵母属、假丝酵母属、Dioszegia、地霉属(*Galactomyces*)、有孢汉逊酵母属(*Hanseniaspora*)、梅拉酵母属(*Meira*)、梅奇酵母属(*Metschnikowia*)、毕赤酵母属、红酵母属、酿酒酵母属、锁掷酵母属(*Sporidiobolus*)、掷孢酵母属(*Sporobolomyces*)等 13 属的 20 种。优势属为毕赤酵母属(3 种)、假丝酵母属(3 种)、隐球酵母属(3 种),其种数共占酵母总种数的 45%。

由表 1 还可以看出,从烟台地区苹果样品表面共分离到 63 株酵母菌(11 属 18 种),从威海地区苹果样品表面共分离到 40 株酵母菌(10 属 15 种),从临沂地区苹果样品表面共分离到 28 株酵母菌(12 属 14 种),从泰安地区苹果样品表面共分离到 32 株酵母菌(12 属 14 种)。其中,普鲁兰短梗霉(*Aureobasidium pullulans*)、金黄隐球酵母(*Cryptococcus aureus*)、橘假丝酵母(*Candida quercitrusa*)、葡萄汁有孢汉逊酵母(*Hanseniaspora uvarum*)、美极梅奇酵母(*Metschnikowia pulcherrima*)、克鲁维毕赤酵母(*Pichia kluyveri*)、黏红酵母(*Rhodotorula glutinis*)及酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)等 8 种的酵母菌在以上 4 个地区的苹果样品中均有分布。对以上 4 个地区苹果样品的酵母菌群落多样性进行分析的结果表明,不同地区苹果样品上酵母菌的多样性存在差异,其中烟台地区苹果样品的酵母菌多样性指数最高,为 2.76。

2.2 分离酵母菌株的系统进化分析

选择有代表性的酵母菌株,将其基因序列提交 GenBank,获得登录号(表 1)后进行系统进化分析。

表 1 红富士苹果果面酵母菌类群数量分布

菌种名称	数量(株)				代表菌株编号	GenBank 登录号
	烟台	威海	临沂	泰安		
<i>Aureobasidium pullulans</i> (普鲁兰短梗霉)	5	4	4	2	YG1	MF045445
<i>Cryptococcus aureus</i> (金黄隐球酵母)	2	1	1	1	YG2	MF045446
<i>C. flaveszens</i> (浅黄隐球酵母)	5	3	0	0	YG3	MF045447
<i>C. magnus</i> (大隐球酵母)	1	2	3	0	YG4	MF045448
<i>Candida gelsemii</i>	2	3	1	0	YG5	MF045449
<i>C. intermedia</i> (间型假丝酵母)	3	0	0	3	YG6	MF045450
<i>C. quercitrusa</i> (橘假丝酵母)	4	2	2	2	YG7	MF045451
<i>Dioszegia zsolzii</i>	0	0	2	2	YG8	MF045452
<i>Galactomyces geotrichum</i> (白地霉)	3	2	0	0	YG9	MF045453
<i>Hanseniaspora uvarum</i> (葡萄汁有孢汉逊酵母)	6	3	3	4	YG10	MF045454
<i>Meira argovae</i> (梅拉酵母)	0	0	1	2	YG11	MF045455
<i>Metschnikowia pulcherrima</i> (美极梅奇酵母)	7	4	1	3	YG12	MF045456
<i>Pichia caribbica</i> (卡里比克毕赤酵母)	5	2	0	1	YG13	MF045457
<i>P. kluyveri</i> (克鲁维毕赤酵母)	2	1	4	2	YG14	MF045458
<i>P. membranifaciens</i> (膜醭毕赤酵母)	5	5	0	0	YG15	MF045459
<i>Rhodotorula glutinis</i> (黏红酵母)	4	5	2	3	YG16	MF045460
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (酿酒酵母)	4	2	2	2	YG17	MF045461
<i>Sporidiobolus pararoseus</i> (锁掷孢酵母)	3	0	1	3	YG18	MF045462
<i>Sporobolomyces foliicola</i> (掷孢酵母)	1	0	1	2	YG19	MF045463
<i>S. yunnanensis</i> (云南掷孢酵母)	1	1	0	0	YG20	MF045464
合计	63	40	28	32		
Shannon 多样性指数	2.76	2.59	2.50	2.58		

由图 1 可以看出,从红富士果实表面分离到的酵母菌主要分布于担子菌(Basidiomycetous)、子囊菌(Ascomycetous)及类酵母(Yeast-like)等三大类中。在红富士果实表面分离的酵母菌中,子囊菌酵母占优势,共分离到 95 株,占总酵母总数的 58.3%,属于 6 属 10 种,分别为 *Candida gelsemii*、间型假丝酵母(*Candida intermedia*)、橘假丝酵母、白地霉(*Galactomyces geotrichum*)、葡萄汁有孢汉逊酵母、美极梅奇酵母、卡里比克毕赤酵母(*Pichia caribbica*)、克鲁维毕赤酵母、膜醭毕赤酵母(*Pichia membranifaciens*)、酿酒酵母;共分离到 53 株担子菌酵母,占总酵母总数的 32.5%,属于 6 属 9 种,分别为金黄隐球酵母、浅黄隐球酵母(*Cryptococcus flaveszens*)、大隐球酵母(*Cryptococcus magnus*)、*Dioszegia zsolzii*、梅拉酵母(*Meira argovae*)、黏红酵母、锁掷孢酵母(*Sporidiobolus pararoseus*)、掷孢酵母(*Sporobolomyces foliicola*)、云南掷孢酵母(*S. yunnanensis*);分离到普鲁兰短梗霉(*Aureobasidium pullulans*)等类酵母 15 株,占总酵母数的 9.2%。

3 讨论与结论

酵母菌在自然界广泛存在,水果表面附着了具有代表性的酵母菌群,其他的分离源包括叶片、根系、土壤及海水^[6,30]。红富士果实表面含有大量酵母菌种资源,本研究从山东省苹果主产区盛果期苹果园采集的成熟红富士苹果表面分离得到 163 株酵母菌株,分别鉴定为短梗霉属、隐球酵母属、假丝酵母属、*Dioszegia*、地霉属、有孢汉逊酵母属(*Hanseniaspora*)、梅拉酵母属、梅奇酵母属、毕赤酵母属、红酵母属、酿酒酵母属、锁掷酵母属、掷孢酵母属等 13 属的 20 种。其中,掷孢酵母属、红酵母属及隐球酵母属等属的酵母菌同样也能在巴西的苹果上分离到^[31]。同样的,假丝酵母属、隐球酵母属、有孢汉逊酵母属、梅奇酵母属、毕赤酵母属、红酵母属等属的酵母菌在葡萄牙南部的鲜切苹果上有大量分布^[32]。

由于气候、土壤和管理方式等不同,即使是同一品种上分布的酵母菌群组成也各不相同,优势菌

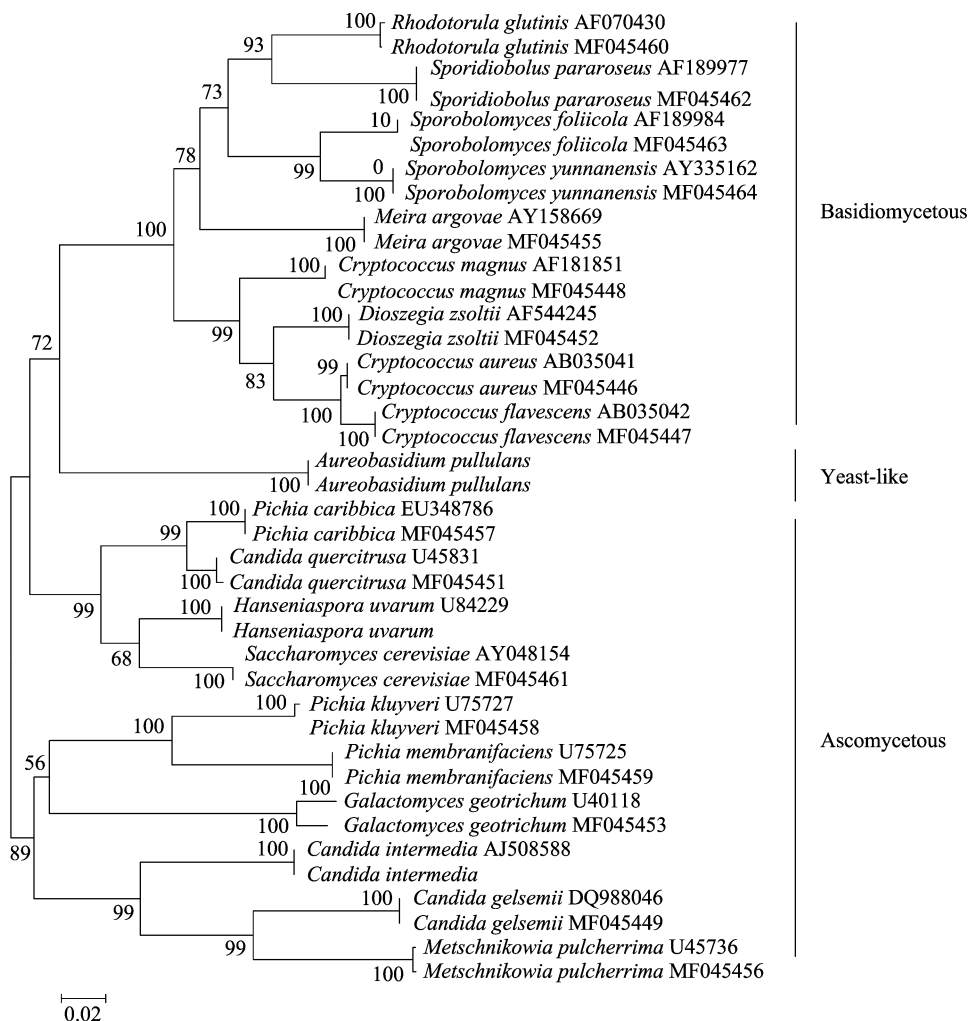


图1 基于 26S rDNA D1/D2 区序列 Neighbor-Joining 构建的系统树

种的类型也不相同^[33-34],从有机苹果园中分离到的酵母菌数量要高于从传统苹果园中分离到的数量^[31]。在同一生境的不同位点,酵母菌群的分布也不完全一致^[35]。山东省苹果主产区不同地区红富士果实表面的酵母菌群分布及多样性指数存在差异,仅普鲁兰短梗霉、金黄隐球酵母、橘假丝酵母、葡萄汁有孢汉逊酵母、美极梅奇酵母、克鲁维毕赤酵母、黏红酵母及酿酒酵母等 8 种酵母菌在 4 个地区的样品中均有分布。其中普鲁兰短梗霉、葡萄汁有孢汉逊酵母、美极梅奇酵母、黏红酵母在意大利北部果园的红富士和金帅果实表面也有分布^[15]。不同地区的红富士果园酵母菌种构成存在明显差异,但子囊菌酵母均占较大优势^[22]。本研究从红富士果实表面共分离得到 6 属 10 种子囊菌酵母 95 株(占 58.3%),共分离到 6 属 9 种的担子菌酵母 53 株(占 32.5%),其余为普鲁兰短梗霉等类酵母 15 株(占 9.2%)。由此可见,红富士果实表面酵母菌

中同样是子囊菌酵母占优势。

酵母菌的拮抗机制主要有营养与空间竞争、直接寄生作用和诱发寄主抗病性等^[6-7]。前人研究表明,卡里比克毕赤酵母、美极梅奇酵母、黏红酵母等能有效抑制苹果果实病害^[6,10,36-37]。葡萄汁有孢汉逊酵母广泛用于草莓^[38-39]、葡萄^[9]、橘子^[40]等采后病害的生物防治。普鲁兰短梗霉主要的拮抗机制是产生胞外多糖(EPS)及水解酶等抑制病原菌^[41],还可通过营养和空间竞争有效抑制桃采后褐腐病的发生^[42]。本研究同样从苹果果实表面获得了以上有效拮抗植物病原菌的酵母菌种,为后期拮抗酵母菌的筛选提供了大量菌种资源,但酵母菌对苹果病害的生防机制还有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] 胡清玉,胡同乐,王亚南,等. 中国苹果病害发生与分布现状调查[J]. 植物保护,2016,42(1):175-179.

- [2]李保华,王彩霞,董向丽. 我国苹果主要病害研究进展与病害防治中的问题[J]. 植物保护,2013,39(5):46-54.
- [3]Droby S, Wisniewski M, Macarasin D, et al. Twenty years of postharvest biocontrol research: is it time for a new paradigm[J]. Postharvest Biology and Technology,2009,52(2):137-145.
- [4]Romanazzi G, Sanzani S M, Bi Y, et al. Induced resistance to control postharvest decay of fruit and vegetables[J]. Postharvest Biology and Technology,2016,122:82-94.
- [5]周雅涵,罗 杨,曾凯芳. 拮抗酵母菌对果蔬采后病害生防增效途径及机理研究进展[J]. 食品科学,2011,32(17):362-365.
- [6]Liu J, Sui Y, Wisniewski M, et al. Review: utilization of antagonistic yeasts to manage postharvest fungal diseases of fruit[J]. International Journal of Food Microbiology,2013,167(2):153-160.
- [7]Spadaro D, Droby S. Development of biocontrol products for postharvest diseases of fruit: the importance of elucidating the mechanisms of action of yeast antagonists[J]. Trends in Food Science & Technology,2016,47:39-49.
- [8]Lima G, Castoria R, Curtis F D, et al. Integrated control of blue mould using new fungicides and biocontrol yeasts lowers levels of fungicide residues and patulin contamination in apples[J]. Postharvest Biology and Technology,2011,60(2):164-172.
- [9]Qin X J, Xiao H M, Xue C H, et al. Biocontrol of gray mold in grapes with the yeast *Hanseniaspora uvarum* alone and in combination with salicylic acid or sodium bicarbonate[J]. Postharvest Biology and Technology,2015,100:160-167.
- [10]Zhang X Y, Zhang G C, Li P X, et al. Mechanisms of glycine betaine enhancing oxidative stress tolerance and biocontrol efficacy of *Pichia caribbica* against blue mold on apples[J]. Biological Control,2017,108:55-63.
- [11]张国超,张红印,陈克平,等. 甜菜碱诱导卡利比克毕赤酵母对苹果灰霉病控制效果的影响[J]. 食品科技,2015,40(8):6-11.
- [12]闫 岩,王明力,李 岑,等. 几丁质诱导汉逊德巴利酵母拮抗活性的研究[J]. 现代食品科技,2014,30(1):91-95.
- [13]陈 敏,高云慨,宋海超,等. 氯化钙结合季也蒙毕赤酵母(*Meyerozyma guilliermondii*)对抑制芒果采后炭疽病效果的影响[J]. 食品科学,2016,37(2):204-209.
- [14]Botha A. The importance and ecology of yeasts in soil[J]. Soil Biology and Biochemistry,2011,43(1):1-8.
- [15]Pelliccia C, Antonielli L, Corte L, et al. Preliminary prospection of the yeast biodiversity on apple and pear surfaces from Northern Italy orchards[J]. Annals of Microbiology,2011,61(4):965-972.
- [16]Teixidó N, Usall J, Viñas I. Efficacy of preharvest and postharvest *Candida sake* biocontrol treatments to prevent blue mould on apples during cold storage[J]. International Journal of Food Microbiology,1999,50(3):203-210.
- [17]Ruiz cruz S, Alvarez parrilla E, Rosa L A, et al. Effect of different sanitizers on microbial, sensory and nutritional quality of fresh-cut jalapeno peppers[J]. American Journal of Agricultural and Biological Sciences,2010,5(3):331-341.
- [18]Tourmas V H, Heeres J, Burgess L. Moulds and yeasts in fruit salads and fruit juices[J]. Food Microbiology,2006,23(7):684-688.
- [19]高云慨,张荣意,钟利文,等. 1株新分离拮抗酵母菌株对芒果炭疽病生防效果及其分类鉴定[J]. 热带生物学报,2015,6(1):47-52.
- [20]Sperandio E M, do Vale H M M, Moreira G A M. Yeasts from native Brazilian Cerrado plants: occurrence, diversity and use in the biocontrol of citrus green mould[J]. Fungal Biology,2015,119(11):984-993.
- [21]Liu Y, Wang W H, Zhou Y H, et al. Isolation, identification and *in vitro* screening of Chongqing orangery yeasts for the biocontrol of *Penicillium digitatum* on citrus fruit[J]. Biological Control,2017,110:18-24.
- [22]陈 汝,姜远茂,魏绍冲,等. 红富士苹果园酵母多样性研究[J]. 菌物学报,2012,31(6):837-844.
- [23]Chen R, Jiang Y M, Wei S C, et al. *Kwoniella shandongensis* sp. nov., a basidiomycetous yeast isolated from soil and bark from an apple orchard[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology,2012,62(11):2774-2777.
- [24]Yarrow D. Methods for the isolation, maintenance and identification of yeasts[M]//Kurtzman C, Fell J W. The yeasts, a taxonomic study. 4th ed. 1998:77-100.
- [25]Makimura K, Murayama Y S, Yamaguchi H. Detection of a wide range of medically important fungi by the polymerase chain reaction (PCR)[J]. Journal Medical Microbiology,1994,40(5):358-364.
- [26]Kurtzman C P, Robnett C J. Identification and phylogeny of ascomycetous yeasts from analysis of nuclear large subunit (26S) ribosomal DNA partial sequences[J]. Antonie van Leeuwenhoek,1998,73(4):331-371.
- [27]Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F, et al. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools[J]. Nucleic Acids Res,1997,25(24):4876-4882.
- [28]Tamura K, Peterson D, Peterson N, et al. MEGA 5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods[J]. Molecular Biology and Evolution,2011,28(10):2731-2739.
- [29]Thomas G. BIO-DAP: a program for ecological diversity and its measurement[Z]. Parks Canada and Fundy National Park,2000.
- [30]Campos - Martínez A, Velázquez - del Valle M G, Flores - Moctezuma H E, et al. Antagonistic yeasts with potential to control *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. and *Colletotrichum acutatum* J. H. Simmonds on avocado fruits[J]. Crop Protection,2016,89:101-104.
- [31]Camatti - Sartori V, da Silva - Ribeiro R T, Valdebenito - Sanhueza R M, et al. Endophytic yeasts and filamentous fungi associated with southern Brazilian apple (*Malus domestica*) orchards subjected to conventional, integrated or organic cultivation[J]. Journal of Basic Microbiology,2005,45(5):397-402.
- [32]Graça A, Santo D, Esteves E, et al. Evaluation of microbial quality and yeast diversity in fresh-cut apple[J]. Food Microbiology,2015,51:179-185.

刘春和. 文冠果种子快速催芽研究[J]. 江苏农业科学, 2020, 48(17): 139–141.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.17.026

文冠果种子快速催芽研究

刘春和

(北京市黄堡苗圃, 北京大兴 102601)

摘要:为了探索文冠果种子的快速催芽技术,以文冠果种子为材料,对其进行不同温度(50、60、70、80、90 ℃)、去种子外皮、不同粒径(≥ 10 mm、 $8 \sim < 10$ mm、 $6 \sim < 8$ mm、 $4 \sim < 6$ mm、 < 4 mm)及不同催芽方法的研究。结果表明:(1)在选用高温处理文冠果种子时,适宜的水温为 80 ℃。(2)剥去外种皮后,文冠果种子发芽率、发芽势均明显提高。开始发芽天数比对照提前 12 d;发芽率、发芽势达到 86.23%、43.12%,比对照分别高出 30.58、20.31 百分点;发芽速比对照提前 14 d;剥去外种皮能够起到快速催芽的作用。(3)粒径 6 mm 及以上的文冠果种子,发芽率达到 86.11% 及以上。(4)文冠果种子低温层积催芽,能够获得 76.66% 的发芽率。

关键词:发芽率;发芽势;催芽;文冠果种子

中图分类号: S330.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2020)17-0139-03

文冠果(*Xanthoceras sorbifolium* Bunge)为无患子科文冠果属多年生小乔木^[1],分布于我国北部和东北部的宁夏、甘肃、辽宁、内蒙古、河南等地,具有喜光、耐寒、耐旱、耐贫瘠、耐盐碱、抗风沙等特征。文冠果种子含油率 35%~40%,种仁含油率 62.8%~72%^[2],是我国特有的食用、药用、保健等木本油料树种。文冠果通常采用播种繁殖,由于外种皮坚硬,含有蜡质不透水层,出苗率不高,发芽不整齐。因此,笔者于 2018—2019 年对文冠果种子进行快速

催芽研究,找到了文冠果种子快速催芽的方法,为培育优质文冠果苗木奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

在 2018 年 9 月下旬,采集成熟的文冠果种子若干,选择颜色均匀、大小一致、直径 0.8~1.0 mm 的文冠果种子,约 2 000 g 备用。

1.2 方法

1.2.1 温度处理试验 将各 300 粒文冠果种子,用 1% 高锰酸钾溶液消毒 10 min,蒸馏水反复冲洗干净,分成 6 份,每份 50 粒,分别放入 6 个 500 mL 的烧杯中,其中 1 份以自然室温水 20 ℃作对照(CK),

收稿日期:2019-10-17

基金项目:2018 北京市财政项目(编号:PXM2018_154305_000002)。

作者简介:刘春和(1968—),男,北京海淀人,工程师,从事园林苗木繁育研究工作。E-mail:1113410152@qq.com。

[33]李双石,苏宁,梁恒宇,等. 蛇龙珠葡萄酵母菌种群多样性和生态分布特征[J]. 中国酿造,2011(5):20-23.

[34]王慧,张立强,刘天明,等. 葡萄果粒表皮酵母菌多样性研究[J]. 微生物学通报,2008,35(1):10-14.

[35]董明华,李治滢,周斌,等. 云南高原湖泊杞麓湖冬季可培养酵母菌多样性分析[J]. 微生物学报,2016,56(4):603-613.

[36]Sharma R R, Singh D, Singh R. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables by microbial antagonists; a review[J]. Biological Control, 2009, 50(3):205-221.

[37]Li R P, Zhang H Y, Liu W M, et al. Biocontrol of postharvest gray and blue mold decay of apples with *Rhodotorula mucilaginosa* and possible mechanisms of action[J]. International Journal of Food Microbiology, 2011, 146(2):151-156.

[38]Qin X J, Xiao H M, Cheng X, et al. *Hanseniaspora uvarum* prolongs shelf life of strawberry via volatile production[J]. Food

Microbiology, 2017, 63(63):205-212.

[39]Cai Z K, Yang R, Xiao H M, et al. Effect of preharvest application of *Hanseniaspora uvarum* on postharvest diseases in strawberries[J]. Postharvest Biology and Technology, 2015, 100:52-58.

[40]Li W H, Zhang H Y, Li P X, et al. Biocontrol of postharvest green mold of oranges by *Hanseniaspora uvarum* Y3 in combination with phosphatidylcholine[J]. Biological Control, 2016, 103:30-38.

[41]Zhang D P, Spadaro D, Garibaldi A, et al. Efficacy of the antagonist *Aureobasidium pullulans* PL5 against postharvest pathogens of peach, apple and plum and its modes of action[J]. Biological Control, 2010, 54(3):172-180.

[42]Francesco A D, Ugolini L, Daquino S, et al. Biocontrol of *Monilinia laxa* by *Aureobasidium pullulans* strains: insights on competition for nutrients and space[J]. International Journal of Food Microbiology, 2017, 248:32-38.