

阳光玫瑰葡萄酵母菌多样性及酿造学特性分析

刘晓柱,张远林,曾爽,黎华,张松,黄名正*
(贵州理工学院,贵州 贵阳 550003)

摘要:采用纯培养分离技术从阳光玫瑰葡萄上筛选酵母菌,形态学与分子生物学方法分析其菌群多样性。杜氏小管法观察菌株糖发酵性能;光密度法分析酵母生理耐受性;对硝基苯基- β -D-吡喃葡萄糖苷显色法(p-nitrophenyl- β -D-glucopyranoside, p-NPG)检测酵母菌产 β -糖苷酶特性;亚硫酸铋培养法分析酵母菌硫化氢产生能力。结果表明,从阳光玫瑰葡萄上共分离鉴定出46株酵母菌,分属为葡萄汁有孢汉逊酵母、盔形毕赤酵母、季也蒙毕赤酵母、加利福尼亚假丝酵母、茶叶籽酵母、异常汉姆酵母、拜耳结合酵母、尖端假丝酵母、*Starmerella bacillaris* 和西文毕赤酵母10大类;菌株YM2不能利用半乳糖发酵,其它所有酵母菌株均可以利用葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖和半乳糖进行发酵;菌株YM3、YM39和YM62具有较好的葡萄糖耐受性,除菌株YM68可耐受9%乙醇外,大部分菌株可以耐受6%的乙醇处理;菌株YM3、YM15、YM18、YM62和YM68对二氧化硫具有较好的耐受性;绝大部分菌株均对柠檬酸具有较好耐受性;YM18产胞内、胞外和细胞壁 β -糖苷酶活性均最高;菌株YM21、YM13不产硫化氢,菌株YM2、YM18、YM50高产硫化氢。

关键词:阳光玫瑰葡萄;酵母菌;纯培养法;多样性;酿造学特性

Analysis of the Yeasts Biodiversity and Theirs Oenological Property from *Shine Muscat*

LIU Xiao-zhu, ZHANG Yuan-lin, ZENG Shuang, LI Hua, ZHANG Song, HUANG Ming-zheng*
(Guizhou Institute of Technology, Guiyang 550003, Guizhou, China)

Abstract: Yeasts were isolated and screened from *Shine Muscat* by pure culture technique, and the yeasts biodiversity were identified using morphology and molecular biotechnology. Tubular fermentation was performed to check sugar utilization performance of these strains. The growth curve and physiological tolerances were checked via optical density detection method. The β -glycosidase and sulfuretted hydrogen producing ability were also examined using p-nitrophenyl- β -D-glucopyranoside colorimetry and bismuth bisulfite culture method respectively. Data demonstrated that 46 yeasts, which belongs to *Hanseniaspora uvarum*, *Pichia manshurica*, *Meyerozyma guilliermondi*, *Candida californica*, *Meyerozyma caribbica*, *Wickerhamomyces anomalus*, *Zygosaccharomyces bailii*, *Candida apicola*, *Starmerella bacillaris* and *Pichia occidentalis* were screened and identified. All the strains except to YM2, could utilize glucose, sucrose, maltose, lactose and galactose. Strains of YM3, YM39 and YM62 could suffer from a higher concentration of glucose stress. Most of strains could withstand 6 percentage of ethanol treatment. However, the strain of YM68 was able to survival in 9 percentage of ethanol environment. Strains of YM3, YM15, YM18, YM62 and YM68 had good tolerance to a vast range of sulfur dioxide treatment. Most of strains could grow well in a high concentration of citric acid. The strain of YM18 possessed the maximum of extracellular and intracellular β -glycosidase. The YM21 and YM13 strains did not produce sulfuretted hydrogen, in contrast, sulfuretted hydrogen produced by YM2, YM18 and YM50 were strong.

Key words: *Shine Muscat*; yeasts; culture-dependent approach; diversity; oenological property

基金项目:贵州省科技计划项目(黔科合平台人才[2017]5789、黔科合平台人才[2018]5603);贵州理工学院高层次人才科研启动项目(XJGC20190625)

作者简介:刘晓柱(1984—),男(汉),副教授,博士,研究方向:酿酒微生物资源的挖掘与应用。

*通信作者

引文格式:

刘晓柱,张远林,曾爽,等.阳光玫瑰葡萄酵母菌多样性及酿造学特性分析[J].食品研究与开发,2020,41(24):212-218
LIU Xiaozhu, ZHANG Yuanlin, ZENG Shuang, et al. Analysis of the Yeasts Biodiversity and Theirs Oenological Property from Shine Muscat[J]. Food Research and Development, 2020, 41(24):212-218

葡萄酒的发酵是一个复杂的多菌种参与的过程,酵母菌在其中发挥着至关重要的作用^[1]。根据酵母菌株酒精产能差异,将酵母菌分为酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)和非酿酒酵母(*non-Saccharomyces yeast*)两大类^[2]。酿酒酵母酒精代谢能力强,发酵过程中产生大量的乙醇^[3]。非酿酒酵母主要在发酵前期发挥作用,其产生的甘油、酸类、酯类、醛类、高级醇等次级代谢物,决定着葡萄酒的复杂度和丰富性,最终影响葡萄酒的品质,使得葡萄酒具有独特的典型性^[4]。因而,采用不同酵母菌株酿造的葡萄酒品质具有差异性。然而,酵母菌的分布具有地域时空性,分析特定品种、特定地域的酵母菌株多样性,对进一步开发利用酵母菌资源具有重要的意义^[5]。

阳光玫瑰(*Shine Muscat*),鲜食葡萄的一种,为“安芸津 21 号”与“白南”两个品种的杂交后代,属于欧美杂交品种,被称为葡萄界的“爱马仕”^[6]。该品种果肉脆硬,糖度高达 18%以上,玫瑰香味浓郁,无核,营养丰富以及独特的风味特点,深受广大消费者的喜爱^[7]。此外,该品种还具有抗病性较强,果实不易裂,耐贮运等优点^[8]。目前在我国西北地区^[9]、华北地区^[10]、中部地区^[11]以及南部地区^[12]均有广泛种植。

目前国内外,对葡萄酵母菌的研究主要集中在酿酒葡萄品种,对于鲜食葡萄酵母菌资源的研究和开发程度还比较低,更未见有对阳光玫瑰葡萄中酵母菌多样性以及酿酒特性的研究报道。因此,本研究采用传统的分离方法,并结合分子生物学技术,对阳光玫瑰葡萄酵母菌资源多样性进行分析。并从糖发酵性能、生长特性、糖耐受性、酒精耐受性、二氧化硫耐受性以及酸耐受性等方面分析酵母菌的酿酒特性,对生产优质葡萄酒提供潜在优质酵母菌株。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

1.1.1 材料

阳光玫瑰葡萄:2018 年 9 月采自贵州省开阳县禾丰霖葡萄庄园。采集大小均一,无病害的葡萄样品,带至实验室,进行酵母菌的分离。

1.1.2 试剂

赖氨酸固体培养基、酵母提取物蛋白胨葡萄糖培养基(yeast extract peptone dextrose medium, YEPD)、WL 培养基(wallerstein laboratory nutrient agar, WL)、亚硫酸铋、葡萄糖、蛋白胨、酵母粉、琼脂粉:贵州博奥瑞杰生物科技有限公司;对硝基苯基- β -D 吡喃葡萄糖苷(p-nitrophenyl- β -D glucopyranoside, p-NPG):中国上海源叶生物公司;ZYMAFLORE X16(简称 X16)酿酒酵母:法国 LAFFORT 公司;其余试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器设备

紫外分光光度计(UH5300):日本日立公司;pH 仪(雷磁 PHSJ-3F):上海仪电科学仪器股份有限公司;倒置显微镜(CKX41):日本 OLYMPUS 公司;体视显微镜(SZM):中国宁波舜禹仪器有限公司;PCR 仪(Bio-rad T100TM):美国伯乐公司。

1.3 方法

1.3.1 菌株分离

参考徐建坤等^[13]、刘小珍等^[14]方法进行阳光玫瑰葡萄酵母菌的分离。取 2 g 阳光玫瑰葡萄皮,装于含 100 mL 已灭菌的 YEPD 液体培养基中,28 $^{\circ}$ C,160 r/min 摇床培养,富集培养 48 h 后取培养液,按照梯度稀释法,进行梯度稀释,稀释液取 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} 3 个梯度,涂布在 YPD 固体培养基上,28 $^{\circ}$ C,培养 48 h。然后挑取每个平板上的单克隆,多次划线于 YPD 固体培养基上,直至获得纯的单克隆为止。

1.3.2 菌株鉴定

挑取 YPD 培养基上分离的单克隆,继续划线于赖氨酸培养基上,28 $^{\circ}$ C,培养 72 h,根据赖氨酸培养基上菌落长势特点,进行初步分类。

挑取 YPD 培养基上分离的单克隆,继续划线于 WL 固体培养基上,28 $^{\circ}$ C,培养 72 h,根据 WL 培养基上菌落的颜色、形态、光泽等表型,进一步进行分类采用体式显微镜进行菌落特征的拍照。

对 WL 培养基上分类的菌株,挑选出代表菌株,进行结晶紫染色,于光学显微镜下,观察细胞形态,并拍照。

挑取 WL 培养基上代表菌株,YPD 培养基培养 24 h,参考 Holm C 等方法^[15]提取酵母菌 DNA,并进行 26S rDNA D1/D2 区域的聚合酶链式反应(polymerase chain reaction,PCR)扩增。PCR 反应体系为:25 μ L Taq PCR Master Mix (2 \times),2 μ L 的 NL1 引物(10 μ mol),2 μ L 的 NL4 引物(10 μ mol),DNA 100 ng,反应总体积 50 μ L。PCR 结束后,取 PCR 反应液 5 μ L,1%琼脂糖凝胶电泳进行扩增产物的检测。PCR 产物送至生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序,测序结果在 NCBI 上进行 BLAST 同源序列搜索比对。

1.3.3 菌株酿造学特性分析

1.3.3.1 生长曲线测定

将鉴定出的各类酵母代表性菌株以 10^8 cfu/mL 接种至 YPD 液体培养基中,28 $^{\circ}$ C、180 r/min 恒温培养,每间隔 4 h 取样一次,平行重复 3 次,在 600 nm 波长处分别测定菌液 OD 值。取样时间 40 h,共计取样 10 次。根据每个时间点及测定的 OD_{600nm} 值绘制菌株生长曲线。

1.3.3.2 糖发酵试验

将各供试菌株分别以 10^8 cfu/mL 接种于含终浓度为 2%葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖、半乳糖的 0.6%的酵母浸粉溶液中,酵母浸粉溶液置于含杜氏小管的试管中,28 $^{\circ}$ C 恒温培养 48 h,观察此间杜氏小管顶部是否有气泡。若有气泡产生,记为“+”(阳性反应),反之,则记为“-”(阴性反应)。

1.3.3.3 生理耐受性测定

葡萄糖耐受性:将各供试菌株以 10^8 cfu/mL 接种于含葡萄糖质量浓度分别为 100、150、200、250、300 g/L 的 YPD 液体培养基中,平行重复 3 次,28 $^{\circ}$ C、180 r/min 培养 34 h。培养结束后,在 600 nm 波长处分别测定菌液 OD 值。

酒精耐受性:将各供试菌株以 10^8 cfu/mL 接种于含酒精体积分数分别为 3%、6%、9%、12%、15%的 YPD 液体培养基中,平行重复 3 次,28 $^{\circ}$ C、180 r/min 培养 34 h。培养结束后,在 600 nm 波长处分别测定菌液 OD 值。

SO₂ 耐受性:将各供试菌株以 10^8 cfu/mL 接种于含 SO₂ 质量浓度分别为 50、100、150、200、300 mg/L 的 YPD 液体培养基中,平行重复 3 次,28 $^{\circ}$ C、180 r/min 培养 34 h。培养结束后,在 600 nm 波长处分别测定菌液 OD 值。

酸耐性:将各供试菌株以 10^8 cfu/mL 接种于含柠檬酸酸度分别为 1.5%、2.0%、2.5%、3.0%的 YPD 液体培养基中,平行重复 3 次,28 $^{\circ}$ C、180 r/min 培养 34 h。培养结束后,在 600 nm 波长处分别测定菌液 OD 值。

1.3.3.4 β -葡萄糖苷酶测定

采用对硝基苯基- β -D 吡喃葡萄糖苷(p-NPG)法分各供试菌株产 β -葡萄糖苷酶能力^[16]。将各供试菌株

以 10^6 cfu/mL 接种于 YPD 培养基中,28 $^{\circ}$ C、200 r/min 培养 72 h,取发酵液于离心管中,4 $^{\circ}$ C、8 000 r/min,离心 10 min,上清液作为粗酶液。取 100 μ L 粗酶液与 200 μ L 35 mmol/L p-NPG 混匀,40 $^{\circ}$ C 保温 30 min,加入 2 mL 1 mol/L Na₂CO₃ 终止反应,平行重复 3 次,400 nm 波长处测定 OD。酶活力单位(U)定义为:50 $^{\circ}$ C、pH 5.0 条件下,1 min 水解 p-NPG 产生 1 μ mol 对硝基苯酚所需酶量。

1.3.3.5 硫化氢测定

取 10 μ L 浓度为 10^8 cfu/mL 的各供试菌株的菌液滴加至亚硫酸铈培养基表面上的无菌滤纸片上,液体完全吸收后,28 $^{\circ}$ C 倒置培养 5 d,观察滤纸片变色情况。菌株产硫化氢能力由高到低,显色情况分别为显棕黑色、棕色、墨绿色、淡墨绿色及不显色。

1.4 数据分析

采用 Excel 2007 对数据进行整理和作图,数据结果以平均值 \pm 标准差表示。Adobe Photoshop CS 辅助作图。

2 结果与分析

2.1 酵母菌株的分离与鉴定

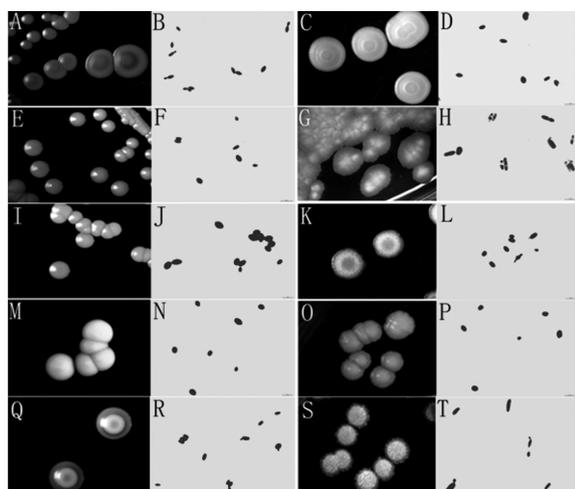
从 YPD 液体培养基富集培养液中,共分离到 72 株微生物菌株,编号为 YM1~YM72,结合其在 YPD 培养基上的形态特征,初步鉴定 46 株为酵母菌。

46 株酵母菌株划线于赖氨酸培养基上,结果发现基本上不生长。继续将这 46 株酵母菌株划线于 WL 培

表 1 酵母菌在 WL 培养基上菌落形态
Table 1 Morphology of yeasts on WL medium

类别	菌落颜色	菌落形态	显微细胞形态	代表性菌株
一	深绿色	扁平,表面光滑,不透明	柠檬状	YM21
二	白色	扁平,表面光滑,不透明,中间有褶皱纹	椭圆形	YM2
三	灰白色	凸起,表面光滑,不透明,有光泽	椭圆形	YM3
四	淡绿色,中间白色	扁平、表面不光滑,不透明,中间微凸起	椭圆形或腊肠状	YM13
五	米白色	凸起,表面光滑,不透明,有光泽	椭圆形	YM15
六	灰白色	扁平、表面不光滑,中间火山状褶起	椭圆形	YM18
七	奶油色、中间淡绿色	隆起,表面光滑,不透明,中间为乳状凸起	球状或椭球状	YM39
八	米白色	边缘扁平,不整齐,不透明,有光泽	椭球状	YM50
九	边缘深绿色、中间淡绿色,其余白色	扁平,中间凸起,不透明,有光泽	椭球状	YM62
十	白色	边缘丝状,中间褶状凸起	腊肠状	YM68

培养基上,其形态特征见表 1 和图 1。



A、C、E、G、I、K、M、O、Q、S 分别为第一类至第十类酵母菌落形态;B、D、F、H、J、L、N、P、R 和 T 分别为第一类至第十类酵母细胞形态(100×)。

图 1 各类型代表菌株在 WL 培养基上的菌落特征和显微细胞特征
Fig.1 Colony characteristics and microscopic cell characteristics of the representative strains from different types on WL medium

所有菌落形态几乎为圆形或者椭圆形,菌落颜色多为白色,淡黄色或者绿色(图 1)。选取每一类别中典型菌株 1 例,结晶紫染色,显微镜下观察细胞形态特点,发现大部分细胞为柠檬状、椭圆形或者圆形。

采用分子生物学方法继续对 46 株酵母菌进行鉴定,结果表明第一类菌株属于葡萄汁有孢汉逊酵母(*Hanseniaspora uvarum*);第二类酵母属于盔形毕赤酵母(*Pichia manshurica*);第三类属于季也蒙毕赤酵母(*Meyerozyma guilliermondii*);第四类属于加利福尼亚假丝酵母(*Candida californica*);第五类属于茶叶籽酵母(*Meyerozyma caribbica*);第六类属于异常汉姆酵母(*Wickerhamomyces anomalus*);第七类属于拜耳结合酵母(*Zygosaccharomyces bailii*);第八类属于尖端假丝酵母(*Candida apicola*);第九类属于 *Starmerella bacillaris*;第十类属于西文毕赤酵母(*Pichia occidentalis*)。

2.2 酵母菌株生长曲线

法测定各菌株的生长曲线。菌株的生长曲线如图 2 所示。

由图 2 可知,与商业化酿酒酵母 X16 相比,YM2、YM21、YM15 在整个检测生长周期内,生长速度和菌体浓度均低于 X16。YM68 在整个生长周期内,菌体变化趋势与 X16 较为一致。YM3、YM13、YM18 和 YM50 在对数生长期前,其菌体浓度均低于 X16。酿酒酵母 X16 培养 12 h 即可达到对数生长期,YM21 在 12 h 也可达到对数生长期,但菌体整体浓度要低于 X16。

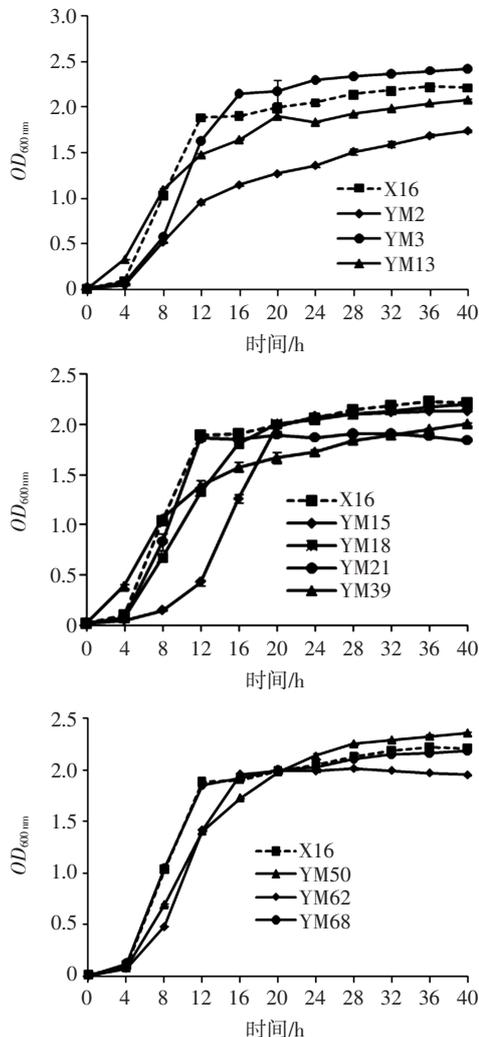


图 2 10 株酵母菌生长曲线

Fig.2 The growth curve of sugar of 10 yeasts

YM3、YM18、YM62 培养 16 h 方可达到对数生长期。

2.3 酵母菌株糖代谢能力

10 株酵母菌糖发酵试验见表 2。

表 2 10 株酵母菌糖发酵试验

Table 2 Results of sugar fermentation tests of 10 yeasts

菌株	葡萄糖	蔗糖	麦芽糖	乳糖	半乳糖
YM21	+	+	+	+	+
YM2	+	+	+	+	-
YM3	+	+	+	+	+
YM13	+	+	+	+	+
YM15	+	+	+	+	+
YM18	+	+	+	+	+
YM39	+	+	+	+	+
YM50	+	+	+	+	+
YM62	+	+	+	+	+
YM68	+	+	+	+	+

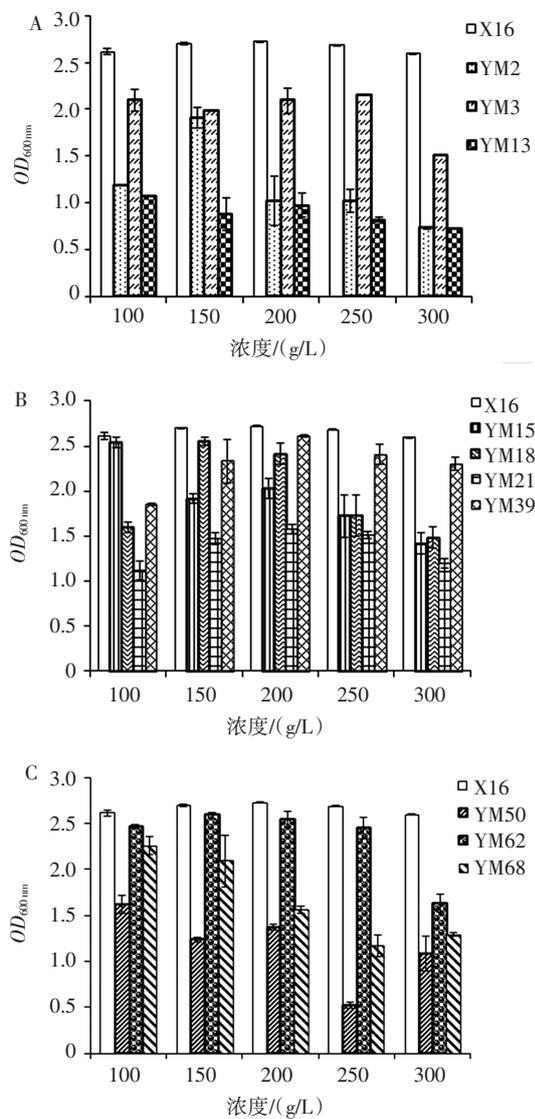
注:+为有气泡产生(阳性反应);-为无气泡产生(阴性反应)。

由表 2 结果可知,除了 YM2 不能利用半乳糖发酵

外,其它所有酵母菌株均可以利用葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖和半乳糖进行发酵。

2.4 酵母菌株生理耐受性

10 株酵母菌糖耐受性结果见图 3。



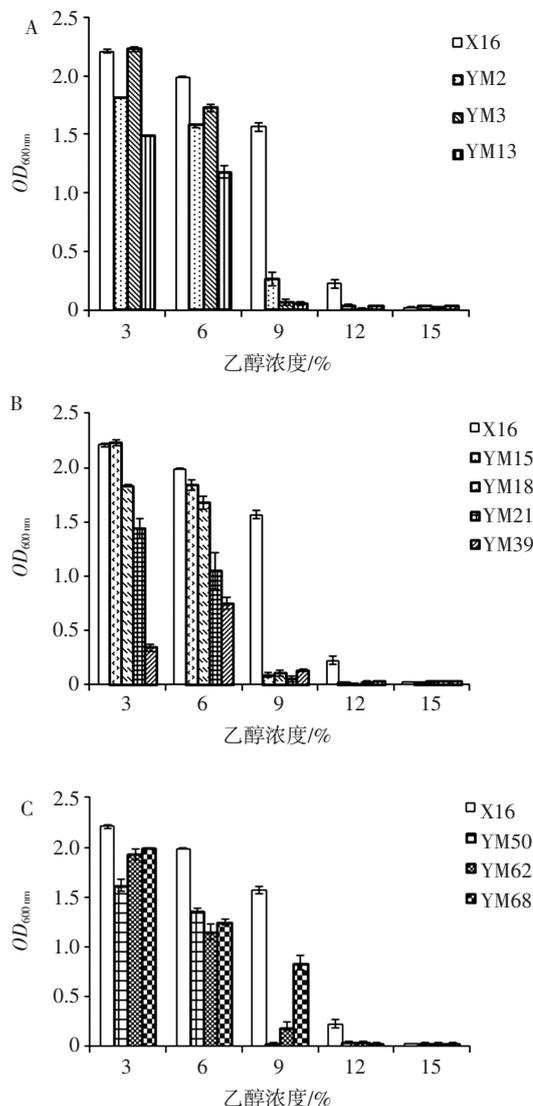
A. 菌株 YM2、YM3、YM13; B. 菌株 YM15、YM18、YM21、YM39;
C. 菌株 YM50、YM62、YM68。

图 3 10 株酵母菌糖耐受性结果

Fig.3 Results of sugar tolerance tests of 10 yeasts

所有酵母菌株糖耐受性均低于酿酒酵母 X16,特别是菌株 YM13、YM21 和 YM50 糖耐受性较差。菌株 YM62 在 250 g/L 葡萄糖浓度范围内,菌株生长情况与 X16 较为一致。菌株 YM13、YM15、YM68 菌体浓度随着葡萄糖浓度的增加,呈降低趋势;相反,菌株 YM2、YM18、YM21、YM39、YM62 菌体浓度随着葡萄糖浓度的增加,出现先增加,后降低的趋势。

10 株酵母菌乙醇耐受性结果见图 4,10 株酵母菌二氧化硫耐受性结果见图 5。



A. 菌株 YM2、YM3、YM13; B. 菌株 YM15、YM18、YM21、YM39;
C. 菌株 YM50、YM62、YM68。

图 4 10 株酵母菌乙醇耐受性结果

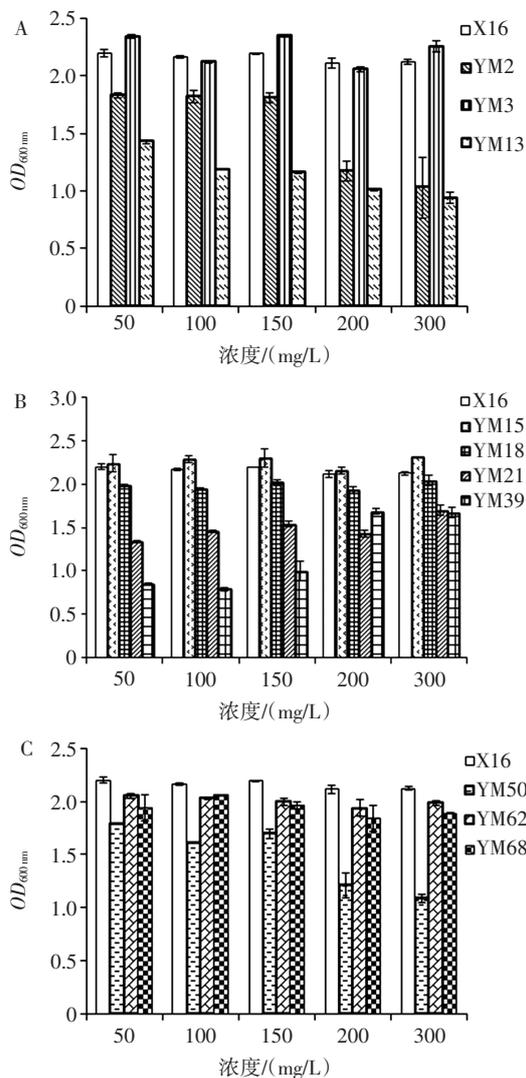
Fig.4 Results of ethanol tolerance tests of 10 yeasts

由图 4 可知,与酿酒酵母 X16 相比,绝大部分菌株乙醇耐受性较差,乙醇耐受性低于 9%。菌株 YM39 在 3% 的乙醇浓度处理下,菌株生长较差,YM68 可耐受 9% 的乙醇浓度。

由图 5 可知,菌株 YM3、YM15、YM18、YM62、YM68 对二氧化硫具有较好的耐受性,可耐受 300 mg/L 的二氧化硫。菌株 YM13、YM39、YM50 对二氧化硫耐受性相对较差。菌株 YM39 菌体浓度随着二氧化硫浓度增加,呈现出增大的趋势。

10 株酵母菌酸耐受性结果见图 6。

绝大部分菌株对酸具有较好的耐受性,可耐受 35 mg/L 的柠檬酸处理,但菌株 YM21 酸耐受性较差。菌株 YM39 可耐受 25 mg/L 的柠檬酸处理。



A. 菌株 YM2、YM3、YM13; B. 菌株 YM15、YM18、YM21、YM39; C. 菌株 YM50、YM62、YM68。

图5 10株酵母菌二氧化硫耐受性结果

Fig.5 Results of sulfur dioxide tolerance tests of 10 yeasts

2.5 β-糖苷酶产生能力

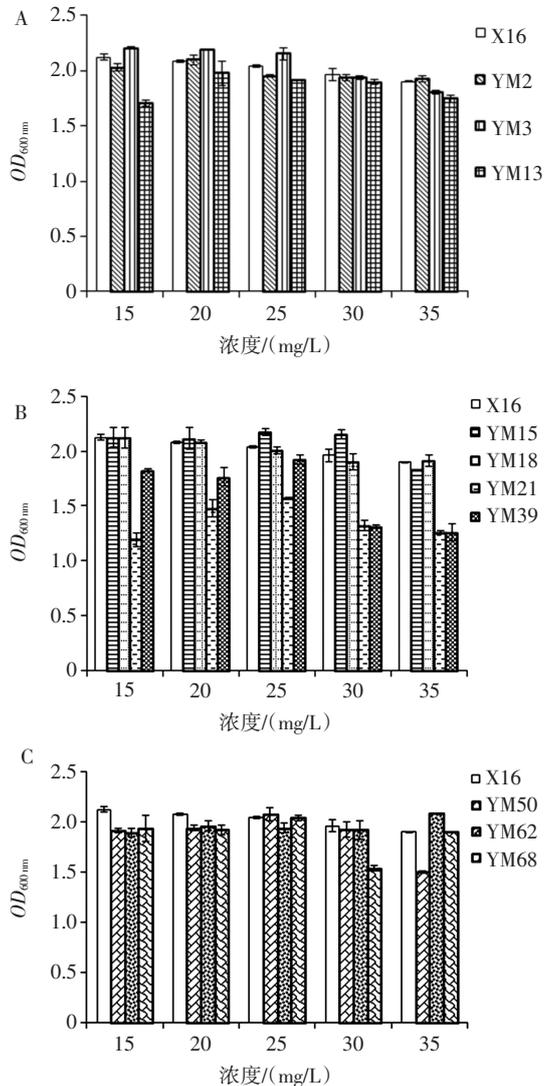
采用p-NPG显色法分析10株酵母菌β-糖苷酶产生能力,标准曲线方程式为 $y = 21.76x + 0.015$, $R^2 = 0.999$,吸光值与对硝基苯酚浓度之间为线性关系。菌株产β-糖苷酶结果见表3。

菌株YM21、YM15主要为胞外产酶,胞内酶活和细胞壁酶活较低;菌株YM2、YM13胞内和胞外酶活都较高;菌株YM18细胞3个部位的产酶均较高;菌株YM68细胞壁的酶活最高。

2.6 硫化氢产生能力

分析10株酵母菌β-糖苷酶产生能力,结果见图7。

菌株YM21、YM13滤纸片不显色,不产硫化氢;菌株YM2、YM18、YM50滤纸片显棕黑色,产硫化氢能力较强;菌株YM3、YM15、YM62、YM68滤纸片显棕色,且



A. 菌株 YM2、YM3、YM13; B. 菌株 YM15、YM18、YM21、YM39; C. 菌株 YM50、YM62、YM68。

图6 10株酵母菌酸耐受性结果

Fig.6 Results of acid tolerance tests of 10 yeasts

表3 10株酵母菌β-葡萄糖苷酶产生能力

Table 3 Determination of β-glucosidase production of 10 yeasts

菌株	mU/mL		
	胞外酶活	胞内酶活	细胞壁酶活
X16	25.41±0.36	9.15±0.33	12.14±0.49
YM21	16.52±0.51	2.57±0.39	0.68±0.39
YM2	24.16±0.52	45.51±0.50	5.13±0.47
YM3	20.05±1.21	16.77±0.47	13.86±0.60
YM13	20.62±0.76	17.03±0.40	2.48±0.06
YM15	16.86±0.71	3.67±0.17	4.71±0.35
YM18	45.58±0.39	76.32±1.04	78.45±0.35
YM39	16.07±0.20	2.82±0.30	1.63±0.06
YM50	18.23±0.49	9.58±0.73	1.54±0.05
YM62	13.10±0.39	10.69±0.44	7.61±0.50
YM68	16.64±0.83	3.17±0.35	36.87±0.91

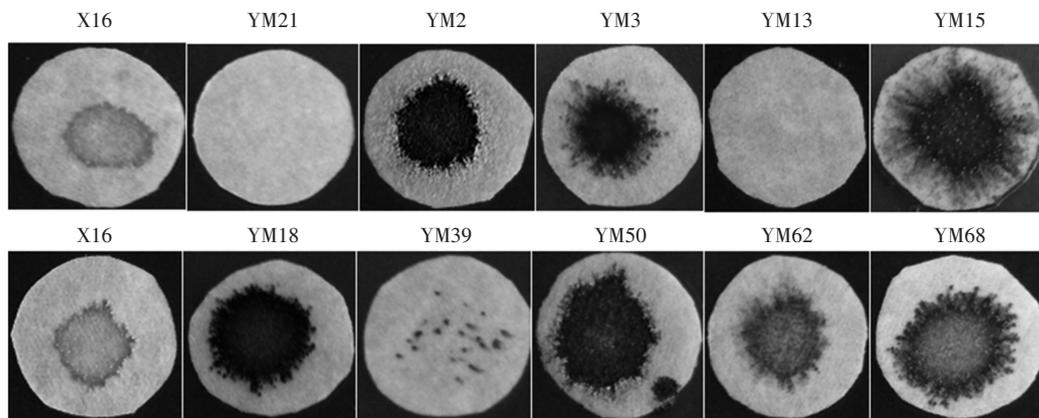


图7 10株酵母菌硫化氢产生能力鉴定结果

Fig.7 Analysis of hydrogen sulfide production ability of 10 yeasts

颜色比对照组 X16 深,因此产硫化氢能力超过 X16。

3 结论

阳光玫瑰为日本农业食品产业技术综合研究机构培育的一种欧美杂交种,其果皮黄绿色,具有浓郁的玫瑰香气,含糖量也较高。自 2006 年前后由日本引入中国,并迅速在中国传播开来。目前,几乎涵盖了中国全部省域。作为鲜食葡萄的一种,目前对其研究主要集中在栽培方面,其它方面的研究还几乎一片空白。本研究,以西南地域的贵州省栽培阳光玫瑰为研究对象,分离并鉴定了其酵母菌群的结构特征,进而分析了菌群的酿酒特性。结果表明,从阳光玫瑰上酵母菌种类较多,共分离鉴定到 10 大类,包含汉逊酵母属(*Hanseniaspora sp.*)、毕赤酵母属(*Pichia sp.*)、假丝酵母属(*Candida sp.*)以及威克酵母属(*Wickerhamomyces sp.*)等。

菌群酿造学特性分析结果表明,阳光玫瑰品种上存在着一些具有较好酿造特性的菌种,如产硫化氢较低的 YM21、YM13,β-糖苷酶较高的 YM18 菌株以及生理耐受性较好的 YM68 菌株等。但还需从不同水平进行发酵试验,以进一步评价其生产性能。本研究首次系统分析了阳光玫瑰酵母种群多样性,并进一步分析了其酿造特性,为进一步开发利用阳光玫瑰野生酵母菌资源提供理论参考。

参考文献:

[1] SARANRAJ P, SIVASAKTHIVELAN P, NAVEEN M. Fermentation of fruit wine and its quality analysis: A review [J]. Aust J Sci Technol, 2017, 1(2): 85-97

[2] Alonso-Del-real J, Lairón-Peris M, Barrio E, et al. Effect of temperature on the prevalence of saccharomyces non cerevisiae species against a S. cerevisiae wine strain in wine fermentation: competition, physiological fitness, and influence in final wine composition [J].

Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 150

[3] Wang C X, Mas A, Esteve-Zarzoso B. The interaction between saccharomyces cerevisiae and non-saccharomyces yeast during alcoholic fermentation is species and strain specific[J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 502

[4] Pérez-Torrado R, Barrio E, Querol A. Alternative yeasts for wine-making: Saccharomyces non-cerevisiae and its hybrids[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2018, 58(11): 1780-1790

[5] De Vuyst L, Harth H, Van Kerrebroeck S, et al. Yeast diversity of sourdoughs and associated metabolic properties and functionalities [J]. International Journal of Food Microbiology, 2016, 239: 26-34

[6] YAMADA M, YAMANE H, SATO A, et al. New grape cultivar 'Shine Muscat'[J]. Bulletin of the National Institute of Fruit Tree Science, 2008 (7): 21-38

[7] 芮东明, 刘吉祥, 肖婷, 等. 阳光玫瑰葡萄标准化栽培技术[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(19): 110-113

[8] 司春爱, 张永涛, 宋艳, 等. 阳光玫瑰葡萄栽培要点与生产实践[J]. 西北园艺(果树), 2019(5): 23-26

[9] 单良. 陕西省榆林靖边阳光玫瑰葡萄温室栽培技术与应用[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2016

[10] 李秀杰, 许祥涛, 韩真, 等. 阳光玫瑰葡萄在山东泰安的表现及栽培技术[J]. 落叶果树, 2014, 46(5): 23-25

[11] 尚泓泉, 王琰, 王鹏, 等. 河南省阳光玫瑰葡萄优质高效栽培关键技术[J]. 中国种业, 2019(6): 79-81

[12] 秦欢. 川渝地区'阳光玫瑰'果实主要香气成分分析及部分品质与气候因子相关性研究[D]. 重庆: 西南大学, 2019

[13] 徐建坤, 张旺, 肖婧, 等. 红提葡萄中酵母菌多样性的研究[J]. 中国酿造, 2019, 38(3): 40-45

[14] 刘小珍, 张汉尧. 昆明葡萄酒相关酵母菌的分离与鉴定[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2014, 42(5): 135-140

[15] Holm C, Meeks-Wagner D W, Fangman W L, et al. A rapid, efficient method for isolating DNA from yeast[J]. Gene, 1986, 42(2): 169-173

[16] 王凤梅, 张邦建, 岳泰新. 葡萄酒相关酵母 β-葡萄糖苷酶活性及影响因素研究[J]. 中国酿造, 2018, 37(7): 83-87