

不同温度对葡萄采后灰霉病菌的影响

集 贤, 张 平, 朱 志 强, 任 朝 晖

(国家农产品保鲜工程技术研究中心(天津), 天津农产品采后生理与贮藏保鲜重点实验室, 天津 300384)

摘 要:以葡萄采后灰霉病菌为试材,采用菌丝生长速率法、悬滴法以及活体接种方法,研究了不同温度对葡萄灰霉病菌的菌丝生长率和孢子萌发率的影响,并对不同温度下不同方式接种灰霉病菌的发病情况进行调查。结果表明:葡萄采后灰霉病菌菌丝的生长受温度条件影响较大,菌丝生长量和孢子萌发率与温度、时间呈正相关。 $(25\pm 1)^{\circ}\text{C}$ 适宜菌丝的生长,孢子萌发率随时间增加而增加,4 h后孢子萌发率迅速增高; $(10\pm 1)^{\circ}\text{C}$ 菌丝生长较慢,孢子萌发率缓慢增长,6 h萌发率仅为9.05%; $(0\pm 1)^{\circ}\text{C}$ 菌丝生长极慢,孢子萌发率也最低,6 h孢子萌发率仅为3.48%。菌丝生长率和2 h以后的孢子萌发率在各温度条件下的均为差异极显著($P<0.01$)。在有伤、无伤、不接种3种接种方式条件下,有伤接种方式下灰霉病菌极易($P<0.01$)造成对葡萄的损害,病情发展快,并随温度升高病斑直径也随之增大;无伤和不接种较有伤接种病情发展较慢,它们的发病率遵循相同规律,无伤接种较不接种的发病率高,二者间差异极显著($P<0.01$)。

关键词:葡萄;温度;灰霉病菌;孢子萌发率;菌丝生长率

中图分类号:S 663.109⁺.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)19-0114-04

葡萄作为一种世界性的水果,其栽培面积和产量均居于世界前列。我国葡萄种植面积为6万 hm^2 ,总产量为1 024万t(2012年),均位居世界第一。但在贮藏过程中,葡萄易受病菌浸染而腐烂变质,从而失去商品价值;在全世界范围内,每年约有27%的葡萄因采后腐烂而损失,在所有贮藏时发生的病害中,以灰霉菌侵染葡萄导致腐败变质最为严重^[1]。灰霉菌是引起葡萄果实采后腐烂和落粒的重要病害之一^[2],在采后具有潜伏侵染和低温致病优势性^[3]。因此,研究葡萄采后灰霉菌对于整个葡萄采后产业具有重大意义。

环境因子对生物的生长影响较大^[4-5],特别是温度,对病原菌菌丝的生长及孢子萌发等均有较明显的影响。葡萄因果皮薄,含水量大,组织娇嫩,在收获和贮运过程中极易发生腐烂、脱粒、干梗、褐变等问题^[6]。贮藏温度是影响果蔬采后品质的重要因素,影响葡萄采后果实品质已有较多报道,而关于贮藏温度

对采后葡萄灰霉病菌的研究甚少,因此,该试验在实验室条件下,研究了冷库、货架和室温条件下温度对葡萄采后灰霉病菌的影响,以期对葡萄采后灰霉病菌的发生规律提供理论依据,为其防治和进一步研究提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试葡萄品种为“巨峰”,于2013年9月25日采自河北石家庄晋州市葡萄园;供试菌来自贮藏期内发病葡萄果实,参照方中达^[7]的方法进行室内分离、纯化,培养后反接到葡萄上,待发病后再分离、纯化培养,经形态结构鉴定和显微观察证实为灰霉病菌(*Botrytis cinerea*)^[8]。

试验仪器:电子天平BP210S(德国Sartorius);显微镜BX51(日本Olympus公司);超净工作台SW-CJ-1FD(苏州苏洁净化设备公司);智能型生化培养箱SPX-250B(上海琅玕实验室设备有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 不同温度对采后葡萄灰霉病菌菌丝生长的影响

试验在无菌条件下参照菌丝生长速率法^[9],将活化好的直径为5 mm的葡萄灰霉病菌菌饼接种到PDA培养基上,分别置于 $(0\pm 1)^{\circ}\text{C}$ 、 $(10\pm 1)^{\circ}\text{C}$ 、 $(25\pm 1)^{\circ}\text{C}$ 的智能型生化培养箱(SPX-250B)中培养,每处理重复3次,每天测量1次,连续测量7 d。

第一作者简介:集贤(1983-),女,硕士,助理研究员,研究方向为农产品贮藏与加工。E-mail:jisandy001@126.com

责任作者:张平(1958-),男,博士,研究员,现主要从事果蔬采后生理与物流保鲜等研究工作。

基金项目:国家葡萄产业技术体系建设资助项目(CARS-30);陕西省科技统筹创新工程计划课题资助项目(2013KTDZ02-01-05);天津市农业科学院院长基金资助项目(15006)。

收稿日期:2015-05-19

1.2.2 不同温度对采后葡萄灰霉病菌孢子萌发的影响

采用悬滴法^[10]测定,配制病菌孢子悬浮液,分别在 (0 ± 1) 、 (10 ± 1) 、 (25 ± 1) ℃条件下进行培养,每个处理重复3次,1 h 镜检1次,记录孢子萌发率,以孢子芽管的长度超过孢子直径长度的一半作为已经萌发的孢子。各重复在显微镜下检测100个以上的孢子囊。孢子萌发率(%)=孢子萌发数/调查孢子总数 $\times 100$ 。

1.2.3 不同温度下不同方式接种葡萄采后灰霉病菌对葡萄果实致病性的影响

有伤接种:葡萄采后灰霉病菌菌株在PDA培养基 25°C 活化培养5 d备用。选择大小整齐、无损伤的带柄葡萄果粒,将其从果穗上沿果柄处剪下,表面用70%酒精擦拭晾干,无菌条件下,用已灭菌的直径为5 mm钢钉刺破果皮,灭菌纱布吸干溢出果汁,将直径为5 mm的菌饼接种到伤口内,分别装入 (0 ± 1) 、 (10 ± 1) 、 (25 ± 1) ℃保鲜盒中在培养箱中培养7 d,每天测量果粒表面的病斑直径(mm)。每盒接种处理20个果粒,重复3次,第2天开始,每天观察发病情况,连续测定7次。无伤接种:选择大小整齐、无损伤的带柄葡萄果粒,将葡萄果实放在孢子悬浮液中浸果1 min,取出自然晾干后装入保鲜盒中,在不同温度下 $((0\pm 1)$ 、 (10 ± 1) 、 (25 ± 1) ℃)贮藏,空白对照采用无菌水浸果。调查其发病情况。发病率(%)=发病葡萄的个数/调查葡萄的总个数 $\times 100$ 。

1.3 数据分析

试验数据均采用Excel 2003转化为折线图,采用SPSS 17.0统计软件进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 不同温度对采后葡萄灰霉病菌菌丝生长的影响

从图1可知,菌丝生长量与时间呈正相关,菌落直径随时间延长而逐步增长,并且温度越高菌落直径增加越快。 (25 ± 1) ℃下菌丝生长最快并且在第2天开始菌丝迅速增长; (10 ± 1) ℃时菌丝直径逐渐增加;在 (0 ± 1) ℃时菌丝生长极缓慢,不利于病原菌的发生。 (25 ± 1) ℃的病原菌到第5、6天时增长缓慢,这可能是由于平皿大小有限,因而阻碍菌丝生长。在观察的6 d中,

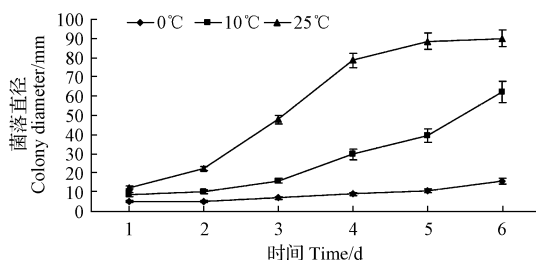


图1 不同温度对采后葡萄灰霉病菌菌丝生长的影响

Fig. 1 Effect of *Botrytis cinerea* growth of postharvest grape in different temperature

只有 (25 ± 1) ℃第2天菌丝直径与 (0 ± 1) 、 (10 ± 1) ℃的菌丝直径极显著差异($P<0.01$), (0 ± 1) ℃与 (10 ± 1) ℃的菌落直径差异不显著($P>0.05$, $P>0.01$),其余各延长日中,3种温度菌落直径均差异极显著($P<0.01$)。

2.2 不同温度对采后葡萄灰霉病菌孢子萌发的影响

由图2可知,在3种温度条件下除1 h时 (0 ± 1) ℃与 (10 ± 1) ℃间的孢子萌发率差异不显著外,其余各延长时,3种温度处理的孢子萌发率均差异极显著。 (25 ± 1) ℃孢子萌发率最高, 10°C 孢子萌发率次之, (0 ± 1) ℃孢子萌发率最低。6 h时 (25 ± 1) ℃的孢子萌发率分别比 (10 ± 1) ℃和 (0 ± 1) ℃高87.83%、95.32%。

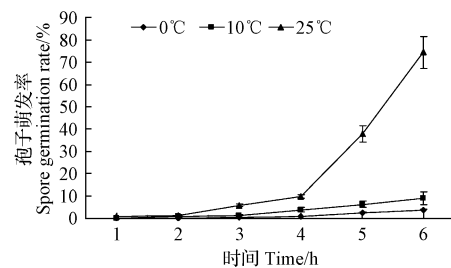
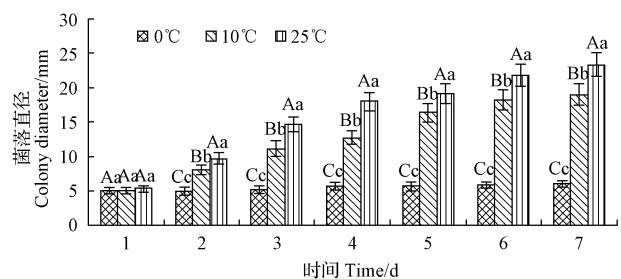


图2 不同温度对采后葡萄灰霉病菌孢子萌发的影响

Fig. 2 Effect of germination of *Botrytis cinerea* in different temperature

2.3 不同温度下灰霉病菌对葡萄果实致病性的影响

有伤接种的葡萄果实,随着培养时间的延长,灰霉病菌病斑直径逐渐增大,且温度越高病斑直径增长越快,3种温度处理除第1天无显著差异外($P>0.05$, $P>0.01$),其余各时间点均达极显著差异($P<0.01$), (0 ± 1) ℃的病斑直径增长极为缓慢。



注:显著性分析为相同时间不同温度间的差异显著性分析,小写字母和大写字母分别代表差异达显著($P<0.05$)、极显著($P<0.01$)水平。下同。

Note: Significant analysis show significant difference analysis at the same time at different temperature, lowercase and capital letters represent reached significant difference($P<0.05$), extremely significant($P<0.01$).

图3 不同温度条件下有伤接种果实的病斑直径的影响

Fig. 3 Effect of disease spot diameter with inoculation in different temperature

对于无伤接种培养的葡萄果实,随着温度的升高葡萄灰霉病菌引起的腐烂发病率也增加,各处理间差异达极显著水平($P<0.01$),接种后第7天(0 ± 1)℃无伤和CK的发病率分别比(10 ± 1)℃的无伤和CK的发病率降低了91.23%和91.31%;第7天(0 ± 1)℃无伤和CK的发病率分别比(25 ± 1)℃的无伤和CK的发病率降低了94.26%和92.47%。在各温度条件下无伤接种比不接种的发病率略高,在(0 ± 1)℃时1~5 d时,2种接种方式的发病率均未发病,在(10 ± 1)℃时只有第5天不接种的发病率(50.00%)高于无伤接种的发病率(46.15%),其它各天无伤接种的发病率均比不接种发病率高,并达到差异极显著($P<0.01$)水平;在(25 ± 1)℃时各天无伤接种均比不接种的发病率高,2种接种方式的发病率达到极显著差异($P<0.01$)。

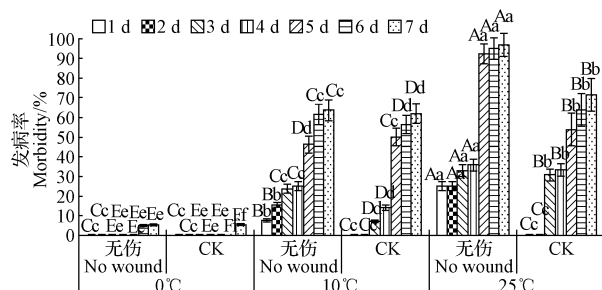


图4 不同温度条件下无伤接种和不接种对葡萄果实发病率的影响

Fig.4 Effect of morbidity by inoculation with and without wound in different temperature

3 结论与讨论

研究不同温度下对葡萄采后灰霉病菌的致病性对于葡萄的贮藏、运输和货架保鲜有很好的指导性意义,能更好地促进葡萄采后保鲜事业的发展。病害的发生受温度影响较大,适宜的温度能造成病害迅速发展,不利于葡萄的贮运。

在(0 ± 1)、(10 ± 1)、(25 ± 1)℃ 3个温度条件下,葡萄采后灰霉病菌的孢子均会萌发,在(25 ± 1)℃ 6 h时孢子萌发最快、孢子萌发率也最高,致病力也最强;温度降为(10 ± 1)℃时,孢子萌发速率和萌发率也随之下降低;在(0 ± 1)℃时最低,这是由于低温超出了其适应生长侵染的温度,环境温度降低,致病力便会降低。孢子萌发率与萌发时间呈正相关。有研究表明灰霉病菌丝生长和孢子的萌发适宜温度均为15~25℃,最适温度为20℃^[11]。温度对孢子萌发的影响十分明显。

有研究表明,灰霉病菌的发育温度为2~31℃,菌核在3~27℃条件下可以萌发,菌丝的最适发育温度为20~24℃^[12],该研究中的葡萄灰霉病菌也证明了在25℃时菌丝生长率和孢子萌发率最高。

通过不同方式接种葡萄采后灰霉病菌,对感病葡萄在不同温度下的病斑直径和发病率的统计可知,在(25 ± 1)℃时有伤接种的病斑直径和无伤接种以及不接种的发病率在3种温度条件下都最高,且病情发展迅速,利于病原菌的传播,而在(0 ± 1)、(10 ± 1)℃时有伤接种的病斑直径和无伤接种以及不接种的发病率都相对较低,在(0 ± 1)℃最不利于采后灰霉病的发展,能更好的抑制病原菌,而葡萄最适贮藏温度普遍认为是0~1℃^[13-15],也和该结果相互印证。

该研究中,不同的接种方式模拟了采摘以及贮运过程中的伤害对葡萄采后灰霉病菌的发生和发展所造成的影响,为采后葡萄产业提供了有力的理论依据。在(10 ± 1)、(25 ± 1)℃时有伤接种病斑直径随着时间的延长而扩大,在(0 ± 1)℃时病斑直径增长极缓慢;无伤接种和不接种条件下发病率随温度升高而升高,在(0 ± 1)℃第6、7天以及(10 ± 1)、(25 ± 1)℃相同天数各温度下不同方式接种间均达差异极显著($P<0.01$)水平,不同温度无伤接种较不接种的发病率高,二者间差异极显著。该试验只对接种后的发病情况进行了研究,对侵染病害后葡萄的相关生理生化指标和抗病性将进一步研究,以完善相关的理论依据。

参考文献

- [1] 于颖,刘坤.葡萄贮藏期病害及保鲜技术研究进展[J].北方果树,2005(3):1-3.
- [2] 许玲,王彦章,丰田秀吉,等.病害真菌对葡萄采后果实脱落的影响[J].园艺学报,2006,33(4):839-841.
- [3] 许玲,张晨瑜,王奕文,等.灰霉菌(*Botrytis cinerea*)采后致病性研究[J].植物病理学报,2006,36(1):74-79.
- [4] 俞思佳,张佐双,雷增普,等.北京地区牡丹和芍药主要病害的综合防治[J].北京林业大学学报,1993,15(2):103-108.
- [5] 吴连举,杨依军,武侠,等.人参疫病菌生物学特性的研究[J].人参研究,1993(1):38-40.
- [6] 任艳芳,方林川,何俊瑜,等.复合涂膜剂对葡萄贮藏品质和生理代谢的影响[J].食品科学,2010,31(8):269-274.
- [7] 方中达.植物研究方法[M].3版.北京:中国农业出版社,1999:124-125.
- [8] 魏景超.真菌鉴定手册[M].上海:上海科学技术出版社,1979:534.
- [9] 慕立义.植物化学保护研究方法[M].北京:中国农业出版社,1994:76.
- [10] 方中达.植物研究方法[M].3版.北京:中国农业出版社,1999:152.
- [11] 李宝聚,陈立芹,孟伟军,等.湿度调控对番茄灰霉病菌侵染的影响[J].植物病理学报,2003,33(2):167-169.
- [12] 张鹏.葡萄灰霉病发生规律及防治技术研究[D].北京:中国农业科学院,2011:4.
- [13] 高凯.葡萄贮藏保鲜关键技术[M].天津:天津科技翻译出版公司,2009.
- [14] 李延云,沈瑾,聂宇燕,等.果蔬贮藏实用技术[M].北京:中国轻工业出版社,2011.
- [15] 朱志强,张平,高凯.葡萄贮藏保鲜库管理关键技术[J].保鲜与加工,2011,11(6):52-54.

Effect of Different Temperatures on Grape Postharvest *Botrytis cinerea*

JI Xian, ZHANG Ping, ZHU Zhiqiang, REN Zhaohui

(National Engineering and Technology Research Center for Preservation of Agriculture Products (Tianjin), Tianjin Key Laboratory of Postharvest Physiology and Storage of Agricultural Products, Tianjin 300384)

Abstract: Taking grape postharvest *Botrytis cinerea* as material, mycelium growth rate method, hanging drop method and *in vivo* inoculation method were used, the effect of different temperatures on the mycelial growth and conidial germination of *Botrytis cinerea* were studied, and incidence of different inoculation methods under different temperatures were also investigated. The results showed that temperature condition had larger influences on the hyphal growth of *Botrytis cinerea*. The amount of mycelial growth and spore germination rate was positively related to temperature and time. $(25 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ was suitable for the growth of mycelia, spore germination rate increased with time. Spore germination rate increased rapidly after 4 h. The mycelial grew slowly on $(10 \pm 1)^{\circ}\text{C}$, spore germination rate grew slowly. The germination rate was only 9.05% after 6 h. Mycelia grew very slowly on $(0 \pm 1)^{\circ}\text{C}$, spore germination rate was the lowest, spore germination rate of 6 h was only 3.48%. The mycelial growth rate and spore germination rate after 2 h in different temperature conditions had extremely significant differences ($P < 0.01$). In the condition of injury, no wound and no inoculation of three inoculation methods, the wound inoculation mode was the easiest way to cause *Botrytis cinerea* and damage grape ($P < 0.01$). The progression of the disease developed quickly, and lesion diameter increased with the increase of temperature. The disease progression of no injuries and no vaccination developed slower than injuries. Their incidence followed the same rules. The incidence of no wound inoculation was higher than that of no inoculation, they had very significantly difference ($P < 0.01$).

Keywords: grape; temperature; *Botrytis cinerea*; germination rate of spores; mycelial growth rate

全国优秀农业期刊·北方优秀期刊·吉林省十佳科技期刊·吉林省一级期刊

国际标准刊号: ISSN 1672-0180
国内统一刊号: CN22-1215/S

吉林蔬菜

中国核心期刊(遴选)数据库收录期刊 中国期刊全文数据库收录期刊 中文科技期刊数据库收录期刊
中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊 万方数据数字化期刊群全文网期刊 “农家书屋”工程入选期刊

邮发代号12-151 每期订价10元

《吉林蔬菜》杂志,原名《蔬菜科技》,是由吉林省委主管、吉林省蔬菜
科学研究院主办的科技期刊。创刊于1974年,公开发刊。

《吉林蔬菜》杂志秉持“关注民生,服务三农”的信念,努力塑造北方地区蔬菜名牌期刊形象。传
种菜之经,播科技之火,引致富之路,做农民之友。不懈追求,开拓创新,不断提升吉林蔬菜杂志的品牌
形象。内容更丰富,设计更精美。更多精彩,敬请期待。

吉林蔬菜杂志是北方蔬菜的代表,凭借北方市场的信息平台、完善的服务体系、灵活的信息化应
用,提升企业经济效益,助力企业开发北方市场,成就巅峰价值!

主要栏目:蔬菜栽培、植物医院、新优品种、保鲜加工、试验报告、工作研究、园林
花卉、食用菌专栏、技术创新、菜业资讯等。是蔬菜种植者、种子经销商、生产管理人员、
农业院校、农业科技推广部门的重要参考读物和宣传媒体。

诚邀加盟杂志广告。选择吉林蔬菜,开发北方市场。

杂志社地址:长春净月经济开发区千朋路555号 邮编:130033

联系人:齐心 13504487898 刘敬红 13844813115

总编邮箱:mingkuan7898@163.com 美编邮箱:jinghong3115@163.com

E-mail: jilshucai@163.com

编辑部电话:0431-86755315(传真)

