

大白菜胡萝卜欧氏杆菌的抑制研究

王向阳, 黄美娟, 施青红

(浙江工商大学 食品与生物工程学院, 浙江 杭州 310035)

摘 要:为了减少采后大白菜腐烂,从腐烂大白菜中分离、鉴定出胡萝卜软腐欧氏杆菌。用桂醛、戊二醛、稳定态二氧化氯、臭氧、酸性电位水对培养基和水溶液中该菌进行抑制试验,筛选出2种处理方法,对该菌进行不同时间处理,并在大白菜叶子上进行控制腐烂试验。结果表明:各处理都能够抑制胡萝卜软腐欧氏杆菌,抑菌效果最好的是臭氧,其次是50%酸性电位水,臭氧处理15 min可以完全抑菌,50%酸性电位水处理30 min也可达到很好的抑菌效果。臭氧比50%酸性电位水能有效抑制大白菜胡萝卜欧氏杆菌的危害。

关键词:大白菜;胡萝卜欧氏杆菌;臭氧;酸性电位水

中图分类号:S 436.341.1⁺3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)20-0153-03

大白菜人称“百菜之王”,具有解毒作用,长期食用非常有利于消化与健康。但是,近年来随着白菜栽培面积的不断扩大和种植年限的不断增加,胡萝卜软腐欧氏杆菌引起的白菜软腐病有加重发展的趋势,严重地影响了白菜的生产^[1-3]。

胡萝卜软腐欧氏杆菌是大白菜包心后期和贮藏期间的主要病害,与霜霉病和病毒病统称为白菜的三大病害,目前软腐病仍然是我国大白菜的主要病害^[4-6]。采后损伤和薄膜包装会造成高湿度,使大白菜更容易腐烂。由于采后大白菜不允许使用农药控制该病害,目前主要采用低温贮藏推迟其腐烂。然而低温成本高,在生产上使用很少。王向阳等^[7]采用酸味剂控制大白菜欧氏杆菌获得比较好的效果,特别是醋酸在体外试验中效果很明显。Mills等^[8]发现铜离子和铝离子对胡萝卜欧氏杆菌有很好的抑制作用。但是因为毒性问题,难以在采后使用。该试验从采后腐烂的大白菜中分离、鉴定致病菌,并在培养基中以及菌液中添加桂醛、戊二醛、稳定态二氧化氯、臭氧、酸性电位水做抑菌试验,以期找到抑菌效果好、在国家允许标准内的采后处理方法,来控制采后大白菜腐烂。

1 材料与方法

1.1 试验材料

大白菜品种为“早熟5号”;胡萝卜软腐欧氏杆菌菌种从大白菜中分离得到。试验试剂为葡萄糖、牛肉

膏、蛋白胨、琼脂、氯化钠、次氯酸钠、桂醛(肉桂醛)、戊二醛、稳定态二氧化氯、酸性电位水及臭氧(实验室制备)。主要试验仪器与设备为SUNTECH-1000酸性电位水生成装置(圣太科电子(珠海)有限公司);FCY-W10臭氧水消毒机(南京纯涯机电技术研究所)。

1.2 试验方法

1.2.1 胡萝卜软腐欧氏杆菌的分离与鉴定 挑取烂白菜于无菌的普通液体培养基中,置30℃恒温箱培养48 h。用无菌水将培养好的菌种制成悬浮液,挑取菌液在普通肉汁培养基上划线培养。将划线后的培养皿放于容量2 000 mL的干燥器内,放入小段点燃蜡烛于缸内,但不要靠近缸壁,缸盖及缸口涂以凡士林。蜡烛熄灭后放入30℃培养箱中培养,1 d后即可出现肉眼可见的菌落,菌落从圆形到不规则形,乳白色,微凸起。然后进行胡萝卜软腐欧氏杆菌的鉴定^[7,9-10]。将纯化后的菌落制成无菌水菌悬液,使菌悬液中细菌数达到 1.0×10^6 cfu/mL,穿刺回接到用100 μL/L次氯酸钠进行清洗后的新鲜白菜上,如果白菜上出现相同的症状,则取病害地方进行重新分离,如果分离纯化后的细菌和原来的软腐菌在菌体形态及生化特性等方面完全一致,则可确定最初分离到的细菌为胡萝卜软腐欧氏杆菌^[7,11]。将确认后的胡萝卜软腐欧氏杆菌样保存于甘油管中备用。

1.2.2 对培养基的胡萝卜软腐欧氏杆菌抑制试验 培养基先加一半水,灭菌后,用各处理溶液配足培养基正常含水量。最终浓度为:3 μL/L的桂醛,50 μL/L的戊二醛,10 μL/L的稳定态二氧化氯,10%、20%、30%、40%、50%的酸性电位水。该试验设备产生的酸

第一作者简介:王向阳(1966-),男,教授,博士生导师,现从事农产品保鲜和加工研究工作。E-mail:wxy200228@yahoo.com.cn。

收稿日期:2011-07-26

性电位水 pH 3, 有效氯 30~50 mg/L。臭氧处理和对照加无菌水配足。取 0.5 mL 菌液于培养基; 臭氧处理在添加菌后进行, 臭氧浓度为 10 mL/h, 将培养基通臭氧 15 min。在 30℃ 恒温培养箱中培养 48 h。记录每皿的菌落数。3 次重复。

1.2.3 对菌液的胡萝卜软腐欧氏杆菌抑制的试验

菌液中处理浓度: 3 $\mu\text{L/L}$ 的桂醛, 50 $\mu\text{L/L}$ 的戊二醛, 10 $\mu\text{L/L}$ 的稳定态二氧化氯。10%、20%、30%、40%、50% 的酸性电位水; 另设臭氧处理和对照。均添加 0.5 mL 菌液, 臭氧 10 mL/h, 通臭氧 15 min。所有处理添加菌 15 min 后, 倒入培养皿。30℃ 培养 48 h。记录每皿的菌落数。3 次重复。

1.2.4 臭氧和 50% 酸性电位水处理时间 臭氧和 50% 酸性电位水是筛选出来最好的处理, 用以上 2 种处理方法分别处理 0.5 mL 菌液 1、5、10、15、30 min。然后倒入培养皿, 30℃ 培养。设置对照。记录每皿的菌落数。3 次重复。

1.2.5 臭氧和 50% 酸性电位水对新鲜大白菜进行保鲜处理 大白菜去外叶, 选第 2 层无伤无病叶片, 每组 3 片大白菜叶子。①大白菜叶子分别用 50% 酸性电位水中浸泡 30 min, 薄膜袋通臭氧 15 min。自然风干 30 min; ②每叶涂菌, 自然风干 15 min 后, 再用臭氧和 50% 酸性电位水分别处理; ③用接种环在大白菜上刺洞, 每叶刺 6 个洞, 涂菌液, 自然风干 15 min 后, 再用臭氧和 50% 酸性电位水分别处理; 设置对照(未经任何处理的白菜)。将所有大白菜在室温下(27±3)℃ 套袋放置 5 d, 每天测定各组大白菜的病斑大小和发病率。4 次重复。鉴于大白菜腐烂可能只有 1 个病斑, 也可能有很多个病斑, 其差异很大, 也为了便于和刺孔大白菜抑菌效果比较, 该试验的发病率=(叶病斑数量/6×总叶数量)×100%。

2 结果与讨论

2.1 处理对培养基抑菌效果

由图 1 可知, 各处理在培养基中均有抑菌效果, 臭氧抑制效果最好, 其抑制率达 87.02%; 其次是 50% 电位水, 抑菌率为 82.81%。酸性电位水的抑菌效果随着浓度的增加而增加。戊二醛抑菌率为 72.63%, 稳定态二氧化氯和桂醛的抑菌效果相对较低。

2.2 处理对菌液抑菌效果

从图 2 可知, 臭氧抑菌效果最佳, 抑制率可达到 97.39%; 其次是 50% 酸性电位水, 抑制率为 86.64%; 但是随着酸性电位水浓度的降低, 其抑菌效果也明显降低, 桂醛和戊二醛的抑菌效果分别为 78.83% 和 74.59%; 稳定态二氧化氯的抑菌效果相对较低。

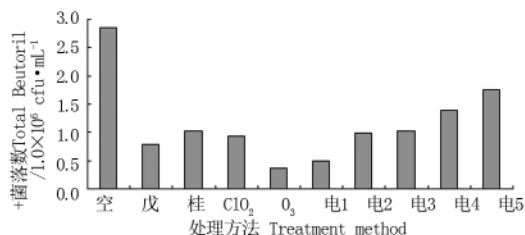


图 1 处理对培养基抑菌效果

注: “空”为对照; “戊”为 50 $\mu\text{L/L}$ 的戊二醛; “桂”为 3 $\mu\text{L/L}$ 的桂醛; “ClO₂”为 10 $\mu\text{L/L}$ 的稳定态二氧化氯; “O₃”为臭氧; “电 1”、“电 2”、“电 3”、“电 4”、“电 5”分别为 50%、40%、30%、20%、10% 的酸性电位水。图 2 同。

Fig. 1 The effect of treatments on the medium for inhibiting

Erwinia aroideae Holland

Note: ‘Empty’ is control; ‘Wu’ is 50 $\mu\text{L/L}$ glutaraldehyde; ‘Gui’ is 3 $\mu\text{L/L}$ aldehyd; ‘ClO₂’ is 10 $\mu\text{L/L}$ chlorine dioxide in stable steady state; ‘O₃’ is ozone; ‘No. 1, No. 2, No. 3, No. 4, No. 5 of Electricity’ are 50%, 40%, 30%, 20%, 10% potential water of the acidity. The same as Fig. 2.

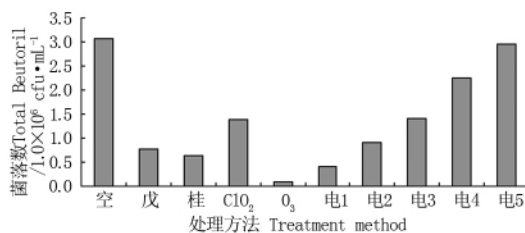


图 2 处理对菌液抑菌效果

Fig. 2 The effect of treatments on the water for inhibiting

Erwinia aroideae Holland

2.3 臭氧和 50% 酸性电位水对菌液处理不同时间的抑菌效果

从图 3 可知, 臭氧的抑菌效果好于 50% 酸性电位水。在臭氧处理 15 min, 胡萝卜软腐欧氏杆菌即得到有效地控制, 50% 酸性电位水处理 30 min 后, 胡萝卜软腐欧氏杆菌被有效抑制。

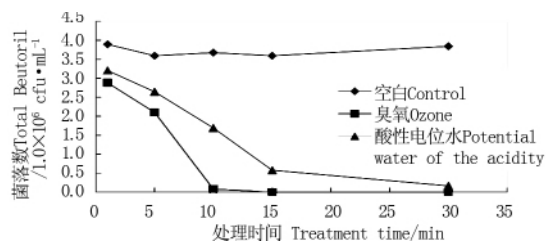


图 3 臭氧和酸性电位水不同处理时间

对胡萝卜软腐欧氏杆菌的影响

Fig. 3 The effect of O₃ or electrolyzed oxidizing water on *Erwinia aroideae* Holland for different treatment time

2.4 臭氧和 50%酸性电位水对新鲜大白菜进行保鲜处理

由表 1 可知,与对照相比,经臭氧处理的大白菜腐烂率较 50%酸性电位水小,能起到很好的抑菌效果;50%电位水抑菌效果也不错,但都不能完全抑制胡萝卜软腐欧氏杆菌生长。由表 2 可知,臭氧处理抑制大白菜病斑扩大也比 50%酸性电位水更有效。

表 1 臭氧和酸性电位水处理对大白菜发病率的影响

处理时间 Treatment time/d	1	2	3	4	5
空白对照	0	4	10	50	80
臭氧	0	1	1	4	5
电位水	0	1	2	5	9
涂菌+臭氧	0	1	2	10	13
涂菌+电位水	0	2	3	8	15
刺伤涂菌+臭氧	0	2	3	12	15
刺伤涂菌+电位水	0	3	5	15	35

表 2 臭氧和酸性电位水处理对大白菜病斑的影响

处理时间 Treatment time/d	1	2	3	4	5
刺伤涂菌+臭氧	1.5	1.7	2.2	2.6	3.0
刺伤涂菌+电位水	1.5	1.8	2.5	3.0	3.5

3 结论

无论是对菌液还是培养基进行抑菌处理,臭氧的抑菌效果最好,其次是 50%酸性电位水。相对于培养基,臭氧对菌液处理的抑菌效果更好,50%酸性电位水也是如此。

对菌液不同时间的处理过程中,臭氧处理 15 min 后,胡萝卜软腐欧氏杆菌的生长即得到有效地控制,而 50%酸性电位水处理则需 30 min 以上。

对大白菜保鲜处理时,臭氧的抑菌效果更好,50%酸性电位水稍差。

参考文献

- [1] 臧威. 黑龙江省大白菜软腐病菌致病力分化及抗源筛选的研究[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2003.
- [2] 张耀伟. 大白菜抗软腐病生理生化指标研究[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2002.
- [3] 臧威,崔崇士,孙剑秋,等. 大白菜软腐病的研究现状[J]. 北方园艺,2005(3):59-60.
- [4] 方中达. 植物研究方法[M]. 北京:中国农业出版社,1998:179-180.
- [5] Togashi J, Ueda K, Namai T. Overwintering of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* in diseased tissues in soil and Its role as inoculum for soft rot of Chinese cabbage(*Brassica campestris*, *Pekinensis* Group)[J]. Journal of General Plant Pathology, 2001, 67(1):45-50.
- [6] 远方,屈淑平,崔崇士,等. 一株新的胡萝卜软腐欧文氏菌的分离和鉴定[J]. 微生物学报,2004,44(2):136-140.
- [7] 王向阳,施青红. 食品酸味剂抑制采后大白菜的胡萝卜软腐欧文氏杆菌研究[J]. 中国食品学报,2008,8(2):112-117.
- [8] Mills A A S, (Bud) Platt H W, Hurta R A R. Sensitivity of *Erwinia* spp. to salt compounds *in vitro* and their effect on the development of soft rot in potato tubers in storage[J]. Postharvest Biology and Technology, 2006, 41:208-214.
- [9] 唐嘉义,张泽. 魔芋软腐病原菌鉴定及部分生物学特性研究[J]. 云南农业大学学报,2001,16(3):185-187.
- [10] 吴大椿,鄢小宁. 食用仙人掌软腐病原菌鉴定[J]. 湖北农学院学报,2004,24(1):15-17.
- [11] 许志刚. 普通植物病理学[M]. 3 版. 北京:中国农业出版社,2002:338.

Study on the Inhibition of the *Erwinia aroideae* Holland for Chinese Cabbage

WANG Xiang-yang, HUANG Mei-juan, SHI Qing-hong

(College of Food Science and Biotechnology Engineering, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou, Zhejiang 310035)

Abstract: For reduce post harvest Chinese cabbage decay, *Erwinia aroideae* Holland was isolated from diseased leaf of Chinese cabbage. The microbe added in the culture medium or water were treated with cinnamaldehyde, glutaraldehyde, stable chlorine dioxide, electrolyzed oxidizing water and O₃ for finding out some methods to control the rot. 2 methods were selected for treatment time experiment, and Chinese cabbage leaves were treated with O₃ and electrolyzed oxidizing water. The results showed that all treatments reduced the number of *Erwinia aroideae* Holland. The best effect of inhibiting *Erwinia aroideae* Holland growth was O₃ treatment, followed by electrolyzed oxidizing water treatment. The optimal treatment time of O₃ and electrolyzed oxidizing water were 15 min and 30 min, respectively. O₃ treatment was more effective than electrolyzed oxidizing water treatment for inhibiting the rot of Chinese cabbage.

Key words: Chinese cabbage; *Erwinia aroideae* Holland; O₃; electrolyzed oxidizing water