

# 菜花贮藏期交链孢霉菌的侵染规律研究

郭红莲, 王晓枫, 路玉蓉, 孙媛媛

(天津科技大学 食品工程与生物技术学院, 天津 300457)

**摘要:**对贮藏期菜花黑斑病菌的侵染规律及最适侵染条件进行了初步研究,为菜花贮藏期该病害的防治提供理论依据。结果表明:温度为贮藏期黑斑交链孢霉菌的主要环境因子,其最低生长温度为4℃,在0℃环境下几乎无法存活。此外其最适侵染的pH为8;交链孢霉菌侵染过程中以分泌细胞壁降解酶破坏组织细胞完整性为主,病原菌在接种的第2天几丁质酶活性明显升高,在接种7d以内,果胶酶活性先下降后持续升高,这种活性升高与菜花贮存6~7d时的病斑扩展规律相符。

**关键词:**菜花;黑斑病;交链孢霉菌属;侵染

**中图分类号:**S 635.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)05-0166-03

白菜花是十字花科芸薹属1a生植物,为一种多功效的食材,不易贮运,贮运期易受多种病原菌和黑斑病侵染,初期产生黑褐色小斑点,迅速扩展形成圆形、椭圆形病斑。湿度大时病斑上生黑色霉,病斑扩展迅速,后期连片<sup>[1-2]</sup>。防治菜花黑斑病目前以预防为主,关于该病菌的侵染规律的研究报道很少,制约了对菜花黑斑病的有效治疗,该试验对白菜花贮藏期黑斑病的侵染规律进行初步研究,以便为采取相应措施防治贮藏期黑斑病提供理论指导。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

白菜花花球购于天津开发区农贸市场,去除苞叶,取新鲜花球,运回实验室0~4℃冷鲜保藏柜中保存备用。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 黑斑病菌的分离与纯化** 以无菌的接种刀切除花球表面感病组织,用无菌镊子夹住,放置70%酒精中浸泡30s,用无菌水冲洗3次,用无菌吸水纸沥干。随后将感病组织在2%次氯酸钠中浸泡1min,同样用无菌水冲洗3次,用无菌吸水纸沥干<sup>[3]</sup>。将经过处理的感病组织用灭菌手术刀切至适中大小,用接种针转接到PDA平板上(每个平板可接种2~3个样品),在培养箱中25℃条件下恒温培养5d。以灭菌的接种针挑取鉴定后的交链孢霉菌重新接种于无病菜花表面,按柯赫氏法则,可重现与自然感病组织相同症状,此病菌为试验用交链孢黑斑菌

(*Alternaria brassicicola* Wilts.),用于该试验研究。

**1.2.2 黑斑病菌的生长规律研究** 环境温度对交链孢生长的影响:分离纯化的交链孢霉菌在PDA平板上培养7d后制备直径为5mm的菌碟,然后将菌碟的碟面向下,转移至新的PDA平板正中,分别放置于0、4、7℃的隔水式恒温培养箱中。3次重复。此后,每日根据十字交叉法(即每个培养皿测量径向和法向2个数据,随后求出其几何平均数作为平均直径)测量各个温度下菌落的直径大小,制作该菌在不同温度下的生长曲线,进行统计分析。pH对菌丝生长的影响:将上述菌碟置于不同pH的PDA培养基中,随后放置于27℃的恒温培养箱中培养,测定不同pH的培养基对菌丝生长的影响,pH分别以PBS缓冲液配制成6、7、8梯度,测定方法同上。营养条件对菌丝生长的影响:将PDA培养基用微波炉加热至完全溶解,平均分装在3个三角瓶中,置于50℃的恒温水浴锅内温浴,分别加入10mL的菜花提取液、10mL的蔗糖溶液和10mL的无菌水,灭菌后每个培养基倒3个平板备用,测定方法同上。

### 1.3 项目测定

以液体PDA培养基培养的病原菌,加入等体积菜花组织破碎液连续培养,不同时间取样,以pH7.8 PBS缓冲液匀浆离心后取上清液用于测定侵染相关酶活性。

**1.3.1 几丁质酶活性** 参考张荣奎<sup>[4]</sup>的DNS法,酶活力单位U定义为:每1min产生相当于1μmol N-乙酰氨基葡萄糖的还原糖量所需的酶量。酶活力=OD<sub>540</sub>×K×D/t。式中:K为标准曲线上1abs对应的还原糖的浓度;D为酶液的稀释倍数;t为反应时间。

**1.3.2 聚半乳糖醛酸酶(PG)活性** 参考尤华等<sup>[5]</sup>的还原糖法。以每1min分解底物产生1μmol半乳糖醛酸

**第一作者简介:**郭红莲(1971-),女,博士,副教授,现主要从事农产品保鲜方面的教学与科研工作。E-mail:ghl0628@163.com。

**收稿日期:**2011-12-21

所需的酶量定义为 1 U。酶活力 =  $OD_{540} \times K \times D/t$ 。式中:K 为标准曲线上 1 abs 对应的半乳糖醛酸的浓度;D 为酶液的稀释倍数;t 为反应时间。

## 2 结果与分析

### 2.1 温度对菌丝生长的影响

由图 1 可知,交链孢霉菌的菌丝体在 4、7℃ 的条件下都是随着时间的增长而不断生长,7℃ 比 4℃ 菌落生长更好,而 0℃ 下菌丝扩展速率几乎为 0,说明交链孢霉菌的最低生长温度为 4℃,0℃ 条件下菌丝几乎不能生长。

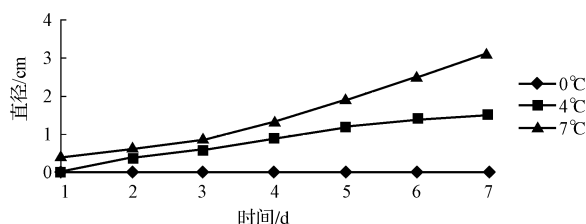


图 1 不同温度下致病菌的菌落直径

### 2.2 pH 对菌丝生长的影响

由图 2 可知,在 3 种 pH 条件下菌丝均能正常生长,且前 3 d 基本处于同一种生长状态,从 3 d 之后,在 pH 8 的偏碱性培养条件下菌丝扩展最快。

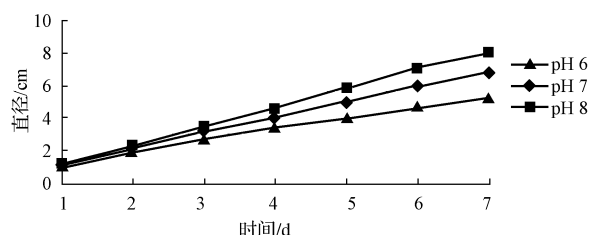


图 2 不同的 pH 下致病菌的菌落直径

### 2.3 营养对菌丝生长的影响

营养条件也是影响病原真菌生长的很重要因素<sup>[6]</sup>(图 3),在含有菜花提取液的培养基上的交链孢霉菌比空白组生长情况好,含有蔗糖溶液的培养基上的菌丝生长最好,由此可以初步得出结论,菜花上可能含有适合交链孢霉菌生长的某些非蔗糖类营养物质适合交链孢霉菌的生长。

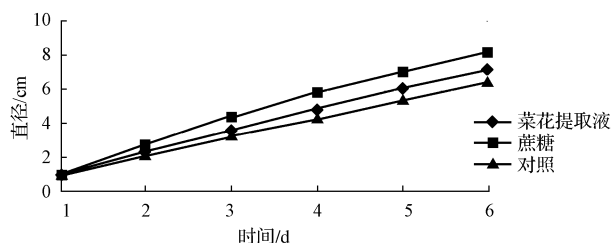


图 3 不同的营养条件下致病菌的菌落直径

### 2.4 几丁质酶活性的测定

在添加了菜花组织液的培养基中,菌体酶活性高于对照组的几丁质酶活性,可能是菜花组织诱导了病原菌分泌几丁质酶(图 4),接种处理第 2 天酶活力就达到了

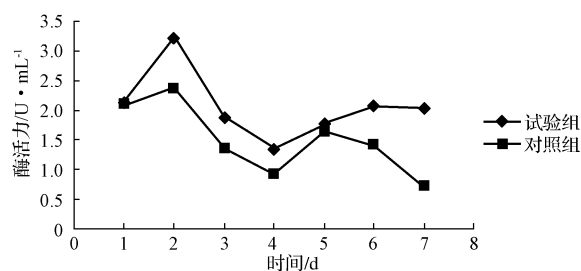


图 4 交链孢侵染过程中几丁质酶活性的变化

峰值,以后酶活力一直高于对照但却低于峰值。

### 2.5 聚半乳糖醛酸酶(PG)活性的测定

聚半乳糖醛酸酶(PG)是细胞壁降解酶的一种,菌丝培养液中添加了菜花组织液之后,PG 酶活性直到第 7 天才表现出上升的趋势(图 5),表明随着菌丝的生长,菜花细胞的防御功能不足以抵抗菌体产生果胶酶降解菜花细胞壁,所以果胶酶活力上升,第 7 天到达峰值,这与菜花在第 7 天出现腐烂现象相符。

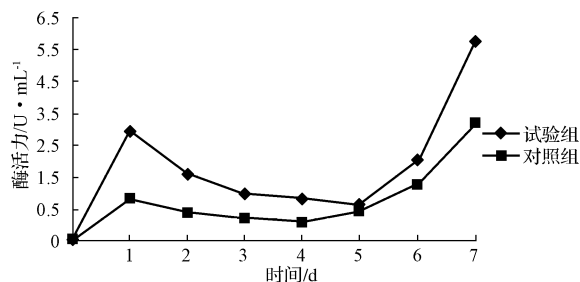


图 5 交链孢侵染过程中果胶酶活性变化

## 3 讨论

通过组织分离与显微镜检测确定了从菜花黑斑病上分离纯化得到的病原菌为甘蓝交链孢霉菌(*Alternaria brassicicola*)。贮藏期甘蓝交链孢霉菌在低温(4、7℃)下均能生长,而在 0℃ 条件下基本不能产孢;因而在冰点温度的条件下,即使该菌可能侵染,但也不能再扩展。此外,病原菌的最适 pH 为 8,菜花内可能含有某种适合交链孢霉菌生长的营养物质。这些结果为从生物和物理方法防治菜花贮藏期黑斑病提供了条件,可从温度、营养条件等方面控制病原菌的繁殖和扩展。

交链孢霉菌侵染菜花的过程中菌体内几丁质酶与果胶酶活性增加的结果表明,菜花能诱导病原菌提高几丁质酶活力,但由于病原真菌具有几丁质的细胞壁,可能过量的几丁质酶又造成了病菌的自我裂解<sup>[7]</sup>,所以几丁质酶活力后期没有升高。果胶酶(PG)活性在侵染的前 5 d 一直处于下降的状态,而第 6~7 天到达峰值,早期的酶活性下降可能是由于果胶酶的降解产物激发菜花防卫反应,所以病原体通过降低果胶酶的活性来达到减小菜花抗病性的效果<sup>[8]</sup>,后期的上升可能是由于病原体的繁殖以及侵染性增强,菜花的防御功能不足以抵抗菌体产生果胶酶降解菜花细胞壁。

# 利用玉米芯栽培杏鲍菇技术研究

赵大刚, 陶 鸿, 卜文文, 周佳燕

(安徽农业大学 园艺学院, 安徽 合肥 230036)

**摘 要:**以玉米芯为主要配方原料,研究其对菌丝生长速度、产量、生物学转化效率、多糖含量及子实体形态特征的影响。结果表明:玉米芯 70%、棉子壳 14%、麸皮 9%、玉米粉 3%、糖 1%、石灰粉 1%、石膏 1%、磷酸二氢钾 1% 为最优配方,农杏为最优菌株,生物学效率达 58.5%,多糖含量达 1.56%。

**关键词:**玉米芯;杏鲍菇;性状对比

**中图分类号:**S 646.1<sup>+</sup>9 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2012)05-0168-03

杏鲍菇(*Pleurotus eryngii*),又名刺芹侧耳,是近年来开发栽培成功的集食用、药用、食疗于一体的珍稀食用菌新品种,在我国全国各地均有栽培。杏鲍菇菌肉肥

厚、质地脆嫩、营养丰富、风味鲜美,尤其是食后有特殊的杏仁香味,令人愉悦。杏鲍菇有明显的促消化、助吸收等功效,及美食和保健于一身,极受消费者喜爱,是一种很有发展前途的时尚食品<sup>[1]</sup>。

随着安徽地区杏鲍菇栽培热的出现,食用菌工作者已经筛选出许多适宜的杏鲍菇栽培配方,然而目前由于部分原材料的价格过高(如棉子壳),生产成本加大,经济效益相应降低,菇农生产积极性也随之降低,制约了

**第一作者简介:**赵大刚(1986-),男,安徽临泉人,在读硕士,研究方向为蔬菜品质与安全。

**责任作者:**陶鸿男(1962-),男,本科,副教授,硕士生导师,研究方向为蔬菜品质与安全。

**收稿日期:**2011-12-18

## 参考文献

- [1] 崔香仙. 西兰花主要病害及其综合防治[J]. 特种经济动植物, 2005(3):167-173.
- [2] Tohyama A, Tsuda M. *Alternaria* on cruciferous plants *Alternaria* species on seed of some cruciferous crops and their pathogenicity[J]. Mycoscience, 1995, 36(3):358-361.
- [3] 刘毅. 西兰花采后黑斑病的鉴定以及致病机理的研究[D]. 上海:华东师范大学, 2009.
- [4] 张荣奎. 土壤产几丁质酶菌株的筛选鉴定及产酶条件[J]. 华侨大学学报, 2006, 26(3):484-489.

- [5] 尤华, 陆兆新. 微生物原果胶酶高产菌株的筛选及发酵特性的研究[J]. 食品科学, 2005(3):42-43.

- [6] Zuo Y H, Kang Z S, Huang L L, et al. Cytology on infection process of soybean hypocotyls by *Phytophthora sojae*[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2005, 35(3):235-241.

- [7] 吴仲, 阎瑞香, 刘兴华. 水稻几丁质酶的表达及其酶学基本性质[J]. 安徽农业科学, 2007(7):2018-2020.

- [8] 钦传光, 丹·娃伦亭娜. 果胶酶高产菌种的筛选[J]. 中国酿造, 2000, 108(4):14-18.

## Study on the Infection Properties of *Alternaria brassicicola* Spores During Cauliflower Storage

GUO Hong-lian, WANG Xiao-feng, LU Yu-rong, SUN Yuan-yuan

(College of Food Engineering and Biological Technology, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457)

**Abstract:** The black spot disease of cauliflower during storage were studied on its infection fungi and the optimum condition, in order to provide theoretical basis of control of the disease. The results showed that the temperature was key factor that the lowest growth temperature was 4°C, and almost could't live in 0°C. The optimum infection pH value was 8; the pathogen infected cell walls in the process of degrading enzymes secreted damage tissue cells and the chitin-enzyme activity increased significantly in the vaccination within 2 days, pectin-enzyme activity increased in 6~7 days too, these enzyme-activity rising were consisted with the disease spot expansion.

**Key words:** cauliflower; black spot disease; *alternaria brassicicola*; infection