

文章编号:1001-1498(2005)02-0199-05

冬枣果实三种主要病原细菌对温度和 pH 值的耐受力研究

王亚萍^{1,2}, 梁丽松¹, 王贵禧^{1*}, 李艳菊³

(1. 中国林业科学研究院林业研究所, 国家林业局林木培育重点实验室, 北京 100091;
2. 西北农林科技大学林学院, 陕西 杨凌 712100; 3. 中国农业科学院, 北京 100081)

摘要:研究了冬枣采后烂果上分离的3种主要病原细菌假单胞杆菌(*Pseudomonas* sp.)、黄单胞杆菌(*Xanthomonas* sp.)和欧氏杆菌(*Erwinia* sp.)对温度和pH值的耐受力。结果表明,假单胞杆菌的低温和高温耐受力分别为0 和57.5 ;黄单胞杆菌的低温和高温耐受力分别为-2 和55 ;欧氏杆菌的低温和高温耐受力分别为0 和57.5 。3种病原细菌对偏碱性环境耐受力较强,假单胞杆菌在pH值10时才停止生长,黄单胞杆菌和欧氏杆菌在pH值12时仍能生长;在酸性范围内,当pH值2~4时生长均受到抑制。pH、温度和时间复合处理的试验中,在pH值3~4,处理时间6~10 min,假单胞杆菌处理温度在45 ,黄单胞杆菌在55 ,欧氏杆菌在50 时,生长受到显著抑制。

关键词:冬枣;病原细菌;温度;pH值;耐受力

中图分类号:S763.1 文献标识码:A

Study on the Tolerance of Three Pathogens to Temperature and pH Value on 'Dongzao' Jujube Fruit

WANG Ya-ping^{1,2}, LIANG Li-song¹, WANG Gui-xi¹, LI Yan-ju³

(1. Research Institute of Forestry, CAF; Key Laboratory of Tree Breeding and Cultivation, State Forestry Administration, Beijing 100091, China;
2. Forestry College, Northwest Sci-tech University of Agriculture and Forestry, Yangling 712100, Shaanxi, China;
3. Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: The tolerance of three pathogens (*Pseudomonas* sp., *Xanthomonas* sp. and *Erwinia* sp.) to temperature and pH value was studied. The pathogens could induce 'Dongzao' jujube fruit decay. The results showed that the tolerance of *Pseudomonas* sp. to low and high temperature was 0 and 57.5 , *Xanthomonas* sp. 's was -2 and 55 , *Erwinia* sp. 's was 0 and 57.5 . The tolerance of the three pathogens to alkalescence was more resistant, *Pseudomonas* sp. could not growth until pH value was 10, *Xanthomonas* sp. and *Erwinia* sp. could still growth normally when pH value was 12; at the range of acidity, when pH value was 2~4, the growth of three pathogens were inhibited. In the combination test of pH, temperature and time, when pH value range was 3~4, the treatment time was 6~8 min, the temperatures of *Pseudomonas* sp., *Xanthomonas* sp. and *Erwinia* sp. were 45 , 55 and 50 respectively, their growth were inhabited obviously.

Key words: 'Dongzao' jujube; pathogens; temperature; pH value; tolerance

冬枣 (*Zizyphus jujuba* Mill. cv. Dongzao) 是一个 很差, 在贮藏期间极易发生腐烂, 丧失商品和食用价值。目前对枣贮藏期病害的研究主要集中在对病原稀有的晚熟优质鲜食品种^[1], 但采后自然保鲜能力

收稿日期: 2004-11-12

基金项目: 国家“十五”重大科技专项“特色果品贮藏保鲜技术及设备研究与开发”(2001BA501A09)的部分内容

作者简介: 王亚萍(1978—), 陕西临潼人, 在读硕士生。

* 通讯作者。

菌的分离鉴定,且对真菌研究较多^[2~4]。但细菌性病害也是比较重要的冬枣贮藏期病害,辛玉成等^[5]对冬枣采收前后烂果病的类型及病原进行了研究,得出冬枣果实烂果病害主要由3种病原细菌:假单胞杆菌(*Pseudomonas* sp.)、黄单胞杆菌(*Xanthomonas* sp.)、欧氏杆菌(*Erwinia* sp.)和2种病原真菌:链格孢菌(*Alternaria* sp.)、粉红单端孢菌(*Trichothecium* sp.)等单独或复合侵染所致。本文研究了冬枣的3种主要病原细菌对温度和pH值的耐受能力,探讨通过非农药方法控制冬枣果实病害的可行性。

1 材料和方法

1.1 试验材料

采后腐烂冬枣上分离纯化的3种病原细菌:假单胞杆菌(*Pseudomonas* sp.)、黄单胞杆菌(*Xanthomonas* sp.)和欧氏杆菌(*Erwinia* sp.),由莱阳农学院辛玉成教授提供。

1.2 试验方法

将3种病原细菌活化后,分别取一环于10 mL 无菌水中配成菌悬液备用。以下试验方法参照刘琼光、方中达等^[6,7]的方法,有改进。细菌的生长量以培养液的OD₆₂₀值表示。

1.2.1 病原细菌的低温耐受力 接种0.2 mL 菌悬液于含有10 mL 无菌水的试管中,摇匀,从中取0.5 mL 加入盛有5 mL NA 培养液的试管中,分别于-4、-2 和0 低温下培养,每处理3次重复,于不同培养时期在620 nm 波长下测OD 值,比较病原菌的生长量。以常温(28~30)处理为对照。

1.2.2 病原细菌的高温耐受力 接种0.2 mL 菌悬液于含有10 mL 无菌水的试管中,摇匀后于50、52.5、55、57.5、60 分别保温2、4、6、8、10 min,取出后立即冷却至室温。再从各处理管中取0.5 mL 菌液于有5 mL NA 培养液的试管中,摇匀,在28~30 恒温培养,于24 h 时在620 nm 波长下测OD 值,比较

病原菌的生长量,每处理3次重复。以未作温度-时间处理为对照。

1.2.3 病原细菌对pH值的耐受力 用1N HCl 和1N NaOH 调节NA 培养液的pH 值分别为2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0、11.0、12.0,灭菌后每5 mL 分装于试管备用。

接种0.2 mL 菌悬液于含有10 mL 无菌水的试管中,摇匀,从中取0.5 mL 分别加入盛有5 mL 不同pH 值NA 培养液的试管中,摇匀,于28~30 恒温培养24~96 h,在620 nm 波长下测OD 值,每处理3次重复。以NA 培养液不调pH 为对照。

1.2.4 pH 值与温度、时间的复合处理对三种病原细菌生长的影响 调节蒸馏水的pH 值分别为2.0、3.0、4.0、5.0、6.0,每试管分装10 mL,灭菌后每管加0.2 mL 菌悬液分别在35、40、45、50、55 处理6 min 和10 min,取出后立即冷却至室温。分别从各处理管中取0.5 mL 于5 mL NA 培养液中,摇匀,在28~30 恒温培养24 h,测定其OD 值,每处理3次重复。以不作pH 温度-时间处理为对照。

1.3 数据处理

本试验结果采用SPSS 和SAS 统计软件进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 病原细菌生长的低温耐受力

由表1可见,低温对3种病原细菌的生长均有显著的抑制作用。3种细菌在-4 下完全不能生长;在-2 下,欧氏杆菌和假单胞杆菌均不能生长,黄单胞杆菌则略有生长,但生长速率很慢;0 下3种细菌均略有生长,且欧氏杆菌、黄单胞杆菌与假单胞杆菌的生长量差异极显著($P < 0.01$)。由此可见,假单胞杆菌和欧氏杆菌的低温耐受力为0,黄单胞杆菌的低温耐受力为-2。

表1 三种细菌生长的低温耐受力

菌种	-4			-2			0			OD 值
	12 d	24 d	36 d	12 d	24 d	36 d	12 d	24 d	36 d	CK(28) 1 d
假单胞杆菌	0.000 a	0.000 a	0.000 a	0.000 a	0.000 a	0.000 a	0.002 a	0.000 a	0.001 a	0.012 a
黄单胞杆菌	0.000 a	0.000 a	0.000 a	0.001 a	0.000 a	0.001 a	0.000 b	0.000 a	0.003 b	0.061 b
欧氏杆菌	0.000 a	0.000 a	0.000 a	0.000 a	0.000 a	0.000 a	0.001 ab	0.000 a	0.004 b	0.616 c

注:同一列字母相同的为在0.01 显著水平上差异不显著。

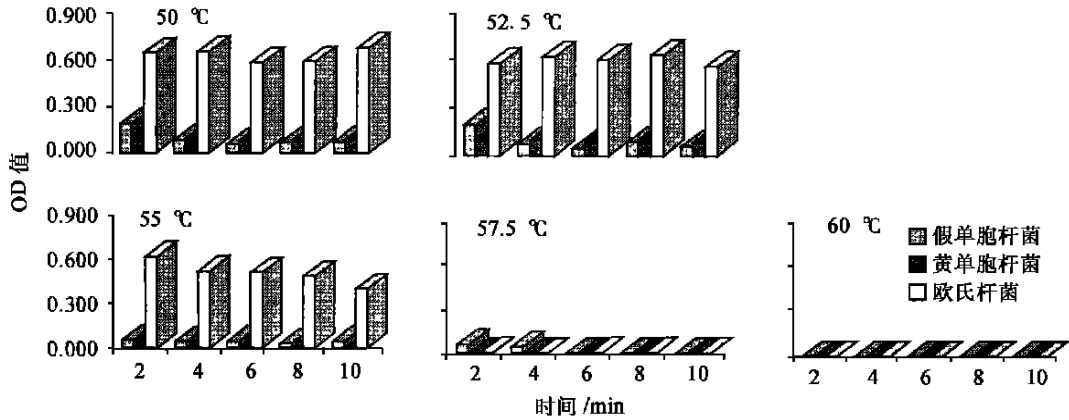


图 1 三种细菌生长的高温耐受力

2.2 病原菌生长的高温耐受力

假单胞杆菌在 50 和 52.5 处理 2 min 时的生长量显著大于相同温度下的其它时间处理 ($P < 0.01$)。随处理温度的升高和处理时间的延长,其生长量明显下降。57.5 处理 2 min 和 4 min 时假单胞杆菌的 OD 值分别为 0.059 和 0.045,当处理时间超过 6 min 时其 OD 值下降为 0。说明假单胞杆菌的高温耐受力为 57.5 。

黄单胞杆菌经 50 和 52.5 各个时间段处理均可以正常生长,在这两个温度处理中,处理 6 ~ 10 min 的 OD 值均显著低于 2 ~ 4 min ($P < 0.05$)。在 52.5 处理 10 min 时,其 OD 值为 0.081,而经 55 各个时间处理的 OD 值均下降为 0,不能生长,由此可知黄单胞杆菌的高温耐受力为 55 。

欧氏杆菌对高温的耐受力较强。经 50、52.5 和 55 处理,随处理温度的升高和处理时间的延长,欧氏杆菌的生长量呈下降趋势,但差异不显著 ($P > 0.05$)。在 55 处理 10 min 时,欧氏杆菌的 OD 值为 0.402,当温度升高到 57.5 时,其 OD 值急剧下降为 0,表明欧氏杆菌的高温耐受力为 57.5 。

2.3 病原菌对 pH 的耐受力

假单胞杆菌在 pH 值 < 5 和 pH 值 > 9 的条件下不能生长,在 pH 值 5 ~ 9 之间均可生长,且从 24 ~ 96 h 其生长量持续稳定增长。pH 值为 6 ~ 9 时,假单胞杆菌的 OD 值差异不显著 ($P > 0.05$),但显著大于 pH 值 5 时的 OD 值 ($P < 0.01$)。说明假单胞杆菌生长的适宜 pH 值 6 ~ 9,最适为 pH 值 8,在强酸和强碱条件下其生长均受到严重抑制(图 2A)。

黄单胞杆菌在 pH 值 < 4 时不能生长,当 pH 值 5 ~ 7 时,黄单胞杆菌在 48 h 内生长迅速,48 h 以后生长速度明显减慢甚至停止生长(图 2B)。在 pH 值 4

条件下,黄单胞杆菌生长缓慢,从 pH 值 5 开始其生长量迅速增加,pH 值 8 以后虽明显下降,但仍能生长。说明黄单胞杆菌对 pH 值 > 8 的碱性环境有很强的耐受力,pH 值 5 ~ 7 为其生长的适宜 pH 范围,最佳 pH 值为 7。

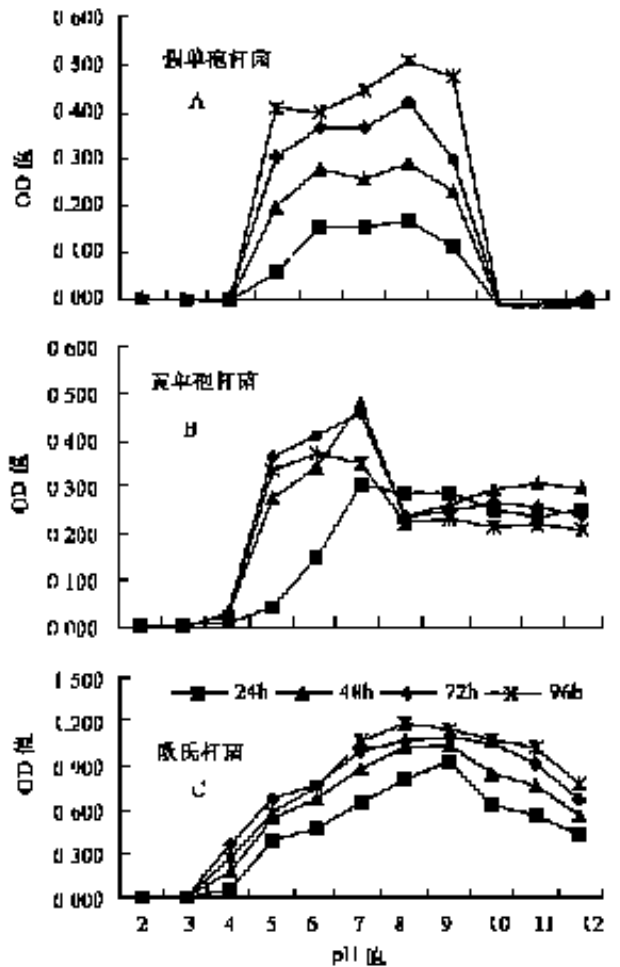


图 2 三种细菌生长的 pH 条件

欧氏杆菌在 pH 值 4~12 之间均可生长,且从 24~72 h 其生长量持续稳定增长,72 h 以后生长量基本维持不变(图 2C)。pH 值 8 和 9 时,欧氏杆菌的 OD 值差异不显著 ($P > 0.05$),但与其它 pH 值处理的 OD 值差异显著 ($P < 0.05$),生长量明显大于其它处理。当在 pH 值 10~12 的强碱性条件下欧氏杆菌仍可生长,表明其对碱性的耐受力极强。其生长的最适 pH 值为 8~9。

以上分析可知,3 种病原细菌对 pH 值 2~4 的酸性条件耐受力较差,在 pH 值 2 和 3 的强酸性环境中均不能生长。假单胞杆菌在 pH 值 10~12 的碱性条件下不能正常生长,而黄单胞杆菌和欧氏杆菌在 pH 值 8~12 的碱性条件下均能够生长,说明后两种

细菌对强碱性环境有很强的耐受能力。

2.4 pH、温度、时间复合处理对病原细菌生长的影响

处理温度和 pH 值对假单胞杆菌的生长有显著影响 ($P < 0.05$),处理时间则对其生长影响不显著(图 3A)。各个温度处理中,随着 pH 值的增大,假单胞杆菌的生长量呈上升趋势,且差异极显著 ($P < 0.01$)。pH 值 3~4 的 OD 值明显小于 pH 值 5~6 的 OD 值。在 pH 值 3 条件下,除 35℃ 处理的菌有缓慢生长外,其它各处理的菌均不能生长;pH 值 4 时 45℃ 处理 10 min 与 50℃、55℃ 处理的菌均不生长;在 pH 值 5 条件下,50℃ 处理 10 min 与 55℃ 处理的菌均不生长,而在 pH 值 6 条件下,各个处理均能正常生长。

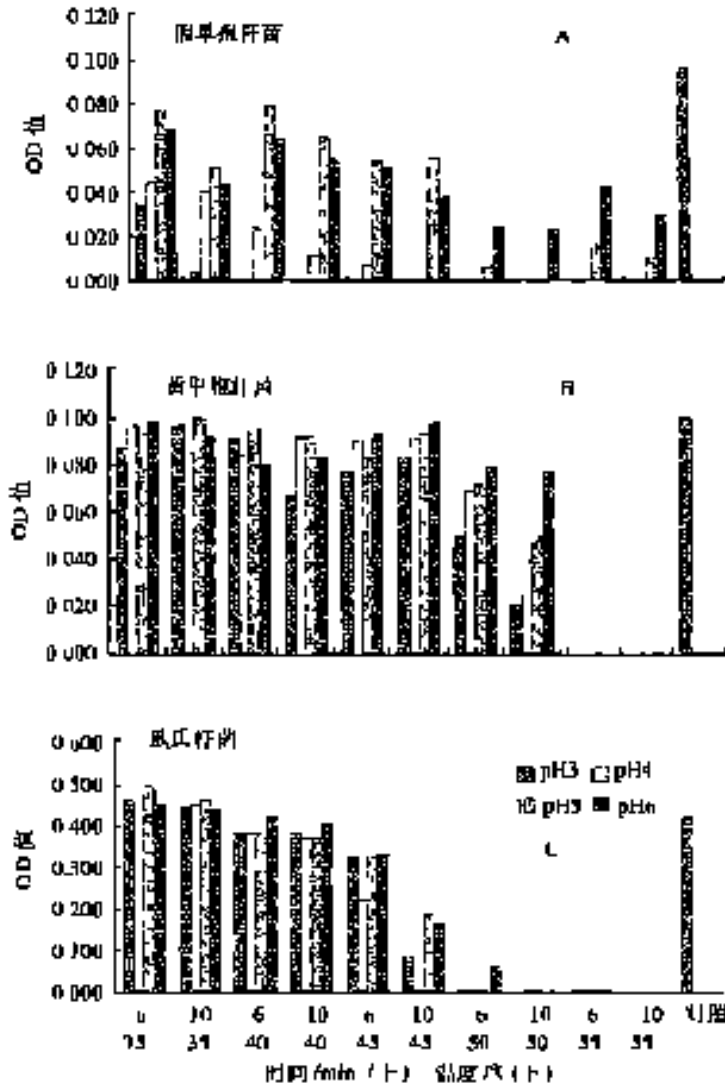


图 3 不同处理温度、时间和 pH 对三种病原细菌生长的影响

处理温度和pH对黄单胞杆菌的生长有极显著影响($P < 0.01$),而处理时间对其生长影响不显著($P > 0.05$)(图3B)。在各个pH值中,黄单胞杆菌在35下的生长量均为最大,与在40和45下的生长量差异不显著($P > 0.05$),在50下其生长量明显减小,55时几乎不能生长。在pH值3时黄单胞杆菌的生长量最小,且与其它处理有显著差异($P < 0.05$),在pH4和pH5条件下其生长量之间差异不显著,但与pH值6的生长量之间差异显著($P < 0.05$)。在35~50的各处理中,随酸性的减弱,黄单胞杆菌的生长量呈明显的增长趋势。在55条件下,各pH处理的黄单胞杆菌几乎不能生长。

除45外,其它温度下处理时间对欧氏杆菌的生长无显著影响($P > 0.05$)。欧氏杆菌在pH值3条件下,处理温度高于50就不能生长;在pH值4条件下,45处理10min以及温度高于50时均不能生长;pH值5时,温度高于50不能生长;在pH值6条件下,50处理10min以及温度高于55不能生长(图3C)。

上述研究结果表明,处理温度和pH对3种病原细菌的生长均有显著影响($P < 0.05$),而处理时间对其生长影响不显著。随着环境中pH值的增大,3种细菌的生长量在总体上均呈上升趋势。在酸性条件下,其生长均受到抑制,且酸性越强,抑制作用越明显。

3 结论与讨论

每种病原菌生长都需要一定的温度条件,温度过高或过低,均会对病原菌的生长产生抑制作用,甚至引起死亡。本研究结果表明:低温和高温耐受力假单胞杆菌分别为0和57.5;黄单胞杆菌分别为-2和55;欧氏杆菌分别为0和57.5。在冬枣低温贮藏期间,要控制病原细菌引起的果实病害,贮藏温度应设定在-2以下。热处理已经成为一种控制果实采后病害的措施,冬枣采后热处

理一般采用50~55、6~8min^[8]。从本试验热处理对3种细菌病原的生长来看,均显示出处理温度为50和55、处理时间6~10min才能对其有明显的抑制作用。本研究结果与实际应用效果一致。

3种病原细菌生长的pH值范围较宽,但均表现出对碱性环境的耐受力强于对酸性环境。在碱性范围内,假单胞杆菌在pH值达到10时才停止生长,黄单胞杆菌和欧氏杆菌在pH值达12时仍能生长;在酸性范围内,当pH值2~4时3种病原细菌的生长才受到抑制。根据这一研究结果,在进行洗果等采后处理以及配制冬枣保鲜剂等方面的措施时,应尽量控制在酸性环境,以达到抑制病原菌、减少果实病害发生的目的。

pH、温度和时间复合处理的试验中,在pH值为3~4,处理时间6~10min,假单胞杆菌处理温度为45、黄单胞杆菌为55、欧氏杆菌为50时,其生长受到显著抑制。因此在实施采后热处理时,应充分考虑pH的作用,以尽量降低处理温度并缩短处理时间,减轻热处理造成的促进衰老的影响。

参考文献:

- [1] 曲泽洲,王永蕙. 中国果树志 枣卷[M]. 北京:中国林业出版社, 1993
- [2] 吴兴梅,孙蕾,刘元铅,等. 冬枣贮藏期主要病害的研究[J]. 经济林研究, 2003, 21(2): 19~22
- [3] 季延平,吴玉柱,柴传华,等. 冬枣黑斑病病原菌生物学特性的研究[J]. 山东林业科技, 2003(6): 7~8
- [4] 郝林,王如福,郝利平. 鲜枣低温贮藏主要致腐真菌的研究[J]. 中国果树, 2000(2): 31~32
- [5] 辛玉成,王贵禧,崔卫东,等. 冬枣果实病害的发生与生态相关性研究初报[J]. 莱阳农学院学报, 2003, 20(4): 255~257
- [6] 刘琼光,曾宪铭. 广东水稻细菌性基腐病的致病性及生物学特性研究[J]. 华南农业大学学报, 1999, 20(1): 9~12
- [7] 方中达. 植病研究方法(第三版)[M]. 北京:中国农业出版社, 1996
- [8] 李鹏霞,樊金拴,王贵禧. 不同热处理方式对冬枣货架期品质的影响[J]. 保鲜与加工, 2004, 4(1): 17~19