

# 三种防腐剂对马铃薯薯块干腐病菌的毒力及抑制作用

李梅<sup>1</sup>, 田世龙<sup>1\*</sup>, 程建新<sup>1</sup>, 李守强<sup>1</sup>, 葛霞<sup>1</sup>, 张欣<sup>2</sup>

(1. 甘肃省农业科学院农产品贮藏加工研究所, 兰州 730070;

2. 甘肃兰州理工大学, 兰州 730070)

**摘要** 马铃薯干腐病是目前马铃薯贮藏期间发生较严重的一种病害,已成为影响马铃薯贮藏保鲜的瓶颈问题之一。为筛选出施用简便、安全高效且能取代液体类毒性强的防腐剂,试验对二氧化氯、仲丁胺和过氧乙酸三种熏蒸型防腐剂进行了室内毒力测定和抑制效果评价。结果表明:该三种防腐剂对马铃薯干腐病具有不同的抑制活性,其中仲丁胺对马铃薯干腐病的抑菌效果最佳,其毒力回归式为  $y=3.6087+7.5008x$ ,  $EC_{50}$  为  $0.2028 \mu\text{g/mL}$ 。通过3种防腐剂的体内效果试验,结果表明:在低温条件下,3种防腐剂处理均不同程度地降低了马铃薯块茎的发病率,其中以仲丁胺控制效果最佳,  $95 \mu\text{g/kg}$  浓度处理可明显降低接种马铃薯薯块的发病率和病斑扩展速度。因此可以推断仲丁胺是防治马铃薯干腐病的理想药剂之一。

**关键词** 马铃薯干腐病; 二氧化氯; 仲丁胺; 过氧乙酸; 毒力; 抑制效果

中图分类号: S 482.2 文献标识码: A DOI: 10.3969/j.issn.0529-1542.2013.06.037

## Virulence and inhibition activity of three kinds of preservatives against the pathogen of the potato tuber dry rot

Li Mei<sup>1</sup>, Tian Shilong<sup>1</sup>, Cheng Jianxin<sup>1</sup>, Li Shouqiang<sup>1</sup>, Ge Xia<sup>1</sup>, Zhang Xin<sup>2</sup>

(1. Agricultural Product Storage and Processing Research Institute, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730070, China; 2. Lanzhou University of Technology, Gansu 730070, China)

**Abstract** Potato dry rot is currently a serious disease detrimental to potato quality in storage. It has become one of the major concerns to potato storage and preservation. To screen the safe and efficient preservative with simple application that can replace toxic liquid ones, the virulence and inhibition efficacy of chlorine dioxide, butylamine and peracetic acid against pathogen of the potato tuber dry rot were evaluated. Results showed that chlorine dioxide, butylamine and peracetic acid have different inhibitory activity, and the efficacy of butylamine is the best, with  $EC_{50}$  value of  $0.2 \mu\text{g/mL}$ . *In vivo* tests demonstrated that the three preservatives could reduce the disease incidence to some extent, and butylamine at the concentration of  $95 \mu\text{g/kg}$  could significantly reduce the incidence of potato tuber dry rot and lesion expansion rate. Thus, it is concluded that butylamine has the potential to be applied in potato dry rot control.

**Key words** potato dry rot; chlorine dioxide; butylamine; peracetic acid; virulence; inhibition

马铃薯产业是目前最具发展潜力的农业特色优势产业之一,近几年随着粮食安全问题备受重视,其栽培面积不断扩大,贮量也随之增加,但由于部分地

区贮藏条件不够完善,导致马铃薯贮藏期腐烂问题日渐突出,贮藏病害对马铃薯的危害也逐年增加<sup>[1]</sup>。干腐病是目前马铃薯贮藏期间发生较严重的一种真

收稿日期: 2012-11-13 修订日期: 2013-05-20

基金项目: 现代农业产业技术体系专项资金(CARS-10);公益性行业(农业)科研专项(201003077)

\* 通信作者 E-mail: tianshilong@sohu.com

菌性病害,早期估计其造成的损失每年平均达 6%~10%,有时甚至高达 60%,给马铃薯的鲜食和加工带来很大的经济损失,已成为影响马铃薯贮藏保鲜的瓶颈问题之一<sup>[2]</sup>。

马铃薯块茎干腐病可通过降低采收、贮藏和运输的损伤或将其贮藏于有利于伤口愈合的环境中来控制病原物的侵染,但主要还是通过采收后使用化学合成杀菌剂噻菌灵。然而,诸如接骨木镰刀菌(*Fusarium sambucinum*)等病原物对噻菌灵的抗药性普遍增加,且农药残留和环境污染问题受到普遍关注<sup>[2]</sup>,因此,必须寻求新的、更适宜的解决途径和控制措施,以逐步取代和减少此类化学杀菌剂的使用,对马铃薯产业的健康及可持续发展具有极为重要的意义。本试验拟通过对二氧化氯、仲丁胺和过氧乙酸三种熏蒸型防腐剂进行室内生物测定和体内效果试验,以明确其抑菌效果,为其取代液体类且毒性强的防腐剂控制马铃薯干腐病的研究和应用提供依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 供试药剂

二氧化氯(FEL,含量 12%):天津市张高科技发展有限公司生产;仲丁胺(FEZ,含量 98%):上海特种精细化工试剂厂生产;过氧乙酸(FEG,含量 15%):烟台市双双化工有限公司生产。

#### 1.1.2 供试菌株

供试马铃薯干腐病病原物硫色镰刀菌(*Fusarium sulphureum* Schlechtendahl)由甘肃省农业科学院植物保护研究所提供。

#### 1.1.3 主要仪器

SW-CJ-2FD 型超净工作台:苏州安泰空气技术有限公司;YXQ-LS-75G 全自动立式高压灭菌锅:上海博迅实业有限公司;PQX 型多段可编程人工气候箱:上海宁波东南仪器有限公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 菌种准备

供试马铃薯干腐病病原物硫色镰刀菌(*Fusarium sulphureum*)于试验前 7 d 转接活化,置于 25 °C

恒温培养箱中培养备用。

#### 1.2.2 室内生物测定

采用琼脂孔注入法<sup>[3]</sup>。将高压灭菌的琼脂培养基趁液态倒入干燥灭菌的直径 9 cm 培养皿内,每皿 30 mL,待培养基冷凝后,用微量移液器加入孢子浓度为  $1 \times 10^7$  个/mL 的菌悬液 100  $\mu$ L 后涂布平板,然后用无菌金属打孔器( $d=5$  mm)打成直径 5 mm 的小孔,用无菌牙签除去孔内琼脂后,在孔内加 1~2 滴 1% 琼脂液密封孔底面,等琼脂冷凝后在每个孔内加入不同浓度防腐剂,立即用封口膜封口,每个处理 3 个重复,并用无菌水作为对照。以上操作均在无菌条件下进行。然后将培养皿置于 25 °C 恒温培养箱中培养 5~7 d,待对照长满时,测量抑菌圈直径。

#### 1.2.3 马铃薯薯块抑菌试验

参照毕阳的方法<sup>[4]</sup>,选择贮藏于 4 °C 下的外观整齐,无病虫害的马铃薯块茎,先用清水清洗后,再用 1% 的漂白粉浸泡 5 min 左右进行表面消毒,然后用无菌水冲洗,75% 乙醇表面消毒,最后用灭菌铁钉(直径 3.5 mm)在块茎上均匀刺 5 mm $\times$ 3 mm 的伤口 3 个,然后立即用微量移液器接种孢子悬浮液 20  $\mu$ L,接种 2 h 后的块茎分别用 FEL(150、450、750  $\mu$ g/kg)、FEZ(55、95、135  $\mu$ g/kg)和 FEG(105、140、175  $\mu$ g/kg)各 3 个浓度在密闭空间中熏蒸 24 h,取出后用塑料袋包装,分别于室温(25 $\pm$ 2)°C 和(4 $\pm$ 1)°C 条件下贮藏,10 d 后测定(25 $\pm$ 2)°C 贮藏条件下的发病率及病斑直径,30 d 后测定(4 $\pm$ 1)°C 贮藏条件下的发病率及病斑直径。每处理 6 个薯块,试验重复 3 次。

#### 1.2.4 结果统计

采用十字交叉法测量抑菌圈直径,取平均值,计算抑菌圈的面积。

相对抑制率(%) = 处理抑菌圈面积/对照生长面积 $\times$ 100;

发病率(%) = 发病病斑数/接种病斑总数 $\times$ 100。

### 1.3 数据统计分析

试验结果为 3 次重复的平均值,试验数据采用 DPS7.5 进行直线回归统计分析,求出药剂的

毒力方程、EC<sub>50</sub>和 EC<sub>90</sub>；进行 Duncan's 多重比较分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 三种防腐剂对干腐病病原菌生长的抑制作用

从表 1 可以看出, FEL、FEZ 和 FEG 3 种防腐剂对马铃薯干腐病均具有显著的抑制作用, 不同浓度防腐剂对病原菌的抑制存在明显的差异。在 3 种防腐剂分别供试的 6 个浓度处理中, 随着浓度的增加, 病菌的生长明显受到抑制, 当药液浓度分别达 0.56、0.42 μg/mL 和 0.69 μg/mL 时病菌生长完全被抑制, 相对抑制率达 100%。

### 2.2 三种防腐剂对干腐病病原菌的室内生物测定结果

由表 2 室内生物测定结果可知, 马铃薯干腐病病原菌对 FEZ、FEL 和 FEG 三种防腐剂均比较敏感, EC<sub>50</sub> 分别为 0.202 8、0.349 0 μg/mL 和 0.282 4 μg/mL, EC<sub>90</sub> 分别为 0.459 3、0.626 1 μg/mL 和 0.708 9 μg/mL。

表 2 三种防腐剂对马铃薯干腐病病原菌的室内生物测定结果

Table 2 The indoor toxicity of three kinds of preservatives to the pathogen of the potato dry rot

| 药剂<br>Chemical | 毒力方程(y=)<br>Regression equation | EC <sub>50</sub><br>/μg·mL <sup>-1</sup> | EC <sub>90</sub><br>/μg·mL <sup>-1</sup> | 相关系数<br>Correlation coefficient | F 检验值<br>F test value | EC <sub>50</sub> 95%置信限<br>/μg·mL <sup>-1</sup><br>95% Confidence level of the EC <sub>50</sub> value | EC <sub>90</sub> 95%置信限<br>/μg·mL <sup>-1</sup><br>95% Confidence level of the EC <sub>90</sub> value |
|----------------|---------------------------------|--|--|---------------------------------|-----------------------|---|---|
| FEZ            | 3.608 7+7.500 8x                | 0.202 8                                  | 0.459 3                                  | 0.969 0                         | 46.09                 | 0.171 9~0.239 3   | 0.336 3~0.627 4   |
| FEL            | 5.05+7.308 5x                   | 0.349 0                                  | 0.626 1                                  | 0.986 3                         | 107.59                | 0.322 5~0.377 8   | 0.534 5~0.733 4   |
| FEG            | 3.206 2+6.760 6x                | 0.282 4                                  | 0.708 9                                  | 0.960 5                         | 35.78                 | 0.234 9~0.339 5   | 0.508 4~0.988 5   |

### 2.3 三种防腐剂对干腐病病原菌室内生物测定结果的差异显著性分析

由表 3 致死剂量比率测定分析可知, FEZ 和 FEL、FEZ 和 FEG、FEL 和 FEG 50% 致死剂量 (EC<sub>50</sub>) 比率的 95% 置信区间中均不包含 1, 其 FEZ 和 FEL、FEZ 和 FEG、FEL 和 FEG 药剂的 EC<sub>50</sub> 差异显著; FEZ 和 FEL、FEZ 和 FEG、FEL 和 FEG 90% 致死剂量 (EC<sub>90</sub>) 比率的 95% 置信区间中均包含 1, 其 FEZ 和 FEL、FEZ 和 FEG、FEL 和 FEG 药剂的 EC<sub>90</sub> 差异不显著。

### 2.4 三种防腐剂对马铃薯块茎干腐病发病的影响

由图 1~3 可以看出, 3 种防腐剂处理对常温和低温条件下贮藏的接种马铃薯块茎的发病情况具有

表 1 三种防腐剂对马铃薯干腐病病原菌生长的抑制作用<sup>1)</sup>  
Table 1 Inhibition effect of three kinds of preservatives on mycelial growth of the pathogen of potato dry rot

| 药剂处理<br>Chemical treatment | 浓度/μg·mL <sup>-1</sup><br>Concentration | 抑菌圈直径/mm<br>Antibacterial circle diameter | 相对抑制率/%<br>Relative inhibition rate |
|----------------------------|---|---|-------------------------------------|
| FEL                        | 0.16                                    | 19.0±0.3                                  | 5.64 d                              |
|                            | 0.24                                    | 30.0±0.5                                  | 14.35 cd                            |
|                            | 0.32                                    | 54.8±0.3                                  | 46.92 c                             |
|                            | 0.40                                    | 61.0±0.0                                  | 58.71 b                             |
|                            | 0.48                                    | 70.3±1.3                                  | 78.32 b                             |
|                            | 0.56                                    | 80.0±0.0                                  | 100.00 a                            |
| FEZ                        | 0.07                                    | 21.5±0.8                                  | 7.56 d                              |
|                            | 0.14                                    | 35.3±0.3                                  | 19.47 cd                            |
|                            | 0.21                                    | 56.0±1.0                                  | 49.00 c                             |
|                            | 0.28                                    | 63.7±0.8                                  | 63.40 b                             |
|                            | 0.35                                    | 75.0±0.5                                  | 87.89 b                             |
|                            | 0.42                                    | 80.0±0.0                                  | 100.00 a                            |
| FEG                        | 0.12                                    | 32.8±0.3                                  | 16.81 d                             |
|                            | 0.23                                    | 42.7±0.3                                  | 28.49 cd                            |
|                            | 0.35                                    | 59.0±0.5                                  | 55.32 c                             |
|                            | 0.46                                    | 68.7±1.9                                  | 72.68 b                             |
|                            | 0.58                                    | 75.8±0.6                                  | 90.25 b                             |
|                            | 0.69                                    | 80.0±0.0                                  | 100.00 a                            |
| CK                         | 0.00                                    | 0.0±0.0                                   | 0.00 e                              |

1) 同列数据后不同字母表示同一药剂不同浓度间在 0.05 水平上差异显著。

Different letters means the inhibition rates of the same agents with different concentrations differ significantly at 0.05 level.

不同的控制效果。常温条件下, 3 种防腐剂处理对马铃薯块茎的发病率无影响, 均为 100% (图 2), 但对发病薯块病斑的扩展具有一定的抑制作用; 其中 FEZ2(95 μg/kg) 处理可明显 (P<0.05) 抑制薯块病斑的扩展速度, 其病斑直径最小, 为 7.34 mm (图 1)。低温条件下, 3 种防腐剂处理均降低了马铃薯块茎的发病率, 其中以 FEZ 处理效果最佳; 贮藏 30 d, 对照的发病率已达 100%, 而 FEZ 处理的发病率为 8.33%~25%, 其中 FEZ2(95 μg/kg) 处理者的发病率最低, 仅为 8.33% (图 4); 同时对发病薯块病斑的扩展速度具有显著 (P<0.05) 抑制作用, 其中 FEZ2(95 μg/kg) 处理病斑直径最小, 为 4.58 mm (图 3)。

表 3 三种防腐剂对马铃薯干腐病原菌室内生物测定结果的差异显著性分析

Table 3 Analysis of significant difference on indoor toxicity of three kinds of preservatives to the pathogen of the potato dry rot

| 比较组别<br>Compare groups | 比较项目<br>Items of comparison | 比率<br>Ratio | 95%置信区间<br>95% Confidence level |
|------------------------|-----------------------------|-------------|---------------------------------|
| FEZ:FEL                | EC <sub>50</sub>            | 0.581 0     | 0.483 6~0.697 9*                |
| FEZ:FEG                | EC <sub>50</sub>            | 0.718 0     | 0.560 6~0.919 6*                |
| FEL:FEG                | EC <sub>50</sub>            | 1.235 9     | 1.011 6~1.510 0*                |
| FEZ:FEL                | EC <sub>90</sub>            | 0.733 5     | 0.517 2~1.040 1                 |
| FEZ:FEG                | EC <sub>90</sub>            | 0.648 1     | 0.411 0~1.021 8                 |
| FEL:FEG                | EC <sub>90</sub>            | 0.883 5     | 0.611 6~1.276 4                 |

1) \* 若两浓度致死剂量(EC<sub>50</sub>和EC<sub>90</sub>)的比率95%置信区间包含1,则表示差异不显著。

\* If the ratio of lethal dose (EC<sub>50</sub> and EC<sub>90</sub>) contains 1 at the 95% confidence interval, it was indicated that the difference of the two concentrations was not significant.

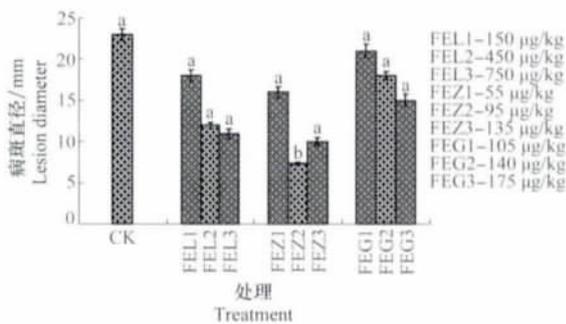


图 1 常温条件下 3 种防腐剂对马铃薯块茎干腐病病斑直径的影响

Fig. 1 Effect of three kinds of preservatives on lesion diameter of the potato dry rot at room temperature

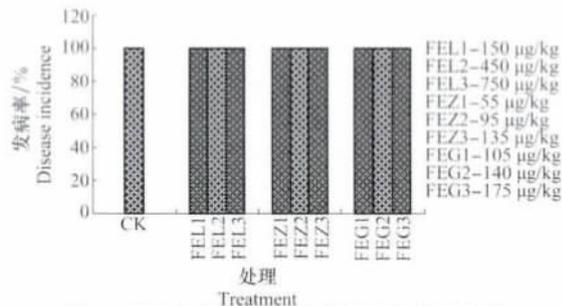


图 2 常温条件下 3 种防腐剂对马铃薯块茎干腐病发病率的影响

Fig. 2 Effect of three kinds of preservatives on the incidence of the potato dry rot at room temperature

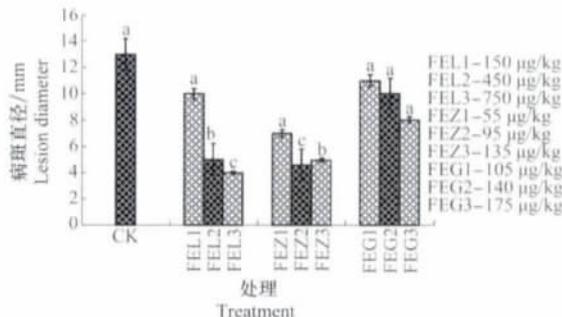


图 3 低温条件下 3 种防腐剂对马铃薯块茎干腐病病斑直径的影响

Fig. 3 Effect of three kinds of preservatives on lesion diameter of the potato dry rot at low temperature

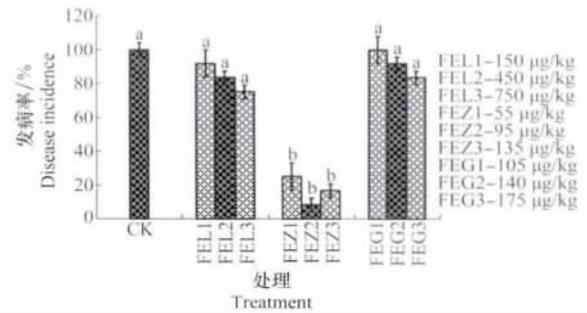


图 4 低温条件下 3 种防腐剂对马铃薯块茎干腐病发病率的影响

Fig. 4 Effect of three kinds of preservatives on the incidence of the potato dry rot at low temperature

### 3 讨论

通过室内生物测定试验结果表明, FEL、FEZ 和 FEG 3 种挥发性防腐剂对马铃薯干腐病原菌均具有显著的抑制作用, 且马铃薯干腐病原菌对 3 种防腐剂均比较敏感; 在一定使用浓度范围内, 不同浓度防腐剂对病菌的抑制存在明显的差异, 随着浓度的增加, 病菌生长明显受到抑制; 结合体内效果试验表明, 在低温条件下, 3 种防腐剂处理均不同程度地降低了马铃薯块茎的发病率, 其中以 FEZ 控制效果最佳, 95 μg/kg 浓度处理可明显降低马铃薯块的发病率和病斑扩展速度。

目前, 马铃薯栽培面积不断扩大, 贮量随之增加, 贮藏病害日渐突出, 但相应的防腐杀菌措施还相差甚远, 究其原因主要有以下 3 个方面: 1) 贮藏条件(主要指设施)不够完善, 缺乏防治的基础; 2) 生产中使用的防腐杀菌剂多属化学农药类, 出于安全性, 使用范围受到限制; 3) 所研究开发的防腐剂多属液体浸泡薯块类, 由于条件限制, 缺乏可操作性。为此, 筛选开发施用简便且安全高效的马铃薯防腐剂对马铃薯贮藏病害的控制具有一定的生产实际意义。

仲丁胺(2-aminobutane, 简称 2-AB)是柑橘皮中的一种天然成分<sup>[5]</sup>, 以其特殊的性质和结构, 对多种真菌具有抗菌活性, 对蒜薹、柑橘和葡萄的贮藏期病害均具有良好的控制效果, 它可造成果蔬污染部位的碱性环境, 影响侵染真菌的生长<sup>[6]</sup>。Eckert 等用 2-AB 的磷酸盐对 31 种病原微生物, 包括半知菌类、子囊菌和藻状菌纲的真菌以及细菌进行了抑菌试验, 发现 2-AB 尤对真菌效果显著<sup>[7]</sup>。二氧化氯(ClO<sub>2</sub>)是世界卫生组织(WHO)和联合国粮农组织

(FAO)向全世界推荐的A级广谱、高效、安全的化学消毒剂,是目前国际上公认的性能优良、效果最好的食品保鲜剂,具有很强的氧化作用,利用对微生物的细胞壁有较好的吸附和透过性能,可与蛋白质中的部分氨基酸发生氧化还原反应,使氨基酸分解破坏,进而控制微生物蛋白质的合成,最后导致微生物死亡<sup>[8]</sup>。Nora利用ClO<sub>2</sub>保存马铃薯,可以有效杀灭镰刀菌,防止马铃薯软腐病、干腐病和晚期枯萎病,延长贮藏期<sup>[9]</sup>;另外,ClO<sub>2</sub>处理也可显著减少番茄<sup>[10]</sup>、芒果<sup>[11]</sup>和葡萄<sup>[12]</sup>果实的采后病原菌。过氧乙酸(peracetic acid)是目前所有化学消毒剂中比较突出的一种消毒剂,依靠强大的氧化作用和通过改变细胞内的pH,使酶失去活性,损伤微生物,造成微生物死亡<sup>[13]</sup>。Hanks等研究发现过氧乙酸处理水仙花可抑制由尖孢镰刀菌引起的腐烂<sup>[14]</sup>,也有研究显示过氧乙酸对核果类采后褐变及软腐病具有一定的效果<sup>[15]</sup>。本试验得出与上述研究相一致的结论,但其在生产中的推广应用,还涉及多方面的影响因素,例如防腐剂作用机理、施用工艺的进一步完善以及防腐剂施用后对马铃薯营养成分的影响程度、是否对马铃薯发芽也具有一定的影响等等问题还有待于进一步研究。

## 参考文献

- [1] 石立航,胡俊. 华北部分地区马铃薯贮藏病害的调查及干腐病的初步研究[D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学,2010.
- [2] 李永才,安黎哲. 壳聚糖和硅酸钠对马铃薯干腐病菌的抑制及其机理研究[D]. 兰州:兰州大学,2007.
- [3] 张兴,王兴林. 植物化学保护实验指导[M]. 杨凌:西北农林科技大学出版社,2000:64-66.
- [4] 毕阳,张维一. 感病甜瓜果实的呼吸、乙烯及过氧化物酶变化的研究[J]. 植物病理学报,1993,23(1):69-73.
- [5] 曹寿先,石健,董霞,等. 新杀菌剂仲丁胺对柑桔和薯类的防腐研究[J]. 植物保护,1980(1):10-13.
- [6] 纪淑娟,何晓晗,冯辉. 仲丁胺的防腐作用及其残留检测方法[J]. 北方园艺,2005(4):86-87.
- [7] Eckert J W. Post-harvest diseases of citrus[J]. Agriculture Outlook,1978,9:225-232.
- [8] 傅茂润,杜金华. 二氧化氯在食品保鲜中的应用[J]. 食品与发酵工业,2004,30(8):113-116.
- [9] Olsen N L, Kleinkopf G E, Woodell L K. Efficacy of chlorine dioxide for disease control on stored potatoes[J]. American Journal of Potato Research,2003,80:387-395.
- [10] Tsai L S, Huxsoll C C, Robertson G. Prevention of potato spoilage during storage by chlorine dioxide[J]. Journal of Food Science,2001,66(3):472-477.
- [11] 潘永贵,植丽华,黄德凯. 稳定态ClO<sub>2</sub>杀菌剂在MP芒果上应用研究[J]. 食品科学,2003,24(2):142-144.
- [12] 谭伟,杜金华. ClO<sub>2</sub>在巨峰葡萄表面杀灭葡枝根霉效果的研究[J]. 现代食品科技,2006,22(2):64-66.
- [13] 王涛. 过氧乙酸杀菌效果与稳定性观察[J]. 中国消毒学杂志,1991,8(4):222-225.
- [14] Mari M, Gregori R, Donati I. Postharvest control of *Monilinia laxa* and *Rhizopus stolonifer* in stone fruit by peracetic acid[J]. Postharvest Biology and Technology,2004,33:319-325.
- [15] Hanks G R, Linfield C A. Evaluation of peroxyacetic acid disinfectant in hot water treatment for the control of basal rot (*Fusarium oxysporum* f. sp. *narcissi*) and stem nematode (*Ditylenchus dipsaci*) in narcissus[J]. Phytopathology,1999,147:271-279.