

拈抗细菌 BM Y 1 菌株对几种水果 储藏病原真菌的抑制作用

暴增海¹, 李 一², 曹冬阳¹

(1. 淮海工学院海洋学院 连云港 222005; 2. 河北科技师范学院, 秦皇岛 066004)

摘 要:采用平板对峙培养法测定从土壤中分离获得的拈抗细菌 BM Y 1 菌株对柑桔绿霉病菌(*Penicillium digitatum*)、柑桔青霉病菌(*Penicillium italicum*)、苹果炭疽病菌(*Glomerella cingulata*)、苹果轮纹病菌(*Physalospora piricola*)、梨扩展青霉病菌(*Penicillium expansum*)、葡萄白腐病菌(*Coniothyrium dodiella*)等 6 种水果产后病原真菌的抑制作用。结果表明, BM Y 1 菌株对苹果炭疽病菌(*G. cingulata*)和梨扩展青霉病菌(*P. expansum*)的生长有较好的作用, 抑菌率分别达 48.43%和 50.37%。采用液体共培养法观察到 BM Y 1 菌株对病原真菌的菌丝有破坏作用, 使苹果炭疽病菌菌丝扭曲和断裂, 葡萄白腐病菌菌丝膨大畸形。对几种水果同时接种拈抗细菌 BM Y 1 和病原真菌, BM Y 1 菌株对苹果炭疽病病斑和梨扩青病病斑扩展有较强的抑制作用, 并能有效延迟葡萄白腐病发病时间。

关键词:拈抗细菌 BM Y 1; 水果; 病原真菌; 抑制作用

中图分类号: S482.2⁺92 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2007)03-0039-03

水果采后由于腐烂而造成的损失巨大。据报道, 发达国家由此造成的损失在 10%~25%, 而在缺乏冷藏设施的发展中国家则高达 40%~50%^[1]。长期以来, 使用化学杀菌剂控制水果的采后病害一直被认为是最有效的控制方法。然而, 随着病原菌抗药性的逐渐增加, 以及人们对果品质量要求的不断提高和环保意识的加强, 人们开始注意到化学杀菌剂的潜在危险。自 20 世纪 80 年代中期, 果蔬采后生物防治方法作为一种控制采后病害的新途径, 逐渐为人们所重视并逐步成为研究热点。目前, 人们已经从苹果、柑橘、梨、桃、樱桃、猕猴桃等十余种水果上筛选到几十种拈抗菌, 它们对水果采后主要病害具有明显的拈抗效果。很多拈抗菌已经进行了半商业化的试验^[3,4], 有的拈抗菌已经制成产品被商品化应用。纪兆林等^[5]研究结果表明, 地衣芽孢杆菌 W10 对苹果轮纹病和柑桔炭疽病的抑制分别达 76.45%和 78.92%。田世平等^[6,7]研究认为丝孢酵母(*Thichosporon pallalana*)和罗伦隐球酵母(*Crypt laarentii*)单独使用时, 对大久保桃果实采后软腐病和青霉病的抑制率分别达 36.7%和 56.7%。

实验室从土壤中分离得到一株对植物病原真菌有

较强拈抗作用的细菌 BM Y 1 菌株。通过对拈抗细菌 BM Y 1 特性以及其对致病菌的抑制作用的研究表明, 拈抗细菌 BM Y 1 对番茄灰霉病菌(*Botrytis cinerea*)、辣椒疫霉病菌(*Phytophthora capsici*)、玉米小斑病菌(*Bipolaria maydis*)、玉米弯孢霉叶斑病菌(*Curvularia lunata*)等 11 种植物病原真菌的生长具有良好的抑制作用^[3]。为了进一步开发利用该菌株, 于 2005~2006 年进行了 BM Y 1 菌株对几种水果产后病原真菌的抑制及其防腐作用研究, 现将结果报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌种 拈抗细菌 BM Y 1 从土壤中分离获得; 柑桔绿霉病菌(*P. digitatum*)、柑桔青霉病菌(*P. italicum*)、苹果炭疽病菌(*G. cingulata*)、苹果轮纹病菌(*P. piricola*)、梨扩展青霉(*P. expansum*)、葡萄白腐病菌(*C. dodiella*)由中国农科院植保所提供。

1.1.2 水果 健康蛇龙珠葡萄、黄元帅苹果、鸭梨等从超级市场购得。

1.1.3 培养基 常规牛肉膏蛋白胨培养基和马铃薯葡萄糖琼脂培养基。

1.2 方法

1.2.1 对病菌菌丝生长抑制作用的测定 采用对峙培养法^[8]。用直径为 5 mm 的打孔器在培养好的病原真菌的菌落边缘打取菌盘, 用接种环将菌盘挑入 PDA 平板中心, 在培养皿的四周距离培养皿边缘 15mm 处, 划线

第一作者简介: 暴增海, 男, 1962 年生, 硕士, 教授, 主要从事微生物学的教学和科研工作, E-mail: baozenghai@sohu.com.

基金项目: 淮海工学院科研基金资助, 编号: KK05009.

收稿日期: 2006-10-15

接种用 1 cm 长的拮抗细菌 BM Y 1, 对照四周不接细菌, 25℃恒温培养, 3d 后观察测定菌落直径, 计算抑菌率。每种病原真菌为一处理, 接种 3 皿为 3 次重复。

抑菌率=(对照病原菌菌落直径-处理的病原真菌菌落直径)/对照病原菌菌落直径×100%

1.2.2 对病原真菌菌丝的破坏作用观察 采用液体共培养法。用直径 5mm 打孔器打取 5 块菌盘, 放入装有 80mL PD 培养液的 250mL 三角瓶中, 再向三角瓶中接种菌体浓度为 9.0×10^8 个/mL 的 BM Y 1 菌株悬浮液 1mL, 摇匀, 28℃下, 180r/min, 恒温振荡培养 5d。在显微镜下观察共培养液中病原真菌的菌丝生长状态。

1.2.3 对水果腐烂的抑制作用测定 拮抗细菌的液体培养: 将 10mL 无菌水注入培养 24h 拮抗细菌 BM Y 1 菌株的试管中, 配制成菌悬液, 取 5mL 菌悬液接入到装有 100mL PD 培养液的 250mL 三角瓶中, 28℃下, 180r/min, 恒温振荡培养 24h 和 36h; 病原真菌菌悬液的配制: 将 10mL 无菌水注入到培养 7d 的病原真菌的培养皿中, 用接种环轻轻刮取菌苔表面, 振荡均匀, 备用; 穿刺接种法处理果实: 苹果、梨的处理: 用 75% 的酒精均匀擦洗苹果、梨果实的表面 2min, 无菌水冲洗 3 次, 在苹果、梨的腰部等距离刺 3mm(深)×3mm(宽)的伤口, 每个伤口接种拮抗细菌 BM Y 1 菌株发酵液 50 μ L, 晾干后, 分别接种苹果、梨炭疽病菌的菌悬液 20 μ L。以无菌水为对照, 室温下保湿培养, 每天观察测定病斑直径。葡萄的处理: 取健康无病葡萄果实 50 粒, 75%酒精表面消毒 2min, 无菌水冲洗 3 次, 从葡萄的基部接种拮抗细菌 BM Y 1 菌株发酵液 20 μ L, 干燥后, 基部接种葡萄白腐病菌的菌悬液 10 μ L, 以无菌水为对照, 室温下保湿培养, 观察果实始病时间, 计算果腐率。

2 结果与分析

2.1 拮抗细菌对病原真菌生长的抑制作用

从表 1 可看出拮抗细菌 BM Y 1 菌株对 6 种供试病原真菌都具明显的抑制作用, 但对不同供试病原真菌的抑制作用存有差异, 作用最为明显的是供试菌株对苹果轮纹病菌(*P. piricola*)和苹果炭疽病菌(*G. cingulata*)的作用, 抑制率分别为 50.37%和 48.43%, 其次为 *P. digatatum*、*C. dliodiella*, 对 *P. italicum*、*p. expansum* 的抑制作用较弱, 抑菌率 31.62%和 29.65%。

2.2 拮抗细菌对病原真菌菌丝的破坏作用

拮抗细菌 BM Y 1 菌株和病原真菌共培养后, 苹果炭疽病菌丝生长异常, 菌丝扭曲断裂(图 1), 葡萄白腐病菌丝膨大出现畸形(图 2)。

2.3 拮抗细菌 BM Y 1 对果腐的抑制作用

BM Y 1 菌株发酵 24h 的发酵液处理 1d, 对苹果炭疽病斑扩展有较强的抑制作用, 对照的菌落直径明显低于处理, 抑制率最高达 66.67%。随着时间的延长对病斑的抑

制作用逐渐减弱, 到第 5d, 抑制率降至 48.53%。36h 发酵液对苹果炭疽病病斑的扩展的抑制作用高于 24h 的发酵液, 处理后第 1d 抑制率可高达 70.42%(见表 2)。

表 1 BM Y 1 菌株对不同水果病原真菌菌落生长的抑制作用结果

病原真菌种类	处理菌落直径 (cm)	对照菌落直径 (cm)	抑菌率 (%)
<i>G. cingulata</i>	2.25	4.24	48.43
	2.02	4.02	
	2.13	4.15	
<i>P. a piricola</i>	1.85	3.62	50.37
	1.70	3.52	
	1.75	3.54	
<i>P. expansum</i>	1.51	2.03	29.65
	1.41	2.08	
	1.53	2.30	
<i>P. digatatum</i>	2.20	3.52	39.20
	2.12	3.62	
	2.24	3.65	
<i>C. dliodiella</i>	2.30	3.45	36.78
	2.21	3.62	
	2.35	3.75	
<i>P. italicum</i>	2.10	3.12	31.62
	2.15	3.01	
	2.20	3.20	

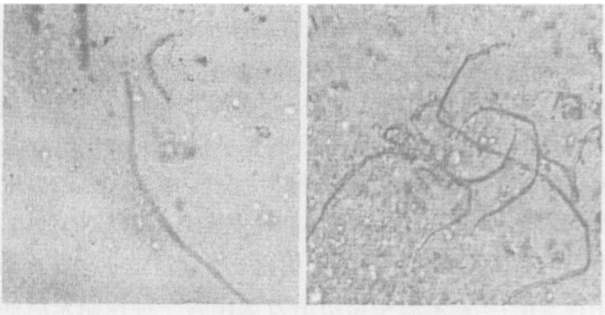


图 1 拮抗细菌 BM Y 1 菌株对苹果炭疽病菌菌丝的破坏作用

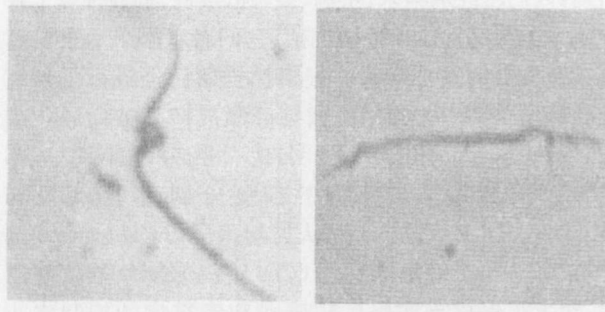


图 2 拮抗细菌 BM Y 1 菌株对葡萄白腐病菌菌丝的破坏作用

接种拮抗细菌 BM Y 1 菌株 24h 发酵液后, 梨扩青病病斑的扩展受到明显的抑制, 第 1d 和第 2d 抑制率分别达到了 75.76%、68.21%, BM Y 1 菌株对梨扩青病斑扩展的抑制作用也随着时间的延长逐渐减弱, 至第 4d 和第 5d 抑制率分别为 49.38%、48.90%。而 36h 发酵液对梨扩展青霉病病斑的扩展高于 24h 的发酵液, 处理后第 1d 和第 2d

的抑制率高达 81.06%和 71.68%(见表 3)。

表 2 拮抗细菌发酵液对苹果炭疽病病斑扩展的抑制

接种后 天数(d)	处理病斑直径(cm)		对照病斑 直径(cm)	抑制率(%)	
	发酵 24h	发酵 36h		发酵 24h	发酵 36h
1	0.51	0.42	1.42	64.54	70.42
2	0.65	0.59	1.95	66.67	69.74
3	1.12	0.95	2.52	55.56	62.30
4	1.53	1.42	3.02	49.34	52.98
5	1.92	1.95	3.73	48.53	47.72

表 3 拮抗细菌发酵液对梨青腐病病斑扩展的抑制

接种后 天数(d)	处理病斑直径(cm)		对照病斑 直径(cm)	抑制率(%)	
	发酵 24h	发酵 36h		发酵 24h	发酵 36h
1	0.32	0.25	1.32	75.76	81.06
2	0.55	0.49	1.73	68.21	71.68
3	1.54	1.31	3.14	50.96	58.28
4	2.05	1.85	4.05	49.38	54.32
5	2.33	2.10	4.56	48.90	53.95

表 4 BMY 1 菌株发酵液对葡萄白腐病的抑制作用

接种后 天数(d)	处理葡萄发病数(cm)		对照葡萄 发病数(cm)	抑制率(%)	
	发酵 24h	发酵 36h		发酵 24h	发酵 36h
1	0	0	9	100.00	100.00
2	4	3	21	80.95	85.71
3	23	19	37	37.84	48.65
4	47	42	50	6.00	16.00
5	50	50	50	0	0

经 BMY 1 菌株处理 24h, 葡萄果实没有发病, 对照出现了 9 个病粒, 处理的发病率明显低于对照, 抑制率达到了 100%。48h 后处理出现病粒, 但 24h 和 36h 发酵液的抑制率仍分别达到 80.95%和 85.71%。第 3d, 抑制率迅速下降, 第 4d 对照与处理的果实全部腐烂, 这可能是由于试验是在保湿环境下进行的, 容易导致葡萄的腐烂。从表 4 可以看出 BMY 1 菌株处理可以推迟葡萄白腐病的发生时间。

Inhibition of Antagonistic Bacterium BMY 1
on Fungal Pathogens of Some Postharvest Fruits and Controls on Fruit Rots

BAO Zeng hai¹, LI Yi², CAO Dong yang¹,

(1. College of Marine Science & Aquaculture, Huaihai Institute of Technology, Lianyungang 222005; 2. Hebei Vocational & Technical Teachers College, Qinhuangdao 066004)

Abstract: Antagonistic bacteria BMY 1 were test for their inhibition against 6 pathogenic fungi of some postharvest fruits such as *penicillium P. digatatum* sacc, *Glomerella cingulata* to, *Physalospora piricola* Nose, *penicillium expansum*, *Coniothyrium dlodiella*, *Penicillium italicum* Wehmer. By using plate confrontation, the inhibitions on the fungi were tested. The result showed that inhibitions of BMY 1 strain on *Glomerella cingulata* and *Physalospora piricola* Nose are better and the bacteriostasis rate is 48.43% and 50.37%, respectively. Meanwhile liquid culturing was employed, the effects on the pathogen hyphae were viewed. The result showed that BMY 1 strain can make *Glomerella cingulata* hyphae of apple disintegrated and tortuous and of *Coniothyrium dlodiella* hyphae abnomal after the treatment of BMY 1. When the bacteria BMY 1 strain were inoculated on healthy fruits, the fruits rot was obviously put off and decreased, and the spot spread was inhibited, which will provide much instrument to the store of some fruits practically.

Key words: Antagonistic bacterium BMY 1; Fruit postharvest; Fungal pathogen; Inhibition

3 讨论

BMY 1 菌株对供试的几种水果储藏期病原真菌具有明显的抑制作用。果实经过该菌株的发酵液处理后, 病斑的扩展速度下降, 葡萄经拮抗细菌发酵液处理后, 果实的发病率也有所降低, 发病时间明显推迟。国内有学者对不同时间接种拮抗细菌对病原菌的生长抑制进行了研究^[9], 结果显示拮抗细菌提前接种的抑菌作用最好, 其次是拮抗细菌与病原菌一起转接, 而拮抗细菌延后移接抑菌效果大大下降。有关 BMY 1 菌株的处理方法和处理时间对水果储藏期病原真菌的抑制作用的影响有待于进一步研究。

参考文献:

[1] 吴敬德, 张春良, 王春林, 等. 果品产后病害生物防治研究进展[J]. 落叶果树, 1998, (2): 57-58.
[2] Holmes G J, Eckert J W. Sensitivity of *Penicillium digitatum* and *P. italicum* to postharvest citrus fungicides in California[J]. Phytopathology, 1999, 89(8): 716-721.
[3] Gulino M L, Kuipers L A M. Social and political implications of managing plant with restricted fungicides in Europe[J]. Annual Review of Phytopathology, 1994, 32(6): 559-57.
[4] Cruz J, Pintor toro J A, Libell A. Purification and characterization of an endo-β-1, 6 glucanase from *Trichoderma harzianum* that is related to its mycoparasitism[J]. Journal of Bacteriology, 1995, 177(7): 1864-1871.
[5] 纪兆林, 童蕴慧, 凌笋, 等. 拮抗细菌对部分水果产后病原真菌的抑制及防腐作用[J]. 南京农专学报, 2004, 19(4): 75-78.
[6] 范青, 田世平, 刘海波, 等. 拮抗菌膜醌毕赤酵母和季也蒙假丝酵母产生的 β-1, 3 葡聚糖酶和几丁酶对软腐病菌的协同抑制[J]. 科学通报, 2001, 14(6): 1713-1717.
[7] 田世平, 范青, 徐勇, 等. 丝孢酵母 *Trichosporon* sp. 与钙和杀菌剂配合对苹果采后病害的抑制效果(英)[J]. 植物学报, 2001, 43(5): 516-526.
[8] 暴增海, 马桂珍, 杨文兰, 等. 生防细菌 BMY 1 对几种植物病原真菌的抑制作用[J]. 中国植保导刊, 2005, 25(11): 5-7.