

大蒜提取液对平菇菌丝及其杂菌的抑菌效果研究

李允祥¹, 国淑梅¹, 张艳君¹, 孙长兰¹, 赵淑芳², 牛贞福¹

(1. 山东农业工程学院, 山东 济南 250100; 2. 山东省农业技术推广总站, 山东 济南 250100)

摘要:以平菇菌种上分离的细菌、真菌为研究对象, 制备不同质液比的大蒜、乙酸乙酯提取液, 采用抑菌圈法研究了大蒜提取液对平菇生产中的竞争性杂菌的抑制作用, 采用菌丝生长速度法测定了大蒜提取液对平菇菌丝生长的影响。结果表明: 以质液比 1:2 提取 48 h 的大蒜提取液对竞争性杂菌的抑制效果明显, 在加入 1% (质液比 1:2) 提取液 pH 8~9 培养基上既不影响平菇菌丝生长, 又能较好地抑制各类杂菌。

关键词:大蒜提取液; 平菇; 杂菌抑制

中图分类号:S 646 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)15-0150-03

平菇生料栽培过程中常发生杂菌污染, 一般采用多菌灵、百菌清等杀菌剂进行拌料预防和喷施防治, 易造成杂菌抗药性增强、防治效果变差。并且, 因平菇生长周期短, 农药残留易对人体健康产生危害。大蒜 (*Allium sativum* L.) 属百合科葱属多年生草本植物, 其提取液有重要的生物活性, 具有很强的抑菌作用, 并且无毒、无残留。因此, 利用天然抑菌物质对平菇生产中的杂菌进行防治具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试大蒜来自山东省苍山县为早熟品种。

细菌: 枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*)、短小芽孢杆菌 (*Bacillus pumilus*)、蕈状芽孢杆菌 (*Bacillus mycoides*), 种源来自平菇菌种上分离, 培养基为牛肉膏蛋白胨琼脂培养基。

真菌: 青霉 (*Penicillium* spp.)、木霉 (*Trichoderma* spp.)、毛霉 (*Mucor mucedo*)、黄曲霉 (*Aspergillus flavus*)、根霉 (*Rhizopus* spp.), 种源来自平菇栽培中污染菌的分离、提纯, 培养基为 PDA。

平菇菌种: “早秋 615”、P45 (东北黑平菇), 由山东农业工程学院农业微生物实验室提供, 培养基为 PDA。

仪器: DHZ-CA 恒温振荡器 (金坛市盛蓝仪器制造有限公司); SPX-250B-Z 型生化培养箱 (上海博迅实业有限公司医疗设备厂); SW-CJ-2F 超净工作台 (上海新苗医疗器械制造有限公司); YXQG02 高压灭菌锅 (山东新华

医疗器械股份有限公司); pH 计 (上海虹益仪器仪表有限公司); SQ2119DX 多功能食品加工机 (上海帅佳电子科技有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 大蒜提取液的制备 用食品加工机把去皮的大蒜粉碎、匀浆、酶解 10 min 后, 用 3 种不同的大蒜、乙酸乙酯的质液比 A (1:1)、B (1:2)、C (1:3), 28℃, 130 r/min 提取 48 h, 抽滤得到 3 种质液比不同的大蒜提取液, 4℃ 保存备用。

1.2.2 菌悬液制备 细菌、真菌菌株分别经牛肉膏蛋白胨、马铃薯葡萄糖液体培养基纯化、活化培养后, 用无菌生理盐水进行梯度稀释, 将菌体 (孢子) 浓度控制在 $10^5 \sim 10^6$ cfu/mL, 4℃ 保存备用。

1.2.3 不同 pH 值抑菌效果测定 将牛肉膏蛋白胨琼脂培养基、PDA 培养基用 NaOH 调至平菇生产的中性偏碱性的环境, pH 自然及 pH 8、9。

1.2.4 抑菌圈活性检测 滤纸片法: 用移液枪取 0.01 mL 细菌 (或孢子) 悬液于牛肉膏蛋白胨 (或 PDA) 平板上, 用无菌涂布棒充分涂匀; 用无菌镊子将直径为 6 mm 的滤纸片 (用大蒜提取液充分浸泡 20 min, 再充分晾干) 贴入平板内, 以对应的乙酸乙酯为空白。将涂有菌液的平板倒置在生化培养箱中培养, 细菌 37℃ 培养 24 h, 真菌 24℃ 培养 48 h, 取出后测抑菌圈直径, 重复 3 次。

1.2.5 大蒜提取液对平菇菌丝生长的影响 分别在含 1% 的 3 种大蒜提取液的 PDA 培养基上, 无菌接入 2 块平菇 0.5 cm × 0.5 cm 的菌种, 以不加大蒜提取液的平板为对照 (CK)。测萌发时间及其菌丝生长速度, 重复 3 次。

1.3 数据分析

采用 DPS v7.05 软件进行数据分析。

第一作者简介:李允祥 (1962-), 男, 本科, 教授, 现主要从事生命科学等研究工作。E-mail: yxjn_01@126.com

基金项目:山东省科技发展计划资助项目 (2012GGC30001); 山东省高等学校科技计划资助项目 (J14LF01)。

收稿日期:2014-04-17

2 结果与分析

2.1 大蒜提取液对细菌的抑制作用

从表 1 可以看出,乙酸乙酯对细菌无抑制效果;大蒜提取液对以上细菌均有一定的抑制作用。对于枯草芽孢杆菌和短小芽孢杆菌来说,各处理无显著差异;对于蕈状芽孢杆菌来说,A、B 处理对于 C 达到显著水平。pH 值对提取液的抑制细菌的效果也有一定的影响,pH 为 8 时,A、B、C 这 3 种处理对于枯草芽孢杆菌的抑制显著高于 pH 自然和 pH 9。

表 1 大蒜提取液对细菌的抑制作用

Table 1 Inhibition effect of garlic extract on bacteria

细菌	质液比	抑菌圈直径/mm			显著性分析		
		pH 自然	pH 8	pH 9	CK	5%	1%
枯草芽孢杆菌	A	14.84	19.14	13.87	6.00	a	A
	B	8.31	21.17	14.25	6.00	a	A
	C	6.00	18.12	6.00	6.00	a	A
短小芽孢杆菌	A	12.49	9.65	6.00	6.00	a	A
	B	14.80	9.21	8.71	6.00	ab	A
	C	6.00	6.00	6.00	6.00	b	A
蕈状芽孢杆菌	A	14.05	14.80	20.33	6.00	a	A
	B	15.54	11.62	17.28	6.00	a	A
	C	6.00	6.00	6.00	6.00	b	B

注:滤纸片直径为 6 mm,抑菌圈 6.00 表示没有抑菌效果,下同。

2.2 大蒜提取液对真菌的抑制作用

从表 2 可以看出,乙酸乙酯对真菌无抑制效果。大蒜提取液对平菇生产中的杂菌有抑制作用,以 A 处理抑制效果最好,对毛霉和根霉的抑制效果与 B、C 处理差异不显著,对青霉的抑制效果与 B 处理差异显著,B、C 处理的抑菌效果均差异不显著;pH 值对提取液的抑制真菌的效果也有一定的影响,总体上 pH 自然和 pH 9 的抑制效果较好,pH 8 抑制效果最差。

表 2 大蒜提取液对供试真菌的抑制作用

Table 2 Inhibition effect of garlic extract on fungi

真菌	质液比	抑菌圈直径/mm			显著性分析		
		pH 自然	pH 8	pH 9	CK	5%	1%
青霉	A	29.84	26.17	31.28	6.00	a	A
	B	13.42	20.93	17.42	6.00	b	A
	C	19.62	26.00	22.62	6.00	ab	A
木霉	A	22.02	15.28	18.96	6.00	a	A
	B	11.39	12.15	15.63	6.00	a	A
	C	21.72	8.54	19.12	6.00	a	A
毛霉	A	23.11	20.46	17.11	6.00	a	A
	B	6.06	6.00	10.17	6.00	b	B
	C	10.48	6.78	7.68	6.00	b	B
黄曲霉	A	23.09	20.91	34.81	6.00	a	A
	B	30.51	19.98	18.00	6.00	a	A
	C	28.58	17.72	28.84	6.00	a	A
根霉	A	27.36	20.22	27.55	6.00	a	A
	B	9.69	11.15	10.39	6.00	b	B
	C	11.78	9.18	8.16	6.00	b	B

2.3 大蒜提取液对平菇菌丝的影响

由图 1 可以看出,大蒜提取液对平菇品种 P45 菌丝

都有一定的影响,其中菌丝在含 A 处理的培养基上不能生长;B、C 处理对 P45 菌丝生长影响较小,虽然加入 B 处理的平菇菌丝比 CK、C 处理萌发较晚,但在第 7 天后的生长情况要好于其它 2 种处理,且差异不显著。

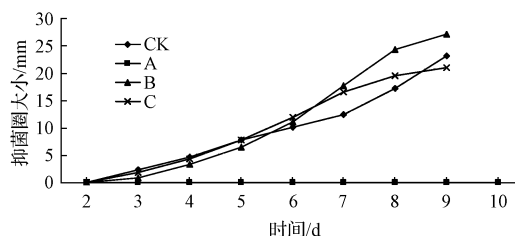


图 1 大蒜提取液对 P45 的菌丝生长影响

Fig. 1 Effect of garlic extract on mycelium growth of P45

从图 2 可以看出,大蒜提取液对平菇品种“早秋 615”的菌丝都有一定的影响,其中菌丝不能在含 A 处理的培养基上生长;B、C 处理对“早秋 615”的菌丝生长影响较小,与 CK 差异不显著。

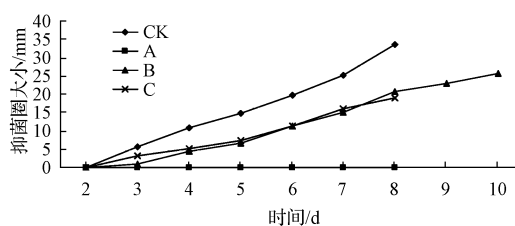


图 2 大蒜提取液对“早秋 615”的菌丝生长影响

Fig. 2 Effect of garlic extract on mycelium growth of 'Zaoqiu 615'

3 结论

大蒜提取液对细菌、真菌都具有良好的抑制作用,结合平菇生产的碱性环境、杂菌发生的不确定性、大蒜提取液的成本等因素,大蒜提取液抑制平菇生产中的竞争性杂菌应以质液比 1:2 进行提取,在 pH 8~9 的环境中使用。平菇品种 P45、“早秋 615”均不能在含 1% 质液比 1:1 (A 处理) 的培养基上生长;质液比 1:2、1:3 对这 2 个品种菌丝生长影响较小,甚至菌丝生长好于不加大蒜提取液的培养基。综上所述,大蒜提取液在平菇生产中应以质液比 1:2 进行提取,在 pH 8~9 的培养基上加入培养基含量的 1%,来抑制平菇生产中的竞争性杂菌,生产绿色农产品。虽然适宜的大蒜提取液浓度对于平菇的菌丝生长影响较小,但对平菇实际产量、品质的影响还有待进一步验证。

参考文献

- [1] 郭红珍,姚越红,王秋芬. 大蒜抑菌作用的研究[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(2): 414-415.
- [2] 徐文静,杜茜,赵洪银,等. 大蒜提取液抑菌活性及其稳定性分析[J]. 中国生物防治, 2008, 24(增刊): 76-80.
- [3] 杨革. 微生物学实验教程[M]. 2 版. 上海: 科学出版社, 2010.

用 $L_9(3^4)$ 正交实验筛选富硒香菇液体培养基

彭 浩^{1,2}, 乔 艳 明¹, 陈 文 强^{1,2}, 邓 百 万^{1,2}

(1. 陕西理工学院 生物科学与工程学院, 陕西 汉中 723001; 2. 陕西省食药菌工程技术研究中心, 陕西 汉中 723001)

摘 要:以香菇“南山1号”菌种为试材,采用 $L_9(3^4)$ 正交实验筛选富硒香菇的优化液体培养基配方。结果表明:香菇菌种在固体和液体培养基中 Na_2SeO_3 的最适浓度均为 60 mg/L,富硒香菇菌种的最适液体培养基配方为:玉米粉 30.0 g/L、黄豆粉 6.0 g/L、 KH_2PO_4 1.5 g/L、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g/L、 H_2O 1 000 mL、pH 自然。

关键词:富硒香菇;正交实验;筛选;液体培养基

中图分类号:S 646 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)15-0152-06

香菇 (*Lentinula edodes*) 属层菌纲(Hymenomycetes)伞菌目(Agaricales)新香菇属(*Lentinula*)^[1], 又称香蕈、厚菇、花菇。香菇具有独特的香味,其营养价值和药用价值极高。秦巴山区气候温和湿润,适宜菌类生长,所产香菇以其质厚和肉嫩而深受人们喜爱。一般而言,组成香菇蛋白质的 18 种氨基酸中包含了人体所必须的 8 种氨基酸。还含有多种维生素、矿物质,对促进人体新陈代谢,提高机体适应力有很大的帮助;对糖尿病、肺结核、传染性肝炎、神经炎等起治疗作用。另外,香菇还具有预

防肿瘤、降血脂、抗血栓、健胃保肝、预防佝偻病、缓减便秘、治贫血等功效^[2]。香菇多糖(Lentinan)、香菇太生(Lentysin)、干扰素(Interferon)及其诱导物等活性物质,通过提高辅助性 T 细胞的活力而增强人体免疫功能。

硒(Se)是人体所必需的微量元素,是谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)、脱碘酶(ID)、硒蛋白 P、硒蛋白 W 的重要组成部分,具有维持人类机体抗病能力,保护眼组织、肌肤、心脏和肝脏,防止体内产生毒性物质等重要的生理功能^[3-5]。贫血、冠心病、大骨节病、糖尿病、癌症等多种疾病都与人体内缺乏硒元素有关^[6-7]。硒在人体内不能合成,必须从体外摄入^[6],而无机硒(硒酸盐、亚硒酸盐)均有毒,其使用范围和剂量都受到限制,有机硒化合物属无毒或低毒,且生物利用率高。因此,有机硒成为人体补硒的首选^[8-10]。

食药用菌液体菌种较固体菌种具有制种简便、菌龄一致、生产周期短、菌种纯度高、菌丝萌发速度快、使用

第一作者简介:彭浩(1979-),男,硕士,实验师,现主要从事微生物资源开发利用等研究工作。E-mail:penghao00@snut.edu.cn.

责任作者:陈文强(1956-),男,教授,硕士生导师,现主要从事微生物资源的保护与利用等研究工作。E-mail:wenqiangc@126.com.

基金项目:陕西“13115”科技创新工程计划资助项目(2008IDGC-04)。

收稿日期:2014-04-17

Inhibition Effect of Extract Garlic on *Pleurotus ostreatus* Mycelium and Competitive Microbes

LI Yun-xiang¹, GUO Shu-mei¹, ZHANG Yan-jun¹, SUN Chang-lan¹, ZHAO Shu-fang², NIU Zhen-fu¹

(1. Shandong Agriculture and Engineering University, Jinan, Shandong 250100; 2. Shandong Agricultural Technology Extension Station, Jinan, Shandong 250100)

Abstract: With bacteria and fungus that separated from *Pleurotus ostreatus* as research object, different ratio of quality to liquid of garlic and ethyl acetate was prepared. The inhibition effect of garlic extract on competitive microbes in mushroom production was studied by inhibition zone method. The influence of garlic extract on *Pleurotus ostreatus* mycelium growth was also analyzed through mycelial growth rate method. The results showed that garlic and ethyl acetate (w/v) 1 : 2 extracted for 48 h, which inhibition effect was remarkable. Added garlic extract 1% of medium content in the culture medium of pH 8~9, which didn't affect the growth of *Pleurotus ostreatus* mycelium, but could enhance the inhibition effect on various competitive microbes.

Key words: garlic extract; *Pleurotus ostreatus*; competitive microbe's inhibition