

# 不同大蒜品种及其生育期的提取液对平菇及其竞争性杂菌的抑制研究

牛贞福<sup>1</sup>, 国淑梅<sup>1</sup>, 李 丹<sup>1</sup>, 高 霞<sup>2</sup>, 张艳君<sup>1</sup>, 李允祥<sup>1</sup>

(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 3 个大蒜品种为试材, 研究发芽前后的提取液对平菇竞争性杂菌的抑制作用。结果表明: 各处理对平菇生产中的细菌、真菌均有抑制作用。其中发芽前大蒜早熟品种对细菌、真菌的抑制作用比晚熟品种、无薹品种总体要好; 发芽后的提取液对细菌抑制比发芽前有所下降, 但对真菌的抑制作用明显上升, 并且在碱性条件下发芽后的提取液抑菌性能比发芽前稳定; 在平菇菌袋中分别加入不同品种的大蒜提取液, 平菇菌丝生长速度总体差异不显著, 但晚熟品种具有较强的抑制作用。

**关键词:**大蒜品种; 发芽; 平菇; 竞争性杂菌

**中图分类号:**S 646. 1<sup>+</sup>4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)22-0147-03

杂菌污染是食用菌菌种及其生产中经常遇到的棘手问题, 对生料类栽培的平菇尤为严重, 目前一般采用化学杀菌剂如多菌灵、百菌清等进行拌料预防和喷施防治。滥用化学杀菌剂一方面会使平菇杂菌的抗药性增强, 其农药残留同时降低了产品的国际竞争力, 另一方面也会对人的身体健康产生一定的危害。

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, 并具有很强的抑菌作用, 其所含的天然抑菌物质对平菇生产中杂菌的抑制具有重大意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

大蒜品种: 大蒜早熟品种(A)与晚熟品种(B)种源来自山东省苍山县; 无薹品种(C)种源来自山东省金乡县。

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*), 菌源为平菇菌种上分离, 培养基为牛肉膏蛋白胨琼脂培养基。

真菌: 木霉(*Trichoderma* spp.)、毛霉(*Mucor muce-*

*do*)、黄曲霉(*Aspergillus flavus*)、根霉(*Rhizopus* spp.)、青霉(*Penicillium* spp.), 种源为平菇栽培中污染菌提纯, 培养基为 PDA。

平菇菌种: “早秋 615”、“黑丰 268”种源为山东农业工程学院微生物实验室提供, 培养基为棉籽壳 80%、麸皮 15%、石灰粉 3%、石膏 2%。

DHZ-CA 恒温振荡器(金坛市盛蓝仪器制造有限公司); SPX-250B-G 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); pH 计(上海虹益仪器仪表有限公司); JYL-C020 九阳料理机(山东九阳股份有限公司)。

### 1.2 试验方法

1.2.1 大蒜提取液的制备 用料理机把去皮的 3 个大蒜品种分别进行粉碎、匀浆, 酶解 10 min 后, 然后按质液比 1:1 的比例加入乙酸乙酯(AR), 放置在 30℃ 下恒温振荡提取 48 h, 振速为 125 转/min, 最后抽滤得 3 种大蒜提取液, 放置 4℃ 冰箱内备用。用上述方法把芽长在 0.5 cm 左右的 3 个大蒜品种分别进行粉碎、匀浆、提取、抽滤, 放置 4℃ 冰箱内备用。

1.2.2 菌悬液制备 细菌菌株经牛肉膏蛋白胨液体培养基纯化、活化培养, 用无菌生理盐水进行梯度稀释, 将菌体浓度控制在  $10^5 \sim 10^6$  cfu/mL, 放入 4℃ 冰箱内备用。真菌菌株经马铃薯葡萄糖液体培养基纯化、活化培养, 用无菌生理盐水进行梯度稀释, 将孢子浓度控制在  $10^5 \sim 10^6$  cfu/mL, 放入 4℃ 冰箱内备用。

1.2.3 不同 pH 值抑菌效果测定 细菌、真菌培养基在 50℃ 左右时, 用 NaOH 调至平菇生产的 pH 8~9 适宜范

**第一作者简介:**牛贞福(1976-), 男, 山东东阿人, 硕士, 副教授, 现主要从事食用菌的教学与科研工作。E-mail: zhenfuniu@163.com.

**责任作者:**李允祥(1962-), 男, 山东嘉祥人, 本科, 教授, 现主要从事生命科学的的教学与科研工作。

**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:**2014-07-10

围,以 pH 自然为对照,然后采用滤纸片法测定大蒜提取液在不同 pH 值培养基上对细菌、真菌的抑制效果,方法同 1.2.4。

1.2.4 大蒜提取液对竞争性杂菌抑制活性检测 滤纸片法<sup>[1]</sup>:1)用移液枪取 0.01 mL 细菌(或真菌孢子)悬液于牛肉膏蛋白胨(或 PDA)平板上,用无菌涂布棒充分涂匀;2)用无菌镊子将直径为 6 mm 的滤纸片在大蒜提取液中充分浸泡 20 min,然后充分晾干,用无菌镊子将滤纸片贴入平板内,对应的乙酸乙酯为空白对照;3)将平板倒置在生化培养箱中培养,细菌在 37℃ 下培养 24 h,真菌在 24℃ 下培养 48 h,取出测抑菌圈直径,3 次重复。抑菌圈越大,抑菌效果越好。

1.2.5 大蒜提取液对平菇菌丝生长的影响 把 3 个品种大蒜提取液以占培养基 1% 左右的量分别加入平菇生料培养基后混匀,按 4 层菌种 3 层料的方式装袋栽培,塑料袋的规格为 17 cm×55 cm×0.04 cm,其成分为聚乙烯;平菇菌种用量为 10% 左右,微孔发菌,以不加大蒜提取液的为对照。3 次重复。

## 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,3 个大蒜品种提取液,在不同的 pH 值下无论无芽、发芽对以上细菌均有一定的抑制效果。从品种看,在大蒜无芽和有芽时 A 品种总体抑菌效果最好,B、C 次之,其中发芽后 A 品种的提取液对草状芽孢杆菌的抑制作用显著强于 C 品种。

表 1 大蒜提取液对供试细菌的抑制效果  
(以抑菌圈直径表示,mm)

Table 1 Inhibition effect of garlic extract on bacteria  
(antibacterial circle diameter,mm)

细菌	品种	无芽 Non-bud			发芽 With bud		
Bacteria	Variety	pH 自然	pH 8	pH 9	pH 自然	pH 8	pH 9
枯草芽孢杆菌	A	21.86	10.48	25.12	15.22	16.92	23.12
	B	18.52	21.38	16.72	12.48	16.18	16.88
	C	20.92	16.42	12.38	14.42	15.22	16.96
短小芽孢杆菌	A	31.94	16.92	28.84	16.00	18.00	12.56
	B	29.00	20.84	24.56	17.22	17.48	14.70
	C	28.44	14.76	25.16	25.52	14.40	16.60
草状芽孢杆菌	A	20.10	22.50	6.00	24.00	26.42	24.60
	B	15.52	10.20	6.00	16.68	27.12	17.68
	C	18.20	19.42	6.00	18.88	21.72	14.24

大蒜发芽前后的提取液对细菌的抑制有差异,无芽大蒜提取液在 3 种 pH 值环境下抑菌效果差异较大,尤其在 pH 9 的情况下对草状芽孢杆菌无抑制作用;发芽大蒜的提取液虽然对细菌的抑制效果有所下降,但在 3 种 pH 环境下抑菌效果稳定。

培养基的 pH 值对大蒜发芽前后提取液的抑细菌效果也有一定影响,pH 自然时 3 个品种发芽前后配对检验对枯草芽孢杆菌的抑制差异极显著,pH 9 时 3 个品

种发芽前后配对检验对短小芽孢杆菌、草状芽孢杆菌抑制差异显著,其余配对差异不显著。

### 2.2 大蒜提取液对真菌的抑制作用

从表 2 可以看出,3 个大蒜品种发芽前后的提取液对各种真菌均有一定的抑制作用。在无芽大蒜的提取液中,对于毛霉的抑制 A、B 品种的抑菌效果显著强于 C 品种,对于青霉的抑制 A 品种显著强于 C 品种,其余均不显著。

3 个大蒜品种发芽后提取液的抑菌效果明显比无芽大蒜提取液抑菌效果好,尤其是大蒜发芽后的提取液在碱性条件下对真菌的抑菌效果较正常大蒜提取液总体较好。pH 自然时,3 个大蒜品种发芽前后提取液对各种真菌配对检验,差异均不显著;pH 为 8 时,配对检验对青霉的抑制效果极显著;pH 为 9 时,配对检验对毛霉、青霉的抑制效果差异显著,对黄曲霉效果极显著。

表 2 大蒜提取液对供试真菌的抑制效果  
(以抑菌圈直径表示,mm)

Table 2 Inhibition effect of garlic extract on fungi  
(antibacterial circle diameter,mm)

真菌	品种	无芽 Non-bud			发芽 With bud		
Fungi	Variety	pH 自然	pH 8	pH 9	pH 自然	pH 8	pH 9
木霉	A	13.00	19.00	16.10	39.20	26.10	33.36
	B	22.80	10.52	16.20	21.00	29.20	26.48
	C	16.14	16.10	12.12	36.00	31.40	40.40
毛霉	A	18.22	6.00	9.92	18.78	14.92	15.00
	B	12.20	10.38	10.52	22.62	19.04	21.72
	C	6.00	6.00	6.00	25.00	24.96	13.74
黄曲霉	A	16.28	11.80	7.42	16.44	52.20	26.80
	B	6.48	15.00	12.00	21.80	20.36	37.80
	C	11.22	20.08	9.88	43.20	25.12	37.00
根霉	A	26.00	32.56	19.90	32.80	28.60	35.04
	B	18.00	30.44	18.92	18.60	30.20	37.40
	C	16.32	17.92	20.92	40.52	27.20	25.36
青霉	A	16.82	8.24	13.92	32.80	28.60	35.04
	B	13.62	6.00	9.88	18.60	30.20	37.40
	C	9.00	6.00	6.00	40.52	27.20	25.36

### 2.3 大蒜提取液对平菇菌丝的影响

从图 1 可以看出,在平菇品种“早秋 615”菌袋中加入不同品种的大蒜提取液,各处理间的菌丝生长速度无显著差异。

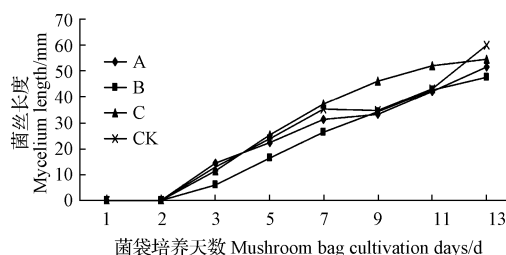


图 1 大蒜提取液对“早秋 615”平菇菌丝生长的影响  
Fig. 1 Effect of garlic extract on mycelium growth of *Pleurotus ostreatus* 'Early autumn 615'

从图 2 可以看出,在平菇品种“黑丰 268”菌袋中加入不同品种的大蒜提取液,菌丝生长速度 C、CK 处理显著快于 B 处理,其余处理间不显著。

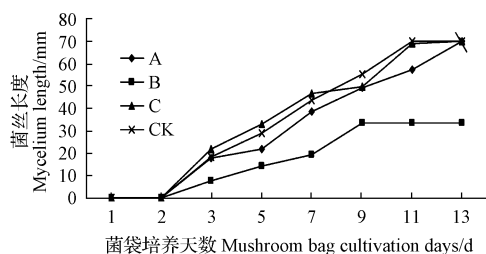


图 2 大蒜提取液对“黑丰 268”平菇菌丝生长的影响

Fig. 2 Effect of garlic extract on mycelium growth of *Pleurotus ostreatus* 'Black high yield 268'

### 3 结论与讨论

大蒜品种无芽时的提取液对平菇生产中常见细菌、真菌均有抑制作用。对细菌 A 品种大蒜抑菌效果较好,品种间差异不显著;对真菌的抑制有一定的差异,A 品种抑菌效果最好,其中 A、B 品种的提取液对毛霉的抑制作用显著强于 C 品种,A 品种提取液对青霉的抑制作用显著强于 C 品种。大蒜提取液对细菌、真菌的抑制效果品种间有差异,A 品种总体效果最好。

大蒜发芽前后的提取液对细菌、真菌的抑制有一定差异。发芽大蒜提取液对细菌的抑制效果较发芽前总体有所下降,但发芽后比发芽前在 3 种不同的 pH 环境下抑菌效果稳定;大蒜发芽后的提取液在碱性条件下对真菌的抑菌效果较发芽前的总体较好。

大蒜发芽前后的提取液在不同的 pH 值下对细菌、真菌的抑制也有差异。pH 自然时 3 个品种发芽前后配对检验对枯草芽孢杆菌的抑制差异极显著,pH 为 9 时

3 个品种发芽前后配对检验对短小芽孢杆菌、蕈状芽孢杆菌抑制差异显著,其余配对差异不显著;pH 为 8 时,3 个品种发芽前后配对检验对青霉的抑制效果极显著;pH 为 9 时 3 个品种发芽前后配对检验对毛霉、青霉的抑制效果差异显著、对黄曲霉极显著。

不同的大蒜品种提取液对平菇“早秋 615”、“黑丰 268”在菌丝生长速度方面与对照总体相比无显著差异,但 B 品种对 2 个平菇品种菌丝的生长有较大抑制作用。

综上,可在平菇生料栽培中加入 A 品种的大蒜提取液,以最大限度地防控平菇生产中的细菌、真菌,生产安全优质的平菇产品,并可对其它食用菌的绿色生产提供参考<sup>[2]</sup>。

大蒜发芽前后提取液对细菌、真菌抑制不同,虽然对细菌抑制效果的总体有所下降,但对于真菌的抑制作用有所上升,并且发芽后大蒜提取液对细菌、真菌在碱性条件下抑菌性能稳定,抑菌效果可能与大蒜发芽后的 SOD 含量上升有关<sup>[3]</sup>,其抑菌机理和芽长度不同是否存在抑菌效果的差异还有待深入研究。

不同品种的大蒜提取液对平菇生料生产中的细菌、真菌等竞争性杂菌均有较强的抑制作用,A 品种既对竞争性杂菌抑制效果好,又对平菇菌丝影响较小;C 品种对竞争性杂菌抑制效果较差,但对平菇菌袋的发菌具有一定的促进作用,其中是否具有相关性还有待进一步研究。

### 参考文献

- [1] 徐文静,杜茜,赵洪磊,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.
- [2] 刑增涛,郁琼花. 2012 年我国双孢蘑菇罐头出口受阻事件解析[J], 食用菌,2014(1):1-3.
- [3] 王金主,杨丹,徐军庆. 大蒜中 SOD 的测定[J]. 山东食品发酵,2011(1):27-29.

## Effect of Different Garlic Cultivars and Its Extracting Solution Under Different Growth Stages on Inhibition of *Pleurotus ostreatus* and Competitive Microbes

NIU Zhen-fu<sup>1</sup>, GUO Shu-mei<sup>1</sup>, LI Dan<sup>1</sup>, GAO Xia<sup>2</sup>, ZHANG Yan-jun<sup>1</sup>, LI Yun-xiang<sup>1</sup>

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

**Abstract:** Taking three varieties of garlic as material, inhibition effect of different garlic extracts was studied on *Pleurotus ostreatus* and competitive microbes. The results showed that, both bacteria and fungi were inhibited in *Pleurotus ostreatus* production. Inhibition effect of early-maturing cultivar to bacteria and fungi was better than late maturing variety and non-sedge variety before germination. Inhibition effect declined bacteria and increased fungi significantly and was more stable under alkaline conditions after germination. The difference of *Pleurotus ostreatus* mycelium growth rate was not significant among varieties when different extract were added to culture medium, but late maturing had strong inhibition effect.

**Keywords:** garlic cultivars; germination; *Pleurotus ostreatus*; competitive microbes