

# 姜蒜汁液及其可培养内生菌对苹果腐烂病的拮抗筛选研究

侯晓杰

(衡水学院 生命科学系,河北 衡水 053000)

**摘要:**以苹果腐烂病菌菌丝生长为研究对象,研究了姜研磨液、蒜研磨液、姜内可培养内生细菌和蒜内可培养内生细菌对苹果腐烂病的拮抗作用。结果表明:姜研磨液对苹果腐烂病菌菌丝的抑制效果较好,蒜研磨液对苹果腐烂病菌菌丝生长没有抑制效果;蒜内分离到2株可培养的内生细菌对苹果腐烂病菌菌丝生长有明显的抑制效果,姜内没有分离到对此病害有抑制效果的可培养内生细菌。

**关键词:**苹果腐烂病;姜、蒜研磨液;可培养内生细菌;拮抗

**中图分类号:**S 436.611 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)10-0116-04

苹果腐烂病又称烂皮病、臭皮病,主要分布在中国、日本、韩国等苹果主要栽培区。该病危害苹果等苹果属树木以及梨、桃、樱桃、梅等,主要侵染结果树的枝干,幼树、苗木和果实亦可受害。苹果腐烂病已成为当前苹果生产上的最严重病害之一,严重影响苹果生产的产量与质量,从而影响果农的收益。

姜蒜是人们喜爱的调味品,是家庭烹调菜肴不可少的香辛料,姜蒜的成分大体相似,既含有糖、蛋白质、维生素等营养物质,又含有植物杀菌素,杀菌作用极为相似。生姜大蒜提取物对蔬菜均具有保鲜作用,乙醇提取物的保鲜效果明显好于水提取物,保鲜有效成分含有水不溶性物质<sup>[1-4]</sup>。宫春波等<sup>[5]</sup>通过研究证明了鲜姜汁可以作为安全、可靠、保健的防腐剂应用于食品、饮料

等工业中;抑制腐败菌的繁殖,延长产品保质期。赵晋<sup>[2]</sup>研究表明,姜辣素、姜精油及其混合物对猪油和大豆油具有一定的抗氧化作用,且有一定的抑菌效果。姜蒜的应用已不仅仅只局限在生活调料品上,在食品保鲜、防腐、制药、抑制腐败菌等方面发挥着越来越重要的作用。

内生真菌的研究历史比较悠久,自从1898年Vog<sup>[6]</sup>从禾本科植物毒麦种子中分离到的第一株内生真菌开始人们就对内生真菌展开了一定的研究。关于内生细菌对植物病原菌的拮抗作用,前人研究已证明,植物内生细菌中存在大量的对植物病原菌具有拮抗作用的菌株,不同植物含有对病原菌具有拮抗作用的内生细菌的种类有所不同<sup>[7]</sup>。何红等<sup>[8]</sup>研究表明辣椒体内含有对多种植物病原菌具有拮抗作用,并对植物病害有防治效果的内生细菌。邓振山等<sup>[9]</sup>通过对木霉-病原菌的对峙培养作为对照发现银杏中的内生真菌对苹果腐烂病有明显的抑制作用。乔红萍等<sup>[10]</sup>研究表明小麦的

**作者简介:**侯晓杰(1981-),女,博士,讲师,研究方向为园林植物病虫害防治。E-mail:houxiaojie23@163.com.

**收稿日期:**2013-12-18

**Abstract:**One fungal strains was separated from the leaf spot of *Calotropis gigantean*, noted for CX008. It was identified through the combination of morphological observation and modern molecular biological technique, the culture traits of it were studied based on the morphological characteristics. The results showed that: the pathogen is *Alternaria tenuissima* (Nees ex Fr.). The fungi was able to use 7 kinds of carbon and nitrogen sources. The best carbon and nitrogen source for its growth were glucose and beef extract respectively. The mycelial could grow at 15~40°C, the appropriate temperature for its growth was 25~30°C, mycelial stopped growing at 5°C, 10°C and 45°C. Its spore was able to germinate at 15~40°C, the appropriate temperature was 28°C, it could not germinate when temperature exceed 40°C. 12 h light and dark alternative was helpful to mycelial growth, photoperiod had little influence on spore germination. In laboratory test, there were inhibitory action for 5 kinds broad-spectrum fungicide on mycelial growth. Iprodione was the best getrmicides on the tested, then Metalaxyl mancozeb, Chlorothalonil and Mancozeb as follow, the worst was Fenaminosulf.

**Key words:** *Calotropis gigantea*; leaf spot; pathogen identification; biological characteristics

内生细菌对其根部病原菌具有明显的抑制作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验所用生姜和大蒜均购于菜市场,苹果腐烂病菌由衡水学院生命科学系微生物实验室保存,培养基为 PDA 培养基、营养琼脂培养基。

仪器设备:YXQ-LS-70A 高压灭菌锅、LRH-70F 生化培养箱、SK2002 美的电磁炉、AG823LC7-NCH1 美的微波炉、BBS-V800 超净工作台。

### 1.2 试验方法

1.2.1 姜、蒜研磨液的制备 将从室外购回的生姜和大蒜(去表皮)分别在无菌的环境中,用 75% 的酒精棉球擦拭其表面,晾干。用灭菌的解剖刀和镊子去除表皮(注意不要污染内部组织),挑取内部组织 0.1 g,放入灭菌的研钵中加 1 mL 无菌水充分研磨,静置。

1.2.2 研磨液对苹果腐烂病菌菌丝生长抑制试验 PDA 培养基溶解后冷却至 50℃ 左右时,分别将上述研磨液加入到装有 PDA 培养基的三角瓶内,混匀,倒入平板。将苹果腐烂病菌打菌落块备用,待平板制成后在每个培养皿平板中心位置放置一菌落块,将培养皿移至生化培养箱内培养,以苹果腐烂病菌菌落块在加入清水制成的 PDA 培养基平板上生长为对照,观察研磨液的抑菌效果。每处理 3 次重复。

1.2.3 姜、蒜组织内可培养内生细菌的分离 采用组织分离法,分别吸取生姜、蒜研磨液上层物质 100  $\mu$ L 加到营养琼脂培养基平板(即 NA 培养基平板)上,涂匀,置于

28℃ 生化培养箱中培养,48 h 后观察姜、蒜内生细菌的生长状况并进行纯化。

1.2.4 内生细菌对苹果腐烂病菌菌丝生长抑制试验 采用平板对峙法,分别将分离到内生细菌纯化培养后制备菌悬液,同时制备 PDA 培养基平板,采用对峙培养法,在每个平板外围放置 4 个滤纸片,其上加入 50  $\mu$ L 内生细菌菌悬液,后将苹果腐烂病菌菌落块至于平板中心位置,置于培养箱内培养,以无菌水作对照观察其抑菌效果。每处理 3 次重复。

## 2 结果与分析

### 2.1 姜蒜研磨液对苹果腐烂病菌菌丝生长抑制试验

在真菌培养基基础培养基 PDA 中分别混匀姜、蒜研磨液的上清液,然后接种苹果腐烂病菌,48 h 后观察真菌菌落的大小。

由图 1 和表 1 可知,苹果腐烂病菌丝培养 48 h 后观察,姜研磨液对苹果腐烂病菌菌丝生长有很好的抑制作用;蒜研磨液对苹果腐烂病菌菌丝生长几乎没有抑制效果,菌落大小与对照几乎相同。蒜研磨液抑菌试验中,平板上有内生细菌菌落长出。

表 1 姜、蒜研磨液对苹果腐烂病菌菌丝生长抑制试验结果

研磨液	真菌菌落直径(3 次重复)			平均直径
姜	1.3	2.6	2.4	2.1
蒜	3.5	3.5	3.7	3.6
CK	3.7	3.6	3.9	3.7

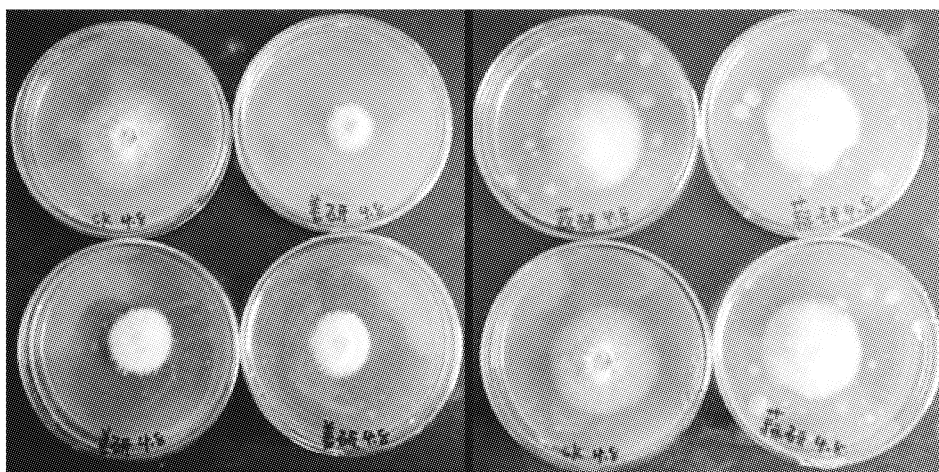


图 1 姜、蒜研磨液对苹果腐烂病菌菌丝生长的影响(48 h)

由图 2 和图 3 可以看出,96 h 后观察,姜研磨液对苹果腐烂病菌菌丝生长的确有很好的抑制作用,而蒜研磨液对苹果腐烂病菌菌丝生长无抑制作用,但蒜内长出的内生细菌菌落对苹果腐烂病菌菌丝生长有非常明显的抑制作用。

### 2.2 姜蒜可培养内生细菌的分离

分别将上述试验过程中应用的研磨液涂于营养琼脂平板(即 NA 培养基平板)上,48 h 后观察姜、蒜内生细菌的生长状况并进行纯化。由图 4 和图 5 可知,姜、蒜研磨液分别在 NA 平板和 PDA 平板上分离纯化到 2 株和 3 株内生细菌。



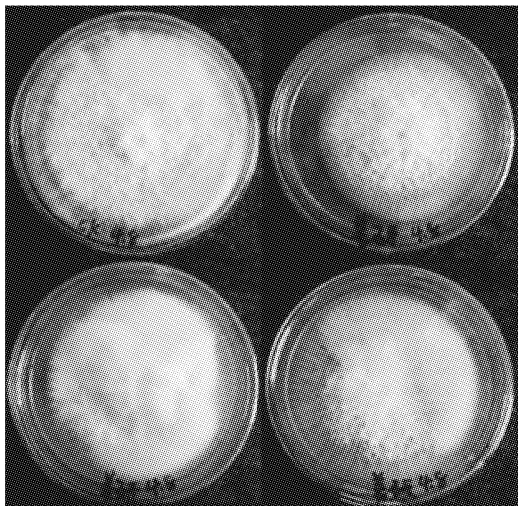


图2 姜研磨液对苹果腐烂病菌菌丝生长的影响(96 h)

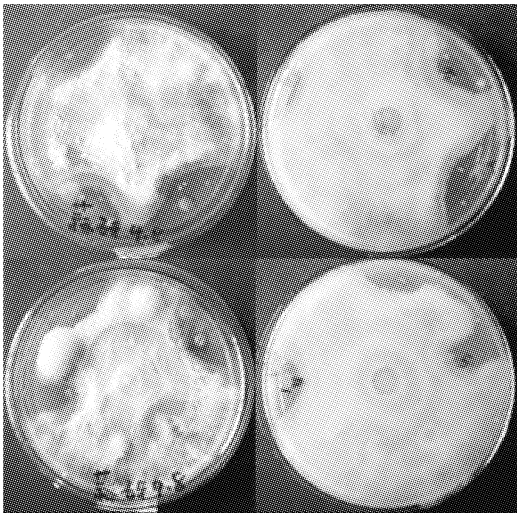


图3 蒜研磨液对苹果腐烂病菌菌丝生长的影响(96 h)

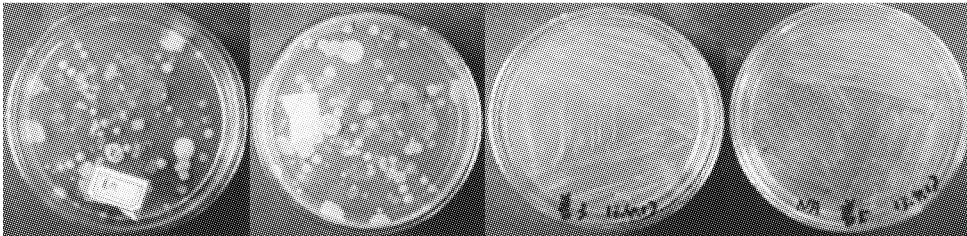


图4 姜分离内生细菌及纯化内生细菌

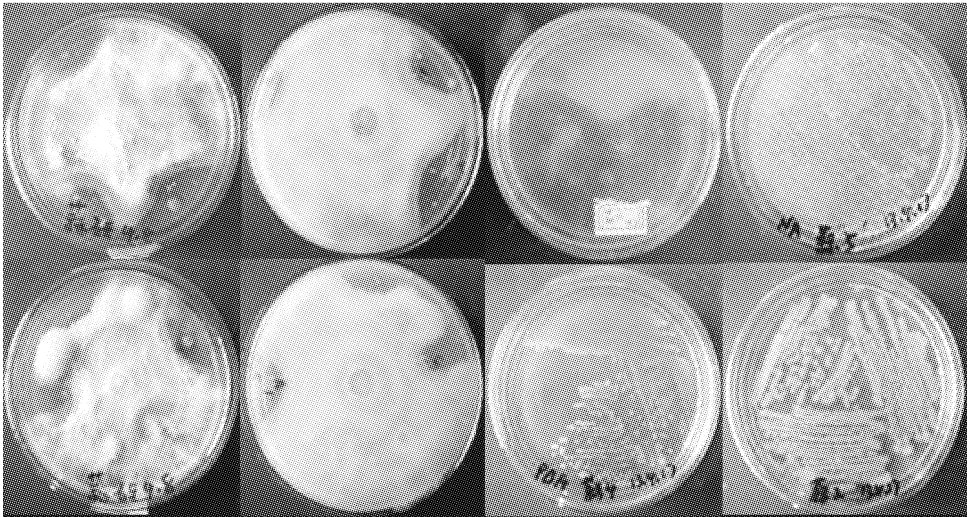


图5 蒜内生细菌

2.3 姜蒜内生菌对苹果腐烂病菌菌丝的生长抑制作用

由图6和表2可知,蒜4和蒜5对苹果腐烂病菌菌丝有明显的抑制效果,其它内生细菌抑制效果无或者不明显。

3 结论与讨论

菌丝生长抑制试验表明,姜研磨液和蒜内2株可培养内生细菌都对苹果腐烂病有明显的拮抗效果,这为进一步筛选在大田中防治苹果腐烂病的植物内生细菌奠

表2 姜、蒜内生细菌对苹果腐烂病菌菌丝生长抑制结果

内生细菌	真菌菌落直径(3次重复)			平均直径 mm
姜3	7.2	8.1	7.8	7.7
姜4	7.0	6.3	6.7	6.7
蒜2	6.8	6.8	6.5	6.7
蒜4	2.0	2.4	2.3	2.2
蒜5	1.5	1.7	1.5	1.6
CK	8.0	7.7	7.9	7.9



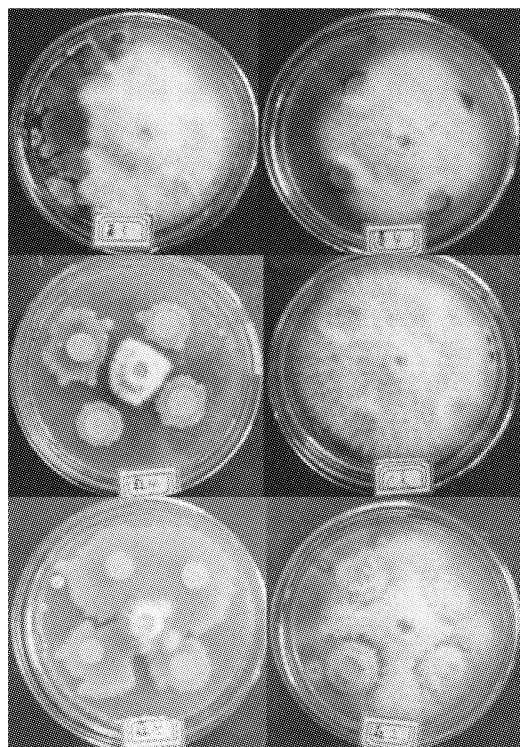


图6 姜、蒜内生细菌对苹果腐烂病菌菌丝生长的影响(72 h)

定基础。后续试验中,该课题组将研究姜研磨液中对腐烂病有拮抗作用的成分,分析是研磨液中的内生菌在起作用还是其它成分对腐烂病有抑制效果,找到其抑菌机理。同时,对有抑制效果的内生细菌还要进行其形态特征、生物学特性及分子生物学的鉴定。进一步进行研磨液或者内生细菌对苹果腐烂病菌孢子萌发的影响、对室内活体寄主病害发生的影响及其对田间寄主病害的防治效果测定。

在该试验中,该课题组发现了姜研磨液和蒜内可培养内生细菌对苹果腐烂病菌菌丝的生长抑制效果,但并

未对姜和蒜内不可培养内生细菌及其它种类的内生菌对苹果腐烂病的抑菌效果进行试验,植物内不可培养内生菌占其体内内生菌群的主要地位,所以,研究姜和蒜内不可培养内生细菌,内生真菌和内生链霉菌等对苹果腐烂病的抑菌作用也是今后的研究方向。

我国是农业大国,果农在国民生产总值中占有重要地位,很大程度上影响着农民的收入和国民经济的增长。而苹果腐烂病又是严重威胁苹果产量的病害之一。生物防治虽然对苹果腐烂病具有很大优势不过因为技术不是很成熟、费用高等原因,所以并未大规模投入到生产使用之中。生物防治具有很大的市场前景,也是国民经济发展的需要。姜蒜对苹果腐烂病的拮抗作用很值得深入研究,并且具有广阔的市场前景。

#### 参考文献

- [1] 张恒. 生姜大蒜提取物保鲜蔬菜[J]. 食品科技, 2006(1): 114-116.
- [2] 赵晋. 生姜姜辣素的提取及其功能性质研究[D]. 重庆: 西南大学, 2008.
- [3] 于翠芳, 宫春波, 刘永红, 等. 鲜姜汁抑菌效果及其在鲜肉保鲜中的研究[J]. 肉类工业, 2005(4): 29-31.
- [4] 赵博. 壳聚糖姜蒜提取液复合保鲜剂对草莓保鲜效果的研究[J]. 河北农业科学, 2008, 36(16): 6956-6958, 6983.
- [5] 宫春波, 杨伟, 刘永红, 等. 鲜姜汁抑菌效果的测定[J]. 中国调味品, 2005, 9(9): 50-53.
- [6] Vogl A E. Mehl und die anderen mehlprodukte der cerealien und leguminosen[J]. Z Nahrungsmittel Untersuchung Hyg Warenkunde, 1898, 12: 25-29.
- [7] Wilson A D. Resources and testing of endophyte-infected germplasm in national grass repository collections[C]. ASP Press. USA, 1996: 223.
- [8] 何红, 蔡学清, 洪永聪, 等. 辣椒内生细菌的分离及拮抗菌的筛选[J]. 中国生物防治, 2002(11): 171-175.
- [9] 邓振山, 赵龙飞, 王薇薇, 等. 银杏内生真菌的分离及其对苹果腐烂病原菌的拮抗作用[J]. 西北植物学报, 2009, 29(3): 608-613.
- [10] 乔红萍, 宏丽丽, 康振生. 小麦内生细菌及其对根部主要病原真菌的抑制作用[J]. 应用生态学报, 2006, 17(3): 690-694.

## Study on Juice of Ginger, Garlic and Cultured Endophytic Bacteri Against Apple Canker Antagonistic Screening

HOU Xiao-jie

(College of Life Science, Hengshui University, Hengshui, Hebei 053000)

**Abstract:** Taking apple canker pathogen hyphae as the research object, grinding fluid of ginger and garlic and culturable endophytic bacteria from ginger and garlic antagonistic for apple canker were studied. The results showed that grinding fluid of ginger had the better inhibitory effect on polishing rot pathogen mycelia on apple, garlic grinding fluid to apple canker pathogen hyphae growth had no inhibitory effect; two strains of endophytic bacteria isolated from garlic had obvious inhibition effect on apple canker hyphae growth, but ginger hadn't.

**Key words:** apple canker; ginger, garlic grinding fluid; culturable endophytic bacteria; rivalry