

大蒜浸出液对平菇细菌性褐斑病病原菌托拉斯假单胞杆菌的抑菌作用

徐岩岩¹, 柴薇², 孙思若², 刘晴^{1,3}, 董彩虹^{*1}

1 中国科学院微生物研究所 真菌学国家重点实验室, 北京 100101

2 河北民族师范学院生物与食品科学学院, 河北 承德 067000

3 中国科学院大学, 北京 100049

徐岩岩, 柴薇, 孙思若, 刘晴, 董彩虹. 大蒜浸出液对平菇细菌性褐斑病病原菌托拉斯假单胞杆菌的抑菌作用[J]. 微生物学通报, 2022, 49(5): 1619-1628

Xu Yanyan, Chai Wei, Sun Siruo, Liu Qing, Dong Caihong. Antibacterial effect of *Allium sativum* leachate on *Pseudomonas tolaasii*, the pathogen of brown blotch disease infecting *Pleurotus ostreatus*[J]. Microbiology China, 2022, 49(5): 1619-1628

摘要:【背景】由托拉斯假单胞杆菌(*Pseudomonas tolaasii*)引起的平菇细菌性褐斑病在国内外大面积发生, 导致产量降低, 并有潜在的安全风险, 寻找安全有效的抑菌剂对产业发展具有重要意义。【目的】通过5种不同溶剂提取得到大蒜浸出液, 测定其对平菇细菌性褐斑病病原菌托拉斯假单胞杆菌的抑制作用, 同时检测其对平菇菌丝生长的作用。【方法】利用抑菌圈法测定5种不同的大蒜浸出液对托拉斯假单胞杆菌的抑菌作用, 利用平板扩散法筛选能促进平菇菌丝生长的药剂及适宜的浓度。【结果】5种大蒜浸出液原液对托拉斯假单胞杆菌均有显著的抑菌活性, 其中大蒜山杏壳木醋液浸出原液抑菌效果最强。不同浓度的大蒜浸出液抑菌作用比较发现, 浓度为10%的大蒜山杏壳木醋液浸出液具有较好的抑菌效果, 其抑菌效果与0.33 mg/mL的链霉素相当, 并对平菇菌丝生长有显著的促进作用, 菌丝生长速度显著大于对照, 并且菌丝浓密, 边缘整齐。【结论】本研究为大蒜与山杏壳木醋液复配药剂防治平菇细菌性褐斑病奠定了实验基础。

关键词: 大蒜; 褐斑病; 托拉斯假单胞杆菌; 平菇

基金项目: 河北省科技厅项目(21322916D, 13226511)

Supported by: Department of Science and Technology Project of Hebei Province (21322916D, 13226511)

*Corresponding author: E-mail: dongch@im.ac.cn

Received: 2021-08-08; Accepted: 2021-11-19; Published online: 2022-02-09

Antibacterial effect of *Allium sativum* leachate on *Pseudomonas tolaasii*, the pathogen of brown blotch disease infecting *Pleurotus ostreatus*

XU Yanyan¹, CHAI Wei², SUN Siruo², LIU Qing^{1,3}, DONG Caihong^{*1}

1 State Key Laboratory of Mycology, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

2 School of Biology and Food Science, Hebei Normal University for Nationalities, Chengde 067000, Hebei, China

3 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: [Background] The *Pseudomonas tolaasii*-caused brown blotch disease of *Pleurotus ostreatus* has occurred on a large scale, resulting in low yields and potential safety risks. It is of great significance to find safe and effective antibacterial agents for the development of *P. ostreatus* industry. [Objective] In this study, five different methods were used to obtain *Allium sativum* leachate samples. The effects of *A. sativum* leachate samples on *P. tolaasii* and the mycelial growth of *P. ostreatus* were then tested. [Methods] The inhibition zone method was used to determine the antibacterial effects of five *A. sativum* leachate samples on *P. tolaasii*. The plate diffusion method was employed to screen out the leachate sample and the appropriate concentration that can promote the growth of *P. ostreatus*. [Results] The five *A. sativum* leachate samples had strong activity against *P. tolaasii*. Among them, 10% *A. sativum* leachate prepared with apricot shell wood vinegar had the best performance, with the antibacterial effect equivalent to that of 0.33 mg/mL streptomycin. Moreover, it significantly promoted the mycelial growth of *P. ostreatus*, as manifested by the dense mycelia and neat edges, which was better than that of the control. [Conclusion] This research lays an experimental foundation for the prevention and treatment of brown blotch disease infecting *P. ostreatus* by the combination of *A. sativum* and apricot shell wood vinegar.

Keywords: *Allium sativum*; brown blotch disease; *Pseudomonas tolaasii*; *Pleurotus ostreatus*

平菇 (*Pleurotus ostreatus*) 是属于伞菌目 (*Agaricales*) 侧耳科 (*Pleurotaceae*) 侧耳属 (*Pleurotus*) 的一种食用菇。平菇蛋白质含量丰富且氨基酸成分齐全, 可以促进消化、降低血压和胆固醇, 还可有效防治心脑血管疾病, 增强免疫力^[1]。我国是平菇生产大国, 近年来, 栽培过程中细菌性褐斑病在国内外均有大面积发生, 造成严重减产^[2-3], 并且会危害花椰菜、草莓和烟草等植物^[2]。金丹等鉴定平菇褐斑病的病原菌为托拉斯假单胞杆菌 (*Pseudomonas tolaasii*)^[3-4]。托拉斯假单胞杆菌侵染食用菌子实体的表面组织, 发病轻微时小菇菇

体生长缓慢, 随着长大, 病斑颜色会变深并集结成片, 严重时会长满整个子实体甚至发粘腐烂, 且病斑数量与面积随着菇潮的增加而增加^[5]。目前市场上虽有一些防治药物, 如农用链霉素, 但在防治的同时会形成毒性物质残留, 对人体健康构成威胁, 也造成环境污染^[6-7], 亟须高效、无农残的生物制剂来防治平菇细菌性褐斑病, 促进平菇产业的健康发展。

大蒜 (*Allium sativum*) 属于百合目 (*Liliaceae*) 百合科 (*Liliaceae*) 葱属 (*Allium*) 植物的地下鳞茎。大蒜鳞茎中含有丰富的蛋白质、低聚糖和

多糖, 另外还有脂肪、矿物质等^[8-9]。蒜头、蒜叶和花薹(蒜薹)是著名的食、药两用植物, 用于人畜疾病的治疗和食物调味品, 有解毒、杀虫等诸多功效。大蒜中还含有一些特殊的具有生理活性的物质, 如含硫化合物在蒜瓣中以蒜氨酸的形式存在, 具有杀灭各种细菌的作用, 对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌均有较好的抑菌作用^[9-12], 而且在农作物生防上对辣椒疫霉病和百合枯萎病有良好的防治效果^[13-14]。因此, 研究大蒜浸出液作为对平菇细菌性褐斑病防治的生物制剂具有重要意义。

本试验通过不同大蒜浸出液对平菇细菌性褐斑病病原菌的最佳抑制效果和对平菇菌丝生长作用研究, 探究大蒜浸出液的抗菌效果组合, 使大蒜的功效发挥到最大, 寻找平菇细菌性褐斑病有效的生物防治方法。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 供试菌株

托拉斯假单胞杆菌(CGMCC 1.19361)与平菇菌种, 保存于中国科学院微生物研究所董彩虹课题组。

1.1.2 主要试剂和仪器及培养基

链霉素, 吉林省华牧动物保健品有限公司; 山杏壳木醋液原液, 河北绿天生物科技有限公司。双人单面净化工作台, 苏州净化设备有限公司; 立式压力蒸汽灭菌锅, 上海博讯医疗生物仪器股份有限公司; 电热恒温鼓风干燥箱, 上海森信试验仪器有限公司; 台式冷冻高速离心机, Sigma 公司。托拉斯假单胞杆菌和平菇分别用 LB 培养基和马铃薯葡萄糖琼脂(potato dextrose agar, PDA)培养基培养。

1.2 方 法

1.2.1 托拉斯假单胞杆菌菌悬液的制备

托拉斯假单胞杆菌菌种活化后, 挑取单个菌落, 接种在 LB 培养液中 25 °C、170 r/min 振荡培养 24 h, 无菌水稀释成 10⁸ CFU/mL 的托拉斯假单胞杆菌菌悬液, 备用。

1.2.2 5 种不同大蒜浸出液的制备

将大蒜去皮、洗净, 称取 100 g, 再加入 100 mL 无菌水, 放入榨汁机中榨汁。将所得榨汁液体于 100 目筛网中过滤成匀浆; 再以 4 000 r/min 离心 15 min, 上清液即为试验所需大蒜水浸出液(A)。4%醋酸、山杏壳木醋液、2%氯化钠和 40%乙醇代替无菌水, 经上述同样操作后分别得到大蒜醋酸浸出液(B)、大蒜山杏壳木醋液浸出液(C)、大蒜氯化钠浸出液(D)和大蒜乙醇浸出液(E), 利用 0.22 μm 无菌滤膜过滤除菌, 备用。

1.2.3 抑菌圈法测定大蒜浸提液对托拉斯假单胞杆菌的抑菌作用

将 100 μL 的 10⁸ CFU/mL 的托拉斯假单胞杆菌菌悬液加到 LB 平板上, 涂布均匀(无菌操作台中), 晾干, 打孔 8 mm×8 mm, 每皿 1 孔, 每孔加入 100 μL 药剂, 25 °C 黑暗培养 1-2 d, 每隔 24 h 观察一次, 测定抑菌圈直径^[15]。设置无菌水和 0.33 mg/mL 链霉素药剂作对照。每个处理 3 个重复。

1.2.4 大蒜浸出液对平菇菌丝生长速度的影响

采用平板扩散法检测抑菌剂对平菇菌丝生长的影响, 平菇菌丝活化后, 在超净工作台中, 平菇菌丝打成 8 mm×8 mm 菌饼, 备用。将不同浸出液利用无菌水分别稀释为 2、4、10 和 20 倍的溶液, 将各溶液取 100 μL 均匀涂布在 PDA 平板上, 晾干, 将菌饼放置在平板中央, 25 °C 培养 6 d, 测定菌落直径, 设置无菌水和 0.33 mg/mL 链霉素药剂作对照。每个处理 3 个重复。

菌丝生长速度 = 菌落直径(mm)/[2×生长

天数(d)]。

2 结果与分析

2.1 5种大蒜浸出液原液对托拉斯假单胞杆菌的抑菌活性测定

在相同条件下,大蒜各种浸出液对托拉斯假单胞杆菌均有较强的抑菌活性,并且不同的

浸出液之间抑菌效果差异显著($P<0.05$)。其中,大蒜山杏壳木醋液浸出液、大蒜4%醋酸浸出液和大蒜水浸出液抑菌效果显著优于阳性对照链霉素,大蒜山杏壳木醋液浸出液抑菌效果最强,抑菌圈直径最大可达5.35 cm(图1)。大蒜乙醇浸出液抑菌作用较弱,抑菌圈直径最小(表1)。

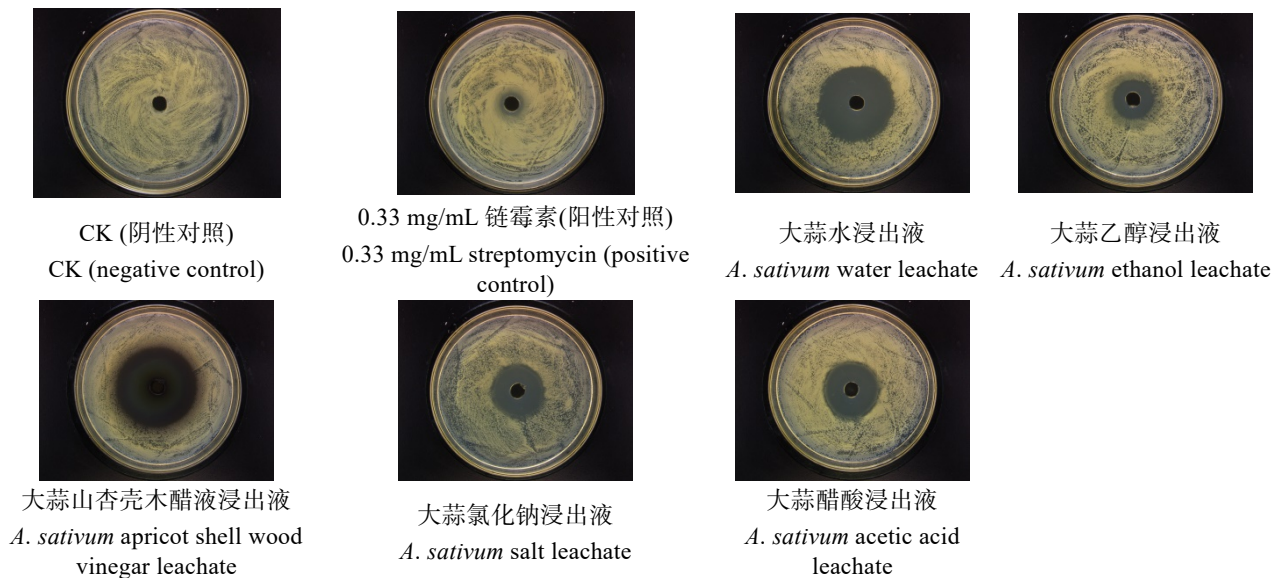


图1 不同大蒜浸出液原液对托拉斯假单胞杆菌的抑菌效果

Figure 1 Antibacterial effects of different *Allium sativum* leachate on *Pseudomonas tolaasii*.

表1 不同大蒜浸出液原液对托拉斯假单胞杆菌的抑菌作用

Table 1 Antibacterial effects of different *Allium sativum* leachate on *Pseudomonas tolaasii*

处理 Treatment	平均抑菌圈直径±SD Mean inhibition zone diameter±SD (cm)
CK (阴性对照) CK (negative control)	—
0.33 mg/mL 链霉素(阳性对照) 0.33 mg/mL streptomycin (positive control)	3.37±0.03d
大蒜水浸出液 <i>A. sativum</i> water leachate	4.97±0.03b
大蒜乙醇浸出液 <i>A. sativum</i> ethanol leachate	3.05±0.05f
大蒜山杏壳木醋液浸出液 <i>A. sativum</i> apricot shell wood vinegar leachate	5.35±0.05a
大蒜氯化钠浸出液 <i>A. sativum</i> salt leachate	3.27±0.06e
大蒜醋酸浸出液 <i>A. sativum</i> acetic acid leachate	4.25±0.05c

注:直径为3次重复的平均值;—:无抑菌圈;同列数据后不同小写字母表示差异显著, $P<0.05$ 。下同

Note: Diameter is the average of three repeats; —: No bacteriostatic circle; Different lowercase letters indicate a significant difference at $P<0.05$. The same below.

2.2 不同浓度大蒜浸出液对托拉斯假单胞杆菌的抑菌活性与对平菇菌丝生长速度的影响

2.2.1 大蒜水浸出液抑菌作用测定

大蒜水浸出液对托拉斯假单胞杆菌具有显著的抑菌活性(表 2)。大蒜水浸出液对托拉斯假单胞杆菌的抑菌效果与浸出液浓度呈正相关, 即大蒜水浸出液浓度越大, 抑菌圈直径也越大。其中, 大蒜水浸出原液的抑菌圈直径达到最大为 3.10 cm, 抑菌效果显著高于 0.33 mg/mL 链霉素, 5%大蒜水浸出液抑菌圈直径最小, 为 1.02 cm。

10%与 5%大蒜水浸出液对平菇菌丝生长均有促进作用, 并且 5%大蒜水浸出液对平菇菌丝生长促进作用最为显著($P<0.05$), 菌丝生长速度最快可达 5.86 mm/d (表 2)。大蒜水浸出液、50%大蒜水浸出液、25%大蒜水浸出液对平菇菌丝的生长抑制作用较强, 浓度越大, 抑制作用越大。10%大蒜水浸出液、5%大蒜水浸出液

的平菇菌丝浓密, 菌落边缘整齐, 长势较好。

2.2.2 大蒜醋酸浸出液抑菌作用测定

大蒜醋酸浸出液对托拉斯假单胞杆菌有较强的抑菌活性(表 3)。大蒜醋酸浸出液对托拉斯假单胞杆菌的抑菌效果与其浓度呈正相关, 即大蒜醋酸浸出液浓度越高, 抑菌圈直径也越大。4%醋酸溶液本身有抑菌作用, 抑菌圈直径为 3.18 cm, 大蒜醋酸浸出原液抑菌圈直径为 3.03 cm, 加入大蒜后抑菌圈直径变小, 5%大蒜醋酸浸出液抑菌圈直径最小为 1.15 cm。

大蒜醋酸浸出液对平菇菌丝生长均有抑制作用(表 3)。5%大蒜醋酸浸出液对平菇菌丝生长抑制作用最为显著($P<0.05$), 其菌丝生长速度为 3.33 mm/d。大蒜醋酸浸出液对平菇菌丝的生长抑制作用较强, 浓度越低, 抑制作用越大。大蒜醋酸浸出原液、50%大蒜醋酸浸出液菌丝长势较好, 而 25%、10%、5%大蒜醋酸浸出液菌落边缘不整齐。

表 2 不同浓度的大蒜水浸出液对托拉斯假单胞杆菌的抑菌效果和对平菇菌丝生长的影响

Table 2 Antibacterial effects of different concentrations of *Allium sativum* water leachate on *Pseudomonas tolaasii* and the growth of *Pleurotus ostreatus* mycelia

处理 Treatments	平均抑菌圈直径±SD Mean inhibition zone diameter±SD (cm)	平菇菌丝平均生长速度±SD <i>P. ostreatus</i> average growth rate±SD (mm/d)	菌丝长势 Mycelial grow	菌落边缘整齐度 Uniformity of colony edge
CK (阴性对照) CK (negative control)	—	4.38±0.01c	+++	边缘整齐 Neat edges
0.33 mg/mL 链霉素(阳性对照) 0.33 mg/mL streptomycin (positive control)	2.73±0.08b	4.64±0.01b	+++	边缘整齐 Neat edges
大蒜水浸出液 <i>A. sativum</i> water leachate	3.10±0.10a	2.36±0.02f	+++	边缘较整齐 A little neat edges
50%大蒜水浸出液 50% <i>A. sativum</i> water leachate	2.65±0.10b	3.98±0.01e	++	边缘较整齐 A little neat edges
25%大蒜水浸出液 25% <i>A. sativum</i> water leachate	2.27±0.16c	4.23±0.02d	++	边缘整齐 Neat edges
10%大蒜水浸出液 10% <i>A. sativum</i> water leachate	1.42±0.10d	4.69±0.02b	+++	边缘整齐 Neat edges
5%大蒜水浸出液 5% <i>A. sativum</i> water leachate	1.02±0.20e	5.86±0.01a	+++	边缘整齐 Neat edges

注: +: 菌丝长势, +越多代表长势越好。下同

Note: +: Mycelial growth condition, and the more +, the better growth. The same below.

表 3 不同浓度的大蒜醋酸浸出液对托拉斯假单胞杆菌的抑菌效果和对平菇菌丝生长的影响

Table 3 Antibacterial effects of different concentrations of *Allium sativum* acetic acid leachate on *Pseudomonas tolaasii* and the growth of *Pleurotus ostreatus* mycelia

处理 Treatments	平均抑菌圈直径±SD Mean inhibition zone diameter±SD (cm)	平菇菌丝平均生长速度±SD <i>P. ostreatus</i> average growth rate±SD (mm/d)	菌丝长势 Mycelial growth	菌落边缘整齐度 Uniformity of colony edge
CK (阴性对照) CK (negative control)	—	5.94±0.01a	+++	边缘整齐 Neat edges
0.33 mg/mL 链霉素(阳性对照) 0.33 mg/mL streptomycin (positive control)	2.07±0.03d	5.85±0.02b	+++	边缘整齐 Neat edges
4%醋酸溶液 4% acetic acid	3.18±0.03a	4.32±0.02c	+++	边缘整齐 Neat edges
大蒜醋酸浸出液 <i>A. sativum</i> acetic acid leachate	3.03±0.03b	3.73±0.01d	+++	边缘较整齐 A little neat edges
50%大蒜醋酸浸出液 50% <i>A. sativum</i> acetic acid leachate	2.52±0.03c	3.56±0.01e	+++	边缘较整齐 A little neat edges
25%大蒜醋酸浸出液 25% <i>A. sativum</i> acetic acid leachate	2.07±0.03d	3.48±0.01f	+	边缘不整齐 Irregular edges
10%大蒜醋酸浸出液 10% <i>A. sativum</i> acetic acid leachate	1.52±0.03e	3.43±0.01f	+	边缘不整齐 Irregular edges
5%大蒜醋酸浸出液 5% <i>A. sativum</i> acetic acid leachate	1.15±0.00f	3.33±0.02g	+	边缘不整齐 Irregular edges

2.2.3 大蒜山杏壳木醋液浸出液抑菌作用测定

大蒜山杏壳木醋液浸出液对托拉斯假单胞杆菌有强抑菌活性(表 4)。大蒜山杏壳木醋液浸出液对托拉斯假单胞杆菌的抑菌效果与浸出液浓度呈正相关,即大蒜山杏壳木醋液浸出液浓度越高,抑菌圈直径也越大。山杏壳木醋液本身有抑菌作用,抑菌圈直径为 5.60 cm,加入大蒜后抑菌圈直径变小,但不影响其抑菌作用,5%大蒜山杏壳木醋液浸出液抑菌圈直径最小为 1.37 cm。

低浓度的大蒜山杏壳木醋液浸出液对平菇菌丝均有促进作用(表 4)。山杏壳木醋液原液

对平菇菌丝有显著的抑制作用,而山杏壳木醋液与大蒜复配后浸出液对平菇菌丝生长有一定的促进作用,10%大蒜山杏壳木醋液浸出液促进作用最为显著($P<0.05$),其平菇菌丝生长速度可以达到 6.06 mm/d。大蒜山杏壳木醋液浸出液处理下平菇菌落边缘整齐,菌丝长势均较好。

2.2.4 大蒜氯化钠浸出液抑菌作用测定

大蒜氯化钠浸出液对托拉斯假单胞杆菌也有较强抑菌活性(表 5)。大蒜氯化钠浸出液对托拉斯假单胞杆菌的抑菌效果与大蒜氯化钠浸出液的浓度呈正相关,即大蒜氯化钠浸出液浓度越高,抑菌圈直径也越大。2%氯化钠溶液自身

表 4 不同浓度的大蒜山杏壳木醋液浸出液对托拉斯假单胞杆菌的抑菌效果和对平菇菌丝生长的影响
Table 4 Antibacterial effects of different concentrations of *Allium sativum* apricot shell wood vinegar leachate on *Pseudomonas tolaasii* and the growth of *Pleurotus ostreatus* mycelia

处理	平均抑菌圈直径±SD	平菇菌丝平均生长速度±SD	菌丝长势	菌落边缘整齐度
Treatments	Mean inhibition zone diameter±SD (cm)	<i>P. ostreatus</i> average growth rate±SD (mm/d)	Mycelial growth	Uniformity of colony edge
CK (阴性对照)	—	5.21±0.05c	+++	边缘较整齐
CK (negative control)				A little neat edges
0.33 mg/mL 链霉素(阳性对照)	2.27±0.08e	5.89±0.06b	+++	边缘整齐
0.33 mg/mL streptomycin (positive control)				Neat edges
山杏壳木醋液	5.60±0.09a	3.68±0.08f	++	边缘整齐
Apricot shell wood vinegar				Neat edges
大蒜山杏壳木醋液浸出液	4.00±0.05b	5.73±0.06c	+++	边缘整齐
<i>A. sativum</i> apricot shell wood vinegar leachate				Neat edges
50%大蒜山杏壳木醋液浸出液	3.63±0.03c	5.58±0.10d	+++	边缘整齐
50% <i>A. sativum</i> apricot shell wood vinegar leachate				Neat edges
25%大蒜山杏壳木醋液浸出液	2.63±0.03d	5.80±0.06bc	+++	边缘整齐
25% <i>A. sativum</i> apricot shell wood vinegar leachate				Neat edges
10%大蒜山杏壳木醋液浸出液	2.08±0.10f	6.06±0.12a	+++	边缘整齐
10% <i>A. sativum</i> apricot shell wood vinegar leachate				Neat edges
5%大蒜山杏壳木醋液浸出液	1.37±0.03g	6.04±0.05a	+++	边缘整齐
5% <i>A. sativum</i> apricot shell wood vinegar leachate				Neat edges

对托拉斯假单胞杆菌抑菌作用较小, 抑菌圈直径为 1.10 cm, 大蒜氯化钠浸出液的抑菌圈达直径最大, 为 4.12 cm, 抑菌效果显著高于 0.33 mg/mL 链霉素。

大蒜氯化钠浸出液对平菇菌丝均有抑制作用(表 5)。大蒜氯化钠浸出原液对平菇菌丝生长抑制作用最为显著($P<0.05$), 菌丝生长速度为 2.88 mm/d。大蒜氯化钠浸出液浓度越高, 对平菇菌丝的生长抑制作用越大。大蒜氯化钠浸出原液、50%大蒜氯化钠浸出液、25%大蒜氯化钠浸出液处理下的平菇菌丝长势与菌落边缘整齐度均低于对照。

2.2.5 大蒜乙醇浸出液抑菌作用测定

大蒜乙醇浸出液对托拉斯假单胞杆菌有一定的抑菌活性(表 6)。40%乙醇溶液对托拉斯假单胞杆菌抑菌效果大于大蒜乙醇浸出液的效果。

大蒜乙醇浸出液对平菇菌丝均有抑制作用(表 6)。大蒜乙醇浸出液对平菇菌丝生长抑制作用最为显著($P<0.05$), 菌丝生长速度为 3.73 mm/d。大蒜乙醇浸出液浓度越高, 对平菇菌丝的生长抑制作用越大。50%大蒜乙醇浸出液和 25%大蒜乙醇浸出液处理下平菇菌丝长势稍差, 菌落边缘整齐度显著低于对照。

表 5 不同浓度的大蒜氯化钠浸出液对托拉斯假单胞杆菌的抑菌效果和对平菇菌丝生长的影响

Table 5 Antibacterial effects of different concentrations of *Allium sativum* salt leachate on *Pseudomonas tolaasii* and the growth of *Pleurotus ostreatus* mycelia

处理 Treatments	平均抑菌圈直径±SD Mean inhibition zone diameter±SD (cm)	平菇菌丝平均生长速度±SD <i>P. ostreatus</i> average growth rate±SD (mm/d)	菌丝长势 Mycelial growth	菌落边缘整齐度 Uniformity of colony edge
CK (阴性对照) CK (negative control)	—	5.48±0.01a	+++	边缘较整齐 A little neat edges
0.33 mg/mL 链霉素(阳性对照) 0.33 mg/mL streptomycin (positive control)	2.12±0.08d	4.83±0.02b	+++	边缘整齐 Neat edges
2%氯化钠溶液 2% salt	1.10±0.00a	4.23±0.04c	++	边缘较整齐 A little neat edges
大蒜氯化钠浸出液 <i>A. sativum</i> salt leachate	4.12±0.15b	2.88±0.05f	+++	边缘较整齐 A little neat edges
50%大蒜氯化钠浸出液 50% <i>A. sativum</i> salt leachate	3.23±0.08c	3.96±0.03d	+++	边缘较整齐 A little neat edges
25%大蒜氯化钠浸出液 25% <i>A. sativum</i> salt leachate	2.53±0.13e	3.10±0.02e	++	边缘较整齐 A little neat edges
10%大蒜氯化钠浸出液 10% <i>A. sativum</i> salt leachate	1.62±0.03g	4.11±0.03cd	+++	边缘整齐 Neat edges
5%大蒜氯化钠浸出液 5% <i>A. sativum</i> salt leachate	0.92±0.03f	4.27±0.03c	++	边缘较整齐 A little neat edges

表 6 不同浓度的大蒜乙醇浸出液对托拉斯假单胞杆菌的抑菌效果和对平菇菌丝生长的影响

Table 6 Antibacterial effects of different concentrations of *Allium sativum* ethanol leachate on *Pseudomonas tolaasii* and the growth of *Pleurotus ostreatus* mycelia

处理 Treatments	平均抑菌圈直径±SD Mean inhibition zone diameter±SD (cm)	平菇菌丝平均生长速度±SD <i>P. ostreatus</i> average growth rate±SD (mm/d)	菌丝长势 Mycelial growth	菌落边缘整齐度 Uniformity of colony edge
CK (阴性对照) CK (negative control)	—	5.94±0.02a	++	边缘整齐 Neat edges
0.33 mg/mL 链霉素(阳性对照) 0.33 mg/mL streptomycin (positive control)	2.07±0.06b	5.85±0.03a	++	边缘整齐 Neat edges
40%乙醇溶液 40% ethanol	2.03±0.06b	5.22±0.03c	++	边缘整齐 Neat edges
大蒜乙醇浸出液 <i>A. sativum</i> ethanol leachate	1.58±0.03d	3.73±0.02f	+++	边缘整齐 Neat edges
50%大蒜乙醇浸出液 50% <i>A. sativum</i> ethanol leachate	1.05±0.00e	4.23±0.03e	++	边缘较整齐 A little neat edges
25%大蒜乙醇浸出液 25% <i>A. sativum</i> ethanol leachate	3.28±0.03a	4.54±0.03d	++	边缘较整齐 A little neat edges
10%大蒜乙醇浸出液 10% <i>A. sativum</i> ethanol leachate	1.82±0.03c	5.48±0.03b	++	边缘整齐 Neat edges
5%大蒜乙醇浸出液 5% <i>A. sativum</i> ethanol leachate	0.87±0.12f	5.56±0.03b	++	边缘整齐 Neat edges

3 讨论与结论

本实验通过 5 种不同溶剂提取得到大蒜浸出液, 寻找既能对托拉斯假单胞杆菌有较强的抑菌作用, 又对平菇菌丝有显著促进作用的大蒜浸出液。研究表明, 5 种不同大蒜浸出液对托拉斯假单胞杆菌均有抑菌作用。溶剂(4%醋酸、2%氯化钠、40%乙醇)本身有抑菌作用, 且溶剂(4%醋酸、40%乙醇)的抑菌作用强于浸出液, 均对平菇菌丝生长有抑制作用, 不宜用于平菇细菌性褐斑病的防治。10%大蒜山杏壳木醋液浸出液抑菌效果与 0.33 mg/mL 的链霉素相当, 显著高于 10%大蒜水浸出液, 并且对平菇菌丝生长有显著的促进作用与大蒜水浸出液相当。

史磊等^[16]发现, 大蒜提取液对食用菌杂菌表现出一定的抑制作用, 并且对平菇、滑菇、黑木耳的菌丝生长无影响, 在大蒜提取液浓度为 0.25%时效果最佳, 能够降低杂菌污染, 提高子实体产量, 并且品质上无差异。在实验中, 菌丝生长发育是鉴定大蒜提取液浓度是否合适的一个标准, 并且进行栽培袋出菇试验, 确定大蒜提取液浓度在 0.25%时抑制杂菌效果最佳。吕锐玲等^[17]筛选出大蒜粗提液对糙皮侧耳褐斑病病原细菌菌株 PH-1 鞘氨醇杆菌(*Sphingobacterium* sp.) 具有显著抑菌作用。宋文俊等^[18]阐述了大蒜提取物对多种食用菌病原细菌和真菌都具有较强的抑菌效果, 研究所用平菇病原细菌主要为芽孢杆菌。平菇主要的真菌病害有木霉属、青霉属和链孢霉等^[19-20], 平菇细菌性褐斑病病原菌主要为托拉斯假单胞杆菌^[3,5-6], 这种细菌性褐斑病一旦在工厂发生, 可通过带菌的土壤、飞虫和孢子等进行传播, 很难根除, 变成一种流行病传播到其他菇房, 导致大规模的产量及品质下降。每年给食用菌产业造成非常严重的损失^[6]。本研究主要针对托拉斯假单胞杆菌进行有效药剂的筛选, 平

板实验中 10%大蒜山杏壳木醋液浸出液抑菌效果最佳, 抑菌圈直径为 2.08 cm, 与 0.33 mg/mL 的链霉素抑菌效果相当, 并且对平菇菌丝生长有显著的促进作用, 菌丝浓密, 边缘整齐, 长势较好。10%大蒜山杏壳木醋液浸出液处理下平菇菌丝生长速度可以达到 6.06 mm/d, 优于对照。山杏壳木醋液为山杏壳干馏后的剩余液体, 大蒜和山杏壳木醋液均为天然产物, 复配后增强了大蒜的抑菌效果, 减轻了山杏壳木醋液在平菇实际栽培过程中喷施过量造成的烧菇现象, 可用于平菇细菌性褐斑病的防治, 减少栽培过程中农药的使用, 同时实现了山杏壳木醋液的经济价值。山杏壳木醋液可进一步进行栽培袋出菇试验, 确定大蒜山杏壳木醋液浸出液在栽培袋出菇中的实际使用浓度。

REFERENCES

- [1] 李亚娇, 孙国琴, 郭九峰, 解亚杰, 王海燕, 庞杰. 食用菌营养及药用价值研究进展[J]. 食药菌, 2017, 25(2): 103-109
Li YJ, Sun GQ, Guo JF, Xie YJ, Wang HY, Pang J. Prospect and research progress on nutritional and medicinal value of edible mushrooms[J]. Edible and Medicinal Mushrooms, 2017, 25(2): 103-109 (in Chinese)
- [2] Lo Cantore P, Giorgio A, Iacobellis NS. Bioactivity of volatile organic compounds produced by *Pseudomonas tolaasii*[J]. Frontiers in Microbiology, 2015, 6: 1082
- [3] 金丹, 李宝聚, 石延霞, 谢学文. 一种平菇褐斑病病原菌的鉴定[J]. 食用菌学报, 2009, 16(1): 89-91, 95
Jin D, Li BJ, Shi YX, Xie XW. Identification of a pathogen of *Pleurotus ostreatus* brown spot[J]. Acta Edulis Fungi, 2009, 16(1): 89-91, 95 (in Chinese)
- [4] Rainey PB, Brodey CL, Johnstone K. Biological properties and spectrum of activity of tolaasin, a lipodepsipeptide toxin produced by the mushroom pathogen *Pseudomonas tolaasii*[J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 1991, 39(1): 57-70
- [5] 马玉琳, 谷娜, 池惠荣, 王奎涛. 复方二氧化氯对平菇褐斑病病原菌的杀菌效果及机理[J]. 北方园艺, 2015(3): 130-134
Ma YL, Gu N, Chi HR, Wang KT. The germicidal efficacy and mechanism of a compound chlorine dioxide to pathogen of oyster mushroom brown spot[J]. Northern

- Horticulture, 2015(3): 130-134 (in Chinese)
- [6] 刘川. 平菇褐斑病发生的环境因素分析和抗性材料筛选[D]. 武汉: 华中农业大学硕士学位论文, 2012
Liu C. Analysis on environment factor of the brown blotch disease to *Pleurotus* spp. and screening for resistant materials[D]. Wuhan: Master's Thesis of Huazhong Agricultural University, 2012 (in Chinese)
- [7] Crouse JR, Harpold GH, Kahl FR, Toole JF, McKinney WM. Evaluation of a scoring system for extracranial carotid atherosclerosis extent with B-mode ultrasound[J]. Stroke, 1986, 17(2): 270-275
- [8] 孙秀东. 大蒜转录组测序及核因子 YB3 的功能研究[D]. 泰安: 山东农业大学博士学位论文, 2013
Sun XD. Transcriptome sequencing in garlic (*Allium sativum*) and functional analysis of the AsNF-YB₃[D]. Tai'an: Doctoral Dissertation of Shandong Agricultural University, 2013 (in Chinese)
- [9] 郑永军. 基于分子印迹技术的大蒜功能成分的分离提取及药理活性研究[D]. 青岛: 中国海洋大学博士学位论文, 2012
Zheng YJ. Extraction, separation and pharmacological activity assay of garlic's functional components via molecular imprinting technique[D]. Qingdao: Doctoral Dissertation of Ocean University of China, 2012 (in Chinese)
- [10] Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, Lloyd JK, Deanfield JE. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis[J]. The Lancet, 1992, 340(8828): 1111-1115
- [11] 余世望, 范青生, 肖小年, 吴凌伟, 张宁, 刘新阳. 60种食药两用中药抗菌防腐作用研究[J]. 天然产物研究与开发, 1997, 9(4): 62-67
She SW, Fan QS, Xiao XN, Wu LW, Zhang N, Liu XY. Studies on antimicrobial effects of 60 traditional Chinese health foods[J]. Natural Product Research and Development, 1997, 9(4): 62-67 (in Chinese)
- [12] 赵丹丹, 丁玉庭, 陈文烜, 胡俊, 周绪霞. 维氏气单胞菌中 AHLs 介导的群体感应现象及大蒜提取物的干扰作用[J]. 中国食品学报, 1993, 1: 7-11
Zhao DD, Ding YT, Chen WH, Hu J, Zhou XX. Quorum sensing mediated by AHLs in *Aeromonas veronii* and the interference effect of garlic extract[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 1993, 1: 7-11 (in Chinese)
- [13] 韩玲. 拮抗菌和大蒜对百合枯萎病的抑菌和防病作用研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学硕士学位论文, 2010
Han L. Inhibitive and prevent effects of biocontrol agents and garlic bulb crude extracts on lily *Fusarium* wilt[D]. Yangling: Master's Thesis of Northwest A&F University, 2010 (in Chinese)
- [14] 苏莉. 大蒜(*Allium sativum* L.)鳞茎粗提物对辣椒疫霉病抑制效应及其机理[D]. 杨凌: 西北农林科技大学硕士学位论文, 2008
Su L. Inhibitive effect of *Allium sativum* L. extract on pepper blight and mechanism of inhibition[D]. Yangling: Master's Thesis of Northwest A&F University, 2008 (in Chinese)
- [15] 王诗玮, 纪琪, 朱天辉. 莱氏野村菌紫外线诱变抗敌敌畏菌株的生理特性[J]. 微生物学通报, 2021, 48(2): 493-501
Wang SW, Ji Q, Zhu TH. Physiological characteristics of the anti-dichlorvos *Nomuraea rileyi* strains by UV mutagenized[J]. Microbiology China, 2021, 48(2): 493-501 (in Chinese)
- [16] 史磊, 王延锋, 王金贺, 孙靖轩, 刘姿彤, 潘春磊, 盛春鸽. 大蒜提取液对食用菌杂菌污染抑制作用的研究[J]. 食用菌, 2013, 35(1): 53-54
Shi L, Wang YF, Wang JH, Sun JX, Liu ZT, Pan CL, Sheng CG. Study on the inhibitory effect of garlic extract on the pathogens of edible fungi[J]. Edible Fungi, 2013, 35(1): 53-54 (in Chinese)
- [17] 吕锐玲, 熊慧婷, 叶子茂, 徐碧林, 蔡隆昌, 王政, 刘畅, 郑永良. 糙皮侧耳褐斑病病原菌的鉴定及生物防治[J]. 食用菌学报, 2021, 28(1): 97-102
Lyu RL, Xiong HT, Ye ZM, Xu BL, Cai LC, Wang Z, Liu C, Zheng YL. Identification and biological control of a pathogen causing brown rot disease in *Pleurotus ostreatus*[J]. Acta Edulis Fungi, 2021, 28(1): 97-102 (in Chinese)
- [18] 宋文俊, 邓海平, 石燕, 刘贺贺, 梁玖华. 食用菌病原微生物生物防治研究进展[J]. 绿色科技, 2019(12): 187-189, 192
Song WJ, Deng HP, Shi Y, Liu HH, Liang JH. Analysis and discussion on the verification results of listeria monocytogenes[J]. Journal of Green Science and Technology, 2019(12): 187-189, 192 (in Chinese)
- [19] 孟文文. 南宁市郊平菇主要病害病原鉴定及生物防治[D]. 南宁: 广西大学硕士学位论文, 2015
Meng WW. Studies on identification and biological control of the major pathogenic organism isolated from oyster mushroom in Nanning[D]. Nanning: Master's Thesis of Guangxi University, 2015 (in Chinese)
- [20] 崔丽红. 食用菌栽培菌棒上污染真菌的分离鉴定及多样性分析[D]. 大连: 辽宁师范大学硕士学位论文, 2017
Cui LH. Isolation, identification and diversity analysis of the contaminating fungi from the edible mushroom-growing synthetic wood logs[D]. Dalian: Master's Thesis of Liaoning Normal University, 2017 (in Chinese)