

束兆林,杨红福,陈红州,等. 胶红酵母(*Rhodotorula mucilaginosa*)对梨果采后青霉菌、灰霉病的控制效果[J]. 江苏农业科学,2015,43(8):110-112.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.08.035

# 胶红酵母(*Rhodotorula mucilaginosa*)对梨果采后青霉菌、灰霉病的控制效果

束兆林<sup>1</sup>, 杨红福<sup>1</sup>, 陈红州<sup>1</sup>, 姚克兵<sup>1</sup>, 赵来成<sup>1</sup>, 狄华涛<sup>1</sup>, 于居龙<sup>1</sup>, 缪康<sup>1</sup>, 张红印<sup>2</sup>

(1. 江苏丘陵地区镇江农业科学研究所, 江苏句容 212400; 2. 江苏大学, 江苏镇江 212013)

**摘要:**研究胶红酵母对梨果采后贮存过程中青霉菌、灰霉菌的控制效果,采用生长速率法分别测定了胶红酵母对这 2 种霉菌的室内抑菌毒力。测定结果表明:胶红酵母对青霉菌、灰霉菌的 LD<sub>50</sub> 分别为 2 560 万、2 940 万 CFU/mL, LD<sub>95</sub> 分别为 156 亿、251 亿 CFU/mL。由结果看出,胶红酵母浓度越高,抑菌效果越好。

**关键词:**胶红酵母;梨果;青霉菌;灰霉菌;毒力测定

**中图分类号:**S436.612.1<sup>+</sup>9 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)08-0110-02

水果在采摘、运销、储藏过程中因腐烂造成的损失是巨大的,也是全球关注的问题<sup>[1]</sup>。梨是我国主栽水果之一,营养价值很高,但是由于梨果实含水量大、表皮脆弱、内含物丰富,采摘贮存过程中主要易受青霉、灰霉等植物病原真菌的侵染<sup>[1-2]</sup>,在贮存时容易腐烂、变质等。因此,要大范围流通梨果,储运保鲜问题日益突出。长期以来,世界对水果病害包括采后病害的控制主要依赖于化学杀菌剂。随着人们生活水平不断提高,人们对食品安全的要求越来越强烈,因此研究并开发新的水果采后防腐途径,采用生物防治显得具有重要意义。梨果采收后容易受到青霉菌及灰霉菌的侵染造成烂果,许多酵母品种作为一类拮抗微生物,对果蔬采后青霉菌、灰霉菌等引起的病害都具有明显的防治作用。从柠檬果实表面分离得到的汉逊德巴利酵母(*Debaryomyces hansenii*),在 11℃ 或 22℃ 条件下,能够抑制青霉菌时间长达 21 d<sup>[3]</sup>;假丝酵母对苹果采后灰霉病的防治也具有很好的效果,并且发现 Ca<sup>2+</sup> 对这种防治效果具有促进作用<sup>[4]</sup>;用隐球酵母属的 *Cryptococcus infirmo-minutus*、红酵母属的 *Rhodotorula glutinis* 在采收前 1 d 对梨进行处理,能够有效地控制梨采后腐烂<sup>[5]</sup>。胶红酵母(*Rhodotorula mucilaginosa*)是一种拮抗酵母菌,研究表明,胶红酵母对梨灰霉病(由 *Botrytis cinerea* 引起)、桃果青霉病(由 *Penicillium expansum* 引起)都表现出显著的拮抗效果,是被证明能有效控制水果采后病害的酵母拮抗菌<sup>[1]</sup>。本研究通过果实室内毒力试验,研究胶红酵母对青霉菌、灰霉菌的控制效果,以期对梨果采后贮存及保鲜提供新的途径。

## 1 材料与方 法

收稿日期:2015-01-26

基金项目:江苏省科技支撑计划(编号:BE2011395)。

作者简介:束兆林(1964—),男,江苏丹阳人,研究员,主要从事植物保护、农药应用、果品保鲜研究。Tel:(0511)87265698;E-mail:shuzl2005@163.com。

通信作者:姚克兵,副研究员,主要从事植物保护的研究与推广工作。

Tel:(0511)87263915;E-mail:zykb@163.com。

### 1.1 材料与试剂

1.1.1 试验材料 试验材料为正常成熟的梨果实,品种为幸水,购自江苏省句容市丰之源梨园,选择无机械损伤、未感染、大小、成熟度等外观品质基本一致的果实,分组待用。

1.1.2 试验菌株 胶红酵母(*Rhodotorula mucilaginosa*)由江苏大学食品与生物工程学院实验室提供;青霉菌(*Penicillium italicum*)、灰霉菌(*Botrytis cinerea*)从腐烂的梨果果实上分离得到。

1.1.3 试验仪器 恒温摇床(上海智城分析仪器制造有限公司);高速离心机(Thermo);千分之一电子天平(台湾樱花股份有限公司);恒温箱(宁波江南仪器厂)。

### 1.2 试验方法

1.2.1 菌种处理 在 250 mL 的三角瓶中装入 50 mL 的 NYDB (8 g 牛肉浸膏、5 g 酵母浸膏、10 g 葡萄糖、1 000 mL 水)培养基,用接种环接入 2 环活化的胶红酵母,37℃、200 r/min 条件下培养 20 h;将上述培养混合物在 28℃、7 000 g 条件下离心 10 min,用无菌生理盐水洗涤 2 次,去除培养介质,并用无菌生理盐水重新悬浮酵母细胞;用血球计数板调节细胞浓度为 24 亿 CFU/mL,再将浓度为 24 亿 CFU/mL 的酵母细胞悬浮液用无菌生理盐水依次稀释 10、100、1 000、10 000 倍。将青霉菌、灰霉菌分别接种在 PDA 培养基(将 200 g 去皮马铃薯加水煮沸 20 min 后过滤,滤液中加入 20 g 葡萄糖、20 g 琼脂,用蒸馏水定容至 1 000 mL)中,于 28℃ 培养 7 d 后,将其悬浮在无菌水中,用血球计数板在显微镜下对病原菌孢子数进行测定,用无菌水调节孢子浓度至 7 万个/mL。

1.2.2 室内毒力测定 先用 0.1% 次氯酸钠(NaClO)溶液将梨果浸泡 30 s,用无菌水冲洗果实后,再用毛巾抹干果实,后用消过毒的打孔器在每个果实表面赤道部位制造直径 5 mm、深 3 mm 的伤口。每个伤口处等量加入 30 μL 以下浓度胶红酵母孢子悬浮液溶液:24.0 亿、2.4 亿、2 400.0 万、240.0 万、24.0 万 CFU/mL 的酵母菌溶液,以及无菌水(空白对照)。3 h 后在每个伤口处接种 30 μL 等量的青霉菌或灰霉菌原菌孢子液,自然晾干后,将果实放入塑料筐并用保鲜膜密封,于恒温、恒湿培养箱中培养(温度 25℃,相对湿度 95%)。每个

处理重复 3 次,每个重复设 10 个果实。经过 5 d 的培养,分别测量各处理病斑直径,计算抑制率,并根据病斑直径抑制率、浓度对数计算胶红酵母 LD<sub>50</sub>,以此评价胶红酵母对梨果上 2 种常见霉菌的抑制效果。

1.3 数据处理

数据处理中用到的公式为:  
病斑直径抑制率 = (空白对照病斑直径 - 胶红酵母处理病斑直径)/空白对照病斑直径 × 100%。

采用 DPS 13.0 专业版数据处理系统,以病斑直径抑制率值作为纵坐标、药剂质量浓度转化为对数值作为横坐标,根据斑直径抑制率值(y)与质量浓度对数(x)之间的线性回归关系,求毒力回归方程、相关系数,并计算 LD<sub>50</sub>、LD<sub>95</sub> 及其 95% 置信限。

2 结果与分析

2.1 胶红酵母对梨果采后贮存过程中 2 种霉菌病斑生长的影响

从表 1、表 2 可以看出,不同浓度的胶红酵母对梨果上青霉菌、灰霉菌病斑生长都有一定的抑制作用。经过 5 d 培养,对照梨果上接种青霉菌处理组的病斑沿接种中心向四周扩张,出现水渍状软腐,接种灰霉菌处理组由中心向四周出现浅黄褐色不规则形软腐病斑,2 类病斑直径分别为 10.00、13.01 mm;而经过浓度为 24.0 亿 CFU/mL 胶红酵母处理后,青霉病斑直径仅为 1.35 mm,灰霉病斑直径为 5.81 mm,病斑直径抑制率分别达到 86.5%、55.3%;胶红酵母溶液稀释 10、100、1 000、10 000 倍后对梨果上 2 种霉菌病斑直径抑制率分别为 72.9%、52.0%、27.3%、10.7%,69.0%、53.7%、27.5%、10.6%,均明显优于对照,且浓度越高,菌斑抑制效果

表 1 接种不同浓度胶红酵母对梨果贮存过程中青霉菌菌斑的抑制效果(2014 年,江苏句容)

胶红酵母细胞浓度 (CFU/mL)	病斑直径(mm)				病斑直径抑制率 (%)
	重复 1	重复 2	重复 3	平均	
24.0 亿	1.50	1.20	1.35	1.35	86.5
2.4 亿	2.55	3.03	2.56	2.71	72.9
2 400.0 万	4.52	5.03	4.85	4.80	52.0
240.0 万	7.02	7.25	7.53	7.27	27.3
24.0 万	8.50	9.06	9.23	8.93	10.7
对照	10.70	9.80	9.50	10.00	

表 2 接种不同浓度胶红酵母对梨果贮存过程中灰霉菌菌斑的抑制效果(2014 年,江苏句容)

胶红酵母细胞浓度 (CFU/mL)	病斑直径(mm)				病斑直径抑制率 (%)
	重复 1	重复 2	重复 3	平均	
24.0 亿	2.30	1.80	2.00	2.03	84.4
2.4 亿	3.80	4.50	3.80	4.03	69.0
2 400.0 万	5.70	6.30	6.10	6.03	53.7
240.0 万	9.10	9.40	9.80	9.43	27.5
24.0 万	11.10	11.80	12.00	11.63	10.6
对照	13.94	12.71	12.37	13.01	

越好。  
2.2 胶红酵母对梨果采后贮存过程中 2 种霉菌的毒力测定结果

由表 3 可知,根据病斑直径抑制率与胶红酵母浓度对数建立的线性关系,胶红酵母对青霉菌、灰霉菌的 LD<sub>50</sub> 分别为 2 560 万、2 940 万 CFU/mL, LD<sub>95</sub> 分别为 156 亿、251 亿 CFU/mL,胶红酵母浓度对数与 2 种霉菌病斑抑制率之间有很强的线性关系,相关系数均达到 0.99 以上。

表 3 胶红酵母接种对梨果采后贮存过程中 2 种霉菌毒力的测定结果(2014 年,江苏句容)

胶红酵母 处理对象	回归方程(y = ax + b)	LD <sub>50</sub> 及其 95% 置信限 (CFU/mL)	LD <sub>95</sub> 及其 95% 置信限 (CFU/mL)	相关系数
青霉菌	y = 0.590 5x + 0.625 3	2 560 万(828.82 万 ~ 5 108.60 万)	156 亿(68.562 亿 ~ 710.766 亿)	0.998 3
灰霉菌	y = 0.561 2x + 0.808 6	2 940 万(783.36 万 ~ 6 213.90 万)	251 亿(86.742 亿 ~ 576.060 亿)	0.995 3

3 结论与讨论

酵母菌通过以下 3 种途径发挥其对病原菌拮抗作用:  
(1)拮抗酵母菌通过与病原菌竞争果实表面的营养及侵染位点,在果实表面形成保护屏障,有效抵抗病原菌的侵入<sup>[6]</sup>;  
(2)拮抗酵母菌繁殖速度快,对环境适应能力强,能有效利用果蔬表面低营养物质而迅速扩大种群数量,使病原菌得不到足够的营养与空间条件,不能生长增殖,达到抑制病害发生的目的;  
(3)酵母菌的拮抗机制还有寄生和诱导抗性<sup>[7]</sup>,本试验人为在梨果表面形成伤口,接入 2 种梨果贮藏期常见的病菌,结果表明,胶红酵母对青霉菌、灰霉菌 2 种霉菌的抑菌 LD<sub>50</sub> 分别为 2 560 万、2 940 万 CFU/mL, LD<sub>95</sub> 分别为 156 亿、251 亿 CFU/mL,且浓度越高,抑菌效果越好。有研究表明,23 ℃ 条件下黏红酵母(*Rhodotorula glutinis*)浓度达到 10 亿 CFU/mL 时能完全抑制柑橘上青霉病的发生<sup>[8]</sup>,25 ℃ 条件下丝孢酵母(*Trichosporon* sp.)悬浮液浓度为 1 亿 CFU/mL 时能显著抑制苹果果实表面伤口处青霉菌、灰霉菌的发生<sup>[9]</sup>。引起果实

腐烂的病原微生物大多腐生性强,一般通过果实上的皮孔、气孔或是机械损伤形成的伤口侵入,其孢子萌发和致病活动需要大量的外源营养。本试验中,酵母对 2 种病原菌在前 3 d 抑制效果好,7 d 后开始下降,这可能是部分病原菌突破酵母保护层,侵入果实而导致发病腐烂,进一步说明胶红酵母对梨果的保护效果主要源于酵母细胞在伤口表面的快速繁殖而阻止病原菌的侵入。酵母的抑菌效果跟自身菌体数量相关,而菌体滤液不能抑制病斑的扩展,所以拮抗酵母抑菌机制不是靠产生抗生素,而可能是与病菌在伤口处具有较强的营养竞争有关<sup>[10-11]</sup>。

虽然许多酵母菌已被证实对水果病原菌具有拮抗作用,但到目前为止,我国仍未进行商业化应用,其主要原因是在实际生产条件下,由于环境条件的不确定性,其防治效果往往达不到要求或者不稳定。但由于胶红酵母具有诸多优点,随着研究理论的不断深入、生防技术的日趋完善,胶红酵母等拮抗菌极有可能填补果蔬采后病害防治技术方面的不足,胶红酵母在果蔬采后防腐保鲜领域有着广阔的发展空间。

张 斌,耿 坤,余杰颖,等. 基于 CARAH 模型的不同品种马铃薯晚疫病发生情况观察[J]. 江苏农业科学,2015,43(8):112-115.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.08.036

# 基于 CARAH 模型的不同品种马铃薯晚疫病发生情况观察

张 斌<sup>1</sup>,耿 坤<sup>1</sup>,余杰颖<sup>1</sup>,李添群<sup>2</sup>,潘世昌<sup>3</sup>

(1. 贵州省贵阳市植保植检站,贵州贵阳 550081; 2. 贵州省修文县植保植检站,贵州修文 550025;

3. 贵州省息烽县植保植检站,贵州息烽 551100)

**摘要:**为了明确在同等气象因子条件下,不同品种的马铃薯晚疫病发生情况及对应的 CARAH 模型预测情况,对 CARAH 模型进行矫正。结果显示:在中心病株发现时间方面,费乌瑞它、中薯 3 号在第 3 代第 1 次侵染湿润期分值达 5 分左右时可以发现,宣薯 2 号、黑美人、黑金刚 3 个品种中心病株发现的时间在第 5 代第 1 次至第 6 代第 1 次期间。在发生程度方面,综合 3 个基地观测圃结果,费乌瑞它、中薯 3 号 2 个品种要明显重于宣薯 2 号、黑美人、黑金刚 3 个品种。

**关键词:**马铃薯晚疫病;CARAH 模型;不同品种;中心病株

**中图分类号:** S435.32 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)08-0112-04

马铃薯是贵州省贵阳市主要的粮食兼蔬菜作物,常年种植面积在 2.33 万  $\text{hm}^2$  左右,主要集中在修文县、息烽县、开阳县区域。由于贵阳处理低纬度高海拔的高原位置,海拔高度为 1 100~1 600  $\text{m}^{[1]}$ ,属于亚热带湿润温和型气候,温度、湿度及降雨量等气候条件十分利于由晚疫病菌(*Phytophthora infestans*)引起的马铃薯晚疫病发生蔓延,同时种植品种少、生理小种变化、长年种植导致病原菌数量累积等因素,导致马铃薯晚疫病呈逐年加重趋势,已成为马铃薯产业发展的主要障

碍。目前在生产上有多种马铃薯晚疫病的预测预报模型,都有一定的准确性和实用价值,也都有一些局限性<sup>[2-4]</sup>。根据马铃薯晚疫病的生物学特性,马铃薯晚疫病发生流行与温度、湿度等气象因子及马铃薯品种具有重要的相关性<sup>[5-11]</sup>,CARAH 马铃薯晚疫病预警系统基于病原菌和寄主存在的基础上,结合气象条件(温度、湿度和降雨等)和疫病菌生长特点而形成的,应该能应用于各种条件<sup>[5]</sup>,此方法所需的气象参数易得且模型简单,在比利时成功地应用了 10 多年,进入 21 世纪后,我国重庆、内蒙古、甘肃、宁夏等国内马铃薯主产区先后引进运用,结果表明该系统基本符合当地晚疫病发生规律<sup>[12-15]</sup>。但是不同品种的马铃薯抗病性水平及抗病性类型不一样,田间实际发生情况不一样,CARAH 模型的预测值也不同。为了明确在同等气象因子条件下,不同品种的马铃薯晚疫病发生情况,以矫正 CARAH 模型,更好地指导生产上马铃薯晚疫病的防控,笔者于 2014 年选择贵州省修文县扎佐镇大堡

收稿日期:2014-11-10

基金项目:贵州省科技成果转化项目(编号:黔科合成字[2013]5076)。

作者简介:张 斌(1979—),男,硕士,高级农艺师,从事植物保护技术研究。E-mail:greenfruitzhang@hotmail.com。

通信作者:耿 坤,博士,从事植物保护技术研究。E-mail:gyszbz0851@126.com。

## 参考文献:

- [1]徐占利. 梨果采后病害新型拮抗菌分离、筛选及安全性研究[D]. 镇江:江苏大学,2010.
- [2]王海燕. 苹果、梨贮藏期病害——青霉病的防治[J]. 河南农业科学,1991(10):34.
- [3]Chalutz E, Wilson C L. Postharvest biocontrol of green and blue mold and sour rot of citrus fruit by *Debaryomyces hansenii* [J]. Plant Disease, 1990, 74(2):134-137.
- [4]Wisniewski M, Droby S, Chalutz E, et al. Effects of  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{Mg}^{2+}$  on *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum* in vitro and on the biocontrol activity of *Candida oleophila* [J]. Plant Pathology, 1995, 44(6):1016-1024.
- [5]Benbow J M, Sugar D. Fruit surface colonization and biological control of postharvest diseases of pear by preharvest yeast applications [J]. Plant Disease, 1999, 83(9):839-844.

- [6]刘海波,田世平. 水果采后生物防治拮抗机理的研究进展[J]. 植物学通报,2001,18(6):657-664.
- [7]于 帅,刘天明,魏 泓. 拮抗酵母菌对果蔬采后病害生物防治的研究进展[J]. 食品工业科技,2010(9):402-405.
- [8]孙 萍,郑晓冬,张红印,等. 黏红酵母与金属离子结合使用对柑橘采后青霉病的抑制效果[J]. 果树学报,2003,20(3):169-172.
- [9]范 青,田世平,徐 勇. 丝孢酵母对苹果采后灰霉病和青霉病抑制效果的影响[J]. 中国农业科学,2001,34(2):163-168.
- [10]McLaughlin R J, Wilson C L, Droby S, et al. Biological control of postharvest diseases of grape, peach, and apple with the yeasts *Kloeckera apiculata* and *Candida guilliermondii* [J]. Plant Disease, 1992, 76(5):470-473.
- [11]Fan Q, Tian S P. Postharvest biological control of rhizopus rot of nectarine fruits by *Pichia membranefaciens* [J]. Plant Disease, 2000, 84(11):1212-1216.