

石精涛,赵栋霖,肖艳松,等. 灰葡萄孢拮抗菌的筛选及其次级代谢产物的抑菌特性[J]. 江苏农业科学,2025,53(7):141-147.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2025.07.018

灰葡萄孢拮抗菌的筛选及其次级代谢产物的抑菌特性

石精涛^{1,2}, 赵栋霖², 肖艳松³, 邓茹婧³, 苟剑渝⁴, 彭治鑫², 郭富强², 姬 芮^{2,5},
张 鹏², 张成省², 徐康文², 施 宠¹

(1. 新疆农业大学资源与环境学院, 新疆乌鲁木齐 830052; 2. 中国农业科学院烟草研究所, 山东青岛 266101;

3. 湖南省烟草公司郴州市公司, 湖南郴州 423000; 4. 贵州省烟草公司遵义市公司, 贵州遵义 563000; 5. 青岛农业大学农学院, 山东青岛 266101)

摘要:由灰葡萄孢(*Botrytis cinerea*)引起的灰霉病是影响我国葡萄产量的主要病害之一,也是产后贮藏过程中的毁灭性病害,因此需要一种安全高效的方法应对葡萄灰霉病的发生。以 12 种从葡萄健康果实中分离出的潜在生防菌为材料,利用平板对峙试验初步测试防效;发酵并萃取拮抗效果较好的生防菌提取物进一步验证防效,然后利用扫描及透射电镜观察了提取物处理后灰葡萄孢菌丝的形态变化,最后测试了提取物的抑菌谱。结果显示,6 种菌株对灰葡萄孢的抑制率 > 70%,它们的发酵提取物在 1 mg/mL 时均对灰葡萄孢具有一定的抑制效果,其中, CX2 菌株提取物抑制效果最好,抑制率为 100%,且其抑制率存在浓度依赖性;形态学观察及分子生物学鉴定结果表明, CX2 菌株为紫红蓝状菌(*Talaromyces purpureogenus*);扫描电镜及透射电镜结果显示, CX2 提取物会导致灰葡萄孢菌丝形变及细胞器裂解;防效试验结果表明, CX2 提取物在 0.5 mg/mL 时能够有效抑制灰葡萄孢侵染葡萄果实,菌斑抑制率达到 97.44%;进一步的抑菌谱结果表明, CX2 菌株提取物对黄瓜织球壳菌等 7 种病原真菌具有明显的抑菌活性,其中,对黄瓜织球壳菌(*Plectosphaerella cucumerina*)和稻黑孢菌(*Nigrospora oryzae*)的抑制效果尤为明显,抑制率分别是 92.47% 和 100.00%。综上, CX2 菌株具有广谱的抗真菌活性,且具有开发为灰葡萄孢生防菌的潜力。

关键词:葡萄;拮抗菌;灰葡萄孢;紫红蓝状菌;生防资源

中图分类号: S436.631.1⁺9 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2025)07-0141-07

葡萄作为我国传统的农作物,种植历史悠久且总产出量位居全球之首^[1-2]。葡萄产业在迅速发展的同时,伴随着各类病害频发,对我国葡萄产业的持续良性发展构成了显著的制约。由灰葡萄孢(*Botrytis cinerea*)所引起的葡萄灰霉病是影响葡萄产量的关键病害之一。该病害主要对葡萄的花序、嫩果、叶片及成熟果品造成损害,导致花序、嫩果发生软化腐烂或枯萎脱落,在我国葡萄栽培中发生尤为普遍,受害果园的病穗率常常超过 50%^[1,3]。

当前,对于灰葡萄孢的防治,普遍采用化学农

药如多菌灵、腐霉利和啞霉胺等进行喷洒处理^[4]。尽管在防治病害方面效果显著,但化学药剂在使用过程中普遍存在过量喷施现象,这可能增加灰霉病菌的耐药性,同时化学农药的残留还可能对环境造成污染,进而对人体健康构成风险^[5-6]。因此,生物防治因其绿色、高效、安全的特性而成为灰葡萄孢防治中的热点之一^[7]。近年来,许多对灰葡萄孢具有良好拮抗效果的菌株被分离鉴定,其中,包括芽孢杆菌(*Bacillus* sp.)、链霉菌(*Streptomyces* spp.)、酵母菌(*Saccharomyces* sp.)、木霉(*Trichoderma* spp.)等^[8-10]。鉴于我国葡萄品种多样,种植区域气候、土壤等因素差异较大^[11],依托现有菌株资源,筛选出特异性的拮抗真菌显得尤为重要。

本研究以灰葡萄孢病菌为靶标,从葡萄健康果实中分离出的 12 株菌中筛选拮抗菌株,并对拮抗效果较好的潜在生防菌进行发酵液提取,其中, CX2 菌株拮抗效果最佳。进一步对 CX2 菌株进行分子生物学鉴定,通过扫描电镜和透射电镜观察 CX2 提取物对灰葡萄孢超微观结构的影响,通过盆栽试验明确 CX2 对灰葡萄孢的生防效果,旨在为灰葡萄孢

收稿日期:2024-05-17

基金项目:国家自然科学基金(编号:32302448);中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(编号:1610232023025);中国烟草总公司重大科技项目[编号:110202201005(JY-05)、110202101057(LS-17)];国家盐碱地综合利用技术创新中心揭榜挂帅项目(编号:GYJ2023005);青岛市科技惠民示范专项(编号:23-3-8-xdny-2-nsh)。

作者简介:石精涛(2000—),男,河南三门峡人,硕士研究生,主要研究方向为农业微生物。E-mail: sjthsmx@163.com。

通信作者:施 宠,博士,副教授,硕士生导师,主要研究方向为禾草内生真菌。E-mail: shichong98@163.com。

的生物防治提供合适的菌种资源,并有望用于制备生物菌剂用以葡萄灰霉病防治。

1 材料与方法

1.1 试验材料及主要仪器

1.1.1 供试菌株 拮抗菌从葡萄健康果实分离纯化出的 12 株菌,其编号分别为 GUI7、GUI12、V29、CX1、CX2、CX3、CX3、W1、W2、YC3、BZ2、BZ4。

病原真菌:灰葡萄孢菌(*Botrytis cinerea*)菌株 0201、黄瓜织球壳菌(*Plectosphaerella cucumerina*)、番茄枯萎病菌(*Fusarium oxysporum*)、水稻恶苗病菌(*Fusarium moniliforme* Sheld)、白菜黑斑病菌(*Alternaria raphani* Groves)、小麦赤霉病菌(*Fusarium graminearum*)、烟草疫霉病菌(*Phytophthora nicotianae*)、稻黑孢菌(*Nigrospora oryzae*);病原细菌:胡萝卜软腐果胶杆菌(*Pectobacterium carotovorum*)、西瓜噬酸菌(*Acidovorax citrulli*)、柑橘溃疡病菌(*Xanthomonas citri* subsp. *Citri*. Line)、梨火疫病菌(*Erwinia amylovora*)、青枯劳尔氏菌(*Ralstonia solanacearum*)。

以上菌株均保藏于中国农业科学院烟草研究所。

1.1.2 供试培养基和试剂 PDA 及 PDB 培养基,购自北京索莱宝科技有限公司。甲醇和二氯甲烷均为分析纯,购自中国国药集团化学试剂公司。

1.1.3 主要仪器 中国新芝 S10 高速匀浆机;上海一恒 LRH-250 生化培养箱;上海知楚 ZQZY-CF9.9 振荡培养箱;德国 Heidolph Hei-VAP Value 旋转蒸发仪;美国 Waters e2695 高效液相色谱仪。

1.1.4 试验时间和地点 试验起始于 2023 年 7 月,完成于 2024 年 3 月,在中国农业科学院烟草研究所完成。

1.2 灰葡萄孢拮抗菌筛选

参照朱杰等的平板对峙方法^[12]并略加修改:选取活化状态良好的灰葡萄孢菌株 0201,利用无菌打孔器($d=5\text{ mm}$)在其菌丝边缘处打孔,并将菌丝面朝下,接种于预先制备好的 PDA 培养基中央,采用相同的方法处理生防菌,并将菌碟放置于距离 0201 菌块左右两侧各 3 cm 的位置,空白对照(CK)为仅接种病原菌 0201 的培养基,每处理重复 3 次。在 25℃ 条件下静置培养 3 d 后使用游标卡尺精确测量病原真菌菌落的直径(mm)。通过计算,得到抑菌率。

抑菌率 = $(1 - \text{处理组菌落直径} / \text{对照组菌落直$

径) $\times 100\%$ 。

1.3 拮抗菌提取物抑菌效果试验

1.3.1 拮抗菌孢子液制备 以“1.2”节中的拮抗菌为材料,在 PDA 平板上 28℃ 培养 10 d。无菌水冲洗,使用 8 层纱布过滤菌丝,吸取上清,采用血细胞计数板在显微镜下确定拮抗菌孢子液浓度。无菌水稀释成 1×10^6 CFU/mL 孢子悬浮液。

1.3.2 拮抗菌提取物的制备 吸取 1 mL 孢子悬浮液加入预先配制好的 300 mL PDB 液体培养基中,37℃ 下振荡培养 14 d 后,将液体培养基过 4 层纱布,得到的菌丝中加入 500 mL 甲醇和二氯甲烷(1:1)并利用高速匀浆机将菌丝破碎,超声浸取 2 遍后再次过 4 层纱布获得甲醇和二氯甲烷有机相,将有机相旋蒸浓缩后用水转出,在水相中加入 2 倍体积的乙酸乙酯萃取 3 次,旋蒸至干;菌液中加入 2 倍体积的乙酸乙酯超声浸取 2 遍后,利用分液漏斗得到乙酸乙酯相萃取旋蒸至干,2 次蒸干的乙酸乙酯相,合并后得到拮抗菌提取物。

1.3.3 拮抗菌提取物对灰葡萄孢的抑制率 采用菌丝生长速率法^[13]测定提取物对灰葡萄孢的抑菌率:取 100 mg 提取物加入 500 μL 二甲亚砜(DMSO)溶解,配制成 200 mg/mL 的溶液,取 250 μL 溶液加入到 50 mL 的 PDA 培养基中,配成终浓度 1 mg/mL 的含药培养基,倒入 9 cm 的培养皿中制成平板培养基。用打孔器($d=5\text{ mm}$)从活化 4 d 的灰葡萄孢菌丝边缘处打孔,取得菌碟倒置在培养基中央,25℃ 培养 3 d。采用十字交叉法测量菌丝生长的直径(mm),以仅加入相同体积 DMSO 的 PDA 培养基作空白对照。每个处理重复 3 次。

抑菌率 = $(\text{对照菌落直径} - \text{处理菌落直径}) / (\text{对照菌落直径} - \text{菌碟直径}) \times 100\%$ 。

1.3.4 不同浓度拮抗菌 CX2 提取物对灰葡萄孢的抑制率 取 100 mg CX2 提取物加入 500 μL 二甲亚砜(DMSO)溶解,配制成 200 mg/mL 的溶液,分别取 25、50、125、250 μL 溶液加入 PDA 培养基,配成终浓度 0.1、0.2、0.5、1.0 mg/mL 的含药培养基,倒入 9 cm 的培养皿中制成平板培养基。之后的接菌、培养、测量与“1.3.3”节中方法一致。

1.4 拮抗菌 CX2 的鉴定

1.4.1 CX2 菌株的形态学鉴定 用打孔器($d=5\text{ mm}$)取菌碟倒置于 PDA 培养基将菌株 CX2 活化后,28℃ 培养 5 d,待长出菌落后,采用接种针挑取菌丝置于载玻片上,在显微镜下观察菌丝形态特

征,并对其进行初步鉴定。

1.4.2 CX2 菌株的分子生物学鉴定 菌株 CX2 ITS1/ITS4 基因扩增及测序采用 CTAB 法进行基因组总 DNA 提取。PCR 扩增体系为 50 μ L:模板 DNA (36 ng/ μ L) 2 μ L,引物 ITS1 (5' - TCCGTAGGTGAAC CTGCGG - 3') 和 ITS4 (5' - TCCTCCGCTTATTGATA TGC - 3') (10 μ mol/L) 各 2 μ L, 10 \times Phanta Flash Mix (Dye Plus) 2 μ L, 双蒸水 19 μ L。PCR 扩增程序: 95 $^{\circ}$ C 5 min; 95 $^{\circ}$ C 15 s, 56 $^{\circ}$ C 15 s, 72 $^{\circ}$ C 2 min, 34 个循环; 72 $^{\circ}$ C 10 min。将 PCR 产物送交北京擎科生物技术有限公司进行测序。测序结果查询 GenBank 数据库,采用 BLAST 在线工具与数据库的序列进行同源性比较,利用 MEGA X 软件,使用邻接法构建系统发育树。

1.5 扫描电镜 (SEM) 和透射电镜 (TEM) 观察拮抗菌 CX2 提取物对灰葡萄孢菌丝形态变化

参照“1.3.4”节中的方法,将灰葡萄孢 25 $^{\circ}$ C 培养于 0.2 mg/mL CX2 提取物的培养基 3 d,以仅加入相同体积 DMSO 的 PDA 培养基作空白对照。收集的菌丝体用 2.5% Gluta 固定液固定 (4 $^{\circ}$ C),送往青岛大学医学部进行电镜观察。

1.6 拮抗菌 CX2 提取物在离体葡萄上的抑制作用

1.6.1 灰葡萄孢孢子液制备 以灰葡萄孢为材料,在 PDA 平板上 25 $^{\circ}$ C 培养 10 d。无菌水冲洗,使用 8 层纱布过滤菌丝,吸取上清,用血细胞计数板在显微镜下确定灰葡萄孢孢子液浓度。无菌水稀释成 1×10^6 CFU/mL 孢子悬浮液。

1.6.2 CX2 提取物在离体葡萄上的抑制作用 选取新鲜葡萄果实,浸泡在 2% 次氯酸钠溶液中 2 min,然后用无菌水冲洗 3 次后在空气中晾干。果实在最大周长处用无菌针头造成 3 mm 宽和 3 mm 深的伤口。无菌水冲洗 3 次后晾干,采用无菌针头

于果实上刺 1 个伤口 (3 mm \times 3 mm),然后置于配制好的终浓度为 0.0、0.2、0.5、1.0 mg/mL CX2 提取物溶液中浸泡 5 min 后晾干,将 5 μ L 灰葡萄孢孢子悬浮液 (孢子数 1×10^6 CFU/mL) 加入伤口。接种后的果实在 25 $^{\circ}$ C 下培养 3 d 后,观察并测量病斑直径,根据病斑直径计算抑制率。进行了 3 次生物学重复试验,每个处理包含 15 个果实。

$$\text{病斑生长抑制率} = \frac{\text{对照病斑直径 (mm)} - \text{处理病斑直径 (mm)}}{\text{对照病斑直径 (mm)} - 3 \text{ mm}} \times 100\%。$$

1.7 拮抗菌 CX2 提取物抑菌谱测定

以“1.1.1”节中所述的病原真菌和病原细菌作为材料,旨在测定 CX2 提取物的抑菌谱。对病原真菌的抗菌活性的测定方法与“1.3”节中的方法一致。对病原细菌抗菌活性的测定,参照吴小云等的点接种法^[14]。具体操作为:将 2 μ L 浓度为 1 mg/mL 的 CX2 提取物点接种于含有 200 μ L 病原细菌均匀涂布的 LA 平板上,在 28 $^{\circ}$ C 静置培养 24 h 后,利用十字交叉法对抑菌圈及菌落直径进行测量,并据此计算抑菌率。每个菌株重复 3 次。

$$\text{抑菌率} = \text{抑菌圈直径} / \text{菌落直径} \times 100\%。$$

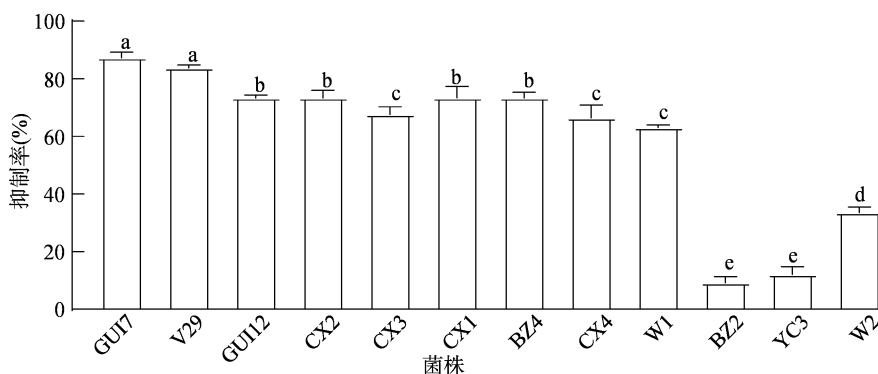
1.8 数据分析

使用 Microsoft Office Excel 2019 和 SPSS 18.0 进行数据统计分析,使用 GraphPad Prism9 作图。

2 结果与分析

2.1 灰葡萄孢拮抗菌筛选

由图 1 可知,从葡萄健康果实中分离纯化出的 12 株真菌对灰葡萄孢病菌的抑制率在 9.24% ~ 87.28%,其中,抑制率 > 70% 的菌株由高到低依次是 GUI7、V29、GUI12、CX2、CX1 和 BZ4,它们的抑制率在 73.41% ~ 87.28% 之间。



柱上不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$), 图 2、图 3、图 6 同
图 1 拮抗菌对灰葡萄孢菌丝生长的抑制率

2.2 拮抗菌提取物的抑菌活性

2.2.1 拮抗菌提取物对灰葡萄孢的抑菌作用 利用化学试剂分离出上述 6 种对灰葡萄孢抑菌率 > 70% 的菌株提取物,并研究其对灰葡萄孢病的抑制作用。由图 2 可知,提取物终浓度为 1 mg/mL 时,利用菌丝生长速率法测定 GUI7、V29、GUI12、CX2、CX1 和 BZ4 对灰葡萄孢病抑制率为 31.77% ~ 100.00%。其中, CX2 提取物抑制率为 100.00%, 防效尤为突出。

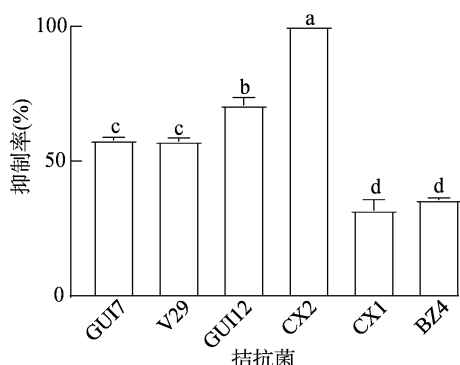


图2 6种拮抗菌提取物对灰葡萄孢的抑制率

2.2.2 CX2 提取物对灰葡萄孢的抑制作用 鉴于 CX2 提取物在 1 mg/mL 时对灰葡萄孢具有良好的抑制活性,于是设置浓度梯度,测定其不同浓度下对灰葡萄孢的抑制率。由图 3 可知, CX2 提取物浓度为 0.1、0.2、0.5、1.0 mg/mL 时,其抑菌率分别为 22.05%、31.99%、91.73%、100.00%。

2.3 拮抗菌 CX2 鉴定

2.3.1 CX2 菌株形态学鉴定 将 CX2 菌株接种于

PDA 培养基上 28 ℃ 培养 5 d 后,观察菌落形态。由图 4 - a、图 4 - b 可知,菌株培养 5 d 后菌落呈现出淡黄色,形状规则的圆形,产红色代谢产物,菌落直径为 35 ~ 40 mm;菌丝为粉末状,分生孢子梗为对称扫帚状。

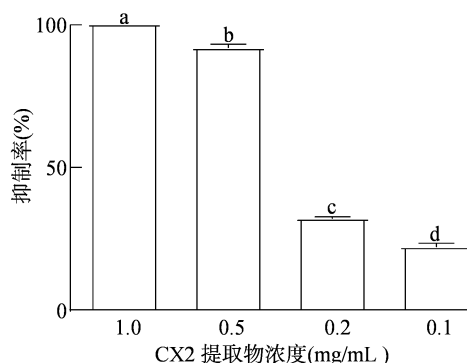


图3 不同浓度 CX2 提取物对灰葡萄孢的抑制率

2.3.2 CX2 菌株分子生物学鉴定 将测序后获得的 ITS 区序列输入 NCBI 数据库进行比对,并下载与其相近的同源序列,利用 MEGA X 软件构建系统发育树,由图 4 - c 可知,菌株 CX2 与 *Talaromyces purpureogenus* 在同一分支,序列同源率为 100%。结合形态学鉴定结果,菌株 CX2 鉴定为 *Talaromyces purpureogenus* (紫红蓝状菌)。

2.4 CX2 提取物对灰葡萄孢细胞形态与结构的电镜研究

CX2 提取物导致灰葡萄孢 0201 在菌丝形态上出现异常,为研究 CX2 提取物对灰葡萄孢 0201 的菌丝形态及内部结构影响,进行了电镜分析。

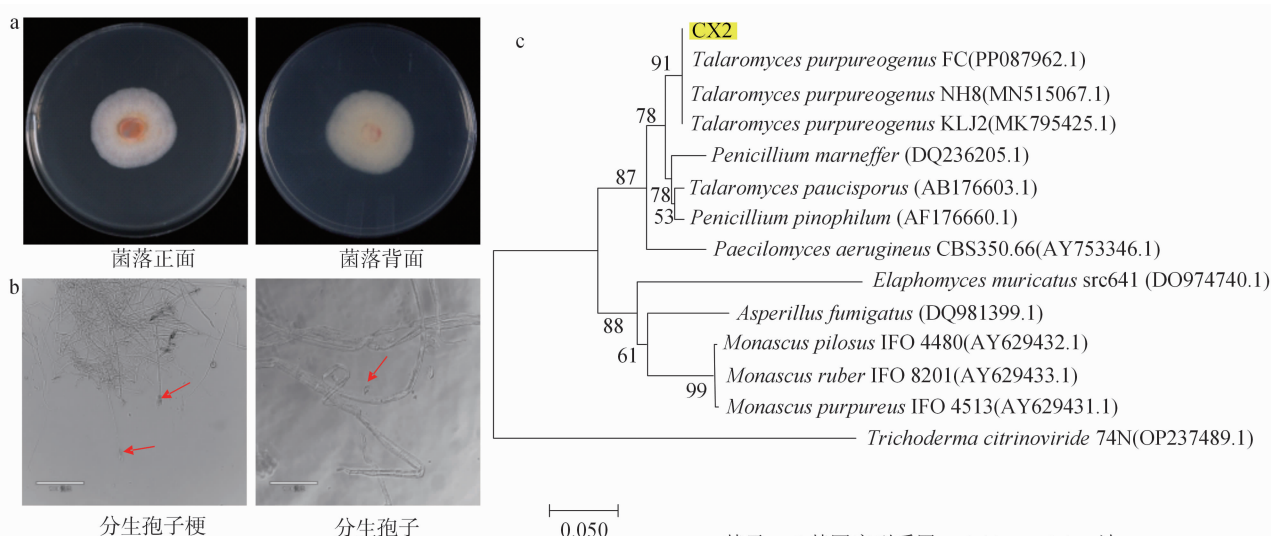


图4 CX2 菌株鉴定

2.4.1 扫描电镜(SEM)观察结果 由图 5-a 可知,CX2 提取物对灰葡萄孢细胞结构具有显著影响,对照组的菌丝形态正常,呈现出光滑且饱满圆润的状态,而在浓度为 0.2 mg/mL CX2 提取物培养基生长的菌丝呈现出变粗、弯曲、断裂、塌陷的现象。

2.4.2 透射电镜(TEM)分析结果 由图 5-b 可知,由于在浓度为 0.2 mg/mL CX2 提取物培养基生

长的菌丝表面结构异常,因此使用透射电子显微镜来研究内部结构变化,对照组灰葡萄孢显示出正常的细胞结构,细胞壁及细胞膜完整,细胞核、线粒体、液泡均清晰可见;CX2 提取物处理的灰葡萄孢细胞虽然细胞壁及细胞膜完整,但其细胞核、线粒体及液泡等细胞器均很模糊。

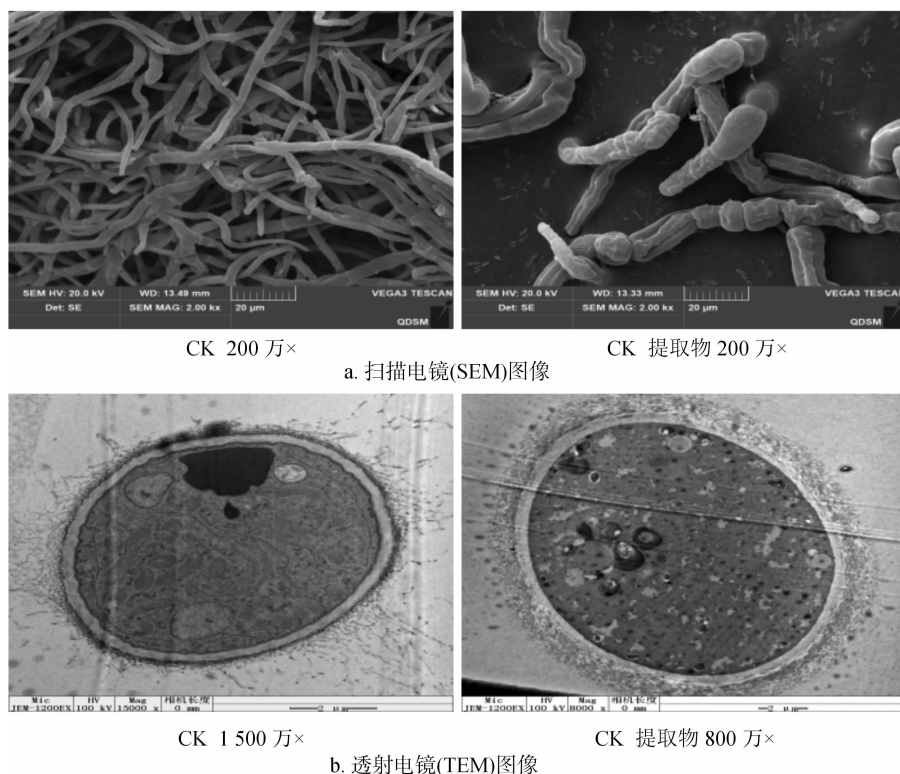


图5 CX2 提取物对葡萄灰霉菌丝超微结构的影响

2.5 CX2 提取物对葡萄防效试验结果

由图 6 可知,与对照组相比,经过 0.2、0.5、1.0 mg/mL CX2 提取物溶液浸泡的葡萄对菌斑的抑制率分别是 52.72%、97.44%、38.34%,CX2 提取物浓度较低时,其对菌斑的抑制率呈现出浓度依赖性,且在 0.5 mg/mL 时对菌斑的抑制率达到最大值。

2.6 菌株 CX2 抑菌谱测定结果

由表 1 可知,菌株 CX2 对病原细菌无抑制效果,但对常见的 7 种病原真菌黄瓜织球壳菌、番茄枯萎病菌、水稻恶苗病菌、白菜黑斑病菌、小麦赤霉病菌、烟草疫霉病菌、稻黑孢菌均具有不同程度的抑制作用。其中,菌株 CX2 对黄瓜织球壳菌和稻黑孢菌的抑制效果尤为明显,抑制率分别是 92.47% 和 100.00%。由此可见,菌株 CX2 具有广谱抑真菌活性,具有广阔的抑制真菌病害的生防潜力。

3 讨论

灰葡萄孢作为一种机会病原菌,目前尚未在天然种质资源中发现抗病材料,人工培育抗病品种也尚未成功,目前广泛使用的化学药剂在取得一定防效的同时,也存在灰葡萄孢抗药性增强以及低效、残留等问题,而生物防治可有效解决这一问题^[15]。

本研究通过平板拮抗法测定从葡萄健康果实中分离出的 12 株潜在拮抗菌对灰葡萄孢的抑制率,并对筛选出的 6 株效果较好的拮抗菌进行发酵萃取其提取物,最终筛选出提取物拮抗效果最好的菌株 CX2,经鉴定该菌株为紫红篮状菌(*Talaromyces purpureogenus*)。篮状菌(*Talaromyces* sp.)作为真菌的一种,普遍存在于陆地和海洋生态系统中,该菌形成的多种次生代谢产物,具有抗菌、抗肿瘤及病毒的良好活性^[16]。Sgpa 等发现,*Talaromyces purpureogenus*

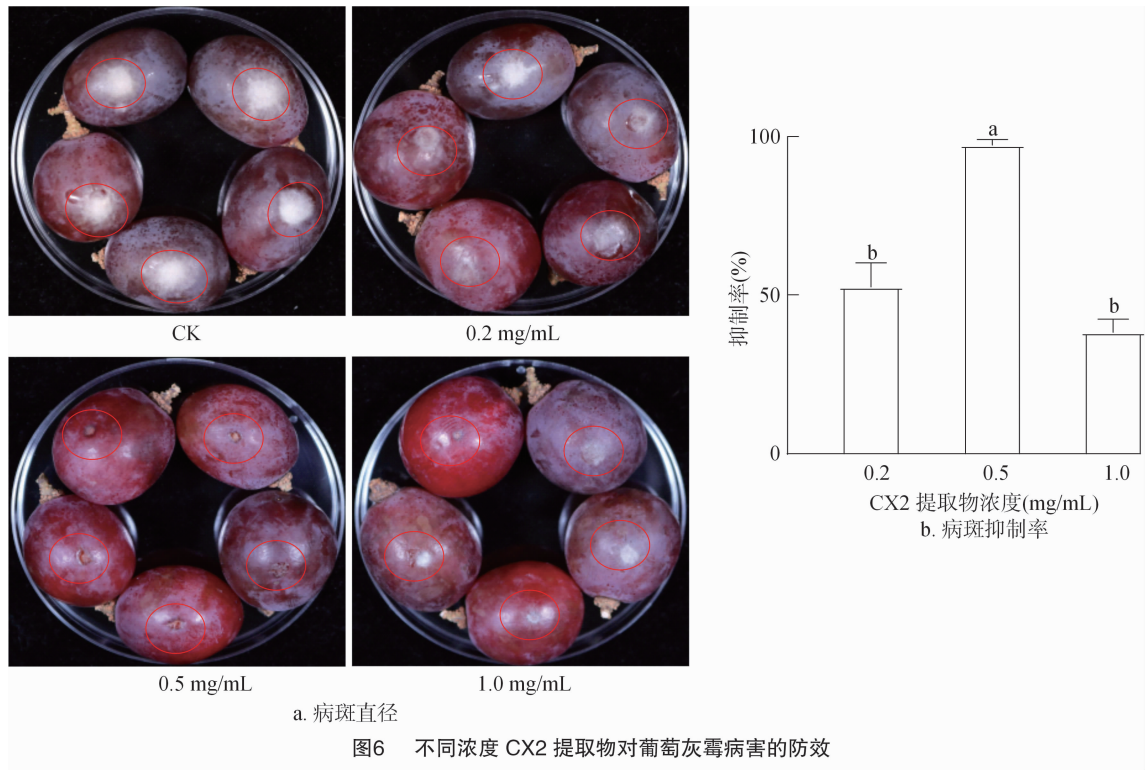


图6 不同浓度 CX2 提取物对葡萄灰霉病害的防效

表 1 菌株 CX2 对供试病原菌的抑菌谱

病原真菌	抑制率 (%)
黄瓜织球壳菌	92.47 ± 1.86
番茄枯萎病菌	22.88 ± 2.65
水稻恶苗病菌	41.74 ± 1.43
白菜黑斑病菌	70.54 ± 1.34
小麦赤霉病菌	75.88 ± 0.51
烟草疫霉病菌	41.67 ± 1.80
稻黑孢菌	100.00
胡萝卜软腐果胶杆菌	0
西瓜噬酸菌	0
柑橘溃疡病菌	0
梨火疫病菌	0
青枯劳尔氏菌	0

CFRM02 产生的色素对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌具有抗菌活性^[17]; Zaccarim 等发现, *Talaromyces amestolkiae* 产生的色素对革兰氏阳性菌具有抑制作用^[18]; Tian 等发现的 *Talaromyces purpurogenus* Q2 对烟草黑胫病和苦瓜枯萎病的生物控制效果分别达到 75.3% 和 63.4%^[19]; 罗曼等分离的篮状菌 DYM25 的胞外产物对枯萎病致病菌抑制效果显著^[20]。生防菌对病原真菌的抑制作用机制主要包括: 导致病原菌菌丝畸形、顶端膨大、分枝增多、细胞

质外渗等^[9]。同样, CX2 菌株提取物 >0.5 mg/mL 时能够有效抑制灰葡萄孢菌丝生长, 且抑制率呈现出明显的浓度依赖性。扫描电镜及透射电镜结果显示会导致灰葡萄孢菌丝呈现出变粗、弯曲、断裂、塌陷的现象; 细胞核、线粒体及液泡等细胞器呈现出模糊的现象。此外, 本研究还评估了 CX2 菌株提取物对常见植物病原菌的抑菌谱, 研究发现 CX2 菌株提取物对病原细菌的拮抗效果不佳, 但能高效抑制供试病原真菌, 特别是对黄瓜织球壳菌和稻黑孢菌抑制效果显著, 这一结果表明 CX2 菌株具备较强的防控常见植物真菌病害的潜力。

灰葡萄孢能够在运输过程中侵染葡萄果实, 导致果实软腐并降低葡萄的食用品质^[21-22]。在本研究的防效试验中, 先将葡萄果实浸泡在不同浓度的 CX2 提取物中, 再接种灰葡萄孢孢子悬浮液, 通过观察病斑直径评估 CX2 菌株对灰葡萄孢的防治效果。结果显示, CX2 提取物对葡萄灰霉病的防治呈现出浓度依赖性, 且在 0.5 mg/mL 时抑制率达到最大值 97.44%。但在 1 mg/mL 时抑制率却远低于其他处理, 初步判断是因为 1 mg/mL 浓度过高, 破坏了葡萄本身的渗透压平衡导致在伤口处渗出大量伤流液, 而伤流液营养丰富利于葡萄灰霉病斑生长, 最终降低了 CX2 提取物的防治效果, 因此 CX2 提取物在实际使用过程中需要控制其用量。这些

试验结果表明,CX2 提取物对葡萄灰霉病具有良好的预防和控制效果,为菌株 CX2 后续在灰葡萄孢防治中提供了重要的试验数据支撑。

4 结论

本试验从 12 株潜在生防真菌中筛选出 6 株拮抗效果较好的菌株,并对这 6 株菌进行发酵萃取其提取物,发现 CX2 菌株提取物对灰葡萄孢菌株 0201 具有较强的拮抗效果;经鉴定 CX2 菌株为紫红篮状菌,其提取物能够导致葡萄灰霉菌丝形变及细胞器裂解;温室条件下,CX2 菌株提取物能够有效抑制葡萄灰霉菌斑形成,具有良好的防治效果;且 CX2 菌株对真菌具有广谱的抑菌活性,具有开发为生物菌剂的潜力。

参考文献:

- [1] 刘 勇,何华平,王富荣,等. 132 份葡萄种质资源叶片对灰霉病的抗性鉴定[J]. 中国南方果树,2024,53(2):196-200,205.
- [2] 赖呈纯,赖恭梯,陈冰星,等. 拮抗酵母菌的筛选鉴定、生物学特性及其对葡萄灰霉病菌的抑菌活性研究[J]. 中国生物防治学报,2023,39(3):594-606.
- [3] Zhang H Y, Godana E A, Sui Y, et al. Biological control as an alternative to synthetic fungicides for the management of grey and blue mould diseases of table grapes; a review[J]. Critical Reviews in Microbiology, 2020, 46(4):450-462.
- [4] 陈 乐,苗则彦,孙柏欣,等. 灰霉病菌抗药性研究进展[J]. 中国植保导刊,2020,40(4):21-30.
- [5] Rupp S, Weber R W S, Rieger D, et al. Spread of *Botrytis cinerea* strains with multiple fungicide resistance in German horticulture[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 7:2075.
- [6] 田 秀,周连柱,黄晓庆,等. 我国葡萄灰霉病菌对四霉素和啮酰菌胺的敏感性测定[J]. 中国生物防治学报,2022,38(4):868-873.
- [7] Kim J D, Kang J E, Kim B S. Postharvest disease control efficacy of the polyene macrolide lucensomycin produced by *Streptomyces plumbeus* strain CA5 against gray mold on grapes[J]. Postharvest Biology and Technology, 2020, 162:111115.
- [8] 黄艺烁,谢学文,石延霞,等. 多黏类芽孢杆菌 ZF197 对白菜茎基腐病防治效果[J]. 园艺学报,2020,47(6):1059-1071.
- [9] 史洪丽,李 腊,郭翠梅,等. 番茄灰霉病生防菌株 TL1 的分离、鉴定及其生防能力分析[J]. 园艺学报,2023,50(1):79-90.
- [10] 于佳奕. 番茄灰霉病菌拮抗菌的筛选和应用[J]. 世界热带农业信息,2023(2):25-27.
- [11] 曹琬迪.“阳光玫瑰”葡萄产业发展现状与对策分析[J]. 热带农业科学,2023,43(5):126-131.
- [12] 朱 杰,程 亮,张 纲,等. 樱桃叶斑病生防菌株萎缩芽孢杆菌菌株 QH-588 的筛选鉴定[J]. 南方农业学报,2021,52(11):3022-3033.
- [13] 张希芬,林 伟,李清钰,等. 抗烟草疫霉活性木霉与芽孢杆菌共培养体系的构建与优化[J]. 中国烟草科学,2022,43(1):61-68.
- [14] 吴小云,何朋杰,罗喜燕,等. 金银花内生叶斑病菌拮抗菌分离鉴定及生防效果测定[J]. 南方农业学报,2023,54(10):2958-2968.
- [15] 张 威,周 勇,彭言劼,等. 葡萄灰霉病病原菌鉴定及天然药物的抑制效果评价[J]. 中外葡萄与葡萄酒,2021(4):26-32.
- [16] 陈仲巍,林凤娇,陈彬彬,等. 篮状菌属微生物次级代谢产物研究进展[J]. 生物资源,2022,44(4):362-369.
- [17] Pandit S G, Mekala Ramesh K P, Puttananjaiah M H, et al. *Cicer arietinum* (Bengal gram) husk as alternative for *Talaromyces purpureogenus* CFRM02 pigment production: bioactivities and identification[J]. LWT, 2019, 116:108499.
- [18] Zaccarim B R, de Oliveira F, Passarini M R Z, et al. Sequencing and phylogenetic analyses of *Talaromyces amestolkiae* from Amazon: a producer of natural colorants[J]. Biotechnology Progress, 2019, 35(1):e2684.
- [19] Tian Y H, Fu X S, Yan X C, et al. The control efficacy and mechanism of *Talaromyces purpureogenus* on *Fusarium* wilt of bitter melon[J]. Biological Control, 2022, 165:104804.
- [20] 罗 曼,吴旭东,夏钰华,等. 篮状菌 DYM25 胞外产物的初步鉴定及其生物学活性[J]. 应用海洋学学报,2022,41(4):599-606.
- [21] Li G J, Chen Y, Zhang Z Q, et al. 2,3-Butanedione suppresses gray mold of postharvest fruit by activating the autophagy of *Botrytis cinerea* [J]. Postharvest Biology and Technology, 2022, 193:112057.
- [22] 颜 倩,侯 瑞,李 思,等. 1 株蓝莓灰霉病病原菌的分离鉴定及杀菌剂室内毒力测定[J]. 江苏农业科学,2024,52(3):153-159.