

采前喷施洋葱伯克霍尔德菌 *Burkholderia contaminans* 对草莓采后腐烂和品质的影响

施俊凤¹ 孙常青^{2*} 张婧婷^{1,3}

(1. 山西省农业科学院农产品贮藏保鲜研究所, 太原 030031; 2. 山西省农业科学院作物科学研究所, 太原 030031;

3. 山西大学生命科学学院, 太原 030006)

摘要: 为明确采前喷施洋葱伯克霍尔德菌 *Burkholderia contaminans* B-1 对草莓采后贮藏期的腐烂和品质的影响, 采用洋葱伯克霍尔德菌悬液喷施草莓植株, 检测草莓采后腐烂率及硬度、色泽、可滴定酸、抗坏血酸及失重率等指标, 并统计草莓表面菌落生长情况。结果表明, 采前喷施浓度为 1×10^{10} CFU/mL 的洋葱伯克霍尔德菌 B-1 菌悬液, 可显著降低草莓采后腐烂的发生, 而且喷施 3 次贮藏效果优于喷施 1 次。在 16°C 下贮藏 7 d, 喷施 3 次处理在接种灰葡萄孢菌和自然条件下的抑制率分别达到 67.33% 和 58.45%。采前喷施洋葱伯克霍尔德菌菌悬液可有效提升草莓品质, 延缓果实硬度、可溶性固形物、可滴定酸, 降低 Vc 含量, 一定程度上可保持果实亮度。洋葱伯克霍尔德菌可在果实表面定殖, 且抑制果实表面病原菌的生长。菌悬液喷施 3 次, 16°C 贮藏 7 d 后, 果实表面拮抗菌数量达到贮藏前的 4.79×10^4 倍, 同时, 病原菌在果实表面的菌落数也大大减少。洋葱伯克霍尔德菌可引起灰葡萄孢菌菌丝畸形, 内含物外渗。此外, 洋葱伯克霍尔德菌对草莓植株白粉病有抑制作用, 并促进植株生长, 株高、单株鲜重和单株叶片分别比对照增加 19.39%、28.13% 和 36.04%。研究表明该菌株在草莓生产和贮藏领域具有较大潜力。

关键词: 洋葱伯克霍尔德菌; 草莓; 采前喷施; 腐烂率; 品质

Effects of preharvest spraying of *Burkholderia contaminans* on postharvest decay and quality of strawberry

Shi Junfeng¹ Sun Changqing^{2*} Zhang Jingting^{1,3}

(1. Institute of Agricultural Product Storage and Fresh Keeping, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Taiyuan 030031, Shanxi Province, China; 2. Institute of Crop Sciences, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Taiyuan 030031, Shanxi Province, China; 3. College of Life Sciences, Shanxi University, Taiyuan 030006, Shanxi Province, China)

Abstract: To find out the effects of preharvest application of *Burkholderia contaminans* on postharvest decay and quality of strawberry fruits, the strawberry plants were sprayed with *B. contaminans* B-1 suspension, and the parameters of strawberry fruits such as hardness, color, titratable acidity, ascorbic acid and weight loss were evaluated, and statistical analysis of the colony growth on the fruit surface was conducted in this study. After separately stored at 16°C for seven days and at 6°C for 15 days, the trial results showed that the postharvest disease occurrence could be significantly reduced when spraying 1×10^{10} CFU/mL B-1 before harvest, and spraying three times could bring better results than spraying only one time. When the strawberries were stored at 16°C for seven days, the inhibition rate on the fruits inoculated with *Botrytis cinerea* was 67.33% when applying B-1 three times, while the value under natural conditions was 58.45%. Preharvest application of *B. contaminans* could greatly improve the quality

基金项目: 山西省重点研发计划项目(201703D221010-1), 山西省农业科学院博士后基金(BSH-2015JJ-003)

* 通信作者 (Author for correspondence), E-mail: schqty@126.com

收稿日期: 2016-08-29

of strawberry fruits, help keep the hardness, SSC, titratable acid and Vc content for longer time, and maintain the fruit brightness to some extent. The antagonistic bacteria B-1 could effectively colonize on the fruit surface, and inhibit the pathogen growth. With the strawberry being sprayed with B-1 suspension three times, the number of antagonistic bacteria on the fruits stored at 16°C for seven days reached 4.79×10^4 times of the prestorage number, while the number of pathogenic fungi was greatly reduced. B-1 could cause hyphal malformation, rupture and inclusion extravasation. In addition, *B. contaminans* had an inhibitory effect on the powdery mildew, and could also promote the growth of strawberry plants. After spraying three times, the plant height, plant fresh weight and leaf number per plant increased by 19.39%, 28.13% and 36.04%, respectively, compared with those of the control. The results suggested that B-1 bacterial strain had great potential for strawberry production and storage application.

Key words: *Burkholderia contaminans*; strawberry; preharvest spraying; rotting rate; quality

草莓属蔷薇科草莓属,果实酸甜适口,具有很高的营养价值,但由于其果皮缺乏保护层,极易受到机械损伤及病原菌侵染,导致腐烂(Garcia et al., 1998)。长期以来,化学杀菌剂是防治草莓采后腐烂的主要方法,但化学杀菌剂易造成环境污染,引起植物耐药性,且其残留也对人体健康有害(王剑峰等, 2011; 周金伟等, 2016),因此,寻找新的无公害防治方法势在必行。

目前,微生物防治方法由于其无残留、不产生耐药性等优点,被认为是最有可能替代化学杀菌剂的方法之一(李静等, 2007; Sharma et al., 2009)。蔡文韬等(2013)和段军娜等(2014)研究表明,拮抗菌能够有效防治各种果蔬的采后病害。Biggs(1995)报道,果实在采后贮藏或贮运过程中,引起其腐烂的病原菌大多来源于田间。因此,采取有效措施来降低采后果实表面的带菌量对于减少采后腐烂有重要作用(Droby et al., 2009)。Ippolito & Nigro(2000)和 Janisiewicz & Korsten(2002)研究表明,采前利用微生物防治方法可以有效降低果蔬采后病害发生。由于洋葱伯克霍尔德菌 *Burkholderia contaminans* 可产生硝吡咯菌素、吩嗪、苯基吡咯、Cepaciamide A、Cepacidine A 等多种次生代谢物质,具有生物防治、生物降解以及促进植物生长等多种功能,应用前景广泛(权春善等, 2005; 范三红等, 2016)。目前已有洋葱伯克霍尔德菌用于果实采后相关的报道, Parke & Gurian-scherma(2001)发现洋葱伯克霍尔德菌不仅可以有效抑制梨青霉病、苹果灰霉病和桃褐腐病等采后病害,其对植株的茎叶病害也有较强的抑制作用。范青等(2001)发现洋葱伯克霍尔德菌对甜樱桃果实采后褐腐病具有显著的抑制作用。目前洋葱伯克霍尔德菌用于采后保鲜的水果主要有苹果、梨、桃、樱桃,而用于草莓的研究未见相关报道。

本研究以洋葱伯克霍尔德菌 B-1 为生防菌株,于草莓采前分别喷施该菌株的菌悬液 1 次或 3 次,通过研究该菌株对草莓采后腐烂的抑制作用和品质指标的影响,以及果实表面菌落生长状况的统计,旨在为研究和开发新型高效的草莓保鲜剂提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

供试植株、拮抗菌及病原菌:草莓品种为红颜,于山西省榆次市东阳镇温室内采用常规方法起垄种植,未使用化学杀菌剂。拮抗菌为洋葱伯克霍尔德菌 B-1,由本实验室分离于杏果实表面,根据核糖体 16S rDNA 核苷酸序列比对并结合生理生化特性进行鉴定。灰葡萄孢菌 *Botrytis cinerea* 分离于自然发病的草莓,并经过形态学鉴定。

培养基:LB(Luria-Bertani)培养基:蛋白胨 10 g、氯化钠 5 g、酵母膏 10 g、蒸馏水 1 000 mL, pH 7.2;马铃薯葡萄糖琼脂(potato dextrose agar, PDA)培养基:马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g、琼脂 15 g、蒸馏水 1 L, pH 6.8;孟加拉红培养基:蛋白胨 5 g、葡萄糖 10 g、磷酸二氢钾 1 g、硫酸镁 0.5 g、琼脂 15 g、孟加拉红 0.03 g、氯霉素 0.1 g、蒸馏水 1 000 mL, pH 7.2。LB 培养基为细菌培养基, PDA 培养基为真菌培养基。

试剂及仪器:蛋白胨、酵母膏、孟加拉红培养基,北京奥博星生物技术有限公司;吐温-80、2,6-二氯酚靛酚、戊二醛等试剂均为国产分析纯。DHP-9272 型电热恒温培养箱,上海一恒科技有限公司;HPG-280BX 光照培养箱,哈尔滨市东联电子技术开发有限公司;TA.XT Plus 质构仪,英国 Stable Micro System 公司;ATAGO 手持折光仪,上海塞利曼测控仪器有限公司;XL30 ESEM 扫描电镜,飞利浦公司;16L 背负式喷雾器,浙江省市下喷雾器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 洋葱伯克霍尔德菌采前喷施试验

将洋葱伯克霍尔德菌 B-1 于 -80°C 取出, 于 28°C 下在 LB 平板划线培养 48 h, 挑取单菌落在 LB 培养基中 200 r/min 振荡培养 24 h, 所得菌悬液用无菌水将其浓度调整为 1×10^{10} CFU/mL, 加入吐温-80 使其浓度为 0.05%, 使用喷雾器将其向草莓植株和果实喷施, 试验共设 4 个处理: 喷施菌悬液 3 次, 分别于采前 6、3 和 0 d 各喷施 1 次; 喷施菌悬液 1 次, 于采前 6 d 喷施; CK1: 采前 6、3 和 0 d 各喷施 1 次浓度为 0.05% 的吐温-80; CK2: 未进行喷施处理。喷施液体时至叶片和果实有液滴滴下, 每处理喷施 3 垄, 每垄种植草莓 60~65 株。

1.2.2 草莓自然腐烂和接种病害腐烂情况的调查

自然腐烂发病情况统计: 将达到成熟度的、无机机械损伤的草莓采摘后运回实验室, 装入塑料盒中, 加塑料袋保湿并分别置于 6°C 下贮藏 15 d 和 16°C 下贮藏 7 d, 统计 2 种贮藏条件下草莓自然条件下的腐烂情况, 并计算腐烂率和抑制率, 腐烂率=腐烂果粒数/总果粒数 $\times 100\%$, 抑制率=(对照腐烂果数-处理腐烂果数)/对照腐烂果数 $\times 100\%$ 。每垄采收 130 粒草莓, 每垄采收的果实设为 1 个重复, 共 3 个重复。

接种灰霉病发病情况统计: 从各处理中随机选取 50 粒果实, 于孢子浓度为 1×10^5 个/mL 的灰葡萄孢菌悬液中蘸 10 s, 无菌风吹干后将其装入灭菌塑料盒, 加塑料袋保湿并分别置于 6°C 下贮藏 15 d 和 16°C 下贮藏 7 d, 发病情况统计同上。每垄挑选 50 粒果实为 1 个重复, 共 3 个重复。

1.2.3 草莓采后色泽和品质的测定

将采前喷施 3 次菌悬液、喷施 1 次菌悬液和未进行喷施处理的草莓, 分别于贮藏前、 6°C 贮藏 15 d 和 16°C 贮藏 7 d 的条件下, 每处理随机选取 40 粒草莓, 用于测定草莓各项生理指标。草莓硬度采用探头直径 5 mm 的质构仪测定, 在每个草莓的赤道部位测 2 个值, 探头下降速度为 1.0 mm/s, 取最大值。可溶性固形物含量(soluble solids content, SSC)采用手持折光仪测定。可滴定酸(titratable acid, TA)含量采用 NaOH 滴定法测定。抗坏血酸(ascorbic acid, Vc)含量采用 2, 6-二氯酚法测定。失重率=(贮藏后果重-贮藏前果重)/贮藏前果重 $\times 100\%$ 。草莓表面色差值采用色差仪在草莓赤道部位测定亮度、色相角和 a^* , 当 a^* 为负值表示绿光, 当 a^* 为正值表示红光。

1.2.4 草莓表面菌落生长情况统计

草莓表面拮抗菌定殖试验参照 Wei et al. (2014)

的方法, 将采前喷施 3 次菌悬液、喷施 1 次菌悬液和未喷施处理的草莓采收后, 分别于 6°C 下贮藏 15 d 和 16°C 下贮藏 7 d, 从各处理中随机取 5 个未腐烂果, 在 250 mL 三角瓶中加 100 mL 无菌水, 75 r/min 振荡 10 min, 取 100 μL 进行梯度稀释后涂于 LB 培养基和孟加拉红培养基平板, 在 28°C 培养 48 h 和 72 h 后, 分别统计草莓表面的拮抗菌数和灰葡萄孢菌数。

1.2.5 拮抗菌对病原菌菌丝形态的影响

在 PDA 平板中心点接种灰葡萄孢菌, 在距平板中心 1/3 处用洋葱伯克霍尔德菌划直线, 26°C 下培养 3 d 后分别挑取背对拮抗菌和面对拮抗菌的灰葡萄孢菌菌丝, 于扫描电镜下观察菌丝的形态变化。

1.2.6 采前喷施对草莓植株病害和生长的影响

选取白粉病发病较重的草莓大棚, 在草莓盛果期分别喷施 3 次菌悬液(于 4 月 2 日、4 月 5 日和 4 月 8 日各喷施 1 次)、喷施 1 次菌悬液(于 4 月 2 日喷施)和未进行喷施(设为对照)。每个处理喷施草莓植株 3 垄, 每垄 60~65 株。最后一次喷施 12 d 后, 即 4 月 20 日统计各处理草莓植株的白粉病发病情况, 果实表面或叶面有发病症状均视为发病。白粉病发生率=每垄发病植株数/该垄植株总数 $\times 100\%$ 。每垄随机取 30 株, 统计单株叶片数, 并测量各株高, 拔出植株后用自来水冲洗干净并用滤纸吸干, 分别称量单株鲜重。每垄设 1 个重复, 共 3 个重复。

1.3 数据分析

采用 Excel 2007 和 SPSS 16.0 软件进行试验数据统计分析, 应用 Duncan 氏新复极差法进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 采前喷施菌悬液对草莓腐烂的影响

在 2 种贮藏条件下, 喷施吐温-80 处理(CK1)与未喷施处理(CK2)的腐烂率无显著差异, 而喷施 3 次菌悬液和喷施 1 次菌悬液在自然条件下的腐烂率显著降低($P < 0.05$), 其中喷施 3 次菌悬液的草莓腐烂率最低。在 16°C 下贮藏 7 d 和 6°C 下贮藏 15 d 后, 未喷施处理草莓在自然条件下的腐烂率分别为 67.86% 和 66.19%, 而喷施 3 次菌悬液草莓在自然条件下的腐烂率则仅为 22.17% 和 20.72%, 抑制率分别达到 67.33% 和 68.69% (图 1-A)。与自然腐烂结果相似, 接种灰葡萄孢菌后, 喷施吐温-80(CK1)和未处理(CK2)的腐烂率无显著差异, 喷施 3 次菌悬液和喷施 1 次菌悬液的草莓腐烂率均显著降低($P < 0.05$), 其中喷施 3 次菌悬液的最低。在 16°C 下贮藏

7 d 和 6℃ 下贮藏 15 d 后, 喷施 3 次菌悬液的腐烂率分别为 38.18% 和 33.71%, 而未喷施的腐烂率达到

91.88% 和 80.33%, 抑制率分别为 58.45% 和 58.06% (图 1-B)。

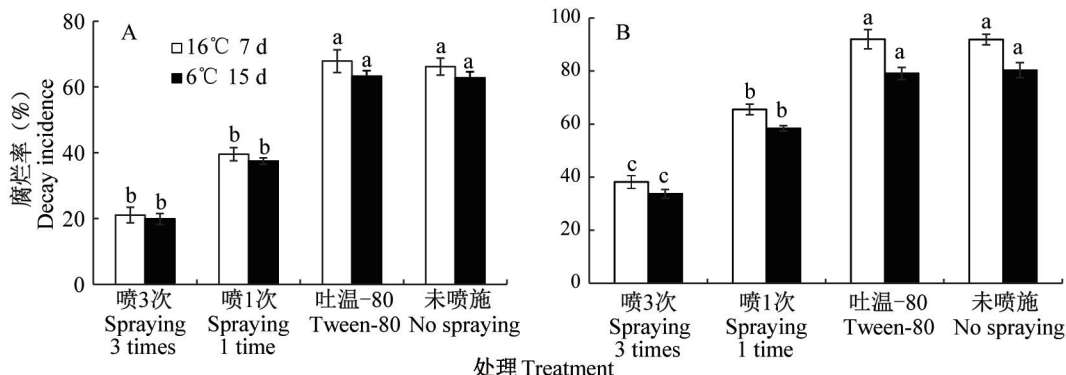


图 1 采前喷施洋葱伯克霍尔德菌对草莓采后自然腐烂(A)和接种灰葡萄孢菌腐烂(B)的影响

Fig. 1 Effects of preharvest spraying with *Burkholderia contaminans* on natural decay (A) and decay caused by *Botrytis cinerea* (B) of postharvest strawberry fruit

数据为平均数±标准差。同系列不同小写字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验在 $P < 0.05$ 水平差异显著。Data are mean±SD. Different lowercase letters in the same series indicate significant difference at $P < 0.05$ level by Duncan's new multiple range test.

2.2 采前喷施菌悬液对草莓色泽和品质的影响

2 种贮藏条件下, 与贮藏前相比各处理的亮度均下降。6℃ 贮藏 15 d 后, 与未喷施相比, 喷施 3 次和喷施 1 次菌悬液的草莓亮度均略高, 但差异不显

著; 16℃ 贮藏 7 d 后, 与未喷施相比, 喷施 3 次和喷施 1 次菌悬液的草莓亮度均略高, 且前者的差异显著, 后者差异不显著, 表明洋葱伯克霍尔德菌处理可以一定程度上保持果实亮度(表 1)。

表 1 采前喷施洋葱伯克霍尔德菌对草莓采后色泽和品质的影响

Table 1 Effects of preharvest spraying of *Burkholderia contaminans* on color and quality of postharvest strawberry

贮藏条件 Storage condition	处理 Treatment	亮度 Brightness	a*值 a* value	色相角 Hue angle	失重率 Weight loss (%)
贮藏前 Before storage	未喷施 No spraying	50.26±1.76 a	34.09±1.09 a	45.81±1.22 a	0
	喷施 1 次 Spraying one time	49.95±1.02 a	35.38±1.78 a	44.61±1.57 a	0
	喷施 3 次 Spraying three times	50.53±1.57 a	35.63±1.21 a	44.17±1.51 a	0
6℃ 贮藏 15 d Storage for 15 days at 6°C	未喷施 No spraying	48.04±1.64 a	38.53±0.90 a	41.66±1.01 a	5.07±0.19 a
	喷施 1 次 Spraying one time	48.21±0.98 a	38.98±0.87 a	40.83±1.04 a	4.86±0.53 b
	喷施 3 次 Spraying three times	48.34±1.44 a	39.04±1.64 a	40.60±1.79 a	4.82±0.13 b
16℃ 贮藏 7 d Storage for 7 days at 16°C	未喷施 No spraying	47.86±1.03 b	37.07±1.22 a	41.93±0.84 a	9.58±0.31 a
	喷施 1 次 Spraying one time	48.83±0.88 b	37.56±0.43 a	42.02±1.15 a	9.03±0.25 b
	喷施 3 次 Spraying three times	49.61±1.17 a	38.52±1.49 a	41.28±0.76 a	8.84±0.27 c
贮藏条件 Storage condition	处理 Treatment	硬度 Firmness	可溶性固形物 Soluble solid content (%)	可滴定酸 Titratable acid (%)	抗坏血酸 Ascorbic acid (mg/100 g)
贮藏前 Before storage	未喷施 No spraying	1.57±0.20 a	10.68±0.05 a	0.75±0.06 a	72.24±1.13 a
	喷施 1 次 Spraying one time	1.62±0.12 a	11.02±0.11 a	0.78±0.05 a	72.85±1.21 a
	喷施 3 次 Spraying three times	1.58±0.08 a	10.23±0.10 a	0.81±0.03 a	72.18±1.48 a
6℃ 贮藏 15 d Storage for 15 days at 6°C	未喷施 No spraying	0.96±0.10 b	9.01±0.10 b	0.55±0.03 b	43.87±1.51 c
	喷施 1 次 Spraying one time	1.27±0.09 ab	8.98±0.14 b	0.60±0.08 a	47.22±1.28 b
	喷施 3 次 Spraying three times	1.42±0.19 a	9.34±0.06 a	0.57±0.10 ab	51.33±0.98 a
16℃ 贮藏 7 d Storage for 7 days at 16°C	未喷施 No spraying	0.84±0.04 b	8.87±0.03 b	0.55±0.08 b	41.94±1.03 c
	喷施 1 次 Spraying one time	1.19±0.33 ab	9.12±0.14 a	0.62±0.02 a	46.06±0.79 b
	喷施 3 次 Spraying three times	1.31±0.25 a	9.10±0.12 a	0.61±0.05 a	50.53±0.87 a

表中数据为平均数±标准差。同列不同小写字母表示在相同贮藏条件下经 Duncan 氏新复极差法检验在 $P < 0.05$ 水平差异显著。Data are mean±SD. Different lowercase letters in the same column indicate significant difference at $P < 0.05$ level by Duncan's new multiple range test under the same storage conditions.

与贮藏前相比,2个温度贮藏后各处理 a^* 值均升高,色相角均下降,表明果实颜色进一步转红,而喷施处理与未喷施间差异不显著,表明采前喷施菌剂对草莓贮藏期颜色影响不明显。2个不同温度间的果实失重率差异较大,16℃下贮藏7 d草莓的失重率较6℃贮藏15 d高,喷施3次和喷施1次处理的失重率均比对照显著降低($P<0.05$)。除个别处理外,采前喷施洋葱伯克霍尔德菌悬液处理的果实硬度、SSC、可滴定酸和Vc含量均与未喷施处理显著差异($P<0.05$),表明喷施洋葱伯克霍尔德菌可以有效延缓果实硬度、SSC、可滴定酸和Vc含量的下降,而且喷施3次较喷施1次的效果更显著($P<0.05$,表1)。

表2 喷施处理后不同贮藏条件下草莓拮抗菌和霉菌菌落数

Table 2 Colony counts of antagonistic bacteria and fungi of the strawberry fruits after spraying under different storage conditions

处理 Treatment	霉菌菌落数 Colony count of fungus			拮抗菌菌落数 Colony count of antagonistic bacterium		
	0 d	6℃贮藏 15 d Storage for 15 d at 6℃	16℃贮藏 7 d Storage for 7 d at 16℃	0 d	6℃贮藏 15 d Storage for 15 d at 6℃	16℃贮藏 7 d Storage for 7 d at 16℃
未喷施(CK2) No spraying	6.50×10^2	3.44×10^4	4.78×10^4			
喷1次 Spraying one time	6.21×10^2	9.68×10^2	1.47×10^3	1.51×10^4	1.82×10^7	7.94×10^8
喷3次 Spraying three times	5.82×10^2	6.61×10^2	9.26×10^2	3.63×10^5	1.70×10^8	1.74×10^{10}

2.4 拮抗菌对病原菌菌丝形态的影响

病原菌靠近拮抗菌的一侧有明显的抑菌带,背对拮抗菌的一侧则灰葡萄孢菌菌丝外表光滑,生长均匀,较粗壮(图2-A);面对拮抗菌一侧的灰葡萄孢菌菌丝粗细不均匀,皱缩,表面溃烂并有内含物溢出(图2-B)。

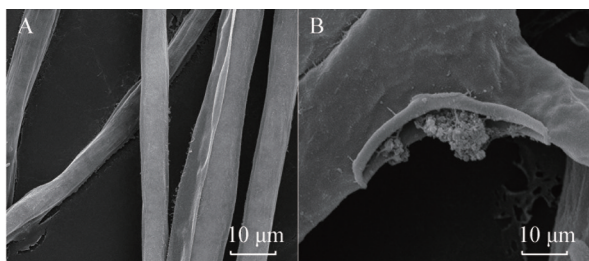


图2 扫描电镜下正常生长(A)和受拮抗菌影响(B)的灰葡萄孢菌菌丝形态

Fig. 2 Mycelial morphology of *Botrytis cinerea* growing normally (A) and affected by antagonistic bacteria (B) under microscope

2.5 采前喷施对草莓植株病害和生长的影响

采前喷施3次菌悬液处理的草莓植株生长健

2.3 拮抗菌对草莓表面菌落生长的影响

6℃下贮藏15 d和16℃下贮藏7 d后,喷施1次菌悬液的拮抗菌菌落数分别为 1.82×10^7 、 7.94×10^8 CFU/g,分别为开始时菌落数的 1.21×10^3 和 5.26×10^4 倍。喷施3次菌悬液贮藏前拮抗菌菌落数为 3.63×10^5 CFU/g,16℃下贮藏7 d时达到 1.74×10^{10} CFU/g,是原来的 4.79×10^4 倍,表明拮抗菌可在果实表面定殖。在16℃贮藏7 d和6℃贮藏15 d后,对照处理的草莓表面霉菌数量由 6.50×10^2 CFU/g分别增加到 4.78×10^4 、 3.44×10^4 CFU/g,而喷施3次菌悬液的处理分别为 9.26×10^2 、 6.61×10^2 CFU/g,由于拮抗菌的存在,霉菌数量远远低于对照(表2)。

壮,叶片浓绿,长势明显优于对照,其株高、单株鲜重和单株叶片数分别为22.35 cm、112.78 g和7.21个,分别比对照增加了19.39%、28.13%和36.04%;采前喷施拮抗菌还可以显著降低白粉病的发生率($P<0.05$),未喷施处理白粉病发生率为46.32%,而喷施3次处理和喷施1次菌悬液处理的白粉病发生率分别为21.55%和35.28%,抑制率分别为53.48%和23.83%(表3)。

3 讨论

本研究结果表明,采前喷施洋葱伯克霍尔德菌在不同的温度条件下均可以有效抑制草莓采后腐烂的发生。该结果与Tian et al. (2004)和Zhao et al. (2008)的研究结果一致。Tian et al. (2004)于采前喷施浓度为 1×10^8 CFU/mL的季也蒙毕赤酵母菌 *Pichia guilliermondii*,发现其可以有效降低甜樱桃果实采后的腐烂率;Zhao et al. (2008)也于采前在樱桃番茄上喷施季也蒙毕赤酵母菌悬液,由根腐菌导致的腐烂大大降低。

采前使用微生物处理不仅可以降低果实采后腐

烂,而且可以有效提升其贮藏品质。Meng et al. (2010)发现,采前结合壳聚糖喷施罗伦隐球酵母菌 *Cryptococcus laurentii*,可以显著降低葡萄果实的采后失重;秦晓杰等(2015)也认为采前3 d喷施孢汉逊酵母菌 *Hanseniaspora uvarum* 和季也蒙毕赤酵母菌的复合菌剂,能够有效提升草莓的外观品质,保持果实色泽、香气,并减少腐烂;Wei et al. (2014)研究表明,与对照相比,采前喷施罗伦隐球酵母可以降低草

莓采后腐烂率,提升草莓品质。本研究发现,在腐烂率下降及品质提升方面,喷施3次菌悬液的效果明显优于喷施1次,与Ghaouth et al. (2004)和Larena et al. (2005)的研究相一致。Larena et al. (2005)发现采前喷施2次黑色附球孢菌 *Epicoccum nigrum* 更能有效防治桃果采后褐腐病,而喷施1次则效果不明显。不同的水果具有不同的生长周期和生长特性,可以根据其不同需求确定采前喷施的时间间隔。

表3 洋葱伯克霍尔德菌对草莓植株病害和生长的影响

Table 3 Effects of *Burkholderia contaminans* on diseases and growth of strawberry plants

处 理 Treatment	株高 (cm) Plant height	单株鲜重 (g) Plant fresh weight	单株叶片数 Leaf number per plant	白粉病发生率 (%) Incidence of powdery mildew
未喷施(CK)No spraying	18.72±0.17 b	91.19±3.04 b	5.30±0.25 c	46.32±2.38 a
喷施1次Spraying one time	19.13±0.31 b	93.63±1.91 b	5.98±0.36 b	35.28±3.19 b
喷施3次Spraying three times	22.35±0.23 a	112.78±2.67 a	7.21±0.42 a	21.55±2.06 c

表中数据为平均数±标准差。同列不同小写字母表示经Duncan氏新复极差法检验在 $P<0.05$ 水平差异显著。Data are mean±SD. Different lowercase letters in the same column indicate significant difference at $P<0.05$ level by Duncan's new multiple range test.

草莓植株采前喷施拮抗菌后,拮抗菌可以在其果实表面有效定殖,病原菌的数量也明显得到抑制,其原因可能是大量拮抗菌占据果实表面空间,而且拮抗菌同时具有抑菌功能,导致果实从田间携带的病原菌菌丝的萌发受到抑制,使贮藏期间果实表面病原菌含量大大降低,从而降低果实腐烂。Wei et al. (2014)发现,采前喷施3次季也蒙毕赤酵母菌,草莓于20℃下贮藏4 d后,其果实表面拮抗菌数量大大增加,由 3×10^3 CFU/g(贮藏0 d)上升为 2×10^7 CFU/g。而本研究中,喷施3次菌悬液处理在16℃贮藏7 d后,拮抗菌的数量分别为贮藏前的 4.79×10^4 倍,与前人研究结果相似。

洋葱伯克霍尔德菌是一组表型相近但基因型不同的复合物,称为洋葱伯克霍尔德菌群,至今发现该菌群包括17个基因型,由于这些基因型间DNA杂交率很低,因此可代表不同的种(Vanlaere et al., 2009; Agnoli et al., 2012)。Ren et al. (2011)发现洋葱伯克霍尔德菌群的基因型 *B. pyrrocinia* 对稻瘟病菌 *Pyricularia grisea*、小麦赤霉菌 *Fusarium graminearum*、辣椒疫霉 *Phytophthora capsici*、瓜果疫霉菌 *P. melongena* 和大豆疫霉菌 *P. sojae* 等12种植物病原真菌均具有较强的拮抗性,具有广泛的抗菌谱。Lu et al. (2009)从土壤中分离到洋葱伯克霍尔德菌 MS14,该菌对多种植物病原真菌表现出广泛的杀灭作用,而且可使真菌的细胞内部和细胞形态发生畸变。本研究也发现洋葱伯克霍尔德菌 B-1 对灰葡萄

孢菌有很强的抑制作用,可以引起其菌丝变形,表面破裂,内含物外渗。洋葱伯克霍尔德菌不仅可以降低植株生长期病害,而且还具有促生作用。Hwang et al. (2002)发现洋葱伯克霍尔德菌 *B. cepacia* 可以显著降低由立枯丝核菌 *Rhizoctonia solani* 引起的一品红茎腐病。Ren et al. (2011)发现,洋葱伯克霍尔德菌群的基因型 *B. pyrrocinia* 可以使美洲黑杨种子发芽率提升1.5%,株高增加55.31%,而且还可以提高植株的光合效率。在本试验也得到了相似的结论,洋葱伯克霍尔德菌不仅抑制草莓植株白粉病的发生,而且还可以显著增加植株的株高、单株鲜重、单株叶片数。因此,该拮抗菌株在防治草莓病害和促进生长方面具有较大的潜力,该菌的应用将为草莓的生物防治提供新方法,有关该菌的次生代谢产物、抑菌机理以及生防菌剂研制等方面有待进一步深入研究。

参 考 文 献 (References)

- Agnoli K, Schwager S, Uehlinger S, Vergunst A, Viteri DF, Nguyen DT, Sokol PA, Carlier A, Eberl L. 2012. Exposing the third chromosome of *Burkholderia cepacia* complex strains as a virulence plasmid. *Molecular Microbiology*, 83(2): 362–378
- Biggs AR. 1995. Detection of latent infections in apple fruit with paraquat. *Plant Disease*, 79(10): 1062–1067
- Cai WT, Xia B, Xia YB, Yi YJ, Wang YT. 2013. Effect of *Bacillus amyloliquefaciens* fermentation liquid on different types of peppers for biological control of postharvest *A. alternata*. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 29(23): 253–

- 261 (in Chinese) [蔡文韬, 夏波, 夏延斌, 易有金, 王宇婷. 2013. 解淀粉芽孢杆菌发酵液处理提高辣椒采后品质. 农业工程学报, 29(23): 253–261]
- Droby S, Wisniewski M, Macarasin D, Wilson C. 2009. Twenty years of postharvest biocontrol research: is it time for a new paradigm? *Postharvest Biology and Technology*, 52(2): 137–145
- Duan JN, Huang H, Luo J, Zhang X, Zhai F, An DR. 2014. The control efficacy of *Peanibacillus peoriae* BC-39 to tomato gray mold and its bioantiseptic-preservation on tomato fruits. *Journal of Plant Protection*, 41(1): 61–66 (in Chinese) [段军娜, 黄海, 罗晶, 张鑫, 翟枫, 安德荣. 2014. 皮尔瑞俄类芽孢杆菌BC-39对番茄灰霉病的防治效果及防腐保鲜作用. 植物保护学报, 41(1): 61–66]
- Fan Q, Tian SP, Jiang AL, Xu Y. 2001. Isolation and screening of biocontrol antagonists of diseases of postharvest fruits. *China Environmental Science*, 21(4): 313–316 (in Chinese) [范青, 田世平, 姜爱丽, 徐勇. 2001. 采摘后果实病害生物防治拮抗菌的筛选和分离. 中国环境科学, 21(4): 313–316]
- Fan SH, Li J, Shi JF. 2016. Induction of disease resistance against *Botrytis cinerea* in postharvest muscat grape by antagonistic bacterium *Burkholderia contaminans*. *Food Science*, 37(2): 266–270 (in Chinese) [范三红, 李静, 施俊凤. 2016. 拮抗菌 *Burkholderia contaminans* 对玫瑰香葡萄采后灰霉病的抗性诱导. 食品科学, 37(2): 266–270]
- Garcia MA, Martino MN, Zaritzky NE. 1998. Plasticized starch-based coatings to improve strawberry (*Fragaria ananassa*) quality and stability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(9): 3758–3767
- Ghaouth AE, Wilson C, Wisniewski M. 2004. Biologically-based alternatives to synthetic fungicides for the control of postharvest diseases of fruit and vegetables. *Diseases of Fruits and Vegetables: Volume II*. Dordrecht: Springer, pp. 511–535
- Hwang J, Chilton WS, Benson DM. 2002. Pyrrolnitrin production by *Burkholderia cepacia* and biocontrol of *Rhizoctonia* stem rot of poinsettia. *Biological Control*, 25(1): 56–63
- Ippolito A, Nigro F. 2000. Impact of preharvest application of biological control agents on postharvest diseases of fresh fruits and vegetables. *Crop Protection*, 19(8/9/10): 715–723
- Janisiewicz WJ, Korsten L. 2002. Biological control of postharvest diseases of fruits. *Annual Review of Phytopathology*, 40: 411–441
- Larena I, Torres R, De Cal A, Liñán M, Melgarejo P, Domenichini P, Bellini A, Mandrin JF, Lichou J, Ochoa de Eribe X, et al. 2005. Biological control of postharvest brown rot (*Monilinia* spp.) of peaches by field applications of *Epicoccum nigrum*. *Biological Control*, 32(2): 305–310
- Li J, Yu JN, Zhang LL. 2007. Advances of research on postharvest diseases and biocontrol of fruits. *Chinese Journal of Biological Control*, 23(S1): 97–102 (in Chinese) [李静, 于建娜, 张利莉. 2007. 果品采后病害及生物防治研究进展. 中国生物防治, 23(S1): 97–102]
- Lu SE, Novak J, Austin FW, Gu G, Ellis D, Kirk M, Wilson-Stanford S, Tonelli M, Smith L. 2009. Occidiofungin, a unique antifungal glycopeptide produced by a strain of *Burkholderia contaminans*. *Biochemistry*, 48: 8312–8321
- Meng XH, Qin GZ, Tian SP. 2010. Influences of preharvest spraying *Cryptococcus laurentii* combined with postharvest chitosan coating on postharvest diseases and quality of table grapes in storage. *LWT- Food Science and Technology*, 43(4): 596–601
- Parke JL, Gurian-scherma D. 2001. Diversity of the *Burkholderia cepacia* complex and implications for risk assessment of biological control strains. *Annual Review of Phytopathology*, 39: 225–258
- Qin XJ, Gao M, Jiang XL, Si LY, Yang YP, Yang R, Cai ZK, Xiao HM. 2015. Effect of preharvest spraying antagonistic yeast on the postharvest storability of strawberry. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 38(1): 152–160 (in Chinese) [秦晓杰, 高梦, 蒋晓玲, 司林媛, 杨远鹏, 杨蓉, 蔡子康, 肖红梅. 2015. 采前喷施拮抗酵母菌对草莓采后贮藏性能的影响. 南京农业大学学报, 38(1): 152–160]
- Quan CS, Zheng W, Cao ZM, Wang JH, Fan SD. 2005. Purification and properties of antibiotic from *Burkholderia cepacia* CF-66. *Acta Microbiologica Sinica*, 45(5): 707–710 (in Chinese) [权春善, 郑维, 曹治明, 王军华, 范圣第. 2005. 洋葱伯克霍尔德菌CF-66抗菌物质的分离纯化及性质的研究. 微生物学报, 45(5): 707–710]
- Ren JH, Ye JR, Liu H, Xu XL, Wu XQ. 2011. Isolation and characterization of a new *Burkholderia pyrrocinia* strain, JK-SH007 as a potential biocontrol agent. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(9): 2203–2215
- Sharma RR, Singh D, Singh R. 2009. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables by microbial antagonists: a review. *Biological Control*, 50(3): 205–221
- Tian SP, Qin GZ, Xu Y. 2004. Survival of antagonistic yeasts under field conditions and their ability against postharvest of sweet cherry. *Postharvest Biology and Technology*, 33(3): 327–331
- Vanlaere E, Baldwin A, Gevers D, Henry D, De Brandt E, LiPuma JJ, Mahenthiralingam E, Speert DP, Dowson C, Vandamme P. 2009. Taxon K, a complex within the *Burkholderia cepacia* complex, comprises at least two novel species, *Burkholderia corrtamirrars* sp. nov. and *Burkholderia lata* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59(1): 102–111
- Wang JF, Dong F, Dong D, Qiu DM, Xiao SQ, Hu XF. 2011. Identification and the characteristic of antagonism of endophytic antagonistic bacteria L3R3-1 from *Pinellia ternate*. *Journal of Plant Protection*, 38(6): 573–574 (in Chinese) [王剑峰, 董飞, 董丹, 求东妹, 肖赛琼, 胡秀芳. 2011. 半夏内生菌L3R3-1鉴定及其对植物病原菌的拮抗特性. 植物保护学报, 38(6): 573–574]
- Wei YY, Mao SB, Tu K. 2014. Effect of preharvest spraying *Cryptococcus laurentii* on postharvest decay and quality of strawberry. *Biological Control*, 73(3): 68–74
- Zhao Y, Tu K, Shao XF, Jing W, Su ZP. 2008. Effect of the yeast *Pichia guilliermondii* against *Rhizopus nigricans* on tomato fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 49: 113–120
- Zhou JW, Zhou HL, Yi YJ, Bo LY, Li GY. 2016. The antifungal activity and mechanism of *Brevibacillus brevis* on plant pathogenic fungus. *Journal of Plant Protection*, 43(4): 600–607 (in Chinese) [周金伟, 周红丽, 易有金, 柏连阳, 李高阳. 2016. 短短芽孢杆菌对植物病原真菌的抑菌活性和抑菌机理. 植物保护学报, 43(4): 600–607]

(责任编辑:张俊芳)