

牛贞福, 国淑梅, 徐金强, 等. 大蒜提取液对平菇竞争性杂菌的抑制及对平菇生长的促进作用[J]. 江苏农业学报, 2016, 32(1): 73-77.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2016.01.011

大蒜提取液对平菇竞争性杂菌的抑制及对平菇生长的促进作用

牛贞福, 国淑梅, 徐金强, 温凯, 董仲国, 王辉

(山东农业工程学院, 山东 济南 250100)

摘要: 为减少化学杀菌剂的使用, 生产优质安全的食用菌产品, 采用抑菌圈法研究了不同提取时间、pH 值的大蒜乙酸乙酯提取液对食用菌生产中竞争性细菌、真菌的抑制作用, 利用气相色谱-质谱联用仪测定了加入大蒜提取液的平菇子实体营养成分和大蒜提取液的有效成分。结果显示: 提取 6 h 的大蒜提取液对枯草芽孢杆菌、蕈状芽孢杆菌抑制效果最好; 提取 0.5~4.0 h 的大蒜提取液对病原真菌抑制效果均较好, 提取 6.0~48.0 h 的大蒜提取液对病原真菌抑制效果较差, 其中提取 6.0 h 的大蒜提取液对木霉、根霉的抑制效果最差。当 pH 值为 7 或 8 时, 大蒜提取液对枯草芽孢杆菌的抑制效果好于 pH9; pH7 对蕈状芽孢杆菌、短小芽孢杆菌的抑制效果好于 pH8、pH9。不同 pH 值的大蒜提取液对病原真菌的抑制效果有差异, 当 pH 为 8 时, 对毛霉的抑制效果极显著好于 pH7, pH7 对木霉的抑制效果显著好于 pH9。不同提取时间的大蒜提取液对平菇 8105 菌丝生长的影响无显著差异; 加入不同提取时间的大蒜提取液的平菇菌袋子体实现蕾时间和采菇间隔均比对照缩短; 加入提取 6.0 h 大蒜提取液的菌袋产量最高, 比对照增产 143.36%; 与对照相比, 加入提取 6.0 h 大蒜提取液的平菇子实体蛋白质含量提高了 48.46%, 脂肪下降了 50.00%, 膳食纤维增加了 116.70%。

关键词: 大蒜提取液; 平菇; 竞争性杂菌; pH 值; 产量

中图分类号: S646.1⁺4

文献标识码: A

文章编号: 1000-4440(2016)01-0073-05

Inhibition against competitive microbes of *Pleurotus ostreatus* by garlic extract and its growth-promoting effects

NIU Zhen-fu, GUO Shu-mei, XU Jin-qiang, WEN Kai, DONG Zhong-guo, WANG Hui

(Shandong Agriculture and Engineering University, Jinan 250100, China)

Abstract: In order to reduce the use of chemical fungicides in the production of *Pleurotus ostreatus*, inhibitory effects of garlic ethyl acetate extract with different pH values and different extraction time on competitive bacteria and fungi were studied by inhibition zone method. To *Bacillus subtilis* and *B. mycoides*, garlic ethyl acetate extract

exhibited the strongest inhibition after extraction for 6.0 h. To pathogenic fungi, garlic extract showed strong inhibition after extraction for 0.5~4.0 h but poor inhibition after extraction for 6.0~48.0 h, and the inhibitory effects of 6.0-h extracted garlic on *Trichoderma* spp. and *Rhizopus* were the worst. For garlic extracts

收稿日期: 2015-05-23

基金项目: 山东省高等学校科技计划项目(J14LF01); 山东省科技发展计划项目(2012GNC11105)

作者简介: 牛贞福(1976-), 男, 山东东阿人, 硕士, 副教授, 从事食用菌的教学科研工作。(Tel) 13287707759; (E-mail) zhen-funiu@163.com

at pH8 and pH7, the inhibitory effects on *B. subtilis* were better than that at pH9, while for garlic extract at pH7, the inhibitory effects on *B. mycoides* and *B. pumilus* were better than those at pH8 and pH9. The inhibitory effects of garlic extracts with different pH values on fungi varied. At pH8, the effect on *Mucor* was better than that at pH7, which was likewise better than that at pH9 on *Trichoderma*. Garlic extract with different extraction time did not affect the growth of *P. ostreatus* 8105 hyphae. Compared with control (no garlic extract), budding time and harvest interval of the fruiting body added with garlic extract were shorter, and the yield was increased by 43.36%. Added with 6.0-h extracted garlic, *P. ostreatus* fruiting body protein content was raised by 48.46%, fat was decreased by 50.00%, and dietary fiber was increased by 116.70%.

Key words: garlic extract; *Pleurotus ostreatus*; competitive microbe; pH value; yield

平菇(*Pleurotus ostreatus*)又名糙皮侧耳,不仅营养丰富、肉质肥嫩、味道鲜美,而且具有抑制癌细胞、降血压、降胆固醇的药用功能,深受消费者欢迎。平菇是中国品种最多、温度适应范围最广的食用菌种类,其栽培面积和产量均占世界90%以上。但平菇栽培过程中经常受到竞争性细菌和真菌的侵染为害,尤其秋冬季节生料栽培时,给菇农造成较大的损失。目前通常的做法是用化学药剂(百菌清、多菌灵等)来防治,防治效果(尤其对细菌、毛霉、根霉等)很不理想,而且还带来食品安全隐患,增加生产成本。生产上急需天然抑菌活性物质应用于平菇生产,以降低化学杀菌剂的使用,生产优质安全的食用菌产品。

大蒜(*Allium sativum* L.)属百合科葱属多年生草本植物,其提取物对多种球菌、杆菌、真菌和病毒都有不同程度的抑制和杀灭作用^[1-4]。本试验用大蒜提取液对平菇栽培过程中常见的竞争性细菌和真菌进行了抑制效果研究和平菇栽培试验,并对平菇子实体和大蒜提取液进行了检测。

1 材料与方法

1.1 材料

(1)大蒜:脱毒品种,种源来自山东齐河县,山东农业工程学院生态园种植。

(2)病原细菌:枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、短小芽孢杆菌(*Bacillus pumilus*)、蕈状芽孢杆菌(*Bacillus mycoides*),种源来自食用菌生产中分离、提纯的污染细菌,培养基为NA培养基。

(3)病原真菌:青霉(*Penicillium* spp.)、毛霉(*Mucor mucedo*)、木霉(*Trichoderma* spp.)、黄曲霉(*Aspergillus flavus*)、根霉(*Rhizopus* spp.)、黑霉(*Alternaria*),种源来自食用菌生产中分离、提纯的污染真菌,培养基为PDA。

(4)平菇:8105,种源来自禹城市清香园蔬菜种植专业合作社。

1.2 方法

1.2.1 大蒜提取液及菌悬液制备 大蒜提取液:大蒜脱皮,用食品加工机粉碎、匀浆,空气中酶解10 min后,加入与大蒜质量相同体积的乙酸乙酯(AR)^[5],28℃下120 r/min恒温振荡0.5 h、1.0 h、2.0 h、4.0 h、6.0 h、12.0 h、24.0 h、48.0 h,最后抽滤得到不同提取时间的大蒜提取液。4℃贮存,备用。

菌悬液:将上述细菌、真菌菌株分别经NA、PDA培养基提纯、活化后,用无菌生理盐水进行梯度稀释,菌体浓度 $10^5 \sim 10^6$ CFU/ml。4℃贮存,备用。

1.2.2 不同pH值平板的制备 NA、PDA培养基高压灭菌后,在凝固前(45℃左右)用NaOH调节pH值为8、9,pH7为对照,无菌条件下倒入直径为90 mm培养皿即可。

1.2.3 抑菌效果试验 用移液枪分别移取不同菌悬液0.01 ml于不同pH值的NA、PDA培养基上,用无菌涂布棒充分涂匀。用无菌镊子将高压灭菌后的滤纸片(直径为6 mm)置于大蒜提取液中充分浸泡20 min,充分晾干后贴入涂菌的平板内,以乙酸乙酯浸泡的滤片为试剂对照。将涂有菌液的平板倒置在生化培养箱中,细菌37℃下培养24 h^[6],真菌在24℃下培养48 h^[7],采用十字交叉法测抑菌圈直径。3次重复。

1.2.4 平菇栽培试验

1.2.4.1 培养料配方 棉籽壳85%,麦麸10%,石灰4%,石膏1%,料水比1.0:1.2。

1.2.4.2 大蒜提取液对平菇菌丝和子实体生长的影响 平菇培养料中分别加入占培养基含水量1%的大蒜提取液,各处理水分(包括对照)调节一致后,

拌匀。每 5 袋为 1 个处理,每处理培养料(干)约为 3.75 kg,加水 4.50 kg(加入大蒜提取液,其体积为 45 ml),对照为不加大蒜提取液处理。测定平菇菌丝生长及子实体性状。3 次重复。

1.2.4.3 装袋 按 4 层菌种 3 层料的方式装袋,菌袋规格为 17.00 cm×45.00 cm×0.04 cm 的聚乙烯塑料袋。

1.2.5 成分测定 大蒜提取液的测定采用气相色谱-质谱联用仪,美国 Agilent 公司生产。

平菇子实体蛋白质含量的测定参照 GB5009.5-2010;平菇子实体脂肪的测定参照 GB/T5009.6-2003;平菇子实体粗纤维的测定参照 GB/T5009.10-2003;平菇子实体大蒜素含量的测定参照《中华人民共和国药典(2010)版》规定的方法检测。

1.3 数据分析

采用 DPS v7.05 软件进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 大蒜提取液抑菌效果

2.1.1 对细菌的抑制作用 从表 1 可以看出,不同提取时间的大蒜提取液对病原细菌的抑制效果有明显差异,提取 6.0 h 的大蒜提取液对枯草芽孢杆菌抑制效果最好,提取 6.0 h、12.0 h 的大蒜提取液对蕈状芽孢杆菌抑制效果最好,不同提取时间的大蒜提取液对短小芽孢杆菌的抑制效果无明显差异。

pH 值对大蒜提取液的抑菌效果也有差异,在 pH8、pH7 条件下不同提取时间的大蒜提取液抑制枯草芽孢杆菌的效果好于 pH9;在 pH7 条件下不同提取时间的大蒜提取液对蕈状芽孢杆菌、短小芽孢杆菌的抑制效果均好于 pH8、pH9。

2.1.2 对真菌的抑制作用 从表 2 可以看出,不同提取时间的大蒜提取液对常见的病原真菌均有一定的抑制作用,但抑制效果存在差异。提取 0.5~4.0 h 的大蒜提取液对各种病原真菌抑制效果总体较好,提取 6.0~48.0 h 的大蒜提取液对病原真菌抑制效果总体较差,其中提取 6.0 h 的大蒜提取液对木霉、根霉的抑制效果最差。

不同 pH 值的大蒜提取液对病原真菌的抑制效果也有差异。pH8 时,不同提取时间的大蒜提取液抑制毛霉的效果好于 pH7;pH7 时,不同提取时间的大蒜提取液对木霉的抑制效果好于 pH9。

表 1 不同提取时间的大蒜提取液对细菌的抑制效果
Table 1 Inhibitory effects of garlic extract extracted for different periods of time on bacteria

细菌	提取时间 (h)	抑菌圈直径 (mm)		
		pH7	pH8	pH9
枯草芽孢杆菌	0.5	20.14	23.12	10.00
	1.0	22.94	24.18	8.18
	2.0	13.40	20.00	9.20
	4.0	24.12	24.18	18.60
	6.0	37.12	31.48	28.38
	12.0	27.18	24.00	26.92
	24.0	18.00	25.00	28.62
蕈状芽孢杆菌	48.0	28.24	24.08	18.32
	0.5	20.80	12.32	13.42
	1.0	25.18	14.62	9.00
	2.0	16.20	14.32	12.40
	4.0	20.58	20.00	15.72
	6.0	42.56	30.42	12.14
	12.0	39.88	15.58	29.00
短小芽孢杆菌	24.0	38.44	20.82	16.00
	48.0	31.08	11.62	17.28
	0.5	25.00	18.12	7.70
	1.0	15.88	9.82	7.82
	2.0	23.12	11.20	6.52
	4.0	21.28	13.18	8.00
	6.0	18.72	12.12	10.68
	12.0	20.32	14.42	11.25
	24.0	17.42	10.96	13.72
	48.0	16.00	20.52	6.18

抑菌圈直径为 6.00 mm 表示没有抑菌效果。

表 2 不同提取时间的大蒜提取液对真菌的抑制效果

Table 2 Inhibitory effects of garlic extract extracted for different periods of time on fungi

真菌	提取时间 (h)	抑菌圈直径 (mm)		
		pH7	pH8	pH9
青霉	0.5	22.89	33.06	44.44
	1.0	28.10	32.60	33.84
	2.0	32.56	32.38	32.30
	4.0	33.32	32.50	31.78
	6.0	31.30	25.40	26.30
	12.0	34.40	24.50	28.60
	24.0	16.68	19.70	17.30
	48.0	18.26	33.00	12.28
毛霉	0.5	12.18	14.94	8.64
	1.0	16.20	22.16	13.44
	2.0	17.02	17.06	14.52
	4.0	12.30	14.12	12.12
	6.0	22.36	24.72	25.04
	12.0	13.76	31.78	31.04
	24.0	7.04	38.00	28.44
	48.0	6.00	33.92	10.00
木霉	0.5	23.40	18.82	15.82
	1.0	17.74	23.04	26.42
	2.0	25.42	23.64	16.68
	4.0	23.22	20.38	21.92
	6.0	16.20	17.00	10.50
	12.0	19.40	24.40	16.72
	24.0	22.76	18.40	12.68
	48.0	22.76	17.40	12.42
黄曲霉	0.5	32.56	32.52	32.60
	1.0	28.00	21.04	34.56
	2.0	15.64	15.64	32.16
	4.0	27.86	36.80	37.18
	6.0	7.64	33.64	12.82
	12.0	28.64	21.88	48.00
	24.0	32.56	27.64	34.84
	48.0	26.28	33.44	14.00
根霉	0.5	20.52	28.90	34.70
	1.0	22.48	15.34	30.74
	2.0	19.84	28.64	23.24
	4.0	19.88	17.44	18.40
	6.0	6.00	9.28	6.00
	12.0	17.70	7.38	6.00
	24.0	17.20	15.00	6.00
	48.0	9.30	7.88	6.00
黑霉	0.5	14.48	21.40	28.84
	1.0	26.68	27.48	31.32
	2.0	23.88	29.82	13.88
	4.0	21.80	29.06	14.48
	6.0	18.24	19.62	20.42
	12.0	20.78	19.48	13.18
	24.0	16.82	18.68	12.48
	48.0	19.72	23.74	22.92

抑菌圈直径为 6.00 mm 表示没有抑菌效果。

2.2 大蒜提取液对平菇生产的影响

2.2.1 对菌丝的影响 由试验结果可知,加入不同提取时间的大蒜提取液的平菇 8105 菌袋菌丝生长无显著差异,但其中加入提取 0.5 h 大蒜提取液的菌袋菌丝在养菌 6 d 后生长速度最慢,加入提取 6.0 h 大蒜提取液的菌袋菌丝在养菌 8 d 后生长速度最快。

2.2.2 对子实体的影响 从表 3 可以看出,加入不同提取时间的大蒜提取液的平菇菌袋子实体现蕾时间和采菇间隔均比对照缩短,除加入 48.0 h 大蒜提取液的菌袋产量有所下降外,其余处理的产量均高于对照,其中加入 6.0 h 大蒜提取液的菌袋产量最高,比对照增产 143.36%,极显著高于其他处理;其次是加入 12.0 h、2.0 h、1.0 h、4.0 h、24.0 h 大蒜提取液的菌袋,产量分别比对照增产 97.47%、88.56%、84.13%、68.05%、62.27%。加入不同提取时间大蒜提取液的子实体菌盖和菌柄长度都有增大趋势;除加入 4.0 h、24.0 h 大蒜提取液的盖柄比外,其他处理的盖柄比都较对照有所增大(即品质上升)。

2.2.3 平菇子实体营养成分 由表 4 可知,加入提取 6.0 h 大蒜提取液的平菇子实体蛋白质含量比对照提高 48.46%,脂肪下降 5.00%,粗纤维增加 116.70%,且子实体含有大蒜素成分,大大提高了平菇子实体的营养价值。

2.3 提取 6.0 h 大蒜提取液的成分分析

由成分分析结果可知,提取时间为 6.0 h 的大蒜提取液中除含大蒜提取剂乙酸乙酯(2.77 min、89.40%)以外,还含有 23 种成分,含量由大到小依次为乙酸丁酯(4.30 min、3.21%)、3-乙烯基-1,2-二硫环己基-4-烯(12.41 min、1.63%)、2-丙烯-1-醇(4.64 min、1.05%)、乙酸(8.8 min、0.99%)、二烯丙基二硫醚(9.35 min、0.51%)、丙酸乙酯(3.21 min、0.44%)、甲基丙基二硫醚(6.91 min、0.39%)、乙醇(2.98 min、0.33%)、2-丙烯醛(2.53 min、0.24%)、丙烯(1.76 min、0.16%)、正己烷(1.87 min、0.15%)、乙酸丙酯(3.34 min、0.13%)、二甲基二硫醚(4.42 min、0.06%)、二甲基三硫醚(8.24 min、0.06%)等成分,其余峰值未定性。

3 讨论

从抑菌效果来看,用乙酸乙酯提取 6.0 h 的大蒜提取液抑制细菌效果最好,但抑制真菌较差,尤其

表3 不同提取时间的大蒜提取液对平菇 8105 子实体的影响

Table 3 Effect of garlic extract extracted for different periods of time on *Pleurotus ostreatus* 8105 fruiting body

提取时间 (h)	现蕾时间 (d)	产量 (g)	菌盖大小 (mm)	菌柄长度 (mm)	盖柄比	采菇间隔 (d)
0.5	3	759.95dE	93.64	30.56	3.06	4.0
1.0	2	1 214.25bBC	68.02	33.04	2.06	8.5
2.0	4	1 243.43bB	85.09	34.54	2.46	8.0
4.0	3	1 108.23cCD	61.46	31.87	1.93	6.8
6.0	16	1 604.84aA	77.00	36.38	2.12	6.0
12.0	8	1 302.20bB	68.21	31.27	2.18	6.7
24.0	16	1 070.12cD	63.19	32.77	1.93	5.5
48.0	20	367.00fF	70.70	30.00	2.36	6.0
对照	24	659.45eE	55.92	27.38	2.04	10.0

竖栏不同大、小写字母表示不同处理间差异达 0.01 和 0.05 显著水平。

表4 大蒜提取液对平菇子实体营养成分的影响

Table 4 Effects of garlic extract on *P. ostreatus* fruiting body nutrients

子实体	蛋白质 (g/kg)	脂肪 (g/kg)	粗纤维 (g/kg)	大蒜素 (g/kg)
平菇 8105	38.6	2.0	13.0	175.0
对照	26.0	4.0	6.0	-

对木霉、根霉的抑制效果最差;提取 0.5~4.0 h 的大蒜提取液抑制真菌最好,随着处理时间的延长,抑菌效果下降。大蒜提取液中哪些抑菌活性物质随着提取时间的延长挥发、分解,哪些抑菌活性物质较为稳定,有待于进一步研究。

加入提取 6.0 h 大蒜提取液的平菇菌袋增产最高,可能与其抑制平菇生产中竞争性细菌的效果最好、抑制竞争性真菌的效果最差有关。平菇作为一种食用真菌,在培养料中加入抑制细菌能力强、抑制真菌弱的大蒜提取液,可达到增产的效果,这与前人研究结果有所不同^[8]。

在平菇及其他食用菌生产中加入大蒜提取液,在降低农药残留及提高产量和品质的同时,也拓展

了大蒜的用途,为利用大蒜制备生物农药奠定基础。

参考文献:

- [1] 徐文静.大蒜抑菌活性成分对番茄病原菌的抑制研究[D].长春:东北师范大学,2006.
- [2] 李允祥,国淑梅,张艳君,等.大蒜提取液对平菇菌丝及其杂菌的抑制效果研究[J].北方园艺,2014(15):150-152.
- [3] 吉沐祥,陈宏州,吴 祥,等.8 种生物杀菌剂对草莓枯萎病菌室内抑菌活性的测定[J].江苏农业科学,2014,42(9):103-106.
- [4] 王 瑞,马立志,高蓬明,等.乙蒜素与溴硝醇、代森锰锌 2 种农药复配对丁香假单胞杆菌的联合毒力[J].江苏农业科学,2014,42(3):71-73.
- [5] 徐文静,郑陪和,杜 茜.大蒜抑菌成分提取方法及抑菌活性的研究[J].吉林农业科学,2008,33(3):50-54.
- [6] 国淑梅,牛贞福,黄贤举,等.大蒜、生姜提取液对平菇上 3 种芽孢杆菌的抑制作用及其对平菇生长的影响[J].中国植保导刊,2015,35(2):17-20.
- [7] 牛贞福,国淑梅,李 丹,等.不同大蒜品种及其生育期的提取液对平菇及其竞争性杂菌的抑制作用[J].北方园艺,2014(22):147-149.
- [8] 曾东方,陈 玢,曾 麟,等.食用菌对大蒜素的敏感性测定[J].安徽农业科学,2011,39(9):5159-5160,5163.

(责任编辑:袁 伟)