

秀珍菇采后病原菌的鉴定及精油防治

章奕¹, 崔杰², 何若铭³, 何志平¹, 刘兴泉¹, 时浩杰¹

(1. 浙江农林大学 现代农学院, 浙江 杭州 311300; 2. 浙江省粮食局直属粮油储备库, 浙江 杭州 310000; 3. 浙江省粮食干部学校, 浙江 杭州 310000)

摘要: 【目的】分离鉴定秀珍菇 *Pleurotus geesteranus* 采后的主要致病菌, 寻找有效防治真菌病害的植物精油抑菌方法, 为秀珍菇采后的保鲜技术提供参考。【方法】以秀珍菇采后分离鉴定的主要病原真菌为防治对象, 在常见的 13 种精油中筛选有效精油, 分析精油对采后主要病原菌菌丝生长、孢子萌发、菌丝形态结构及其细胞膜脂过氧化和细胞内容物外泄程度的影响, 以不使用精油为对照, 研究防治作用机制。【结果】秀珍菇采后主要病原真菌为藤仓镰刀菌 *Fusarium fujikuroi*。在 13 种备选精油中, 石菖蒲 *Acorus tatarinowii* 精油对藤仓镰刀菌具有良好的抑制效果。石菖蒲精油体积分数为 1 000 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ 时能够完全抑制藤仓镰刀菌的生长, 且在此范围内体积分数越高, 抑菌效果越好。石菖蒲精油能够提高藤仓镰刀菌细胞膜的通透性, 当体积分数为 1 000 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ 的石菖蒲精油处理 3 h 后, 藤仓镰刀菌相对电导率、丙二醛和细胞内容物泄漏量分别为对照组的 2、5 和 3 倍。扫描电镜和透射电镜观察结果表明: 石菖蒲精油能改变藤仓镰刀菌菌丝形态并破坏其细胞结构。【结论】石菖蒲精油能够加剧藤仓镰刀菌菌丝细胞膜脂过氧化, 破坏菌丝结构, 进而加速细胞凋亡, 从而抑制藤仓镰刀菌的生长繁殖。图 9 参 26

关键词: 秀珍菇; 采后病害; 藤仓镰刀菌; 石菖蒲精油; 抑菌作用

中图分类号: S763.1 文献标志码: A 文章编号: 2095-0756(2022)06-1321-09

Identification of postharvest pathogenic bacteria and the bacteriostasis of plant essential oil for *Pleurotus geesteranus*

ZHANG Yi¹, CUI Jie², HE Ruoming³, HE Zhiping¹, LIU Xingquan¹, SHI Haojie¹

(1. College of Advanced Agricultural Sciences, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China; 2. Grain and Oil Storage Depot Directly under Zhejiang Grain Bureau, Hangzhou 310000, Zhejiang, China; 3. Zhejiang Grain Cadre School, Hangzhou 310000, Zhejiang, China)

Abstract: [Objective] This study, with the main pathogens of *Pleurotus geesteranus* after harvest isolated and identified, is aimed to investigate the antibacterial activities of plant essential oil that effectively prevent and control fungal diseases so as to provide reference for the development of preservation technology of *P. geesteranus* after harvest. [Method] With major pathogenic fungi isolated and identified from *P. geesteranus* as the research objects of prevention and control, the most effective essential oils were screened out from 13 kinds of common essential oils before an analysis was conducted of their effects on the mycelial growth, conidia germination, mycelial morphology and structure, membrane lipid peroxidation and leakage of cell contents of the main postharvest pathogens in order to study the mechanism of prevention and treatment. The control group was treated without essential oil. [Result] Among the 13 alternative essential oils, *Acorus tatarinowii* essential oil had a good inhibitory effect on *Fusarium fujikuroi* and the growth of *F. fujikuroi* could be completely

收稿日期: 2021-12-28; 修回日期: 2022-05-06

基金项目: 浙江省自然科学基金资助项目 (LY19C140004)

作者简介: 章奕 (ORCID: 0000-0001-5615-9625), 从事食品安全控制技术研究。E-mail: 2655751911@qq.com。通信作者: 刘兴泉 (ORCID: 0000-0001-5578-9182), 教授, 博士, 从事食品加工与安全研究。E-mail: liuxq@zafu.edu.cn

inhibited by $1\ 000\ \mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ *A. tatarinowii* essential oil with the concentration of essential oil positively correlated with the antifungal effect. After the treatment with $1\ 000\ \mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ essential oil for 3 h, the relative conductivity, MDA and cell contents in the cultured liquid of *F. fujikuroi* were 2 times, 5 times and 3 times of those in the control group, respectively. According to the results of scanning electron microscopy and transmission electron microscopy, the essential oil of *A. tatarinowii* could change *F. fujikuroi* mycelium morphology and destroy its cell structure. [Conclusion] *A. tatarinowii* essential oil could accelerate the membrane lipid peroxidation of mycelia cells, increase the permeability of cell membrane, destroy the normal physiological function of cells and cause cell death, thereby inhibiting the growth and reproduction of *F. fujikuroi*. [Ch, 9 fig. 26 ref.]

Key words: *Pleurotus geesteranus*; postharvest disease control; *Fusarium fujikuroi*; *Acorus tatarinowii* essential oil; bacteriostat

秀珍菇 *Pleurotus geesteranus* 是一种常见的食用菌^[1], 营养丰富、味道鲜美。但秀珍菇采后易发生病害而造成品质下降, 常温下仅能储藏 2~3 d^[2]。微生物侵染是秀珍菇储藏过程中品质下降的主要原因。秀珍菇由于质地脆嫩, 品质易受温度影响, 传统低温储藏虽能在一定程度上延长秀珍菇保鲜期, 但易产生低温冷害, 无法长期保存^[3-4]。食用菌采后病害影响其储藏品质, 不同种类食用菌的致病菌不同, 哈茨木霉 *Trichoderma harzianum* 是引发金针菇绿霉病的主要致病菌, 托拉斯假单胞杆菌 *Pseudomonas tolaasii* 能够引发双孢菇湿泡病等^[4]。

植物精油是一类从植物中提取的次生代谢物质, 具有广谱的抑菌性, 易于生物降解和相对安全的特性, 近年来在果蔬采后病害防治领域应用广泛^[5-6], 但在食用真菌的防腐保鲜研究较少。具有采后病害控制作用的植物精油主要有香茅 *Mosla chinensis* 精油、桉 *Eucalyptus robusta* 精油、甜橙 *Citrus sinensis* 精油等, 在果蔬的防腐保鲜中均有较好的防治效果^[7-9], 精油是具有潜在应用价值的生物防治保鲜剂^[10-12], 不同的精油对各类果蔬采后致病菌的防治效果不尽相同。本研究对秀珍菇采后储藏中的主要病原菌进行分离鉴定, 筛选有效精油对其进行抑制, 以期为植物精油的秀珍菇采后保鲜提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

秀珍菇采自浙江杭州临安鼎新农业科技有限公司; 精油购于江西国光香料厂 (纯度 > 99%), 主要来自檀香 *Santalum album*、艾蒿 *Artemisia argyi*、石菖蒲 *Acorus tatarinowii*、甜橙、香茅、洋甘菊 *Anthemis nobilis*、青蒿 *Artemisia annua*、柏木 *Cupressus funebris*、大蒜 *Allium sativum*、橘 *Citrus reticulata*、花椒 *Zanthoxylum bungeanum*、茴香 *Foeniculum vulgare*、桉等植物。

培养基有马铃薯葡萄糖琼脂培养基 (PDA, 上海博微生物科技有限公司) 和马铃薯葡萄糖肉汤培养基 (PDB, 上海博微生物科技有限公司)。

1.2 仪器与设备

主要仪器有 LDZX50KBS 立式压力蒸汽灭菌锅 (上海申安医疗器械)、智能光照培养箱 (宁波海曙赛福实验仪器厂)、SW-CJ-IC 型双人单面净化工作台 (苏州苏信环境科技有限公司)、HI2315 型高精度电导率仪 (北京哈纳科科技有限公司)、Sigma 500 扫描电子显微镜 (德国)、HZ-2111KA 恒温摇床 (华利达实验设备公司)。

1.3 方 法

1.3.1 秀珍菇主要致病菌分离纯化 用无菌手术刀在秀珍菇发病处切取病害和健康交界处的组织, 用体积分数为 75% 乙醇表面消毒 30 s, 无菌水冲洗 3 次, 无菌滤纸吸干水分后置于 PDA 平板中心, 28 ℃ 培养 3~5 d 至组织发病。用无菌接种针挑取病症表面菌丝, 置于 PDA 平板中心, 28 ℃ 培养 5 d 后, 挑取边缘菌丝纯化接种, 直至菌落单一。出现单一菌落后, 接入 PDA 斜面试管, 用甘油封存后置于 4 ℃ 冰箱保存。

1.3.2 病原菌致病性检测 根据柯赫氏法则, 确定秀珍菇致病性。挑取健康无病害, 无机械损伤, 大小

均一的秀珍菇, 采用针刺法将纯化后的菌丝回接至秀珍菇表面。置于室温(25℃)培养, 观察发病情况, 以不接菌丝作为对照。发病后进行致病菌的分离纯化, 方法同1.3.1。判断发病后纯化的菌株与回接的菌株是否一致, 如一致, 则进行下一步试验。

1.3.3 病原菌形态学鉴定 将试管中保存的菌丝活化, 接种于PDA平板中, 于28℃下培养, 每天观察菌落特征, 产孢后在菌落边缘挑取适量菌丝, 在光学显微镜下观察菌丝及孢子形态, 并根据其形态学特征初步判断其种属。

1.3.4 病原菌分子生物学鉴定 将培养4~5 d的平板, 委托上海生工生物技术有限公司进行序列测定。内部转录间隔区(ITS)序列扩增引物为ITS1和ITS4^[13], 其引物序列为ITS1: 5'-TCCGTAGGTGAA CCTGCGGC-3'; ITS4: 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3', 测序所得rDNA序列在美国国家生物技术信息中心(NCBI)网站上, 利用BLAST将ITS序列与数据库中的序列进行对比, 寻找同源性较大的物种, 下载其序列, 利用MEGA软件构建该菌株的系统发育树, 并根据其序列的相似度, 确定其所属物种。

1.3.5 精油对主要致病菌的抑制作用 将不同种类的精油配制成体积分数为500 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ 的PDA平板, 用无菌打孔器在病原菌平板上打取直径6 mm的菌饼, 放入平板中央, 28℃培养至6 d时, 用游标卡尺测量菌落直径并记录^[14-15]。设置3次重复。

1.3.6 石菖蒲精油对主要致病菌菌丝生长的影响 用无菌打孔器在病原菌平板上打取直径6 mm的菌饼, 放入PDA平板中央, 28℃培养, 定期观察菌落, 用游标卡尺测量菌落直径并记录^[16-17], 设置3次重复。

1.3.7 石菖蒲精油对主要致病菌孢子萌发率的影响 将孢子悬浮液分别混合于体积分数为0(ck)、250、500、750、1 000 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ 的石菖蒲精油和质量浓度为1.0%的葡萄糖混合溶液中, 将上述混合溶液50 μL 分别滴入双凹载玻片, 置于培养皿中(直径200 mm), 25℃保湿培养, 6、12、18 h时在显微镜下观察孢子萌发情况, 每个处理镜检孢子数为200个, 以芽管长度超过孢子直径一半计为孢子萌发^[18], 设置3次重复。孢子萌发率计算公式为: 孢子萌发率=(萌发孢子数/检查孢子总数) $\times 100\%$

1.3.8 石菖蒲精油对主要致病菌细胞膜通透性的影响 ①丙二醛(MDA)质量摩尔浓度测定。将体积分数为0.1%的吐温80与石菖蒲精油混合充分后乳化, 在PDB中加入一定量的孢子悬浮液, 使孢子终浓度为 $10^9 \text{ CFU}\cdot\text{L}^{-1}$ 。分别抽滤取5 g菌丝在体积分数为0(ck)、250、500、750、1 000 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ 石菖蒲精油的PBS缓冲液中培养, 0、2、4、6、8、10 h后取0.2 g菌丝冰浴研磨, 加入1 mL无菌双蒸水提取, 4℃10 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$, 20 min离心取上清液, 采用硫代巴比妥酸法测定吸光度。②相对电导率测定。抽滤取5 g PDB中的菌丝在不同体积分数(0、250、500、750、1 000 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$)的石菖蒲精油-PBS缓冲液中培养, 分别在0、10、20、40、60、120、180 min取样测定电导率, 并计算相对电导率^[19], 设置3次重复。

1.3.9 石菖蒲精油对主要致病菌细胞内容物泄漏的影响 将菌丝(湿质量2 g)加入到体积分数为0(ck)、250、500、750、1 000 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ 的石菖蒲精油无菌水中, 28℃下摇床培养, 分别于1、2、3、4、5 h后收集上清液测量可溶性碳水化合物、可溶性蛋白和核酸泄漏量^[20], 设置3次重复。以蔗糖为标准, 使用蒽酮试剂法测量藤仓镰刀菌可溶性碳水化合物的泄漏程度; 使用蛋白质检测试剂盒(生工生物技术有限公司, 上海)检测可溶性蛋白泄漏程度; 通过检测上清液在波长260 nm处的吸光度 $D(260)$ 来判断核酸的泄漏程度, 设置3次重复。

1.3.10 石菖蒲精油对主要致病菌细胞结构的影响 菌丝固定采用戊二醛、锇酸的双重固定法。取适量0、500 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ 的石菖蒲精油平板上生长的菌丝边缘部分, 浸泡于体积分数为3%的戊二醛溶液中, 20℃固定, 过夜后用pH 6.8的PBS缓冲液冲洗15 min, 而后用体积分数为1%的锇酸溶液4℃固定2 h, 再经乙醇梯度脱水、包埋、聚合、切片, 经醋酸双氧铀和柠檬酸铅染色后置于透射电镜下观察^[21]。

1.4 数据统计与分析

采用GraphPad Prism 8进行绘图, 通过SPSS 24.0单因素方差分析进行数据统计及差异显著性分析, 显著性水平为0.05。

2 结果与分析

2.1 秀珍菇主要致病菌分离鉴定

如图1A所示: 在秀珍菇20℃储藏2 d出现病症后, 根据组织分离法分离致病菌, 按照不同的菌落

形态和生长特征, 分离到 3 株致病菌。

根据科赫氏法则, 将分离的 3 株真菌回接至经过表面灭菌的秀珍菇上进行验证, 发现仅 1 株菌株出现了与病症相似的表现 (图 1B)。再取回接发病病症处的菌丝进行纯化培养, 观察到与其形态一致, 证明该菌株为秀珍菇主要致病菌。

由图 1C~E 可见: 菌落规则, 圆形, 棉絮状或毛毡状, 菌丝体初期白色, 生长旺盛, 后期成淡黄色, 菌丝有隔, 分枝, 大型分生孢子呈镰刀形或纺锤形, 有隔膜, 呈无色或透明。与镰刀菌属形态学基本一致。将测序所得的序列, 利用 NCBI 网站的 BLAST 在线对比, 将 ITS 序列与 GenBank 数据库中的核苷酸序列进行对比分析 (图 2), 发现 ITS 序列与 KJ605159.1 *Fusarium fujikuroi* strain GF3、MT982185.1 镰刀菌属 *Fusarium* sp. isolate SZMC27192、MN747996.1 层生镰刀菌 *Fusarium proliferatum* isolate SC2.2、KF999820.1 *Fusarium* sp. CHJ2、MN871556.1 甜瓜镰刀菌 *Fusarium incarnatum* clone LS760、MW405882.1 *Fusarium proliferatum* isolate、KP893211.1 *Fungal* sp.、MT530228.1 丛赤壳属 *Nectriaceae* sp.、KT351627.1 *Fusarium* sp. T28、MN947247.1 *Fusarium fujikuroi* isolate DL3.2、MW599749.1 尖孢镰刀菌 *Fusarium oxysporum* strain DHRL-04 有不同程度的相似, 对比发现该菌株与 KJ605159.1 *Fusarium fujikuroi* strain GF3 同源性达 99%, 基本确定该菌株为藤仓镰刀菌。另外, 选取几株同源性不同的序列, 下载序列利用 Neighbor-Joining 方法构建系统发育树。由图 2 可知: 该菌株与藤仓镰刀菌聚为一支, 有非常近的亲缘关系。结合形态学特征与生物学鉴定结果分析, 确定该致病菌为藤仓镰刀菌。

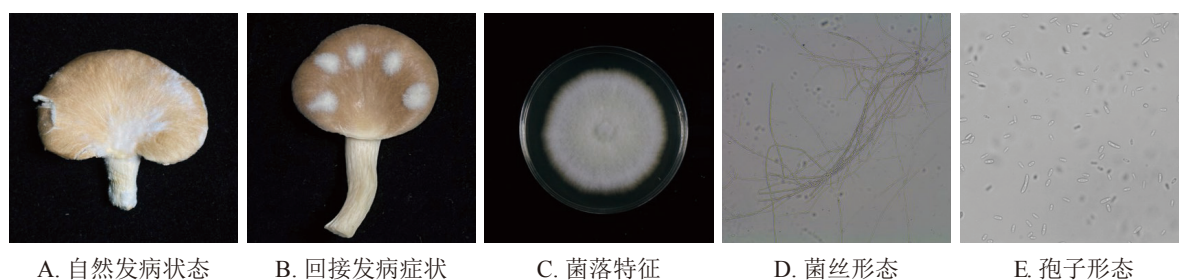


图 1 秀珍菇致病菌病症与形态

Figure 1 Pathogen disease and morphology of *P. geesteranus*

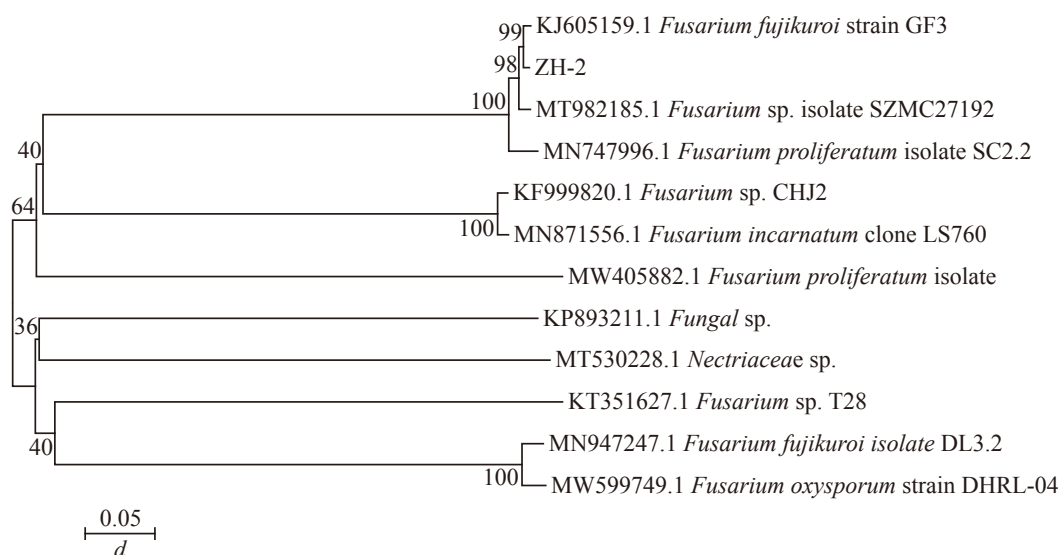


图 2 ITS 基因序列构建的系统发育树

Figure 2 Phylogenetic tree based on ITS sequence

2.2 植物精油对藤仓镰刀菌的抑制作用

如图 3 所示: 培养 5 d 后, 藤仓镰刀菌在不同精油平板上的菌落直径不同, 菌落直径越小表征菌丝生长越缓慢, 则该精油的抑制效果越好。石菖蒲精油在 13 种精油中对藤仓镰刀菌的抑制效果最佳, 故选择石菖蒲精油进一步研究。

2.3 石菖蒲精油对藤仓镰刀菌菌丝和孢子的影响

由图 4 可知：250 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ 的石菖蒲精油对藤仓镰刀菌菌丝生长有明显的抑制效果，培养 4 d 后不同体积分数处理的菌丝生长存在显著差异 ($P<0.05$)，1 000 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ 的石菖蒲精油能完全抑制藤仓镰刀菌的生长，且转接至无精油 PDA 平板后依旧不生长。可确定石菖蒲精油对藤仓镰刀菌的半数效应体积分数 (抑菌率达 50% 的体积分数为半数效应体积分数， EC_{50}) 为 500 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ ，最小抑菌体积分数为 1 000 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

如图 5 所示：随着石菖蒲精油体积分数的升高，藤仓镰刀菌孢子萌发率显著降低 ($P<0.05$)。处理 18 h 以后，对照组孢子萌发率达 85.7%，而 750 和 1 000 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ 石菖蒲精油处理组孢子萌发率分别为 4.2% 和 0，孢子萌发抑制率分别为 95.1% 和 100.0%。表明在一定体积分数范围内，石菖蒲精油能显著抑制藤仓镰刀菌孢子的萌发。

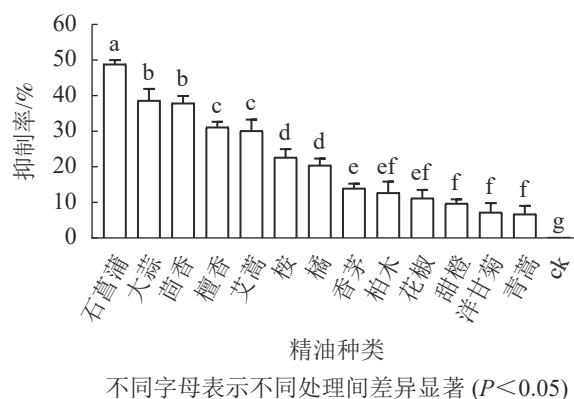


图 3 植物精油对藤仓镰刀菌的抑制率
Figure 3 Inhibition rate of plant essential oil against *F. fujikuroi*

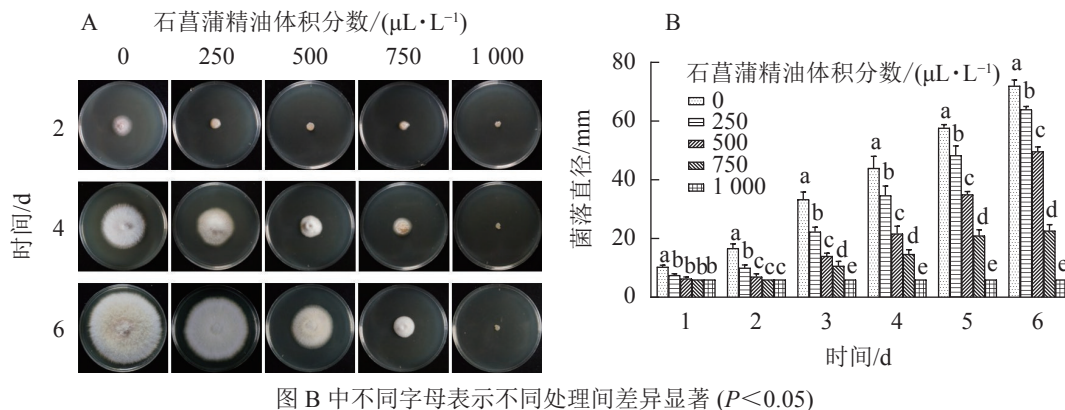


图 4 石菖蒲精油对藤仓镰刀菌菌丝生长的影响

Figure 4 Effects of *A. tatarinowii* essential oil on mycelial growth of *F. fujikuroi*

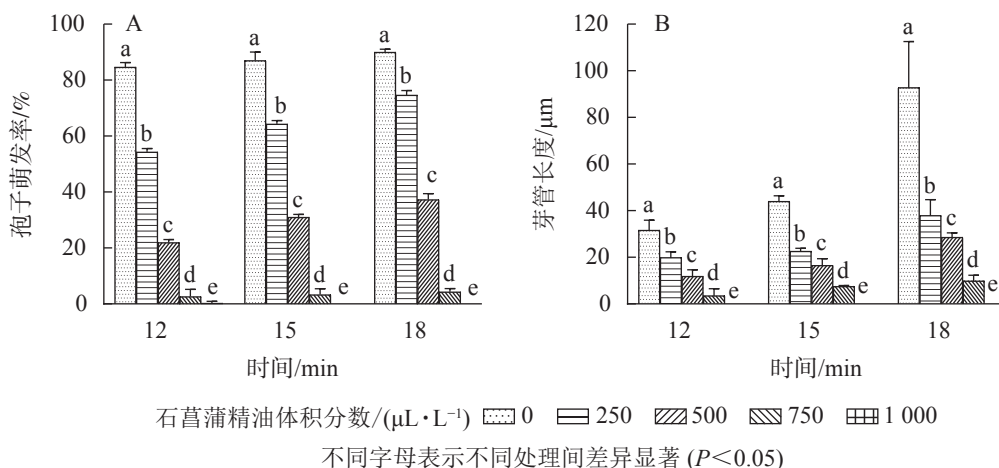


图 5 石菖蒲精油对藤仓镰刀菌孢子的影响

Figure 5 Effects of *A. tatarinowii* essential oil on colony diameter of *F. fujikuroi*

2.4 石菖蒲精油对藤仓镰刀菌细胞膜通透性的影响

用相对电导率来表征膜通透率，相对电导率越高，膜通透性越大。如图 6A 所示：藤仓镰刀菌相对电导率随着石菖蒲精油体积分数的升高而升高。处理组在 80 min 后显著高于对照组 ($P<0.05$)。3 h 后对照组相对电导率为 23.2%，而 1 000 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ 石菖蒲精油处理组的相对电导率达 55.1%。表明精油处理可

显著提高藤仓镰刀菌的相对电导率 ($P < 0.05$), 从而可进一步增加高藤仓镰刀菌的膜通透性。

MDA 是细胞膜脂过氧化的产物, 可以反映细胞膜脂过氧化的程度, 是指示膜系统受伤的重要指标之一。如图 6B 所示: 经过石菖蒲精油处理的藤仓镰刀菌, MDA 质量摩尔浓度显著高于对照, $1\ 000\ \mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ 石菖蒲精油处理组在 10 h 后 MDA 质量摩尔浓度是对照的 3 倍。表明石菖蒲精油能够破坏细胞脂膜结构, 从而导致 MDA 质量摩尔浓度上升, 加速菌丝细胞的膜脂过氧化。

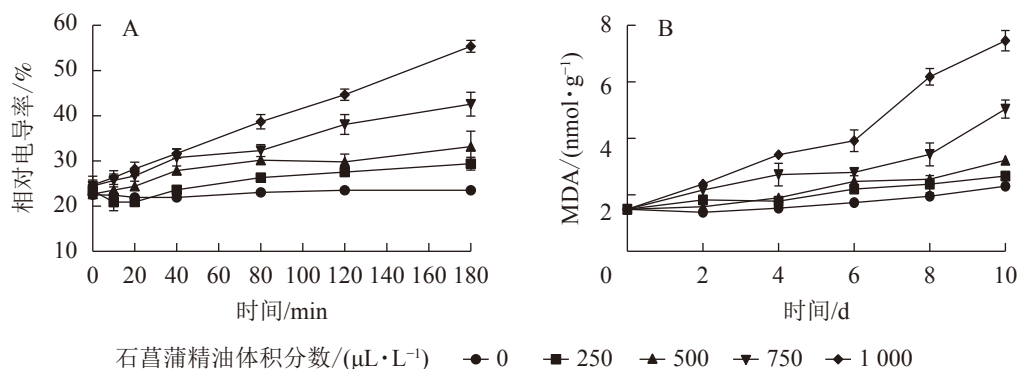


图 6 石菖蒲精油对藤仓镰刀菌相对电导率和 MDA 的影响

Figure 6 Effects of *A. tatarinowii* essential oil on *F. fujikuroi* Relative conductivity and MDA content

2.5 石菖蒲精油对藤仓镰刀菌细胞内容物泄漏的影响

细胞内容物出现在培养液中说明细胞的质膜受到了破坏, 也是细胞膜损伤的重要表征指标。如图 7 所示: 培养液中可溶性蛋白、核酸、可溶性碳水化合物随着精油处理时间的延长都有不同程度的上升。表明经石菖蒲精油处理后, 细胞内容物出现不同程度泄漏, 且随着精油体积分数的增大而升高。说明精油处理能够破坏脂膜结构, 从而导致细胞内容物泄漏。

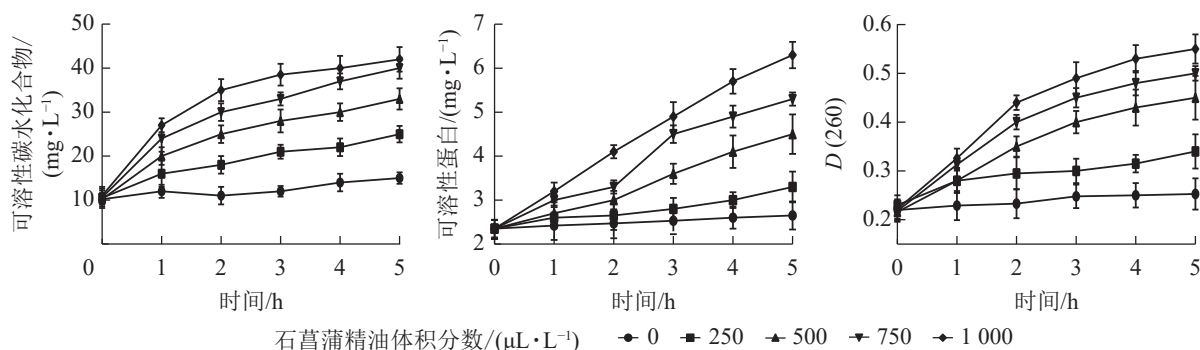


图 7 石菖蒲精油对藤仓镰刀菌可溶性碳水化合物、可溶性蛋白、核酸泄漏量的影响

Figure 7 Effects of *A. tatarinowii* essential oil on *F. fujikuroi* relative soluble carbohydrate, soluble protein content, nucleic acid leakage

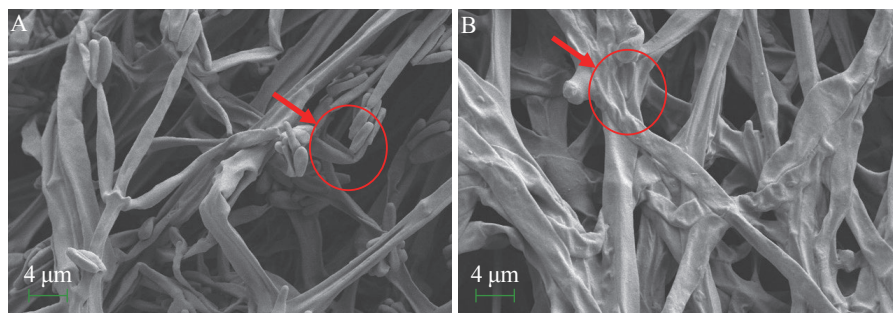
2.6 石菖蒲精油对藤仓镰刀菌细胞结构的影响

采用扫描电镜观察石菖蒲精油对藤仓镰刀菌菌丝结构的影响, 发现未经精油处理的菌丝表面光滑, 存在孢子丛 (图 8A)。精油处理后 (图 8B) 的菌丝皱缩, 无孢子产生。进一步说明石菖蒲精油能够破坏藤仓镰刀菌菌丝结构, 影响菌丝正常生长, 并抑制孢子的产生。本研究结果与顾可飞等^[13]发现精油可造成真菌菌丝畸形或使真菌菌丝断裂的结论基本一致。

进一步采用透射电镜观察石菖蒲精油对藤仓镰刀菌细胞超微结构的影响, 发现未经精油处理的细胞形态完整, 质膜均匀, 细胞壁清晰 (图 9A)。经石菖蒲精油处理的菌丝细胞膜和核膜破坏严重, 细胞各结构也有较大破坏 (图 9B)。表明石菖蒲精油的抑菌机制可能是通过破坏藤仓镰刀菌细胞膜的完整性, 暴露和侵蚀细胞器, 造成细胞损伤, 最终导致细胞死亡。

3 结论与讨论

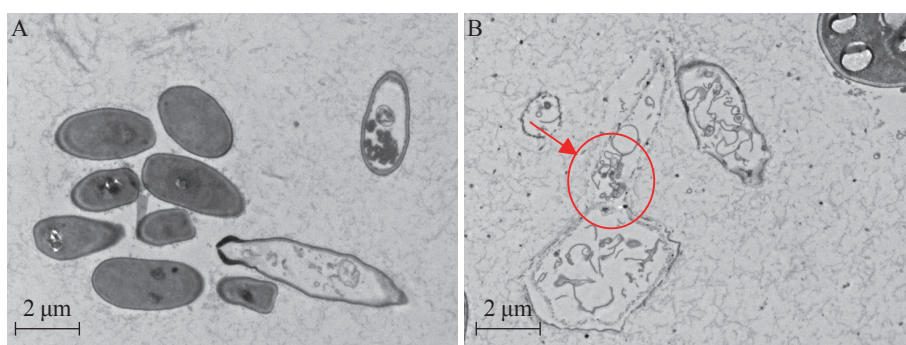
本研究对秀珍菇的采后致病菌进行分离, 根据科赫氏法则确定其致病性, 在形态上致病菌菌落呈白色, 后期为淡黄色, 菌丝有隔有分支, 孢子呈镰刀型, 在形态学上对比发现其与镰刀菌形态学描述一



A 表示未经精油处理的对照组; B 表示 $500 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 石菖蒲精油处理组。红色箭头为明显差异位置

图 8 扫描电镜观察石菖蒲精油对藤仓镰刀菌菌丝结构的影响

Figure 8 Sem observation of the effect of *A. tatarinowii* essential oil on *F. fujikuroi* mycelium structure



A 表示未经精油处理的对照组; B 表示 $500 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 石菖蒲精油处理组。红色箭头为明显差异位置

图 9 透射电镜观察石菖蒲精油对藤仓镰刀菌菌丝结构的影响

Figure 9 Effect of *A. tatarinowii* essential oil on *F. fujikuroi* mycelium structure observed by transmission electron microscopy

致; 利用 rDNA-ITS 序列对比和系统发育树分析的方法, 发现致病菌与藤仓镰刀菌相似度达 99%, 由此确定藤仓镰刀菌为秀珍菇采后储藏中的主要致病真菌, 该菌在百香果 *Passiflora eduli*^[22]、樱桃番茄 *Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme*^[23] 等农产品均见报道, 是较为常见的致病菌。

研究 13 种常见植物精油对藤仓镰刀菌抑制效果时发现: 石菖蒲精油对藤仓镰刀菌控制效果最佳, 其 EC_{50} 为 $500 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$, 最小抑菌体积分数为 $1\,000 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 。相同体积分数处理下, 石菖蒲精油对孢子萌发的抑制率高于对菌丝生长的抑制率, 说明藤仓镰刀菌孢子对石菖蒲精油的敏感度更高, 这与 PEI 等^[24]探究香芹酚对炭疽菌的抑制效果相似。

经对藤仓镰刀菌培养液中 MDA 和相对电导率变化情况的观测, 发现石菖蒲精油的处理可使藤仓镰刀菌的胞内 MDA 质量摩尔浓度增加, MDA 质量摩尔浓度和相对电导率是表征菌丝细胞膜脂过氧化程度和细胞膜结构破坏程度的重要指标^[25], MDA 质量摩尔浓度增加表明石菖蒲精油能够加速藤仓镰刀菌的膜脂氧化, 加剧细胞内物质的外泄; 而扫描电镜和透射电镜结果也显示藤仓镰刀菌菌丝表面出现褶皱, 菌丝细胞壁膜被破坏。LIU 等^[26]研究表明: 香草精油的抗真菌活性是由于其能够破坏细胞膜结构。PEI 等^[24]发现: 香芹酚能够使炭疽菌细胞膜通透性增加。本研究表明: 石菖蒲精油能够有效抑制藤仓镰刀菌作用机制, 破坏藤仓镰刀菌膜系统结构, 引起内容物泄漏, 进而导致菌体死亡。

4 参考文献

- [1] LIAO Xiyu, ZHU Zhenjun, WU Shujian, *et al.* Preparation of antioxidant protein hydrolysates from *Pleurotus geesteranus* and their protective effects on H_2O_2 oxidative damaged PC12 cells [J/OL]. *Molecules*, 2020, **25**(22): 5408[2021-11-20]. doi:10.3390/molecules25225408.
- [2] 张志勇. 1-MCP 短时处理对采后秀珍菇贮藏品质、能量状态和鲜味的影响[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2020.
ZHANG Zhiyong. *Effects of 1-MCP Treatment on Storage Quality, Energy Status and Umami Taste of Pleurotus after*

- Harvest [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2020.
- [3] 冯志勇, 王志强, 郭力刚, 等. 秀珍菇生物学特性研究[J]. *食用菌学报*, 2003, **10**(3): 11 – 16.
FENG Zhiyong, WANG Zhiqiang, GUO Ligang, *et al.* Studies on the biological characteristics of *Pleurotus geesteranus* [J]. *Acta Edulis Fungi*, 2003, **10**(3): 11 – 16.
- [4] 杨军, 李钊. 现代物流发展中的食用菌保鲜技术探讨[J]. *中国食用菌*, 2020, **39**(6): 53 – 55.
YANG Jun, LI Zhao. Discussion on edible fungi preservation technology in the development of modern Logistics [J]. *Edible Fungi China*, 2020, **39**(6): 53 – 55.
- [5] CHOUHAN S, SHARMA K, GULERIA S. Antimicrobial activity of some essential oils-present status and future perspectives [J]. *Medicines*, 2017, **4**(3): 58 – 63.
- [6] CARDOSO-UGARTE G A, SOSA-MORALES M E. Essential oils from herbs and spices as natural antioxidants: diversity of promising food applications in the past decade [J/OL]. *Food Rev Int*, 2021[2021-12-01]. doi:10.1080/87559129.2021.1872084.
- [7] 贾会玲, 韩双双, 黄晓德, 等. 植物精油对植物病原菌的抑菌活性研究进展[J]. *中国野生植物资源*, 2018, **37**(6): 47 – 52.
JIA Huiling, HAN Shuangshuang, HUANG Xiaode, *et al.* Advances in antifungal activity of plant essential oil against plant pathogens [J]. *Chin Wild Plant Resour*, 2018, **37**(6): 47 – 52.
- [8] 邱夕兰, 彭善丽, 程磊, 等. 植物精油微胶囊的制备及在食品保鲜中的应用[J]. *食品研究与开发*, 2021, **42**(6): 205 – 210.
QIU Xilan, PENG Shanli, CHENG Lei, *et al.* Preparation of microencapsulation of plant essential oil and its application in food preservation [J]. *Food Res Dev*, 2021, **42**(6): 205 – 210.
- [9] 王丹, 张静, 翟浩, 等. 蓝莓采后果实致腐菌的分离鉴定及植物精油对其抑制作用的研究[J]. *保鲜与加工*, 2020, **20**(2): 52 – 56.
WANG Dan, ZHANG Jing, ZHAI Hao, *et al.* Isolation and identification of *Fusarium oxysporum* from postharvest blueberry fruit and inhibitory effect of plant essential oils [J]. *Storage Process*, 2020, **20**(2): 52 – 56.
- [10] SPADACCINO G, FRABBONI L, PETRUZZI F, *et al.* Essential oil characterization of *Prunus spinosa* L., *Salvia officinalis* L., *Eucalyptus globulus* L., *Melissa officinalis* L. and *Mentha x piperita* L. by a volatilomic approach [J/OL]. *J Pharm Biomed Anal*, 2021, **202**: 114167[2021-12-02]. doi: 10.1016/j.jpba.2021.114167.
- [11] 史冬辉, 刘洪波, 杨小丰, 等. 黄山木兰精油对 9 种植物病原真菌的抑菌活性[J]. *浙江农林大学学报*, 2009, **26**(2): 223 – 227.
SHI Donghui, LIU Hongbo, YANG Xiaofeng, *et al.* Antifungal activity of the essential oil from *Magnolia cylindrica* on nine phytopathogenic fungi [J]. *J Zhejiang A&F Univ*, 2009, **26**(2): 223 – 227.
- [12] 倪蕴琪, 唐静仪, 洪惠. 包埋肉桂精油的牦牛骨蛋白肽-钙螯合物的制备及抑菌效果[J]. *浙江农林大学学报*, 2021, **38**(3): 597 – 604.
NI Yunqi, TANG Jingyi, HONG Hui. Preparation and antibacterial effect of yak bone protein peptide-calcium chelate embedded with cinnamon essential oil [J]. *J Zhejiang A&F Univ*, 2021, **38**(3): 597 – 604.
- [13] 顾可飞, 刘海燕, 杨海峰, 等. 电子束辐照对羊肚菌营养成分影响分析[J]. *食品工业科技*, 2018, **39**(12): 55 – 62.
GU Kefei, LIU Haiyan, YANG Haifeng, *et al.* Effect analysis of electron beam irradiation on morels nutrient composition [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2018, **39**(12): 55 – 62.
- [14] 刘瑞玲, 郜海燕, 陈杭君, 等. 红肉火龙果采后病原菌分离鉴定与植物精油抑菌研究[J]. *农业机械学报*, 2018, **49**(8): 338 – 345.
LIU Ruiling, GAO Haiyan, CHEN Hangjun, *et al.* Isolation, identification and inhibition of pathogens from red pitaya fruit during storage [J]. *Trans Chin Soc Agric Mach*, 2018, **49**(8): 338 – 345.
- [15] OLIVEIRA T N S, SILVA-FILHO C M S, MALVEIRA E A, *et al.* Antifungal and antibiofilm activities of the essential oil of leaves from *Lippia gracilis* Schauer against phytopathogenic fungi [J]. *J Appl Microbiol*, 2021, **130**(4): 1117 – 1129.
- [16] DIANEZ F, SANTOS M, PARRA C, *et al.* Screening of antifungal activity of 12 essential oils against eight pathogenic fungi of vegetables and mushroom [J]. *Lett Appl Microbiol*, 2018, **67**(4): 400 – 410.
- [17] KUMAR P, MISHRA S, KUMAR A, *et al.* Antifungal efficacy of plant essential oils against stored grain fungi of *Fusarium* spp. [J]. *J Food Sci Technol*, 2016, **53**(10): 3725 – 3734.
- [18] 侯绍云. TP-CS-PAA 纳米粒抑制枇杷采后病原微生物的研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2015.

- HOU Shaoyun. *Investigation of TP-loaded CS-PAA Nanoparticles for Inhibiting Pathogens Fungi during the Postharvest of Loquat Fruits* [D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2015.
- [19] 周灵灵, 高海燕, 李标, 等. R-多糖对荔枝炭疽病菌的抑制作用研究[J]. *中国食品学报*, 2011, **11**(7): 61 – 66.
- ZHOU Lingling, GAO Haiyan, LI Biao, *et al.* Study on the inhibitory action of R-Polysacchsrides against *Colletotrichum gloeosporioides* of litchi [J]. *J Chin Inst Food Sci Technol*, 2011, **11**(7): 61 – 66.
- [20] 裴少培. 香芹酚的抑菌效果及其在火龙果保鲜技术中的应用[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2020.
- PEI Shaopei. *Antimicrobial Activity of Carvacrol and Its Application on the Preservation of Pitaya Fruit* [D]. Yangling: Northwest A&F University, 2020.
- [21] 赵璐貌, 郜海燕, 刘瑞玲, 等. 芋艿采后主要病原菌分离鉴定及桉木醇抑菌效果[J]. *食品科学*, 2020, **41**(12): 136 – 142.
- ZHAO Lumiao, GAO Haiyan, LIU Ruiling, *et al.* Identification of dominant postharvest pathogens of taro and antifungal activity of hinokitiol against them [J]. *Food Sci*, 2020, **41**(12): 136 – 142.
- [22] 冯岩, 谢梓烁, 欧枝凯, 等. 镰刀菌引致的百香果病害研究[J]. *仲恺农业工程学院学报*, 2019, **32**(4): 13 – 18.
- FENG Yan, XIE Zishuo, OU Zhikai, *et al.* Study on diseases of *Passiflora edulia* caused by *Fusarium* [J]. *J Zhongkai Univ Agric Eng*, 2019, **32**(4): 13 – 18.
- [23] KAI Kaikai, WANG Rui, BI Wanling, *et al.* Chlorogenic acid induces ROS-dependent apoptosis in *Fusarium fujikuroi* and decreases the postharvest rot of cherry tomato [J/OL]. *World J Microbiol Biotechnol*, 2021, **37**(6)[2021-12-05]. doi:10.1007/s11274-021-03062-x.
- [24] PEI Shaopei, LIU Ruiling, GAO Haiyan, *et al.* Inhibitory effect and possible mechanism of carvacrol against *Colletotrichum fruticola* [J/OL]. *Postharvest Biol Technol*, 2020, **163**: 111126[2021-12-08]. doi: 10.1016/j.postharvbio.2020.111126.
- [25] CAO Baohua, LIU Jia, QIN Guozheng, *et al.* Oxidative stress acts on special membrane proteins to reduce the viability of *Pseudomonas syringae* pv *tomato* [J]. *J Proteome Res*, 2012, **11**(10): 4927 – 4938.
- [26] LIU Xiaoman, OUYANG Canbin, WANG Qiuxia, *et al.* Effects of oil extracts of *Eupatorium adenophorum* on *Phytophthora capsici* and other plant pathogenic fungi in vitro [J]. *Pestic Biochem Physiol*, 2017, **140**: 90 – 96.