

拮抗微生物防治柑橘采后病害研究进展

郭娟华¹, 涂起红², 陈楚英¹, 陈金印^{1,*}

(1.江西农业大学 江西省果蔬保鲜与无损检测重点实验室, 江西 南昌 330045;

2.江西省土壤肥料技术推广站, 江西 南昌 330046)

摘 要: 本文对柑橘主要采后病害进行简要介绍, 综述利用拮抗微生物对柑橘采后病害进行防治, 包括防治柑橘采后侵染性病害拮抗微生物的种类、使用方法、防病机制、拮抗微生物产品制剂的开发以及提高拮抗微生物防治效果的措施, 为柑橘采后病害生物防治提供参考依据。

关键词: 拮抗微生物; 柑橘; 采后病害; 生物防治

Research Advances in Bio-control of Postharvest Diseases of Citrus with Antagonistic Microorganisms

GUO Juan-hua¹, TU Qi-hong², CHEN Chu-ying¹, CHEN Jin-yin^{1,*}

(1. Jiangxi Key Laboratory for Postharvest Technology and Non-destructive Testing of Fruits & Vegetables, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China; 2. Soil and Fertilizer Technology Extension Station of Jiangxi Province, Nanchang 330046, China)

Abstract: The major postharvest diseases of citrus are briefly introduced and the bio-control of postharvest diseases of citrus with antagonistic microorganisms is summarized in this paper. The following aspects are covered in this review: antagonistic microorganism species, methods for their application, bio-control mechanisms and the development of bio-control products which can control infectious diseases of postharvest citrus. In addition, many methods to enhance the efficacy of antagonistic microorganisms for controlling postharvest diseases of citrus discussed. This knowledge will provide a reference for bio-control of postharvest diseases in citrus.

Key words: antagonistic microorganisms; citrus; postharvest diseases; bio-control

中图分类号: S436.661

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)23-0351-06

doi:10.7506/spkx1002-6630-201323070

柑橘为芸香科柑橘亚科柑橘属植物, 种类较多, 其中较为重要的种类有甜橙、宽皮柑橘、柚、葡萄柚、柠檬及其杂交后代等^[1]。全球有135个国家生产柑橘, 深受各国人们喜爱, 为全球第一大水果, 也是我国南方各省普遍生产的重要果品。由于我国缺乏贮运冷链设备, 柑橘在贮藏期间常因多种产后病害发生为害, 损失严重, 一般腐烂率可达20%~50%。柑橘采后腐烂主要是由真菌引起的, 长期以来, 控制柑橘采后病害的主要措施是使用化学杀菌剂, 如抑霉唑、特克多、邻苯酚钠、仲丁胺以及苯并咪唑类杀菌剂等。但由于病原菌对杀菌剂产生的化学抗性、安全卫生条件的提高以及环境保护力度的加强都对杀菌剂的使用带来限制。此外, 高频率地使用单一种类的杀菌剂会使病原菌产生抗药性问题, 使杀菌剂的防治效果大大降低。据国内调查, 多年单独使用

多菌灵的地区, 指状青霉对其产生了很强的抗性, 使柑橘腐烂率增加, 同时抗药性病原菌对甲基托布津、苯来特、涕必灵等杀菌剂具有交叉抗性^[2]。因此, 研究并利用化学杀菌剂的替代物来防治果蔬采后病害, 是果蔬采后贮藏面临的一项紧迫任务。利用拮抗微生物来防治柑橘采后病害于20世纪80年代就已经进行研究, 这些研究对减少食品中农药的残留、保护环境、确保人体健康和增加柑橘进出口等, 都具有深刻的意义。

1 柑橘果实采后主要侵染性病害

柑橘果实在贮藏期间腐烂、损耗的病害主要有两大类, 一类是由真菌引起的侵染性病害, 常见有由指状青霉(*Penicillium digitatum* Sacc)引起的绿霉病, 意大利青

收稿日期: 2012-09-03

基金项目: “十二五”国家科技支撑计划项目(2012BAD38B03); 科技部农业科技成果转化资金项目(2011GB2C50017);

江西省教育厅科技落地计划项目(111)

作者简介: 郭娟华(1988—), 女, 硕士研究生, 研究方向为果蔬采后生理。E-mail: gjh198820060160@126.com

*通信作者: 陈金印(1962—), 男, 教授, 博士, 研究方向为果蔬采后生理与处理技术。E-mail: jinyinchen@126.com

霉(*Penicillium italicum* Wehmer)引起的青霉病,柑橘白地霉(*Geotrichum citri-aurantii* (Ferraris) Butle)引起的酸腐病,蒂腐色二孢(*Diplodia natalensis* Evans)和柑橘拟茎点霉(*Phomopsis citri* Fawcett)引起的蒂腐病,柑橘链格孢(*Alternaria citri* Ell.et Piere)引起的黑腐病,由棕榈疫霉(*Phytophthora palmivora*)、柑橘褐腐疫霉(*Phytophthora citrophthora* Leonian)、柑橘生疫霉(*Phytophthora citricola*)、烟草疫霉(*Phytophthora nicotianae*)等引起的褐腐病,胶孢炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides* Penz)引起的炭疽病等;另一类是由不良的环境因素引起的生理性病害,常见的有由低温失调引起的褐斑病(干疤),由水分和温度失调引起的枯水病,由冷害和气体失调引起的水肿病等^[3]。引起柑橘贮藏期腐烂的病害大部分为具有侵染性的真菌病害,不同柑橘果实在贮藏期发生的侵染性病害有差异,一般情况下,橙类果实主要病害有干腐病、炭疽病等;温州蜜柑、蕉柑、椪柑等则以青绿霉病、蒂腐病、黑腐病为主;柠檬等以酸腐病和黑腐病为主;黄岩早橘、红橘等除青绿霉病外,蒂腐病、黑腐病和炭疽病也较严重^[1]。

2 拮抗微生物的防病机制

一些学者对拮抗微生物的应用做了大量的研究^[4-8],但是因为无法完全弄清寄主、病原菌和拮抗菌或其他寄生微生物之间的关系,拮抗微生物对病原菌发挥作用的作用机理还没有完全清楚^[9]。了解拮抗微生物的作用机理对于开发一些已知拮抗菌的附加产品和防治方法具有重要意义,同时也可以帮助筛选出更多的高效拮抗菌株,提高靶标菌株的筛选效率^[10]。目前拮抗微生物的作用机制主要有以下几种观点。

2.1 与病原菌之间的营养或空间竞争

营养与空间竞争是许多采后拮抗酵母菌生物防治的主要作用机制,即微生物在水果伤口上集群,在关键的营养和生长位置上排斥腐烂的微生物生存,保护伤口,减少腐烂^[11]。引起采后病害的病原菌多为非专化性的死体营养菌,其孢子萌发及致病活动需要大量的糖类、氮源和生长因子等外源营养,因而这些营养是拮抗菌和病原菌争夺的对象。拮抗微生物与病原菌之间的营养或空间竞争机制主要表现为:1)高浓度拮抗菌比低浓度拮抗菌的抑菌效果好。Manso等^[7]研究表明,当*Metschnikowia andauensis*的浓度为 10^6 CFU/mL时,病害的发生率减少了62%;而当浓度增加到 10^7 CFU/mL后,病害的发生率减少了90%。2)在接种病原菌之前比接种病原菌之后再接种拮抗菌的抑菌效果好。Lahlali在克莱门氏小柑橘的伤口上接种青、绿霉病原菌和拮抗菌*Candida oleophila*,发现接种病原菌前24h接种拮抗菌,发病率均为0%,而对照

发病率分别为53.1%和70%。3)拮抗菌能够迅速繁殖,消耗伤口营养与抢占空间。梁学亮等^[12]研究表明,在4℃和25℃条件下接种假丝酵母菌24h以后,假丝酵母*Candida species* CWW24可在果实的伤口处快速繁殖,伤口处无论是否接种绿霉病原菌其数量都分别增加20倍和60倍以上。4)补充营养可以使受到抑制的病原菌部分或全部复活。Zhang Dianpeng等^[13]在果汁培养基中,加入终质量浓度为1g/100mL的葡萄糖、蔗糖和果糖,或0.5g/100mL和1g/100mL的 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、苯丙氨酸和天冬酰胺时能显著恢复病原孢子的萌发,当病原菌和酵母菌同时存在于果实伤口时,补充营养显著降低了对果实腐烂的抑制,说明在补充营养前酵母菌消耗掉了培养基或果实上口的营养。

2.2 直接寄生作用

拮抗菌对病原菌的直接寄生作用是以吸附生长、缠绕、侵入、消解等形式抑制病原菌生长。一些拮抗菌还可以附着在病原菌的菌丝体上,形成对病原菌的直接寄生作用。龙超安等^[14]发现拮抗酵母菌菌株*Kloeckera apiculata* (34-9)的主要作用机理就是拮抗菌株对病原菌株的直接寄生作用,通过扫描电镜可观察到酵母菌株(34-9)紧紧包围柑橘青、绿霉病菌菌丝或附着在柑橘青、绿霉病菌菌丝上,最终使柑橘青、绿霉病菌菌丝浓缩、畸形。Zhang Dianpeng等^[13]利用光学显微镜显示发现,离体培养20h后,*Pichia guilliermondii* M8紧密附着于*B. cinerea*菌丝尖端和分生孢子上,在不同程度上抑制芽管伸长。20℃贮藏7d后,在苹果伤口上酵母菌附着在病原菌的菌丝上,显著地限制了灰霉菌的扩散。有些拮抗菌可以分泌胞外水解酶,如几丁质酶、 β -1,3-葡聚糖酶等,这些酶是真菌细胞壁的降解酶,参与寄主真菌细胞壁的降解,对防治病害发生有很大的作用。Zhang Dianpeng等^[13,15]发现*Aureobasidium pullulans*和*Pichia guilliermondii*在含有病原菌和唯一碳源的培养基中,能连续产生大量的 β -1,3-葡聚糖酶和几丁质酶,并在处理96h后,产生的水解酶含量和活性均达到最大值。这类拮抗菌作为采后生防因子的前提是靶标病原菌的存在,因此用其控制靶标病原菌引起的病害会有一个滞后的作用过程,不利于控制突发性病害,但是在果蔬贮运前用这类拮抗菌处理,对于采后潜伏病害具有一定的预防作用。

2.3 诱导寄主抗病性

果蔬等商品自身对病菌的侵染有着天然的防御反应,果蔬在遭到病菌侵染时,会通过体内的木质素、胼胝体和羟脯氨酸糖的沉积,植物抗菌素的积累,蛋白酶抑制剂和溶菌酶(几丁质酶和脱乙酰几丁质酶等)的合成等一系列的生理生化反应来增强细胞壁的防御能力^[11]。拮抗菌对植物诱导主要产生三方面的效果:1)诱导寄主抗病性次生代谢物的大量产生,如异黄酮类和萜类物质。Droby等^[16]利用生防制剂Aspire™中的主要拮抗菌*Candida*

*oleophila*悬浮液处理葡萄柚果皮,诱导提高了乙烯的合成。而乙烯与诱导果蔬抗病性物质有关,柑橘及其他水果中的乙烯会诱导苯丙氨酸裂解酶(PAL)的活性,而此酶又催化分泌阶段的莽草酸反应途径,导致酚、植物抗毒素和木质素的生物合成,增加了植保素的积累。2)诱导寄主细胞组织结构发生变化。Ei-Ghaouth等^[17]发现假丝酵母(*C. saitoana*)在苹果伤口上可以诱导几丁质细胞结构封闭,产生乳突状结构,抑制病原菌的入侵。3)诱导寄主防御酶活力。拮抗菌诱导柑橘产生几丁质酶、葡聚糖酶及增强其他防御酶类活性,这些酶类可以分解病原菌的细胞壁,增强果皮抗性,有效抑制病原菌的生长。Droby等^[16]利用生防制剂Aspire™中的主要拮抗菌*Candida oleophila*悬浮液处理柚子皮,诱导提高PAL活性、增加了几丁质酶和 β -1,3-内切葡萄糖苷酶的水平。4)调节活性氧代谢。果蔬受到病原菌侵染或逆境因子等生物或非生物因素胁迫时,细胞内会急剧产生大量的活性氧,这时必须依靠体内活性氧清除系统使活性氧含量始终处于动态平衡的状态。拮抗微生物可通过诱导提高果蔬体内活性氧代谢相关酶类的活性进而调节果蔬的抗病反应。Torres等^[18]利用*Pantoea agglomerans* CPA-2处理橙子果实72h后,发现CPA-2处理的果实组织产生了大量的 H_2O_2 ,并且抗氧化酶SOD和CAT活性增加,而接种病原菌的果实组织的 H_2O_2 含量却表现出急剧减少。

2.4 产生抗生素或抗菌活性物质

通过拮抗微生物分泌抗菌素来抑制病原菌,这是最早被确定的拮抗机理。一些研究表明,不仅同一种细菌可以产生多种抗菌素,而且一种抗菌素也可由多种细菌产生。拮抗菌产生的具有抑菌活性的物质主要有细菌素、挥发性物质、蛋白酶类、脂肽及多肽类抗生素等,这些物质通过干扰敏感病原菌的代谢过程而抑制病原菌的生长。对于拮抗细菌,例如芽孢杆菌,在生长过程中分泌出抗生素杀灭致病菌。Arrebola等^[4]利用芽孢杆菌产生的挥发性化合物能显著抑制柑橘青绿霉病,其中*Bacillus subtilis*产生了21种挥发性化合物,*Bacillus amyloliquefaciens*产生了8种,这些化合物中3-羟基-2-丁酮是抑制青绿霉病的主要物质。Mercier等^[19]用AgreQuest公司生产的*Muscodor albus*真菌熏蒸剂来防治柠檬采后绿霉病和酸腐病,效果显著。Li Qili等^[20]对*Streptomyces globisporus* JK-1产生的挥发性物质进行分离和鉴定,分离出41种挥发性有机化合物,其中二甲基硫和二甲基三硫无论在体外实验还是在砂糖橘果实上均能有效的抑制意大利青霉生长。Fialho等^[21]利用人工合成的*Saccharomyces cerevisiae* strain CR-1产生的挥发性有机化合物处理柑橘果实,明显地抑制了黑斑病病原菌的菌丝发育并干扰了形态发育相关酶的产生。虽然抗生素在防治一些果蔬采后病害中能起到有效作用,但是筛选或开

发具有营养或空间竞争、直接寄生、诱导寄主抗性等作用机制的拮抗菌是目前研究者研究的重点。

2.5 其他防病方式

拮抗菌的作用机制一直是生物防治的研究热点,研究发现拮抗微生物防治病害还有一些其他的方式。例如在果实伤口处,一些拮抗微生物会沿着寄主细胞壁产生大量的细胞外黏液,这些细胞外黏液被认为是与细胞外附着有关并很可能包含了提供识别和后续反应信号的化学启动子,形成对果实抗病性的信号调控,建立防御体系^[10]。此外,在自然环境中,还可能通过拮抗菌的活动改变寄主伤口周围的化学环境或渗透压环境,使之适合拮抗生物而不利于病原菌的生长,从而达到防治病害的效果,这种防病方式有利于筛选更多拮抗菌和优化拮抗菌活性^[9]。

3 拮抗微生物的种类与利用

应用于生物防治的拮抗微生物主要有细菌、霉菌、放线菌和酵母菌等,其中细菌、霉菌很早就应用于柑橘采后病害生物防治,而酵母菌是近20年来研究的热点。表1中列出了用于柑橘采后病害生物防治的主要拮抗微生物种类,包括芽孢杆菌属(*Bacillus* sp.)、假单胞菌属(*Pseudomonas* sp.)、木霉属(*Trichoderma* sp.)、假丝酵母属(*Candida* sp.)、毕赤酵母属(*Pichia* sp.)等。其拮抗细菌和霉菌主要是通过产生抗生物质作用于病原菌,而拮抗酵母菌的作用方式是以营养竞争为主,也有几种作用方式同时存在,因此拮抗酵母菌防治柑橘采后病害是现在和未来研究的方向。

目前,已从植物表面和土壤中分离出了许多对柑橘采后病原菌具有拮抗作用的微生物。利用拮抗菌控制柑橘采后病害主要通过3种途径^[10,37]: 1)提高柑橘表面已存在的拮抗菌的拮抗能力。实践中发现,用清水冲洗过的果蔬更易腐烂,说明果蔬表面存在某些拮抗菌落。因此,利用采前或采后措施,使果蔬表面的环境有利于拮抗菌而不利于病原菌生长,就能达到控制果蔬采后病害的目的。2)人为导入拮抗菌,这是目前利用拮抗菌的主要途径。用含拮抗菌的悬浮液浸渍或喷施果蔬,是人工导入的主要方法;其次是采前在花或幼果表面喷施拮抗菌悬浮液;或者将拮抗菌混入果蔬涂膜材料中,通过涂膜或打蜡处理导入拮抗菌。3)利用拮抗菌分泌的抗生素。利用灭活的拮抗菌溶液或从拮抗菌中提取的抗生素,对果蔬采后病害进行控制。

根据应用于果实上的时间,拮抗菌的使用又可以分为两类:一类是采前应用拮抗菌,一般情况下,有些病原菌是在田间感染果蔬,且这些潜伏性感染可能会成为贮运过程中果蔬腐烂的主要原因,因此在采前田间使用

表 1 防治柑橘采后病害的拮抗微生物种类
Table 1 Antagonistic microorganism species for bio-control of postharvest diseases in citrus

拮抗菌种类	防治病害	作用机制	参考文献
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Penicillium digitatum</i> Sacc、 <i>Penicillium italicum</i> Wehmer和 <i>Penicillium crustosum</i> Thom	A	[4,22]
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	<i>Penicillium digitatum</i> Sacc、 <i>Penicillium italicum</i> Wehmer和 <i>Penicillium crustosum</i> Thom	A	[4]
	<i>Geotrichum citri-aurantii</i>	A	[23-24]
<i>Bacillus thuringiensis</i>	<i>Guignardia citricarpa</i>	A	[25]
<i>Brevibacillus brevis</i>	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	A	[26]
<i>Streptomyces globisporus</i>	<i>Penicillium italicum</i>	A	[20]
<i>Pantoea agglomerans</i>	<i>Penicillium digitatum</i>	HR	[5,18]
<i>Pseudomonas glathei</i>	<i>Penicillium digitatum</i> 、 <i>Penicillium italicum</i>	N	[27]
<i>Pseudomonas cepacia</i>	<i>Penicillium digitatum</i> 、 <i>Penicillium italicum</i>	A	[28]
<i>Pseudomonas syringae</i>	<i>Penicillium digitatum</i> 、 <i>Penicillium italicum</i>	A	[28]
<i>Aureobasidium pullulans</i>	<i>Penicillium digitatum</i>	N+HE	[29]
<i>Candida oleophila</i>	<i>Penicillium digitatum</i> 、 <i>Penicillium italicum</i> 和 <i>Geotrichum citri-aurantii</i>	N	[16,30]
<i>Pichia anomala</i>	<i>Penicillium digitatum</i> 、 <i>Penicillium italicum</i> 和 <i>Geotrichum citri-aurantii</i>	N	[30]
<i>Pichia guilliermondii</i>	<i>Penicillium italicum</i>	N	[6]
<i>Metschnikowia andauensis</i>	<i>Penicillium digitatum</i> 、 <i>Penicillium italicum</i>	N	[7]
<i>Debaryomyces hansenii</i>	<i>Penicillium italicum</i>	N	[31]
<i>Kloeckera apiculata</i>	<i>Penicillium digitatum</i> 、 <i>Penicillium italicum</i> 和 <i>Phomopsis citri</i>	D	[32]
<i>Cryptococcus laurentii</i>	<i>Geotrichum citri-aurantii</i>	N+A+HR	[33]
<i>Pichia membranaefaciens</i>	<i>Penicillium digitatum</i>	HR	[34]
<i>Rhodotorula rubra</i>	<i>Penicillium digitatum</i>	HR	[34]
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	<i>Penicillium digitatum</i>	N	[8]
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Guignardia citricarpa</i>	A	[21]
<i>Muscodor albus</i>	<i>Penicillium digitatum</i> 、 <i>Geotrichum citri-aurantii</i>	A	[19]
<i>Trichoderma</i> spp.	<i>Alternaria citri</i>	A	[35]
<i>Gliocladium virens</i>	<i>Penicillium digitatum</i> 、 <i>Penicillium italicum</i>	A	[36]

注：A. 产抗生素；N. 营养竞争；HR. 诱导寄主抗病性；D. 直接寄生；HE. 分泌水解酶类。

拮抗菌处理能有效的防治果蔬采后病害。Cañamás等^[5]对采前应用*Pantoea agglomerans*防治柑橘采后病害效果进行了研究，结果显示，采前应用*Pantoea agglomerans*能有效防治柑橘自然感染病害和人为接种的指状青霉，使感染率减少超过50%，证明了采前用拮抗菌处理果实可以控制采后病害。然而这种使用方法还是有很多限制，在商业应用中，只常见于鳄梨上。另一种为采后应用拮抗菌，这是比采前应用更实用高效防治采后病害的处理方法，拮抗菌主要是通过悬浮液浸渍或喷施于果实表面来控制病害发生。王博等^[32]用 2×10^6 CFU/mL的*Kloeckera apiculata*悬浮液处理温州蜜柑果实，能有效地抑制青、绿霉和蒂腐病等贮藏期病害的发生，柑橘果实的腐烂率控制在1%以下，效果显著高于清水对照，与多菌灵相当。

4 拮抗微生物产品制剂的开发

有关拮抗菌控制果蔬采后病害的研究工作始于20世纪80年代，至今已开始从实验室走向商业化应用，并多个拮抗菌获得专利，是一项具有潜力的新兴技术。根据多年来的研究与应用，一种有开发价值的拮抗菌需具备一些令人满意的特性才能使之能成为理想的生物防治

制剂^[10]。这些特性主要有^[9-10]：1)遗传稳定；2)浓度低时即有效果；3)对营养需求不高；4)逆境下能生存(包括低温和气调贮藏)；5)具有采后病害广谱拮抗效果；6)能在廉价的培养基上大量繁殖；7)货架寿命长，易稀释；8)相比病原菌，具有生长优势；9)对采后环境中化学药剂具有抗性；10)对人体无害；11)对寄主无致病性；12)能与商业加工处理方法共存。一个生物防治产品的鉴定、开发和商业化是一个漫长又耗资的过程，虽然理想的拮抗菌具有很多令人满意的特性，但是经济因素才是决定该拮抗菌是否能商业化的主要因素，如果该产品没有潜在的市场，那么它也不能够商业化。

目前世界各国都致力于生物防治制剂的开发，试图逐步取代化学杀菌剂或减少化学杀菌剂的用量，如今已有一些国家成功地研制出用于防治果蔬采后病害的微生物抗菌剂，如：生物防治剂“*Aspire*TM”(*Candida oleophila*, 美国)、“*Biosave 111*”和“*Biosave 110*”(*Pseudomonas syringae*, 美国)、“*Shemer*”(*Metschnikowia fructicola*, 安提瓜和巴布达)、“*Candifruit*”(*Candida sake* CPA-1, 西班牙)、“*Serenade*TM”(*Bacillus subtilis*, 美国)、“*Pantovital*TM”(*Pantoea agglomerans*, 西班牙)和“*Boniprotect*TM”(*Aureobasidium Pullulans*, 德国)等^[7]，其中“*Aspire*TM”、“*Biosave 111*”和“*Biosave 110*”对

表2 提高拮抗微生物防治效果的措施
Table 2 Treatments for enhancing the efficacy of antagonistic microorganisms to control postharvest diseases

处理方法	拮抗菌	病原菌	果实	参考文献
物理方法				
热处理	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Penicillium digitatum</i> 、 <i>Penicillium italicum</i>	柑橘	[22]
紫外线处理	<i>Candida guilliermondii</i>	<i>Penicillium expansum</i> 、 <i>Botrytis cinerea</i>	梨	[38]
臭氧处理	<i>Cryptococcus laurentii</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	草莓	[39]
抗病诱导剂				
CaCl ₂	<i>Rhodotorula glutinis</i>	<i>Penicillium digitatum</i>	柑橘	[40]
NaHCO ₃	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Penicillium digitatum</i> 、 <i>Penicillium italicum</i>	柑橘	[22]
	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	<i>Penicillium digitatum</i>	柑橘	[41]
钼酸铵	<i>Pichia membranifaciens</i>	<i>Penicillium expansum</i>	桃	[42]
	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	<i>Penicillium digitatum</i>	柑橘	[8]
水杨酸	<i>Rhodotorula glutinis</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	桃	[43]
吡唑乙酸	<i>Cryptococcus laurentii</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	苹果	[44]
茉莉酸甲酯	<i>Pichia membranifaciens</i>	<i>Colletotrichum acutatum</i>	枇杷	[45]
苯丙噻重氮	<i>Pichia membranifaciens</i>	<i>Penicillium expansum</i>	桃	[46]
1-MCP	<i>Metalchnikovia pulcherrima</i>	<i>Colletotrichum acutatum</i>	苹果	[47]
天然食品防腐剂				
百里香和柠檬草精油	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	<i>Botrytis cinerea</i> 、 <i>Penicillium expansum</i> 及 <i>Rhizopus stolonifer</i>	桃	[48]
壳聚糖	<i>Cryptococcus laurentii</i>	<i>Penicillium expansum</i>	苹果	[49]
茶皂素	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	<i>Penicillium digitatum</i> 、 <i>Penicillium italicum</i> 及 <i>Geotrichum citri-aurantii</i>	柑橘	[23]
	<i>Rhodospiridium kratochvilovae</i>	<i>Penicillium expansum</i>	苹果	[50]
低剂量杀菌剂	<i>Cryptococcus laurentii</i>	<i>Penicillium expansum</i> 、 <i>Botrytis cinerea</i>	苹果	[50-51]
混合拮抗菌	<i>Cryptococcus laurentii</i> + <i>Rhodospiridium paludigenum</i>	<i>Geotrichum citri-aurantii</i>	柑橘	[33]

柑橘采后病害有很好的防治效果。尽管有不少报道指出某些微生物抗菌剂的效果与化学杀菌剂相当，但是在实际应用中常常会发现其效果并不稳定，导致拮抗微生物对水果采后病害的控制效果还不是十分理想。

5 提高拮抗微生物防治效果的措施

虽然应用生防手段控制果蔬采后病害越来越受到世界各国的重视，但是让生防微生物进入商品化生产，广泛应用于果蔬采后病害生物防治尚有许多问题有待解决，拮抗菌防治效果不稳定、使用不方便、抑菌谱较窄以及保质期短等是拮抗菌制剂相比较于化学制剂的劣势。因此，提高拮抗菌的生防效力、将拮抗菌进行商品化推广应用，需考虑与传统采后处理措施相结合应用的可能性，这是加快拮抗菌制剂走向市场的有效途径之一。研究表明，拮抗微生物能和多种物理防治方法、低剂量化学杀菌剂和生物防治方法有效结合(表2)，并对多种果实采后病害产生附加甚至协同增效的生防效果。

拮抗微生物只能防治果实在贮藏过程中感染致病菌，但对已经存在于果实上的致病菌没有杀死作用，而物理防治只能杀死已经存在于果实表面的致病菌，同时部分物理防治方法还有诱导寄主抗病性的作用，因此将两者结合使用，可以互相弥补两者的不足，提高拮抗菌生防效果。抗病诱导剂可以通过诱导果实自身产生抗病性来实现对采后病害的防治，当拮抗微生物与抗病诱导

剂结合使用时，增加了拮抗微生物的作用方式，并且部分抗病诱导剂还可以增强拮抗微生物的生命活力。单独用杀菌剂时会污染环境，并危害人体健康。拮抗微生物与化学杀菌剂有效地结合起来，使得用比传统杀菌剂剂量更少的杀菌剂控制病害成为可能，从而把杀菌剂的使用量降低到对人体的安全剂量以下的水平，降低果蔬的农药残留。混合使用拮抗菌可以解决单一拮抗菌防治范围窄、使用次数多等，增强防治效果和扩宽抑菌范围。

参考文献：

- [1] 邓雨艳, 曾凯芳. 柑橘果实采后侵染性病害防治技术研究进展[J]. 食品科技, 2008(4): 211-214.
- [2] 张红印, 郑晓冬, 孙萍. 提高生防菌对水果采后病害防治能力的研究进展[J]. 食品科学, 2006, 27(4): 247-251.
- [3] 余健. 柑橘贮藏病害及防腐保鲜[J]. 云南农业科技, 2007(6): 50-52.
- [4] ARREBOLA E, SIVAKUMAR D, KORSTEN L. Effect of volatile compounds produced by *Bacillus* strains on postharvest decay in citrus[J]. Biological Control, 2010, 53(1): 122-128.
- [5] CAÑAMÁS T P, VIÑAS I, USALL J, et al. Control of postharvest diseases on citrus fruit by preharvest applications of biocontrol agent *pantoea agglomerans* cpa-2: Part ii. Effectiveness of different cell formulations[J]. Postharvest Biology and Technology, 2008, 49(1): 96-106.
- [6] LAHLALI R, HAMADI Y, GUILLI E M, et al. Efficacy assessment of *Pichia guilliermondii* strain z1, a new biocontrol agent, against citrus blue mould in morocco under the influence of temperature and relative humidity[J]. Biological Control, 2011, 56(3): 217-224.
- [7] MANSO T, NUNES C. Metschnikowia andauensis as a new biocontrol agent of fruit postharvest diseases[J]. Postharvest Biology

- and Technology, 2011, 61(1): 64-71.
- [8] 耿鹏, 陈少华, 胡美英, 等. 马克斯克鲁维酵母对柑橘采后绿霉病的抑制效果[J]. 华中农业大学学报, 2011(6): 712-716.
 - [9] DROBY S, WISNIEWSKI M, MACARISIN D, et al. Twenty years of postharvest biocontrol research: is it time for a new paradigm?[J]. Postharvest Biology and Technology, 2009, 52(2): 137-145.
 - [10] SHARMA R R, SINGH D, SINGH R. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables by microbial antagonists: a review[J]. Biological Control, 2009, 50(3): 205-221.
 - [11] 余翔. 拮抗菌技术在果蔬采后病害控制中的应用[J]. 食品研究与开发, 2011(6): 137-140.
 - [12] 梁学亮, 郭小密. 假丝酵母对柑橘采后绿霉病的抑制效果[J]. 华中农业大学学报, 2006(1): 26-30.
 - [13] ZHANG Dianpeng, SPADARO D, GARIBALDI A, et al. Potential biocontrol activity of a strain of *Pichia guilliermondii* against grey mold of apples and its possible modes of action[J]. Biological Control, 2011, 57(3): 193-201.
 - [14] 龙超安, 邓伯勋, 何秀娟. 柑橘青、绿霉病高效拮抗菌34-9的筛选及其特性研究[J]. 中国农业科学, 2005(12): 2434-2439.
 - [15] ZHANG Dianpeng, SPADARO D, GARIBALDI A, et al. Efficacy of the antagonist *Aureobasidium pullulans* pl5 against postharvest pathogens of peach, apple and plum and its modes of action[J]. Biological Control, 2010, 54(3): 172-180.
 - [16] DROBY S, VINOKUR V, WEISS B, et al. Induction of resistance to *Penicillium digitatum* in grapefruit by the yeast biocontrol agent *Candida oleophila*[J]. Phytopathology, 2002, 92(4): 393-399.
 - [17] EI-GHAOUTH A, WILSON C L, WISNIEWSKI M. Ultrastructural and cytochemical aspects of the biological control of botrytis cinerea by *Candida saitoana* in apple fruit[J]. Phytopathology, 1998, 88(4): 282-291.
 - [18] TORRES R, TEIXIDO N, USALL J, et al. Anti-oxidant activity of oranges after infection with the pathogen *Penicillium digitatum* or treatment with the biocontrol agent *Pantoea agglomerans* cpa-2[J]. Biological Control, 2011, 57(2): 103-109.
 - [19] MERCIER J, SMILANICK J L. Control of green mold and sour rot of stored lemon by biofumigation with *Muscador albus*[J]. Biological Control, 2005, 32(3): 401-407.
 - [20] LI Qili, NING Ping, ZHENG Lu, et al. Fumigant activity of volatiles of *Streptomyces globisporus* jk-1 against *Penicillium italicum* on *Citrus microcarpa*[J]. Postharvest Biology and Technology, 2010, 58(2): 157-165.
 - [21] FIALHO M B, FERREIRA L F R, MONTEIRO R T R, et al. Antimicrobial volatile organic compounds affect morphogenesis-related enzymes in *Guignardia citricarpa*, causal agent of citrus black spot[J]. Biocontrol Science and Technology, 2011, 21(7): 797-807.
 - [22] OBAGWU J, KORSTEN L. Integrated control of citrus green and blue molds using *Bacillus subtilis* in combination with sodium bicarbonate or hot water[J]. Postharvest Biology and Technology, 2003, 28(1): 187-194.
 - [23] HAO Weining, LI Hui, HU Meiyang, et al. Integrated control of citrus green and blue mold and sour rot by *Bacillus amyloliquefaciens* in combination with tea saponin[J]. Postharvest Biology and Technology, 2011, 59(3): 316-323.
 - [24] 郝卫宁, 李辉, 胡美英, 等. 柑桔绿霉病拮抗菌的筛选、鉴定及其抑制效果[J]. 中国生物防治学报, 2011(2): 284-288.
 - [25] LUCON C M M, GUZZO S D, de JESUS C O, et al. Postharvest harpin or *Bacillus thuringiensis* treatments suppress citrus black spot in 'valencia' oranges[J]. Crop Protection, 2010, 29(7): 766-772.
 - [26] 汪茜, 胡春锦, 柯仿钢, 等. 生防菌株1404的鉴定及其对采后柑橘炭疽病的防治效果[J]. 微生物学报, 2010(9): 1208-1217.
 - [27] HUANG Y, DEVERALL B J, MORRIS S C. Postharvest control of green mold on oranges by a strain of *Pseudomonas glathei* and enhancement of its biocontrol by heat-treatment[J]. Postharvest Biology and Technology, 1995, 5(1/2): 129-137.
 - [28] WILSON C L, CHALUTZ E. Postharvest biological control of *Penicillium* rots of citrus with antagonistic yeasts and bacteria[J]. Scientia Horticulturae, 1989, 40(2): 105-112.
 - [29] SCHENA L, IPPOLITO A, ZAHAVI T, et al. Genetic diversity and biocontrol activity of *Aureobasidium pullulans* isolates against postharvest rots [J]. Postharvest Biology and Technology, 1999, 17(3): 189-199.
 - [30] LAHLALI R, SERRHINI M N, JIJAKLI M H. Efficacy assessment of *Candida oleophila* (strain O) and *Pichia anomala* (strain K) against major postharvest diseases of citrus fruits in Morocco[J]. Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences, 2004, 69(4): 601.
 - [31] HERNANDEZ -MONTIEL L G, OCHOA J L, TROYO-DIEGUEZ E, et al. Biocontrol of postharvest blue mold (*Penicillium italicum* Wehmer) on mexican lime by marine and citrus *Debaryomyces hansenii* isolates[J]. Postharvest Biology and Technology, 2010, 56(2): 181-187.
 - [32] 王博, 李亮, 龙超安, 等. 柠檬形克勒克酵母对温州蜜柑“国庆一号”采后贮藏的防腐效果[J]. 菌物学报, 2008(3): 385-394.
 - [33] LIU X, FANG W, LIU L, et al. Biological control of postharvest sour rot of citrus by two antagonistic yeasts[J]. Letters in Applied Microbiology, 2010, 51(1): 30-35.
 - [34] 黄雪梅, 汪跃华, 徐兰英, 等. 拮抗酵母菌对沙糖桔采后绿霉病的抑制作用[J]. 中国南方果树, 2011(1): 4-8; 12.
 - [35] MURTAZA A, SHAFIQUE S, ANJUM T. *in vitro* control of *Alternaria citri* using antifungal potentials of *Trichoderma* species[J]. African Journal of Biotechnology, 2012, 11(42): 9985-9992.
 - [36] 吴崇明. 绿色粘帚霉防治柑橘青绿霉病研究[J]. 江西植保, 2005(3): 100-101.
 - [37] 庞学群, 张昭其, 黄雪梅. 果蔬采后病害的生物防治(综述)[J]. 热带亚热带植物学报, 2002(2): 186-192.
 - [38] XU Lingfei, DU Yanmin. Effects of yeast antagonist in combination with UV-C treatment on postharvest diseases of pear fruit[J]. Bio Control, 2012, 57(3): 451-461.
 - [39] 张红印, 马龙传, 姜松, 等. 臭氧结合拮抗酵母对草莓采后灰霉病的控制[J]. 农业工程学报, 2009, 25(5): 258-263.
 - [40] 孙萍, 郑晓冬, 张红印, 等. 粘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(3): 169-172.
 - [41] GENG Peng, CHEN Shaohua, HU Meiyang, et al. Combination of *Khuyveromyces marxianus* and sodium bicarbonate for controlling green mold of citrus fruit[J]. International Journal of Food Microbiology, 2011, 151(2): 190-194.
 - [42] CAO Shifeng, YUAN Yongjun, HU Zhichao, et al. Combination of *Pichia membranifaciens* and *Ammonium molybdate* for controlling blue mould caused by *Penicillium expansum* in peach fruit[J]. International Journal of Food Microbiology, 2010, 141(3): 173-176.
 - [43] ZHANG Hongyin, MA Longchuan, WANG Lei, et al. Biocontrol of gray mold decay in peach fruit by integration of antagonistic yeast with salicylic acid and their effects on postharvest quality parameters[J]. Biological Control, 2008, 47(1): 60-65.
 - [44] YU Ting, ZHANG Hongyin, LI Xiaoling, et al. Biocontrol of *Botrytis cinerea* in apple fruit by *Cryptococcus laurentii* and indole-3-acetic acid[J]. Biological Control, 2008, 46(2): 171-177.
 - [45] CAO Shifeng, ZHENG Yonghua, WANG Kaituo, et al. Effect of yeast antagonist in combination with methyl jasmonate treatment on postharvest anthracnose rot of loquat fruit[J]. Biological Control, 2009, 50(1): 73-77.
 - [46] CAO Shifeng, YANG Zhenfeng, HU Zhichao, et al. The effects of the combination of *Pichia membranifaciens* and BTH on controlling of blue mould decay caused by *Penicillium expansum* in peach fruit[J]. Food Chemistry, 2011, 124(3): 991-996.
 - [47] JANISIEWICZ W J, LEVERENTZ B, CONWAY W S, et al. Control of bitter rot and blue mold of apples by integrating heat and antagonist treatments on 1-MCP treated fruit stored under controlled atmosphere conditions[J]. Postharvest Biology and Technology, 2003, 29(2): 129-143.
 - [48] ARREBOLA E, SIVAKUMAR D, BACIGALUPO R, et al. Combined application of antagonist *Bacillus amyloliquefaciens* and essential oils for the control of peach postharvest diseases[J]. Crop Protection, 2010, 29(4): 369-377.
 - [49] YU Ting, LI Hongye, ZHENG Xiaodong. Synergistic effect of chitosan and *Cryptococcus laurentii* on inhibition of *Penicillium expansum* infections[J]. International Journal of Food Microbiology, 2007, 114(3): 261-266.
 - [50] LIMA G, CASTORIA R, DE C F, et al. Integrated control of blue mould using new fungicides and biocontrol yeasts lowers levels of fungicide residues and patulin contamination in apples[J]. Postharvest Biology and Technology, 2011, 60(2): 164-172.
 - [51] LIMA G, de CURTIS F, PIEDIMONTE D, et al. Integration of biocontrol yeast and thiabendazole protects stored apples from fungicide sensitive and resistant isolates of *Botrytis cinerea*[J]. Postharvest Biology and Technology, 2006, 40(3): 301-307.