

DOI:10.3969/j.issn.1003-5060.2025.12.010

贝莱斯芽孢杆菌 A4 发酵液抗菌物质的分离及抑菌作用研究

祝红艳, 苗敏, 宋武, 吴子睿, 徐雨

(合肥工业大学 食品与生物工程学院, 安徽 合肥 230601)

摘要:文章分别利用硫酸铵分级沉淀、酸沉法、醇提法从贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*) A4 的无细胞上清液中分离粗蛋白、粗脂肽、粗糖,通过平板对峙和猕猴桃接菌实验探究粗提物质的抑菌活性,并利用液相色谱质谱联用仪(liquid chromatograph-mass spectrometer, LC-MS)和十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分析组分中的抗菌活性物质。结果表明粗蛋白和粗脂肽对 4 种猕猴桃软腐病原菌具有显著抑制作用;体外平板抑制实验显示,粗蛋白对黑附球菌(*Epicoccum nigrum*)的抑制能力最强,粗脂肽对链格孢菌(*Alternaria alternata*)的抑制效果最显著,且粗蛋白和粗脂肽有效地抑制了病原菌引起的猕猴桃病斑扩展;LC-MS 分析显示,粗脂肽的活性成分包括表面活性素、伊枯草菌素、井冈霉素;SDS-PAGE 结果表明,粗蛋白中发挥抗菌活性的物质是分子量为 20、40 kDa 的 2 个蛋白分子。研究结果为生防菌贝莱斯芽孢杆菌在防治植物病原真菌等方面提供了一定的理论依据和技术支持。

关键词:贝莱斯芽孢杆菌;无细胞上清液;抗菌物质;分离

中图分类号:Q93

文献标志码:A

文章编号:1003-5060(2025)12-1646-07

Isolation of antimicrobial substances from cell-free supernatant of *Bacillus velezensis* A4 and study of its antibacterial effect

ZHU Hongyan, MIAO Min, SONG Wu, WU Zirui, XU Yu

(School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230601, China)

Abstract: The present study aimed to isolate crude protein, crude lipopeptides, and crude polysaccharides from the cell-free supernatant of *Bacillus velezensis* A4 through ammonium sulfate precipitation, acid precipitation, and alcoholic extraction. The antimicrobial activities of the crude extracts were investigated through plate confrontation and kiwifruit inoculation experiments. The antibacterial active substances in components were analyzed by liquid chromatograph-mass spectrometer (LC-MS) and SDS-PAGE. The results indicated that crude protein and lipopeptides possessed substantial inhibitory effects on four distinct types of kiwifruit soft rot pathogens. *In vitro* inhibition assays showed that crude protein had the most potent inhibitory ability against *Epicoccum nigrum*, while crude lipopeptides demonstrated the most significant inhibitory effect on *Alternaria alternata*. Furthermore, crude protein and lipopeptides effectively suppressed the expansion of kiwifruit lesions caused by pathogens. The LC-MS analysis revealed that the active constituents present in crude lipopeptides consisted of surfactants, iturin, and fengycin, and the results obtained from SDS-PAGE demonstrated that the substances that exhibited antibacterial activities in the crude protein were two specific protein molecules that weighed 20 kDa and 40 kDa. This study provides theoretical basis and technical support for

收稿日期:2023-12-27;修回日期:2024-01-23

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31970345)

作者简介:祝红艳(1996—),女,山东菏泽人,合肥工业大学硕士生;

苗敏(1982—),女,山西曲沃人,博士,合肥工业大学副教授,硕士生导师,通信作者,E-mail:minmiao@hfut.edu.cn.

the use of *Bacillus velezensis* in preventing and controlling plant pathogenic fungi.

Key words: *Bacillus velezensis*; cell-free supernatant; antimicrobial substances; isolation

水果含水量相对丰富、代谢活性高,容易受到多种病原真菌体感染而腐烂变质,造成重大损失^[1-3]。果实采后病害防治主要包括化学防治、物理防治和生物防治,随着病原菌抗药性的逐渐增加、化学有机磷残留物对环境和人体的危害风险增高^[4],目前的防治策略更倾向采取生物防治以加强食品安全和减少环境污染。目前,使用最广泛的生防微生物是一种有效的生物防治剂,其中芽孢杆菌属(*Bacillus*)成员因其次生代谢物质具有抑菌性而成一种优良的生物防治剂,且已被广泛研究和开发应用^[5]。

芽孢杆菌能够产生多样化的次生代谢物和各种结构不同的抗菌物质^[6],主要包括蛋白类和脂肽类物质。海洋中分离的贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*)MCCC 1A15695 的有效抑菌物质为蛋白类,对包括多种弧菌病原在内的 17 种病原微生物有抑制作用^[7];短短芽孢杆菌(*Brevibacillus brevis*)JH3 中分离出分子量为 32 kDa 的鞭毛蛋白能够延缓常见的食源性致病菌和植物病害真菌的生长^[8]。从土壤中分离出的枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)中的粗蛋白能够抑制苹果炭疽病菌分生孢子萌发和芽管伸长,同时也对小麦赤霉病菌(*Fusarium graminearum*)、水稻纹枯病菌(*Rhizoctonia solani*)、棉花枯萎病菌(*Fusarium oxysporum f. sp. Vasinfectum*)的菌丝生长均有抑制作用^[9]。芽孢杆菌中提取出的抗菌脂肽因其成分对多种植物病原体的拮抗活性而被发现,主要包含表面活性素(Surfactin)、伊枯草菌素(Iturin)和芬芥素(Fengycin)3 个家族。伊枯草菌素和芬芥素对真菌病原菌有较好的抗菌活性,而表面活性素具有更广泛的作用宿主,也被用作杀虫剂^[10]。贝莱斯芽孢杆菌 GH1-13 分泌的表面活性素显著抑制多种植物病原真菌的生长^[11]。枯草芽孢杆菌 BBs-27 抗菌肽主要分为伊枯草菌素和芬芥素两大类,可导致黄色镰刀菌(*Fusarium culmorum*)菌丝卷曲、畸形、异常膨大而造成菌丝死亡^[12]。

病原真菌是导致果实采后腐烂损伤的最重要因素之一。发病后的猕猴桃、番茄、柑橘等水果失去食用价值且影响贮藏,从而造成巨大的经济损失。因此急需探究绿色安全、生态友好的生物防治措施,为果实采后病害防治提供技术手段和理

论支撑。本课题组前期从猕猴桃果实中分离鉴定到一株贝莱斯芽孢杆菌,命名为 A4。初步研究发现 A4 菌株的发酵液可以明显降低樱桃番茄的腐烂率和失重率,具有显著的保鲜效果,并诱导氧化应激抑制菌丝生长,从而可降低病原菌的毒性^[13]。

为进一步探究 A4 发酵液中的抑菌成分和抑菌作用,本研究通过不同方法分离提取发酵液中的粗蛋白、粗脂肽、粗糖三大类物质。通过平板对峙实验和果实体内抑菌实验探究粗提物对猕猴桃软腐病原菌的抑菌作用,并进一步利用液相色谱质谱联用仪(Liquid chromatograph-mass spectrometer, LC-MS)分析粗脂肽中抑菌物质的活性成分,利用十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)测定粗蛋白中发挥抗菌活性的物质。本研究为贝莱斯芽孢杆菌在生物防治植物病原真菌病害方面的应用提供了技术支持,为开发新型安全杀菌剂提供了理论依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料、试剂和仪器

1.1.1 供试菌株和猕猴桃

生防菌贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*)A4,病原菌黑附球菌(*Epicoccum nigrum*)、链格孢菌(*Alternaria alternata*)、拟茎点霉菌(*Diaaporthe nobilis*)、拟盘多毛菌(*Neopestalotiopsis protearum*)均从患病猕猴桃中分离鉴定,并保存于本实验。徐香猕猴桃来自市售,果实新鲜无伤,大小均匀一致。

1.1.2 主要试剂和仪器

硫酸铵、甲醇(GR)、乙腈(GR)均购于上海罗恩试剂公司;三(羟甲基)氨基甲烷(Tris)、乙二胺四乙酸(EDTA)、冰醋酸、 β -巯基乙醇均购于上海麦克林生化科技有限公司。

所用培养基有:LB 培养基(10 g/L 胰蛋白胨、5 g/L 酵母提取物、10 g/L NaCl、dd H₂O 定容至 1 L);PDA 培养基(去皮土豆 200 g/L、琼脂粉 20 g/L、葡萄糖 20 g/L)。

所用仪器主要有:安捷伦 1260 液相色谱-G6200 飞行时间质谱联用仪(安捷伦科技(中国)有限公司);Mini-PROTEAN[®] Tetra 电泳槽(伯乐生命医学产品(上海)有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 A4 发酵液的制备

按照文献[14]方法配制含 2% 葡萄糖的除臭发酵液体培养基。活化 A4 菌种并挑取单克隆菌落到培养基中培养至 OD₆₀₀ 为 0.6; 以 1% 的接种量接种到含有 100 mL 培养基的 250 mL 锥形瓶中; 28 °C、180 r/min 下振荡培养 48 h 后, 再以 8 000 r/min 离心 20 min 获得上清液, 上清液经 0.22 μm 滤膜真空抽滤后即得无细胞发酵液(简称发酵液)。

1.2.2 菌株 A4 发酵液抗菌物质的制备

硫酸铵分级沉淀法^[15]制备粗蛋白提取物。将 A4 菌株发酵液分级加入硫酸铵至饱和体积分数为 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%, 4 °C 下静置保存过夜, 8 000 r/min 离心 20 min 后收集各分级体积分数的沉淀物。用 0.025 mol/L Tris-HCl 缓冲液(pH=8.6)溶解分级沉淀物, 4 °C 过夜透析去除硫酸铵, 获得粗蛋白溶液。-40 °C 真空冷冻干燥 48 h 得到粗蛋白干粉, 即为蛋白粗提物。

酸沉法制备粗脂肽提取物^[16]。发酵液中添加 6 mol/L HCl 至发酵液 pH 值为 2, 4 °C 下静置过夜, 8 000 r/min 离心 20 min 后收集沉淀物; 沉淀经甲醇反复抽提 3 次并充分溶解, 得到褐色粗脂肽甲醇溶液; 45 °C 减压旋转蒸发粗脂肽甲醇溶液, 获得棕黄色固体物质, 研磨成粉末即得到脂肽类粗提物。

醇提法制备粗糖提取物^[17]。700 mL 无水乙醇加到 300 mL 发酵液中, 4 °C 静置过夜并离心(8 000 r/min) 20 min 收集沉淀物; 丙醇漂洗沉淀 2 次去除杂质, 获得淡黄色粗糖沉淀物, 溶解于 dd H₂O 中备用。

1.2.3 粗蛋白的 SDS-PAGE 电泳

将 30 μL 蛋白样品进行浓缩胶 5%、分离胶 10% 的 SDS-PAGE 电泳后, 用考马斯亮蓝 R-250 染液染色 1 h, 脱色液脱至蛋白条带清晰, 凝胶成像系统拍照保存结果。

1.2.4 粗脂肽的分析鉴定

粗脂肽 10 mg 溶于 5 mL 50% 甲醇溶剂, 采用 ZORBAX Extend-C18 2.1×50 mm 色谱柱对粗脂肽进行分析^[18]。流动相由洗脱液 A(ddH₂O)和洗脱液 B(色谱级乙腈)组成。柱梯度洗脱程序为: 0~5 min, 5%~40% 洗脱液 B; 5~20 min, 40%~65% 洗脱液 B; 20~30 min, 65%~95% 洗脱液 B; 流动相流速为 0.5 mL/min。质

谱测量条件为: 正离子扫描, 电压 1.9 kV, 温度 300 °C, 能量高 29% 的高能碰撞解离(high energy collision dissociation, HCD), *m/z* 扫描范围为 990~1 500。

1.2.5 粗提物的体外抑菌实验

通过琼脂孔扩散法测定 3 种粗提物对 4 种受试病原菌的抑菌能力^[19]。取直径 5 mm、菌龄 5 d 的病原菌菌饼, 置于 PDA 平板中央。距病原菌中心 2 cm 处的琼脂孔中分别加入 50 μL 粗提物及对照。接种平板 25 °C 培养 3 d 后, 观察抑菌情况并测量记录抑菌圈大小(菌丝边缘至琼脂孔边缘的距离)。实验重复 3 次, 每种处理包含 6 个平板。

1.2.6 猕猴桃抑菌实验

1% 次氯酸钠浸泡猕猴桃 10 min 后清水冲洗晾干备用, 打孔器于果实赤道处打 2 个直径 2 mm、深度 3 mm 的接种孔, 接种 5 μL 病原菌孢子悬浮液(10⁶ CFU/mL)。处理组在接种孔加入 5 μL 无菌发酵液粗提物, 对照组加入 5 μL dd H₂O。接种后果实于无菌塑料筐内 25 °C 保存, 采用十字交叉法测量并统计猕猴桃的病斑直径, 拍照记录患病表型。该实验重复 3 次, 每组处理 10 个猕猴桃。

1.2.7 数据处理

试验数据以平均值±标准差表示, SPSS statistics 17.0 软件进行数据的统计分析, 差异显著性采用邓肯氏多重比较法, *P*<0.05 具有统计学意义, 显著性差异用字母表示, 不同字母表示不同处理间的显著性差异。采用 Origin 8.5 软件绘制数据图。

2 结果与分析

2.1 粗蛋白的体外抑菌实验

通过琼脂孔扩散法对贝莱斯芽孢杆菌 A4 发酵液中分级盐析粗蛋白的抑菌活性进行测定, 以黑附球菌、链格孢菌、拟茎点霉菌、拟盘多毛菌 4 种猕猴桃软腐病原菌为指示菌, H₂O、LB 培养基、Tris-HCl 为负对照, A4 无细胞发酵上清液为正对照。培养 6 d 后的菌丝生长状态如图 1a 所示。图 1a 中: CFS 代表 A4 菌株培养 48 h 离心获得的上清液; 10%~80% 代表不同体积分数硫酸铵分级沉淀蛋白。

由图 1a 可知: 3 种负对照样品不影响菌丝的生长和扩张, 琼脂孔被菌丝覆盖; 而正对照 CFS 对病原菌表现出不同程度的抑制现象, 生成了直

径大小不同的抑菌圈;不同体积分数饱和硫酸铵提取出的粗蛋白的抗菌能力存在差异,10%、20%、30% 的盐析蛋白形成明显抑菌圈,对各种病原菌的抑菌能力显著,而 50%~80% 盐析蛋白的琼脂孔周围并无抑菌圈的形成,菌丝生长状态良好,扩展速度正常,40% 的盐析蛋白对链格孢菌有较弱的抑制作用,而对其他 3 种病原菌无抑制效果。

测量的抑菌圈直径如图 1b 所示。由图 1b 可知,30%盐析蛋白形成的抑菌圈直径最大,对黑附球菌、链格孢菌、拟茎点霉菌、拟盘多毛菌所形成的抑菌圈直径分别为 5.85、3.10、6.01、3.49 mm,表明 30% 硫酸铵饱和度的盐析蛋白对 4 种病原菌抑菌效果显著,但在各菌种之间存在差异性。

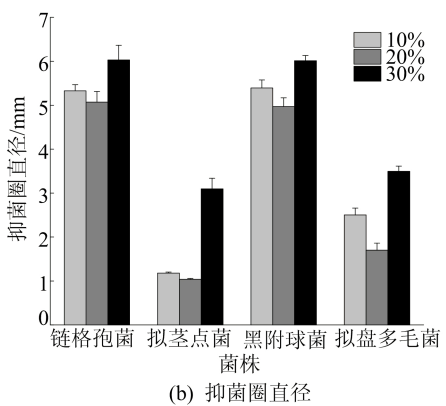
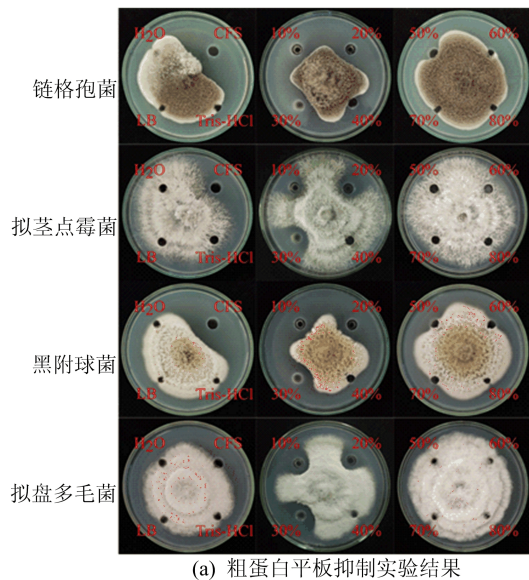


图 1 粗蛋白体外抑菌效果

2.2 抗菌蛋白的凝胶电泳分析

不同饱和度硫酸铵溶液提取出的蛋白经过 SDS-PAGE 分离,蛋白条带经染色脱色后的结果如图 2 所示。图 2 中:M 表示蛋白 Marker;10%~80% 表示不同体积分数硫酸铵分级沉淀蛋白。

10%、20%、30%饱和硫酸铵溶液沉淀组分的电泳结果显示,其在分子量为 20 kDa 和 40 kDa 处具有 2 个区别于其他组分的特征性蛋白条带,结合平板抑制实验结果,推测这 2 个蛋白分子是发挥抗菌能力的活性物质。

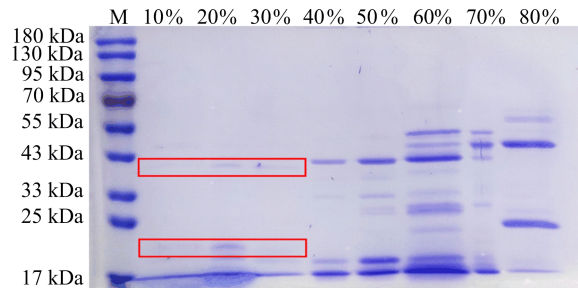
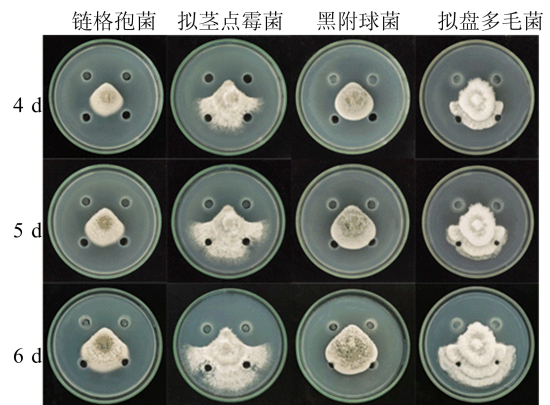


图 2 SDS-PAGE 条带图

2.3 粗脂肽的体外抑菌实验结果

粗脂肽和病原真菌的平板对峙实验结果图 3 所示。



(a) 粗脂肽平板抑制实验结果

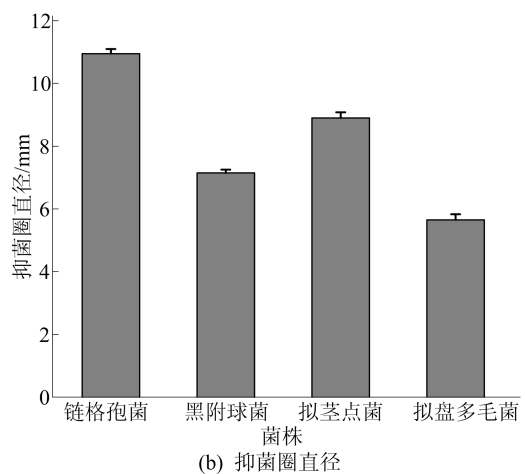


图 3 粗脂肽体外抑菌效果

从图 3a 可以看出,在接菌培养第 6 天时,病原菌下方 2 个对照的琼脂孔周围已布满菌丝,而上方含有 30 μL 粗脂肽成分的琼脂孔显示出抑菌

圈现象,表明 A4 发酵液中的粗脂肽具有抑制多种病原菌的能力。

从图 3b 可以看出:粗脂肽对致病菌链格孢菌的抑制能力最强,抑菌圈直径达到 10.96 mm;粗脂肽对拟茎点霉菌、黑附球菌、拟盘多毛菌病原真菌表现出了较好的拮抗效果,抑菌圈直径分别为 8.90、7.16、5.65 mm。

以上结果表明,从 A4 发酵液中经酸沉法提取出的粗脂肽中含有抗菌代谢物,可进一步分离鉴定具体的抑菌物质。

2.4 粗脂肽抗菌物质的鉴定结果

采用 LC-MS 进一步分析粗脂肽中的活性成分,A4 菌株中的脂肽物质保留时间范围为 7.0~20.0 min,共对 6 个峰进行质谱分析,结果如图 4 所示,LC-MS 检测结果见表 1 所列。

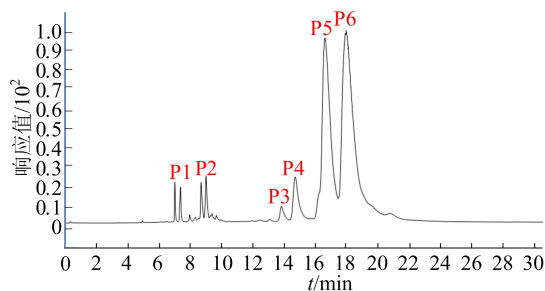


图 4 粗脂肽质谱图

表 1 LC-MS 检测分析结果

类型	保留时间/min	m/z	推测化合物
Iturin 家族	7.0~7.5	1 055.027 9 ^a	C ₁₃ Bacillomycin D
		1 069.541 5 ^c	C ₁₄ Bacillomycin D
		1 057.561 2 ^a	C ₁₅ Mycosubtilin
		1 097.459 3 ^c	C ₁₆ Bacillomycin D
		1 063.018 3 ^c	C ₁₇ Bacillomycin L
Fengycin 家族	8.5~9.5	1 463.793 2 ^a	C ₁₆ fengycin A
		1 477.806 1 ^a	C ₁₇ fengycin A
		1 491.824 9 ^a	C ₁₈ fengycin A
		1 433.777 0 ^a	C ₁₄ fengycin B
		1 485.770 8 ^b	C ₁₆ fengycin A
Surfactin 家族	13.5~20.0	1 008.650 9 ^a	C ₁₃ Surfactin
		1 030.631 1 ^b	C ₁₃ Surfactin
		1 022.668 2 ^a	C ₁₄ Surfactin
		1 044.648 1 ^b	C ₁₄ Surfactin
		1 060.619 1 ^c	C ₁₄ Surfactin
		1 036.682 7 ^a	C ₁₅ Surfactin
		1 058.664 3 ^b	C ₁₅ Surfactin
		1 074.636 7 ^c	C ₁₅ Surfactin

表 1 中:a 表示 $[M+H]^+$; b 表示 $[M+Na]^+$; c 表示 $[M+K]^+$ 。

通过比对脂肽类物质 m/z 得出:P1 在保留时

间 7.0~7.5 min 的 2 个主峰中,检测到不同离子源的 C₁₃ Bacillomycin D、C₁₄ Bacillomycin D、C₁₆ Bacillomycin D、C₁₅ Mycosubtilin 和 C₁₇ Bacillomycin L,这些物质属于伊枯草菌素(Iturin)家族的同源物;P2 在保留时间为 8.5~9.5 min 的 2 个主峰中,检测到 C₁₆ fengycin A、C₁₇ fengycin A、C₁₈ fengycin A 同源物、C₁₄ fengycin B 及 C₁₆ fengycin A;保留时间在 13.5~20.0 min 区间内的是 C₁₃ Surfactin、C₁₄ Surfactin、C₁₅ Surfactin 的同源物。

以上结果表明,从 A4 菌株中分离出 3 种类型的抗菌脂肽类物质,分别是表面活性素、伊枯草菌素、芬芥素,峰图保留时间分别为 7.0~7.5 min、8.5~9.5 min、13.5~20.0 min。

2.5 粗糖的体外抑菌实验结果

在研究粗糖对病原菌的抑制作用中发现,接菌培养 6 d 后,链格孢菌、黑附球菌、拟盘多毛菌、拟茎点霉菌的菌丝完全覆盖住了对照琼脂孔(下方)和处理琼脂孔(上方),如图 5 所示,可以看出,真菌在粗糖提取物存在情况下的生长状态没有受到限制,没有抑菌圈的形成。说明发酵液中的粗糖类物质对病原菌并无抑菌作用,粗糖液里不含有抗菌代谢物。

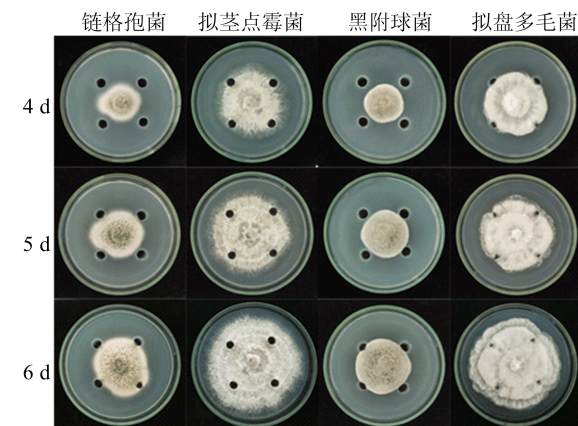


图 5 粗糖体外抑菌直径

2.6 猕猴桃抑菌实验结果分析

平板体外抑菌实验表明,30%盐析蛋白和粗脂肽对猕猴桃软腐病原菌生长有明显的抑制作用,通过在猕猴桃果实中接入病原菌和粗蛋白/粗脂肽,进一步评价 A4 发酵液中这 2 种成分在果实中的抑菌能力和效果。健康无伤果实随机分为 3 组,接种病原菌拟茎点霉菌孢子液后,分别接种无菌水、粗蛋白或粗脂肽,常温存储后观察果实第 3 天、第 5 天、第 7 天的发病情况和病斑直径,如图 6 所示。

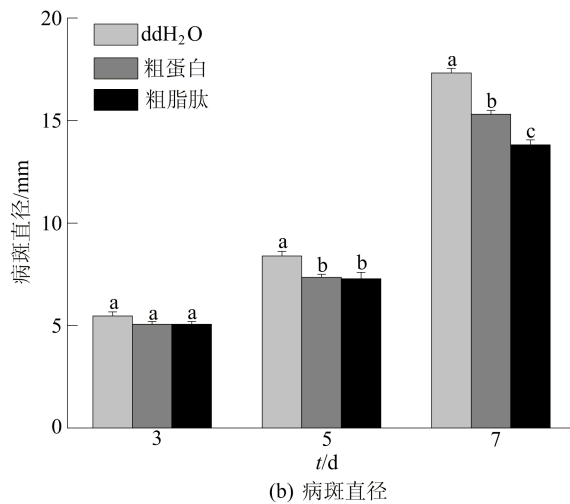
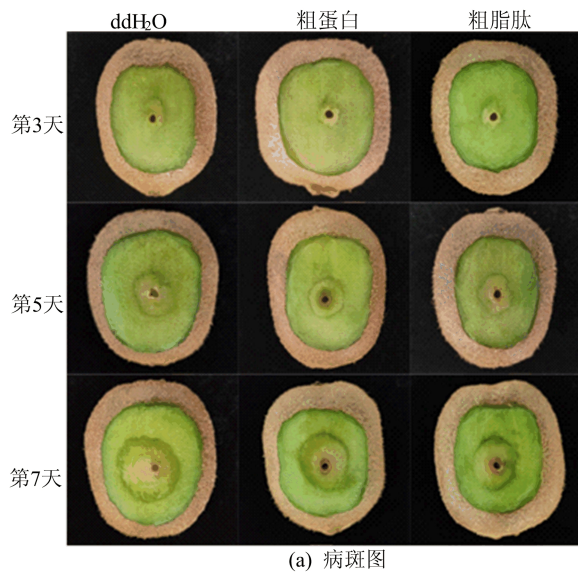


图 6 猕猴桃体内抑菌直径

由图 6a 可知,果实的病斑直径随着侵染时间的增加而扩大,接种后第 3 天的发病起始阶段,对照组与处理组果实的病斑大小无差异,但在发病进程阶段,接种 30% 盐析蛋白和脂肽类提取物的病斑直径增长速度显著低于对照组。

由图 6b 可知:在侵染后第 7 天,对照组 (ddH₂O) 猕猴桃的病斑直径达到 17.32 mm;接种 30% 盐析蛋白的处理组病斑直径为 15.31 mm,与对照组相比降低了 11.61%;同样接种粗脂肽液的猕猴桃病斑直径为 13.81 mm,降低了 20.27%。表明 A4 在发酵液中的蛋白和脂肽对猕猴桃的主要致病菌拟茎点霉菌在果实体内同样具有抑制作用,降低病原菌的致病性。

3 讨 论

贝莱斯芽孢杆菌是一类产芽孢的革兰氏阳性细菌,广泛分布于植物根际和体内,其代谢活性物

质丰富,主要包括可溶性脂肽、蛋白、多糖等物质,在植物病害防控、植物生长调控等方面备受关注^[20]。枯草芽孢杆菌发酵液处理葡萄坐腔菌 (*Botryosphaeria dothidea*),扫描电子显微镜观察到菌丝细胞肿胀和断裂,导致细胞内容物渗漏和细胞膜成分含量下降,诱导菌丝细胞氧化损伤,造成菌丝死亡^[21]。

本研究针对贝莱斯芽孢杆菌 A4 发酵液中产生的抗菌物质进行初步分离和抑菌能力评价,其中发挥主要抗菌作用的是发酵液中的蛋白类和脂肽类物质,这与其他芽孢杆菌类含有的抑菌物质相似。其中粗蛋白对黑附球菌 (*Epicoccum nigrum*) 的抑菌活性最强,粗脂肽对链格孢菌 (*Alternaria alternata*) 的抗菌能力最强,表明抑菌活性物质对不同病原菌的抑菌效果存在差异性。

通过 LC-MS 分析鉴定粗脂肽物质中含有表面活性素、芬芥素、伊枯草菌素 3 种成分,与芽孢杆菌脂肽成分一致^[22]。其中 A4 分泌的表面活性素是抗菌脂肽的主要物质,其含量在 3 种脂肽物质中占比最高。而从贝莱斯芽孢杆菌 Y6 和 F7 分离出的抗菌脂肽中,芬芥素含量较高^[23],说明不同芽孢杆菌产生的抗菌脂肽成分占比具有差异性。抑菌平板对峙实验未表现出多糖提取物的抑菌能力,表明发酵液中可溶性多糖成分在抑制病原菌作用方面能力较弱。文献^[24]研究发现,多黏类芽孢杆菌通过生产各种抗菌酶类、竞争铁载体蛋白以及引发植物的过敏防御反应等机制抵抗病原菌的侵染。本研究后期还需探究抗菌物质的抑菌机理。

综上所述,贝莱斯芽孢杆菌 A4 是一种拥有广阔发展前景的生防菌,其发酵液中产生的次生代谢物在体内和体外对多种植物病原菌具有抑制作用,为采后果实生防的应用和开发提供更丰富的信息。

[参 考 文 献]

- [1] LI W, LONG Y, YIN X, et al. Antifungal activity and mechanism of tetracycline against *Alternaria alternata*, the soft rot causing fungi in kiwifruit[J]. Pestic Biochem Physiol, 2023, 192:105409.
- [2] 周游. 卡利比克毕赤酵母对樱桃番茄采后病害的控制及其机制研究[D]. 镇江:江苏大学, 2022.
- [3] 王凤凯,唐宇,张晓光,等. 苹果采后病害及综合治理研究现状[J]. 吉林林业科技, 2023, 52(5):41-44.

(下转第 1704 页)

- [11] NILO C C, MICHELE D T, PEDRO D M, et al. Plate load test on fiber-reinforced soil[J]. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, 2003, 129(10): 951-955.
- [12] BOTERO E, OSSA A, SHERWELL G, et al. Stress-strain behavior of a silty soil reinforced with polyethylene terephthalate[J]. *Geotextiles and Geomembranes*, 2015, 43(4): 363-369.
- [13] 陈晓雪, 独莎莎, 张丹, 等. 纤维加筋膨胀土的三轴蠕变特性试验研究[J]. *工程地质学报*, 2017, 25(1): 80-87.
- [14] 宋金岩, 孙红, 葛修润, 等. 玻璃纤维加筋土强度特征试验研究[J]. *中外公路*, 2012, 32(5): 268-271.
- [15] 孙红, 姜开锋, 吴雪萍, 等. 软弱土路堤的玻璃纤维加筋土加固技术[J]. *地下空间与工程学报*, 2014, 10(增刊 2): 1893-1898.
- [16] 唐朝生, 施斌, 顾凯. 纤维加筋土中筋/土界面相互作用的微观研究[J]. *工程地质学报*, 2011, 19(4): 610-614.
- [17] 杨若辰, 张吾渝, 童国庆, 等. 玄武岩纤维加筋黄土力学性质及微观机理研究[J]. *青海大学学报*, 2022, 40(6): 61-67.
- [18] 尤波, 徐洪钟, 董金梅. 玄武岩纤维加筋膨胀土三轴试验研究[J]. *防灾减灾工程学报*, 2015, 35(4): 503-507, 514.
- [19] 唐朝生, 施斌, 蔡奕, 等. 聚丙烯纤维加固软土的试验研究[J]. *岩土力学*, 2007, 28(9): 1796-1800.

(责任编辑 吴亮)

(上接第 1651 页)

- [4] TALIBI I, BOUBAKER H, BOUDYACH E H, et al. Alternative methods for the control of postharvest citrus diseases[J]. *Appl Microbiol*, 2014, 117(1): 1-17.
- [5] 白亚男, 周蓉, 虞悦, 等. 芽孢杆菌拮抗镰孢菌机制的研究进展[J]. *农业环境科学学报*, 2022, 41(12): 2787-2796.
- [6] FIRA D, DIMKIĆ I, BERIĆ T, et al. Biological control of plant pathogens by *Bacillus* species[J]. *J Biotechnol*, 2018, 285: 44-55.
- [7] 付欢, 李亚婷, 肖贵谦, 等. 贝莱斯芽孢杆菌 (*Bacillus velezensis*) MCCC 1A15695 抑菌蛋白分离纯化及应用研究[J]. *应用海洋学学报*, 2024, 43(2): 217-224.
- [8] 王洁, 田露, 闵建红, 等. 短短芽孢杆菌 JH3 抗菌蛋白的分离纯化及其抗菌性能[J]. *陕西科技大学学报*, 2021, 39(4): 51-55.
- [9] 黄娜. 枯草芽孢杆菌粗蛋白的提取纯化及抑菌作用[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2015.
- [10] MEENA K R, KANWAR S S. Lipopeptides as the antifungal and antibacterial agents: applications in food safety and therapeutics[J]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015: 473050.
- [11] PARK G, NAM J, KIM J, et al. Structure and mechanism of surfactin peptide from *Bacillus velezensis* antagonistic to fungi plant pathogens[J]. *Bull Korean Chem Soc*, 2019, 40(7): 704-709.
- [12] 苗永美, 苗翠苹, 于庆才. 枯草芽孢杆菌 BBs-27 发酵液性质及脂肽对黄色镰刀菌的抑菌作用[J]. *生物技术通报*, 2023, 39(9): 255-267.
- [13] 赵焕兰, 曹嘉灿, 刘奎, 等. 贝莱斯芽孢杆菌发酵液对樱桃番茄贮藏品质的影响[J]. *食品研究与开发*, 2022, 43(20): 12-18.
- [14] 方芳, 张梦寒, 张继冉, 等. 一种控制芽孢杆菌产生臭味的培养方法: CN105441369B[P]. 2018-07-06.
- [15] 秦楠. 解淀粉芽孢杆菌 HRH317 抗菌蛋白鉴定及抑菌机理研究[D]. 晋中: 山西农业大学, 2015.
- [16] 曾国洪, 丛丽娜, 毕楠. 枯草芽孢杆菌诱变株产抗菌脂肽的特性[J]. *大连工业大学学报*, 2019, 38(4): 235-238.
- [17] 徐慧婷, 王颖, 张玉国, 等. 发酵液多糖提取方法的研究进展[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(1): 351-356.
- [18] ISA M H M, SHAMSUDIN N H, AL-SHORGANI N K N, et al. Evaluation of antibacterial potential of biosurfactant produced by surfactin-producing *Bacillus* isolated from selected Malaysian fermented foods[J]. *Food Biotechnol*, 2020, 34(1): 1-24.
- [19] KOST B L, KUNICKA-STYCZYNSKA A, PLUCINSKA A, et al. Microfluidic preparation of antimicrobial micro-particles composed of L-lactide/1,3-dioxolane (co)polymers loaded with quercetin[J]. *Food Chem*, 2022, 396: 133639.
- [20] 蔡高磊, 张凡, 欧阳友香, 等. 贝莱斯芽孢杆菌 (*Bacillus velezensis*) 研究进展[J]. *北方园艺*, 2018(12): 162-167.
- [21] FAN Y, LIU K, LU R, et al. Cell-free supernatant of *Bacillus subtilis* reduces Kiwifruit rot caused by *Botryosphaeria dothidea* through inducing oxidative stress in the pathogen[J]. *J Fungi (Basel)*, 2023, 9(1): 127.
- [22] 庄国宏, 宋涛, 陆金荣, 等. 产抗大肠杆菌脂肽化合物枯草芽孢杆菌筛选及脂肽化合物的分离纯化[J]. *中国家禽*, 2019, 41(13): 20-25.
- [23] CAO Y, PI H, CHANDRANGSU P, et al. Antagonism of two plant-growth promoting *Bacillus velezensis* isolates against *Ralstonia solanacearum* and *Fusarium oxysporum* [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 4360.
- [24] 贺丹, 李鹏, 赵坤, 等. 多黏类芽孢杆菌的生防机制研究进展[J]. *江苏农业科学*, 2023, 51(8): 1-8.

(责任编辑 闫杏丽)