



微生物源挥发性物质防治采后果蔬病害的研究进展

钟涛^{1,2}, 王智荣^{1,2}, 杜木英^{1,2,3*}

¹西南大学食品科学学院, 重庆 400715

²中甸食品科学联合研究中心, 重庆 400715

³农业部农产品贮藏保鲜质量安全风险评估实验室(重庆), 重庆 400715

摘要: 随着化学杀菌剂弊端的日益凸显, 生物防治已逐渐成为采后果蔬病害控制的研究和开发热点。其中, 很多微生物产生的多种挥发性物质(volatile organic compounds, VOCs), 能显著抑制多种病原菌的生长繁殖, 有效控制采后果蔬病害。由于微生物源 VOCs 具有有效、安全、环保、易降解和无残留等优点, 越来越受到各国研究者的重视和青睐。本文综述了产生 VOCs 的微生物的多样性、微生物源 VOCs 的多样性、微生物源 VOCs 的抑菌活性、生防效果及其主要作用机制等方面的研究进展, 以期为病原菌的绿色安全防治提供基础资料。

关键词: 生物防治, 微生物源挥发性物质, 抑菌活性, 生防效果, 采后果蔬病害

采后果蔬损失的主要原因是病原微生物感染导致的病害和腐烂, 这也是长久以来阻碍果蔬产业进一步发展的难题^[1]。以往果蔬采后病害的控制主要依赖化学合成杀菌剂, 如抑霉唑、仲丁胺、环酰菌胺和噻苯咪唑等, 但长期泛滥使用化学杀菌剂, 不仅导致环境污染、化学残留、病原菌耐药性增强等问题, 甚至影响食品安全, 危害人体健康。因此, 研究高效、经济、安全和环保

的防治措施已经刻不容缓^[1-5]。生物防治由于具有无毒环保、安全有效等特点, 现已成为采后果蔬病害控制的研究和开发热点^[1,5-6]。但拮抗菌对于果蔬采后病害的治疗效果并不显著, 即如果在拮抗菌发挥作用前, 果蔬已被病原菌感染, 那拮抗菌的生防效果便会大为降低甚至不起作用^[7]。现在许多研究表明, 一些拮抗微生物生长繁殖过程中产生的挥发性物质(volatile organic compounds,

基金项目: 国家重点研发计划-中国同匈牙利政府间国际科技创新合作重点专项(中国编号: 2016YFE0130600, 匈牙利编号: TET_16_CN-1-2016-0004); 基于 OWLS 三峡库区特色农产品质量安全检测技术研究(G20190022022); 北碚区特色农产品质量安全检测技术团队建设[(2019)8号]

*通信作者。Tel: +86-23-68251298; Fax: +86-23-68251947; E-mail: muyingdu@swu.edu.cn

收稿日期: 2020-06-30; 修回日期: 2020-08-14; 网络出版日期: 2020-08-24

VOCs)具有极强的抑菌效果,能够协同作用,抑制甚至杀死果蔬采后病原菌,有些还能促进植物生长和作物增产^[7-8]。通过微生物产生的 VOCs 对采后果蔬进行生物熏蒸防治病害,不仅适用于多种产品的不同销售阶段,也适用于如草莓和葡萄等太易损坏而无法进行液态杀菌剂处理的果蔬。另外,微生物源 VOCs 熏蒸不会与果蔬直接接触,在常温下易挥发,易降解,不易在果蔬表面残留,消除了消费者对其安全性的担忧,因此 VOCs 在防治果蔬采后病害方面具有广泛的研究价值和应用前景^[7]。由此,本文对微生物源 VOCs 的多样性、抑菌活性和生防效果及其主要作用机制等方面进行了综述,以期对微生物源 VOCs 在采后果蔬保鲜领域的进一步开发与应用提供借鉴。

1 微生物源挥发性抑菌物质

VOCs 是主要以碳为基本元素的液体,能够在常温常压条件下快速挥发,进入气相状态^[9],绝大多数 VOCs 具有亲脂性,水溶性较低。微生物源 VOCs 的形成是由微生物本身利用大分子物质如蛋白质、脂肪和碳水化合物等生成葡萄糖、氨基酸和脂肪酸等小分子代谢产物,然后再进行初级代谢和次级代谢将这些物质转化,最终形成多种 VOCs。能产生 VOCs 的微生物多种多样,微生物产生的 VOCs 也同样种类众多。据不完全统计,已发现有 349 种细菌和 69 种真菌能产生 VOCs^[10],其中,细菌产生的 VOCs 超过 346 种,主要是烯烃、醇、酮、萜、苯、吡嗪、酸、酯等物质;由真菌产生的 VOCs,已鉴定出的有 250 种,主要是醇、苯、醛、烯烃、酸、酯、酮等物质^[9-10]。相关研究表明,许多微生物产生的多种 VOCs 具有抑菌活性,能有效防控多种采后果蔬的病害。

1.1 细菌源挥发性抑菌物质

最早报道细菌产生的 VOCs 具有抑菌活性的是 McCain,其研究表明,灰色链霉菌(*Streptomyces griseus*)产生的 VOCs 能够抑制 *Gleosporium aridum* 孢子的形成^[11]。随后,越来越多的研究表明,多种链霉菌产生的 VOCs 能够显著抑制病原菌的生长从而有效防治采后果蔬病害(表 1)。Li 等^[12-13]报道,球孢链霉菌(*S. globisporus*) JK-1 接种麦粒后,产生的 VOCs 能有效抑制灰葡萄孢霉(*Botrytis cinerea*)和意大利青霉(*Penicillium italicum*)的菌丝生长、孢子萌发及芽管伸长,有效抑制采后番茄灰霉病和砂糖橘青霉病,其主要抑菌成分可能是二甲基二硫醚、二甲基三硫醚和苯乙酮;吕昂^[14]发现杨氏链霉菌(*S. yanglinensis*) 3-10 菌株,小麦粒培养物用量为 17 g/L 时,能显著抑制黄曲霉(*Aspergillus flavus*)和寄生曲霉(*A. parasiticus*)侵染花生,用量为 86 g/L 时,几乎能完全抑制这两种真菌的生长繁殖,花生粒上也检测不到黄曲霉毒素,其主要抑菌成分可能是 2-甲基异莰醇、2-甲基丁酸甲基酯和苯乙醇;相似的, Boukaew 等^[15]也发现,费城链霉菌(*S. philanthi*) RM-1-138 菌株的麦粒培养物,用量为 15 g/L 时产生的 VOCs 即能完全抑制辣椒炭疽病,且最适合的熏蒸时间是 6 h。

芽孢杆菌属(*Bacillus* spp.)和假单胞菌属(*Pseudomonas* spp.)是最著名的两类生防细菌,以前研究人员对这两类细菌的生防因子主要集中在它们的可溶性抑菌物质如抗生素、环脂肽、表面活性剂和胞外多羟基丁酸聚合酶等上。近年来,很多报道指出,产生 VOCs 也是这两类拮抗细菌生物防治的重要作用机制之一(表 1 和表 2)。如枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*) Y13 产生的 VOCs,其中 4 种

表 1. 产生 VOCs 的微生物种类及其产生的 VOCs 成分
Table 1. Kinds of VOCs-producing microorganisms and the components of VOCs

Microbial species	Strains	Pathogen	Fruits and vegetables	The composition of VOCs and the main antifungal components	References
Bacteria	<i>Streptomyces globisporus</i> JK-1	<i>Penicillium italicum</i>	Sweet orange	The main antifungal components: dimethyl disulfide, dimethyl trisulfide and acetophenone.	[12–13]
	<i>Streptomyces yanglinensis</i> 3-10	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus parasiticus</i>	Peanut	The main component of VOCs: 2-methylisoborneol. The main antifungal components: 2-methylisoborneol, methyl, 2-methyl butyrate and phenylethanol.	[14]
	<i>Streptomyces philanthi</i> RM-1-138	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Chili	The main antifungal components: phenylethanol. It shown effective inhibitory activity both <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> .	[15]
	<i>Bacillus subtilis</i> Y13	<i>Colletotrichum fructicola</i>	Camellia	The main antifungal components: nonanal, benzaldehyde, 3-methyl-4-phenyl-1H-pyrazole and benzothiazole. The antifungal activity: nonanal>benzaldehyde>3-methyl-4-phenyl-1H-pyrazole>benzothiazole.	[16]
	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> PP19, <i>Bacillus pumilus</i> PI26, <i>Exiguobacterium acetylicum</i> SI17	<i>Peronophythora litchii</i>	Litchi	The main antifungal components: 1-(2-aminophenyl) acetophenone and benzothiazole. The α -farnesene could effectively control fruit diseases.	[17]
	<i>Bacillus amylolicefaciens</i> ALB629, UFLA285	<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	Bean	The main antifungal components: 3-methylbutyric acid and 2-methylbutyric acid.	[18]
	<i>Pseudomonas fluorescens</i> UM16, UM240, UM256, UM270	<i>Botrytis cinerea</i>	Medicago truncatula	The main components of VOCs: acetaldehyde, ketone, and alcohol. The main antifungal components: methyl mercaptan, dimethyl sulfide, dimethyl disulfide, dimethyl trisulfide and dimethylnitrosamine.	[20]
	<i>Pseudomonas fluorescens</i> ZX	<i>Penicillium digitatum</i> , <i>Penicillium italicum</i>	Sweet orange	The main component of VOCs: acetic acid, butyric acid, isobutyric acid, 2-methylbutyric acid, isovaleric acid and sulfur compounds.	[21–22]
	<i>Enterobacter asburiae</i> Vt-7	<i>Aspergillus flavus</i>	Peanut	The main component of VOCs: n-pentanol and phenylethanol. The minimal inhibit concentration of phenylethanol was 0.2 mL/L.	[38]
	<i>Staphylococcus sciuri</i> MarR44	<i>Colletotrichum nymphaeae</i>	Strawberry	The main component of VOCs: dimethyl trioxide, acetic acid, 4-methyl decane, 4-pentene-2-one, toluene, and o-xylene.	[39]
Yeast	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> CR-1	<i>Phyllosticta citricarpa</i>	Valentia orange	The main components of VOCs: isoamylalcohol and 2-methyl-1-pentanol.	[26]
	<i>Wickerhamomyces anomalus</i> 09395	<i>Botrytis cinerea</i>	Grape	Styrene showed the strongest inhibitory effect.	[40]

(待续)

(续表 1)

	<i>Wickerhamomyces anomalus</i> , <i>Metschnikowia pulcherrima</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	Strawberry	The main component of VOCs: alcohols (ethanol, isoamylalcohol and phenylethanol) and esters (ethyl acetate and isoamyl acetate). Ethyl acetate showed antifungal activity.	[27–28]
	<i>Candida intermedia</i> C410	<i>Botrytis cinerea</i>	Strawberry	The main component of VOCs: 1,3,5,7-cyclooctene and 3-methyl-1-butanol. The main antifungal components: 1,3,5,7-cyclooctene, 3-methyl-1-butanol, 2-nonone-4-methyl valerate, amyl acetate and ethyl caproate.	[31]
	<i>Pichia anomala</i> WRL-076	<i>Aspergillus flavus</i>	Nut	The main antifungal components: 2-phenylethanol	[32]
Polycellularis fungus	<i>Muscodor brasiliensis</i> sp. LGMF1255, LGMF1256	<i>Penicillium digitatum</i>	Sweet orange	The main components of 1255: pogostone, octyl formate, β -elemene and α -cyanene. The main components of 1256: pogostone, phenylethanol, 2-ethyl phenylacetate and octyl formate.	[36]
	<i>Nodulisporium</i> spp. CMU-UPE34	<i>Penicillium digitatum</i> , <i>Penicillium expansum</i>	Lemon, Trifoliolate	The main components: alcohols, acids, esters and monoterpenes.	[37]

表 2. 微生物源 VOCs 的抑菌活性、控病效果及作用机制

Table 2. Antifungal activity, biocontrol effect and mechanisms of VOCs produced by microorganism

Strains	Pathogen	Fruits and vegetables	Antifungal activity and the biocontrol effect	Mechanism	References
<i>Streptomyces globisporus</i> JK-1	<i>Botrytis cinerea</i> , <i>Penicillium italicum</i>	Tomato, sweet orange	Inhibition of conidial germination and mycelial growth. The abnormality of conidia and mycelium morphology.	1+3	[12–13]
<i>Streptomyces yanglinensis</i> 3-10	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus parasiticus</i>	Peanut	Inhibition of the disease and the generation of aflatoxin. SEM showed that the pathogen appeared deformed, collapsed and no germination of conidia.	1+3+4	[14]
<i>Streptomyces philanthi</i> RM-1-138	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Chili	Inhibition of anthracnose disease on cherries. Destruction of cell wall of pathogen.	1+2	[15]
<i>Bacillus amyloлицefaciens</i> PP19, <i>litchii</i> <i>Bacillus pumilus</i> PI26, <i>Exiguobacterium acetylicum</i> SI17	<i>Peronophythora</i>	Litchi	Reduction of the disease incidence of fruit. Benzothiazole might be the main active inhibitory component.	1+5	[17]
<i>Bacillus amyloлицefaciens</i> ALB629, UFLA285	<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	Bean	Inhibition of conidial germination (31%). Reduction of growth of the mycelium (16%–18%). Both bacterial volatiles controlled anthracnose <i>in vivo</i> (79%–85%).	1	[18]

(待续)

(续表 2)

<i>Saccharomyces cerevisiae</i> CR-1	<i>Phyllosticta citricarpa</i>	Valentia orange	Inhibition of mycelial growth and conidia formation. Reduction of diseases incidence (90%).	1+5	[26]
<i>Pichia anomala</i> WRL-076	<i>Aspergillus flavus</i>	Nut	Inhibition of conidial germination and the production of aflatoxin. The key genes of aflatoxin synthesis and chromatin-modifying genes were down-regulated.	1+4	[32]
<i>Enterobacter asburiae</i> Vt-7	<i>Aspergillus flavus</i>	Peanut	Inhibition of the expression of toxin-related synthetic genes. Reduction of the content of aflatoxin. Inhibition of the germination of spores on peanut. The abnormality of spores.	1+3+4	[38]
<i>Staphylococcus sciuri</i> MarR44	<i>Colletotrichum nymphaeae</i>	Strawberry	Inhibition of mycelial growth (34.52%) and spore germination (82.81%). Reduction of disease incidence (72.17%).	1	[39]
<i>Wickerhamomyces anomalus</i> 0939-5	<i>Botrytis cinerea</i>	Grape	Inhibition of mycelium growth (71.59%). The deformity and distortion of mycelium.	1+3	[40]
<i>Muscodor albus</i> 620	<i>Penicillium digitatum</i> , <i>Geotrichum citri-aurantii</i>	Lemon	The death of pathogenic fungi <i>in vitro</i> . Reduction of the diseases incidence of lemon from 89.8% to 26.2%.	–	[42]
<i>Bacillus</i> spp. VM10, VM21, VM11, VM1, VM42	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	Tomato, Soybean, Tobacco,	Accumulation of reactive oxygen species in the mycelium. Abnormality of cell membrane and ultrastructure of pathogens.	1+3+4	[44]
<i>Bacillus subtilis</i> CF-3	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Litchi	Inhibition of spore germination. Destruction of fluidity of cell membrane and density of pathogen. Inhibition of the activities of protease and cellulase in pathogens. Activation of the defense response of fruit. Increase of the activities of POD, PPO, CAT, SOD, PAL, CHI and GLU.	1+2+4+5	[45]
<i>Pseudomonas fluorescens</i> WR-1	<i>Ralstonia solanacearum</i>	Tomato	Inhibition of protein metabolism of <i>Ralstonia solanacearum</i> . Reduction of pathogen virulence.	5	[50]
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	Strawberry	Reduction of the disease incidence of fruit. Activation of the activities of POD, SOD, CAT, APX, PPO and PAL. Reduction of the content of MDA of fruits.	5	[51]
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> L13	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>niveum</i>	Arabidopsis Thaliana, Watermelon	Increase of the root length of Arabidopsis thaliana. Increase of resistance of watermelon to <i>Fusarium</i> wilt. Increase of the net weight of fruit. 2-nonanone and 2-heptanone of VOCs showed strong antifungal activity.	1+6	[52]

1: the VOCs can inhibit spore germination, germ tube elongation, and mycelium; 2: the VOCs can damage the cell wall and cell membrane of microorganisms; 3: the VOCs affect on cell morphology and ultrastructure of pathogen; 4: the VOCs can interfere with microbial metabolism and affect the content or activity of bioactive molecules in microorganisms; 5: the VOCs can induce resistance of fruits; 6: growth-promoting effect. –: the antifungal mechanisms are not specified in the reference.

成分对 7 种常见的油茶病原真菌均具有较好的抑制作用, 抑菌活性大致为壬醛>苯甲醛>3-甲基-4-苯基吡唑>苯丙噻唑^[16]; Zheng 等^[17]报道, 用解淀粉芽孢杆菌(*B. amyloliquefaciens*) PP19 和短小芽孢杆菌(*B. pumilus*) PI26 产生的 VOCs 熏蒸果实一定时间后, 再接种荔枝霜疫霉菌(*Peronophythora litchii*), 荔枝的发病率大为降低; Martins 等^[18]也发现, *B. amylolicefaciens* ALB629 和 UFLA285 产生的 VOCs 都能显著降低 *Colletotrichum lindemuthianum* 孢子的萌发率, 3-甲基丁酸和 2-甲基丁酸及其协同作用可能是防治菜豆炭疽病最主要的 VOCs。Calvo 等^[21]分别测定了 3 株芽孢杆菌(BUZ-14、I3 和 I5)产生的 VOC 对 *B. cinerea*、*P. italicum*、指状青霉(*P. digitatum*) 的抑制作用, BUZ-14 产生的 VOCs 对 *P. italicum* 抑制率达 80%, I3 和 I5 产生的 VOCs 对 *B. cinerea* 抑制率达 100%, 经气相色谱-质谱联用仪(gas chromatography - mass spectrometer, GC-MS), 鉴定出的主要 VOCs 有 12–15 种, 包括 2-壬酮、2-十一酮、2-庚酮、正丁醇、乙炔、苯甲醛、甲酸丁酯、双乙酰、壬烷等。Wallace 等^[19]研究了 3 株荧光假单胞菌(*P. fluorescens*) 2-28、1-112、4-6 离体条件下产生的 VOCs 对扩展青霉(*P. expansum*)的抑菌活性, 发现其能够完全抑制 *P. expansum* 的孢子萌发和菌丝体生长。Hernández-león 等^[20]分析了 *P. fluorescens* UM256、UM270、UM16、UM240 产生的 VOCs 成分, 其中的含硫化合物如甲硫醇、二甲基硫醚、二甲基二硫醚、二甲基三硫醚和二甲基亚硝酸胺等是主要的抑菌成分; 同样的, 本课题组也发现, *P. fluorescens* ZX 产生的 VOCs 具有极强的抑菌活性, 能有效防治采后锦橙果实的青霉病和绿

霉病^[21–23]。除此之外, 肠杆菌属(*Enterobacter* spp.)、葡萄球菌属(*Staphylococcus* spp.)等产生的 VOCs 也能抑制多种病原菌, 具有防治果蔬病害的潜力(表 1)。

1.2 酵母源挥发性抑菌物质

以前的研究认为拮抗酵母不会产生抑菌物质, 其生防机制主要是通过营养与空间竞争等方式实现的。但随后的深入研究表明, 拮抗酵母菌同样能产生多种水溶性和挥发性抑菌物质^[1,24–25](表 1)。如酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*) CR-1 产生的 VOCs 中, 3-甲基-1-丁醇和 2-甲基-1-丁醇能抑制柑橘叶点霉菌(*Phyllosticta citricarpa*)的菌丝生长和附着孢的形成^[26]; Oro 等^[27]报道, 异常威克汉姆酵母(*Wickerhamomyces anomalus*)、梅奇酵母(*Metschnikowia pulcherrima*)和 *S. cerevisiae* 产生的 VOCs 对 *B. cinerea* 抑制率高达 69%, 生物熏蒸处理 6 d 后, 和对照相比, 草莓灰霉病病情指数分别降低 89、40 和 32%; Contarino 等^[28]也发现这 3 种菌能在 5 d 内极快速地消耗氧气产生大量二氧化碳, 并产生乙醇、3-甲基-1-丁醇、苯乙醇、乙酸乙酯和乙酸异戊酯等 VOCs, 显著抑制葡萄灰霉病; 而黄蓉等^[29]筛得的汉逊德巴利酵母(*Debaryomyces hansenii*) W4682, 不仅能在离体培养基上抑制 *B. cinerea* 的生长繁殖, 在草莓果实上定殖后产生的 VOCs 还能有效控制同一密闭空间内未处理果实病害的发生; 郑芳园^[30]通过离体平板对峙试验和活体果实接种试验, 证实了间型假丝酵母(*Candida intermedia*) C410 产生的 VOCs 对草莓病原菌 *B. cinerea*、核盘菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)、黑根霉(*Rhizopus nigricans*)、镰刀菌属(*Fusarium* sp.)、总状毛霉(*Mucor racemosus*)、青霉菌属(*Penicillium* sp.)、交链格孢

(*Alternaria alternata*)和团青霉(*P. commune*)均具有显著的防治效果;而后, Huang 等^[31]联用顶空固相微萃取和 GC-MS, 确定 *C. intermedia* C410 能产生 49 种 VOCs, 其中, 1,3,5,7-环八烯、3-甲基-1-丁醇、2-壬酮-4-甲基戊酸乙酯、3-甲基-1-丁醇乙酯、乙酸戊酯和己酸乙酯等合成化学物质对 *B. cinerea* 孢子萌发和菌丝生长具有高度抑制作用。Hua 等^[32]报道, 无瘤毕赤酵母(*Pichia anomala*) WRL-076 产生的 VOCs 中, 2-苯乙醇是主要物质, 能显著抑制 *A. flavus* 孢子萌发和毒素产生。

1.3 丝状真菌源挥发性抑菌物质

相较细菌源和酵母源 VOCs 的研究, 多细胞真菌源 VOCs 的研究起步较晚。自 2001 年, 植物内生真菌 *Muscordor albus* 产生的 VOCs 被报道能够抑制甚至杀死多种植物病原菌以后^[33], 真菌, 尤其是植物内生真菌产生的 VOCs 引起了众多研究者的兴趣。不仅是 *M. albus*, *Muscordor* 属的其他种, 如 *M. crispans*^[34]、*M. fengyangensis*^[35] 等也能产生具有抑菌活性的 VOCs。直到现在, *Muscordor* 属仍有新菌种被报道具有产生抑菌 VOCs 的能力, 如 Pena 等^[36]筛得的 *M. brasiliensis* sp. LGMF1256 在离体条件下能完全抑制 *P. digitatum* 的生长繁殖, 产生的 VOCs 防治甜橙绿霉病的效果高达 77%, 从而显著降低了化学杀菌剂的使用量。当然, 产生抑菌 VOCs 并不是 *Muscodor* 属真菌的特有能力, 多种真菌可以产生具有抑菌作用的 VOCs (表 1)。Suwannarach 等^[37]曾在柑橘上筛选到 46 株内源真菌, 但仅有球孢菌属(*Nodulisporium* spp.) CMU-UPE34 产生的 VOCs 有抑菌作用, GC-MS 分析结果表明, 这些 VOCs 主要是醇、酸、酯和单帖类, 含量最多的

是桉油精, 熏蒸处理能有效控制柠檬的绿霉病、莱檬和网纹柑橘的青霉病。

2 影响挥发性抑菌物质效果的主要因素

大多数水果的 pH 较低, 采后病害一般由病原真菌侵染造成, 而蔬菜则受到病原真菌和细菌的双重侵害, 但真菌为主^[1]。由于病原真菌一般通过孢子萌发、形成菌丝等方式侵染植物组织^[1,5], 因而在探讨微生物源 VOCs 的抑菌活性时, 研究人员首先会评估 VOCs 对病原菌孢子和菌丝生长的抑制能力, 通常采用的方法是离体两板对扣法, 首先在平板上采用两板对扣法观察菌株 VOCs 对病原菌孢子和菌丝生长的抑制能力, 有抑菌效果才进一步在活体上探究该菌株 VOCs 对果蔬病害的防治效果。近年来, 越来越多种类的微生物产生的 VOCs 被发现具有极强的抑菌活性, 能显著降低采后果蔬病害的发病率和病斑直径(表 1 和表 2)。Alijani 等^[39]报道, 松鼠葡萄球菌(*Staphylococcus sciuri*) MarR44 对若虫科炭疽菌(*Colletotrichum nymphaeae*)的菌丝生长抑制率为 34.52%, 对孢子萌发的抑制率为 82.81%, 温室试验时, *S. sciuri* MarR44 产生的 VOCs 熏蒸处理后, 草莓的发病率较对照组下降了 72.17%; Oro 等^[27]筛得的几株酵母, 产生的 VOCs 主要是乙酸乙酯, 其完全抑制病菌的浓度离体条件下为 8.97 mg/cm³, 草莓果实上为 0.718 mg/cm³。部分菌株 VOCs 的离体抑菌活性与活体试验的控病效果不一定呈正相关, Martins 等^[18]报道 *B. amylolicefaciens* ALB629 和 UFLA285 离体下对 *C. lindemuthianum* 菌丝抑制率仅分别为 16%和

18%，但对菜豆炭疽病的控制效果却高达79%–85%；而有些菌株产生的VOCs离体条件下能显著甚至是完全抑制病原菌的生长繁殖，但应用于采后病害时，却几乎没有防治效果^[41]。

值得注意的是，微生物源VOCs的抑菌活性和控制果蔬病害效果与处理时间关系密切，如先用*B. amyloliquefaciens* PP19、*B. pumilus* PI26和*E. acetylicum* SI17产生的VOCs熏蒸荔枝36–72 h，再接病原菌，则果实的发病率显著降低^[17]；而Mercier等^[42]发现在柠檬上接种酸腐病菌(*Geotrichum citri-aurantii*)后立即用*M. albus* 620熏蒸处理，能有效控制果实酸腐病的发生，但接种病原菌24 h后再熏蒸处理，则防治效果明显削弱。因此，果蔬采后应及早进行微生物VOCs熏蒸处理。此外，外界环境和培养条件也对微生物源VOCs的成分及其抑菌活性、生防效力影响显著。很多微生物在不同的培养基上会产生不同种类的VOCs，例如，*P. fluorescens* ZX在营养肉汤固体培养基上恒温培养一定时间后有20种VOCs被检测出，而在液体培养基中只有16种，主要成分也不大相同，在固体平板上，主要产生的VOCs为1-十一烯、二甲基砜、乙酸等物质，而在液体培养基中，*P. fluorescens* ZX主要产生乙酸、1-癸烯、1,2-环氧十二烷、3-癸烯醇、二甲基砜等物质^[21–22]；张迪^[40]探究了培养基成分和培养条件对*W. anomalous* 0939-5产生的VOCs抑菌活性的影响，结果表明，以蔗糖为碳源、硫酸铵为氮源的改良查彼培养基(MCDA)，初始pH值为7，培养温度为25 °C时，*W. anomalous* 0939-5产生的VOCs抑菌活性更强，对*B. cinerea*孢子萌发抑制率高达99.33%，对菌丝生长抑制率也达到了71.59%。另外，培养时间也可能影响微生物

VOCs，Zheng等^[17]报道，*B. amyloliquefaciens* PP19、*B. pumilus* PI26和*E. acetylicum* SI17产生的VOCs随培养时间而改变，36–72 h里，分别共有70、98、101种VOCs检出。

3 微生物源挥发性抑菌物质防治采后果蔬病害的主要作用机制

为了提高微生物源VOCs的控病效果和靶标菌株的筛选效率，以及扩展微生物源杀菌剂途径，充分了解微生物源VOCs的作用机制，深入探究和掌握微生物及微生物源VOCs、病原物和寄主之间的互作效应具有重要意义^[1,43]。由于能产生具有抑菌活性VOCs的微生物及其产生的VOCs多种多样，微生物源VOCs的作用机制也定然是不一而足。现在一般认为，微生物源VOCs防治采后果蔬病害的机理基本有以下几种作用模式，主要包括：(1) 抑制病原菌孢子萌发、芽管伸长和菌丝扩展；(2) 破坏微生物细胞壁和细胞膜，影响其生理功能；(3) 影响细胞形态及其超微结构；(4) 干扰微生物代谢，影响微生物体内生物活性分子的含量或活性；(5) 诱导果蔬系统抗性；(6) 采前施用，促进生长，并可能增强采后果蔬的抗病性。微生物源VOCs对病原菌的作用机制可以以一种为主，也可以同时依赖多种机制，不同环境、不同寄主、不同病原物，其作用机制可能表现不同(表2)。

3.1 抑制病原菌孢子萌发、芽管伸长和菌丝扩展

如前所述，采后果蔬腐烂主要是由病原真菌侵染引起的，孢子萌发、形成菌丝等是其最常见的侵染方式，因而在研究微生物源VOCs对病原菌生防效果的时候，首先评价VOCs抑制病原菌

孢子萌发和菌丝生长的能力^[2-5]。研究表明,许多微生物产生的 VOCs 能够有效抑制多种病原真菌孢子的萌发、游动孢子囊的产生以及菌丝生长,如 *Bacillus* spp.产生的 VOCs,在检测出的 16 种 VOCs 中,有 4 种物质能引起油菜菌核病菌 (*Sclerotinia sclerotiorum*)菌丝中活性氧的积累和爆发^[44]; Zhao 等^[45]报道, *B. subtilis* CF-3 产生的 VOCs 及其主要成分 2,4-二叔丁基苯酚能显著抑制胶胞炭疽菌 (*Colletotrichum gloeosporioides*) 孢子萌发,并导致其菌丝裂解; Toffano 等^[26]研究发现, *S. cerevisiae* CR-1 产生的 VOCs 及其主要成分 3-甲基-1-丁醇和 2-甲基-1-丁醇,能抑制 *P. citricarpa* 菌丝生长和附着孢的形成;笔者课题组研究也发现, *P. fluorescens* ZX 产生的 VOCs 能显著抑制 *P. digitatum* 和 *P. italicum* 的孢子萌发和菌落扩展,经 VOCs 熏蒸处理的菌丝产孢量大为降低,而添加活性炭吸附掉 *P. fluorescens* ZX 产生的 VOCs 后,抑菌效果显著降低^[21-22]。

3.2 影响微生物细胞壁和细胞膜

细胞壁具有维持微生物固有外形、预防机械和渗透损伤、协助细胞运动和生长、介导细胞间相互作用和防止大分子入侵等生理功能,是微生物的第一道防御屏障^[46]。细胞膜对微生物而言也是不可或缺的,细胞膜含有大量磷脂、糖蛋白、糖脂和蛋白质,这些物质与微生物的能量转换、物质运输、信息识别与传递、细胞免疫和代谢调控等生命活动密不可分^[46]。现有研究发现,拮抗微生物释放的 VOCs 能够破坏病原微生物细胞壁和细胞膜的完整性,导致细胞壁和细胞膜渗透性增加,引起胞内内容物大量泄出和流失,并造成细胞膜上脂肪酸组成的改变,干扰细胞膜上蛋白质的正常运作,从而

使得细胞壁和细胞膜的多项生理功能紊乱失调,最终致其死亡。Boukaew 等^[15]用扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)观察 *S. philanthi* RM-1-138 产生的 VOCs 熏蒸处理后的 *C. gloeosporioides*,发现 *C. gloeosporioides* 细胞壁的完整性遭到了破坏; Massawe 等^[44]报道, *Bacillus* spp. VM11 产生的 VOCs 能引起活性氧在 *S. sclerotiorum* 细胞中积累,进而导致 *S. sclerotiorum* 细胞膜异常; Zhao 等^[45]也发现, *B. subtilis* CF-3 产生的 VOCs 及其主要成分 2,4-二叔丁基苯酚都能影响 *C. gloeosporioides* 细胞膜的流动性,改变 *C. gloeosporioides* 细胞膜密度,最终导致菌丝裂解死亡。

3.3 影响细胞形态及其超微结构

大多数微生物源 VOCs 是脂溶性物质,这些 VOCs 可能破坏微生物的细胞壁、细胞膜,引起细胞内容物泄露,导致微生物细胞形态的改变,甚至破损。目前,观察微生物源 VOCs 对微生物细胞形态的影响主要利用 SEM、透射电子显微镜(transmission electron microscope, TEM)和原子力显微镜(atomic force microscope, AFM)等可视技术。李其利^[13]利用 SEM 和 TEM 观察发现, *S. globisporus* JK-1 产生的 VOCs 能抑制 *B. cinerea* 分生孢子在番茄果实上的萌发及侵染菌丝的形成,导致分生孢子和菌丝细胞内的液泡数量明显增多,孢子细胞壁增厚,菌丝细胞出现质壁分离,畸形等异常情况,细胞的完整性遭到破坏,最终导致菌体死亡;随后,吕昂^[14]也用 SEM 观测到, *S. yanglinensis* 3-10 产生的 VOCs 熏蒸处理致使 *A. flavus* 表面塌陷,导致 *A. flavus* 孢子不能萌发; Gong 等^[38]也发现,阿氏肠杆菌(*Enterobacter asburiae*) Vt-7 产生的 VOCs 能完全抑制几种常见

的植物病原菌, 尤其能抑制 *A. flavus* 孢子在花生上的萌发, 并使得孢子和菌丝出现畸形、扭曲和分支增多等异常现象。

3.4 干扰微生物代谢, 影响微生物体内生物活性分子的含量或活性

新陈代谢是生命活动的基本过程, 是维持生物体生长、繁殖和运动等生命活动的基础。很多 VOCs 能影响病原菌的分解代谢和合生代谢, 抑制代谢途径中关键酶的活性, 导致病原菌体内的生物分子如蛋白质、脂肪酸和核酸等成分改变、含量降低甚至丧失活性^[48]; 此外, 很多 VOCs 还能影响病原菌细胞膜上的电子传递链, 致使 ATP、ADP 和 AMP 之间转化异常, 从而干扰病原菌的能量代谢^[48-49]。植物源 VOCs E-2-己烯醛已被证明能干扰 *A. flavus* 的丙酮酸代谢, 降低细胞内蛋白质、乙酰辅酶 A 和 ATP 含量, 并能抑制线粒体脱氢酶活性, 影响 *A. flavus* 正常的物质代谢和能量代谢^[49]。相关研究表明, 微生物源 VOCs 也具有类似的作用机制。Massawe 等^[44]探究了 *Bacillus* spp.产生的 VOCs 对 *S. sclerotiorum* 的作用机制, 结果表明未处理的 *S. sclerotiorum* 生长得更快, 并能积累更多的草酸, 这说明 *Bacillus* spp.产生的 VOCs 干扰了 *S. sclerotiorum* 正常的代谢过程; 相似的, *B. subtilis* CF-3 产生的 VOCs 及其主要成分 2,4-二叔丁基苯酚都能抑制病原菌的蛋白酶和纤维素酶活性, 从而有效抑制 *C. gloeosporioides* 侵染荔枝果实^[45]; Raza 等^[50]运用蛋白组学技术分析了 *P. fluorescens* WR-1 产生的 VOCs 抑制茄科雷尔氏菌(*Ralstonia solanacearum*)生长繁殖的可能机理, 结果表明, VOCs 熏蒸处理后, *R. solanacearum* 体内行使抗氧化、致毒、包涵体蛋白、碳水化合物和氨基酸

合成代谢、蛋白质折叠和翻译、甲基化和能量转移等生理功能的蛋白遭到不同程度地降解, 而有关 ABC 转运系统(ATP-binding cassette transporter)、醛酮解毒、蛋白质折叠与翻译等功能的蛋白显著下调表达。近年来, 真菌毒素的控制备受关注, 人们也在考量微生物源 VOCs 在抑制病菌生长的同时, 是否也能有效控制真菌毒素的产生。Gong 等^[38]报道, *E. asburiae* Vt-7 产生的 VOCs, 正戊醇和苯乙醇是最主要的两种 VOCs, 能抑制 *A. flavus* 毒素相关的合成基因(*estA*、*norB*、*ordB*、*AccC* 和 *norM*)的表达, 显著减少黄曲霉毒素含量; Hua 等^[32]也发现, *P. anomala* WRL-076 产生的 VOCs 及其主要物质 2-苯乙醇, 能抑制 *A. flavus* 孢子萌发和黄曲霉毒素产生, 显著下调 *A. flavus* 毒素合成关键基因的表达, 同时改变染色质修饰基因 *MYST1*、*MYST2*、*MYST3*、*gcn5*、*hdaA* 和 *rpdA* 的表达模式。

3.5 诱导果蔬系统抗性

很多微生物源 VOCs 本身不具有抑菌活性, 但可能是一种信号分子, 能有效激活采后果蔬自身的免疫系统, 从而使得果蔬对病原菌产生了抗病性^[17,45,51]。现在一般认为, 微生物源 VOCs 对果蔬的诱导抗病作用可能产生以下 3 个方面的效果: (1) 提高采后果蔬氧化应激能力, 诱导果蔬产生几丁质酶(chitinase, CHI)、 β -1,3-葡聚糖酶(β -1,3-glucanase, GLU)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化物酶(peroxidase, POD)、多酚氧化酶(polyphenol oxidase, PPO)、苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia lyase, PAL)、过氧化氢酶(catalase, CAT)和抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase, APX)等防御酶, 并提高防御酶的活性; (2) 诱导果蔬产生大量抗病性次生

代谢物质, 如植保素、木质素和酚类化合物等;

(3) 诱导果蔬细胞组织结构发生变化。Zheng 等^[17]研究发现, *Bacillus* spp.产生的 VOCs 中, 有 1 种物质 α -法尼烯, 能显著抑制 *P. litchii* 造成的荔枝霜疫病, 但对 *P. litchii* 本身却并无抑制作用, 由此可以推测, α -法尼烯可能诱导激发了荔枝对 *P. litchii* 的抗性; Zhao 等^[45]的研究结果支持这一结论, 他们发现, 用 *B. subtilis* CF-3 产生的 VOCs 进行熏蒸处理, 能激活采后荔枝防卫反应, 引起果实 POD、PPO、CAT、SOD、PAL、CHI 和 GLU 等防御酶活性上升; 司琳媛^[51]用葡萄有孢汉逊酵母(*Hanseniaspora uvarum*)产生的 VOCs 熏蒸草莓后也发现, 果实的灰霉病发病率随熏蒸时间的延长而逐渐降低, 进一步研究表明, VOCs 激发了草莓的防卫反应, VOCs 处理后, 果实的防御酶 POD、SOD、CAT、APX、PPO、PAL 活性显著上升, 而丙二醛含量显著下降。

3.6 采前促进作物生长和增产, 并激发采后果蔬对病原菌的抗性

很多研究者发现, 果蔬采前用一些微生物源 VOCs 处理后, 能显著抑制采后果蔬的病害发生。后续研究发现, 一些微生物在生长过程中产生的 VOCs, 能在促进作物生长的同时, 激活作物的防御反应, 从而显著增强采后果蔬对病原菌的抗性^[7]。Wu 等^[52]将拟南芥置于 *B. amyloliquefaciens* L13 产生的 VOCs 中培育, 结果发现, 拟南芥生长量增加 2.39 倍, 根长增加 1.5 倍, 侧根增加 5.05 倍, 在西瓜根际施用 *B. amyloliquefaciens* L13 菌悬液, 激光共聚焦显微镜下可以发现菌株沿根系定殖, 植株抵抗枯萎病的能力较对照上升 68.4%, 采后西瓜果实净重增加 23.4%, 用 GC-MS 解析 *B. amyloliquefaciens* L13 产生的 VOCs 成分,

共检出 14 种 VOCs, 其中, 2-壬酮和 2-庚酮对尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*)具有极强抑制作用, 而丙酮和 2,3-丁二醇能显著促进植株生长; Wonglom 等^[53]得到了相似的结果, 他们用棘孢木霉(*Trichoderma asperellum*) T1 产生的 VOCs 熏蒸处理生菜, 发现生菜的叶数、根数和总叶绿素含量等显著增加, 同时生菜的细胞壁降解酶活性和产量大幅上升, 造成多主棒孢(*Corynespora cassiicola*)和空气弯孢(*Curvularia aerea*)的细胞壁形态结构异常, 从而增强了采后生菜对这两种病原菌的抗性。

4 问题和展望

经过多年的努力, 生物防治的研究已经取得了大量鼓舞人心的成果。高效、安全、绿色和环保微生物源 VOCs 也为抑制病原菌和控制采后果蔬病害提供了研究及应用新思路和新方向。但在实际应用中, 仍有诸多问题亟待解决, 比较突出的有以下几个方面: (1) 微生物源 VOCs 生防效果不稳定。微生物菌株易受环境影响, 低温、高温、缺水、洪涝、高盐 and 紫外辐照等生态环境中的各种胁迫都有可能干扰微生物的生长繁殖, 微生物产生的 VOCs 种类、含量等也随之发生改变, 这无疑会导致 VOCs 的抑菌活性和生防效果极不稳定; (2) 抑菌成分和生防机制不够清晰。产生 VOCs 的微生物上百上千, 微生物源 VOCs 更是数不胜数, 这些 VOCs 中, 哪些成分具有抑菌活性, 这些成分是通过哪些作用机制发挥生防效力的, 这些成分之间是否具有协同或拮抗作用等, 这些问题都不清楚; (3) 部分微生物源 VOCs 的安全性问题。尽管 VOCs 易挥发, 不会在采后果蔬上残留, 但一些 VOCs 具有很强的毒性, 尤其

是很多细菌产生的具有高度抑菌活性的含硫化合物,在使用微生物产生的 VOCs 进行熏蒸处理的时候,运输和贮藏的果农和工作人员难免会接触或吸入这些 VOCs。(4) 微生物源 VOCs 的使用方式。VOCs,在具有易挥发、无残留优点的同时,也带来一个工业化如何应用的难题。采后果蔬仍是独立且完整生命实体,仍在进行着一系列生理生化反应,长期处于密闭的环境中显然是不利于果蔬贮藏保鲜的。

因此,未来应加强以下几方面的研究:(1) 继续筛选高产 VOCs、且产生的 VOCs 抑菌谱广、生防效力高的菌株,并寻求适宜的处理方法,提高微生物对环境变化的耐受能力;(2) 采用多种方法,尤其是运用分子生物学技术和组学研究技术,全面解析 VOCs 中的有效抑菌成分,深入探讨微生物源 VOCs 的作用机制,确定微生物源 VOCs、病原物和寄主之间的互作模式;(3) 食品、植保和信息等方面背景研究人员开展协同研究,联合使用多种防治果蔬病害技术,强化研究其相互协同的作用条件和机制,实现优势互补;(4) 严格分析微生物源 VOCs 的安全性,切实保障果农和相关工作人员的人身安全;(5) 寻求合适的使用微生物源 VOCs 的方式,引入微胶囊技术和活性包装技术,将能产生 VOCs 的微生物制成一种生物缓释剂,实现微生物源 VOCs 的工业化连续生产和商业化应用。

参考文献

- [1] 毕阳. 果蔬采后病害: 原理与控制. 北京: 科学出版社, 2016.
- [2] Calvo H, Mendiara I, Arias E, Gracia AP, Blanco D, Venturini ME. Antifungal activity of the volatile organic compounds produced by *Bacillus velezensis* strains against postharvest fungal pathogens. *Postharvest Biology and Technology*, 2020(166): 111208.
- [3] Ye XF, Chen Y, Ma SY, Yuan T, Wu YX, Li YX, Zhao YQ, Chen SY, Zhang YW, Li LY, Li ZK, Huang Y, Cao H, Cui ZL. Biocidal effects of volatile organic compounds produced by the myxobacterium *Corrallococcus* sp. EGB against fungal phytopathogens. *Food Microbiology*, 2020(91): 103502.
- [4] Junior WJFL, Binati RL, Felis GE, Slaghenaufi D, Ugliano M, Torriani S. Volatile organic compounds from *Starmerella bacillaris* to control gray mold on apples and modulate cider aroma profile. *Food Microbiology*, 2020(89): 103446.
- [5] Wallace RL. Biological control of common postharvest diseases of apples with *Pseudomonas fluorescens* and potential modes of action. Doctor Dissertation of University of British Columbia, 2018.
- [6] Lugtenberg B, Rozen DE, Kamilova F. Wars between microbes on roots and fruits. *F1000Research*, 2017(6): 343.
- [7] Sapers GM, Gorny JR, Yousef AE. 果蔬微生物学. 陈卫, 田丰伟, 译. 北京: 中国轻工业出版社, 2011.
- [8] Zhou JY, Li X, Zheng JY, Dai CC. Volatiles released by endophytic *Pseudomonas fluorescens* promoting the growth and volatile oil accumulation in *Atractylodes lancea*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2016(101): 132-140.
- [9] Morath SU, Hung R, Bennett JW. Fungal volatile organic compounds: a review with emphasis on their biotechnological potential. *Fungal Biology Reviews*, 2012, 26(2/3): 73-83.
- [10] Lemfack MC, Nickel J, Dunkel M, Preissner R, Piechulla B. mVOC: a database of microbial volatiles. *Nucleic Acids Research*, 2014, 42(Database issue): D744-D748.
- [11] McCain AH. A volatile antibiotic produced by *Streptomyces griseus*. *Phytopathology*, 1966, 56(2): 150.
- [12] Li QL, Ning P, Zheng L, Huang JB, Li GQ, Hsiang T. Fumigant activity of volatiles of *Streptomyces globisporus* JK-1 against *Penicillium italicum* on citrus microcarpa. *Postharvest Biology and Technology*, 2010, 58(2): 157-165.
- [13] 李其利. 链霉菌 JK-1 的鉴定及其防病潜能和防病机制的研究. 华中农业大学博士学位论文, 2011.
- [14] 吕昂. 链霉菌 3-10 抗真菌代谢产物鉴定及防病潜力评估. 华中农业大学博士学位论文, 2017.
- [15] Boukaew S, Petlamul W, Bunkrongcheap R, Chookaew T, Kabbua T, Thippated A, Prasertsan P. Fumigant activity of volatile compounds of *Streptomyces philanthi* RM-1-138 and pure chemicals (acetophenone and phenylethyl alcohol) against anthracnose pathogen in postharvest chili fruit. *Crop Protection*, 2018(103): 1-8.

- [16] Feng FS, Liu JA, Hu LC, Wen RZ, Zhou GY. Analysis of volatile compounds from *Bacillus subtilis* y13 and its antimicrobial activity. *Chinese Journal of Biological Control*, 2019, 35(4): 597–604. (in Chinese)
冯福山, 刘君昂, 胡廉成, 文瑞芝, 周国英. 枯草芽胞杆菌 Y13 挥发性物质的分析及抑菌活性. *中国生物防治学报*, 2019, 35(4): 597–604.
- [17] Zheng L, Situ JJ, Zhu QF, Xi PG, Zheng Y, Liu HX, Zhou XF, Jiang ZD. Identification of volatile organic compounds for the biocontrol of postharvest litchi fruit pathogen *Peronophythora litchii*. *Postharvest Biology and Technology*, 2019(155): 37–46.
- [18] Martins SJ, Faria AF, Pedroso MP, Cunha MG, Rocha MR, Medeiros FHV. Microbial volatiles organic compounds control anthracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Biological Control*, 2019(131): 36–42.
- [19] Wallace RL, Hirkala DL, Nelson LM. Postharvest biological control of blue mold of apple by *Pseudomonas fluorescens* during commercial storage and potential modes of action. *Postharvest Biology and Technology*, 2017(133): 1–11.
- [20] Hernández-León R, Rojas-Solis D, Contreras-Pérez M, Del Carmen Orozco-Mosqueda M, Macías-Rodríguez LI, Reyes-De La Cruz H, Valencia-Cantero E, Santoyo G. Characterization of the antifungal and plant growth-promoting effects of diffusible and volatile organic compounds produced by *Pseudomonas fluorescens* strains. *Biological Control*, 2015(81): 83–92.
- [21] Wang ZR, Mei XF, Du MY, Jiang MY, Zhang HX, Wang KT, Zalán Z, Hegyi F, Kan JQ. Biocontrol of green mold decay in Jincheng citrus fruits by *Pseudomonas fluorescens* ZX. *Acta Microbiologica Sinica*, 2019, 59(5): 950–964. (in Chinese)
王智荣, 梅小飞, 杜木英, 江孟遥, 张洪新, 汪开拓, Zalán Z, Hegyi F, 阚建全. 荧光假单胞菌 ZX 对采后锦橙绿霉病的防治及其抑菌机制. *微生物学报*, 2019, 59(5): 950–964.
- [22] 王智荣. 荧光假单胞菌 ZX 生物防治采后锦橙青霉病和绿霉病研究. 西南大学硕士学位论文, 2019.
- [23] Wang ZR, Mei XF, Du MY, Chen KW, Jiang MY, Wang KT, Zalán Z, Kan JQ. Potential modes of action of *Pseudomonas fluorescens* ZX during biocontrol of blue mold decay on postharvest citrus. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2020, 100(2): 744–754.
- [24] 王友升. 拮抗酵母菌与果蔬采后病害防治. 北京: 知识产权出版社, 2012.
- [25] Li WH, Zhang HY, Li P, Apaliya MT, Yang QY, Peng YP, Zhang XY. Biocontrol of postharvest green mold of oranges by *Hanseniaspora uvarum* Y3 in combination with phosphatidylcholine. *Biological Control*, 2016(103): 30–38.
- [26] Toffano L, Fialho MB, Pascholati SF. Potential of fumigation of orange fruits with volatile organic compounds produced by *Saccharomyces cerevisiae* to control citrus black spot disease at postharvest. *Biological Control*, 2017(108): 77–82.
- [27] Oro L, Feliziani E, Ciani M, Romanazzi G, Comitini F. Volatile organic compounds from *Wickerhamomyces anomalus*, *Metschnikowia pulcherrima* and *Saccharomyces cerevisiae* inhibit growth of decay causing fungi and control postharvest diseases of strawberries. *International Journal of Food Microbiology*, 2018(265): 18–22.
- [28] Contarino R, Brighina S, Fallico B, Cirvilleri G, Parafati L, Restuccia C. Volatile organic compounds (VOCs) produced by biocontrol yeasts. *Food Microbiology*, 2019(82): 70–74.
- [29] Huang R, Huang P, Huang RR, Li GQ. Identification of a yeast strain and effect of its volatile organic compounds on disease control. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 2015, 37(5): 903–908. (in Chinese)
黄蓉, 黄盼, 黄瑞荣, 李国庆. 一株酵母菌的鉴定及其挥发性物质防病测定. *江西农业大学学报*, 2015, 37(5): 903–908.
- [30] 郑芳园. 间型假丝酵母 C410 产生挥发性抗真菌物质的条件优化及其对草莓储藏期病害的防治研究. 华中农业大学硕士学位论文, 2012.
- [31] Huang R, Li GQ, Zhang J, Yang L, Che HJ, Jiang DH, Huang HC. Control of postharvest botrytis fruit rot of strawberry by volatile organic compounds of *Candida intermedia*. *Phytopathology*, 2011, 101(7): 859–869.
- [32] Hua SST, Beck JJ, Sarreal SBL, Gee W. The major volatile compound 2-phenylethanol from the biocontrol yeast, *Pichia anomala*, inhibits growth and expression of aflatoxin biosynthetic genes of *Aspergillus flavus*. *Mycotoxin Research*, 2014, 30(2): 71–78.
- [33] Strobel GA, Dirkse E, Sears J, Markworth C. Volatile antimicrobials from *Muscodor albus*, a novel endophytic fungus. *Microbiology*, 2001, 147(11): 2943–2950.
- [34] Mitchell AM, Strobel GA, Moore E, Robison R, Sears J. Volatile antimicrobials from *Muscodor crispans*, a novel endophytic fungus. *Microbiology*, 2010, 156(1): 270–277.
- [35] Zhang CL, Wang GP, Mao LJ, Komon-Zelazowska M, Yuan ZL, Lin FC, Druzhinina IS, Kubicek CP. *Muscodor fengyangensis*

- sp. nov. from southeast China: morphology, physiology and production of volatile compounds. *Fungal Biology*, 2010, 114(10): 797–808.
- [36] Pena LC, Jungklaus GH, Savi DC, Ferreira-Maba L, Serviensi A, Maia BHLNS, Annies V, Galli-Terasawa LV, Glienke C, Kava V. *Muscodor brasiliensis* sp. nov. produces volatile organic compounds with activity against *Penicillium digitatum*. *Microbiological Research*, 2019(221): 28–35.
- [37] Suwannarach N, Kumla J, Bussaban B, Nuangmek W, Matsui K, Lumyong S. Biofumigation with the endophytic fungus *Nodulisporium* spp. CMU-UPE34 to control postharvest decay of citrus fruit. *Crop Protection*, 2013(45): 63–70.
- [38] Gong AD, Dong FY, Hu MJ, KONG XW, Wei FF, Gong SJ, Zhang YM, Zhang JB, Wu AB, Liao YC. Antifungal activity of volatile emitted from *Enterobacter asburiae* Vt-7 against *Aspergillus flavus* and aflatoxins in peanuts during storage. *Food Control*, 2019(106): 106718.
- [39] Alijani Z, Amini J, Ashengroph M, Bahramnejad B. Antifungal activity of volatile compounds produced by *Staphylococcus sciuri* strain MarR44 and its potential for the biocontrol of *Colletotrichum nymphaeae*, causal agent strawberry anthracnose. *International Journal of Food Microbiology*, 2019(307): 108276.
- [40] 张迪. 葡萄灰霉病拮抗酵母菌的筛选及产挥发性抑菌物质特性研究. 石河子大学硕士学位论文, 2018.
- [41] Ghazanfar MU, Hussain M, Hamid MI, Ansari SU. Utilization of biological control agents for the management of postharvest pathogens of tomato. *Pakistan Journal of Botany*, 2016, 48(5): 2093–2100.
- [42] Mercier J, Smilanick JL. Control of green mold and sour rot of stored lemon by biofumigation with *Muscodor albus*. *Biological Control*, 2005, 32(3): 401–407.
- [43] de Boer W, Li XG, Meisner A, Garbeva PV. Pathogen suppression by microbial volatile organic compounds in soils. *FEMS Microbiology Ecology*, 2019, 95(8): f0105.
- [44] Massawe VC, Hanif A, Farzand A, Mburu DK, Ochola SO, Wu LM, Tahir HAS, Gu Q, Wu HJ, Gao XW. Volatile compounds of endophytic *Bacillus* spp. have biocontrol activity against *Sclerotinia sclerotiorum*. *Phytopathology*, 2018, 108(12): 1373–1385.
- [45] Zhao PY, Li PZ, Wu SY, Zhou MS, Zhi RC, Gao HY. Volatile organic compounds (VOCs) from *Bacillus subtilis* CF-3 reduce anthracnose and elicit active defense responses in harvested litchi fruits. *AMB Express*, 2019, 9(1): 119.
- [46] Sa RGW, Hu WZ, Feng K, Xiu ZL, Jiang AL, Lao Y, Li YZ, Long Y, Guan YG, Ji YR, Yang XZ. Antimicrobial mechanisms of essential oils and their components on pathogenic bacteria: a review. *Food Science*, 2020, 41(11): 285–294. (in Chinese)
萨仁高娃, 胡文忠, 冯可, 修志龙, 姜爱丽, 老莹, 李元政, 龙娅, 管玉格, 姬亚茹, 杨晓哲. 植物精油及其成分对病原微生物抗菌机理的研究进展. *食品科学*, 2020, 41(11): 285–294.
- [47] Zhang QH, Huang LL, Lian XK, Zhan ZL, Feng LZ. Research advances in microbial volatiles and their biocontrol potential. *Chinese Journal of Ecology*, 2017, 36(7): 2036–2044. (in Chinese)
张清华, 黄丽丽, 连鑫坤, 詹振亮, 冯丽贞. 微生物源挥发性物质及其生物防治作用研究进展. *生态学杂志*, 2017, 36(7): 2036–2044.
- [48] 尚春雨. β -蒎烯对柑橘青霉病菌的抑菌机理研究. 华中农业大学硕士学位论文, 2017.
- [49] Ma WB, Zhao LL, Zhao WH, Xie YL. (*E*)-2-hexenal, as a potential natural antifungal compound, inhibits *Aspergillus flavus* spore germination by disrupting mitochondrial energy metabolism. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67(4): 1138–1145.
- [50] Raza W, Ling N, Liu DY, Wei Z, Huang QW, Shen QR. Volatile organic compounds produced by *Pseudomonas fluorescens* WR-1 restrict the growth and virulence traits of *Ralstonia solanacearum*. *Microbiological Research*, 2016(192): 103–113.
- [51] 司琳媛. 葡萄有孢汉逊酵母(*Hanseniaspora uvarum*)挥发性代谢物对草莓采后贮藏性能的影响. 南京农业大学硕士学位论文, 2015.
- [52] Wu YC, Zhou JY, Li CG, Ma Y. Antifungal and plant growth promotion activity of volatile organic compounds produced by *Bacillus amyloliquefaciens*. *MicrobiologyOpen*, 2019, 8(8): e00813.
- [53] Wonglom P, Ito SI, Sunpapao A. Volatile organic compounds emitted from endophytic fungus *Trichoderma asperellum* T1 mediate antifungal activity, defense response and promote plant growth in lettuce (*Lactuca sativa*). *Fungal Ecology*, 2020(43): 100867.

Control of postharvest fruits and vegetables diseases by microbial volatile compounds

Tao Zhong^{1,2}, Zhirong Wang^{1,2}, Muying Du^{1,2,3*}

¹ College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China

² Chinese-Hungarian Cooperative Research Centre for Food Science, Chongqing 400715, China

³ Laboratory of Quality & Safety Risk Assessment for Agro-Products on Storage and Preservation (Chongqing), Ministry of Agriculture, Chongqing 400715, China

Abstract: With the increasingly prominent disadvantages of chemical fungicides, biological control has gradually attracted more attention for controlling disease of postharvest fruits and vegetables. Among biological control agents, volatile organic compounds (VOCs) produced by different microorganisms can significantly inhibit the growth of various pathogens, and effectively control postharvest fruit and vegetable decay. Thus, VOCs synthesized by microorganisms are favored due to their safety, effectiveness, environmental harmlessness, easy degradation and no residue. Therefore, we review here the diversity of microorganisms with the ability to produce VOCs, the diversity of VOCs from microorganisms, the antifungal activities of VOCs and their possible related mechanisms responsible for the biocontrol effect, to provide an basis to develop biocontrol agents.

Keywords: biocontrol, volatile organic compounds (VOCs) produced by microorganism, antifungal activity, biocontrol effect, postharvest diseases of fruits and vegetables

(本文责编: 张晓丽)

Supported by the National Key R&D Program of China Chinese-Hungarian Intergovernmental Scientific and Technological Industrial Research and Development Program (2016YFE0130600-China, TET_16_CN-1-2016-0004-Hungary), by the Research on the Safety Detection Technology of Characteristic Agricultural Products Based on OWLS in Three Gorges Reservoir (G20190022022) and by the Team Building for the Safety Detection Technology of Characteristic Agricultural Products in Beibei District [(2019)8]

*Corresponding author. Tel: +86-23-68251298; Fax: +86-23-68251947; E-mail: muyingdu@swu.edu.cn

Received: 30 June 2020; Revised: 14 August 2020; Published online: 24 August 2020