



## 研究报告

## 火龙果致腐菌的分离鉴定及生物拮抗防腐措施

曾金兴 黎忠杰 佟硕秋 陶怡 吴拥军\*

贵州大学生命科学学院 农业生物工程研究院 山地植物资源保护与保护种质创新教育部重点实验室 山地生态与农业生物工程协同创新中心 贵州 贵阳 550025

**摘要:**【背景】红心火龙果在常温下贮藏 3 d 鳞片就会出现黄化、萎蔫、果柄发霉,贮藏 8 d 果实腐烂率高于 55%,贮藏 16 d 果实腐烂率达 95.5%以上。【目的】对红心火龙果主要致腐微生物进行分离鉴定,并筛选出防腐效果最佳的拮抗菌株。【方法】采用传统纯培养法对红心火龙果的致腐微生物进行分离纯化;通过致腐菌回接火龙果试验,找出主要致腐菌;通过形态学鉴定、细菌 16S rRNA 基因和真菌的 rDNA ITS 鉴定、生物信息学分析对主要致腐微生物进行初步鉴定;利用 11 株芽孢杆菌作为供试拮抗菌株对火龙果进行生物防腐。【结果】从自然腐烂红心火龙果上共分离得到 60 株致腐菌,其中细菌占 38.33%,真菌占 61.67%。将 60 株致腐菌回接红心火龙果,常温贮藏 27 d 后发现 2 株致腐菌导致火龙果腐烂率达 100%。经鉴定为扩展青霉(*P. expansum*)和黑附球菌(*E. nigrum*),分别命名为 BP15 和 BP25。经平板拮抗试验显示:解淀粉芽孢杆菌 10075 对菌株 BP15 和 BP25 的抑制率最显著,抑制率分别为 60.59%和 84.73%。采用稀释浓度为 90%的 10075 过滤除菌上清液对 BP15 和 BP25 进行抑制,其抑制率分别为 54.32%和 90.00%,而上清液热处理后对 BP15 和 BP25 的抑制率分别降低 1.30%和 12.43%。以稀释浓度为 90%的 10075 过滤除菌上清液喷涂火龙果,处理 10 d 的防腐效果均高于 30%。【结论】火龙果具有极高的经济价值、营养价值和药用价值,其在常温下容易腐烂。研究可为火龙果常温贮藏保鲜提供一种有效的生物防腐方法。

关键词:红心火龙果,致腐菌,分离鉴定,生物拮抗

## Isolation and identification of pitaya spoilage fungi and the measures of biological antagonistic anticorrosion

ZENG Jinxing LI Zhongjie TONG Shuoqiu TAO Yi WU Yongjun\*

Key Laboratory of Plant Resource Conservation and Germplasm Innovation in Mountainous Region, Ministry of Education, Collaborative Innovation Center for Mountain Ecology and Agro-Bioengineering (CICMEAB), College of Life Sciences/Institute of Agro-Bioengineering, Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025, China

**Abstract:** [Background] The scales of red-hearted dragon fruit appear yellowing, wilting and moldy stalks when storing at room temperature for 3 days. The fruit rot rate is higher than 55% for 8 days, as well as 95.5% for 16 days. [Objective] To isolate and identify the main spoilage microorganisms and screen the antagonistic strains with the best antiseptic effect of red-hearted dragon fruit. [Methods] The spoilage microorganisms of red-hearted dragon fruit were isolated by pure culture. The dominant spoilage bacteria

\*Corresponding author: E-mail: wyjbio@163.com

Received: 22-10-2020; Accepted: 17-11-2020; Published online: 26-02-2021

\*通信作者: E-mail: wyjbio@163.com

收稿日期: 2020-10-22; 接受日期: 2020-11-17; 网络首发日期: 2021-02-26

inoculated into dragon fruit were identified based on physiological and biochemical characteristics combined with sequences analysis of bacterial 16S rRNA gene, fungal rDNA ITS and bioinformatic analysis. 11 *Bacillus subtilis* strains as the tested antagonistic strains were used as biological antisepsis for dragon fruit. **[Results]** A total of 60 spoilage bacteria were isolated from naturally decomposed red-heart dragon fruit, of which bacteria accounted for 38.33% and fungi accounted for 61.67%. All of them were inoculated into red-hearted dragon fruit, and then 2 spoilage bacteria causing 100% rotten were found when storing at room temperature for 27 days. The two spoilage bacteria were identified as *P. expansum* named BP15 and *E. nigrum* named BP25. The plate antagonism test showed that the inhibitory rate of *Bacillus amyloliquefaciens* 10075 to the BP15 and BP25 strains was the most significant, which reached 60.59% and 84.73%, respectively. The 10075 filtered sterile supernatant with a concentration of 90% was used to inhibit BP15 and BP25, of which the inhibitory rate were 54.32% and 90.00%, respectively. However, heat treatment of the supernatant resulted in the inhibitory rate of BP15 and BP25 decreasing by 1.30% and 12.43%, respectively. With 90% 10075 filter sterilization supernatant spraying on dragon fruit, the biological antisepsis characteristic was higher than 30% after 10 days' treatment. The research provides an effective biological antisepsis method for storage and preservation of dragon fruit. **[Conclusion]** Dragon fruit has extremely high economic value, nutritional value and medicinal value, however it is easy to rot at room temperature. The research can provide an effective biological antisepsis method for the storage and preservation of dragon fruit at room temperature.

**Keywords:** red-hearted dragon fruit, spoilage fungi, isolation and identification, biological antagonism

火龙果因果实形状像一团火焰而得名, 又称仙蜜果、红龙果、情人果, 属仙人掌科(*Cactaceae*)量天尺属(*Hylocereus*)和蛇鞭柱属(*Seleniurus*)<sup>[1]</sup>。火龙果种类繁多, 主要有红皮白肉、红皮红肉, 我国又培育出了红皮粉肉、红皮红肉白心等多种新型品种<sup>[2]</sup>。火龙果味道清甜、口感嫩滑, 具有极高的经济价值、营养价值和药用价值<sup>[3-7]</sup>, 深受广大消费者的青睐。多年来, 火龙果采后腐烂问题一直是影响其生产发展的重大问题, 侵染的部位主要是火龙果的茎, 严重时就会侵染到果实。研究者对腐烂现象进行了研究, 发现主要受致腐菌侵染, 以霉菌的青霉属为主<sup>[8]</sup>。已报道的致腐菌有霜霉目白秀科桃吉尔霉(*Gilbertella persicaria*)<sup>[9]</sup>、新暗色柱节孢(*Neoscytalidium dimidiatum*)<sup>[10-12]</sup>、仙人掌平脐蠕孢(*Bipolaris cactivora*)<sup>[13]</sup>、单隔镰刀菌(*Fusarium dimerum*)<sup>[14-15]</sup>。截至目前, 多数研究者对火龙果致腐菌的研究都只是停留在分离鉴定及化学防治等初级阶段, 而对致腐菌采取生物防腐措施的相关报道却很少。

芽孢杆菌能拮抗致腐菌主要是通过竞争、拮

抗、诱导植物抗病性等方法, 其中拮抗物质主要有抗生素、细菌素、抗菌蛋白、细胞壁降解酶类、挥发性抗菌物质。陈中义等发现抗生素由核糖体和非核糖体合成, 核糖体合成的有分子量抗菌多肽, 非核糖体合成的有脂肽类抗生素、多肽类抗生素、次生代谢产生的其他抗菌活性物质等<sup>[16]</sup>。陈楠楠等发现国内外研究脂肽类抗生素的抗菌物质多数鉴定为伊枯草菌素<sup>[17]</sup>。付瑞敏等研究发现解淀粉芽孢杆菌 BA-16 可产生 Surfactin 和 Fengycin 脂肽类抗生素, Fengycin 是拮抗扩展青霉的主要因素, 而 Surfactin 抑制效果不明显<sup>[18]</sup>, 曾欣等研究发现拮抗菌株贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*) B-11 能产伊枯草素、丰源素和表面活性素 3 种脂肽类抗生素, 其中伊枯草素的产量最高<sup>[19]</sup>。苏正川、张雪花等发现解淀粉芽孢杆菌能产种类繁多的抑菌物质, 可制成微生物杀菌剂和保鲜剂, 是一类应用较广的生防菌<sup>[20-21]</sup>; 史凤玉、黄曦等发现枯草芽孢杆菌无毒、无污染, 能产多种抗菌素和酶, 具有广谱抗菌性和强抗逆性, 是一种理想的生防菌<sup>[22-23]</sup>。

本试验从自然条件下完全腐烂的红心火龙果

上分离纯化出病原菌,利用形态学和分子生物学进行鉴定,并以芽孢杆菌为生物拮抗菌,主要采用解淀粉芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌和纳豆芽孢杆菌上清液作为拮抗菌液对火龙果致腐菌进行防治,以期延长火龙果常温贮藏保鲜期提供一定的理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

腐烂红心火龙果取样于贵州关岭县的新鲜红心火龙果(重量为 300–400 g);拮抗菌株为解淀粉芽孢杆菌 10075 和枯草芽孢杆菌 WB600、WB800、BS1A75、B16、BJ1-3、ZY4-5,均由贵州大学谢和老师惠赠;BJ3-2 为本实验室分离菌株,在 CGMCC 登记编号为 4256,登录号为 CP025941;RH3519 为本实验室融合菌株,在 CGMCC 登记编号为 4255;纳豆芽孢杆菌为本实验室分离菌株,在 CICC 登记编号为 10023;BS168 为模式菌株,其登录号为 AL009126。

### 1.2 主要试剂和仪器及培养基

氢氧化钠,成都金山化学试剂有限公司;Czapek Agar,青岛高科技工业园海博生物技术有限公司;氯化钠,成都金山化学试剂有限公司;Tryptone、Yeast extract、Agar Powder, Sigma 公司;TIANGEN DNasecure Plant Kit (DP320),天根生化科技(北京)有限公司;E.Z.N.A.TM Plasmid Mini Kit I, Omega Bio-Tek 公司。电热恒温培养箱,上海精宏实验设备有限公司;PCR 仪, Bio-Rad 公司;显微镜, Olympus 公司。

培养基:LB 培养基和 PDA 培养基参照文献[24]配制;CA 培养基:称取 Czapek Agar 5.0 g,加热溶解于蒸馏水定容至 100 mL,  $1 \times 10^5$  Pa 灭菌 20 min。

### 1.3 火龙果致腐微生物菌株分离与纯化

称取 25 g 自然条件下完全腐烂的红心火龙果,置于 225 mL 无菌生理盐水中,振荡 30 min,取 1 mL 稀释 6 个梯度( $10^{-1}$ – $10^{-6}$ ),分别涂布于 PDA 和 LB 固体平板上,每个梯度做 3 个平行,分别置于 28 °C 和 37 °C 培养 1–7 d,挑取不同形态的单菌落平板划

线纯化 3 次后,斜面 4 °C 保存致腐菌。

### 1.4 致腐菌回接火龙果试验

利用柯赫氏法则验证所筛菌株的致病性,回接火龙果。用水和 75%酒精依次擦拭火龙果表面各 3 次。将致腐菌制成菌液,回接新鲜无腐烂红心火龙果,做 3 个重复,以同量无菌水回接火龙果为对照组,晾干后置于室温贮藏,每隔 3 d 进行观察和记录。

此外,将致腐菌制成  $1 \times 10^7$  CFU/mL 孢子悬浮液,回接新鲜无腐烂红心火龙果,做 3 个重复,以同量无菌水回接火龙果为对照组,室温贮藏,每隔 3 d 进行观察和记录,最终选取致腐能力最强的致腐菌。

### 1.5 致腐菌鉴定

#### 1.5.1 形态鉴定

在 PDA 和 CA 固体培养基上观察真菌菌落形态、并利用乳酸石炭酸棉蓝染色液染色后于显微镜下进行形态学观察鉴定。菌落形态特征描述参照《真菌鉴定手册》<sup>[25]</sup>和《常见与常用真菌》<sup>[26]</sup>。

#### 1.5.2 分子鉴定

将保种致腐菌接种于 PDA 培养基上,于 28 °C 培养 7 d 后分别刮取菌落于 1.5 mL 离心管中,充分研磨后用 TIANGEN DNasecure Plant Kit (DP320)提取基因组,以致腐菌基因组 DNA 为模板进行 PCR 验证。采用真菌 rDNA ITS 通用引物 ITS-1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') 和 ITS-4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')<sup>[27]</sup> PCR 扩增约 400–700 bp 的目的片段;用细菌 16S rRNA 基因通用引物 27F (5'-AGAGTTTGTATCCTGGCTCAG-3') 和 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3')<sup>[28]</sup> PCR 扩增约 1 400 bp 的目的片段。以上引物均由华大基因科技有限公司合成。PCR 反应体系:2×Taq Master Mix 10 μL、上游引物 0.5 μL,下游引物 0.5 μL,模板 DNA 1 μL, ddH<sub>2</sub>O 8 μL。PCR 反应条件:94 °C 8 min; 94 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 40 s, 32 个循环; 72 °C 8 min。PCR 扩增产物用 1%琼脂糖凝胶电泳检测并进行胶回收。

用 T4 DNA 连接酶将 pGEMT-Easy 和目的片段

连接过夜, 转入 *E. coli* DH5 $\alpha$  感受态细胞中, 用 E.Z.N.A.TM Plasmid Mini Kit I 提取质粒。将阳性重组质粒送到深圳华大基因科技有限公司测序, 序列通过 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) BLAST 在线进行同源性序列比对, 利用 MEGA 7.0 构建系统发育树, 进化树的构建采用邻接法 (Neighbour-Joining Method)<sup>[29]</sup>。

### 1.6 平板抑菌试验

利用平板对峙法<sup>[30]</sup>测 11 株供试拮抗菌株对病原菌的作用。在 PDA 平板中央接种致腐菌, 离中心 2 cm 处接种拮抗菌, 以不接种拮抗菌株作为对照, 重复 3 次, 28 °C 倒置培养 10 d, 观察有无抑菌圈产生并用十字交叉法测抑菌圈直径, 计算抑制率。根据抑制率、抑菌圈直径大小初步确定最佳拮抗菌株。

将抑制效果最好的拮抗菌株接种于 5 mL LB 液体培养基中, 37 °C、180 r/min 培养 24 h, 按 2% 接种量接入 500 mL LB 中继续培养 48 h。将菌液 4 000 $\times$ g 离心 20 min, 上清液分别用 0.22  $\mu$ m 无菌滤膜过滤和 121 °C 热处理 20 min, 分别配制成 15%、30%、45%、60%、75%、90% 不同浓度上清液 PDA 培养基, 倒平板, 待完全凝固后将致腐菌菌丝块 (直径为 4 mm) 移至不同培养基上, 以 PDA 为对照组, 每个浓度做 3 个重复。28 °C 正置培养 8 d 后, 用十字交叉法测各个菌落的直径, 计算抑制率<sup>[31]</sup>。从而确定过滤除菌和热处理对致腐菌的抑制效果哪个最佳, 再用于后续火龙果离体接种试验。

抑制率(%)=(对照组菌落直径-处理组菌落直径)/对照组菌落直径 $\times$ 100。

### 1.7 火龙果离体接种试验

在平板对峙试验基础上, 选取抑制效果最好的拮抗菌株, 接种于 PDA 培养基, 37 °C、150 r/min 培养 48 h, 将 4 000 $\times$ g 离心 20 min 的上清液过滤除菌后喷涂到用无菌水和 75% 酒精各擦拭 3 次的无腐烂红心火龙果上、晾干。将病原菌 1 $\times$ 10<sup>7</sup> 个孢子悬浮液喷涂到火龙果上; 以不喷涂上清液作为对照组, 做 3 个重复。室温处理下每隔 3 d 进行观察, 记录病情指数<sup>[32]</sup>和防治效果<sup>[33]</sup>。

病情指数(%)=(发病级别 $\times$ 该级别发病数)/(调查总个数 $\times$ 最高病级别) $\times$ 100。

判定标准: 0 级: 无腐烂; 1 级: 接种腐烂面积<整个果体面积 20%; 2 级: 接种腐烂面积占整个果体面积 20%–50%; 3 级: 接种腐烂面积占整个果体面积 51%–75%; 4 级: 接种腐烂面积>整个果体面积 75%; 5 级: 整果腐烂。

防治效果(%)=(对照组病情指数-处理组病情指数)/对照组病情指数 $\times$ 100。

## 2 结果与分析

### 2.1 火龙果贮藏中致腐微生物的分离

从自然条件下完全腐烂的红心火龙果上共分离纯化出 60 株致腐菌株。初步判断其中细菌占 38.33%, 真菌占 61.67%。

### 2.2 致腐菌株回接火龙果

将 60 株致腐菌株回接到火龙果上, 贮藏 in 室温环境中 27 d 时, 发现 BP33、BP14、BP16、BP18、BP26、BP34、PB8、PB10、BP1、PB1、PBB1、PB5、BP25、BP15 这 14 株丝状真菌是所有致腐菌中导致火龙果腐烂程度较为严重的菌株, 并对各丝状真菌进行了镜检, 见图 1。

由图 1 的 M 和 N 可知, 在这 14 株丝状真菌中 BP15 和 BP25 导致火龙果腐烂最严重, 腐烂率达到 100%。可见, BP15 和 BP25 是火龙果常温贮藏中的主要致腐微生物。

### 2.3 致腐菌 B15 和 BP25 的鉴定

#### 2.3.1 形态鉴定

将 BP15 和 BP25 分别点种于 PDA 和 CA 固体培养基上, 28 °C 培养 14 d。BP15 和 BP25 正、反面菌落形态及显微结构见图 2 和图 3。BP15 在 PDA 上正面为灰绿色、边缘为白色, 反面为浅黄褐色; 在 CA 上正面中间为绿色、外部为白色, 反面为黄色。BP25 在 PDA 上正面中间为灰色、边缘为红色, 反面中间为黑色、边缘为红色; 在 CA 上正面中间为暗绿色、外部为白色, 反面中间为暗绿色、外部为白色。可见, BP15 和 BP25 在 PDA 和 CA 培养基上的菌落形态不一致, 但其显微结构是一致的。



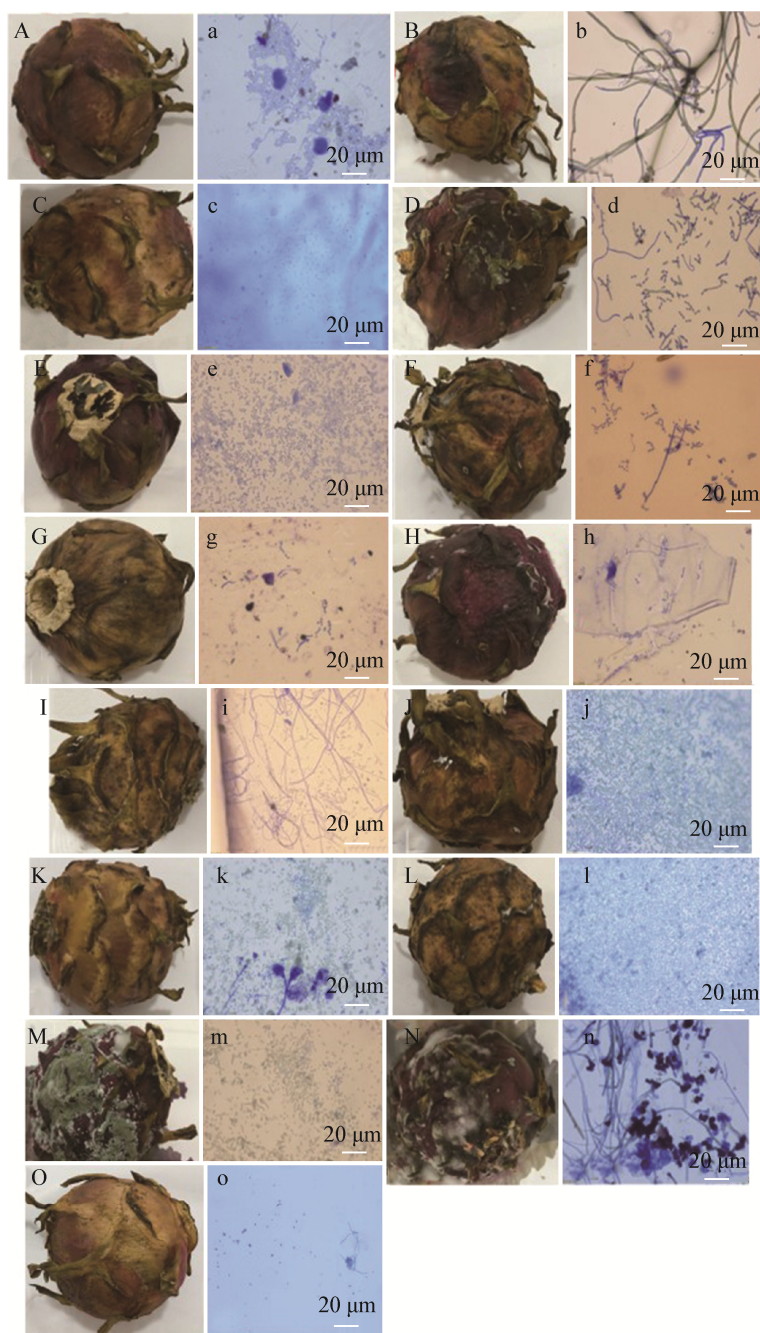


图1 贮藏27 d后的火龙果及侵染火龙果菌株的镜检图(100×)

**Figure 1 The dragon fruit after 27 days of storage and the microscope image of the infection strains of dragon fruit (100×)**

注: A-O: 致腐菌侵染的火龙果; a-o: 致腐菌镜检图。A、a: 菌株 BP14; B、b: 菌株 BP33; C、c: 菌株 BP5; D、d: 菌株 BP26; E、e: 菌株 BP18; F、f: 菌株 PB8; G、g: 菌株 BP34; H、h: 菌株 BP16; I、i: 菌株 PB10; J、j: 菌株 BP1; K、k: 菌株 PB1; L、l: 菌株 PBB1; M、m: 菌株 BP15; N、n: 菌株 BP25; O、o: 对照

Note: A-O: Dragon fruit infested by spoilage fungi; a-o: Microscope image of spoilage fungi. A, a: strain BP14; B, b: strain BP33; C, c: strain BP5; D, d: strain BP26; E, e: strain BP18; F, f: strain PB8; G, g: strain BP34; H, h: strain BP16; I, i: strain PB10; J, j: strain BP1; K, k: strain PB1; L, l: strain PBB1; M, m: strain BP15; N, n: strain BP25; O, o: Control

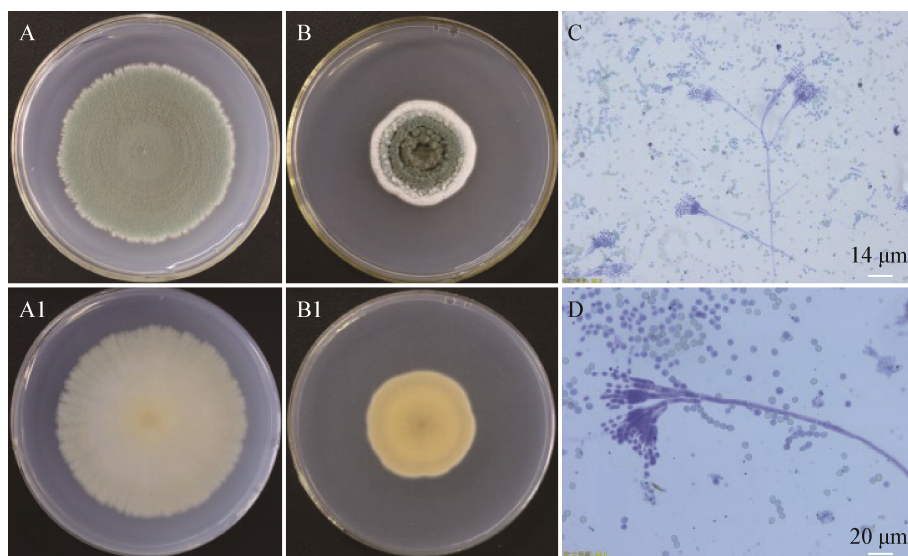


图2 菌株 BP15 的菌落形态和显微结构

Figure 2 Colony morphology and microstructure of strain BP15

注: A、A1: BP15 在 PDA 上的正面、反面; B、B1: BP15 在 CA 上的正面、反面; C、D: BP15 在 PDA、CA 上的显微结构

Note: A, A1: Front and back of BP15 on PDA; B, B1: Front and back of BP15 on CA; C, D: Microstructure of BP15 on PDA, CA

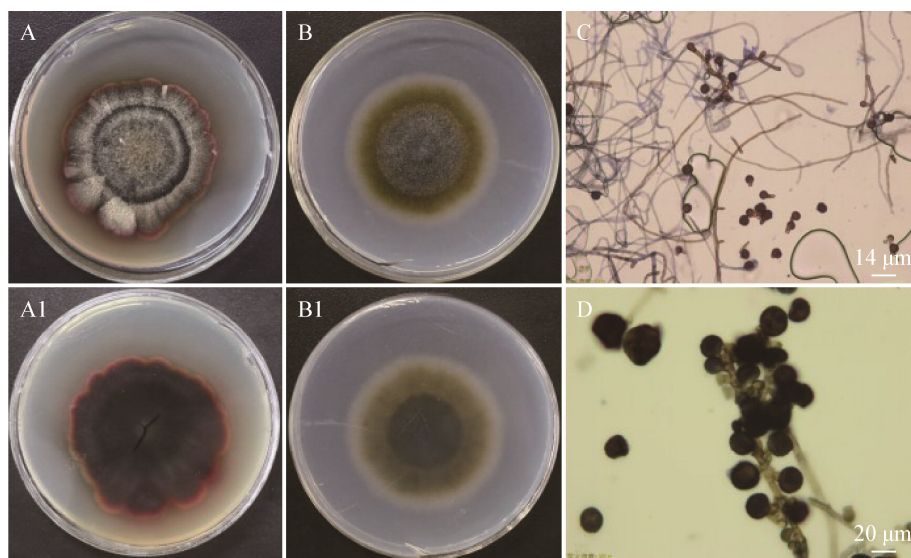


图3 菌株 BP25 的菌落形态和显微结构

Figure 3 Colony morphology and microstructure of strain BP25

注: A、A1: BP25 在 PDA 上的正面、反面; B、B1: BP25 在 CA 上的正面、反面; C、D: BP25 在 PDA、CA 上的显微结构

Note: A, A1: Front and back of BP25 on PDA; B, B1: Front and back of BP25 on CA; C, D: Microstructure of BP25 on PDA, CA

### 2.3.2 分子鉴定

经 1%琼脂糖凝胶电泳检测后发现 BP15 和 BP25 的基因组 PCR、重组菌落 PCR、重组质粒 PCR 条带均为 500–750 bp, 与预期的片段大小一

致。将 BP15 和 BP25 验证为阳性的重组质粒送出测序, 将测序结果提交到 GenBank, 通过 BLAST 比对后采用邻接法构建系统发育树, 见图 4 和图 5。

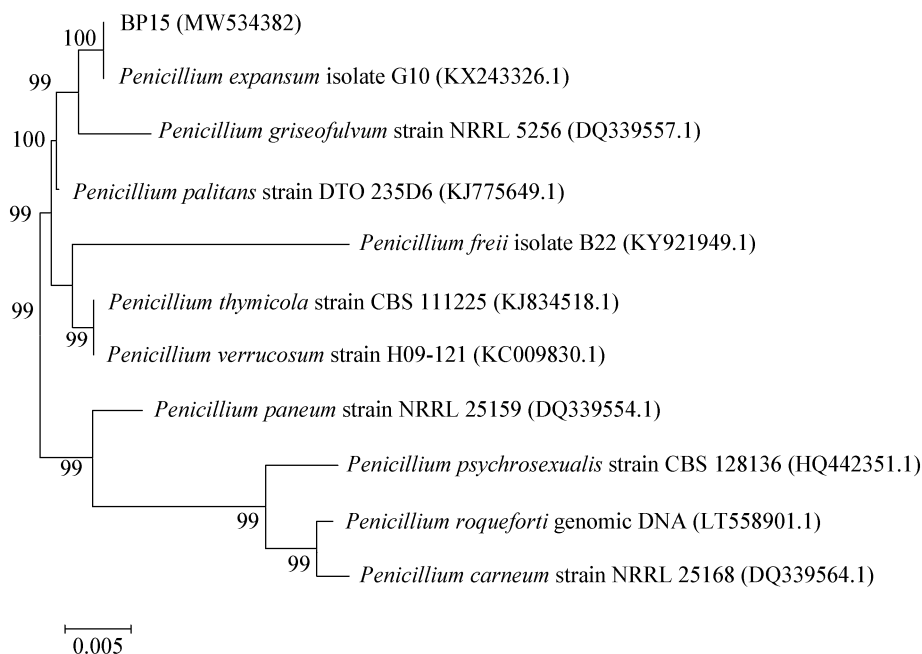


图 4 基于菌株 BP15 rDNA ITS 序列的系统发育树

Figure 4 Phylogenetic tree based on the rDNA ITS sequence of strain BP15

注：括号中数值为 GenBank 登录号；分支处标注有自展值；标尺 0.005 代表核苷酸替换率；下同

Note: Numbers in parentheses are GenBank accession numbers; The bootstrap values are shown at the nodes; The scale bar indicates 0.005 substitutions per nucleotide position. The same below

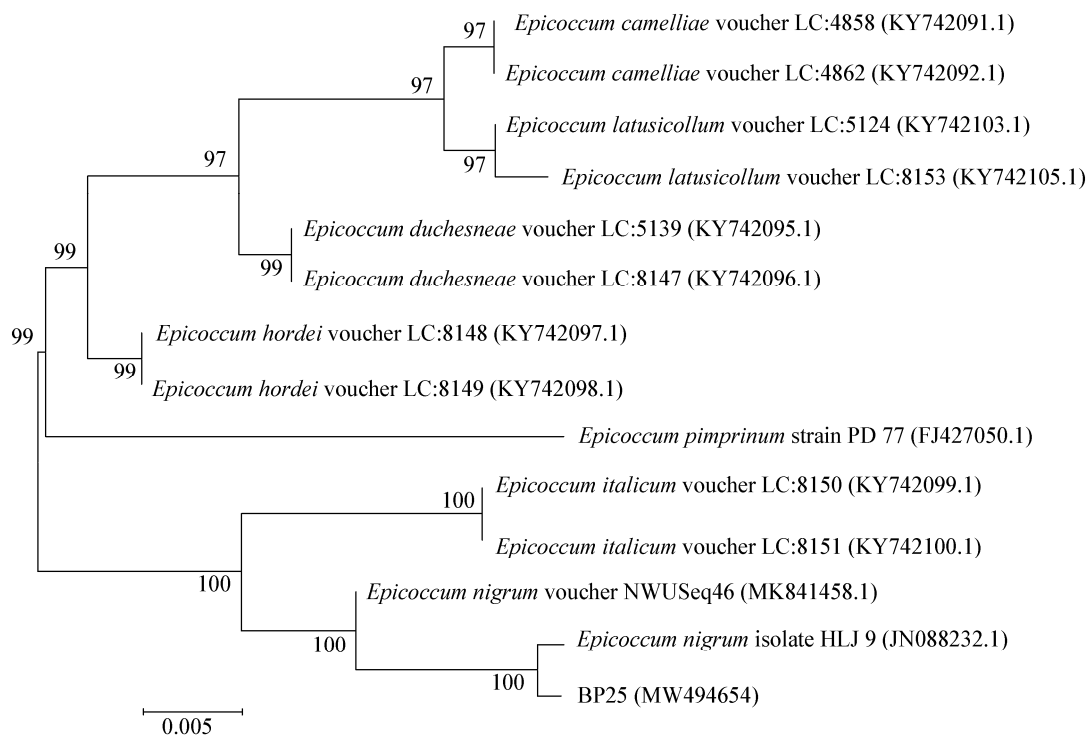


图 5 基于菌株 BP25 rDNA ITS 序列的系统发育树

Figure 5 Phylogenetic tree based on the rDNA ITS sequence of strain BP25



由图 4 和图 5 可知, 在 ITS 树中, BP15 与 *P. expansum* 以支持率为 100% 聚成一小支, BP25 与 *E. nigrum* 以支持率为 100% 聚成一小支。根据菌落形态和显微结构以及 ITS 可知, 菌株 BP15 属青霉属 (*Penicillium*) 中的扩展青霉 (*P. expansum*), 菌株 BP25 属附球属 (*Epicoccum*) 中的黑附球菌 (*E. nigrum*)。

## 2.4 致腐菌的平板对峙试验

### 2.4.1 不同芽孢杆菌对菌株 BP15 的拮抗试验

在 PDA 平板中央接种 BP15, 两侧接种拮抗菌株, 以不加拮抗菌株为对照, 筛选出最佳拮抗菌株, 见图 6。由图 6 可知, 解淀粉芽孢杆菌 10075 对菌株 BP15 的抑制率最显著(图 6A), 抑制率为 60.59%, 抑菌圈直径为 2.05 cm; 其次是枯草芽孢杆菌 B16、纳豆芽孢杆菌和枯草芽孢杆菌 BJ3-2 对菌株 BP15 的抑制率

较为显著(图 6B、6H、6D), 抑制率分别为 58.06%、40.42%、38.10%, 抑菌圈直径分别为 2.18、3.10、3.22 cm; 而其他的拮抗菌株抑制率均较弱或无抑制; 对照组的菌株 BP15 抑菌圈直径为 5.20 cm (图 6I)。

### 2.4.2 不同芽孢杆菌对菌株 BP25 的拮抗试验

在 PDA 平板中央接种 BP25, 四周接种拮抗菌, 以不加拮抗菌为对照, 筛选出最佳拮抗菌株, 见图 7。由图 7 可知, 解淀粉芽孢杆菌 10075 对菌株 BP25 的抑制率最显著(图 7A), 抑制率为 84.73%, 抑菌圈直径为 0.92 cm; 其次是枯草芽孢杆菌 B16 对菌株 BP25 的抑制率较为显著(图 7B), 抑制率为 83.30%, 抑菌圈直径为 1.00 cm; 而其他的拮抗菌株抑制率均较弱或无抑制; 对照组的菌株 BP25 抑菌圈直径为 6.00 cm (图 7L)。

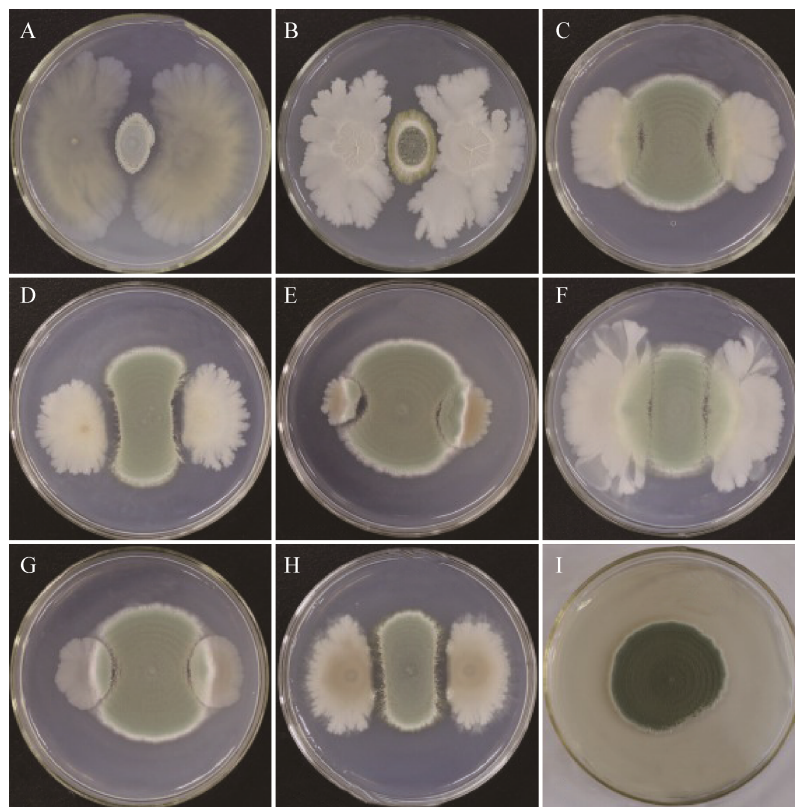


图 6 菌株 BP15 与不同芽孢杆菌的拮抗试验

Figure 6 Antagonistic test between strain BP15 and different *Bacillus*

注: A: 解淀粉芽孢杆菌 10075; B: 枯草芽孢杆菌 B16; C: 枯草芽孢杆菌 BJ1-3; D: 枯草芽孢杆菌 BJ3-2; E: 枯草芽孢杆菌 168; F: 枯草芽孢杆菌 RH3519; G: 枯草芽孢杆菌 WB800; H: 纳豆芽孢杆菌; I: 对照

Note: A: *Bacillus amyloliquefaciens* 10075; B: *Bacillus subtilis* B16; C: *Bacillus subtilis* BJ1-3; D: *Bacillus subtilis* BJ3-2; E: *Bacillus subtilis* 168; F: *Bacillus subtilis* RH3519; G: *Bacillus subtilis* WB800; H: *Bacillus natto*; I: Control

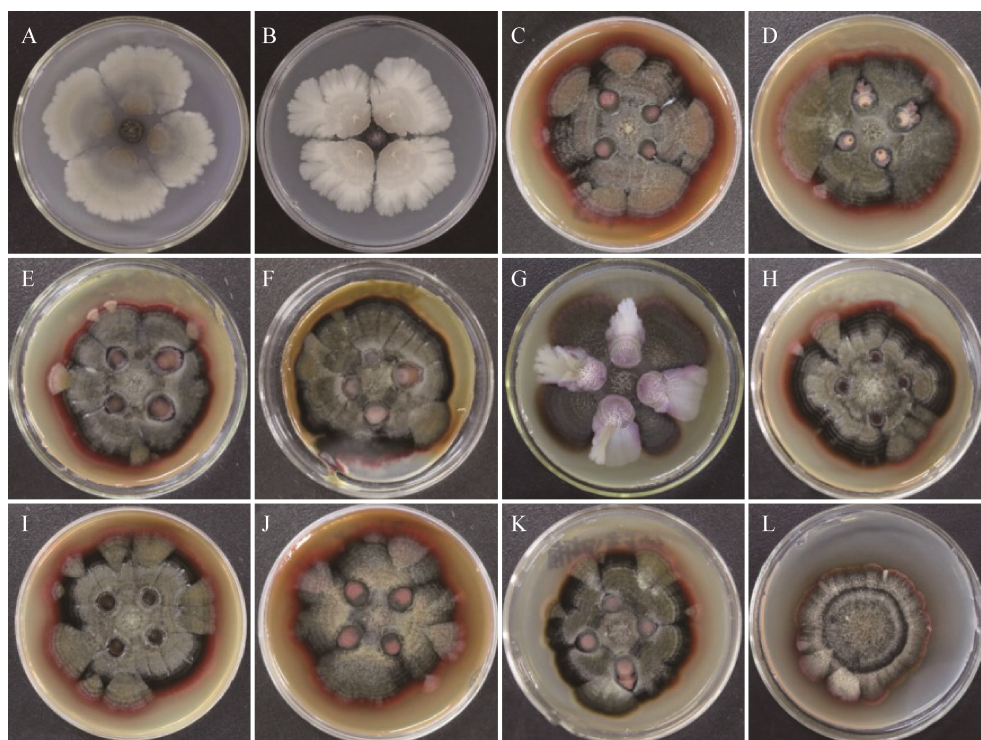


图 7 菌株 BP25 与不同芽孢杆菌的拮抗试验

Figure 7 Antagonistic test between strain BP25 and different *Bacillus*

注: A: 解淀粉芽孢杆菌 10075; B: 枯草芽孢杆菌 B16; C: 枯草芽孢杆菌 BJ1-3; D: 枯草芽孢杆菌 BJ3-2; E: 枯草芽孢杆菌 1A75; F: 枯草芽孢杆菌 168; G: 枯草芽孢杆菌 RH3519; H: 枯草芽孢杆菌 WB600; I: 枯草芽孢杆菌 WB800; J: 枯草芽孢杆菌 ZY4-5; K: 纳豆芽孢杆菌; L: 对照

Note: A: *Bacillus amyloliquefaciens* 10075; B: *Bacillus subtilis* B16; C: *Bacillus subtilis* BJ1-3; D: *Bacillus subtilis* BJ3-2; E: *Bacillus subtilis* 1A75; F: *Bacillus subtilis* 168; G: *Bacillus subtilis* RH3519; H: *Bacillus subtilis* WB600; I: *Bacillus subtilis* WB800; J: *Bacillus subtilis* ZY4-5; K: *Bacillus natto*; L: Control

由图 6 和图 7 的平板对峙试验可知, 对 BP15 和 BP25 的拮抗效果最佳的均为解淀粉芽孢杆菌 10075。

#### 2.4.3 不同浓度解淀粉芽孢杆菌 10075 上清液对菌株 BP15 的影响

不同浓度的 10075 热处理上清液和过滤除菌上清液分别对菌株 BP15 的抑菌活性差异显著, 见表 1 和表 2。由表 1 和表 2 可知, 10075 过滤除菌上清液对菌株 BP15 的最佳抑制率为 54.32%、抑菌圈直径为 0.62 cm, 而 10075 热处理上清液对 BP15 的最佳抑制率为 53.02%、抑菌圈直径为 0.82 cm。

#### 2.4.4 不同浓度解淀粉芽孢杆菌 10075 上清液对菌株 BP25 的影响

不同浓度的 10075 热处理上清液和过滤除菌上

清液分别对菌株 BP25 的抑菌活性差异显著, 见表 3 和表 4。由表 3 和表 4 可知, 10075 过滤除菌上清液对菌株 BP25 的最佳抑制率为 90.00%、抑菌圈直径为 0.40 cm, 而 10075 热处理上清液对 BP25 的最佳抑制率为 77.57%、抑菌圈直径为 0.90 cm。

由表 1、表 2、表 3 和表 4 可知, 稀释浓度为 90% 的 10075 过滤除菌上清液对 BP15 和 BP25 的抑制效果最佳。

#### 2.4.5 火龙果离体接种试验

在平板对峙试验基础上, 选取稀释浓度为 90% 的 10075 过滤除菌上清液对菌株 BP15 和 BP25 做火龙果离体接种试验, 处理时间为 3、5、8、10 d。其病情指数和防治效果均呈现不同程度的变化, 见表 5。由表 5 可知, 贮藏 3 d, 各个处理组火龙果均

表 1 不同浓度解淀粉芽孢杆菌 10075 热处理上清液对菌株 BP15 的抑制率

Table 1 Inhibitory effect of different concentrations of heat-treated supernatant of *B. subtilis* 10075 on strain BP15

10075 heat treatment (%)	Diameter (cm)	Inhibition rate (%)
15	1.82±0.46Aa	0.34±20.76Ab
30	1.45±0.26Aab	17.17±14.27Aab
45	1.53±0.15Aab	13.34±3.98Aab
60	1.47±0.19Aab	14.59±16.44Aab
75	0.88±0.04Ab	49.21±5.48Aa
90	0.82±0.02Ab	53.02±4.89Aa

注：表中的数值为平均值±标准误，不同小写字母表示不同处理下的显著性差异( $P<0.05$ ),不同大写字母表示不同处理下的极显著性差异( $P<0.01$ )

Note: The values in the table are average values ± standard errors. Different lowercase letters indicate significant differences under different treatments ( $P<0.05$ ), and different capital letters indicate extremely significant differences under different treatments ( $P<0.01$ )

表 2 不同浓度解淀粉芽孢杆菌 10075 过滤除菌上清液对菌株 BP15 的抑制率

Table 2 Inhibitory effect of different concentrations of filtration supernatant of *B. subtilis* 10075 on the strain BP15

10075 filter sterilization (%)	Diameter (cm)	Inhibition rate (%)
15	1.63±0.12Aab	5.86±12.09Ab
30	1.80±0.28Aa	4.55±20.82Ab
45	1.58±0.12ABab	10.19±3.03Aab
60	1.55±0.13ABab	12.20±3.42Aab
75	0.70±0.13Bc	53.21±12.02Aa
90	0.62±0.03ABbc	54.32±5.11Aab

注：表中的数值为平均值±标准误，不同小写字母表示不同处理下的显著性差异( $P<0.05$ ),不同大写字母表示不同处理下的极显著性差异( $P<0.01$ )

Note: The values in the table are average values±standard errors. Different lowercase letters indicate significant differences under different treatments ( $P<0.05$ ), and different capital letters indicate extremely significant differences under different treatments ( $P<0.01$ )

表 5 火龙果离体接种试验结果

Table 5 The results of *in vitro* inoculation test of dragon fruit

Deal with	3 d		5 d		8 d		10 d	
	Disease index (%)	Control effect (%)	Disease index (%)	Control effect (%)	Disease index (%)	Control effect (%)	Disease index (%)	Control effect (%)
BP15-control group	0	—	20.00	—	56.00	—	80.00	—
BP15-10075	0	0	20.00	0	28.00	50.00	52.00	35.00
BP25-control group	0	—	40.00	—	64.00	—	84.00	—
BP25-10075	0	0	20.00	50.00	32.00	50.00	52.00	38.10

注：—：无防治效果；BP15-control group 和 BP25-control group 均为对照组，BP15-10075 和 BP25-10075 均为试验组

Note: —: No control effect; BP15-control group and BP25-control group are both control groups, BP15-10075 and BP25-10075 are both experimental groups

表 3 不同浓度解淀粉芽孢杆菌 10075 热处理上清液对菌株 BP25 的抑制率

Table 3 Inhibitory effect of different concentrations of heat-treated supernatant of *B. subtilis* 10075 on strain BP25

10075 heat treatment (%)	Diameter (cm)	Inhibition rate (%)
15	2.80±0.03Aa	29.98±1.13Ee
30	2.33±0.02Bb	41.65±0.63Dd
45	2.28±0.06Bb	42.94±0.82Dd
60	1.85±0.09Cc	53.74±2.27Cc
75	1.45±0.08Dd	63.77±1.66Bb
90	0.90±0.16Ee	77.57±3.80Aa

注：表中的数值为平均值±标准误，不同小写字母表示不同处理下的显著性差异( $P<0.05$ ),不同大写字母表示不同处理下的极显著性差异( $P<0.01$ )

Note: The values in the table are average values ± standard errors. Different lowercase letters indicate significant differences under different treatments ( $P<0.05$ ), and different capital letters indicate extremely significant differences under different treatments ( $P<0.01$ )

表 4 不同浓度解淀粉芽孢杆菌 10075 过滤除菌上清液对菌株 BP25 的抑制率

Table 4 Inhibitory effect of different concentrations of filtration supernatant of *B. subtilis* 10075 on the strain BP25

10075 filter sterilization (%)	Diameter (cm)	Inhibition rate (%)
15	2.87±0.04Aa	28.34±0.36Ee
30	2.35±0.03Bb	41.25±0.38Dd
45	1.78±0.04Cc	55.38±1.62Cc
60	1.75±0.00Cc	56.24±0.54Cc
75	1.03±0.12Dd	74.10±3.16Bb
90	0.40±0.00Ee	90.00±0.12Aa

注：表中的数值为平均值±标准误，不同小写字母表示不同处理下的显著性差异( $P<0.05$ ),不同大写字母表示不同处理下的极显著性差异( $P<0.01$ )

Note: The values in the table are average values ± standard errors. Different lowercase letters indicate significant differences under different treatments ( $P<0.05$ ), and different capital letters indicate extremely significant differences under different treatments ( $P<0.01$ )

无腐烂迹象；贮藏 5 d，对照组火龙果的病情指数均不低于 20%，试验组病情指数均未超过 20%，对 BP25 的防治效果优于 BP15 且高 50%；贮藏 8 d，对照组火龙果的病情指数均高于 55%，试验组病情指数均未超过 32%，防治效果均不低于 50%；贮藏 10 d，对照组火龙果病情指数均高达 80%，试验组病情指数均未超过 52%，防治效果均高于 30%。可见，随着贮藏时间的延长，稀释浓度为 90% 的 10075 过滤除菌上清液对 BP15 和 BP25 的防治效果反而降低，推测可能是因为贮藏时间长了，其他病原微生物也会随之附着于火龙果表面，导致防腐效果降低。

### 3 讨论与结论

有相关研究报道，造成食品腐败变质的菌是以青霉属为主，如杨文侠等在柑橘、脐橙、苹果、猕猴桃以及鲜枣等多种果蔬上可以分离出青霉属<sup>[34]</sup>；姚婷等研究发现樱桃果实上的青霉病主要是扩展青霉，同时黑附球菌也可侵染樱桃果实<sup>[35]</sup>；王俊丽等研究发现黑附球菌是引起火龙果赤斑病的主要病因<sup>[36]</sup>。本研究从自然条件下完全腐烂的红心火龙果上共分离纯化出 60 株致腐菌，细菌占 38.33%，真菌占 61.67%。其中有 2 株致腐菌是导致火龙果腐烂最严重的，在常温下贮藏 27 d 腐烂率达到 100%。对这 2 株致腐菌进行形态学、分子生物学、生物信息学等分析方法鉴定后，发现 BP15 是青霉属(*Penicillium*)中的扩展青霉(*P. expansum*)、BP25 是附球属(*Epicoccum*)中的黑附球菌(*E. nigrum*)。

在果腐病防治方面，国内外常用的有低温、涂膜和化学等方法，主要对果实生理代谢进行调控、抑制或杀死水果表面的病原微生物，而本研究主要采用生物防腐方法。选用 11 株供试菌株，经平板拮抗试验显示只有解淀粉芽孢杆菌 10075 对 BP15 和 BP25 的防腐效果最好。将 10075 上清液经过滤除菌和热处理后分别配制成不同浓度的 PDA 培养基，再将致腐菌菌丝块移至 PDA 上，结果发现过滤除菌上清液防腐效果高于热处理，推测可能是因

为高温处理后导致上清液中多数拮抗物质发生了变性，而用无菌滤膜处理后的上清液中可能富含脂肽抗生素、细菌素和细胞壁降解酶类等拮抗物质，但具体防治机制有待进一步研究。

根据各稀释浓度的抑制效果，最后选用稀释浓度为 90% 的 10075 过滤除菌上清液喷涂火龙果 10 d，结果显示其防治效果均高于 30%，而对照组的病情指数均高达 80%。因此，可将稀释浓度为 90% 的 10075 过滤除菌上清液喷淋或浸泡于火龙果表面，为火龙果采摘、运输和室温储藏等实际生产中提供了最捷、最佳的防腐措施，对降低火龙果实际损耗率、提高果农和生产企业的收益具有一定的理论指导意义。

### REFERENCES

- [1] Qiao Q, Yu Y, Wang JY, Tao JH. *Hylocereus undulatus*: research progress and introduction feasibility in North China[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2020, 36(25): 53-59 (in Chinese)  
乔谦, 于泳, 王江勇, 陶吉寒. 火龙果研究进展及北方引种可行性分析[J]. 中国农学通报, 2020, 36(25): 53-59
- [2] Ye YX, Zhu JY, Ye YC, Zhao XQ, Wang ZH. Primary report on selection of pitaya[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2009, 36(8): 99-102 (in Chinese)  
叶耀雄, 朱剑云, 叶永昌, 赵晓勤, 王泽槐. 火龙果选育试验初报[J]. 广东农业科学, 2009, 36(8): 99-102
- [3] Tenore GC, Novellino E, Basile A. Nutraceutical potential and antioxidant benefits of red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) extracts[J]. Journal of Functional Foods, 2012, 4(1): 129-136
- [4] Mahattanatawee K, Manthey JA, Luzio G, Talcott ST, Goodner K, Baldwin EA. Total antioxidant activity and fiber content of select Florida-grown tropical fruits[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(19): 7355-7363
- [5] Rivera JAC, Duarte LEB, Narvaez-Cuenca CE. Catalase, peroxidase and polyphenoloxidase from pitahaya amarilla fruits (*Acanthocereus pitajaya*)[J]. Revista Colombiana de Química, 2006, 35(1): 91-100
- [6] Wang WJ, Tang DB, Cao QM, Zou B, Yu YS. Research advancement of nutritional value and processing of pitaya[J]. Food and Nutrition in China, 2019, 25(4): 27-30 (in Chinese)  
王蔚婕, 唐道邦, 曹清明, 邹波, 余元善. 火龙果的营养价值及加工现状[J]. 中国食物与营养, 2019, 25(4): 27-30
- [7] Li J, Zhu HB, Yuan XQ, Yue XY. Study on nutritional composition and healthy function of pitaya fruit[J]. Modern Food, 2020, 5(10): 26-28 (in Chinese)



- 李靓, 朱涵彬, 袁晓晴, 岳晓禹. 火龙果营养成分及保健功能的研究[J]. 现代食品, 2020, 5(10): 26-28
- [8] Li JY, Gao XY. Research progress on the detection of key pathogenic microorganisms of fruit spoilage[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2016, 7(9): 3510-3515 (in Chinese)  
李俊英, 高喜源. 水果腐败关键病原微生物检测研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(9): 3510-3515
- [9] Guo LW, Wu YX, He HX, Mao ZC, He PB, He YQ. A new fruit rot disease in *Hylocereus costaricensis* in Yunnan Province of China[J]. Journal of Fruit Science, 2014, 31(1): 111-114
- [10] Wang HH. Identification, biological characteristics and laboratory fungicides screening of pitaya two kinds of pathogens[D]. Haikou: Master's Thesis of Hainan University, 2016 (in Chinese)  
王会会. 火龙果两种病害的病原菌鉴定、生物学特性研究和室内药剂筛选[D]. 海口: 海南大学硕士学位论文, 2016
- [11] Lu ZX, Lu XP, Qin BH, Cheng MH, Huang LD, Chen BS, Liao YM. Identification of pathogen of pitaya stem canker disease in Fangchenggang city of Guangxi[J]. Journal of Southern Agriculture, 2015, 46(9): 1606-1612 (in Chinese)  
陆志翔, 陆小平, 秦斌华, 成美华, 黄林丹, 陈保善, 廖咏梅. 广西防城港市火龙果茎溃疡病病原鉴定[J]. 南方农业学报, 2015, 46(9): 1606-1612
- [12] Zheng YF. Preliminary studies of biological characteristics of pitaya *Neoscytalidium dimidiatum* and prevention and control of indoor[D]. Ya'an: Master's Thesis of Sichuan Agricultural University, 2015 (in Chinese)  
郑运锋. 火龙果溃疡病菌生物学特性及室内防治初步研究[D]. 雅安: 四川农业大学硕士学位论文, 2015
- [13] Zhang LP, Yuan QF, Xie P, Wang Y, Wang B. Isolation and identification of major pathogens of postharvest pitaya fruit disease and screening of bacteriostasis of plant essential oil in Guizhou province[J]. Guizhou Agricultural Sciences, 2019, 47(11): 58-63 (in Chinese)  
张绿萍, 袁启凤, 解璞, 王宇, 王彬. 贵州火龙果采后病害主要病原菌分离鉴定及抑菌植物精油筛选[J]. 贵州农业科学, 2019, 47(11): 58-63
- [14] Cui ZJ, Wang YW, Yu Y, Xu L. Pathogens analysis of soft rot disease of imported pitaya in Shanghai[J]. Microbiology China, 2011, 38(10): 1499-1506 (in Chinese)  
崔志婧, 王奕文, 于岳, 许玲. 上海市进口火龙果软腐病病害分析[J]. 微生物学通报, 2011, 38(10): 1499-1506
- [15] Zhu YY, Gao ZY, Li M, Chen L, Hu MJ. Identification and biological characteristics of dragon fruit (*Hylocereus undatus* Britt) fusarium rot pathogen[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2016, 37(1): 164-171 (in Chinese)  
朱迎迎, 高兆银, 李敏, 陈亮, 胡美姣. 火龙果镰刀菌果腐病病原菌鉴定及生物学特性研究[J]. 热带作物学报, 2016, 37(1): 164-171
- [16] Chen ZY, Zhang J, Huang DF. Research progress on antimicrobial mechanism and genetic engineering of *Bacillus* for plant diseases biocontrol[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2003, 33(2): 97-103 (in Chinese)  
陈中义, 张杰, 黄大昉. 植物病害生防芽孢杆菌抗菌机制与遗传改良研究[J]. 植物病理学报, 2003, 33(2): 97-103
- [17] Chen NN, Qin PW, Yin JY, Wang Y, Shi TR, Liu Y, Mo Y. Progress in research on antibacterial mechanisms of *Bacillus amylolyticus*[J]. Chinese Journal of Microecology, 2018, 30(12): 1464-1469 (in Chinese)  
陈楠楠, 秦平伟, 尹珺伊, 王岩, 史同瑞, 刘宇, 莫岩. 解淀粉芽孢杆菌抗菌机制研究进展[J]. 中国微生态学杂志, 2018, 30(12): 1464-1469
- [18] Fu RM, Yu F, Chang HP, Zhang H, Chen WL. Isolation, identification and characterization of an antagonistic bacterium against *Penicillium expansum*[J]. Microbiology China, 2016, 43(8): 1715-1724 (in Chinese)  
付瑞敏, 于烽, 常慧萍, 张红, 陈五岭. 一株扩展青霉拮抗菌的分离、鉴定及抑菌活性物质[J]. 微生物学通报, 2016, 43(8): 1715-1724
- [19] Zeng X, Zhang YH, Chi HR, Sun ZY, Chen WL, Mao BZ. Antimicrobial activity of endophytic bacterium strain B-11 isolated from *Curcuma wenyujin*[J]. Microbiology China, 2019, 46(5): 1018-1029 (in Chinese)  
曾欣, 张亚惠, 迟惠荣, 孙钟毓, 陈卫良, 毛碧增. 温郁金内生拮抗细菌 B-11 的分离及其抑菌活性[J]. 微生物学通报, 2019, 46(5): 1018-1029
- [20] Su ZC, Xiong RK, Luo XY. Function and product development of *Bacillus amyloliquefaciens*[J]. Pesticide Science and Administration, 2019, 40(6): 21-30 (in Chinese)  
苏正川, 熊仁科, 罗小艳. 解淀粉芽孢杆菌的作用及其产品开发[J]. 农药科学与管理, 2019, 40(6): 21-30
- [21] Zhang XH, Li LL, Cheng H, Ai YH, Wang H, Cheng SY. Characterizing a novel strain of *Bacillus amyloliquefaciens* CMN1308 for potential biological control in pathogenic bacterium[J]. Northern Horticulture, 2016(2): 117-121 (in Chinese)  
张雪花, 李琳玲, 程华, 艾远航, 王晖, 程水源. 解淀粉芽孢杆菌 CMN1308 抗真菌特性研究[J]. 北方园艺, 2016(2): 117-121
- [22] Shi FY, Zhu YB, Ji ZX, Song SQ. Inhibiting effect of *Bacillus subtilis* QDH-1-1 on blue mold in postharvest apple[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2007, 7(4): 80-84 (in Chinese)  
史凤玉, 朱英波, 吉志新, 宋士清. 枯草芽孢杆菌 QDH-1-1 对采后苹果青霉病的抑制效果[J]. 中国食品学报, 2007,



- 7(4): 80-84
- [23] Huang X, Xu LL, Huang RS, Huang SS. Research advance in controlling plant diseases by *Bacillus subtilis*[J]. Biotechnology Bulletin, 2010(1): 24-29 (in Chinese)  
黄曦, 许兰兰, 黄荣韶, 黄庶识. 枯草芽孢杆菌在抑制植物病原菌中的研究进展[J]. 生物技术通报, 2010(1): 24-29
- [24] Sambrook J, Russell DW. Molecular Cloning: A Laboratory Manual[M]. 3rd ed. Beijing: Science Press, 2002
- [25] Wei JC. Fungus Identification Manual[M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1979 (in Chinese)  
魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1979
- [26] Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences. Common and Commonly Used Fungi[M]. Beijing: Science Press, 1973 (in Chinese)  
中国科学院微生物研究所. 常见与常用真菌[M]. 北京: 科学出版社, 1973
- [27] Huang R. Isolation, identification and control of spoilage microorganisms from *Chaenomeles speciosa* (sweet) Nakai[D]. Tai'an: Master's Thesis of Shandong Agricultural University, 2020 (in Chinese)  
黄荣. 皱皮木瓜腐败微生物的分离鉴定及控制[D]. 泰安: 山东农业大学硕士学位论文, 2020
- [28] Zhi XJ, Hao YF, Tong QG, Wu J, Du B. Isolation and identification of spoilage microorganisms from the *Swan* eggs[J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(7): 101-104, 109 (in Chinese)  
智秀娟, 郝艳芳, 仝其根, 伍军, 杜斌. 天鹅蛋中主要致腐微生物的分离与鉴定[J]. 食品工业科技, 2016, 37(7): 101-104, 109
- [29] Huang YZ, Ren N, Xu Y, Wu LY, Dong BX, Zhu SD, Yang JF, Chen JG. Isolation and identification of potential lignin-degrading bacteria in sediments from 50 stations of the Pelagic Ocean[J]. Microbiology China, 2021, 48(4): 1080-1092 (in Chinese)  
黄一哲, 任娜, 徐莹, 吴李园, 董冰夏, 朱四东, 杨季芳, 陈吉刚. 远海 50 个站位沉积物中潜在木质素降解菌的分离与鉴定[J]. 微生物学通报, 2021, 48(4): 1080-1092
- [30] Tu CH, Qin W, Hu XJ, Li SQ. Isolation and identification of an antagonistic bacteria of *Aspergillus flavus*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2011, 32(4): 182-184, 188 (in Chinese)  
涂彩虹, 秦文, 胡欣洁, 李素清. 一株黄曲霉拮抗细菌的分离筛选及鉴定[J]. 食品工业科技, 2011, 32(4): 182-184, 188
- [31] Tian CL, Chen YB, Liu L, Lu CY. Bacteriostatic effects of chitosan against *Penicillium italicum* Wehmer and *P. digitatum* Sacc[J]. Food Science, 2008, 29(12): 110-112 (in Chinese)  
田春莲, 陈阳波, 刘亮, 卢成瑛. 壳聚糖对柑橘青、绿霉病原菌的抑菌效果研究[J]. 食品科学, 2008, 29(12): 110-112
- [32] Gu PW, Zhang GD, Wang HR, Ding B. Determination and control of the main pathogens of post-harvest fruit and vegetables rot disease in Ningxia[J]. Journal of Agricultural Sciences, 2012, 33(1): 1-6 (in Chinese)  
顾沛雯, 张光弟, 王华荣, 丁波. 果蔬采后致腐病菌检测及防治[J]. 农业科学研究, 2012, 33(1): 1-6
- [33] Xu DM, Zhang YN, Zhang L, Li J, Mao LG, Jiang HY. Evaluation on the control effect of sodium carbonate and sodium bicarbonate against blue mold of *Citrus*[J]. Food Science and Technology, 2016, 41(8): 254-258 (in Chinese)  
徐冬梅, 张燕宁, 张兰, 李娇, 毛连刚, 蒋红云. 碳酸钠和碳酸氢钠对柑橘青霉病的防治效果评价[J]. 食品科技, 2016, 41(8): 254-258
- [34] Yang WX, Deng LZ, Zhou L, Zhong BL, Lai TM, Chun J. Screening of plant extracts for fungistasis to *Penicillium italicum* of navel orange[J]. Food Science and Technology, 2013, 38(12): 238-241 (in Chinese)  
杨文侠, 邓利珍, 周亮, 钟八莲, 赖特明, Chun J. 植物提取液对脐橙致腐青霉菌的抑菌研究[J]. 食品科技, 2013, 38(12): 238-241
- [35] Yao T, Huang JJ, Ren XF, Zhang Y, He XM, Wang YS. Morphological characterization and rDNA ITS sequence analysis of five pathogenic fungi isolated from cherry fruits[J]. Food Science, 2017, 38(22): 74-79 (in Chinese)  
姚婷, 黄津津, 任向峰, 张燕, 何欣萌, 王友升. 5 株樱桃果实采后病原真菌分离及 rDNA ITS 区序列分析[J]. 食品科学, 2017, 38(22): 74-79
- [36] Wang JL, Ren JG, Liu HM. Identification of the pathogen causing pitaya stem disease[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2014, 30(10): 307-311 (in Chinese)  
王俊丽, 任建国, 刘红美. 一种引起火龙果茎病害的病原菌鉴定[J]. 中国农学通报, 2014, 30(10): 307-311