



引用格式: 马伟东, 李硕, 王晨晨, 等. 常见植物真菌性病害拮抗酵母菌的筛选与鉴定[J]. 轻工学报, 2020, 35(3): 11-18.

中图分类号: TS255.1; TS41 文献标识码: A

DOI: 10.12187/2020.03.002

文章编号: 2096-1553(2020)03-0011-08

常见植物真菌性病害拮抗酵母菌的筛选与鉴定

Screening and identification of common plant fungal disease antagonistic yeast

马伟东¹, 李硕², 王晨晨², 刘溢彩², 张畅², 吴昊², 田寅²,
张俊杰²

MA Weidong¹, LI Shuo², WANG Chenchen², LIU Yicai², ZHANG Chang²,
WU Hao², TIAN Yin², ZHANG Junjie²

1. 南阳市镇平县农业推广站, 河南 南阳 474250;

2. 郑州轻工业大学 食品与生物工程学院, 河南 郑州 450001

1. Zhenping County Agricultural Extension Station in Nanyang City, Nanyang 474250, China;

2. College of Food and Bioengineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China

关键词:
植物真菌性病害;
拮抗酵母菌;
平板对峙法

Key words:
plant fungal disease;
antagonistic yeast;
plate confrontation
method

摘要: 针对黄瓜枯萎病病原菌(黄瓜尖孢镰刀菌)、烟草赤星病病原菌(赤星霉菌)和紫云英根腐病病原菌(紫云英根腐病菌)3种常见植物真菌性病害,采用平板对峙法,从已分离保存的81株酵母菌中筛选出具有较强拮抗作用的10株酵母菌,通过形态学特征、生理生化特征、基因测序分析以确定其分类学地位。结果表明:酵母菌 WYCCW10371 对黄瓜尖孢镰刀菌拮抗效果最好,其抑菌率为46.2%,该菌株被鉴定为 *Hanseniaspora vineae*;酵母菌 WYCCW10196 对赤星霉菌拮抗效果最好,其抑菌率为30.6%,该菌株被鉴定为 *Starmerella bacillaris*;酵母菌 WYCCW11142 对紫云英根腐病菌拮抗效果最好,其抑菌率为20.7%,该菌株被鉴定为 *Pichia terricola*。

收稿日期: 2020-02-07

作者简介: 马伟东(1972—),男,河南省镇平县人,南阳市镇平县农业推广站高级农艺师,主要研究方向为土壤肥料研究与实践。

通信作者: 张俊杰(1984—),男,河南省汝州市人,郑州轻工业大学副教授,博士,主要研究方向为功能微生物生态与应用。

Abstract: For 3 common plant fungal diseases of cucumber fusarium wilt pathogen (cucumber fusarium oxysporum), tobacco brown spot pathogen (red star mould) and Chinese milk vetch root rot pathogen (Chinese milk vetch root rot fungus), 10 yeast strains with strong antagonistic effect were screened out from 81 isolated and preserved yeast strains by plate confrontation method. The classification status of the yeast strains was determined by analyzing morphological characteristics, physiological and biochemical characteristics and gene sequencing analysis. The results showed that WYCCW10371 had the best antagonistic effect against the cucumber fusarium oxysporum, its bacteriostatic rate was 46.2%, which was identified as *Hanseniaspora vineae*; WYCCW10196 had the best antagonistic effect against the red star mould, its bacteriostatic rate was 30.6%, which was identified as *Starmerella bacillusaris*; WYCCW11142 had the best antagonistic effect against the Chinese milk vetch root rot fungus, its bacteriostatic rate was 20.7%, which was identified as *Pichia terricola*.

0 前言

由真菌引起的植物病害在全球范围内都较为常见^[1]. 针对植物病害的主要防治手段是施加化学农药^[2-6], 而这一措施会造成致病菌产生抗药性、农药残留等问题^[7], 因此, 生物防治的理念越来越受到业界的重视. 生物防治主要是利用拮抗微生物及其代谢产物对植物病害病原菌产生抑制作用, 从而削弱病原菌致病力, 达到防治效果^[8]. 生物防治由于具有不污染环境、不使致病菌产生抗药性等优点而成为近年来农作物病虫害防治的研究热点^[9-11].

果蔬等在生长、采摘、运输、贮藏等过程中若处理不当, 易腐烂变质, 而真菌性病原菌是引起果蔬等腐烂的主导因素^[12-13]. 黄瓜枯萎病是由黄瓜尖孢镰刀菌引起的土传真菌性病害, 可严重影响黄瓜的水分含量^[14], 进而影响黄瓜的品质和产量^[15]. 目前已报道的对黄瓜枯萎病病原菌(黄瓜尖孢镰刀菌)具有生物防治潜力的微生物主要有假单胞菌属、链霉菌^[10]、芽孢杆菌^[16]、细菌^[17]等. 烟草赤星病(又称赤斑病)是一种由半知菌亚门链格孢属赤星霉菌侵染引起的主要危害烟叶的真菌性病害^[18-20]. 目前已报道的对烟草赤星病病原菌(赤星霉菌)具有生物防治潜力的微生物主要有芽孢杆菌、放线菌等^[21-23]. 在田间, 生物防治菌剂对烟草赤星病已具有很好的应用效果^[24]. 紫云英根腐病是由

紫云英根腐病原菌(紫云英根腐病菌)引起的一种真菌性病害, 是造成紫云英产量减少的重要病症之一.

酵母菌对植物真菌性病原菌具有拮抗效果, 同时具有防治效果好、不污染环境、繁殖速度快、遗传稳定、不威胁人类健康等优点^[12,25-26]. 农作物果实采摘后, 使用酵母菌替代化学农药防治植物真菌性病害, 已成为二战后世界各国农作物病虫害防治的研究热点之一. 拮抗酵母菌、植物真菌性病害病原菌与宿主植物可相互影响, 同时, 拮抗酵母菌的生物防治效果也是多种机制共同作用的结果^[27]: 一是拮抗酵母菌通过与病原菌展开空间与资源的竞争, 抑制病原菌的生长^[28-30]; 二是拮抗酵母菌通过诱导植物, 产生抑制病原菌的拮抗物质^[31]; 三是拮抗酵母菌自身也能产生具有抑菌能力的代谢物质^[32], 该代谢物质具有重要的病原菌拮抗作用. 另外, 不同酵母菌对不同植物真菌性病害病原菌的拮抗效果也有所不同. 张俊杰等^[33]从分离自葡萄果皮的酵母菌中, 筛选出一株对黄瓜尖孢镰刀菌具有明显拮抗作用的酵母菌, 并证明了该酵母菌对黄瓜尖孢镰刀菌具有潜在的生物防治效果. 目前, 鲜见拮抗酵母菌对赤星霉菌和紫云英根腐病菌具有潜在的生物防治效果的相关报道^[6].

近年来, 由于分子生物学的快速发展, 利用 rDNA 鉴定菌株的技术被广泛应用于酵母菌的

分类鉴定,很多模式菌株的 26S rDNA D1/D2 区,5.8S - ITS 区和 18S rDNA 区的序列被公布在 GenBank/EMBL 国际核酸序列中,这使得酵母菌的分类鉴定更加快速和精确,也标志着酵母菌鉴定从传统的表型性状鉴定跨入现代遗传信息特性鉴定的新阶段。

基于此,本文拟选择黄瓜尖孢镰刀菌、赤星霉菌和紫云英根腐病菌作为研究对象,采用平板对峙法,从 81 株酵母菌中筛选出对 3 种常见植物真菌性病原菌具有较强拮抗作用的酵母菌菌株,通过形态学特征、生理生化特征、基因测序分析确定其分类学地位,以期能为植物真菌性病害的生物防治提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌株 黄瓜枯萎病病原菌(黄瓜尖孢镰刀菌),由河南农业大学提供;烟草赤星病病原菌(赤星霉菌),由郑州轻工业大学提供;紫云英根腐病病原菌(紫云英根腐病菌),由中国农业大学提供;酵母菌,由郑州轻工业大学食品与生物工程学院微生物资源分类实验室分离并保存。

1.1.2 主要试剂 Ezup 柱式基因组 DNA 抽提试剂盒(酵母菌);26S rDNA 引物:NL-1(5'-GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG-3')和 NL-4(5'-GGTCCGTGTTTCAAGACGG-3');5.8S - ITS 引物:ITS1(5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')和 ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')。以上试剂均由上海生工生物工程股份有限公司提供。

1.1.3 主要培养基 PDA 培养基:马铃薯 200 g,葡萄糖 20 g,琼脂粉 20 g,去离子水定容至 1000 mL。

YEPD 培养基:酵母粉 10 g,蛋白胨 20 g,葡萄糖 20 g,去离子水定容至 1000 mL。其中,固体培养基加琼脂粉 20 g。

WL 鉴别培养基^[34]:酵母粉 4 g,胰蛋白胨 5 g,葡萄糖 50 g,KH₂PO₄ 0.55 g,KCl 0.425 g,CaCl₂ 0.125 g,MgSO₄ 0.125 g,MnSO₄ 0.002 5 g,FeCl₃ 0.002 5 g,琼脂粉 20 g,溴甲酚绿 0.022 g,去离子水定容至 1000 mL,调 pH 值至 6.5。

以上培养基均在 121 ℃ 条件下高压蒸汽灭菌 25 min。

1.1.4 仪器与设备 SW - CJ - 2D 型超净工作台,苏州安泰空气技术有限公司产;HH - S 型恒温水浴锅,江苏省金坛市医疗器械有限公司产;TGL - 16G 型台式离心机,上海安亭科学仪器厂产;DH - 600 型生化培养箱,北京中兴伟业仪器有限公司产;JY023 型紫外分析仪,北京君意东方电泳设备有限公司产;C1000 型聚合酶链式反应扩增仪,美国 BIO-RAD 公司产。

1.2 实验方法

1.2.1 酵母菌的活化与纯化 将保存于郑州轻工业大学食品与生物工程学院微生物资源分类实验室菌库(WYCCW)中的 81 株酵母菌(分离自霞多丽葡萄果皮和葡萄酒酿造过程中)进行活化:吸取 20 μL 酵母菌菌液,置于 YEPD 培养基上,于 28 ℃ 条件下培养 3 d,待菌落长出后即为活化完成;挑取培养基中的单菌落,在 YEPD 培养基上经过 3 次划线接种培养,获得纯化后的酵母菌菌株。

1.2.2 植物真菌性病害病原菌的活化 用直径 5 mm 的打孔器在有黄瓜尖孢镰刀菌的 PDA 培养基上打出菌块,将菌块倒扣在 PDA 培养基的中央,使病原菌表面与培养基表面尽可能接触,于 28 ℃ 条件下正向放置培养 1 d,再倒置培养,待菌落长出后即为活化完成。赤星霉菌和紫云英根腐病菌的活化方法同上。

1.2.3 拮抗酵母菌的初筛 借鉴参考文献[16]的方法,分别在 3 个 PDA 培养基平板的背面十字划线,将每个平板分为 4 个相等的区域;取生长良好的 3 种病原菌菌饼(半径为 5 mm),

分别倒扣在3个PDA平板的十字交叉中心,并在每个区域内距中心菌饼3 cm处划线接种酵母菌,使酵母菌生长区域保持一致;每个病原菌做3次平行,同时以不接种酵母菌的PDA培养基平板作阴性对照,将所有平板用密封条密封好后,于28℃条件下正向培养1 d后,再倒置培养4 d;待培养结束后,与阴性对照组进行对比,将对3种病原菌有抑制作用的酵母菌初步筛选出来,用精度为0.02 mm的游标卡尺测量病原菌直径.对峙平板中的病原菌直径越小,表明抑制作用越强,酵母菌的拮抗作用越好.

1.2.4 拮抗酵母菌的复筛 进一步对初次筛选得到的拮抗酵母菌进行复筛,以确定酵母菌拮抗效果的强弱.根据1.2.3的方法(1个平板上只接种1株酵母菌)进行复筛,并计算抑菌率.计算公式如下:

$$\text{抑菌率} = \frac{\text{对照组菌落直径} - \text{实验组菌落直径}}{\text{对照组菌落直径}} \times 100\%$$

抑菌率越高,表明酵母菌抑菌作用越强,拮抗作用越好.

1.2.5 拮抗酵母菌的初步鉴定 将复筛得到的拮抗酵母菌,划线接种至WL鉴别培养基上,于28℃条件下暗培养5 d.在暗室用白炽灯作为唯一光源(以保证结果的一致性),观察菌落形态特征^[35-36](菌落的大小、色泽等),对筛选得到的酵母菌进行初步鉴定.挑取单菌落,接种于YEPD液体培养基中,于180 r/min,28℃条件下培养24 h,在40倍光学显微镜下观察酵母菌细胞的形态学特征^[37].

1.2.6 拮抗酵母菌的基因测序 将复筛得到的拮抗酵母菌接种于YEPD液体培养基中,于180 r/min,28℃条件下过夜培养,按照酵母菌基因组DNA试剂盒的说明提取酵母菌基因组DNA.

(5'-GCATATCGGTAAGCGGAGGAAAAG-3')和反向引物NL-4(5'-GGTCCGTGTTTCAA-GACGG-3')进行扩增.5.8S-ITS区段使用正向引物ITS1(5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')和反向引物ITS-4(5'-TCCTCCGCTTATT-GATATGC-3')进行扩增.PCR体系和扩增程序参见文献[24].对PCR产物进行琼脂糖(质量分数为1%)凝胶电泳检测,电泳参数为电压100 V,定时30 min.初步判断扩增片段的大小和质量,并将扩增后的PCR产物送上海生工生物工程股份有限公司进行测序^[33].

1.2.7 拮抗酵母菌的系统发育分析 用Mega 7.0软件对PCR产物测序结果进行序列修正,在NCBI数据库中利用BLAST工具对修正后的26S rDNA D1/D2区段序列和5.8S-ITS区段序列进行序列相似性比对,并下载序列相似性最高的已知种群序列作为参比序列,建立系统发育树^[38].

2 结果与分析

2.1 拮抗酵母菌的筛选结果

经过初步筛选,从81株酵母菌中得到对黄瓜尖孢镰刀菌、赤星霉菌和紫云英根腐病菌具有明显拮抗作用的10株酵母菌,分别编号为WYCCW10140, WYCCW10196, WYCCW10371, WYCCW10452, WYCCW10453, WYCCW10457, WYCCW10986, WYCCW11029, WYCCW11079和WYCCW11142.再用这10株酵母菌对3种病原菌做平板对峙实验,进行拮抗酵母菌的复筛,抑菌效果见表1.

由表1可知,对黄瓜尖孢镰刀菌拮抗效果最佳的酵母菌是WYCCW10371,其次是WYCCW11029和WYCCW11079,对应的抑菌率分别为46.2%,46.1%和44.6%;对赤星霉菌拮抗效果最佳的酵母菌是WYCCW10196,其次是WYCCW10371和WYCCW10986,对应的抑菌

表 1 拮抗酵母菌对 3 种病原菌的抑菌效果

Table 1 Antibacterial effect of antagonistic yeast strains against three pathogenic bacteria

拮抗酵母菌	黄瓜尖孢镰刀菌		赤星霉菌		紫云英根腐病菌	
	平均直径/cm	抑菌率/%	平均直径/cm	抑菌率/%	平均直径/cm	抑菌率/%
对照组	5.691	—	5.201	—	5.506	—
WYCCW10457	4.246	25.4	4.194	19.4	4.402	20.1
WYCCW10371	3.062	46.2	3.852	25.9	4.410	19.9
WYCCW10452	4.307	24.3	3.965	23.8	4.557	17.2
WYCCW10453	4.061	28.6	3.998	23.1	4.376	20.5
WYCCW10196	3.792	33.4	3.607	30.6	4.644	15.7
WYCCW11029	3.070	46.1	4.568	12.2	4.487	18.5
WYCCW11142	3.489	38.7	4.068	20.8	4.369	20.7
WYCCW10986	4.046	28.9	3.961	25.8	4.395	20.2
WYCCW11079	3.153	44.6	4.238	18.5	4.840	12.0
WYCCW10140	4.119	27.6	4.871	6.3	4.703	14.6

率分别为 30.6% ,25.9% 和 25.8% ;对紫云英根腐病菌拮抗效果最好的酵母菌是 WYCCW11142,其次是 WYCCW10453 和 WYCCW10986,对应的抑菌率分别为 20.7% ,20.5% 和 20.2% .

2.2 拮抗酵母菌的初步鉴定结果

对筛选得到的 10 株拮抗酵母菌进行形态学鉴定,其在 WL 鉴定培养基上的菌落形态和显微细胞形态如图 1 所示,表型聚类结果如表 2 所示.

2.3 拮抗酵母菌的系统发育分析结果

2.3.1 基于 26S rDNA D1/D2 区段的系统发育分析 基于 26S rDNA D1/D2 区段的拮抗酵母菌菌株系统发育树如图 2 所示.由图 2 可以看出,WYCCW11029 和 WYCCW11079 与 *Hanseniaspora guilliermondii* 和 *Hanseniaspora opuntiae* 聚为同一分支;类似地,WYCCW10371 与 *Lachancea thermotolerans* 和 *Hanseniaspora vineae* 聚为同一分支; WYCCW11142 和 WYCCW10140 与 *Issatchenkia terricola* ,*Pichia terricola* 和 *Torulasporea delbrueckii* 聚为同一分支; WYCCW10457,WYCCW10452,WYCCW10453 和 WCCWY10196 与 *Candida zemplinina* 和 *Starmerella bacillaris* 聚为同一分支.但以上 9 种拮抗酵母菌菌

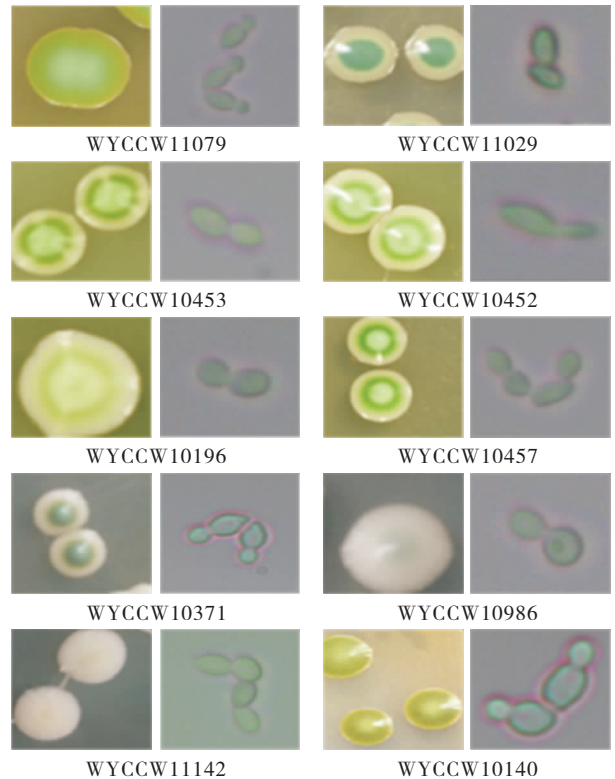


图 1 拮抗酵母菌在 WL 鉴定培养基上的菌落形态(左)和显微细胞形态(右)

Fig.1 The colony characteristics on WL medium (the left picture)and cell microscopic characteristics (the right picture)of the antagonistic yeast strains

株均同时与不同的菌株聚为同一分支,因此不能在种的水平上进行划分. WYCCW10986 和 *Kodamaea ohmeri* 聚为同一分支,且序列相似性

表2 拮抗酵母菌在WL鉴定培养基上的表型聚类结果

Table 2 Clustering analysis result of antagonistic yeast strains on WL medium based on phenotypes

拮抗酵母菌	菌落颜色	菌落形态	显微细胞形态
WYCCW10457	白边, 绿圈, 白顶	光滑, 有光泽, 湿润, 突起, 不透明	椭圆形, 单生, 单端芽殖
WYCCW10371	白边, 浅蓝顶	光滑, 有光泽, 湿润, 突起, 不透明	柠檬形, 单生, 两端芽殖
WYCCW10452	白边, 绿圈, 白顶	光滑, 有光泽, 湿润, 突起, 不透明	梭形, 单生, 单端芽殖
WYCCW10453	白边, 绿圈, 浅绿顶	光滑, 有光泽, 湿润, 突起, 不透明	椭圆形, 单生, 单端芽殖
WYCCW10196	白边, 绿圈, 浅绿顶	光滑, 有光泽, 湿润, 突起, 不透明	椭圆形, 单生, 单端芽殖
WYCCW11029	白边, 深绿顶	光滑, 有光泽, 湿润, 突起, 不透明	梭形, 单生, 单端芽殖
WYCCW11142	白边, 白顶	光滑, 有光泽, 湿润, 突起, 不透明	椭圆形, 单生, 单端芽殖
WYCCW10986	白边, 白顶	光滑, 有光泽, 湿润, 突起, 不透明	椭圆形, 单生, 单端芽殖
WYCCW11079	黄边, 深绿顶	光滑, 有光泽, 湿润, 突起, 不透明	柠檬形, 单生, 单端芽殖
WYCCW10140	黄边, 绿圈, 白顶	光滑, 有光泽, 湿润, 突起, 不透明	椭圆形, 单生, 单端芽殖

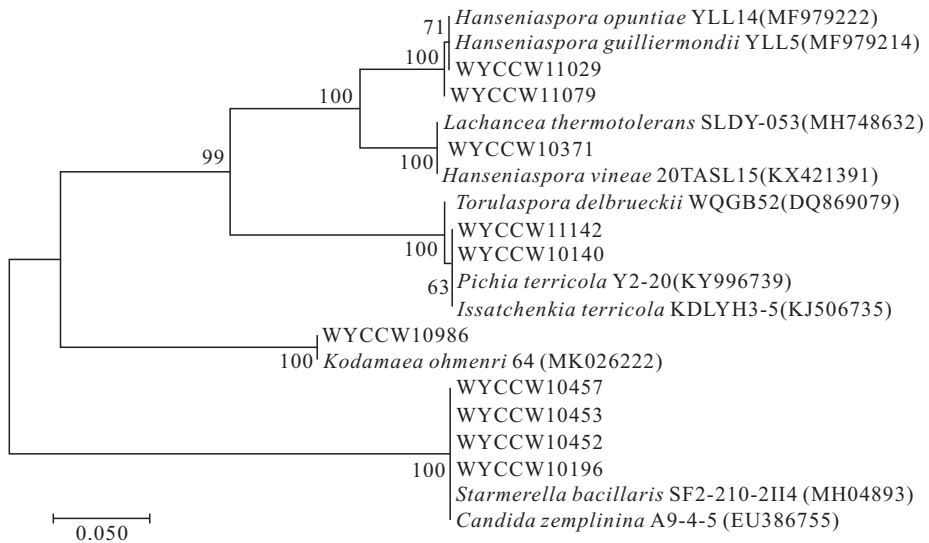


图2 基于26S rDNA D1/D2区段的拮抗酵母菌株系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree of antagonistic yeast strains based on 26S rDNA D1/D2 region sequences

为100%，因此，可将WYCCW10986鉴定为 *Kodamaea ohmeri*。

2.3.2 基于5.8S-ITS区段的系统发育分析

基于5.8S-ITS区段的拮抗酵母菌株系统发育树如图3所示。由图3可以看出，WYCCW10371与 *Hanseniaspora vineae* 聚为同一分支，序列相似性为100%，因此，可将WYCCW10371鉴定为 *Hanseniaspora vineae*；WYCCW11079和WYCCW11029与 *Hanseniaspora opuntiae* 聚为同一分支，序列相似性为100%，因此，可将WYCCW11079和WYCCW11029鉴定为 *Hanseniaspora opuntiae*；WYCCW11142与

Pichia terricola 聚为同一分支，序列相似性为100%，因此，可将WYCCW11142鉴定为 *Pichia terricola*；WYCCW10457，WYCCW10452，WYCCW10453和WYCCW10196与 *Starmerella bacillaris* 聚为同一分支，序列相似性为100%，因此，可将WYCCW10457，WYCCW10452，WYCCW10453和WYCCW10196鉴定为 *Starmerella bacillaris*。

3 结论

本研究选取郑州轻工业大学食品与生物工程学院微生物资源分类实验室分离筛选得到的

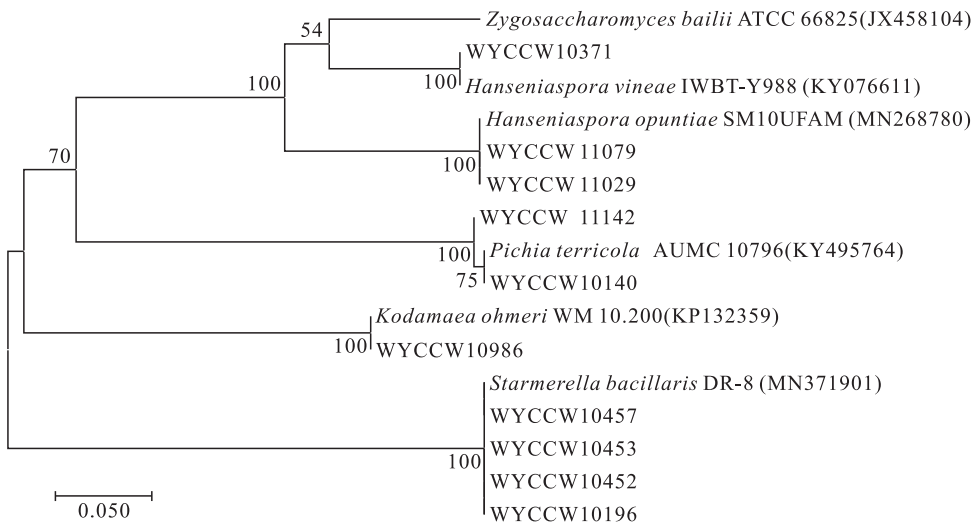


图3 基于5.8S-ITS区段的拮抗酵母菌株系统发育树

Fig.3 Phylogenetic tree of antagonistic yeast strains based on 5.8S-ITS region sequences

81株酵母菌,经过平板对峙法进行初筛和复筛,得到10株对黄瓜尖孢镰刀菌、赤星霉菌和紫云英根腐病菌具有较好拮抗作用的酵母菌。其中,对黄瓜尖孢镰刀菌拮抗效果最好的酵母菌是WYCCW10371,其抑菌率为46.2%,该菌株被鉴定为*Hanseniaspora vineae*;对赤星霉菌拮抗效果最好的酵母菌是WYCCW10196,其抑菌率为30.6%,该菌株被鉴定为*Starmerella bacillaris*;对紫云英根腐病菌拮抗效果最好的酵母菌是WYCCW11142,其抑菌率为20.7%,该菌株被鉴定为*Pichia terricola*。

该研究结果确定了酵母菌对上述3种植物真菌性病原菌具有一定的生物防治效果,为发展绿色农业提供了一定的指导。然而,在大田中需要考虑的因素众多,对于拮抗酵母菌在土壤条件下的抑菌效果、拮抗因子,尚需进行代谢产物的分离检测,以及相应的盆栽和大田试验^[39]。

参考文献:

[1] 杜欣宜. 植物病害生防微生物的研究进展[J]. 现代化农业, 2016(6): 30.
 [2] 王倡宪, 王艳, 张志. 不同磷浓度条件下地表球囊霉对黄瓜枯萎病抗性和抗氧化酶活性的

影响[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(18): 129.

- [3] 马晓凤. 黄瓜枯萎病综合防控[J]. 西北园艺(综合), 2019(5): 51.
 [4] 刘森. 0.3%四霉素水剂防治黄瓜枯萎病田间药效试验报告[J]. 农民致富之友, 2019(10): 141.
 [5] 王芳, 王晓倩, 王莹, 等. 6种杀菌剂对黄瓜尖孢镰刀菌的毒力测定试验[J]. 中国农学通报, 2019, 35(9): 143.
 [6] 朱宇航, 黄思洋, 陈华保, 等. 烟草赤星病防治药剂的筛选[J]. 烟草科技, 2019, 52(5): 14.
 [7] 张乃芹, 郝明慧, 贾海慧, 等. PGPR多功能菌剂防治黄瓜枯萎病及对黄瓜产量影响的研究[J]. 现代园艺, 2019, 42(17): 24.
 [8] 杨侃侃, 刘晓虹, 陈宸, 等. 黄瓜枯萎病研究进展[J]. 湖南农业科学, 2019(6): 121.
 [9] 张林尧, 孟祥龙, 王午可, 等. 生物菌剂LZ-1对苹果枝干轮纹病的田间防效研究[J]. 河南农业科学, 2019, 48(10): 99.
 [10] 王丽丽, 朱诗君, 金树权, 等. 黄瓜枯萎病拮抗菌株的筛选及其生物防效[J]. 浙江农业科学, 2019, 60(9): 1525.
 [11] 施河丽, 孙立广, 谭军, 等. 生物有机肥对烟草青枯病的防效及对土壤细菌群落的影响[J].

- 中国烟草科学,2018,39(2):54.
- [12] 宋金宇,刘程惠,胡文忠,等.拮抗酵母菌对果蔬病害防治的研究进展[J].保鲜与加工,2012,12(5):53.
- [13] 裘纪莹,王未名,陈建爱,等.拮抗菌在果蔬保鲜中的应用研究进展[J].食品工业科技,2009,30(5):334.
- [14] 郭晋云,胡晓峰,李勇,等.黄瓜枯萎病对黄瓜光合和水分生理特性的影响[J].南京农业大学学报,2011,34(1):79.
- [15] 王敏.土传黄瓜枯萎病致病生理机制及其与氮素营养关系研究[D].南京:南京农业大学,2013.
- [16] 魏滢洁,田叶韩,王炎峰,等.球毛壳菌与枯草芽孢杆菌组合对抗黄瓜枯萎病防御酶活性的影响[J].山东农业科学,2019,51(7):72.
- [17] 祝久香.黄瓜枯萎病拮抗细菌的筛选、发酵及生防机理研究[D].长沙:中南林业科技大学,2019.
- [18] 唐明,程智敏,向金友,等.烤烟赤星病发生规律及影响因素调查研究[J].现代农业科技,2019(15):110.
- [19] 杨波.烟草赤星病拮抗细菌筛选及其16S rDNA PCR-RFLP分析[D].杭州:浙江大学,2005.
- [20] 曾琛,陈庆园,刘洋,等.贵州省兴义市烟草赤星病发生情况调查[J].河南农业科学,2012,41(7):99.
- [21] 宋莉莎,司世飞,龙友华,等.烟草赤星病生防芽孢杆菌的筛选鉴定及其生长条件研究[J].河南农业科学,2019,48(1):84.
- [22] 司世飞.烟草赤星病生防菌筛选及发酵条件优化[D].贵阳:贵州大学,2018.
- [23] 司世飞,宋莉莎,任静,等.一株抗烟草赤星病解淀粉芽孢杆菌的筛选及鉴定[J].河北大学学报(自然科学版),2018,38(4):410.
- [24] 李锡宏,余君,陈守文,等.防治烟草赤星病的生防菌剂田间对比试验[J].湖北植保,2018(2):7.
- [25] 刘普,方静凡,程运江,等.生防酵母菌防治果品采后病害机理的研究进展[J].华中农业大学学报,2013,32(2):134.
- [26] 高云慨,张荣意,钟利文,等.1株新分离拮抗酵母菌株对芒果炭疽病生防效果及其分类鉴定[J].热带生物学报,2015,6(1):47.
- [27] 刘椰.拮抗酵母新种鉴定及其对柑橘果实采后主要病害的防治机理研究[D].重庆:西南大学,2019.
- [28] 彭景贤.酵母菌对柑橘采后病害的生物防治及防治机理的研究[D].福州:福建农林大学,2006.
- [29] 关鑫.三株生防酵母菌对番茄灰霉病生物防治的比较研究[D].哈尔滨:东北农业大学,2014.
- [30] 周海莲.葡萄有孢汉逊酵母(*Hanseniaspora uvarum*)对灰霉病抑制机理的探讨[D].南京:南京农业大学,2012.
- [31] 张红印.罗伦隐球酵母对水果采后病害的生物防治及其防治机理研究[D].杭州:浙江大学,2004.
- [32] 温新宇.拮抗酵母菌的筛选、鉴定及其制剂对枇杷贮藏保鲜的影响[D].镇江:江苏大学,2016.
- [33] 张俊杰,尚益民,田寅,等.1株黄瓜枯萎病菌拮抗酵母的分离鉴定及其拮抗作用初探[J].河南农业大学学报,2019,53(3):393.
- [34] 杨云.甜菜根腐病拮抗菌的筛选、鉴定与抑病效果研究[D].哈尔滨:黑龙江大学,2013.
- [35] 薛军侠,徐艳文,杨莹,等.WL培养基在酿酒酵母筛选中的应用[J].中国酿造,2007(9):36.
- [36] 王红.苹果和梨果表面酵母多样性及其食用安全性研究[D].济南:齐鲁工业大学,2013.
- [37] 张俊杰,尚益民,陈锦永,等.河南不同地区赤霞珠葡萄表皮酵母菌多样性研究[J].中国酿造,2019,38(6):79.
- [38] 张俊杰,尚益民,程大伟,等.河南安阳赤霞珠葡萄果表酵母菌的分离与鉴定[J].轻工学报,2018,33(3):39.
- [39] 文雨婷,张媛,李杨,等.棉花黄萎病菌拮抗酵母菌筛选及鉴定[J].河南农业科学,2018,47(11):66.