

土壤中抗真菌放线菌 LH33 发酵提取物活性研究

刘欢^{1a}, 安德荣^{1a}, 慕小倩^{1b}, 张勤福², 杨文军²

(1 西北农林科技大学 a. 植物保护学院 陕西省农业分子生物学重点实验室, b. 生命科学学院, 陕西 杨凌 712100;
2 陕西海浪生物研究所, 陕西 西安 710000)

【摘要】 【目的】对抗真菌放线菌 LH33 菌株发酵提取物的活性进行初步测定, 为后续的生防制剂研发提供科学依据。【方法】制备从渭北旱塬轮作土壤中筛选出的放线菌菌株 LH33 的发酵提取物, 检测其对番茄灰霉病菌孢子萌发的抑制作用及对番茄灰霉病的防治和番茄的促生作用, 并采用生长速率法测定其抑菌谱。【结果】在离体条件下, LH33 发酵提取物对番茄灰霉病菌孢子的萌发具有强烈的抑制作用。在温室条件下, LH33 发酵提取物对番茄灰霉病具有很好的预防和治疗效果, 100 mg/L 的 LH33 发酵提取物对番茄灰霉病菌预防和治疗效果最高, 分别为 94.2% 和 80.4%。LH33 提取物对大多数供试病原真菌都有很好的抑制效果, 其中 1 mg/L 药液对部分病原真菌抑制率在 45% 以上。菌株 LH33 发酵提取物能促进番茄的生长, 番茄植株鲜质量的增幅可达到 95.1%。【结论】菌株 LH33 可防治水稻、番茄、小麦、棉花等多种植物真菌病, 并对植物的生长有促进作用。

【关键词】拮抗放线菌 LH33; 发酵提取物; 抑菌活性; 真菌

【中图分类号】S432.4⁺3 【文献标识码】A 【文章编号】1671-9387(2009)01-0145-06

Study on the inhibitive activity of the fermented extracts of
soil of antifungal actinomycetes LH33

LIU Huan^{1a}, AN De-rong^{1a}, MU Xiao-qian^{1b}, ZHANG Qin-fu², YANG Wen-jun²

(1 a. College of Plant Protection, Shaanxi Key Laboratory of Molecular Biology for Agriculture, b. College of Life Sciences, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China; 2 Xian Hi-level Chemical Industry Co. Ltd, Xi'an, Shaanxi 710000, China)

Abstract: 【Objective】The study identified the enzymatic activity of fermented extracts of antifungal actinomycetes LH33 to provide a basis for the development of biological agents in the future. 【Method】In this experiment, actinomycetes LH33 were identified and classified from rotation soils, which was conducted in the northern of Weihe River. Fermented extracts were prepared and its antifungal activity against tomato gray mould pathogen spores, and the antimicrobial spectrum as well as its growth-promoting effect were tested. 【Result】Spore germination of tomato gray mould pathogen was strongly inhibited by LH33 fermented extracts *in vitro*. In greenhouse trails, the LH33 fermented extracts had good preventing and control efficiencies to botrytis cinerea, the rate of which was 94.2% and 80.4% respectively in 100 mg/L concentration. In addition, the active product of LH33 had a wide range of inhibition to pathogenic fungi tested here, the inhibition rate of fermented extracts (1 mg/L) was up to 45% in some pathogens. Strain LH33 showed promoting effect on the tomato growth, the fresh weight of tomato increased 95.1% compared with CK. 【Conclusion】Thus this antagonistic strain LH33 can control fungus disease of tomato, wheat, cotton and other plants, at the same time promotes the growth of plants.

* [收稿日期] 2008-01-18
[基金项目] 国家“863”高技术研究发展计划项目(2007AA021503); 教育部“长江学者和创新团队发展计划”项目(200558)
[作者简介] 刘欢(1983—), 女, 陕西宝鸡人, 在读硕士, 主要从事微生物资源利用研究。E-mail: liuhuan32@yahoo.com.cn
[通信作者] 安德荣(1963—), 男, 陕西大荔人, 教授, 博士生导师, 主要从事植物病理及土壤微生物研究。
E-mail: anderong323@163.com

Key words: antagonistic actinomycete LH33; fermented extract; antibacterial activity ; fungi

植物真菌性病害是由植物病原真菌引发的能作用于植物机体各个部位的病害,是目前危害植物生长最普遍、最严重的病害之一,每年都给粮食生产造成巨大的损失^[1]。为防治植物真菌性病害,农民大量使用化学农药,这又带来了严重的环境污染,同时造成了农产品农药残留超过国家标准,严重影响了农产品的内在质量^[2]。农用抗生素具有无污染、无残留、可再生、难以使有害生物产生抗药性、易于产业化、成本低等特点,已成为植物病害防治的重要手段之一,在未来的农作物病害防治方面具有巨大的市场需求。目前,80%的农用抗生素来自筛选的放线菌^[3],其已成为无公害农药的主体^[4]。最近 10 年间,农用抗生素虽已成为植物保护学术界研究的重点和无公害农副产品生产的必要生产资料之一,但其数量、质量和品种还远远不能满足农业生产发展的需求^[5]。因此,进一步加快农用抗生素的研制、产业化及其推广应用进程,必将产生巨大的社会、经济和生态效益。

西北农林科技大学植物保护学院陕西省农业分子生物学重点实验室从 1988 年开始,对不同生态环境土壤中放线菌资源进行了研究,分离筛选出多株具有强烈抑菌作用的菌株^[6-10]。为了明确从轮作土壤中新筛选出的放线菌株 LH33 的活性物质在植物病害防治中的实用价值,并为其后续的生防制剂研发提供科学依据,本研究对其发酵提取物的活性进行初步研究,现将研究结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 供试菌种

1.1.1 放线菌 供试拮抗放线菌株 LH33 采自雨后 4~5 d 的陕西轮作田土壤。

1.1.2 靶标菌 供试靶标菌均为真菌,用 PDA 斜面培养,4℃保存,包括水稻稻瘟病菌(*Pyricularia oryzae*)、番茄早疫病菌(*Alternaria solani*)、番茄灰霉病菌(*Botrytis cinerea*)、梨黑星病病原菌(*Venturia nashicola*)、小麦全蚀病病原菌(*Gaeumannomyces graminis*)、茄褐纹病病原菌(*Phomopsis vexans*)、玉米大斑病菌(*Exserohilum turcicum*)、小麦赤霉病菌(*Fusarium graminearum*)、小麦根腐病菌(*Bipolaris sorokiniana*)、小麦白粉病菌(*Erysiphe graminis*)、黄瓜霜霉病菌(*Pseudoperonospora cubensis*)、辣椒疫霉病菌(*Phytophthora capsici*)、

烟草赤星病菌(*Alternaria alternata*)、番茄青枯病菌(*Pseudomonas solanacearum*)。靶标菌由西北农林科技大学植物病理学实验站提供。

1.1.3 培养基 马铃薯浸汁培养基(PDA);优化后的液体发酵培养基^[11]:黄豆饼粉 10 g(适量蒸馏水煮沸 0.5~1 h,取滤液),葡萄糖 10 g,蛋白胨 3 g,氯化钠 2.5 g,碳酸钙 2 g,纯水 1 000 mL,配成溶液,调 pH 7~8。

1.2 供试植物

番茄种子购自西安阳光种业有限公司,品种为毛粉 802。

1.3 放线菌株 LH33 发酵提取物及靶标病原菌孢子悬浮液的制备

制备菌株 LH33 的菌悬液(孢子含量为 10^6 mL⁻¹)。按体积分数 10%的接种量接入装有 100 mL 优化液体发酵培养基的 250 mL 三角瓶中,在 pH 8.0、30~34℃、150 r/min 条件下,摇床培养 72 h,6 000 r/min 离心 15 min,取上清液备用。调节上清液 pH 为 7.0,5 000 r/min 离心 30 min,弃沉淀,上清液用 10 倍体积的冰冻丙酮沉淀,弃上清液,将沉淀干燥即得菌株 LH33 的发酵提取物^[12]。

番茄灰霉病菌用 PDA 培养基于 26~28℃下培养 7 d,用无菌水洗下孢子,制成 10^8 mL⁻¹孢子悬浮液(10×10 低倍镜下,每个视野约 50 个孢子)^[9]。

1.4 放线菌发酵提取物抗菌活性的检测

1.4.1 孢子萌发法 将 LH33 菌株发酵提取物配制成质量浓度分别为 1,10,100 mg/L 的药液,取药液和靶标病原菌孢子悬浮液各 1 滴于载玻片上,每处理重复 3 次,以 1 滴稻瘟病菌分生孢子悬浮液加 1 滴无菌水为对照,置培养皿内(滤纸保湿),于 28℃恒温箱内避光培养。3 h 后镜检孢子萌发情况(以芽管超过孢子短直径 1/2 时判为萌发)及萌发孢子芽管的生长情况,若未萌发则每隔 1 h 检查 1 次。计算孢子萌发抑制率和致畸率^[13]:

$$\text{孢子抑制率}/\% = \frac{\text{对照萌发率} - \text{处理萌发率}}{\text{对照萌发率}} \times 100\%$$

$$\text{致畸率}/\% = \frac{\text{已萌发畸形孢子数}}{\text{已萌发孢子数}} \times 100\%$$

1.4.2 活体测定法 在温室条件下,将番茄种子催芽后播种,待幼苗长到 4 叶期时用于试验。将 LH33 菌株发酵提取物配制成质量浓度分别为 0.125,0.8,4,20 和 100 mg/L 的药液,用于下列试

验。①预防处理。将药液喷施于番茄叶面,6 d 后接种番茄灰霉病病原菌。②治疗处理。将番茄灰霉病菌孢子悬浮液喷雾接种于番茄叶片,6 d 后用药液进行叶面喷雾防治。每处理重复 4 次,以 2.5 mL/L 农抗-120(体积分数 4%水剂)和清水作对照。接种完毕后 20 ℃保湿培养,14 d 后观察发病情况,待对照完全发病后,调查病情指数,计算预防效果和治疗效果^[14-17];

预防效果/%=(对照病情指数-处理病情指数)/对照病情指数×100%;
治疗效果/%=(对照病情指数增长率-处理病情指数增长率)/对照病情指数增长率×100%。

1.5 LH33 菌株发酵提取物抗菌谱的测定

采用生长速率法测定。将 LH33 菌株发酵提取物与熔化的 PDA 培养基混合,分别制成含 100,10,

增幅/%=
$$\frac{\text{试验组单株数据总和}/30-\text{对照组单株数据总和}/30}{\text{对照组单株数据总和}/30}\times 100\%$$

2 结果与分析

2.1 LH33 菌株发酵提取物的抑菌活性

2.1.1 对番茄灰霉病菌孢子萌发的抑制作用 由表 1 可见,LH33 发酵提取物对番茄灰霉病菌孢子的萌发具有强烈的抑制作用,100 mg/L 提取物处理

1 mg/L 发酵提取物的培养基,以无菌水作对照,待培养基凝固后,将活化好的病原菌菌饼接入,48 h 后,测量菌饼直径,计算抑制率^[18];
抑制率/%=(对照菌落直径-处理菌落直径)/对照菌落直径×100%。

1.6 LH33 菌株发酵提取物对番茄促生作用的测定

试验在温室中进行,将番茄种子播入营养钵内育苗,每盆 4~6 株,共 20 盆,在第 1 片真叶展平时,选取 30 株幼苗移栽于用 LH33 菌株发酵提取物(100 mg/L)浇灌的土壤中,另选 30 株幼苗移栽于用清水浇灌的土壤中作为对照,每盆移种 3 株。40 d 后随机取样,分别测量番茄幼苗株高、叶片数、叶面积和植株鲜质量,计算试验组番茄各指标较对照组的增幅,分析 LH33 放线菌发酵提取物对番茄植株生长的促进作用^[19]。

的孢子几乎不萌发(图 1),10 和 1 mg/L 提取物处理的孢子萌发抑制率均在 50%以上;受抑制孢子的芽管长度明显小于对照;1 mg/L 提取物对番茄灰霉病菌孢子萌发抑制率为 55%,对已萌发芽孢子的致畸率为 38%。

表 1 LH33 发酵提取物对番茄灰霉病菌孢子萌发的抑制作用

Table 1 Inhibited effect of LH33 fermented extracts on spore germination of *Botrytis cinerea*

发酵提取物质量浓度/(mg·L ⁻¹) Concentration of tested fermented extracts liquid	孢子萌发率/% Germination	孢子萌发抑制率/% Inhibition rate	芽管长度/μm Germ tube length	致畸率/% Deforming rate
100	2	97	0	50
10	23	75	8	63
1	41	55	21	38
CK	92	—	36	1

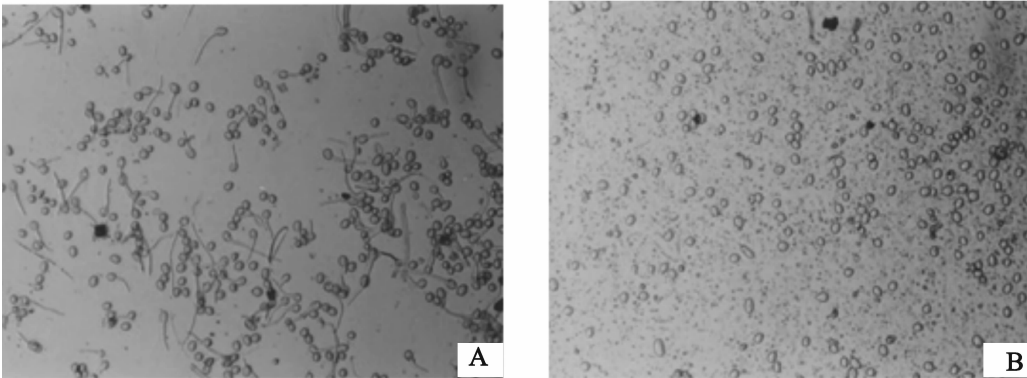


图 1 LH33 菌株发酵提取物对番茄灰霉病菌孢子萌发的影响(400×)

A. CK 中番茄灰霉孢子的萌发情况;B. 受 100 mg/L LH33 发酵提取物抑制的番茄灰病菌霉孢子的萌发情况

Fig. 1 Effect of LH33 fermented extracts on spore germination of *Botrytis cinerea* (400×)

A. Shape of germ inated-spores of *Botrytis cinerea* in CK under optical microscope;B. Shape of germ inated-spores of *Botrytis cinerea* in 100 mg/L LH33 under optical microscope

2.1.2 对番茄灰霉病菌的防治效果 由表 2 可以看出,LH33 发酵提取物不仅可阻止番茄灰霉病菌菌丝的入侵,而且对已侵入的菌丝有很好的治疗作用;100 mg/L 发酵液提取物对番茄灰霉病的预防效

果可达 94.2%,治疗效果可达 80.4%;20 mg/L 发酵提取物对番茄灰霉病的预防和治疗作用均优于 2.5 mL/L 农抗-120。表明 LH33 发酵提取物对温室番茄灰霉病具有较好的预防和治疗效果。

表 2 LH33 发酵提取物对番茄灰霉病的防治效果

Table 2 Biocontrol effect of LH33 fermented extracts on tomato grey mould in greenhouse experiment				
发酵提取物质量 浓度/(mg·L ⁻¹) Thickness	病情指数 Disease index		防治效果/% Control effects	
	预防 Preventing	治疗 Control	预防 Preventing	治疗 Control
100	5.2	16.7	94.2	80.4
20	15.1	19.4	82.7	74.1
4	18.1	26.1	75.3	70.5
0.8	44.3	45.9	42.1	44.6
0.125	63.4	71.8	21.7	19.2
农抗-120 Antimycin 120	21.3	24.6	65.9	70.1
清水 Water	80.4	90.8	—	—

2.2 LH33 菌株发酵提取物的抑菌谱 稻稻瘟病菌、小麦赤霉病菌、小麦全蚀病病原菌、茄褐纹病病原菌、番茄灰霉病菌、玉米大斑病菌、辣椒疫霉病菌有较好的效果,抑制率在 45%以上。

表 3 表明,LH33 发酵提取物的抑菌谱较广,对供试的大多数病原真菌都有很好的抑制效果。在低质量浓度(1 mg/L)下,LH33 发酵液提取物即对水

表 3 LH33 发酵提取物的抑菌谱

Table 3 Antimicrobial spectrum of LH33 fermented extracts on pathogenic fungi			
病原菌 Pathogen	抑制强度 Inhibitory potency		
	100 mg/L	10 mg/Ll	1 mg/L
水稻稻瘟病菌 <i>Pyricularia grisea</i>	+++	+++	++
小麦赤霉病菌 <i>Fusarium graminearum</i>	+++	++	++
小麦全蚀病病原菌 <i>Gaeumannomyces graminis</i>	+++	+++	++
梨黑星病菌 <i>Venturia nashicola</i>	+++	++	+
茄褐纹病病原菌 <i>Phomopsis Vexans</i>	+++	+++	++
番茄灰霉病菌 <i>Botrytis cirerea</i>	+++	++	++
番茄早疫病菌 <i>Alternaria solani</i>	+++	—	—
玉米大斑病菌 <i>Exserohilum turcicum</i>	+++	+++	++
小麦根腐病菌 <i>Bipolaris sorokiniana</i>	++	+	—
小麦白粉病菌 <i>Erysiphe graminis</i>	++	+	—
黄瓜霜霉病菌 <i>Pseudoperonospora cubensis</i>	+	—	—
辣椒疫霉病菌 <i>Phytophthora capsici</i>	+++	++	++
烟草赤星病菌 <i>Alternaria alternata</i>	+++	++	+
番茄青枯病菌 <i>Pseudomanas solanacearam</i>	++	+	—

注:+++。强,抑制率为 75%~100%;++,中,抑制率为 45%~75%;+,较弱,抑制率为 30%~45%;—。弱,抑制率<30%。

Note:+++。strong,inhibition rate = 75%-100%;++, medium,inhibition rate = 45%-75%;+, weaker,inhibition rate = 30%-45%;—。weak,inhibition rate<30%。

2.3 LH33 菌株发酵提取物对蕃茄生长的促进作用 见表 4。

菌株 LH33 发酵提取物对番茄生长发育的影响

表 4 菌株 LH33 发酵提取物对温室盆栽番茄生长发育的影响

Table 4 Effect of LH33 fermented extracts on growth and development of tomato								
处理 treatment	株高 Height of plant		叶片数 Number of leaves		叶片面积 Leaf area		植株鲜质量 Green weight	
	测定值/cm	增幅/%	测定值	增幅/%	测定值/mm ²	增幅/%	测定值/g	增幅/%
	Measured value	Increasing ratio	Measured value	Increasing ratio	Measured value	Increasing ratio	Measured value	Increasing ratio
CK	43.7	—	7.0	—	231.9	—	10.2	—
发酵提取物 Fermented extracts	80.3	83.7	13.0	85.1	398.3	71.8	19.9	95.1

由表 4 可见,菌株 LH33 发酵提取物对番茄植株的株高、叶片数、叶片面积、鲜质量均有不同程度的促进作用,增幅为 71.8%~95.1%。形态观察发

现,经发酵提取物处理的植株较对照植株生长旺盛且叶色暗绿,且株高明显较对照高(图 2)。



图 2 LH33 发酵液处理 40 d 后番茄幼苗的生长情况
A. LH33 发酵液;B. 清水对照

Fig. 2 40 days tomato seedlings of LH33 fermentation
A. LH33 fermentation broth; B. Water

3 讨论与结论

在对放线菌杀菌物质的活性进行检测时,由于活性物质对病原菌的作用方式不同,采用不同的靶标菌对同一物质活性进行测定,其表现出的活性不同。本研究中,LH33 发酵提取物对供试的大部分病原真菌均有抑制作用,但同一病菌的菌丝和孢子对 LH33 发酵提取物的敏感程度不一致。在生长速率法测定结果中,LH33 发酵提取物对水稻稻瘟病菌抑制强度高达 75% 以上,而在孢子萌发法测定中,最小质量浓度(1 mg/L)发酵提取物对番茄灰霉病菌孢子萌发抑制率达 55%,致畸率为 38%。本研究的温室试验结果表明,LH33 发酵提取物不仅能阻止专性寄生病原真菌番茄灰霉病菌菌丝的入侵,而且对已侵入的菌丝也有很好的治疗作用,预防和治疗效果最高分别达 94.2% 和 80.4%,其中 20 mg/L 药剂对番茄灰霉病的预防和治疗作用均优于 2.5 mL/L 的农抗-120;LH33 发酵提取物能促进植物生长,具有潜在的应用价值。

本研究对轮作土壤中筛选的放线菌菌株 LH33 发酵提取物的活性进行了初步研究,而对于该菌株的促生作用机理及其产生的抗生素的类别,尚需进一步研究。

[参考文献]

[1] 李毅,王国平,张克诚.拮抗放线菌 LJ50 和 MJ52 的分离与初步鉴定 [J]. 湖南农业大学学报:自然科学版,2005,31(3): 310-313.
Li Y, Wang G P, Zhang K C. Preliminary identification and classification of soil antagonistic actinomycetes LJ50 and MJ52 [J]. Journal of Hunan Agricultural University: Natural Sciences Edition, 2005, 31(3): 310-313. (in Chinese)

[2] 闫懋.生物防治与应用技术第一集 [EB/OL]. [2007-07-04]. http://www.ngx.net.cn/yuanjiaomeiti/guangbo/jiemuneirongjieshao/t20070706_15365.htm
Yan S. Biocontrol and application technology (1) [EB/OL]. [2007-07-04]. http://www.ngx.net.cn/yuanjiaomeiti/guangbo/jiemuneirongjieshao/t20070706_15365.htm. (in Chinese)

[3] 何建清,吴云锋,袁耀锋.西藏季拉山土壤拮抗放线菌的筛选 [J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2005,33(增刊 1): 187-189.
He J Q, Wu Y F, Yuan Y F. Screening of antagonistic actinomycetes from Shigyla Mountain in Tibet [J]. Journal of Northwest A&F University: Natural Science Edition, 2005, 33 (Suppl 1): 187-189. (in Chinese)

[4] Isono K. Antibiotics as non-pollution agricultural pesticide [J]. Comments on Agricultural and Food Chemistry, 1990, 2(2): 133-134.

[5] 安德荣,慕小倩,刘翠娟.土壤拮抗放线菌的分离和筛选 [J]. 微生物学杂志, 2002, 22(5): 1-3.
An D R, Mu X Q, Liu C J. Isolation and screening of antagonistic actinomycetes from soil [J]. Journal of Microbiology, 2002, 22

(5):1-3. (in Chinese)

[6] 段琦梅,慕小倩,安德荣. S-159-06 菌株活性产物对植物病原菌的抑菌谱及拮抗机理初探 [J]. 西北植物学报, 2004, 24(6): 1088-1092.

Duan Q M, Mu X Q, An D R. Study on inhibiting range and mechanism of S-159-06 active product [J]. Acta Botanica Boreali-occidentalia Sinica, 2004, 24(6): 1088-1092. (in Chinese)

[7] 疏秀林,安德荣,张勤福,等. 土壤拮抗放线菌 S-5210-6 的筛选及其初步分类鉴定 [J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版, 2004, 32(12): 57-60.

Shu X L, An D R, Zhan Q F, et al. Selection and indentification of antagonistic actinomycetes S-5210-6 from siol [J]. Journal of Northwest A&F University: Natural Science Edition, 2004, 32(12): 57-60. (in Chinese).

[8] 疏秀林, 安德荣. 瑞拉菌素产生菌 S-5120 菌株防治黄瓜霜霉病害的研究初报 [J]. 西北植物学报, 2004, 24(11): 2118-2122.

Shu X L, An D R. Studies on the effect of zuelaemycin producing actinomycetes strain S-5120 on downy mildew of cucumber [J]. Acta Botanica Boreali-occidentalia Sinica, 2004, 24(11): 2118-2122. (in Chinese)

[9] 陈 丽,疏秀林,李 晶,等. 土壤拮抗放线菌 S-5210-6 活性产物抑菌谱及其作用机制 [J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版, 2007, 34(3): 277-282.

Chen L, Shu X L, Li J, et al. Inhibiting range and mechanism of the active product of S-5210-6 [J]. Journal of Northwest A&F University: Natural Science Edition, 2007, 34(3): 277-282. (in Chinese)

[10] 李 晶,安德荣,刘翠娟,等. 放线菌 S-159-05 抑菌活性物质的初步研究 [J]. 农药, 2007, 46(11): 755-757.

Li J, An D R, Liu C J, et al. Apreliminary study on the inhibitory substances of actinomycete S-159-05 [J]. Agrochemicals, 2007, 46(11): 755-757. (in Chinese)

[11] 刘翠娟,段琦梅,安德荣. 抗真菌拮抗放线菌的筛选及摇床发酵条件的优化 [J]. 微生物学杂志, 2004, 24(4): 12-14.

Liu C J, Duan Q M, An D R. Screening of steptomases which inhabit pathogenic fungi and the optimization of fermentation conditions in the shaker [J]. Journal of Microbiology, 2004, 24(4): 12-14. (in Chinese)

[12] 梁建根,张炳欣,施跃峰,等. 植物根围促生细菌的分离筛选及对黄瓜土传病害的防治 [J]. 中国农学通报, 2007, 23(12): 341-346.

Liang J G, Zhang B X, Shi Y F, et al. study on isolation and screening of plant-growth promoting rhizobacteria and its bio-control acion to soil-borne diseases of cucumber [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2007, 23(12): 341-346. (in Chinese)

[13] 方中达. 植病研究方法 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1996: 148-249.

Fang Z D. Research method of plant disease [M]. Beijing: Chinese Agriculture Press, 1996: 148-249. (in Chinese)

[14] 陈 丽,安德荣,白 萍. 拮抗放线菌 S-930-6 发酵液精提物对几种作物病害的防治效果 [J]. 农药, 2004, 43(3): 120-122.

Chen L, An D R, Bai P. Control of several crop diseases with refined extracts from fermentation broth of the antagonistic actinomycete S-930-6 [J]. Pesticides, 2004, 43(3): 120-122. (in Chinese)

[15] 农业部农药检定所生测室. 农药田间药效试验准则(二)[M]. 北京: 中国标准出版社, 2004: 343-347.

Institute of Pesticide Verification in Ministry of Agriculture. The criterion of field trial of efficacy(2) [M]. Beijing: Chinese Standard Press, 2004: 343-347. (in Chinese)

[16] 杨先理,王鸿彬,栗振华. 登记用农药(杀菌剂)田间药效试验准则综述 [J]. 天津农林科技, 1995, 2: 41-48.

Yang X L, Wang H B, Li Z H. Review on criterion of field trial of efficacy of registration pesticide(fungicides) [J]. Tian-Jing Agroforestry Science and Technology, 1995, 2: 41-48. (in Chinese)

[17] 孙军德,赵春燕,王 辉,等. 不同生物防治菌株对番茄灰霉病防治效果的影响 [J]. 沈阳农业大学学报, 2005, 36(4): 445-447.

Sun J D, Zhao C Y, Wang H, et al. Effect of prevention and control of botrytis cinerea with antagonistic strains [J]. Journal of Shenyang Agricultural University, 2005, 36(4): 445-447. (in Chinese)

[18] 刘翠娟. 土壤颀颀放线菌的分离、发酵及活性产物研究 [D]. 陕西 杨凌: 西北农林科技大学, 2004.

Liu C J. study on the isolation, fermenttation and the metabolite of soil actinomycetes [D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University, 2004. (in Chinese)

[19] 郝永丽,宗兆锋. 4 株放线菌的防病促生作用研究 [J]. 西北农业学报, 2007, 16(3): 257-259.

Hao Y L, Zong Z F. Biocontrol and growth promotion effects of four actinomycetes strains [J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2007, 16(3): 257-259. (in Chinese)