

植物内生放线菌 Lj20 发酵液萃取物 对真菌作用机理的研究

刘永齐¹, 马 林², 史 赞², 刘慧平², 韩巨才², 闫彦萍²

(1 山西林业职业技术学院 园林系, 山西 太原 030009; 2 山西农业大学 农学院, 山西 太谷 030801)

【摘 要】 【目的】明确植物内生放线菌 Lj20 发酵液萃取物对真菌的抑菌作用机理。【方法】观察 100 mg/L Lj20 萃取物对灰葡萄孢菌菌丝形态的影响,测定 0.02, 0.2, 2, 20 和 200 mg/L Lj20 萃取物对灰葡萄孢菌、拟盘多孢菌、弯孢霉和茄链格孢菌菌丝生长及孢子产生、萌发的影响,并测定 200 mg/L Lj20 萃取物对灰葡萄孢菌菌丝细胞膜的影响。【结果】用 100 mg/L Lj20 萃取物处理灰葡萄孢菌后菌丝量减少,菌丝体皱缩、断裂、原生质外渗,菌体细胞表面有许多瘤状畸形;Lj20 萃取物对 4 种病原真菌的菌丝生长、孢子产生和萌发均有明显抑制作用,其中对灰葡萄孢菌的抑制作用最强,抑制菌丝生长的 EC_{50} 为 0.96 mg/L,抑制孢子萌发的 EC_{50} 为 8.33 mg/L,200 mg/L Lj20 萃取物对其孢子产生的抑制率为 89.4%;用 200 mg/L Lj20 萃取物处理后的灰葡萄孢菌培养液在 260 nm 处均出现 1 个吸收峰,而对照(10 g/L NaCl 处理)无吸收峰出现。【结论】Lj20 萃取物对 4 种供试病原菌的菌丝形态和生长、孢子产生和萌发均有抑制作用,对细胞膜透性也有明显影响。

【关键词】 植物内生放线菌;萃取物;真菌;抑菌作用

【中图分类号】 S482.2⁺92

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2009)04-0163-06

Study on antifungal mechanism of endophytic actinomyce Lj20 extracts

LIU Yong-qi¹, MA Lin², SHI Yun², LIU Hui-ping², HAN Ju-cai², YAN Yan-ping²

(1 Department of Gardening, Shanxi Forestry Vocational and Technological Institute, Taiyuan, Shanxi 030009, China;

2 College of Agriculture, Shanxi Agricultural University, Taigu, Shanxi 030801, China)

Abstract: 【Objective】 The study was to realize antifungal mechanism of endophytic actinomycetes Lj20 extracts. 【Method】 The effect of Lj20 extracts (100 mg/L) on mycelia of *Botrytis cinerea* Pers. was observed. The effects of Lj20 extracts which concentration contained 0.02, 0.2, 2, 20 and 200 mg/L on mycelia growth, spore formation and germination of *Botrytis cinerea* Pers., *Pestalotiopsis* spp., *Curvularia* spp and *Alternaria solani* (Ell. et Mart) Jones et Grout. were measured, and the influence of Lj20 extracts on cell membrane of *Botrytis cinerea* Pers. was determined. 【Result】 After treated with Lj20 extracts (100 mg/L), the mycelia were reduced, crenate and broken. The tuberculate malformation appeared, and the protoplast exsposed. There was obvious inhibition effect of Lj20 extracts against mycelia growth, spore formation and spore germination of four pathogens, the effect of which was most obvious against *Botrytis cinerea* Pers. EC_{50} of inhibiting mycelia growth was 0.96 mg/L, and EC_{50} of spore germination was 8.33 mg/L. Inhibition rate of 200 mg/L Lj20 extracts against spore formation was 89.4%. *Botrytis cinerea* Pers. culture fluid treated with 200 mg/L Lj20 extracts had absorption maxima at 260 nm, but the control didn't have. 【Conclusion】 Lj20 extracts had inhibition on mycelia morphology and growth, spore formation

* [收稿日期] 2008-05-14

[基金项目] 山西省科技攻关项目(051045, 2007031039); 山西省自然科学基金项目(033006, 20041096); 山西省留学归国基金(200441, 2007061)

[作者简介] 刘永齐(1956—), 男, 山西五台人, 副教授, 主要从事园林植物病虫害防治研究。E-mail: lyq-lyq888@163.com

[通信作者] 刘慧平(1956—), 女, 山西太原人, 教授, 主要从事生物农药研究。E-mail: sxndhjc@yahoo.com.cn

and germination of four pathogens and had obvious effects on cell membrane permeability.

Key words: endophytic actinomycetes; extracts; fungus; inhibition effect

从微生物代谢产物中寻找控制有害生物的生物农药,是新农药研究的一个重要方向^[1]。近年来,使用抗生素治疗植物病害已取得了一定成绩,抗生素在防治植物病害方面,有可能替代或部分替代目前防治植物病害所使用的化学药品^[2]。目前,关于农用抗生素的作用机理研究,多集中于其对病原菌的细胞壁、细胞膜、蛋白质合成系统、能量代谢系统,及对杂草的光合系统、植物的防御系统的作用等方面^[3],对中生菌素^[4]、农抗 TS99^[5]、农抗 120^[6]等农用抗生素的作用机理均已报道。

Lj20 菌株是从健康辣椒根部分离得到的 1 株具有生防潜力的植物内生放线菌^[7]。Lj20 菌株的菌体和代谢产物对番茄灰霉病菌、番茄早疫病菌等多种病原真菌都有很好的抑制作用^[8-9],并且从其代谢产物中得到了 2 种有抗菌活性的化合物^[10]。本研究以 4 种真菌为供试病原菌,探讨 Lj20 发酵液对真菌菌丝形态、菌丝生长、孢子产生和萌发、细胞膜透性等方面的影响,以进一步明确其抗真菌的作用机理。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试药剂 植物内生放线菌 Lj20 发酵液石油醚萃取物,由山西农业大学农药学实验室提供,浓缩蒸干后以少量丙酮溶解,使用时用无菌水稀释。

1.1.2 供试病原菌 灰葡萄孢菌(*Botrytis cinerea* Pers.)、拟盘多毛孢菌(*Pestalotiopsis* spp.)、弯孢霉(*Curvularia* spp.)和茄链格孢菌(*Alternaria solani* (Ell. et Mart) Jones et Grout.),均由山西农业大学农药学实验室提供。

1.1.3 培养基 马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA);理查培养液(内含硝酸钾 10 g,磷酸二氢钾 5 g,硫酸镁 2.5 g,三氯化铁 0.02 g,蔗糖 50 g,蒸馏水 1 000 mL)。

1.2 方法

1.2.1 Lj20 发酵液萃取物对灰葡萄孢菌菌丝形态的影响 将灰葡萄孢菌的孢子接种于理查培养液中,待长出均匀的菌丝悬浮液后,加入 100 mg/L 的 Lj20 萃取物,以加入等量无菌水为对照,培养 48 h 后取样,在显微镜下观察菌丝形态的变化。

1.2.2 Lj20 发酵液萃取物对 4 种病原菌菌丝生长

的影响 将 1.1.2 中所述的 4 种供试病原菌于 PDA 固体平板上培养形成均匀的菌落后,用 5 mm 打孔器打取菌落边缘均一的菌块作接种物;再将 Lj20 萃取物用无菌水稀释为 0.02,0.2,2,20 和 200 mg/L 5 个质量浓度,将不同质量浓度萃取物分别与 PDA 培养基按体积比为 1:9 的比例混合,分别接入 4 种病原菌菌块;试验重复 3 次,以加无菌水的培养基为对照。病原菌在 25 ℃ 条件下恒温培养 3 d,采用十字交叉法测量菌落直径,计算出毒力回归方程式、EC₅₀ 值和 95% 置信限。

1.2.3 Lj20 发酵液萃取物对 4 种病原菌孢子产生的影响 将 1.2.2 中 Lj20 萃取物处理的菌落培养 120 h 后,用 6 mm 打孔器于距离菌落边缘 3~4 mm 处打取菌块,加入试管内,加 1~2 mL 蒸馏水,将菌块上的孢子全部洗下,用血球计数板直接记数,每皿取菌 2 块,每块菌孢子记数 4 次,将 8 个观察数据平均,作为试验数据,整个试验重复 3 次,计算 Lj20 发酵液萃取物对 4 种病原菌孢子产生的抑制率。

1.2.4 Lj20 发酵液萃取物对 4 种病原菌孢子萌发的影响 以悬滴法测病原菌的孢子萌发率^[11]。将 4 种病原菌的孢子悬浮液与 1.2.2 所述 5 个质量浓度的 Lj20 萃取物混匀,使每个视野的孢子数为 100 个左右,取 50 μL 置于凹玻片上。将凹玻片倒置于滤纸保湿的培养皿中,28 ℃ 条件下培养,以加无菌水为对照,每个处理于培养 24 h 后用光学显微镜观察孢子的萌发情况,以芽管长度超过孢子直径 1/2 计为萌发,每个处理重复 5 次,每次镜检不超过 3 个视野。将对照组孢子萌发率定为 100%,每个处理的孢子不萌发率与畸形率之和换算成百分比,表示抑制率^[12]。计算出毒力回归方程式、EC₅₀ 值和 95% 置信限。

1.2.5 Lj20 发酵液萃取物对灰葡萄孢菌菌丝细胞膜的影响 将灰葡萄孢菌在理查培养液中悬浮培养,待菌丝生长到对数生长期时,离心收集菌体,用 10 g/L NaCl 洗涤,离心,重复 3 次。再将菌体悬浮于 10 g/L NaCl 溶液中,处理加入 Lj20 萃取物,使最终质量浓度为 200 mg/L。以加 10 g/L NaCl 溶液的培养基为对照,于 28 ℃ 静置培养,分别于培养 12 和 24 h 取样,离心,收集上清液,用紫外分光光度计测 200~600 nm 的吸收峰型及 260 nm 处吸收值的变化^[13]。

2 结果与分析

2.1 Lj20 发酵液萃取物对灰葡萄孢菌菌丝形态的影响

由图 1 可以看出,在理查液体培养基中加入 100 mg/L 的 Lj20 萃取物 48 h 后,灰葡萄孢菌菌丝

量减少,菌丝体皱缩,呈块状;而对照菌丝体则生长旺盛,菌丝分布均匀。将上述处理和对照组菌丝取出,用蒸馏水冲洗,在显微镜下观察,结果(图 2)表明,经 Lj20 萃取物处理的病菌菌丝体断裂,原生质外流,菌体细胞表面有许多瘤状畸形;而对照菌丝体则粗细均匀且表面光滑,原生质正常。

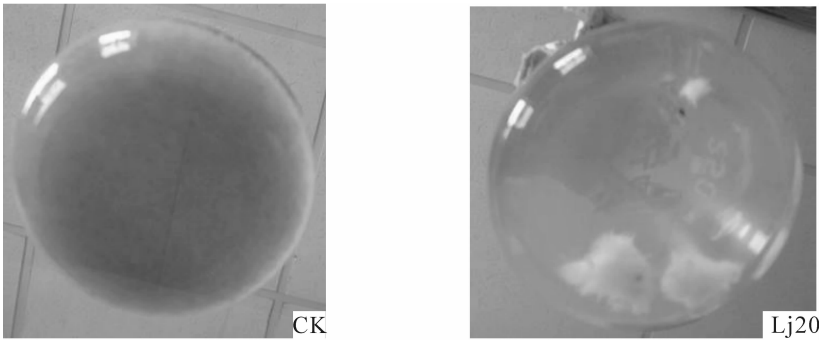


图 1 Lj20 萃取物对灰葡萄孢菌菌丝生长的影响
Fig.1 Effect of Lj20 extracts on mycelia growth of *Botrytis cinerea* Pers.

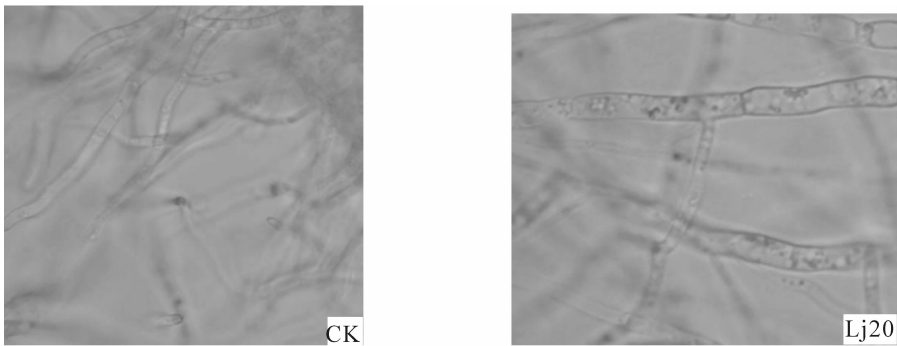


图 2 Lj20 萃取物对灰葡萄孢菌菌丝形态的影响
Fig.2 Mycelial morphology of *Botrytis cinerea* Pers. treated with Lj20 extracts

2.2 Lj20 发酵液萃取物对 4 种病原菌菌丝生长的影响

表 1 表明,Lj20 萃取物对 4 种病原真菌菌丝的生长均有一定抑制作用,其中对灰葡萄孢菌菌丝生长的抑制作用最强,EC₅₀ 仅为 0.96 mg/L;其次为拟

盘多孢菌和弯孢霉,EC₅₀ 分别为 6.44 和 8.24 mg/L;对茄链格孢菌菌丝生长的抑制作用最弱,EC₅₀ 达到 106.03 mg/L。说明抑制病原菌菌丝生长是植物内生放线菌 Lj20 萃取物的作用方式之一。

表 1 Lj20 萃取物对 4 种病原菌菌丝生长的影响

病原菌 Pathogens	回归方程式 Regression equation	EC ₅₀ /(mg·L ⁻¹)	95%置信限/(mg·L ⁻¹) 95% FL
灰葡萄孢菌 <i>Botrytis cinerea</i> Pers.	$y=5.005\ 8+0.326\ 7x$	0.96	0.45~2.01
拟盘多毛孢菌 <i>Pestalotiopsis</i> spp.	$y=4.371\ 8+0.776\ 9x$	6.44	2.68~30.88
弯孢霉 <i>Curvularia</i> spp.	$y=4.526\ 7+0.516\ 8x$	8.24	1.53~19.18
茄链格孢菌 <i>Alternaria solani</i> (Ell et Mart) Jones et Grout.	$y=4.139\ 3+0.304\ 6x$	106.03	86.49~236.34

注:回归方程式中 x 为 Lj20 萃取物质量浓度的对数值, y 为抑制菌丝生长百分率。
Note:In regression equation, x represents logarithm of Lj20 extract concentration and y represents percentage of inhibition on mycelial growth.

2.3 Lj20 发酵液萃取物对 4 种病原菌孢子产生的影响

由图 3 可以看出,随着 Lj20 萃取物质量浓度的提高,其对 4 种病原菌孢子形成的抑制率均逐渐增强,其中 200 mg/L 的 Lj20 萃取物对灰葡萄孢菌、拟

盘多孢菌、弯孢霉和茄链格孢菌孢子形成的抑制率分别达 89.4%,80.2%,78.4%和 66.7%。可见,该植物内生放线菌 Lj20 萃取物不仅能抑制病菌菌丝的生长,而且可以导致其产孢能力减弱,从而降低病菌的繁殖能力。

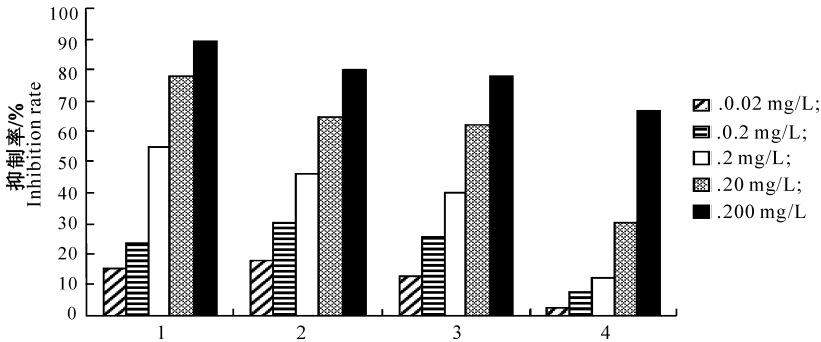


图 3 Lj20 萃取物对 4 种病原菌孢子产生的影响

1. 灰葡萄孢菌;2. 拟盘多毛孢菌;3. 弯孢霉;4. 茄链格孢菌

Fig. 3 Effect of Lj20 extracts on spore formation of four kinds of pathogens

1. *Botrytis cinerea* Pers.; 2. *Pestalotiopsis* spp.; 3. *Curvularia* spp.; 4. *Alternaria solani* (Ell et Mart) Jones et Grout.

2.4 Lj20 发酵液萃取物对 4 种病原菌孢子萌发的影响

由表 2 可知,Lj20 萃取物可以不同程度地抑制 4 种病原真菌的孢子萌发,其抑制作用大小与对菌丝生长的抑制规律相同,即对灰葡萄孢菌孢子萌发

的抑制作用最强,EC₅₀为 8.33 mg/L,其次为拟盘多孢菌(49.60 mg/L)和弯孢霉(57.89 mg/L),对茄链格孢菌孢子萌发的抑制作用最弱(235.36 mg/L)。说明植物内生放线菌 Lj20 萃取物对病原菌孢子萌发也有抑制作用,但作用弱于对菌丝生长的抑制作用。

表 2 Lj20 萃取物对 4 种病原菌孢子萌发的影响

Table 2 Effect of Lj20 extracts on spore germination of four kinds of pathogens

病原菌 Pathogens	回归方程式 Regression equation	EC ₅₀ /(mg·L ⁻¹)	95%置信限/(mg·L ⁻¹) 95% FL
灰葡萄孢菌 <i>Botrytis cinerea</i> Pers.	$y=4.061\ 5+1.019\ 6x$	8.33	6.39~10.85
拟盘多毛孢菌 <i>Pestalotiopsis</i> spp.	$y=3.088\ 3+1.127\ 5x$	49.60	36.98~66.54
弯孢霉 <i>Curvularia</i> spp.	$y=2.855\ 7+1.216\ 6x$	57.89	46.30~72.36
茄链格孢菌 <i>Alternaria solani</i> (Ell et Mart) Jones et Grout.	$y=0.859\ 7+1.745\ 7x$	235.36	197.72~280.16

注:回归方程式中 x 为 Lj 萃取物质量浓度对数值, y 为抑制孢子萌发百分率。

Note:In regression equation, x represents logarithm of Lj20 extract concentration and y represents percentage of inhibition on spore germination.

2.5 Lj20 发酵液萃取物对灰葡萄孢菌菌丝细胞膜的影响

由图 4 可以看出,用 200 mg/L Lj20 萃取物处理灰葡萄孢菌,在处理 12 和 24 h 时,培养液在 260 nm 处均出现 1 个吸收峰,且 24 h 时的峰值大于 12 h,而对照在 260 nm 处则无吸收峰。可见,植物内生放线菌 Lj20 萃取物对真菌的细胞膜透性也有影响。

3 结论与讨论

植物内生放线菌 Lj20 萃取物对灰葡萄孢菌、拟盘多孢菌、弯孢霉和茄链格孢菌等 4 种病原真菌的

菌丝生长、孢子产生和萌发均有明显的抑制作用,且对菌丝生长的抑制作用明显优于对孢子萌发的抑制作用,其中对灰葡萄孢菌的抑制作用最好;抑制菌丝生长的 EC₅₀ 为 0.96 mg/L,抑制孢子萌发的 EC₅₀ 为 8.33 mg/L,200 mg/L Lj20 萃取物对其孢子产生的抑制率为 89.4%。杀稻瘟菌素-S 就是通过抑制孢子和菌丝的呼吸作用而强烈抑制孢子萌发和菌丝生长的^[14],本研究中 Lj20 萃取物对孢子萌发和菌丝生长的抑制作用,可能也与其抑制孢子和菌丝的呼吸作用有关。

由于 Lj20 萃取物对灰葡萄孢菌的抑制效果最好,所以进一步观察了萃取物对其菌丝形态和细胞

膜的影响,结果表明,经 100 mg/L Lj20 萃取物处理的灰葡萄孢菌菌丝体断裂,原生质外流,菌体细胞表面有许多瘤状畸形;用 200 mg/L Lj20 萃取物处理的灰葡萄孢菌培养液在 260 nm 处有吸收峰,说明

Lj20 萃取物对病原菌细胞膜的透性有影响。多烯类抗生素就是通过与质膜中含有的麦角醇作用,损伤细胞质膜造成胞内物质泄漏^[15-16],从而起到杀菌作用的。

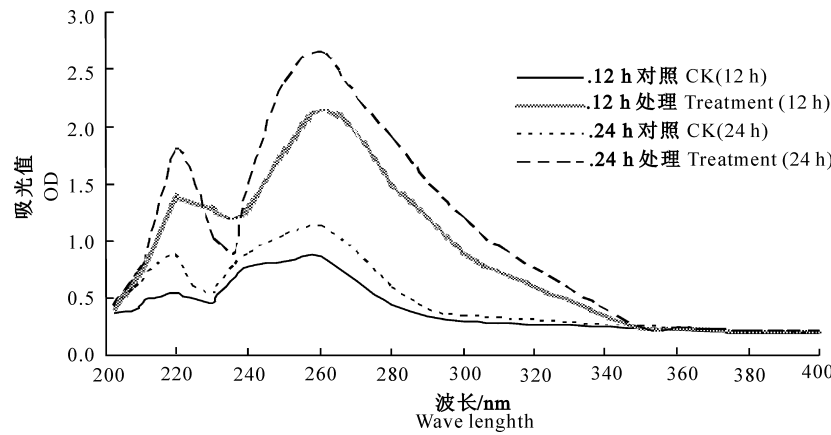


图 4 Lj20 萃取物对灰葡萄孢菌菌丝细胞膜渗透性的影响

Fig. 4 Influence of Lj20 extracts on cell membrane of *Botrytis cinerea* Pers.

研究抗生素作用机制的常用方法包括生物测定、细胞形态观察和生理生化测定等^[17]。本研究仅进行了作用机制相关方面的生物测定和细胞膜的生化测定,关于 Lj20 萃取物作用机制其他方面的生化测定(包括核酸、细胞壁和蛋白质)及与抗病相关的酶活性变化等,均有待于进一步研究。

[参考文献]

[1] 功能. 生物农药发展的机遇与挑战 [J]. 中国生物防治, 2001, 17(4): 184-185.
Gong N. The chances and challenges of bio-pesticide development [J]. Chinese Journal of Biological Control, 2001, 17(4): 184-185. (in Chinese)

[2] 侯慧, 徐汉虹, 林壁润, 等. 防治植物病害的农用抗生素的研究及应用 [J]. 河南农业科学, 2003(11): 28-31.
Hou H, Xu H H, Lin B R, et al. Studies and application of agricultural antibiotics of controlling the plant disease [J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2003(11): 28-31. (in Chinese)

[3] 胥秀英, 郑一敏, 温寿祯, 等. 土壤放线菌分离方法的初步研究 [J]. 生物学杂志, 2000, 17(2): 16-17.
Xu X Y, Zheng Y M, Wen S Z, et al. Preliminary studies on the isolation methods of actinomycetes from soil [J]. Journal of Biology, 2000, 17(2): 16-17. (in Chinese)

[4] 蒋细良, 谢德龄, 倪楚芳, 等. 中生菌素对真菌作用机理的研究 [J]. 中国生物防治, 1997, 13(2): 69-71.
Jiang X L, Xie D L, Ni C F, et al. The mode of action of zhongshengmycin on pathogenic fungi [J]. Chinese Journal of Biological Control, 1997, 13(2): 69-71. (in Chinese)

[5] 吴元华, 文才艺, 朱春玉, 等. 农抗 TS99 对烟草赤星病菌作用

的研究 [J]. 中国烟草学报, 2004, 10(4): 20-22, 35.
Wu Y H, Wen C Y, Zhu C Y, et al. The effect of agricultural antibiotic TS99 on alternaria alternata [J]. Acta Tabacaria Sinica, 2004, 10(4): 20-22, 35. (in Chinese)

[6] 朱昌雄, 谢德龄. 农抗 120 对苹果树腐烂病菌的作用研究 [J]. 生物防治通报, 1992, 8(4): 163-167.
Zhu C X, Xie D L. Effect of agricultural antibiotic 120 against apple tree canker, valsa mali [J]. Chinese Journal of Biological Control, 1992, 8(4): 163-167. (in Chinese)

[7] 邢鲲, 韩巨才, 刘慧平, 等. 辣椒内生放线菌的分离·鉴定和拮抗作用 [J]. 安徽农业科学, 2005, 33(5): 777-778.
Xing K, Han J C, Liu H P, et al. Identification and antagonistic effect of endophytic actinomycetes isolated from capsicum [J]. Journal of Anhui Agricultural Science, 2005, 33(5): 777-778. (in Chinese)

[8] 马林, 韩巨才, 刘慧平. 植物内生放线菌 Fq24 和 Lj20 对番茄早疫病菌的抑制作用 [J]. 农药科学与管理, 2006, 27(5): 29-31, 35.
Ma L, Han J C, Liu H P. Inhibiting effect of endophytic actinomycetes Fq24 and Lj20 on *Alternaria solani* (Ell. et Mart) Jones et Grout [J]. Pesticide Science and Administration, 2006, 27(5): 29-31, 35. (in Chinese)

[9] 马林, 韩巨才, 刘慧平. 辣椒内生放线菌 Lj20 活性代谢物抑菌作用的研究 [J]. 中国生态农业学报, 2008, 16(3): 666-668.
Ma L, Han J C, Liu H P. Fungicidal action of active metabolites of endophytic actinomycetes Lj20 from *Capsicum* spp. [J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2008, 16(3): 666-668. (in Chinese)

[10] 马林, 陈红兵, 韩巨才, 等. 植物内生放线菌 Lj20 的鉴定及其抗真菌物质的合成 [J]. 微生物学报, 2008, 48(7): 900-904.
Ma L, Chen H B, Han J C, et al. Identification of endophytic

actinomyete Lj20 from plant and its antifungal substances [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2008, 48 (7): 900-904. (in Chinese)

[11] 田 黎,顾振芳,陈 杰,等. 海洋细菌 B-9987 菌株产生的抑菌物质及对几种植物病原真菌的作用 [J]. 植物病理学报, 2003, 33(1): 77-80.

Tian L, Gu Z F, Chen J, et al. Inhibitor substance of marine bacterium and effects on pathogenic fungi [J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2003, 33(1): 77-80. (in Chinese)

[12] 何培青,田 黎,李光友,等. 海洋细菌 B-9987 胞外代谢产物的纯化及抑菌机理初探 [J]. 海洋与湖沼, 2002, 33(5): 492-498.

He P Q, Tian L, Li G Y, et al. Preliminary study on purification and antifungal mechanism of metabolite from marine bacterium B-9987 strain (*bacillus* sp.) [J]. Oceanologia Et Limnologia Sinica, 2002, 33(5): 492-498. (in Chinese)

[13] Newton B A. The release of soluble constituents from washed cells of *Pseudomonas aeruginosa* by the action of polymyxin [J]. Journal of General Microbiology, 1953(9): 54-56.

[14] 刘爱媛. 链霉素对几种卵菌的抑制作用 [J]. 植物保护学报, 2001, 28(3): 254-258.

Liu A Y. Inhibition of streptomycin on some oomycetes [J]. Acta Phytophylacica Sinica, 2001, 28 (3): 254-258. (in Chinese)

[15] 余凤玉,李振华,曾会才. 抗真菌农用抗生素的研究进展 [J]. 热带农业科学, 2005, 25(1): 60-65.

Yu F Y, Li Z H, Zeng H C. Progress on the research in antifungal agricultural antibiotics [J]. Chinese Journal of Tropical Agriculture, 2005, 25(1): 60-65. (in Chinese)

[16] 段琦梅,慕小倩,安德荣,等. 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, et al. 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)

[17] 陈 丽,疏秀林,安德荣,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]. 植物保护学报, 2007, 34(3): 277-282.

Chen L, Shu X L, An D R, et al. Inhibiting range and mechanism of the active product of S-5210-6 [J]. Acta Phytophylacica Sinica, 2007, 34(3): 277-282. (in Chinese)

(上接第 162 页)

[7] 安德荣,慕小倩,刘翠娟,等. 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, et al. Isolation and screening of antibonistic actinomycetes from soil [J]. Journal of Microbiology, 2002, 22(5): 1-3. (in Chinese)

[8] 方中达. 植病研究方法 [M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 1998.

Fang Z D. Met hodology of plant disease research [M]. 3rd Ed. Beijing: China Agricultural Press, 1998. (in Chinese)

[9] 陈定花,朱卫刚,吴永刚. 黄瓜灰霉病子叶筛选法初探 [J]. 浙江化工, 2000(S1): 38-39.

Chen D H, Zhu W G, Wu Y G. The primary study on cotyledon method of botrytis cinerea [J]. Zhejiang Chemical Industry, 2000(S1): 38-39. (in Chinese)

[10] 李树正,张素华. 杀菌剂筛选方法的研究 [J]. 农药, 1997, 36 (9): 20-22.

Li S Z, Zhang S H. Study on fungicidal screening method [J]. Pesticides, 1997, 36(9): 20-22. (in Chinese)

[11] 张 兴,王兴林. 植物化学保护实验指导 [M]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学出版社, 2000: 66-68.

Zhang X, Wang X L. Introduction to experiment of chemical plant protection [M]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University Press, 2000: 66-67. (in Chinese)

[12] 刘 霞. 昆虫病原线虫共生菌 YL001 菌株的代谢产物及其抑菌活性研究 [D]. 陕西 杨凌: 西北农林科技大学, 2006.

Liu X. Studies on the metabolite and antifungal activity of Xenorhabdus Nematophilus YL001 from entomopathogenic nematodes [D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University, 2006. (in Chinese)

[13] 李登绚,张红霞,贺宏伟. 保护地辣椒疫病的发生规律及无公害防治技术 [J]. 辣椒杂志, 2005(3): 27-28.

Li D X, Zhang H X, He H W. Phytophthora blight and its non-pollution controll in hot peppers under protected cultivation [J]. Journal of China Capsicum, 2005(3): 27-28. (in Chinese)

[14] 乔宏萍,黄丽丽,王伟伟,等. 小麦全蚀病生防放线菌的分离与筛选 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2005, 33(8): 1-4.

Qiao H P, Huang L L, Wang W W, et al. Isolation and screening actinomycetes against take-all disease of wheat [J]. Journal of Northwest A&F University: Natural Science Edition, 2005, 33(8): 1-4. (in Chinese)

[15] 张炳火,方 亮,李汉全,等. 微生物资源研究开发进展 [J]. 国外医药: 抗生素分册, 2006, 27(5): 233-235.

Zhang B H, Fang L, Li H Q, et al. Progress on the research of microbial resource [J]. World Notes on Antibiotics, 2006, 27 (5): 233-235. (in Chinese)

[16] 李文均,徐 平,徐丽华,等. 极端环境中的放线菌资源 [J]. 微生物学通报, 2003, 30(4): 125-127.

Li W J, Xu P, Xu L H, et al. Actinomycetes resource in extreme environments [J]. Microbiology, 2003, 30(4): 125-127. (in Chinese)