

# 放线菌 IH61 和 A-21 对蔬菜枯萎病和灰霉病的控制作用

潘争艳<sup>1</sup>, 刘伟成<sup>2</sup>, 裘季燕<sup>2</sup>, 董克虞<sup>2</sup>, 田兆丰<sup>2</sup>, 刘德文<sup>2</sup>, 刘学敏<sup>1</sup>

(1. 东北农业大学, 黑龙江 哈尔滨 150030; 2. 北京市农林科学院植保环保所, 北京 100089)

**摘要:** 为了明确拮抗性放线菌 IH61 和 A-21 在植物病害生物防治中的实用价值, 并为其后续的生防制剂的研发提供科学依据, 对其在蔬菜枯萎病和灰霉病上的抗病活性进行了研究。其活菌体的抑菌活性检测采用平板对峙法; 菌体代谢物的活性测定利用摇瓶发酵后经微孔滤膜过滤制备无菌发酵液, 然后用滤纸片扩散法测定抑菌圈, 用生长速率法测定对菌落扩展的抑制, 用稀释药液凹玻片静置培养法测定对孢子萌发的抑制; 温室防病试验采用盆栽接种法。结果显示, 两菌株的平板菌落对黄瓜枯萎病菌和番茄灰霉病菌的抑菌带宽达 17.5~20.9 mm; 27℃, 120 r/min 摇瓶培养 6 d 的发酵液抑菌效果最好, 其稀释倍数 ≤5 的无菌滤液处理后经 120 h 对病原菌菌丝生长的抑制率仍达 76.5%~100%, 对分生孢子萌发的抑制率为 100%; 100 倍稀释液对孢子萌发后的芽管具有致畸作用, 使其顶端膨大或呈粗棒齿状而不再继续伸长; 平板对峙培养中受抑病原菌菌落边缘的菌丝细胞壁崩解, 原生质体外泄, 表现出溶菌现象; 其 4 倍稀释液对黄瓜枯萎病的温室盆栽防效分别为 65.15% 和 60.61%, 对番茄和辣椒灰霉病的防效为 62.49%~89.76%。此研究结果表明这 2 个菌株具有很好的开发应用前景。

**关键词:** 拮抗放线菌; 黄瓜枯萎病; 蔬菜灰霉病; 生物防治

中图分类号: Q939.13 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2005)04-0092-06

## Control Effect of the Actinomyces Strains IH61 and A-21 to Fusarium Wilt and Gray Mold of Vegetables

PAN Zheng-yan<sup>1</sup>, LIU Wei-cheng<sup>2</sup>, QIU Ji-yan<sup>2</sup>, DONG Ke-yu<sup>2</sup>,  
TIAN Zhao-feng<sup>2</sup>, LIU De-wen<sup>2</sup>, LIU Xue-min<sup>1</sup>

(1. Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China; 2. Institute of Plant and Environment Protection, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100089, China)

**Abstract:** A study on the biocontrol efficacy of the actinomyces strains IH61 and A-21 against fusarium wilt and gray mold of vegetables was launched for the sake of evaluating the application significance of the two strains for the biological control of plant diseases, and providing scientific basis for the follow up research on their development. In which, the antifungal bands of 17.5–20.9 mm wide produced by living colonies of the two strains against ones of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* and *Botrytis cinerea* were obtained by using the method of culturing colonies confronting each other on plate. The suppressing rates of 76.5%–100% to the growth of pathogen mycelia with the method of growth rate, the inhibiting rate of 100% to the conidial germination of pathogens with the method of germinating on concave sheet glasses were presented by their germfree ferment filtrate diluted by 5 times, and the distorting rate of 100% to germ tubes of the conidia by the filtrate diluted by 100 times were also observed. The fungilytic action to hyphae of the pathogens on plates was presented by the two strains too. In greenhouse potting trial with the ferment solutions diluted by 4 times, the relative control efficiencies to cucumber fusarium wilt were 60.61%–65.15%, to gray molds of tomato and pepper were

收稿日期: 2004-9-25

基金项目: 北京市自然科学基金资助(6033020)

作者简介: 潘争艳(1980-), 女, 黑龙江佳木斯人, 硕士, 主要从事植物病害生物防治研究; 刘伟成为通讯作者。

up to 62.49%–89.76%. The result showed that the two strains are excellent biocontrol materials with good prospects of development and application.

**Key words:** Antagonistic actinomyces; *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*; *Botrytis cinerea*; Biological control

镰刀菌枯萎病和灰霉病是蔬菜的两大重要病害,对蔬菜生产造成的危害十分严重。长期以来,包括这两大病害在内的蔬菜病害的防治主要依赖于化学农药,近年化学农药的残留对人畜健康的影响及其对生态环境的威胁日益受到社会的普遍关注。生物农药来源于自然,具有环境兼容性好、持效期长、低毒、对人畜和天敌安全等特点,因此越来越受到重视。拮抗性微生物是生物农药的重要来源之一,加强拮抗菌的筛选及其应用基础研究对于大力发展生物农药具有巨大的促进作用。本文对筛选到的蔬菜重要真菌性病害的拮抗性放线菌菌株 IH61 和 A-21 进行了室内生物测定和温室盆栽防治试验,旨在为进一步的深入研究和开发应用奠定基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 供试材料

1.1.1 靶标病原菌 尖镰孢菌黄瓜专化型(*Fusarium oxysporum* (Schl.) f. sp. *cucumerinum* Owen), 分离自京郊保护地黄瓜枯萎病病株;灰葡萄孢菌(*Botrytis cinerea* Pers), 分离自京郊保护地番茄和辣椒灰霉病病株。

1.1.2 拮抗菌株 IH61 和 A-21, 均为放线菌, 分离自京郊保护地蔬菜田土壤。

1.1.3 对照菌株 A97, 亦为分离自京郊保护地蔬菜田土壤的放线菌。

1.1.4 培养基 共三种。

PDA 培养基: 按文献[1]的配方配制。

发酵培养基: 1.5% 的黄豆粒加适量蒸馏水煮沸 0.5~1 h、取滤液, 0.5% 蛋白胨, 0.25% 硫酸铵, 2% 葡萄糖, 1% 淀粉, 0.025% 硫酸镁, 0.02% 磷酸二氢钾, 0.4% 氯化钠。配成水溶液, 调至 pH 7~8 后, 加 1% 碳酸钙。1.06 kg/cm<sup>2</sup> 灭菌 20 min。

Tochinai 培养液: 按文献[2]配制。

1.1.5 作物及品种 黄瓜, 北京 102; 番茄, 佳粉 15 号; 甜椒, 北京茄门。均为北京蔬菜研究中心培育。

### 1.2 室内生物测定

1.2.1 平板菌落的抑菌活性检测 采用平板对峙法<sup>[3]</sup>, 在 PDA 平板一侧接种经活化培养的 IH61 和 A-21 菌饼(直径 7 mm), 另一侧对称位置接种对照菌

株 A97, 2 d 后在平板中央接种靶标病原菌菌饼(直径 7 mm), 28 °C 下培养 3 d, 观察拮抗反应, 并镜检病原菌菌落边缘菌丝的形态和结构变化。每处理 3 个重复。

#### 1.2.2 菌体代谢物抑菌活性测定

1.2.2.1 摇瓶发酵无菌滤液制备 用 500 mL 三角瓶装 100 mL 发酵培养基, 每瓶接种 10 块拮抗菌菌饼(直径 7 mm), 27 °C, 120 r/min 摇床培养, 分别于培养 2~8 d 时取发酵液 3000 r/min 离心 15 min, 上清液经 0.45 μm 微孔滤膜过滤灭菌后得无菌发酵液。

1.2.2.2 不同发酵时间代谢产物拮抗活性测定 采用滤纸片法<sup>[4]</sup>, 将靶标病原菌与冷却的 PDA 培养基混合制成平板, 在平板四周对称位置放置经高压灭菌的滤纸片(直径 7 mm), 然后, 分别滴加 10 μL 第 2~8 d 的无菌发酵液原液于滤纸片上, 以发酵培养基为对照, 27 °C 下培养 3 d, 十字交叉法测量抑菌圈直径。每处理 3 个重复。

1.2.2.3 生长速率测定 参照文献[5]的方法将培养 6 d 的无菌发酵液与 PDA 培养基混合, 分别制成 5, 10, 20, 100, 200 倍稀释的发酵液平板, 以混有相应体积的发酵培养基的 PDA 平板为对照, 平板中央接种靶标病原菌菌饼, 28 °C 下培养, 分别在第 1, 2, 3, 4, 5 d 十字交叉法测量菌落直径, 计算生长抑制率。每处理 3 个重复。

1.2.2.4 抑菌圈测定 采用 1.2.2.2 的方法, 用培养 6 d 的无菌发酵液制成不同浓度的处理, 并以发酵培养基为对照。每处理 3 个重复。

1.2.2.5 孢子萌发率测定 刮取病株上的分生孢子, 用发酵培养基配成 10 × 10 倍镜下每视野 50~100 个孢子的菌悬液, 然后用其将拮抗菌的无菌发酵液稀释成 5, 10, 20, 100, 200 倍等 5 个不同浓度的处理, 设不加拮抗菌发酵液的发酵培养基为对照, 用凹玻片在 27 °C 下静置培养, 以芽管长度超过分生孢子直径的一半作为萌发的标准<sup>[1]</sup>, 分别于处理后 4, 8, 12, 24 h 镜检孢子萌发情况, 并计算萌发抑制率。

### 1.3 温室盆栽防治试验

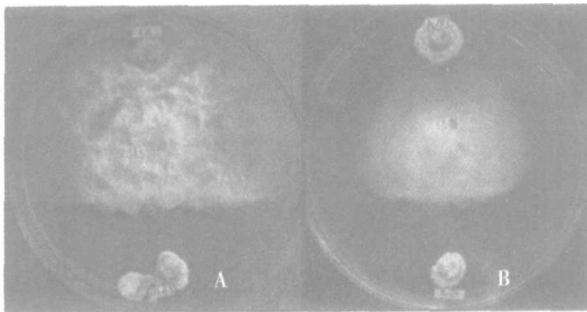
1.3.1 拮抗菌悬液的制备 按 1.2.2.1 的方法培养 6 d, 发酵液用组织匀浆机捣碎, 稀释 4 倍备用。

1.3.2 黄瓜枯萎病防治试验 病原菌用 Tochinai 培养液 27 ℃, 120 r/min 摇瓶培养 6 d, 匀浆后稀释 5 倍; 取定植后 13 d 的盆栽苗, 用病原菌和拮抗菌菌悬液灌根, 每株各灌 20 mL, 20 株为一处理, 每处理 3 个重复。45 d 后调查结果, 病害分级参照文献[6]中棉花枯萎病的标准进行。

1.3.3 番茄和辣椒灰霉病防治试验 刮取 PDA 平板上的分生孢子和菌丝, 匀浆后稀释成  $10 \times 10$  倍镜下每视野 20~40 个孢子和菌丝段的菌悬液; 取定植 45 d 的番茄盆栽苗和近开花期的辣椒盆栽苗, 先均匀喷雾接种病原菌菌悬液, 待其稍干后再喷施拮抗菌菌悬液, 置温室 20 ℃左右条件下, 保湿 48 h, 以后经常喷水。20 株为一处理, 每处理 3 个重复。7~14 d 后调查结果, 按文献[7]的标准进行病害分级。

## 2 结果与分析

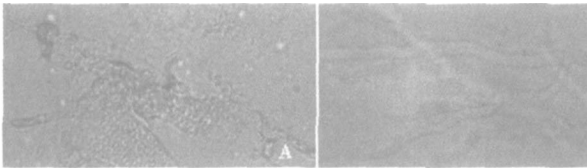
### 2.1 活体菌落的平板抑菌作用



A, B 分别为 IIF-61 和 A-21; 其余 2 个菌落为对照菌株  
A IIF-61; B A-21; The others Control strains

图 1 拮抗菌株 IIF-61 和 A-21 的平板菌落对黄瓜枯萎病菌的拮抗作用

Fig 1 Antifungal activities of colonies of IIF-61 and A-21 against *F. oxysporum* f sp *cucumerinum* on plates



A 处理后 3d; B 空白对照  
A 3 days after treatment; B Control

图 2 拮抗菌株 IIF-61 对灰霉病菌菌丝的溶解作用  
Fig 2 The fungilytic action of IIF-61 to hyphae of *Botrytis cinerea* on plates

由平板对峙培养的结果可见, 拮抗性放线菌菌株 IIF-61 和 A-21 在接种病原菌 4 d 后产生明显的抑菌带, 且抑菌带宽度不随时间的推移而显著改变。其中 IIF-61 对番茄灰霉病菌和黄瓜枯萎病菌的抑菌带宽度分别为 20.9 mm 和 19.1 mm; A-21 对二者的抑菌带宽度分别为 17.2 mm 和 17.5 mm(图 1)。显微镜下观察可见, 病原菌接种 3 d 后受抑菌落边缘

的菌丝细胞略膨胀, 胞壁表面变粗糙, 继而受到破坏, 原生质体外泄, 表现出溶菌现象(图 2)。

### 2.2 培养时间对代谢产物拮抗活性的影响

滤纸片法测知, IIF-61 和 A-21 无菌发酵滤液从第 3 d 开始对靶标病原菌产生抑菌现象, IIF-61 第 6 d 的发酵滤液对番茄灰霉病菌和黄瓜枯萎病菌抑菌作用达到最大, 其原液的抑菌圈直径分别为 24.7 mm 和 19.0 mm, A-21 第 6, 7 两天的抑菌作用基本一致且达到最高峰, 对两种病原菌的抑菌圈直径分别为 19.0 mm 和 18.0 mm, 培养时间再延长, 抑菌作用不再增加, 甚至有所下降(图 3, 图 4)。此结果说明培养时间与抗菌活性物质的产生有密切的关系。

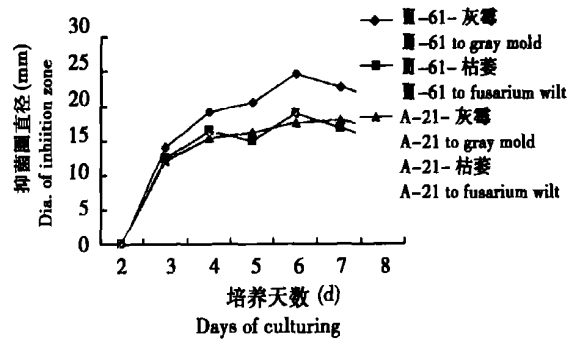
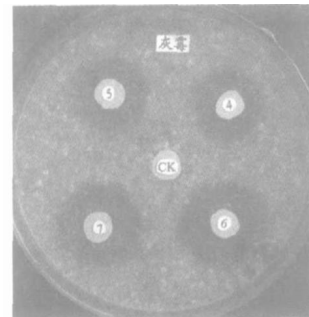


图 3 IIF-61 和 A-21 不同培养时间发酵滤液对靶标病原菌的拮抗活性

Fig 3 Antifungal activities to the pathogens by the broth from IIF-61 and A-21 cultured for different days



4~7 分别为经发酵 4~7 d 的无菌滤液处理的结果; ck 为对照  
4~7, treatments by the ferment filtrate of IIF-61 cultured respectively for 4~7 days; ck, control

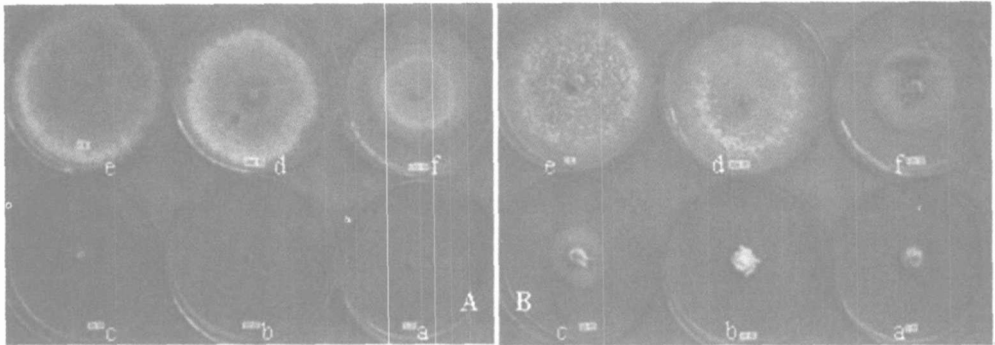
图 4 IIF-61 不同培养时间发酵滤液对番茄灰霉病菌的抑菌圈  
Fig 4 Inhibition zones of germfree ferment filtrate from IIF-61 cultured for different days to *Botrytis cinerea*

### 2.3 无菌发酵滤液对病原菌菌丝生长的抑制

从生长速率的测定结果看, IIF-61 和 A-21 不同浓度无菌发酵液对番茄灰霉病菌和黄瓜枯萎病菌均有较强抑制作用, 而前者强于后者; 两者的抑制作用随着稀释倍数增加而降低, 随着时间延长而有所下降。在处理后经 120 h, IIF-61 的 5 倍和 10 倍稀释液仍可以完全抑制番茄灰霉病菌菌丝生长, 对黄瓜枯萎病菌菌丝生长的抑制作用可达 88% 以上; A-21 的

5 倍稀释液也可以完全抑制番茄灰霉病菌菌丝生长, 对枯萎病菌菌丝生长抑制作用达 76. 5% (表 1,

图 5)。



A 对番茄灰霉病菌的抑制;B 对黄瓜枯萎病菌的抑制; a~ f 分别为 5, 10, 20, 100, 200 倍液和 CK  
A Acting to *Botrytis cinerea*; B Acting to *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*  
a~ f Treatments of ferment filtrate diluted respectively by 5, 10, 20, 100 and 200 times and the control.

图 5 IIH-61 不同浓度发酵滤液对靶标病原菌菌丝生长速率的抑制

Fig 5 The suppressing effects to mycelial growth rates of the pathogens presented by the germfree ferment filtrate of IIH-61

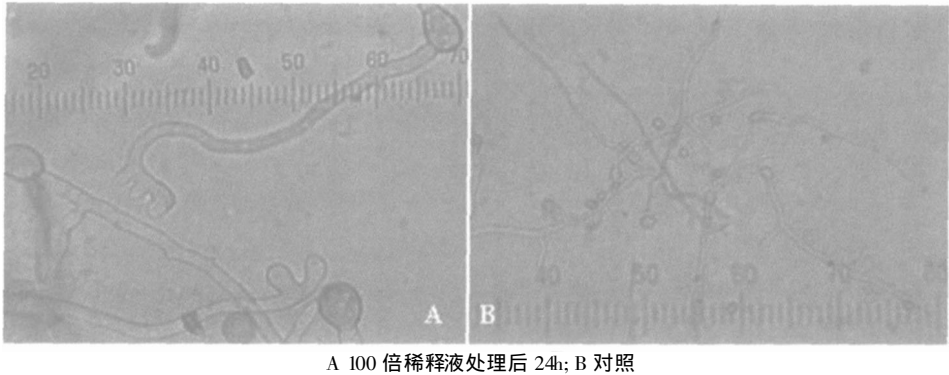
表 1 IIH-61 和 A-21 无菌发酵滤液对靶标病原菌菌丝生长速率的抑制

Tab 1 The suppressing effects to mycelial growth rates of the pathogens presented by the germfree ferment filtrate of IIH-61 and A-21

拮抗菌 Strains	处理后 时间(h) Hours	菌落 Colonies	ck											
			200 倍液		100 倍液		20 倍液		10 倍液		5 倍液			
			灰霉 Mold	枯萎 Wilt	灰霉 Mold	枯萎 Wilt	灰霉 Mold	枯萎 Wilt	灰霉 Mold	枯萎 Wilt	灰霉 Mold	枯萎 Wilt	灰霉 Mold	枯萎 Wilt
IIH-61	24	直径(mm) Diameter	16. 5	14. 5	15. 5	14. 0	0. 0	8. 5	0. 0	0. 0	0. 0	0. 0	0. 0	0. 0
		抑制率(%) Inhibiting rate			6. 1	3. 4	100	41. 4	100	100	100	100	100	100
	72	直径(mm) Diameter	65. 3	44. 7	62. 1	43. 6	32. 1	28. 0	0. 0	15. 0	0. 0	0. 0	0. 0	0. 0
		抑制率(%) Inhibiting rate			4. 9	2. 5	52. 2	37. 4	100	66. 4	100	100	100	100
	120	直径(mm) Diameter	85. 0	85. 0	80. 0	74. 5	57. 0	45. 0	7. 5	28. 0	0. 0	10. 1	0. 0	9. 5
		抑制率(%) Inhibiting rate			5. 9	12. 4	32. 9	47. 1	91. 2	67. 1	100	88. 1	100	88. 8
A-21	24	直径(mm) Diameter	16. 5	14. 5	16. 0	15. 0	9. 5	10. 0	0. 0	0. 0	0. 0	0. 0	0. 0	0. 0
		抑制率(%) Inhibiting rate			5. 9	0. 0	44. 1	33. 3	100	100	100	100	100	100
	72	直径(mm) Diameter	65. 3	44. 7	56. 0	43. 0	40. 0	28. 0	10. 0	20. 0	0. 0	0. 0	0. 0	0. 0
		抑制率(%) Inhibiting rate			13. 8	4. 4	38. 5	37. 8	84. 6	55. 0	100	100	100	100
	120	直径(mm) Diameter	85. 0	85. 0	80. 0	80. 0	63. 0	51. 0	23. 0	34. 0	0. 5	26. 0	0. 0	20. 0
		抑制率(%) Inhibiting rate			5. 9	5. 9	25. 9	40. 0	72. 8	60. 0	87. 6	69. 4	100	76. 5

滤纸片法测定两菌株培养 6 d 的无菌发酵滤液在 PDA 平板上对靶标病原菌产生的抑菌圈结果表明: 5 倍, 10 倍, 20 倍, 100 倍稀释液均可产生抑菌圈, 抑菌圈直径大小与发酵液浓度呈正相关。IIH

61, A-21 的 5 倍稀释液对黄瓜枯萎病菌的抑菌圈平均直径分别为 17. 7 mm, 16. 2 mm, 对灰霉病菌的抑菌圈直径分别为 21. 0 mm, 22. 4 mm。



A 100 倍稀释液处理后 24h; B 对照  
A 24 hours after treating with the ferment filtrate diluted by 100 times; B Control

图 6 IJ-61 无菌发酵滤液对番茄灰霉病菌分生孢子萌发的抑制

Fig 6 The inhibiting effects to the conidial germination of the pathogens presented by the germfree ferment filtrate of IJ-61

表 2 IJ-61 和 A-21 无菌发酵滤液对靶标病原菌分生孢子萌发的抑制

Tab 2 The inhibiting effects to conidial germination of the pathogens presented by the germfree ferment filtrate of IJ-61 and A-21

拮抗菌 Strains	处理后 时间 Hours	萌发情况 Germinating status	ck		200 倍液 200× broth		100 倍液 100× broth		20 倍液 20× broth		10 倍液 10× broth		5 倍液 5× broth	
			灰霉	枯萎	灰霉	枯萎	灰霉	枯萎	灰霉	枯萎	灰霉	枯萎	灰霉	枯萎
			Mold	Wilt	Mold	Wilt	Mold	Wilt	Mold	Wilt	Mold	Wilt	Mold	Wilt
IJ-61	4h	萌发率	21. 5	55. 1	14. 6	42. 4	10. 6	36. 8	0	19. 5	0	5. 6	0	0
		Geminating rate												
		抑制率 ( % )			31. 9	23. 0	46. 0	33. 2	100. 0	64. 6	100. 0	89. 8	100. 0	100. 0
	12h	萌发率	89. 7	98. 7	62. 8	91. 7	35. 1	69. 1	0	50. 4	0	9. 1	0	0
		Geminating rate												
		抑制率 ( % )			30. 0	7. 1	64. 2	30. 0	100. 0	48. 9	100. 0	90. 8	100. 0	100. 0
	24h	萌发率	95. 1	98. 9	68. 5	93. 4	41. 9	73. 7	5. 2	53. 1	0	35. 6	0	0
		Geminating rate												
		抑制率( % )			27. 9	5. 6	55. 9	25. 6	93. 5	46. 4	100. 0	64. 0	100. 0	100. 0
A-21	4h	萌发率	21. 5	55. 1	15. 6	47. 8	8. 6	30. 3	0	19. 1	0	9. 7	0	0
		Geminating rate												
		抑制率 ( % )			27. 4	13. 2	60. 0	45. 0	100. 0	6. 3	100. 0	82. 4	100. 0	100. 0
	12h	萌发率	89. 7	98. 7	75. 5	91. 2	55. 5	73. 6	19. 6	54. 8	0	18. 9	0	0
		Geminating rate												
		抑制率 ( % )			15. 8	7. 6	38. 1	25. 2	78. 1	44. 5	100. 0	80. 9	100. 0	100. 0
	24h	萌发率	95. 1	98. 9	81. 3	93. 8	64. 7	78. 9	20. 3	58. 4	8. 3	23. 4	0	0
		Geminating rate												
		抑制率 ( % )			14. 5	6. 2	32. 0	20. 2	78. 7	41. 0	91. 3	76. 3	100. 0	100. 0
		Inhibiting rate												

2.4 无菌发酵滤液对病原菌分生孢子萌发的抑制  
孢子萌发试验结果显示, 两菌株对靶标病原菌分生孢子萌发的抑制作用十分显著(表 2), IJ-61 无菌发酵滤液稀释倍数 ≤20, A-21 的稀释倍数 ≤5 时几乎可以完全抑制番茄灰霉病菌孢子萌发, 二者稀释倍数 ≤5 时可以完全抑制黄瓜枯萎病菌分生孢子

的萌发; 稀释倍数高于上述处理而小于 100 倍时, 虽不能完全抑制分生孢子萌发, 但均可显著降低萌发率和芽管伸长速度; 100 倍稀释液较 5 倍稀释液的抑制率明显下降, 但可造成孢子萌发后的芽管顶端膨大或呈粗栉齿状, 24 h 后仍不再继续伸长, 具有明显的致畸抑制作用, 使其不能侵染寄主(图 6)。

2.5 温室盆栽防治效果

IH61 和 A-21 培养 6 d 的 4 倍稀释发酵液温室盆栽防治效果如表 3 所示。总的看防治效果明显, 均达到了 60% 以上, 最高达 89. 76%; A-21 对黄瓜枯萎病的控制作用略强于 IH61, 二者的平均防效分别

为 65. 15% 和 60. 61%; 而对灰霉病的控制作用又以 IH61 强于 A-21, 前者对番茄和辣椒灰霉病的防效分别为 75. 17% 和 89. 76%, 后者则分别为 62. 49% 和 81. 74%。

表 3 IH-61 和 A-21 对靶标病害温室盆栽防治效果

Tab 3 Control effects of IH-61 and A-21 to the targeted diseases in the greenhouse									
处理 Treatments	黄瓜枯萎病 Cucumber wilt			番茄灰霉病 Tomato gray mold			辣椒灰霉病 Pepper gray mold		
	发病率( % )	病情指数	防效( % )	病叶率( % )	病情指数	防效( % )	病叶率( % )	病情指数	防效( % )
	Disease incidence	Disease index	Control effect	Disease incidence	Disease index	Control effect	Disease incidence	Disease index	Control effect
IH-61	80	32. 86	65. 15	10. 70	9. 89	75. 17	15. 58	10. 10	89. 76
A-21	90	37. 14	60. 61	15. 51	14. 94	62. 49	31. 82	18. 01	81. 74
ck	100	94. 29		42. 21	39. 83		100	98. 61	

3 讨论

本研究的供试菌株 IH61 和 A-21, 是由 200 余个拮抗性菌株经多次测试反复筛选获得的抗菌活性很强的两个野生型菌株, 实验室生测试验结果表明, 两菌株的活菌体和无菌发酵液对靶标病原真菌菌丝生长和分生孢子萌发都具有明显抑制作用, 尤其是 IH61 对番茄灰霉病菌的作用更为明显, 稀释倍数≤20 倍几乎可以完全抑制菌丝生长和分生孢子的萌发。温室盆栽防治试验也肯定了其在作物植株上的实际防治效果, 同时, 还观察到其喷施后植株的长势明显较对照为好, 尤其是能够防止病菌侵染所造成的叶片变黄, 枯干脱落的现象, 推测其可能对作物本身亦具有诱导抗病促生作用。因此认为, IH61 和 A-21 是具有很好开发应用前景的生防菌株。本研究同时对两个菌株的摇瓶发酵条件进行了初步探索, 下一

步计划继续进行其抗菌作用机理、高效生产菌种选育、发酵及分离提取工艺等方面的深入研究。

参考文献:

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

[2] 俞大绂. 植物病理学和真菌学技术汇编(卷二)[M]. 北京: 人民教育出版社, 1977.

[3] 鲁素芸. 植物病害生物防治学[M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1993.

[4] 陈年春. 农药生物测定技术[M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1991.

[5] 慕立义. 植物化学保护研究法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1994.

[6] 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, 2000.

[7] 国家质量技术监督局. 农药田间药效试验准则(一)[M]. 北京: 中国标准出版社, 2000.