

· 研究论文 ·

纳他霉素对灰葡萄孢不同生育阶段菌体的毒力及其生物学性状的影响

张鹏^a, 姜兴印^{* a}, 房锋^a, 纪春涛^a, 张培正^b, 李大鹏^b

(山东农业大学 a 植物保护学院, b 食品科学与工程学院, 山东 泰安 271018)

摘要:以多菌灵为对照药剂,采用生长速率法、悬滴法和浸渍法分别测定了不同温度下纳他霉素对灰葡萄孢 *Botrytis cinerea* 菌丝生长、分生孢子萌发和菌核萌发的毒力,研究了常温下两种药剂对菌株产孢和菌核形成的影响。结果表明:纳他霉素及多菌灵对灰葡萄孢不同生育阶段菌体的抑制作用随温度降低而有不同程度增强;分生孢子对药剂最为敏感;温度对药剂对菌丝毒力的影响最显著;多菌灵对菌株不同发育阶段的抑制活性均高于纳他霉素。供试药剂对菌株产孢时间和菌核产生时间无显著影响,但多菌灵可显著刺激菌株产孢和菌核形成。

关键词: 纳他霉素; 多菌灵; 灰葡萄孢; 毒力; 生物学性状

中图分类号: S481.1; S482.2 文献标志码: A 文章编号: 1008-7303(2008)02-0205-06

Toxicity of Natamycin to *Botrytis cinerea* at Different Growth Stages and its Effect on Biological Characteristics

ZHANG Peng^a, JIANG Xing-yin^{* a}, FANG Feng^a, JI Chun-tao^a,
ZHANG Pei-zheng^b, LI Da-peng^b

(a. College of Plant Protection, b. College of Food Science and Engineering, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, Shandong Province, China)

Abstract Toxicity of natamycin on the mycelial growth, conidial germination and sclerotium germination of *Botrytis cinerea* was tested using carbendazim as control through growth rate method, hanging drop slide method and pickling method respectively. The effects of the two fungicides on the sporulation and sclerotigenic of *Botrytis cinerea* were also studied. The results indicated that toxicity of natamycin and carbendazim to *Botrytis cinerea* at different growth stages enhanced as the temperature decreased. Conidia was the most sensitive to the two fungicides. Temperature showed the most significant effect on mycelial growth. The activity of carbendazim was higher than that of natamycin. The two fungicides have no effect on the time of sporulation and sclerotigenic of *Botrytis cinerea*, but carbendazim can stimulate the producing of sporulation and sclerotigenic significantly.

Key words natamycin; carbendazim; *Botrytis cinerea*; toxicity; biological characteristics

收稿日期: 2008-01-15 修回日期: 2008-04-15

作者简介: 张鹏 (1983-), 男, 山东济南人, 硕士研究生, E-mail: zhangp_vip@163.com; * 通讯作者 (Author for correspondence): 姜兴印 (1967-), 男, 山东临沂人, 博士, 副教授, 研究方向为农药毒理及农业有害生物无公害控制。联系电话: 0538-8241897; E-mail: xyjiang@sdau.edu.cn

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划课题 (2006BAK02A23)。

灰葡萄孢 *Botrytis cinerea* Pers 是一种弱寄生病原真菌, 寄主范围广, 由其引起的灰霉病是一种世界性的重要病害, 对番茄、黄瓜、草莓、葡萄等果蔬的危害最为严重。20世纪 80年代以来, 随着果蔬设施栽培面积迅速扩大, 棚内小气候有利于病害的发生和发展, 灰霉病逐渐成为重要的果蔬病害^[1]。灰葡萄孢不仅会引起田间损失, 而且残存在果蔬上的病原菌在贮藏期同样可以潜伏侵染, 造成损失, 成为果蔬贮藏的限制性障碍^[2-3]。目前种质资源中尚无抗灰霉病的品种, 生产上主要依靠多菌灵、乙霉威等化学药剂进行防治。随着消费者对食品安全的关注和农产品出口中技术壁垒的增多, 灰霉病防治已经成为生产中亟待解决的难题。

纳他霉素 (natamycin) 是纳他链霉菌 *Streptomyces natalensis* 经发酵得到的一种多烯大环内酯类抗真菌剂, 能够选择性抑制酵母菌和霉菌^[4], 降解后的纳他霉素在急性毒性、亚慢性毒性试验中证明对动物无损害^[5], 已成为许多国家广泛使用的一种天然生物源食品防腐剂和抗菌添加剂^[6], 在果蔬保鲜领域的研究应用也已初见报道^[7-9]。但有关纳他霉素在防治农业病害中的应用国内外均未见报道。笔者前期研究了不同温度下纳他霉素对灰葡萄孢的活性^[10], 并初步研究了纳他霉素的作用机理, 发现其可造成菌丝体可溶性糖和蛋白的渗漏, 并由此证明其对菌丝膜结构有影响。

多菌灵 (carbendazim) 属苯并咪唑类广谱内吸性杀菌剂, 是生产中防治灰霉病的主要药剂。为了进一步了解纳他霉素的作用特点, 笔者以多菌灵为对照药剂, 研究了纳他霉素对灰葡萄孢菌丝生长、分生孢子萌发和菌核萌发的毒力及对其孢子和菌核形成的影响, 旨在探索纳他霉素对灰葡萄孢不同生育阶段的抑制活性及其生物学性状的影响, 以为纳他霉素的科学、合理使用提供理

论依据。

1 材料与方法

1.1 供试菌的采集与分离

供试菌采自山东省沂源县发病的草莓果实, 该地零星种植草莓, 未使用过化学杀菌剂。菌株依据文献 [11] 进行室内分离、纯化培养后接种到草莓上, 待发病后再分离、纯化培养, 经形态结构鉴定及显微观察证实为灰葡萄孢 *B. cinerea*^[12]。

1.2 供试药剂

95% 的纳他霉素 (natamycin) 原药 (北京东方瑞德生物技术有限公司), 98% 多菌灵 (carbendazim) 原药 (山东华阳科技股份有限公司)。

药剂配制参照“农药室内生物测定试验准则”^[13] 进行。纳他霉素、多菌灵原药分别用 0.1 mol/L 的盐酸无菌水溶液配成 10 000 mg/L 的母液, 4℃ 冰箱中保存备用。

1.3 不同温度下药剂对灰葡萄孢菌丝生长的毒力

采用菌丝生长速率法^[14]。用 0.1% 吐温-80 无菌水溶液将母液稀释成系列浓度备用, 并以该无菌水溶液作对照。经预试验证实 0.01% 吐温-80 无菌水溶液对供试菌生长无影响。分别测定 25、20、15、10 和 5℃ 下药剂对灰葡萄孢菌丝生长的抑制作用, 经 DPS 统计软件^[15] 分析求出毒力回归方程及 EC_{50} 值。

1.4 不同温度下药剂对灰葡萄孢孢子萌发的影响

采用悬滴法^[16]。药剂配制同 1.3 节, 分别测定 25、22、18、15 和 10℃ 下药剂对分生孢子萌发的抑制作用, 计算不同浓度药剂对分生孢子萌发的抑制率^[14], 用 DPS 统计软件求出毒力回归方程及 EC_{50} 值。

$$\text{孢子萌发率}(\%) = \frac{\text{孢子萌发数}}{\text{调查孢子总数}} \times 100$$

$$\text{孢子萌发抑制率}(\%) = \left(1 - \frac{\text{药剂处理的孢子萌发率}}{\text{对照的孢子萌发率}}\right) \times 100$$

1.5 不同温度下药剂对菌核萌发的影响

将灰葡萄孢接种到 PDA 培养基上, 22℃ 培养, 待菌核完全变褐时, 收集菌核。配制系列浓度的纳他霉素和多菌灵, 选取大小一致的菌核浸渍于各浓度药液中, 5 min 在超净工作台上吹干后, 置

于无药 PDA 平板上。重复 3 次, 每皿 20 粒, 以浸渍于 0.1% 吐温-80 无菌水溶液处理为对照。以菌核在周围培养基上长出明显菌丝为萌发标准, 分别测定 25、22、18、15 和 10℃ 下药剂对菌核萌发的抑制作用。

1.6 药剂对灰葡萄孢产孢的影响

根据 1.3 节得出的 25℃ 下的毒力回归方程,设计 $EC_{30} \sim EC_{60}$ 范围的系列浓度,制备含药平板,接种灰葡萄孢,25℃ 恒温培养,记录产孢时间。待产生大量分生孢子后,分多次加入 10 mL 灭菌水冲洗,用灭菌玻棒轻擦菌落表面,定容至 10 mL,利用血细胞计数板计算孢子悬浮液的浓度,重复 3 次,比较两种药剂对产孢量的影响。

1.7 药剂对灰葡萄孢菌核产生的影响

参考潘金菊等采用^[17]的方法,按 1.6 节配制系列浓度含药 PDA 平板,接种灰葡萄孢,以不加药剂者为对照,重复 3 次,25℃ 恒温培养,至各处理菌丝不再快速生长、产生黑褐色菌核。观察菌核出现时间及菌核形态的变化,记录每皿菌核数

量,用万分之一天平称量菌核鲜重,比较不同处理单个菌核鲜重。

2 结果与分析

2.1 不同温度下药剂对灰葡萄孢菌丝生长的影响

由表 1 可知,两种药剂对菌丝生长的毒力均随温度下降而显著提高,纳他霉素在低温(5、10℃)下对菌丝生长的抑制作用非常明显,较 25℃ 时的毒力提高 37 倍,有较好的抑菌作用;多菌灵低温(5℃)较常温(25℃)毒力提高 9.8 倍。相同温度下,纳他霉素对菌丝生长的抑制作用不如多菌灵,25℃ 时多菌灵的毒力是纳他霉素的 54 倍。纳他霉素在常温(15~25℃)下对灰葡萄孢的毒力较低。

表 1 不同温度下纳他霉素和多菌灵对灰葡萄孢菌丝生长的毒力

Table 1 Toxicity of natamycin and carbendazim to mycelial growth of *B. cinerea* under different temperatures

药剂 Fungicide	温度 Temperature/℃	毒力回归方程 Regression equation	EC_{50} (95%置信限) (95% CL) / (mg/L)	毒力倍数 Toxicity ratio
纳他霉素 natamycin	25	$Y = 3.7306 + 0.8069x$	37.42(35.65~40.26)	1.0
	20	$Y = 4.7768 + 0.1590x$	25.35(22.09~29.11)	1.5
	15	$Y = 4.4126 + 0.3012x$	20.21(16.28~25.15)	1.9
	10	$Y = 5.0363 + 0.1133x$	1.479(1.234~1.811)	25.3
	5	$Y = 5.0068 + 0.9704x$	0.9840(0.7207~1.252)	38.0
多菌灵 carbendazim	25	$Y = 5.1997 + 1.2754x$	0.6973(0.5788~1.022)	1.0
	20	$Y = 6.5028 + 1.6151x$	0.1174(0.0820~0.1679)	5.9
	15	$Y = 6.5047 + 1.3506x$	0.0848(0.0781~0.0868)	8.2
	10	$Y = 6.8501 + 1.7254x$	0.0769(0.0669~0.1074)	9.1
	5	$Y = 5.8428 + 0.7085x$	0.0646(0.0527~0.0793)	10.8

2.2 不同温度下药剂对灰葡萄孢孢子萌发的影响

结果(表 2)表明,两种药剂对灰葡萄孢分生孢子萌发的抑制作用均随温度下降而增强,10℃ 时纳他霉素和多菌灵的毒力分别是 25℃ 时的 2.5 和 3.8 倍。相同温度下,多菌灵对分生孢子萌发的抑制作用显著高于纳他霉素,25℃ 下多菌灵的毒力是纳他霉素的 4.6 倍。

由表 1、表 2 可知,在 15~25℃ 下,纳他霉素对分生孢子萌发的抑制作用显著高于对菌丝生长的抑制作用,其中 25℃ 时二者的毒力相差 11.3 倍,15℃ 时毒力相差 10.7 倍,证明纳他霉素对分生孢子萌发有很好的抑制作用;而多菌灵对分生孢子萌发的抑制作用和对菌丝生长的抑制作用差异不明显。

2.3 不同温度下药剂对灰葡萄孢菌核萌发的影响

菌核是菌丝纠集形成的团状休眠体,具有较强的耐药性,是病原菌重复侵染为害的重要因素之一。使用药液浸渍处理后,10~25℃ 下纳他霉素对菌核萌发的 EC_{50} 值均高于 1 000 mg/L(表 3),活性很低,而多菌灵对菌核萌发的抑制作用较明显,在较低温度范围内(10~18℃)尤为显著, EC_{50} 值均低于 5 mg/L。

比较纳他霉素和多菌灵对菌丝生长、分生孢子萌发和菌核萌发的抑制活性可以看出,菌核是菌株最耐药的营养体,随温度降低,药剂对三者的抑制活性均有不同程度提高。多菌灵对菌株不同发育阶段的抑制活性均高于纳他霉素。

表 2 不同温度下纳他霉素和多菌灵对灰葡萄孢孢子萌发的毒力

Table 2 Toxicity of natamycin and carbendazim to conidial gemination of *B. cinerea* under different temperatures

药剂 Fungicide	温度 Temperature / $^{\circ}$ C	毒力回归方程 Regression equation	EC ₅₀ (95% 置信限) (95% CL) / (mg/L)	毒力倍数 Toxicity ratio
纳他霉素 natamycin	25	$Y = 4.0568 + 1.8080x$	3.324 (2.955~3.549)	1.0
	22	$Y = 4.1557 + 1.8499x$	2.860 (2.342~3.103)	1.2
	18	$Y = 4.2710 + 2.1168x$	2.210 (2.016~2.589)	1.5
	15	$Y = 4.5955 + 1.4653x$	1.888 (1.322~2.384)	1.8
	10	$Y = 4.7268 + 2.0851x$	1.352 (1.249~1.736)	2.5
多菌灵 carbendazim	25	$Y = 5.4038 + 2.7895x$	0.7165 (0.5416~1.032)	1.0
	22	$Y = 5.2384 + 1.2245x$	0.6386 (0.4658~0.9123)	1.1
	18	$Y = 5.4676 + 1.3878x$	0.4602 (0.3156~0.6145)	1.6
	15	$Y = 5.9963 + 1.4650x$	0.2088 (0.1548~0.3015)	3.4
	10	$Y = 7.1941 + 3.0153x$	0.1872 (0.1501~0.2103)	3.8

表 3 不同温度下纳他霉素和多菌灵对灰葡萄孢菌核萌发的影响

Table 3 Effect of natamycin and carbendazim on sclerotium gemination of *B. cinerea* under different temperatures

药剂 Fungicide	温度 Temperature / $^{\circ}$ C	毒力回归方程 Regression equation	EC ₅₀ (95% 置信限) (95% CL) / (mg/L)	毒力倍数 Toxicity ratio
纳他霉素 natamycin	25	$Y = -2.4295 + 2.2202x$	2.219.7 (2.045.8~2.307.5)	1.0
	22	$Y = -2.3985 + 2.2657x$	1.842.5 (1.687.5~2.125.8)	1.2
	18	$Y = -0.6755 + 1.7782x$	1.555.0 (1.453.3~1.602.2)	1.4
	15	$Y = -4.1275 + 2.8580x$	1.561.9 (1.467.6~1.621.5)	1.4
	10	$Y = -1.5229 + 2.0882x$	1.329.2 (1.242.2~1.404.9)	1.7
多菌灵 carbendazim	25	$Y = 0.1990 + 3.5366x$	22.78 (20.53~24.15)	1.0
	22	$Y = 1.1140 + 2.9765x$	20.21 (19.60~22.01)	1.1
	18	$Y = 2.9099 + 3.1985x$	4.502 (4.103~5.140)	5.1
	15	$Y = 3.2579 + 3.1771x$	3.535 (2.866~4.013)	6.4
	10	$Y = 3.9077 + 2.2724x$	3.024 (2.105~5.241)	7.5

2.4 药剂对灰葡萄孢产孢的影响

由表 4 可以看出, 25 $^{\circ}$ C 下经纳他霉素和多菌灵处理后, 均可刺激分生孢子产生, 但对产孢时间无明显影响。多菌灵对产孢的刺激作用更加明显, 处理后各分生孢子悬浮液浓度均显著高于纳他霉素和对照。纳他霉素不同浓度处理之间产孢量差异不明显。

2.5 药剂对灰葡萄孢菌核形成的影响

从表 5 可以看出, 在 PDA 培养基上, 药剂对菌核产生时间无明显影响, 但经多菌灵处理后的菌核数量、质量均高于对照和纳他霉素处理。经纳他霉素处理后, 所形成的菌核小, 沿菌落扩展方向呈疏、密、疏分布, 菌落边缘形成的菌核明显较大; 经多菌灵处理后形成的菌核大, 形状不规则, 分布不均匀, 局部连接成片。

3 讨论

本研究发现, 随温度降低纳他霉素和多菌灵对不同生育阶段灰葡萄孢的抑制活性均有所提高, 其中对菌丝生长的抑制活性随温度变化最为显著。在较高温度 (> 15 $^{\circ}$ C) 下, 纳他霉素对分生孢子萌发的抑制效果最好, 对菌丝生长的抑制作用次之, 对菌核萌发的抑制效果最差, 反映了不同生育阶段菌体对药剂敏感性的差异。但当温度较低时 (10 $^{\circ}$ C), 菌丝和分生孢子均对纳他霉素敏感且差异不显著。田世平^[3]研究认为, 低温下灰葡萄孢仍具有较强的侵染能力, 分生孢子在 - 4 $^{\circ}$ C 下、14 d 后仍可达到 100% 的萌发率, 24 周后菌落的直径为 10 mm。本研究表明, 纳他霉素在低温下可有效抑制菌丝生长和孢子萌发, 因而可控制灰葡萄孢的潜伏侵染, 在果蔬冷藏保鲜期使用具

表 4 纳他霉素和多菌灵对灰葡萄孢产孢的影响

Table 4 Effect of natamycin and carbendazim on sporulation of *B. cinerea*

药剂 Fungicide	浓度 Concentration/(mg/L)	产孢时间 Time of sporulation/d	孢子数量 Conidial amount ($\times 10^6$)/(个/mL)
纳他霉素 natamycin	12.5	7	1.6 b
	25.0	7	1.7 b
	50.0	7	1.7 b
多菌灵 carbendazim	0.25	7	4.3 a
	0.5	7	3.8 a
	1.0	7	4.0 a
CK	-	7	1.0 c

* 同列中不同字母表示 5% 水平差异显著,下同。

* The different letters in the same column indicate significant difference at $P = 0.05$. The same as below.

表 5 纳他霉素和多菌灵对灰葡萄孢菌核形成的影响

Table 5 Effect of natamycin and carbendazim on sclerotigenic of *B. cinerea*

药剂 Fungicide	浓度 Concentration (mg/L)	产菌核时间 Time of sclerotigenic/d	菌核数量/粒 Amount of sclerotium /Grain	菌核质量 Weight of sclerotium /mg	形态描述 Shape description
纳他霉素 natamycin	12.5	12	23.5 b	30.12 b	菌核小,褐色至黑色,沿菌落扩展方向呈疏、密、疏分布,边缘菌核明显较大。
	25.0	12	24.8 b	31.24 b	Small brown or black, sparse and thick alternately along colony extend Sclerotium on the edge of colony is bigger
	50.0	12	22.1 b	33.23 b	
多菌灵 carbendazim	0.25	12	28.6 b	39.25 a	菌核较大,褐色至黑色,分布不均匀,多分布在边缘,局部连接成片。
	0.5	12	29.1 a	40.12 a	Big brown or black, maldistribution, most on the edge of colony and join to sheet
	1.0	12	26.8 ab	38.36 a	
CK	-	12	24.3 b	32.01 b	黑色,较少且分布不均匀。 Black less and maldistribution

有高效、无毒、低残留等优点。纪明山等^[18]的研究表明,多菌灵对灰葡萄孢敏感菌株的毒力是乙霉威的 100 倍以上,野生敏感菌株对多菌灵敏感,对乙霉威不敏感。本研究测得 25℃ 下多菌灵对灰葡萄孢的 EC_{50} 值为 0.697 3 mg/L,而笔者先前测得 25℃ 下乙霉威对该菌株的 EC_{50} 值为 151.2 mg/L^[10],是多菌灵的 217 倍,证明此菌株系敏感菌株。

在 25℃ 下、 $EC_{30} \sim EC_{60}$ 浓度范围内,不同浓度处理菌落生长差异不明显,药剂浓度对产孢和菌核形成的影响较小。试验结果表明,纳他霉素和多菌灵对分生孢子产生时间和菌核形成时间无显著影响,但多菌灵可显著刺激菌株产孢和菌核形成,而纳他霉素仅能轻微刺激分生孢子产生,对菌核形成的影响不明显。说明在实际生产中,使用多菌灵后如果不能有效控制病原菌,可能反而会加重病害的发生程度,造成药剂防治失败。而纳

他霉素对分生孢子产生和菌核形成的刺激作用不明显,推测其在生产中用药后,即使未完全杀死病菌,亦不会刺激病原菌大量增殖而加重危害。

纳他霉素作为一种天然生物源抗真菌剂,是美国食品和药物管理局(FDA)正式批准的两种生物防腐剂之一,目前已在全球 30 多个国家被广泛用于食品防腐^[19]。国内外关于其应用研究多集中在食品和医药领域。本研究表明,纳他霉素在低温下对菌丝生长和分生孢子萌发均有较好的抑制作用,并且对灰葡萄孢产孢和菌核形成无明显刺激作用,适合在低温下应用以控制灰葡萄孢侵染。

目前限制纳他霉素推广应用的主要问题是价格因素。由于纳他霉素是多烯大环内酯类化合物,很难通过化学手段合成。浙江大学、天津科技大学等高校已经开展纳他霉素相关的发酵工艺研究^[20-21],北京、上海等地多家生物公司也正在开展

工业化生产探索, 纳他霉素市场价格的不断下降为其今后的广泛应用创造了条件。

参考文献:

- [1] FAN Mu-zhen (樊慕贞), ZHU Jie-hua (朱杰华), HUANG Tian-cheng (黄天成). 草霉灰霉病的发生和防治研究 [J]. J Agric Univ Hebei (河北农业大学学报), 1995, 18(2): 21-30.
- [2] ZHAO Shu-yan (赵淑艳), LIX i-hong (李喜宏), CHEN Li (陈丽). 蒜薹采后致病菌种类及侵染规律研究 [J]. Chin Agric Sci Bull (中国农学通报), 2005 21(9): 74-78
- [3] TIAN Shi-ping (田世平). 低温对葡萄孢菌 (*Botrytis cinerea*) 菌丝生长和孢子萌发以及对贮藏菊苣侵染力的影响 [J]. Acta Phytopathologica Sinica (植物病理学报), 2001, 31(1): 56-62
- [4] BR K H. Natamycin [M] // Analytical Profiles of Drug Substances New York Academic Press 1994: 514-557.
- [5] FAN You-ran (范悠然). 纳他霉素——一种抗真菌生物防腐剂 [J]. China Food Additives (中国食品添加剂), 2006, (5): 165-171
- [6] WEI Bao-dong (魏宝东), MENG Xian-jun (孟宪军). 天然生物食品防腐剂纳他霉素的特性及其应用 [J]. Liaoning Agric Sci (辽宁农业科学), 2004 (2): 24-25.
- [7] YANG De-shan (杨德山), LUO Jian-mei (骆健美), XU Guang-yu (徐广宇). 纳他霉素防治苹果贮藏期病害的初步研究 [J]. Chin Plant Protection (中国植保导刊), 2006, 26 (10): 11-13
- [8] WANG Jian-guo (王建国), JIANG Xing-yin (姜兴印), ZHANG Peng (张鹏). 纳他霉素对冬枣浆胞病菌的毒力及保鲜生理效应研究 [J]. Chin J Pestic Sci (农药学报), 2006, 8 (4): 313-318
- [9] SUN Yuan-gong (孙远功), HU Yu-xia (呼玉侠), FENG Xin (冯昕). 纳他霉素在柑桔防腐保鲜中的应用 [J]. Food Research and Development (食品研究与开发), 2006 27(7): 190-192
- [10] ZHANG Peng (张鹏), JIANG Xing-yin (姜兴印), FANG Feng (房锋), et al 不同温度下纳他霉素对灰葡萄孢的抑制活性和作用机理初探 [J]. Chin J Pestic Sci (农药学报), 2007, 9 (4): 351-356
- [11] FANG Zhong-da (方中达). The Research Method of Plant Disease (植病研究方法) [M]. Beijing (北京): China Agriculture Press (中国农业出版社), 1998: 124-125.
- [12] WEI Jing-chao (魏景超). The Handbook of Fungus Identification (真菌鉴定手册) [M]. Shanghai (上海): Shanghai Science and Technology Press (上海科学技术出版社), 1979: 534
- [13] NY/T 1156 2-2006 农药室内生物测定试验准则 [S]. Beijing (北京): China Agriculture Press (中国农业出版社), 2006 1-3.
- [14] MU Li-yi (慕立义). The Research Method of Plant Chemical Protection (植物化学保护研究方法) [M]. Beijing (北京): China Agriculture Press (中国农业出版社), 1994: 76.
- [15] TANG Qi-yi (唐启义), FENG Ming-guang (冯明光). Statistical Analysis and DPS Data Processing System (实用统计分析及其 DPS 数据处理系统) [M]. Beijing (北京): Science Press (科学出版社), 2002: 135
- [16] FANG Zhong-da (方中达). The Research Method of Plant Disease (植病研究方法) [M]. Beijing (北京): China Agriculture Press (中国农业出版社), 1996: 152.
- [17] PAN Jin-ju (潘金菊), LIU Feng (刘峰), MU Wei (慕卫), et al 不同生育阶段黄瓜核病菌对几种三唑类杀菌剂的敏感性 [J]. Chin J Pestic Sci (农药学报), 2006, 8(2): 125-128.
- [18] JI Ming-shan (纪明山), CHENG Gen-wu (程根武), ZHANG Yixian (张益先), et al 灰霉病菌对多菌灵和乙霉威抗性研究 [J]. J Agric Univ Shenyang (沈阳农业大学学报), 1998 29 (3): 213-216
- [19] WU Jian-guo (邬建国), WANG Min (王敏). 纳他霉素的分子生物学研究进展 [J]. Microbiology (微生物学通报), 2003 30 (5): 120-123
- [20] LIU Ning (刘宁). Improvement of Natamycin-producing Strain and the Optimization of its Fermentation Process (纳他霉素菌种选育与发酵工艺研究) [D]. Hangzhou (杭州): Zhejiang University (浙江大学), 2005.
- [21] LUO Jian-mei (骆健美). Study on High Producing Strain Breeding Fermentation Condition Optimization, Fermentation Kinetics and Solubility of Natamycin (纳他霉素高产菌株选育、发酵条件优化、发酵动力学及溶解度的研究) [D]. Hangzhou (杭州): Zhejiang University (浙江大学), 2005

(Ed TANG J)