

## 问荆活性物质的提取及对番茄灰霉病菌的抑制作用

李少华<sup>1</sup> 仲嘉伟<sup>2</sup> 莫海波<sup>2</sup> 刘素琪<sup>2</sup> 李生才<sup>2</sup> 曹挥<sup>2\*</sup>

(1. 太原大学 外语师范学院, 太原 030001;

2. 山西农业大学 农学院, 山西 太谷 030801)

**摘要** 通过活性物质跟踪的方法,研究了问荆中的活性成分对番茄灰霉病菌的抑菌活性,结果表明:3种溶剂提取物中,氯仿提取物对番茄灰霉病菌菌丝生长和孢子萌发的抑制率最高,EC<sub>50</sub>分别为0.52和0.21 mg/mL;对氯仿提取物萃取分离得到的4种不同溶剂萃取物中,乙酸乙酯组分对灰霉病菌菌丝和孢子萌发的抑制效果最佳,EC<sub>50</sub>分别为0.37和0.28 mg/mL;经柱层析分离得到的12个流分中,L9流分的抑制菌丝生长作用最强,EC<sub>50</sub>为0.22 mg/mL,L9流分处理灰霉病菌后发现菌丝生长稀疏,菌体细胞膜渗透性增大,电镜图片显示菌丝变形,有瘤状突起。因此,问荆提取物对灰霉病菌具有很强的抑制效果,为新型植物源农药的开发提供了一定基础。

**关键词** 问荆;活性物质;番茄灰霉病菌;抑菌作用

中图分类号 S 853.75; R 282

文章编号 1007-4333(2014)04-0061-06

文献标志码 A

## Extraction method of active compounds from *Equisetum arvense* and their inhibition activity against *Botrytis cinerea* Pers.

LI Shao-hua<sup>1</sup>, ZHONG Jia-wei<sup>2</sup>, MO Hai-bo<sup>2</sup>, LIU Su-qi<sup>2</sup>, LI Sheng-cai<sup>2</sup>, CAO Hui<sup>2\*</sup>

(1. Foreign Language and Pedagogic College, Taiyuan University, Taiyuan 030001, China;

2. Agronomy College, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China)

**Abstract** The active substances with fungicidal activity were extracted from *Equisetum arvense* with three different solvents, petroleum ether, chloroform and ethanol. Crude extract was separated and purified by column chromatography. The active fractions were tracked by fungicidal activity against *Botrytis cinerea* Pers. The results indicated that the strongest inhibition on the spore germination (SG) and mycelial growth (MG) of *Botrytis cinerea* were observed in chloroform extract, and the EC<sub>50</sub> of SG and MG were 0.52 and 0.21 mg/mL, respectively. Subsequent purification with different polarity solvents produced four fractions by solid-liquid extraction. Amongst those fractions, the one extracted with ethyl acetate showed the highest SG and MG inhibition activity, and the EC<sub>50</sub> were 0.37 and 0.28 mg/mL, respectively. Silica gel column was used to further separate the ethyl acetate fraction and total of 12 sub-fractions were collected. Sub-fraction L9 could effectively inhibit MG, and the EC<sub>50</sub> was 0.22 mg/mL. When treated with L9, fewer amounts of mycelia were produced and the permeability of the cell membrane of mycelia was increased. The mycelia transformation and tumors on the hyphae were determined with electron microscope image. The present research results indicate that *Equisetum arvense* possess high fungicidal activity and can be development as a natural pesticide.

**Key words** *Equisetum arvense*; active substance; *Botrytis cinerea* Pers.; fungistasis effect

利用植物体内的次生代谢产物来进行新型杀菌剂的研究,是当前农药研究的热点和重点。植物次生物质主要包括黄酮、生物碱、萜烯类、木脂素类和

非蛋白氨基酸等,这些物质可以通过干扰细胞壁合成、影响细胞膜功能、抑制核复制和转录以及抑制蛋白质的合成等方式来破坏病原菌的正常生长<sup>[1-2]</sup>,国

收稿日期:2013-12-10

基金项目:山西省留学基金(2013重点6)

第一作者:李少华,副教授,主要从事生物农药方面的研究,E-mail:tyxjkys@163.com

通讯作者:曹挥,教授,博士,主要从事植物源农药方面的研究,E-mail:liusq71@163.com

内外学者对此做了大量的工作<sup>[3-10]</sup>。

问荆(*Equisetum arvense*)属木贼科木贼属,别名节节草、接续草、马草、笔头草,为多年生草本植物。广泛分布于我国的大部地区,为农田杂草,也是一种常用中药。含有酚酸类、黄酮类、糖苷及生物碱等多种化学成分<sup>[11-14]</sup>。在医学方面,问荆具有抑制神经系统、保肝、降血压、降血脂以及利尿等功效<sup>[15]</sup>,但其对于植物病原菌的作用还未见报道。

灰葡萄孢菌(*Botrytis cinerea* Pers.)是一种引起多种蔬菜和水果病害的一类病原真菌,寄主范围广泛,给生产易造成巨大损失。利用天然植物提取物防治灰霉病的研究,国内已有报道<sup>[16-18]</sup>,本研究以植物问荆为主要材料,以番茄灰霉病菌为目标研究其抑菌活性,为开发经济、安全、有效的无公害新型杀菌剂提供科学的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

问荆(*Equisetum arvense*)采自山西庞泉沟自然保护区(7月中旬),将采集的植物材料洗净后在室内阴干(约25℃),放入恒温箱内(40~45℃)烘干,磨碎,过60目筛,放入冰箱中储藏备用。

番茄灰霉病菌(*Botrytis cinerea* Pers.),由山西农业大学农学院植物病理实验室提供。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 问荆活性物质的分离提取

提取方法:采用冷浸法。准确称取一定量的植物干粉,装入广口瓶内,加入干粉5倍体积的有机溶剂(石油醚、氯仿、乙醇),室温下分别浸提3次,每次3~5d,减压浓缩,称重,计算提取率。

$$\text{提取率}/\% = \text{提取物重}/\text{植物干粉重} \times 100$$

萃取分离:采用固-液分配法。准确称取问荆氯仿粗提物,用干净的滤纸包好置于索氏提取器提取管底部,将溶剂倒入索氏提取器下部提取瓶中,依次用石油醚、乙酸乙酯、氯仿和乙醇4种溶剂进行萃取3~5次,直至萃取完全。分别收集萃取液,减压浓缩,称重。

柱层析分离<sup>[19-20]</sup>:采用常压开管柱层析,硅胶为100~200目,溶剂系统为乙酸乙酯-氯仿(体积比为98:2),流速为3~4滴/s,每流分收集50mL,共得流分452个,经薄层层析(TLC)后,置于荧光检测灯(254和356nm)下检测,做好标记。将相同成分者

合并。

#### 1.2.2 对灰霉病菌菌丝生长的抑制作用

采用菌丝生长速率法:将活性成分配置成浓度为2mg/mL的含药PDA平板,测定对病菌菌丝的抑制作用。以培养基内加等量0.5%乙醇水作对照,每次重复5次,置23℃下培养,72h后用十字交叉法测量菌落直径,按照下列公式计算抑菌率,计算EC<sub>50</sub>值和毒力回归方程,同时进一步分离纯化。

$$\text{抑菌率}/\% = (\text{对照菌落净生长量} -$$

$$\text{处理菌落净生长量})/(\text{对照菌落净生长量}) \times 100$$

#### 1.2.3 对孢子萌发的抑制作用

将培养5d的灰霉病菌,用无菌水配置成孢子悬浮液,稀释成1个视野中约20个左右孢子,取孢子悬浮液10μL,接种到直径为9cm加入活性成分的PDA平板上培养,对照为不加活性成分的PDA平板,用涂布器涂抹均匀,在25℃培养箱中培养48h,观察记录孢子萌发数量。每处理设5次重复,取平均值。计算孢子萌发率和抑制率。筛选出效果最好的提取物进行毒力测定,计算EC<sub>50</sub>值和毒力回归方程,同时进一步分离纯化。

$$\text{孢子萌发率}/\% = \text{已萌发孢子数}/$$

$$\text{镜检孢子总数} \times 100$$

$$\text{抑制率}/\% = (\text{对照萌发率} - \text{处理萌发率})/$$

$$\text{对照萌发率} \times 100$$

#### 1.2.4 对灰霉病菌菌丝体细胞膜渗透性的影响

将培养5d的灰霉病菌配置成浓度为10<sup>7</sup>孢子/mL的孢子悬浮液,取1mL接种于20mL PDB培养基中摇床培养(120r/min,23℃)4~5d后,称取3g湿菌丝体加入三角瓶中,用蒸馏水清洗3次,加入40mL无菌水,再加入问荆提取物至浓度为500μg/mL,分别在0、30、60、90和120min取出5mL液体,用电导仪分别测定处理液体的电导率<sup>[21]</sup>,每个处理重复4次。

#### 1.2.5 L9流份对灰霉病菌菌体生长的影响

将灰霉病菌接种于浓度为1mg/mL的L9的PDA培养基上培养72h后,用解剖刀在菌落边缘切取面积约为1cm<sup>2</sup>的菌块在光学显微镜下观察。在此基础上选取菌块数块,按照常规方法进行扫描电镜样品的制备。用戊二醛-锇酸双重固定。之后脱水、包埋、染色,在(H-7500)型扫描电镜上观察、拍照<sup>[22]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 问荆最佳抑菌活性提取物的抑菌活性

问荆 3 种溶剂提取物对灰霉病菌菌丝生长、孢子萌发抑制率结果见表 1。用 3 种极性递增的溶剂对问荆进行浸泡提取，其提取率为乙醇

( $7.41 \pm 0.42$ )% > 氯仿 ( $5.90 \pm 0.18$ )% > 石油醚 ( $2.05 \pm 0.26$ )%。3 种提取物对灰霉病菌丝和孢子萌发均有不同程度的抑制作用。其中，问荆氯仿提取物在 2 mg/mL 时，对菌丝生长和孢子萌发的抑制率最高，分别达到 61.84% 和 100.00% (表 1)。

表 1 问荆不同提取物对灰霉病菌菌丝生长和孢子萌发的抑制作用

Table 1 Inhibitory effects of colony growth and spore germination of *Botrytis cinerea* Pers. of different extracts of *Equisetum arvense*

不同溶剂提取物 Extraction of different solvent	菌落直径/cm Colony diameter	抑菌率/% Inhibitory rate	孢子萌发数 Number of spore germination	抑制率/% Inhibitory rate
对照 CK	5.32 a	—	96 a	—
石油醚 Petroleum ethe	4.86 ab	8.45	19 b	80.21
乙醇 Alcohol	4.07 b	23.49	47 c	51.00
氯仿 Chloroform	2.03 c	61.84	0 d	100.00

注：表中同列数据中不同字母表示 0.05 水平差异显著。下面表格同。

Note: Different letters in each column mean significantly different at the level of 0.05. The same below.

将问荆氯仿提取物配成系列浓度，测定对灰霉病菌菌丝(4、2、1、0.5、0.25 mg/mL)和孢子萌发(2、1、0.5、0.25、0.125 mg/mL)的毒力作用，结果见表 2。在 96 h

时，氯仿提取物对菌丝的  $EC_{50}$  为 0.52 mg/mL；在 48 h 时对孢子萌发的  $EC_{50}$  为 0.21 mg/mL。因此选择问荆氯仿提取物进行进一步的萃取分离纯化。

表 2 不同浓度问荆氯仿提取物对灰霉病菌菌丝生长和孢子萌发的抑制作用

Table 2 Inhibitory effects of Chloroform extract from *Equisetum arvense* on mycelia growth and spore germination of *Botrytis cinerea* Pers

指标 Index	$EC_{50}$ / (mg/mL)	毒力方程 Regressive equation	相关系数(R) Correlation coefficient
菌丝生长(72 h) Mycelia growth	0.52	$Y = 5.3689 + 1.2984X$	0.9611
孢子萌发(48 h) Spore germination	0.21	$Y = 7.3280 + 3.4582X$	0.9673

### 2.2 问荆最佳抑菌活性萃取物的确定

对问荆氯仿提取物进行进一步萃取分离，结果

(表 3)可以看出，随着溶剂极性逐渐增大，其萃取率随之降低，其中石油醚萃取率最高，为 88.71%。

表 3 不同溶剂对问荆的提取效果

Table 3 Purification effects from *Equisetum arvense* adapted different solvent

不同溶剂萃取物 Purification of different solvent	萃取物重/g Purification weight	萃取率/% Purification rate
石油醚 Petroleum ether	4.95 a	88.71 a
乙酸乙酯 Ethyl acetate	0.29 b	5.20 b
氯仿 Chloroform	0.04 c	0.72 c
乙醇 Alcohol	0.02 c	0.36 c

问荆氯仿提取物的不同萃取物对菌丝生长及孢子萌发的生物测定结果见表4。浓度为2 mg/mL的乙酸乙酯组分对灰霉菌菌丝的抑制效果最佳,为

96.32%;乙醇组分抑制效果最低,达到了74.81%。乙酸乙酯组分对灰霉菌孢子萌发的抑制效果最高达到100.00%。

表4 不同溶剂的问荆萃取物对灰霉菌菌丝生长和孢子萌发的抑制作用

Table 4 Inhibitory ability of of different solvent purification from *Equisetum arvense* on the mycelia growth and spore germination of *Botrytis cinerea* Pers.

不同溶剂萃取物 Purification of different solvent	菌丝生长(72 h) Mycelia growth		孢子萌发(48 h) Spore germination	
	菌落直径/cm Colony diameter	抑制率/% Inhabiting rate	孢子萌发数 Number of spore germination	抑制率/% Inhibiting rate
	CK	5.57 a	—	98.00 a
乙醇 Alcohol	1.85 b	74.81	26.00 b	73.47
氯仿 Chloroform	0.92 c	93.63	10.00 c	89.80
石油醚 Petroleum ether	0.87 c	94.63	1.67 d	98.30
乙酸乙酯 Ethyl acetate	0.78 c	96.32	0.00 d	100.00

将生物活性测定中效果最好的乙酸乙酯组分配制成5个不同梯度的浓度(2、1、0.5、0.25、0.125 mg/mL)对灰霉菌菌丝生长和孢子萌发进行毒力

测定,结果表明(表5)。问荆乙酸乙酯组分对菌丝生长的 $EC_{50}$ 为0.37 mg/mL,对孢子萌发的 $EC_{50}$ 为0.28 mg/mL。

表5 不同浓度的问荆乙酸乙酯萃取物对灰霉菌菌丝生长和孢子萌发的抑制效果

Table 5 Inhibitory effects of ethyl acetate purification from *Equisetum arvense* on mycelia growth and spore germination of *Botrytis cinerea* Pers.

指标 Index	$EC_{50}$ / (mg/mL)	毒力方程 Regressive equation	相关系数(R) Correlation coefficient
菌丝生长(72 h) Mycelia growth	0.37	$Y=6.012\ 0+2.352\ 1X$	0.999 0
孢子萌发(48 h) Spore germination	0.28	$Y=6.942\ 0+3.486\ 6X$	0.940 7

### 2.3 问荆萃取物中最佳流分的确定

采用常压柱层析对问荆乙酸乙酯萃取物进行分离,共得到流分452个,经TLC检测后,相同成分合并得到12个流分。将这12个流分分别配制成浓度为1 mg/mL的药液,对灰霉菌菌丝进行生物活性测定结果见表6。可以看出,有8个流分对灰霉菌菌丝有抑制作用。其中,流分9(L9)在72 h时,对菌丝的抑制效果达到100%。而从提取率来看,L9的提取率也仅次于L12,达到5.20%。将L9用对半稀释法配制成5个梯度的浓度(2、1、0.5、0.25、0.125 mg/mL),对灰霉

病菌进行生物活性测定。其毒力方程 $Y=6.182\ 4+1.780\ 5X$ ,在72 h时L9对菌丝的 $EC_{50}$ 为0.22 mg/mL。

### 2.4 流分L9对灰霉菌菌细胞膜渗透性的影响

培养液的电导率变化间接反映了灰霉菌菌丝细胞膜渗透性的改变,从表7可以看出,从0~1 h时,L9处理组电导率的变化趋势始终大于对照组,表明L9处理组有明显的电解质渗漏现象;在1 h后,L9处理组的电导率变化趋势开始慢慢减缓,在1.5~2.0 h时,L9处理组的电导率变化趋势几乎与对照组持平。

表 6 问荆乙酸乙酯萃取物不同流分对灰霉病菌菌丝的抑制作用

Table 6 Antifungal effects of various fractions from the ethyl acetate extraction against *Botrytis cinerea* Pers.

流分 Fraction	提取率/% Extract rate	菌丝生长(72 h) Mycelia growth		菌丝生长(96 h) Mycelia growth	
		菌落直径/cm Colony diameter	抑制率/% Inhibitory rate	平均直径/cm Mean diameter	抑制率/% Inhibitory rate
CK	—	2.42 bcd	—	3.53 ab	—
L1	0.22	1.90 ef	28.57	2.58 c	32.42
L2	0.27	2.10 cdef	17.58	2.73 bc	27.30
L3	0.58	3.02 a	-32.97	4.15 a	-21.16
L4	0.22	2.98 a	-25.82	4.23 a	-23.89
L5	0.62	2.15 cde	14.84	2.83 bc	23.89
L6	0.44	2.00 def	23.08	2.80 bc	24.91
L7	0.78	2.50 bc	-4.39	3.62 ab	-3.07
L8	1.09	2.68 ab	-14.86	3.80 a	-9.22
L9	5.20	0.00 g	100.00	2.45 c	36.86
L10	1.71	2.08 cdef	18.68	2.81 bc	24.57
L11	2.73	1.64 f	42.85	2.21 c	45.05
L12	66.70	2.00 def	23.08	2.50 c	35.15

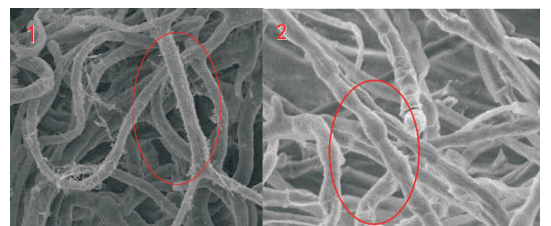
表 7 L9 处理对番茄灰霉病菌培养液电导率值的影响

Table 7 Effect of L9 on the electric conductivity of the cultural filtrate of *Botrytis cinerea* Pers.

处理 Treatment	培养时间/h Period				
	0.0	0.5	1.0	1.5	2.0
CK	71.47 d	110.00 cd	135.47 bc	157.57 ab	178.30 a
L9 处理	383.33 c	466.00 bc	482.67 bc	527.67 ab	658.00 a

2.5 流分 L9 处理对菌丝形态及组织超微结构观察

在含有 L9 的 PDA 培养基上,菌丝生长受到不同程度的抑制作用。对照组灰霉菌丝生长旺盛且蓬松;处理组菌丝生长稀疏并塌陷,紧贴培养基生长。随着处理药剂浓度的增大,这种现象也愈加明显。从图 1 可看出,在 1 000 倍电镜下对照组灰霉病菌菌丝生长粗细均匀,生长正常;在 L9 处理下,灰霉病菌丝生长粗细不一,菌丝上有明显的瘤状膨大。



1. 对照菌丝;2. 处理菌丝

1. CK;2. Treat

图 1 L9 对灰霉病菌菌丝体的形态毒力

Fig. 1 Morphological toxicity of L9-Eaiaesetum arvense on *Botrotis cinerea* Pers

### 3 结论与讨论

植物是生物活性化合物的天然宝库,其产生的次生代谢产物超过 40 万种,从植物中探寻新型抑菌活性物质,对于发现先导化合物,开发新型植物病害抑制剂具有重要的意义。

目前对问荆的研究主要集中在医药方面,陈燕飞<sup>[23]</sup>发现问荆醇提液和水提液对金黄色葡萄球菌等 3 种细菌有抑制作用,但关于问荆对植物病原菌的杀菌功效、杀菌活性成分及其作用机理至今报道甚少。本研究结果表明问荆对番茄灰霉病菌有很好的抑菌活性,通过活性成分分离得到的 L9 在薄层层析检测时可以明显看到有 2 个很接近的斑点,由于条件所限,无法纯化,问荆中含有酚、酸、酚酸、黄酮类化合物及生物碱等活性物质<sup>[24]</sup>,但具体是哪种物质在起作用,仍需进一步的研究。

细胞膜系统是细胞与外界环境进行物质交换和信息传递的界面和屏障,其稳定性是细胞进行正常生理功能的基础,杀菌剂对病原菌形态的影响与其作用机理有着密切的联系,细胞形态的变化提示药物可能的靶点或作用方式<sup>[25-26]</sup>。从 L9 对菌丝的影响可以看出,处理后番茄灰霉病菌菌丝的膜系统可能受到破坏,导致膜损伤,引起电解质渗漏,但以何种方式、在何位点作用,还需要借助透射电镜和生理生化等方法进行深入的研究。

问荆广泛分布在北温带及北寒带,自然资源丰富,它不仅具有很高的药用价值,而且还有很高的生态价值和观赏价值。并且其对生长环境要求比较低,生长能力强,具有巨大的潜在开发前景。

### 参 考 文 献

- [1] 王杨,尹卫.植物源杀菌剂国内外研究进展[J].湖北农业科学,2006,45(3):382-384
- [2] Sun X J, Zhang Y Q, Li J, et al. Application of biological pesticides in medicinal plants [J]. Agricultural Science & Technology, 2013, 14(2): 302-307
- [3] 俞晓平,吕仲贤,陈建明,等.我国植物源农药的研究进展[J].浙江农业学报,2005,17(1):42-48
- [4] Srivastava A, Srivastava M. Fungi-toxic effect of some medicinal plants (On some fruit pathogens) [J]. Philippine Journal of Science, 1998, 127(3): 181-187
- [5] Bouchra C, Mohamed A, Minai H, et al. Antifungal activity of essential oils from several medicinal plants against four postharvest citrus pathogens [J]. Phytopathologia Mediterranea, 2003, 42(3): 251-256
- [6] 孟昭礼,吴献忠,高庆霄,等.银杏提取液对四种植物病原菌的抑菌作用[J].植物病理学报,1995,25(4):357-360
- [7] 张龙,刘西莉,李健强,等.拟银杏杀菌剂邻烯丙基苯酚的内吸传导作用[J].高等学校化学学报,2004,25(4):654-658
- [8] 袁忠林,罗兰,孟昭礼.仿生农用杀菌剂银泰对苹果两种主要病害的防治效果[J].植物保护学报,2006,33(2):223-224
- [9] 赵培洁,王慧中,赵波.植物药对黄瓜霜霉病的抑制作用研究[J].浙江农业科学,2002(2):295-297
- [10] 王慧中,赵培洁,陈卫辉.中药农药“必效散”对柑桔青霉病菌和绿霉病菌的抑制作用[J].科技通报,1999,15(6):449-452
- [11] Hauteville M, Geiger H, Schuler L. Protogenkwanin, a new flavonoid from *Equisetum arvense* [J]. Tetrahedron, 1981, 37: 377-381
- [12] Veit M, Geiger H, Czygan F C, et al. Malonylated flavone 5-oglucones in the barren sprouts of *Equisetum arvense* [J]. Phytochemistry, 1990, 29: 2555-2560
- [13] Veit M, Beckert C, Hohne C, et al. Interspecific and intraspecific variation of phenolics in the genus *Equisetum* subgenus [J]. Phytochemistry, 1995, 38: 881-891
- [14] 昌军,宣利江,徐亚明.问荆中三个新的酚甙化合物[J].植物学报,2001,43(2):193-197
- [15] 朱鹏锦,杨燕清,赵晰,等.问荆的综合开发利用[J].中华实用医药杂志,2006,16(6):175-181
- [16] 尉婷婷,程智慧,冯武煊.大蒜鳞茎粗提物对番茄灰霉病的抑菌和防治效果[J].西北农业学报,2010,19(6):176-180
- [17] 陆志科,谢碧霞.不同种竹叶的化学成分及其提取物抗菌活性的研究[J].西北林学院学报,2005,20(1):49-52
- [18] 周宝利,尚森,孟思达,等.蛇床子提取物对番茄灰霉病菌的抑制效果[J].西北农业学报,2012,21(2):137-141
- [19] 曹挥,王有年,张铁强,等.地肤不同部位提取物对山楂叶螨活性的研究[J].林业科学,2007,43(9):27-30
- [20] 魏福祥,王占辉,王浩然,等.藜芦生物碱的提取技术研究[J].农药,2011,50(7):495-497
- [21] Lee H J, Choi G J, Cho K Y. Correlation of lipid peroxidation in *Botrytis cinerea* caused by dicarboximide fungicides with their fungicidal activity [J]. Journal of Agricultural Food Chemistry, 1998, 46: 737-741
- [22] 赵福庚,孙诚,刘友良.不同浓度 NaCl 对<sup>14</sup>C-Glu 向大麦幼苗质膜、液泡膜类囊体膜蛋白渗入的影响及 ABA 的调节作用[J].南京农业大学学报,2000,23(2):5-8
- [23] 陈燕飞.问荆抑菌作用的测定[J].中国农学通报,2011,27(2):72-74
- [24] 李熙灿,杨小冬.问荆化学成分及药理作用的研究进展[J].辽宁中医学院学报,2005,7(6):633-634
- [25] 陈安良,冯美杰,冯俊涛.丙烷脒对灰霉病菌菌丝形态和超微结构的影响[J].中国农业科学,2007,40(3):633-637
- [26] 董贤慧,钱涛,高维娟.纳他霉素等多烯类抗生素作用机制及研究方法[J].中国现代应用药学,2010,27(10):878-882

责任编辑:袁文业