

◆ 药效与应用 ◆

甲基营养型芽孢杆菌BMF 04菌株的抑菌谱及对仁果类真菌病害的防治作用

万丹丹^{1,2}, 吴海霞¹, 汤曼丽¹, 彭云¹, 陈茹¹, 马桂珍¹, 暴增海^{1*}

(1. 江苏海洋大学海洋科学与水产学院, 江苏连云港 222000 2. 南京医科大学康达学院, 江苏连云港 222000)

摘要: 为了探究海洋甲基营养型芽孢杆菌BMF 04菌株的抑菌谱及其对仁果类真菌病害的防效, 采用平板对峙法和牛津杯法测定BMF 04菌株及其无菌发酵液对26种植物病原真菌和5种细菌的抑菌活性; 采用室内保湿法测定该菌株发酵液和无菌发酵液在果实上对苹果轮纹病菌的防治作用。结果表明, BMF 04菌株及其发酵液对供试的26种植物病原真菌和2种细菌均具有抑制作用; 该菌株的发酵液和无菌发酵液对苹果和梨的轮纹病均具有防治作用, 且保护效果优于治疗效果, 最高防效分别为76.47%、51.77%, 说明BMF 04是一株具有广谱抗菌性的海洋细菌, 对果实轮纹病具有良好的防效, 具有开发微生物制剂的潜力。

关键词: 甲基营养型芽孢杆菌; BMF 04 菌株; 抑菌谱; 苹果轮纹病菌; 防效

中图分类号: S 476.1 S 432.4+4 文献标志码: A doi: 10.3969/j.issn.1671-5284.2020.06.008

The Inhibitory Spectrum Determination of *Bacillus methylotrophics* BMF 04 and Control Effect on Fungal Disease in Kernel Fruits

WAN Dandan^{1,2}, WU Haixia¹, TANG Manli¹, PENG Yun¹, CHEN Ru¹, MA Guizhen¹, BAO Zenghai^{1*}

(1. School of Marine Science and Fisheries, Jiangsu Ocean University, Jiangsu Lianyungang 222000, China; 2. Kangda College of Nanjing Medical University, Jiangsu Lianyungang 222000, China)

Abstract: In order to investigate the inhibitory spectrum of *Bacillus methylotrophics* BMF 04 strain and its control effect on nut fungus disease, we used plate stand-off method and Oxford cup method to determine the bacteriostatic activity of fermentation broth and aseptic cell-free fermentation broth of the BMF 04 strain against 26 kinds of plant pathogenic fungus and 5 kinds of bacteria. The effect of fermentation broth and cell-free fermentation broth of the strain on the control effect of *Botryosphaeria dothidea* was measured by the indoor moisturizing method. The results showed that BMF 04 strain and its fermentation broth had inhibitory effects on 26 kinds of plant pathogenic fungus and 2 kinds of bacteria. The fermentation broth and cell-free fermentation broth of the strain can prevent and cure apple and pear's ring rot, and the protective effect was better than the therapeutic effect, the highest control effect value was 76.47%, 51.77%, respectively. The above results suggest that BMF 04 is a marine bacterium with broad-spectrum antimicrobial activity, which has good control effect on fruits' ring rot and has the potential to be developed as a microbial agent.

Key words: *Bacillus methylotrophics*; BMF 04 strain; antimicrobial spectrum; *Botryosphaeria dothidea*; control effect

苹果轮纹病是由葡萄座腔菌属引起的, 该病菌不仅会危害生长期的果树和果实, 也会造成果实成

熟期的烂果、落果, 并且在贮藏期也会造成大量的烂果, 是严重危害苹果产业的病害之一。除危害苹

收稿日期: 2020-02-18

基金项目: 农业科技自主创新资金项目(CX(20)3133) 南京医科大学康达学院 2018 年度科研发展基金一般项目(KD2018KYJJYB015)

作者简介: 万丹丹(1990—), 女, 江苏连云港人, 硕士研究生, 研究方向为食品加工与安全。E-mail: wandandan90@126.com

通信作者: 暴增海(1962—), 男, 河北沧州人, 硕士, 教授, 主要从事植物病害生物防治研究。E-mail: baozenghai@sohu.com

果外,还可侵染梨、桃、杏等多种果树,对果树的生长和水果产量造成了巨大的影响^[1-2]。目前,我国轮纹病害的防治主要是依靠化学农药,而化学农药的大量使用和滥用导致了环境污染、生态多样性破坏、农药残留及植物病原菌产生耐药性等一系列难题^[3]。开发利用新型生物农药可弥补化学农药的不足,微生物制剂用于植物病害的防治受到了广泛的重视^[4-5]。芽孢菌属繁殖力强,其芽孢可在恶劣环境中存活,并且其产生的细菌素、抗菌蛋白、脂肽类抗生素等产物具有抑菌作用,被广泛地应用于微生物菌剂的研制^[6-8]。用于植物病害防治的微生物菌株主要来源于陆地和海洋,其中来源于陆地的生物菌株开发应用比较普遍,而来源于海洋的微生物菌株,由于海洋特殊的生态环境,如高压、高盐、低温、寡营养等,造就了其产物的特异结构和活性是陆源微生物无法比拟的^[9-11]。很多海源微生物的次生代谢产物对植物病害的防效更好,成为近年来的研究热点。

本课题组从连云港海域分离获得1株对轮纹病等多种植物病原真菌具有较强抑制作用的甲基营养型芽孢杆菌BMF 04菌株。为了进一步了解该菌株特性,笔者系统研究了该菌株及其发酵液的抑菌谱以及对仁果类轮纹病病害的防效,旨在为该菌株后续开发利用奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 试验菌株、培养基及果实来源

甲基营养型芽孢杆菌BMF 04由江苏海洋大学海洋微生物实验室分离、鉴定、保存。供试植物病原真菌(表1)和细菌保存在该实验室。

PDA马铃薯培养基,PD液体培养基,NA液体培养基;发酵培养基:麸皮1.0%,花生饼粉1.0%,CaCl₂ 1.0%,pH 7.5。

梨:市售雪梨;苹果:市售红富士。

1.2 BMF 04菌株及其无菌发酵液对植物病原真菌抑菌作用的测定

将4℃下保存的BMF 04菌株在无菌条件下转接于PDA斜面上,在28℃的条件下培养1 d进行活化;将4℃下保存的植物病原真菌在无菌条件下转接于PDA平板上,在28℃培养3 d进行活化,备用。

采用平板对峙培养法,在PDA平板中央接种直径为7 mm的病原真菌菌苔,在真菌三边距培养皿边缘25 mm处划线接种活化1 d的BMF 04菌株,以不接BMF 04菌株作为对照,3次重复。28℃培养3~5 d,观测并测量抑菌带宽度。

表1 BMF 04菌株及其无菌发酵液对不同植物病原真菌的抑制作用测定结果

病原菌种类	抑菌带宽度/mm	
	菌株	无菌发酵液
苹果腐烂病菌	23.00 ± 1.73	21.00 ± 0.00
小麦赤霉病菌	27.33 ± 0.58	14.67 ± 2.52
葡萄白腐病菌	24.00 ± 1.00	20.00 ± 2.00
黄瓜枯萎病菌	22.67 ± 0.58	19.67 ± 1.53
菠菜早疫病病菌	24.33 ± 0.58	20.00 ± 1.73
番茄早疫病病菌	27.17 ± 1.53	20.00 ± 1.00
棉花立枯病菌	25.33 ± 0.58	18.67 ± 0.58
稻瘟病病菌	16.33 ± 1.53	11.33 ± 0.58
小麦根腐病菌	18.33 ± 1.15	19.33 ± 0.58
斑点落叶病菌	20.00 ± 0.00	15.67 ± 2.08
甘蓝枯萎病菌	18.33 ± 1.53	16.00 ± 2.00
苹果轮纹病菌	20.97 ± 0.90	23.50 ± 0.30
梨炭疽病菌	19.83 ± 1.85	16.00 ± 0.62
芒果炭疽病菌	28.67 ± 0.58	23.00 ± 1.00
苹果炭疽病菌	22.00 ± 1.00	21.67 ± 1.15
小麦雪腐镰刀菌	19.33 ± 1.53	15.00 ± 1.00
草莓灰霉病菌	21.33 ± 0.58	13.67 ± 1.15
小麦纹枯病菌	19.33 ± 1.15	17.67 ± 1.53
大豆菌核病菌	26.83 ± 1.15	19.33 ± 0.58
水稻纹枯病菌	27.33 ± 0.58	21.33 ± 0.58
玉米弯孢霉叶斑病菌	18.17 ± 2.08	19.67 ± 0.58
蓝莓早疫病病菌	19.17 ± 1.26	19.00 ± 1.00
玉米叶枯病菌	18.17 ± 1.44	17.67 ± 0.58
玉米小斑病菌	18.67 ± 0.58	16.67 ± 0.58
水稻胡麻斑病菌	9.00 ± 1.00	6.67 ± 0.58
马铃薯晚疫病病菌	9.67 ± 1.15	4.67 ± 0.58

将甲基营养型芽孢杆菌BMF 04接种于PDA斜面,在温度为28℃条件下,培养16 h,用PD培养基洗下,制成菌悬液,接入装有60 mL种子液培养基的250 mL三角瓶中。在温度为28℃条件下,180 r/min摇床培养16 h,得到种子液,调整种子液浓度为10⁸ CFU/mL。按照10%的接种量,将种子液接种装入盛有60 mL发酵培养基的250 mL三角瓶中,在温度为28℃条件下,180 r/min摇床培养48 h,发酵液冷却至4℃,以10 000 r/min转速离心20 min,上清液经0.22 μm微孔滤膜过滤去除菌体,即为无菌发酵液。

采用牛津杯法,将植物病原真菌接在直径90 mm的平板中央,在距边缘25 mm处对称放置4个牛津杯,3个牛津杯中各加入无菌发酵液200 μL,以发酵培养基为对照,重复3次。28℃下恒温培养4 d后,观察植物病原真菌的生长情况,并测量其抑菌带宽度。

1.3 BMF 04菌株发酵液对不同细菌抑制作用的测定

采用牛津杯法,将斜面培养24 h的5种供试细菌

接种至盛有60 mL NA液体培养基的250 mL三角瓶中,28℃、180 r/min振荡培养24 h,制成浓度为 10^6 CFU/mL的菌悬液,取100 μ L菌悬液均匀涂布在NA平板上,每个涂菌平板上等距离摆放4个牛津杯。牛津杯中加入200 μ L BMF 04菌株的无菌发酵液,以等量的发酵培养基为对照,28℃下培养36 h,测定抑菌带宽度,重复3次。

1.4 BMF 04菌株发酵液及其无菌发酵液对梨、苹果果实轮纹病防治作用的测定

苹果、梨果实表面的处理:选择健康果形大小一致的苹果和梨的果实,对其表面消毒后,在果实的赤道处打直径为7 mm、深度为3 mm的伤口,每个果实3个伤口。用2种不同处理方法分别测定BMF 04菌株发酵液和无菌发酵液的保护作用和治疗作用。

保护作用:在伤口处分别用浓度为 10^8 CFU/mL BMF 04发酵液和无菌发酵液100 μ L处理,以等量的发酵培养基为对照,16 h接种苹果轮纹病菌菌苔。

治疗作用:在果实伤口处接种轮纹病菌菌苔,16 h后分别接种浓度为 10^8 CFU/mL BMF 04发酵液、无菌发酵液100 μ L。

将不同处理的果实放入相对湿度为95%左右、28℃的恒温培养箱中,观察5~7 d,采用十字交叉法测量病斑直径。每个处理设3重复,每个重复10个果实。

2 结果与分析

2.1 BMF 04菌株及其无菌发酵液对不同植物病原真菌的抑制作用

从表1和图1可见,BMF 04菌株对供试的26种植物病原真菌丝生长均具有明显的抑制作用,对23种真菌的抑菌带宽度达18 mm以上,其中对芒果炭疽病菌抑制作用最强,抑菌带宽度为28.67 mm,其次是小麦赤霉病菌、水稻纹枯病菌、番茄早疫病菌,抑菌带宽度均超过27 mm。

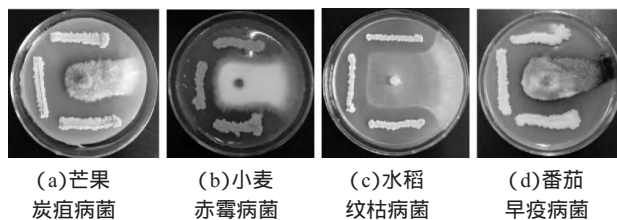
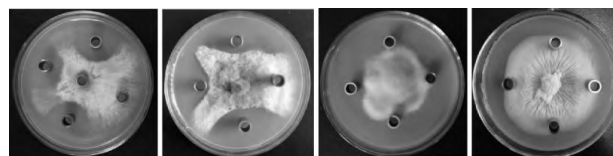


图1 BMF 04菌株对不同植物病原真菌的抑制作用

从表1和图2可见,BMF 04菌株无菌发酵液对供试的植物病原真菌均有抑制作用,对24种真菌的抑菌带宽度在10 mm以上,其中对苹果轮纹病菌和芒

果炭疽病菌的抑制作用最强,抑菌带宽度分别为23.50 mm和23.00 mm,对水稻胡麻斑病菌和马铃薯晚疫病菌抑菌作用最弱,抑菌带宽度分别为6.67 mm和4.67 mm。



(a)苹果轮纹病菌 (b)芒果炭疽病菌 (c)水稻胡麻斑病菌 (d)马铃薯晚疫病菌

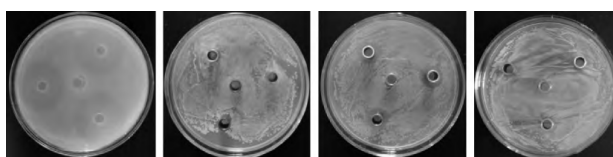
图2 BMF 04无菌发酵液对不同病原真菌的抑制作用

2.2 BMF 04菌株发酵液对不同细菌的抑制作用

从表2和图3可知,BMF 04菌株对供试的金黄色葡萄球菌的抑制作用最强,抑菌带宽度为20.55 mm,其次是青枯病菌,抑菌带宽度为11.83 mm,对大肠杆菌、角斑病菌和枯草芽孢杆菌没有抑制作用。

表2 BMF 04菌株无菌发酵液对不同细菌的抑制作用

细菌种类	抑菌带宽度/mm	细菌种类	抑菌带宽度/mm
金黄色葡萄球菌	20.50 ± 1.00	角斑病菌	0.00
大肠杆菌	0.00	枯草芽孢杆菌	0.00
青枯病菌	11.83 ± 0.58		



(a)金黄色葡萄球菌 (b)大肠杆菌 (c)青枯病菌 (d)角斑病菌

图3 BMF 04菌株对不同细菌的抑制作用

2.3 BMF 04菌株发酵液及其无菌发酵液对梨、苹果果实轮纹病防治作用

从表3可见,经BMF 04菌株发酵液处理过的梨、苹果轮纹病病斑直径分别为21.03、18.03 mm,经无菌发酵液处理过的梨、苹果轮纹病病斑直径分别为24.60、22.60 mm,无菌发酵培养基为对照组的梨、苹果轮纹病病斑直径分别为43.10、53.87 mm,BMF 04菌株发酵液对梨、苹果的保护作用分别为61.15%、76.47%,无菌发酵液对梨、苹果的保护作用分别为51.24%、66.72%。以上结果表明,BMF 04菌株发酵液的抑菌作用明显优于无菌发酵液,BMF 04菌株对苹果和梨具有很强的保护作用,且对苹果果实轮纹病的保护效果优于梨果实上轮纹病的保护效果。

从表4可知,先接种轮纹病菌,后接种BMF 04菌株发酵液的梨、苹果轮纹病病斑直径分别为29.03、

32.13 mm 接种无菌发酵液的梨、苹果轮纹病病斑直径分别为34.17、36.77 mm 无菌发酵培养基为对照组的梨、苹果轮纹病病斑直径分别为44.53、59.10 mm ; BMF 04 菌株发酵液对梨、苹果的治疗作用分别为41.30%、51.77% , 无菌发酵液对梨、苹果的治疗作用分别为27.67%、42.88%。以上结果表明 , BMF 04 菌株发酵液对苹果、梨轮纹病具有较好的治疗作用 , 且对苹果果实轮纹病的治疗效果优于梨果实上轮纹病的治疗效果。

对比表3和表4可以看出 , 海洋细菌BMF 04 菌株发酵液及其无菌发酵液对苹果、梨果实的轮纹病都具有良好的防效 , 且该菌株对果实的保护效果优于治疗效果。

表 3 BMF 04 菌株发酵液和无菌发酵液对梨、苹果果实轮纹病的保护作用

处理	梨		苹果	
	病斑直径/ mm	保护效果/ %	病斑直径/ mm	保护效果/ %
BMF 04 发酵液	21.03 ± 1.00	61.15 ± 1.96	18.03 ± 0.74	76.47 ± 1.11
无菌发酵液	24.60 ± 0.40	51.24 ± 0.70	22.60 ± 0.56	66.72 ± 0.21
对照	43.10 ± 0.95		53.87 ± 1.40	

表 4 BMF 04 菌株发酵液和无菌发酵液对梨、苹果果实轮纹病的治疗作用

处理	梨		苹果	
	病斑直径/ mm	治疗效果/ %	病斑直径/ mm	治疗效果/ %
BMF 04 发酵液	29.03 ± 0.55	41.30 ± 0.79	32.13 ± 1.03	51.77 ± 1.26
无菌发酵液	34.17 ± 1.96	27.67 ± 3.77	36.77 ± 0.97	42.88 ± 1.02
对照	44.53 ± 0.81		59.10 ± 0.85	

3 结论与讨论

甲基营养型芽孢杆菌BMF 04 菌株及其发酵液对供试的26种植物病原真菌和2种细菌均具有抑制作用 , 该菌株对23种真菌的抑菌带宽度达到了18 mm 以上 , 无菌发酵液对24种真菌的抑菌带宽度达到了10 mm 以上 , 其中对苹果轮纹病菌和芒果炭疽病菌的抑制作用最强 , 抑菌带宽度分别为23.50 mm 和23.00 mm , 说明其抗菌谱较广。目前 , 应用于植物防病促生的芽孢菌属主要为枯草芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌等^[12] , 关于甲基营养型芽孢杆菌在植物病害的防治应用近年来也有所报道。甲基营养型芽孢杆菌BAC -9912、WF -3对黄瓜灰霉病和炭疽病的防效分别达78.8%、77.38%^[13-14]。从海洋中分离筛选的甲基营养型芽孢杆菌SHB114和BH21 , 能有效抑制黄瓜枯萎病、炭疽病、立枯丝核菌和葡萄灰霉病^[15-16]。

分离自天然饼肥发酵液的甲基营养型芽孢杆菌4-L-16菌株在香蕉根际土壤和植物体内具有良好的定殖能力 , 是防治香蕉枯萎病的新菌种资源^[17]。赵文珺等^[18]室内盆栽实验表明 , 甲基营养型芽孢杆菌NK、G-1对番茄白粉病防效分别达87.55%、47.74% , 且能不同程度促进番茄的生长。本研究中的BMF 04 菌株与上述报道的菌株相比抗菌谱较广 , 抗菌种类也有明显不同。该菌株的发酵液和无菌发酵液对苹果和梨的轮纹病均具有防治作用 , 且保护效果优于治疗效果 , 发酵液的防效优于无菌发酵液的防效 , 对苹果的保护效果及治疗效果分别为76.47%、51.77%。

本研究说明甲基营养型芽孢杆菌BMF 04 是一株具有广谱抗菌性的海洋细菌 , 对果实轮纹病具有良好的防效 , 在植物病害的微生物防治方面具有广泛的应用前景。

参考文献

- [1] 吴小芹, 何月秋, 刘忠华. 葡萄座腔菌属所致树木溃疡病发生与研究进展[J]. 南京林业大学学报, 2001, 25(1): 61-66.
- [2] 田路明, 周宗山, 董星光, 等. 梨轮纹病研究进展[J]. 中国果树, 2013(4): 74-77.
- [3] 李冰, 徐涛, 蔡敬民. 海洋微生物活性物质的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(23): 13931-13934.
- [4] 葛平华, 马桂珍, 付泓润, 等. 海洋解淀粉芽孢杆菌GM-1菌株发酵液抗菌谱及稳定性测定[J]. 农药, 2012, 51(10): 730-732.
- [5] 邱德文. 我国植物病害生物防治的现状与发展策略[J]. 植物保护, 2010, 36(4): 15-18.
- [6] FOLDES T, BANHEGYI I, HERPAI Z, et al. Isolation of *Bacillus* strains from the rhizosphere of cereals and *in vitro* screening for antagonism against phytopathogenic, food-borne pathogenic and spoilage micro-organisms[J]. Journal of Applied Microbiology, 2000, 89(5): 840-846.
- [7] MENDO S, FAUSTINO N A, SARMENTO A C, et al. Purification and characterization of a new peptide antibiotic produced by a thermotolerant *Bacillus licheniformis* strain[J]. Biotechnology Letters, 2004, 26(2): 115-119.
- [8] CHEN X H, SCHOLZ R, BORRIS M, et al. Difficidin and bacilysin produced by plant-associated *Bacillus amyloliquefaciens* are efficient in controlling fire blight disease[J]. Journal of Biotechnology, 2009, 140(1): 38-44.
- [9] 薛陕, 魏刚, 沈晓霞, 等. 海洋微生物源农用抗生活性物质的筛选[J]. 现代农药, 2010, 9(4): 19-22.
- [10] 付泓润, 马桂珍, 葛平华, 等. 海洋微生物及其代谢产物在植物保护上的研究与应用进展[J]. 河南农业科学, 2013, 42(6): 7-12.
- [11] 王硕, 孟庆丽, 武天娇, 等. 抗金葡菌深海真菌的分离鉴定及抑菌

(下转第 54 页下)

对桃褐腐病菌的影响因子有待进一步测定。

参考文献

- [1] 纪兆林, 谈彬, 朱薇, 等. 我国不同产区桃褐腐病原鉴定与分析[J]. 微生物学通报, 2019, 46(4): 869-878.
- [2] 李世访, 陈策. 桃褐腐病的发生和防治[J]. 植物保护, 2009, 35(2): 134-139.
- [3] 罗朝喜. 果树褐腐病的研究现状及其展望[J]. 植物病理学报, 2017, 47(2): 145-153.
- [4] 孙瑞红, 宫庆涛, 武海斌, 等. 山东省桃树病虫害的发生情况与防控措施[J]. 落叶果树, 2019, 51(3): 40-42.
- [5] 何献声. 19种杀菌剂对桃褐腐病离体抑菌活性[J]. 农药, 2011, 50(11): 853-854.
- [6] 房雅丽, 刘鹏, 国立耘. 美澳型核果褐腐病菌(*Monilinia fructicola*)对啞菌酯的敏感性[J]. 果树学报, 2010, 27(4): 561-565.
- [7] 房雅丽, 朱小琼, 国立耘. 美澳型核果褐腐菌对啞菌酯和啞菌酯的敏感性[C]//彭友良. 中国植物病理学会2009年学术年会论文集. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2009: 679.
- [8] 樊锦艳, 房雅丽, 国立耘. 美澳型核果褐腐病菌对甲基硫菌灵和啞菌酯的敏感性[J]. 植物保护学报, 2009, 36(3): 251-256.
- [9] 陈淑宁. 桃褐腐病菌和炭疽病菌对DMI杀菌剂的抗性研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2017.
- [10] 赵杰, 徐心, 曹忠. 五种杀菌剂对桃褐腐病菌的抑菌作用初探[J]. 上海农业科技, 2014(5): 151.
- [11] 周莹, 严红, 关海春, 等. 几种杀菌剂对桃褐腐病的毒力测定及田间控制作用[J]. 农药, 2013, 52(10): 771-772; 779.
- [12] 纪兆林, 蒋长根, 戴慧俊, 等. 不同杀菌剂对桃褐腐病菌的毒力测定[J]. 中国南方果树, 2013, 42(5): 95-97.
- [13] 刘永春, 刘洪艳, 苏晓萌. 25%啞菌恶唑对桃褐腐病的抑菌率与田间防效[J]. 北方果树, 2017(4): 15-16.
- [14] 陈笑瑜, 师迎春, 骆勇, 等. 桃褐腐病菌(*Monilinia fructicola*)对3种杀菌剂的敏感性[J]. 植物保护, 2006, 32(3): 25-28.
- [15] HONG C X, THEMIS J M. Mycelial growth, sporulation, and survival of *Monilinia fructicola* in relation to osmotic potential and temperature[J]. Mycologia, 2019, 91(5): 871-876.
- [16] LIU C, YIN X H, WANG Q G, PENG Y, et al. Antagonistic activities of volatiles produced by two *Bacillus* strains against *Monilinia fructicola* in peach fruit[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2018, 98(15): 5756-5763.
- [17] HRUSTI J, MIHAJLOVI M, GRAHOVAC M, et al. Fungicide sensitivity, growth rate, aggressiveness and frost hardiness of *Monilinia fructicola* and *Monilinia laxa* isolates [J]. European Journal of Plant Pathology, 2018, 151(2): 389-400.
- [18] PRIMIANO I V, MOLINA P E, MIO L L, et al. Reduced sensitivity to azoxystrobin is stable in *Monilinia fructicola* isolates[J]. Scientia Agricola, 2017, 74(2): 169-173.

(责任编辑:高蕾)

(上接第 26 页)

- Alkoxy-1,2,4-triazolo[1,5-c]pyrimidine-2-sulfonamides, process for their preparation and intermediates: EP, 0343752[P]. 1989-05-24.
- [9] ORVIK J A, SHIANG D L. 5-alkoxy-1,2,4-triazolo[4,3-c]pyrimidine-3(2H)-thione compounds and their use in the preparation of 5-alkoxy[1,2,4]triazolo[1,5-c]pyrimidine-2-(3H)thione and 3-hydrocarbylthio-5-alkoxy-1,2,4-triazolo[4,3-c]pyrimidine compounds: WO, 9512595[P]. 1994-10-31.
- [10] PEARSON D L, ADAWAY T J. Preparation of *N*-arylsulfonamide compounds: WO, 9937650A1[P]. 1999-01-25.
- [11] 林格 J W, 佩尔森 D L, 司考特 C A, 等. *N*-芳基磺酰胺化合物和它们作为制备 *N*-芳基磺酰胺化合物催化剂的应用: CN, 1216040A[P]. 1997-11-13.
- [12] 孙永辉, 孔繁蕾, 史跃平, 等. 双氟磺草胺的制备方法: CN, 103509027A[P]. 2013-10-30.
- [13] 吕早生, 赵金龙, 黄吉林, 等. 5-氟尿嘧啶合成工艺研究[J]. 化学与生物工程, 2013, 30(1): 54-56; 59.
- [14] 钟光祥. 5-氟尿嘧啶的合成方法评述[J]. 浙江化工, 1995, 26(1): 9-11; 27.

(责任编辑:高蕾)

(上接第 48 页)

- 谱研究[J]. 生物技术, 2015, 25(2): 169-172.
- [12] CAUAGLIERI L, ORLANDO J, RODRIGUEZ M I, et al. Biocontrol of *Bacillus subtilis* against *Fusarium verticillioides* in vitro and at the maize root level[J]. Research in Microbiology, 2005, 156(5): 748-754.
- [13] 李学红. 甲基营养型芽孢杆菌可湿性粉剂配方的优化[J]. 煤炭与化工, 2015, 38(6): 46-50.
- [14] 谢学文, 揣红运, 董瑞利, 等. 甲基营养型芽孢杆菌WF-3微粉剂的研制及对黄瓜炭疽病的防效[J]. 中国生物防治学报, 2018, 34(5): 722-728.
- [15] 魏新燕, 黄媛媛, 黄亚丽, 等. 甲基营养型芽孢杆菌BH21对葡萄灰霉病菌的拮抗作用[J]. 中国农业科学, 2018, 51(5): 883-892.
- [16] 吕倩, 胡江春, 王楠, 等. 南海深海甲基营养型芽孢杆菌SHB114抗真菌脂肽活性产物的研究[J]. 中国生物防治学报, 2014, 30(1): 113-120.
- [17] 周登博, 陈宇丰, 井涛, 等. 抗香蕉枯萎病甲基营养型芽孢杆菌的鉴定及定殖[J]. 中国农学通报, 2017, 33(36): 145-151.
- [18] 赵文珺, 葛蓓宇, 刘炳花, 等. 甲基营养型芽孢杆菌NKG-1对番茄白粉病的防病促生作用研究[J]. 中国农学通报, 2018, 34(23): 104-109.

(责任编辑:徐娟)