

# 大蒜白腐病病原菌产毒素培养条件的优化

张林青<sup>1,2</sup>, 程智慧<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>西北农林科技大学园艺学院, 陕西杨凌 712100; <sup>2</sup>淮阴工学院, 江苏淮安 223001)

**摘要:** 采用大蒜幼苗根系生长抑制率生物检测法, 研究了大蒜白腐病病菌 (*Sclerotium cepivorum*) 在不同培养基、培养时间、培养温度、培养液 pH、光照和振荡培养等条件下粗毒素的活性和产量。结果表明: 大蒜白腐病病菌的最佳产毒培养基为 Fries 液体培养基, 培养温度为 18.0 , 培养基 pH 值为 5.0, 黑暗条件下连续振荡培养 6 d 时产生的粗毒素的毒性最强。

**关键词:** 大蒜; 白腐病病原菌; 培养条件; 粗毒素

中图分类号: S 633.4; S 436.33 文献标识码: A 文章编号: 0513-353X (2008) 06-0841-06

## Optimization of Culturing Conditions for Toxin Production by *Sclerotium cepivorum* Berk. of Garlic

ZHANG Lin-qing<sup>1,2</sup> and CHENG Zhi-hui<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup> College of Horticulture, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China; <sup>2</sup> Huaiyin Institute of Technology, Huai'an, Jiangsu 223001, China)

**Abstract:** A test of crude toxin toxicity using garlic root inhibition was examined from toxin production related to culture medium, temperature, pH, culturing duration, light, dark or shaking conditions. Investigations concerned a garlic white rot pathogen, *Sclerotium cepivorum* Berk. Results showed that optimum conditions included using a Fries liquid medium at pH 5.0 and at 18.0 , with successive dark periods and shaking during culturing. Production of crude toxin reached the highest level on the 6th day of culturing.

**Key words:** garlic; *Sclerotium cepivorum* Berk.; culturing condition; crude toxin

大蒜白腐病 (*Sclerotium cepivorum* Berk.) 是大蒜毁灭性病害, 主要危害大蒜的根、鳞茎和叶, 苗期直接造成田间缺株死苗, 严重地块绝收。目前, 化学药物防治白腐病效果不明显 (Melero-Vara et al., 2000; 王转军等, 2004; 张根峰和张翼, 2004)。大量用药还会降低产品食用安全性。要从根本上解决白腐病, 必须选育抗白腐病的大蒜品种。

病菌致病粗毒素在适当的选择剂量下可用于筛选高抗病水平的突变体 (Yoder, 1983, 1990; 赵蕾等, 2001; 赵明敏等, 2006)。为了明确毒素在病程中的作用和应用粗毒素进行细胞突变体筛选, 首先需要培养出大量的病菌粗毒素。

前人对小麦雪霉叶枯病菌、番茄早疫病病菌、棉花黄萎病菌、链格孢菌、大豆根腐病菌、立枯丝核菌、马铃薯晚疫病病菌的产毒研究表明, 病原菌的产毒能力与培养基类型和环境条件密切相关 (左豫虎等, 1996; 童蕴慧等, 1997; 吴蔼民等, 1999; 万佐玺等, 2001; 台莲梅和许艳丽, 2004; 徐敬友等, 2004; 邢宇俊和程智慧, 2006)。但是, 对于大蒜白腐病菌的产毒条件的系统研究迄今尚未见报道。

本研究在分离大蒜白腐病病菌的基础上, 探索了大蒜白腐病病菌产毒培养的条件, 为今后进行大

收稿日期: 2008 - 01 - 30; 修回日期: 2008 - 05 - 13

基金项目: 中德农业部科技合作项目 (06-37); 国家 '十五' 科技攻关项目 (2004BA516A09)

\* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: chengzh@nwsuaf.edu.cn)

蒜抗白腐病离体细胞筛选育种奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试菌种与粗毒素的提取

大蒜白腐病病菌菌种从在陕西杨凌大蒜田间具有典型白腐病症状的发病植株上分离纯化而来。病原菌在进行液体培养前 3 d, 在马铃薯葡萄糖琼脂培养基上进行活化培养, 然后取长势一致的直径 5 mm 菌饼接种培养。

将不同条件培养获得的白腐病病菌培养液先用 8 层无菌纱布过滤, 然后滤液用滤纸抽滤, 得到无菌滤液。将无菌滤液经  $4\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 10 min, 上清液经  $0.45\text{ }\mu\text{m}$  的滤膜过滤, 得到病原菌粗毒素。

### 1.2 病菌产粗毒素培养条件的建立

#### 1.2.1 培养基和培养时间的筛选

试验设计以下 5 种培养基。

(1) Fries 培养基: 蔗糖 30 g, 酒石酸铵 5 g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1 g,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  1 g,  $\text{MgSO}_4$  0.5 g, NaCl 0.1 g, 结晶  $\text{CaCl}_2$  0.1 g, 酵母膏 1 g, 蒸馏水 1 000 mL。

(2) 理查德培养基 (Richard medium):  $\text{KNO}_3$  10 g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  5 g,  $\text{MgSO}_4$  2.5 g,  $\text{FeCl}_3$  0.02 g, 蔗糖 50 g, 蒸馏水 1 000 mL。

(3) PS 培养基: 马铃薯 200 g, 蔗糖 20 g, 加水至 1 000 mL。

(4) PD 培养基: 马铃薯 200 g, 葡萄糖 20 g, 加水至 1 000 mL。

(5) 查彼克培养基 (Czapek-Dox medium): 蔗糖 30 g,  $\text{KNO}_3$  2 g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1 g,  $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5 g,  $\text{KCl}$  0.5 g,  $\text{FeSO}_4$  0.01 g, 蒸馏水 1 000 mL。

分别在 5 个 500 mL 三角瓶中倒入 300 mL 上述培养基, 然后取菌丝饼 6 块, 接种于各液体培养基中, 重复 3 次。在黑暗、 $18.0\text{ }^\circ\text{C}$ 、 $115\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  振荡条件下培养。分别于培养 2、4、6、8、10、12 d 后取样制备大蒜白腐病病菌粗毒素。

#### 1.2.2 培养温度的筛选

设 9、12、15、18、21、24、27 和  $30\text{ }^\circ\text{C}$  等 8 个培养温度处理。将 300 mL 经筛选出的适宜培养基倒入 500 mL 三角瓶中, 取菌丝饼 6 块接种其中, 分别置于不同温度的培养箱中, 按筛选出的适宜时间培养后取样制备大蒜白腐病病菌粗毒素。

#### 1.2.3 培养基 pH 值的筛选

设 pH 3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0 等 8 个培养基酸度处理。将 300 mL 经筛选出的适宜培养基倒入 500 mL 三角瓶中, 取菌丝饼 6 块接种于其中, 按筛选出的适宜时间培养后取样制备大蒜白腐病病菌粗毒素。

#### 1.2.4 光照条件和培养方式的筛选

将 300 mL 经筛选出的培养基倒入 500 mL 三角瓶中, 取菌丝饼 6 块接种于其中。设 24 h 光照 + 振荡、24 h 光照 + 静置、12 h 光照 / 12 h 黑暗 + 振荡、12 h 光照 / 12 h 黑暗 + 静置、24 h 黑暗 + 振荡、24 h 黑暗 + 静置等 6 个光照和振荡培养条件, 按筛选出的适宜时间培养后取样制备大蒜白腐病病菌粗毒素。

### 1.3 病原菌粗毒素的生物测定方法

选取大小一致的 30 个蒜瓣置于光照强度  $2\,000\text{ lx}$ 、12 h 光照 / 12 h 黑暗, 白天温度  $18\text{ }^\circ\text{C}$  晚上  $12\text{ }^\circ\text{C}$  的培养箱培养 30 d 后, 将幼苗取出, 根稍加损伤, 在 12 粗毒素中处理 20 min 后重新栽种在培养箱中保湿 24 h, 7 d 后观察症状。

选取大小一致的 10 个蒜瓣置于光照强度 2 000 lx, 光周期 12 h 光照 /12 h 黑暗, 白天温度 18 ℃ / 晚上 12 ℃ 的培养箱培养 3 d, 转接于加入 8 mL 待检测粗毒素的培养钵中, 重新置于培养箱中培养 3 d 后观测根生长抑制率。根生长抑制率 (%) = (对照根平均长度 - 处理根平均长度) / 对照根平均长度 × 100 (董金皋和朱日希, 1992)。对照 (CK) 为无菌水。

#### 1.4 数据统计与分析

每个处理重复 3 次, 所得数据用 DPS 和 Excel 软件分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 病菌粗毒素对大蒜幼苗生长的影响

试验观察发现: 大蒜幼苗接种粗毒素后, 外叶从叶尖开始往下出现条状变黄, 随后扩展到心叶及叶梢, 植株生长衰弱, 整株变黄矮化或枯死。7 d 后拔出病株, 发现鳞茎表皮呈水浸状病斑, 其症状与田间大蒜白腐病典型病株相似, 说明病菌粗毒素是致病因子。

### 2.2 培养基和培养时间对病菌产生粗毒素的影响

用大蒜根系进行生物检测, 大蒜根系生长抑制率越高, 说明产毒培养中病菌产生的粗毒素越多。由表 1 可以看出, 在各培养基上, 病菌的粗毒素产量与时间呈抛物线关系, 在培养 6 d 前粗毒素产量随培养时间增加而递增, 而 6 d 后粗毒素产量随培养时间的增加而减少。病菌均在培养 6 d 时产粗毒素量最多。

表 1 病菌在不同培养基不同时间培养产生的粗毒素对大蒜根生长抑制率的影响  
Table 1 Effect on inhibition of garlic root of crude toxin produced by the pathogen for different culture medium and culturing time

培养时间 / d Culturing time	根生长抑制率 / % Inhibition of garlic root				
	PD 培养基 PD medium	PS 培养基 PS medium	Fries 培养基 Fries medium	查彼克培养基 Czapek-Dox medium	理查德培养基 Richard medium
2	20.29 ±2.10 eE	22.40 ±1.65 dD	37.50 ±1.66 aA	25.43 ±3.70 bB	23.10 ±1.07 cC
4	45.60 ±3.44 eE	46.76 ±2.94 dD	78.10 ±3.10 aA	52.08 ±4.11 bB	49.83 ±3.72 cC
6	80.60 ±3.10 dD	87.93 ±2.36 cB	92.48 ±2.76 aA	88.86 ±1.29 bB	84.60 ±4.60 dC
8	75.13 ±1.03 eE	82.43 ±2.85 bB	89.47 ±1.66 aA	80.40 ±2.53 dD	78.53 ±3.89 dD
10	60.47 ±3.50 dD	72.38 ±2.54 bB	80.61 ±1.34 aA	67.44 ±1.20 cC	61.69 ±0.99 dD
12	37.17 ±2.06 eE	41.28 ±1.11 dD	76.86 ±2.13 aA	48.47 ±1.85 cC	50.45 ±3.45 bB

注: 表中同一行数据后小写字母不同表示 5% 水平的差异显著性, 大写字母不同表示 1% 水平的差异显著性, 相同字母表示差异不显著。

Note: Capital letters represent differences at 1% level within a row and small letters represent differences at 5% level within a row. The same letters mean no significant difference.

不同培养基上产毒有极显著的差异。在 Fries 培养基上培养病菌 6 d 产毒量最多, 大蒜根生长抑制率最高, 达 92.48%; 而在 PD 培养基、PS 培养基、查彼克培养基、理查德培养基上培养 6 d 所产生的粗毒素较少, 根生长抑制率分别为 80.60%、87.93%、88.86% 和 84.60%。从产毒趋势上也可以看出, 在相同培养时间下, Fries 培养基上产生的毒素使大蒜根生长抑制率极显著高于其他培养基 ( $P < 0.01$ )。

可见, Fries 培养基是最适合大蒜白腐菌产毒的培养基, 产生毒力最强的培养时间是 6 d。

### 2.3 培养温度对病菌产生粗毒素的影响

病菌在不同温度下培养产毒差异很大。由图 1 可以看出, 在培养温度低于 18 ℃ 时, 粗毒素产量随着温度的升高而增加; 温度高于 18 ℃ 时, 粗毒素产量随着温度的升高而降低。在 18 ℃ 培养条件下产毒量最多, 大蒜的根生长抑制率最高, 达 94.13%; 12 ℃ 和 15 ℃ 培养条件下产毒量也较多, 大蒜的根生长抑制率分别为 87.45% 和 90.38%; 虽然 9、12、15、21、24、27 和 30 ℃ 温度下培养产生的

毒素对大蒜根生长有不同程度的抑制，但抑制率均极显著低于 18℃ 产毒培养（ $P < 0.01$ ）。由此可见，适宜产毒的培养温度范围是 12~18℃，其中在 18℃ 下产毒量最多，毒性最强。

2.4 pH对病菌产粗毒素的影响

由图 2 可见，病菌培养液 pH 对病菌产毒影响很大，培养基 pH 与粗毒素产量呈抛物线关系。培养基 pH 低于 5.0 时，粗毒素产量随着培养基 pH 升高而增加；培养基 pH 高于 5.0 时，粗毒素产量随着培养基 pH 升高而减少。pH 5.0~6.0 的培养基产毒量较大，根生长抑制率分别为 92.95% 和 90.15%。而 pH 10.0 时产毒最少，此时检测大蒜根生长抑制率仅为 40.13%。

方差分析表明 pH 5.0 时培养产生的毒素使大蒜根生长抑制率极显著高于其它处理（ $P < 0.01$ ），因而认为，在培养病菌时培养基 pH 为 5.0 对产毒最有利。

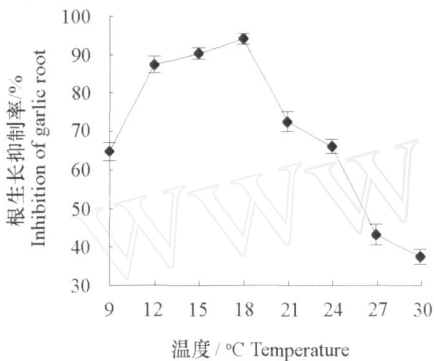


图 1 不同培养温度下病菌产生的粗毒素对大蒜根生长抑制率的影响

Fig. 1 Effect on inhibition of garlic root of crude toxin produced by the pathogen under different temperatures

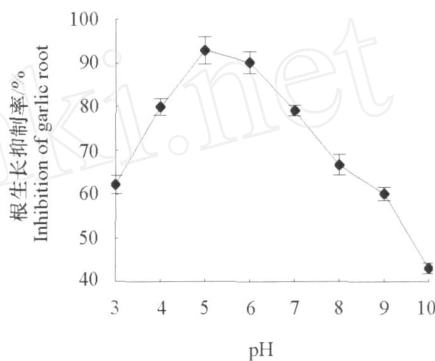


图 2 不同 pH 培养液培养病菌产生的粗毒素对大蒜根生长抑制率的影响

Fig. 2 Effect on inhibition of garlic root of crude toxin produced by the pathogen in different pH culture medium

2.5 光照条件和振荡培养方式对病菌产生粗毒素的影响

表 2 表明，24 h 黑暗 + 振荡条件下培养产生的毒素毒性最强，培养 6 d 后检测对大蒜根生长抑制率为 93.50%；而 12 h 光照 / 12 h 黑暗 + 静置条件下产生的毒素毒性最低，对大蒜根生长抑制率为 77.47%。24 h 光照 + 振荡、24 h 光照 + 静置、12 h 光照 / 12 h 黑暗 + 振荡和 24 h 黑暗 + 静置条件下产生的毒素对大蒜根生长抑制率分别为 86.23%、77.83%、88.67% 和 84.17%。说明振荡较静置有利于产毒，黑暗较光照有利于产毒。在连续黑暗和振荡条件下产生的毒素对大蒜根生长抑制率极显著高于其它处理（ $P < 0.01$ ）。由此可见，24 h 黑暗 + 振荡条件适合该病菌产毒。

表 2 不同光照及振荡条件下培养病菌产生的粗毒素对大蒜根生长抑制率的影响

Table 2 Effect on inhibition of garlic root of crude toxin produced by the pathogen in different lighting and shaking conditions

处理 Treatment	根系生长抑制率 / % Inhibition of garlic root
24 h 光照 + 振荡 24 h light + shaking	86.23 ± 1.08 cBC
24 h 光照 + 静置 24 h light + remaining static	77.83 ± 1.61 eD
12 h 光照 / 12 h 黑暗 + 振荡 12 h light / 12 h dark + shaking	88.67 ± 2.40 bB
12 h 光照 / 12 h 黑暗 + 静置 12 h light / 12 h dark + remaining static	77.47 ± 1.53 eD
24 h 黑暗 + 振荡 24 h dark + shaking	93.50 ± 3.19 aA
24 h 黑暗 + 静置 24 h dark + remaining static	84.17 ± 1.74 dC

### 3 讨论与小结

病原菌在人工培养基内产生毒素直接受培养基成分和外界环境条件的影响。国内外有许多这方面的研究报道。如 Zhang等 (1997) 在研究 *Pyrenophora tritici-repentis* 产生的 PTR 毒素时, 就采用了变温、变换光照及暗处理时间、更换培养基等多种手段来促使其产毒。

培养基直接影响病菌的产毒量。Miller (1983) 的研究表明, 禾谷镰刀菌可以在 MYROTT 和 MOSS 液体培养基中产生 DON 毒素, 而在马铃薯液体培养基中则不产生。改良 Richard 培养液适宜水稻纹枯病菌和立枯丝核菌产毒 (徐敬友等, 2004), 适宜大豆根腐病菌产毒的培养基是 PSC (台莲梅和许艳丽, 2004)。

环境因素方面, Pathre 和 Mirocha (1978) 认为低温 (12~15℃) 有利于禾谷镰刀菌产毒, Miller (1983) 认为 pH 7~8 时禾谷镰刀菌产生的毒素量最多。吴蔼民等 (1999) 报道, 不同培养时间的棉花黄萎病菌毒素产量相差很大, 培养 8 d 的产毒量仅为培养 14 d 的 1/3。万佐玺等 (2001) 确定了有利于链格孢菌产毒的温度为 25℃, pH 值为 4.13, 培养时间为 5~7 d。黑暗及静置等培养条件。而适宜晚疫病粗毒素培养条件为, 温度 20~22℃, pH 6.0~7.0, 黑暗条件振荡培养 (邢宇俊和程智慧, 2006)。可见适宜的培养条件对毒素高产有很大作用。

本研究从田间发病的典型病株分离出白腐病菌, 回接鉴定表明病菌具有正常的致病性, 大蒜白腐病菌可产生有致病力的粗毒素, 粗毒素能引起大蒜白腐病症状。进一步研究大蒜白腐病菌的产毒条件, 结果如下:

(1) 培养基对大蒜白腐病菌的产毒影响很大, 在 PD、PS、Fries、Czapek-Dox、Richard 5 种液体培养基中, 以 Fries 培养基最适于产毒培养。

(2) 在 2~12 d 培养时间范围内, 病菌毒素毒力最强的培养时间是 6 d。原因可能是白腐病菌一般 6~7 d 形成菌核, 不再分泌毒素。

(3) 在 9~30℃ 的培养温度范围内, 适宜产毒的培养温度范围是 15~18℃, 其中在 18℃ 下产毒量最多, 毒性最强。

(4) 培养期培养液 pH 5.0~6.0 适合产毒, 最适 pH 值为 5.0。

(5) 在连续黑暗振荡培养条件下培养有利于该病菌产毒。

本研究证实了大蒜白腐病菌毒素的致病性, 明确了大蒜白腐病菌的产毒条件, 为毒素的纯化和进一步深入研究其理化特性、活性组分、致病机理及利用毒素进行抗病品种筛选提供了理论基础。

### References

- Dong Jin-gao, Zhu Ri-xi. 1992. Research status of mycotoxin bioassay - Bioassays on plant and tissue organ levels. Journal of Agricultural University of Hebei, 15 (4): 99 - 103. (in Chinese)
- 董金皋, 朱日希. 1992. 真菌毒素生物测定方法研究概况——植株和组织器官水平的生物测定. 河北农业大学学报, 15 (4): 99 - 103.
- Meleno-Vara J M, Prados-Ligerio A M, Basalote-Ureba M J. 2000. Comparison of physical, chemical and biological methods of controlling garlic white rot. European Journal of Plant Pathology, 106: 581 - 588.
- Miller J D. 1983. Production of deoxynivalenol and related compounds in liquid culture by *Fusarium graminearum*. Can J Microbiol, 29: 1171 - 1178.
- Pathre S V, Mirocha C J. 1978. Analysis of deoxynivalenol from culture of *Fusarium* species. Applied and Environmental Microbiology, 5: 992 - 994.
- Tai Lian-mei, Xu Yan-li. 2004. Factors affecting on growth and toxin production of *Fusarium oxysporum*. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 26 (4): 71 - 73. (in Chinese)
- 台莲梅, 许艳丽. 2004. 大豆根腐病菌 (*Fusarium oxysporum*) 毒素及其对大豆根部致病作用的研究. 中国油料作物学报, 26 (4): 71 - 73.

- Tong Yun-hui, Xu Jing-you, Yuan Su-ling 1997. Toxicity of culture filtrate of *Alternaria solani* and sensibility of different tomato varieties to the filtrate. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 13 (4): 250 - 251. (in Chinese)
- 童蕴慧, 徐敬友, 袁素玲. 1997. 番茄早疫病病菌培养滤液的毒性及不同品种对滤液的敏感性. *江苏农业学报*, 13 (4): 250 - 251.
- Wang Zhuan-jun, Zhong Cheng, Zhou Xian-yu 2004. Uncontaminated controlling of garlic white rot. *Northwest Horticulture*, (7): 15. (in Chinese)
- 王转军, 钟 诚, 周献昱. 2004. 大蒜白腐病无公害防治技术. *西北园艺*, (7): 15.
- Wan Zuo-xi, Qiang Sheng, Xu Shang-cheng, Shen Zhen-guo, Dong Yun-fa 2001. Culture conditions for production of phytotoxin by *Alternaria alternata* and plant range of toxicity. *Chinese Journal of Biological Control*, 17 (1): 10 - 15. (in Chinese)
- 万佐玺, 强 胜, 徐尚成, 沈振国, 董云发. 2001. 链格孢菌的产毒培养条件及其毒素的致病范围. *中国生物防治*, 17 (1): 10 - 15.
- Wu A imin, Xia Zheng-jun, Fu Zheng-qing, Gu Ben-kang 1999. Effects of different culture condition on the toxin production of *Verticillium dahliae* of cotton. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 15 (2): 96 - 99. (in Chinese)
- 吴蔼民, 夏正俊, 傅正擎, 顾本康. 1999. 培养条件对棉花黄萎病菌毒素产生的影响. *江苏农业学报*, 15 (2): 96 - 99.
- Xing Yu-jun, Cheng Zhi-hui 2006. The effects of culture conditions on production of *Phytophthora infestans* crude toxin. *Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry: Natural Science Edition*, 34 (3): 89 - 92. (in Chinese)
- 邢宇俊, 程智慧. 2006. 培养条件对马铃薯晚疫病病菌粗毒素产生的影响. *西北农林科技大学学报: 自然科学版*, 34 (3): 89 - 92.
- Xu Jing-you, Zhang Hua-dong, Zhang Hong, Tong Yun-hui, Xu Yan, Chen Xi-jun, Ji Zhao-lin 2004. Toxin produced by *Rhizoctonia solani* and its relationship with pathogenicity of the fungus. *Journal of Yangzhou University: Agriculture and Life Sciences Edition*, 25 (2): 61 - 64. (in Chinese)
- 徐敬友, 张华东, 张 红, 童蕴慧, 徐 艳, 陈夕军, 纪兆林. 2004. 立枯丝核菌毒素的产生及与致病力的关系. *扬州大学学报: 农业与生命科学版*, 25 (2): 61 - 64.
- Yoder O C. 1983. Use of pathogen-produced toxins in genetic engineering of plants and pathogens. *See Fef*, 88: 335 - 353.
- Yoder O C. 1990. Toxin in pathogenesis. *Ann Rev Phytopathol*, 18: 103 - 129.
- Zhang Gen-feng, Zhang Yi 2004. Control technology of garlic white rot. *Journal of Changjiang Vegetables*, (2): 31. (in Chinese)
- 张根峰, 张 翼. 2004. 大蒜白腐病的防治技术. *长江蔬菜*, (2): 31.
- Zhang H F, Leonard J Franci, James G Jordahl, Steven W Meinhardt 1997. Structural and physical properties of a *Necrosis-inducing* toxin from *Pyrenophora tritici-repentis*. *Phytopathol*, 87: 154 - 160.
- Zhao lei, Liang Cun-yuan, Zhang Tian-yu 2001. Researches of screening resistant mutants using pathogenic toxin. *Biotechnology*, 11 (3): 41 - 43. (in Chinese)
- 赵 蕾, 梁存元, 张天宇. 2001. 利用致病毒素筛选植物抗病突变体的研究进展. *生物技术*, 11 (3): 41 - 43.
- Zhao Ming-min, Liu Zheng-ping, Huo Xiu-wen 2006. Research on *in vitro* screening of resistant mutants of eggplant to *Verticillium dahliae* with fungi toxin. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 21 (1): 92 - 95. (in Chinese)
- 赵明敏, 刘正坪, 霍秀文. 2006. 利用病原真菌毒素离体筛选茄子抗黄萎病突变体的研究. *华北农学报*, 21 (1): 92 - 95.
- Zuo Yu-hu, Kang Zhen-sheng, Li Zhen-qi, Wei Guo-rong 1996. Selection of toxin-promoted media and determination of culture conditions for *Gerlachia nivalis*. *Acta Univ Agric Boreali-occidentalis*, 24 (4): 6 - 9. (in Chinese)
- 左豫虎, 康振生, 李振岐, 魏国荣. 1996. 雪腐格氏霉产毒培养基的筛选及培养条件. *西北农业大学学报*, 24 (4): 6 - 9.