

## 灰黄霉素对尖孢镰刀菌抑制作用的研究

刘芸<sup>1,2</sup>, 朱育菁<sup>1,2</sup>, 陈清西<sup>3</sup>, 李智聪<sup>3</sup>, 胡桂萍<sup>2</sup>, 于晓杰<sup>3</sup>, 刘波<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>福建省农业科学院生物技术研究所, 福州 350003; <sup>2</sup>福建省农业科学院农业生物资源研究所, 福州 350003;

<sup>3</sup>厦门大学生命科学学院, 福建厦门 361005)

**摘要:**为进一步扩展灰黄霉素的农业应用范畴,选择采自甜瓜、黄瓜、西瓜、苦瓜、辣椒和西红柿的不同专化型的10株致病性尖孢镰刀菌作为试验对象,系统研究了灰黄霉素对尖孢镰刀菌的抑制作用。分别采用抑菌圈法和抑菌率法,测定灰黄霉素对不同寄主来源的尖孢镰刀菌的抑制作用,并显微观察灰黄霉素对尖孢镰刀菌菌丝生长的影响。结果表明,灰黄霉素对不同寄主来源的尖孢镰刀菌具有良好的广谱抑制作用,但对不同菌株抑制效果差异显著,其抑制中浓度IC<sub>50</sub>为0.42~2.81 mM。尖孢镰刀菌经4 mM灰黄霉素处理后,菌丝变得稀疏、畸形、膨大、扭曲,从而影响其生长。因此,灰黄霉素可用于开发防治作物枯萎病的新型生物农药。

**关键词:**灰黄霉素;尖孢镰刀菌;枯萎病

中图分类号:S4

文献标志码:A

论文编号:2011-1840

### The Study on Antifungal Activity of Griseofulvin Against *Fusarium oxysporum*

Liu Yun<sup>1,2</sup>, Zhu Yujing<sup>1,2</sup>, Chen Qingxi<sup>3</sup>, Li Zhongcong<sup>3</sup>, Hu Guiping<sup>2</sup>, Yu Xiaojie<sup>3</sup>, Liu Bo<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>Biotechnology Research Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350003;

<sup>2</sup>Agricultural Bioresource Research Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350003;

<sup>3</sup>College of Life Science, Xiamen University, Xiamen Fujian 361005)

**Abstract:** The antifungal activities of griseofulvin against 10 isolates of *Fusarium oxysporum*, pathogen of crop *Fusarium* wilt disease were investigated with an aim to extend the application of griseofulvin for controlling the disease. The antifungal activities were determined in a set of inhibition ratio and inhibition ring tests with the ten isolations of *F. oxysporum* as indicators, which were isolated from oriental melon, cucumber, water melon, pepper and tomato. The effect of griseofulvin on the growth of the isolations was observed under microscopes. The results revealed that 10 isolations presented significantly different but high sensibility to griseofulvin. The half-inhibitory concentration (IC<sub>50</sub>) values of griseofulvin against the fungi were calculated as 0.42–2.81 mM. Treated with 4 mM griseofulvin, *F. oxysporum* was found to be induced degenerative changes of hyphal morphology. The study indicated that griseofulvin might be a new promising biological agent or a lead compound for novel antifungal agent for controlling *Fusarium* wilt disease.

**Key words:** griseofulvin; *Fusarium oxysporum*; blight

### 0 引言

尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum* Schl.)是一种世

界性分布的土传病原真菌<sup>[1]</sup>,寄主范围广泛,可引起西瓜、香蕉、番茄等100多种植物发生毁灭性的枯萎病<sup>[2]</sup>,

**基金项目:**福建省自然科学基金“灰黄霉素的耦合修饰及其对植物重要真菌病害”(2007J0058)。

**第一作者简介:**刘芸,女,1976年出生,福建福州人,助理研究员,硕士,长期从事害虫综合治理、生物农药、生物防治的研究。通信地址:350003 福州市五四路247号,福建省农业科学院农业生物资源研究所, Tel: 0591-87882571, E-mail: cloundly@yahoo.com.cn。朱育菁,女,1972年出生,研究员,博士,从事农业生物技术研究。通信地址:350003 福州市五四路247号,福建省农业科学院农业生物资源研究所, Tel: 0591-87882571, E-mail: zyjingfz@163.com。

**通讯作者:**刘波,男,1957年生,福建惠安人,研究员,博士,主要从事生物技术和生物防治研究。通信地址:350003 福州市五四路247号,福建省农业科学院, Tel: 0591-87882571, E-mail: liubofaas@163.com。

**收稿日期:**2011-06-24, **修回日期:**2011-10-25。

已严重限制着中国作物的生产发展。和其他植物病原菌一样,尖孢镰刀菌致病菌株对不同作物及同一作物的不同品种表现出致病性差异,具有高度的寄主专化性,已报道的专化型和小种至少有120多个<sup>[3]</sup>。由于病原菌的多样性和变异性,生产上尚缺乏有效的化学防治手段和抗病品种,并且高浓度的化学农药易造成环境污染、农药残留等问题<sup>[4]</sup>。农用抗生素作为生物农药的一个重要分支,是随着医用抗生素的发展而发展起来的。它具有高效、低毒、无残留等优点,日益受到人们的重视<sup>[5]</sup>。中国已开发的井冈霉素、放线菌酮与庆丰霉素等农用抗生素对某些植物真菌性病害显示出良好的防治效果,在生产上广泛应用<sup>[6-7]</sup>。因此,研究开发针对尖孢镰刀菌的抗生素防治植物枯萎病是一个值得探索的课题。

灰黄霉素是由Oxford等从灰黄青霉(*Penicillium griseofulvin*)培养液中得到的一种含氯代谢产物,分子式为 $C_{17}H_{17}ClO_6$ ,分子量为352.77,为白色或类白色结晶性粉末<sup>[8]</sup>。它属非多烯类的抗真菌抗生素,自1958年开始用于临床医学以来,已广泛应用于治疗皮肤和角质层真菌感染,对红色发癣菌、断发癣菌和疏毛发癣菌等具有强烈的抑制作用<sup>[9]</sup>。随着对灰黄霉素代谢机制的深入研究,它的应用范围现已逐步扩大到畜牧业、水产,用于防治动物真菌性病害<sup>[10]</sup>。在防治植物真菌性病害方面,苏明星等<sup>[11]</sup>的初步研究表明,灰黄霉素对甜瓜枯萎病原尖孢镰刀菌和豇豆枯萎病原尖孢镰刀菌的生长有明显的抑制作用。

由于植物病原菌的不同专化型可能对杀菌剂表现出不同的敏感性,本研究选择采自甜瓜、黄瓜、西瓜、苦瓜、辣椒和番茄的不同专化型的10株致病性尖孢镰刀菌作为试验对象,系统研究了灰黄霉素对尖孢镰刀菌的抑制作用,为进一步扩展灰黄霉素的农业应用范畴,实现植物真菌性病害的防治提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验时间、地点

室内试验于2010年在福建省农业科学院农业生物资源研究所试验室进行。

### 1.2 供试材料

供试菌株见表1,分别为福建省甜瓜、黄瓜、西瓜、苦瓜、辣椒和番茄发病植株分离到的尖孢镰刀菌。灰黄霉素(CAS:126-07-8,99.9%)购自上海新华制药有限公司。尖孢镰刀菌的培养基为马铃薯葡萄糖培养基(PDA)。用无菌水将PDA平板上培养7天的各供试尖孢镰刀菌菌落刮下后制成孢子悬浮液,用无菌水稀释至 $1 \times 10^7$  cfu/mL,备用。

### 1.3 抑菌圈法测定灰黄霉素对尖孢镰刀菌的抑制作用

采用杯碟法<sup>[12]</sup>。将灰黄霉素用二甲基亚砜(Dimethyl sulfoxide,简称DMSO)分别稀释成0、4、8、16 mM,备用。取15 mL灭菌后的PDA培养基置于9 cm培养皿中,作为下层培养基。将10 mL含有 $10^5$  cfu/mL尖孢镰刀菌的PDA培养基均匀覆盖在冷却后的下层PDA培养基上,静置冷却1 h。而后在每块平板上放置4个牛津杯(直径0.6 cm,高1.0 cm),用无菌移液枪头分别向每个牛津杯内加入100  $\mu$ L各浓度灰黄霉素,水平放置直到药液完全渗透到培养基中。将处理后的平板置于 $(28 \pm 1)^\circ\text{C}$ 培养箱中,每个处理3次重复,以DMSO为对照。培养3天后,用“十”字形法测量抑菌圈直径。

### 1.4 抑菌率法测定灰黄霉素对尖孢镰刀菌的抑制作用

将灰黄霉素用DMSO分别稀释成0.25、0.5、1、2、4 mM,备用。接种前将各浓度灰黄霉素分别喷施于PDA平板培养基上,在无菌操作台内抽风干燥2 h。而后,在培养皿正中央接种100  $\mu$ L尖孢镰刀菌孢子悬浮液( $1 \times 10^5$  cfu/mL)。将处理后的平板置于在 $(28 \pm 1)^\circ\text{C}$ 培养箱中,每个处理3次重复,以DMSO为对照。培养7天后,对照组菌丝完全覆盖平板时,测定抑菌率(Inhibition rate)。

$$\text{抑菌率} = \frac{D_c - D_t}{D_c} \times 100\%$$

$D_c$ 代表对照的菌落直径, $D_t$ 代表经不同浓度灰黄霉素处理的菌落直径。

### 1.5 灰黄霉素对尖孢镰刀菌菌丝生长的影响

取15 mL灭菌后的PDA培养基置于9 cm培养皿中,作为下层培养基。将10 mL含有 $10^5$  cfu/mL尖孢镰刀菌的PDA培养基均匀覆盖在冷却后的下层PDA培养基上,静置冷却1 h。而后在每块平板上放置2个牛津杯,分别加入100  $\mu$ L用DMSO稀释的灰黄霉素(4 mM)和DMSO,水平放置直到药液完全渗透到培养基中。将处理后的平板置于在 $(28 \pm 1)^\circ\text{C}$ 培养箱中,每个处理3次重复。培养3天后,收集抑菌圈周边的菌丝,置于倒置显微镜(Leica DMI 3000 M)下观察菌丝形态,研究灰黄霉素对尖孢镰刀菌菌丝生长的影响。

## 2 结果与分析

### 2.1 抑菌圈法测定灰黄霉素对尖孢镰刀菌的抑制作用

在抑菌圈试验中,灰黄霉素对来自不同寄主的尖孢镰刀菌均表现出良好的抑制作用,但不同尖孢镰刀菌菌株对灰黄霉素的敏感性存在显著性差异(表1)。灰黄霉素对甜瓜专化型的FJAT-129和FJAT-130、黄瓜专化型的FJAT-3007、香蕉专化型的FJAT-3071和

FJAT-3076的抑制作用优于其他菌株。如灰黄霉素浓度为 $4 \times 10^{-6}$  mM时,对黄瓜专化型FJAT-3007和香蕉专化型FJAT-3071的抑菌圈直径分别为23.6 mm(图1)和22.9 mm(图2)。

2.2 抑菌率法测定灰黄霉素对尖孢镰刀菌的抑制作用  
用菌落生长速率法测定了灰黄霉素对10种尖孢镰刀菌的抑制率,试验结果见表2。处理7天后,灰黄霉素对所有供试的病原菌表现出广谱的抑制作用,对

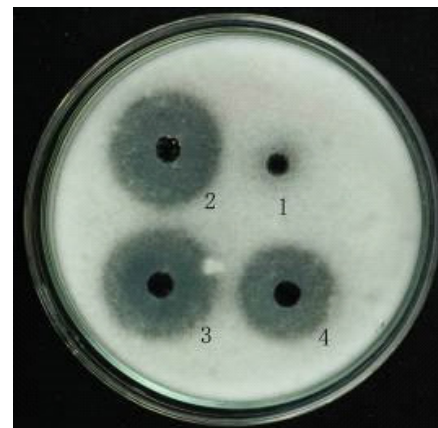
表1 灰黄霉素对尖孢镰刀菌的抑制效果

菌株编号	寄主	专化型	灰黄霉素/mM			
			0	4	8	16
FJAT-129	甜瓜	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>melonis</i>	-	++	+++	+++
FJAT-130	甜瓜	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>melonis</i>	-	++	+++	+++
FJAT-137	西瓜	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>niveum</i>	-	+	++	+++
FJAT-3006	黄瓜	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cucumerinum</i>	-	+	++	+++
FJAT-3007	黄瓜	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cucumerinum</i>	-	++	+++	+++
FJAT-3017	苦瓜	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>momordica</i>	-	+	++	+++
FJAT-3071	香蕉	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i>	-	++	+++	+++
FJAT-3076	香蕉	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i>	-	++	+++	+++
FJAT-9082	辣椒	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>vasinfectum</i>	-	+	++	+++
FJAT-9206	西红柿	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	-	+	++	++

注:以溶剂二甲基亚砷作为阴性对照。+++ ,抑菌圈直径大于24 mm; ++, 抑菌圈直径大于20 mm小于24 mm; +, 抑菌圈直径大于16 mm小于20 mm; -, 无抑制效果。



1、2、3、4 分别表示灰黄霉素浓度为0、4、8、16 mM  
图1 灰黄霉素对尖孢镰刀菌 FJAT-3007 的抑菌效果



1、2、3、4 分别表示灰黄霉素浓度为0、4、8、16 mM  
图2 灰黄霉素对尖孢镰刀菌 FJAT-3071 的抑菌效果

表2 不同浓度灰黄霉素对尖孢镰刀菌生长的抑制率

菌株编号	专化型	灰黄霉素的浓度/mM					IC <sub>50</sub> /mM
		0.25	0.5	1	2	4	
FJAT-129	f. sp. <i>melonis</i>	9.5±2.4f	21.4±3.1g	36.7±0.6e	49.1±2.7cd	55.7±3.0c	2.40 b
FJAT-130	f. sp. <i>melonis</i>	20.7±6.0cd	30.8±1.9e	42.4±2.6d	51.6±4.0c	55.5±4.7c	2.12 b
FJAT-137	f. sp. <i>niveum</i>	14.3±1.8ef	27.6±2.6ef	35.9±1.0e	44.8±3.0de	56.4±2.6c	2.58 b
FJAT-3006	f. sp. <i>cucumerinum</i>	11.5±3.1f	23.9±4.2fg	29.8±1.8f	41.9±2.1e	57.6±4.7c	2.81 b
FJAT-3007	f. sp. <i>cucumerinum</i>	17.5±2.9de	54.5±1.9a	70.8±2.9c	73.9±2.1a	77.1±2.4a	0.67 a
FJAT-3017	f. sp. <i>momordica</i>	32.8±2.7b	43.6±1.8b	53.0±2.2c	61.4±4.6b	69.7±2.7b	0.85 a
FJAT-3071	f. sp. <i>cubense</i>	23.6±4.9c	37.6±2.1cd	54.3±3.2d	62.2±1.3b	71.0±5.0b	1.03 a
FJAT-3076	f. sp. <i>cubense</i>	29.6±0.9b	35.7±4.2d	46.6±5.9	61.1±3.2b	66.6±1.6b	1.16 a
FJAT-9082	f. sp. <i>vasinfectum</i>	18.7±0.8cde	42.1±2.2bc	52.8±3.6c	62.0±1.1b	66.8±2.8b	1.13 a
FJAT-9206	f. sp. <i>lycopersici</i>	43.2±3.5a	52.4±1.4a	60.2±1.8b	65.2±1.7b	67.8±0.1b	0.42 a

注:同列数据后标有不同小写字母,者表示差异显著(Duncan's,  $P < 5\%$ )。



菌丝生长的抑制作用与其浓度呈正相关(图3)。当浓度为0.25 mM时,灰黄霉素的抑制率为9.5%~43.2%;当浓度为4 mM时,抑制率为55.5%~77.1%,并且灰黄霉素对不同寄主来源的尖孢镰刀菌的抑制效果存在显著性差异( $P<0.05$ )。通过抑制中浓度( $IC_{50}$ )的计算,表明灰黄霉素对不同尖孢镰刀菌的抑制中浓度 $IC_{50}$ 为0.42~2.81 mM;其中,灰黄霉素对西红柿专化型的FJAT-9206、黄瓜专化型FJAT-3007和苦瓜专化型的FJAT-3017的抑制效果最好, $IC_{50}$ 低于1 mM。

### 2.3 灰黄霉素对尖孢镰刀菌菌丝形态的影响

利用倒置显微镜观察了经灰黄霉素处理的尖孢镰刀菌菌丝形态的变化,初步研究灰黄霉素的抑菌机理,结果见图4。在DMSO处理的对照中,供试菌株的菌丝形态皆为纤细、均匀细长、表面平滑。而经4 mM灰黄霉素处理后,不同寄主来源尖孢镰刀菌的菌丝均变得稀疏、畸形、膨大、扭曲。

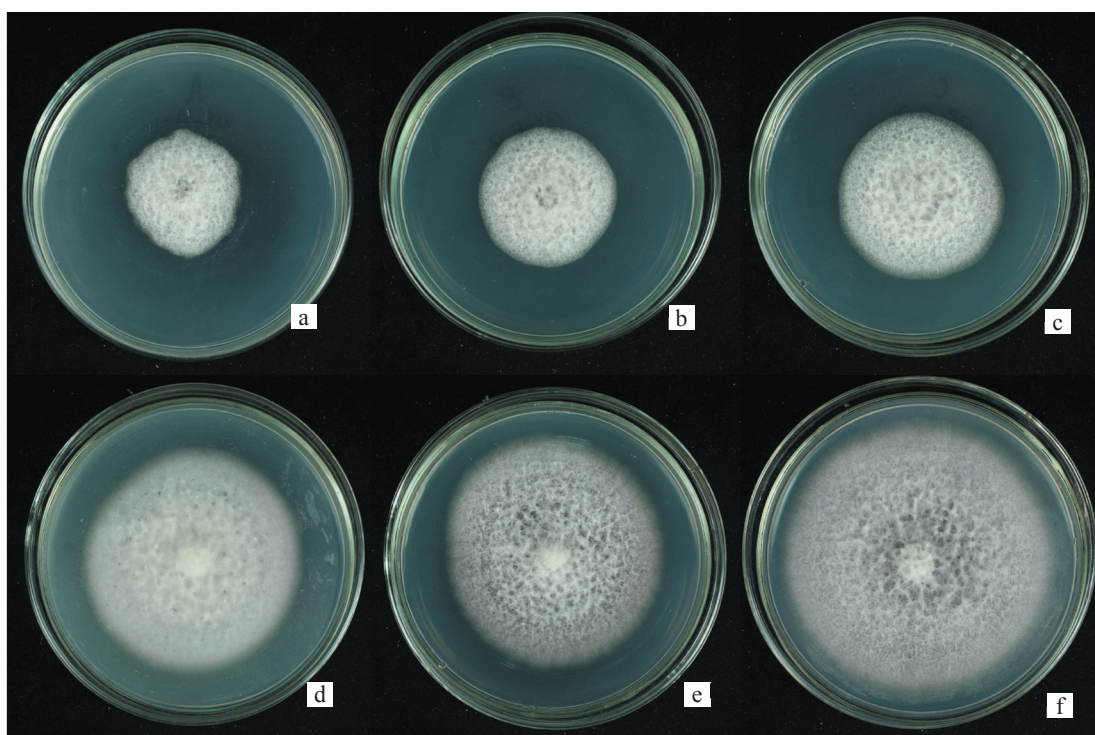
### 3 结论与讨论

农用抗生素指由微生物发酵过程中产生的次生代谢产物,在低浓度时可抵制或杀灭作物的病、虫、草害及调节作物生长发育<sup>[13-15]</sup>。农用抗生素的研究主要从以下3个方面着手:(1)大量筛选新的化合物;(2)重点改造一些医用抗性素的结构,以增加用途或提高药效;(3)加强老品种的再开发,以拓宽其用途<sup>[5,15]</sup>。灰黄霉素早期作为一种有效的医用抗生素治疗皮肤癣菌属引

起的感染。其作用机理是由于灰黄霉素的结构与鸟嘌呤相似,能竞争性抑制鸟嘌呤进入DNA分子中,干扰真菌DNA合成而抑制真菌的生长;并且它与微管蛋白结合,阻止真菌细胞分裂<sup>[9]</sup>。近年来的研究发现,将灰黄霉素作为农业抗生素应用于农业植物保护方面有着巨大的潜力。

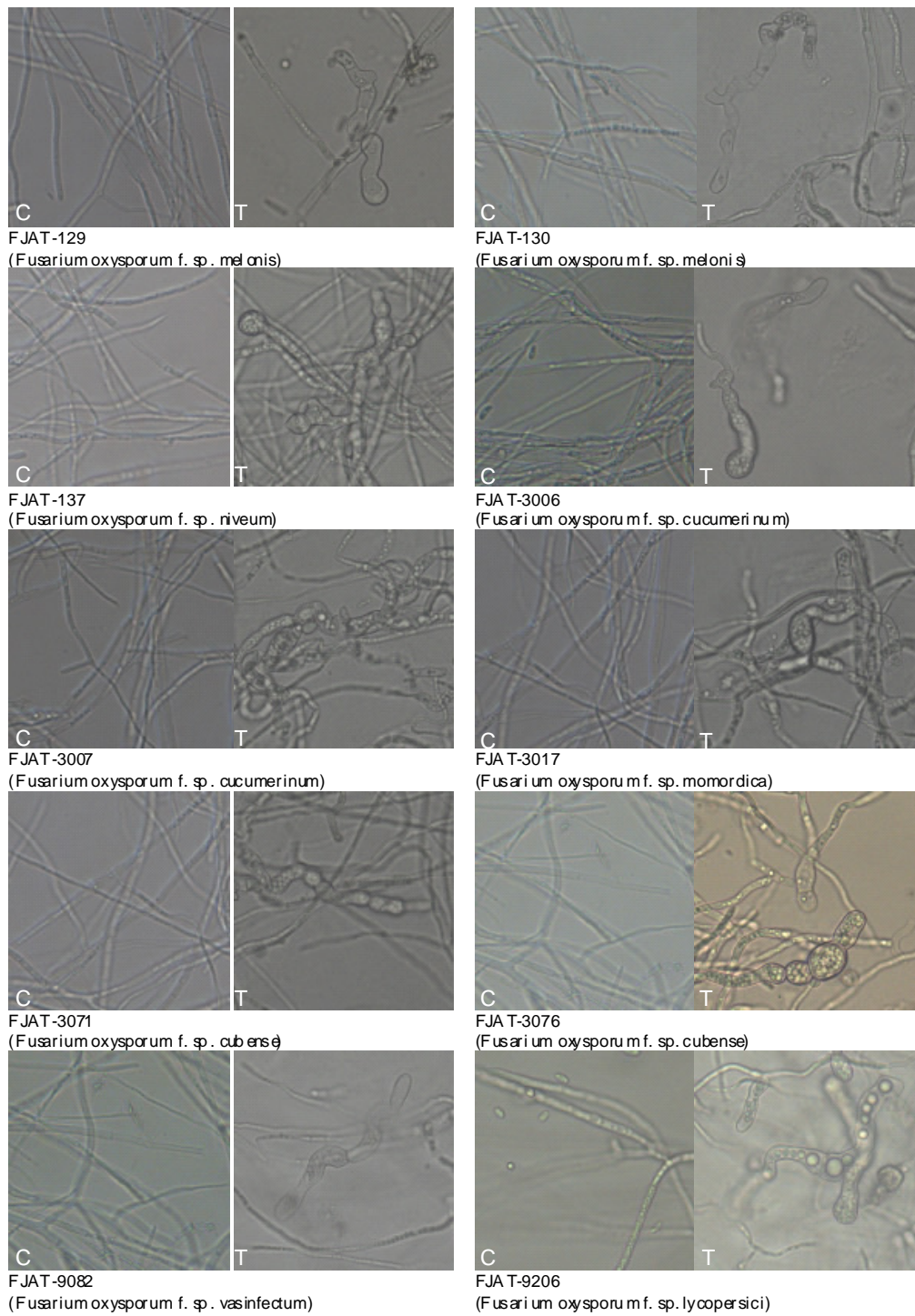
本研究测定了灰黄霉素对甜瓜、黄瓜、西瓜、辣椒等来源尖孢镰刀菌的抑制作用,表明灰黄霉素对尖孢镰刀菌表现出广谱抑制作用。但是,对不同寄主来源的尖孢镰刀菌,灰黄霉素的抑制作用存在显著差异。葛慈斌等<sup>[4]</sup>从土壤中分离得到的芽孢杆菌JK2菌株,陈雪丽等<sup>[16]</sup>从大豆根际分离的多粘类芽孢杆菌BRF-1和枯草芽孢杆菌BRF-2对不同枯萎病的尖孢镰刀菌的抑制作用同样也存在显著差异,这可能是由于尖孢镰刀菌存在着遗传多态性,具有高度的寄主专化性,使得种内菌株形态、生理和病理等方面存在着多变性和复杂性<sup>[3]</sup>。

同时,利用倒置显微镜对灰黄霉素抑菌机理的初步研究发现其对尖孢镰刀菌菌丝具有显著的致畸作用,可能是这种畸变作用造成了尖孢镰刀菌菌丝失活,影响了尖孢镰刀菌的生长。刘建国等<sup>[17]</sup>用电镜观察到经APS处理后的菌丝发生顶端膨大,分支缩短等异常形态变化。APS是一种由蜡状芽孢杆菌产生的新型抗真菌环状多肽,也是农用抗生素中的一种,具有广谱抗菌性,对棉花枯萎病等多种病原真菌具有强烈的抑制



平板a~e中灰黄霉素浓度分别为0.25、0.5、1、2、4 mM。平板f是溶剂DMSO对照

图3 灰黄霉素对尖孢镰刀菌甜瓜专化型FJAT-129生长的影响



C 为 DMSO 处理对照, T 为经灰黄霉素(4 mM)处理后的菌丝生长情况  
 图4 灰黄霉素对 10 种尖孢镰刀菌菌丝生长的影响

作用。孔建等<sup>[18-19]</sup>的研究同样发现, 枯草芽孢杆菌抗菌物质可使镰刀菌孢子和菌丝畸形, 细胞崩解, 内含物外泄, 从而使病菌丧失对植物的侵染能力。而蒋细良等<sup>[20]</sup>的研究发现, 农用抗生素农抗 120 对西瓜枯萎病菌病菌的孢子萌发和菌丝的形态无明显影响, 只是通过抑制病菌孢子形成和菌丝生长而起到防治病害的作用。

农用抗生素长期以来由于成本和性能问题, 一直

发展缓慢。随着人类对生态环境和食品安全的日益重视, 加上现代微生物工业化生产技术的日趋完善, 农用抗生素的研究开发已引起广泛重视。而灰黄霉素突破了农用抗生素高成本的瓶颈, 中国吴松刚教授于 1973 年分离到灰黄霉素产生菌(*Penicillium Patulum*)野生菌株, 并通过在发酵培养基中提高氯化物浓度, 将含氯灰黄霉素的发酵效价提高了 34.5%, 大大降低生产成



本<sup>[21]</sup>。现今中国已成为世界上最大、唯一的灰黄霉素出口国。因此,开发应用灰黄霉素作为防治作物枯萎病的新型农用抗生素有着良好的发展前景。

### 参考文献

- [1] Correll J C. The relationship between formae speciales, races, and vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum*[J]. *Phytopathology*, 1991, 81: 1061-1064.
- [2] Booth C. The Genus *Fusarium*[M]. Kew. Surrey, England: Commonwealth Mycological Institute Press, 1971.
- [3] 王政逸,李德葆. 尖孢镰刀菌的遗传多态性[J]. *植物病理学报*, 2000, 30(3): 193-199.
- [4] 葛慈斌,刘波,蓝江林,等. 生防菌 JK-2 对尖孢镰刀菌抑制特性的研究[J]. *福建农业学报*, 2009, 24(1): 29-34.
- [5] 朱昌雄,宋渊. 中国农用抗生素的现状与发展趋势探讨[J]. *中国农业科技导报*, 2006, 8(6): 17-19.
- [6] 邱德文. 中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.
- [7] 朱育菁,于晓杰,潘志针,等. 灰黄霉素的研究进展[J]. *厦门大学学报:自然科学版*, 2010, 49(3): 435-439.
- [8] Fausther M, Villeneuve L, Cadrin M. Heat shock protein 70 expression, keratin phosphorylation and Mallory body formation in hepatocytes from griseofulvin-intoxicated mice[J]. *Comparative Hepatology*, 2004, 3: 5.
- [9] Finkelstein E, Amichai B, Grunwald M H. Criseofulvin and its uses [J]. *Int J Antimicrob Ag*, 1996, 6: 189-194.
- [10] 李国勤,孙仁寅. 抗动物皮癣与螨虫病联合缓释剂研制与应用[J]. *浙江农业学报*, 2002, 14(1): 24-27.
- [11] 苏明星,朱育菁,刘波,等. 生物杀菌剂“松刚霉素”对枯萎病原菌抵制作用的研究[J]. *武夷科学*, 2004, 20: 8-12.
- [12] 温志强,林太礼,廖朝阳. 三种杀菌剂对木霉菌及食用菌的毒力测定[J]. *福建农业大学学报*, 2001, 30(1): 48-52.
- [13] 李勇,杨慧敏,李铭刚,等. 微生物农药的研究和应用进展[J]. *贵州农业科学*, 2003, 31(2): 62-63.
- [14] 魏海燕,蔡磊明,赵玉艳,等. 中国微生物农药的应用现状[J]. *干旱环境监测*, 2008, 22(4): 236-242.
- [15] 杨丽荣,全鑫,刘玉霞,等. 农用微生物杀菌剂研究进展[J]. *河南农业科学*, 2009(9): 131-134.
- [16] 陈雪丽,王光华,金剑,等. 多粘类芽孢杆菌 BRF-1 和枯草芽孢杆菌 BRF-2 对黄瓜和番茄枯萎病的防治效果[J]. *中国生态学学报*, 2008, 16(2): 446-450.
- [17] 刘建国,丛威,欧阳藩,等. 新型抗真菌多肽 APS 的抑菌性能研究[J]. *中国生物防治*, 1999, 15(3): 108-110.
- [18] 孔建,赵白鸽,王文夕. 枯草芽孢杆菌物质对镰刀菌抑制机理的镜下研究[J]. *植物病理学报*, 1998, 28(4): 337-340.
- [19] 孔建,王文夕. 枯草芽孢杆菌 B-903 菌株的研究 I 对植物病原菌的抵制作用和防治[J]. *中国生物防治*, 1999, 15(4): 157-161.
- [20] 蒋细良,朱昌雄,谢德龄,等. 农抗 120 防治西瓜枯萎病的机制[J]. *植物保护学报*, 1998, 25(4): 351-354.
- [21] 沈育芬,吴松刚. 灰黄霉素产生菌耐前体变株 F-1012 的选育及其发酵特性[J]. *亚热带植物通讯*, 1994, 23(2): 19-25.