

竹焦油对植物病原真菌的抑制作用

江茂生¹ 许文耀² 林 炜¹ 郑新宇¹ 黄 彪³ 陈礼辉³

(1. 福建农林大学生命科学学院 福建 350002 ; 2. 福建农林大学植物保护学院 福州 350002 ;
3. 福建农林大学材料工程学院 福州 350002)

摘 要 : 测定竹焦油对 14 种植物病原真菌的抑制效果 , 研究竹焦油对水稻纹枯病菌的抑制作用 , 用 GC/MS 法分离鉴定竹焦油的主要成分。结果表明 : 竹焦油对供试菌的菌丝生长、孢子萌发均有不同程度的抑制效果 , 其中对十字花科蔬菜菌核病菌与水稻纹枯病菌的菌丝生长、稻瘟病菌的孢子萌发有较强的抑制作用。竹焦油具有使水稻纹枯病菌的菌丝形态异常、氧呼吸减弱的作用 , 对水稻纹枯病有一定的防治效果。成分分析结果显示 : 竹焦油中酚类物质相对含量高达 72.491%。

关键词 : 竹焦油 ; 植物病原真菌 ; 抑制作用 ; GC/MS 分析

中图分类号 : S763.11 文献标识码 : A 文章编号 : 1001 - 7488(2010)04 - 0093 - 05

Inhibition Activities of Bamboo-Based Tar against the Plant Pathogen Fungi

Jiang Maosheng¹ Xu Wenyaoyao² Lin Wei¹ Zheng Xinyu¹ Huang Biao³ Chen Lihui³

(1. College of Life Science , Fujian Agriculture and Forestry University Fuzhou 350002 ; 2. College of Plant Protection , Fujian Agriculture and Forestry University Fuzhou 350002 , 3. College of Material Engineering , Fujian Agriculture and Forestry University Fuzhou 350002)

Abstract : The inhibitory activities of bamboo (*Phyllostachys pubescens*) tar to 14 varieties of plant pathogen fungi were determined. The inhibitory effects of bamboo-based tar on *Rhizoctonia solani* were studied , and the main components of the bamboo tar were separated and identified by GC/MS analysis. The result showed that the bamboo-based tar had various inhibitory activities on mycelia growth and spore germination of the tested fungi , of which the inhibitory effects on mycelia growth of *Sclerotinia sclerotiorum* and *R. solani* , on spore germination of *Pyricularia grisea* were the best. The bamboo-based tar brought about the mycelia of *R. solani* deformation and its respiration decline , and had some control effect on rice sheath blight. The GC/ MS analysis showed that the relative content of phenolic compounds in the tar amounted to 72.491% .

Key words : bamboo-based tar ; plant pathogen fungi ; inhibition activities ; GC/MS analysis

我国的毛竹资源极为丰富 , 是最主要的林业支柱产业之一。近年来 , 通过热解处理制取竹炭和竹醋液及其高附加值化应用的研究逐渐成为热点(徐明等 2008) , 竹焦油作为毛竹热解的主要副产物 , 产量达 10% 左右 , 其中含有 2,6 - 二甲氧基苯酚、4 - 乙基苯酚、4 - 乙基 - 2 - 甲氧基苯酚等杂酚(钱华等 2006 ; 蒋建春等 2005) , 极具开发潜力。

酚类结构的有机物如苯酚、甲酚、水杨酸通常可以作为杀菌剂使用 , 一些植物中分离出的酚类物质如丁香酚、厚朴酚、麝香草酚、银杏酚(吴光旭等 , 2004)、丹皮酚(康业斌等 2007) 等因其优异的抑菌活性 , 已成为植物源杀菌剂开发的目标物质。孟昭礼(2004)、孟昭礼等(2007) 仿银杏酚合成了具有短侧链苯酚结构的杀菌剂银泰(1 - 对羟基苯基丁酮)

和绿帝(邻丙烯基苯酚) , 用于防治植物真菌性病害 , 由于该产品低毒、无“三致”作用、环境友好、田间药效好 , 已大面积推广使用。近期竹醋液的抑菌活性开始见诸报道。Mazela(2007) 研究了木焦油对木材的防腐性能 , 王文桥等(2005) 发现竹醋液对 6 种作物的 8 种病原真菌菌丝长有良好的抑制效果 , 并认为竹醋液在开发杀菌剂方面具有潜力。倪春耕(2006) 比较了竹醋和竹焦油的抑菌活性 , 发现竹焦油对菌丝生长的活性显著高于竹醋 , 但未明确竹焦油对孢子萌发的抑制作用、抑菌机制和抑菌成分。鉴于竹焦油的主要成分具有与“银泰”和“绿帝”相似的短侧链酚结构 , 探索其对植物病原真菌的抑制作用 , 可为将其进一步开发成新型高效的农用杀菌剂提供研究基础。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 竹焦油制备 控制一定条件热解毛竹粉,收集馏出物,从中分离出竹焦油,自制。用丙酮溶解、定容为 $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的竹焦油丙酮溶液,装于棕色瓶中密封保存。

移取 5 mL 竹焦油丙酮溶液于烧杯中,加入 10 mL 去离子水及 5 滴吐温-80,在 $90 \text{ }^\circ\text{C}$ 水浴下加热,使丙酮挥发并使竹焦油乳化,移入 50 mL 容量瓶中并用去离子水定容,配成浓度为 $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的竹焦油乳化液,置于冰箱中冷藏保存,供抑制孢子萌发和活体试验用。

1.1.2 供试病原真菌 香蕉枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*),棉花枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*),黄瓜枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*),香蕉炭疽病菌(*Colletotrichum musae*),辣椒炭疽病菌(*Colletotrichum capsici*),蕃茄灰霉病菌(*Botrytis cinerea*),荔枝霜霉病菌(*Peronophythora litchii*),水稻纹枯病菌(*Rhizoctonia solani*),辣椒疫霉病菌(*Phytophthora capsici*),白菜炭疽病菌(*Colletotrichum higginsianum*),花生白绢病菌(*Sclerotium rolfsii*),十字花科蔬菜菌核病菌(*Sclerotinia sclerotiorum*),十字花科蔬菜黑斑病菌(*Alternaria brassicae*),稻瘟病菌(*Pyricularia grisea*)。以上病原菌均由本实验室分离、保存。

1.2 试验方法

1.2.1 竹焦油对供试植物病原真菌的抑制活性

1) 竹焦油对菌丝生长的抑制作用测定 采用国家农业行业标准 NY/T 1156.2-2006 的带毒培养基法,测定 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的竹焦油对 14 种供试植物病原菌菌丝生长的抑制作用,从中筛选出敏感菌。测定时以加入等体积丙酮为对照,每处理重复 6 次。

2) 竹焦油对孢子萌发的抑制作用测定 供试植物病原菌孢子采用米糠培养基培养。待孢子成熟后,用无菌水配成孢子(或孢子囊)悬浮液,调整其浓度至显微镜观察视野下有 $30 \sim 40$ 个孢子(或孢子囊)。采用国家农业行业标准 NY/T 1156.3-2006 规定的凹玻片法,测定含药 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的孢子悬浮液中的孢子萌发(或孢子囊释放)抑制率。每处理重复 3 次。

1.2.2 竹焦油杀菌剂对水稻纹枯病菌的抑制作用及防治效果 1) 对菌丝生长的毒力 根据测定结果,选择水稻纹枯病菌作为靶标菌,按带毒培养基法进行毒力测定。测定时,设置 5 个处理浓度梯度

($0.0625 \sim 1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)。取 1 mL 设计浓度的竹焦油丙酮溶液至直径为 9 cm 的培养皿中,加入 10 mL 已溶化的 PSA 培养基,充分混匀,制成带药培养基,放置 3 天挥发去丙酮后接菌。以加入 1 mL 丙酮的 PSA 培养基为对照处理,每处理设置 6 重复。计算菌落生长抑制率。将菌落生长抑制率换算成抑制机率值(y),药剂浓度换算成浓度对数(x),用 Excel 软件求出浓度对数与机率值回归方程 $y = bx + a$,并计算出相关系数 r , EC_{50} , EC_{90} 。以 40% 井冈霉素母药(浙江桐庐汇丰生化有限公司提供)作为参照药剂。

2) 对菌丝作用的显微观察 挑取水稻纹枯病菌菌块置于用少量 PS 培养基润湿皿底的平皿中,培养 24 h 后,用无菌水洗去培养基,再加入 10 mL 含竹焦油 $0.637 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 PS 培养基,以加入含等量无菌水的 PS 培养基作对照,24 h 后用德国 Axioskop40 型显微镜观察菌丝的变化。

3) 竹焦油对菌丝氧呼吸的影响 采用自行改装的 Wasburg 微量气体呼吸仪(图 1)测定菌丝悬浮在含竹焦油 $0.637 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 PS 培养基中的氧呼吸速率(试验温度 301.0 K)。以数显微压差测定仪替代传统的 U 型压差计以提高数据的精确度。设置不含药的 PS 培养基为参照。

4) 防治效果测定 采用国家农业行业标准 NY/T1156.5-2006 推荐的蚕豆(*Vicia faba*)叶片法进行测定。取健壮的蚕豆植株,截取中上部枝条,将切口插于水中,以维持测定过程蚕豆叶片正常的生理功能。分别测定喷施 0.098 、 $0.637 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的竹焦油对水稻纹枯病的保护和治疗效果。每处理用 30 叶片,重复 4 次,以喷施清水为对照。处理后在 $28 \text{ }^\circ\text{C}$ 、相对湿度 100%、光:暗 = 12:12 的条件下培育。接菌 72 h 后调查病情,计算病情指数和相对防治效果。

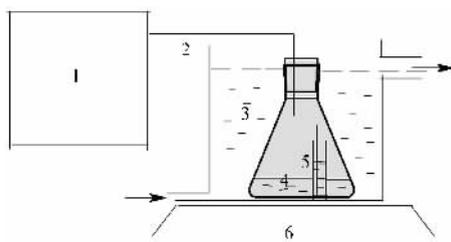


图 1 氧呼吸测定装置

Fig.1 Device of respiration determination

1. 微压差测定仪 Micro-pressure difference ; 2. 导气管 Gas catheter ; 3. 恒温水浴 Constant temperature bath ; 4. 菌丝液 Mycelium suspension ; 5. 10% NaOH(aq) ; 6. 磁力搅拌器 Magnetic stirrer.

1.2.3 所制竹焦油成分的 GC/MS 分析 仪器:气相色谱与质谱联用仪(Agilent Technologies 6890N/5973i),色谱柱:HP-5MS, $30 \text{ m} \times 0.25 \text{ mm} \times$

0.25 μm,石英毛细管柱;载气:氦气(纯度 > 99.999%);流速 0.9 mL·min⁻¹;分流比 10:1;进样口温度:260℃;进样量 1 μL;柱温 60℃(保持 3 min),以 6℃·min⁻¹程序升温至 260℃,再以 10℃·min⁻¹升至 280℃保持 30 min;溶剂延迟:3 min;色谱-质谱接口温度:290.0℃;扫描范围(m/z) 50~650 amu;电离能量:70 eV;离子源温度 200℃;四极杆温度:150℃。

2 结果与分析

2.1 竹焦油对供试病原真菌的抑制活性作用

2.1.1 竹焦油对菌丝生长的抑制作用 测定结果表明(表 1):在 0.5 mg·mL⁻¹竹焦油的作用下,所有供试菌的菌丝生长速率均受到一定的抑制,其中对十字花科蔬菜菌核病菌和水稻纹枯病菌的菌丝生长抑制率均大于 85%,抑制效果最佳;蕃茄灰霉病菌、香蕉炭疽病菌、荔枝霜霉病菌和辣椒疫霉病菌的菌丝生长抑制率在 60%~77%之间;对十字花科蔬菜黑斑病菌等其余 8 种供试菌的菌丝生长抑制率在 42.8%~50.6%之间。

2.1.2 竹焦油对孢子萌发的抑制作用 由表 1 可以看出:0.5 mg·mL⁻¹竹焦油对稻瘟病菌孢子萌发的抑制率可达 100%;对香蕉炭疽病菌等 8 种病菌的孢子萌发的抑制率在 71%以上。

从试验结果来看,除白菜黑斑病菌外,竹焦油对孢子萌发的抑制率均明显大于对菌丝生长的抑制率。孢子萌发是作物病害循环的起点,对孢子萌发的高抑制活性,尤其是对多循环病害(如稻瘟病菌)的孢子有强抑制活性,显示了竹焦油作为杀菌剂开发的良好前景。

2.2 竹焦油杀菌剂对水稻纹枯病菌的作用

2.2.1 竹焦油的毒力 随着药剂浓度的增加,菌落直径逐渐由大变小,抑菌率逐渐增大,且菌丝体由紧

表 1 竹焦油对供试菌的抑制效果^①

供试菌 Tested fungi	抑制率 Inhibitory ratio/%	
	菌丝生长 Mycelium growth	孢子萌发 Spores germination
十字花科蔬菜菌核病菌 <i>S. sclerotiorum</i>	85.7 A	—
水稻纹枯病菌 <i>R. solani</i>	85.2 A	—
蕃茄灰霉病菌 <i>B. cinerea</i>	76.7 B	84.7 B
香蕉炭疽病菌 <i>C. musae</i>	72.4 B	86.6 B
荔枝霜疫霉病菌 <i>P. litchii</i>	63.1 C	79.6 C
辣椒疫霉病菌 <i>P. capsici</i>	60.0 C	77.3 C
十字花科蔬菜黑斑病菌 <i>A. brassicae</i>	50.6 D	32.8 F
稻瘟病菌 <i>P. grisea</i>	50.5 D	100 A
花生白绢病菌 <i>S. rolfsii</i>	50.2 D	—
辣椒炭疽病菌 <i>C. capsici</i>	49.8 D	72.5 D
黄瓜枯萎病菌 <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cucumerinum</i>	48.2 D	71.0 D
香蕉枯萎病菌 <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i>	46.9 D	63.6 E
棉花枯萎病菌 <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>vasinfectum</i>	43.4 E	64.5 E
白菜炭疽病菌 <i>C. higginsianum</i>	42.8 E	76.7 C

① 同列数据后的不同大写字母表示极显著性差异(α=0.01)。Diffent capital letter indicate the significant difference (α=0.01)。

密逐渐变稀疏,菌丝逐渐出现了明显的凋萎。菌落由外缘向内逐渐枯萎而出现明显的黄化圈。毒力测定结果表明:竹焦油杀菌剂抑制水稻纹枯病菌丝生长的 EC₅₀,EC₉₀分别为 0.098,0.637 mg·mL⁻¹(y = 1.58x + 6.59, r = 0.9825),而井冈霉素的 EC₅₀,EC₉₀则分别为 0.347,2.969 mg·mL⁻¹(y = 1.46x + 5.59, r = 0.9813),说明竹焦油对水稻纹枯病菌的离体抑制效果明显高于井冈霉素。

2.2.2 对菌丝作用的显微观察 在含竹焦油 0.637 mg·mL⁻¹的 PS 培养液中处理 24 h 后,仅存少数气生菌丝,大部分菌丝体已经凋亡。对照菌丝细胞壁光滑,生长舒展,分枝节间较长;而加药菌丝形态产生明显变异,出现细胞壁粗糙、细胞膨大、生长末端钝圆、细胞内呈絮凝状变性等特征(图 2)。

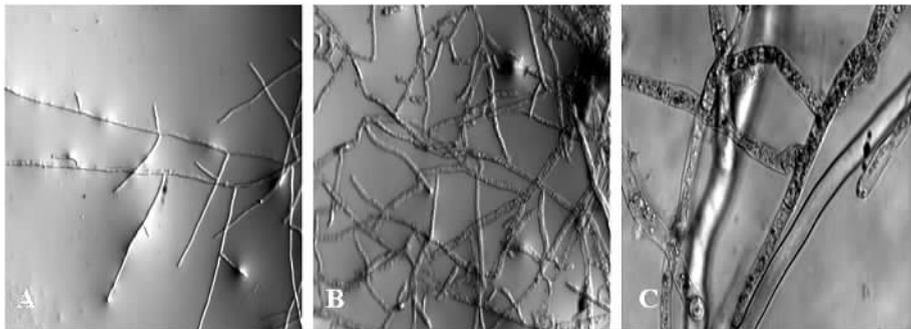


图 2 竹焦油处理后水稻纹枯病菌的形态

Fig. 2 Mycelia morphological characters after treated with bamboo-based tar

A:CK(×100);B:EC₅₀(×100);C:EC₉₀(×400)。

2.2.3 竹焦油对菌丝氧呼吸速率的影响 呼吸作用是细胞内能量转化的中心环节,它所释放的能量供应各种生命活动。由图 3 可以看出,竹焦油对菌丝的呼吸速率有明显的抑制作用, $0.637 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的竹焦油处理 120 min,菌丝的氧呼吸受抑制率达 48.89%。

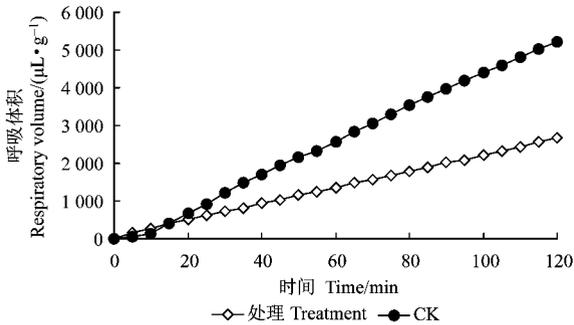


图 3 竹焦油对水稻纹枯菌呼吸强度的影响

Fig. 3 Effect of bamboo-based tar on *R. solani* in the hypha respiration

2.2.4 防治效果测定 对照处理的蚕豆叶片接种水稻纹枯病菌 72 h 后,叶面上出现大量褐色病斑,但喷施竹焦油再接种的蚕豆叶片仅出现零星小病斑,而接种发病后再喷施竹焦油,产生的纹枯病斑也明显比对照小。病情统计表明,竹焦油对水稻纹枯病有较好的防治作用, 0.098 、 $0.637 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的竹焦油 72 h 后的相对保护效果分别为 33.31%、51.18%,相对治疗效果分别为 22.34%、38.19% (表 2),显示了竹焦油不仅具有阻止水稻纹枯病菌

侵入而减少病斑数量的作用,而且能减缓病斑的扩增。

表 2 对水稻纹枯病菌活体防治效果

	CK	保护作用 Protection effect		治疗作用 Treatment effect	
		EC ₅₀	EC ₉₀	EC ₅₀	EC ₉₀
病情指数 Disease index	64.20	42.81	31.34	49.86	39.68
防治效果 Control effect/%	0	33.31	51.18	22.34	38.19

2.3 竹焦油成分的 GC/MS 分析结果

对本试验所用的竹焦油用 GC/MS 进行主要成分分析,获得的总离子色谱图中有近 40 个色谱峰(图 4)。将图中分离出的各组分提取质谱图,用 NIST 98 标准谱库检索和相关文献资料查阅,分别确认了 24 种成分。用气相色谱面积归一化定量法计算出各种成分的相对质量分数,其定性定量结果如表 3 所示。已定性的 24 种化合物的相对含量为 81.269%,其中酚类物质相对含量高达 72.491%,远高于文献值 43.63%(钱华等,2006)。酚类物质的杀菌活性可用酚系数来表示,在鉴定出的酚类物质中,苯酚、对甲苯酚、邻甲苯酚、邻甲氧基苯酚的酚系数分别为 1.5、2.5、1.66、1.46 有相近的酚系数,对乙基苯酚的活性则是苯酚的 5 倍(孙君社等,1996),而对苯二酚类对半镰刀菌的活性是苯酚的 30 多倍((张桂芝等,2004)。测定结果说明,本竹焦油检测样中不含醋酸、甲醇等竹醋中的固有的抑菌组分。

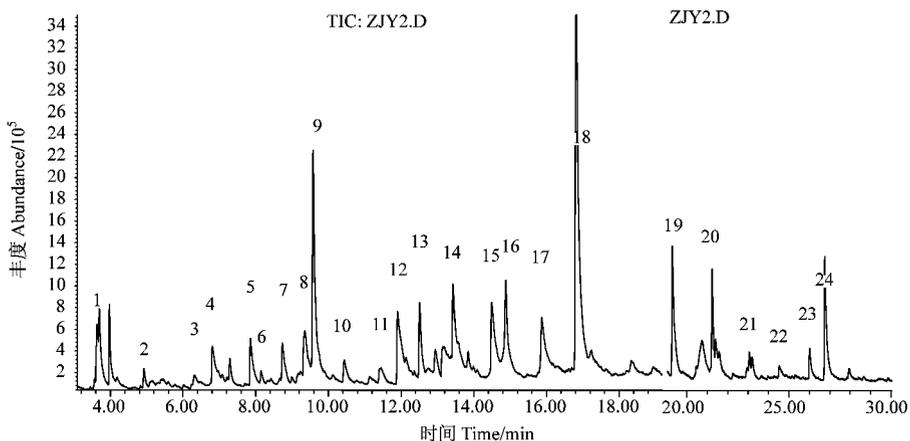


图 4 竹焦油的总离子色谱图

Fig. 4 GC/MS total ion chromatogram of bamboo-based tar

3 结论与讨论

1) 竹焦油对所有供试菌的菌丝生长和孢子萌发均有一定的抑制作用,是一种广谱杀菌剂,其中对

十字花科菌核病菌和水稻纹枯病菌的菌丝生长、稻瘟病菌的孢子萌发抑制效果较佳。

2) 竹焦油对水稻纹枯病菌的离体抑制效果明显高于井冈霉素,它具有使菌丝细胞壁粗糙、细胞膨

表 3 竹焦油的主要化学成分

Tab.3 Component analysis of bamboo-based tar by GC/MS

化合物名称 Chemical composition	相对含量 Percentage/%	化合物名称 Chemical composition	相对含量 Percentage/%
糠醛 Furfural	1.65	邻甲氧基 - 对甲苯酚 2-methoxy-4-methyl phenol	2.26
2 - 甲基 - 2 - 环戊烯酮 2-methyl-2-cyclopentenone	0.48	苯并二氢呋喃 Benzo-dihydrofuran	3.956
3 - 甲基 - 2 - 环戊烯酮 3-methyl-2-cyclopentenone	0.388	2 - 甲氧基 - 对苯二酚 2-methoxyhydroquinone	4.393
苯酚 Phenol	1.741	4 - 乙基 - 2 - 甲氧基苯酚 4-ethyl-2-methoxyphenol	4.865
3 - 甲基 - 1,2 - 环戊二酮 3-dimethyl-1,2-cyclopentenone	1.937	4 - 烯丙基 - 2 - 甲氧基苯酚 4-allyl-2-methoxyphenol	4.865
2,3 - 二甲基 - 2 - 环戊烯酮 2,3-dimethyl-2-cyclopentenone	0.367	2,6 - 二甲氧基苯酚 2,6-dimethoxyphenol	17.369
邻甲苯酚 m-methyl phenol	1.621	4 - 羟基 - 3 - 甲氧基苯甲酸 4-hydroxy-3-methoxy-benzoic acid	7.187
对甲苯酚 p-methyl phenol	2.421	2,6 - 二羟基 - 4 - 甲氧基苯乙酮 2,6-dihydroxy-4-methoxy-acetophenone	3.705
邻甲氧基苯酚 o-methoxy phenol	7.715	4 - 烯丙基 - 2,6 - 二甲氧基苯酚 4-allyl-2,6-dimethylphenol	0.974
3 - 乙基 - 2 - 羟基 - 2 - 环戊烯酮 3-ethyl-2-hydroxy-2-cyclopentenone	0.987	4 - 羟基 - 3,5 - 二甲氧基苯甲醛 4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzaldehyde	0.374
2,4 - 二甲基苯酚 2,4-dimethyl phenol	0.953	4 - 羟基 - 3,5 - 二甲氧基苯乙酮 4-hydroxy-3,5-dimethoxyacetophenone	1.315
对乙基苯酚 4-ethyl phenol	3.748	4 - 羟基 - 3,5 - 二甲氧基苯乙酸 4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenylacetic acid	5.998

大、生长末端钝圆,细胞质产生絮凝的作用,能抑制菌丝生长的氧呼吸速率,活体试验中也体现出较好的防治效果。

3) 本试验制得的竹焦油中,酚类物质的含量远高于文献报道值。但竹焦油的组成、抑菌活性与热解温度、升温速率、热解氛围和热解时间等因素有关,因此有必要深入研究制备高抑菌活性竹焦油的热解工艺。此外竹焦油中的高抑菌成分、抑菌机制和田间应用效果也有待进一步研究。

4) 杀菌剂是植物病害防治的主要手段。低成本地开发高效低毒的新型杀菌剂一直都是农业领域的热点问题。近年来生物源(如植物源)活性物质杀菌剂的研究与开发在我国正蓬勃开展,但由于受原料来源限制,且活性物质的可变因素太多,开发成杀菌剂新剂型或得到新型活性物质前驱体并进一步开发存在很多困难。竹焦油抑菌活性强,来源广,在热解工艺稳定的前提下具有相对稳定成分,相对于化学杀菌剂(包括仿生化学合成杀菌剂)和植物源活性物质杀菌剂具有不可比拟的优势,作为一类特殊的植物源新型杀菌剂开发将具有重大的经济和社会价值。

参 考 文 献

蒋建春,邓先伦,张燕萍,等. 2005. 竹材热解特性研究. 林产化学与工业, 25(增): 15 - 18.

康业斌,商鸿生,成玉梅. 2007. 丹皮酚对植物病原真菌的体外抑制作用. 植物保护学报, 34(6): 580 - 585.

孟昭礼. 2004. 银杏及其仿生杀菌剂. 北京: 中国科学技术出版社.

孟昭礼,方向阳,罗兰,等. 2007. 仿生农用杀菌剂银泰的研制与应用. 中国工程科学, 9(3): 28 - 34.

倪春耕. 2006. 竹醋液抑菌活性及应用技术研究. 安徽农业大学硕士学位论文.

钱华,钟哲科,王衍彬,等. 2006. 竹焦油化学组成的 GC/MS 法分析. 竹子研究汇刊, 25(3): 24 - 27.

孙君社,张德聪. 1996. 酚类物质结构与其杀菌活性的关系. 郑州轻工业学院学报, 11(2): 32 - 35.

王文桥,许晓梅. 2005. 竹醋液对几种植物病原真菌的抑制活性. 植物病理学报, 35(6): 99 - 104.

吴光旭,何庭玉,刘爱媛,等. 2004. 植物中抗病原真菌的活性物质. 植物学通报, 21(3): 367 - 375.

徐明,任海青,徐金梅. 2008. 中国近五年竹材加工利用研究进展及展望. 世界林业研究, 21(1): 61 - 67.

张桂芝,杨世忠,张唯一. 2004. 酚类物质及其化学修饰物抗真菌的构效关系研究. 食品科学, 25(2): 68 - 71.

Mazela B. 2007. Fungicidal value of wood tar from pyrolysis of treated wood. Waste Management, 27(4): 461 - 465.

(责任编辑 朱乾坤)