

# 甜瓜细菌性斑点病拮抗菌 P-13 的鉴定及其 抑菌物质的初步研究

杨 良<sup>1,2</sup> 史应武<sup>2</sup> 吴忠红<sup>2,3</sup> 娄 恺<sup>2\*</sup>

(1. 石河子大学食品学院 新疆 石河子 832003)

(2. 新疆农业科学院微生物应用研究所 新疆 乌鲁木齐 830091)

(3. 新疆农业大学食品科学学院 新疆 乌鲁木齐 830052)

**摘 要:** 从新疆甜瓜根际土壤中分离到 1 株甜瓜细菌性斑点病拮抗菌 P-13, 根据其形态学、生理特征和 16S rRNA 序列分析, 鉴定该菌株为娄氏链霉菌(*Streptomyces rochei*)。琼脂扩散法生物活性研究表明, 其发酵液对细菌性果腐病菌(*Acidovorax avenae* subsp. *citrull*)BFB、细菌性角斑病菌(*Pseudomonas syringae* pv. *Lachrymans*)P<sub>4</sub> 的抑菌圈直径分别为 19 mm 和 17 mm 以上; 发酵液中抑菌物质主要为胞外代谢物, 不溶于石油醚, 乙醚, 乙酸乙酯等有机溶剂。在 100°C 处理 10 min、pH 6 处理 6 h 或紫外线照射 7 h, 该物质抑菌活性不变。纸层析结果表明, 该物质主要为碱性水溶性物质。

**关键词:** 娄氏链霉菌, 抑菌物质, 甜瓜, 细菌性斑点病

## Identification of Antagonistic Strain P-13 and the Preliminary Studies on Its Antimicrobial Substances Against Bacterial Spot Diseases of Muskmelon

YANG Liang<sup>1,2</sup> SHI Ying-Wu<sup>2</sup> WU Zhong-Hong<sup>2,3</sup> LOU Kai<sup>2\*</sup>

(1. College of Food, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832003, China)

(2. Institute of Microbiology, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Urumqi, Xinjiang 830091, China)

(3. College of Food Science, Xinjiang Agricultural University, Urumqi, Xinjiang 830052, China)

**Abstract:** An actinomycete strain P-13, with antimicrobial activity against muskmelon bacterial spot pathogens, was isolated from the muskmelon rhizosphere soil samples in Xinjiang. The strain P-13 was identified as *Streptomyces rochei* based on morphological, physiological characteristics and 16S rRNA sequence analysis. The agar diffusion bioassay showed that the diameter of inhibition zone against *Acidovorax avenae* subsp. *citrull* BFB and *Pseudomonas syringae* pv. *Lachrymans* P<sub>4</sub> was above 19 mm and 17 mm, respectively. The antimicrobial substances obtained from strain P-13 were demonstrated to be alkaline and water-soluble compounds according to paper chromatogram analysis and exocellular metabolites. Furthermore, it was stable to be treated by 100°C for 10 min, pH 6 for 6 h, or ultraviolet treatment for 7 h. Moreover, it

was insoluble in organic solvents, such as petroleum benzene, diethyl ether, and acetic ether.

**Keywords:** *Streptomyces rochei*, Antimicrobial substances, Muskmelon, Bacterial spot diseases

甜瓜在植物分类上属葫芦科(*Cucurbitaceae*)哈密瓜属,是驰名中外的新疆特产之一。但近十余年来,甜瓜细菌性斑点病病害一直是制约新疆甜瓜生产发展的主要障碍之一。甜瓜细菌性斑点病主要包括细菌性角斑病菌(*Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*)和细菌性果腐病菌(*Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*)等<sup>[1]</sup>。探索防治甜瓜细菌性斑点病的有效方法已成为重要课题。化学防治中农药残留、污染环境、易产生抗药性等缺点引起人们的广泛重视。生物农药以其对环境友好、无污染等优点,正日益受到各国的青睐。因此,生物防治已成为植物病害防治的重要内容之一<sup>[2]</sup>。

在无公害农副产品的生产中,放线菌产生的生物农药具有很好的应用前景。利用拮抗菌 P-13 产生的次生代谢产物防治甜瓜细菌性斑点病,对于提高甜瓜质量与产量,确保甜瓜品质和稳产具有十分重要的现实意义。

本实验室已从新疆昌吉地区采集的甜瓜根际土壤中分离到 1 株甜瓜细菌性斑点病拮抗菌 P-13,本文通过形态学、生理特征及 16S rRNA 序列分析,阐明其分类地位,并探索了其发酵产物的抑菌活性及其理化性质。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌株与培养基

拮抗菌 P-13 由本实验室分离保存,细菌性角斑病菌(*Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*)P<sub>4</sub>与细菌性果腐病菌(*Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*)BFB由石河子大学农学院李国英教授赠送。

KB 培养基、高氏合成一号培养基、查氏培养基、ISP(International *Streptomyces* Projects)系列培养基按照参考文献进行配制<sup>[3-5]</sup>。拮抗菌 P-13 发酵培养基:葡萄糖 20 g, KNO<sub>3</sub> 1 g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·3H<sub>2</sub>O 0.5 g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5 g, NaCl 0.5 g, FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.002 g, 蒸馏水 1000 mL, pH 7.2。抑菌活性测定培养基:可溶性淀粉 20 g, 胰蛋白胨 20 g, 甘油 10 g, KNO<sub>3</sub> 1 g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·3H<sub>2</sub>O 0.5 g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5 g, NaCl 0.5 g, FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.01 g, 琼脂 15 g, 蒸馏水 1000 mL, pH 7.2。

### 1.2 拮抗菌 P-13 形态观察和生理特征测定

形态学及生理特征参照链霉菌鉴定手册<sup>[4]</sup>、沈萍等<sup>[5]</sup>、东秀珠<sup>[6]</sup>和周德庆<sup>[7]</sup>的方法。

### 1.3 16S rRNA 序列测定

采用酶法提取总 DNA,并以此为模板进行 PCR 扩增。16S rRNA 扩增用引物为 16S rRNA 通用引物<sup>[8]</sup>。PCR 扩增条件为 95°C 4 min; 94°C 1 min, 58°C 1 min, 72°C 2 min, 30 个循环; 72°C 8 min。扩增产物经纯化后,送上海基康生物技术有限公司测序。将测得的基因序列利用 Blast 软件与 GenBank 中核酸数据库进行相似性比较分析,用 Clustal X 1.81 对相似的序列进行多重序列比对分析,用 MEGA 2.1 软件包<sup>[9]</sup>中的邻接法(Neighbor-Joining)构建系统发育树。

### 1.4 拮抗菌 P-13 发酵液抑菌活性测定

将拮抗菌 P-13 接种于高氏合成一号培养基斜面上,在 30°C 培养 7 d 后,用 2 mL 无菌水洗下,转入另一个装有玻璃珠的无菌管中振荡使成为孢子悬浮液。将孢子悬浮液按照 0.1% 接种量接入装有 100 mL 液体发酵培养基的 250 mL 三角瓶中,然后于 30°C、转速为 200 r/min 的摇床上培养 4.5 d。发酵液于 6000 r/min 离心 10 min,收集上清液(即胞外代谢物);沉淀用生理盐水清洗 3 遍,离心并收集沉淀,用超声波破壁,再离心收集上清液(即胞内代谢物)。用 KB 培养基培养指示菌 BFB 和 P<sub>4</sub>,胞外代谢物和胞内代谢物分别用直径为 0.22 μm 的无菌过滤器过滤除菌后,采用管碟法<sup>[7,10]</sup>检测抑菌活性。

### 1.5 抑菌物质稳定性测定

取 5 mL 拮抗菌 P-13 发酵上清液于玻璃试管中,热处理在 50°C、70°C 和 100°C 水浴中加热 10 min、30 min、60 min、120 min<sup>[11]</sup>;酸碱处理用 1 mol/L HCl 和 1 mol/L NaOH 处理至 pH 2、4、6、8、10、12、14,放置 6 h 后再用 1 mol/L NaOH 和 1 mol/L HCl 调整为中性<sup>[12]</sup>;加入到无菌开盖平皿中,铺成约 3 mm 薄层,在 20 W 紫外灯(距光源 40 cm)下照射 1 h、3 h、5 h、7 h、9 h、10 h。补加无菌蒸馏水到原体积,用直径为 0.22 μm 的无菌过滤器过滤除菌,采用管碟法<sup>[7,10]</sup>检测抑菌活性。以发酵上清液作为对照来测定抑菌活性。每个处理均设 3 个

重复。

1.6 抑菌物质溶解性测定

取 10 mL拮抗菌P-13 发酵上清液, 加入等体积的乙酸乙酯、乙醚、石油醚, 对抑菌物质进行萃取。静置过夜后, 用直径为 0.22 μm的无菌过滤器过滤除菌, 采用管碟法<sup>[7,10]</sup>检测有机相和水相抑菌活性。以有机溶剂和发酵上清液作为对照来测定抑菌活性。每个处理均设 3 个重复。

1.7 Doskochilova 溶剂系统纸层析

取经过旋转蒸发浓缩 10 倍的拮抗菌P-13 发酵上清液, 参照周德庆<sup>[7]</sup>的方法, 采用Doskochilova 8 种溶剂系统进行纸层析, 测量抑菌物质的比移值( $R_f$  值)。每个处理均设 3 个重复。

1.8 数据分析

所有试验结果以平均值报告, 利用 SPSS 13.0 软件, 选择 Duncan 法对试验结果进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 拮抗菌 P-13 鉴定

2.1.1 拮抗菌 P-13 的形态和生理特征: 对拮抗菌 P-13 进行了常规形态和生理特征试验, 结果见表 1。拮抗菌 P-13 在高氏合成一号、查氏、无机盐淀粉琼脂(ISP4)、甘油天门冬酰胺琼脂(ISP5)培养基上生长良好, 基内菌丝发达、气生菌丝丰富, 气生菌丝为白色或灰色, 基内菌丝为灰色或深褐色。在 5 种培养基上均未产生可溶性色素。拮抗菌 P-13 革兰氏染色为阳性; 最适生长温度 30℃, 最适生长 pH 值 7.2, 在含 0~7%(W/V)NaCl 的高氏一号液体培养基中均有生长现象, 但在低于 2% NaCl 的高氏一号液体培养基中生长良好。在高氏合成一号培养基上 30℃ 插片培养 7 d, 取插片分别在光学显微镜下观察, 基内菌丝多分支、无横隔、无断裂现象; 气生菌丝发育良好, 呈长短不一的孢子链, 孢子链呈松螺旋型。根据

菌落、菌体形态观察和生理特征测定, 确定 P-13 属于链霉菌属(*Streptomyces*)。

2.1.2 16S rRNA 序列分析: 拮抗菌 P-13 的 16S rRNA 基因核苷酸序列(GenBank accession No. FJ224362)全长 1432 bp。序列测定结果提交 GenBank 进行序列相似性搜索, 发现该菌株序列与链霉菌属(*Streptomyces*)菌株高度相似, 说明该菌株属于链霉菌属。利用 MEGA 2.1 软件邻接法(Neighbor-Joining)构建系统发育树(图 1), 拮抗菌 P-13 与链霉菌属典型菌株娄氏链霉菌(*Streptomyces rochei*)的 16S rRNA 基因序列(相似性为 99.9%以上)聚在同一个系统进化分支上, 将拮抗菌 P-13 鉴定为娄氏链霉菌(*Streptomyces rochei*)。

2.2 抑菌物质定位

采用管碟法分别测定拮抗菌 P-13 发酵原液、胞内代谢物和胞外代谢物的抑菌活性。由抑菌圈结果(见表 2)可以看出, 胞内代谢物未检测出抑菌活性, 胞外代谢物和发酵原液的抑菌活性很接近。表明抑菌物质主要为胞外代谢物。

2.3 抑菌物质稳定性

2.3.1 对热稳定性: 由表 3 可以看出, 50℃、70℃ 处理 120 min 和 100℃ 处理 10 min, 发酵上清液抑菌活性与对照无显著差异; 100℃ 处理 30 min 抑菌活性发生显著变化, 随着时间继续延长, 抑菌活性下降更加明显。表明拮抗菌 P-13 发酵液中抑菌物质在 70℃ 以下具有很好的热稳定性。

2.3.2 对酸碱稳定性: 从表 4 可见, 在 pH 6 处理 6 h, 发酵上清液抑菌活性与对照无显著性差异, 且在 pH 2、4、6 处理 6 h 没有发生显著性改变; 在 pH 8、10、12、14 处理 6 h 发酵上清液抑菌活性发生明显下降, 且随着碱性的增强, 下降越多。由此可以看出, 拮抗菌 P-13 发酵液中抑菌物质在 pH 6~7 之间较稳定, 酸性条件稳定性优于碱性条件。

表 1 菌株 P-13 培养特征结果 Table 1 The culture characteristics of strain P-13				
Medium	Growth	Substance mycelium	Aerial mycelium	Soluble pigment
Gause's No.1 agar	Good	Puce	Gray	Negative
Czapek's agar	Abundant	Gray	Gray	Negative
Yeast extract/malt extract agar(ISP2)	Poor	Puce	White	Negative
Inorganic salt/starch agar(ISP4)	Good	Puce	Gray	Negative
Glycerol/asparagine agar(ISP5)	Moderate	Puce	Gray	Negative

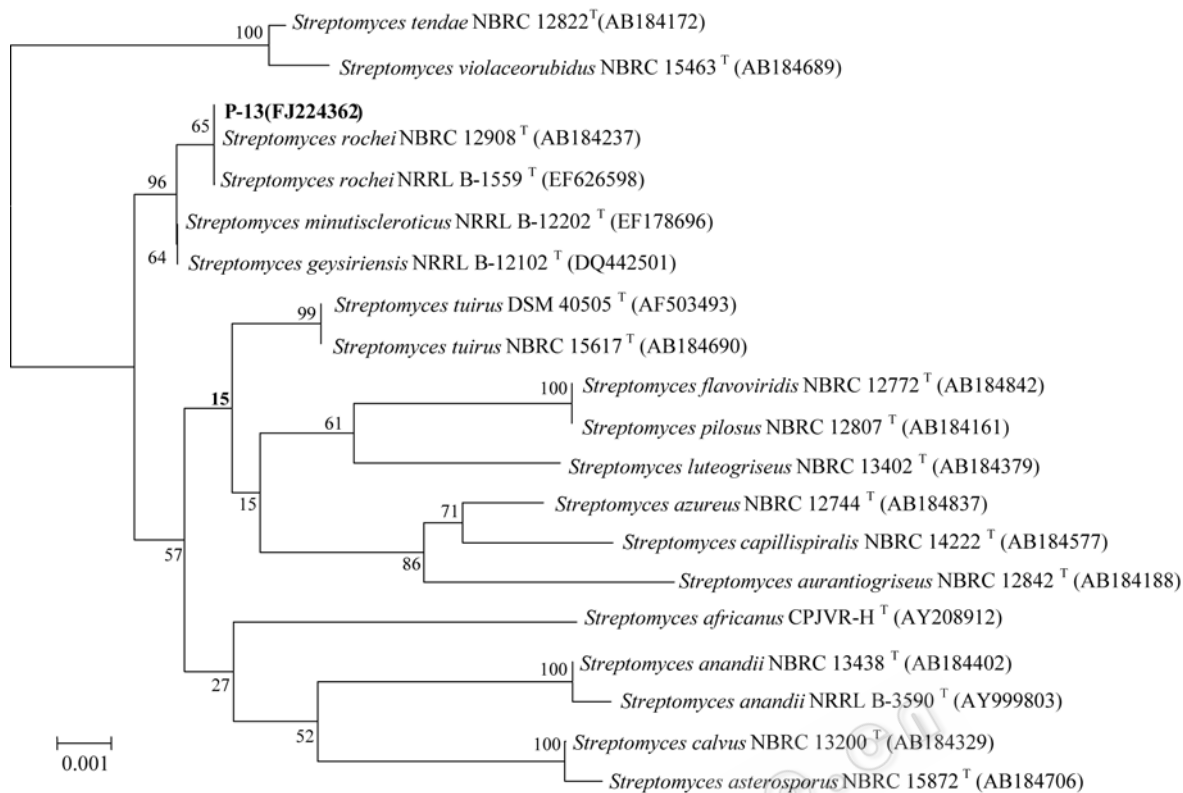


图 1 依据 16S rRNA 序列构建的菌株 P-13 和链霉菌属(*Streptomyces*)相关典型菌株的系统发育树状关系图  
Fig. 1 Phylogenetic tree constructed from 16S rRNA gene sequences showing the relationships among strain P-13 and other related *Streptomyces* strains

Note: GenBank sequence accession numbers are indicated in parentheses after the strain names. Numerals on branches are the percentage bootstrap values by 1000 repliates. Bar: 1 nucleotide substitution per 1000 nucleotides of 16S rRNA gene sequence.

表 2 抑菌活性定位结果  
Table 2 The location of antimicrobial activity

Treatment	Diameter of inhibition zone(mm)	
	BFB	P <sub>4</sub>
Fermentation broth	22.43±1.75	19.96±0.73
Exocellular metabolite	21.67±0.48	19.80±0.53
Endocellular metabolite	0.00±0.00	0.00±0.00

2.3.3 对紫外线稳定性: 由表 5 可知, 紫外线照射 1 h~ 7 h, 发酵上清液抑菌活性与对照无显著性差异, 但随着照射时间延长至 10 h, 抑菌活性略有下降。表明拮抗菌 P-13 发酵液中抑菌物质对紫外照射的稳定性较好。

2.4 抑菌物质溶解性

由表 6 可以看出, 发酵上清液经过乙酸乙酯、乙醚、石油醚萃取, 抑菌活性仍然存在于水相中。表明拮抗菌 P-13 发酵液中抑菌物质不溶于有机溶剂乙酸乙酯、乙醚、石油醚。

表 3 温度对菌株 P-13 发酵液抑菌活性的影响  
Table 3 Effect of different temperature on the antimicrobial activity of the fermentation broth of strain P-13

Temperature(°C)	Time(min)	Diameter of inhibition zone(mm)	
		BFB	P <sub>4</sub>
50	10	19.31±0.13 <sup>A</sup>	18.65±0.54 <sup>A</sup>
	30	19.39±0.22 <sup>A</sup>	18.67±0.35 <sup>A</sup>
	60	19.29±0.11 <sup>A</sup>	18.75±0.65 <sup>A</sup>
	120	19.40±0.19 <sup>A</sup>	18.61±0.70 <sup>A</sup>
70	10	19.37±0.08 <sup>A</sup>	18.61±0.60 <sup>A</sup>
	30	19.25±0.12 <sup>A</sup>	18.45±0.49 <sup>A</sup>
	60	18.91±0.08 <sup>A</sup>	18.41±0.71 <sup>A</sup>
	120	18.77±0.24 <sup>A</sup>	18.31±0.88 <sup>A</sup>
100	10	18.85±0.50 <sup>A</sup>	18.32±0.65 <sup>A</sup>
	30	17.50±0.61 <sup>B</sup>	16.19±0.53 <sup>B</sup>
	60	15.85±0.21 <sup>B</sup>	15.99±1.57 <sup>C</sup>
	120	14.24±0.21 <sup>C</sup>	13.20±0.43 <sup>D</sup>
Control		20.14±0.27 <sup>A</sup>	18.75±0.16 <sup>A</sup>

注: A,B,C,D: 同一列中的不同字母表示在 0.05 水平上有显著差异。  
Note: A,B,C,D: The different letters in the same column means significant difference at 0.05 level.

表 4 酸碱对菌株 P-13 发酵液抑菌活性的影响  
Table 4 Effect of different pH on the antimicrobial activity of the fermentation broth of strain P-13

pH	Diameter of inhibition zone(mm)	
	BFB	P <sub>4</sub>
2	18.01±0.24 <sup>B</sup>	15.76±0.61 <sup>B</sup>
4	18.13±0.13 <sup>B</sup>	15.88±0.21 <sup>B</sup>
6	18.77±0.46 <sup>AB</sup>	17.31±0.33 <sup>A</sup>
8	16.19±0.66 <sup>C</sup>	14.31±0.54 <sup>C</sup>
10	13.19±0.57 <sup>D</sup>	13.93±0.76 <sup>C</sup>
12	10.61±0.45 <sup>E</sup>	12.75±0.79 <sup>D</sup>
14	7.42±0.54 <sup>F</sup>	9.98±0.68 <sup>E</sup>
7(Control)	19.28±0.16 <sup>A</sup>	17.43±0.34 <sup>A</sup>

注: A,B,C,D,E,F: 同一列中的不同字母表示在 0.05 水平上有显著差异。  
Note: A,B,C,D,E,F: The different letters in the same column means significant difference at 0.05 level.

表 5 紫外线对菌株 P-13 发酵液抑菌活性的影响  
Table 5 Effect of ultraviolet on the antimicrobial activity of the fermentation broth of strain P-13

Time (h)	Diameter of inhibition zone(mm)	
	BFB	P <sub>4</sub>
1	21.37±0.36 <sup>A</sup>	19.45±0.03 <sup>A</sup>
3	21.16±0.54 <sup>A</sup>	19.35±0.11 <sup>AB</sup>
5	20.90±0.26 <sup>A</sup>	19.32±0.06 <sup>ABC</sup>
7	20.79±0.23 <sup>AB</sup>	19.30±0.06 <sup>ABC</sup>
9	20.12±0.57 <sup>BC</sup>	19.21±0.05 <sup>BC</sup>
10	19.86±0.43 <sup>C</sup>	19.09±0.14 <sup>C</sup>
Control	21.41±0.11 <sup>A</sup>	19.47±0.25 <sup>A</sup>

注: A,B,C: 同一列中的不同字母表示在 0.05 水平上有显著差异。  
Note: A,B,C: The different letters in the same column means significant difference at 0.05 level.

表 6 抑菌物质溶解性结果  
Table 6 Solubility of antimicrobial substance

Test strains	Diameter of inhibition zone(mm)					
	Acetic ether		Diethyl ether		Petroleum benzine	
	Organic phase	Aqueous phase	Organic phase	Aqueous phase	Organic phase	Aqueous phase
BFB	0.00±0.00	22.24±0.41	0.00±0.00	21.49±0.77	0.00±0.00	22.22±0.38
P <sub>4</sub>	0.00±0.00	18.07±0.85	0.00±0.00	17.94±0.38	0.00±0.00	17.93±0.06

2.5 Doskochilova 溶剂系统纸层析

捷克学者依据前人经验曾提出了 8 种溶剂系统。由于各类抗生素的酸碱性、极性和溶解性不同,根据它们在 8 种溶剂系统中呈现出来的 $R_f$ 值所画成的图谱也各有一定的特征,而把抗生素分为不同的大类。

由图 2 可以看出,在溶剂系统 1 即水饱和的正丁醇、溶剂系统 4 即含 2%六氢吡啶的水饱和的正丁醇和溶剂系统 7 即苯: 甲醇(4:1, V/V)中 $R_f$ 值为 0; 在溶剂系统 2 即含 2%对甲苯磺酸的水饱和的正丁醇、溶剂系统 3 即正丁醇: 乙酸: 水(2:1:1, V/V/V)和溶剂系统 8 即甲醇: 水(3:1, V/V)中 $R_f$ 值较小; 而在溶剂系统 5 即正丁醇饱和的 0.5 mol/L 的磷酸缓冲液(pH 7)和溶剂系统 6 即含 2%对甲苯磺酸的正丁醇饱和的水中 $R_f$ 值较大; 其 $R_f$ 值的折线图形似船帆型。经过与标准纸层析图谱比较,表明拮抗菌P-13 发酵液中主要抑菌物质属于碱性水溶性物质。

3 小结与讨论

通过形态学、生理特征和 16S rRNA 序列的系

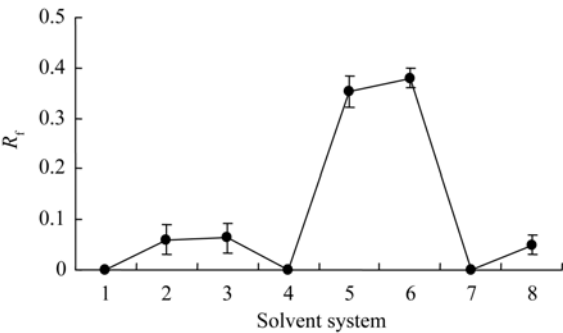


图 2 抑菌物质在 Doskochilova 溶剂系统中纸层析结果  
Fig. 2 The paper chromatography result of antimicrobial substance in Doskochilova system

注: 1: 水饱和的正丁醇; 2: 含 2%对甲苯磺酸的水饱和的正丁醇; 3: 正丁醇: 乙酸: 水(2:1:1, V/V/V); 4: 含 2%六氢吡啶的水饱和的正丁醇; 5: 正丁醇饱和的 0.5 mol/L 的磷酸缓冲液(pH 7); 6: 含 2%对甲苯磺酸的正丁醇饱和的水; 7: 苯: 甲醇(4:1, V/V); 8: 甲醇: 水(3:1, V/V).  
Note: 1: Water-saturated butanol; 2: Water-saturated butanol containing 2% p-toluene sulfonic acid; 3: Butanol: acetic acid: water (2:1:1, V/V/V); 4: Water-saturated butanol containing 2% hexahydropyridine; 5: Butanol-saturated 0.5 mol/L PBS (pH 7); 6: Butanol-saturated water containing 2% p-toluene sulfonic acid; 7: Benzene: methanol (4:1, V/V); 8: Methanol: water (3:1, V/V).

统发育分析, 将拮抗菌 P-13 鉴定为娄彻氏链霉菌 (*Streptomyces rochei*)。

甜瓜细菌性斑点病拮抗菌 P-13 发酵液中抑菌物质主要为胞外代谢产物,说明产生抑菌物质是其重要的抑菌机制。进而对拮抗菌 P-13 发酵液中抑菌物质稳定性进行研究,发现其具有良好的酸、热及紫外线稳定性,显示其在生物防治方面潜在的应用价值。

自 20 世纪 40 年代至今发现约 22500 种生物活性物质中,抗生素约 16500 种,其中链霉菌属 (*Streptomyces*) 就产生 8366 种,占全部抗生素的 51%<sup>[13]</sup>。链霉菌属产生的生物活性物质除产生抗生素外,还是抗肿瘤剂、免疫抑制剂、杀虫剂及除草剂等<sup>[14,15]</sup> 的重要来源。新药筛选研究实践证明链霉菌是微生物药物的丰富来源<sup>[16]</sup>。娄彻氏链霉菌在医药<sup>[17]</sup> 方面的应用有所报道,在农业方面的应用包括植物病毒<sup>[18]</sup> 和植物病原真菌<sup>[19,20]</sup> 的防治。生物活性物质有效成分的分离纯化及结构鉴定有助于新型农药的开发。通过纸层析分析初步确定拮抗菌 P-13 产生的抑菌物质为碱性水溶性物质,但该物质的产生条件、分离纯化和结构鉴定有待进一步研究。

## 参 考 文 献

- [1] 张 昕, 李国英, 金 潜, 等. 新疆哈密瓜细菌性病害病原菌研究. 中国西瓜甜瓜, 2002, 1: 1-3.
- [2] 李 晶, 安德荣, 刘翠娟, 等. 放线菌 S-159-05 抑菌活性物质的初步研究. 农药, 2007, 46(11): 755-757.
- [3] 方中达. 植病研究方法. 第三版. 北京: 中国农业出版社, 1996, pp.246-247.
- [4] 中国科学院微生物研究所放线菌分类组. 链霉菌鉴定手册. 北京: 科学出版社, 1975, pp.13-15, 658-659.
- [5] 沈 萍, 范秀容, 李广武. 微生物学实验. 北京: 高等教育出版社, 2003, pp.40-41, 214-215.
- [6] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册. 北京: 科学出版社, 2001, p.364.
- [7] 周德庆. 微生物学实验手册. 上海: 上海科学技术出版社, 1986, pp.178-180, 343-345.
- [8] 徐丽华, 李文均, 刘志恒, 等. 放线菌系统学—原理、方法及实践. 北京: 科学出版社, 2007, p.98.
- [9] 陈义光, 张晓蓉, 张 丽, 等. 具抑菌活性海洋放线菌菌株 JMC06001 的分离和鉴定. 微生物学通报, 2008, 35(1): 40-44.
- [10] Prabavathy VR, Mathivanan N, Murugesan K. Control of blast and sheath blight diseases of rice using antifungal metabolites produced by *Streptomyces* sp. PM5. *Biological Control*, 2006, 39(3): 313-319.
- [11] 隋 勤, 刘伟成, 裘季燕, 等. 利迪链霉菌 A02 的抑菌谱及其抑菌活性的稳定性. 植物保护, 2007, 33(5): 67-71.
- [12] 邵彦坡, 方丽萍, 魏少鹏, 等. 海洋放线菌 B5 菌株发酵液抗菌谱及稳定性研究. 西北农业学报, 2007, 16(3): 248-251, 256.
- [13] 姜 怡, 唐蜀昆, 张玉琴, 等. 放线菌产生的生物活性物质. 微生物学通报, 2007, 34(1): 188-190.
- [14] Mehdi RB, Sioud S, Fguira LF, *et al.* Purification and structure determination of four bioactive molecules from a newly isolated *Streptomyces* sp. TN97 strain. *Process Biochemistry*, 2006, 41(7): 1506-1513.
- [15] Hashimoto Y. Development of novel expression systems for actinomycetes. *Actinomycetologica*, 2007, 21: 70-75.
- [16] 徐 平, 李文均, 高慧英, 等. 产生芳香环聚酮类天然产物放线菌的分子筛选研究. 中国抗生素杂志, 2005, 30(3): 134-137.
- [17] Suwa M, Sugino H, Sasaoka A, *et al.* Identification of two polyketide synthase gene clusters on the linear plasmid pSLA2-L in *Streptomyces rochei*. *Gene*, 2000, 246: 123-131.
- [18] 陈力力, 高必达. 微生物抗植物病毒活性物的研究进展. 中国生物防治, 2006, 22(4): 255-260.
- [19] 马 林, 陈红兵, 韩巨才, 等. 植物内生放线菌 Lj20 的鉴定及其抗真菌物质的合成. 微生物学报, 2008, 48(7): 900-904.
- [20] Zaitlin B, Turkington K, Parkinson D, *et al.* Effects of tillage and inorganic fertilizers on culturable soil actinomycete communities and inhibition of fungi by specific actinomycetes. *Applied Soil Ecology*, 2004, 26: 53-62.