

枸骨根际放线菌 ZY-2 的分离鉴定及其 抑菌活性检测研究

查艳景¹, 姜国银¹, 张炳炎², 杨本寿^{1*}

(1. 曲靖医学高等专科学校 微生物研究所, 云南 曲靖 655000; 2. 云南省遗传学会, 云南 昆明 650091)

摘要: 采用稀释涂布法从枸骨根际土壤悬液中分离到 1 株根际放线菌 ZY-2, 其发酵产物对参与测试的 16 种病原指示菌具有一定的抑制效果. 该菌株在改良高氏一号培养基上生长良好. 生长过程中, 菌落从初期的白色逐渐变为淡黄色, 菌丝有分枝, 无横隔膜, 孢子呈卵圆形、圆柱状或杆状, 孢子链长, 有波状弯曲. 通过形态特征和 16S rDNA 系统进化分析, 鉴定此根际放线菌 ZY-2 为细黄链霉菌.

关键词: 枸骨; 根际放线菌; 分类鉴定; 抑菌活性; 细黄链霉菌

中图分类号: Q939.9 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674 - 5639 (2022) 03 - 0105 - 06

DOI: 10. 14091/j. cnki. kmxyxb. 2022. 03. 020

Isolation, Identification and Bacteriostatic Activity of Actinomycete ZY-2 from the Rhizosphere Soil of *Ilex cornuta* L.

ZHA Yanjing¹, JIANG Guoyin¹, ZAHNG Bingyan², YANG Benshou^{1*}

(1. Institute of Microbiology, Qujing Medical College, Qujing, Yunnan, China 655000;

2. Genetic Society of Yunnan Province, Kunming, Yunnan, China 650091)

Abstract: A rhizosphere actinomycete strain ZY-2 was isolated from the rhizosphere soil of *Ilex cornuta* L. with dilution coating method. The fermentation product of the strain had certain antibacterial activity against 16 kinds of pathogen indicator bacteria. The strain ZY-2 grew well on the improved Gauss No. 1 medium. During the growth, the color of bacterial colony gradually changed from white to light yellow. The mycelium was branched without diaphragm. The spores were oval, cylindrical or rod-shaped, with long spore chains and wavy bends. The rhizosphere actinomycete strain ZY-2 was identified as *Streptomyces flavescens* ZY-2 by morphological characteristics and 16S rDNA phylogenetic analysis.

Key words: *Ilex cornuta* L.; rhizosphere actinomycetes; identification; bacteriostatic activity; *Streptomyces microflavus*

枸骨 (*Ilex cornuta* L.) 名猫儿刺、八角刺、老虎刺、鸟不宿、枸骨刺等, 四季常青, 可用于绿化. 其为被子植物门 (Angiospermae) 双子叶植物纲 (Dicotyledons) 无患子目 (Sapindales) 冬青科 (Aquifoliaceae) 冬青属 (*Ilex*) 植物, 主要分布于长江下游各省^[1]. 枸骨是一种常用中药, 其叶、树皮、果实、根均可入药, 在常见病痛治疗方面有较好疗效^[2]. 枸骨叶清热养阴、益肾、平肝, 可用于

治疗肺癆咯血、骨蒸潮热、头晕目眩等症状^[3].

根际是植物 - 土壤 - 微生物信息和物质交换的重要场所, 是土壤对植物根系的生命活动和代谢影响最直接、最显著的区域. 根际微生物对植物的生长发育、抗逆性以及病虫害防治等方面都具有非常重要的作用^[4-5], 因此, 根际微生物组被视作植物的第二基因组. 当前, 对植物宿主、根际微生物和其他土壤微生物间相互作用和关系的研究属于全球

收稿日期: 2022 - 03 - 30

基金项目: 云南省教育厅科学研究基金项目 (2019J1125).

作者简介: 查艳景 (1984—), 女, 云南师宗人, 讲师, 主要从事遗传学研究.

*通信作者: 杨本寿 (1971—), 男, 河南获嘉人, 教授, 博士, 主要从事微生物资源与利用研究, E-mail: yang-benshou@163. com.

关注的热门和研究的热点^[6-8].

目前,植物菌害防治的方式主要以化学防治为主,但是长期施用化学农药会带来农药残留、病原菌抗药性增强、生物多样性受破坏、农产品品质下降、病害发生易反复等负面影响^[9-11].而利用生防菌进行植物病害的防治则具有对环境安全的优点,因此,对生防菌的相关研究^[12-14]是新农药研究和创制的方向之一.放线菌是一类重要的生防菌,是抗生素最重要的生物来源.在现今发现的 2 万多种微生物来源的天然抗生素中,约有 40% 由放线菌产生^[15-16].而在应用于临床的天然抗生素中,约有 70% 来源于放线菌的次级代谢产物^[17].且自然界中放线菌种资源十分丰富,尽管目前有新的放线菌种不断被发现,但仍然不足自然界中放线菌种类总量的 1%^[18].研究^[19-22]表明,许多具有

重要生物活性的放线菌是从植物根际土壤中分离得到的.本研究拟以枸骨根际土壤为研究对象,以期在其中发掘出放线菌资源用以开发新的生防菌剂,为进一步研究利用抑菌活性物质奠定基础.

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 根际土样

枸骨根际土样采自云南省曲靖市会泽县,为枸骨根系周围表层下的土壤.采集方法:将其表层杂物清除掉,挖取深度为 20 cm 耕作层的根际土壤.

1.1.2 供试病原指示菌

抑菌活性检测所用的 17 种病原指示菌分别为 8 种革兰氏阴性菌、8 种革兰氏阳性菌和 1 种病原真菌(酵母菌).其类别与来源详见表 1.

表 1 试验用病原指示菌

菌株名称	特性	类型	来源
大肠杆菌 (<i>Escherichia coli</i>) CMCC44102	野生型	革兰氏阴性细菌 (G ⁻)	曲靖市第一人民医院
铜绿假单胞菌 (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>) ATCC27853	野生型	革兰氏阴性细菌 (G ⁻)	上海北诺生物科技有限公司
乙型副伤寒沙门氏菌 (<i>Sahnonella enterica</i> subsp. Enterzca) CMCC 50094	野生型	革兰氏阴性细菌 (G ⁻)	上海北诺生物科技有限公司
肺炎克雷伯氏菌 (<i>Klebsiella pneumoniae</i>) CMCC 46117	野生型	革兰氏阴性细菌 (G ⁻)	上海北诺生物科技有限公司
宋内氏志贺氏菌 (<i>Sigel sonnei</i>) Ym1046	野生型	革兰氏阴性细菌 (G ⁻)	云南大学微生物研究所
鼠伤寒杆菌 (<i>Bacillus typhimurium</i>) Ym1034	野生型	革兰氏阴性细菌 (G ⁻)	云南大学微生物研究所
霍氏肠杆菌 (<i>Enterobacter hormaechei</i>) ATCC 700323	野生型	革兰氏阴性细菌 (G ⁻)	曲靖市第一人民医院
青枯雷尔氏菌 (<i>Ralstonia solanacearum</i>) YMF1. 13	野生型	革兰氏阴性细菌 (G ⁻)	云南生物资源保护与利用国家重点实验室
铅黄肠球菌 (<i>Enterococcus casseliflavus</i>) ATCC 700327	野生型	革兰氏阳性细菌 (G ⁺)	曲靖市第一人民医院
蜡状芽孢杆菌 (<i>Bacillus cereus</i>) Ym1004	野生型	革兰氏阳性细菌 (G ⁺)	云南大学微生物研究所
枯草芽孢杆菌 (<i>Bacillus subtilis</i>) CMCC27853	野生型	革兰氏阳性细菌 (G ⁺)	上海北诺生物科技有限公司
白色葡萄球菌 (<i>Staphylococcus albus</i>) Ym1029	野生型	革兰氏阳性细菌 (G ⁺)	云南大学微生物研究所
金黄色葡萄球菌 (<i>Staphylococcus aureus</i>) ATCC25923	野生型	革兰氏阳性细菌 (G ⁺)	上海北诺生物科技有限公司
耻垢分枝杆菌 (<i>Mycobacterium smegmatis</i>) Ym1037	野生型	革兰氏阳性细菌 (G ⁺)	云南大学微生物研究所
藤黄八叠球菌 (<i>Sardine lutea</i>) Ym1028	野生型	革兰氏阳性细菌 (G ⁺)	云南大学微生物研究所
表皮葡萄球菌 (<i>Staphylococcus epidermidis</i>) Ym1077	野生型	革兰氏阳性细菌 (G ⁺)	云南大学微生物研究所
白色念珠菌 (<i>Candida albicans</i>) CMCC(F)98001	野生型	病原真菌	曲靖市原雄业药业集团

1.1.3 培养基和培养条件

根际土壤放线菌分离、纯化和形态观察使用的培养基为改良高氏一号培养基(制作流程:在可溶性淀粉 20 g、硝酸钾 1 g、磷酸二氢钾 0.5 g、硫酸镁 0.5 g、氯化钠 0.5 g、硫酸亚铁 0.01 g、琼脂 15 g 中加入蒸馏水至 1 000 mL,调节 pH = 7.2 ~ 7.4 后,经 121 ℃ 高压灭菌 15 min 后冷却得到培养液.当冷却至 50 ~ 55 ℃ 时,在 300 mL 培养液

中加入 3% 的重铬酸钾 1 mL 混匀,最后倒入无菌平皿),分离培养温度为 28 ℃;菌株纯化后,培养温度为 30 ℃.种子培养基为 TSB 培养基即蛋白胨大豆肉汤培养基(制作流程:在胰蛋白胨大豆肉汤 30 g 中加蒸馏水至 1 000 mL,分装至锥形瓶中,121 ℃ 高压灭菌 15 min).发酵所用培养基为自配培养基(所含物质的质量分数为:葡萄糖 6%、大豆粉 1.5%、硫酸铵 0.5%、蛋白胨 0.5%、碳酸

钙 0.5%、硫酸镁 0.05%、硫酸二氢钾 0.02%, 调节 pH=6.5), 液体摇床发酵温度为 30 ℃。

病原酵母菌培养采用酵母膏胨葡萄糖 (YPD) 琼脂培养基 (所含物质的质量分数为: 酵母膏 1%、蛋白胨 2%、葡萄糖 2%、琼脂粉 2%)。病原指示细菌培养用牛肉膏蛋白胨培养基 (制作流程: 在牛肉膏 3 g、蛋白胨 10 g、氯化钠 5 g、琼脂 20 g 中加蒸馏水至 1 000 mL, 其中牛肉膏用玻棒挑取, 放在小烧杯中称量, 用热水溶化后倒入烧杯, 调节 pH=7.4~7.6 后, 经 121 ℃ 高压灭菌 15 min 后, 倒入无菌平皿)。病原指示细菌和病原指示酵母菌培养温度均为 37 ℃。

1.1.4 试验试剂

试验中所用重铬酸钾溶于蒸馏水, 配制成 3% 的重铬酸钾水溶液。蛋白酶 K (20 mg/mL), DNA 连接酶 (5 U/μL), 溶菌酶 (50 mg/mL) 等均购自 Sigma 公司; Taq 酶及试验中所用培养基组分、各类生化试剂等均购自昆明硕阳科技有限公司。

1.1.5 引物

扩增所用引物为细菌的 16S rDNA 通用引物 (由北京百泰克公司合成): 27F (5'-AGAGTTT-GATCCTGGCTCAG-3'); 1492R (5'-GGTTACCTT-GTTACGACTT-3')。

1.2 方法

1.2.1 根际放线菌的分离、纯化

称取研细、自然风干的土样 10 g, 加入含 90 mL 无菌蒸馏水的锥形瓶中, 160 r/min 摇床振荡 20 min, 静置后制备成土壤悬液。用 10 倍稀释法将土壤悬液配制成 10-1, 10-2, 10-3 这 3 个质量浓度梯度的土壤悬液。然后, 吸取每个质量浓度梯度的土壤悬液各 100 μL 分别涂布于单个改良高氏一号平皿上, 每个平皿重复涂布 3 次, 在 30 ℃ 环境下培养 5~7 d。经多次纯化后, 挑取单菌落到改良高氏一号试管斜面上培养, 并对菌株进行编号, 4 ℃ 环境下保存备用。

1.2.2 抑菌活性检测

1) 次生代谢产物粗提物的制备: 首先, 将分离得到的放线菌单菌落接种到 20 mL 改良高氏一号液体培养基中, 在 30 ℃ 环境下, 200 r/min 摇床培养 3~5 d。然后, 按 10% 接种量接种到发酵培养基中, 继续在 30 ℃ 环境下, 200 r/min 摇床培养 5 d。最后, 在得到的发酵液中加入等体积的乙

酸乙酯, 浸提 24 h 后过滤除去菌体, 并将发酵液浓缩至 2 mL, 制备成次生代谢产物粗提物。

2) 指示菌的培养: 挑取病原指示细菌、病原指示酵母菌单菌落分别接种到牛肉膏蛋白胨、YPD 培养基中, 在 37 ℃ 环境下, 200 r/min 摇床培养 1 d, 制成指示菌悬液。

3) 含菌平板的制备: 无菌条件下分别提取各种供试指示菌悬液各 0.2 mL, 置于相应的牛肉膏蛋白胨、YPD 固体培养基中制成含菌平板。

4) 抑菌试验检测: 采用滤纸片法 (直径 6 mm) 测定抗菌活性。首先, 将浸泡于根际放线菌浓缩后发酵液的无菌滤纸片三片叠加, 干燥后放入含菌平板上, 每个样品重复 3 次, 设置乙酸乙酯液为发酵液的空白对照。然后将上述样品置于 37 ℃ 环境中培养 24 h。最后, 使用十字交叉法分别测量抑菌圈的直径大小。

1.2.3 抑菌活性菌株的分类鉴定

1) 形态鉴定: 在改良高氏一号培养基上接种并插片, 30 ℃ 环境下培养。从第二天开始在显微镜下观察菌丝生长情况及孢子链形态等特征, 所用显微镜型号为奥林巴斯 bx43, 观察时所用目镜为 10 ×, 物镜为 100 ×, 放大倍数 1 000 倍, 进行初步鉴定。

2) 分子鉴定: (a) 枸骨根际放线菌基因组 DNA 的提取: 采用改良高氏一号培养基液体, 30 ℃ 环境下, 200 r/min 摇床培养 3~5 d, 然后使用盐析法^[23]提取 DNA。(b) 16S rDNA 的 PCR 扩增条件和程序以及 PCR 产物的克隆参照文献 [24] 进行。首先采用 BLAST 和 DNAMAN 序列分析软件进行序列一致性分析。在 GenBank 中进行同源序列搜索, 并调出相关菌株的 16S rDNA 序列, 然后用 Clustal X 软件进行多序列比对, 最后使用 MEGA 7 软件, 并采用 Neighbor-Joining 法模型构建系统进化发育树。

2 结果与分析

2.1 根际土壤放线菌分离、纯化结果

根据菌株培养特征的不同, 排除重复菌株, 选择代表菌株。从枸骨根部土壤中共分离出 2 株放线菌菌株, 分别将其命名为 ZY-1 和 ZY-2。抑菌活性检测结果表明, 只有菌株 ZY-2 具有较为明显的抑菌活性。

2.2 放线菌 ZY-2 的抑菌活性检测结果

在 120 mL 根际放线菌 ZY-2 的发酵液中加入等

体积的乙酸乙酯，静置 1 d 后过滤除去菌体，并旋蒸浓缩成 2 mL 乙酸乙酯发酵粗提物。采用滤纸片扩散法检测其抑菌活性，见表 2。结果表明，除了对耻垢分枝杆菌无明显抑菌活性，ZY-2 的乙酸乙酯提液对 17 种病原指示菌中的 16 种均具有抑制效果，抑菌圈直径都在 9 mm 以上。说明其抑菌活性较为明显，具有广谱抗菌活性。

表 2 菌株 ZY-2 抑菌活性检测结果

病原指示菌	抑菌圈直径/mm	病原指示菌	抑菌圈直径/mm
大肠杆菌	15	蜡状芽孢杆菌	11
铜绿假单胞菌	16	枯草芽孢杆菌	9
乙型副伤寒沙门氏菌	9	白色葡萄球菌	11
肺炎克雷伯氏菌	13	金黄色葡萄球菌	9
宋内氏志贺氏菌	10	耻垢分枝杆菌	—
鼠伤寒杆菌	10	藤黄八叠球菌	12
霍氏肠杆菌	10	表皮葡萄球菌	9
青枯雷尔氏菌	15	白色念珠菌	14
铅黄肠球菌	10		

注：表中抑菌圈直径为 3 次重复试验的平均值。

2.3 放线菌 ZY-2 的形态鉴定结果

在改良高氏一号培养基上划线培养菌株 ZY-2，3 d 后观察菌落正面形态（图 1）。结果显示，其单菌落呈皱褶状，菌落正面颜色由初期的纯白色慢慢变成

淡黄色。菌株菌丝体和孢子观察结果见图 2。由图 2 可见，菌株初期菌丝体有分枝，菌丝间无横隔膜，且不产生孢子，颜色浅而透明。随着菌株生长，菌丝体逐渐分化为营养菌丝和气生菌丝。菌株成熟后形成孢子丝，并产生大量孢子。孢子呈卵圆形、圆柱状或杆状，孢子链长，且有波状弯曲。参照《链霉菌鉴定手册》^[25]，上述特征符合链霉菌特征，因此可初步认定菌株 ZY-2 属于放线菌门链霉菌属。

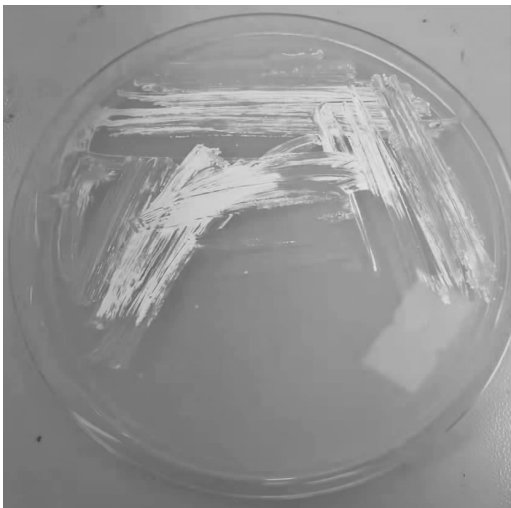


图 1 菌株 ZY-2 培养 3 d 的菌落正面图

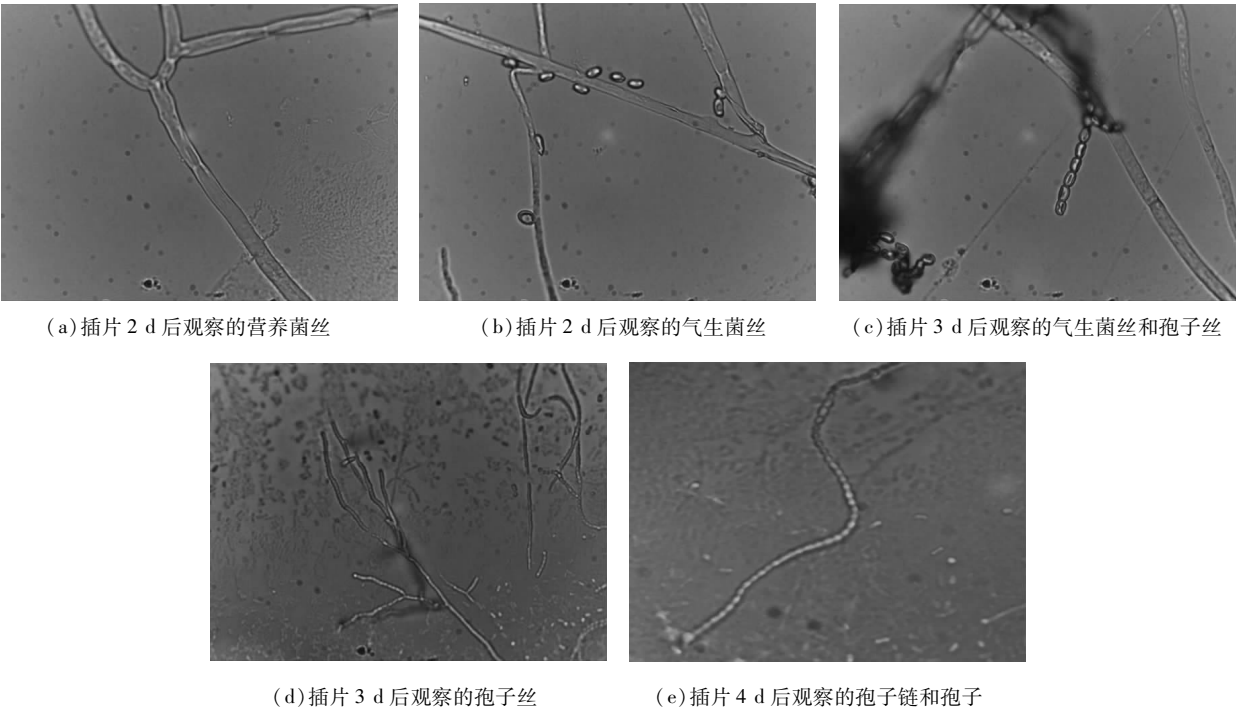


图 2 菌株 ZY-2 的形态特征

2.4 系统进化发育分析结果

采用盐析法提取菌株 ZY-2 的基因组 DNA. 经 PCR 扩增 16S rDNA 基因片段, 得到了 1 500 bp 左右的条带. 然后将扩增出的菌株 ZY-2 16S rDNA 片段胶纯化、克隆、抽提质粒并双向测序. 而后将所得到的基因序列在 GenBank 中进行 BLAST 比对, 选用大肠杆菌 *Escherichia coli* ATCC 25922

MW029931 作为外类群, 构建系统发育树 (图 3). 16S rDNA 序列的结果分析显示, 菌株 ZY-2 与细黄链霉菌 *Streptomyces microflavus* NRRL B-1332 EF178673 聚在同一分支, 序列同源性为 100%. 结合形态特征的相似性, 可将菌株 ZY-2 鉴定为链霉菌属细黄链霉菌.

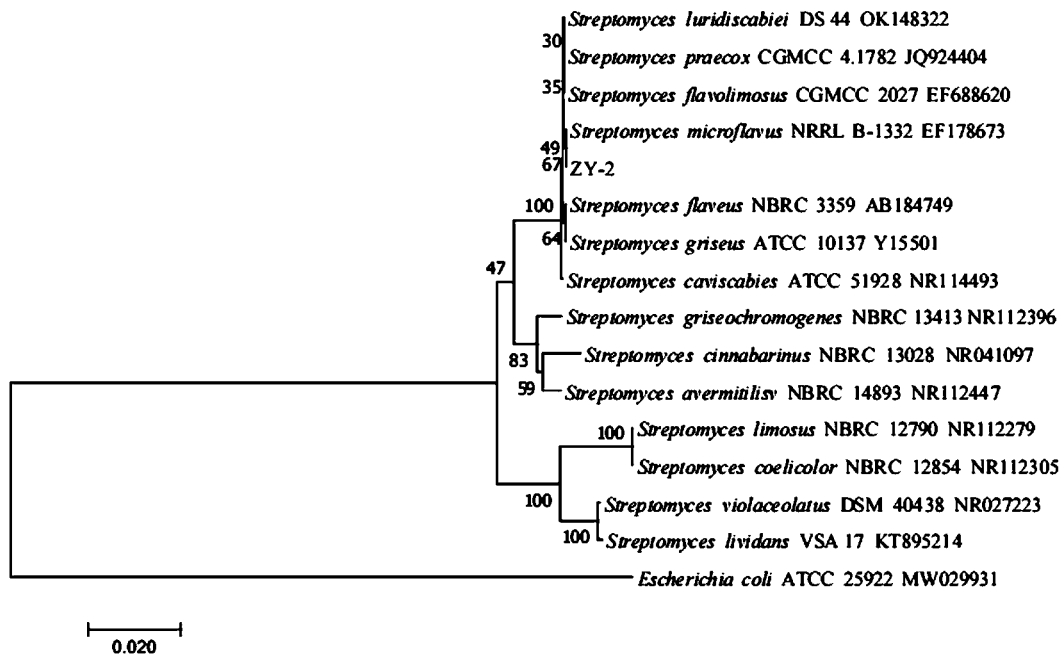


图3 邻接法构建菌株 ZY-2 及相关菌株 16S rDNA 序列的系统发育树

3 讨论与结论

3.1 讨论

链霉菌是抗生素和其他生物活性物质的主要来源, 在目前已经发现的 1 000 多种微生物产生的活性物质中, 约 2/3 是从链霉菌属的次生代谢产物中得到的^[26]. 且已有实验^[27-30]证明, 细黄链霉菌次生代谢产物对多种植物病害真菌、细菌具有广谱抑制作用. 此外, 细黄链霉菌还能在植物生长过程中表现出不同程度的促进生长和生物防治的作用^[31-32]. 单一使用细黄链霉菌或配合其他微生物菌剂可制作具有生防效应的微生态肥料, 此类肥料在植物病害防治等农业领域具有非常广阔的应用前景^[33]. 尤其是在当前传统化肥、化学农药大量使用而造成生态环境日趋恶化的情况下, 利用链霉菌等颇具生防与生态价值的菌种资源开发出用于防治植物病虫害、改善土壤微环境的新产品显得尤为重要.

3.2 结论

采用枸骨根际土壤悬液分离、纯化到了 1 株根际放线菌 ZY-2. 使用纸片扩散法检测其发酵产物的抑菌活性结果表明, 除了对耻垢分枝杆菌无明显抑菌活性外, 该菌种对所测试的其他 16 种病原指示菌均表现出明显的抑制效果, 有广谱抗菌活性. 形态特征结合 16S rDNA 系统进化分析结果表明, 该根际放线菌 ZY-2 为链霉菌属细黄链霉菌.

[参考文献]

- [1] 谭辉, 马超英, 陈熙, 等. 枸骨不同药用部位的显微特征研究 [J]. 现代中药研究与实践, 2017, 31 (6): 11-14.
- [2] 马良琼, 曾慧, 罗彩霞, 等. 枸骨 IcFPS1 基因的克隆、表达及生物信息学分析 [J]. 广西植物, 2019, 39 (3): 328-335.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 452.
- [4] 祝蕾, 严辉, 刘培, 等. 药用植物根际微生物对其品

- 质形成的影响及其作用机制的研究进展 [J]. 中草药, 2021, 52 (13): 4064-4073.
- [5] 刘京伟, 李香真, 姚敏杰. 植物根际微生物群落构建的研究进展 [J]. 微生物学报, 2021, 61 (2): 231-248.
- [6] 邵秋雨, 董醇波, 韩燕峰, 等. 植物根际微生物组的研究进展 [J]. 植物营养与肥科学报, 2021, 27 (1): 144-152.
- [7] 申建波, 白洋, 韦中, 等. 根际生命共同体: 协调资源, 环境和粮食安全的学术思路与交叉创新 [J]. 土壤学报, 2021, 58 (4): 805-813.
- [8] 张瑞福. 根际微生物: 农业绿色发展中有作为的植物第二基因组 [J]. 生物技术通报, 2020, 36 (9): 1-2.
- [9] 宋利沙, 蒋妮. 肿节风黑斑病拮抗真菌 *zjts7* 的抑菌作用测定与鉴定 [J]. 中国现代中药, 2018, 20 (11): 1392-1395.
- [10] 刘佳惠. E β F 与 MeSA 混合缓释剂的研制及其对麦蚜的控制作用 [D]. 泰安: 山东农业大学, 2020.
- [11] 王智. 辽宁省不同地区番茄灰霉病菌抗药性研究 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2016.
- [12] 马东丽, 石玉星, 张宝俊, 等. 植物内生细菌 MY1 的分离、鉴定及其防治效果 [J]. 山西农业科学, 2020, 48 (11): 1841-1846.
- [13] 宋利沙, 蒋妮, 张占江, 等. 草珊瑚炭疽病拮抗细菌的鉴定及其抑菌机理 [J]. 微生物学通报, 2020, 47 (10): 3266-3276.
- [14] 宋利沙, 蒋妮, 蓝祖裁, 等. 肿节风炭疽病拮抗真菌筛选及作用机理研究 [J]. 南方农业学报, 2019, 50 (10): 2214-2221.
- [15] BERDY J. Thoughts and facts about antibiotics; where we are now and where we are heading [J]. The Journal of Antibiotics, 2012, 65 (8): 385-395.
- [16] 王强. 海洋链霉菌 IMB094 和糖单孢菌 7-98-1 活性代谢产物研究 [D]. 北京: 北京协和医学院, 2017.
- [17] 张思琦, 王剑, 兰英, 等. 抗菌活性放线菌的界面微滴移液互作分离筛选方法 [J]. 微生物学通报, 2021, 48 (1): 325-335.
- [18] 杨勇, 李昆太. 放线菌资源及其活性物质研究概述 [J]. 生物灾害科学, 2019, 42 (1): 7-14.
- [19] 姜爽, 崔健丽, 朴喜航, 等. 紫花地丁根际菌的筛选鉴定及活性物质初步研究 [J]. 吉林中医药, 2018, 38 (11): 97-100.
- [20] 云天艳, 冯仁军, 陈宇丰, 等. 木薯根际放线菌的分离鉴定及其抑菌活性分析 [J]. 江苏农业科学, 2016 (4): 166-171.
- [21] 张健, 曹成亮, 蒋继宏, 等. 毛泡桐内生放线菌及根际放线菌的筛选、鉴定及代谢产物分析 [J]. 江苏农业学报, 2018, 34 (4): 775-782.
- [22] 郭新东. 根际放线菌次级代谢产物及其生物活性研究 [D]. 兰州: 兰州交通大学, 2021.
- [23] KIESER T, BIBB M J, BUTTNER M J, et al. Practical streptomyces genetics [M]. Norwich: John Innes Foundation, 2000.
- [24] 杨本寿, 尹敏, 肖正群, 等. 自溶链霉菌遗传操作研究 [J]. 云南大学学报 (自然科学版), 2010, 32 (6): 724-732.
- [25] 中国科学院微生物研究所放线菌分类组. 链霉菌鉴定手册 [M]. 北京: 科学出版社, 1975.
- [26] 张琳, 常恺莉, 姚感, 等. *Streptomyces albireticuli* 和 *Streptomyces albofusus* 次级代谢产物的研究进展 [J]. 中国抗生素杂志, 2021, 46 (2): 89-96.
- [27] 马东. 细黄链霉菌 AMYa-008 固态发酵工艺优化及生防微生态菌剂的开发 [D]. 济南: 齐鲁工业大学, 2018.
- [28] 王游游, 蒋继志, 田荟遥, 等. 拮抗放线菌 Sy11 菌株感应的致病疫霉信号分子初步研究 [J]. 作物杂志, 2017, 33 (4): 150-154.
- [29] 王磊. 一株稀有放线菌的分离鉴定和抑菌活性的研究 [D]. 广州: 暨南大学, 2011.
- [30] 蒋欣陶, 梁春浩, 臧超群. 葡萄霜霉病菌拮抗放线菌 QH94 发酵滤液的稳定性研究 [J]. 辽宁农业科学, 2018 (2): 19-24.
- [31] 吴翔, 谭昊, 彭卫红. 抑制烟草青枯病的 3 株放线菌筛选及鉴定 [J]. 农业生物技术学报, 2021, 29 (2): 12.
- [32] 张琪, 李春强, 王斌, 等. 5406 放线菌对茄子、圣女果种子萌发及幼苗生长的影响 [J]. 分子植物育种, 2018, 16 (10): 3333-3342.
- [33] 卢洋洋. 不同菌种组合对牛粪好氧堆肥发酵的影响研究 [D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2019.