

# 放线菌 Yn168 菌种鉴定及其发酵条件 对抗病毒活性的影响

田兆丰<sup>1</sup>,刘 霆<sup>1</sup>,张涛涛<sup>1</sup>,李永丹<sup>2</sup>,董 丹<sup>1</sup>,刘伟成<sup>1</sup>

(1.北京市农林科学院 植物保护环境保护研究所,北京 100097;2.中国农业大学 植物保护系,北京 100094)

**摘要:**通过对一株具有广谱抗病毒活性的放线菌菌株 Yn168 的形态、培养特征、生理生化特征及 16S rDNA 序列分析,对该放线菌进行了菌种鉴定,并研究了不同发酵条件对该菌发酵液抗病毒活性的影响。鉴定结果表明,该菌株为一株小链霉菌(*Streptomyces parvus*)。不同发酵条件下发酵液抗病毒活性检测表明,当种子培养 24 h、种子液接种量为 8%、培养温度为 28 ℃、初始 pH 值为 7.0、摇床转速为 200 r/min 时,发酵液对烟草花叶病毒(Tobacco mosaic virus, TMV)的抑制活性最强,枯斑抑制率在 86% 以上。

**关键词:**放线菌;菌种鉴定;抗病毒活性;发酵条件

**中图分类号:**Q917.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-7091(2013)06-0204-05

## Strain Identification of Actinomycetes Yn168 and Influence of Its Fermentation Condition on Antiviral Activity

TIAN Zhao-feng<sup>1</sup>,LIU Ting<sup>1</sup>,ZHANG Tao-tao<sup>1</sup>,LI Yong-dan<sup>2</sup>,DONG Dan<sup>1</sup>,LIU Wei-cheng<sup>1</sup>

(1. Institute of Plant and Environment Protection, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100097, China; 2. Department of Plant Protection, China Agriculture University, Beijing 100094, China)

**Abstract:** A actinomycete strain Yn168 with broad-spectrum antiviral activity was identified as *Streptomyces parvus* by culture characteristics, physiological and biochemical characteristics, and 16S rDNA sequence analysis. Also, the influence of different fermentation conditions on antiviral activity of the fermentation broth was studied. The experiment results indicated that the antiviral activities of the fermentation broth was optimal when the strain age was 24 h, inoculum was 8%, temperature was 28 ℃, initial pH was 7.0, rotary shaker was at 200 r/min. And the virus inhibition rate was above 86% by tobacco mosaic virus (TMV) necrosis test.

**Key words:** Actinomycete; Strain identification; Antiviral activity; Fermentation conditions

作物病毒病害的防治历来是困扰农业生产和科研的大难题,一旦发病则采取“拔、挖、砍”的办法。化学抗病毒农药的应用已有 20 多年的研究和应用历史,但是,由于长期大量的应用,带来了环境污染、生态平衡、人畜健康和安全问题等诸多负面效应。近年来,科学家已把目光投向了生物制剂的研发和应用上,并已有部分产品得到了应用<sup>[1]</sup>。但其中仍有多数生防制剂防治效果不稳定、可操作性差,持久有效的抗病毒生物制剂仍十分缺乏。因此,开发高效的绿色环保抗病毒制剂已成为提高农产品产量和品质的当务之急。

农用抗生素是由微生物代谢产生的化学物质,除具备一般化学农药的通性外,还因其是生物合成的天然产物,施用后易被土壤中的微生物分解,具有环境相容性好,活性高,使用剂量低,对非靶标生物影响小,不致破坏生态平衡等特点<sup>[1-2]</sup>,它的研究最初盛行于欧美各国。从 20 世纪 50 年代起,日本也开始了农用抗生素的研究,并首次将稻瘟素 S(Blas-ticidin-S)成功应用于取代有机汞制剂防治稻瘟病,此后,农抗的研究应用在全球范围内得到了迅速发展。链霉菌(*Streptomyces*)是产生抗生素最多的重

收稿日期:2013-06-18

基金项目:北京市自然科学基金项目(6122017);北京市农林科学院科技创新基金项目(KJCX201101001);北京市科技计划课题项目(Z121100001212002)

作者简介:田兆丰(1966-),女,山西榆社人,副研究员,博士,主要从事植物病毒及其生物防治研究。

通讯作者:刘伟成(1959-),男,辽宁凌源人,研究员,博士,主要从事植物真菌病害及其生防微生物研究。

要微生物类群。研究表明,抗生素主要由放线菌产生<sup>[3-5]</sup>,而其中 90% 又由链霉菌产生。目前临床上应用的抗生素约三分之二来源于链霉菌<sup>[6-7]</sup>。一直以来,链霉菌中不断有新的抗菌活性物质被分离出来<sup>[8-9]</sup>,但有关抗病毒抗生素的研究报道非常有限,王艳红等<sup>[10]</sup>2006 年报道了噬肽毒素的又一抗病毒活性成分,司书毅<sup>[11]</sup>2000 年报道了极长链霉菌 16704 发酵液中的巴菲霉素(Bafilomycin)在医药领域有抗疱疹病毒(HSV)活性;我国商品化的防治植物病毒效果良好的抗病毒抗生素有宁南霉素和噬肽毒素<sup>[12-13]</sup>,分别为诺尔斯链霉菌西昌变种(*S. noursei* var. *Xichangensis*)和不吸水链霉菌(*Streptomyces achyrosopicus*)产生,其有效活性成分均为胞嘧啶核苷类抗生素。

小链霉菌是 Krinsky 在 1914 年首先分离并命名的,之后有人发现了能产生抗细菌活性物质的小链霉菌菌株<sup>[14-15]</sup>。但到目前为止,能够产生抗植物病毒活性物质的该菌株尚未见报道。本研究对一株具有广谱抗病毒效果的放线菌 Yn168 进行了菌种鉴定,并探索了发酵条件对其抗病毒活性的影响,旨在为抗病毒活性物质的分离、纯化、鉴定及产品的开发奠定基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 培养基

高氏 1 号斜面保存培养基(%):淀粉 2.0 g,琼脂 1.2 g, KNO<sub>3</sub> 0.1 g, NaCl 0.05 g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.05 g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.05 g, FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.001 g, 水 100 mL, pH 值 7.4~7.6(121 ℃, 30 min 灭菌)。

种子培养基(%):葡萄糖 2.0 g, NaCl 1.0 g, 蛋白胨 0.6 g, 酵母粉 0.1 g, 水 50 mL, pH 值自然(121 ℃, 30 min 灭菌)。

发酵培养基(%):可溶性淀粉 4.0 g, 葡萄糖 4.0 g, 黄豆粉 3.0 g, 蛋白胨 1.5 g, 酵母粉 0.5 g, NaCl 0.2 g, CaCO<sub>3</sub> 0.5 g, pH 值自然(121 ℃, 30 min 灭菌)。

供试毒源:烟草花叶病毒(Tobacco mosaic virus, TMV),生防微生物实验室保存。

供试植物:枯斑三生烟(*N. tabacum* cv. Samsun NN)。

### 1.2 放线菌 Yn168 的保存

放线菌 Yn168 首先在高氏 1 号斜面培养基上培养,黑暗条件下 28 ℃ 培养 15 d。取出后置于 4 ℃ 保存。

### 1.3 放线菌 Yn168 的菌种鉴定

1.3.1 形态特征 参照《放线菌的分类和鉴定》中

有关内容进行。在 GYM 琼脂和燕麦粉琼脂上, 28 ℃ 插片培养 7 d 后取片,用常规方法观察菌体的形态特征。

1.3.2 培养特征 在高氏合成 1 号琼脂、ISP4 琼脂、GYM 琼脂、Bennett's 琼脂、酵母淀粉琼脂和燕麦粉琼脂 6 种培养基上 28 ℃ 培养 7~14 d 后,观察菌丝体的颜色及可溶性色素。

1.3.3 生理生化特征 参照《放线菌的分类和鉴定》和《Bergey's Manual of Systematic Bacteriology》Vol. II 的相关内容进行生理生化的鉴定。

1.3.4 16S rRNA 基因序列分析 用溶菌酶法从新鲜菌体提取基因组 DNA,采用通用引物进行 16S rDNA 扩增,PCR 产物经检测、纯化后直接用 Taq DyeDeoxy Terminator Cycle Sequencing Kit 测序,电泳及数据收集用 Applied Biosystems DNA Sequencer (model 3730)自动进行。所测的 16S rDNA 序列经校对、拼接后与 GenBank 数据库中相关种属的序列进行 BLAST 比较,以确定该菌株的分类地位。

### 1.4 发酵条件对 Yn168 发酵滤液抗病毒活性的影响

1.4.1 种龄及接种量对 Yn168 抗病毒活性的影响

放线菌 Yn168 新鲜孢子接种种子培养基,依次培养 12, 18, 24, 30, 36, 42 h 后,分别取不同培养时间的种子培养液 5 mL 按 8% 的接种量接入发酵培养基中,在 28 ℃, 200 r/min 条件下恒温振荡培养 6 d。然后通过枯斑钝化试验,检测发酵滤液对 TMV 的抑制活性<sup>[16]</sup>。

放线菌 Yn168 用种子培养基培养 24 h 后,在 500 mL 三角瓶中,分别以 2%, 4%, 6%, 8%, 10%, 12% 的接种量接入 100 mL 发酵培养基中,在 28 ℃, 200 r/min 条件下恒温振荡培养 6 d。然后通过枯斑钝化试验,检测发酵滤液对 TMV 的抑制活性<sup>[16]</sup>。

1.4.2 发酵温度、pH 值及摇床转速对 Yn168 抗病毒活性的影响 种子培养 24 h 后,以 8% 的接种量,接入装有 100 mL 发酵培养基的 500 mL 三角瓶中,分别在 25, 26, 28, 30, 32 ℃ 条件下,以 200 r/min 转速恒温振荡培养 6 d。然后通过枯斑钝化试验,检测发酵滤液对 TMV 的抑制活性<sup>[16]</sup>。

用 0.5 mol/L HCl 和 0.5 mol/L NaOH 将发酵液的 pH 值分别调整为 5, 6, 7, 8, 9。在容量为 500 mL 的三角瓶中分别装入不同 pH 值的发酵培养基 100 mL,再以 8% 接种量接种培养 24 h 的种子培养基。在 28 ℃ 条件下,以 200 r/min 转速恒温振荡培养 6 d。然后通过枯斑钝化试验,检测发酵滤液对 TMV 的抑制活性<sup>[16]</sup>。

种子培养 24 h 后,以 8% 的接种量,接入装有 100 mL 发酵培养基的 500 mL 三角瓶中,分别在 160,180,200,220,240 r/min 转速下,28 ℃ 恒温振荡培养 6 d,然后通过枯斑钝化试验,检测发酵滤液对 TMV 的抑制活性<sup>[16]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 放线菌 Yn168 的菌种鉴定

2.1.1 菌株的培养、形态特征及生理生化特征 菌株 Yn168 革兰氏染色阳性,在 GYM 琼脂、酵母淀粉琼脂、燕麦粉琼脂等培养基上生长 7 d 后,基内菌丝发育良好,无横隔,不断裂;气生菌丝生长良好、多分

支;产生柔曲至松散螺旋状孢子丝,孢子球形至卵圆形、光滑(图 1),这些特征与链霉菌一致。菌株 Yn168 的培养特征见表 1,生理生化特征见表 2。

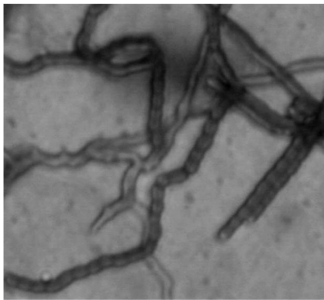


图 1 菌株 Yn168 的形态特征

Fig. 1 Morphological characteristics of Yn168 strain

表 1 菌株 Yn168 的培养特征

Tab. 1 Culture characteristics of Yn168 strain

培养基 Culture medium	气生菌丝 Aerial mycelium	基内菌丝 Substrate mycelium	可溶色素 Soluble pigment
高氏合成 1 号琼脂 Gause's synthetic agar medium No. 1	白色	微黄色	—
ISP4 琼脂 ISP4 agar	白色	淡黄色	—
GYM 琼脂 GYM agar	白至微黄色	土黄色	—
Bennett's 琼脂 Bennett's agar	白色	淡黄色	—
酵母淀粉培养基 Yeast starch culture medium	白色	淡黄色	—
燕麦粉(琼脂) Oatmeal agar	白色	淡黄	—

表 2 菌株 Yn168 的生理生化特征

Tab. 2 Physiological and biochemical characteristics of Yn168 strain

碳源利用 Carbon source utilization	结果 Result	其他特征 Other characteristics	结果 Result
葡萄糖 Glucose	+	明胶液化	+
阿拉伯糖 Arabian sugar	+	淀粉水解	—
半乳糖 Galactose	+	硝酸盐还原	+
蔗糖 Sucrose	—	类黑色素产生	—
棉籽糖 Cotton seed sugar	+	纤维素降解	+
鼠李糖 Rhamnose	+	酪氨酸降解	—
果糖 Fructose	+	牛奶凝固	—
乳糖 Lactose	+	牛奶胨化	+
肌醇 Inositol	+	H <sub>2</sub> S 产生	—

注: +. 阳性结果; -. 阴性结果。

Note: +. Positive result; -. Negative result.

2.1.2 菌株 Yn168 的 16S rDNA 基因序列分析 菌株 Yn168 的 16S rDNA 序列与 GenBank 中相关序列进行 Blast 比较,结果表明,该菌株属于链霉菌属,与小链霉菌的序列一致,相似性为 100%。结合该菌株的培养特征、形态及生理生化特征,确定该菌株为一株小链霉菌(图 2)。

### 2.2 发酵条件对小链霉菌 Yn168 发酵滤液抗病毒活性的影响

2.2.1 种龄及接种量对小链霉菌 Yn168 发酵滤液抗病毒活性的影响 适宜种龄和接种量会在很大程度上影响发酵效果。通常适接种的种龄是菌体处于对数生长的中后期,用对数生长期的菌体接种进

行发酵,菌体相对浓度较高,生长迅速,有利于缩短发酵周期,同时可直接影响发酵的代谢产物。接种量过低,菌体生长阶段相对延长,菌体浓度降低,不利于活性物质的产生和积累,接种量过高,造成培养基基质浓度改变,而且菌体浓度过大,对摇瓶发酵过程中的溶氧状况也会产生一定的影响,从而影响代谢产物的产生。试验结果表明,小链霉菌 Yn168 种子培养 24 h,在 500 mL 三角瓶中发酵培养基装量为 100 mL,种子液接种量为 8% 时,发酵液对 TMV 的抑制活性达最大值(表 3)。所以,在后面的试验中均采用种子培养 24 h,以 8% 的接种量将其接入发酵培养基中。

GCAAGTCGAA CGATGAAACC GCTTCGGTGG TGGATTAGTG GCGAACGGGT GAGTAACACG 60  
TGGGCAATCT GCCCTTCACT CTGGGACAAG CCCTGGAAAC GGGGTCTAAT ACCGGATAAC 120  
ACTCTGTCCC GCATGGGACG GGGTTGAAAG CTCCGGCGGT GAAGGATGAG CCCGCGGCCT 180  
ATCAGCTTGT TGGTGGGGTA ATGGCCTACC AAGGCGACGA CGGGTAGCCG GCCTGAGAGG 240  
GCGACCGGCC ACAC TGGGAC TGAGACACGG CCCAGACTCC TACGGGAGGC AGCAGTGGGG 300  
AATATTGCAC AATGGGCGAA AGCCTGATGC AGCGACGCCG CGTGAGGGAT GACGGCCTTC 360  
GGGTTGATTA CCTCTTTCAG CAGGGAAGAA GCGAAAGTGA CGGTACCTGC AGAAGAAGCG 420  
CCGGCTAACT ACGTGCACG AGCCGCGGTA ATACGTAGGG CGCAAGCGTT GTCGGAATT 480  
ATTGGGCGTA AAGAGCTCGT AGCGGGCTTG TCACGTCGGA TGTGAAAGCC CGGGGCTTAA 540  
CCCCGGGTCT GCATTCGATA CGGGCTAGCT AGAGTGTGGT AGGGGAGATC GGAATTCTCTG 600  
GTGTAGCGGT GAAATGCGCA GATATCAGGA GGAACACCCG TGGCGAAGGC GGATCTCTGG 660  
GCCATTACTG ACGCTGAGGA GCGAAAGCGT GGGGAGCGAA CAGGATTAGA TACCTTGTA 720  
GTCCACGCCG TAAACGTTGG GAAC TAGGTG TTGGCGACAT TCCACGTCGT CGGTGCCGCA 780  
GCTAACGCAT TAAGTTCGCC GCCTGGGGAG TACGGCCGCA AGGCTAAAC TCAAAGGAAT 840  
TGACGGGGGC CCGCACAAAG AGCGGAGCAT GTGGCTTAAT TCGACGCAAC GCGAAGAACC 900  
TTACCAAGGC TTGACATATA CCGGAAAGCA TCAGAGATGG TGCCCCCTT GTGGTCGGTA 960  
TACAGGTGGT GCATGGCTGT CGTCAGCTCG TGTCTGAGA TGTGGGGTTA AGTCCCAGCA 1020  
CGAGCGCAAC CCTTGTTCG TGTGTCCAGC ATGCCCTTCG GGGTGATGGG GACTCACAGG 1080  
AGACTGCCGG GGTC AACTCG GAGGAAGGTG GGGACGACGT CAAGTCATCA TGCCCCTTAT 1140  
GTCCTGGGCT GCACACGTCG TACAATGGCC GGTACAATGA GCTGCGATGC CGCGAGGCGG 1200  
AGCGAATCTC AAAAAGCCGG TCTCAGTTCG GATTGGGGTC TGCAACTCGA CCCATGAAG 1260  
TCGGAGTTGC TAGTAATCCG AGATCAGCAT TGCTGCGGTG AATACGTTCC CGGGCCTTGT 1320  
ACACACCGCC CGTCACGTCA CGAAAGTCGG TAACACCCGA AGCCGGTGGC CCAACCCCTT 1380  
GTGGGAGGGA GC 1392

图 2 小链霉菌 Yn168 的 16S rDNA 序列

Fig. 2 16S rDNA sequence of Streptomyces parvus Yn168

表 3 种龄及接种量对 Yn168 发酵滤液抗病毒活性的影响

Tab. 3 Antiviral activity of Yn168 fermentation broth influenced by inoculation doses and seed cultivation time			
种子培养时间/h	平均抑制率/%	接种量/%	平均抑制率/%
Seed cultivation time	Mean inhibition rate	Inoculation doses	Mean inhibition rate
12	64. 41B	2	50. 92C
18	65. 36B	4	66. 66B
24	86. 52A	6	72. 45B
30	69. 28B	8	90. 23A
36	68. 14B	10	65. 98B
42	66. 38B	12	63. 25B

注：试验结果为 3 次重复的平均值；表中大写字母表示试验结果采用邓肯氏新复极差分析法在  $P < 0.01$  水平上的差异显著性。表 4 同。  
Note: The results were the average from three times of repetition; The capital letters represent the significance differences at  $P < 0.01$  level by Duncan's new multiple range test. The same as Tab. 4.

2.2.2 发酵温度、pH 值及摇床转速对 Yn168 发酵滤液抗病毒活性的影响 发酵温度对菌体代谢产物的影响是非常重要的。温度一方面影响各种酶促反应的快慢,另一方面影响发酵液的物理性质如黏度、基质和溶氧情况。因此,合理选择和控制发酵温度对生物活性物质的产生具有重要意义;pH 值是一项重要的发酵参数,发酵液 pH 值影响微生物细胞原生质体的电荷,并引起各种酶活力的改变,从而对菌体的生长和产物的积累有很大的影响;通气量也是影响菌体发酵的重要因素之一,在摇瓶发酵过程中,通气量通常用摇床转速来表示。转速太小溶氧量不

足,会影响发酵过程中的生化代谢反应,转速太高时瓶壁对菌体的剪切力增加而影响菌体的正常生长,不利于活性物质的产生和积累。试验结果表明,小链霉菌 Yn168 种子培养 24 h,在 500 mL 三角瓶中发酵培养基装量为 100 mL,种子液接种量为 8%,培养温度为 28 ℃,转速为 200 r/min 时,发酵液抑制病毒的活性最强(表 4)。方差分析结果表明,pH 值 5~9 时,病毒抑制率差异显著性十分明显,说明发酵过程中活性物质的产生对 pH 值比较敏感,而最适宜的 pH 值为 7(表 4)。

表 4 发酵温度、pH 值及摇床转速对 Yn168 发酵滤液抗病毒活性的影响

Tab. 4 Influence of antiviral activity of Yn168 fermentation broth by temperature, rotation rate and pH					
温度/℃	平均抑制率/%	转速/(r/min)	平均抑制率/%	pH	平均抑制率/%
Temperature	Mean inhibition rate	Revolutions per minute	Mean inhibition rate		Mean inhibition rate
25	56. 63C	160	53. 10C	5	32. 32D
26	70. 98B	180	68. 53B	6	55. 66C
28	91. 50A	200	87. 72A	7	94. 32A
30	62. 85cB	220	69. 55B	8	71. 92B
32	50. 45C	240	61. 39BC	9	51. 27C

### 3 讨论

自抗生素问世以来,抗生素已广泛应用于许多细菌性感染的疾病上,链霉菌是放线菌中产生抗生素最多的微生物类群,一直以来,不断有新的抗菌活性物质被分离出来<sup>[17-18]</sup>。尽管过去对链霉菌及其产生的抗生素研究很广,但对这些菌株及其产生的抗生素的抗病毒活性了解甚少。近年来,随着人们对微生物资源利用研究的深入和发展,也有一些具有抗菌活性的小链霉菌被分离出来<sup>[14-15]</sup>。但到目前为止,能够产生抗植物病毒活性物质的该菌菌株为首次报道。

由于病毒不能人工培养,在药物筛选方法上受到很大程度的制约。所以,治疗病毒感染的药物十分稀缺。目前我国实用化的农用抗病毒抗生素品种仅为宁南霉素和噬肽霉素2种<sup>[12-13]</sup>。所以,防治病毒病的高效、低毒的农用抗病毒抗生素十分稀缺<sup>[19-20]</sup>。本研究从土壤放线菌中筛选出几株性状良好的拮抗性放线菌菌株,我们对部分拮抗菌株 Yn168、A02 等的代谢物特意进行了抗病毒筛选试验,发现放线菌菌株 Yn168、A02 具有良好的抗病毒侵染的活性。其中,放线菌菌株 Yn168 鉴定为小链霉菌,该菌株能够产生高活性的抗病毒代谢产物,经生物测定、血清学测定表明,对烟草花叶病毒(Tobacco mosaic virus, TMV)、黄瓜花叶病毒(Cucumber mosaic virus, CMV)、及马铃薯 Y 病毒(Potato virus Y, PVY)引起的植物病毒病均表现了明显防效<sup>[16]</sup>。

该研究对小链霉菌 Yn168 的基本生物学特性、摇瓶发酵条件进行了初步研究,摸清了抗病毒活性物质产生的最佳发酵条件,为小链霉菌 Yn168 抗病毒活性物质的分离、纯化、化学本质和结构的深入研究奠定了基础。研究结果将有望发现新的抗病毒化合物或揭示已知化合物或其衍生物的新的抗病毒活性,并由此开发出微生物源抗病毒制剂新产品,为控制果蔬病毒病害,减轻病毒病对农作物及果树蔬菜造成的经济损失,降低化学制剂的用量,减少环境污染提供安全高效的农用抗生素产品。

### 参考文献:

- [1] Jarvis P. The current stage and development trend of bio-pesticide [J]. Biopesticide Sciences and Management, 2002, 23(3): 29-30.
- [2] 侯慧,徐汉虹,林壁润,等. 防治植物病害的农用抗生素的研究及应用[J]. 河南农业科学, 2003(11): 28-31.
- [3] 姜怡,唐蜀昆,张玉琴,等. 放线菌产生的生物活性

- 物质[J]. 微生物学通报, 2007, 34(1): 188-190.
- [4] Mellouli L, Ben Ameur-Mehdi R, Sioud S, et al. Isolation, purification and partial characterization of antibacterial activities produced by a newly isolated *streptomyces* sp. US24 strain [J]. Research in Microbiology, 2003, 154(5): 345-452.
- [5] Ward A C, Horikoshi K, Bull A T. Diversity of actinomycetes isolated from challenger deep sediment (10 898 m) from the mariana Trench [J]. Ectremophiles, 2006, 10(3): 181-189.
- [6] 李欧, 缪克排. 链霉菌次级代谢研究进展[J]. 中国抗生素杂志, 2005, 30(11): 695-698.
- [7] 顾觉奋. 微生物药物研发动态——新技术产、新产品及市场信息[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.
- [8] Harvey A. Strategies for discovering drugs from previously unexplored natural products [J]. Drug Discovery Today, 2000, 5(7): 294-300.
- [9] 龙建友, 胡兆农, 刘京宏, 等. 秦岭山区链霉菌发酵产物杀菌活性的测定[J]. 中国生物防治, 2005, 21(3): 187-191.
- [10] 王艳红, 吴元华, 朱春玉, 等. 噬肽霉素又一抗病毒活性成分的研究[J]. 沈阳农业大学学报, 2006, 37(1): 44-47.
- [11] 司书毅, 姜志贤, 陶佩珍, 等. 抗病毒抗生素 16704A 的研究: I. 产生菌的分类、发酵及活性成分的提取、分离与鉴别[J]. 中国抗生素杂志, 2000, 25(6): 407-411.
- [12] 向固西, 胡厚芝, 陈家任, 等. 一种新的农用抗生素——宁南霉素[J]. 微生物学报, 1995, 35(5): 368-374.
- [13] 赵春秀, 吴元华, 杜春梅, 等. 新型农药噬肽霉素防治番茄病毒病药效[J]. 中国农药学报, 2004, 43(12): 534-536.
- [14] 康银花, 王旻. 抗 MRSA 小链霉菌 NIM521 发酵工艺的优化[J]. 药物生物技术, 2008, 15(3): 208-211.
- [15] 刘伟, 徐涛, 蔡敬民, 等. 海洋小链霉菌 DY2741 抗菌物质的溶解性质及分离纯化[J]. 食品科学: 生物工程, 2010, 31(15): 117-180.
- [16] 田兆丰, 刘伟成, 刘霆, 等. 一株小链霉菌 Yn168 发酵产物抗植物病毒活性的研究[J]. 中国生物防治学报, 2011, 27(4): 569-572.
- [17] Bordoloi G N, Kumari B, Guha A, et al. Potential of a novel antibiotic, 2-methylheptyl isonicotinate, as abiocontrol agent against fusarial wilt of crucifers [J]. Pest Management Science, 2002, 58(3): 297-302.
- [18] 黄霖, 张庆林, 肖凤君, 等. 土壤放线菌 3423 代谢产物的分离纯化及结构鉴定[J]. 中国抗生素杂志, 2007, 32(5): 320-322.
- [19] Sacramento D R, Coelho R R. Antimicrobial and antiviral activities of an actinomycete (*streptomyces* sp) isolated from a Brazilian forest soil [J]. World Journal of Microbiology, 2004, 20(3): 225-229.
- [20] 吴云峰. 生物病毒农药筛选及应用[J]. 世界农业, 1995, 20(5): 35-36.