

链霉菌 182-2 抗真菌活性物质的分离及抑菌特性的初步研究

高芬, 卢赛飞, 王梦亮*

(山西大学应用化学研究所, 太原 030006)

摘要 [目的] 链霉菌 182-2 的发酵液对烟草赤星病有良好的抑制作用, 本文拟对其发酵液中抗真菌活性组分进行初步分离, 并进行抑菌特性研究。[方法] 发酵液经预处理后, 依次用活性炭脱色, 大孔树脂吸附层析分离纯化, 对纯化后活性物质(组分 II) 的抑菌活性进行测定。[结果] 分离纯化结果表明其活性物质中至少含有两种抗真菌活性组分。离体条件下当活性物质浓度为 2 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 对烟草赤星病菌有很强的抑菌作用, 抑菌圈直径达 58.0 mm。目测法测定抗生素作用表明其最小抑菌浓度(MIC)为 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 最小杀菌浓度(MBC)为 160 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。48 h 时对菌丝生长和孢子萌发的抑制率最高, 抑菌中浓度(EC_{50})分别为 31.9 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 42.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。活性组分处理还可导致病原菌菌丝和孢子萌发的芽管变形扭曲或产生大孢囊。[结论] 纯化后的活性物质对烟草赤星病菌具有较强的抑制作用, 有进一步研究利用的价值。

关键词 植物病害生物防治; 链霉菌 182-2; 分离纯化; 活性物质; 抑菌活性

中图分类号: S 476.1; S 482.28 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3969/j.issn.0529-1542.2012.01.014

Preliminary purification and characterization of antifungal substance produced by *Streptomyces* sp. 182-2

Gao Fen, Lu Saifei, Wang Mengliang

(Institute of Applied Chemistry, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

Abstract [Objective] The fermented broth of the strain 182-2 has superior and stable inhibitory effects on *Alternaria alternata* (Fries) Keissler. Studies were conducted to separate and characterize the antifungal substances produced by *Streptomyces* sp. 182-2. [Method] The pretreated fermented broth was decolorized by active carbon absorption and purified by macroporous resin absorbent method. [Result] The fermented broth contained two antifungal components at least. The active component II had obvious *in vitro* inhibitory effects on *A. alternata* at the concentration of 2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ with the diameters of inhibition zones being up to 58.0 mm. The experiments of antibiotic action showed that MIC was 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and MBC was 160 $\mu\text{g}/\text{mL}$. The inhibition rate to mycelial growth and spore germination reached the highest level at 48h after treatment with the active component II, and the values of EC_{50} were 31.9 and 42.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectively. The tubes and hyphae grew abnormally, when the pathogenic spores or hyphae were treated with the component II. [Conclusion] The purified active component II had obvious inhibitory effects on *A. alternata*, which indicated that it is of value to be developed and used.

Key words biocontrol of plant disease; *Streptomyces* sp. 182-2; separation and purification; active substance; antifungus activity

植物病原真菌是危害农作物的主要病原微生物类群, 给农业生产造成巨大的损失^[1]。目前, 化学农药在控制植物病害造成的损失上仍起着主要作用。但是化学农药的大量使用, 已经对人类环境造成了

严重的危害, 并且增加了病害的抗药性^[2]。从天然资源中寻找活性物质代替化学农药和使用天然抗菌化合物保护作物已成为当前研究的重点^[3]。链霉菌 182-2(*Streptomyces* sp. 182-2)产生一种抗真菌抗生

素,其发酵液具有较广的抗菌谱,生物活性明确、高效,具有开发为工业化产品的价值,所以有必要对其进行分离纯化。由于该抗菌活性组分具有水溶性好的特点,用一般的有机溶剂萃取的方法不能从发酵液中将其有效地提取出来^[4]。而用大孔吸附树脂提取抗生素多有报道,且此方法具有吸附容量大、吸附速度快、易解吸、易再生等优点^[5-6],所以本试验采用的方法为活性炭脱色、大孔吸附树脂柱层析纯化等方法对链霉菌 182-2 产生的抗真菌活性物质进行了初步纯化,并对其抑菌特性进行了初步研究。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌株

链霉菌 182-2 菌株由本实验室保存;烟草赤星病菌 [*Alternaria alternata* (Fries) Keissler] 由中国农业科学院烟草研究所惠赠。

1.1.2 主要仪器和材料

仪器: DHL-A 电脑恒流泵(上海青浦沪西仪器厂)。电脑自动部分收集器 DBS-100(上海青浦沪西仪器厂)。HD-9704 紫外检测仪(上海精科实业有限公司)。

试剂: 大孔吸附树脂: X-5、H103、AB-8 购自南开大学化工厂, XAD16、XAD7 购自北京慧德易。活性炭: 购自新华活性炭厂。

1.2 发酵液的预处理

发酵液用草酸(0.5 mol/L)调 pH3.0, 60 ℃ 保温 30 min, 然后 6 000 r/min 离心 10 min 沉降, 取上清液加入等量预冷丙酮, 混合均匀后, 将混合液在水浴中缓缓加热至 50 ℃, 维持 10 min, 冷却至室温, 再次 6 000 r/min 离心 10 min 去除沉淀, 上清旋转蒸发去掉丙酮^[4]。

1.3 抑菌活性测定方法

采用牛津杯法^[7]。将活化的烟草赤星病菌制成孢子悬液(10×15 倍下, 10~20 个/视野), 吸取 300 μL 加入 70 mL 熔融态 PDA 培养基, 制成混菌平板。等距离放置牛津杯, 用移液枪往每个牛津杯中加 200 μL 粗提液, 28 ℃ 恒温培养 48 h 后十字交叉法测量抑菌圈直径, 下面所有抑菌试验均设 3 次重复, 以无菌蒸馏水为对照。

1.4 活性炭吸附法纯化抗菌活性物质

1.4.1 活性炭的筛选

称取处理好的 1.5 mm 柱状活性炭、4 mm 柱状

活性炭、粉末状活性炭和颗粒状活性炭各 1 g, 放入三角瓶中, 加预处理的发酵液 4 mL, 摇床上振摇 4 h (220 r/min, 28 ℃)。测吸附余液抑菌活性。

1.4.2 洗脱剂及浓度的选择

取吸附后的 1.5 mm 柱状活性炭平均分装于 4 个三角瓶中, 分别加入 50%、60% 和 70% 的丙酮, 及 80% 乙醇各 4 mL, 摇床上振摇 4 h (220 r/min, 28 ℃)。测洗脱液抑菌活性。

1.4.3 1.5 mm 柱状活性炭纯化抗菌活性物质

依据上述试验筛选的条件, 取 1.5 mm 柱状活性炭 50 g, 放入三角瓶中, 加 100 mL 预处理的发酵液, 摇床上振摇 4 h (220 r/min, 28 ℃)。吸附完后用等体积的 50% 的丙酮洗脱, 摇床上振摇 4 h (220 r/min, 28 ℃)。测量洗脱液抑菌活性, 并旋转蒸发, 冷冻干燥。

1.4.4 活性炭脱色效果的测定

将经活性炭处理过的抗菌活性物质稀释成不同浓度, 在 480 nm 处测吸光值, 对其进行线性回归, 得回归方程 $y=0.0499x+0.0348$, $r^2=0.9989$, 线性关系良好。于 480 nm 处测定粗提液吸收值, 以吸光度值表示溶液色度的大小。依据公式: 脱色率=(脱色前色度-脱色后色度)/脱色前色度×100%, 计算脱色率^[8]。

1.5 大孔树脂吸附法纯化抗菌活性物质

1.5.1 树脂的筛选

取经过预处理的大孔吸附树脂 H103、X-5、AB-8、XAD7、XAD16 各 1 g, 放入三角瓶中, 分别加入 6 mL 的 2 mg/mL 的粗提液, 摇床上振摇 4 h (220 r/min, 28 ℃), 测吸附余液活性。

1.5.2 洗脱剂的筛选

将吸附后的 H103 树脂倾去余液, 平均置于 6 个三角瓶中, 加入 50%、80% 甲醇; 50%、75% 乙醇; 50%、75% 丙酮各 6 mL, 摇床上振摇 4 h (220 r/min, 28 ℃), 测洗脱液抑菌活性。

1.5.3 洗脱流速对洗脱效果的影响

用吸附饱和的大孔吸附树脂 H103 制备层析柱 3 根(2.0 cm×40 cm), 然后用 50% 的丙酮 160 mL 洗脱, 流速分别为 1.0、1.5、2.0 mL/min, 流出液每 4 mL 收集一管。分别测定各管收集液在 254 nm 下的紫外吸收值。

1.5.4 H103 树脂柱层析纯化抗菌活性物质

H103 树脂经过预处理后装柱(2.0 cm×40 cm), 3 倍体积去离子水平衡。上样 20 mL(浓度 2 mg/mL), 流速 0.5 mL/min。上样完毕, 用去离子水

80 mL 快速冲洗未完全吸附的活性物质后,50%的丙酮洗脱,洗脱体积 160 mL,流速 1.0 mL/min。分部收集洗脱液,4 mL/管。紫外吸收法和牛津杯法分别检测每管洗脱液的紫外吸收和抑菌活性,并绘制洗脱曲线。合并同一洗脱峰中活性高的洗脱液,并将合并液旋转蒸发,冷冻干燥。

1.6 抗菌活性物质对烟草赤星病菌的作用方式

1.6.1 对烟草赤星病菌的抑制作用

将烟草赤星病菌的孢子(10×15 倍下,10~20 个孢子每视野)制成混菌平板,混菌平板制作同 1.3。分别加入经 H103 树脂纯化后的活性物质,使其终浓度分别为 125、250、500、1 000 $\mu\text{g/mL}$ 和 2 000 $\mu\text{g/mL}$,做抑菌活性测定,并在显微镜下观察菌丝形态变化。

1.6.2 对烟草赤星病菌的抗生作用

将 300 μL 烟草赤星病菌孢子液(10×15 倍下,10~20 个孢子每视野)加入 30 mL PD 培养液中,28 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养 24 h 至长出均匀可见菌丝后,将活性物质加入培养液,使其终浓度分别为 10、20、40、80、160 $\mu\text{g/mL}$ 和 320 $\mu\text{g/mL}$ 。继续培养 24 h,肉眼观察未见菌丝生长的最低浓度为最小抑菌浓度(MIC)。然后将菌丝捞出,无菌水充分冲洗,重新放入未加活性物质的 PD 培养液 30 mL 中,再培养 48 h,肉眼观察未见菌丝生长的最低浓度为最小杀菌浓度(MBC)^[9]。

1.6.3 对烟草赤星病菌菌丝生长速率的影响

将活性物质加入定量装好的熔融态 PDA 培养基内,使其终浓度为 6.25、12.5、25、50、100 $\mu\text{g/mL}$ 和 200 $\mu\text{g/mL}$,制成含毒平板,再将培养 7 d 的病菌制成菌饼(直径 6 mm),接入含毒平板中央,28 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养。于 24、48、72 h 时十字交叉法测菌饼的生长情况。计算抑制率和抑菌中浓度(EC_{50})^[10-11]。

1.6.4 对烟草赤星病菌孢子萌发的影响

将活性物质分别配制成一定浓度溶液,取配好的药液 5 mL 与孢子悬浮液(20~40 个/视野)等体积混合后,使活性物质终浓度分别为 6.25、12.5、25、50、100 $\mu\text{g/mL}$ 和 200 $\mu\text{g/mL}$,加入无菌平皿,28 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养。24、48、72 h 时观察孢子萌发情况。拍照观察孢子形态。计算孢子萌发抑制率和抑菌中浓度 EC_{50} ^[10-11]。

上述试验均以无菌蒸馏水为对照,设 3 次重复。

2 结果与分析

2.1 发酵液的预处理

发酵液经草酸酸化和丙酮沉淀两步去除了杂蛋

白和其他杂质,牛津杯法测定抑菌活性后,抑菌圈直径可达 38.4 mm。

2.2 活性炭吸附法纯化抗菌活性物质条件的筛选

2.2.1 活性炭的筛选

吸附余液的抑菌试验结果显示:用 1.5 mm 柱状活性炭处理后,吸附余液的抑菌圈直径最小,用粉末状活性炭处理后的吸附余液抑菌圈最大(图 1)。说明 1.5 mm 柱状活性炭对该活性物质的吸附能力最强。因此,选用 1.5 mm 柱状活性炭进行下步试验。

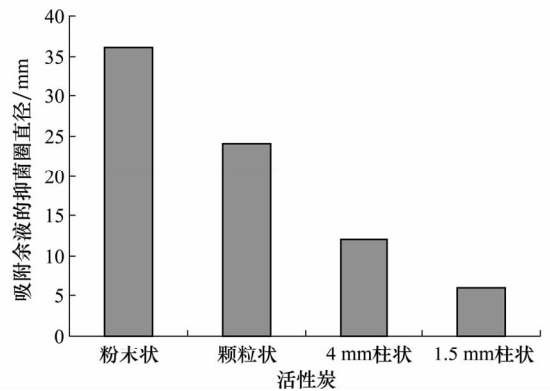


图 1 经不同活性炭处理后吸附余液的抑菌活性

2.2.2 洗脱剂及浓度的选择

洗脱剂的选择结果如图 2 所示,1.5 mm 柱状活性炭经 50% 丙酮、60% 丙酮和 80% 乙醇洗脱后,50% 丙酮的洗脱液抑菌活性最强,可达 35.0 mm。同时发现,50% 丙酮的洗脱液颜色最浅,只有轻微黄色,可见在这一洗脱条件下,抑菌活性物质被较好地洗脱下来,而色素洗脱下来很少。

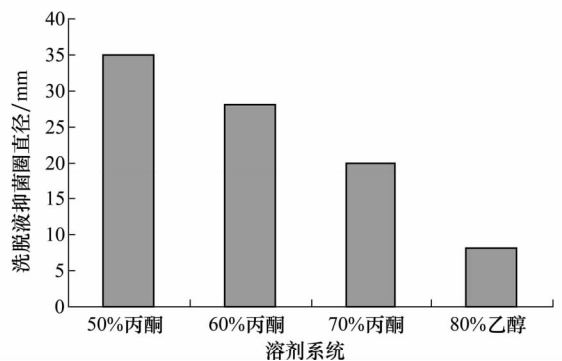


图 2 不同洗脱剂洗脱能力的对比

2.2.3 1.5 mm 柱状活性炭纯化抗菌活性物质

经活性炭纯化后的抗菌活性物质,抑菌圈直径可达到 38 mm。且脱色效果明显,未经处理的活性物质粗提液,颜色为深黄色,经过处理的活性物质液

体较透明澄清,脱色率可达 77%。

2.3 大孔树脂吸附法纯化抗菌活性物质

2.3.1 树脂的选择

树脂筛选结果如图 3 所示,用 H103 树脂处理过的吸附余液的剩余活性最小,而 XAD7 树脂处理过的吸附余液活性最大,这说明 H103 对该活性物质的吸附能力最强。因此,选用 H103 树脂为试验用的树脂。

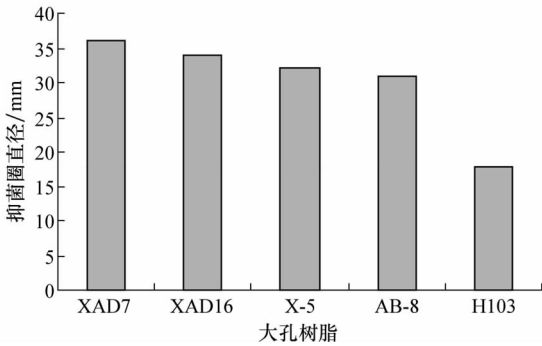


图 3 经不同树脂处理后吸附余液的抑菌活性

2.3.2 洗脱剂的选择

大孔树脂吸附活性物质后,用不同溶剂系统洗脱,50%丙酮的洗脱液抑菌活性最大(图 4),说明该溶剂系统可以把活性物质从树脂上很好地洗脱下来,因此选择 50%丙酮作为大孔树脂吸附后的洗脱剂。

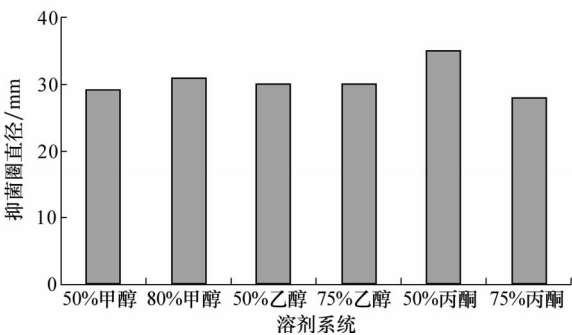


图 4 不同洗脱剂洗脱能力的对比

2.3.3 洗脱流速对洗脱效果的影响

由图 5 可知,洗脱流速对分离效果有一定的影响,洗脱流速为 2 mL/min 时,洗脱曲线峰形较宽,且伴随一定程度的拖尾现象,不利于纯化。当流速为 1 mL/min 时,洗脱峰形最窄,洗脱成分相对集中,样品较好地分离。所以本试验选择洗脱流速为 1 mL/min。

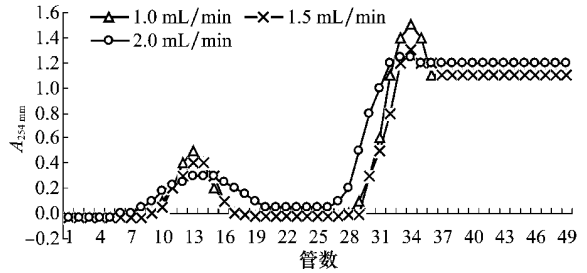


图 5 洗脱流速对洗脱效果的影响

2.3.4 H103 树脂柱层析纯化抗菌活性物质

按上述选择条件进行 H103 柱层析,以每管收集馏分的抑菌活性和在 254 nm 下的紫外吸收为检测指标,在 50%丙酮洗脱下均得到 2 个洗脱峰(图 6),推测至少含有 2 个活性组分。由于洗脱峰 I 抑菌活性小,且收集量较少,因此主要收集洗脱峰 II 为下步研究对象。

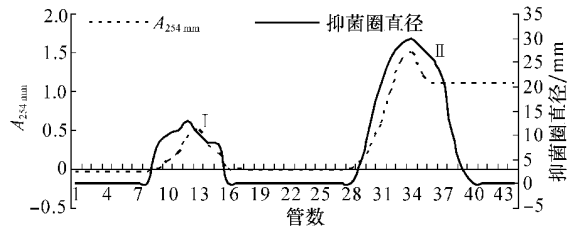
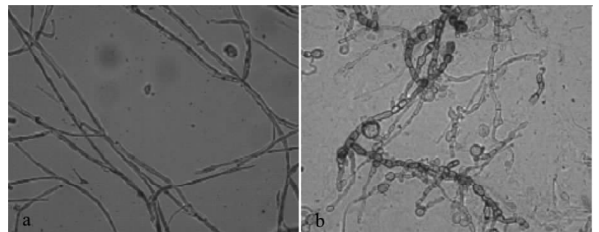


图 6 大孔树脂吸附法纯化抗菌活性物质的洗脱曲线

2.4 抗菌活性物质对烟草赤星病菌的作用方式

2.4.1 对烟草赤星病菌的抑制作用

活性物质的浓度为 125 μg/mL 时,抑菌圈直径只有 13 mm,随着其浓度的增大,抑菌圈直径逐渐增大。当活性物质的浓度为 2 000 μg/mL 时,对烟草赤星病菌的抑菌圈直径可达 58 mm。挑取这部分菌丝显微观察发现:菌丝颜色加深、节间缩短、变形扭曲并且产生大量泡囊,而对照菌丝生长光滑纤细(图 7)。



a: 对照; b: 2 000 μg/mL 抗菌活性物质处理过的菌丝

图 7 抗菌活性物质对烟草赤星病菌的抑菌作用(400×)

2.4.2 对烟草赤星病菌的抗生作用

试验结果表明,当活性物质浓度为 80 μg/mL 时,24 h 后菌丝未见生长。且随着活性物质浓度增

大,变黑的菌丝逐渐增多。将不再生长的菌丝洗去黏附的抗菌活性物质后,加入不含活性物质的 PD 培养液中继续培养 48 h,活性物质浓度为 160 $\mu\text{g}/\text{mL}$,处理过的菌丝没有生长,所以该抗菌活性物质的 MIC 为 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$,MBC 为 160 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

2.4.3 对烟草赤星病菌菌丝生长速率的影响

活性物质对烟草赤星病菌菌丝生长有明显的抑制作用。在相同时间下,抑菌作用随活性物质浓度的增大而增强;在同一浓度下,48 h 时抑制率达到最高,EC₅₀ 为 31.9 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。随时间的延长,抑制率开始呈降低的趋势(表 1)。

表 1 抗菌活性物质对烟草赤星病菌菌丝生长速率的影响

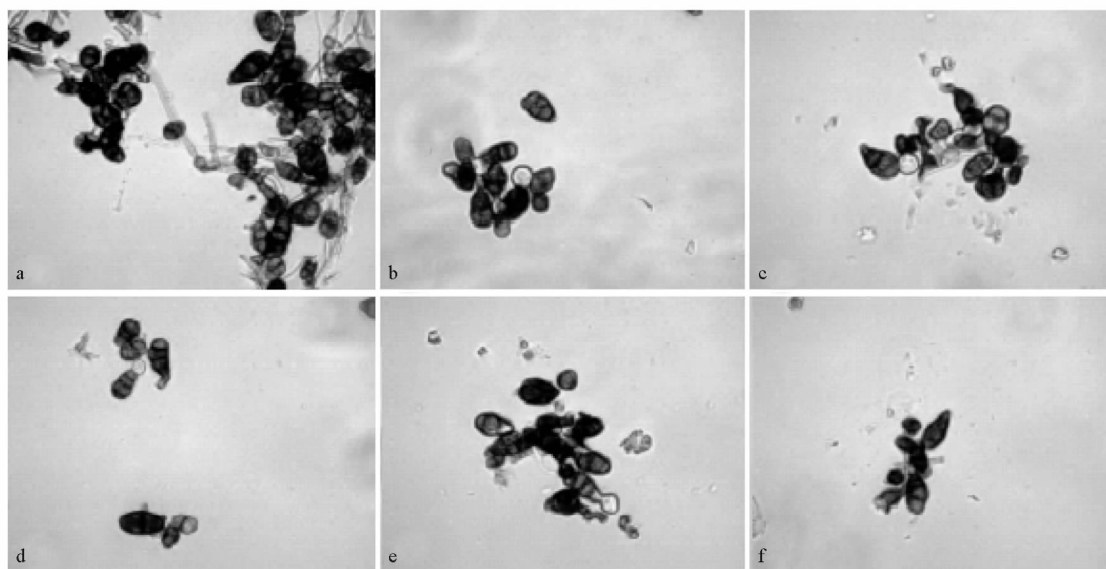
活性物质浓度/ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	相对抑制率/%		
	24 h	48 h	72 h
6.25	10.1±1.2	20.7±3.2	12.1±2.3
12.5	16.1±0.8	36.4±1.6	23.1±1.8
25	21.2±0.5	41.9±0.4	29.5±0.7
50	25.3±1.3	57.0±1.2	32.3±0.9
100	48.0±0.7	68.7±0.9	52.4±0.8
200	63.1±0.9	84.5±0.1	73.1±0.3

2.4.4 对烟草赤星病菌孢子萌发的影响

抗菌活性物质对烟草赤星病菌孢子萌发有明显的抑制作用,在不同时间段内,抑制率随浓度的增大而增大;同一浓度下,48 h 时抑制率达到最高,EC₅₀ 为 42.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$,之后开始下降(表 2)。显微镜观测显示:对照的孢子光滑饱满,萌发出光滑、细长的菌丝。处理的孢子则表面粗糙、甚至变形,萌发出的芽管受到了不同程度的抑制,有的刚萌发即形成大泡囊;当活性物质浓度为 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,出现孢子破裂、原生质体凝集渗漏现象(图 8)。

表 2 抗菌活性物质对烟草赤星病菌孢子萌发的抑制作用

活性物质浓度/ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	相对抑制率/%		
	24 h	48 h	72 h
6.25	7.0±1.2	19.0±1.9	6.3±2.1
12.5	16.0±0.4	31.0±0.5	12.5±0.6
25	30.9±1.2	53.5±1.6	17.3±0.9
50	34.7±0.8	60.1±0.6	20.1±0.7
100	37.1±0.3	62.5±0.7	20.6±0.9
200	38.2±0.2	63.0±0.4	22.3±0.8



a-f 分别代表抗菌活性物质浓度为 0、12.5、25、50、100、200 $\mu\text{g}/\text{mL}$

图 8 抗菌活性物质对烟草赤星病菌孢子萌发的抑制作用(400×)

3 结果与讨论

链霉菌 182-2 发酵液中抗真菌活性组分的抗菌谱较广,对烟草赤星、番茄早疫和苹果斑点落叶等病原菌有明显的抑制作用,具有较好的工业应用价值。针对该抗菌活性物质的理化性质^[12],我们选择了活性炭脱色法和大孔树脂吸附法的粗分离^[13-14]。结果表明 1.5 mm 柱状活性炭具有较好

的脱色作用,且起到了一定的纯化作用。H103 大孔吸附树脂对此活性物质进行分离时,分离效果较好,去掉了大部分的杂质,得到两个活性峰,说明该抗菌活性物质至少有两个活性组分。由于活性峰 I 抑菌活性较弱(这可能与收集到的量较少有关系),所以我们选择活性峰 II 收集,并进行抑菌作用方式的研究。

参考文献

- [1] Zabkiewicz J A, Gaskin R E, Balneaves J M. Effect of additives on foliar wetting and uptake of glyphosate into gorse (*Ulex europaeus*) [C]//1985 BCPC Monogram No. 28 Symposium on Application and Biology, 1985.
- [2] Holloway P J, Silcox D. Behaviour of three nonionic surfactants following foliar application[C]//1985 British Crop Protection Conference-Weeds. BCPC Publications, Croydon, UK, 1985.
- [3] Holloway P J, Wong W C, Partridge H J. Effects of some nonionic polyoxyethylene surfactants on uptake of ethirimol and diclobutrazol from suspension formulations applied to wheat leaves[J]. Pesticide Science, 1992, 34: 109 - 118.
- [4] Nalewaja J D, Matysiak R. Spray deposits from nicosulfuron with salts that affect efficacy[J]. Weed Technology, 2000, 14: 740 - 749.
- [5] Uhlig B A, Wissemeyer A H. Reduction of non-ionic surfactant phytotoxicity by divalent cations[J]. Crop Protection, 2000, 19: 13 - 19.
- [6] 张宇, 张利萍, 郑成. 农药助剂用有机硅表面活性剂的特性及用途[J]. 材料研究与应用, 2008, 2(4): 424 - 426.
- [7] 陈轶, 吕劳富. 有机硅表面活性剂在农药喷雾中的减药节水试验初报[J]. 植物保护, 2008, 34(3): 147 - 149.
- [8] 王仪, 张立塔, 郑斐能, 等. 助剂对高效氯氰菊酯在甘蓝叶片表皮渗透性的影响[J]. 中国农业科学, 2002, 35(1): 33 - 37.
- [9] Yu Y, Zhu H, Ozkan H E. Evaporation of pesticide droplets under various relative humidity conditions[C]. Presentation at

28th Symposium on Pesticide Formulations and Delivery Systems: Global Trends and Regulatory Drivers in the Crop Protection Industry, Tampa, Florida, October 30-November 1, 2007.

- [10] Yu Y, Zhu H, Frantz J M, et al. Evaporation and coverage area of pesticide droplets on hairy and waxy leaves[J]. Biosystems Engineering, 2009, 104: 324 - 334.
- [11] Yu Y, Zhu H, Ozkan H E. Evaporation of pesticide droplets under various relative humidity conditions[J]. J of ASTM International, 2009, 6(1): 1 - 8.
- [12] Yu Y, Zhu H, Ozkan H E, et al. Evaporation and deposition coverage area of droplets containing insecticides and spray additives on hydrophilic, hydrophobic, and crabapple leaf surfaces[J]. Transactions of the ASABE, 2009, 52(1): 39 - 49.
- [13] Zhu H, Yu Y, Derksen R C, et al. Wilde-swath spray application in ornamental nurseries with cannon air jet sprayer[C]//ASABE Paper No. 071069. (American Society Agricultural and Biological Engineers, St. Joseph, MI 49085).
- [14] Zhu H, Yu Y, Ozkan H E, et al. Evaporation and wetted area of single droplets on waxy and hairy leaf surfaces[C]//Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences (Ghent University, Belgium), 2008, 73(4): 711 - 718.
- [15] Zhu H, Yu Y, Ozkan H E, et al. Influence of spray additives on droplet evaporation and residual patterns on wax and wax-free surfaces[C]//ASABE Paper No. 083752. (American Society Agricultural and Biological Engineers, St. Joseph, MI 49085), 2008.

(上接 75 页)

在离体条件下,采用抑制菌丝生长速率法和抑制孢子萌发等方法表明纯化后的活性物质对烟草赤星病原菌具有较强的抑制作用。对该抗菌物质进一步纯化以及结构的研究正在进行中,相信该抗菌活性物质会有很好的发展前景。

参考文献

- [1] 孙强, 闫建芳, 刘秋, 等. 放线菌菌株 MY02 的鉴定及发酵液中抗真菌活性组分的分离[J]. 植物保护, 2007, 33(5): 71 - 74.
- [2] Van Lenter J C. A greenhouse without pesticides: Fact or fantasy[J]. Crop Protection, 2000, 19: 375 - 384.
- [3] 安德荣. 生物制药的原理及方法—抗生素制备[M]. 北京: 中国科学文化出版社, 2002.
- [4] 高芬, 吴元华, 魏颖颖, 等. 拮抗链霉菌 182-2 的抑菌防病作用及抗菌物质的初步鉴别[J]. 中国生物防治, 2008, 24(2): 148 - 153.
- [5] 顾觉奋. 抗生素[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2001.
- [6] Chaubal M V, Payne G F, Reynolds C H, et al. Equilibrium

for the adsorption of antibiotics onto neutral polymeric sorbents: experimental and modeling studies[J]. Biotech Bioeng, 1995, 47: 215 - 226.

- [7] 刘翠娟, 段琦梅, 安德荣. 抗真菌拮抗放线菌的筛选及摇床发酵条件的优化[J]. 微生物学杂志, 2004, 24(4): 12 - 14.
- [8] 宋应华, 朱家文, 陈葵. 红霉素发酵液大孔树脂脱色过程研究[J]. 中国抗生素杂志, 2006, 31(7): 408 - 411.
- [9] 蒋细良, 谢德龄, 倪楚芳. 中生菌素的抗菌作用[J]. 植物病理学报, 1997, 27(2): 133 - 138.
- [10] 方中达. 植病研究方法[M]. 第 3 版. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [11] 田小卫, 龙建友, 白红进, 等. 一株放线菌次生代谢产物抗菌活性的初步研究[J]. 植物保护, 2004, 30(2): 51 - 54.
- [12] 高芬, 穆凌霄, 魏颖颖, 等. 烟草赤星病菌拮抗链霉菌的多重筛选及发酵液理化性质[J]. 华北农学报, 2007, 22(6): 171 - 175.
- [13] 陈宝福, 曹云峰, 孟书丹. 浅析影响活性炭吸附效果的因素[J]. 黑龙江医药, 2004, 17(3): 193 - 194.
- [14] 姬生宝, 范晋勇, 元英进. 藤黄灰链霉菌-H103 发酵液中抗真菌成分分离纯化[J]. 微生物学通报, 2005, 32(3): 77 - 81.