

广谱抑菌物质产生菌 GX-21 的筛选及鉴定

袁林^{1,2}, 吴清平¹, 吴克刚², 张菊梅¹, 莫树平¹, 柏建玲¹

(1. 广东省微生物研究所, 广东省华南应用微生物重点实验室-省部共建国家重点实验室, 广东省菌种保藏与应用重点实验室, 广东省微生物应用新技术公共实验室, 广东广州 510070)

(2. 广东工业大学轻工化工学院食品科学与工程系, 广东广州 510006)

摘要: 本研究在广东省及其周边地区共 11 个采样地点采集土壤样品 156 份, 分离得到放线菌 1026 株。土壤预处理采用碳酸钙富集培养法, 分离采用平板稀释法, 选取高氏一号合成培养基作为分离培养基, 添加 50 mg/L 重铬酸钾作为抑制剂。初筛采用琼脂块法, 选择金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、大肠埃希氏菌、白假丝酵母菌、黑曲霉共 5 种指示菌进行抑菌试验, 共得到 95 株活性菌株。复筛选择初筛的 5 种指示菌加上副溶血性弧菌、铜绿假单胞菌、变形杆菌共 8 种指示菌, 分两级进行复筛: 一级复筛仍采用琼脂块, 得到 19 株活性菌株; 二级复筛采用牛津杯定量扩散法, 得到 5 株优良菌株。对优良菌株 GX-21 进行鉴定, 通过形态特征观察、培养特性观察、生理生化试验和 16S rDNA 序列分析, 确定菌株 GX-21 为多产色链霉菌 (*Streptomyces polychromogenes*)。菌株 GX-21 具有抑菌谱广的特点, 对革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌和真菌均有抑制作用。

关键词: 多产色链霉菌; 抑菌活性; 土壤放线菌; 筛选; 鉴定

文章编号: 1673-9078(2014)12-68-73

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2014.12.012

Screening and Identification of Broad-spectrum Antibiotic-producing Strain GX-21

YUAN Lin^{1,2}, WU Qing-ping¹, WU Ke-gang², ZHANG Ju-mei¹, MO Shu-ping¹, BAI Jian-ling¹

(1. Guangdong Institute of Microbiology, South China State Key Laboratory of Applied Microbiology, Ministry-Guangdong Province Jointly Breeding Base, Guangdong Provincial Key Laboratory of Microbial Culture Collection and Application; Guangdong Open Laboratory of Applied Microbiology, Guangzhou 510070, China) (2. Department of Food Science and Engineering, College of Chemical Engineering and Light Industry, Guangdong University of Technology, Guangzhou 510006, China)

Abstract: A total of 1026 strains of actinomycetes were isolated from 156 soil samples collected from 11 locations in Guangdong Province and its surrounding areas. Soil was pretreated using enrichment culture method with calcium carbonate, and actinomycetes were isolated by plate dilution method. Gause No. 1 synthetic medium was used as the separation medium with 50 mg/L potassium dichromate as the inhibitor. Preliminary antibacterial screening using agar plug method, with five kinds of indicative bacteria including *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, and *Aspergillus niger*, and 95 active strains were identified. Re-screening consisted of two screening levels with eight kinds of indicative bacteria, including the five used in preliminary screening and *Vibrio parahaemolyticus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Protas vulgaris*. The agar plug method used in the first level provided 19 active strains, and the Oxford cup diffusion method in the second level finally provided eight optimal strains. The optimal strain GX-21 was identified as *Streptomyces polychromogenes* based on morphological and cultural characteristics, physiological and biochemical tests, and 16S rDNA sequence analysis. This strain showed broad-spectrum antimicrobial activity, effective against gram-positive and -negative bacteria and fungi.

Key words: *Streptomyces polychromogenes*; antibiotic activity; soil actinomycetes; screening; identification

收稿日期: 2014-06-01

基金项目: 广东省重大专项 (2010A080403005); 广东省科技计划项目 (2012B050800007)

作者简介: 袁林 (1989-), 女, 硕士, 研究方向为食品生物防腐剂

通讯作者: 吴清平 (1962-), 男, 博士, 研究员, 研究方向为食品微生物安全监测与控制技术研究

随着食品工业的迅猛发展, 人们对食品安全的要求也快速提高, 研究开发微生物源食品防腐剂是寻找新型防腐剂的重要方向, 将其应用于食品工业能满足人们对食品安全的迫切需求, 具有广阔的发展前景^[1]。放线菌广泛分布于土壤中, 其物种多样性和代谢多样性极为丰富, 是产生抗生素以及其它重要次级代谢产

物最多的一类微生物资源,具有重大的学术价值和商业价值。因此,具有抑菌活性土壤放线菌的开发利用一直是学者们关注的热点问题^[2]。

国内学者黄大林等从广西北海红树林土壤中筛选到具有抗菌活性的放线菌BH0954,经鉴定为链霉菌属仙台链霉菌的变种^[3];余佳清等从江西井冈山自然保护区发病毛竹中分离到一株具有明显抑制植物病原真菌活性的生防放线菌菌株FXj9,经鉴定为链霉菌属中吸水类群的涂链霉菌^[4]。岳雷娜从广东湛江近海海泥中分离得到135株放线菌,得到活性菌株南-148,初步确定南-148菌株为弗氏链霉菌(*Streptomyces fradiae*)^[5]。在国外的研究中,土壤中抑菌物质产生菌的筛选也以放线菌为主:Atika Meklat等从撒哈拉沙漠中筛选到一株具抑菌活性的放线菌,经鉴定为*Actinopolyspora mortivallis*^[6]; Pachaiyappan Saravana Kumar等从印度土壤中筛选到一株活性放线菌,鉴定为*Actinobacterium Loyola* VAS 10^[7]; Maeen S. Faden从沙特阿拉伯筛选到活性放线菌*Streptomyces rochei*^[8]。广东省地处亚热带,是我国生态系统多样性、生物种类多样性和生物基因多样性非常丰富的地区,蕴藏着极其庞大的放线菌资源,具有巨大的开发和利用潜力。

本研究通过对广东省及其周边地点进行采样,从土壤样品中尽可能多的分离放线菌菌株,通过抑菌试验进行筛选,经过初筛和复筛,得到具抑菌活性的优良菌株,再结合传统的放线菌分类鉴定方法和16S rDNA序列分析,确定菌株的分类地位。旨在建立具抑菌活性土壤放线菌的分离筛选及鉴定方法后,获得具有开发前景的优良活性菌株,以期能为开发新型食品生物防腐剂提供菌种资源。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 土壤样品

在广东省及周边11个采样地点采样,包括黄花岗公园、白云山、肇庆凤凰山、广西梧州菜园、增城菜园、华农园艺园林教学实验基地、九佛水果世界、竹料菜园、阳江大角湾、大夫山、华南植物园,共采集土壤样品156份。

1.1.2 指示菌

指示菌均为标准菌株,由广东省微生物研究所分析检测中心提供。

(1) 筛指示菌:金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*) ATCC6538、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)

ATCC9372、大肠埃希氏菌(*Escherichia coli*) ATCC25922、白假丝酵母菌(*Candida albicans*) ATCC10231、黑曲霉(*Aspergillus niger*) ATCC16404。

(2) 复筛指示菌:金黄色葡萄球菌ATCC6538、枯草芽孢杆菌ATCC9372、大肠埃希氏菌ATCC25922、副溶血性弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*) ATCC17802、铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*) CMCC(B)10104、变形杆菌(*Proteus bacillus vulgaris*) CMCC49027、白假丝酵母菌ATCC10231、黑曲霉ATCC16404。

1.1.3 培养基

(1) 分离培养基:高氏一号合成培养基(广东环凯微生物科技有限公司生产)。

(2) 指示菌培养基:营养琼脂(NA)、马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)、营养肉汤(NB)(广东环凯微生物科技有限公司生产)。

(3) 种子培养基及发酵培养基:高氏一号液体培养基(g/L):可溶性淀粉20, KNO₃ 1, NaCl 0.5, K₂HPO₄·3H₂O 0.5, MgSO₄·7H₂O 0.5, FeSO₄·7H₂O 0.01; pH 7; 121 °C 灭菌20 min。

1.2 实验方法

1.2.1 土壤样品的采集方法

采样前去掉土表覆盖物,用土铲挖取深度为10~20 cm的土壤,均匀取土。将土壤装入紫外照射过的密实袋里封好,编号并注明采土地点、类型及采集时间,用CaCO₃富集培养法进行前处理^[9]。

1.2.2 抑制剂重铬酸钾浓度的确定

经过前处理的土壤样品适当稀释后涂布于高氏一号平板,培养基中杂菌抑制剂重铬酸钾的浓度设定为0~400 mg/L。培养7 d后计算平板上的放线菌、霉菌和细菌的菌落数。

1.2.3 活性菌株的初筛

将分离得到的土壤放线菌用琼脂块法进行初筛,选择5种初筛指示菌。实验方法:用无菌打孔器(内径为6 mm)制作放线菌琼脂块。将琼脂块倒扣在已涂布均匀的指示菌平板上,并在平板背后标记菌株编号。平板置于恒温培养箱中倒置培养,细菌于37 °C培养24 h,真菌于30 °C培养36 h。观察琼脂块周围是否产生抑菌圈,测量抑菌圈直径并记录^[10]。

1.2.4 活性菌株的复筛

1.2.4.1 一级复筛

将初筛得到的土壤放线菌继续进行抑菌活性复筛,选择8种复筛指示菌。为避免初筛的抑菌试验出现假阳性,影响后续的筛选工作,故一级复筛仍采用琼

脂块法,以期得到抑菌能力强且重复性好的优良菌株。

1.2.4.2 二级复筛

发酵液的制备采取分级发酵,量取40 mL种子培养基加入100 mL三角瓶,用八层纱布包好灭菌。将菌株接入种子培养基,在200 r/min 30 °C恒温摇床上震荡培养48 h;按体积分数10%的接种量接入发酵培养液,置于160 r/min 30 °C恒温摇床上震荡培养48 h;再按体积分数10%的接种量接入发酵培养液,置于160 r/min 30 °C恒温摇床上震荡培养120 h。将发酵原液用8000 r/min离心20 min,吸取上清液,用0.22 μm滤膜过滤,得到发酵液^[11]。

二级复筛采用牛津杯定量扩散法,选择8种复筛指示菌。实验方法:制作菌液浓度为 10^7 cfu/mL的指示菌平板,用灭菌镊子夹取牛津杯,底部稍稍过火焰,放置在已涂布均匀的指示菌培养皿上,静置。取100 μL发酵液加入牛津杯底部,并标记菌株编号。将培养皿置于恒温培养箱中培养,细菌于37 °C培养24 h,真菌于30 °C培养36 h。观察牛津杯周围是否产生抑菌圈,测量抑菌圈直径并记录^[6]。

1.2.5 形态特征与培养特性观察

采用插片法,挑取一环经过初筛和复筛的放线菌,在高氏一号平板上划线,将灭菌盖玻片以 45° 插入培养基中,30 °C倒置培养7 d。待菌丝生长到盖玻片上,将盖玻片取出,擦去较差一面的菌丝体,放在载玻片上,直接置于光学显微镜下观察。将筛得菌株的孢子

适当稀释后分别涂布于高氏一号合成培养基和ISP系列琼脂平板上,30 °C下培养7 d,观察气生菌丝与基内菌丝的颜色,有无色素产生。除了色泽,还要观察菌落特征,如菌落表面形状,气生菌丝的形状和生长程度等^[12]。

1.2.6 生理生化反应测定

各项生理生化指标均参考文献^[3]。

1.2.7 16S rDNA 序列测定和系统发育树的构建

采用细菌提取试剂盒提取DNA,得到DNA后进行PCR扩增实验。基因序列的扩增引物采用细菌通用引物:正向,27f;反向,1492r。PCR反应条件:95 °C预变性3 min;94 °C变性1 min;55 °C复性40 s;72 °C延伸2 min,30个循环;72 °C温育10 min;22 °C终止。16S rDNA序列用BLAST方式与数据库中已知相关近缘菌株的16S rDNA序列进行比较,下载菌株相关近缘菌株的16S rDNA序列,采用Clustal X 1.8软件进行多重比对,再用Mega6.0进行聚类分析,采用邻接法(N-J)法,1000次Bootstrap构建系统发育树并分析其系统发育地位^[12]。

2 结果与分析

2.1 土壤放线菌的分离

表1 土壤样品中菌株分离情况

Table 1 Isolation of actinomycetes from soil samples

采样地点	代号	土壤类型	份数/个	分离菌株数/个	菌株编号
黄花岗公园	HH	树林土	10	55	HH-1~HH-55
白云山	BY	森林土、山边土	20	161	BY-1~BY-161
肇庆凤凰山	ZQ	山边土	10	32	ZQ-1~ZQ-32
广西梧州菜园	GX	菜园土、果园土	10	101	GX-1~GX-101
增城菜园	ZC	菜园土	15	142	ZC-1~ZC-142
华农实验基地	JD	森林土、菜园土	25	191	JD-1~JD-191
九佛水果世界	JF	果园土	10	103	JF-1~JF-103
竹料菜园	ZL	菜园土	10	72	ZL-1~ZL-72
阳江大角湾	YJ	沙滩土、路边土	15	39	YJ-1~YJ-39
大夫山	DF	树林土、山边土	20	99	DF-1~DF-99
华南植物园	HN	树林土	11	99	HN-1~HN-31
合计			156	1026	

将土壤悬浊液梯度稀释,涂布于高氏一号平板上,根据放线菌个数及生长情况,选取 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 三个稀释度对同一土样进行放线菌的分离。重铬酸钾作为杂菌抑制剂,能有效抑制土壤中的真菌、细菌的生

长,而对放线菌的抑制作用相对较小。经 10^{-3} 浓度的土壤稀释液进行实验,确定重铬酸钾的最佳用量为50 mg/L。从11个采样地点,累计采集土壤样品156份,分离得到放线菌1026株(表1)。如在白云山分离的10号

菌株, 记做BY-10。

2.2 具抑菌活性土壤放线菌的筛选

2.2.1 具抑菌活性土壤放线菌的初筛

采用琼脂块法将分离得到的土壤放线菌做抑菌活性初筛, 选择5种指示菌, 挑选能产生明显抑菌圈的菌株进行记录, 如图1。初筛共得到95株活性菌株, 其中具有抑制革兰氏阳性菌能力的菌株有81株, 占活性菌株数的85.26%; 具有抑制革兰氏阴性菌能力的菌株有13株, 占活性菌株数的13.68%; 具有抑制真菌能力的菌株有41株, 占活性菌株数的43.16%。

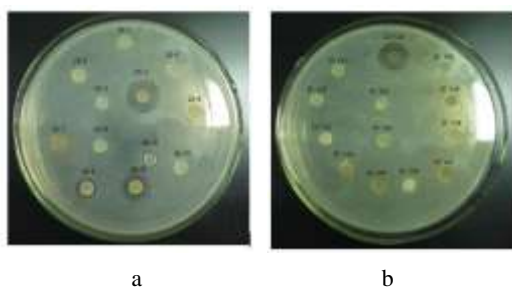


图1 琼脂块法对土壤放线菌初筛

Fig.1 Agar plug method for preliminary screening of soil actinomycetes

注 a) *B.subtilis* used as indicative bacterium b) *S.aureus* used as indicative bacterium.

2.2.2 具抑菌活性土壤放线菌的复筛结果

2.2.2.1 一级复筛

采用琼脂块法, 针对初筛得到的95株土壤放线菌继续进行复筛, 选择8种指示菌, 按抑菌活性强度筛选菌株。本研究认为若菌株满足以下任一条件: 抑制革兰氏阳性菌抑菌圈直径 > 15 mm; 抑制革兰氏阴性菌抑菌圈 > 10 mm; 抑制真菌抑菌圈直径 > 20 mm, 则其抑菌活性强, 可以进行下一步筛选工作。一级复筛共得到19株活性菌株, 其抑菌情况如表2。上述菌株中, 抑制革兰氏阳性菌能力较强的菌株有: BY-28、ZC-34、ZC-136、JD-70、JF-1、JF-99; 抑制革兰氏阴性菌能力较强的菌株有: GX-21、GX-26、ZC-7、ZC-136、ZC-139; 抑制真菌能力较强的菌株有: BY-12、BY-124、ZQ-5、ZQ-12、JD-173; 抑菌谱广的菌株有: GX-21、ZC-139、JD-173。

2.2.2.2 二级复筛

采用牛津杯定量扩散法, 选择8种指示菌。牛津杯周围抑菌圈的大小能直观反映抑菌活性的强度, 如图2。综合抑菌活性强度及抑菌稳定性, 选择BY-28、ZC-34、JF-99、GX-21和JD-173共5株放线菌作为二级复筛得到的优良菌株, 其抑菌活性如表3。这些菌株中,

BY-28、ZC-34和JF-99抑制革兰氏阳性菌能力较强, 也能抑制革兰氏阴性菌, 对真菌无抑制作用; GX-21和JD-173抑制革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌和真菌的能力都很强, 属于抑菌谱广的类型。由于GX-21在初筛和两次复筛中表现出更稳定的抑菌活性, 故选择菌株GX-21进行后续的鉴定工作。

表2 一级复筛得到19株放线菌的抑菌活性

Table 2 Antibacterial activity of the 19 actinomycetes isolates from first level rescreening

菌株 编号	菌株抑制不同指示菌的抑菌圈直径/mm							
	Sau	Bsu	Eco	Pvu	Vpa	Pae	Cal	Ani
BY-12	11.49	7.62	-	7.77	-	-	20.94	23.01
BY-28	19.57	22.38	-	23.85	-	-	-	-
BY-74	-	12.82	-	11.95	-	-	18.29	20.31
BY-124	11.47	-	-	6.92	-	-	22.42	21.52
ZQ-5	9.17	7.68	-	9.08	-	-	22.92	22.01
ZQ-12	8.84	7.13	-	7.32	-	-	24.88	24.63
GX-21	17.13	12.08	10.93	9.17	-	-	9.24	21.39
GX-23	15.94	12.85	-	9.61	-	-	9.02	19.71
GX-26	16.46	13.54	13.19	10.42	-	-	-	21.84
GX-64	-	6.58	-	-	-	-	-	25.06
GX-101	-	10.51	-	7.97	-	-	-	24.21
ZC-7	13.64	14.94	12.21	-	-	-	-	-
ZC-34	16.03	15.63	-	13.19	-	-	-	-
ZC-136	16.01	15.11	10.71	-	-	-	-	9.95
ZC-139	17.43	12.51	10.66	9.45	-	-	9.14	9.63
JD-70	15.76	16.83	-	-	-	-	-	-
JD-173	12.27	9.74	-	7.08	-	-	24.64	23.89
JF-1	17.89	19.83	-	12.05	-	-	9.53	-
JF-99	18.19	18.56	-	13.87	-	-	-	-

注: -, 无抑菌圈产生; 琼脂块直径d=6 mm; Sau,金黄色葡萄球菌; Bsu, 枯草芽孢杆菌; Pvu, 变形杆菌; Vpa, 副溶血性弧菌; Pae, 铜绿假单胞菌; Eco, 大肠埃希氏菌; Cal, 白假丝酵母菌; Ani, 黑曲霉。



图2 牛津杯法对土壤放线菌的二级复筛

Fig.2 Oxford cup diffusion method for second level rescreening of soil isolates

表 3 二级复筛得到 5 株优良菌株的抑菌活性

Table 3 Antibacterial activity of the five optimal strains obtained from second level rescreening

编号	菌株抑制不同指示菌的抑菌圈直径/mm						
	Sau	Bsu	Eco	Pvu	Vpa/Pae	Cal	Ani
BY-28	19.14	20.07	-	14.85	-	-	-
GX-21	19.22	11.32	12.89	9.21	-	10.22	18.31
ZC-34	18.43	15.77	-	13.71	-	-	-
JD-173	12.67	11.44	10.21	8.12	-	22.85	24.01
JF-99	19.55	20.12	-	14.07	-	-	-

注：-，无抑菌圈产生；牛津杯内径直径d=6mm；Sau,金黄色葡萄球菌；Bsu, 枯草芽孢杆菌；Pvu, 变形杆菌；Vpa, 副溶血性弧菌；Pae, 铜绿假单胞菌；Eco, 大肠埃希氏菌；Cal, 白假丝酵母菌；Ani, 黑曲霉。

2.3 广谱抑菌物质产生菌 GX-21 的鉴定

菌株GX-21是从土壤中筛选出的放线菌，其代谢产物能抑制革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌和真菌，具有抑菌谱广的特点。

2.3.1 16S rDNA 序列相似性和系统发育分析

经PCR扩增、BLAST比对后，发现GX-21与链霉菌属的多个种相似性达到99%，构建系统发育树，如图3。菌株 GX-21 与多产色链霉菌 (*Streptomyces polychromogenes*)、玫瑰色链霉菌 (*Streptomyces roseus*) 在同一个分支上，可见他们是同源的，所以初步确定GX-21为以上链霉菌属中的一个种。

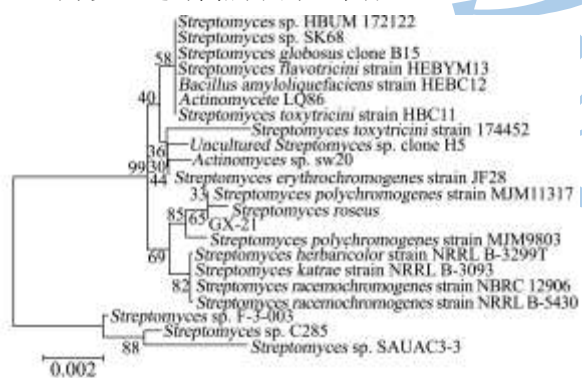


图 3 根据 16S rDNA 序列构建系统发育树

Fig.3 Phylogenetic tree based on partial 16S rDNA sequences

2.3.2 菌株 GX-21 的形态特征

菌株GX-21的营养菌丝体不分割，不断裂为杆状体，在高氏一号合成培养基上气生菌丝丰富（图4）。采用插片法观察菌株GX-21的显微形态，在物镜（40倍）×目镜（10倍）的光学显微镜下观察发现其孢子丝呈螺旋形（图5）。扫描电镜下观察菌株GX-21，发现孢子呈链状形成，符合链霉菌属特征^[13]；孢子丝长、柔曲，有顶端螺旋；孢子呈柱形，大小均一，表面光滑，如图6。通过与相关已知种比较，发现菌株GX-21与多产色链霉菌 (*S.polychromogenes*) 的形态相似^[14]。



图 4 菌株 GX-21 在高氏一号合成培养基上的菌落形态

Fig.4 Morphology of GX-21 on Gause No.1 synthetic medium



图 5 菌株 GX-21 在光学显微镜下形态特征 (×400)

Fig.5 Morphology of strain GX-21

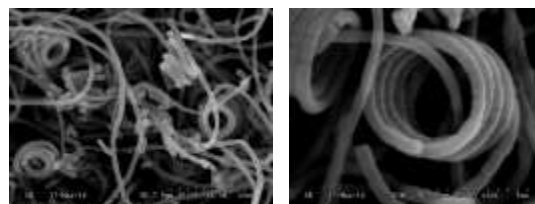


图 6 菌株 GX-21 扫描电镜图片

Fig.6 Morphology of strain GX-21

2.3.3 菌株 GX-21 的培养特性

表 4 菌株 GX-21 的培养特性

Table 4 Cultural characteristics of strain GX-21

培养基	生长情况	基内菌丝	气生菌丝	可溶性色素
高氏一号	生长良好	褐色	灰粉色	初无,日久褐色
ISP 2	生长良好	褐色	灰色	初无,日久褐色
ISP3	生长良好	灰黄色	灰色	初无,日久浅褐色
ISP 4	生长良好	灰黄色	浅灰色	初无,日久浅褐色
ISP5	生长良好	灰黄色	灰色	初无,日久浅褐色

注：ISP 2, 酵母膏麦芽汁培养基；ISP3, 燕麦片琼脂；ISP 4, 无机盐淀粉琼脂；ISP5, 甘油门冬酰胺琼脂z。

菌株GX-21的培养特性见表4。GX-21在ISP系列培养基上生长良好,在不同培养基上的基内菌丝、气生菌丝、可溶性色素颜色与多产色链霉菌(*S.polychromogenes*)相似^[14]。

2.3.4 菌株GX-21的生理生化特性

将菌株GX-21与同源菌株多产色链霉菌(*S.polychromogenes*)和玫瑰色链霉菌(*S.roseus*)的生理生化特性做对比,发现菌株GX-21与多产色链霉菌(*S.polychromogenes*)的生理生化特性基本相同^[13-14]。

表7 对比菌株GX-21和相关近缘菌株的生理生化特性

Table 7 Comparison of physiological and biochemical characteristics of strain GX-21 and its closest relatives

生理生化特性	GX-21	<i>S.polychromogenes</i>	<i>S.roseus</i>
明胶液化	-	-	-
牛奶凝固	-	-	-
淀粉水解	+	+	+
纤维素利用	-	-	-
产硫化氢试验	+	+	-
黑色素	+	+	-
L-阿拉伯糖	+	+	-
D-木糖	-	+	+
D-葡萄糖	+	+	+
D-果糖	+	+	-
蔗糖	+	+	-
鼠李糖	-	-	-
棉子糖	-	-	-
D-甘露醇	-	-	-
肌醇	-	-	-

注: -, 阴性; +, 阳性。

3 结论

3.1 通过形态特征观察、培养特性观察、生理生化试验和16S rDNA序列分析,确定菌株GX-21为多产色链霉菌(*S.polychromogenes*)。

3.2 本研究筛选得到的多产色链霉菌(*S.polychromogenes*)GX-21,其代谢产物具有抑菌谱广的特点,对革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌以及真菌均表现出不同程度的抑制作用。这在微生物源抑菌物质中比较少见,可作为优良的出发菌株,进行菌种的诱变选育、发酵条件的优化、发酵产物的鉴定以及活性代谢产物的分离提纯等研究,最终期望在微生物源食品防腐剂领域得到应用,具有良好的开发前景。

参考文献

[1] 卢剑.微生物防腐剂及其在食品工业中的应用[J].食品科

学,2005,26(8):453-456

LU Jian. Microbial preservation and its applications in food industry [J]. Food Science, 2005, 26(8): 453-456

[2] Peterson J L. Suppressive soils and plant disease [J]. Soil Science, 135: (5)327, 1983

[3] 黄大林,袁桂峰,徐雅娟,等.广西北海红树林土壤放线菌BH0954的分离和鉴定[J].中国农学通报,2010,26(18): 406-409

HUANG Da-lin, YUAN Gui-feng, XU Ya-juan, et al. Isolation and identification of actinomycetes sp. BH0954 from the mangrove forest soil of Guangxi Beihai [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2010, 26(18): 406-409

[4] 余佳清,张志斌,李希茜等.一株具有抗真菌活性的放线菌菌株FXj9的分离和鉴定[J].植物保护,2013,39(5):158-164

YU Jia-qing, ZHANG Zhi-bin, LI Xi-xi, et al. Isolation and identification of an antifungal actinomycete strain FXj9 [J]. Plant Protection, 2013, 39(5): 158-164

[5] 岳雷娜,温清玲,易润华等.海洋放线菌抗菌活性菌株的筛选及南-148菌株的鉴定[J].广西农业科学,2010,41(2):126-129

YUE Lei-na, WEN Qing-ling, YI Run-hua, et al. Screening of anti-bacterial marine-derived actinomycetes and identification of strain Nan-148 [J]. Guangxi Agricultural Sciences, 2010, 41(2): 126-129

[6] Atika Meklat, Nasserine Sabaou, Noureddine Bouras, et al. A novel strain of *actinopolyspora mortivallis* with antibacterial activity isolated from a saharan soil [J]. Ann. Microbiol., 2012, 62: 1049-1057

[7] Pachaiyappan Saravana Kumar, John Poonga Preetam Raj, Veeramuthu Duraipandiyan, et al. Antibacterial activity of some actinomycetes from Tamil Nadu, India [J]. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2012, 1-8

[8] Maeen S, Weam T Qattan, Nayera AMoneib, et al. Isolation of antimicrobially active *streptomyces* strain from west area of Saudi Arabia [J]. Journal of Pharmacy Research, 2011, 4(7), 2322-2324

[9] Tsao P H, Leben C, Keitt G W. An enrichment method for isolation actinomycetes that produce diffusible antifungal antibiotics [J]. Phytopath, 1960, 50: 88-89

[10] Shakthi Velayudham, et al. Diversity and antibacterial screening of *Actinomycetes* from Javadi Hill forest soil, Tamilnadu [J]. India Journal of Microbiology Research, 2012, 2(2): 41-46

[11] Sugathan Shiburaj. Anti-microbial screening of *Streptorangium nondiastaticum* TBG-75A20, isolate from the soil of south India [J]. Research Journal of Microbiology, 2011,

- 6(12):912-918
- [12] 廖东奇.五指山原始林区土壤链霉菌的初步调查及香蕉黑星病拮抗菌株的筛选与鉴定[D].海南大学:2011
- LIAO Dong-qi. Preliminary investigation on *Streptomyces* in Wuzhishan virgin forest soil and screening and identification of Actinomycetes against *Macrophoma Musae* [D]. Hainan University, 2011
- [13] 黄静敏,吴清平,刘盛荣,等. ϵ -聚赖氨酸产生菌新菌株的筛选和产物结构鉴定[J].微生物学通报,2011,38(6):871-877
- HUANG Jing-Min, WU Qing-Ping, LIU Sheng-Rong, et al. Screening of new ϵ -polylysine producing strain and structure identification of its product [J]. Microbiology China, 2011, 38(6): 871-877
- [14] 闫逊初.放线菌的分类和鉴定[M].北京:科学出版社,1992
- YAN Xun-chu. The classification and identification of actinomycetes [M]. Beijing:Science Press, 1992

现代食品科技