

刘群,王丽华,陈东海,等. *Streptomyces* sp. N2所产农抗N2对桔青霉的拮抗活性及作用机制研究[J]. 江西农业大学学报, 2020, 42(3): 487-493.



Streptomyces sp. N2所产农抗N2对桔青霉的拮抗活性及作用机制研究

刘 群¹, 王丽华², 陈东海¹, 彭伟建¹, 徐家兴¹, 李昆太^{1*}

(1. 江西农业大学 应用微生物研究所, 江西 南昌 330045; 2. 江西省医疗器械检测中心, 江西 南昌 330029)

摘要:【目的】*Streptomyces* sp. N2是本课题组分离筛选到的一株可产新型抗真菌活性物质(3-甲基-3,5-氨基-4-烯-吡喃-2-酮, 分子式为 $C_6H_7O_2N$, 农抗N2)的新种, 此活性物质对桔青霉具有良好的拮抗效果。从生长特征、细胞形态学等角度, 为揭示农抗N2在桔青霉生长发育中的抑菌作用机理奠定基础。【方法】首先采用常量培养基稀释法测定了农抗N2对桔青霉的最低抑菌浓度、杯碟法测定了不同浓度农抗N2对桔青霉的抑菌活性菌丝和生长量法测定了不同浓度农抗N2对桔青霉生长曲线的影响, 并通过扫描电镜及透射电镜探究了农抗N2对桔青霉超微结构的影响。【结果】*Streptomyces* sp. N2所产农抗N2对桔青霉有较强的抑制作用, 而且其机理初步判定为破坏桔青霉菌丝的菌丝结构, 推迟了桔青霉对数期的到来而抑制菌体的生长。菌体最低抑菌浓度(3 d)为 $5.77 \mu\text{g/mL}$, 其对应的抑菌圈大小为 $(13.04 \pm 1.06) \text{ mm}$ 。药液处理后, 桔青霉生长对数期推迟了2 d。由扫描电镜以及透射电镜结果可推测, 农抗N2可干扰桔青霉细胞壁合成, 破坏细胞膜结构, 致使细胞发生质壁分离。【结论】农抗N2对桔青霉的菌丝生长具有很强的抑制作用, 且具有浓度效应, 其对桔青霉的形态和结构有很大的破坏作用, 可以推测农抗N2能够影响桔青霉细胞壁相关蛋白的合成, 使细胞壁的通透性增强, 影响其细胞膜及内部细胞器。

关键词: *Streptomyces* sp. N2; 桔青霉; 拮抗机理; 超微结构

中图分类号: S476 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2286(2020)03-0487-07

The Antagonistic Activity and Mechanism of the Antifungalmycin N2 Produced by *Streptomyces* sp. N2 Against *Penicillium citrinum*

LIU Qun¹, WANG Li-hua², CHEN Dong-hai¹, PENG Wei-jian¹,
XU Jia-xing¹, LI Kun-tai^{1*}

(1. Institute of Applied Microbiology, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China; 2. Jiangxi Medical Device Testing Center, Nanchang 330029, China)

Abstract: [Objective] *Streptomyces* sp. N2 is a new strain isolated by the research group that can produce

收稿日期: 2019-09-07 修回日期: 2019-10-25

基金项目: 国家自然科学基金项目(31760546)、江西省(青年)自然科学基金重大项目(20143ACB2100)和江西省青年科学家培养计划项目(20142BCB23025)

Project supported by the National Natural Science Foundation of China(31760546), Jiangxi Natural Science Foundation for Youths(20143ACB2100) and Jiangxi Young Scientists Training Program(20142BCB23025)

作者简介: 刘群, orcid.org/0000-0001-5724-2287, 18770910390@sina.com; *通信作者: 李昆太, 教授, 博士, 主要从事, 主要从事农业级生物资源开发与利用研究, orcid.org/0000-0001-6678-5531, atai718@sina.com。

new antifungal active substances(3-methyl-3,5-amino-4-ene-pyran-2-one. Its molecular formula is $C_6H_7O_2N$, antifungalmysin N2). This active substance has a good antagonistic effect on *Penicillium citrinum*. The present study aimed to investigate the antagonistic mechanism of antifungalmysin N2 against *Penicillium citrinum* and its antibacterial activity evaluation. [Method] Firstly constant medium dilution method was used to measure the lowest inhibitory concentration of antifungalmysin N2 against *Penicillium citrinum* the antimicrobial activity of *Penicillium citrinum* with different concentrations of agricultural resistance antifungalmysin N2 was measured by oxford-cup tests and the hyphal growth method was used to determine the effects of different concentrations of antifungalmysin N2 on the growth curve of *Penicillium citrinum*, and the influence of antifungalmysin N2 on the ultrastructure of *Penicillium citrinum* was investigated by scanning electron microscope and transmission electron microscope. [Result] The results showed that antifungalmysin N2 had some inhibitory effect on *P. citrinum*. The mechanism was to destroy the hypha structure of *P. citrinum* mycelium and delay the arrival of logarithmic phase of *P. citrinum*, which inhibited the growth of bacteria. The minimum inhibitory concentration of bacteria(3 days) was $5.77 \mu\text{g/mL}$, and the corresponding size of inhibition zone diameter was $13.04 \pm 1.06 \text{ mm}$. The logarithmic growth period of *P. citrinum* was delayed by 2 days. It can be inferred from the results of scanning electron microscopy and transmission electron microscope that antifungalmysin N2 can interfere with the cell wall synthesis of *P. citrinum*, destroy the cell membrane structure and cause the cell to separate plasma wall. [Conclusion] Antifungalmysin N2 has a strong inhibitory effect on the mycelial growth of *Penicillium citrinum* and has a concentration effect. It has a great effect on the morphology and structure of *Penicillium citrinum*. It can be speculated that agricultural anti-N2 can affect the synthesis of cell wall-related proteins of *Penicillium citrinum*, enhance cell wall permeability and affect its cell membrane and internal organelles.

Keywords: *Streptomyces* sp. N2; *Penicillium citrinum*; antagonistic mechanism; ultrastructure

【研究意义】桔青霉(*Penicillium citrinum*)是一种杯霉科真菌,常见于腐烂的水果、蔬菜、木材、肉类、皮革上,多成灰绿色,能够引起木材的腐霉病^[1]。我国木材资源相对匮乏,木材再生周期较长,随着天然林保护工程的实施,木材产量难以满足市场需求,目前,在国内外木材防霉防腐研究中,常用处理方法有物理法、化学法和微生物法^[2],物理方法为烟熏、蒸煮及高温热处理等;化学方法为使用有机碘化物、三唑化合物、硼化物和铜基类防霉剂^[3]。【前人研究进展】Sharma等^[4]研究了放线菌(*Streptomyces exfoliatus* MT9)分离物对木材腐烂真菌的体外拮抗作用,发现MT9对多种木腐菌表现出强烈的抗真菌活性。Anand等^[5]发现紫色链霉菌(*Streptomyces violaceusniger*)深层发酵产生的溶瘤酶对木材白腐病和褐腐病菌都表现出广泛的抗真菌活性。防霉防腐剂一般情况下都会对人体造成不良影响,对环境有污染,因此采取何种措施提高性能,提高杀菌剂耐久性,降低自身毒性是研究的重点^[6]。寻求安全、无毒、有效的拮抗微生物制剂来取代化学药剂是当今的一个重点研究方向^[7]。相比于化学防治,生物防治具有安全、无毒和对环境友好等优点。用于植物病原真菌生物防治的微生物主要有木霉属(*Trichoderma* spp.)、粘帚霉属(*Gliocladium* spp.)、芽孢杆菌属(*Bacillus* spp.)、假单胞菌属(*Pseudomonas* spp.)和链霉菌属(*Streptomyces* spp.)^[8]。【本研究切入点】其中,链霉菌(*Streptomyces* spp.)是已知放线菌中最大的簇群,可产生丰富多样的抗菌活性物质,被广泛应用于真菌病害生防^[9]。*Streptomyces* sp. N2是本课题组Xu等^[10]分离筛选到的一株可产新型抗真菌活性物质(3-甲基-3,5-氨基-4-烯-吡喃-2-酮,分子式为 $C_6H_7O_2N$,农抗N2)的新种,此活性物质对桔青霉具有良好的拮抗效果。【拟解决的关键问题】本文从生长特征、宏观形态特征和微观形态特征等角度初步研究了农抗N2对桔青霉的拮抗作用效果,以期为进一步探讨*Streptomyces* sp. N2对桔青霉的拮抗机理及其生防应用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

链霉菌N2(*Streptomyces* sp. N2)由本实验室自行分离筛选获得,甘油管冻存保藏。桔青霉(*Penicillium citrinum*)由本实验室保存。

1.2 农抗 N2 粗提物的制备

参照吴志明等^[11]将培养 7 d 的链霉菌 N2 孢子刮入 30 mL 带玻璃珠的无菌蒸馏水中,震荡 20 min 后,将 5 mL 孢子悬液移入装有 50 mL 种子培养液(蔗糖 20 g, 玉米淀粉 10 g, 玉米浆 10 g, 硫酸铵 1 g, 磷酸二氢钾 1 g, 硫酸镁 1 g, 硫酸锰 0.01 g, 硫酸锌 0.01 g, 蒸馏水 1 L, pH 7.2~7.4)的 250 mL 三角瓶中,160 r/min、30 ℃ 振荡培养 48 h 即得链霉菌 N2 种子液。

种子液按 10% 接种量接入发酵液培养基(蔗糖 40 g, 玉米淀粉 20 g, 玉米浆 20 g, 黄豆饼粉 10 g, 硫酸铵 2 g, 磷酸二氢钾 1 g, 硫酸镁 1 g, 硫酸锰 0.01 g, 硫酸锌 0.01 g, 蒸馏水 1 L, pH 7.2~7.4, 121 ℃ 灭菌 30 min)中,160 r/min、30 ℃ 培养 96 h, 收集发酵液。参照杨勇等^[12]提取方法,加入 2 倍体积工业酒精浸提至少 24 h 后 4 000 r/min 离心 30 min 弃除菌体,上清液经减压浓缩至酒精蒸干后于 10 000 r/min 离心 10 min 保留上清液,最后用 0.22 μm 滤膜过滤除菌即得无菌发酵液原液,用无菌蒸馏水稀释无菌发酵原液制成 1.44, 2.88, 5.77, 11.53, 23.06 μg/mL 等不同质量浓度农抗 N2 药液,备用。

1.3 农抗 N2 粗提物抑菌作用分析

1.3.1 采用杯碟法^[13]测定农抗 N2 对桔青霉的抗菌活性 用 50 mL 无菌水将桔青霉制成菌悬液后,移取 200 μL 均匀涂布于 PDA(去皮土豆 200 g/L, 蔗糖 20 g/L, 琼脂 20 g/L, pH 7.2)培养基上,15 min 后小心放入牛津杯,加入 200 μL 不同浓度 N2 粗提物。以无菌水 CK 为对照,各处理重复 3 次,72 h 后测定抑菌圈直径并记录。

1.3.2 采用曹等的方法^[14]测定农抗 N2 对桔青霉的最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC) 将农抗 N2 原液与冷却至 45 ℃ 的 PDA 培养基混匀,制成终浓度分别为 5.77, 2.88, 1.44, 0.72 μg/mL 的含药平板后,将桔青霉菌悬液均匀涂布于药平板表面,置于 28 ℃ 恒温培养箱中培养 60 h;以不含农抗 N2 的 PDA 培养基为对照,每处理做 5 次重复,观察记录桔青霉生长情况,以抑制桔青霉生长的最低药物浓度为最低抑菌浓度(MIC)。

1.3.3 采用菌丝干重法测定农抗 N2 对桔青霉生长量的变化 将待测桔青霉接种 1 mL 于 50 mL PD 液体培养基中,30 ℃、180 r/min 恒温培养 24 h 后;加入适量链霉菌 N2 无菌发酵液原液使其终浓度达到 3.84 μg/mL,以加等量无菌蒸馏水培养作为对照,30 ℃,180 r/min 恒温振荡培养。每隔 12 h 取样 3 个重复,用真空泵将培养基抽干,留取菌丝,并置于 80 ℃ 烘箱中至恒质量,观察桔青霉菌丝在液体培养基中的形态变化,并称量、记录菌丝干质量。

1.3.4 农抗 N2 粗提物对桔青霉超微结构的影响 将 1 mL 桔青霉菌悬液接种于 50 mL PD 液体培养基中。30 ℃、180 r/min 恒温培养 72 h 后,分别加入 15 mL、50 mL 链霉菌 N2 无菌发酵液原液,以加等量无菌蒸馏水培养作为对照,每个处理 3 个对照 30 ℃、180 r/min 恒温振荡培养。于 48 h 后取样,离心机 10 000 r/min 离心 10 min。培养 48 h 后制备扫描电镜和透射电镜样品。

扫描电镜和透射电镜样品的加工按康振生^[15]的方法进行。

2 结果与分析

2.1 农抗 N2 对桔青霉的抑菌作用

不同浓度农抗 N2 作用下的桔青霉抑菌圈直径如表 1 所示。由表 1 可以看出,随着农抗 N2 作用浓度的增加,其对桔青霉的抑制效果愈加强烈。当农抗 N2 作用浓度为 11.53 μg/mL 时,桔青霉抑菌圈直径达到(18.66±1.94) mm。

表 1 农抗 N2 对桔青霉抑菌圈平均直径

Tab.1 The average diameter of the inhibition zone of Streptomyces sp. N2 against P. citrinum			
处理	抑菌圈直径/mm	处理	抑菌圈直径/mm
Treatment	Inhibition zone diameter	Treatment	Inhibition zone diameter
CK	6.00±0.02	5.77 μg/mL	13.04±1.06
1.77 μg/mL	6.60±0.27	11.53 μg/mL	18.66±1.94
2.88 μg/mL	8.16±0.85		

2.2 农抗 N2 对桔青霉生长周期的影响

通过测定菌体的生长曲线可以反映微生物对培养基成分的利用情况,以及药物对菌体生长的影响。桔青霉在 3.84 $\mu\text{g/mL}$ 农抗 N2 作用下的生长情况如图 1 所示。由图 1 可知,当 PD 培养基中不添加农抗 N2,桔青霉在 24 h 之后进入对数生长期,菌体数量显著增加在第 96 h 时菌体干质量达 1.70 g;而在农抗 N2 作用下的桔青霉菌体数量明显少于对照组,其最大菌体干质量仅为 1.34 g,这说明农抗 N2 能够有效抑制青霉细胞的生长与繁殖。

2.3 农抗 N2 对桔青霉形态学的影响

2.3.1 农抗 N2 对桔青霉平板菌落形态的影响

根据观察和记录的结果(图 2)可知:随着农抗 N2 处理浓度的升高,桔青霉的抑制作用逐渐增强,菌落紧实且直径明显偏小,菌落呈白色且未经色泽的变化,尤其是在添加 5.77 $\mu\text{g/mL}$ 农抗 N2 的平板上桔青霉完全未生长;而对照组菌丝生长较快,菌落整体疏松有明显的绒毛,而且菌落色泽由开始的白色逐渐变成灰绿色、黄绿色。

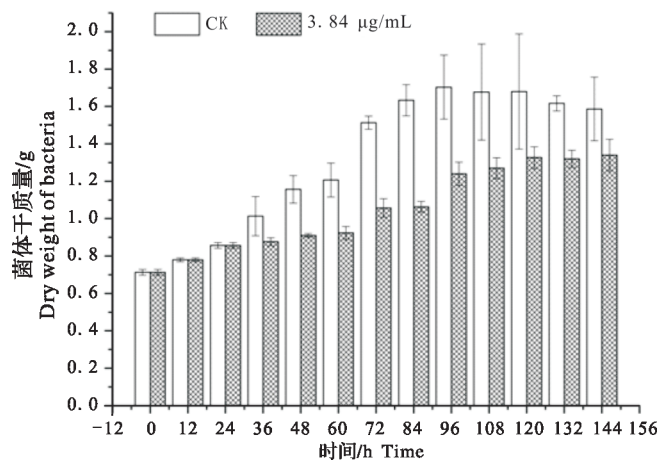
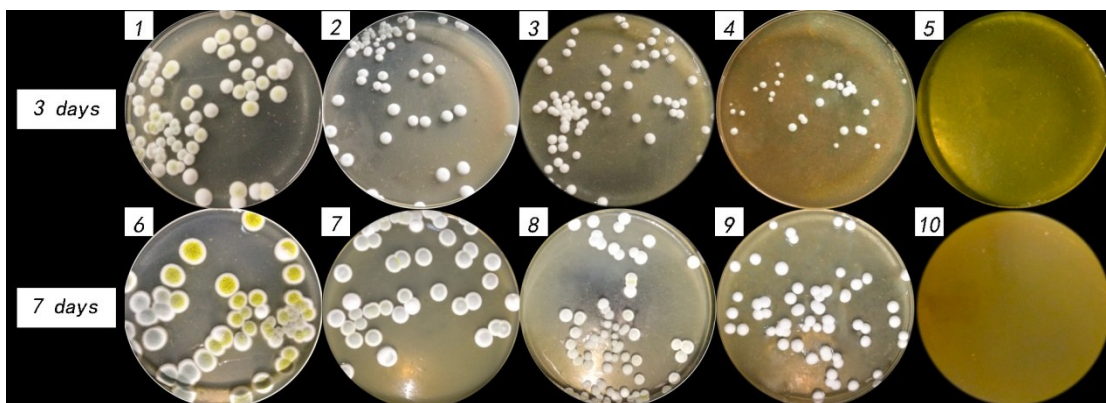


图 1 农抗 N2 对桔青霉生长周期的影响

Fig.1 The effects of *Streptomyces* sp. N2 on growth cycle of *P. citrinum*



1, 6: 对照组桔青霉平板 3 d 和 7 d; 2, 7: 0.72 $\mu\text{g/mL}$ 处理桔青霉平板 3 d 和 7 d; 3, 8: 1.44 $\mu\text{g/mL}$ 处理桔青霉平板 3 d 和 7 d; 4, 9: 2.88 $\mu\text{g/mL}$ 处理桔青霉平板 3 d 和 7 d; 5, 10: 5.77 $\mu\text{g/mL}$ 处理桔青霉平板 3 d 和 7 d

1, 6: control group of *P. citrinum* for 3 days and 7 days; 2, 7: the treatment groups with 0.72 $\mu\text{g/mL}$ *Streptomyces* sp. N2 for 3 days and 7 days; 3, 8: the treatment groups with 1.44 $\mu\text{g/mL}$ *Streptomyces* sp. N2 for 3 days and 7 days; 4, 9: the treatment groups with 2.88 $\mu\text{g/mL}$ *Streptomyces* sp. N2 for 3 days and 7 days; 5, 10: the treatment groups with 5.77 $\mu\text{g/mL}$ *Streptomyces* sp. N2 for 3 days and 7 days

图 2 农抗 N2 对桔青霉平板菌落形态的影响

Fig.2 The effect of *Streptomyces* sp. N2 on colony morphology of *P. citrinum*

2.3.2 桔青霉扫描电子显微镜形态观察结果 扫描电子显微镜观察对比发现,对照组桔青霉菌菌丝粗壮均匀,较为光滑,形状完整,饱满圆润(如图 3、4);经低浓度农抗 N2(3.84 $\mu\text{g/mL}$)处理的菌丝较稀疏,干瘪变形,布满褶皱(如图 3b, 3e 所示);而经较高浓度农抗 N2(5.32 $\mu\text{g/mL}$)处理的菌丝更为干瘪褶皱,表面更为粗糙,失水畸形,有明显的胞内物质泄露(如图 3c, 3f)。

2.3.3 桔青霉透射电子显微镜形态观察结果 观察透射电子显微镜图片发现:未经农抗 N2 处理的桔青霉细胞,细胞核核膜清晰,形状规则完整,细胞膜以及细胞器等结构清晰可见,分布有序,线粒体均匀,细胞内含物无外渗现象(如图 4a, 4d);经低浓度农抗 N2(3.84 $\mu\text{g/mL}$)粗提物处理的菌丝,细胞膜轮廓不清,细胞内容物有轻微外渗,细胞器有所损伤,有空泡化,细胞内物质密度降低,细胞内出现囊泡,细胞质出现无序化(如图 4b, 4e);在高浓度农抗 N2(5.32 $\mu\text{g/mL}$)处理下,各细胞器结构紊乱,细胞器未能明显观察,处于降

解状态,菌体发生明显的质壁分离,胞内出现大量空腔,细胞内含物大量外渗,细胞核受到显著破坏,轮廓模糊不清,400 000×高倍镜下观察明显发现细胞质密度显著低于对照组(如图 4c,4f)。

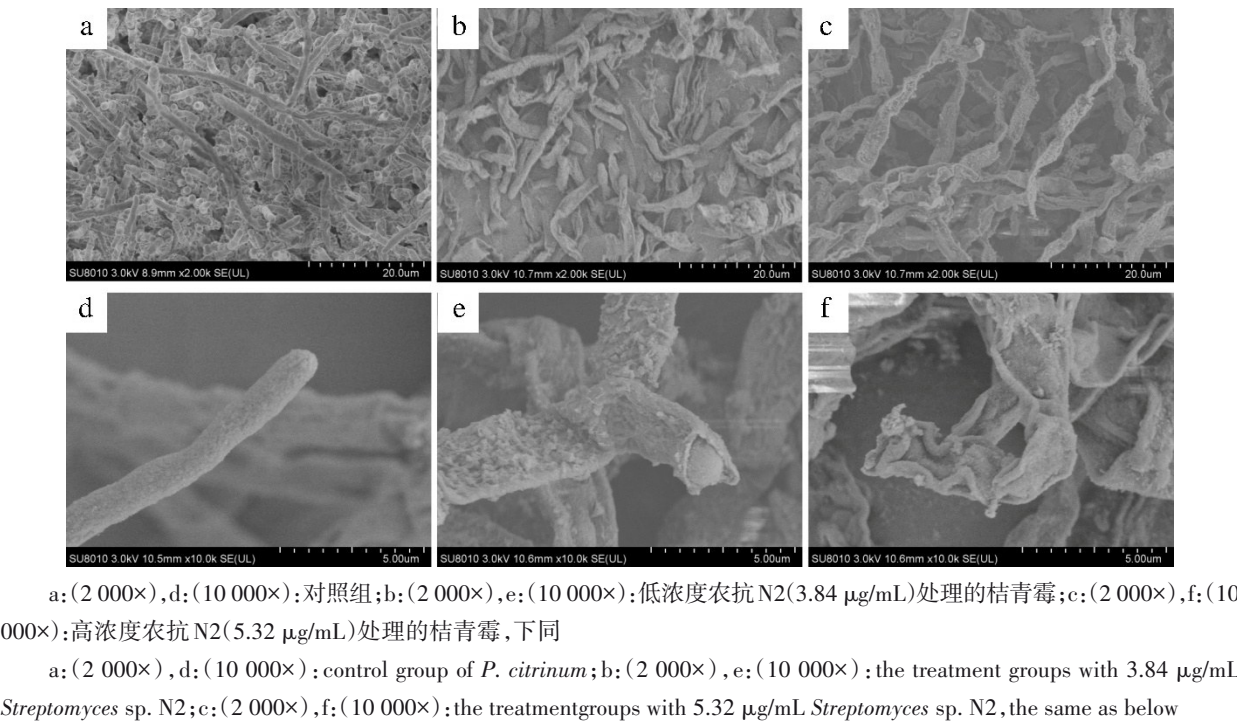


图 3 桔青霉扫描电镜形态观察

Fig.3 Morphological observation of *P. citrinum* under scanning electron microscope

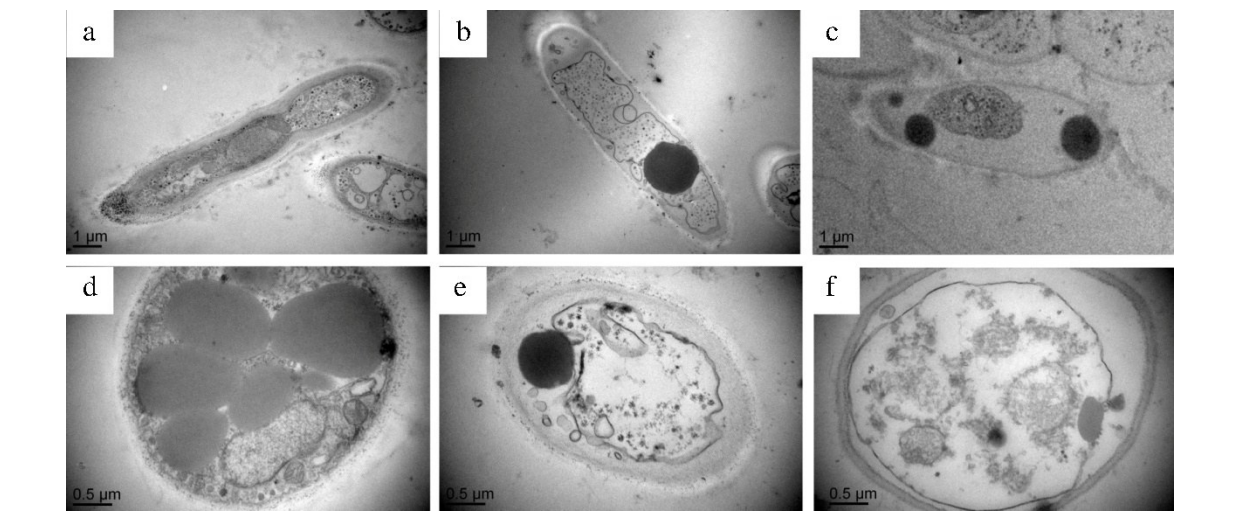


图 4 桔青霉透射电镜形态观察

Fig.4 Morphological observation of *P. citrinum* under transmission electron microscope

3 结论与讨论

真菌病害是影响农作物优质高产和植物病害的重要制约因素^[16]。据统计,全球每年因植物病害而造成的农业产量下降比例就高达 10%~16%^[17],而其中约 70%~80% 的植物病害是由病原真菌感染所致^[18-19]。袁敏等^[20]通过研究表明链霉菌 NG-715 所产抗真菌组分对桔青霉具有良好的抑制作用;李汉广等^[21]研究发现链霉菌 702 所产抗真菌活性物质对桔青霉的抑菌活性良好。笔者前期研究发现,*Streptomyces* sp. N2 所产抗真菌代谢物农抗 N2 对桔青霉(*P. citrinum*)、意大利青霉(*P. italicum*)、指状青霉(*P. digitatum*)、水稻纹枯病菌(*Rhizoctonia solani*)、水稻稻瘟病菌(*Magnaporthe oryzae*)、辣椒疫病菌(*Phytophthora capsici*)、葡萄座腔菌(*Botryosphaeria dothidea*)、西瓜枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*)、黑曲霉

(*Aspergillus niger*)、棉花枯萎病菌(*F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*)、烟草黑胫病菌(*Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*)、莴苣菌核病菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)、棉花黄萎病菌(*Verticillium dahliae*)等多种植物病原真菌均具有较强抑菌活性,其中对桔青霉的抑制率高达85.49%^[11],由此说明农抗N2具备广谱的拮抗植物病原真菌特性,这为在不同类型植物病害上的生防应用奠定了基础,也为本研究进一步探讨农抗N2对桔青霉的拮抗作用机理提供了有力根据。

本文在前期研究的基础上,较系统的从生长特征、细胞形态学等角度,进一步研究了农抗N2对桔青霉所引起的菌落形态及菌体细胞的一系列病变的防治效果。结果表明农抗N2对桔青霉的菌丝生长具有很强的抑制作用,且具有浓度效应。桔青霉的抑菌圈直径随着农抗N2处理浓度的增大而增大,农抗N2对桔青霉的最低抑菌浓度为5.77 $\mu\text{g/mL}$,其对应的抑菌圈直径为(13.04 $\pm$ 1.06) mm。应用电镜技术就农抗N2对桔青霉生长的影响进行了研究,结果表明农抗N2对桔青霉的形态和结构有很大的破坏作用,结合文献^[22]报道,可以推测农抗N2能够影响桔青霉细胞壁相关蛋白的合成,使细胞壁的通透性增强,影响其细胞膜及内部细胞器。本实验尽管初步探究了农抗N2拮抗桔青霉的作用机理,但其对桔青霉具体作用位点以及其在自然环境中对木材的防腐效应,工业产量等重点问题还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 梁新乐,寿谦,张虹,等.桔青霉形态分化与核酸酶P1产量突变关系研究[J].核农学报,2009,23(4):606-611.
Liang X Y, Shou Q, Zhang H, et al. Potential relationships between morphological differentiation and mutants with high nuclease p1 production of *Penicillium citrinum* [J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2009, 23(4): 606-611.
- [2] 曹金珍.国外木材防腐技术和研究现状[J].林业科学,2006,42(7):120-126.
Cao J Z. A review on wood preservation technologies and research [J]. Scientia Silvae Sinicae, 2006, 42(7): 120-126.
- [3] 余辉龙,杜春贵,刘宏治,等.竹材防霉研究进展与发展前景[J].竹子学报,2016,35(2):46-51.
Yu H L, Du C G, Liu H Z, et al. Advance in anti-mildew research of bamboo [J]. Journal of Bamboo, 2016, 35(2): 46-51.
- [4] Sharma Poorva, Choudhary Bharti, Nagpure Anand, et al. Antifungal potential of actinomycete isolate *Streptomyces exfoliates* MT9 against wood-rotting fungi [J]. Journal of Environmental Biology, 2016, 37(6): 1231-1237.
- [5] Anand Nagpure, Bharti Choudhary, Rajinder K Gupta. Mycolytic enzymes produced by *Streptomyces violaceusniger* and their role in antagonism towards wood-rotting fungi [J]. Journal of Basic Microbiology, 2014, 54(5): 397-407.
- [6] 刘添娥,王喜明,王雅梅.木材防霉和防蓝变的研究现状及发展趋势[J].木材加工机械,2014,25(6):65-68.
Liu T E, Wang X M, Wang Y M. Research status and development trend of wood mildew and anti blue stain [J]. Wood Processing Machinery, 2014, 25(6): 65-68.
- [7] 贺立红,汪跃华,兰霞.拮抗酵母菌对指状青霉菌的抑菌作用[J].仲恺农业工程学院学报,2010,23(4):61-63.
He L H, Wang Y H, Lan X. Antimicrobial effects of antagonistic yeast on *Penicillium digitatum* [J]. Journal of ZhongKai University of Agriculture and Technology, 2010, 23(4): 61-63.
- [8] Susi Petri, Aktuganov Gleb, Himanen Juha, et al. Biological control of wood decay against fungal infectio [J]. Journal of Environmental Management, 2011, 92(7): 1681-1689.
- [9] 韩立荣,赵科刚,顾彪,等.5株放线菌对9种靶标病原真菌的持续抑菌作用[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2006,12(2):53-56.
Han L R, Zhao K G, Gu B, et al. Sustained bacteriostasis of five Actinomycetes against nine target pathogenic fungi [J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition), 2006, 12(2): 53-56.
- [10] Xu B, Chen W, Wu Z M, et al. A novel and effective *Streptomyces* sp. N2 against various phytopathogenic fungi [J]. Applied Biochemistry & Biotechnology, 2015, 177(6): 1338-1347.
- [11] 吴志明,鹿承建,章帅文,等.新型 *Streptomyces* sp. N2 代谢粗提物的抑菌活性及其水果保鲜初探[J].西南农业学报,2018,31(7):1393-1398.
Wu Z M, Lu C J, Zhang S W, et al. Inhibitory activities of metabolite produced by *Streptomyces* sp. N2 and its efficacy on fruit storage [J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2018, 31(7): 1393-1398.
- [12] 杨勇,章帅文,张勇,等.黄麻链霉菌 AUH-1 发酵液的抗菌活性及其稳定性研究[J].生物技术通报,2019,35(2):80-84.

- Yang Y, Zhang S W, Zhang Y, et al. Antifungal activities and stability of fermentation broth from *Streptomyces corchorusii* strain AUH-1[J]. Biotechnology Bulletin, 2019, 35(2): 80-84.
- [13] 李兆双, 王喜男, 王鹏, 等. 天然柠檬醛衍生物对食品腐败细菌的抑制活性[J]. 浙江农业学报, 2016, 28(11): 1928-1933.
- Li Z S, Wang X N, Wang P, et al. Antimicrobial activity of natural citral derivatives on food deterioration bacteria[J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2016, 28(11): 1928-1933.
- [14] 曹继芬, 孙道旺, 张永妹, 等. 云南省马铃薯晚疫病病菌对氟吗啉的敏感性测定[J]. 西南农业学报, 2017, 30(3): 580-583.
- Cao J F, Sun D W, Zhang Y M, et al. Sensitivity determination of potato late blight disease pathogen *Phytophthora infestans* to Flumorph in Yunnan [J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2017, 30(3): 580-583.
- [15] 黄国红, 康振生, 朱之靖, 等. 小麦叶锈菌在感病寄主上发育的组织病理学和超微结构研究[J]. 植物病理学报, 2003, 11(1): 52-56.
- Huang G H, Kan Z S, Zhu Z Y, et al. Histopathological and ultrastructural studies on development of *Puccinia recondita* f.sp. *tritici* in a susceptible wheat cultivar[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2003, 11(1): 52-56.
- [16] 章帅文, 杨勇, 刘群, 等. 拮抗植物病原真菌 *Streptomyces corchorusii* AUH-1 的分离与鉴定[J]. 广东农业科学, 2018, 45(2): 103-108.
- Zhang S W, Yang Y, Liu Q, et al. Isolation and identification of *Streptomyces corchorusii* AUH-1 with antagonistic activity against plant pathogenic fungi[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2018, 45(2): 103-108.
- [17] Chakraborty S, Newton A C. Climate change, plant diseases and food security: an overview[J]. Plant Pathology, 2011, 60(1): 2-14.
- [18] 彭卫福, 吴志明, 陈未, 等. 拮抗多种植物病原真菌 *Streptomyces triostinicus* C2 的分离与鉴定[J]. 生物技术通报, 2016, 32(7): 106-111.
- Peng W F, Wu Z M, Chen W, et al. Isolation and identification of *Streptomyces triostinicus* C2 antagonizing on a variety of plant pathogenic fungi[J]. Biotechnology Bulletin, 2016, 32(7): 106-111.
- [19] Berendsen R L, Corné M J Pieterse, Bakker PAHM. The rhizosphere microbiome and plant health[J]. Trends in Plant Science, 2012, 17(8): 478-486.
- [20] 袁敏, 卞华, 李晶, 等. 链霉菌 NG-715 的抗真菌活性及稳定性研究[J]. 中国生化药物杂志, 2014, 34(2): 37-39.
- Yuan M, Bian H, Li J, et al. Bioactivity and atability study of the antifungal substance produced by *Streptomyces* NG-715[J]. Chinese Journal of Biochemical Pharmaceutics, 2014, 34(2): 37-39.
- [21] 李汉广, 朱向东, 涂国全. 链霉菌 702 所产抗真菌活性物质稳定性研究[J]. 农产品加工(学刊), 2010(11): 19-20.
- Li H G, Zhu X D, Tu G Q. Stability of the anti-fungal activity substances generated by *Streptomyces* 702[J]. Farm Products Processing, 2010, 11(11): 19-20.
- [22] 康振生, 黄丽丽, Buchenauer H, 等. 禾谷镰刀菌在小麦穗部侵染过程的细胞学研究[J]. 植物病理学报, 2004, 7(4): 329-335.
- Kan Z S, Huang L L, Buchenauer H, et al. Cytology of infection process of *Fusarium graminearum* on wheat spikes[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2004, 7(4): 329-335.