

拮抗放线菌 A03 的生防作用及其分类鉴定

杨秀芳^{1,2} 刘伟成^{1*} 卢彩鸽² 裘季燕² 王慧敏^{2*}

(1. 北京市农林科学院植保环保所, 北京 100089; 2. 中国农业大学植物病理学系, 北京 100094)

摘要: 从京郊菜园土壤中分离到一株拮抗放线菌, 编号为 A03。为了科学评价该菌株在植物病害生防中的应用潜力, 采用平板对峙培养法和温室盆栽防治法测定了其抑菌活性, 并通过形态学、化学和分子分类的方法研究其分类地位。结果表明, 该菌株对供试的多种植物病原真菌均有抑制作用, 其中对果蔬灰霉病菌、番茄早疫病菌、小麦纹枯病菌和瓜果腐霉的抑制作用较强, 平板抑菌带宽度达 11.0~12.0 mm。温室防病试验结果表明, 其发酵上清液对甜椒灰霉病和番茄灰霉病具有良好的生防作用, 防治效果分别为 84.97% 和 79.51%。根据其菌株形态特征、培养性状、生理生化特性、细胞壁化学组分及 16S rDNA 序列分析, 将菌株 A03 归入链霉菌属, 并鉴定为吸水链霉菌 *Streptomyces hygroscopicus*。

关键词: 吸水链霉菌; 分类鉴定; 生防作用; 灰霉病

Biocontrol effect and the taxonomy of antagonistic actinomyces strain A03

YANG Xiu-fang^{1,2} LIU Wei-cheng^{1*} LU Cai-ge² QIU Ji-yan¹ WANG Hui-min^{2*}

(1. Institute of Plant & Environment Protection, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100089, China; 2. Department of Plant Pathology, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract: An antagonistic actinomyces strain A03 was isolated from vegetable soil in suburb of Beijing. In order to evaluate scientifically the applied potential of the strain for the biocontrol of plant diseases, the fungistatic activity of A03 was determined by confronting incubation on PDA plates and control test to the potted plants in greenhouse, and the taxonomic identification of the strain was carried out with morphological, chemical and molecular methods. The results showed that the strain A03 displayed a broad-spectrum inhibiting activity to all the 15 plant pathogenic fungi tested. Especially, the inhibition zones out to the width of 11.0 – 12.0 mm were presented by the strain against 4 ones of the pathogens, *Botrytis cinerea*, *Alternaria solani*, *Rhizoctonia cerealis* and *Pythium aphanidermatum*. The biocontrol effect of strain A03 to gray molds of pepper and tomato reached respectively 84.97% and 79.51% in greenhouse. According to the characteristics of morphological, cultural, physiological and biochemical, chemical components of cell wall, as well as 16S rDNA sequence, the strain A03 was identified as *Streptomyces hygroscopicus*.

Key words: *Streptomyces hygroscopicus*; taxonomic identification; biocontrol effect; gray mold

拮抗性微生物是生物农药的重要源泉, 其中放线菌作为农用抗生素的主要产生菌在植物病害的生防中占有重要的地位。近年来, 果蔬作物设施栽培面积的扩大, 为病害的发生提供了适宜的环境,

基金项目: 北京市科技计划项目 (D0706005000091, D0705002040291)

作者简介: 杨秀芳, 女, 1979 生, 硕士研究生, 研究方向为病害生物防治, email: xfangy@126.com

* 通讯作者 (Authors for correspondence), email: liuwc@126.com, wanghm69h@cau.edu.cn

收稿日期: 2006-10-13

一些重要病害日趋严重。其中由葡萄孢 *Botrytis* spp. 引起的灰霉病目前已成为茄果类、瓜类、葱韭类、浆果类等多种果蔬作物生产的主要限制因素^[1]。20世纪70年代以来,相继采用苯并咪唑类(多菌灵、甲托等)、二甲酰胺类(腐霉利、异菌脲等)、甲酸酯类等多种化学杀菌剂控制此病的危害。由于该菌遗传变异大,适应性强,已对这些药剂产生了抗药性^[2~4];至1998年,我国华东、华北大部分地区监测到了既抗多菌灵又抗腐霉利的双抗菌株,且分离频率很高^[5];有的地区甚至出现了RRR类型(兼抗上述三类杀菌剂)菌株^[1];加之该病抗病育种进展缓慢,目前防治仍十分困难。另外,就果蔬作物而言,化学杀菌剂的应用还带来了环境与食品安全、残留、药害等许多实际问题,因而有些种类在许多发达国家和地区已严格限制使用。而环境友好的病害生防因子越来越受到重视,生防微生物的应用日益广泛,已成为农业可持续发展的重要组成部分。对灰霉病生物防治的报道以真菌和细菌为多,且直接使用活菌或菌剂,其货架期难以保证,对田间施用的条件要求也较高,防治效果常不够稳定^[6,7],因此亟待开发新的持续有效的产品。作者研究了本实验室自主筛选的高效拮抗放线菌菌株A03对果蔬灰霉病和其它真菌性病害的生防作用,并鉴定了其分类地位,以期利用该菌株创制新的微生物农药产品或品种,为丰富防治果蔬灰霉病生物农药种类提供依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

拮抗菌株:放线菌A03,由本研究组分离自京郊菜田土壤。靶标病原菌:番茄和甜椒灰霉病菌 *Botrytis cinerea* 均分离自京郊田间病株,其它供试病原菌由北京市农林科学院植环所和中国农业大学植物病理系提供。作物品种:中蔬6号番茄,茄门甜椒。对照药剂:50%灰康(pyrimethanil)悬浮剂,内蒙古清源保生物科技有限公司;3%多抗霉素(polyoxin)可湿性粉剂,中国农科院生防所生物制剂产业化基地延边春雷生物药业有限公司。

1.2 方 法

1.2.1 拮抗菌A03抑菌谱测定

采用平板对峙法^[8],刮取经活化培养的A03孢子制成悬浮液,均匀涂在高氏一号固体平板上,28℃培养2~4天,用直径7mm的无菌打孔器打制菌饼,

菌面朝下放置于PDA平板距中央30mm处,28℃培养2天后,再于平板中央接种用同样方法打制的病原菌菌饼,27℃培养5~7天,观察记录抑菌情况。每处理3次重复。

1.2.2 温室防病试验

菌株A03在高氏一号斜面培养基上28℃培养7~10天,待其产生足量的孢子,用无菌铂环刮取2~3环接种于250mL三角瓶内的50mL种子培养基内,28℃,180r/min恒温振荡培养24~30h。种子培养液按5%的量接种于500mL三角瓶内的发酵培养基,每瓶装液量为100mL,28℃,200r/min振荡培养168h。发酵液5000r/min离心20min,上清液置4℃贮存备用。

防治对象为番茄和甜椒灰霉病。病原菌在PDA平板上22℃培养7~10天,待其长出大量分生孢子后,用无菌水洗下孢子,配制成浓度为 10^9 cfu/mL的病原菌孢子悬浮液备用。

设A03发酵上清液2倍稀释液,3%多抗霉素可湿性粉剂1000倍液,50%灰康悬浮剂1000倍液和清水对照4个处理。采用盆栽接种的方式在玻璃温室内进行,于现蕾期挑选株高、长势和发育一致的甜椒和番茄苗,每处理15株,分别均匀喷洒A03发酵液、对照药剂及清水,以叶面滴水为度。12h后将各处理随机排列放置,喷洒接种病原菌孢子悬浮液。塑料薄膜保湿48h,保持环境温度21~23℃。每处理4次重复。

接种后第5天调查病情,按田间药效试验准则^[9]确定病害分级标准,计算病株率、病情指数和防治效果,用农业试验统计分析软件3.0进行差异显著性分析。

1.2.3 菌株A03的分类鉴定

采用插片法^[9],将A03分别接种在PDA、高氏1号琼脂、葡萄糖天冬素琼脂等培养基上,28℃培养8~15天;镜检基内菌丝、气生菌丝、孢子丝的形态。依据国际链霉菌计划^[10]及中科院微生物所的方法^[11],观察A03在11种不同培养基上的表现特征。

采用周德庆^[12]的方法进行生理生化特性分析。采用王平^[13]和Hasegawa等^[14]的TCL法进行细胞壁化学类型和全细胞水解物糖的类型分析。

菌株A03在PDA平板上28℃培养2~3天,用无菌牙签直接蘸取菌落作为模板,在20μL体系中进行PCR扩增。采用引物:Primer A:5'-CAGGCCTAACACATGCAAGTC-3'; Primer B:5'-GGGCGG-

TGATGTACAAGGC-3'。反应条件:94℃ 预变性 5 min;94℃ 40 s,55.5℃ 40 s,72℃ 1 min 30 s,35 个循环;72℃ 延伸 10 min。扩增产物用上海博亚的 DNA 回收试剂盒回收纯化,得到的 1.3 kb 16S rDNA 片断与 pMD18-T 载体连接,热击转化 DH5 α 大肠杆菌,蓝白斑筛选阳性克隆,再采用碱裂解法提取重组质粒,经 PCR 验证后由上海博亚生物技术有限公司进行测序。测序结果利用 BLAST 和 DNAMAN4.0 分析软件与 GenBank 中相关放线菌的 16S rDNA 序列进行比对分析。

2 结果与分析

2.1 菌株 A03 的抑菌谱

平板对峙培养结果显示,拮抗菌 A03 对所有供试病原菌菌株均有一定的抑制作用(表 1)。其中对果蔬灰霉病菌 *B. cinerea*、番茄早疫病菌 *Alternaria solani*、小麦纹枯病菌 *Rhizoctonia cerealis* 和瓜果腐霉 *Pythium aphanidermatum* 的抑制作用较强,抑菌带宽度达 11.0 ~ 12.0 mm。

表 1 拮抗菌 A03 对供试病原真菌的抑制作用

Table 1 The inhibiting action of strain A03 to 15 pathogenic fungi tested

序号 Number	供试病原菌 Experiment pathogen	抑菌带 Inhibition zone (mm)	差异显著性 Significance of difference	序号 Number	供试病原菌 Experiment pathogen	抑菌带 Inhibition zone (mm)	差异显著性 Significance of difference
1	番茄早疫病菌 <i>Alternaria solani</i>	11.0	a	9	西瓜枯萎病菌 <i>F. oxysporum</i>	8.0	c
2	甜椒灰霉病菌 <i>Botrytis cinerea</i>	12.0	a		f. sp. <i>niveum</i>		
3	黄瓜灰霉病菌 <i>B. cinerea</i>	11.0	a	10	豌豆枯萎病菌 <i>F. oxysporum</i>	7.0	c
4	番茄灰霉病菌 <i>B. cinerea</i>	12.0	a		f. sp. <i>pisi</i>		
5	梨灰霉病菌 <i>B. cinerea</i>	11.0	a	11	棉花枯萎病菌 <i>F. oxysporum</i>	7.0	c
6	玉米大斑病菌 <i>Exserohilum turcicum</i>	8.0	c		f. sp. <i>vasinfectum</i>		
7	甘蓝枯萎病菌 <i>Fusarium oxysporum</i>	7.0	c	12	稻瘟病菌 <i>Pyricularia grisea</i>	7.0	c
	f. sp. <i>conglutinans</i>			13	瓜果腐霉 <i>Pythium aphanidermatum</i>	11.0	a
8	黄瓜枯萎病菌 <i>F. oxysporum</i>	9.0	b	14	小麦纹枯病菌 <i>Rhizoctonia cerealis</i>	12.0	a
	f. sp. <i>cucumerinum</i>			15	棉花黄萎病菌 <i>Verticillium dahliae</i>	8.0	c

2.2 A03 对甜椒和番茄灰霉病的温室防治效果

结果显示,拮抗菌 A03 的发酵液对甜椒和番茄灰霉病均具很好的抑制作用,处理后的植株发病率和病情指数均明显低于对照。其中对甜椒灰霉病的

作用相对更强,防治效果为 84.97%,与两种对照药剂在 $\alpha = 0.05$ 水平上均无显著性差异;对番茄灰霉病的防治效果为 79.51%,明显优于对照药剂灰康,而与多抗霉素无显著性差异(表 2)。

表 2 拮抗菌 A03 对温室甜椒和番茄灰霉病的防治效果

Table 2 The control effects of strain A03 to gray molds of pepper and tomato in greenhouse

处理 Treatment	发病率 Disease incidence (%)		病情指数 Disease index		防治效果 Control efficacy (%)	
	甜椒 Pepper	番茄 Tomato	甜椒 Pepper	番茄 Tomato	甜椒 Pepper	番茄 Tomato
A03	16.66 b	65.69 c	3.80 b	16.12 c	84.97 ab	79.51 a
多抗霉素 Polyoxin	8.72 c	29.48 d	2.34 b	13.27 c	91.28 a	83.09 a
灰康 Pyrimethanil	20.22 b	91.89 b	4.19 b	43.10 b	83.24 b	45.08 b
清水对照 CK	41.26 a	99.38 a	25.97 a	78.50 a	—	—

注:各处理均值后的字母 a, b, c, d 示方差分析的结果,同一列内标有相同字母的均值在 $\alpha = 0.05$ 水平上无显著差异。Note: Means with the same letter within a column are not significantly different at $\alpha = 0.05$ according to analysis of variance.

2.3 菌株 A03 的分类地位

2.3.1 形态特征:基内菌丝无横隔,不断裂;气生菌丝多分枝,孢子丝多呈紧螺旋密集成簇,也有松螺旋、波曲、小螺旋、钩状。

2.3.2 培养特征:在大多数培养基上不产生可溶性色素,气生菌丝灰或浅灰色,基内菌丝呈浅黄褐、褐、暗褐等颜色(表 3)。

表 3 菌株 A03 在 11 种培养基上的培养特征

Table 3 The cultural characteristics of strain A03 on 11 different media

培养基 Culture medium	生长情况 Growth state	气生菌丝 Aerial mycelium	基内菌丝 Substrate mycelium	可溶性色素 Soluble pigment
甘油天门冬素琼脂 Glycerin asparagines agar	差且慢 Poor slowly	浅灰 Slight gray	浅黄褐 Slight yellow brown	—
淀粉铵琼脂 Starch ammonium agar	差 Poor	浅灰 Slight gray	暗褐 Dark brown	—
葡萄糖天门冬素琼脂 Glucose asparagines agar	繁茂 Luxuriant	灰色 Gray	浅黄褐 Slight yellow brown	痕量 Trace quantity
葡萄糖酵母膏琼脂 Glucose yeast extract agar	差 Poor	浅灰 Slight gray	褐色 Brown	—
葡萄糖天门冬素肉膏琼脂 Glucose asparagines beef extract agar	繁茂 Luxuriant	灰色 Gray	褐色 Brown	—
瓦氏琼脂 Washi agar	繁茂 Luxuriant	灰色 Gray	褐色 Brown	—
伊莫松琼脂 Emenson agar	繁茂 Luxuriant	灰色 Gray	褐色 Brown	—
营养琼脂 Nutrient agar	繁茂 Luxuriant	灰色 Gray	浅黄 Slight yellow	—
高氏 1 号 Gause's synthetic agar	繁茂 Luxuriant	灰色, 有黑色吸水斑 Gray with bibulous spots	暗褐 Dark brown	—
马铃薯块 Potato patch	繁茂 Luxuriant	灰色 Gray	褐色 Brown	—
马铃薯葡萄糖琼脂 Potato dextrose agar	繁茂 Luxuriant	灰色 Gray	浅黄褐 Slight yellow brown	—

2.3.3 生理生化特性:菌株 A03 明胶液化反应呈阳性,牛奶凝固及胨化反应阴性,能水解淀粉,利用脲,不产 H₂S 和类黑色素,不还原硝酸盐,不水解纤维素;碳源能利用 D-葡萄糖、麦芽糖、D-甘露糖、D-甘露醇、DL-肌醇、核糖、半乳糖、甘油、D-果糖、淀粉,其次是乳糖、D-木糖、密二糖、纤维二糖,不利用棉子糖、蔗糖、阿拉伯糖、L-鼠李糖、糊精。

2.3.4 细胞壁化学类型和全细胞水解物糖型:菌株 A03 细胞壁含有 L,L-二氨基庚二酸(LL-DAP)及甘氨酸,化学类型属 I 型;全细胞水解液无特征性糖,糖类型为 C 型。

2.3.5 16S rDNA 的序列分析:所得 A03 的 16S rDNA 序列如图 1 所示。将其与 GenBank 中相关放线菌的 16S rDNA 序列进行 BLAST 比对, A03 的 16S rDNA 序列与吸水链霉菌 *Streptomyces hygroscopicus* 的 16S rDNA 序列的同源性非常高,达 99%。结果显示,菌株 A03 的形态特征、细胞壁化学类型和全细胞水解物糖型与链霉菌属 *Streptomyces* 相符,其培养特征、生理生化特性和 16S rDNA 序列与吸水链霉菌基本一致。根据多相分类原则,综合 A03 的各项分类特征,鉴定为吸水链霉菌 *S. hygroscopicus*。

3 讨论

吸水链霉菌是重要的抗生素产生菌,其不同变种可产生不同类型的抗生素,已有许多优良菌株见诸报道,如井冈霉素和静丝霉素产生菌井冈变种 *S. hygroscopicus* var. *jinggangensis* JG5008^[15],有效霉素产生菌柠檬变种 *S. hygroscopicus* var. *limoneus* IFO 12703 和 12704^[16],三种重要农用抗生素产生菌应城变种 *S. hygroscopicus* var. *yingchengensis* 10-22^[17],除草剂双丙氨磷产生菌 *S. hygroscopicus* SF-1293^[18]等。本研究的菌株 A03 分离自北京郊区菜田土壤,其抗菌谱与已知菌株不尽相同,产生的抗菌活性物质可能有别于上述抗生素,其对植物病原真菌有较广谱的抗性,尤其是对果蔬灰霉病菌的抑制作用较强,温室防治试验表明其发酵液中的生物活性物质对甜椒灰霉病和番茄灰霉病的防治效果显著,具有很好的开发应用潜力。在此基础上,对其产生的在生防中起关键作用的抗菌活性组分及其防病作用机制等进行后续研究,进而创制微生物农药新产品或品种,可为果蔬作物灰霉病的防治提供有效的替代农药种类,有助于解决灰霉病的抗药性和农药残留污染问题。

```

1   GCCAAGCTTG CATGCCTGCA GGTTCGACGAT TGGGCGGTGA TGTACAAGGC CCGGGAACGT
61  ATTCACCGCA GCAATGCTGA TCTGCGATTA CTAGCAACTC CGACTTCATG GGGTCGAGTT
121 GCAGACCCCA ATCCGAACATG AGACCGGCTT TTTGAGATTC GCTCCACCTC GCGGTATCGC
181 AGTCTATTGT ACCGGCCATT GTAGCACGTG TGCAGCCCAA GACATAAGGG GCATGATGAC
241 TTGACGTCGT CCCCACCTTC CTCCGAGTTG ACCCCGGCAG TCTCCTGTGA GTCCCCATCA
301 CCCCGAAGGG CATGCTGGCA ACACAGAACA AGGGTTGCGC TCGTTGCGGG ACTTAACCCA
361 ACATCTCACG ACACGAGCTG ACGACAGCCA TGCACCACCT GTACACCGAC CACAAGGGGG
421 ACCCTGTCTC CAGGGTTTTTC CGGTGTATGT CAAGCCTTGG TAAGGTTCTT CGCGTTGCGT
481 CGAATTAAGC CACATGCTCC GCTGCTTGTG CGGGCCCCCG TCAATTCCTT TGAGTTTTAG
541 CCTTGCGGCC GTACTCCCCA GGCGGGGAAC TTAATGCGTT AGCTGCGGCA CGGACGACGT
601 GGAATGTGCG CCACACCTAG TTCCCAACGT TTACGGCGTG GACTACCAGG GTATCTAATC
661 CTGTTTCGTC CCCACGCTTT CGCTCCTCAG CGTCAGTATC GGCCAGAGA TCCGCTTCG
721 CCACCGGTGT TCCTCCTGAT ATCTGCGCAT TTCACCGCTA CACCAGGAAT TCCGATCTCC
781 CCTACCAGAC TCTAGCCTGC CCGTATCGAA TGCAGACCCG GGGTTAAGCC CCGGGCTTTC
841 ACATCCGACG TGACAAGCCG CCTACGAGCT CTTTACGCC AATAATTCCG GACAACGCTT
901 GCGCCCTACG TATTACCGCG GCTGCTGGCA CGTAGTTAGC CGGCGCTTCT TCTGCAGGTA
961 CCGTCACTCT CGCTTCTTCC CTGCTGAAAG AGGTTTACAA CCCGAAGGCC GTCATCCCTC
1021 ACGCGGCGTC GCTGCATCAG GCTTTCGCC ATTGTGCAAT ATTCCCCACT GCTGCCTCCC
1081 GTAGGAGTCT GGGCCGTGTC TCAGTCCCAG TGTGGCCGGT CGCCCTCTCA GGCCGGCTAC
1141 CCGTCGTGCG CTTGGTAGGC CATCACCCCA CCAACAAGCT GATAGGCCGC GGGCTCATCC
1201 TTCACCGCCG GAGCTTTCCA CACGGAGGTC ATGCGACCCC GTGTCGTATC CGGTATTAGA
1261 CCCCCTTTC AGGGCTTGTG CCAGAGTGAA GGGCAGATTG CCCACGTGTT ACTCACCCGT
1321 TCGCCACTAA TCCCCTCCCG AAGGAGGTTT ATCGTTCGAC TTGCATGTGT TAGGCCTGAA
1381 TCTCTAGAGG ATCCCCGGGT ACCGAGCTCG AATTCGTAAT CATG

```

图 1 菌株 A03 的 16S rDNA 序列

Fig. 1 The sequence of 16S rDNA from strain A03

16S rDNA 序列分析是放线菌种级分类单位鉴定的重要手段,常规操作一般先通过适宜方法提取 DNA 作为模板进行 PCR 扩增,获得 16S rDNA 用于序列测定。作者用 CTAB 法^[19]提取模板 DNA 和用无菌牙签直接蘸取菌落作为模板进行 PCR 扩增,两种方法的扩增产物经回收纯化均可得到 1.3 kb 的 16S rDNA 片断,说明后一方法可用于放线菌的 16S rDNA 序列分析,这样可以省略 DNA 提取的繁杂步骤,简化操作程序,使其分子鉴定简便易行。

参考文献(References)

- 杨燕涛. 国内保护地蔬菜灰霉病侵染规律及防治技术研究进展. 农药, 2003, 42(1):6-10
- 周明国,叶钟音,杭建胜. 对多菌灵具有抗性的草莓灰霉病菌菌株形成与分布研究. 南京农业大学学报, 1990, 13(3):57-60
- 丁中,刘峰,王会利,等. 番茄灰霉菌的多重抗药性研究. 山东农业大学学报, 2001, 32(4):452-456
- 纪明山,祁之秋,赵平,等. 番茄灰霉病菌对啞霉胺抗药性的试验. 沈阳农业大学学报, 2002, 33(5):345-347
- 闫秀琴,刘慧平,韩巨才. 我国植物病原菌抗药性的研究进展. 农药, 2001, 40(12):4-6
- 童蕴慧,纪兆林,徐敬友,等. 灰霉病生物防治研究进展. 中国生物防治, 2003, 19(3):131-135
- Zimand G, Elad Y, Chet I. Effect of *Trichoderma harzianum* on *Botrytis cinerea* pathogenicity. Phytopathology, 1996, 86(11):1255-1260
- 方中达. 植病研究方法. 北京:中国农业出版社, 1998
- 农业部农药检定所生测室. 农药田间药效试验准则(一). 北京:中国标准出版社, 1994
- Shirling E B, Gottlieb D. Methods for characterization of *Streptomyces* species. International Journal of Systematic Bacteriology, 1966, 16(3):313-340
- 中国科学院微生物研究所放线菌分类组. 链霉菌鉴定手册. 北京:科学出版社, 1975
- 周德庆. 微生物学实验手册. 上海:上海科学技术出版社, 1986
- 王平. 测定放线菌菌体中氨基酸和单糖的快速方法——薄层层析法. 微生物学通报, 1986, 13(5):228-231
- Hasegawa T, Takizawa M, Tanida S. A rapid analysis for chemical grouping of aerobic actinomycetes. Journal of General and Applied Microbiology, 1983, 29(4):319-322
- 陈双雅,邓子新. 吸水链霉菌井冈变种 JG5008 转化系统的初建. 应用与环境生物学报, 2000, 6(3):267-270
- 张致平,姚天爵. 抗生素与微生物产生的生物活性物质. 北京:化学工业出版社, 2005
- 覃重军,邓子新,周启,等. 吸水链霉菌应城变种的四个内源质粒及其逐个消除的研究. 微生物学报, 1995, 35(1):14-20
- 郭永霞,孔祥清. 天然除草活性化合物研究进展. 植物保护, 2005, 31(6):11-16
- Kieser T, Bibb M J, Buttner M J, et al. Practical *Streptomyces* genetics. Norwich: The John Innes Foundation, 2000