

海胆共附生菌 DNC₂ 的鉴定及其发酵条件优化

Identification and optimization of fermentation conditions for symbiotic and epiphyte bacterium DNC₂ from *Strongylocentrotus intermedius*

李 振 张付云 李 伟 赵 宇 卢 航

LI Zhen ZHANG Fu-yun LI Wei ZHAO Yu LU Hang

(大连海洋大学食品科学与工程学院, 辽宁 大连 116023)

(College of Food Science and Engineering, Dalian Ocean University, Dalian, Liaoning 116023, China)

摘要: 为对海胆共附生菌 DNC₂ 进行开发利用, 对该菌株进行形态、生理生化以及 16S rDNA 序列测定, 并以抑菌活性为考察指标, 对其发酵条件进行优化。结果表明: 海胆共附生菌 DNC₂ 属于枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*); 用牛肉膏为 0.3%, 蛋白胨为 0.6%, 初始 pH 值 9.0 的培养基, 35 °C 发酵 5 d 时抑菌活性最优, 且该条件的菌株发酵液对 8 种真菌指示菌抑菌效果良好, 抑制率分别为苹果粉红 92%, 玉米早疫、番茄灰霉 89%, 辣椒青枯 88%, 毛霉菌 81%, 西瓜枯萎 73%, 棉花枯萎 72%, 串珠镰刀菌 52%。

关键词: 海胆; 共附芽孢杆菌; 鉴定; 抑菌活性; 发酵条件

Abstract: To explore the Symbiotic and Epiphyte bacterium DNC₂ from *Strongylocentrotus intermedius*, the morphological, biochemical and physiological characteristics of the strain were researched and the 16S rDNA sequences of it were analyzed. The univariate experiment and orthogonal test of L₁₆(4⁵) were carried out to optimize the fermentation conditions for antibacterial activity. Symbiotic and Epiphyte bacterium DNC₂ was identified as *Bacillus subtilis*. The optimal fermentation conditions were obtained as fermentation at 35 °C for 120 h with initial pH 9, and the optimum fermentation medium was determined as beef extract 0.3% and peptone 0.6%. The optimized fermentation broth also showed good effect on inhibiting the growth of 8 kinds of fungus. The inhibition rate was 92% against *Trichothecium roseum* (Bull.) Link, 89% against *Botrytis cinerea* Pers and *A. solani* (Ell&Mart), 88% against *Ralstonia solanacearum*, 81% against *Mucor mucedo* (L.) Brefeld, 73% against *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*, 72% against *Fusarium oxysporum* of Cotton and 52% against *Fusarium moniliformis*.

Keywords: *Strongylocentrotus intermedius*; symbiotic and epiphyte

bacillus; identification; antibacterial activity; fermentation conditions

海洋动植物共附生菌是指存在于海洋动植物表面并能与其共同生存的微生物。近 20 年来, 有关海洋共附生微生物产生新型代谢产物的报道逐渐增多, 一些曾被认为是海洋动植物产生的生物活性物质实际上来源于与动植物宿主共生的微生物^[1]。研究发现海洋动植物共附生微生物具有抑菌、抗肿瘤、抗氧化等多种生物活性^[2,3], 能够产生一些活性物质^[4-6], 如 Wang 等^[7]发现对 5 种疾病细菌具有良好抗菌活性的珊瑚共生真菌乙酸乙酯提取物; 姜建等^[8]从海参、海胆、海葵、海兔、石莼、裙带菜分离得到多种共附生海洋微生物, 其中 21 株细菌, 8 株放线菌和 2 株真菌具有抑菌活性, 前人所作的研究为开发和利用海洋共附生微生物资源提供了理论支持。而由于不受自然资源条件的限制, 利用发酵法制备微生物活性物质具有广阔的应用前景^[9]。

本实验室^[10]前期从海胆中分离筛选出一株具抑菌活性共附生细菌 DNC₂, 本试验应用 16S rDNA 分子生物学等方法对其进行鉴定, 并对其培养条件进行优化以获得最优抑菌活性发酵液, 以期为该菌株发酵液中抑菌活性物质的提取、纯化鉴定奠定基础, 为分离鉴定新的海洋抑菌保鲜活性物质, 以及海胆共附生微生物资源的研究及综合利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

具抑菌活性的海胆共附生菌 DNC₂: 由本实验室分离并保存;

细菌指示菌: 大肠杆菌 (*Escherichia coli*)、枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*)、变形杆菌 (*Escherichia coli*)、产气杆菌

基金项目: 辽大连市科学技术基金 (编号: 2010J21DW017); 大连海洋大学 2012 年校列科研项目 (编号: 2012HYDX15); 大学生创新创业训练项目 (编号: 201310158204)

作者简介: 李振 (1989—), 女, 大连海洋大学在读硕士研究生。

E-mail: qiu19891013ri@163.com

通讯作者: 张付云

收稿日期: 2014-10-19

(*Enterobacter aerogenes*), 中国科学院大连化学物理研究所 1805 组惠赠;

真菌指示菌: 辣椒青枯(*Ralstonia solanacearum*)、西瓜枯萎(*Fusarium oxysporum f. sp. niveum*)、苹果粉红(*Trichothecium roseum (Bull.) Link*)、玉米早疫(*A. solani (Ell&Mart). sorauer*)、雪霉叶枯(*Gerlachia nivalis (Ces. at Sacc.)*)、串珠镰刀菌(*Fusarium moniliforme*)、番茄灰霉(*Botrytis cinerea Pers*)、毛霉菌(*Mucor mucedo (L.) Brefeld*)、石榴黑腐(*Monilia laxa*)、禾谷镰刀菌(*Fusarium graminearum*)、棉花枯萎(*Fusarium oxysporum of Cotton*), 中国科学院大连化学物理研究所 1805 组惠赠;

种子液体培养基: 牛肉膏 0.3%, 蛋白胨 1%, NaCl 0.5%, pH 7.2~7.4;

沙氏培养基: 葡萄糖 4%, 蛋白胨 1%, 琼脂粉 1.8%;

牛肉膏、蛋白胨、葡萄糖、琼脂、NaCl 等: 分析纯, 安泰生物工程股份有限公司。

1.1.2 设备及仪器

生物显微镜: XS-213 JNOEC 型, 南京江南永新光学有限公司;

电子天平: BS224S 型, 北京赛多利斯仪器系统有限公司;

不锈钢蒸汽消毒器: YX280B 型, 上海三申医疗器械有限公司;

恒温培养箱: HH. BII. 420-BS 型, 上海跃进医疗器械厂;

恒温振荡器: THZ-82A 型, 常州国华电器有限公司;

超净工作台: S. HS-1300 型, 上海跃进医疗器械厂。

1.2 试验方法

1.2.1 海胆共附生菌 DNC₂ 的鉴定

(1) 形态学及生理生化特性: 采用平板划线法观察菌落形态, 显微镜下观察经革兰氏染色后的菌体形态特征^[11]; 参考微生物鉴定试验方法^[12], 进行酪氨酸水解试验、酪素水解试验、酸性营养肉汤试验、耐盐性试验、柠檬酸盐利用试验、过氧化氢酶测定试验、对叠氮化钠抗性试验、需氧性试验、乙酰甲基甲醇(V.P)试验、对溶菌酶抗性试验、最高温最低温试验、糖发酵试验、淀粉水解试验及硝酸盐还原试验。

(2) 分子生物学鉴定: 将 DNC₂ 号菌株交由大连宝生物工程有限公司进行 16S rDNA 基因测序。将测得序列提交至 NCBI 数据库, 通过与 GenBank 中已知菌种的序列 BLAST 比对, 比较分析同源性^[13], 使用 MEGA 5.0 软件构建系统发育进化树。

1.2.2 发酵条件优化

(1) 制备种子发酵液: 挑取生长良好的 DNC₂ 菌株斜面培养物接种至装有 50 mL 种子液体培养基的 250 mL 三角瓶中, 180 r/min, 30 °C 恒温振荡 24 h, 用作优化发酵的种子液。

(2) 碳源单因素试验: 分别在以 0.3% 的牛肉膏、麦芽糖、可溶性淀粉、蔗糖和乳糖为碳源的培养基中接入 1% (V/V) 种子发酵液, 180 r/min 恒温培养 3 d, 发酵温度 30 °C。分

别测定各碳源发酵液的抑菌活性, 以确定抑菌活性较好的碳源成分。

(3) 发酵条件的优化: 利用五因素四水平正交试验(表 1)探究发酵温度、初始 pH、发酵时间、碳源浓度和氮源浓度对海胆共附生菌 DNC₂ 发酵液抑菌活性的影响, 进而确定最优抑菌活性发酵条件^[14]。以碳源经过改良的培养基用作 DNC₂ 菌株的基础发酵培养基, 将菌龄为 24 h 的种子液以 1% (V/V) 接种量接入各试验组培养基中, 180 r/min 恒温振荡培养。

表 1 正交试验因素水平表

Table 1 Levels and factors of orthogonal experiment

水平	A 发酵 温度/°C	B 初始 pH	C 发酵 时间/d	D 碳源 浓度/%	E 氮源 浓度/%
1	20	3	1	0.1	0.6
2	25	5	3	0.3	0.8
3	30	7	5	0.5	1.0
4	35	9	7	0.7	1.2

(4) 抑菌活性测定: 利用滤纸片法(Kirby Bauer, KB 法)^[15]检测不同试验组的样品对细菌指示菌的抑制活性。指示菌菌液制备: 将 4 种细菌指示菌接种于新鲜牛肉膏蛋白胨液体培养基中, 置 37 °C 摇床中 180 r/min 振荡培养 24 h。在已凝固的牛肉膏蛋白胨培养基表面滴入 100 μL 细菌指示菌培养液, 用无菌涂布棒涂布均匀, 将灭菌的滤纸片(直径 6 mm)贴于各平板分区上, 取 10 μL 试验组的发酵液(用无菌微孔滤膜除去菌体)滴到滤纸片中央, 以 75% 乙醇作阳性对照, 相应的空白液体培养基作阴性对照, 每组试验设 3 个平行。于 37 °C 培养箱中培养 24 h, 测定抑菌圈直径。

(5) 优化条件验证: 采用优化后的发酵培养条件对 DNC₂ 菌株发酵培养, 测定其发酵液的抑菌活性, 以未优化培养基作阴性对照。

1.2.3 海胆共附生菌 DNC₂ 最优条件发酵液对真菌的抑制效果 将辣椒青枯、玉米早疫等 11 种供试病原真菌接种于沙氏培养基平板, 菌落形成均匀后, 用直径为 7 mm 的打孔器切取边缘整齐的菌饼用于接种; 将 DNC₂ 菌株最优条件的发酵液(用无菌微孔滤膜除去菌体)与冷却至 50 °C 左右的沙氏培养基以 1:9 的比例混匀倒平板, 凝固后在各平板中央分别接入 11 种真菌菌饼, 每个处理设 3 个平行, 以不含 DNC₂ 菌株发酵液的沙氏培养基作阴性对照。于 28 °C 培养箱培养 5 d, 采用十字交叉法测定真菌指示菌菌落直径。根据式(1)计算最优条件发酵液对真菌菌丝生长的抑制率^[16]。

抑制率 = $\frac{\text{对照值} - \text{处理值}}{\text{对照值} - 7} \times 100\%$ (1)

2 结果与讨论

2.1 海胆共附生菌 DNC₂ 鉴定结果

2.1.1 形态学及生理生化鉴定 菌落、菌体形态鉴定结果:

经平板培养后菌落呈圆形,光滑,不易挑取,略微发红,颜色不均一,边缘絮状,四周颜色较浅。经光学显微镜观察,细菌呈杆状。使用显微测微尺测量细菌大小,菌株长度 1.155~1.925 μm,宽度 0.385~0.770 μm。菌体革兰氏染色后呈红色,表明其为革兰氏阴性菌。于芽孢培养基上培养并染色后,观察到 DNC₂ 菌株有椭圆形芽孢,孢囊膨大。生理生化鉴定见表 2。结合 DNC₂ 菌株的形态学与生理生化特征,对比此菌与枯草芽孢杆菌有较高符合度,可将其初步鉴定为芽孢杆菌属枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)。

表 2 DNC₂ 号菌株生理生化特征[†]

Table 2 Physiological and biochemical characteristics of strain DNC₂

鉴定指标	鉴定结果	
	枯草芽孢杆菌	DNC ₂
过氧化氢酶	+	+
厌氧生长	—	+
V.P 反应	+	+
V.P 反应中的 pH 值	5.0~8.0	5.4
生长温度	最高/℃	45~55
	最低/℃	5~20
抗溶菌酶(0.001%)	b	a
pH 5.7 的培养基上生长	+	+
抗叠氮化钠(0.02%)	—	+
生长在 NaCl(7%)上	+	—
葡萄糖	+	+
产酸	木糖	+
	甘露醇	+
淀粉水解	+	+
柠檬酸盐利用	+	+
硝酸盐还原	+	+
酪素水解	+	+
酪氨酸分解	—	—

[†] 具有指示特征的菌株百分数: + 为 85~100; a 为 50~84; b 为 15~49; — 为 0~14; V 为易变特征。

2.1.2 16S rDNA 鉴定 DNC₂ 菌株的 16S rDNA 经扩增和测序后将序列提交 GenBank 数据库,获得登录号为 KF706342。将该序列在数据库中进行 Blast 同源性分析,结果显示多株 *Bacillus subtilis* 的序列与其亲缘关系相近。利用 MEGA5.0 软件的 Neighbor-joining 方法构建系统发育树(图 1),结果表明 DNC₂ 菌株与 *Bacillus subtilis* (AM237355) 亲缘关系最近,处于同一分支,同源性达 98% 以上。因此综合形态学及生理生化特征,可将 DNC₂ 菌株鉴定为枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)。

2.2 海胆共附生菌 DNC₂ 发酵条件优化结果

2.2.1 碳源对发酵液抑菌活性的影响 由图 2 可知,牛肉

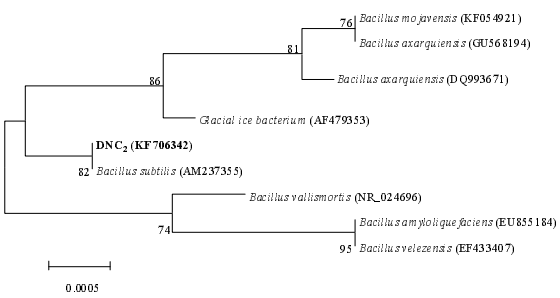


图 1 基于 16S rDNA 构建的菌株 DNC₂ 的基因序列系统进化树

Figure 1 Phylogenetic tree of strain DNC₂ based on the 16S rDNA sequences

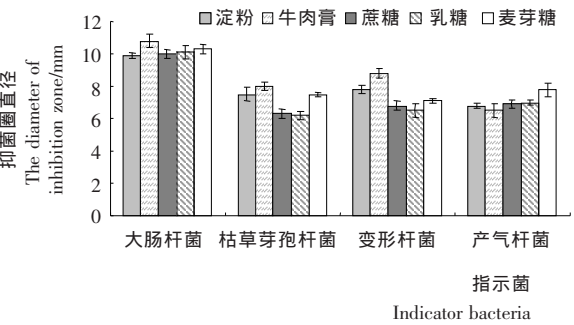


图 2 碳源对发酵液抑菌活性的影响

Figure 2 Effect of carbon sources on antibacterial activity of fermented broths

膏为碳源时发酵液对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌和变形杆菌的抑菌活性最强,而碳源为麦芽糖时发酵液对产气杆菌抑菌性最好,综合考虑以牛肉膏作 DNC₂ 菌株发酵的碳源。

2.2.2 正交试验优化结果 DNC₂ 菌株发酵液抑菌活性正交试验设计及结果见表 3。由表 3 可知,发酵液对 4 种指示菌的最佳抑制条件各不相同。各因素对大肠杆菌抑制效果的影响主次顺序为 B>A>E>D>C,即初始 pH > 发酵温度 > 氮源浓度 > 碳源浓度 > 发酵时间,且温度 35℃,初始 pH 9,发酵 3 d,碳源浓度 0.3%,氮源浓度 0.6% 时抑制作用最强;同理,对枯草芽孢杆菌抑制效果的影响主次顺序为发酵时间 > 初始 pH > 氮源浓度 > 发酵温度 > 碳源浓度,发酵温度 25℃,初始 pH 9,发酵 5 d,碳源浓度 0.3%,氮源浓度 1.2% 时抑菌作用最好;对变形杆菌抑制效果的影响主次顺序为初始 pH > 发酵温度 > 碳源浓度 > 发酵时间 > 氮源浓度,发酵温度 35℃,初始 pH 9,发酵 7 d,碳源浓度 0.3%,氮源浓度 0.6% 时抑菌作用最好;对产气杆菌抑制效果的影响主次顺序为发酵温度 > 氮源浓度 > 初始 pH > 碳源浓度 > 发酵时间,发酵温度 35℃,初始 pH 7,发酵 1 d,碳源浓度 0.5%,氮源浓度 0.6% 时抑菌作用最好。

通过综合平衡法评价各因素最优水平:发酵温度对产气杆菌抑菌性影响程度最强,对变形杆菌和大肠杆菌次之,抑菌作用均在 35℃ 时达最高;pH 对大肠杆菌和变形杆菌抑菌性影响程度最强,其次为枯草芽孢杆菌,且 pH 为 9 时抑菌

性均达最高;发酵时间对枯草芽孢杆菌抑菌性影响最强,发酵 5 d 时抑菌性最高,pH 对其余 3 种指示菌影响程度较低;碳源浓度对 4 种指示菌抑菌性影响程度较低,但浓度为 0.3%时对 3 种指示菌抑菌性都达最高;氮源浓度对产气杆菌及大肠杆菌抑菌性影响较强,均在 0.6%浓度时达最高。综合上述分析确定,海胆共附芽孢杆菌 DNC₂ 号菌株最优抑菌活性发酵条件为:在含牛肉膏 0.3%,蛋白胨 0.6%,初始 pH 值 9.0 的培养基中 35 ℃ 发酵培养 5 d。

表 3 正交试验设计及结果
Table 3 Results of the orthogonal tests

试验号	A	B	C	D	E	抑菌圈直径/mm			
						大肠	枯草	变形	产气
1	1	1	1	1	1	6.0	6.0	6.0	6.0
2	1	2	2	2	2	10.0	6.0	15.0	6.0
3	1	3	3	3	3	6.0	13.9	17.1	6.0
4	1	4	4	4	4	6.0	14.5	15.0	6.0
5	2	1	2	3	4	6.0	6.0	6.0	6.0
6	2	2	1	4	3	6.0	14.5	16.0	6.0
7	2	3	4	1	2	6.0	13.0	13.0	6.0
8	2	4	3	2	1	20.0	15.0	18.0	6.0
9	3	1	3	4	2	6.0	6.0	6.0	6.0
10	3	2	4	3	1	16.0	6.0	16.0	15.5
11	3	3	1	2	4	13.0	17.0	17.6	15.0
12	3	4	2	1	3	17.0	6.0	13.0	6.0
13	4	1	4	2	3	6.0	6.0	18.1	6.0
14	4	2	3	1	4	16.0	18.0	13.0	14.0
15	4	3	2	4	1	15.8	6.0	14.5	15.0
16	4	4	1	3	2	20.0	15.0	19.0	15.0
大肠杆菌	k ₁	7.000	6.000	11.250	11.250	14.450			
	k ₂	9.500	12.000	12.200	12.250	10.500			
	k ₃	13.000	10.200	12.000	12.000	8.750			
	k ₄	14.450	15.750	8.500	8.450	10.250			
	R	7.450	9.750	3.700	3.800	5.700			
枯草芽孢杆菌	k ₁	10.100	6.000	13.125	10.750	8.250			
	k ₂	12.125	11.125	6.000	11.000	10.000			
	k ₃	8.750	12.475	13.225	10.225	10.100			
	k ₄	11.250	12.625	9.875	10.250	13.875			
	R	3.375	6.625	7.225	0.775	5.625			
变形杆菌	k ₁	13.275	9.025	14.650	11.250	13.625			
	k ₂	13.250	15.000	12.125	17.175	13.250			
	k ₃	13.150	15.55	13.525	14.525	11.775			
	k ₄	16.150	16.25	15.525	12.875	12.900			
	R	5.500	7.225	3.400	3.425	3.225			
产气杆菌	k ₁	6.000	6.000	10.500	8.000	10.625			
	k ₂	6.000	10.375	8.250	8.250	8.250			
	k ₃	10.625	10.500	8.000	10.625	6.000			
	k ₄	12.500	8.250	8.375	8.250	10.250			
	R	6.500	4.500	2.500	2.625	4.625			

2.2.3 验证优化发酵条件 以未经优化的发酵液作对照,测定最优条件 DNC₂ 菌株发酵液的抑菌活性(图 3),由图 3 可知:与未优化的发酵液相比,优化后发酵液的抑菌活性较好,抑菌活性得到增强。

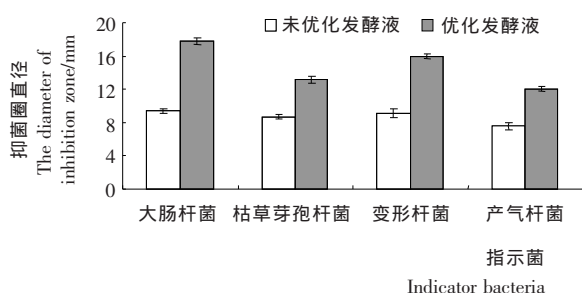


图 3 优化前后发酵液的抑菌作用

Figure 3 Inhibition effect of optimization and not optimization fermented broths on the tested bacteria

2.3 海胆共附生菌 DNC₂ 最优条件发酵液的抑真菌活性

DNC₂ 菌株最优条件发酵液对 11 种植物病原真菌菌丝的生长均有抑制效果,试验组平板中的真菌指示菌较少生长或生长减缓,而对照组的真菌菌落几乎长满整个培养皿,依据式(1)计算出发酵液对指示菌的菌丝生长抑制率(图 4)。由图 4 可知:发酵液对 8 种病原菌具有较强的抑菌性,抑制率分别为苹果粉红 92%,玉米早疫 89%,番茄灰霉 88%,毛霉菌 81%,西瓜枯萎 73%,棉花枯萎 72%,串珠镰刀菌 52%;对禾谷镰刀菌、雪霉叶枯、石榴黑腐也有一定抑制性。由此可见,最优条件发酵液对于植物病原真菌具有较好的抑菌作用,表现出应用于保鲜技术及生物防治领域的潜力,具有进一步研究开发的价值。

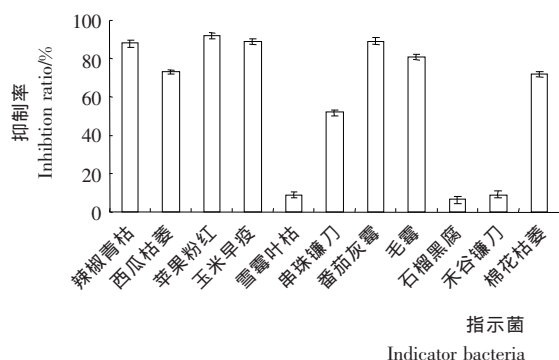


图 4 海胆共附生菌 DNC₂ 发酵液对真菌的抑制效果

Figure 4 Inhibition effect of fermented broths of strain DNC₂ on the fungi

3 结论

以抑菌活性菌株 DNC₂ 作为试验菌株,根据形态学、生理生化试验及 16S rDNA 序列分析将其鉴定为枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*);该菌的最优发酵条件为:0.3%牛肉膏,0.

6%蛋白胨,初始 pH 9.0,发酵温度 35 °C,发酵时间 5 d;基于最佳发酵条件,发酵液对苹果粉红、玉米早疫、番茄灰霉、辣椒青枯、毛霉菌、西瓜枯萎、棉花枯萎、串珠镰刀菌 8 种真菌的抑菌性较强。本试验为后代谢物中抑菌活性成分的分离和应用提供了依据,关于 DNC₂ 菌株发酵液中活性代谢产物的分离纯化、结构鉴定等有待于进一步研究。

参考文献

- 刘全永,胡江春,薛德林,等. 海洋微生物活性物质研究[J]. 应用生态学报,2002,13(7):901~905.
- Mitova M, Popov S, De Rosa S. Cyclic peptides from a Ruegeria strain of bacteria associated with the sponge Suberites domuncula [J]. J. Nat Prod, 2004, 67(7):1 178~1 181.
- 候捷,王兴红,陈霞,等. 海藻共附生微生物的分离及抗植物病毒活性筛选研究[J]. 中国海洋大学学报,2010,40(5):96~98.
- 缪莉,郑忠辉,苏文金. 共附生海洋微生物活性物质的研究进展[J]. 海洋通报,2002,21(3):62~64.
- Knight V, Sanglier J J, Ditullio D, et al. Diversifying microbial natural products for drug discovery[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2003, 62(5): 446~458.
- Rizvi M A, Shameel M. Studies on the bioactivity and elementology of marine algae from the coast of Karachi, Pakistan[J]. Phytoter Res, 2004, 18(11): 865~872.
- Wang Y N, Shao C L, Zheng C J. Diversity and antibacterial activities of fungi derived from the Gorgonian *Echinogorgia rebecka* from the south china sea[J]. Marine Drugs, 2011(9): 1 379~1 390.
- 姜健,范圣第,杨宝灵,等. 海洋动植物共附生微生物的分离和抗菌活性研究[J]. 微生物学通报,2005,32(2):65~68.
- 袁静,魏泓. 微生物发酵生产辅酶 Q10 的研究进展[J]. 氨基酸和生物资源,2004,26(1):53~56.
- 李伟. 海胆共附微生物的分离及活性研究[D]. 大连:大连海洋大学,2011.
- 王伟,牟圆圆,黄伟. 葡萄灰霉病生防拮抗菌的筛选及发酵条件优化[J]. 食品与机械,2013,29(6):191~196.
- 蔡妙英,东秀珠. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京:科学出版社,2001:57~59.
- 潘康成,冯兴,崔恒敏,等. 利用 16S rDNA 序列对两种芽孢杆菌的鉴定[J]. 中国兽医科学,2009,39(6):550~554.
- Avinash Vellore Sunder, Atul Kumar, Neha Naik, et al. Characterization of a new *Bacillus cereus* ATUAVP1846 strain producing penicillin V acylase, and optimization of fermentation parameters[J]. Annals of Microbiology, 2012, 62(3): 1 287~1 293.
- Hunfeld K P, Weigand J, Wichelhaus T A. In vitro activity of mezlocillin meropenem aztreonam, vancomycin, teicoplanin, ribostamycin and fusidic acid against *Borrelia burgdorferi*[J]. Antimicrobial Agents, 2001, 17(3): 203~208.
- 薛磊,薛泉宏,赵娟,等. 大丽轮枝菌菌株对链霉菌胞外蛋白酶活性及抑菌效果的影响[J]. 棉花学报,2012,24(1):78~84.