

文章编号: 1000-5862(2015)02-0171-06

3 株拮抗内生放线菌的鉴定及其抑菌活性初步研究

熊瑶瑶¹ 敖武^{1,3} 李怡¹ 何晓峰² 张志斌^{1*} 朱笃^{1,2*}

(1. 江西师范大学生命科学学院, 江西省亚热带植物资源保护与利用重点实验室, 江西 南昌 330022;

2. 江西科技师范大学生命科学学院, 江西省生物加工过程重点实验室, 江西 南昌 330013;

3. 江西博雅生物制药股份有限公司, 江西 抚州 344000)

摘要: 对分离自江西东乡野生稻根部的3株内生放线菌进行鉴定和抑菌活性研究。根据菌株的形态与培养特征、生理生化特性及16S rRNA基因序列系统发育分析,将菌株FRo1、FRo2和FRo3分别鉴定为委内瑞拉链霉菌、娄彻氏链霉菌和肉质链霉菌。采用管碟法和菌丝生长速率法分析菌株拮抗病原细菌与病原真菌的活性。结果表明:菌株FRo1发酵液对所有测试细菌均有抑制作用,显示较广谱抑菌活性;菌株FRo2显示出较强抑制金黄色葡萄球菌和7种病原真菌的活性,其中对金黄色葡萄球菌抑菌直径为22.33 mm,对小麦赤霉、水稻纹枯病菌、车前草核盘菌及胶胞炭疽菌的抑制率分别为70%、45%、58%和65%;而菌株FRo3发酵液对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌及伤寒杆菌表现出不同程度的抑制,除车前草核盘菌外对所测试的病原真菌均有抑制活性,但抑制率均低于50%。这些菌株抑菌效果良好,显示出较好的生防潜力。

关键词: 内生放线菌; 链霉菌属; 多相分类; 抑菌活性

中图分类号: S 718.81 **文献标志码:** A **DOI:** 10.16357/j.cnki.issn1000-5862.2015.02.12

0 引言

放线菌是产生抗生素及多种生物活性物质的重要微生物资源,在食品、工业、农业、医药、环境治理、能源再生等领域得到广泛应用^[1],而以分类、鉴定、命名为目的的放线菌系统学是放线菌资源研究和开发利用的重要理论基础^[2-3]。大量研究表明,放线菌系统学的研究对于明确分离野生菌株或新发现活性菌株的分类地位、指导菌株抗菌活性和产酶活性的筛选、次级代谢产物分离以及各种功能基因研究等均具有积极的现实意义^[4-7]。

植物内生放线菌是一类尚未完全开发的新型微生物资源,其中很可能产生在土壤放线菌中难以发现的新菌种和新型天然产物中^[8]。因此,开展植物内生放线菌的系统学研究对于指导内生菌的分类和抗菌活性物质的筛选具有重要意义。作为广泛栽培的农作物水稻,其根内存在丰富的内生菌资源,有望从中开发出生态兼容、环境友好的生防菌剂^[9-10]。本

研究在前期对东乡野生稻内生放线菌开展分离、筛选工作基础上,挑选3株根部的内生放线菌FRo1、FRo2、FRo3进行多相分类鉴定,同时通过测定内生放线菌对病原细菌和植物病原真菌的抑制效果来考察它们的生物活性,以期得到具有较好抑菌活性的内生放线菌,并为后续农业生防实验提供基础材料。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种 内生放线菌FRo1、FRo2、FRo3均分离自江西东乡野生稻根部,现保存于江西省亚热带植物资源保护与利用重点实验室。

病原细菌指示菌: 大肠杆菌(*Escherichia coli*, CCTCC AB 93154)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, CCTCC AB 91093)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*, CCTCC AB 90008)、鼠伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhimurium*, CCTCC AB 2014173)、嗜水气

收稿日期: 2014-11-10

基金项目: 国家自然科学基金(31260137)、国家“十二五”重大科技支撑课题(2011BAC13B04)、江西省青年科学基金(20132BAB214006)和江西省教育厅科研课题(GJJ14250)资助项目。

通信作者: 朱 笃(1971-),男,江西高安人,教授,博士,主要从事微生物资源与代谢工程研究;

张志斌(1981-),男,江西樟树人,实验师,硕士,主要从事微生物资源开发与活性天然产物分离方面的研究。

单胞菌(*Aeromonas hydrophila* ,CGMCC 1. 2017)、苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis* ,CCTCC AB 205309) .

病原真菌指示菌: 立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)、油菜菌核菌(*Sclerotinia libertiana*)、小麦赤霉(*Fusarium graminearum*)、车前草核盘菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)、胶胞炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)、芝麻枯萎菌(*Fusarium oxysporum*)、辣椒根腐菌(*Phytophthora capsici*) ,由江西农业大学农学院植物保护研究室提供.

1. 1. 2 培养基 菌种培养基配制方法参照文献[11]. 发酵液拮抗试验 LB 培养基(细菌) 和 PDA 培养基(真菌) 参照文献[12]. 发酵培养基20. 00 , KNO₃ 1. 00 ,K₂ HPO₄ 0. 50 ,MgSO₄ · 7H₂ O 0. 50 ,NaCl 0. 05 FeSO₄ · 7H₂ O 0. 01 蒸馏水1 L pH 值为 7. 4 ~7. 6.

1. 2 菌株的鉴定

1) 形态观察、培养特征和生理变化分析参照文献[11]和文献[13].

2) 16S rRNA 基因序列的 PCR 扩增及其系统发育分析: 菌株系统发育分析参照文献[14] ,其中 PCR 扩增条件为: 95 ℃ 300 s 95 ℃ 30 s 55 ℃ 30 s ,

72 ℃ 90 s 34 个循环; 72 ℃ 600 s.

3) 菌株 FRo1、FRo2 和 FRo3 代谢产物的抗菌谱测定: 活性试验发酵液的制备参照文献[14] ,细菌活性抑制试验参照文献[15] ,真菌活性试验参照文献[16]. 抑制率% = [(对照菌落直径 - 处理菌落直径) /(对照菌落直径 - 菌饼直径)]×100% .

2 结果

2. 1 菌种的鉴定

2. 1. 1 形态和培养特征观察 放线菌 FRo1、FRo2 和 FRo3 在高氏一号等 8 种培养基上均可生长 ,菌落干燥 ,产孢多(见图 1) . 结合气生菌丝颜色、基内菌丝颜色和可溶性色素的有无(见表 1) ,初步推测菌株 FRo1 属于链霉菌中的淡紫灰类群 ,菌株 FRo2 属于链霉菌中的白孢类群 ,而 FRo3 属于链霉菌中的灰褐类群.

菌株 FRo1 的孢子丝长直或弯曲 ,单独分枝; 菌株 FRo2 菌丝多分支 ,孢子链呈螺旋或直线生长 ,螺旋大多为 4 ~6 圈; 菌株 FRo3 孢子丝初旋或 1 ~4 圈松散螺旋形(见图 2) .

表 1 菌株 FRo1、FRo2 和 FRo3 在不同培养基上的培养特征

培养基	FRo1				FRo2				FRo3			
	生长状况	气生菌丝	基内菌丝	可溶性色素	生长状况	气生菌丝	基内菌丝	可溶性色素	生长状况	气生菌丝	基内菌丝	可溶性色素
高氏一号 Gause(No. 1) agar	+++	粉色	浅黄	无	+++	灰色	紫褐色	无	+++	灰色	微褐色	浅褐色
葡萄糖天门冬素琼脂 Glucose asparagine agar	++	浅灰	浅黄	浅褐	+	灰色	黄褐色	无	+	浅灰黄色	浅灰黄色	无
蔡氏琼脂 Czapek's agar	+++	灰	黄	深褐	++	灰色	紫褐色	无	+	浅灰色	浅褐色	浅褐色
马铃薯琼脂 Potato extract agar	++	浅灰	褐	深褐	++	灰色	黄褐色	无	++	灰色	浅褐色	褐
麦芽膏-酵母膏琼脂 ISP2	++	粉色	灰黄	无	+	灰白	灰黄色	无	++	灰黄色	灰黄色	无
燕麦片琼脂 ISP3	+	粉色	灰黄色	无	+	灰白	灰黄色	无	++	灰黄色	淡灰黄色	淡黄
无机盐淀粉琼脂 ISP4	+	粉色	灰黄色	无	++	灰色	灰褐色	无	+	白	无	无
甘油-天门冬酰胺琼脂 ISP5	+	粉色	灰黄色	无	+	灰白	黄褐色	无	+	白色	微灰黄色	淡黄色

注: +: 稀疏生长; ++: 中度生长; +++: 大量生长.

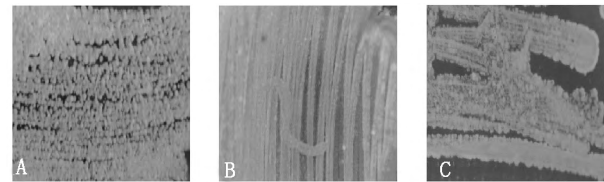
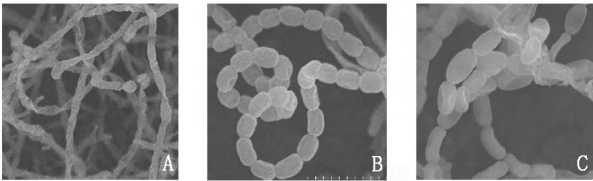


图 1 菌株 FRo1(A) 、FRo2(B) 和 FRo3(C) 在高氏一号平板上的菌落形态



A: 孢子链形态(4 000 × ,SEM) ; B 和 C 孢子链形态(12 000 × ,SEM) .

图 2 菌株 FRo1(A) 、FRo2(B) 和 FRo3(C) 孢子链形态

2.1.2 生理生化特性 由表 2 可见: 菌株 FRo1 能水解淀粉、液化明胶,能利用纤维素生长,能够使牛奶产生胨化现象但不凝固,不还原硝酸盐,能产生硫化氢,能利用阿拉伯糖、果糖、蔗糖、葡萄糖、鼠李糖、甘露醇、棉子糖等碳源而不能利用木糖和肌醇; 菌株 FRo2 能水解淀粉、液化明胶,能够使牛奶产生胨化现

表 2 菌株 FRo1、FRo2 和 FRo3 的生理生化特性

理化反应	FRo1	FRo2	FRo3
纤维素水解	+	+	+
淀粉水解	+	+	+
明胶液化	+	+	+
产 H ₂ S	+	-	-
牛奶凝固	-	-	+
胨化	+	+	+
硝酸盐还原	-	-	+
碳源利用			
D-木糖	-	+	+
D-果糖	+	+	+
鼠李糖	+	+	+
D-阿拉伯糖	+	+	+
棉子糖	+	-	-
D-葡萄糖	+	+	+
蔗糖	+	+	+
甘露醇	+	+	+
肌醇	-	+	+

注: + 表示发生反应, - 表示没有发生反应。

象但不凝固,不还原硝酸盐,能利用纤维素生长,不

产黑色素及硫化氢,能利用阿拉伯糖、果糖、蔗糖、葡萄糖、鼠李糖、甘露醇、肌醇、木糖等碳源而不能利用棉子糖; 而菌株 FRo3 能利用纤维素生长,能水解淀粉、液化明胶,能够使牛奶产生胨化现象且凝固,能还原硝酸盐,不产生硫化氢,能利用阿拉伯糖、果糖、蔗糖、葡萄糖、鼠李糖、甘露醇、肌醇、木糖等碳源而不能利用棉子糖。

2.1.3 16S rRNA 基因序列的 PCR 扩增及其系统发育分析 将菌株 FRo1、FRo2 和 FRo3 的 16S rRNA 基因序列提交到 GenBank 获得基因登录号分别为 KC522302、KC522303 和 KC522300,同时把所获得的序列提交 EzTaxon 进行序列同源性比对,发现菌株 FRo1、FRo2 和 FRo3 序列与链霉菌属(*Streptomyces*) 菌株高度相似。构建系统发育树分析与同源性分析结果显示(见图 3),菌株 FRo1 与 *Streptomyces venezuelae* ATCC10712 亲缘关系较近,相似性为 99%,结合菌株 Fro1 形态特征观察、培养特征,菌株 FRo1 初步鉴定为委内瑞拉链霉菌(*Streptomyces venezuelae*); 菌株 FRo2 与 *Streptomyces rochei* NBRC 12908 (T) 的相似性为 99%,进化距离非常近,将该菌株鉴定为娄彻氏链霉菌(*Streptomyces rochei*); 菌株 FRo3 与链霉菌属(*Streptomyces*) 中肉质链霉菌(*Streptomyces carnosus* strain S31) 的菌株相似性最高,达 100%,将其归为肉质链霉菌(*Streptomyces carnosus*)。

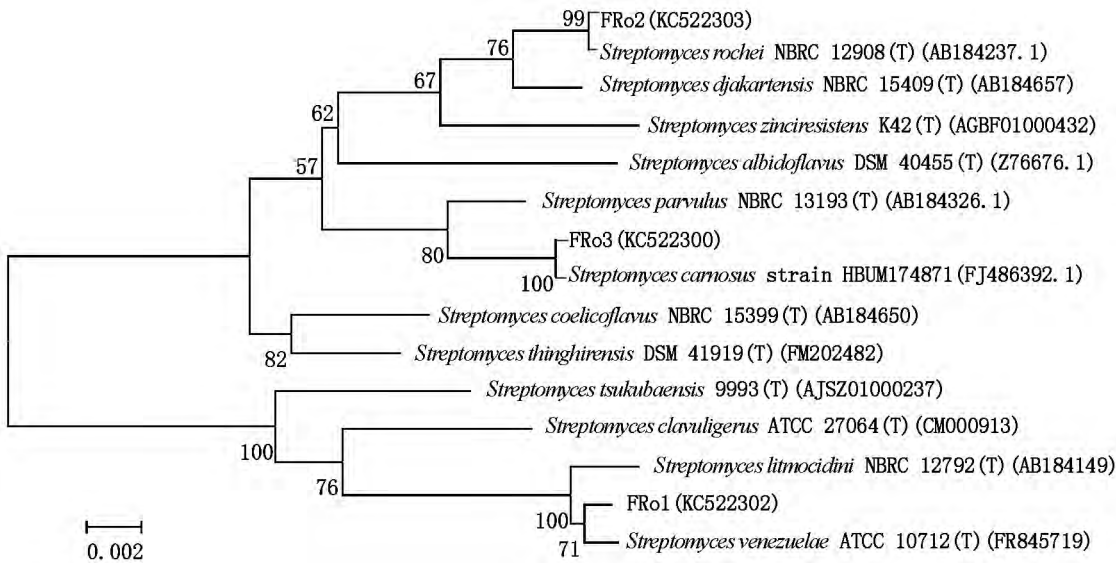


图 3 基于 16S rRNA 基因序列构建的菌株 FRo1、FRo2 和 FRo3 的系统发育树

2.2 放线菌 FRo1、FRo2 和 FRo3 发酵液的抑菌活性 对 FRo1、FRo2 和 FRo3 发酵液的抑菌活性进行

测定,研究结果见表 3 和图 4。菌株 FRo1 发酵液对供试的病原细菌表现出良好的抑制效果,其中对革

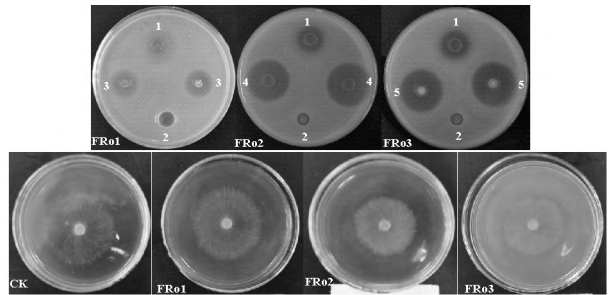
兰氏阴性菌的抑制要强于革兰氏阳性菌,抑菌直径在 18 mm 左右,但是对供试的菌原真菌无明显的抑制效果.菌株 FRo2 的发酵液除对金黄色葡萄球菌具有很强的抑制作用外(抑菌圈 22.33 mm),对其他细菌均没有明显抑制,但 FRo2 对常见的农作物

病原真菌具有较强的抑制作用,其中对小麦赤霉、水稻纹枯病菌和胶胞炭疽菌抑制作用较强,抑制率均超过 40%,菌株 FRo3 可抑制多数供试的病原细菌和病原真菌,但其抑菌活性不强.

表 3 菌株 FRo1、FRo2 和 FRo3 的抑菌谱 %

测试菌	FRo1	FRo2	FRo3
细菌			
金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	+	++	++
苏云金芽孢杆菌 <i>Bacillus thuringiensis</i>	+	-	-
枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	+	-	+
大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	++	-	-
嗜水气单胞菌 <i>Aeromonas hydrophila</i>	++	-	-
鼠伤寒沙门氏菌 <i>Salmonella typhimurium</i>	++	-	+
真菌			
小麦赤霉 <i>Fusarium graminearum</i>	-	70	26
水稻纹枯病菌 <i>Rhizoctonia solani</i>	-	45	28
车前草核盘菌 <i>Sclerotinia scleroliorum</i>	-	58	-
胶胞炭疽菌 <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	-	65	16
油菜菌核菌 <i>Sclerotinia libertiana</i>	-	30	36
芝麻枯萎菌 <i>Fusarium oxysporum</i>	-	19	42
辣椒根腐菌 <i>Phytophthora capsici</i>	-	25	28

注 “++”、“+”和“-”分别表示有强烈抑制(细菌抑菌直径 > 15 mm)、有抑制(0 < 细菌抑菌直径 < 15 mm) 和无抑制作用.



1: 阳性对照氯霉素(25 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$); 2: 阴性对照无菌水;
3: 菌株 FRo1 发酵液; 4: 菌株 FRo2 发酵液; 5: 菌株 FRo3 发酵液; CK: 无菌水.

图 4 内生放线菌发酵液对金黄色葡萄球菌和
水稻纹枯病菌的抑制作用

3 讨论

放线菌是细菌域中的一个重要类群,其分类地位一直受到人们的关注.传统分类方法是以形态、培养特征和生理生化等表观指征的分类学,但因传统分类方法多依赖人工观察,当大量菌株需要分类鉴定时,培养特性如完全相同或是由于观察中存在偏差,就不能准确地确定其分类地位.近年来,16S

rRNA 基因序列分析法已作为放线菌发育进化、种属划分的重要指标,在微生物分类方面得到广泛的应用^[17-18].因此,将表型分类(形态和生理生化特征等) 和分子分类等信息综合考虑来确定菌株的分类地位的多相分类方法得到广泛认同^[19-20].本研究通过形态与培养特征观察、生理生化特性和结合 16S rRNA 基因序列分析,将 FRo1、FRo2 和 FRo3 进行分类和鉴定,FRo1 属于淡紫灰类群,其形态与培养特征与生理生化特性与委内瑞拉链霉菌相似,结合 16S rRNA 序列分析,将其初步鉴定为委内瑞拉链霉菌;FRo2 为白孢类群,其形态与培养特征与生理生化特性与娄彻氏链霉菌相似,结合 16S rRNA 基因序列分析,将其鉴定为娄彻氏链霉菌;FRo3 为灰褐类群,其形态与培养特征与生理生化特性与肉质链霉菌相似,结合 16S rRNA 基因序列分析,将其鉴定为肉质链霉菌.

迄今,国内外对委内瑞拉链霉菌和娄彻氏链霉菌抗菌活性及代谢产物有较为深入的研究.委内瑞拉链霉菌是一种能产生多种抗生素的链霉菌,如氯霉素、苦霉素、杰达霉素 B、里纳霉素等,能抑制革兰氏阳性和阴性细菌、酵母及肿瘤生长的活性^[21-23],

在本研究中菌株 FRo1 表现出较好的抑制细菌的活性,但对病原真菌的抑菌活性不明显,这可能与其培养条件有关系。娄彻氏链霉菌是一种非常重要的生防菌,可产对甜瓜细菌性斑点病^[24]、辣椒疫霉、番茄灰霉病等^[25]病原菌有拮抗作用的抗生素。在本研究中菌株 FRo2 发酵液表现出对革兰氏阳性菌有抑制活性,而对革兰氏阴性细菌没有明显的抑制效果。在对植物病原真菌的拮抗实验中表现出对小麦赤霉、水稻纹枯病菌、车前草核盘菌、胶胞炭疽菌等病原真菌具有良好的抑制活性,抑制率均超过 40%,这与抑制植物病害真菌的报道相一致。目前,有关肉质链霉菌的研究集中在促生和诱导抗病性方面^[26-27],本文中菌株 FRo3 表现出较为广谱的抑菌活性,但效果不明显,该菌的生物活性有待进一步研究。

4 参考文献

- [1] Bérty J. Thoughts and facts about antibiotics: Where we are now and where we are heading [J]. *Journal of Antibiotics* 2012 65(8): 385-395.
- [2] 阮继生,黄英. 放线菌快速鉴定与系统分类 [M]. 北京: 科学出版社 2011.
- [3] 李文均,职晓阳,唐蜀昆. 我国放线菌系统学研究历史、现状及未来发展趋势 [J]. *微生物学通报* 2013 40(10): 1860-1873.
- [4] Goodfellow M, Fiedler H P. A guide to successful bio-prospecting: informed by actinobacterial systematics [J]. *Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology* 2010 98(2): 119-142.
- [5] 刘志恒,王剑,张立新. 基因组时代的放线菌系统学及其研究进展 [J]. *微生物学报* 2011 51(2): 141-153.
- [6] Zhang Yuqin, Liu Hongyu, Yu Liyan et al. *Sinosporangium album* gen. nov., sp. nov., a new member of the suborder Streptosporangineae [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 2011 61(4): 592-597.
- [7] Rong Xiaoying, Guo Yiping, Huang Ying. Proposal to re-classify the *Streptomyces albidoflavus* clade on the basis of multilocus sequence analysis and DNA-DNA hybridization, and taxonomic elucidation of *Streptomyces griseus* subsp. *Solvifaciens* [J]. *Systematic and Applied Microbiology* 2009 32(5): 314-322.
- [8] Qin Sheng, Xing Ke, Jiang Jihong et al. Biodiversity, bio-active natural products and biotechnological potential of plant-associated endophytic actinobacteria [J]. *Applied Microbiology Biotechnology* 2011 89(3): 457-473.
- [9] 田新莉,曹理想,杨国武,等. 水稻内生放线菌类群及其对宿主病原菌的抗性研究 [J]. *微生物学报* 2004 44(5): 641-646.
- [10] Yang Jinghui, Liu Hongxia, Guo Jianhua, et al. Diversity analysis of antagonists from rice-associated bacteria and their application in biocontrol of rice diseases [J]. *Journal of Applied Microbiology* 2008 104(1): 91-104.
- [11] 中国科学院微生物研究所放线菌分类组. 链霉菌鉴定手册 [M]. 北京: 科学出版社 1975.
- [12] 沈萍,范秀容,李广武. 微生物学实验教程 [M]. 北京: 高等教育出版社 1999.
- [13] 阎逊初. 放线菌的分类和鉴定 [M]. 北京: 科学出版社 1992.
- [14] 张志斌,敖武,熊瑶瑶,等. 内生拮抗放线菌 FRo2 的鉴定及抑菌活性物质的分离 [J]. *微生物学通报* 2014 41(8): 1574-1581.
- [15] 农旭华,张晓勇,陈茵,等. 柳珊瑚共附生放线菌 *Streptomyces* sp. SCSGAA0009 中生物碱类化合物及其抗菌和抗附着活性 [J]. *微生物学报* 2013 53(9): 995-1000.
- [16] 杨晓楠,李杨,苗建强,等. 拮抗放线菌 T111 菌株鉴定、发酵液理化性质测定及发酵条件优化 [J]. *应用与环境生物学报* 2011 17(4): 541-547.
- [17] 阮继生. 放线菌纲内亚纲、目、亚目、科的 16S rDNA/rRNA 特征序列简介 [J]. *微生物学通报* 2005 32(3): 129-134.
- [18] 杨平,柴文波,李守淳,等. 鄱阳湖微囊藻属形态多样性研究 [J]. *江西师范大学学报: 自然科学版* 2014 38(5): 496-500.
- [18] Chun J, Lee J H, Jung Y et al. EzTaxon: a web-based tool for the identification of prokaryotes based on 16S ribosomal RNA gene sequences [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 2007 57: 2259-2261.
- [19] Vandamme P, Pot B, Gillis M et al. Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics [J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 1996 60(2): 407-438.
- [20] Shapiro S, Vining L C. Nitrogen metabolism and chloramphenicol production in *Streptomyces venezuelae* [J]. *Canadian Journal of Microbiology* 1983 29(12): 1706-1714.
- [21] Yang Keqian, Ayer S W. Accumulation of the angucycline antibiotic rabelomycin after disruption of an oxygenase gene in the jadomycin B biosynthetic gene cluster of *Streptomyces venezuelae* [J]. *Microbiology* 1996 142: 123-132.
- [22] Xue Yongquan, Sherman D H. Biosynthesis and combinatorial biosynthesis of pikromycin-related macrolides in

- Streptomyces venezuelae* [J]. *Metabolic Engineering* 2001 , 3(1) : 15-26.
- [23] 杨良, 史应武, 吴忠红, 等. 甜瓜细菌性斑点病拮抗菌 P-43 的鉴定及其抑菌物质的初步研究 [J]. *微生物学通报* 2009 , 36(6) : 881-886.
- [24] 马林, 陈红兵, 韩巨才, 等. 植物内生放线菌 Lj20 的鉴定及其抗真菌物质的合成 [J]. *微生物学报* 2008 , 48(7) : 900-904.
- [25] 于妍华, 薛泉宏, 唐明. 西洋参和人参病原真菌菌体对放线菌 2 种水解酶的诱导 [J]. *西北农林科技大学学报: 自然科学版* 2011 , 39(7) : 110-115.
- [26] 宋金枝. 放线菌不同施入方式对连作番茄幼苗生长的影响 [J]. *西北农业学报* 2014 , 23(2) : 187-190.

The Identification of Three Antagonistic Endophytic Actinomycete and Their Antimicrobial Activities

XIONG Yaoyao¹, AO Wu^{1,3}, LI Yi¹, HE Xiaofeng², ZHANG Zhibin^{1*}, ZHU Du^{1,2*}

(1. Key Laboratory of Protection and Utilization of Subtropic Plant Resources of Jiangxi Province ,College of Life Science ,Jiangxi Normal University , Nanchang Jiangxi 330022 ,China; 2. Key Lab of Bioprocess Engineering of Jiangxi Province ,College of Life Sciences ,Jiangxi Science and Technology Normal University ,Nanchang Jiangxi 330013 ,China; 3. Jiangxi Boya Biopharmaceutical Limited by Share Ltd ,Fuzhou Jiangxi 344000 ,China)

Abstract: Antagonistic strains FRo1 ,FRo2 and FRo3 were identified ,and their antimicrobial activity were assessed , which obtained from roots of Dongxiang wild rice (*Oryza rufipogon*). Strains FRo1 ,FRo2 and FRo3 was identified as *Streptomyces venezuelae* ,*Streptomyces rochei* and *Streptomyces carnosus* by morphological and cultural traits ,physiobiochemical characteristics and 16S rRNA gene sequence analysis. The inhibition effects of FRo1 ,FRo2 and FRo3 against pathogenic bacteria and pathogenic fungi in vitro were evaluated by agar disc diffusion method and growth rate method. The FRo1 fermentation broth showed a wide pectrum of inhibitory activity against tested bacteria. FRo2 fermentation broth had obviously inhibitory activity against staphylococcus aureus and seven pathogenic fungi. The inhibition zone of FRo2 against staphylococcus aureus was about 22. 33 mm ,and the inhibition ratios of FRo2 against pathogenic fungi *Fusarium graminearum* ,*Rhizoctonia solani* ,*Sclerotinia scleroliorum* and *Colletotrichum gloeosporioides* were 70% ,45% ,58% and 65% ,respectively. While FRo3 had different inhibition effects on *Staphylococcus aureus* ,*Bacillus subtilis* and *Typhoid bacillus* ,and the inhibition activity against tested pathogenic fungi except *Sclerotinia scleroliorum* was no more than 50% . The strains had better antibacterial effect and could be used for biocontrol.

Key words: endophytic actinomycetes; *streptomyces*; polyphasic taxonomy; antimicrobial; activity

(责任编辑: 刘显亮)