

# 秦岭链霉菌发酵液中二丙酮胺的分离及 抑菌活性初步研究

姬志勤, 魏少鹏, 杨春平, 吴文君  
(西北农林科技大学 农药研究所, 陕西 杨凌 712100)

【摘 要】 【目的】对 1 株新放线菌——秦岭链霉菌中(*Streptomyces qinlingnensis* sp. nov)的抑菌活性成分进行研究。【方法】采用离子交换和硅胶柱层析,对秦岭链霉菌发酵液中的有效成分进行分离,并采用高分辨质谱和核磁共振技术对分离到的有效成分进行结构鉴定,采用抑制菌丝生长速率法测定有效成分对 8 种真菌的抑菌活性,采用管碟法进行 8 种细菌对有效成分的药敏性试验。【结果】从秦岭链霉菌发酵液中分离出了一个抑菌活性成分,鉴定为二丙酮胺,测定其对 8 种真菌和 8 种细菌的抑菌活性,结果表明,马铃薯干腐病菌、西瓜枯萎病菌和番茄早疫病菌对二丙酮胺相对比较敏感,其 IC<sub>50</sub> 值分别为 49.57,85.08 和 74.69 μg/mL;蜡状芽孢杆菌和枯草芽孢杆菌对二丙酮胺相对敏感,当二丙酮胺质量浓度为 31.3 μg/mL 时,其抑菌圈直径分别为 13 和 16 mm。【结论】对二丙酮胺的抑菌活性以前未见文献报道,其有可能作为一种抑菌活性先导化合物,或直接开发成农用杀菌剂。

【关键词】 秦岭链霉菌;二丙酮胺;杀菌活性

【中图分类号】 TQ450.1                      【文献标识码】 A                      【文章编号】 1671-9387(2008)02-0148-05

## Study on the isolation and fungicidal activities of diacetoneamine in the fermentation broth of *Streptomyces qinlingnensis* sp. nov

JI Zhi-qin, WEI Shao-peng, YANG Chun-ping, WU Wen-jun  
(Institute of Pesticide Science, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

**Abstract:** 【Objective】 The objective of this research was to investigate the fungicidal components in the fermentation product of *Streptomyces qinlingnensis* sp. nov, a new actinomycete strain was isolated from the soil in Qinling mountain area. 【Method】 By ion-exchange and silica gel column chromatography, a fungicidal ingredient was isolated from the fermentation broth of the strain, and it was elucidated by HR MS and NMR. The fungicidal activity of this compound against 8 species of fungi was tested by the method of inhibition mycelium growth, and the sensitivity of this compound against 8 species of bacteria was tested by cup-plate method. 【Result】 The fungicidal compound was isolated by HRMS and NMR as diacetoneamine from *Streptomyces qinlingnensis* sp. nov, the fungicidal activities of diacetoneamine against eight species of fungi and eight species of bacteria were tested. The results showed that *Fusarium oxysporum*, *Fusarium azysporum* and *Alternaria Solani* were more sensitive to diacetoneamine, the IC<sub>50</sub> values of inhibiting mycelium growth were 49.57, 85.08 and 74.69 μg/mL, respectively. Diacetoneamine could also inhibit *Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis* obviously, the diameter of inhibition zone at the concentration of 31.3 μg/mL were 13 and 16 mm, respectively. 【Conclusions】 This was the first report about the fungicidal activity of

\* 【收稿日期】 2007-03-08  
【基金项目】 国家重点基础研究发展规划(“973”计划)项目(No. 2003CB114404)  
【作者简介】 姬志勤(1971—),男,山西永济人,讲师,主要从事天然产物农药研究。  
【通讯作者】 吴文君(1945—),男,四川洪雅人,教授,主要从事农药化学和农药毒理学研究。E-mail: wuwenjun@nwsuaf.edu.cn

the compound. It indicated that diacetoneamine had the potential to become a candidate of agro-fungicide or a lead compound.

**Key words:** *Streptomyces qinlingnensis* sp. nov; diacetoneamine; fungicidal activity

从天然产物中发现新的抑菌活性成分是杀菌剂研究与开发的重要途径,农用抗生素作为来源于微生物的农用杀菌剂,其研究前提是从自然环境中分离筛选新的活性菌株,并对其活性成分进行分离和结构鉴定。从灭瘟素 S 投入使用至今,农用抗生素已经从最初的杀菌剂扩展到杀虫剂以及除草剂等农药的各个领域。据统计,1998 年在我国已达到产业化规模(年产值 1000 万元以上)的抗生素有井冈霉素、阿维菌素、赤霉素、硫酸链霉素、农抗 120、多抗霉素、中生菌素以及宁南霉素等 8 个品种<sup>[1-2]</sup>。秦岭链霉菌(*Streptomyces qinlingnensis* sp. nov)是西北农林科技大学从秦岭地区土壤中分离到的一株新放线菌<sup>[3-4]</sup>,其发酵产物对多种农业病原真菌和细菌表现出强烈的抑制活性,且对小菜蛾具有一定程度的毒杀作用。目前已对该菌的分类地位、杀菌谱、发酵条件优化等方面进行了初步研究<sup>[5-12]</sup>,并从其发酵液中分离得到了阿维菌素类杀虫活性成分<sup>[13]</sup>,但对其抑菌活性成分的研究尚属空白。本试验采用现代分离和结构鉴定技术对秦岭链霉菌发酵液中的抑菌活性成分进行了研究,以期发现新的抑菌活性先导化合物,为创制新型农用抑菌剂提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材 料

1.1.1 供试菌株 秦岭链霉菌(*Streptomyces qinlingnensis* sp. nov),从秦岭地区土壤中分离得到。

1.1.2 培养基 斜面培养基:高氏一号培养基(可溶性淀粉 20 g, KNO<sub>3</sub> 1 g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.5 g, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.5 g, FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.01 g, 琼脂 20 g, 蒸馏水 1 000 mL, pH 值 7.2~7.4)。

种子液培养基:葡萄糖 8 g, 可溶性淀粉 8 g, 牛肉膏 6 g, 蛋白胨 15 g, NaCl 5 g, 蒸馏水 1 000 mL, pH 值 7.2。

摇瓶液体培养基:小米 10 g, 加蒸馏水 1000 mL 煮沸 15 min 后滤去米粒, 加入葡萄糖 15 g, CaCO<sub>3</sub> 2 g, NaCl 5 g, 蛋白胨 5 g, pH 值 7.2~7.4。

Mueller-Hinton 培养基, 杭州微生物试剂厂生产。

1.1.3 供试病原菌 供试真菌:马铃薯干腐病菌(*Fusarium oxysporum*)、西瓜枯萎病菌(*Fusarium*

*azysporum*)、番茄早疫病菌(*Alternaria Solani*)、桃腐烂病菌(*Valsa leucostoma*)、辣椒疫霉病菌(*Phytophthora capsici*)、小麦赤霉病菌(*Fusarium graminearum*)、小麦纹枯病菌(*Rhizoctonia cerealis*)、番茄叶霉病菌(*Fulvia fulva*), 均由西北农林科技大学植保学院植病研究室提供。

供试细菌:蜡状芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、绿脓杆菌(*Pseudomonas aeruginosa*), 均购自中国普通微生物菌种保藏中心。白菜软腐病菌(*Erwinia carotovora*)、番茄青枯病菌(*Ralstonia solanaceance*)、猕猴桃果实软腐病菌(*Phytophthora piricola*), 均由西北农林科技大学植保学院植病研究室提供。

1.1.4 仪器及试剂 Bruker DRX500 核磁共振仪, Bruker APEX II 质谱仪(德国布鲁克分析仪器有限公司); HD-2 弱酸阳离子交换树脂(上海华震科技有限公司); 柱层析硅胶(粒径 45~75 μm, 青岛海洋化工厂)。氯仿、甲醇等均为国产分析纯。

### 1.2 方 法

1.2.1 秦岭链霉菌发酵液的制备 (1) 斜面培养。采用高氏一号培养基于 1×10<sup>5</sup> Pa 下灭菌 30 min, 接入秦岭链霉菌后在 28~32 °C 下培养 4 d。

(2) 种子培养。用 1 mL 无菌水将斜面培养的秦岭链霉菌孢子洗下, 并制成孢子悬浮液, 使其浓度为 1×10<sup>6</sup>~1×10<sup>7</sup> mL<sup>-1</sup>, 用 250 mL 三角瓶每瓶分装种子液培养基 100 mL, 每瓶加 1 mL 孢子悬浮液, 置于摇床上在 (30±1) °C 下培养 24 h。

(3) 摇瓶发酵。将摇瓶液体培养基于 1×10<sup>5</sup> Pa 下灭菌 30 min, 分装于 250 mL 三角瓶中, 每瓶 100 mL。接入 1.2.1(2) 中培养的秦岭链霉菌, 接种量为体积分数 10%, 摇床转速 150 r/min, 28~32 °C 下振荡培养 4 d。

1.2.2 秦岭链霉菌发酵液中抑菌活性成分的分离 取 20 L 秦岭链霉菌发酵液, 经孔径为 75~150 μm 筛网过滤后, 用草酸调 pH 3.5, 静置、过滤, 加 NaOH 调 pH 8.0, 再以 4 L/h 流速通过 HD-2 弱酸阳离子交换树脂(Na<sup>+</sup>, 1 L), 去离子水洗至流出液无色, 再用 4 L 1 mol/L HCl 解析(流速为 2.5

L/h)。将解析液调至中性,置搪瓷盘中挥发至体积约 500 mL。将浓缩后的解析液过活性炭脱盐,先用去离子水洗至流出液中检测无氯化钠,再用体积分数 50%丙酮水溶液洗脱至流出液中茚三酮无阳性反应,浓缩解析液至体积约 5 mL。将浓缩液与硅胶(10 g)混合均匀,挥发去水分,研磨成粉状,进行硅胶柱层析(2.0 cm×80.0 cm)。以甲醇-丙酮-氨水混合液(V(甲醇):V(丙酮):V(氨水)=5:5:1)洗脱,每 50 mL 收集 1 份,共收集 20 份,将洗脱液置通风橱中挥干。分离过程中以蜡状芽孢杆菌为供试菌,采用琼脂扩散法进行生物测定,对有效成分进行活性追踪。

1.2.3 秦岭链霉菌发酵液中抑菌活性成分结构的鉴定 主要以质谱(MS)及核磁共振(NMR)波谱数据,并结合文献[14],鉴定抑菌活性成分的结构。

1.2.4 秦岭链霉菌发酵液中活性成分抑菌活性的测定 (1)对真菌的抑菌活性。采用抑制菌丝生长速率法测定<sup>[15]</sup>。分别将 1 000,500,250,125,62.5 和 31.3 μg/mL 待测样品的水溶液 1 mL 与 9 mL 融化的 PDA 培养基混匀,趁热倒入无菌培养皿中制成带药培养基平板。培养基凝固后,在每个培养基平面放入 1 个供试菌菌饼(直径为 4 mm),使带菌丝的一面贴在培养基表面,以无菌水为对照,每处理 3 次重复。于 28 ℃ 培养 72~96 h 后,用十字交叉法测量供试菌菌落的生长直径,用下述公式计算菌丝生长抑制率。

菌丝生长抑制率/%=(对照菌落生长直径-处理菌落生长直径)/对照菌落生长直径×100%。

(2)对细菌的抑菌活性。采用管碟法测定。将培养好的供试菌与适量 Mueller-Hinton 培养基充分混匀,倒入 9 cm 培养皿中制成带菌平板,每平板上放 4

个牛津杯(内径 0.6 cm,外径 0.8 cm,高 1.0 cm),每杯分别加入 1 000,500,250,125,62.5 和 31.3 μg/mL 的待测样品 0.2 mL,以无菌水作为对照,每处理 3 次重复,置 37 ℃ 恒温箱中培养 24 h 后,观察抑菌圈的透明程度,并用十字交叉法测量抑菌圈直径。

## 2 结果与分析

### 2.1 秦岭链霉菌发酵液中抑菌活性成分的分离及结构鉴定

以生物活性追踪为指引,通过硅胶柱层析得到一个无色晶体——JZQ01(0.23 g),采用 MS 和 NMR 对其进行结构鉴定,结果表明,化合物 JZQ01,无色针状结晶,熔点 56~58 ℃,ESI HR-MS 表明准分子离子峰为[M+H]<sup>+</sup>=116.109 1,分子式为 C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>ON(计算值为 116.107 5),分子量为 115,分子式为 C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>ON。<sup>1</sup>H NMR(D<sub>2</sub>O)谱中可观察到 3 个单峰,δ 1.24 处有 2 个甲基,δ 2.09 处有 1 个羰甲基,δ 2.84 处有 1 个羰基亚甲基;<sup>13</sup>C NMR(D<sub>2</sub>O)全去耦谱中可观察到 5 个峰,δ 25.14 为 2 个端甲基,δ 30.69 为 1 个羰甲基,δ 49.60 为羰基亚甲基,δ 52.60 为连氮的季碳,δ 212.58 为羰基。因此,鉴定化合物 JZQ01 为二丙酮胺,其结构见图 1。

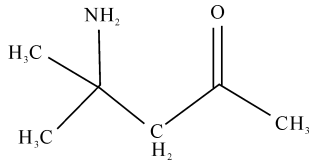


图 1 化合物 JZQ01 的结构  
Fig.1 Structure of compound JZQ01

### 2.2 二丙酮胺对 8 种真菌的抑菌活性

从表 1 可以看出,除小麦赤霉病菌外,二丙酮胺对其他 7 种真菌均有明显的抑制作用。

表 1 二丙酮胺对 8 种真菌菌丝生长的抑制率

| 供试真菌<br>Tested pathogens           | 菌丝生长抑制率/% Inhibition rate of mycelium growth at different concentraion |           |           |           |            |            |
|------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|
|                                    | 1 000 μg/mL                                                            | 500 μg/mL | 250 μg/mL | 125 μg/mL | 62.5 μg/mL | 31.3 μg/mL |
| 马铃薯干腐病菌 <i>Fusarium oxysporium</i> | 98.00                                                                  | 88.00     | 80.00     | 72.00     | 60.00      | 35.73      |
| 西瓜枯萎病菌 <i>Fusarium. azysporum</i>  | 98.50                                                                  | 87.50     | 75.00     | 62.50     | 43.75      | 21.62      |
| 番茄早疫病菌 <i>Alternaria Solani</i>    | 98.08                                                                  | 84.62     | 75.00     | 61.54     | 42.31      | 34.62      |
| 桃腐烂病菌 <i>Valsa leucostoma</i>      | 95.68                                                                  | 88.60     | 78.38     | 24.32     | 12.70      | 6.00       |
| 辣椒疫霉病菌 <i>Phytophora capsici</i>   | 91.30                                                                  | 68.87     | 49.31     | 28.26     | 13.04      | 8.70       |
| 小麦赤霉病菌 <i>Fusarium graminearum</i> | 47.62                                                                  | 28.57     | 28.50     | 9.52      | 4.29       | 4.76       |
| 小麦纹枯病菌 <i>Rhizoctonia cerealis</i> | 97.60                                                                  | 80.00     | 60.00     | 30.00     | 20.00      | 8.20       |
| 番茄叶霉病菌 <i>Fulvia fulva</i>         | 90.91                                                                  | 81.82     | 63.64     | 36.36     | 9.09       | 4.50       |

二丙酮胺抑制 7 种真菌菌丝生长的毒力测定结果见表 2。从表 2 可以看出,马铃薯干腐病菌、西瓜枯萎病菌和番茄早疫病菌对二丙酮胺均比较敏感,

其抑制中浓渡(IC<sub>50</sub>)值分别为 49.57,85.08 和 74.69 μg/mL,辣椒疫霉病菌对二丙酮胺不敏感,其 IC<sub>50</sub> 值为 250.05 μg/mL。

表 2 二丙酮胺抑制 7 种真菌菌丝生长的毒力测定结果

| 供试真菌<br>Tested pathogens           | 毒力方程<br>Virulence equation | 相关系数<br><i>r</i> | 抑制中浓渡/<br>( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )<br>IC <sub>50</sub> | 95%置信限/( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )<br>95% confidence limit |
|------------------------------------|----------------------------|------------------|----------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| 马铃薯干腐病菌 <i>Fusarium oxysporium</i> | $Y=1.332\ 6x+2.740\ 9$     | 0.988 1          | 49.57                                                                | 25.21~132.64                                                          |
| 西瓜枯萎病菌 <i>Fusarium. azysporum</i>  | $Y=1.613\ 6x+1.886\ 0$     | 0.996 1          | 85.08                                                                | 51.91~158.47                                                          |
| 番茄早疫病菌 <i>Alternaria Solani</i>    | $Y=1.316\ 6x+2.533\ 6$     | 0.991 0          | 74.69                                                                | 36.22~212.69                                                          |
| 桃腐烂病菌 <i>Valsa leucostoma</i>      | $Y=3.461\ 6x-2.738\ 6$     | 0.986 6          | 171.99                                                               | 86.98~426.62                                                          |
| 辣椒疫霉菌菌 <i>Phytophthora capsici</i> | $Y=1.866\ 5x+0.524\ 1$     | 0.996 0          | 250.05                                                               | 136.70~535.82                                                         |
| 小麦纹枯病菌 <i>Rhizoctonia cerealis</i> | $Y=2.064\ 0x+0.292\ 1$     | 0.994 1          | 190.95                                                               | 97.42~463.89                                                          |
| 番茄叶霉病菌 <i>Fulvia fulva</i>         | $Y=2.269\ 0x-0.161\ 7$     | 0.996 1          | 188.33                                                               | 110.63~363.69                                                         |

2.3 二丙酮胺对 8 种细菌的抑菌活性

化合物二丙酮胺对 8 种细菌抑菌活性的测定结果见表 3。从表 3 可以看出,蜡状芽孢杆菌和枯草芽孢杆菌对二丙酮胺相对敏感,当二丙酮胺质量浓度为 31.3  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时,其抑菌圈直径分别为 13 和 16 mm;金黄色葡萄球菌和绿脓杆菌对二丙酮胺相对较敏感,在二丙酮胺质量浓度为 125  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时,其

抑菌圈直径仅为 11 和 5 mm,且抑菌圈不透明;二丙酮胺对大肠杆菌基本不表现活性,在其质量浓度高达 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时仍不显示抑菌圈;白菜软腐病菌、番茄青枯病菌、猕猴桃果实软腐病菌对二丙酮胺亦比较敏感,在二丙酮胺质量浓度为 62.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时,抑菌圈直径分别为 11,11 和 18 mm,但抑菌圈不透明。

表 3 二丙酮胺对 8 种细菌的抑菌活性

| 供试细菌<br>Tested bacteria              | 抑菌圈直径/mm<br>Diameter of inhibition zone at different concentraion |                             |                             |                             |                              |                              |
|--------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|
|                                      | 1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$                                     | 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ | 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ | 125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ | 62.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ | 31.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ |
| 蜡状芽孢杆菌 <i>Bacillus cereus</i>        | 25(++++)                                                          | 21(++++)                    | 18(++++)                    | 16(++++)                    | 14(++++)                     | 13(++++)                     |
| 枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subfills</i>      | 24(++++)                                                          | 22(++++)                    | 22(++++)                    | 20(++++)                    | 18(++++)                     | 16(++++)                     |
| 大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>         | —                                                                 | —                           | —                           | —                           | —                            | —                            |
| 金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i> | 15(++)                                                            | 12(++)                      | 11(++)                      | 11(++)                      | 9(++)                        | —                            |
| 绿脓杆菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>   | 11(++)                                                            | 8(++)                       | 6(+)                        | 5(+)                        | —                            | —                            |
| 白菜软腐病菌 <i>Erwinia carotovora</i>     | 20(++)                                                            | 20(++)                      | 17(++)                      | 14(++)                      | 11(+)                        | 7(+)                         |
| 番茄青枯病菌 <i>Ralstonia solanaceance</i> | 24(+)                                                             | 22(+)                       | 18(+)                       | 12(+)                       | 11(+)                        | 8(+)                         |
| 猕猴桃软腐病菌 <i>Physalospora piricola</i> | 25(++)                                                            | 23(++)                      | 20(++)                      | 19(++)                      | 18(++)                       | 13(++)                       |

注:数据为 3 次重复的平均值。“—”. 无抑菌圈;“+”. 抑菌圈可见;“++”. 抑菌圈清晰;“+++”. 抑菌圈透明。  
Note:All values are means of three replicates;“—”means invisible,“+”means eyeable,“++”means clear,“+++” means transparent.

3 讨 论

(1) 在天然产物的分离过程中涉及到二丙酮胺的文献不多,仅在 2 篇文献中提到,其中 Ivan 等<sup>[14]</sup>在柑橘叶提取物的分离过程中得到二丙酮胺和三丙酮氨,Nakamoto 等<sup>[16]</sup>在分离葛根水提物时得到二丙酮胺,但以上研究中二丙酮胺均是在分离过程中产生的。据文献报道<sup>[17]</sup>,以丙酮和氨水为原料,在硝酸铵等特定催化剂存在的条件下可以生成二丙酮胺,本研究的分离过程中并未涉及到文献中所列举的催化剂,因此尚不能确定二丙酮胺是发酵液本身具有的还是在分离过程中产生的。鉴于二丙酮胺是一个极易合成的廉价小分子化合物,研究中未对其来源进行进一步研究。

(2) 在本研究之前,未见到关于二丙酮胺杀菌活性的文献报道。本研究首次发现,二丙酮胺对多种

病原真菌和细菌具有明显的抑菌活性,可作为一种杀菌活性先导化合物,或直接开发成农用杀菌剂。

[参考文献]

[1] 朱昌雄,白新盛,张 木.生物农药的发展现状及前景展望[J].上海环境科学,2002,21(11):654-661.  
Zhu C X,Bai X S,Zhang M. The status quo of development and perspective of bio-pesticides[J]. Shanghai Environmental Sciences,2002,21(11):654-661. (in Chinese)

[2] 沈寅初. 农用抗生素研究开发新进展[J]. 植保技术与推广,1997,17(6):35-37.  
Shen Y C. Recent progress on the research and development in agricultural antibiotics [J]. Plant Protection Technology and extension,1997,17(6):35-37. (in Chinese)

[3] 龙建友,胡兆农,刘京宏,等. 秦岭山区链霉菌发酵产物杀菌活性的测定[J]. 中国生物防治,2005,21(3):187-191.  
Long J Y,Hu Z N,Liu J H,et al. Fungicidal activity of fermentation products of *Streptomyces* Isolated from Qinling Moun-

- tain Area [J]. Chinese Journal of Biological Control, 2005, 21 (3): 187-191. (in Chinese)
- [4] 西北农林科技大学农药研究所. 秦岭链霉菌: 中国, 200510078728. 7[P]. 2006-12-06.  
Institute of Pesticide Science, Northwest A & F University. *Streptomyces qinlingnensis* sp. nov; China, 200510078728. 7 [P]. 2006-12-06. (in Chinese)
- [5] 西北农林科技大学农药研究所. 一种内酰胺类抗生素用作农用抗生素的用途: 中国, 200510075615. 1[P]. 2006-12-06.  
Institute of Pesticide Science, Northwest A & F University. Agricultural use of a lactamic antibiotic; China, 200510075615. 1[P]. 2006-12-06. (in Chinese)
- [6] 西北农林科技大学农药研究所. 一种内酰胺类抗生素及其制备方法: 中国, 200510075614. 7[P]. 2006-12-06.  
Institute of Pesticide Science, Northwest A & F University. A lactam antibiotic and its preparation; China, 200510075614. 7 [P]. 2006-12-06. (in Chinese)
- [7] 西北农林科技大学农药研究所. 一种内酰胺抗生素及其产生菌与应用: PCT, WO2006/128342[P]. 2006-12-07.  
Institute of Pesticide Science, Northwest A & F University. A lactam antibiotic, its producer and use; PCT, WO2006/128342 [P]. 2006-12-07. (in Chinese)
- [8] 龙建友, 吴文君. 拮抗链霉菌 No. 24 菌株发酵条件优化研究 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2005, 33(4): 52-56.  
Long J Y, Wu W J. Studies on the optimization of fermentation conditions of antagonistic streptomyces No. 24 [J]. Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry: Natural Science Edition, 2005, 33(4): 52-56. (in Chinese)
- [9] 龙建友, 钱 勇, 师宝君, 等. 一株放线菌代谢产物除草活性的初步研究 [J]. 微生物学杂志, 2006, 26(1): 106-108.  
Long J Y, Qian Y, Shi B J, et al. Herbicidal activity of metabolite of an actinomyces strain [J]. Journal of Microbiology, 2006, 26(1): 106-108. (in Chinese)
- [10] 龙建友, 姬志勤, 师宝君, 等. 西农 No. 24 菌株发酵产物对反枝苋的除草活性初步研究 [J]. 农药学学报, 2004, 6(1): 89-92.  
Long J Y, Ji Z Q, Shi B J, et al. Studies on herbicidal activity of fermentation products of Xinong No. 24 strain against *Amaranthus retroflexus* L. [J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2004, 6(1): 89-92. (in Chinese)
- [11] 龙建友, 吴文君. 农用抗生素产生菌 No. 24 菌株诱变选育研究 [J]. 西北农业学报, 2005, 14(1): 98-101.  
Long J Y, Wu W J. Studies on mutation breeding of No. 24 strain producing agricultural antibiotic [J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2005, 14(1): 98-101. (in Chinese)
- [12] 龙建友, 姬志勤, 师宝君, 等. 一株抗生素产生菌 No. 24 菌株发酵液抗菌谱及稳定性测定研究 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2004, 32(增刊): 61-64.  
Long J Y, Ji Z Q, Shi B J, et al. Studies of antagonistic spectrum and stability of fermentation of No. 24 strain producing one antibiotic [J]. Journal of Northwest A & F University: Natural Science Edition, 2004, 32(suppl): 61-64. (in Chinese)
- [13] 姬志勤, 张继文, 魏少鹏, 等. 秦岭链霉菌发酵液中杀虫活性成分研究 [J]. 农药学学报, 2007, 9(1): 25-28.  
Ji Z Q, Zhang J W, Wei S P, et al. Isolation and identification of the insecticidal ingredients from the fermentation broth of *Streptomyces qinlingnensis* [J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2007, 9(1): 25-28. (in Chinese)
- [14] Ivan, Wheaton T A. Formation of diacetoneamine and triacetoneamine in plant extracts [J]. Phytochemistry, 1967, 6(11): 1587-1588.
- [15] 吴文君. 植物化学保护实验技术导论 [M]. 西安: 陕西科学技术出版社, 1988: 123-157  
Wu W J. Research method for plant chemical protection [M]. Xi'an: Shaanxi Science Technology Press, 1988: 123-157. (in Chinese)
- [16] Nakamoto H, Inada K, Nakamura N. The study on the aqueous extract of *Puerariae radix*. Ⅲ. On the formation of diacetoneamine from choline-reineckate in acetone [J]. Yakugaku Zasshi, 1976, 96(2): 251-254.
- [17] Haeseler P R. Preparation of diacetoneamine [J]. J Am Chem Soc, 1925, 47(4): 1195-1196.