

植物青枯菌细菌素的纯化及其性质的研究

谢道昕 范云六

(中国农业科学院生物技术研究中心分子生物学研究室,北京)

何礼远

(中国农业科学院植物保护研究所,北京)

植物青枯菌菌株 M2 在牛肉汁蛋白胨培养液中产生的细菌素经过硫酸铵沉淀和阴离子纤维素交换柱 DE-52 分离后,在聚丙烯酰胺凝胶电泳时,呈现 1 条蛋白带。该蛋白带经电泳法回收后具有细菌素活性;该细菌素命名为 solanacearicin M2,它在 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳时呈现 2 条带。看来, solanacearicin M2 是由这两个亚基组成,两亚基的分子量分别约为 68000 和 70000。Solanacearicin M2 对 proteinase、pronase E、trypsin 等蛋白酶敏感,对 RNase 和 DNase 不敏感;在 60℃ 以下处理 10min,细菌素活性稳定,在室温下存放 15 天或 4℃ 存放 90 天仍保持细菌素活性,在 65℃ 处理 10min 便失去细菌素活性。

用来自马铃薯、花生和甘薯上的 17 株菌作为指示菌,检测了另外 17 株青枯菌产生的细菌素;采用 Eckhardt 法和改良的 Kado 法检测了这些细菌素产生菌的内生质粒。结果表明,青枯菌致病性菌株与它们衍生的相应的非致病性菌株所产生的细菌素具有相同的抑菌谱和抑菌强度,青枯菌细菌素的产生与其致病性之间没有相关性; B2、AM2、AP7、M2 和 P7 等菌株产生的细菌素不是由质粒编码的。

关键词 细菌素;植物青枯菌;青枯菌的细菌素;纯化

细菌素是由细菌产生的、拮抗同种细菌的其他菌株或相近细菌种类的蛋白类物质。在 5 个主要病原细菌属中,都报道了产生细菌素的菌株^[1],并分离和纯化了 *Agrobacterium radiobacter* 菌株 K84、*Pseudomonas syringae* 菌株 4A 和 PsW-1、*Erwinia carotovora* 菌株 Er^[2] 和 63^[6] 以及 *E. chrysanthemi* 产生的细菌素。对植物病原菌细菌素的基因定位也进行了初步的研究。*A. radiobacter* 菌株 K84 产生的细菌素是由 30Md 的质粒编码^[8],*E. herbicola* 产生的细菌素可能与 96Md 的质粒有关^[9],*A. radiobacter* 菌株 S1005 不含质粒^[10],它产生的细菌素^[11]与质粒的存在无关,可能是由染色体基因决定。

在青枯菌 (*Pseudomonas solana-*

earum) 中已检测到细菌素的产生^[11-13],并初步分离了菌株 B1 的细菌素^[14]。但迄今还没有报道细菌素的纯化及其产生的分子基础。本文研究了青枯菌菌株 M2 细菌素 (solanacearicin M2) 的纯化及其某些性质,初步探讨了细菌素产生与内生质粒的关系。

材料和方法

(一) 菌株

供试菌株见表 1。

(二) 培养基

试验中使用了牛肉汁蛋白胨培养液 (NA 培养液),半固体培养基和 NA 培养基 (NA 培养液中分别加入 0.6% 琼脂粉或 1.8% 琼脂粉)。

本文于 1987 年 9 月 19 日收到。

表 1 植物青枯菌菌株

Table 1 Tested strains of *Pseudomonas solanacearum*

菌株 Strains	原寄主 Original plant hosts	菌株 Strains	原寄主 Original plant hosts
Po3	马铃薯 potato	AO1	O1 衍生的非致病菌
Po14	马铃薯 potato		avirulent strain derived from O1
Po37	马铃薯 potato	AO2	O2 衍生的非致病菌
Po40	马铃薯 potato		avirulent strain derived from O2
Po41	马铃薯 potato	AM2	M2 衍生的非致病菌
Po45	马铃薯 potato		avirulent strain derived from M2
P3	花生 peanut	AM5	M5 衍生的非致病菌
P5	花生 peanut		avirulent strain derived from M5
P7	花生 peanut	AM6	M6 衍生的非致病菌
P8	花生 peanut		avirulent strain derived from M6
P9	花生 peanut	AP7	P7 衍生的非致病菌
P11	花生 peanut		avirulent strain derived from P7
P13	花生 peanut	AP11	P11 衍生的非致病菌
P16	花生 peanut		avirulent strain derived from P11
B2	甘薯 sweet-potato	AP13	P13 衍生的非致病菌
B4	甘薯 sweet-potato		avirulent strain derived from P13
B5	甘薯 sweet-potato	M2	桑 mulberry
B6	甘薯 sweet-potato	M5	桑 mulberry
O1	油橄榄 olive	M6	桑 mulberry
O2	油橄榄 olive		

(三) 细菌素的产生和检测

参考文献[14]和[15]。

(四) 内生质粒的检测

采用 Eckhardt 法^[16]和改良的 Kado 法^[17]。

(五) 细菌素的分离和纯化

采用 M2 作为供试菌株进行细菌素的分离和纯化,并以 B2 作为指示菌检测 M2 细菌素的活性。检测方法为:把 4ml 含有 B2 的半固体培养基(细菌终浓度为 3×10^8 cell/ml)铺在 NA 平板上,取 2.5 μ l M2 细菌素样品溶液在平板上点样,置 28 $^{\circ}$ C 下,24h 后观察抑菌圈的产生。

1. 粗提 M2 细菌素:取 0.9 ml M2 菌悬液 ($OD_{600} = 1.7$)于 200ml NA 培养液中,28 $^{\circ}$ C 下,振荡 (60r/min) 14h ($OD_{600} = 1.6$),冰浴 20 min, 6000r/min 离心 20min,弃去菌体。于室温下在细菌培养滤液中加入硫酸铵 (70% 饱和度)。4 $^{\circ}$ C 静止过夜。10000r/min 离心 25min。沉淀物在 SSC 溶液中透析后,除去硫酸铵,准备上柱。

2. M2 细菌素的纯化:采用阴离子纤维素 DE-52 交换柱 (45 \times 2.1cm) 进行纯化。在交换

柱上加入 15ml 上述细菌素样品 ($OD_{600} = 1.62$),用 0.05mol/L $K_2HPO_4 \cdot KH_2PO_4$ (pH7.3) 缓冲液洗脱。检测各个洗脱样品的吸光度 (A_{260}),以及它们对 B2 的抑制作用。收集对 B2 具有抑制作用的洗脱样品,并在水中透析除去 $K_2HPO_4 \cdot KH_2PO_4$ 。

(六) 电泳

聚丙烯酰胺凝胶电泳和 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分别参考文献[18]和[19]进行。

(七) 电泳法回收细菌素

M2 细菌素样品经过聚丙烯酰胺凝胶垂直板型电泳后,切下一窄条胶进行染色,以它作为蛋白带的标记,将其余未染色的凝胶上的条带分别切开,分装于圆盘电泳槽的样品管中,在管的下端(正极)套上透析袋,透析袋的另一端封闭。150V 电泳 2h,收集透析袋中的样品,并检测其细菌素活性。

(八) M2 细菌素对温度和蛋白酶的敏感性

M2 细菌素溶液分别在不同温度下处理 10 min,各取 2.5 μ l 样品进行细菌素活性的检测。

M2 细菌素在 0.05mol/L Tris (pH8.0) 溶液中,分别经 proteinase (50 $\mu\text{g/ml}$), pronase E (500 $\mu\text{g/ml}$), trypsin (500 $\mu\text{g/ml}$), RNase (500 $\mu\text{g/ml}$) 或 DNase (50 $\mu\text{g/ml}$) 处理, 37 $^{\circ}\text{C}$, 90 min 和 250min 后,用 B2 检测其细菌素活性。

结 果

(一) 青枯菌细菌素的产生及其与质粒的关系

以从马铃薯、花生和甘薯上分离的 17 株菌作为指示菌,采用文献[14]和[15]的方法检测了另外 17 株青枯菌是否产生细菌素。并用 Eckhardt 法和改良的 Kado 法检测了细菌素产生菌的内生质粒。结果见表 2、图 1 和图 2。

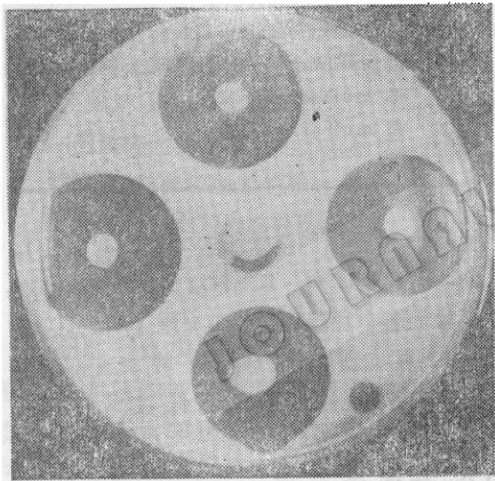


图 1 青枯菌菌株间的拮抗作用

Fig. 1 Antagonistic Activity between strains of *Pseudomonas solanacearum*

指示菌 Indicator strain: B2

待测菌 Producer strains:

上: M5; 下: AM5;

左: M2; 右: AM2

由表 2 和图 1 可见: (1) 所测试的 17 株都产生了细菌素; 以 M2、M5、AM2、AM5 等菌株的抑菌谱较广, 抑菌作用较强, 它们对 17 株指示菌中的 15 株菌具有较强的抑制作用, 抑菌半径大于 5mm。(2) 8 株致病菌 (M2, M5, M6, P7, P11,

P13, O1, O2) 与它们衍生的 8 株非致病菌 (AM2, AM5, AM6, AP7, AP11, AP13, AO1, AO2) 分别具有相同的抑菌谱和抑菌强度; 看来, 这些菌株产生的细菌素与致病性无关; 这与 Okabe^[20] 和 Cuppl^[11] 等的报道一致。

由图 2 和表 2 可知, 在 17 株细菌素产生菌中, 3 株菌 (M2, P7, B2) 不含质粒, 其余 14 株菌含 1 或 2 个质粒。菌株 M2、P7 和 B2 不含质粒, 它们产生的细菌素不是由质粒编码的; 菌株 AM2 和 AP7 是由 M2 和 P7 衍生而来的, 且抑菌谱和抑菌强度分别与 M2 和 P7 相同, 它们产生的细菌素与质粒的存在无关。其余 6 株菌 (M5, M6, P11, P13, O1, O2) 及其相应的 6 株非致病菌所含有的质粒是否与细菌素产生有关, 需要进行质粒消除或转移实验才能确定。

(二) 青枯菌 M2 产生的细菌素

本试验选择抑菌谱广、抑菌作用强的菌株 M2 作为供试菌株, 进一步研究了青枯菌的细菌素。首先把 M2 培养在 NA 培养液中, 用硫酸铵沉淀细菌培养滤液中的细菌素, 然后经过 DE-52 交换柱分离和纯化, 再通过聚丙烯酰胺电泳和 SDS-聚丙烯酰胺电泳进行分析。

从图 3 可见, M2 在 NA 培养液中产生了抑制 B2 生长的物质, 用 70% 的硫酸铵沉淀细菌培养滤液后, 获得的沉淀物能抑制 B2 的生长, 而上清液则无此作用。沉淀物经过透析去掉硫酸铵等小分子物质后仍具有抑制作用。

细菌素粗提物经 DE-52 交换柱后, 分离出一个在 280nm 吸收很强的峰, 它能抑制 B2 的生长, 而吸收峰以外的样品则无此作用 (图 4)。吸收峰的样品进行聚丙烯酰胺凝胶电泳, 呈现一条带, 而吸收峰与非吸收峰样品的混合物以及细菌素粗提物

表 2 植物青枯菌产生的细菌素
Table 2 Bacteriocins produced by *P. solanacearum*

产 生 菌		指 示 菌																
Producer strains		Indicator strains																
菌 株	质粒分子重 Plasmids (Md)	Po3	Po14	Po37	Po60	Po41	Po45	P3	P6	P7	P8	P9	P13	P16	B2	B4	B5	B6
M2	无	***	***	***	***	***	**	***	***	***	***	0	***	***	***	***	***	***
M5	40,5	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	0	***	*	***	***	***	***
AM2	40	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	0	***	***	***	***	***	***
AM5	40,5	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	0	***	*	***	***	***	***
P13	60, <5	***	***	*	0	0	0	0	0	0	**	0	***	0	***	***	***	***
AP13	60, <5	***	***	*	0	0	0	0	0	0	*	0	***	0	***	***	***	***
P11	120, 60	***	***	*	0	0	0	*	0	0	*	0	0	0	***	***	***	***
AP11	120, 60	***	***	**	0	0	0	*	0	0	***	0	0	0	***	***	***	***
O1	60	***	***	**	***	***	***	***	**	*	***	**	***	0	***	***	***	***
AO1	60	***	***	***	***	**	***	***	***	*	***	*	***	0	***	***	***	***
O2	60	***	***	***	***	***	***	***	***	*	***	*	***	0	***	***	***	***
AO2	60	***	***	***	***	***	**	***	*	*	***	*	***	0	***	***	***	***
P7	无	***	***	**	***	***	***	***	**	*	***	0	***	0	***	***	***	***
AP7	60	***	***	**	**	***	***	***	***	*	***	0	***	0	***	***	***	***
M6	75	***	***	***	**	***	***	***	0	0	**	0	***	0	***	***	***	***
AM6	75	***	***	***	***	***	***	***	0	0	**	0	***	0	***	***	***	***
B2	无	**	**	***	**	***	***	***	*	*	**	0	**	0	**	**	**	*

抑菌圈半径-菌落半径的表示如下：
***: > 5mm; **: 2mm-5mm; *: 0.1-2mm; 0: < 0.1mm

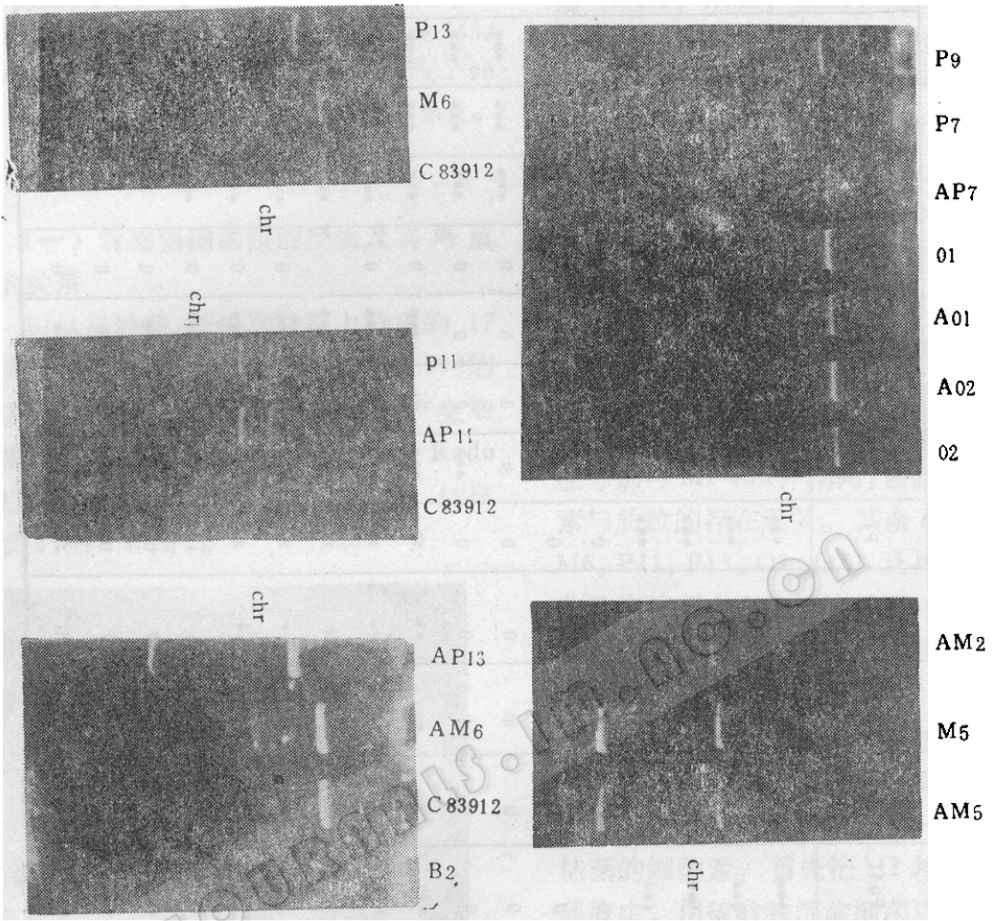


图2 质粒 DNA 琼脂糖凝胶电泳

大肠杆菌菌株 C83912 含 1 个质粒 (75 Md)。其余均为青枯菌菌株, P9 有 1 个质粒(60Md), P11 有 2 个大质粒(60, 120Md), M5 有 2 个质粒 (40, 5Md)。

Fig. 2 Agarose gel electrophoresis of plasmid DNAs extracted by Kado's procedure Strain C83912 is an *Escherichia coli* harboring a plasmid (75 Md). All the others are strains of *Pseudomonas solanacearum*. Strain P9 harbors a single plasmid (60 Md), strain P11 harbors two large plasmids (60, 120 Md), strain M5 harbors two plasmids (40, 5 Md).

则有多条带出现,其中包括吸收峰样品的这条带。采用电泳法分别回收这些带,测定它们对 B2 的抑制作用。结果表明,吸收峰样品能抑制 B2 生长,其他均无此作用(图 5)。由此可见, M2 细菌素粗提液经过 DE-52 交换柱的分离,得到聚丙烯酰胺电泳纯的细菌素(一条带)。

SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳测定该细

菌素的分子量。先使蛋白质各亚基解聚,然后根据分子大小区分各个亚基,结果见图 6。

M2 产生的细菌素经过硫酸铵沉淀及 DE-52 交换柱分离后逐步得到纯化。聚丙烯酰胺电泳纯的 M2 细菌素在 SDS-聚丙烯酰胺凝胶上出现两条带。看来, M2 细菌素是由这两个亚基组成。根据电泳迁

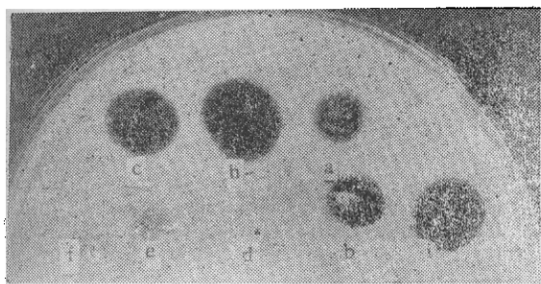


图3 M2 细菌素分离过程中的样品对 B2 的抑制作用

a. 细菌培养滤液; b. 细菌培养滤液经 70% 硫酸铵沉淀物; c. 经透析的 b 沉淀物; d. NA 培养液; e. 细菌培养滤液经 70% 硫酸铵沉淀后的上清液; f. 沉淀物 c 的透析外液; h, i. 室温 (25°C) 存放 15 天后的细菌素

Fig. 3 Bacteriocinogenic activity of samples taken from different steps of purification

a. Culture supernatant; b. Precipitate obtained by ammonium sulphate (70%) treatment; c. Precipitate dialyzed against SSC; d. NA liquid medium; e. Supernatant obtained by separation from precipitate; f. SSC; h, i. Solanacearicin M2 stored for 15 days at 25°C

●. Positive activity

移率推算, 两亚基的分子量分别约为 68000 和 70000。

(三) M2 细菌素对温度和蛋白酶的敏感性

M2 细菌素对温度的敏感性实验表明, M2 细菌素在 60°C 以下处理 10min 后都保持细菌素活性, 在 65°C 以上处理 10min 后丧失活性(图 7)。另外, M2 细菌素在 0.05 mol/L $K_2HPO_4 \cdot KH_2PO_4$ (pH7.3) 溶液中 25°C 下放置 15 天或 4°C 放置 90 天后仍保持活性(图 3, 图 8)。

M2 细菌素对蛋白酶的敏感性实验表明, M2 细菌素经过 proteinase (50 μ g/ml) 或 pronase E(500 μ g/ml) 处理 90min, 或经 trypsin (500 μ g/ml) 处理 250 min 都失去活性, 但用 RNase (500 μ g/ml) 或 DNase (50 μ g/ml), 无论处理 90 min 或

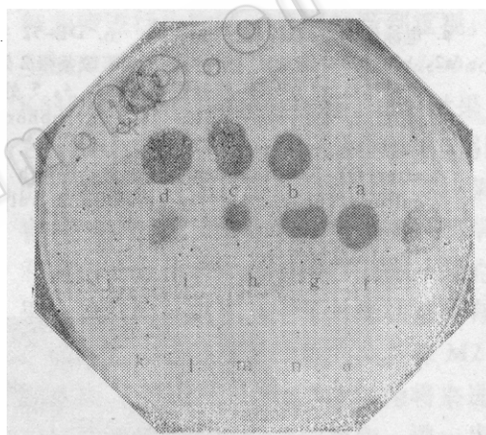
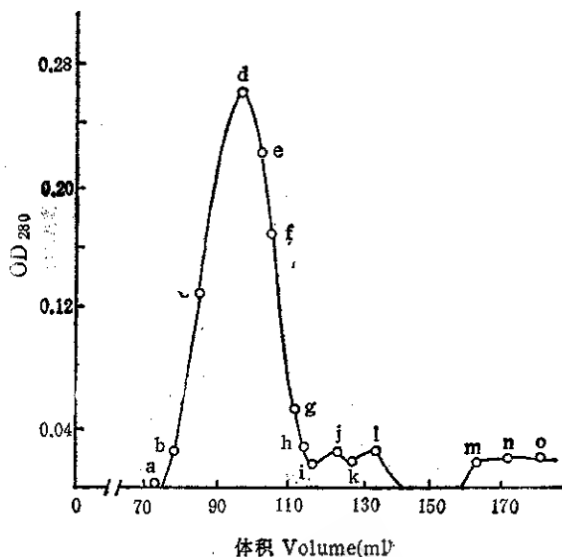


图4 DE-52 交换柱分离的细菌素及其对 B2 的抑制作用

CK: 细菌素粗提物, 对 B2 有抑制作用
a, b, c, ... ○: 经 DE-52 分离的各个样品, 其中 b-i 抑制 B2 生长

Fig. 4 Antagonistic activity of different samples during DE-52 purification

CK: Culture supernatant
a, b, c, ... ○: Number of different samples during DE-52 purification
●: Positive activity

250min, M2 细菌素均保持活性。

讨 论

Cuppls 等曾初步分离了青枯菌 B1 的细菌素, 但没有得到电泳纯的细菌素, 其细

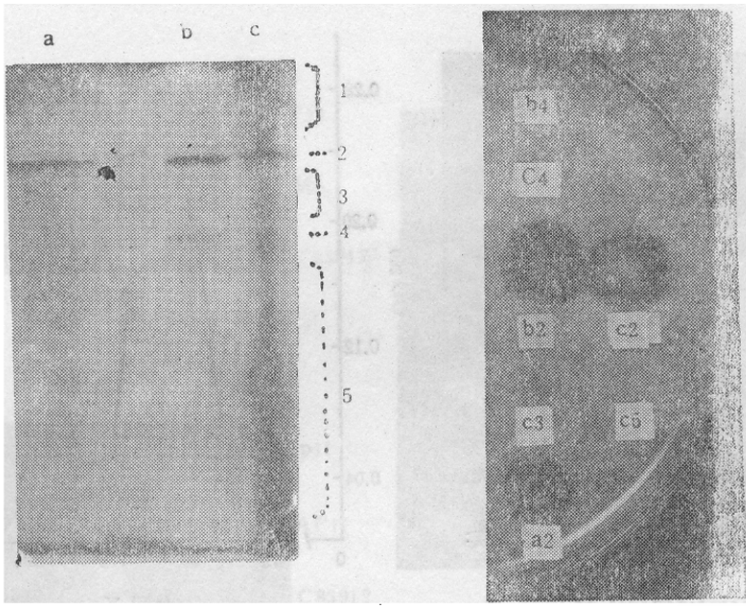


图5 聚丙烯酰胺凝胶电泳及电泳法回收的样品对 B2 的抑制作用

a. 电泳纯的细菌素 (图 4-b-g); b. DE-52 交换柱的部分洗脱物 (图 4-a-1); c. 细菌素粗提物; a2, b2, c2 分别是 (1) a, b, c 凝胶条带 2 处回收的样品, 具有细菌素活性; c1, c3, c4, c5, b4 分别是 (1) c, b 凝胶部位 1, 3, 4, 5 处回收的样品, 无细菌素活性。

Fig. 5 Polyacrylamide gel electrophoresis and bacteriocinogenic activity of samples

a: Purified solanacearicin M2 (samples from b through g of Fig. 4) b: Samples pool after DE-52 (samples from a through l of Fig. 4) c: Precipitate obtained from the culture supernatant by ammonium sulphate 1, 2, 3, 4, 5: Gel regions from which samples recovered

●: Positive activity

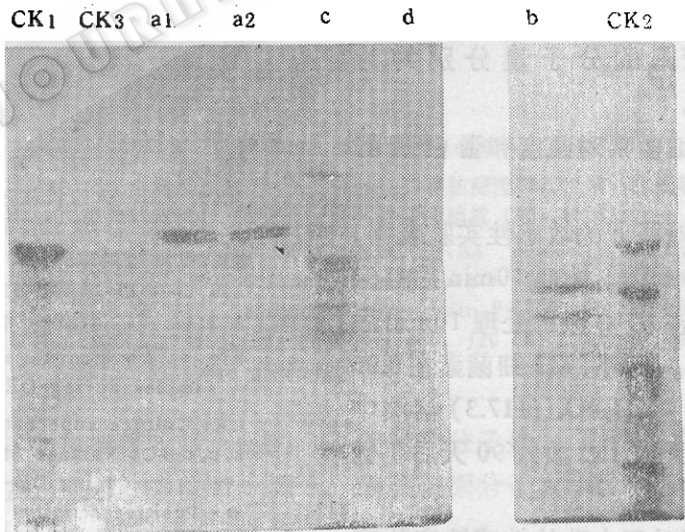


图6 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳

a1 和 a2: PAGE 电泳纯的细菌素; b. 细菌粗提液; c. 细菌培养液; d. NA 培养液; CK1, CK2. 标准分子量 (箭头示出 67000); CK3. 未加样品

Fig. 6 SDS-polyacrylamide gel electrophoresis

a1, a2. Purified solanacearicin M2 in different experiments; b. Precipitate obtained from the culture supernatant by ammonium sulphate; c. Culture supernatant; d. NA liquid medium; CK1, CK2. Molecular weight Marker; CK3. No sample

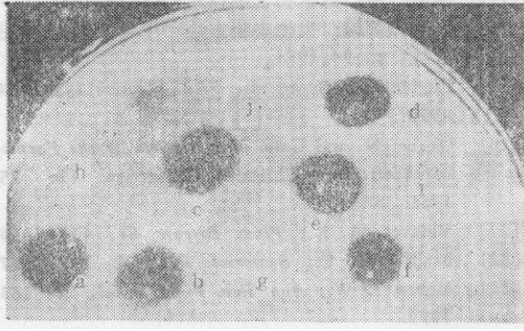


图7 M2 细菌素对温度的敏感性(指示菌为 B2)

Fig. 7 Effect of temperature on the activity of solanacearicin M2

a. 25°C; b. 40°C; c. 45°C; d. 50°C; e. 55°C;
f. 60°C; g. 65°C; h. 70°C; i. 80°C j. 90°C

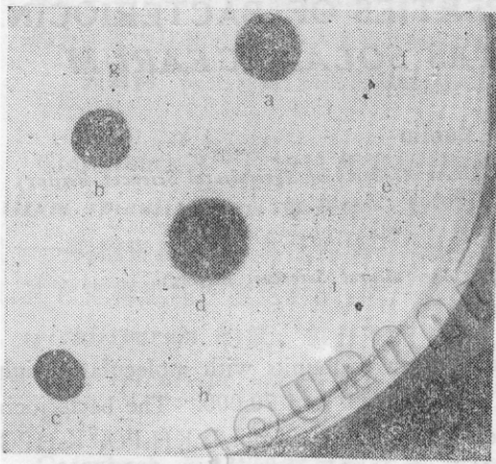


图8 M2 细菌素对蛋白酶、RNase、DNase 的敏感性(指示菌为 B2)

Fig. 8 Sensitivity of solanacearicin M2 to proteinase, DNase and RNase.

a. 250min at 37°C;
b. RNase (500µg/ml, 37°C, 250min);
c. DNase (50µg/ml, 37°C, 250min);
d. 90 days at 4°C;
e. Proteinase (50µg/ml, 37°C, 90min);
f. Pronase E (500µg/ml, 37°C, 90min);
g. Trypsin (500µg/ml, 37°C, 250min);
h. RNase only (500µg/ml, 37°C, 250min),
no solanacearicin M2;
i. DNase only (50µg/ml, 37°C, 250min),
no solanacearicin M2;
● Positive activity

菌素样品进行聚丙烯酰胺凝胶电泳时呈现两条带。他们没有分别回收这两条带进行

细菌素活性的测定,因此,不能确定是否两条带或其中1条带具有细菌素活性^[11]。我们获得了聚丙烯酰胺电泳纯的细菌素。M2细菌素是青枯菌中分离的第一个电泳纯的细菌素。本试验用电泳法回收细菌素,此方法简便有效、重复性好。

细菌素的命名系统目前在国际上还没有规范化。已命名的细菌素中,一般根据其产生菌的属名,或种名加上菌株号进行命名^[21,22]。本文采用了后一种命名方法,将青枯菌(*Pseudomonas solanacearum*)桑菌株 M2 产生的细菌素命名为 solanacearicin M2。

在植物细菌病害的防治研究中,利用细菌素进行生物防治越来越受到重视。产生细菌素 Agrocin 84 的 *A. radiobacter* K84 防治果树根癌病已取得了良好效果,并在生产上得到广泛应用^[23]。由青枯菌引起的植物青枯病是一种世界性的重要细菌病害,近年来,应用细菌素产生菌防治烟草^[24]和蕃茄^[25]青枯病在温室内已取得一定的效果。本试验分离和鉴定了对青枯菌具有较广抑菌谱和较强抑制作用的桑菌株 M2 的细菌素(solanacearicin M2),为将来进行青枯菌细菌素基因的遗传操作、进一步开展细菌素的应用研究提供了基础。

参 考 文 献

- [1] Vidaver, A. K.: *Ann. Rev. Phytopathol.*, 14: 451, 1976.
- [2] Roberts W. P. et al.: *Nature*, 265: 379, 1977.
- [3] Haag, W. et al.: *Antimicrobiol. Agents and Chemotherapy*, 6: 76, 1974.
- [4] Smidt, M. C. et al.: *Can. J. Microbiology*, 28: 600, 1982.
- [5] Itoh, Y. et al.: *J. Gen. Appl. Microbiology*, 24: 27, 1978.
- [6] Crowley, C. F. et al.: *Can. J. Microbiology*, 26: 1023, 1980.
- [7] Echandi, E. et al.: *Phytopathol.*, 69: 1204, 1979.
- [8] Ellis, G. et al.: *Physiol. Plant Pathol.*, 15: 311, 1979.
- [9] Ganotti, B. V. et al.: *Phytopathol.*, 72: 260,

- 1982.
- [10] Zaenen, I. et al.: *J. Mol. Biol.*, **86**: 109, 1974.
- [11] Cuppels, D. A. et al.: *J. Gen. Microbiology*, **109**: 295, 1978.
- [12] Cuppels, D. A.: Proc. 1st Int. Plan. Conf. and Workshop on the Ecology and Control of Bacterial Wilt Caused by *Pseudomonas solanacearum*, Raleigh, N. C., p. 120, 1976.
- [13] Chen, W. Y. et al.: Proc. Fifth Int. Conf. Plant Path. Bact. Cali, Colombia. p. 482, 1981.
- [14] Vidaver, A. K. et al.: *Can. J. Microbiology*, **18**: 705, 1972.
- [15] Tsai, J. W. et al.: *Plant Protection Bull.* (Taiwan), **27**: 267, 1985.
- [16] Eckhardt, T.: *Plasmid*, **1**: 584, 1978.
- [17] 谢道昕等: 微生物学报, **27**(4): 329, 1987。
- [18] 张龙翔等编: 生化实验方法和技术, 高等教育出版社, p. 94, 1984。
- [19] Lugtenberg, B. et al.: *FEBS Letters*, **58**: 254, 1975.
- [20] Okabe, N. and Goto, M.: *Reports of the Faculty of Agriculture*, Shizuoka University, **11**: 25, 1961.
- [21] Vidaver, A. K.: *Plant Disease*, **67**: 471, 1983.
- [22] Bradley, D. E.: *Bacteriol. Rev.*, **31**: 230, 1967.
- [23] Moore, L. W.: *Ann. Rev. Phytopathol.*, **17**: 163, 1979.
- [24] Chen, W. Y. et al.: *Plant Pathology*, **33**: 245, 1984.

PURIFICATION AND SOME PROPERTIES OF BACTERIOCIN PRODUCED BY *PSEUDOMONAS SOLANACEARUM*

Xie Daoxin Fan Yunliu

(*Lab of Molecular Biology, Biotechnology Research Center, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing*)

He Liyuan

(*Plant Protection Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing*)

The bacteriocin from strain M2 of *Pseudomonas solanacearum* was purified by ammonium sulphate precipitation and anion exchange chromatography. This bacteriocin was designated as solanacearicin M2, which appeared as one band on polyacrylamide gels. The bacteriocin showed antagonistic activity when it was recovered from the band through electrophoresis. Solanacearicin M2 was sensitive to proteinase, pronase E and trypsin, but insensitive to RNase and DNase. As determined by SDS-PAGE, solanacearicin M2 con-

sisted of two subunits with molecular weight of about 68 000 and 70 000. The bacteriocin present in pH7.3, 0.05mol/L $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{K}_2\text{HPO}_4$ buffer was stable for fifteen days at room temperature and for ninety days at 4°C. The solanacearicin M2 was inactivated after treatment at 65°C for ten minutes.

Key words

Bacteriocin; *Pseudomonas solanacearum*; Solanacearicin M2; Purification