拮抗放线菌的筛选培养基与筛选方法研究*

高 鹏, 薛泉宏, 常显波, 封 晔
(西北农林科技大学 资源环境学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘 要] 从黄土高原人工植被土壤中分离得到若干放线菌, 研究了从中筛选的50株拮抗性放线菌在不同培养基上对8种供试靶标菌的拮抗性。结果表明: ①在黄豆粉琼脂和玉米粉琼脂培养基上, 放线菌生长较好, 在PDA和高氏1号琼脂培养基上生长次之。玉米粉和黄豆粉琼脂均可作为拮抗性放线菌的筛选培养基。②反向放置琼脂块是筛选拮抗性放线菌的一种有效且可靠的方法。③筛选拮抗性放线菌时, 制备琼脂块的培养时间应控制在8~12 d, 培养时间过长将会导致拮抗作用减弱。④筛选得到的50株供试放线菌中对辣椒疫霉、黄瓜枯萎菌、棉花枯萎菌、西瓜枯萎菌、青霉、假丝酵母、金黄色葡萄球菌及大肠杆菌有拮抗性的放线菌株数分别为27, 26, 33, 36, 35, 29, 35和20株。

[关键词] 放线菌; 培养基; 拮抗菌筛选; 拮抗性试验
[中图分类号] Q 939.92 [文献标识码] A [文章编号] 1671-9387(2005)01-0059-05

放线菌能产生多种抗生素。拮抗性放线菌的筛选是新医药和新农药开发的重要基础性工作。拮抗性放线菌的筛选培养基通常采用黄豆粉琼脂培养基[1~5], 但有时发现在其他培养基上, 有些放线菌的拮抗圈远大于黄豆粉琼脂培养基。目前, 对黄豆粉琼脂培养基以外的抗生素产生菌筛选培养基研究很少[6], 为了寻求更适合于拮抗性放线菌筛选的培养基和琼脂块放置方法, 本试验初步研究了培养基种类、琼脂块放置方式及培养时间对50株拮抗性放线菌的拮抗性, 旨在探索拮抗性放线菌筛选的适宜培养基与筛选方法。

1 材料与方法

1.1 材 料

1.1.1 供试靶标菌 金黄色葡萄球菌(*Staphalococcus aureus*)和大肠杆菌(*Escherichia coli*)分别代表G^+和G^-细菌; 假丝酵母(*Candida tropicals*, 代号Y)及青霉(*Penicillium* sp., 代号P)分别代表单细胞真菌和丝状真菌; 农作物病原真菌包括辣椒疫霉(*Phytophthora capsici*, 代号P_3)、黄瓜枯萎菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*, 代号H)、西瓜枯萎菌(*F.* f. sp, 代号X)和棉花枯萎菌(*F.* f. sp *vasinfectum*, 代号M)。以上8种供试靶标菌及50株放线菌由西北农林科技大学微生物资源研究室提供, 其中50株放线菌是从黄土高原人工林根区土壤中分离纯化及初筛得到的。

1.1.2 培养基 高氏1号琼脂(G)[1]、PDA (L)[1]、淀粉铵琼脂(D)[1]、牛肉膏蛋白胨琼脂[1]、改良PDA[5]、改良黄豆粉琼脂(A)[5]、玉米粉琼脂(U, 玉米粉20.0 g, 蔗糖10.0 g, 蛋白胨2.0 g, 淀粉5.0 g, 酵母膏2.0 g, 氯化钠2.0 g, 磷酸氢二钾0.5 g, 硫酸镁0.5 g, 碳酸钙1.0 g, 水1 000 mL, 琼脂20.0 g)、腐殖酸琼脂(F, 腐殖酸钠5.0 g, 硝酸钾2.0 g, 磷酸氢二钾0.5 g, 硫酸镁0.5 g, 琼脂18.0 g, 水1 000 mL)。

1.2 方 法

1.2.1 琼脂块的制备 采用平板涂抹法分别将50株拮抗性放线菌接种于6种供试培养基上, 28~30 ℃下培养8 d, 12 d, 用打孔器(直径8 mm)在布满供试放线菌的琼脂平板上打孔, 用以制备琼脂块。

1.2.2 靶标菌平板制备 将金黄色葡萄球菌、大肠杆菌转接至斜面管培养24~36 h, 加入无菌水制成菌悬液后接种于牛肉膏蛋白胨琼脂平板上, 用无菌刮铲涂抹均匀后备用; 将假丝酵母、青霉、黄瓜枯萎菌、西瓜枯萎菌、棉花枯萎菌及辣椒疫霉按照同样的方法分别接种于PDA及改良PDA琼脂平板上备用。

* [收稿日期] 2004-02-26
[基金项目] 陕西省科技攻关项目(2003K03-G2)
[作者简介] 高 鹏(1979-), 男, 陕西杨凌人, 在读硕士, 主要从事微生物资源研究。
[通讯作者] 薛泉宏(1957-), 男, 陕西白水人, 教授, 主要从事微生物资源研究。E-mail: xueqhong2004@126.com

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

1.2.3 放置琼脂块 将上述靶标菌培养皿标记后等分为两区;无菌操作分别挑取琼脂块放于8种靶标平板上,在靶标菌平板的一区中菌饼正向放置(菌面朝上),另一区反向放置(菌面朝下)。细菌和真菌在28 ℃下分别培养2 d和3~4 d,观察结果。

1.2.4 放线菌的拮抗性强度统计标准[4] R(拮抗圈直径) > 20 mm, 15 mm < R ≤20 mm, 10 mm < R ≤15 mm, 6 mm < R ≤10 mm 和R = 0分别表示拮抗性极强、较强、中等、弱及无拮抗性5种等级。

2 结果与讨论

2.1 抗生素产生菌的筛选培养基

2.1.1 供试放线菌在6种培养基中的生长情况

由表1可见,8号和24号放线菌在6种培养基上的生长情况良好(菌落完全布满培养基表面)。其次是4, 22, 39, 44及47号菌。

试验表明,在改良黄豆粉琼脂(A)和玉米粉琼脂(U)上,生长情况良好的放线菌分别占50株供试放线菌的40%和42%;在PDA(L)和高氏1号(G)培养基上,生长良好的菌株所占的比率分别为30%和24%;在腐殖酸(F)和淀粉铵(D)琼脂上,生长状况良好的菌株数分别占供试菌株的12%和10%。从放线菌在抗生素产生菌筛选培养基上的生长情况看,改良黄豆粉琼脂和本研究设计的玉米粉琼脂是较为理想的筛选培养基,真菌经典培养基PDA和放线菌常用培养基高氏1号[3]次之,淀粉铵和腐殖酸琼脂不适合作拮抗菌的筛选培养基。

表1 供试放线菌在6种培养基上的生长状况

Table 1 Growth of actinomycetes in six kinds of medium

菌号 No.	培养基 Medium						菌号 No.	培养基 Medium					
	F	G	A	D	L	U		F	G	A	D	L	U
1	++	+	++	++	++	++	26	++	+	++	+	++	+
2	++	++	++	++	++	++	27	+++	+++	++	++	+	++
3	+++	++	++	++	+++	++	28	++	++	+++	++	++	++
4	++	+++	+++	+++	+++	+++	29	++	+++	+++	+	++	++
5	++	++	++	++	++	+++	30	++	+	+++	+	++	+++
6	++	++	+++	+	+++	+++	31	+	+	+++	-	++	-
7	++	++	++	+	+++	++	32	++	+++	+++	++	++	++
8	+++	+++	+++	+++	+++	+++	33	++	+++	+++	++	++	++
9	++	++	++	+++	++	+++	34	+	+	++	++	++	++
10	++	++	++	++	++	++	35	++	++	-	+	++	++
11	++	++	++	+	+	+++	36	++	++	++	+	++	++
12	++	+	++	+++	++	+++	37	++	++	+++	-	+++	+++
13	++	++	++	-	++	+++	38	++	++	++	++	++	++
14	++	++	+++	-	+++	+++	39	++	+++	+++	++	+++	+++
15	++	-	+++	-	+++	-	40	+	++	++	++	++	++
16	++	-	-	-	+	-	41	++	++	++	+	++	++
17	++	-	+++	-	-	+++	42	++	++	+++	+	+++	+++
18	+	-	++	+	+	-	43	+	++	++	++	+++	+++
19	++	-	-	-	+	-	44	+++	+++	+++	+	+++	+++
20	++	-	+	-	++	+++	45	+	+	++	+	++	++
21	+	++	++	+	+	++	46	+	++	++	++	++	++
22	+++	+++	+++	++	++	+++	47	++	+++	++	++	+++	+++
23	-	+	++	+	+	++	48	+	++	++	++	++	++
24	+++	+++	+++	+++	+++	+++	49	+	++	+++	+	++	++
25	+	+	++	+	+	++	50	++	+++	+++	-	+++	+++

注:"+++"、"++"、"+"及"-"分别表示生长情况良好(菌落完全布满培养基表面)、一般(菌落未完全布满培养基表面)、较差(培养基表面菌落稀疏)及未生长(培养基表面无菌落生长)。

Note: "+++", "++", "+" and "-" means that growth of actinomycetes is good- colony cover the medium completely, ordinary- colony cannot cover the medium completely, bad- the colony on the medium is quite rare, no growth- there is no colony on the medium respectively.

2.1.2 供试放线菌在6种培养基上的拮抗性[4]

从表2可以看出,靶标菌为辣椒疫霉[5]时,供试放线菌在PDA、腐殖酸、淀粉铵、玉米粉、高氏1号及改良黄豆粉琼脂培养基上产生的拮抗圈直径平均值分别为15.9, 15.3, 14.8, 14.5, 13.9及13.7 mm,即用PDA和腐殖酸琼脂培养基制备的放线菌琼脂块对靶标菌的拮抗性略大于其他4种培养基。同样,对于黄瓜枯萎菌、棉花枯萎菌及西瓜枯萎菌,在改良黄豆粉及玉米粉琼脂培养基上供试放线菌的拮抗性大于其他4种培养基。对于青霉及假丝酵母,在改良黄豆粉琼脂培养基中供试放线菌的拮抗性更强。靶标菌为金黄色葡萄球菌及大肠杆菌时,在玉米粉琼脂培

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

养基中放线菌能够产生更强的拮抗性。从拮抗性放线菌产生的抗生素类物质对靶标菌的拮抗强度考虑, 改良黄豆粉琼脂和本研究设计的玉米粉琼脂均可作为拮抗性放线菌筛选的首选培养基; 对应不同靶标菌的拮抗性放线菌的最适筛选培养基不同。

抗生素是次级代谢产物[6], 以微生物初级代谢产物为合成原料及前体。黄豆粉和玉米粉琼脂为天然培养基, 成分复杂, 其中含有多种生长因子和未知活性成分, 放线菌在这些培养基上生长时产生的抗性物质多, 对靶标菌的拮抗作用强。用黄豆粉和玉米粉琼脂培养基作抗生素产生菌的筛选培养基可获得大量拮抗性放线菌。

表2　拮抗性放线菌在6种培养基上对供试靶标菌的拮抗圈直径平均值

Table 2　Average diameter of antimicrobial cycle of antimicrobial actinomycetes against bacteria and fungi in six kinds of medium

靶标菌 Bacteria and fungi	培养基 Medium					
	F	G	A	D	L	U
辣椒疫霉 *Phytophthora capsici*	15.3	13.9	13.7	14.8	15.9	14.5
黄瓜枯萎菌 *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*	11.6	11.3	12.3	11.7	11.5	12.5
棉花枯萎菌 *F.* f. sp *vasinfectum*	10.6	10.7	13.0	11.1	12.0	12.4
西瓜枯萎菌 *F.* f. sp *niveum*	10.9	11.3	13.3	11.2	11.6	12.7
青霉 *Penicillium* sp.	10.3	10.6	12.1	11.8	11.8	11.8
假丝酵母 *Candida tropicals*	9.8	10.3	12.0	9.8	10.9	10.7
金黄色葡萄球菌 *Staphalococcus aureus*	12.1	13.3	14.0	14.2	14.2	14.9
大肠杆菌 *Escherichia coli*	10.0	11.6	12.3	12.3	12.3	13.8
平均值 Average	11.3	11.6	12.8	12.1	12.9	12.9

2.2　琼脂块的放置方式

由表3可知, 琼脂块反向放置时对靶标菌形成的拮抗圈直径更大, 抑菌效果更好。在黄豆粉琼脂培养基中, 靶标菌为辣椒疫霉时, 琼脂块反向、正向放置时形成的拮抗圈直径平均值分别为13.7和12.8 mm。反向放置时有66.7%的拮抗菌株拮抗圈直径大于正向放置的菌株; 以黄瓜枯萎菌、棉花枯萎菌及假丝酵母为靶标菌时, 情况与辣椒疫霉相似。在玉米粉琼脂培养基上也表现出类似的结果。琼脂块反向放置的拮抗圈直径大于正向放置, 是由于琼脂块表层抗生素浓度高, 反向放置后琼脂块周围培养基抗生素浓度也相应较高, 扩散圈直径大, 拮抗作用明显, 在进行拮抗菌筛选时不易漏筛有抗菌活性的放线菌。正向放置时, 扩散能力差或合成量较少的抗生素在琼脂块底部的浓度低, 在琼脂块周围培养基中扩散圈直径小或无扩散圈, 在琼脂块周围难以形成明显的拮抗圈, 导致一些扩散能力差或合成量较少的抗生素产生菌漏筛, 故琼脂块反向放置是筛选拮抗性放线菌的一种有效且可靠的方法。

表3　在2种培养基中拮抗性放线菌对供试靶标菌的拮抗圈直径平均值

Table 3　Average diameter of antimicrobial cycle of antimicrobial actinomycetes against bacteria and fungi in two kinds of medium

靶标菌 Bacteria and fungi	黄豆粉琼脂 Soybean farina agar				玉米粉琼脂 Cornmeal agar			
	有拮抗性 Antimicrobial			无拮抗性 Unantimicrobial	有拮抗性 Antimicrobial			无拮抗性 Unantimicrobial
	株数 Number	平均直径/mm Diameter	比例/% Proportion		株数 Number	平均直径/mm Diameter	比例/% Proportion	
辣椒疫霉 *Phytophthora capsic*	19(18)	12.8(13.7)	66.7	31(32)	20(19)	13.6(14.5)	77.8	30(31)
黄瓜枯萎菌 *Fusariu oxysporum* f. sp *cucumerinum*	15(16)	11.8(12.3)	69.2	35(34)	15(19)	11.0(12.5)	81.2	33(31)
棉花枯萎菌 *F.* f. sp *vasinfectum*	23(23)	12.3(13.0)	71.4	27(27)	25(25)	12.5(12.4)	60.0	25(25)
西瓜枯萎菌 *F.* f. sp *niveum*	26(25)	11.0(13.3)	52.2	24(25)	26(25)	12.6(12.7)	62.5	23(25)
青霉 *Penicillium* sp.	24(25)	12.7(12.1)	40.0	26(25)	23(28)	11.8(11.8)	55.0	25(22)
假丝酵母 *Candida tropicals*	16(15)	12.0(12.0)	66.7	34(35)	19(19)	11.5(10.7)	35.7	31(31)
金黄色葡萄球菌 *Staphalococcus aureus*	30(31)	14.1(14.9)	58.3	20(19)	24(26)	14.7(14.9)	65.4	24(24)
大肠杆菌 *Escherichia coli*	16(14)	11.8(12.3)	45.4	34(36)	12(13)	13.1(13.8)	66.7	37(38)

注: ①表中括号内外的数字分别表示琼脂块在反向及正向2种情况下的结果。②表中"比例"为琼脂块反向放置时拮抗圈直径大于正向放置时的菌株数之差占拮抗菌总数的比例。

Note: ① The number in the bracket and out the bracket means the measuring results of putting agar block reversedly and usually, respectedly. ② The proportion means that the percentage of actinomycetes which diameter of antimicrobial cycle is larger when agar block is laid reversedly on the medium than agar block is laid on the medium usually.

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

由表3还可看出,若从拮抗性菌株的出现频率讲,本研究设计的玉米粉琼脂较改良黄豆粉琼脂更好,但也有例外,例如对于金黄色葡萄球菌和大肠杆菌,改良黄豆粉琼脂培养基更好。

2.3 琼脂块培养时间

抗生素属次级代谢产物,在放线菌的生长后期产生。在拮抗性放线菌的筛选中,供试菌株琼脂块制备时的培养时间对筛选结果影响很大。由表4可知,供试放线菌培养8 d时的琼脂块拮抗圈直径明显大于12 d。从表4中10株待筛放线菌对8种靶标菌的拮抗圈直径看,除对辣椒疫霉和西瓜枯萎菌的拮抗圈直径表现为12 d(19.2 mm)> 8 d(17.8 mm)和12 d(13.3 mm)> 8 d(12.9 mm)外,对其他靶标菌的拮抗圈直径平均值均表现为8 d(13.0～17.9 mm)> 12 d(12.3～16.7 mm)。即在筛选拮抗性放线菌制备琼脂块时培养时间一定要适度,控制在8～12 d为宜,培养时间过长会导致拮抗作用减弱。

表4 10株拮抗性放线菌在不同培养时间下对供试靶标菌的拮抗圈直径平均值

Table 4 Average diameter of ten strains of antimicrobial cycle of antimicrobial actinomycetes against bacteria and fungi in different time

培养时间/d Time	病原真菌 Pathogenic fungi				代表性真菌 Typical fungi		细菌 Bacteria	
	P_3	H	M	X	P	Y	A (G^+)	E (G^-)
8	17.8	13.0	13.8	12.9	14.9	13.0	17.9	17.6
12	19.2	12.3	13.1	13.3	12.6	12.3	16.7	14.0

2.4 供试放线菌对靶标菌的拮抗性

由表5可知,对不同供试靶标菌有拮抗作用的放线菌占供试放线菌的比率不同,按西瓜枯萎菌(72%)> 金黄色葡萄球菌(70%)、青霉(70%)> 棉花枯萎菌(66%)> 假丝酵母(58%)> 辣椒疫霉(54%)> 黄瓜枯萎菌(52%)> 大肠杆菌(40%)排序,其中对金黄色葡萄球菌、辣椒疫霉及西瓜枯萎菌有极强拮抗作用的菌株分别占供试菌株的14%,12%及10%,对其余5株靶标菌有极强拮抗作用的菌株占供试放线菌的2%～8%,表明50株供试拮抗性放线菌中,对4种农作物土传病害有生防作用的菌株较多。

表5 拮抗性放线菌对供试靶标菌的拮抗强度

Table 5 Statistic of antimicrobial intensity of antimicrobial actinomycetes against bacteria and fungi

靶标菌 Bacteria and fungi	拮抗性标准 Standard	株数 Number	占供试菌比例/% Proportion	靶标菌 Bacteria and fungi	拮抗性标准 Standard	株数 Number	占供试菌比例/% Proportion
辣椒疫霉 *Phytophthora capsici*	极强 Extreme	6	12.0	青霉 *Penicillium* sp.	极强 Extreme	2	4.0
	强 Intensive	5	10.0		强 Intensive	9	18.0
	中 Medium	13	26.0		中 Medium	20	40.0
	弱 Weak	3	6.0		弱 Weak	4	8.0
	无拮抗性 Unantimicrobial	23	46.0		无拮抗性 Unantimicrobial	15	30.0
黄瓜枯萎菌 *Pusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*	极强 Extreme	1	2.0	青霉 *Penicillium* sp.	极强 Extreme	1	2.0
	强 Intensive	2	4.0		强 Intensive	3	6.0
	中 Medium	17	34.0		中 Medium	18	36.0
	弱 Weak	6	12.0		弱 Weak	7	14.0
	无拮抗性 Unantimicrobial	24	48.0		无拮抗性 Unantimicrobial	21	42.0
棉花枯萎菌 *F.* f. sp. *vasinfectum*	极强 Extreme	4	8.0	金黄色葡萄球菌 *Staphalococcus*	极强 Extreme	7	14.0
	强 Intensive	10	20.0		强 Intensive	14	28.0
	中 Medium	15	30.0		中 Medium	13	26.0
	弱 Weak	4	8.0		弱 Weak	1	2.0
	无拮抗性 Unantimicrobial	17	34.0		无拮抗性 Unantimicrobial	15	30.0
西瓜枯萎菌 *F.* f. sp. *niveum*	极强 Extreme	5	10.0	大肠杆菌 *Escherichia coli*	极强 Extreme	1	2.0
	强 Intensive	7	14.0		强 Intensive	5	10.0
	中 Medium	19	38.0		中 Medium	11	22.0
	弱 Weak	5	10.0		弱 Weak	3	6.0
	无拮抗性 Unantimicrobial	14	28.0		无拮抗性 Unantimicrobial	30	60.0

表6是从50株拮抗菌中筛选到的有生防作用和药物开发价值的抗生素产生菌。这些菌株对8种供试靶标菌有较强的拮抗作用(拮抗圈直径排序前10位)。从表6可以看出,入选拮抗菌对辣椒疫霉、黄瓜

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

枯萎、棉花枯萎及西瓜枯萎菌4种常见农作物土传病害病原菌的拮抗圈直径分别为17～25, 14～19, 17～25及17～24 mm, 表明这些拮抗菌在供试病原菌的生物防治上具有重要应用价值, 应进行深入研究。

表6　筛选的部分高活性抗性菌株对供试靶标菌的拮抗圈直径

Table 6　Diameter of antimicrobial cycle of high active antimicrobial actinomycetes against bacteria and fungi

序号 No.	病原真菌 Pathogenic fungi								代表性真菌 Typical fungi				细菌 Bacteria			
	P_3		H		M		X		P		Y		A (G^+)		E (G^-)	
	菌号 No.	直径/mm Diameter	菌号 No.	直径/mm Diameter	菌号 No.	直径/mm Diameter	菌号 No.	直径/mm Diameter	菌号 No.	直径/mm Diameter	菌号 No.	直径/mm Diameter	菌号 No.	直径/mm Diameter	菌号 No.	直径/mm Diameter
1	11	25	21	19	23	25	23	24	48	21	23	22	22	27	22	22
2	21	24	14	18	50	24	50	24	25	20	21	18	33	27	11	19
3	12	22	48	18	21	21	12	23	21	19	22	16	21	24	21	18
4	14	21	39	17	34	20	2	22	23	19	27	16	24	23	20	16
5	16	21	11	16	48	20	7	22	28	18	13	14	11	21	44	16
6	2	19	40	16	20	19	21	22	46	18	50	14	13	21	13	15
7	23	19	34	15	46	18	40	18	11	17	7	13	34	21	23	13
8	13	18	45	15	7	17	48	18	22	17	28	13	32	19	34	13
9	18	18	13	14	13	17	22	17	38	17	34	13	48	19	2	12
10	22	17	46	14	22	17	46	17	1	16	48	13	12	18	38	12

3　结　论

1) 改良黄豆粉琼脂和玉米粉琼脂是较为理想的抗生素产生菌筛选培养基, PDA 和高氏1号次之。PDA 和腐殖酸琼脂也可用于辣椒疫霉拮抗菌的筛选。

2) 将琼脂块反向放置是筛选拮抗性放线菌的一种有效方法。琼脂块反向放置时琼脂块周围抗生素浓度高、扩散圈直径大、拮抗作用明显, 在进行拮抗菌筛选时不易漏筛有抗菌活性的放线菌。正向放置时抗生素在琼脂块底部的浓度低, 扩散圈直径小或无扩散圈, 在琼脂块周围难以形成明显的拮抗圈, 导致一些抗生素产生菌漏筛。

3) 在筛选拮抗性放线菌时, 制备琼脂块的培养时间应控制在8～12 d, 培养时间过长会导致拮抗作用减弱。

4) 从黄土高原人工林植被土壤中分离所得放线菌有较多对辣椒疫霉、黄瓜枯萎、棉花枯萎及西瓜枯萎菌4种农作物土传病害有生防作用的菌株, 这些拮抗菌在供试病原菌的生物防治上有重要的应用价值, 应进行深入研究。

[参考文献]

[1] 程丽娟, 薛泉宏. 微生物学实验技术[M]. 西安: 世界图书出版公司, 2000.

[2] 颜　霞, 朱铭莪, 薛泉宏, 等. 西藏亚高山草原土壤放线菌研究[J]. 西北农业学报, 1999, 8(2): 97-101.

[3] 薛泉宏, 谭志远, 朱铭莪, 等. 西藏土壤放线菌初步研究[J]. 西北农业大学学报, 1999, 27(1): 28-32.

[4] 邓显容, 王志杰. 西藏高山草原土壤放线菌生化特性研究[J]. 西昌农业高等专科学校学报, 2002, (6): 83-86.

[5] 蔡　艳, 薛泉宏, 陈占全. 青海省保护地辣椒根际土壤和根表放线菌研究[J]. 应用与环境生物学报, 2003, 9(1): 92-96.

[6] Jose R Tomo, Juan B Garcia, Mar De Antonio. A method for the selection of production media for actinomycete strains based on their metabolite HPLC profiles[J]. J Ind Microbiol Biotechnol, 2003, 30: 582-588.

(下转第68页)

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

slope, namely *Quorcus aliena* BI var. *acutesorrata*, *Betula utilis*, *Larix chinensis*, *Rhododendron purdomii*, *Abies fargesii*. The results show that the decomposition rate of litter leaves varies with biological characteristics, temperature, humidity and so on; the weight losing rate of *Q. aliena*, *B. utilis*, *L. chinensis*, *R. purdomii*, *A. fargesii* are respectively 38.20%, 32.12%, 16.23%, 20.76%, and 17.87%-18.29%. Among the tested three main chemical compositions, tannin decomposes fastest, of which *A. fargesii* and *Q. aliena* are 34.39% and 32.05% respectively at the height of 3 000 m and 1 430 m; the next is raw fat, the decrease of broadleaf is faster than that of conifer, the remaining content of raw fat in the litters is between 91.86% and 99.14%; the last is raw fiber, which has the similar tendency with raw fat. During the decomposition of litters, the change of energy is consistent with the decomposition rate, the general trend is that the diminution extent of broadleaf is larger than that of others, and the energy diminution rate of five litters are between 12.54% and 19.84%.

Key words: litters; decomposition rates; chemical composition; energy

(上接第63页)

Abstract ID: 1671-9387(2005)01-0059-EA

Study on the media and methods of selecting antimicrobial actinomycetes

GAO Peng, XUE Quan-hong, CHANG Xian-bo, FENG Ye

(*College of Resources Environment, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi* 712100, *China*)

Abstract: Antimicrobial experiment on fifty strains on antimicrobial actinomycete against bacteria and fungi was carried out, and the results showed that: ① Actinomycete grew better on the media of soybean farina agar and cornmeal agar than that of PDA and gauze No. 1 (GA). Both media of soybean farina agar and cornmeal agar were used to select antimicrobial actinomycetes. ② Laying the agar block on the medium reversedly was a kind of effective and dependable way to select antimicrobial actinomycetes. ③ The control time of cultivation of antinomycetes was usually within 8-12 days as we prepare for agar to select antimicrobial actinomycetes. Too long time would reduce antimicrobial effect of actinomycete against bacteria and fungi. ④ There were 27, 26, 33, 36, 35, 29, 35 and 20 strains of actinomycetes antimicrobial against *Phytophthoracapsici*, *Fusarium oxysporium* f. sp *cucumerinum*, *F.* f. sp *vasinfectum*, *F.* f. sp *niveum*, *Penicillium* sp, *Candida tropicalis*, *Staphalococcus aureus*, *Escherichia coli*, respectively, in fifty strains of actinomycete, which were isolated from the soil of artificially vegetation of Loess Plateau.

Key words: actinomycetes; medium; selecting of antimicrobial actinomycete; antimicrobial experiment

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net