



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105886428 B

(45)授权公告日 2019.07.16

(21)申请号 201610207349.1

C05F 15/00(2006.01)

(22)申请日 2016.04.05

C12R 1/465(2006.01)

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 105886428 A

(43)申请公布日 2016.08.24

(83)生物保藏信息

CGMCC No.12210 2016.03.14

(73)专利权人 中国科学院微生物研究所

地址 100101 北京市朝阳区北辰西路1号院3号

(72)发明人 李少杰 张振颖 孙宪昀

(74)专利代理机构 北京律和信知识产权代理事务所(普通合伙) 11446

代理人 鲍晓芳 武玉琴

(51)Int.Cl.

C12N 1/20(2006.01)

A01N 63/00(2006.01)

A01P 3/00(2006.01)

(56)对比文件

CN 107488608 A,2017.12.19,

CN 103981126 A,2014.08.13,

CN 103468620 A,2013.12.25,

CN 101250491 A,2008.08.27,

CN 101701233 A,2010.05.05,

EP 1021954 A1,2000.07.26,

WO 9942594 A1,1999.08.26,

CN 103184184 A,2013.07.03,

张雯龙等.链霉菌S417菌株发酵液的抗真菌活性及稳定性研究.《西南农业学报》.2012,第25卷(第04期),1285-1288.

于素亚等.深海放线菌08A4的鉴定及其抗真菌活性产物的研究.《微生物学杂志》.2012,第32卷(第5期),1-5.

审查员 彭海航

权利要求书1页 说明书8页 附图3页

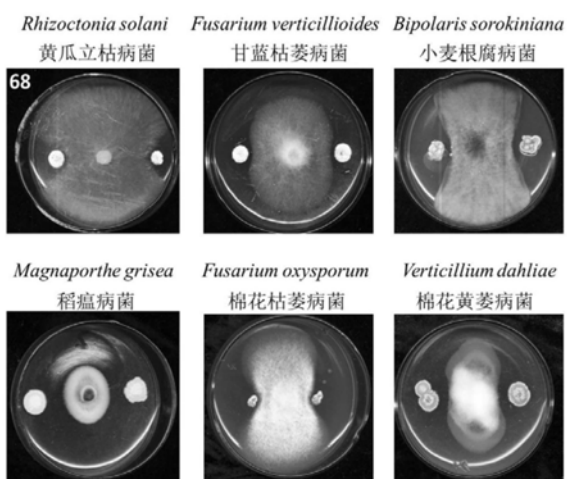
(54)发明名称

一株微白黄链霉菌及其在微生物肥料中的应用

(57)摘要

本发明公开了一株具有广谱抗真菌活性的分离自深海污泥的微白黄链霉菌W68(菌株保藏号为CGMCC No.12210)以及以该菌制备的微生物菌剂和以该菌为材料的微生物肥料的应用技术。本发明提供的以分离自深海污泥的微白黄链霉菌W68制备的微生物菌剂和以该菌为材料的微生物肥料的应用技术不仅简便、高效,而且对环境友好,且固体发酵的菌制剂孢子浓度可以达到百亿。经盆栽试验证实,分离自深海污泥的微白黄链霉菌W68对小麦根腐病、甜瓜枯萎病、辣椒疫霉病及小麦全蚀病等土传真菌病害的防治显示了明显的防控效果。本发明对于土传真菌病害的绿色防控具有巨大的应用前景。

CN 105886428 B



1. 一株微白黄链霉菌 (*Streptomyces albidoflavus*) 菌株W68, 其保藏号为CGMCC No.12210。

2. 一种微生物菌剂, 其特征在于: 其活性成分为权利要求1所述的微白黄链霉菌菌株W68。

3. 权利要求2所述微生物菌剂的应用, 其特征在于: 所述微生物菌剂用于防治土传真菌病害, 所述的土传真菌病是由下面一种真菌或多种真菌引起的: 轮枝样镰刀菌、尖孢镰刀菌、平脐蠕孢菌、立枯丝核菌、大丽轮枝孢菌、灰色大角间座壳菌, 所述微生物菌剂每克干重含分离自深海污泥的微白黄链霉菌W68含 1×10^{10} 个孢子。

4. 权利要求2所述微生物菌剂的应用, 其特征在于, 所述微生物菌剂用作微生物肥料。

5. 权利要求3所述的微生物菌剂的应用, 其用于防治小麦根腐病、甜瓜枯萎病、辣椒疫霉病和小麦全蚀病。

6. 一种微生物肥料的制备方法, 该方法包括:

(1) 液体种子的制备

挑取在PDA平板上生长4-5天的如权利要求1所述微白黄链霉菌W68的气生菌丝和孢子, 接种至 $2 \times$ YT液体培养基中, $28-30^{\circ}\text{C}$, 180rpm振荡培养1-2天后作为种子液使用;

(2) 固体发酵种子的制备

将液体种子按质量比10%接入装有固体发酵物料的组培瓶中, $28-30^{\circ}\text{C}$, 培养4-6天, 得到固体发酵种子;

(3) 微生物肥料的制备

以农业废弃物畜禽粪便、食用菌菌渣、麸皮或豆粕为原料, 添加一定比例的 MnSO_4 、 $(\text{NH})_2\text{SO}_4$, 料水比1:1, 按照10%的比例接种固体发酵种子, $28-30^{\circ}\text{C}$ 培养5-7天, 发酵培养结束后风干, 孢子浓度达到 1×10^{10} 个/g, 作为链霉菌微生物肥料使用。

一株微白黄链霉菌及其在微生物肥料中的应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一株具有广谱抗真菌活性和生防应用潜力的来源于海洋的微白黄链霉菌 (*Streptomyces albidoflavus*) 菌株W68, 属于海洋微生物的应用和农作物病害防治等微生物技术领域。

背景技术

[0002] 真菌性病害是造成农作物产量和品质降低的最主要原因。化学农药的频繁使用导致一些病原真菌抗药性急剧增强、造成环境与农产品的污染, 以及破坏植物体内外微生物平衡而加剧病害的爆发流行等。

[0003] 土传植物真菌病害的防治研究一直以来是一个热点和难点, 市面上的杀菌剂一般来说对其没有或是效果甚微。多年来人们也筛选到了一些抗土壤真菌的生防菌, 如盾壳霉 (*Coniothyrium minitans*) 用于纹枯病菌的防治、绿色木霉用于纹枯病菌及终极腐霉 (*Pythium ultimum*) 引起的苗病或根腐病在内的各种病害的防治、灰绿链霉菌 (*Streptomyces griseoviridis*) 用于棉花枯萎病的防治等。这些土壤真菌病害生防菌株虽然都具有较强的抗真菌活性, 但田间试验效果较差, 很多菌株发酵性能较差, 并且在应用中通常有一定的地域局限性。

发明内容

[0004] 本发明的目的在于提供一株具有广谱抗病原真菌活性的微白黄链霉菌 (*Streptomyces albidoflavus*) 菌株W68及其在防治土传真菌病害中的应用。

[0005] 实际上, 本发明涉及一株微白黄链霉菌 (*Streptomyces albidoflavus*) 菌株W68。

[0006] 涉及活性成分为微白黄链霉菌 (*Streptomyces albidoflavus*) 菌株W68的菌剂。

[0007] 涉及用于防治土传真菌病的微白黄链霉菌 (*Streptomyces albidoflavus*) 菌株W68的菌剂。

[0008] 涉及微白黄链霉菌 (*Streptomyces albidoflavus*) 菌株W68作为微生物肥料在防治土传真菌病害中的应用。

[0009] 所保护的是分离自深海污泥的微白黄链霉菌W68以及以该菌制备的微生物制剂和以该菌为材料的微生物肥料的应用技术。

[0010] 本发明所述的深海微白黄链霉菌W68分离于海洋活性污泥, 将定量的活性污泥装入含有小玻璃珠的无菌水中进行预处理, 采用含有终浓度为50 μ g/ml重铬酸钾的高氏一号培养基进行分离培养, 再使用PDA培养基进行纯化培养。在NCBI数据库中比对16S rDNA序列, 鉴定该菌属于*Streptomyces albidoflavus*类群。目前该菌已于2016年3月14日保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心, 地址为: 北京市朝阳区北辰西路1号院3号 (CGMCC), 保藏号为CGMCC No.12210

[0011] 本发明中所述分离自深海污泥的微白黄链霉菌W68的生物学特征如下:

[0012] 表1. 微白黄链霉菌W68的菌落特征

[0013]

培养基	菌落正面颜色	菌落背面颜色
ISP2	白色	黄色
ISP3	微黄	微黄
ISP4	白色	白色
ISP5	微痕生长	无色素
Bennete	白色	微黄,白色
Cazpek' s	微黄	微黄
Glu+Asp	微痕生长	无色素
Glu+Asp+M	白色	白色
PDA	白色	黄色

[0014] 微白黄链霉菌W68在各种培养基上的菌落特征见表1。平均培养时间为5-7天。在PDA培养基上,气生菌丝初期呈白色,粉状,有白色和乳脂色次生丛。产孢后菌落呈现微黄色。扫描电镜观察孢子丝成弯曲型,无螺旋,每条孢子丝含大约30到50个孢子;孢子呈圆柱形,表面光滑,无凸起,无刺状物(图1)。

[0015] 本发明中所述分离自深海污泥的微白黄链霉菌W68的抗真菌活性如下:

[0016] 分离自深海污泥的微白黄链霉菌W68具有广谱的抗真菌活性。平板对峙实验显示,微白黄链霉菌W68对轮枝样镰刀菌(*Fusarium verticillioides*)、尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)、平脐蠕孢菌(*Bipolaris sorokiniana*)、立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)、大丽轮枝孢菌(*Verticillium dahliae*)、灰色大角间座壳菌(*Magnaporthe grisea*)等引起植物病害的多种病原真菌都具有很好的拮抗作用(图2)。

[0017] 本发明中所述分离自深海污泥的微白黄链霉菌W68的生防应用技术及方法如下:

[0018] (1) 以制备的微生物活菌制剂用于种子包被技术;

[0019] (2) 以微白黄链霉菌W68为材料的微生物菌剂或微生物肥料;

[0020] (3) 以微白黄链霉菌W68为材料,以常见农业废弃物为固体发酵物料,可以获得孢子浓度为 1×10^{10} 个/g的微生物菌剂或微生物肥料;

[0021] (4) 微生物菌剂或微生物肥料用途可用于包衣、浸种、蘸根、穴施、沟施、基肥使用。

[0022] 本发明中所述分离自深海污泥的微白黄链霉菌W68的生防应用效果如下:

[0023] 分离自深海污泥的微白黄链霉菌W68对小麦根腐病(*Bipolaris sorokiniana*)的防控效果。在对小麦根腐病防治的盆栽试验中,采用种子包被的方法,使用微白黄链霉菌W68菌制剂提高了小麦种子在含有小麦根腐病菌的土壤中的出苗率,株高、植株干重均高于发病组对照,且基本可以达到小麦种子在无病原菌土壤中的生长水平(图3)。

[0024] 分离自深海污泥的微白黄链霉菌W68对甜瓜枯萎病(*Fusarium oxysporum*)的防控效果。通过种子包被和灌根处理,使用微白黄链霉菌W68菌制剂可显著克服由镰刀菌枯萎病所引起的作物连作障碍:在上年种过甜瓜的田间连续种植甜瓜,处理组的甜瓜苗成活率可以达到93%,空白对照组的苗成活率仅为13%(图4)。

[0025] 分离自深海污泥的微白黄链霉菌W68对辣椒疫霉病(*Phytophthora capsici*)的防控效果。辣椒幼苗移栽时采用微白黄链霉菌W68菌制剂蘸根处理幼苗,可显著减轻辣椒疫霉病的发病程度。与对照组相比,蘸根处理过的植株生长周期延长约1-2周,干辣椒产量增加

5% (图5)。

[0026] 分离自深海污泥的微白黄链霉菌W68对小麦全蚀病 (*Gaeumannomyces graminis*) 的防控效果。深海微白黄链霉菌W68活菌制剂的使用可以明显减少小麦抽穗期的病株率,降低病情指数。与化学药剂相比,微白黄链霉菌W68活菌制剂的防效明显优于化学试剂三唑酮,与全蚀净的防效相当。可见微白黄链霉菌W68活菌制剂可以完全替代化学药剂的使用 (图6)。

附图说明:

[0027] 图1是微白黄链霉菌W68在PDA培养基上的生长形态及扫描电镜观察图。

[0028] 图2是微白黄链霉菌W68对多种植物病原菌的拮抗作用图。

[0029] 图3是微白黄链霉菌W68防控小麦根腐病的盆栽试验结果图。

[0030] 图4是微白黄链霉菌W68防控甜瓜枯萎病的大田试验结果图。

[0031] 图5是微白黄链霉菌W68防控辣椒疫霉病的大田试验结果图。

[0032] 图6是微白黄链霉菌W68防控小麦全蚀病的大田试验结果图。

具体实施方式

[0033] 以下的实施例便于更好地理解本发明,但并不限定本发明。下述实施例中的实验方法,如无特殊说明,均为常规方法。下述实施例中所用的试验材料,如无特殊说明,均为自常规生化试剂商店购买得到的。

[0034] 以下实施条例中,用到如下培养基:

[0035] 高氏一号筛选培养基:可溶性淀粉20g, KNO_3 1g, K_2HPO_4 0.5g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5g, NaCl 0.5g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01g, NaCl 0.5g, 琼脂20g, 自来水定容到1000mL, pH 7.2~7.4。

[0036] PDA培养基:马铃薯葡萄糖琼脂培养基, 马铃薯200g煮沸30分钟后过滤取滤液, 葡萄糖20g, 琼脂15-20g, 自来水定容到1000ml, 自然pH; 115℃高温灭菌。

[0037] ISP2培养基(酵母膏麦芽膏琼脂):酵母膏10g, 葡萄糖4g, 麦芽膏10g, 琼脂20g, 自来水定容到1000mL, pH 7.3。

[0038] ISP3培养基(燕麦粉琼脂):燕麦粉20g浸液, 迹量盐溶液1ml, 琼脂20g, 自来水定容到1000mL, pH 7.2。

[0039] ISP4培养基(淀粉琼脂):可溶性淀粉10g, MgCO_3 1g, K_2HPO_4 1g, NaCl 1g, NaNO_3 1g, 琼脂15g, 自来水定容到1000ml, pH 7.2~7.4。

[0040] ISP5培养基(甘油天门冬素琼脂):L-天门冬素1g, K_2HPO_4 1g, 迹量盐溶液1ml, 甘油10g, 琼脂20g, 自来水定容到1000ml, pH 7.0~7.4

[0041] Bennete培养基:葡萄糖10g, 牛肉膏1g, 琼脂15g, 酵母膏1g, 水解酪素2g, 自来水定容到1000mL, pH 7.3

[0042] Cazpek's培养基(察氏):蔗糖30g, NaNO_3 2g, K_2HPO_4 1g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5g, KCl 0.5g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01g, 琼脂20g, 自来水定容到1000mL, pH 7.2~7.4。

[0043] Glu+Asp培养基(葡萄糖天门冬素琼脂):葡萄糖10g, 天门冬素0.5g, K_2HPO_4 0.5g, 琼脂15g, 自来水定容到1000mL, pH 7.2~7.4。

[0044] Glu+Asp+M培养基(葡萄糖天门冬素肉膏琼脂):葡萄糖10g, 天门冬素0.5g, 牛肉膏

2g, K_2HPO_4 0.5g, 琼脂15g, 自来水定容到1000mL, pH 6.8。

[0045] 微量盐溶液: $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.1g, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.1g, $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ 0.1g, 蒸馏水定容至100ml。

[0046] 2×YT液体培养基: 蛋白胨16g, 酵母粉10g, NaCl 5g, 自来水定容到1000mL, 自然pH。

[0047] 实施例1

[0048] 菌株的分离、鉴定及生物学特性

[0049] 一、菌株的分离和纯化

[0050] 本实验从海洋活性污泥中分离得到了若干株放线菌, 过程如下: 1g样品加于灭菌的装有小玻璃珠和99ml无菌生理盐水的300ml三角瓶中, 28℃摇床培养1h。取1 ml悬液, 采用梯度稀释的方法稀释到 10^{-4} , 取原液、 10^{-2} 稀释液和 10^{-4} 稀释液分别涂布重铬酸钾终浓度为50μg/ml高氏一号培养基, 分别于第5天、第7天和第10天挑取单菌落, 再采用平板划线法于PDA培养基上进行纯化和分离培养。

[0051] 利用20%甘油保存所得纯化菌株于-80℃。

[0052] 二、菌株的鉴定

[0053] 1、形态学鉴定

[0054] 分离自深海污泥的微白黄链霉菌W68的形态鉴定, 运用平板划线的方法在不同培养基接种培养后进行形态观察(表1)。

[0055] 2、分子鉴定

[0056] PCR扩增16S rDNA采用通用引物27F和1492R(退火温度为56℃, 靶序列约为1400bp, 序列如下: 27F: 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'; 1492R: 5'-TACGGCTACCTACGACTT-3'。

[0057] PCR反应程序为: 95℃5min; 95℃30s, 56℃90s, 72℃60s (33cycles); 72℃10min; 4℃。

[0058] 扩增序列进行纯化测序后, 通过NCBI的Blastn程序进行同源性比较, 采用MEGA5软件运用Neighbor-Joining法建立系统发育树。

[0059] 三、菌株的生物学特性

[0060] 使用Biolog GEN III微孔板对微白黄链霉菌W68进行94种表型测试, 包括71种碳源利用测试和23种化学敏感性测试(表2、表3)。

[0061] 表2. 微白黄链霉菌W68对71种不同碳源的利用情况

[0062]

碳源	利用情况	碳源	利用情况	碳源	利用情况	碳源	利用情况
糊精	+	D-甘露糖	-	e 氨基乙酰-L-脯氨酸	+	丙酮酸甲酯	-
D-麦芽糖	-	D-果糖	+	L-丙氨酸	-	D-乳酸甲酯	+
D-海藻糖	+	D-半乳糖	-	L-精氨酸	-	L-乳酸	+
D-纤维二糖	+	3-甲酰葡萄糖	-	L-天冬氨酸	+	柠檬酸	-
龙胆二糖	+	D-果糖	-	L-谷氨酸	+	α -酮-戊二酸	-
蔗糖	-	L-果糖	-	L-组胺	-	D-苹果酸	-
D-松二糖	-	L-鼠李糖	-	L-焦谷氨酸	-	L-苹果酸	+
水苏糖	-	肌苷	-	L-丝氨酸	-	溴-丁二酸	-
蜜三糖, 棉子糖	-	D-山梨醇	-	果胶	-	吐温 40	+
α -D-乳糖	-	D-甘露醇	+	D-半乳糖醛酸	-	γ -氨基丁酸	-
蜜二糖	-	D-阿拉伯醇	-	L-半乳糖醛酸内酯	-	α -羟基-丁酸	+
β -甲酰-D-葡萄糖苷	-	肌醇	-	D-葡萄糖酸	+	β -羟基-D, L 丁酸	-
D-水杨苷	-	甘油	-	D-葡萄糖醛酸	-	α -酮-丁酸	-
N-乙酰-D-葡萄糖胺	-	D-葡萄糖-6-磷酸	+	葡萄糖醛酰胺	-	乙酰乙酸	+
N-乙酰- β -D-甘露糖胺	-	D-果糖-6 磷酸	+	粘酸; 粘液酸	-	丙酸	-
N-乙酰-D-半乳糖胺	-	D-天冬氨酸	-	奎宁酸	-	乙酸	+
N-乙酰神经氨酸	+	D-丝氨酸	-	糖质酸	-	甲酸	-
α -D-葡萄糖	-	明胶	-	p-羟基-苯乙酸	-		

[0063] 备注:+表示可以利用,-表示不能利用

[0064] 表3. 微白黄链霉菌W68对23种不同试剂的耐受性情况

[0065]

试剂	耐受性	试剂	耐受性	试剂	耐受性
pH6	+	醋竹桃霉素	-	四唑蓝	+
pH5	-	利福霉素 SV	+	萘啶酮酸	+
1%NaCl	+	二甲胺四环素	-	氯化锂	+
4%NaCl	+	林肯霉素, 洁霉素	-	亚碲酸钾	+
8%NaCl	+	盐酸胍	+	氨曲南	+
乳酸钠	+	硫酸四奎钠	-	丁酸钠	+
梭链孢酸	-	万古霉素	-	溴酸钠	+
D-丝氨酸	-	四唑紫	+		

[0066] 备注:+表示耐受,-表示不耐受

[0067] 四、菌株的保藏

[0068] 分离自深海污泥的微白黄链霉菌W68已于2016年3月14日保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心(简称CGMCC,地址为:北京市朝阳区北辰西路1号院3号),保藏号为CGMCC No.12210。

[0069] 实施例2

[0070] 分离自深海污泥的微白黄链霉菌W68的抗真菌活性测试

[0071] 采用平板对峙法测定微白黄链霉菌W68的抗真菌活性:

[0072] (1)、链霉菌培养及收集:利用划线法接种微白黄链霉菌微白黄链霉菌W68于PDA平板上,28℃培养5-7天至产生足量孢子;刮取孢子于适量无菌水中制成孢子悬液备用。

[0073] (2)、病原菌的培养:接种黄瓜立枯病菌、甘蓝枯萎病菌、小麦根腐病菌、稻瘟病菌、棉花枯萎病菌、棉花黄萎病菌于PDA平板上,28℃培养一周后使用。

[0074] (3)、平板对峙实验:分别接种病原菌培养物菌块于PDA平板中央,在距离病原菌2.0cm左右接种微白黄链霉菌W68孢子悬液5 μ l,28℃培养3-5天,观察病原菌生长情况。

[0075] 实施例3

[0076] 微白黄链霉菌W68为材料的微生物菌剂:

[0077] (1)液体种子的制备

[0078] 挑取在PDA平板上生长4-5天的微白黄链霉菌W68的气生菌丝和孢子,接种至2 \times YT液体培养基中,28-30℃,180rpm振荡培养1-2天后作为种子液使用。

[0079] (2)固体发酵种子的制备

[0080] 将液体种子按质量比10%接入装有固体发酵物料的组培瓶中,28-30℃,培养4-6天,得到固体发酵种子。

[0081] (3)微生物菌剂

[0082] 以农业废弃物畜禽粪便、食用菌菌渣、麸皮或豆粕等为基本原料,添加一定比例的MnSO₄、(NH)₂SO₄,料水比1:1。按照10%的比例接种固体发酵种子。28-30℃培养5-7天,发酵培养结束后风干,孢子浓度可以达到1 \times 10¹⁰个/g,作为链霉菌微生物菌剂使用。

[0083] 实施例4

[0084] 微白黄链霉菌W68为材料的微生物肥料制备:

[0085] (1)液体种子的制备

[0086] 挑取在PDA平板上生长4-5天的微白黄链霉菌W68的气生菌丝和孢子,接种至2 \times YT液体培养基中,28-30℃,180rpm振荡培养1-2天后作为种子液使用。

[0087] (2)固体发酵种子的制备

[0088] 将液体种子按质量比10%接入装有固体发酵物料的组培瓶中,28-30℃,培养4-6天,得到固体发酵种子。

[0089] (3)微生物肥料的制备

[0090] 以农业废弃物畜禽粪便、食用菌菌渣、麸皮或豆粕等为基本原料,添加一定比例的MnSO₄、(NH)₂SO₄,料水比1:1。按照10%的比例接种固体发酵种子。28-30℃培养5-7天,发酵培养结束后风干,孢子浓度可以达到1 \times 10¹⁰个/g,作为链霉菌微生物肥料使用。

[0091] 实施例5

[0092] 分离自深海污泥的微白黄链霉菌W68的微生物菌剂或微生物肥料对植物真菌病害的防控应用:

[0093] 一、分离自深海污泥的微白黄链霉菌W68对小麦根腐病的防控

[0094] (1)试验地点及环境条件:中国科学院微生物研究所室外自然环境分别进行三次盆栽试验。

[0095] (2)试验药剂:空白对照、微白黄链霉菌W68孢子悬液、70%甲托粉剂

[0096] (3)试验方法:

[0097] 种子处理:取小麦种子若干,10%84消毒液处理5min后,无菌水冲洗2次,然后无菌水浸种4h;

[0098] 用微白黄链霉菌W68进行种子包被:取浸泡好的种子于培养皿中,分别使用1ml羧甲基纤维素钠溶液和1ml收集好的W68孢子悬液进行种子包被,混匀后28℃放置过夜;

[0099] 用甲托进行种子闷种:按照甲托的使用方法,对表面消毒过的小麦种子进行6h闷种处理。

[0100] (4) 处理排列:每个花盆种植10粒种子,每个处理做四个平行,随机排列,室外自然环境条件培养2-3周,观察生长情况。该实验重复三次。

[0101] (5) 统计数据:对植株的高度、地上部植株的湿重和干重、植物茎秆的直径进行记录,统计分析数据。

[0102] (6) 结果分析:在对小麦根腐病防治的盆栽试验中,采用种子包被的方法,使用微白黄链霉菌W68菌制剂提高了小麦种子在含有小麦根腐病菌的土壤中的出苗率,株高、植株干重均高于发病组对照,且基本可以达到小麦种子在无病原菌土壤中的生长水平(图3)。

[0103] 二、分离自深海污泥的微白黄链霉菌W68对甜瓜枯萎病的大田试验。

[0104] (1) 试验地点及环境条件:该实验设在山西省忻州市东楼乡。试验田肥力中等,前茬作物为甜瓜。甜瓜播种,栽培、管理件均匀一致,符合当地的农业实践。

[0105] (2) 示范药剂:空白对照、微白黄链霉菌W68为材料的微生物菌剂或微生物肥料、其它公司同类产品。

[0106] (3) 小区面积与处理排列:每个处理70m²,用地膜覆盖,每个处理种植2行甜瓜。

[0107] (4) 施药方法:采用浸种处理法,甜瓜播种前用菌肥浸泡1小时,播种后将泡过种子的菌液灌于种穴中。

[0108] (5) 数据统计:进行拍照,清点死苗,统计试验结果。

[0109] (6) 结果分析:通过对甜瓜种子的浸种处理,使用微白黄链霉菌W68为材料的微生物菌剂或微生物肥料可显著克服由镰刀菌枯萎病所引起的甜瓜连作障碍:在上年种过甜瓜的田间连续种植甜瓜,处理组的甜瓜苗成活率可以达到93%,空白对照组的甜瓜苗成活率仅为13%(图4)。

[0110] 三、分离自深海污泥的微白黄链霉菌W68对辣椒疫霉病的大田试验。

[0111] (1) 试验地点及环境条件:该实验设在山西省忻州市高城村。前茬作物为辣椒,品种为北京红。辣椒育苗。

[0112] (2) 示范药剂:空白对照、微白黄链霉菌W68为材料的微生物菌剂或微生物肥料、其他公司同类产品。

[0113] (3) 小区面积与处理排列:每个处理70m²,用地膜覆盖,每个处理种植2行辣椒。

[0114] (4) 施药方法:辣椒苗移栽时用菌肥蘸根处理2-3小时,移栽后将菌液灌于种穴中。

[0115] (5) 数据统计:进行拍照,进行产量统计。

[0116] (6) 结果分析:辣椒幼苗移栽时采用微白黄链霉菌W68为材料的微生物菌剂或微生物肥料对幼苗进行蘸根处理,可显著减轻辣椒疫霉病的发病程度。与对照组相比,蘸根处理过的植株生长周期延长约1-2周,且干辣椒产量增加5%(图5)。

[0117] 四、分离自深海污泥的微白黄链霉菌W68对小麦全蚀病的大田试验。

[0118] (1) 试验地点及环境条件:该试验设在河北省景县泽河流镇东李庄村。前茬作物为

玉米,小麦常年单产每亩平均950斤左右。小麦播种,30斤/亩。每亩底施田丰牌小麦专用肥100斤,灌溉情况播种时为抢墒播种,播后浇冻水1次,浇返青水,亩施尿素60斤。用10%苯磺隆+56%甲四氯钠防治杂草,用25g/L高效氯氟氰菊酯防治小麦吸浆虫、蚜虫。

[0119] (2) 示范药剂:空白对照、微白黄链霉菌W68为材料的微生物菌剂或微生物肥料、另设化学药剂对照50%三唑酮WP和12.5%全蚀净FS。

[0120] (3) 小区面积与处理排列:每公斤小麦种子使用50g菌肥。

[0121] (4) 数据统计:调查出苗率,小麦拔节期和抽穗期各进行一次根系调查,采取对角线5点取样法,每点取20株,调查根系受侵染情况,按小麦全蚀病分级标准记录、统计病株率和病情指数。调查白穗,每点取1米双行,调查总穗数与白穗数,统计白穗率。进行测产调查,每个处理随机5点取样,调查1米双行总穗数,统计亩穗数,每点取有效穗数20穗,干后脱粒,统计穗粒数和千粒重,计算产量和增产效果。

[0122] (5) 结果分析:深海微白黄链霉菌W68为材料的微生物菌剂或微生物肥料的使用可以明显减少小麦抽穗期的病株率,降低病情指数。与化学药剂相比,微白黄链霉菌W68为材料的微生物菌剂或微生物肥料的防效明显优于化学药剂三唑酮,与全蚀净的防效相当。可见以微白黄链霉菌W68为材料的微生物菌剂或微生物肥料可以完全替代化学药剂的使用(图6)。

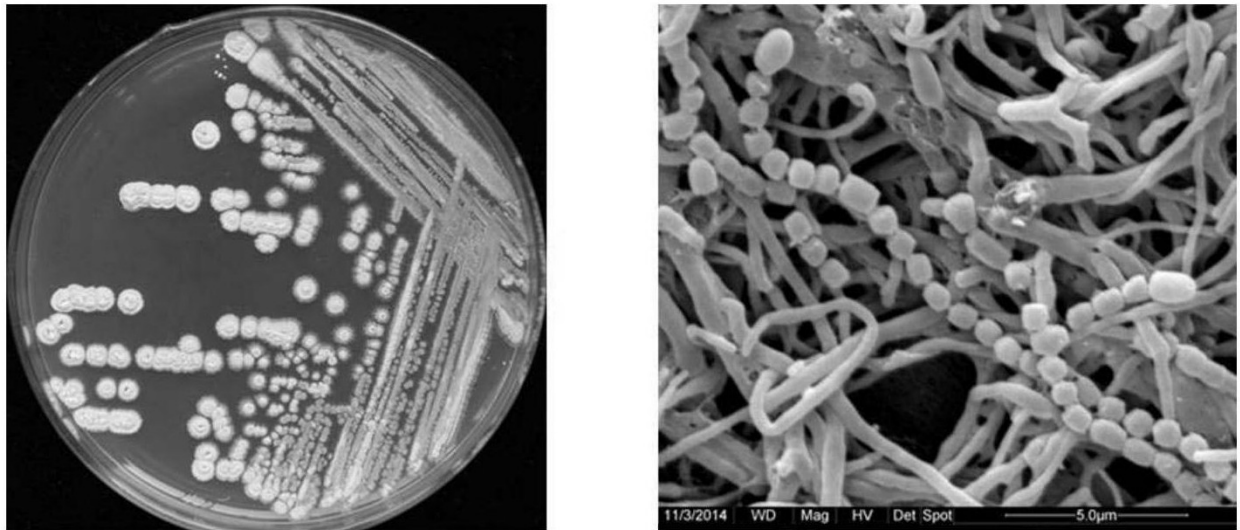


图1

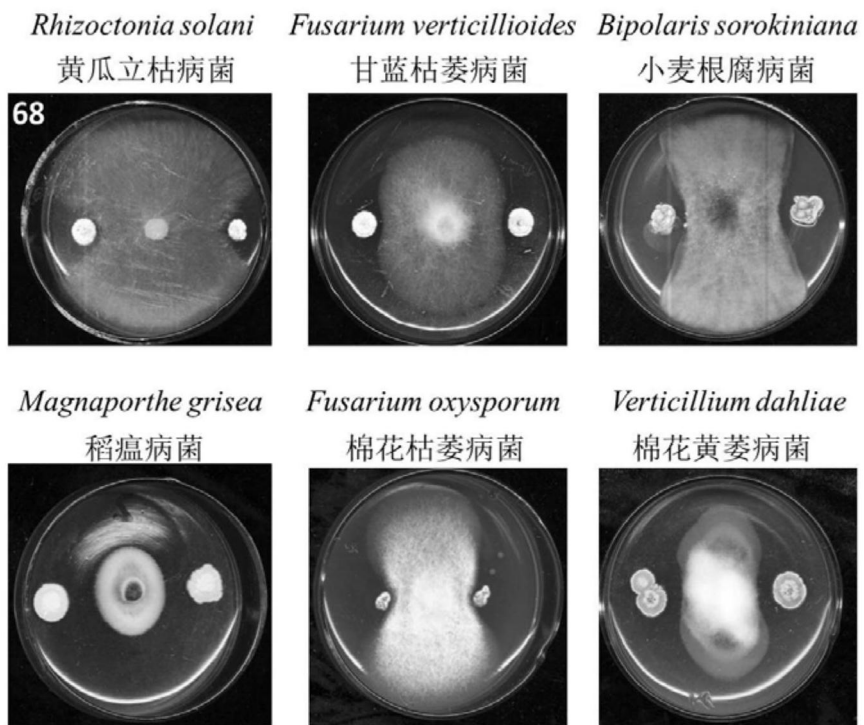


图2

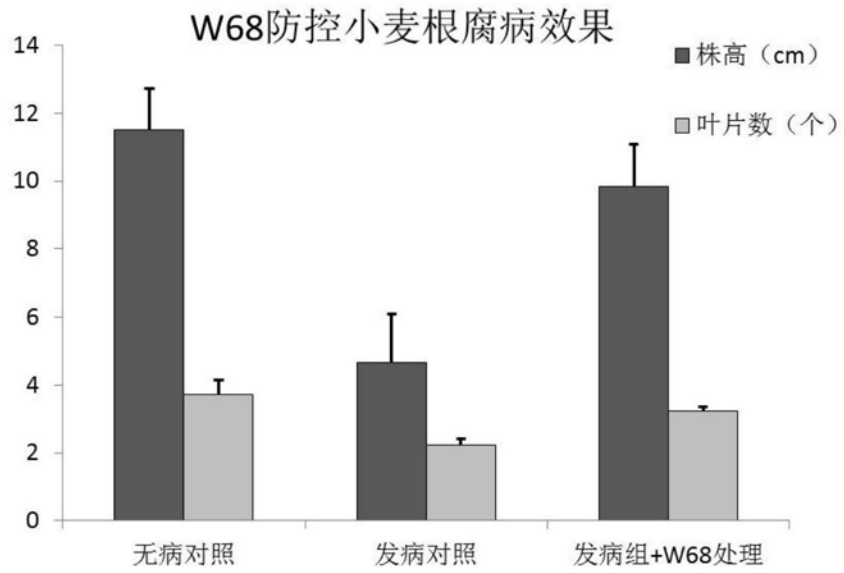


图3

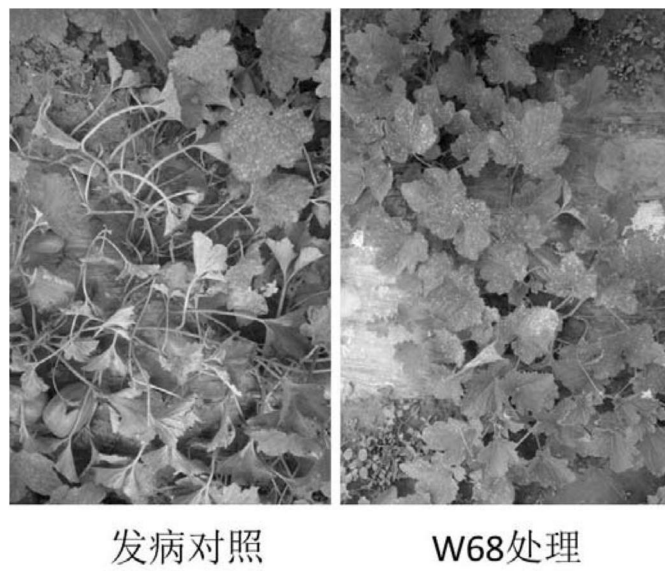


图4

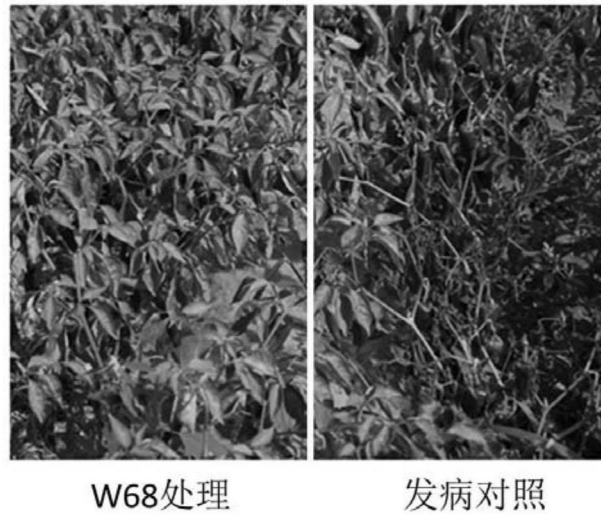


图5

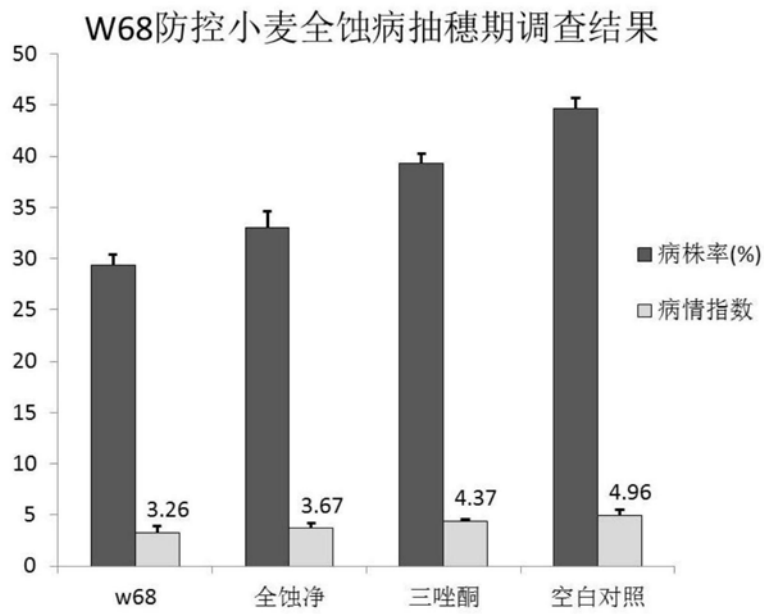


图6