



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105316258 A

(43) 申请公布日 2016. 02. 10

(21) 申请号 201510702042. 4

A01N 63/00(2006. 01)

(22) 申请日 2015. 10. 26

A01P 3/00(2006. 01)

(83) 生物保藏信息

C12R 1/38(2006. 01)

CGMCC No. 11361 2015. 09. 10

(71) 申请人 江苏省安丰生物源农药工程中心有限公司

地址 215400 江苏省苏州市太仓市沙溪镇新建村现代农业园内

(72) 发明人 何胥 施洁君 王光

(74) 专利代理机构 苏州市方略专利代理事务所
(普通合伙) 32267

代理人 马广旭

(51) Int. Cl.

C12N 1/20(2006. 01)

权利要求书1页 说明书10页
序列表3页 附图1页

(54) 发明名称

一种防治水稻纹枯病的菌株 1LN2 及其应用

(57) 摘要

本发明公开一种防治水稻纹枯病的菌株 1LN2, 其分类命名为假单胞菌属(*Pseudomonas sp.*), 保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心, 保藏日期 2015 年 9 月 10 日, 保藏编号为 CGMCC No. 11361。本发明还公开了一种生防菌剂, 该生防菌剂是由防治水稻纹枯病的菌株 1LN2 制备而成。本发明还公开了上述生防菌剂在防治水稻纹枯病方面的应用。本发明在温室中使用生防菌剂 1LN2 对水稻纹枯病有一定程度的防治效果, 温室防效达到 60. 25%, 大田试验处理一个月后田间防效达到 50. 31%, 1LN2 菌株制剂可以提高稻米的蛋白质含量、降低直链淀粉含量、提高胶稠度, 还有一定程度的增产效果, 与常规化学药剂相比其增产效果达到 7. 1%。

1. 一种防治水稻纹枯病的菌株 1LN2, 其特征在于, 其分类命名为假单胞菌属 (*Pseudomonas sp.*), 该菌株已于 2015 年 9 月 10 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, 保藏编号为 CGMCC No. 11361。

2. 权利要求 1 所述的防治水稻纹枯病的菌株 1LN2 在防治大田水稻纹枯病方面的应用。

3. 一种生防菌剂, 其特征在于, 所述的生防菌剂是由防治水稻纹枯病的菌株 1LN2 制备而成。

4. 权利要求 3 所述的生防菌剂的制备方法, 其特征在于, 包括以下步骤: 将菌株 1LN2 在 LB 平板上划线, 28℃生化培养箱中培养 14-16h, 待长出单菌落后, 挑取单菌落接入含有 5mL 的 LB 培养液的试管中, 置于 28℃、200r/min 的摇床中培养, 制成种子液; 以 1% 的接种量将种子液接种于装有 500mL 的 LB 培养液的三角瓶里, 置于 28℃、200r/min 的摇床中培养 48 h, 待菌液浓度达到 10^9 CFU/mL 时稀释待用, 即为所制备的 1LN2 生防菌剂。

5. 权利要求 3 所述的生防菌剂在防治水稻纹枯病方面的应用。

一种防治水稻纹枯病的菌株 1LN2 及其应用

技术领域

[0001] 本发明属于农作物防治技术领域,具体涉及一种防治水稻纹枯病的菌株 1LN2 及其应用,专用于水稻纹枯病的绿色防治。

背景技术

[0002] 水稻纹枯病是由立枯丝核菌 [*Rhizoctonia solani*] 引起的一种土传病害,是水稻的三大病害之一,分布在世界各个稻区,一般可造成 10% -30% 的产量损失,发生严重时可造成产量损失达 50% 以上。近年来,随着矮秆品种和杂交水稻的大面积推广及栽培措施的变革,水稻纹枯病发生的面积逐年扩大,给水稻的增产稳产带来了极大的障碍。

[0003] 目前,水稻纹枯病的防治在抗病育种方面尚未突破,至今没有发现免疫或高抗品种,在实际生产过程中,主要依靠选用耐病品种以及化学药剂来防治,如:井冈霉素、丙环唑、烯唑醇、恶毒灵、爱苗、满穗、稻立峰等,化学药剂的长期反复使用易产生抗药性,导致使用量的不断增加以及生产成本的不断提高,在污染环境的同时也存在农药高残留的问题,给农产品的出口带来障碍,给人畜的生命带来了威胁。因此,采用生物防治策略来防治水稻纹枯病日益受到关注,成为了这种病害研究的新方向。

[0004] 近年来,生物防治方法防治水稻纹枯病也日益兴盛,主要有:微生物、植物提取物、稻鸭共养模式等,它们的生防机理主要是通过拮抗、竞争、寄生、抗生以及诱导抗病性等方面进行病害的防治;已有大量研究报道了将生防菌引入植物可提高植物的抗病、抗逆性。由于生防菌在抑制植物病害方面的广谱性、高效性以及安全性,目前成为农药市场发展的趋势,被称为是最有潜力的发展方向。

[0005] 迄今为止尚未发现理想的免疫或高抗品种,主要依赖化学药剂防治,环境污染问题日益突出,所以在注重发展无绿色生产技术的今天,生物防治作为防治水稻纹枯病的一种新思路,将得到进一步的重视与发展。因此,开发新的、更为高效和安全的微生物制剂控制水稻纹枯病的发生是提高社会生产总量的需要,同时更是国家粮食安全及可持续发展战略的需要。

发明内容

[0006] 发明目的:针对水稻纹枯病没有较高防效的生防菌株制剂现状,本发明的第一个目的是提供一种具有良好的防治水稻纹枯病的生防菌株。

[0007] 本发明的第二个目的是提供防治水稻纹枯病的菌株 1LN2 在防治大田水稻纹枯病方面的应用。

[0008] 本发明的第三个目的是提供生防菌剂,专用于防治水稻纹枯病,菌株的防效高,并且有较好的增产功能。

[0009] 本发明的第四个目的是提供上述生防菌剂的制备方法。

[0010] 本发明的第五个目的是提供上述的生防菌剂在防治水稻纹枯病方面的应用。

[0011] 技术方案:为了解决上述技术问题,本发明所采用的技术方案为:一种防治水稻

纹枯病的菌株 1LN2, 其分类命名为假单胞菌属 (*Pseudomonas* sp.), 该菌株已于 2015 年 9 月 10 号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: 北京市朝阳区北辰西路 1 号院 3 号, 中国科学院微生物研究所, 邮编: 100101, 保藏编号为 CGMCC No. 11361。

[0012] 上述的防治水稻纹枯病的菌株 1LN2 在防治大田水稻纹枯病方面的应用。

[0013] 一种生防菌剂, 上述的生防菌剂是由防治水稻纹枯病的菌株 1LN2 制备而成。

[0014] 上述的生防菌剂的制备方法, 包括以下步骤: 将菌株 1LN2 在 LB 平板上划线, 28℃ 生化培养箱中培养 14-16h, 待长出单菌落后, 挑取单菌落接入含有 5mL 的 LB 培养液的试管中, 置于 28℃、200r/min 的摇床中培养, 制成种子液; 以 1% 的接种量将种子液接种于装有 500mL 的 LB 培养液的三角瓶里, 置于 28℃、200r/min 的摇床中培养 48h, 待菌液浓度达到 10^9 CFU/mL 时稀释待用, 即为所制备的 1LN2 生防菌剂。

[0015] 上述的生防菌剂在防治水稻纹枯病方面的应用。

[0016] 其应用方法为, 菌株制剂在作物育苗时喷施于秧盘或与育秧基质混合、也可以稀释后在大田喷雾使用。

[0017] 有益效果: 本发明与现有水稻纹枯病防治技术相比, 其优点和积极效果表现在: 本发明是专门针对水稻纹枯病开发的生防菌株, 因而在防治水稻纹枯病方面与目前其他化学药剂相比防治效果显著提高。由于是生防微生物制剂, 完全没有因化学农药的使用而带来环境问题及食品安全问题, 因而有利于作物的无公害生产, 农民可以不用或减少其他防治水稻纹枯病化学农药的用量, 这不仅可为农民节省开支, 而且有利于作物的出口。同时, 生防菌株制剂还有增产功能, 可为农民增加收入。

[0018] 1LN2 菌株制剂可以在水稻育苗时与基质混合或在水稻流水线播种时随底水喷施于秧盘内, 然后随水稻移栽到大田, 同时在大田进行喷雾防治。

[0019] 栽苗后, 菌株通过多种生防机制起作用, 从而达到防治水稻纹枯病的效果。试验表明, 在温室中使用 1LN2 菌株制剂对水稻纹枯病有一定程度的防治效果, 温室防效达到 60.25%, 处理一个月后田间防效达到 50.31%, 1LN2 菌株制剂可以提高稻米的蛋白质含量、降低直链淀粉含量、提高胶稠度, 还有一定程度的增产效果, 与常规化学药剂相比其增产效果达到 7.1%。

附图说明

[0020] 图 1 为温室试验中生防菌剂 1LN2 处理后 30 天后对水稻秧苗的促生效果;

[0021] 注: 左—CK, 右—1LN2。

具体实施方式

[0022] 下面通过具体的实施例对本发明进一步说明, 应当指出, 对于本领域的普通技术人员来说, 在不脱离本发明原理的前提下, 还可以做出若干变型和改进, 这些也应视为属于本发明的保护范围。

[0023] 实施例 1 菌株的筛选与鉴定

[0024] 于 2011 年 10 月, 在江苏省太仓市城厢镇东林村以及科教新城发病严重的地块采集样品。采用五点采样法, 每点间隔至少 10m。每点三株健康植株与发病重的植株连同根围土一并收集。采集后的样品迅速装入写好编号的塑料袋中带回实验室进行分离。

[0025] 菌株 1LN2 是从发病的植株茎内分离得到。其分离方法为：分别剪去根茎叶各 3g，用 1% 的次氯酸钠 1mL 浸 5min，70% 酒精浸 2min，无菌水清洗 3 次。（取最后一次清洗的溶液 0.1mL 涂 R2A 平板，或取 0.1mL 最后一次清洗液加入 R2A 培养液，30℃ 振荡培养，若 48h 后无菌生长则认为表面消毒干净）。用灭菌的研钵分别研碎表面消毒好的根茎叶，加 3mL 无菌水，无菌棉布过滤，用无菌水稀释 10 倍，取 0.1mL 涂 LB 平板，每个点重复 3 次，28℃ 培养 48h，计数，挑取平板上所有的菌落分离纯化，-70℃、40% 甘油保存备用。

[0026] 通过形态特征，生理生化实验和 16S rDNA 基因序列分析对该菌株进行鉴定。16S rDNA 基因扩增和序列分析：

[0027] 菌株 1LN2 在 R₂A 培养基中 28℃ 培养至对数期，以 12000r/min 离心 5min 收集菌体，采用上海赛百盛基因技术有限公司的基因组 DNA 快速提取试剂盒，提取细菌的基因组 DNA，以提取的 DNA 产物为模板，用细菌 16SrDNA 基因扩增通用引物 U8-27 (F) 5'-AGAGTTGATC(AC) TGGCTCAG-3' ;L1494-1514 (R) 5' -CTACGG (AG) TACCTTGTTACGAC-3'。从细菌的基因组 DNA 中扩增出 16S rDNA 基因片段。PCR 产物送上海生工生物工程有限公司进行测序。通过 BLAST 软件对测定 16S rDNA 基因序列进行同源性比较，结果将该菌株鉴定为假单胞菌属 (*Pseudomonas* sp.)，菌株测序结果如下所示。

[0028] 测序结果：

[0029] 1. GGCTACCATGCAGTCGAGCGGTAGAGAGAAGCTTGCTTCTCTTGAGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAATCTGCCTGGTAGTGGGGATAACGTTTCGGAAACGGACGCTAATACCGCATACTCCTACGGGAGAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCCTTGCGCTATCAGATGAGCCTAGGTCGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCGTAACCTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCACACTGGAACCTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAAGCACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGTTGTAGATTAATACTCTGCAATTTTGACGTTACCGACAGAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTAACTCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGTGGTTTTGTTAAGTTGGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAACTGCATTCAAACTGACTGACTAGAGTATGGTAGAGGGTGGTGAATTTCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACCACTGGACTAATACTGACACTGAGGTGCGAAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCAACTAGCCGTTGGAAGCCTTGAGCTTTTAGTGGCGCAGCTAACGCATTAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACCTCAAATGAATTTGACGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTGGAAGCAACGCAAGAACCTTACCAGGCCTTGACATCAAATGAACTTCTAGAGATAGATTGGTGCCTTCGGGAACATGAGACAAGGTGCTGCATGCTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGTTAAGTCCGTACGAGCGCAACTCTATGTCTAGTACCAGCACGTCATGGTGGCACTCTAGAAGTGCAGTGCAGAAATCGAGGAGTGGGATGACGTCAGTCATCATGTCTACCGCTGGCTAACCCAGTGTACAATGGTTCGTTACGAGGCTGCCAGCTCGCGAAGGGTGGAGCTC

[0030] 2. AGCTCAACCGTGGTACCGTCTCCCGAAGGTTAGACTAGCTACTTCTGGTGAACCCACTCCCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGAACGTATTCACCGCGACATTCGATTCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTACGCGAGTTCGAGTTGAGACTGCGATCCGGACTACGATCGGTTTTATGGGATTAGCTCCACCTCGCGGCTTGCAACCCTCTGTACCGACATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGCCGTAAGGGCCATGATGACTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGTTTTGTACCGGCAGTCTCCTTAGAGTGCCACCATGACGTGCTGGTAACTAAGGACAAGGGTTGCGCTCGTTACGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAGCCATGCAGCACCTGTCTCAATGTTCCCGAAGGCACCAATCTATCTCTAGAAAAGTTCATTGGATGTCAAGGCCTGGTAAAGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACCACA

TGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCGTCAATTCATTTGAGTTTTAACCTTGCGGCCGTA CCCCAGGCGGTCAACT
 TAATGCGTTAGCTGCGCCACTAAAAGCTCAAGGCTTCCAACGGCTAGTTGACATCGTTACGGCGTGGACTACCAGG
 GTATCTAATCCTGTTTGCTCCCCACGCTTTCGCACCTCAGTGTGAGTATTAGTCCAGGTGGTTCGCTTCGCCACTGG
 TGTTCCCTTCTATATCTACGCATTTACCCGCTACACAGGAAATTCACCACCCTCTACCATACTCTAGTCAGTCAGT
 TTTGAATGCAGTTCAGGTTGAGCCCGGGGATTTACATCCAACCTAACAAACCACCTACGCGCGCTTTACGCCCA
 GTAATTCGATTAACGCTTGCACCCTCTGTATTACCGCGGCTGCTGGCACAGAGTTAGCCGTGCTTATTCTTGTGCG
 TAACGTCAAAATTGCAGAGTATTAATCTACAACCCTTTCCTCCCAACTAAAGTGCTTTACAATCCGAAGACCTTCT
 TCACACACGCGCATGACTGGATCAGCTTCGCCCATGTCCAATATCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGAGTCTGACGTG
 TTCTCAGTTCAGTGTGACTGATCATCTCTCAGAACAGTACGATCGGTCGCTGGTGAGCATTTACCTACCAACTAG
 CTATC

[0031] 将该菌株 1LN2 保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心,保藏编号为 CGMCC No. 11361。

[0032] 实施例 2 :生防菌剂的制备

[0033] 将菌株 1LN2 在 LB 平板上划线,28℃生化培养箱中培养 14-16h,待长出单菌落后,挑取单菌落接入含有 5mL 的 LB 培养液的试管中,置于 28℃、200r/min 的摇床中培养,制成种子液;以 1% 的接种量将种子液接种于装有 500mL 的 LB 培养液的三角瓶里,置于 28℃、200r/min 的摇床中培养 48h,待菌液浓度达到 10^9 CFU/mL 时稀释待用,即为所制备的 1LN2 生防菌剂。

[0034] 实施例 3 :温室防效实验和温室促生试验

[0035] 1、温室防效实验:

[0036] 将稻种用 2% 的次氯酸钠溶液对种子进行消毒 15 分钟,清水冲洗 3-4 次后浸泡置于 30℃ 恒温箱中 48h 后拿出,然后用清水冲洗后将吸足水的种子置于 35-38℃ 的室内用纱布覆盖进行高温保湿催芽至破胸,破胸后置阴凉处摊晾炼芽 4h-8h,待种子内湿外干不粘连即可进行播种育苗。采用育苗移栽的方法,先将种子播种于装有灭菌基质的育秧盘内,后置 30℃ -35℃,湿度为 85% 以上的室内进暗化出苗,出苗后置 28℃ -30℃、16/8h 光周期,70% 以上相对湿度的温室中进行培育,在秧龄 15d 时移栽。移栽定植后第 3d 进行灌根处理、30d 后进行叶面喷雾。灌根处理菌液浓度为 5×10^7 CFU/ml,每钵苗用量为 25ml,缓慢浇灌于水稻根部。喷雾处理菌液浓度为 5×10^7 CFU/ml,按照 0.01% 的终浓度加入表面活性剂 Tween-20,均匀喷雾于水稻叶片。对照采用清水处理。生防菌叶面喷雾处理 15d 后进行纹枯病病原菌挑战接种处理,在水稻每两张叶片的叶鞘处放置水稻纹枯病菌核,其上方用脱脂棉覆盖,并用封口膜捆绑固定,同时定期用灭菌水对植株以及整间温室喷雾,从而来保证室内相对湿度 90% 左右。接种病原菌 20d 后调查病害严重度并计算生防效果。水稻纹枯病的分级标准:0 级,无病症;1 级,基部叶片、叶鞘发病;2 级,倒三叶以下各叶鞘或叶片发病;3 级,倒二叶以下各叶鞘或叶片发病;4 级,剑叶叶鞘或叶片发病。

[0037] 病害严重度 = Σ (各级病株数 × 级值) / (调查总株数 × 最高级值) × 100% ;

[0038] 防治效果 = (对照组病害严重度 - 处理组病害严重度) / 对照组病害严重度 × 100% 。

[0039] 在病原菌接种 20d 后的调查结果显示,生防菌剂 1LN2 对水稻纹枯病的生物防治效果(以下简称防效)达到 60.25% (表 1)。

[0040] 表 1 病原菌接种 20d 后对水稻纹枯病的温室防效

[0041]

处理	病害严重度	生防效果 (%)
1LN2	9.35±1.87*	60.25*
CK(清水)	23.52±0.75	---

[0042] 注:数值为平均值±标准误,*P≤0.05表示与CK(清水)组相比,处理组具有显著性差异。

[0043] 2、温室促生试验

[0044] 将稻种用 2% 的次氯酸钠溶液对种子进行消毒 15 分钟,清水冲洗 3-4 次后浸泡置于 30℃ 恒温箱中 48h 后拿出,然后用清水冲洗后将吸足水的种子置于 35-38℃ 的室内用纱布覆盖进行高温保湿催芽至破胸,破胸后置阴凉处摊晾炼芽 4h-8h,待种子内湿外干不粘连即可进行播种。促生试验中采用直播的方法,将种子播到装有灭菌土的营养钵中,播后调节室内温度至 28℃-30℃、16/8h 光周期,相对湿度 70% 以上,3d 后进行灌根处理,灌根处理菌液浓度为 5×10^7 CFU/ml,每钵苗用量为 25ml,缓慢浇灌于水稻根部。对照采用清水处理。30d 后将稻苗小心拔出,用水枪冲净泥土,测量其株高、茎基宽、根长、鲜重和干重。

[0045] 生物量的增加计算公式如下:

[0046]

$$\text{生物量增加} = \frac{\text{处理组干重} - \text{对照组干重}}{\text{对照组干重}} \times 100\%$$

[0047] 温室条件下,生防菌剂 1LN2 处理 30d 后,处理间水稻秧苗的株高、茎基宽、根长、鲜重和干重等指标上与对照之间具有显著性差异,生物量的增加达到 25.89% (表 2)。

[0048] 表 2 生防菌剂 1LN2 处理后 30 天对水稻秧苗的温室促生效果

[0049]

处理	株高 (cm)	茎基宽 (cm/株)	根长 (cm)	鲜重 (g/株)	干重 (g/株)	生物量的增加 (%)
1LN2	24.57±0.75*	0.529±0.016*	22.04±2.57*	0.815±0.056*	0.141±0.016*	25.89*

[0050]

CK(清水)	19.91±1.66	0.419±0.021	14.88±1.27	0.617±0.032	0.112±0.007	---
--------	------------	-------------	------------	-------------	-------------	-----

[0051] 注:数值为平均值±标准误,*P≤0.05表示与CK(清水)组相比,处理组具有显著性差异。

[0052] 实施例 3 大田防效实验

[0053] 2012 年 6 月在江苏省太仓市科教新城欣科农场进行大田防效试验。供试品种为南粳 46 号 (对纹枯病高感),种植方式为机械栽插,种植密度为 19000 穴/667m²。试验设 3 个处理,3 次重复,共 9 个小区,每小区面积为 42m²,采用随机区组设排列,四周及小区之间均设有田埂和保护行。在 8 月底进行第一次生防菌处理,之后每隔 10d 喷施一次,整个水稻共防治 3 次。生防菌剂处理喷施用量为 2L/667m²;常规对照为井冈霉素腊芽杆菌,喷使用

量为 60g/667m²;空白对照为清水对照。每小区固定 5 点,每点取相连 5 穴,共调查 25 穴,每次用药前一天进行病情指数调查。喷施方法为采用手动喷雾器均匀粗喷雾至稻丛基部。生防菌剂喷施时均加入终浓度为 0.01% 的表面活性剂 Tween-20。试验全部采用标准的田间常规管理模式,并且不再使用其他杀菌剂。

[0054] 水稻纹枯病的分级标准:0 级,无病症;1 级,基部叶片、叶鞘发病;2 级,倒三叶以下各叶鞘或叶片发病;3 级,倒二叶以下各叶鞘或叶片发病;4 级,剑叶叶鞘或叶片发病。

[0055] 病害严重度 = Σ (各级病株数 × 级值) / (调查总株数 × 最高级值) × 100% ;

[0056] 防治效果 = [(对照组病害严重度 - 对照组基数病害严重度) - (处理组病害严重度 - 各处理基数病害严重度)] / (对照组病害严重度 - 对照组基数病害严重度) × 100% ;

[0057] 在生防菌剂 1LN2 初次喷雾后第 10、20 和 30d,生防菌剂 1LN2 处理的病害严重度均低于清水对照。生防菌剂 1LN2 的防效分别达到 29.01%、50.24%、50.31%,其中在喷雾处理后的第 30d 生防菌剂 1LN2 处理组防效显著高于常规化学药剂处理组(表 3)。

[0058] 表 3 生防菌剂 1LN2 对水稻纹枯病的大田防效

[0059]

	10d		20d		30d	
[0060]						
处理	病害严重度 (%)	生防效果 (%)	病害严重度 (%)	生防效果 (%)	病害严重度 (%)	生防效果 (%)
1LN2	18.92±3.73*	29.01*	13.76±1.42*	50.24*	13.53±1.50*	50.31*
化学药剂	13.89±3.21*	47.88*	13.35±3.32*	51.72*	14.13±2.17*	48.11*
CK (清水)	26.65±2.64	---	27.65±2.47	---	27.23±1.78	---

[0061] 注:数值为平均值 ± 标准误,*P ≤ 0.05 表示与 CK(清水)组相比,处理组具有显著性差异。

[0062] 在水稻收割前对各小区水稻进行测产,并调查穗数、每穗粒数、实粒数、结实率、千粒重,计算理论产量和实收产量。

[0063] 理论产量 = 每亩有效穗 × 每穗粒数 × 结实率 × 千粒重 / 1000 × 1000

[0064] 发现生防菌剂 1LN2 处理的水稻与常规化学药剂和清水对照相比,各项指标都有一定提高(表 4),其中,生防菌剂 1LN2 处理后实收亩产达到 656.53kg,显著高于常规化学药剂和清水对照。与常规化学药剂相比产量增幅达 7.1%。

[0065] 表 4 生防菌剂 1LN2 对水稻大田产量的影响

[0066]

处理	有效穗数 (万/亩)	每穗粒数 (粒)	实粒数(粒)	结实率 (%)	千粒重(g)	理论产量 (kg/亩)	实收产量 (kg/亩)
1LN2	21.56	138.4±8.5	126.6±3.2*	91.5	26.23±1.12*	715.94	656.53±29.27*
化学药剂	21.44	135.6±5.3	123.2±2.9*	90.9	25.13±1.31*	663.79	612.89±35.66*
CK(清水)	20.63	130.6±4.9	115.5±4.1	88.4	24.33±0.85	579.73	532.13±30.26

[0067] 注:数值为平均值±标准误,* $P \leq 0.05$ 表示与CK(清水)组相比,处理组具有显著性差异。

[0068] 测定稻米的部分品质指标,发现生防菌剂1LN2处理的稻米在品质指标较常规化学药剂和清水对照均有所提高(表5),其中蛋白质含量达到9.09%、直链淀粉含量12.61%,胶稠度达到81.00mm,略高于空白对照,与常规化学药剂相比达到显著水平。

[0069] 表5 稻米的部分品质指标测定

[0070]

处理	蛋白质含量(%)	直链淀粉含量(%)	胶稠度(mm)
1LN2	9.09±0.06*	12.61±0.14*	81.00±1.50
化学药剂	8.27±0.12	14.66±0.21	77.50±1.00*
CK	8.25±0.16	14.23±0.09	80.50±0.50

[0071] 注:数值为平均值±标准误,* $P \leq 0.05$ 表示与CK(清水)组相比,处理组具有显著性差异。

[0072] 以上对本发明具体实施方式的描述并不限制本发明,本领域技术人员可以根据本发明作出各种改变或变形,只要不脱离本发明的精神,均应属于本发明所附权利要求的范围。

[0073]

SEQUENCE LISTING

<110> 江苏省安丰生物源农药工程中心有限公司

<120> 一种防治水稻纹枯病的菌株 ILN2 及其应用

<130> 2015

<160> 4

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 21

<212> DNA

<213> 引物 U8-27

<400> 1

agagtttgat cactggetca g
21

<210> 2

<211> 22

<212> DNA

<213> 引物 L1494-1514

<400> 2

ctacggagta ccttgttacg ac
22

<210> 3

<211> 1208

<212> DNA

<213> 假单胞菌属 (*Pseudomonas* sp.) ILN2 的 16S rDNA 基因 (正义链)

<400> 3

ggctaccatg cagtcgagcg gtagagagaa gcttgcttct cttgagagcg gcgacgggt 60

gagtaatgcc taggaatctg cctggtagtg ggggataacg ttcggaaacg gacgctaata 120

ccgcatacgt cctacgggag aaagcagggg accttegggc cttgcgctat cagatgagcc 180

[0074]

taggtcggat tagctagttg gtagagtaat ggctcaccaa ggcgacgatc cgtaactggt	240
ctgagaggat gatcagtcac actggaactg agacacggtc cagaactccta cgggaggcag	300
cagtggggaa tattggacaa tgggcgaaag cctgatccag ccatgcccgc tgtgtgaaga	360
aggtcttcgg attgtaaage actttaagtt gggaggaagg gttgtagatt aatactctgc	420
aattttgacg ttaccgacag aataagcacc ggctaactct gtgccagcag ccgcggtaat	480
acagaggggtg caagcgtaa tcggaattac tgggcgtaaa gcgcgcgtag gtggtttggt	540
aagtgggatg tgaatcccc gggetcaacc tgggaactgc attcaaaact gactgactag	600
agtatggtag aggggtggtg aatttcctgt gtagcggtag aatgcgtaga tataggaagg	660
aacaccagtg gcgaaggcga ccacctggac taatactgac actgaggtgc gaaagegtg	720
ggagcaaaaca ggattagata ccctggtagt ccacgccgta aacgatgtca actagccgtt	780
ggaagccttg agcttttagt ggcgcagcta acgcattaag ttgaccgcct ggggagtacg	840
gcccaaggt taaaactcaa atgaatttga cgggggcccg cacaagcggg ggagcatgtg	900
gttaattcg aagcaacgcg aagaacctta ccaggecttg acatcaaatg aactttctag	960
agatagattg gtgccttcgg gaacatgaga caaggtgctg catgetgtcg tcagctcgtg	1020
tcgtgagatg ttgggttaag tccgtacgag cgcaactcta tgtctagtac cagcacgtca	1080
tggtggcaact ctagaactgc ggtgacaaat cgaggagtgg gatgacgtca gtcacatgt	1140
ctaccgctgg ctaaccacgt gtacacatgg ttcgttacga ggetgccagc tcgcgaagg	1200
tggagctc	1208
<210> 4	
<211> 1227	
<212> DNA	
<213> 假单胞菌属 (Pseudomonas sp.) 1LN2 的 16S rDNA 基因 (反义链)	
<400> 4	
agctcaaccg tggtagctc ctcccgaagg ttagactagc taettctggt gcaacceact	60

[0075]

cccatggtgt gacgggcggt gtgtacaagg cccgggaacg tattcaaccg gacatttga 120
ttegegatta ctacgcatte cgacttcacg cagtegagtt gcagactgcg atccggacta 180
cgatcggttt tatgggatta getccaecte gcggettggc aacctctgt accgaccatt 240
gtagcacgtg tgtagcccag gecgtaaggg ccatgatgac ttgacgtcat ccccacette 300
ctccggtttg tcaceggcag tctctttaga gtgcccacca tgacgtgctg gtaactaagg 360
acaagggttg cgctcgttac gggacttaac ccaacatctc acgacacgag ctgacgacag 420
ccatgcagca cctgtctcaa tgttcccga ggcaccaate tatctctaga aagttcattg 480
gatgtcaagg cctggtaagg ttcttcgctg tcttcgaat taaaccacat gctccaccg 540
ttgtcggggc ccccgtaaat tcatttgagt tttaaccttg cggcctact ccccaggcgg 600
tcaacttaat gcgttagctg cgcactaaa agctcaaggc ttecaacggc tagttgacat 660
cgtttacggc gtggactacc agggtatcta atcctgtttg ctcccacgc tttegcacct 720
cagtgtcagt attagtccag gtggtcctt tcgccactgg tgttccttcc tatactacg 780
catttcaccg ctacacagga aattccacca cctctacea tactctagtc agtcagtttt 840
gaatgcagtt cccaggttga gccgggggat ttacatcca acttaacaaa ccacctacgc 900
gcgctttacg cccagtaatt cggattaacg cttgcaccct ctgtattacc gegctgctg 960
gcacagagtt agccgtgctt attcttctg gtaacgtcaa aattgcagag tattaatcta 1020
caaccttctc ctcccactt aaagtgttt acaatccgaa gaccttctc acacacgcgc 1080
atgactggat cagcttcgac catgtccaat atcccact gctgctccc gtagagtctg 1140
acgtgttctc agttcagtgt gactgatcat cctctcagaa cagtacgac gctcgtggt 1200
gagcatttac ctccaact agetatc 1227

[0001]

SEQUENCE LISTING

<110> 江苏省安丰生物源农药工程中心有限公司

<120> 一种防治水稻纹枯病的菌株 ILN2 及其应用

<130> 2015

<160> 4

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 21

<212> DNA

<213> 引物 U8-27

<400> 1

agagtttgat cactggctca g

21

<210> 2

<211> 22

<212> DNA

<213> 引物 L1494-1514

<400> 2

ctacggagta cettgttacg ac

22

<210> 3

<211> 1208

<212> DNA

<213> 假单胞菌属 (Pseudomonas sp.) ILN2 的 16S rDNA 基因 (正义链)

<400> 3

ggctaccatg cagtcgagcg gtagagagaa gcttgcttct cttgagagcg gcgacgggt 60

gagtaatgcc taggaatctg cctggtagtg ggggataacg ttcggaaacg gacgctaata 120

ccgcatacgt cctacgggag aaagcagggg accttegggc cttgcgctat cagatgagcc 180

[0002]

taggtcggat tagctagttg gtaggtaat ggctcacc	240
ctgagaggat gatcagtcac actggaactg agacacgg	300
cagtggggaa tattggacaa tgggcgaaag cctgatcc	360
aggctctcgg attgtaaagc actttaagtt gggagga	420
aattttgacg ttaccgacag aataagcacc ggctaact	480
acagaggggtg caagcgtaa tcggaattac tgggcgta	540
aagttggatg tgaaatcccc gggctcaacc tgggaact	600
agtatggtag aggggtgtgg aatttcctgt gtagcgg	660
aacaccagtg gcgaaggcga ccacctggac taatactg	720
ggagcaaaca ggattagata ccttggtagt ccacgcct	780
ggaagccttg agcttttagt ggcgcagcta acgcatta	840
gccgcaaggt taaaactcaa atgaatttga cgggggccc	900
gtttaattcg aagcaacgag aagaacctta ccaggcctt	960
agatagattg gtgccttcgg gaacatgaga caaggtgct	1020
tcgtgagatg ttgggttaag tccgtacgag cgcaacteta	1080
tggtggaact ctagaactgc ggtgacaaat cgaggagtgg	1140
ctaaccgctgg ctaaccaegt getacaatgg ttcgttacga	1200
tggagctc	1208
<210> 4	
<211> 1227	
<212> DNA	
<213> 假单胞菌属 (Pseudomonas sp.) 1LN2 的 16S rDNA 基因 (反义链)	
<400> 4	
agctcaaccg tggtagcgtc ctcccgaagg ttagactagc	60

[0003]

cccattggtgt gacgggcggt ggtacaagg cccgggaacg tattcaaccgc gacattctga	120
ttcgcgatta ctacgcatte cgacttcacg cagtcagatt gcagactgcg atccggacta	180
cgatcggttt tatgggatta gctccacete gcggettggc aacctctgt accgaccatt	240
gtagcacgtg ttagcccag gccgtaaggg ccatgatgac ttgacgtcat cccacette	300
ctccggtttg tcaccggcag tctcttaga gtgccacca tgacgtgctg gtaactaagg	360
acaagggttg cgctcgttac gggactaac ccaacatctc acgacacgag ctgacgacag	420
ccatgcagca cctgtctcaa tgttcccga ggcaccaatc tctcttaga aagttcattg	480
gatgtcaagg cctggtaagg ttcttcgctg tcttcgaat taaaccacat gctccaccgc	540
ttgtgegggc ccccgtaaat tctttgagt tttaaccttg cgccgtaact cccagggcg	600
tcaacttaat gcttagctg cgcactaaa agctcaaggc tccaacggc tagttgacat	660
cgtttacggt gtggactacc aggtatcta atctgtttg ctcccacgc tttgcacct	720
cagtgtcagt attagtccag gtggtgctt tgcacctgg tttctctcc tatactacg	780
catttcaccg ctacacagga aattccacca cctctacca tactctagtc agtcagtttt	840
gaatgcagtt cccaggttga gccggggat ttcacatcca acttaacaaa ccacctacgc	900
gcgctttacg cccagtaatt ccgattaacg cttgcaccct ctgtattacc gggctgctg	960
gcacagagtt agccgtgctt attctgtcg gtaacgtcaa aattgcagag tattaatcta	1020
caacccttc ctccaactt aaagtcttt acaatccgaa gacctcttc acacacgcg	1080
atgactggat cagcttcgce catgtccaat atccccact gctgctccc gtagagtctg	1140
acgtgtcttc agttcagtg gactgatcat cctctcagaa cagtacgac gtcgctgg	1200
gagcatttac ctccaact agetate	1227



图 1