



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103184184 A

(43) 申请公布日 2013. 07. 03

(21) 申请号 201310144060. 6

A01N 63/02 (2006. 01)

(22) 申请日 2013. 04. 24

A01P 3/00 (2006. 01)

(83) 生物保藏信息

C12R 1/465 (2006. 01)

CGMCC No. 7504 2013. 04. 22

(71) 申请人 牛贍光

地址 250014 山东省济南市历下区文化东路
42 号

申请人 李鹏

(72) 发明人 牛贍光 李鹏 王清海 刘幸红

李泉涌 段春华

(74) 专利代理机构 济南诚智商标专利事务所有

限公司 37105

代理人 韩百翠

(51) Int. Cl.

C12N 1/20 (2006. 01)

A01N 63/00 (2006. 01)

权利要求书1页 说明书6页

序列表2页

(54) 发明名称

一株微黄白链霉菌及其应用

(57) 摘要

本发明公开了一株微黄白链霉菌及其应用，属于生物防治植物病害领域。该菌株为微黄白链霉菌(*Streptomyces albidoflavus*) 菌株 L44，保藏编号为 CGMCC No. 7504。本发明还公开了含有上述菌株的生物防治制剂及其制备方法。本发明的微黄白链霉菌菌株具有生长速度快、产孢量大、作用谱广、抗逆性强，在植物根际能够快速大量定殖等特点，因此具有良好的应用前景。由该微黄白链霉菌制备的生物防治制剂，不仅能够高效的防治植物土传病害，还能有效提高作物产量，是一种极具应用前景的生物防治制剂。该微生物制剂可以作为生物农药或生物肥料，防治多种土传植物病害，尤其是冬枣黑斑病。

1. 微黄白链霉菌(*Streptomyces albidoflavus*)菌株 L44, 所述菌株的保藏编号为 CGMCC No. 7504。

2. 权利要求 1 所述的微黄白链霉菌(*Streptomyces albidoflavus*)菌株 L44 在防治植物土传病害中的用途。

3. 如权利要求 2 所述的用途, 其特征是, 所述植物土传病害为冬枣黑斑病、黄瓜炭疽病、核桃炭疽病、苹果炭疽病、葡萄炭疽病、葡萄白腐病、西瓜炭疽病、板栗枝枯病、石榴干腐病中的一种或几种。

4. 一种生物防治制剂, 包括权利要求 1 所述的微黄白链霉菌(*Streptomyces albidoflavus*)菌株 L44。

5. 一种制备权利要求 4 所述的生物防治制剂的方法, 其特征是, 包括以下步骤:

(1) 制备微黄白链霉菌菌株 L44 的种子液;

(2) 将步骤(1)制备的种子液接种到固体培养基中, 28-30℃下恒温培养;

(3) 将步骤(2)培养的培养物加入无菌水混合, 过滤, 将滤液接种至大量发酵培养基, 在恒温 28-30℃、相对湿度 85% 以上的发酵室中进行发酵培养。

6. 如权利要求 5 所述的制备方法, 其特征是,

(1) 将微黄白链霉菌菌株 L44 的孢子移植到 PDB 液体培养基或者小米液体培养基中, 28-30℃摇床振荡培养 3 ~ 5d 得到种子液;

(2) 将步骤(1)制备的种子液按质量比 10% 的比例接种到固体培养基中, 28-30℃下振荡培养 3 ~ 5d;

(3) 将步骤(2)培养的培养物加入其质量 15 倍的无菌水混合, 过滤, 将滤液按体积比 1 : 6 的比例接种至大量发酵培养基, 室温 28-30℃、相对湿度 85% 以上的发酵室中发酵培养 10 ~ 12d。

所述步骤(1)中的 PDB 液体培养基为: 去皮马铃薯 0.2g/mL, 葡萄糖 0.02g/mL, 其余为蒸馏水; 所述小米培养基为: 小米 10g, 加入到 1000mL 蒸馏水中煮沸 30min 后过滤, 加入葡萄糖 10g, 氯化钠 2g, 蛋白胨 3g, 碳酸钙 2g, 蒸馏水补足至 1000ml, pH 调至 7.2 ~ 7.4;

所述步骤(2)中的固体培养基由固料和无机盐溶液组成, 所述固料和无机盐溶液的质量比为 1 : 1; 所述固料由质量比为 40 : 60 的麸皮和玉米秸秆粉组成; 按质量百分比计, 所述无机盐溶液包含 KNO_3 0.7%, K_2HPO_4 0.2%, NaCl 0.15%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.15%, FeSO_4 0.003%, 其余为水。

所述步骤(3)中的大量发酵培养基同固体培养基。

7. 权利要求 4 所述的生物防治制剂在防治植物土传病害中的用途。

8. 如权利要求 7 所述的用途, 其特征是, 所述植物土传病害为冬枣黑斑病、黄瓜炭疽病、核桃炭疽病、苹果炭疽病、葡萄炭疽病、葡萄白腐病、西瓜炭疽病、板栗枝枯病、石榴干腐病中的一种或几种。

9. 一种植物土传病害的生物防治方法, 其特征是, 向具有土传病害的植物施用权利要求 1 的微黄白链霉菌(*Streptomyces albidoflavus*)菌株 L44 或者权利要求 4 的生物防治制剂。

一株微黄白链霉菌及其应用

技术领域

[0001] 本发明属于生物防治植物病害领域。具体而言,本发明涉及一株能够高效防治植物病害的微黄白链霉菌及其用途,以及采用该微黄白链霉菌制备的生物防治制剂。

背景技术

[0002] 冬枣为中国特有的晚熟枣品种,营养丰富,含有 Vc、环磷酸腺苷、环磷酸鸟苷等,对人类多种疾病具有良好的医疗保健作用。冬枣是黄三角流域主要经济果木,也是当地的主导产业之一,发展势头迅猛,仅沾化县种植面积就达 50 万亩,产量 3 亿公斤。但近年来,由于气候及种植模式的原因,冬枣病虫害发生严重,用药量激增,冬枣品质下降,冬枣产业发展面临着技术瓶颈。冬枣黑斑病(“Dongzao” jujuba black patch)是由细极链格孢 *Alternaria tenuissima* 引起的一种果实性真菌病害,是近几年在山东、河北冬枣产区普遍发生的一类新的病害,为害日益严重。该病主要为害果实,病果率在 30% 左右,严重的在 80% 以上,造成产量、品质下降,不能贮存,严重影响果实的商品性,给枣农造成重大经济损失。因此以生物药物为主的生物防治技术是冬枣黑斑病防治的必然趋势。

[0003] 链霉菌属于原核生物界放线菌目链霉菌科,是一类菌丝体呈分枝状的好氧革兰氏阳性细菌,广泛分布在自然界的各种环境中,尤其是土壤中,因此具有很强的根际定植能力。链霉菌作为生防菌防治植物病害的机制主要有: 抗生素作用、营养竞争、空间竞争、重寄生作用以及诱导植物产生抗性等机制,链霉菌的生防作用主要是由其产生的抗生素实现的,具有高效、低残留、与环境友好等优点。现已筛选出的抗生素中,有 80% 以上是由放线菌产生,而其中的 90% 以上是由链霉菌产生。由于链霉菌是重要的天然抗生素来源的微生物类群,因此从土壤中分离具有农用活性的链霉菌是目前微生物农药开发的一个重要途径。

发明内容

[0004] 本发明的目的是提供一种用于高效防治多种植物病害的新的放线菌——微黄白链霉菌菌株 L44。该微黄白链霉菌菌株具有生长速度快、产孢量大、作用谱广、抗逆性强,在植物根际能够快速大量定殖等特点,因此具有良好的应用前景。

[0005] 本发明所提供的菌株为微黄白链霉菌(*Streptomyces albidoflavus*)L44,是从山东省潍坊市潍北地区沿海滩涂地块的土壤中分离获得的,已于 2013 年 4 月 22 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: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),保藏号为 CGMCC No. 7504。其具有以下生物学特性:(1) 在高氏合成 1 号培养基上培养时,气丝初肉色,后变暗灰色。基丝暗棕色。可溶色素微粉褐色。(2) 在淀粉培养基上培养时,气丝灰色。基丝黄褐色。无可溶色素。(3) 在纤维素培养基上培养时,气丝暗灰色。基丝无色。无可溶色素。(4) 在高氏有机 2 号培养基上培养时,气丝初肉色,后暗灰色。基丝暗棕色;可溶色素褐色。(5) 在 PDA 培养基上培养时,气丝暗灰色,粉状,有白色和乳脂色次生丛。基丝初黄色,后暗棕色。可溶色素暗棕色。产生类黑色素。孢子丝螺旋形,2—5 圈,有时 6—9 圈。孢子球形、卵圆形,表面带短刺。

[0006] 本发明微黄白链霉菌菌株 L44 的培养方法或繁殖方法包括：

[0007] (1) 普通培养保存采用高氏一号培养基, 配方为: 可溶性淀粉 20g, 硝酸钾 1g, 氯化钠 0.5g, 磷酸氢二钾 0.5g, 硫酸亚铁 0.01g, 硫酸镁 0.5g, 琼脂 20g, 蒸馏水 1000mL, pH 调至 7.2-7.4;

[0008] (2) 实验室液体培养采用小米培养基, 配方为: 小米 10g, 加入到 1000mL 蒸馏水中煮沸 30min 后过滤, 加入葡萄糖 10g, 氯化钠 2g, 蛋白胨 3g, 碳酸钙 2g, 蒸馏水补足至 1000ml, pH 调至 7.2 ~ 7.4;

[0009] (3) 固体发酵培养基: 麸皮 40g, 玉米秸秆粉 60g, 无机盐溶液 100g, 所述无机盐溶液按质量百分比计, 包含 KNO_3 0.7%, K_2HPO_4 0.2%, NaCl 0.15%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.15%, FeSO_4 0.003%, 剩余为水。先将玉米秸秆粉和麸皮搅拌均匀, 将配好的无机盐溶液倒入, 搅拌均匀。

[0010] 本发明还提供一种用于防治植物土传病害的生物防治制剂, 所述生物防治制剂包括所述的微黄白链霉菌菌株 L44。

[0011] 并且, 本发明还提供了一种用于防治植物土传病害的生物防治方法, 所述生物防治方法包括向具有土传病害的植物施用上述微黄白链霉菌菌株 L44 或者上述生物防治制剂。

[0012] 本发明也提供了上述微黄白链霉菌菌株 L44 或者上述生物防治制剂在防治植物土传病害中的用途。

[0013] 就上述生物防治制剂、生物防治方法以及用途而言, 所述植物病害可以选自冬枣黑斑病、黄瓜炭疽病、核桃炭疽病、苹果炭疽病、葡萄炭疽病、葡萄白腐病、西瓜炭疽病、板栗枝枯病、石榴干腐病等一种或几种。

[0014] 本发明所述的生物防治制剂的制备方法包括以下步骤:

[0015] (1) 制备所述微黄白链霉菌菌株 L44 的种子液;

[0016] (2) 将步骤(1) 制备的种子液接种到固体培养基中, 28-30°C 下恒温培养;

[0017] (3) 将步骤(2) 培养的培养物用无菌水按质量比 1:15 的比例混合, 过滤, 将滤液接种至大量发酵培养基, 在室温 28-30°C、相对湿度 85% 以上的发酵室中进行发酵培养。

[0018] 在本发明的一个具体实施方案中, 所述制备方法包括以下步骤:

[0019] (1) 将微黄白链霉菌菌株 L44 的孢子移植到 PDB 液体培养基或者小米液体培养基中, 28-30°C 摇床振荡培养 3 ~ 5d 得到种子液;

[0020] (2) 将步骤(1) 制备的种子液按质量比 10% 的比例接种到固体培养基中, 28-30°C 下振荡培养 3 ~ 5d;

[0021] (3) 将步骤(2) 培养的培养物用无菌水按质量比 1:15 的比例混合, 过滤, 将滤液按体积比 1:6 的比例接种至大量发酵培养基, 室温 28-30°C、相对湿度 85% 以上的发酵室中发酵培养 10 ~ 12d。

[0022] 其中, 步骤(1) 中的所述 PDB 液体培养基包含去皮马铃薯 0.2g/mL, 葡萄糖 0.02g/mL, 剩余为蒸馏水;

[0023] 其中, 步骤(2) 中的固体培养基由固料和无机盐溶液组成, 所述固料和无机盐溶液的比例为质量比 1:1; 所述固料由质量比为 40:60 的麸皮和玉米秸秆粉组成; 按质量百分比计, 所述无机盐溶液包含 KNO_3 0.7%, K_2HPO_4 0.2%, NaCl 0.15%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.15%, FeSO_4 0.003%, 剩余为水。

[0024] 所述步骤(3)中的大量发酵培养基同固体培养基。

[0025] 实验表明,本发明的微黄白链霉菌菌株具有生长速度快、产孢量大、作用谱广、抗逆性强,在植物根际能够快速大量定殖等特点,因此具有良好的应用前景。由该微黄白链霉菌制备的生物防治制剂,不仅能够高效的防治植物土传病害,还能有效提高作物产量,是一种极具应用前景的生物防治制剂。该微生物制剂可以作为生物农药或生物肥料,防治多种土传植物病害,包括冬枣黑斑病、黄瓜炭疽病、核桃炭疽病、苹果炭疽病、葡萄炭疽病、葡萄白腐病、西瓜炭疽病、板栗枝枯病、石榴干腐病等一种或几种。

具体实施方式

[0026] 下面结合具体实施例来进一步描述本发明,本发明的优点和特点将会随着描述而更为清楚。但这些实施例仅是示例性的,并不对本发明的范围构成任何限制。本领域技术人员应该理解的是,在不偏离本发明的精神和范围下可以对本发明技术方案的细节和形式进行修改或替换,但这些修改和替换均落入本发明的保护范围内。

[0027] 实施例 1

[0028] 1、微黄白链霉菌菌株 L44 的分离与纯化

[0029] 本发明的微黄白链霉菌菌株 L44 是从土壤中采用稀释平板法和平板划线法分离获得的,分离方法为:

[0030] (1)放线菌的分离:土样的采集,在山东省潍坊市潍北地区沿海滩涂地块,采用 5 点取样法,分别采集地块四周和中央深度在 10-20cm 范围内的土壤适量,等量混匀。标明采集地点、时间和采集人。称取 1g 土样于 100mL 无菌水中,置于 30℃ 摇床中 150rpm 震荡 10min,取 100 μ L 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 稀释液涂布于高氏一号培养基平板上,每个梯度涂布三个平行,在 30℃ 培养 2d 后挑取高氏一号培养基上的不同形态的微生物菌落于高氏一号培养基上进行划线,定时观察菌落生长情况。然后采用平板划线法,纯化链霉菌菌株,分别编号保存。

[0031] (2)冬枣黑斑病高效拮抗放线菌的筛选

[0032] ①初筛:采用对峙培养法,制备 PDA 平板,用打孔器在冬枣黑斑病菌菌丝边缘打取直径为 5mm 的菌饼,移植在平板中央,在四周 2cm 处接种放线菌菌株,28℃ 恒温培养,逐日观察放线菌对病原菌的抑制作用。

[0033] ②复筛:将筛选到的具有高效拮抗活性的放线菌菌株进行复筛,主要是经过耐温性、耐酸碱性、耐药性试验,筛选到耐性较好的放线菌菌株,进行盆栽防治试验和田间试验。

[0034] 本发明人通过大量筛选工作得到一株能够高效防治多种植物病害的微黄白链霉菌菌株 L44。实验证明,该微黄白链霉菌原粉在防治冬枣黑斑病显示出非常高效的防治效果,使得农作物显著增产。因而,本发明的微黄白链霉菌是具有广泛应用前景的微黄白链霉菌新菌株,可以用于制备防治多种植物病害的生物防治制剂。

[0035] 2、菌株鉴定

[0036] (1)微生物学特性:在高氏合成 1 号培养基上培养时,气丝初肉色,后变暗灰色。基丝暗棕色。可溶色素微粉褐色。在淀粉培养基上培养时,气丝灰色。基丝黄褐色。无可溶色素。在纤维素培养基上培养时,气丝暗灰色。基丝无色。无可溶色素。在高氏有机 2 号培养基上培养时,气丝初肉色,后暗灰色。基丝暗棕色。可溶色素褐色。在 PDA 培养基上培养

时,气丝暗灰色,粉状,有白色和乳脂色次生丛。基丝初黄色,后暗棕色。可溶色素暗棕色。产生类黑色素。孢子丝螺旋形,2—5圈,有时6—9圈。孢子球形、卵圆形,表面带短刺。

[0037] (2) 分子生物学特性

[0038] 该菌株的 16s rDNA 基因序列测定结果如下(SEQ-1):

[0039] TGCTTACCATGCAAGTCGAACGATGAACCGCTTTCGGGCGGGGATTAGTGGCGA ACGGGTGAGTAACA
CGTGGGCAATCTGCCCTGCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAAACG GGGTCTAATACCGGATATGACCGTCTGCCGCAT
GGTGGATGGTGAAAGCTCCGGCGG TGCAGGATGAGCCCGCGGCCTATCAGCTTGTGGTGAGGTAGTGGCTCACC
AAGGCG ACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCC CAGACTCCTACGG
GAGGCAGCAGTGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAAGCCTGATG CAGCGACGCCCGTGAGGGATGACGGCCTTC
GGGTTGTAAACCTCTTTCAGCAGGA AGAAGCGAAAGTGACGGTACCTGCAGAAGAAGCGCCGGCTAACTACGTGC
CAGCAG CCGCGGTAATACGTAGGGCGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGT AGGCGGCTTGT
CACGTCGGTTGTGAAAGCCCGGGCTTAACCCCGGGTCTGCAGTCG ATACGGGCAGGCTAGAGTTCGGTAGGGGAG
ATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAA TGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCC
GATACTGA CGCTGAGGAGGAAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCC GTAAACGGTG
GGCACTAGGTGTGGGCAACATTCCACGTTGTCCGTGCCGACGCTAAC GCATTAAGTGCCCCGCCTGGGGAGTACGG
CCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGA CGGGGGCCCGCACAAGCGGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCAACG
CGAAGAAC CTTACCAAGGCTTGACATACCCGGAACGCTCTGGAGACAGGCGCCCCCTTGTGGTC GGTGTACAGG
TGGTGCATGGCTGTGTCGCTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTC CCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCCCGTG
TTGCCAGCAGGCCCTTGTGGTGTGGGGA CTCACGGGAGACCGCCGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACG
TCAAGTCAT CATGCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTGCTACAATGGCCGGTACAATGAGCTGCG ATACCGTG
AGGTGGAGCGAATCTCAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGGGGTCTGC AACTCGACCCCATGAAGTCGGAGTCGC
TAGTAATCGCAGATCAGCATTGCTGCGGTGA ATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTACGAAAG
TCGGTAACACCC GAAGCCGGTGGCCCAACCCCTTGTGGGAGGAGC

[0040] 实施例 2

[0041] 1、微黄白链霉菌(*S. albido flavus*) 菌株 L44 发酵过程

[0042] 小米液体培养基配方为:小米 10g,加入到 1000mL 蒸馏水中煮沸 30min 后过滤,加入葡萄糖 10g,氯化钠 2g,蛋白胨 3g,碳酸钙 2g,蒸馏水补足至 1000ml,pH 调至 7.2~7.4。

[0043] 固体培养基(大量发酵培养基)配方为(质量百分含量):

[0044] 固料:麸皮 40%,玉米秸秆粉 60%,

[0045] 无机盐溶液: KNO_3 0.7%, K_2HPO_4 0.2%, NaCl 0.15%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.15%, FeSO_4 0.003%,
剩余为水。

[0046] 固液比为 1:1 (质量比)。

[0047] 微黄白链霉菌(*S. albido flavus*) L44 大量固体发酵过程:

[0048] ①菌种种子液培养:将微黄白链霉菌菌株 L44 从试管斜面中挑取少量放线菌,移至小米液体培养基中,30℃摇床振荡培养 3~5d,此为种子液。

[0049] ②固体生产菌种的培养:将种子液按 10% 的比例接种到固体培养基(500mL 三角瓶)中,30℃恒温培养 3~5d,中间多次振荡。

[0050] ③大量固体发酵:将②中固体培养的培养物用无菌水按 1:15 比例稀释,并用灭菌纱布过滤,出去粗渣,即为生产菌液,将接种菌液按体积比 1:6 接种比例接种于大量发酵培

培养基。将接种的原料置于发酵室(30℃和相对湿度 85% 以上)中发酵培养 10 ~ 12d,即可得到链霉菌原粉。活性菌达到 12 亿 / 克。

[0051] 实施例 3 微黄白链霉菌(*S. albedo flavus*)菌株 L44 对冬枣黑斑病室内效果验证

[0052] 1. 实验方法

[0053] 采用平板对峙培养法,将供试的冬枣黑斑病菌菌饼(5mm)移至平板中央,四周 2cm 处接种微黄白链霉菌 L44 菌株,置 27℃生化培养箱培养,每个处理重复 3 次。待对照菌丝长满平板时,采用十字交叉法测量菌落直径、抑菌带直径,计算平均值和相对抑制率。

[0054] 2. 结果

[0055] 由表 1 可以看出,微黄白链霉菌 L44 对冬枣黑斑病菌菌丝生长均具有较强的抑制作用,抑菌带直径为 15.31mm,菌丝生长抑制率为 86.22%。

[0056] 表 1. L44 对冬枣黑斑病菌室内抑菌活性测定

[0057]

供试菌株	抑菌带 (mm)	抑制率 (%)
冬枣黑斑病菌	15.31±1.62	86.22±0.68

[0058] 实施例 4 微黄白链霉菌(*S. albidoflavus*)L44 可湿性粉剂对冬枣黑斑病田间效果验证

[0059] 本实施例提供了微黄白链霉菌(*S. albidoflavus*)L44 可湿性粉剂针对冬枣黑斑病的相关实验。

[0060] 1.1 供试药剂

[0061] 微黄白链霉菌(*S. albidoflavus*)L44 可湿性粉剂;康吉(山东省泰诺药业有限公司提供)。

[0062] 微黄白链霉菌 L44 可湿性粉剂的配方(重量比):实施例 2 的原菌粉 42%,CMC0.5%,拉开粉 3%,十二烷基磺酸钠 8%,葡萄糖 2%,白炭黑 1%,其余为凹凸棒土。该可湿性粉剂的菌活为 5 亿 / 克。

[0063] 1.2 试验设计

[0064] 试验共设 5 个处理,其中微黄白链霉菌(*S. albidoflavus*)L44 可湿性粉剂设置 3 个浓度,分别为 400 倍、600 倍、800 倍。对照药剂稀释 750 倍,清水对照,每个处理设 3 次重复,共 15 个小区。每小区固定成龄树 2 株。本试验用同样的方法在冬枣黑斑病部分果实发病时开始施药,以后每隔 5d 施药一次,共计 3 次。试验采用背负式喷雾器,施药时对整株均匀喷雾,以不流淌药液为准,试验期间水肥管理及农事操作正常进行。试验期间的日平均温度为 30.9℃,相对湿度为 68%,东南风 1 级。土壤为沙壤土,肥沃,肥水充足。

[0065] 1.3 调查方法

[0066] 在打药前调查病情基数,并于当日施药,施药后 5 天,10 天和 15 天各调查一次,整个试验调查 4 次。每小区 2 株均调查,每株分左右两个方向调查 2 个枝条的全部果实,记录总果数、病果数、病斑数。分别计算各处理小区的防治效果。用邓肯氏新复极差法对试验数据进行统计分析。在施药期间,观察各处理对冬枣有无药害产生。

[0067] 分级方法:

[0068] 0 级:无病斑;

- [0069] 1级:病斑面积占整个果实面积5%以下;
 [0070] 3级:病斑面积占整个果实面积6%~10%;
 [0071] 5级:病斑面积占整个果实面积11%~20%;
 [0072] 7级:病斑面积占整个果实面积20%以上。
 [0073] 病情指数及防治效果的计算方法为:
 [0074]

$$\text{病情指数} = \left[\frac{\sum (\text{各级病果数} \times \text{相对级数值})}{\text{调查总果数} \times 7} \right] \times 100$$

[0075]

$$\text{防治效果}(\%) = 1 - \frac{\text{对照药前病情指数} \times \text{处理药后病情指数}}{\text{对照药后病情指数} \times \text{处理药前病情指数}} \times 100$$

[0076] 2. 结果与分析

[0077] 2.1 安全性分析

[0078] 在试验过程中,各处理区冬枣叶、果实均正常,未产生药害症状,安全性较好。2.2 防治效果

[0079] 表2 各处理对冬枣黑斑病防治效果

[0080]

处理	药前病情指数 (%)	第一次施药后 5d		第二次施药后 5d		第三次施药后 5d	
		病情指数 (%)	防治效果 (%)	病情指数 (%)	防治效果 (%)	病情指数 (%)	防治效果 (%)
处理 1	7.98	5.4	71.43a	4.88	76.86a	4.33	82.47a
处理 2	8.67	5.62	67.69a	5.5	72.85a	4.18	80.92a
处理 3	9.2	6.84	58.27b	5.95	64.26b	4.6	77.29b
对照药剂	7.81	5.63	70.84a	5.99	70.38a	6.12	69.58c
CK	6.22	9.38	—	10.68	—	12.87	—

[0081]

[0082] 注:处理 1-3 分别为微黄白链霉菌(*S. albidoflavus*)L44 可湿性粉剂 400 倍、600 倍和 800 倍稀释,表中不同字母表示经过 Duncan 多重比较后差异显著($P < 0.05$)

[0083] 从冬枣病情指数和防治效果来看,本发明的微黄白链霉菌(*S. albidoflavus*)L44 可湿性粉剂对冬枣黑斑病具有较好的防治效果,稀释 400 倍、600 倍第一施药后,与对照药剂防治效果在 $P < 0.05$ 水平上显著性差异,第三次施药后微黄白链霉菌(*S. albidoflavus*)L44 可湿性粉剂三个处理浓度防治效果均高于对照药剂,其中 400 倍、600 倍稀释处理,防治效果可达 80% 以上。由此可见本发明的微黄白链霉菌(*S. albidoflavus*)L44 可湿性粉剂防治的持效期要好于对照药剂。

[0001]

SEQUENCE LISTING

<110> 牛贍光; 李鹏

<120> 一株微黄白链霉菌及其应用

<130> 0

<160> 1

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 1399

<212> DNA

<213> 微黄白链霉菌菌株 L44 的 16s rDNA 基因序列

<400> 1

```

tgettaccat gcaagtcgaa cgatgaaccg cttcgggcg gggattagt gcaaacgggt      60
gagtaacacg tgggcaatct gccctgcact ctgggacaag ccctggaaac ggggtctaat      120
accggatatg accgtctgcc gcatggtgga tgggtgtaaag ctccggcggg gcaggatgag      180
cccgcggcct atcagcttgt tgggtaggta gtggetcacc aaggcgacga cgggtagccg      240
gcctgagagg gcgaccggcc aacttgggac tgagacacgg cccagactcc tacgggaggc      300
agcagtgggg aatattgcac aatgggcgaa agcctgatgc agcgacgccg cgtgagggat      360
gacggccttc gggttgtaa cctcttcag cagggaagaa gcgaaagtga cggtagctgc      420
agaagaagcg cgggctaact acgtgccagc agcccgcgta atacgtaggg cgcaagcgtt      480
gtccggaatt attgggcgta aagagctcgt aggcggcttg tcacgtcggg tgtgaaagcc      540
cggggcttaa cccccggctc gcagtcgata cgggcaggct agagttcggg aggggagatc      600
ggaattcctg gtgtagcggg gaaatgcgca gatatcagga ggaacaccgg tggcgaagcc      660
ggatctctgg gccgatactg acgtgagga ggaaagcgtg gggagcgaac aggattagat      720
accctgtag tccacgccgt aaacgggtgg cactaggtgt gggcaacatt ccacgttgc      780
cgtgccgcag ctaacgcatt aagtgcctcc cctggggagt acggccgcaa ggctaaaact      840

```

[0002]

caaaggaatt gacgggggcc cgcacaagcg gcgagcatg tggcttaatt cgacgcaacg	900
cgaagaacct taccaaggct tgacatacac cggaaacgtc tggagacagg cgcccccttg	960
tggtcgggtg acaggtgggtg catggctgtc gtcagctcgt gtcgtgagat gttgggttaa	1020
gtcccgaac gagcgcaacc cttgtccctg gttgccagca ggcccttggtg gtgctgggga	1080
ctcacgggag accgccgggg tcaactcgga ggaaggtggg gacgacgtca agtcatcatg	1140
ccccttatgt cttgggtgc acacgtgcta caatggccgg tacaatgagc tgcgataccg	1200
tgaggtggag cgaatctcaa aaagccggtc tcagttcgga ttgggtctg caactgacc	1260
ccatgaagtc ggagtcgcta gtaatgcag atcagcattg ctgcggtgaa tacgttcccg	1320
ggccttgta acaccgccc tcacgtcacg aaagtcggtg acaccgaag ccggtggccc	1380
aacccttgt gggaggagc	1399