



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109762752 A

(43)申请公布日 2019.05.17

(21)申请号 201811293160.4

A01P 1/00(2006.01)

(22)申请日 2018.11.01

A01P 3/00(2006.01)

(83)生物保藏信息

C12R 1/465(2006.01)

CGMCC No. 14965 2017.11.28

(71)申请人 福建省农业科学院植物保护研究所

地址 350013 福建省福州市晋安区新店镇  
埔党村100号

(72)发明人 石姐姐 杜宜新 阮宏椿 陈福如

杨秀娟 甘林 代玉立

(74)专利代理机构 北京中济纬天专利代理有限

公司 11429

代理人 张磊

(51)Int.Cl.

C12N 1/20(2006.01)

A01N 63/02(2006.01)

权利要求书1页 说明书10页

序列表3页 附图3页

(54)发明名称

一株杀结节链霉菌菌株及其应用

(57)摘要

本发明涉及一株杀结节链霉菌菌株及其应用,杀结节链霉菌(*Streptomyces tubercidicus*)菌株7-2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.14965,保藏日期:2017年11月28日。杀结节链霉菌(*Streptomyces tubercidicus*)菌株7-2对芦笋茎枯病菌、稻瘟病菌、蘑菇褐腐病菌、大豆炭疽病菌等多种植物病原菌具有拮抗作用,其发酵液对芦笋茎枯病、稻瘟病、稻曲病、大豆炭疽病、蘑菇褐腐病的防治效果好,与杀菌剂混合后显著提高杀菌剂的防治效果。



1. 一株杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株7-2, 其特征在于: 所述杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株7-2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.14965, 保藏日期: 2017年11月28日。

2. 根据权利要求1所述的杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株7-2, 其特征在于: 该菌株的16s rRNA序列、recA基因序列、gyrB基因序列及rpoB基因序列分别如SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4所示。

3. 根据权利要求1所述的杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株7-2, 其特征在于: 该菌株从红豆杉根际周围土壤分离筛选获得。

4. 根据权利要求1所述的杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株7-2, 其特征在于: 该菌株在高氏一号培养基中气生菌丝白灰色及乳黄色, 基内菌丝酪黄色, 孢子丝直、柔曲、钩状、松散及紧密螺旋形, 孢子椭圆形, 柱形, 无可溶性色素产生。

5. 如权利要求1所述的杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株7-2在防治芦笋茎枯病、水稻稻瘟病、水稻稻曲病、大豆炭疽病、蘑菇褐腐病中的应用。

6. 一种杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株7-2发酵液的制备方法, 其特征在于: 杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株7-2以2-5%的接种量接种于ISP2液体培养基, 发酵温度为25-28℃, 转速180-200rpm, 发酵培养时间5-7d, 过滤得发酵液。

7. 一种如权利要求6制备方法所得的杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株7-2发酵液。

8. 如权利要求7所述的杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株7-2发酵液的应用, 其特征在于: 杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株7-2发酵液在防治芦笋茎枯病、水稻稻瘟病、水稻稻曲病、大豆炭疽病、蘑菇褐腐病中的应用。

9. 如权利要求8所述的杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株7-2发酵液的应用, 其特征在于: 杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株7-2发酵液在制备防治芦笋茎枯病、水稻稻瘟病、水稻稻曲病、大豆炭疽病、蘑菇褐腐病药物中的应用。

10. 如权利要求9所述的杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株7-2发酵液的应用, 其特征在于: 将杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株7-2发酵液稀释10倍后与杀菌剂混合后形成用于防治芦笋茎枯病、水稻稻瘟病、水稻稻曲病、大豆炭疽病、蘑菇褐腐病的药物。

## 一株杀结节链霉菌菌株及其应用

### 技术领域

[0001] 本发明涉及农业作物病害防治技术领域,特别是一株杀结节链霉菌菌株及其应用。

### 背景技术

[0002] 植物病害生物防治是指利用有益微生物或微生物代谢产物对植物病害进行有效防治的技术与方法。我国植物病理学家陈延熙指出:“植物病害的生物防治是在农业生态系统中调节寄主植物的微生物环境,使其利于寄主而不利于病原物或者使其对寄主与病原物的相互作用发生有利于寄主而不利于病原物的影响,从而达到防治病害的目的”。用于植物病害防治的微生物种类主要有细菌、真菌、放线菌。放线菌是土壤中一类重要的微生物,也是人们研究最早并广泛应用于农业生产的生防微生物。目前,用于病虫害生物防治的放线菌主要是链霉菌属(*Streptomyces*)。目前已筛选出10多种最具有生防价值的链霉菌,这些种类在植物病害的生物防治中起了巨大的作用。井冈霉素是我国开发的一种最成功的生物农药,它是由吸水链霉菌井冈变种产生的,对水稻纹枯病的防效高、持效期长,能够有效控制病害的发生,现已广泛用于水稻纹枯病的防治。沈凤英等分离出玫瑰黄链霉菌(*Streptomyces roseoflavus*) Men-myc-93-63拮抗菌,该菌株及其发酵液对棉花黄萎病菌、瓜类白粉病菌等多种重要的植物病原菌具有很强的抑制作用。

[0003] 植物病害生物防治是符合我国农业生产持久稳定发展要求的长期策略,获得一批高效的生防微生物资源,为生防菌菌株在生产中的应用打下坚实基础。

### 发明内容

[0004] 本发明的首要目的在于针对作物病害防治过程中杀菌剂过量使用的问题,提供一株杀结节链霉菌(*Streptomyces tubercidicus*)菌株,其对多种作物病原菌具有拮抗作用。

[0005] 本发明的另一目的在于提供上述杀结节链霉菌(*Streptomyces tubercidicus*)菌株的发酵液在防治作物病害中的应用。

[0006] 本发明的再一目的在于提供上述杀结节链霉菌(*Streptomyces tubercidicus*)菌株的发酵液与杀菌剂混合后在防治作物病害中的应用。

[0007] 本发明的目的通过如下技术方案实现:

[0008] 一株杀结节链霉菌(*Streptomyces tubercidicus*)菌株7-2,所述杀结节链霉菌(*Streptomyces tubercidicus*)菌株7-2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.14965,保藏日期:2017年11月28日。

[0009] 杀结节链霉菌(*Streptomyces tubercidicus*)菌株7-2的16s rRNA序列、recA基因序列、gyrB基因序列及rpoB基因序列分别如SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4所示。

[0010] 杀结节链霉菌(*Streptomyces tubercidicus*)菌株7-2从红豆杉根际周围土壤分离筛选获得。

[0011] 杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株7-2在高氏一号培养基中气生菌丝白灰色及乳黄色,基内菌丝酪黄色,孢子丝直、柔曲、钩状、松敞及紧密螺旋形,孢子椭圆形,柱形,无可溶性色素产生。

[0012] 杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株7-2生理生化特征为:脲化、凝固牛奶;不能水解明胶、淀粉;不能还原硝酸盐;能利用葡萄糖、乳糖、甘露糖、麦芽糖、棉籽糖等,不能利用山梨糖、山梨醇、蔗糖、鼠李糖等;能利用L-脯氨酸,不能利用L-赖氨酸、L-丙氨酸、L-苏氨酸。

[0013] 杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株7-2在防治芦笋茎枯病、水稻稻瘟病、水稻稻曲病、大豆炭疽病、蘑菇褐腐病中的应用。

[0014] 一种杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株7-2发酵液的制备方法,杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株7-2以2-5%的接种量接种于ISP2液体培养基,发酵温度为25-28℃,转速180-200rpm,发酵培养时间5-7d,过滤得发酵液。

[0015] 杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株7-2发酵液的应用,杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株7-2发酵液在防治芦笋茎枯病、水稻稻瘟病、水稻稻曲病、大豆炭疽病、蘑菇褐腐病中的应用。

[0016] 杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株7-2发酵液防治芦笋茎枯病和大豆炭疽病,分别于芦笋茎枯病发病初期、大豆炭疽病发病初期用杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株7-2发酵液(每亩用量45升),喷雾防治芦笋茎枯病和大豆炭疽病。

[0017] 杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株7-2发酵液防治稻瘟病,于水稻破口期用杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株7-2发酵液(每亩用量45升),喷雾防治稻瘟病。

[0018] 杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株7-2发酵液防治稻曲病,于水稻抽穗前10天用杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株7-2发酵液(每亩用量45升),喷雾防治稻曲病。

[0019] 杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株7-2发酵液防治双孢蘑菇褐腐病,于双孢蘑菇覆盖土之前,用杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株7-2发酵液拌覆盖土(每平方米用量1.5L),防治双孢蘑菇褐腐病。

[0020] 杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株7-2发酵液在制备防治芦笋茎枯病、水稻稻瘟病、水稻稻曲病、大豆炭疽病、蘑菇褐腐病药物中的应用。

[0021] 将杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株7-2发酵液稀释10倍后与杀菌剂混合后形成用于防治芦笋茎枯病、水稻稻瘟病、水稻稻曲病、大豆炭疽病、蘑菇褐腐病的药物。

[0022] 杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株7-2发酵液稀释10倍后用作10%苯醚甲环唑可分散粒剂的溶剂,将10%苯醚甲环唑可分散粒剂1500倍稀释。每亩混合杀菌剂的用量为45升,分别于芦笋茎枯病发病初期、大豆炭疽病发病初期喷雾防治芦笋茎枯病和大豆炭疽病。

[0023] 杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株7-2发酵液稀释10倍后用作430克/升戊唑醇悬浮剂的溶剂。每亩430克/升戊唑醇悬浮剂用量为15毫升,10倍稀释后的发酵

液用量为45升,于水稻抽穗前10天喷雾防治稻曲病。

[0024] 杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株7-2发酵液稀释10倍后用作75%三环唑可湿性粉剂的溶剂。每亩75%三环唑可湿性粉剂用量为26.7克,10倍稀释后的发酵液用量为45升,于水稻破口期喷雾防治稻瘟病。

[0025] 杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株7-2发酵液稀释10倍后用作50%咪鲜胺锰盐可湿性粉剂的溶剂。将50%咪鲜胺锰盐可湿性粉剂和稀释10倍后的杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株7-2发酵液混合形成的药剂拌双孢蘑菇覆盖土,每平方米覆盖土中50%咪鲜胺锰盐可湿性粉剂用量1.0克,稀释10倍后的链霉菌 (*Streptomyces sp.*) 菌株7-2发酵液的用量1.5L,每平方米菇床覆盖用土约25kg,防治双孢蘑菇褐腐病。

[0026] 较之现有技术而言,本发明的优点在于:杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株7-2对芦笋茎枯病菌、水稻稻瘟病菌、蘑菇褐腐病菌、大豆炭疽病菌等多种植物病原菌具有拮抗作用,其发酵液对芦笋茎枯病、稻瘟病、稻曲病、大豆炭疽病、蘑菇褐腐病的防治效果好,与杀菌剂混合后显著提高杀菌剂的防治效果。

[0027] 此外,杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株7-2是从土壤中获得,与土壤环境和谐相容,具有良好的应用前景。

## 附图说明

[0028] 图1为杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株7-2在高氏一号培养基上的培养特征。

[0029] 图2为杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株7-2与芦笋茎枯病菌、水稻稻瘟病菌、大豆炭疽病菌、蘑菇褐腐病菌的对峙培养。注:A芦笋茎枯病菌,B稻瘟病菌,C大豆炭疽病菌,D蘑菇褐腐病菌,CK对照组。

[0030] 图3为杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株7-2发酵液在离体条件下对芦笋茎枯病菌、水稻稻瘟病菌、水稻稻曲病菌、大豆炭疽病菌和蘑菇褐腐病菌的抑制效果。注:A芦笋茎枯病菌,B稻瘟病菌,C稻曲病菌,D大豆炭疽病菌,E蘑菇褐腐病菌,CK对照组。

## 具体实施方式

[0031] 下面结合说明书附图和实施例对本发明内容进行详细说明:

[0032] 实施例一:杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株7-2的分离及鉴定

[0033] 1、土壤样品的采集

[0034] 从江西井冈山采集红豆杉根际周围土样3份,去除表面的土壤,采集5-20cm深处的土样,标记后带回实验室自然风干。

[0035] 2、放线菌的分离

[0036] 采用平板稀释法进行分离。将风干土样用研钵磨碎,称取样品1g悬浮于9mL无菌水中,于40℃、180rpm震荡30min后静置5min,依次稀释10倍,分别配制成 $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ 的悬浮液,分别吸取不同浓度的悬浮液各0.1mL加入到改良的HVA培养基(加入终浓度为100-200ppm的重铬酸钾)平板上,均匀涂布后倒置于28℃培养观察,5-7天后挑取不同的单菌落划线纯化,纯化后的菌株采用甘油法保藏于-80℃冰箱。

[0037] 3、杀结节链霉菌(*Streptomyces tubercidicus*)菌株7-2的鉴定

[0038] (1)形态特征观察

[0039] 杀结节链霉菌(*Streptomyces tubercidicus*)菌株7-2在多数培养基上生长良好(表1)。光学显微镜下菌株7-2孢子丝直、柔曲、钩状、松散及紧密螺旋形,孢子椭圆形、柱形。

[0040] 表1杀结节链霉菌(*Streptomyces tubercidicus*)7-2的培养特征

[0041]

培养基	气生菌丝	基内菌丝	可溶性色素	生长情况
察氏培养基	无	荔肉白色	无	+
葡萄糖天冬素培养基	无	蚌肉白色	无	+
甘油天冬素培养基	少, 淡乳黄	乳黄色	无	+
无机盐淀粉培养基	灰色	桔绿色	无	++
ISP-2 培养基	白色	浅芥黄色	无	+++
燕麦粉培养基	灰白色	桔绿色	无	+++
高氏一号培养基	乳黄及白灰色	酪黄色	无	+++
桑塔氏培养基	白色	桂皮淡棕色	无	+++

[0042] 注:+++表示生长很好,++表示生长良好,+表示可以生长

[0043] (2)生理生化特征

[0044] 参照《链霉菌鉴定手册》中所述的方法测定杀结节链霉菌(*Streptomyces tubercidicus*)7-2的明胶液化、牛奶的凝固与胨化、淀粉水解、硝酸盐还原及碳、氮源的利用等特性,结果见表2。

[0045] 表2菌株7-2的生理生化特征

[0046]

特征	结果	特征	结果	特征	结果
<b>碳源利用:</b>		<b>碳源利用</b>		<b>碳源利用</b>	
		(续):		(续):	
葡萄糖	+	海藻糖	+	苹果酸钠	-
甘露糖	+	果糖	+	马尿酸钠	-

[0047]

甘露醇	+	木糖	-	琥珀酸钠	-
乳糖	+	核糖	+	<b>氮源利用:</b>	
半乳糖	+	菊糖	-	L-丙氨酸	-
山梨糖	-	糖原	+	L-赖氨酸	-
山梨醇	-	阿拉伯糖	-	L-苏氨酸	-
麦芽糖	+	水杨苷	-	L-脯氨酸	+
蔗糖	-	苦杏仁苷	+	硝酸盐还原	-
蜜二糖	+	赤藓醇	-	明胶液化	-
松三糖	-	肌醇	+	牛奶反应	胨化, 凝固
鼠李糖	-	甘油	+	酪氨酸酶	-
棉籽糖	+	葡萄糖酸钠	+	淀粉酶	-

\*+: 正; -: 负;

[0048] (3) 序列分析

[0049] 细菌基因组提取试剂盒提取杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 7-2 基因组 DNA 后, 分别进行 16S rRNA、recA 基因、gyrB 基因及 rpoB 基因扩增, 得到的序列全长分别为 1364bp、806bp、906bp、786bp。将所得序列提交到 GenBank 数据库进行 BLAST 比对分析得出菌株 7-2 为杀结节链霉菌。

[0050] 实施例二: 杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株 7-2 对病原菌的拮抗测定

[0051] 采用平板对峙培养法, 将杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株 7-2 对芦笋茎枯病菌、水稻稻瘟病菌、大豆炭疽病菌、蘑菇褐腐病菌进行拮抗测定。首先在 PDA 培养基靠边缘两侧划线接种菌株 7-2, 3 天后在平板中央接入直径 5mm 供试病原菌菌饼, 28℃ 下培养 5 天测量菌株 7-2 对供试病原菌的抑菌带宽度, 以不接拮抗菌的供试病原菌为对照, 结果表明菌株 7-2 对芦笋茎枯病菌、水稻稻瘟病菌、大豆炭疽病菌、蘑菇褐腐病菌均具有非常好的拮抗作用 (图 2)。

[0052] 实施例三: 杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株 7-2 发酵液对病原菌的抑制作用

[0053] 将高氏一号培养基活化的菌株 7-2 的孢子接入 ISP2 液体培养基中, 装液量为 80mL/250mL 三角瓶, 接种量 2-5%, 温度 25-28℃, 转速 180-200rpm, 发酵培养时间 5-7d, 得发酵液, 然后用 22μm 微孔滤膜过滤得无菌发酵过滤液, 备用。

[0054] 取菌株 7-2 的无菌发酵滤液 1mL 加入到 9mL PDA 培养基中, 混合后倒入培养皿中, 将直径 5mm 供试病原菌菌饼接入 PDA 培养基平板中央, 置于 28℃ 下培养 7 天后测量菌落直径。以不加无菌发酵滤液为对照, 计算 10% 无菌发酵滤液对病原菌菌丝生长的抑制率, 结果表明菌株 7-2 的无菌发酵滤液对芦笋茎枯病菌、稻瘟病菌、稻曲病菌、大豆炭疽病菌、蘑菇褐腐病菌均具有较好的抑制效果 (图 3)。

[0055] 实施例四: 杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*) 菌株 7-2 发酵液在防治芦笋茎枯病中的应用

[0056] 试验地点选择在福建省莆田市涵江区庄边镇吉云村,芦笋品种为格兰德。试验设置4个处理,分别为:A.10%苯醚甲环唑WG1500倍液、B.菌株7-2的发酵液、C.菌株7-2的发酵液10倍稀释后作为溶剂配制的10%苯醚甲环唑WG1500倍液、D.清水对照。每处理4次重复,共计16个小区,随机排列,每小区20m<sup>2</sup>,按每亩用药量45升喷雾。于芦笋留母茎后开始喷雾防治茎枯病,间隔7天喷雾施药一次,共施药3次,于末次药后14天病情稳定时,调查发病情况。

[0057] 对标记的母茎进行调查,每个处理小区5点取样,共调查约120株,调查母茎的病级数。

[0058] 病情分级标准如下:

[0059] 0级:无病斑

[0060] 1级:芦笋主茎病斑绕茎长度占主茎周长25%以下,或侧枝发病率25%以下;

[0061] 2级:芦笋主茎病斑绕茎长度占主茎周长25%-50%,或侧枝发病率25%-50%;

[0062] 3级:芦笋主茎病斑绕茎长度占主茎周长50%-75%,或侧枝发病率50%-75%;

[0063] 4级:芦笋主茎病斑绕茎长度占主茎周长75%以上,或侧枝发病率75%以上;

[0064] 根据调查总母茎数、发病茎数和病级数;计算病情指数;处理区和对照区病情指数比较计算防效。

[0065] 病情指数 =  $\Sigma$  (各级病茎数 × 相对病级数值) ÷ (调查总茎数 × 9) × 100

[0066] 防治效果 (%) = [(CK病情指数 - 处理病情指数) ÷ CK病情指数] × 100

[0067] 表3菌株7-2发酵液防治芦笋茎枯病田间药效试验结果

处理	平均病指	平均防效(%)	差异显著性	
			5%	1%
A	10.70	76.57	b	B
B	12.12	73.59	b	B
C	5.46	88.09	a	A
D	45.84	/		

[0069] 实验结果表明(表3),A.10%苯醚甲环唑WG1500倍液、B.菌株7-2的发酵液、C.菌株7-2的发酵液10倍稀释后作为溶剂配制的10%苯醚甲环唑WG1500倍液对芦笋茎枯病的防治效果分别为:76.57%、73.59%和88.09%,均对芦笋安全,未见药害。菌株7-2的发酵液对芦笋茎枯病的防治效果在5%显著水平上及1%极显著水平上与10%苯醚甲环唑WG1500倍液防效差异均不显著,而菌株7-2发酵液10倍稀释后作为溶剂配制的10%苯醚甲环唑WG1500倍液对芦笋茎枯病的防效达88.09%,在5%显著水平上及1%极显著水平上与10%苯醚甲环唑WG1500倍液、菌株7-2发酵液防效差异均达显著水平。由此可见,菌株7-2发酵液对芦笋茎枯病的防治效果与10%苯醚甲环唑WG1500倍液防效相当,具备良好的应用前景。

[0070] 实施例五:杀结节链霉菌(*Streptomyces tubercidicus*)菌株7-2发酵液在防治水稻稻瘟病中的应用

[0071] 试验地点选择在福建省建阳市麻沙镇石宇村,水稻品种为甬优9号。试验设置4个处理,分别为:A.75%三环唑WP26.7克/亩、B.菌株7-2发酵液、C.菌株7-2发酵液10倍稀释后作为溶剂配制的75%三环唑WP溶液(26.7克/亩)、D.清水对照。每处理4次重复,共计16个小区,随机排列,每小区30m<sup>2</sup>,按每亩用药量45升喷雾。于水稻破口期开始喷雾防治稻瘟病,间



隔7天喷雾施药一次,共施药2次,于水稻腊熟期,调查发病情况。

[0072] 采用平行跳跃取样法,每个小区调查20丛,调查记载各小区总穗数,发病穗数和病级。

[0073] 分级标准如下:

[0074] 0级:无病;

[0075] 1级:每穗损失5%以下(个别枝梗发病);

[0076] 3级:每穗损失6%-20%(1/3左右枝梗发病);

[0077] 5级:每穗损失21%-50%(穗颈或主轴发病,谷粒半瘪);

[0078] 7级:每穗损失51%-70%(穗颈发病,大部瘪谷);

[0079] 9级:每穗损失71%-100%(穗颈发病,造成白穗)。

[0080] 病情指数 =  $\Sigma$  (各级病穗数 × 相对病级数值) ÷ (调查总穗数 × 9) × 100

[0081] 防治效果 (%) = [(CK病情指数 - 处理病情指数) ÷ CK病情指数] × 100

[0082] 表4菌株7-2的发酵液防治稻瘟病田间药效试验结果

处理	平均病指	平均防效(%)	差异显著性	
			5%	1%
A	2.96	80.84	b	B
B	4.07	73.57	c	C
C	1.60	89.69	a	A
D	15.41	/		

[0084] 实验结果表明(表4),A.75%三环唑WP26.7克/亩、B.菌株7-2的发酵液、C.菌株7-2的发酵液10倍稀释后作为溶剂配制的75%三环唑WP溶液(26.7克/亩)对稻瘟病的防治效果分别为:80.84%、73.57%和89.69%,均对水稻安全,未见药害。菌株7-2的发酵液对稻瘟病的防治效果在5%显著水平上及1%极显著水平上与75%三环唑WP溶液(26.7克/亩)防效差异均不显著。菌株7-2发酵液10倍稀释后作为溶剂配制的75%三环唑WP溶液(26.7克/亩)溶液对稻瘟病的防效达89.69%,在5%显著水平上与75%三环唑WP26.7克/亩、菌株7-2的发酵液防效差异均达显著水平;在1%极显著水平上与75%三环唑WP26.7克/亩防效差异不显著,与菌株7-2的发酵液防效差异达显著水平。由此可见,菌株7-2的发酵液对稻瘟病的防治效果与75%三环唑WP26.7克/亩防效相当,稀释10倍后用作配制75%三环唑WP(26.7克/亩)的溶剂时能显著提高对稻瘟病的防治效果,具备良好的应用前景。

[0085] 实施例六:杀结节链霉菌(*Streptomyces tubercidicus*)菌株7-2发酵液在防治水稻稻曲病中的应用

[0086] 试验地点选择在福建省建阳市麻沙镇石宇村,水稻品种为甬优9号。试验设置4个处理,分别为:A.430克/升戊唑醇悬浮剂15毫升/亩、B.菌株7-2的发酵液、C.菌株7-2的发酵液10倍稀释后作为溶剂配制的430克/升戊唑醇悬浮剂(15毫升/亩)、D.清水对照。每处理4次重复,共计16个小区,随机排列,每小区30m<sup>2</sup>,按每亩用药量45升喷雾。于水稻抽穗前10天开始喷雾防治稻曲病,间隔7天喷雾施药一次,共施药2次,于水稻腊熟期,调查发病情况。

[0087] 每小区按照对角线五点取样,每点调查相连的10丛水稻,每小区调查50丛,调查总穗数、每穗上稻曲球数量(病粒数),按照以下病穗分级标准统计:

[0088] 0级:单穗健康,无稻曲球病粒;

- [0089] 1级:单穗稻曲球病粒数1个;  
 [0090] 3级:单穗稻曲球病粒数2个;  
 [0091] 5级:单穗稻曲球病粒数3-5个;  
 [0092] 7级:单穗稻曲球病粒数6-9个;  
 [0093] 9级:单穗稻曲球病粒数10个以上。  
 [0094] 病情指数 =  $\Sigma$  (各级病穗数 × 相对病级数值) ÷ (调查总穗数 × 9) × 100  
 [0095] 防治效果 (%) = [(CK病情指数 - 处理病情指数) ÷ CK病情指数] × 100  
 [0096] 表5菌株7-2的发酵液防治稻曲病田间药效试验结果

	处理	平均病指	平均防效(%)	差异显著性	
				5%	1%
[0097]	A	2.21	81.21	ab	AB
	B	2.56	78.21	b	B
	C	1.63	86.10	a	A
	D	11.77	/		

[0098] 实验结果表明(表5),A.430克/升戊唑醇悬浮剂15毫升/亩、B.菌株7-2的发酵液、C.菌株7-2的发酵液10倍稀释后作为溶剂配制的430克/升戊唑醇悬浮剂(15毫升/亩)溶液对稻曲病的防治效果分别为:81.21%、78.21%和86.10%,均对水稻安全,未见药害。菌株7-2的发酵液对稻曲病的防治效果在5%显著水平上及1%极显著水平上与430克/升戊唑醇悬浮剂15毫升/亩防效差异均不显著。菌株7-2发酵液10倍稀释后作为溶剂配制的430克/升戊唑醇悬浮剂(15毫升/亩)溶液对稻曲病的防效达86.10%,在5%显著水平上与430克/升戊唑醇悬浮剂15毫升/亩、菌株7-2的发酵液防效差异均达显著水平;在1%极显著水平上与75%三环唑WP26.7克/亩防效差异不显著,与菌株7-2的发酵液防效差异达显著水平。由此可见,菌株7-2的发酵液对稻曲病的防治效果与430克/升戊唑醇悬浮剂15毫升/亩防效相当,稀释10倍后用作配制430克/升戊唑醇悬浮剂(15毫升/亩)的溶剂时能显著提高对稻曲病的防治效果,具备良好的应用前景。

[0099] 实施例七:杀结节链霉菌(*Streptomyces tubercidicus*)菌株7-2发酵液在防治大豆炭疽病中的应用

[0100] 试验地点选择在福建省莆田市涵江区庄边镇吉云村,大豆品种为毛豆75。试验设置4个处理,分别为:A.10%苯醚甲环唑WG1500倍液、B.菌株7-2的发酵液、C.菌株7-2的发酵液10倍稀释后作为溶剂配制的10%苯醚甲环唑WG1500倍液、D.清水对照。每处理4次重复,共计16个小区,随机排列,每小区20m<sup>2</sup>,按每亩用药量45升喷雾。于大豆初荚后开始喷雾防治炭疽病,间隔7天喷雾施药一次,共施药3次,于末次药后14天病情稳定时,调查发病情况。

[0101] 每小区按照对角线五点取样,每点调查相连的3株大豆,每小区调查15株大豆的所有豆荚,记录总荚数、发病荚数,按照以下分级标准统计病情指数:

- [0102] 0级:豆荚无病斑;  
 [0103] 1级:豆荚上有褐点型小病斑,病斑面积占整个豆荚面积的5%以下;  
 [0104] 3级:豆荚上出现典型病斑,病斑面积占整个豆荚面积的6%~10%;  
 [0105] 5级:豆荚上出现典型病斑,病斑面积占整个豆荚面积的11%~25%;  
 [0106] 7级:豆荚上出现典型病斑,病斑面积占整个豆荚面积的26%~50%;

- [0107] 9级:豆荚上出现典型病斑,病斑面积占整个豆荚面积的50%以上;
- [0108] 病情指数 =  $\Sigma$  (各级病荚数 × 相对病级数值) ÷ (调查总荚数 × 9) × 100;
- [0109] 防治效果 (%) = [(CK病情指数 - 处理病情指数) ÷ CK病情指数] × 100;
- [0110] 表6菌株7-2的发酵液防治大豆炭疽病田间药效试验结果

	处理	平均病指	平均防效(%)	差异显著性	
				5%	1%
[0111]	A	3.13	79.07	b	B
	B	3.49	76.75	b	B
	C	1.85	87.61	a	A
	D	15.02	/		

[0112] 实验结果表明(表6),A.10%苯醚甲环唑WG1500倍液、B.菌株7-2的发酵液、C.菌株7-2的发酵液10倍稀释后作为溶剂配制的10%苯醚甲环唑WG1500倍液对大豆炭疽病的防治效果分别为:79.07%、76.75%和87.61%,均对大豆安全,未见药害。菌株7-2的发酵液对大豆炭疽病的防治效果在5%显著水平上及1%极显著水平上与10%苯醚甲环唑WG1500倍液防效差异均不显著,而菌株7-2发酵液10倍稀释后作为溶剂配制的10%苯醚甲环唑WG1500倍液对大豆炭疽病的防效达87.61%,在5%显著水平上及1%极显著水平上与10%苯醚甲环唑WG1500倍液、菌株7-2的发酵液防效差异均达显著水平。由此可见,菌株7-2的发酵液对大豆炭疽病的防治效果与10%苯醚甲环唑WG1500倍液防效相当,10倍稀释后作为溶剂配制的10%苯醚甲环唑WG1500倍液显著提高对大豆炭疽病的防治效果,具备良好的应用前景。

[0113] 实施例八:杀结节链霉菌(*Streptomyces tubercidicus*)菌株7-2发酵液在防治蘑菇褐腐病中的应用

[0114] 试验地点选择在福建省莆田市荔城区新度镇青坨村,双孢蘑菇品种为AS2796。试验设置4个处理,分别为:A.50%咪鲜胺锰盐WP1.0克/平方米、B.菌株7-2的发酵液、C.菌株7-2的发酵液10倍稀释后作为溶剂配制50%咪鲜胺锰盐WP(1.0克/平方米)、D.清水对照。每处理4次重复,共计16个小区,随机排列,每小区12m<sup>2</sup>。将供试浓度药液定量喷施于待覆土的定量土粒上(每平方米菇床覆盖用土约25kg,喷施药液1.5L),拌匀,保持土壤含水量约为70%,用塑料膜覆盖闷土24h后进行覆土。于覆土7d后分别进行第二次施药,将相同剂量药液均匀喷施于床面土粒上,以土粒湿润且不流进菌料内为度。从采收第一潮菇起开始调查,共调查3潮菇,采取全小区调查方式,于每次采收时调查记录培养料上病菇粒数或菌团数(菇粒或菌团≥1cm),累计各小区的发病菇粒数,计算防治效果。

[0115] 防治效果 (%) = [(对照区病菇数 - 处理区病菇数) / 对照区病菇数] × 100

[0116] 表7菌株7-2的发酵液防治双孢蘑菇褐腐病田间药效试验结果

	处理	平均病菇数 (个)	平均防效(%)	差异显著性	
				5%	1%
[0117]	A	4.0	93.36	c	B
	B	7.0	88.35	b	B
	C	0.0	100.00	a	A
[0118]	D	61.0	/		

[0119] 实验结果表明(表7),A.50%咪鲜胺锰盐WP1.0克/平方米、B.菌株7-2的发酵液、C.

菌株7-2的发酵液10倍稀释后作为溶剂配制50%咪鲜胺锰盐WP(1.0克/平方米)拌土后对双孢蘑菇褐腐病的防治效果分别为:93.36%、88.35%和100.00%,均对双孢蘑菇安全,双孢蘑菇色泽洁白,朵形圆整,未见药害。菌株7-2的发酵液对双孢蘑菇褐腐病的防治效果在5%显著水平上与50%咪鲜胺锰盐WP1.0克/平方米防效差异达显著水平;在1%极显著水平上与50%咪鲜胺锰盐WP1.0克/平方米防效差异不显著。菌株7-2发酵液10倍稀释后作为溶剂配制的50%咪鲜胺锰盐WP1.0克/平方米溶液对双孢蘑菇褐腐病的防效达100.00%,在5%显著水平上及1%极显著水平上与50%咪鲜胺锰盐WP1.0克/平方米、菌株7-2的发酵液防效差异均达显著水平。由此可见,菌株7-2的发酵液对双孢蘑菇褐腐病的防治效果与50%咪鲜胺锰盐WP1.0克/平方米防效差异不显著,10倍稀释后作为溶剂配制的50%咪鲜胺锰盐WP1.0克/平方米溶液对双孢蘑菇褐腐病的防治效果好,可见,菌株7-2的发酵液具备良好的应用前景。

## 序列表

<110> 福建省农业科学院植物保护研究所

<120> 一株杀结节链霉菌菌株及其应用

<160> 4

<170> SIPOSequenceListing 1.0

<210> 1

<211> 1364

<212> DNA

<213> 杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*)

<400> 1

```

aaggggttg gccaccgget tcgggtgta ccgactttcg tgacgtgacg ggcggtgtgt 60
acaaggcccc ggaacgtatt caccgcagca atgctgatct gcgattacta gcaactccga 120
cttcatgggg tcgagttgca gacccaate cgaactgaga ccggcttttt gagattcgct 180
ccacctcgcg gtatcgcagc tcattgtacc ggccattgta gcacgtgtgc agcccaagac 240
ataaggggca tgatgacttg acgtcgtccc caccttctc cgagttgacc ccggcagtct 300
cctgtgagtc cccatcacc cgaaaggcat gctggcaaca cagaacaagg gttgcgctcg 360
ttgcgggact taacccaaca tctcagaca cgagctgacg acagccatgc accacctgta 420
caccgaccac aagggggacc ctgtctccag agttttccgg tgtatgtcaa gccttggtaa 480
ggttcttcgc gttgcgtcga attaagccac atgctccgct gcttgtgcgg gccccgtca 540
attcctttga gttttagcct tgcggccgta ctccccaggc ggggaactta atgcgttagc 600
tgcggcacgg acgacgtgga atgtcgcca cacctagttc ccaacgttta cggcgtggac 660
taccagggta tctaactctg ttcgtcccc acgcttctgc tctcagcgt cagtatcggc 720
ccagagatcc gccttcgcca ccggtgttcc tctgatatc tgcgcatttc accgctacac 780
caggaattcc gatctcccct accgaactct agcctgccc tatcgaatgc agaccgggg 840
ttaagccccg ggctttcaca tccgacgtga caagccgct acgagctctt tacgccaat 900
aattccggac aacgcttgcg ccctacgtat taccgcggt gctggcacgt agttagccgg 960
cgcttcttct gcaggtaccg tcaactctgc ttcttccctg ctgaaagagg ttacaaccc 1020
gaaggccgtc atccctcacg cggcgtcgct gcatcaggct ttcgccatt gtgcaatatt 1080
ccccactgct gcctcccgta ggagtctggg ccgtgtctca gtcccagtgt ggccggtcgc 1140
cctctcaggc cggtaccg tcgtcgctt ggtaggcat caccacca acaagctgat 1200
aggccgctgg ctcatcttc accgccggag cttccacca ccagaccatg cggtcggtag 1260
tcgtatccgg tattagacc cgtttcagg gcttgtccca gactgaaggg cagattgccc 1320
acgtgttact caccggttcg ccaactatcc cctcccgaag gaag 1364

```

<210> 2

<211> 806

<212> DNA

<213> 杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*)

<400> 2

ggtcgaagga gcccatcgag gtcatcccca ccgatccac cgccctcgac gtcgcgctcg 60  
 gcgtcggcgg cctccccgc ggccgctca tcgaggteta cggcccggaa tcctccggtta 120  
 agacgaccct gaccctgcac gccgtcgcga acgcccagaa ggccggcggc tccgtagcgt 180  
 tcatcgacgc cgagcacgcg ctgacccgg agtacgcaa gaagctcggg gtggacaccg 240  
 actccctgat cctgtcccag ccggacaacg gtgagcaggc actggagatc acggacatgc 300  
 tggtcgctc cggcgcgctc gacctatcg tgatcgactc cgtcgccgcc ctgggtgccg 360  
 gggccgagat cgagggtag atgggcgact cccacgtcgg cctccaggcc cggctgatga 420  
 gccaggcact gcgcaagatc accagcgcgc tcaaccagtc caagaccacc gcgatcttca 480  
 tcaaccagct ccgcgagaag atcggcgtga tgttcggctc gccggagacc acgaccggtg 540  
 gccgtgcgct gaagtcttac gcctcgggtc ggctcgacat ccgccgcatc gagaccctca 600  
 aggacggcac ggacgcggtc ggcaaccgca cccgcgtcaa ggtcgtcaag aacaaggttt 660  
 cgccgccctt caagcaggcc gagttcgaca tectctacgg ccagggcate agccgtgagg 720  
 gcggtctgat cgacatgggc gtggagcag gttcatccg gaagtccggc gcctggtaca 780  
 cgtacgaggg cgaccagctc ggccag 806

<210> 3

<211> 906

<212> DNA

<213> 杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*)

<400> 3

ccacctgta caggaggtcg tcgacaactc cgtcgacgag gcgctggccg gtcacgcgga 60  
 caccatcgag gtgacgatcc tggcggacgg cgggtgctgc gtcgtcgaca acggccgcg 120  
 tatccccgtc ggcatcgtgc cgtccgagaa caagccggcc gtggaggtcg tgctgaccgt 180  
 cctgcacgcg ggccgcaagt tcggcggcgg cgggtacgcg gtctccggcg gtctgcacgg 240  
 cgtgggtgtg tccgtcgtga acgcgctctc gcagcgggtc gcggtggaga tccgtacgga 300  
 cggcttccgc tggaccagg agtacaagca ggggtgtgcc accgccccgc tggccaagca 360  
 cgaggccacc gaggagtccg gcacctcggc caccttctgg gccgacggcg agatcttca 420  
 gaccaccacc tacagcttcg agacgttgc gcggcgttc caggagatgg cgttctca 480  
 caaggcctg accatctcgc tcaaggacga gcgcccggac cacgtggagg aggacggcac 540  
 accgctctcg gtgcgttacc actacgaggc cggcatcgtc gacttcgtga agtacctca 600  
 ctcccgaag ggcgagctgg tgcacccgac ggtggctctc gtggaggccg aggacaagga 660  
 gcggaacctc tccgtcgacc tcgcatgca gtggaacacc cagtacagcg aggggtgtcta 720  
 cagcttcgcc aacatcatcc acacctatga gggcggcacc cacgaggagg gcttccgctc 780  
 cgcgctgacc ggctgatca accgctacgc gcgcgaccgg aagctgctgc gggagaagga 840  
 cgacaacctc acgggtgagg acatccgtga gggctctcac gcgatcatct cggtaagct 900  
 cgccga 906

<210> 4

<211> 786

<212> DNA

<213> 杀结节链霉菌 (*Streptomyces tubercidicus*)

<400> 4

cgctgggccc ggggtggtctc tcccgtgagc gggccggcct ggacgtccgt gacgtgcacc 60  
cctcgcacta cggccgtatg tgcccgattg agaccctga aggtcccaac atcggctctga 120  
tcggctcgct ggccctctac ggccgggtca acgtcttcgg cttcatcgag acgccctacc 180  
gcaaggctcgt cgacggccag gtcaccgagg aggtggacta cctcaccgct gatgaggagg 240  
accgcttcct gatcgcccag gccaacgcca agctcagcga cgacatgcgc ttcgccgagc 300  
agcgtgtgct ggtccgccgt cgtggcggcg aggtcgacct ggtccccgcc gacgaggctg 360  
acttcatgga cgtctcgcgc cgccagatgg tgtcggccgc gaccgcatg attccgttcc 420  
tggagcacga cgacgccaac cgtgcgctca tgggatcgaa catgatgcgc caggccgttc 480  
cgctgatcaa ggcggagtgc ccgttggtcg gcaccggcat ggagtaccgc tgcgcggctc 540  
acgccgtgta cgtcatcaag gccgagaagg acggtgtggt ccaggaggtc tccgcggact 600  
acatcacctg cgccaacgac gacggcacgt acaccagta ccgcgtcgcc aagttcacc 660  
gctccaacca gggcacctcc ttcaaccaga aggtcgtcgt ggacgagggc gcgcgggtca 720  
tcgagggcca ggtcctcgcc gacggtccgt ccacggacga aggcgagatg gcgctcggca 780  
agaacc 786

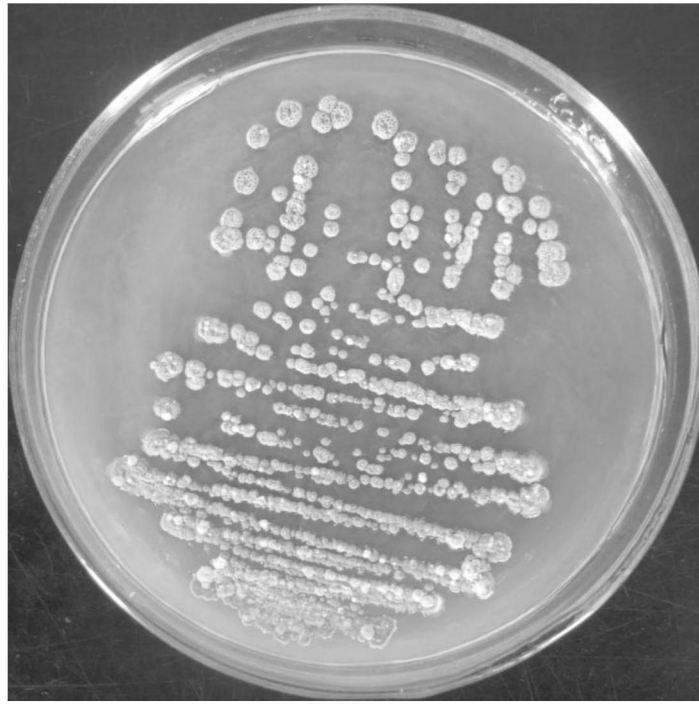


图1



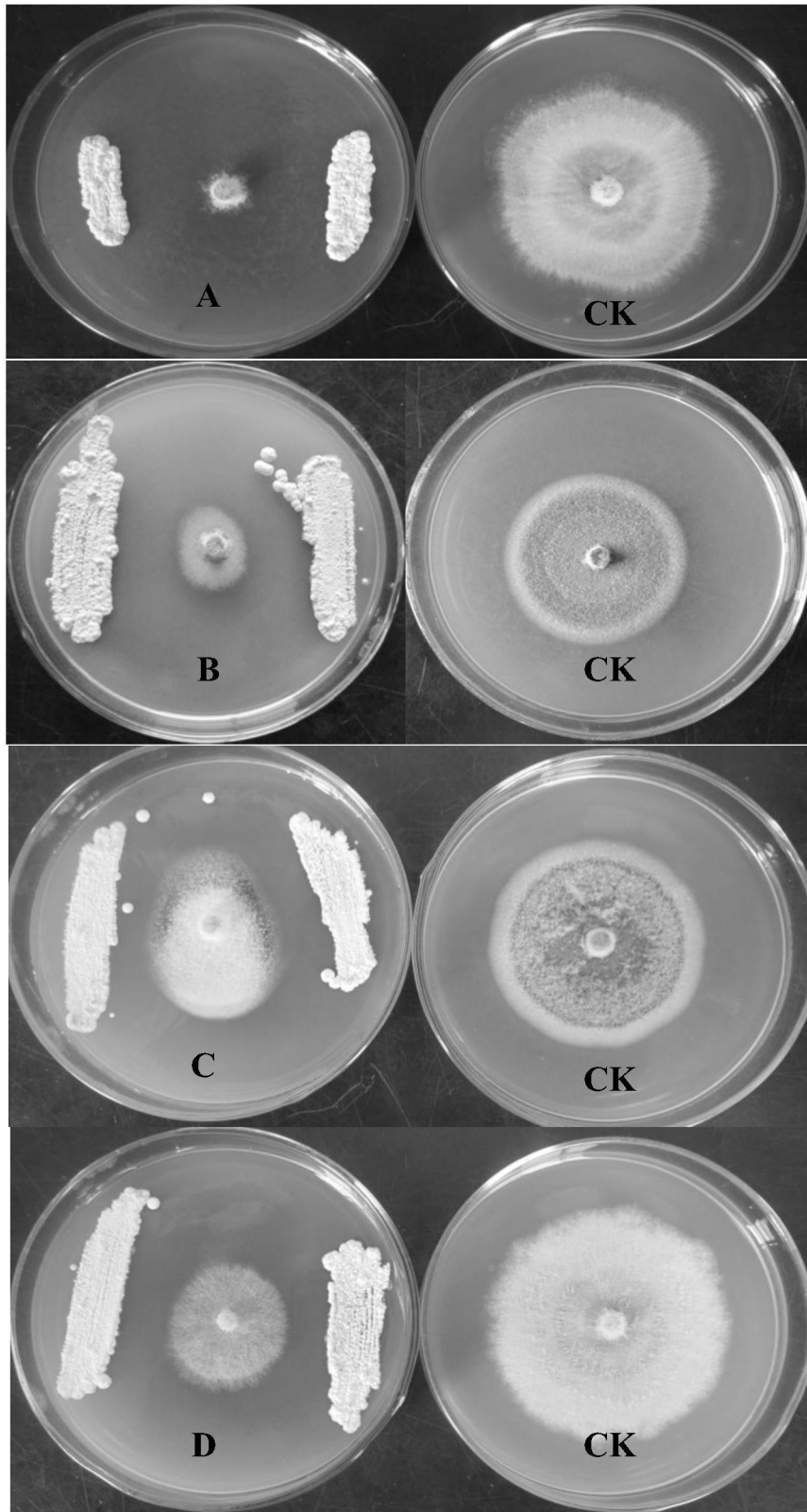


图2

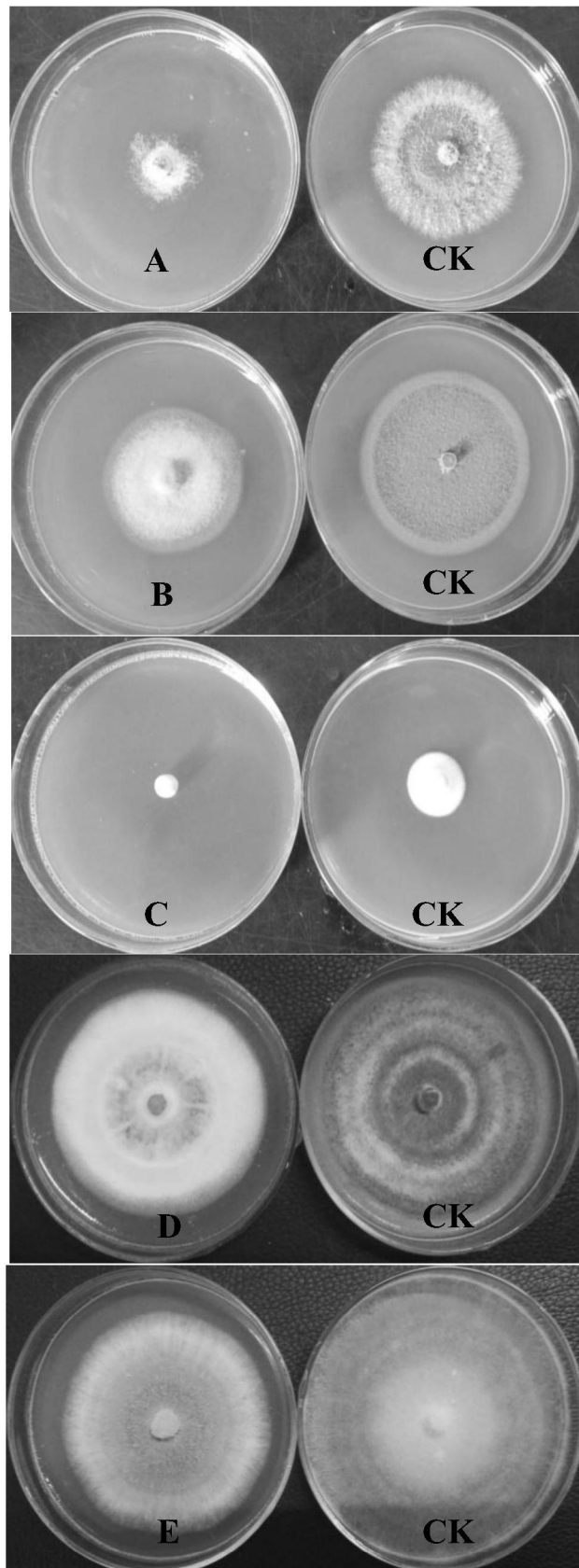


图3