



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 116716225 A

(43) 申请公布日 2023.09.08

(21) 申请号 202310785378.6 *A01N 63/28* (2020.01)
(22) 申请日 2023.06.29 *A01P 1/00* (2006.01)
(83) 生物保藏信息 *A01P 21/00* (2006.01)
CGMCC No. 26717 2023.02.28 *A01G 13/00* (2006.01)
A01G 7/06 (2006.01)
(71) 申请人 内蒙古农业大学 *A01G 7/00* (2006.01)
地址 010018 内蒙古自治区呼和浩特市赛
罕区昭乌达路306号 *C12R 1/465* (2006.01)
(72) 发明人 冯福应 姚婷 唐凯 鲁静
王雅兰 陶羽
(74) 专利代理机构 北京三友知识产权代理有限
公司 11127
专利代理师 韩蕾 张德斌
(51) Int. Cl.
C12N 1/20 (2006.01)
C12P 1/04 (2006.01)

权利要求书1页 说明书7页 附图3页

(54) 发明名称

一种耐辐射链霉菌及其应用

(57) 摘要

本发明提供了一种耐辐射链霉菌及其应用。本发明首先提供了一种耐辐射链霉菌 (*Streptomyces radiopugnans*), 其保藏编号为 CGMCC No.26717。本发明的耐辐射链霉菌 CGMCC No.26717 是一株非致病性链霉菌, 能够抑制或者预防马铃薯疮痂病, 可显著促进马铃薯苗根系更加发达, 加粗茎干, 增强了对土传病害马铃薯疮痂病的抗性, 显著提高马铃薯块茎产量和质量, 同时减少环境的污染, 提高了马铃薯经济效益。

1. 一种耐辐射链霉菌 (*Streptomyces radiopugnans*), 其保藏编号为CGMCC No.26717。
2. 一种耐辐射链霉菌制剂, 该耐辐射链霉菌制剂中含有保藏编号为CGMCC NO.26717的不动杆菌, 其为固态或液态菌制剂。
3. 一种耐辐射链霉菌发酵产物, 其是权利要求1所述耐辐射链霉菌或权利要求2所述的耐辐射链霉菌制剂发酵产生的。
4. 一种抑制马铃薯疮痂病原菌生长的制剂, 其包括权利要求1所述的耐辐射链霉菌、权利要求2所述的耐辐射链霉菌制剂或权利要求3所述的耐辐射链霉菌发酵产物。
5. 根据权利要求4所述的制剂, 其中, 耐辐射链霉菌浓度为 $10^7 \sim 10^9$ CFU/g或 $10^7 \sim 10^9$ CFU/ml。
6. 权利要求1所述的耐辐射链霉菌、权利要求2所述的耐辐射链霉菌制剂或权利要求3所述的耐辐射链霉菌发酵产物在制备用于抑制马铃薯疮痂病原菌生长的制剂中的应用。
7. 权利要求1所述的耐辐射链霉菌、权利要求2所述的耐辐射链霉菌制剂或权利要求3所述的耐辐射链霉菌发酵产物、或权利要求4或5所述的制剂在制备用于特异性抑制马铃薯疮痂病原菌生长的制剂中的应用。
8. 根据权利要求6或7所述的应用, 其中, 所述制剂还具有以下至少一种功效:
 - 产生抗生素等活性物质;
 - 降低病原菌致病性因子表达和相关产物产生;
 - 诱导植物提高对病原微生物的系统抗性;
 - 调控土壤微生物群落结构、增强抗病功能表达、营养和生态位竞争
 - 促进马铃薯根系发育和建成;
 - 加粗马铃薯茎干, 叶片增厚、叶绿素增加;
 - 增强马铃薯对土传病害的抗性;
 - 增强马铃薯对干旱、病虫害、盐胁迫的抗性;
 - 促进马铃薯生长;
 - 提高马铃薯块茎产量和质量。
9. 根据权利要求8所述的应用, 其中, 权利要求1所述的耐辐射链霉菌、权利要求2所述的耐辐射链霉菌制剂或权利要求3所述的耐辐射链霉菌发酵产物、或权利要求4或5所述的制剂是作用于马铃薯脱毒苗。
10. 根据权利要求8所述的应用, 其中, 所述的耐辐射链霉菌对马铃薯疮痂病原菌具有专一性。

一种耐辐射链霉菌及其应用

技术领域

[0001] 本发明是关于一种耐辐射链霉菌 (*Streptomyces radiopugnans*) 及其应用,具体是指一种耐辐射链霉菌及其在抑制马铃薯疮痂病病原菌生长中的相关应用。

背景技术

[0002] 马铃薯的环境适应性强、经济效益高、其块茎营养丰富,增产潜力大,是全球粮菜兼用的、最重要的水稻、小麦和玉米之外的第四大主粮作物。在马铃薯生产中,病害严重影响了马铃薯品质和产量,疮痂病又是全球近年来其中危害最严重的马铃薯病害之一。已报道的可引起马铃薯疮痂病的病原菌主要为放线菌门的链霉菌,在块茎上的突出特征是马铃薯块茎表面凹陷、凸起或网状的结痂状,严重影响马铃薯的品质,从而造成了严重的经济损失。传统的防治方式中,土壤熏蒸法有一定的防治效果,但是环境污染严重;农药防治对作物和人体健康都无益处。

[0003] 近年来,生物防治马铃薯疮痂病是综合研究最具有潜力的防治途径。目前,关于生物防治的技术大多数是涉及利用化学农药制备的相关防治病害侵染的防治途径,也有少量涉及利用具有抗性的微生物制成菌剂来防治植物病菌病害。

[0004] CN110205258A公开了一株防治马铃薯疮痂病的链霉菌 (*Streptomyces pratensis*) PBS9,用PBS9浸种处理马铃薯种薯对马铃薯疮痂病的防效达57.88%,沟施处理防效可达62.01%。CN110200016A公开了一株防治马铃薯疮痂病并能促进马铃薯生长的环圈链霉菌 (*Streptomyces anulatus*) PBSH9,其能防治马铃薯疮痂病并能促进马铃薯生长。试验证明,用环圈链霉菌菌株PBSH9浸种处理马铃薯种薯对马铃薯疮痂病的防效可达73.97%,能使马铃薯增产15.93%,用菌株PBSH9沟施处理防效可达64.77%,能增产7.58%,并有促进马铃薯种薯萌发和幼苗生长的作用。PBSH9还对马铃薯黄萎病菌的生长有抑制作用,抑制率达79.07%。CN109303067A公开了一种防治马铃薯疮痂病的链霉菌组合,由环圈链霉菌 (*Streptomyces anulatus*) CGMCCNo.15826和链霉菌 (*Streptomyces pratensis*) CGMCC No.15829组合而成。用该组合物对马铃薯种薯浸种处理,对马铃薯疮痂病的防效高达98.47%,沟施处理,防效高达97.15%。然而,这些现有技术的防治马铃薯疮痂病的链霉菌,对于马铃薯脱毒苗(快繁苗)效果不是很理想,并且对马铃薯疮痂病病原菌的专一性较低。

发明内容

[0005] 本发明的一个目的在于提供一株抑制马铃薯疮痂病病原菌生长的微生物。

[0006] 本案发明人在研究中通过采集患疮痂病的马铃薯土壤样地根际土,以分离菌株的涂布划线技术分离,利用高氏一号、解磷、固氮、1/2R2A、燕麦、LB和NA等各种培养基,通过分离纯化获得了一株能够抑制马铃薯疮痂病病原菌的成长,从而达到很有效的生物防治效果的菌种,经过种属鉴定,其为耐辐射链霉菌 (*Streptomyces radiopugnans*),本发明中亦命名为耐辐射链霉菌KL2,该菌株已保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心

(CGMCC), 保藏日期:2023年02月28日;保藏单位:中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心(CGMCC);保藏单位地址:中国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:CGMCC No.26717;分类命名:耐辐射链霉菌(*Streptomyces radiopugnans*)。

[0007] 本发明的实验表明,所述耐辐射链霉菌(*Streptomyces radiopugnans*)KL2,应用在马铃薯快繁苗(试管苗)及盆栽结果表现出较低的疮痂病发病率和病症程度,说明具有较好马铃薯疮痂病生物防治潜力,而KL2在与其它微生物(如常用的促生真菌哈茨木霉、促生细菌假单胞菌和固氮菌等)的平板对峙中并未表现出任何抑制性,说明其至少对最,常见的疮痂病病原(*Streptomyces scabiei*)是高度专一、特异的,具有较高的生物安全性、与常见的植物促生菌或生物防治菌种(如哈茨木霉)可同时使用。通过美吉生物测序公司Illumina Miseq平台测定了KL2菌株的全基因组,结果分析得到在菌株KL2中发现11个基因组岛(Genomic island)、3个前噬菌体(Prophage)和18个CRISPR。预测了该菌株能够产生多种抗生素等活性物质,直接杀死或抑制生长;降低病原菌致病性因子表达和相关产物产生;诱导植物提高对病原微生物的系统抗性;调控土壤微生物群落结构、增强抗病功能表达;营养和生态位竞争。能够显著抑制马铃薯疮痂病病原菌的生长;能够显著预防及抑制马铃薯块茎疮痂病症状的发生,从而促进马铃薯快繁苗及盆栽苗根系发育和建成、根系更加发达,加粗茎干,叶片增厚、叶绿素增加,增强了对土传病害的抗性,增强了对干旱、病虫害、盐胁迫的抗性,促进生长、显著提高马铃薯块茎产量和质量。

[0008] 从而,一方面,本发明提供了一株耐辐射链霉菌(*Streptomyces radiopugnans*),其保藏编号为CGMCC No.26717。

[0009] 另一方面,本发明还提供了一种耐辐射链霉菌制剂,该耐辐射链霉菌制剂中含有保藏编号为CGMCC NO.26717的不动杆菌,其为固态或液态菌制剂。

[0010] 另一方面,本发明还提供了一种耐辐射链霉菌发酵产物,其是本发明所述耐辐射链霉菌或权利要求2所述的耐辐射链霉菌制剂发酵产生的。

[0011] 另一方面,本发明还提供了一种抑制马铃薯疮痂病病原菌生长的制剂,其包括本发明所述的耐辐射链霉菌、本发明所述的耐辐射链霉菌制剂或本发明所述的耐辐射链霉菌发酵产物。优选地,所述制剂中,耐辐射链霉菌浓度为 $10^7 \sim 10^9$ CFU/g或 $10^7 \sim 10^9$ CFU/ml。

[0012] 另一方面,本发明还提供了本发明所述的耐辐射链霉菌、本发明所述的耐辐射链霉菌制剂或本发明所述的耐辐射链霉菌发酵产物在制备用于抑制马铃薯疮痂病病原菌生长的制剂中的应用。

[0013] 另一方面,本发明还提供了本发明所述的耐辐射链霉菌、本发明所述的耐辐射链霉菌制剂或本发明所述的耐辐射链霉菌发酵产物、或本发明所述的制剂在制备用于特异性抑制马铃薯疮痂病病原菌生长的制剂中的应用。

[0014] 根据本发明的具体实施方案,本发明中,所述制剂还具有以下至少一种功效:

[0015] 产生抗生素等活性物质;

[0016] 降低病原菌致病性因子表达和相关产物产生;

[0017] 诱导植物提高对病原微生物的系统抗性;

[0018] 调控土壤微生物群落结构、增强抗病功能表达、营养和生态位竞争

[0019] 促进马铃薯根系发育和建成;

- [0020] 加粗马铃薯茎干,叶片增厚、叶绿素增加;
- [0021] 增强马铃薯对土传病害的抗性;
- [0022] 增强马铃薯对干旱、病虫害、盐胁迫的抗性;
- [0023] 促进马铃薯生长;
- [0024] 提高马铃薯块茎产量和质量。
- [0025] 根据本发明的具体实施方案,所述的耐辐射链霉菌、所述的耐辐射链霉菌制剂或本发明的耐辐射链霉菌(*Streptomyces radiopugnans*)KL2对马铃薯疮痂病原菌具有专一性,能够抑制马铃薯疮痂病原菌的生长,从而促进马铃薯抗病的块茎种植切块生长;其制备的拮抗菌悬液,可显著促进马铃薯苗根系发育和建成、根系更加发达,加粗茎干,叶片增厚、叶绿素增加,增强了对土传病害的抗性,增强了对干旱和盐胁迫的抗性,显著提高马铃薯块茎产量和质量。

附图说明

- [0026] 图1为本发明中疮痂病原菌拮抗菌的筛选实验结果。上图片:初筛结果,拮抗菌圈宽度分别为7mm、5mm、7mm;下图片:验证及复筛效果,拮抗菌圈宽度分别为33mm、32mm、35mm。
- [0027] 图2显示KL2菌株拮抗对照组的实验结果。
- [0028] 图3显示快繁苗接病原菌、接KL2菌株和不接菌CK对照形态分析。
- [0029] 图4为本发明在马铃薯快繁苗(试管苗)移栽置马铃薯疮痂病原土后加拮抗菌菌液验证实验,大约3个月结出小薯(原原种)的拮抗对照结果成品图。左图片:本发明;右图片,对照组。
- [0030] 图5和图6为本发明田间连作采集的马铃薯样本。
- [0031] 用于专利程序的微生物保藏:
- [0032] 本发明的耐辐射链霉菌KL2:
- [0033] 保藏日期:2023年02月28日;
- [0034] 保藏单位:中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心(CGMCC);
- [0035] 保藏单位地址:中国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;
- [0036] 保藏编号:CGMCC No.26717;
- [0037] 分类命名:耐辐射链霉菌(*Streptomyces radiopugnans*)。

具体实施方式

- [0038] 为了对本发明的技术特征、目的和有益效果有更加清楚的理解,现对本发明的技术方案进行以下详细说明,但不能理解为对本发明的可实施范围的限定。各实施例中未注明具体条件的实验方法,按照所属领域的常规条件操作。X006菌株的保存、复苏、种子液的制备参照不动杆菌的常规操作。
- [0039] 以下各实施例中所用到的培养基及其配方中各组分用量比例:
- [0040] 高氏一号培养基:可溶性淀粉20g,硝酸钾1g,磷酸氢二钾0.5g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5g, NaCl 0.5g, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.01g,琼脂20.0g,蒸馏水1000mL, pH 7.2-7.4。

[0041] 1/2R2A培养基:葡萄糖0.5g、淀粉0.5g、酸水解酪蛋白胨0.5g、细菌学蛋白胨0.5g、酵母提取物0.5g、丙酮酸钠0.3g、磷酸氢二钾0.3g、七水合硫酸镁0.3g、TES 2mL。琼脂固体培养基另外加琼脂15g。

[0042] PDA培养基:马铃薯160g、蔗糖20g、琼脂20g。称取去皮马铃薯160g,切成小块,加入适量蒸馏水煮沸直到马铃薯块用玻璃棒轻轻搅碎,使用四层纱布过滤收集滤液,加入葡萄糖、琼脂,补水至1000mL。

[0043] 黑麦培养基:黑麦50g、蔗糖20g、琼脂20g。称取黑麦50g,清洗干净后于1000mL去离子水中浸泡过夜,121℃高压灭菌40min,使用4层纱布过滤,收集滤液,加入蔗糖、琼脂,补水至1000mL,121℃高压灭菌、pH自然。

[0044] 燕麦培养基:燕麦60g、蔗糖20g、琼脂8g。称取60g燕麦,清洗干净后用蒸馏水浸泡24小时,121℃高压灭菌40min,使用4层纱布过滤,收集滤液,加入蔗糖、琼脂,补水至1000mL,121℃高压灭菌、pH自然。

[0045] LB培养基:胰蛋白胨10g,酵母提取物5g,NaCl 10g,琼脂15g,去离子水1000mL,pH 7.4。

[0046] 实施例1、耐辐射链霉菌KL2的筛选与鉴定

[0047] 采集田间患马铃薯疮痂病的根际土,取土壤样品10g,加入90ml无菌水,在180r/min转速摇床30min,取土壤悬液1ml,加入9ml无菌水以 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} 倍等六个梯度稀释),将各个浓度取100 μ l,同等量的稀释液涂布到高氏一号固体培养基平板的表面,28℃恒温培养箱培养5d后,从平板划线培养挑取单个链霉菌菌落,而将通过平板划线培养方式进行纯化,一直到该菌落变成单一纯菌落。然后,记录各个单菌落的编号,用镊子夹取一部分的链霉菌菌落到2ml试管,加入25%甘油,置于-80℃冰箱保藏,待用。

[0048] 进一步以分离纯化得到的菌株基因组DNA为模板,提取DNA完成采用细菌通用引物27F/1492R扩增16srDNA序列,扩增产物用1% (含SYBR Green I荧光染料)琼脂糖凝胶电泳检测,序列测序由生工生物工程(上海)股份有限公司完成,将测序得到的序列在NCBI上经Blast比对(或EzTaxon),调取数据库中相似性较高的序列(16S rRNA基因序列相似性大于97%的初步确定为同种)进行鉴定。

[0049] 本发明中,筛选获得了一株菌株,本发明命名为KL2,经鉴定,KL2的16S rRNA基因序列与模式种耐辐射链霉菌(*Streptomyces radiopugnans*) (登录号为NR_044013)的相似性达99.713%。结果见表1所示。

[0050] 表1

| 菌株编号 | 最近缘种 | 相似性(%) |
|------|----------------------------------|--------|
| KL2 | <i>Streptomyces radiopugnans</i> | 99.713 |

[0052] 初步鉴定本发明筛选的菌株KL2为耐辐射链霉菌(*Streptomyces radiopugnans*),该菌株已保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心(CGMCC),保藏日期:2023年02月28日;保藏单位:中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心(CGMCC);保藏单位地址:中国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:CGMCC No.26717;分类命名:耐辐射链霉菌(*Streptomyces radiopugnans*)。

[0053] 而KL2在与其它微生物(如常用的促生真菌哈茨木霉、促生细菌假单胞菌和固氮菌等)的平板对峙中并未表现出任何抑制性,说明其至少对最,常见的疮痂病病原

(*Streptomyces scabiei*)是高度专一、特异的,具有较高的生物安全性、与常见的植物促生菌或生物防治菌种(如哈茨木霉)可同时使用。通过美吉生物测序公司Illumina Miseq平台测定了KL2菌株的全基因组,结果分析得到在菌株KL2中发现11个基因组岛(Genomic island)、3个前噬菌体(Prophage)和18个CRISPR。预测了该菌株能够产生多种抗生素等活性物质,直接杀死或抑制生长;降低病原菌致病性因子表达和相关产物产生;诱导植物提高对病原微生物的系统抗性;调控土壤微生物群落结构、增强抗病功能表达;营养和生态位竞争。

[0054] 菌株KL2的毒力因子预测分类统计见表2。菌株KL2与参考菌株中次级代谢产物合成基因簇对比见表3。

[0055] 表2、菌株KL2毒力因子预测分类统计

| 主要类型 | 基因数 | 二级分类(基因组) |
|------------------------|-----------------|--|
| Primary classification | Number of genes | Secondary classification (number of genes) |
| 非特异性毒力因子 | 106 | Iron uptake system(98)、Magnesium uptake system (6) |

| | | |
|--|-----|--|
| Nonspecific virulence factor | | Exoenzyme (2) |
| 攻击性毒力因子 | 154 | Toxin (52)、Secretion system (45) |
| Offensive virulence factors | | Adherence (44)、Invasion (13) |
| 防御性毒力因子 | 50 | Aniphagocytosis(36)、Serum resistance(14)、Stress protein (12) |
| Defensive virulence factors | | Phase variation (1)、Complement Protease (1) |
| 毒力相关基因的调控 | 27 | Regulation (27) |
| Regulation of virulence-associated genes | | |

[0058] 表3、菌株KL2与参考菌株中次级代谢产物合成基因簇对比表

| 基因 ID | 菌株 KL2 | | | |
|-----------------|---------------|--|--|-----------------|
| ClusterID | 基因簇类型 | 化合物 | 次级代谢产物合成基因簇 (基因相似度) | 基因数 |
| | Cluster type | Compound | Secondary metabolite synthetic gene cluster(gene similarity) | Number of genes |
| cluster1 | NRPS | spore pigment | BGC0000271 (75%) | 107 |
| cluster2 | hglE-KS | nataxazole | BGC0001213 (7%) | 44 |
| cluster3 | LAP | vazabotide A | BGC0001818 (13%) | 22 |
| cluster4 | terpene | hopene | BGC0000663 (30%) | 20 |
| cluster5 | bacteriocin | - | - | 10 |
| cluster6 | siderophore | - | - | 11 |
| cluster7 | T2PKS | LL-D49194 α 1 (LLD) | BGC0001979 (43%) | 67 |
| cluster8 | ectoine | showdomycin | BGC0001778 (17%) | 10 |
| [0059] cluster9 | siderophore | macrotetrolide | BGC0000244(33%) | 9 |
| cluster10 | T2PKS | prejadomycin / rabelomycin / gaudimycin C / gaudimycin D / UWM6 / gaudimycin A | BGC0000262(62%) | 72 |
| cluster11 | NRPS-like | - | - | 36 |
| cluster12 | lassopeptide | SRO15-2005 | BGC0000578(87%) | 16 |
| cluster13 | lanthipeptide | SAL-2242 | BGC0000546(77%) | 18 |
| cluster14 | ectoine | ectoine | BGC0000853(100%) | 10 |
| cluster15 | terpene | isorenieratene | BGC0000664(100%) | 22 |
| cluster16 | siderophore | desferrioxamin B | BGC0000941(100%) | 9 |
| cluster17 | T3PKS | alkylresorcinol | BGC0000282(100%) | 39 |
| cluster18 | ladderane | WS9326 | BGC0001297(95%) | 59 |
| cluster19 | T1PKS | miharamycin A / miharamycin B | BGC0001956(37%) | 39 |

[0060] 实施例2:KL2菌株活化、培养和收集

[0061] 吸取25%的甘油500 μ L与菌液以1:1的比例混合保藏(实施例1的耐辐射链霉菌KL2)100 μ L涂布于高氏一号培养基置28 $^{\circ}$ C下培养,挑取具有典型菌落特征、生长迅速的单菌落置相应液体培养基(加入重铬酸钾)、置于25 $^{\circ}$ C下培养;培养至对数期中后期时以8000g离心力离心,以K₂HPO₄-KH₂PO₄缓冲液(pH 7.2)反复洗涤3次后用同样缓冲液重悬至细胞浓度至10⁷~10⁹CFU/mL。

[0062] 实施例3:KL2菌剂拮抗马铃薯病原微生物

[0063] 吸取100 μ L疮痂链霉菌孢子悬浮液均匀涂布于高氏一号固体培养基,在平板上放置无菌滤纸片(d=6mm)备用。将分离获得的KL2菌株接种于液体LB培养基或高氏一号培养基(两种培养基分别用于初筛和复筛),28 $^{\circ}$ C、200r/min培养24h,吸取6 μ L培养液滴于滤纸片中央,以无菌液体LB/高氏一号培养基为空白对照,28 $^{\circ}$ C培养5-7天后测量抑菌圈的直径计算抑菌率。

[0064] 本发明的耐辐射链霉菌KL2对危害马铃薯生产特别严重的病原微生物之一即马铃薯疮痂病原菌的生长具有显著的抑制作用;且对马铃薯快繁苗的生长具有促生功能;与普通链霉菌相比该菌具有很强的耐辐射性(正是由于耐紫外辐射性能较强,该菌分类命名

为耐辐射链霉菌*Streptomyces radiopugnans*)。

[0065] 结果如图1、图2、表4所示,本发明的耐辐射链霉菌KL2,在抑制疮痂病具显著效果,经检测验证其对马铃薯致病疫霉、黄曲霉、米根霉等真菌及马铃薯黑痣病和枯萎病均无明显抑制作用,说明该菌对普通疮痂病病原菌具有高度专一性。

[0066] 表4

| | | |
|--------|---------|--------|
| [0067] | 菌种 | 抑菌率 |
| | KL2 | 48.50% |
| | CK(空白组) | 20.20% |

[0068] 由表4平板对峙实验结果表明:本发明耐辐射链霉菌KL2对马铃薯普通疮痂病*Streptomyces scabies*的抑菌率可达40%~50%,展现出了一定的防治马铃薯土传病害的潜力,促进全国尤其是内蒙古农业的可持续发展和生物产业的进步,具有重要的理论意义和实践应用价值。

[0069] 实施例4:KL2菌株对马铃薯快繁苗及盆栽疮痂病马铃薯的影响

[0070] KL2菌株对马铃薯快繁苗(含有疮痂病病原菌菌悬液)的影响实验:将*Streptomyces radiopugnans* KL2制备菌悬液,菌悬液中有效活菌数 $10^7\sim 10^9$ CFU/g或 $10^7\sim 10^9$ CFU/ml,利用紫外分光光度计600nm条件下,测其菌液OD值达到0.8-1.0时,以1mL:50mL(菌液:MS培养基)加入到快繁苗中,25天周期观察苗子生长情况。

[0071] 实验结果由图3、表5可见,本发明的具有促进马铃薯快繁苗生长及增强快繁苗的抵抗能力。

[0072] 表5

| | | | | | |
|--------|--------|-------------|------------|------------|------------|
| [0073] | 处理 | 株高 | 根长 | 匍匐茎 | 叶片数 |
| | 接KL2菌株 | 10.83±0.19a | 10.2±0.87a | 4.28±0.58a | 8.44±0.46a |
| | 不接菌CK | 9.41±0.30b | 8.47±0.39b | 3.92±0.41a | 6.88±0.11b |
| | 接病原菌 | 7.50±0.28c | 7.77±0.48b | 2.32±0.27b | 6.32±0.18c |

[0074] KL2菌株对盆栽疮痂病马铃薯的影响实验:按照土壤:蛭石=1:1/2(混合好的土壤不灭菌,该土壤是疮痂病病地里采的土样),先用30cm×30cm装一个盆,装一盆刚好倒入长57cm、宽31cm、高13.5cm的长方形花盆中。先将健康马铃薯原原种植,每个坑浇水50mL随后覆盖土,最后在每个花盆浇水1500ml使土壤湿透。*Streptomyces radiopugnans* KL2菌悬液(有效活菌数 $10^7\sim 10^9$ CFU/g或 $10^7\sim 10^9$ CFU/ml)每隔一周浇一次菌液(每次浇100mL)。

[0075] 实验结果表明,本发明的耐辐射链霉菌KL2对马铃薯疮痂病病原菌的抑制,能够显著促进马铃薯根系建成、增强对干旱和病害的抗性、促进生长、提高马铃薯块茎产量和外观品质(图4)。

[0076] 上述盆栽疮痂病马铃薯实验,土壤中同时添加常见的生物防治菌种哈茨木霉,实验结果表明,耐辐射链霉菌KL2对马铃薯疮痂病病原菌的抑制效果,以及促进马铃薯根系建成、增强对干旱和病害的抗性、促进生长、提高马铃薯块茎产量和外观品质的实验结果基本相同。

[0077] 图5和图6为本发明田间连作采集的马铃薯样本,也可看出,本发明的耐辐射链霉菌KL2对马铃薯疮痂病病原菌具有抑制作用,能够显著促进马铃薯根系建成、增强对干旱和病害的抗性、促进生长、提高马铃薯块茎产量和外观品质。

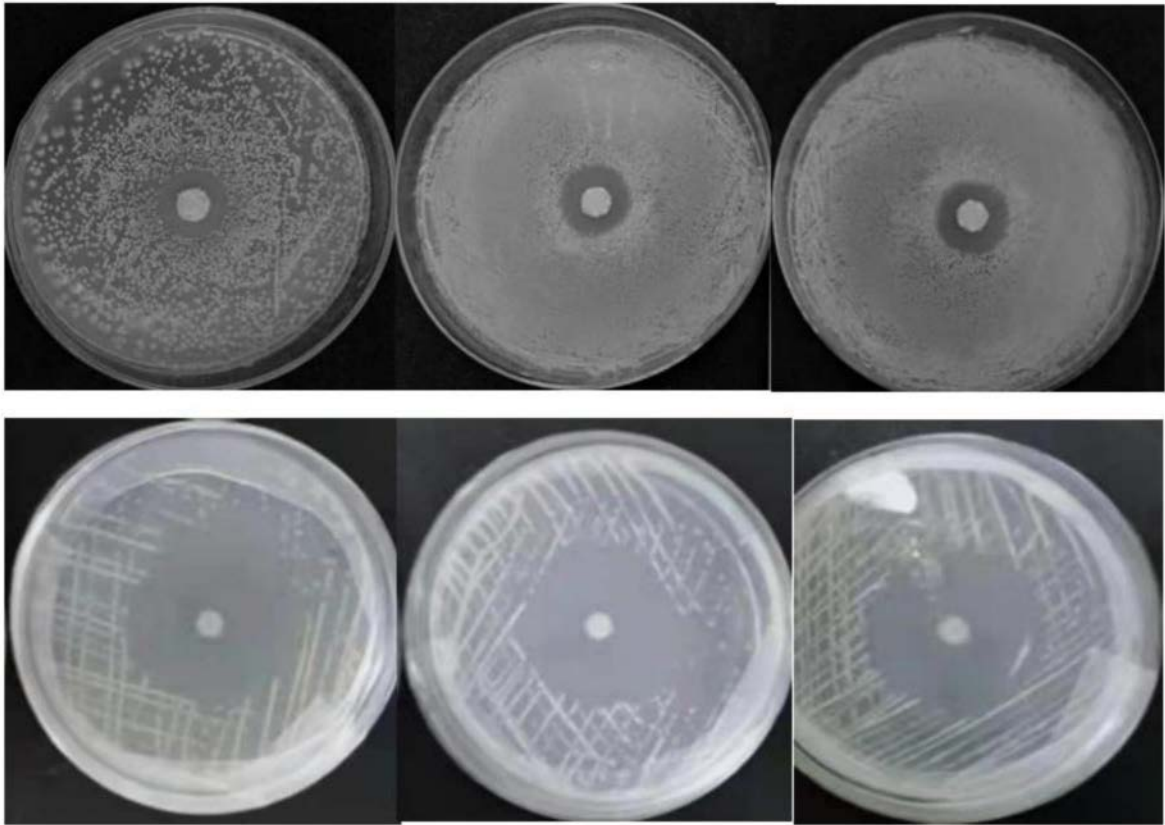


图1

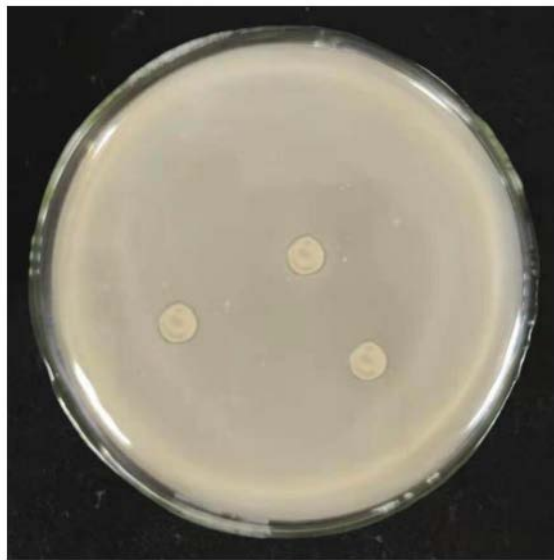


图2



图3



图4



图5



图6