(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 113227352 A
(43)申请公布日 2021.08.06

(21)申请号 201980079611.0

(22)申请日 2019.12.06

(30)优先权数据
10-2018-0166923 2018.12.21 KR
10-2019-0131906 2019.10.23 KR

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2021.06.02

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/KR2019/017238 2019.12.06

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2020/130444 KO 2020.06.25

(71)申请人 庆尚国立大学校 产学协力团
地址 韩国庆尚南道

(72)发明人 郭然植 金多烂

(74)专利代理机构 北京路浩知识产权代理有限公司 11002
代理人 安玉 蒋洪之

(51)Int.Cl.
C12N 1/20(2006.01)
C12N 1/38(2006.01)
A01N 33/08(2006.01)
A01N 63/10(2006.01)

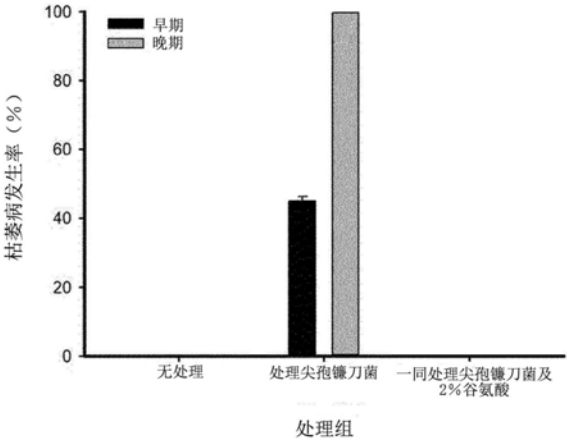
权利要求书1页 说明书6页
序列表1页 附图6页

(54)发明名称

用于利用益生元促进有用菌株的生长及植物病害防治的组合物及其用途

(57)摘要

本发明涉及用于利用益生元促进有用菌株的生长及植物病害防治的组合物，本发明的氨基酸显著促进有用菌株的生长并维持其生长的效果，并显著减少植物病害的发病率，从而增加环保性防治菌株的效用，并且可有效用作化学防治替代剂。



CN 113227352 A

1.一种用于促进有用菌株生长的组合物,其特征在于,包含氨基酸作为有效成分。

2.根据权利要求1所述的用于促进有用菌株生长的组合物,其特征在于,上述氨基酸为选自由谷氨酸、脯氨酸及色氨酸组成的组中的一种以上,上述有用菌株为栗褐链霉菌菌株。

3.一种用于植物病害防治的组合物,其特征在于,包含氨基酸作为有效成分,上述氨基酸为选自由谷氨酸、脯氨酸及色氨酸组成的组中的一种以上。

4.根据权利要求3所述的用于植物病害防治的组合物,其特征在于,还包含有用菌株或其培养液。

5.根据权利要求4所述的用于植物病害防治的组合物,其特征在于,上述有用菌株为栗褐链霉菌菌株。

6.根据权利要求3所述的用于植物病害防治的组合物,其特征在于,上述植物病害为选自由灰霉病、草莓黑星病及枯萎病组成的组中的一种以上。

7.一种植物病害防治方法,其特征在于,包括使用有效量的权利要求3至6中任一项所述的组合物对植物部位、种子或土壤进行处理的步骤。

用于利用益生元促进有用菌株的生长及植物病害防治的组合物及其用途

技术领域

[0001] 本发明涉及用于利用益生元促进有用菌株的生长及植物病害防治的组合物及其用途。

背景技术

[0002] 灰霉病作为全世界代表性的植物病，在包括水果类、蔬菜类在内的多种农作物收获前后均会造成巨大的经济损失。灰霉病致病菌(灰霉菌(Botrytis cinerea))产生在农作物的所有部位，例如，叶、茎、花、果实及根等，尤其，对于在设施大棚中栽培的农作物具有非常大的危害。灰霉病致病菌由于其既是病原菌又具有腐生特性而能够在老化的组织或因伤口或其他疾病而受损的组织中引发第二次感染。灰霉病致病菌可通过形成具有生存结构的菌核来在化学农药及各种不合适的环境中生存，即使在土壤和死植物体的残留物中也可维持多年的病原性。它们甚至可以在4℃的低温条件下生长，在因冬季夜间温度低下而无法对设施大棚进行通风的情况下，由于形成低温多湿的条件，因此，将引起大面积的灰霉病，并且，灰霉病致病菌容易遗传变异，因相对容易获得对药剂的抗药性而在防治层面上具有非常大的困难。

[0003] 草莓黑星病一旦发生便可通过风或蜜蜂等迅速扩散，并且，通过干扰花的受精而导致畸形果。尤其，草莓黑星病致病菌(枝状枝孢菌(Cladosporium cladosporioides))的适宜温度为20℃～25℃，在室内高湿度且结露的情况下或在阳光不足的环境中发生的可能性较高，也可在死植物体、土壤、有机物等中增殖。当前，草莓黑星病的防治方法仅为降低室内湿度并使用开花前的草莓白粉病或炭疽病具有防治效果的环保制剂或对花粉发芽影响较小的药剂等进行预防性的处理。由于需要直接防治草莓黑星病致病菌的防治剂，因此，对于无残留毒性和无环境污染问题的环保农药的开发正备受瞩目。

[0004] 并且，枯萎病作为因病原性霉菌的尖孢镰刀菌(Fusarium oxysporum)引起的植物病虫害，不仅发生在韩国，而且在欧洲、美国、日本及巴西等全世界均有发生。病原菌在土壤内长时间生存，同时随着密度的提高，可通过导管部及根进行感染并在整个植物体引起病症。

[0005] 本发明筛选的益生元(Prebiotics)为存在于人体和自然环境中的无害氨基酸，在实验室中确认到了其具有促进有用菌株生长的效果。并且，经确认，当利用从农作物栽培田间筛选的益生元来进行处理时，具有降低灰霉病及黑星病的发病率且增加有用菌株的密度并引导持续维持的效果。利用上述效果不仅可增加环保性防治菌株的效用，而且可有效用作化学防治替代剂。

[0006] 另一方面，韩国授权专利第1626387号公开了“用于利用新材料来防治土壤病害的组合物”，韩国公开专利第2015-0126666号公开了“增加单糖对植物病害的防治效果的组合物”。但是，尚未公开“用于利用益生元促进有用菌株的生长及植物病害防治的组合物及其用途”。

发明内容

[0007] 技术问题

[0008] 本发明根据如上所述的需求而提出，当分别使用五种氨基酸(谷氨酸、脯氨酸、色氨酸、天冬酰胺、丙氨酸)处理作为有用菌株的栗褐链霉菌(Streptomyces badius)SP6C4菌株时，本发明的发明人确认到SP6C4菌株的生长率在三种氨基酸(谷氨酸、脯氨酸、色氨酸)处理组中均有所增加，并利用最终筛选的上述三种氨基酸(谷氨酸、脯氨酸、色氨酸)确认灰霉病及草莓黑星病的发病率，其结果，经确认，相比于无任何处理的对照组，当处理三种氨基酸时，灰霉病及草莓黑星病的发病率有所减少，尤其在谷氨酸处理组中灰霉病及草莓黑星病的发病率显著减少。并且，当将谷氨酸优先涂敷在番茄种子或植物体根圈后接种枯萎病原菌时，确认到对于枯萎病具有优秀的防治效果，从而完成了本发明。

[0009] 技术方案

[0010] 为了解决上述问题，本发明提供用于促进有用菌株生长的组合物，其包含氨基酸作为有效成分。

[0011] 并且，本发明提供用于植物病害防治的组合物，其包含氨基酸作为有效成分，上述氨基酸为选自由谷氨酸(glutamic acid)、脯氨酸(proline)及色氨酸(tryptophan)组成的组中的一种以上。

[0012] 并且，本发明提供植物病害防治方法，其包括使用有效量的上述组合物对植物部位、种子或土壤进行处理的步骤。

[0013] 发明的效果

[0014] 本发明的具有益生元功能的氨基酸具有显著促进有用菌株的生长并维持其生长的效果，并显著减少植物病害的发病率，从而增加环保性防治菌株的效用，并且可有效用作化学防治替代剂。

附图说明

[0015] 图1为示出利用益生元确认对保藏编号为KCCM11703P的栗褐链霉菌(Streptomyces badius)SP6C4菌株的氨基酸偏好性的结果图。

[0016] 图2为示出以确认益生元功能的第一次筛选的氨基酸(谷氨酸、丙氨酸)与现有已知具有益生元功能的氨基酸(色氨酸、脯氨酸、天冬酰胺)为对象，比较对作为有用菌株的栗褐链霉菌SP6C4菌株的生长促进效果的结果图。

[0017] 图3为示出在草莓田间试验中筛选的三种(谷氨酸、色氨酸、脯氨酸)的氨基酸处理对灰霉病的抑制效果的结果图。

[0018] 图4为示出在草莓田间试验中筛选的三种(谷氨酸、色氨酸、脯氨酸)的氨基酸处理对黑星病抑制效果的结果图。

[0019] 图5为确认在草莓田间试验中筛选的三种(谷氨酸、色氨酸、脯氨酸)的氨基酸处理对栗褐链霉菌SP6C4菌株的密度维持效果的结果图。

[0020] 图6为确认当在番茄种子上涂敷谷氨酸时抑制枯萎病的初期发生的效果的结果图。

[0021] 图7为确认当首先在番茄植物体根圈上处理谷氨酸后处理作为枯萎病原菌的尖孢镰刀菌(Fusarium oxysporum)时抑制枯萎病发生的效果的结果图。

具体实施方式

[0022] 为了实现本发明的目的，本发明提供用于促进有用菌株生长的组合物，其包含氨基酸作为有效成分。

[0023] 在本发明中，上述氨基酸具有益生元功能，“益生元(Prebiotics)”是指用于向特定微生物提供适当的选择性养分以增加这种微生物的移植能力、繁殖能力等的物质，并非所有归类为术语“益生元”的物质均具有相同特性。

[0024] 在本发明一实例的用于促进有用菌株生长的组合物中，上述氨基酸可以为选自由谷氨酸(glutamic acid)、脯氨酸(proline)及色氨酸(tryptophan)组成的组中的一种以上，但不限于此。

[0025] 并且，上述有用菌株可以为栗褐链霉菌(Streptomyces badius)菌株，优选地，可以为保藏编号为KCCM11703P的栗褐链霉菌SP6C4(S treptomyces badius SP6C4)菌株，但不限于此。上述栗褐链霉菌SP6C4菌株的特征在于，对于枝状枝孢菌(Cladosporium cladosporioides)引起的草莓真菌病具有防治效果(韩国授权专利第1695918号)。

[0026] 并且，本发明提供用于植物病害防治的组合物，其包含氨基酸作为有效成分，上述氨基酸为选自由谷氨酸(glutamic acid)、脯氨酸(proline)及色氨酸(tryptophan)组成的组中的一种以上。

[0027] 本发明一实例的用于植物病害防治的组合物还可包含有用菌株或其培养液。

[0028] 在本发明一实例的用于植物病害防治的组合物中，上述有用菌株可以为栗褐链霉菌(Streptomyces badius)菌株，优选地，可以为保藏编号为KCCM11703P的栗褐链霉菌SP6C4(Streptomyces badius SP6C4)菌株，但不限于此。

[0029] 并且，上述植物病害可以为选自由灰霉病、草莓黑星病及枯萎病组成的组中的一种以上，但不限于此。

[0030] 例如，本发明的用于植物病害防治的组合物可以被制备成能够直接喷射的溶液、粉末及悬浮液的形式或高浓缩水性、油性或其他悬浮液、分散液、乳状液、油性分散液、糊剂、粉尘、散播物质或颗粒剂，但不限于此。

[0031] 可将本发明的用于植物病害防治的组合物以多种形式制剂化。在不抑制本发明的上述氨基酸的活性的范畴内可通过添加溶剂和/或载体来制备上述制剂。通常，在制剂中混合非活性添加剂及表面活性物质，例如，乳化剂或分散剂。合适的表面活性物质可以为芳香族磺酸(例如，木质素磺酸、苯酚磺酸、萘及二丁基萘磺酸)、脂肪酸、烷基及烷基芳基磺酸盐、烷基月桂基醚、脂肪醇硫酸盐中的碱金属、碱土金属、铵盐、硫酸己酯、庚基及十八烷醇、脂肪醇乙二醇醚的盐、磺酸萘及其衍生物、甲醛缩合物、萘或萘磺酸、苯酚和甲醛的缩合物、聚氧乙烯辛基酚醚、乙氧基化异辛基、辛基或壬基酚、烷基酚或三丁基苯基聚乙二醇醚、烷基芳基聚醚醇、异十三烷醇、脂肪醇/环氧乙烷缩合物、乙氧基化蓖麻油、聚氧乙烯烷基醚或聚氧丙烯、月桂醇聚乙二醇醚乙酸酯、山梨糖醇酯、木质素亚硫酸废液或甲基纤维素，但不限于此。

[0032] 合适的固体载体物质原则上均为多孔性且在农业上可接受的载体，例如，矿物土类(例如，二氧化硅、硅胶、硅酸盐、滑石、高岭土、石灰岩、石灰、白垩、碗，黄土、粘土类、白云石、硅藻土类、硫酸钙、硫酸镁、氧化镁、粉碎合成材料)、肥料(例如，硫酸铵、磷酸铵、硝酸铵、尿素)、食物性产品(例如，谷物粉末、树皮粉末、木粉(wood meal)、坚果皮粉末)或纤维

素粉末,但不限于此。并且,作为上述固体载体可使用一种或混合两种以上来使用。

[0033] 本发明的用于植物病害防治的组合物可用于灌溉、叶面喷洒、种子消毒或农具消毒,但不限于此。

[0034] 为了促进农作物的吸收效果,本发明的用于植物病害防治的组合物也可与扩散剂和渗透剂或表面活性剂混合使用。

[0035] 并且,本发明提供植物病害防治方法,其包括使用有效量的上述用于植物病害防治的组合物对植物部位、种子或土壤进行处理的步骤。

[0036] 上述植物病害防治方法可通过如下方式执行,即,使用有效量的包含本发明的氨基酸作为有效成分的用于植物病害防治的组合物对植物部位、种子或土壤进行喷雾及喷洒,或通过将植物部位或种子浸渍在上述用于植物病害防治的组合物,但不限于此。上述有用菌株可以为栗褐链霉菌(Streptomyces badius)菌株,优选地,可以为保藏编号为KCCM11703P的栗褐链霉菌SP6C4(Streptomyces badius SP6C4)菌株,但不限于此。

[0037] 在本发明一实例的植物病害防治方法中,当谷氨酸为有效成分时,可以优选对植物体种子涂敷处理15%～25%(w/v)的谷氨酸,优选对植物部位分配处理1%～3%(w/v)的谷氨酸,但不限于此。

[0038] 并且,上述植物病害可以为选自由灰霉病、草莓黑星病及枯萎病组成的组中的一种以上,但不限于此。

[0039] 本发明的"有效量"是指足以产生有益或所期望结果的量,为了防治植物病害,用水将用于防治的组合物稀释均匀后,可利用诸如动力喷洒器之类的合适的喷洒装置对植物体或耕地进行喷洒。

[0040] 以下,通过实施例进一步详细说明本发明。对于本发明所属技术领域的普通技术人员显而易见的是,这些实施例仅用于进一步具体说明本发明,本发明的范畴并不限于此。

[0041] 实施例1.有用菌株的氨基酸成分偏好性第一次筛选

[0042] 在MS培养基(甘露醇20g,大豆20g及琼脂20g/1L蒸馏水)上全面划线接种保藏编号为KCCM11703P的栗褐链霉菌(Streptomyces badius)SP6C4菌株(韩国授权专利第1695918号)的单一菌落,并在28℃的温度条件下培养7日。将1mL的无菌水分配到结束培养并完全形成孢子的培养基中后,通过无菌棉刮取孢子并利用15mL的注射器进行过滤。将已完成的孢子原液通过无菌水稀释成OD_{595}0.2±0.02的浓度后,准备卡拉胶原液(0.2%卡拉胶及50mL蒸馏水),混合1.5mL的孢子原液和13.5mL的0.2%卡拉胶原液并将100μl分配到Biolog板(PM3B MicroPlate™ Nitrogen Sources),利用透明的膜纸密封板后,在28℃的温度条件下放置72小时,随后,向每个孔分配10μl的Redox dye mix MA(Biolog,Hayward,CA)后利用透明膜和保鲜膜进行密封来阻隔CO_2流入,并在37℃的温度条件下分别培养24小时及48小时。最后,涡旋10秒后,每隔1小时用肉眼观察颜色变化持续6小时,颜色越发紫色,便可将其视作菌株的生长优秀。其结果,在95种的氨基酸成分中筛选了表现出最深紫色且对植物和人畜无毒的成分,即,丙氨酸(Alanine)、精氨酸(Arginine)及谷氨酸(Glutamic acid)(图1)。

[0043] 实施例2.作为益生元第一次被筛选的氨基酸的有用菌株的生长促进效果的验证

[0044] 基于上述实施例1的结果,将被判断为偏好性较高的氨基酸中包含无毒的丙氨酸及谷氨酸在内,利用已知能够促进链霉菌菌株的孢子生成的色氨酸(Tryptophan)、在植物处理过程中表现出生长促进作用和减轻压力效果的脯氨酸(Proline)、能够调节对链霉菌

菌株的生存产生影响的PH的天冬酰胺(Asparagnie)、作为对照组(control)的基本培养基(Basal media)来再次验证菌株的生长促进效果。向10μl的栗褐链霉菌SP6C4菌株孢子原液(105cfu/mL)添加80μl的无菌水后,混合10μl的2%浓度的氨基酸并在28℃的温度条件下利用振荡培养器进行培养,并在OD_{600}中以24小时为间隔持续5天测定了SP6C4菌株的生长。在培养的第5天测定的SP6C4菌株的生长结果如图2所示,当仅向对照组添加基本培养基进行培养时,OD_{600}值为0.5,相反,当分别添加谷氨酸、色氨酸及脯氨酸进行培养时,OD_{600}值为0.9至1.8,由此可确认到增殖显著增加,尤其,在谷氨酸处理组的情况下,随着菌株的持续增殖,最终在OD_{600}中表现出最高1.8的增殖效果(图2)。

[0045] 实施例3.被筛选为益生元的三种氨基酸对灰霉病及黑星病的发病率抑制能力的验证

[0046] 在草莓田间试验中,观察了作为实验组的氨基酸(谷氨酸、脯氨酸及色氨酸)处理和作为阴性对照组的天冬酰胺对于灰霉病及花菌病的发病率产生的影响。具体地,在草莓栽培期间以两周为间隔进行实验,将5M长度指定为一个区间,重复侧面喷洒三个区间。在各个区间随机指定100个草莓并确认发病率。处理方法为通过15L蒸馏水将各个氨基酸稀释成2%浓度并对每个区间喷洒5L,处理期间为每隔2周处理8次。其结果,如图3所示,经确认,在灰霉病的情况下,在8次处理期间,在无处理组(control)表现出35%的发病率,在作为阴性对照组的天冬酰胺处理组的情况下,表现出约25%的发病率。相反,发病率以作为实验组的谷氨酸、脯氨酸及色氨酸的顺序减少,尤其,在谷氨酸处理组中表现出了小于15%的最低发病率(图3)。

[0047] 并且,通过与上述灰霉病相同的处理组和相同实验重复数量执行了黑星病防治实验。其结果,在无处理组(control)表现出高达50%的最高发病率,随后在天冬酰胺处理组表现出约40%的发病率,相反,在色氨酸、脯氨酸及谷氨酸处理组表现出约小于20%的发病率,尤其,在谷氨酸处理组表现出约10%的发病率,由此,相比于无处理组,可确认到黑星病发病率显著减少(图4)。

[0048] 实施例4.被筛选为益生元的三种氨基酸处理对于有用菌株的密度维持的验证

[0049] 为了验证氨基酸处理对有用菌株的密度维持效果,在上述实施例3的草莓田间试验中,在进行灰霉病发病抑制实验的各个处理时期重复3次采集3个花器官。随后,通过低温保管移送至实验室后,向30mL的1×PBS缓冲液放入3个花器官并进行10分钟的超声波处理。以13000rpm的速度将3mL的上清液离心分离10分钟后,丢弃1mL的上清液,将剩余2mL的上清液溶解颗粒后,将其500μl与500μl的CTAB缓冲液进行混合来提纯DNA。利用栗褐链霉菌SP6C4菌株的lanM基因特异性引物(正向:5'-gtacggatctgcaccacga-3'(序列编号1)、反向:5'-aacagggtctccacatcgac-3'(序列编号2))对各个DNA进行定量聚合酶链反应(qPCR,quantitative polymerase chain reaction)。其结果,如图5所示,经确认,在谷氨酸处理组的8次处理期间,除第一次处理以外,微生物的浓度持续维持在10^5cfu/ml以上。

[0050] 实施例5.将被筛选为益生元的谷氨酸涂敷在植物体种子后的枯萎病防治能力的验证

[0051] 利用20%(w/v)的谷氨酸浓缩液和用作展着剂的1%(w/v)的羧甲基纤维素(CMC,Carboxyl methyl cellulose)浓缩液制备其含量分别为2%和0.1%的混合液。利用70%(v/v)的乙醇和1%(v/v)的次氯酸钠(Sodium hypochlorite)将40粒～50粒表面无菌的番

茄种子放入1ml的混合液并在常温条件下在灭菌柜内干燥12小时。随后,向宽度为3cm及长度为3cm的正方形试管接种1粒～2粒已涂敷的种子,将作为枯萎病致病菌的尖孢镰刀菌(Fusarium oxysporum)孢子以105×1.0CFU/mL的浓度分配3ml。将完成种子与病原菌接种的处理组放入设定为光期16小时的温度为28℃、暗期8小时的温度为25℃的植物生长箱后,在第三天(早期)和第十天(晚期)确认枯萎病发病率。作为对照组对无处理组和仅处理病原菌的组分别重复执行10次。其结果,如图6所示,在早期(Early time)仅处理病原菌的组表示出约50%的枯萎病发生率,在经过10日(Late time)后的仅处理病原菌的组表示出100%的枯萎病发病率。相反,在无处理组和一同处理谷氨酸及病原菌的组中未发生枯萎病。由此可知,当利用被筛选为益生元的谷氨酸对种子进行处理时,可有效抑制枯萎病的初期发病。

[0052] 实施例6.利用谷氨酸对植物体的地下部处理而表现出的对枯萎病防治能力的验证

[0053] 每隔5日利用2%谷氨酸溶液对在地上生长到8cm～10cm尺寸的番茄植物体进行分配处理2次。并且,通过血球计数器在以土壤接种原形式制备的枯萎病原菌的悬浮液中观察厚垣孢子(Chlamydospore),经确认,孢子的浓度为$10^{5\sim6}$×1.0CFU/ml。用灭菌的5ml针头在10日期间用谷氨酸处理2次的植物体的地下部扎出伤口后,将10ml的孢子悬浮液分配到直径为9cm的试管。将接种病原菌的植物体放入设定为光期16小时的温度为28℃、暗期8小时的温度为25℃的生长箱后,每隔一周确认发病率。作为对照组对仅处理病原菌的组和无处理的植物体重复执行5次。其结果,如图7所示,经确认,在第一次处理病原菌后2周期间,在病原菌处理组和无处理组及一同处理病原菌和谷氨酸的组中未能观察到发病率上的较大差异。但是,从第4周开始,在病原菌处理组的发病率达到100%,在无处理组为0%,在一同处理病原菌和谷氨酸的组中的发病率小于15%。由此可确认到,当首先利用谷氨酸对植物体的根圈进行处理时,可有效抑制枯萎病的发生。

<110> 庆尚国立大学校产学协力团
<120> 用于利用益生元促进有用菌株的生长及植物病害防治的组合物及其用途
<130> KHP212110700.4
<160> 2
<170> KoPatentIn 3.0
<210> 1
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 引物
<400> 1
gtacggatct gcaccacga 19
<210> 2
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 引物
<400> 2
aacagggtct ccacatcgac 20

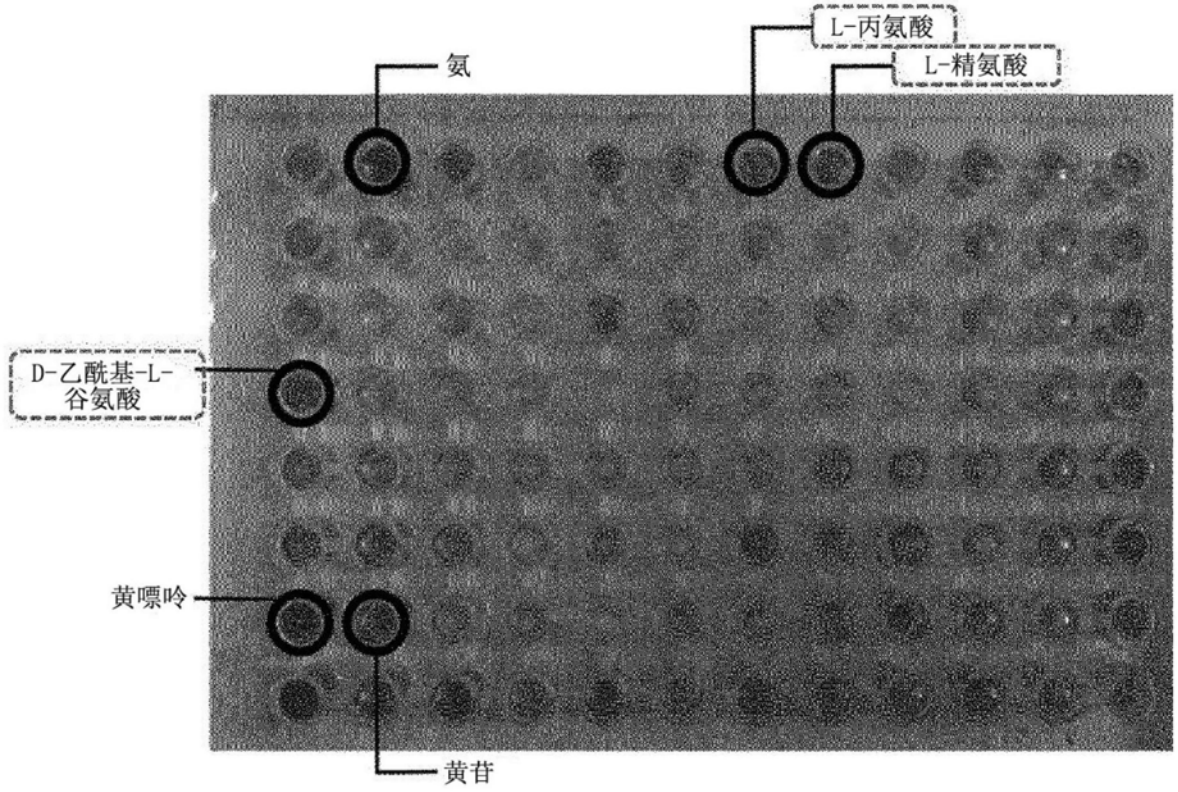


图1

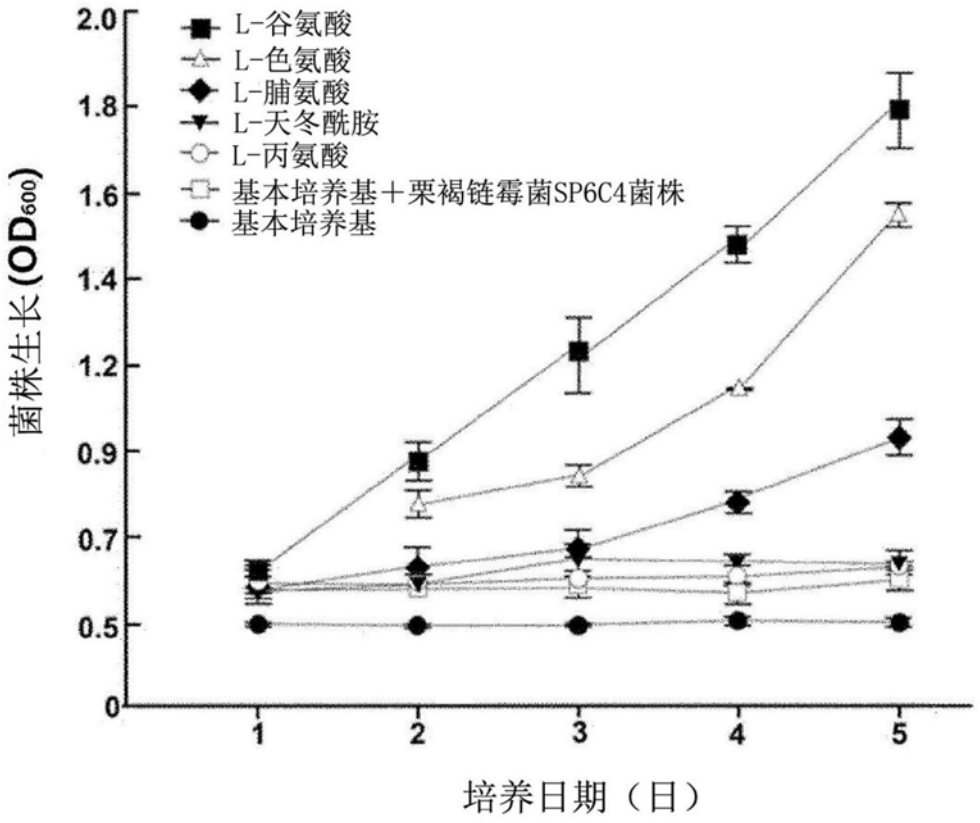

L-谷氨酸
L-色氨酸
L-脯氨酸
L-天冬酰胺
L-丙氨酸
基本培养基＋栗褐链霉菌SP6C4菌株
基本培养基
菌株生长 (OD600)
2.0
1.8
1.6
1.4
1.2
0.9
0.7
0.5
0
1
2
3
4
5
培养日期（日）

图2

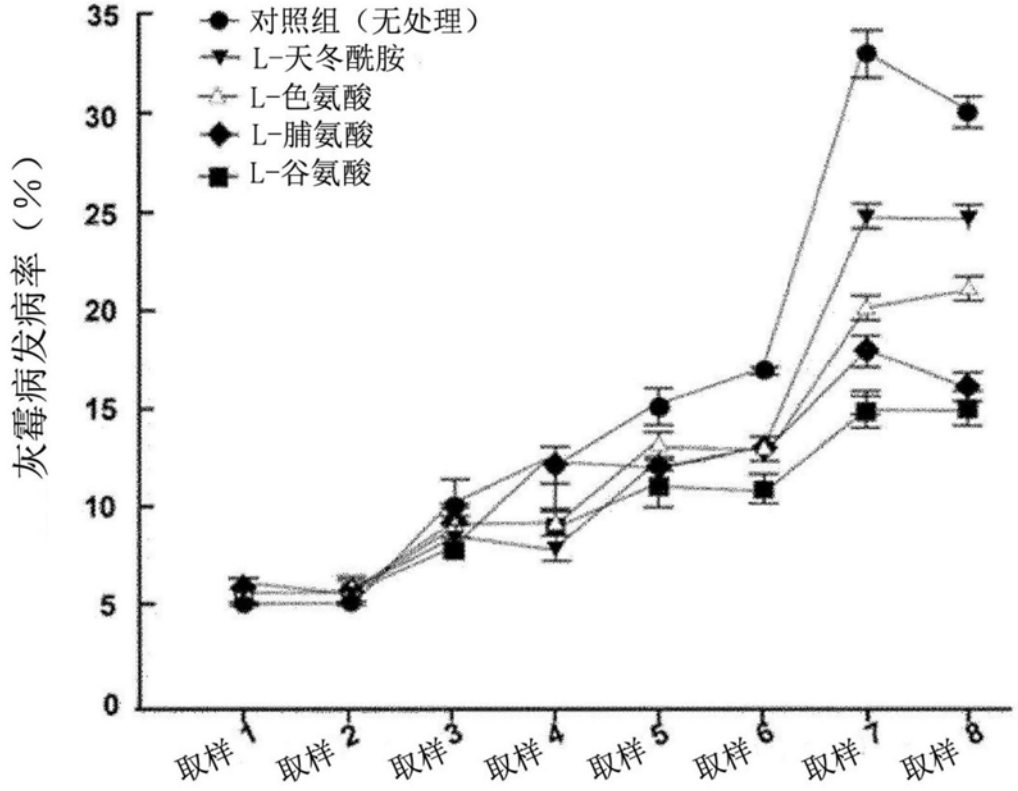

对照组（无处理）
L-天冬酰胺
L-色氨酸
L-脯氨酸
L-谷氨酸
灰霉病发病率（%）
35
30
25
20
15
10
5
0
取样1
取样2
取样3
取样4
取样5
取样6
取样7
取样8

图3

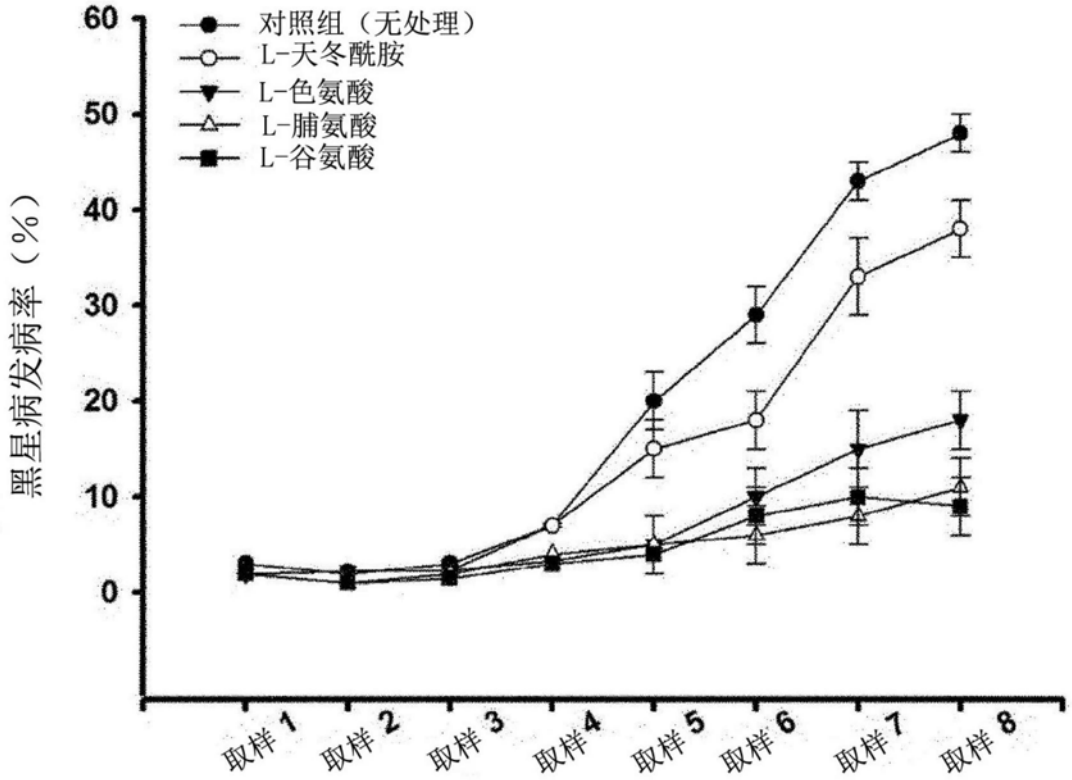

对照组（无处理）
L-天冬酰胺
L-色氨酸
L-脯氨酸
L-谷氨酸
黑星病发病率（%）
60
50
40
30
20
10
0
取样1
取样2
取样3
取样4
取样5
取样6
取样7
取样8

图4

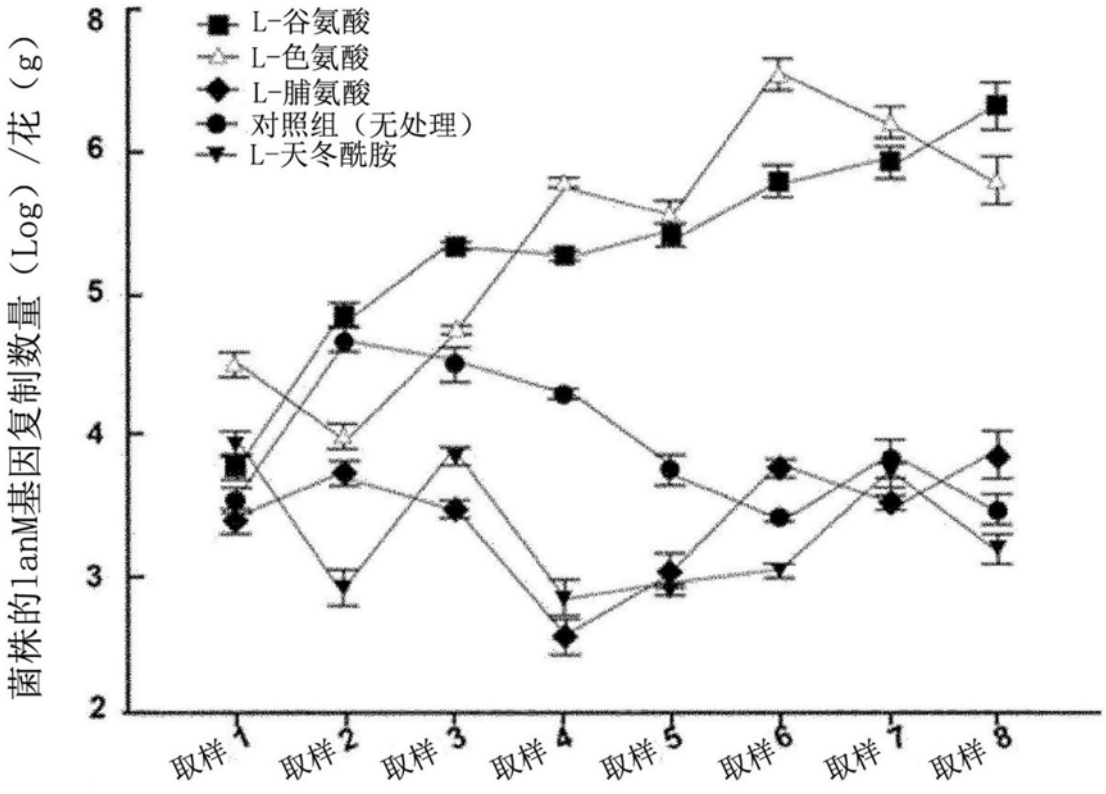

L-谷氨酸
L-色氨酸
L-脯氨酸
对照组（无处理）
L-天冬酰胺
菌株的1anM基因复制数量（Log）/花（g）
8
6
5
4
3
2
取样1
取样2
取样3
取样4
取样5
取样6
取样7
取样8

图5

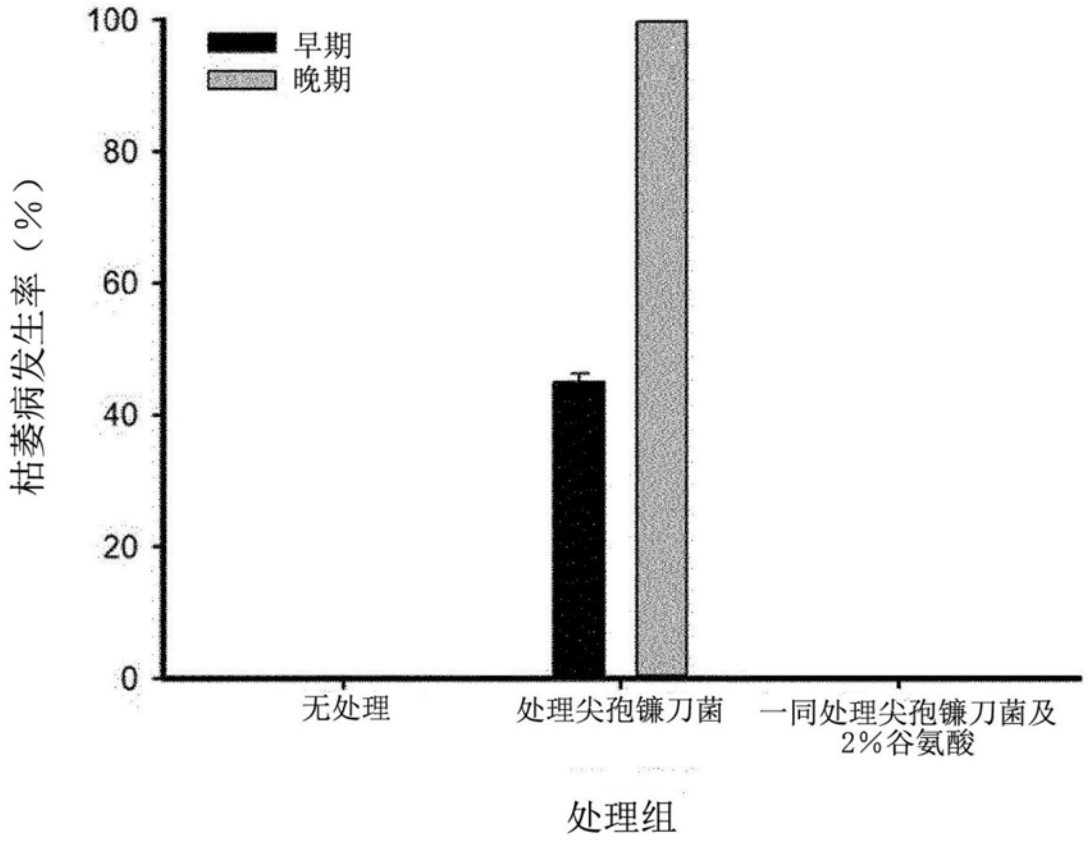


图6

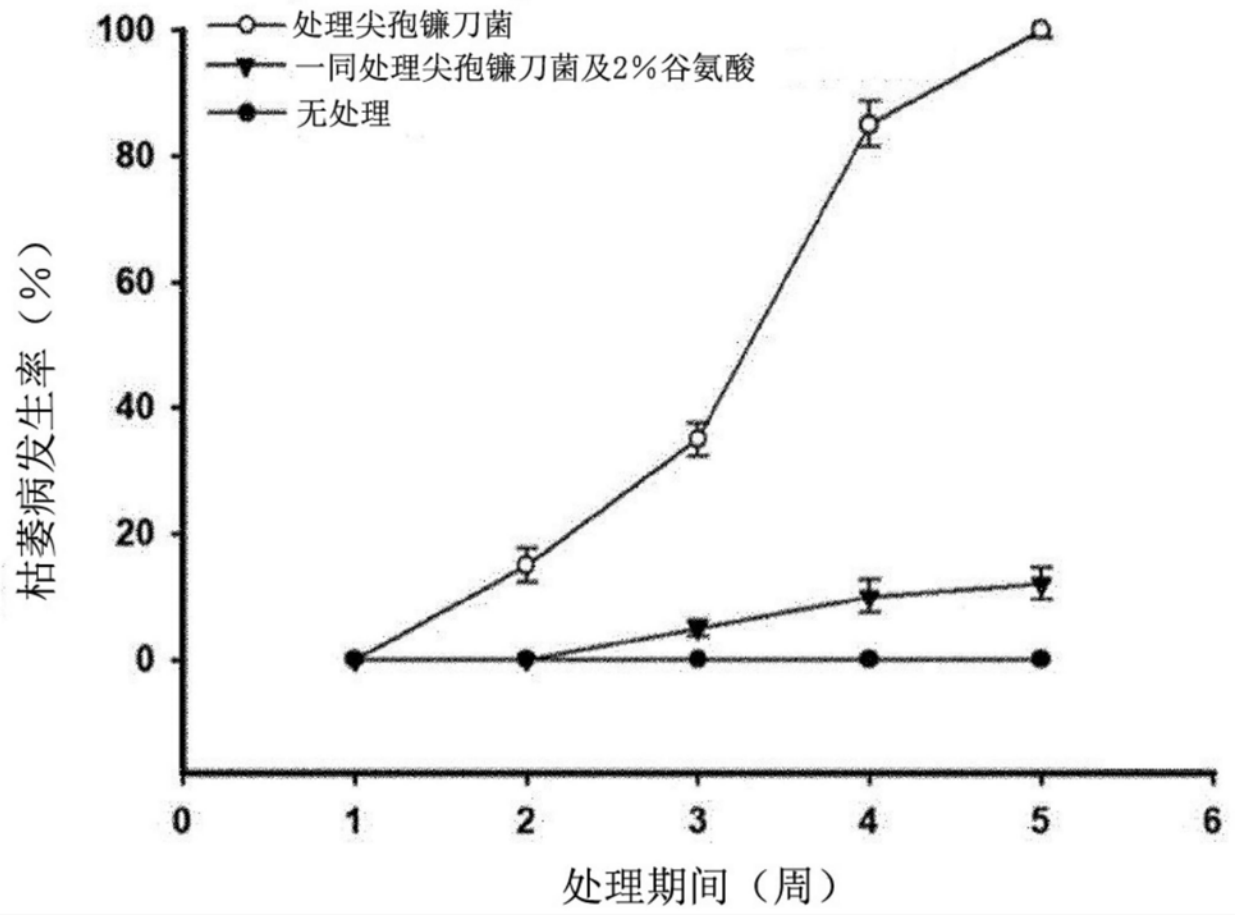

处理尖孢镰刀菌
一同处理尖孢镰刀菌及2%谷氨酸
无处理
枯萎病发生率（%）
100
80
60
40
20
0
0
1
2
3
4
5
6
处理期间（周）

图7