

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 200710063519.4

[51] Int. Cl.

C12N 1/20 (2006.01)
A01N 63/02 (2006.01)
A01P 3/00 (2006.01)
C12R 1/38 (2006.01)

[45] 授权公告日 2009年8月26日

[11] 授权公告号 CN 100532542C

[22] 申请日 2007.2.2

[21] 申请号 200710063519.4

[73] 专利权人 中国农业大学

地址 100094 北京市海淀区圆明园西路2号

[72] 发明人 王慧敏 郭岩彬 陈凡 郑辉
王建辉 杨毅玲 李金云 王远宏

[56] 参考文献

CN1177037C 2004.11.24

JP2004346028A 2004.12.9

灰霉病生物防治研究进展. 童蕴慧, 纪兆林, 徐敬友, 陈夕军. 中国生物防治, 第19卷第3期. 2003

审查员 滕蕾

[74] 专利代理机构 北京路浩知识产权代理有限公司

代理人 王朋飞

权利要求书1页 说明书11页 附图2页

[54] 发明名称

皱褶假单胞菌 P94 及其应用

[57] 摘要

本发明提供了一种皱褶假单胞菌 (*Pseudomonas corrugata*) 新菌株 P94 GMCC No. 1895 分离于北京远郊番茄温室大棚土壤, 该菌株产生与抗菌相关的 HCN、蛋白酶及与植物促生相关的磷酸脂酶和生长素 (IAA)。对部分植物病原真菌 (*Botrytis cinerea*、*Ceratocystis fimbriata*、*Monilinia laxa*、*Magnaporthe grisea*、*Pythium aphanidermatum*、*Phytophthora capsici*)、部分植物病原细菌 (*Pseudomonas syringae*、*Acidovorax avenae*、*Ralstonia solanacearum*) 有平板抑制作用。以温室番茄和黄瓜为指示植物检测了 P94 对灰霉病的防治效果, 结果表明, P94 对番茄灰霉病和黄瓜灰霉病均有较好的防治效果, 防效分别为 86.3% 和 78.4%, 并对番茄和黄瓜有良好的促生作用, 能提高产量 22% ~ 28%。

-
- 1、皱褶假单胞 (*Pseudomonas corrugata*) P94 CGMCC NO.1895。
 - 2、含有权利要求 1 所述菌株的生物农药。
 - 3、含有权利要求 1 所述菌株的菌剂。
 - 4、权利要求 1 所述菌株在防治蔬菜灰霉病中的应用。
 - 5、如权利要求 4 所述的应用，其特征在于所述的蔬菜为番茄或黄瓜。
 - 6、权利要求 1 所述菌株在植物促生中的应用。
 - 7、权利要求 1 所述菌株在蔬菜栽培中的应用。
 - 8、如权利要求 7 所述的应用，其特征在于所述的蔬菜为番茄或黄瓜。

皱褶假单胞菌 P94 及其应用

技术领域

本发明涉及一株微生物新菌株及其应用，具体地说是皱褶假单胞菌 P94 及其在植物促生、病害生物防治中的应用。

背景技术

由灰葡萄孢侵染引起的蔬菜灰霉病是一种全球性分布的重要植物病害。对茄果类、浆果类、瓜类的产量造成重大损失。自 20 世纪 80 年代以来，随着我国保护地面积的不断扩大，蔬菜灰霉病危害日趋严重。大棚的小气候环境十分有利于蔬菜灰霉病的发生，成为我国保护地蔬菜的最重要的病害之一。病原菌葡萄孢多从开放的残花侵入，引起花瓣腐烂，并长出一层灰褐色霉层，再向幼果扩展，病部呈水浸状，逐渐腐烂呈黄褐色，表面密生霉层，严重时导致多半果实腐烂。低温、高湿、光照不足、通气不良均有利于灰霉病的发生。

目前生产上蔬菜灰霉病主要依赖化学防治控制。用于防治蔬菜灰霉病的杀菌剂主要有三类：苯并咪唑类、二甲酰胺类、N-苯氨基甲酸酯类。自 20 世纪 70 年代以来，相继采用苯并咪唑类如多菌灵、甲基托布津、苯来特等；二甲酰胺类如腐霉利、异菌脲、菌核净等；氨基甲酸酯类如乙霉威等多种杀菌剂防治灰霉病。但由于频繁大剂量使用这些杀菌剂，并且葡萄孢遗传变异大，适应性强，葡萄孢已对常用的多种药剂产生了不同程度的抗性，导致防治效果下降。在蔬菜作物上，除了抗药性的问题，化学杀菌剂的使用也引起了环境、食品安全、残留、药害等多种问题。苯并咪唑类在许多国家和地区已经限制使用，上世纪 70 年代以来人们开始关注利用有益微生物防治蔬菜灰霉病。目前，用于防治蔬菜灰霉病的生防真菌近十多种，

研究和应用较广的主要是木霉和酵母等, 如绿色木霉 (*Trichoderma viride*)、哈茨木霉 (*Trichoderma harzianum*)、拟康木霉 (*Trichoderma pseudokoningii*)、木素木霉 (*Trichoderma lignorum*)、出芽梗短霉 (*Aureobasidium pullulans*)、浅白隐球酵母 (*Cryptococcus albidus*)、胶粘红酵母 (*Rhodotorula glutinis*)、粘帚霉 (*Gliocladium sp.*)、链孢粘帚霉 (*Gliocladium catenulatum*) 等; 研究和应用于蔬菜灰霉病的生防细菌有十多种, 主要有芽孢杆菌 (*Bacillus sp.*)、枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*)、多粘芽孢杆菌 (*Bacillus polymyxa*)、地衣芽孢杆菌 (*Bacillus licheniformis Bacillus*)、乳芽孢杆菌 (*Lactobacillus sp.*)、短体芽孢杆菌 (*Bacillus pumilus*)、嗜麦芽黄单胞菌 (*Xanthomonas maltophilia*)、荧光假单胞菌 (*Pseudomonas fluorescens*) 等; 放线菌链霉菌科链霉菌属产生的武夷菌素 (wuyiencin)、磷氮霉素 (phosphazomyzin)、白肽霉素 (albopeptin)、变构霉素 (tautomycin)、变构菌素 (tautomycetin) 和鱼时霉素 (ezomycin S) 等抗生素对灰霉病均有较好的防治效果。但利用皱褶假单胞应用于蔬菜灰霉病防治的报道国内外均未见报道。

发明内容

本发明的目的在于提供一种皱褶假单胞新菌株 P94 及其在植物促生和病害生物防治中的应用。

本发明菌株 P94 是从北京远郊番茄温室大棚土壤中分离得到的皱褶假单胞 (*Pseudomonas corrugata*) 新菌株。已于 2006 年 12 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), 保藏号 CGMCC NO.1895。

P94 具体通过如下方法分离得到: 从北京远郊番茄温室大棚采集土样, 取 10g 加入内装 100 ml 无菌生理盐水的三角瓶中, 28℃, 120rpm 摇床震荡 15 min, 静止 10 min 后, 取 500 μl 加入 4.5 ml 无菌生理盐水中, 再依次稀释 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} 倍, 分别取以上土壤悬

浮液 100 μ l 在 NA 培养基(牛肉膏 5 g/l, 蛋白胨 10 g/l, NaCl 5 g/l, 琼脂 15 g/l)平板上均匀涂板, 超静工作台内吹干, 每个浓度重复 3 次, 28 $^{\circ}$ C 温箱内培养 36 h, 用无菌牙签挑取细菌单菌落划线纯化后, 以灰霉病菌为靶标菌, 利用平板对峙法进行拮抗菌的初步筛选; 对获得的拮抗菌摇瓶发酵后检测温室防病效果, 最终筛选出性状优良的生防菌株皱褶假单胞 (*Pseudomonas corrugata*) P94。

综合皱褶假单胞 (*Pseudomonas corrugata*) P94 的形态学特征、生理生化特性、16S rDNA 序列和特异性引物分析的结果, 将其鉴定为皱褶假单胞菌基因 II 型。

研究表明, P94 能产生与抗菌相关的 HCN、蛋白酶及与植物促生相关的磷酸脂酶和生长素 (IAA), 对部分植物病原真菌和细菌具有抑制作用, 对灰霉病具有良好的防治作用, 并且具有植物促生作用, 能够提高植物产量。

本发明还提供了 P94 的发酵培养方法, 包括步骤:

1、菌种活化

使用 KB 培养基, 培养基配方为: 蛋白胨 20g/l, 甘油 10ml/l, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1.5g/l, K_2HPO_4 1.5g/l, 琼脂 15g/l。将皱褶假单胞 P94 接种于 KB 培养基斜面上, 28 $^{\circ}$ C 培养 48h。

2、种子液的培养

种子培养用 AY 培养基, AY 培养基的组成: 蔗糖 8-10 g/L, 酵母膏 2-4g/L, NaCl 0.5-1 g/L, KH_2PO_4 0.3-0.5 g/L, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1-1.5 g/L, $(NH_4)_2SO_4$ 3-5g/L, pH 值为 7.0-7.2。将活化好的皱褶假单胞 P94 用无菌生理盐水配制成 10^8 cfu/ml 的菌悬液, 以 0.1% 的接种量接种于 AY 液体培养基中, 28 $^{\circ}$ C 摇床震荡培养, 转速为 150-200rpm, 培养时间为 44-48h。

3、发酵罐发酵

发酵培养基组成为: 葡萄糖 4-6 g/L, 淀粉 5-8 g/L, 黄豆粉 5-8

g/L, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 5-10 g/L, KH_2PO_4 0.5-1 g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5-0.8 g/L, CaCO_3 1-1.5 g/L, pH 值为 7.0-7.5。把培养好的种子液以 2% 的接种量接入发酵罐中, 28°C, 搅拌速度为 180rpm, 通气量为 1: 0.6-0.8(发酵液体积: 每分钟通气量体积)、罐压 1.5-2.0F/cm²。发酵 48 h 菌量达到 $5-10 \times 10^8$ cfu/ml 得到皱褶假单胞 P94 菌液。

本发明在发酵培养中, AY培养基是最适合本发明菌株生长的培养基, 发酵用培养基是考虑发酵成本菌量以及产生抗生物质筛选出的。

本发明还包括含有所述菌株的菌剂。

本发明菌株 P94 能产生与抗菌相关的 HCN、蛋白酶及与植物促生相关的磷酸脂酶和生长素 (IAA), 对部分植物病原真菌和细菌具有抑制作用, 对灰霉病具有良好的防治作用, 对番茄灰霉病和黄瓜灰霉病的防效分别为 86.3% 和 78.4%; 并且具有良好的植物促生作用, 能够提高植物产量, 能提高番茄和黄瓜产量 22%~28%。

附图说明

图 1 是 P94 电镜照片(生长 18 hr; $\times 20000$);

图 2 是用特异性引物 PCR 扩增 *P. corrugata* P94 基因组的结果。
1, Marker; 2, 阴性对照; 3, 以 *P. corrugata* P94 基因组为模板;

图 3 是 P94 蛋白酶活性检测;

图 4 是 P94 产 HCN 的检测, 左为 P94 右为阴性对照;

图 5 是 P94 磷酸脂酶的活性检测。

具体实施方式

下面实施例用于对本发明的进一步说明, 但不用来限制本发明的范围。

实施例 1 P94 的鉴定

综合皱褶假单胞 (*Pseudomonas corrugata*) P94 CGMCC NO.1895 的形态学特征、生理生化特性、16SrDNA 序列和特异性引物分析的结果, 将其鉴定为皱褶假单胞菌基因 II 型。具体鉴定结果如下:

1、菌体的形态特征

革兰氏染色阴性，在 PDA 培养基上产生黄绿色可溶性非荧光色素，菌落兰绿色；在 KB 培养基上色素产生较少，菌落淡黄绿色。电子显微镜观察，菌体长椭圆形，大小 $0.7 \times 1.8 \mu\text{m}$ ，不少于两根极生鞭毛（见图 1）。

2、生理生化特性

皱褶假单胞 P94 生理生化特性如表 1 所示。

表 1. P94 生理生化特性

特性	结果	特性	结果
革兰氏反应	-	L-鼠李糖	-
KB 上产荧光	-	蔗糖	+
果聚糖产生	-	纤维二糖	-
氧化酶	+	麦芽糖	-
精氨酸双水解	+	海藻糖	+w
淀粉水解	-	肌糖	-
明胶水解	+	阿拉伯醇	-
脓青素	-	赤藻糖醇	-
七叶灵利用	-	山梨醇	-
果胶酸盐液化	-	核糖醇	-
硝酸盐还原	+	甘露醇	+w
卵磷脂酶	+	D-木糖	-
脂肪酶	-	苹果酸盐利用	+
PHB 积累	+	丙二酸盐利用	+
厌氧生长	-	葡萄糖酸盐利用	+
过氧化氢酶	+	苯甲酸盐利用	-
脲酶	+	富马酸盐利用	+
H ₂ S 产生	-	草酸盐	-
过敏性坏死反应	-	琥珀酸盐	+
碳源利用		meso-酒石酸盐	+
D-核糖	+	高丝氨酸	+
D-葡萄糖	+	腐胺	+
D-果糖	+	苏氨酸	+
D-半乳糖	+	组胺	+
D-阿拉伯糖	-		

注：+，阳性反应；-，阴性反应；w，反应较弱。

3、16SrDNA 序列分析

方法是：提取 P94 的基因组，用 16S 扩增通用引物 63F 5'-CAGGCCTAACACATGCAAGTC-3' 和 1494R 5'-GGYTACCTTGT TACGACTT-3'。在如下 PCR 体系中扩增：50 μ l 扩增体系，10 pmol 引物，0.2 mM dNTP, 1.5 mM $MgCl_2$, 2.5 U Taq DNA 聚合酶 (TaKaRa), 1 \times PCR buffer (TaKaRa), 25 ng 基因组 DNA 作模板。PCR 反应条件为：94 $^{\circ}C$ 5 min 预变性, 94 $^{\circ}C$ 变性 30 s, 56 $^{\circ}C$ 退火 30 s, 72 $^{\circ}C$ 延伸 1 min, 30 个循环后 72 $^{\circ}C$ 充分延伸 5 min。PCR 扩增产物用 1% 的琼脂糖凝胶电泳分析，用 OMEGA 公司的纯化试剂盒 Gel Extraction Kit 纯化回收后连接 TaKaRa 公司的 T 载体 pMD18-T。在 Invitrogen 公司用 ABI 3730 DNA 测序仪进行测序，核苷酸序列如序列表 SEQ ID NO.1 所示，基因序列已经提交 GenBank，基因收录号为：EF153018。用 BLAST 程序在 GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 相应序列比对的结果表明 P94 的 16SrDNA 序列与目前发表的皱褶假单胞相关菌株相比相似性最高，达到 99%。

4、特异性引物分析

用特异性引物 PC 1/1 (5'- GGATATGAGCCAGGTCTTCG -3') 和 PC 1/2 (5'- CGCTCAAGCGCGACTTCAG -3'), PC 5/1 (5'- CCACAGGACAACATGTCCAC -3') 和 PC 5/2 (5'- CAGGCGCTTTCTGGAACATG -3'), 可以将皱褶假单胞 *Pseudomonas corrugata* 分为两个基因群 (group I or group II), 扩增条带为 1100 bp 是 group I, 扩增条带为 600 bp 为 group II。PCR 反应体系为：25 μ l 反应体系，20 ng 基因组 DNA, 1 \times PCR buffer (TaKaRa), 1.5 mM $MgCl_2$, 20mM of dNTP (TaKaRa), 四条特异性引物 (每条引物浓度为 10 pmol) and 2.5 U Taq DNA 聚合酶(TaKaRa)。

PCR 反应条件为：94℃ 5 min 预变性，94℃变性 30 s，62℃退火 1 min，72℃延伸 90 s，30 个循环后 72℃充分延伸 5 min。PCR 扩增产物用 1%的琼脂糖凝胶电泳分析，条带大小为 600bp（如图 2）。结果表明皱褶假单胞 P94 属于皱褶假单胞基因群 II。

实施例 2 抑菌谱分析

对病原真菌的平板抑制检测方法：用打空器打取 5 mm 直径的靶标病原真菌接种于 PDA 平板中央，P94 与靶标菌成 180°接种于靶标病原真菌两测 2.5 cm 处，25℃培养 4 到 6 天后测量病原真菌菌落直径。以接种靶标真菌而不接种 P94 的平板为对照。抑制生长率按照如下公式计算：

$$\text{抑制生长率} = (C-T)/C \times 100\%$$

C: 对照真菌生长直径

T: 接种P94后真菌生长直径

对病原细菌平板抑制检测方法：用双层培养法检测皱褶假单胞 P94 对病原细菌的抑制情况。用 KB 培养基活化 P94 后用生理盐水配成 10^8 cfu/ml 的菌悬液，用移液枪吸取 5 μ l 接种于 KB 平板中央，培养 48 h 后用 3 ml 的氯仿以其蒸汽杀死菌体。将活化好的靶标细菌配成 10^8 cfu/ml 的菌悬液，吸取 50 μ l 菌悬液加入到加入 3ml 融化后冷却到 50⁰C 的水琼脂（0.7%琼脂，pH7.0）中，迅速混匀，立即倒入三氯甲烷杀死 P94 菌体的培养基上，铺成均匀的薄层，28⁰C 培养 36 小时，观察抑菌圈的情况。

P94 对病原真菌平板抑制结果如表 2 所示。

表 2. P94对病原真菌平板抑制

植物病原真菌	抑制生长率 (%)	
	4 d	6 d
<i>Botrytis cinerea</i>	34±7.1 ^a	62±2.5
<i>Ceratocystis fimbriata</i>	50±5.3	68±2.6
<i>Monilinia laxa</i>	49±4.3	66±0.9
<i>Magnaporthe grisea</i>	35±0.7	42±1.2

<i>Pythium aphanidermatum</i>	22±3.6	44±2.3
<i>Phytophthora capsici</i>	32±1.2	40±2.4
<i>Alternaria solani</i>	— ^b	—
<i>Rhizoctonia cerealis</i>	—	—
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cucumerinum</i>	—	—
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>vasinfectum</i>	—	—
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lilii</i>	—	—

注：^a表示标准差；^b-表示没有抑制作用

P94 对病原细菌平板抑制结果如表 3 所示。

表 3. P94对病原细菌平板抑制

病原细菌	抑菌圈直径 (mm)
<i>Pseudomonas syringae</i>	25±0.56 ^a
<i>Acidovorax avenae</i>	28±0.78
<i>Ralstonia solanacearum</i>	22±0.32
<i>Xanthomonas oryzae</i>	0.0±0.00
<i>Xanthomonas campestris</i>	0.0±0.00
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	0.0±0.00
<i>Agrobacterium rhizogenes</i>	0.0±0.00
<i>Agrobacterium vitis</i>	0.0±0.00

注：a 表示标准差。

实施例 3 生防相关性状检测

蛋白酶检测：用脱脂牛奶平板(胰蛋白胨 5g, 酵母抽提物 2.5g, 葡萄糖 1g, 7%的脱脂牛奶 250ml, 琼脂 15g, 用水补足至 1000ml) 检测蛋白酶。将 P94 接种到平板中央, 28℃培养 72 h, 菌落周围有透明圈出现表示蛋白酶阳性(见图 3)。

HCN 检测：HCN 检测试纸准备, 10mg copper (II) ethyl acetoacetate 和 10mg 4, 4'-methylenebis-(N,N-dimethylaniline) 溶于 4ml 的氯仿中, 剪切 Whatman 滤纸条, 浸泡于配制好的溶液中, 氯仿挥发完全后就制备成了 HCN 检测试纸。在含有 1ml KB 培养基的离心管中穿刺接种 P94, HCN 检测试纸悬于离心管中, 28℃培养 36 h, HCN 检测试纸显示蓝色, 表明 P94 产生 HCN(见图 4)。

IAA 检测：P94 接种于 NA 培养基(蛋白胨 5g/l, 酵母抽提物

1.5g/l, 牛肉膏 1.5g/l, NaCl 5g/l) 和添加 0.5 g/l 色氨酸 NA 培养基中 28℃ 摇培 4d 后, 取样 5ml, 12000 rpm 离心 10 min, 取 2ml 上清, 加入 100 μ l 的 10 mM 正磷酸, 4 ml 检测液 (1 ml 的 0.5 M FeCl_3 溶于 50 ml of 35% HClO_4) 室温反应 25 min 后用分光光度计测 530 nm 处光吸收。用纯品 IAA 配制溶液测量标准吸收曲线, 并计算 P94 产生 IAA 的量。结果: P94 在含有色氨酸的 NA 培养基中产生 IAA 的浓度为 15.97 $\mu\text{g/ml}$, 在不含有色氨酸的 NA 培养基中产生 IAA 的浓度为 6.97 $\mu\text{g/ml}$ 。

磷酸酯酶活性测定: 用 Pikovskaya's 平板检测磷酸酯酶活性。Pikovskaya's 平板配制方法为: 酵母抽提物 0.5 g/l, 葡萄糖 10 g/l, 磷酸钙 5 g/l, 硫酸铵 0.5 g/l, 氯化钾 0.2 g/l, 氯化镁 0.1 g/l, 硫酸锰 0.0001 g/l, 硫酸亚铁 0.0001 g/l, 琼脂 15 g/l。把 P94 接种于 Pikovskaya's 平板中央, 28℃ 培养 7d, 在菌落周围出现透明圈, 这表明 P94 具有磷酸酯酶活性 (见图 5)。

实施例 4 发酵生产

1、菌种活化

使用 KB 培养基, 培养基配方为: 蛋白胨 20g/l, 甘油 10ml/l, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.5g/l, K_2HPO_4 1.5g/l, 琼脂 15g/l。将 P94 接种于 KB 培养基斜面上, 28℃ 培养 48h。

2、种子液的培养

种子培养用 AY 培养基, AY 培养基的组成: 蔗糖 9 g/L, 酵母膏 3 g/L, NaCl 0.8 g/L, KH_2PO_4 0.4 g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.2 g/L, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 3-5 g/L, pH 值为 7.1。将活化好的皱褶假单胞 P94 用无菌生理盐水配制成 10^8 cfu/ml 的菌悬液, 以 0.1% 的接种量接种于 AY 液体培养基中, 28℃ 摇床震荡培养, 转速为 150-200rpm, 培养时间为 44-48h。

3、发酵罐发酵

发酵培养基组成为: 葡萄糖 5 g/l, 淀粉 6.5 g/l, 黄豆粉 7 g/l,

(NH₄)₂SO₄ 7 g/L, KH₂PO₄ 0.8 g/L, MgSO₄·7H₂O 0.65 g/L, CaCO₃ 1.3 g/L, pH 值为 7.2。把培养好的种子液以 2% 的接种量接入发酵罐中, 28℃, 搅拌速度为 180rpm, 通气量为 1: 0.6-0.8(发酵液体积: 每分钟通气量体积)、罐压 0.05MPa。发酵 48 h 菌量达到 5-10×10⁸cfu/ml 得到皱褶假单胞 P94 菌液。

实施例 5 防效与促生

以温室番茄和温室黄瓜为植物材料检测 P94 对番茄灰霉病和黄瓜灰霉病的防治效果。番茄灰霉病菌和黄瓜灰霉病菌在 PDA 平板上 28℃ 培养 7 d, 黑光灯诱导 7 d 产孢, 用无菌生理盐水洗脱孢子, 用血球计数板调整孢子浓度到 10⁷ 个孢子每毫升。试验设计 5 个处理。将发酵好的 P94 发酵液稀释两倍喷施于番茄和黄瓜上, 等叶面干燥后喷施灰霉病孢子, 塑料薄膜保湿, 湿度控制 80% 以上, 环境温度控制为 21℃ ~ 23℃。于接种后 7 天调查结果。试验结果表明 P94 对番茄灰霉病和黄瓜灰霉病防治效果分别达到 86.3% 和 78.4%。喷施皱褶假单胞 P94 菌剂的番茄和黄瓜生长明显优于对照植株, 称量番茄和黄瓜的鲜重, 发现喷施 P94 的番茄和黄瓜生长量提高 22%~28%。P94 对瓜果腐霉、辣椒疫霉、茄科青枯等蔬菜病害有潜在的生防作用。

序 列 表

<110> 中国农业大学
 <120> 皱褶假单胞菌 P94 及其应用
 <130>
 <160> 1
 <170> PatentIn version 3.3

<210> 1
 <211> 1462
 <212> DNA
 <213> *Pseudomonas corrugata* P94

<400> 1
 caggcctaac acatgcaagt cgagcggtag agagaagctt gcttctcttg agagcggcgg 60
 acgggtgagt aaagcctagg aatctgcctg gtagtggggg ataacgctcg gaaacggacg 120
 ctaataccgc atacgtccta cgggagaaag caggggacct tcgggccttg cgctatcaga 180
 tgagcctagg tcggattagc tagttggtga ggtaatggct caccaaggcg acgatccgta 240
 actggtctga gaggatgata agtcacactg gaactgagac acggtccaga ctctacggg 300
 aggcagcagt ggggaatatt ggacaatggg cgaagcctg atccagccat gccgcgtgtg 360
 tgaagaaggt cttcggattg taaagcactt taagtggga ggaaggcat taacctaata 420
 cgtagtagtt ttgacgttac cgacagaata agcaccggct aactctgtgc cagcagccgc 480
 ggtaatacag aggggtcaag cgtaatcgg aattactggg cgtaaagcgc gcgtaggtgg 540
 ttcgttaagt tggatgtgaa atccccgggc tcaacctggg aactgcattc aaaactgtcg 600
 agctagagta tggtagaggg tggtagaatt tcctgtgtag cggtgaaatg cgtagatata 660
 ggaaggaaca ccagtgccga aggcgaccac ctggactgat actgacactg aggtgcgaaa 720
 gcgtggggag caaacaggat tagataccct ggtagtccac gccgtaaacg atgtcaacta 780
 gccgttggga gccttgagct ctagtggcg cagctaacgc attaagtga ccgcctgggg 840
 agtacggcgc caaggtaaa actcaaatga attgacgggg gcccgcaaa gcggtggagc 900
 atgtggttta attcgaagca acgcgaagaa cttaccagg cttgacatc caatgaactt 960
 tccagagatg gattggtgcc ttcgggaaca ttgagacagg tgctgcatgg ctgtcgtcag 1020
 ctctgtcgt gagatgttgg gtaagtccc gtaacgagcg caaccctgt ccttagttac 1080
 cagcacgtaa tggtagggcac tctaaggaga ctgccggtga caaacggag gaaggtgggg 1140
 atgacgtaa gtcatcatgg cccttacggc ctgggctaca cacgtgctac aatggtcgg 1200
 acagagggtt gccaaagcgc gaggtggagc taatcccaca aaaccgatcg tagtccggat 1260
 cgcagctcgc aactcgactg cgtgaagtcg gaatcgctag taatcgcgaa tcagaatgtc 1320
 gcggtgaata cgttccggg cctgtacac accgcccgtc acaccatggg agtgggttgc 1380
 accagaagta gctagtctaa ccttcggggg gacggtacca cgggtgtgatt catgactggg 1440
 gtgaagtcgt aacaaggtag cc 1462

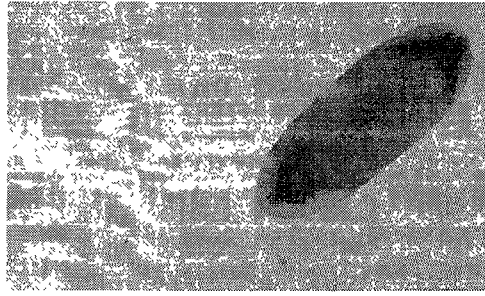


图 1

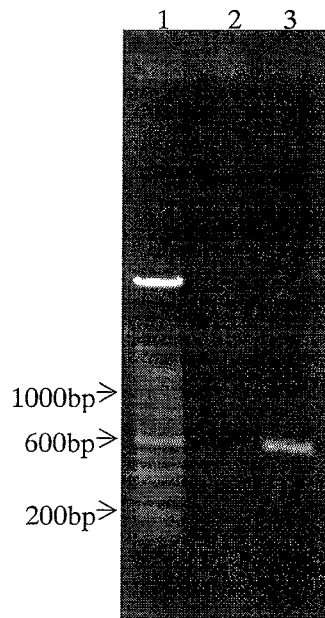


图 2

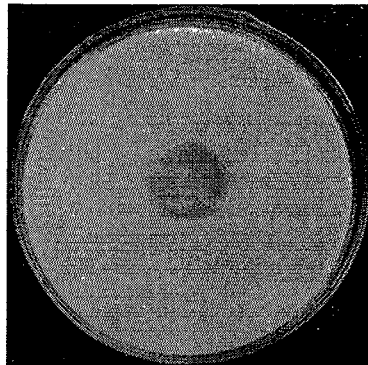


图 3

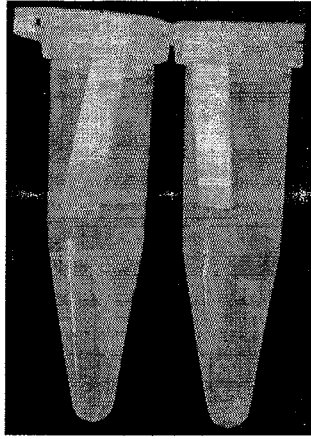


图 4

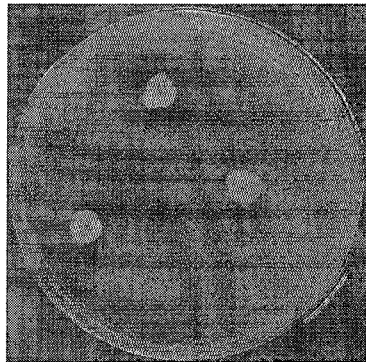


图 5