



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 110229757 B

(45)授权公告日 2020.05.19

(21)申请号 201910545892.6

(22)申请日 2019.06.23

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 110229757 A

(43)申请公布日 2019.09.13

(83)生物保藏信息
CGMCC No. 17466 2019.04.12

(73)专利权人 南京农业大学
地址 210043 江苏省南京市栖霞区八卦洲
街道江苏省栖霞现代农业产业园区南
京农业大学现代园艺产业科技创新中
心

(72)发明人 沈其荣 沈宗专 朱佳芯 李荣
薛超 商美妮

(74)专利代理机构 南京天华专利代理有限责任
公司 32218

代理人 傅婷婷 徐冬涛

(51)Int.Cl.
C12N 1/14(2006.01)
A01N 63/38(2020.01)
A01P 21/00(2006.01)
C05F 11/08(2006.01)
C12R 1/885(2006.01)

(56)对比文件
CN 107142211 A,2017.09.08,摘要.
CN 101637187 A,2010.02.03,权利要求1,
说明书第3页第3段,实施例1-3.
US 2015368673 A1,2015.12.24,全文.
CN 107142211 A,2017.09.08,摘要.

审查员 纪圆圆

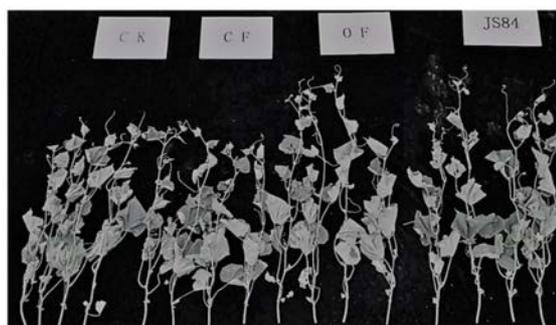
权利要求书1页 说明书4页 附图1页

(54)发明名称

一株有效促进作物生长的桔绿木霉JS84及其研制的生物有机肥

(57)摘要

本发明公开了一株有效促进作物生长的桔绿木霉JS84及其研制的生物有机肥。一种桔绿木霉JS84,保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心,保藏号为CGMCC NO.17466,该菌株能够拮抗香蕉、黄瓜等多种尖孢镰刀菌。所述的生物有机肥是于普通有机肥中添加功能菌株JS84所得,活菌数优选 $\geq 2.0 \times 10^7$ CFU/g有机肥干重。使用该产品,对黄瓜苗期的促生效果好,能够育出根际带有大量活性功能微生物的优质种苗,促进种苗移栽后的生长和产量。



1. 一种有效促进作物生长的桔绿木霉 (*Trichoderma citrinoviride*) JS84, 保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心, 保藏地址为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, 保藏日期为2019年4月12日, 保藏号为CGMCC NO.17466。

2. 权利要求1所述的桔绿木霉JS84在制备促进作物生长的功能型生物有机肥中的应用。

3. 一种有效促进作物生长的功能型生物有机肥, 其特征在于在普通有机肥中添加权利要求1所述的桔绿木霉JS84的木霉固体菌种所得。

4. 根据权利要求3所述的桔绿木霉JS84的功能型生物有机肥, 其特征在于所述的功能型木霉生物有机肥中所述的桔绿木霉JS84活菌数 $\geq 2.0 \times 10^7$ CFU/g有机肥干重, 有机质 $\geq 45\%$, 总养分(N+P₂O₅+K₂O) $>5\%$, 水分 $\leq 30\%$ 。

5. 根据权利要求3所述的功能型生物有机肥, 其特征在于所述的桔绿木霉JS84固体菌种通过以下发酵方法制备:

将保藏号为CGMCC NO.17466的桔绿木霉JS84接种到PDA培养液中, 进行液体发酵生产, 发酵温度范围28℃, 搅拌速度为170转/分钟, 发酵时间为96h, 使发酵液中含菌量 $\geq 1.0 \times 10^8$ 个/ml; 每干重100g秸秆和200ml水混合, 加入到6.6ml氨基酸液拌匀, 115℃灭菌1h; 灭菌冷却后, 接入20%木霉发酵液, 拌匀, 均匀铺开在周转箱中, 在28℃培养4-5天后, 制作成木霉菌种, 放于4℃冰箱保存。

6. 根据权利要求3所述的功能型生物有机肥, 其特征在于所述的作物为黄瓜。

7. 权利要求3所述的功能型生物有机肥的制备方法, 其特征在于包含以下步骤:

(1) 制备保藏号为CGMCC NO.17466的桔绿木霉JS84木霉固体菌种;

(2) 将步骤(1)制备的木霉菌种按有机肥干重的5%~15%加入普通有机肥混合均匀得功能型生物有机肥, 使其中活菌数 $\geq 2.0 \times 10^7$ CFU/g有机肥干重。

一株有效促进作物生长的桔绿木霉JS84及其研制的生物有机肥

技术领域

[0001] 本发明属于农业微生物领域,具体涉及一株有效促进作物生长的桔绿木霉JS84及其应用。

背景技术

[0002] 植物根际促生菌(Plant Growth-promoting Rhizobacteria,PGPR)是指存在于植物根际表面及根系周围土壤微环境中,能通过直接或间接的方式显著促进植物生长的微生物(Ahmad et al.,Microbiological Research,2008,163(2):173-181)。木霉作为PGPR的一种,能有效地促进植物生长,同时有着成本低廉、使用安全、持续效果好、增产稳定、对环境和食品安全等特点。因此,探索木霉对作物产量和生长性状的影响,可为木霉制剂在绿色无公害蔬菜生产上的合理利用提供科学依据,对节约化肥资源、发展有机农业具有重要意义。

[0003] 在多篇文献(CN101637187A、CN105219650A)中公开了桔绿木霉Trichoderma citrinoviride能够防治植物真菌病害,但尚未见其促生作用的相关报道。

发明内容

[0004] 本发明的目的在于针对生产实践中的实际问题 and 需求,提供一株有效促进作物生长的桔绿木霉JS84。

[0005] 本发明的另一目的是提供该真菌的应用。

[0006] 本发明的又一目的是提供该真菌制备的生物肥料及其应用。

[0007] 本发明的目的可通过以下技术方案实现:

[0008] 一株用于促进作物生长的促生菌株JS84,分离自江苏农田土壤中,分类命名为桔绿木霉Trichoderma citrinoviride,保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心,保藏日期为2019年4月12日,保藏编号为CGMCC No.17466。

[0009] 菌株JS84在PDA平板上生长较快,呈辐射状生长菌丝,大量产孢,绿色孢子,产孢簇为白色至绿色。菌株ITS rDNA序列构建的系统发育树分析表明,菌株JS84位于Trichoderma citrinoviride分支上,结合生理生化试验将JS84鉴定为桔绿木霉。

[0010] 本发明所述桔绿木霉JS84在促进植物生长中的应用。

[0011] 本发明所述桔绿木霉JS84在制备促进植物生长的生物肥料中的应用。

[0012] 由本发明所述桔绿木霉JS84制备的生物肥料。

[0013] 所述的生物肥料优选主要通过以下方法制备:将保藏号为CGMCC No.17466的桔绿木霉JS84接种到PDA液体培养基中,进行液体发酵,发酵温度为28℃,搅拌速度为170转/分钟,发酵时间为96h,光照条件下发酵更优,使发酵液中含菌量 $\geq 1 \times 10^6$ 个/mL。每干重100g秸秆和200ml水混合,加入到6.6ml氨基酸拌匀。115℃灭菌1h。灭菌冷却后,接入20%木霉发酵液,拌匀,均匀铺开在周转箱中,在28℃培养4-5天后,制作成木霉菌种,放于4℃冰箱保存。

按加入5%~15%的木霉菌种于有机肥中,制作成为木霉生物有机肥料。所用PDA培养液配制方法为,以配制1L培养基为例:用200g土豆削皮后切成小块放到水里煮,沸腾后煮20min,经过滤后滤液中加20g普通葡萄糖,定容至1000ml,pH值自然,115℃灭菌30min。

[0014] 本发明所述的生物肥料在促进植物生长中的应用。

[0015] 有益效果:

[0016] 本发明主要利用分离筛选出根际有效定植的桔绿木霉的施用,显著提高作物苗期的生长速度,促进作物对土壤中养分的吸收利用,从而促进作物生长。本发明促生菌JS84在多季盆栽试验中表现出的稳定促生能力。本发明生物肥料应用后促生效果明显,适合蔬菜作物产区大面积使用。

附图说明

[0017] 图1基于菌株JS84的ITS rDNA基因序列采用邻接法建立的系统发育树

[0018] 图2第一季黄瓜盆栽效果图

[0019] 图3第二季黄瓜盆栽效果图

[0020] 生物材料保藏信息

[0021] 菌株JS84,分类命名为桔绿木霉*Trichoderma citrinoviride*,保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心,保藏地址为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,保藏日期为2019年4月12日,保藏编号为CGMCC No.17466。

具体实施方式

[0022] 实施例1、功能菌株的分离及鉴定

[0023] 将5g土样置于盛有45ml无菌水的三角瓶中,28℃振荡30min(170r/min)制成土壤悬液。吸取0.1mL土壤悬液置于木霉选择性平板并涂布,放置于28℃培养箱中培养48h,观察平板上菌落生长情况,挑选差异菌落纯化,将纯化后的菌株接种到PDA培养基上并置于4℃冰箱保存待用。

[0024] 将选出的木霉菌株接种于PDA培养基上,分别放置于28℃,37℃和40℃培养箱中,培养5d后观察,筛选出能在40℃正常生长的高温木霉。

[0025] 通过筛选最终获得一株木霉命名为JS84,菌株JS84在PDA平板上菌株JS84在PDA平板上生长较快,呈辐射状生长菌丝,大量产孢,绿色孢子,产孢簇为白色至绿色。菌株ITS rDNA序列构建的系统发育树分析表明,菌株JS84位于*Trichoderma citrinoviride*分支上,将JS84归类为*Trichoderma citrinoviride*,将其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.17466。

[0026] 实施例2、功能菌生物肥料的产生

[0027] 将菌株JS84(CGMC No.17466)接种至PDA培养液中液体发酵,发酵生产的条件为:发酵温度为28℃,搅拌速度为170转/分钟,发酵时间为96h,使发酵液中含菌量 $\geq 1 \times 10^6$ 个/mL。每干重100g秸秆和200ml水混合,加入到6.6ml酸解氨基酸液(ZL201410042218.3中公开的液体氨基酸复合物)拌匀。115℃灭菌1h。灭菌冷却后,接入20%木霉发酵液,拌匀,均匀铺开在周转箱中,在28℃培养4-5天后,制作成木霉菌种,放于4℃冰箱保存。按加入5%~15%的木霉菌种于有机肥中,制作成为木霉生物有机肥料。

[0028] 其中所用PDA培养液配制方法为,以配制1L培养基为例:用200g土豆削皮后切成小块放到水里煮,沸腾后煮20min,经过滤后滤液中加20g普通葡萄糖,定容至1000ml,pH值自然,115℃灭菌30min。

[0029] 实施例3、盆栽促生效果试验

[0030] 3.1促生生物肥在黄瓜(第一季、第二季)上的应用效果

[0031] 促生盆栽试验在国家有机类肥料工程技术研究中心(宜兴)温网室内进行,供试土壤为不含病原菌的健康沙土,供试黄瓜品种为不含病原菌的露丰黄瓜。将黄瓜种子浸泡在常温水中1h,放置在湿润的纱布上于30℃培养箱中催芽12~24h,待75%以上种子萌发后,选取露白的种子移至育苗盘育苗,待长出2片真叶后挑选长势一致幼苗移栽盆中。试验设置两个处理:1)CK,不施用任何肥料;2)处理OF,施用普通有机肥;3)处理JS84,施用木霉生物有机肥。每个处理6盆,每盆装1.5kg土,OF加入2%的普通有机肥,JS84加入2%的木霉生物有机肥,常规管理,30d左右后测量植株的生理指标。

[0032] 第一季黄瓜促生效果如图2、生物量情况如表1所示,盆栽培养30d后,施用JS84木霉生物有机肥处理(JS84)、施用有机肥(OF)处理和不施肥(CK)处理在黄瓜植株的株高、茎粗、地上部鲜重和地上部干重方面均有显著性差异。与不施肥(CK)处理相比,施用JS84木霉生物有机肥处理(JS84),黄瓜植株的株高、茎粗、叶绿素、地上部鲜重和地上部干重分别增加了17%、8%、5%、18%和36%。与OF相比,施用JS84木霉生物有机肥的处理在株高、茎粗、叶绿素、地上部鲜重和地上部干重分别增加了5%、6%、2%、9%和16%。

[0033] 第二季黄瓜促生效果如图3、生物量情况如表2所示,盆栽培养30d后,施用JS84木霉生物有机肥处理(JS84)、施用有机肥(OF)处理和不施肥(CK)处理在黄瓜植株的株高、茎粗、叶绿素、地上部鲜重和地上部干重方面均有显著性差异。与CK相比,施用JS84木霉生物有机肥的处理在株高、茎粗、叶绿素、地上部鲜重和地上部干重方面,分别增加了60%、30%、11%、58%和41%。与OF相比,施用JS84木霉生物有机肥的处理在株高、茎粗、叶绿素、地上部鲜重和地上部干重方面,分别增加了30%、11%、3%、23%和18%。

[0034] 综上两季盆栽结果表明,与不施肥(CK)处理和有机肥(OF)处理的黄瓜在株高、茎粗、叶绿素、地上部鲜重和地上部干重之间差异明显,说明JS84菌株的促生效果明显。综上两季盆栽结果表明,施用JS84木霉生物有机肥(JS84)处理黄瓜植株长势优于不施肥(CK)处理和普通有机肥(OF)处理,且在株高、茎粗、叶绿素、地上部鲜重、地上部干重方面达到显著性差异,表明JS84菌株具有明显的促生效果。

[0035] 表1、第一季黄瓜促生盆栽试验生物量情况

		株高(cm)	茎粗(mm)	SPAD	地上部鲜重(g)	地上部干重(g)	
[0036]	JS84	91.38±6.52a	6.28±0.32.ca	39.18±2.47a	29.09±0.66a	3.59±0.36a	
	处理	OF	86.63±4.03a	5.93±0.34ab	38.25±0.84a	26.51±1.80b	3.02±0.48b
	CK	76.25±4.86b	5.75±0.08b	37.10±1.41a	23.89±1.26c	2.29±0.01c	

[0037] 表2、第二季黄瓜盆栽促生试验生物量情况

		株高(cm)	茎粗(mm)	SPAD	地上部鲜重(g)	地上部干重(g)
[0038]	JS84	33.00±2.65a	6.11±0.28a	42.7±0.91a	9.36±1.48a	0.91±0.16a
	处理 OF	23.25±1.71b	5.44±0.17a	41.53±0.74a	7.18±0.91b	0.75±0.02b
	CK	13.25±6.18c	4.25±1.01b	38.10±0.73b	3.91±0.18c	0.54±0.03c

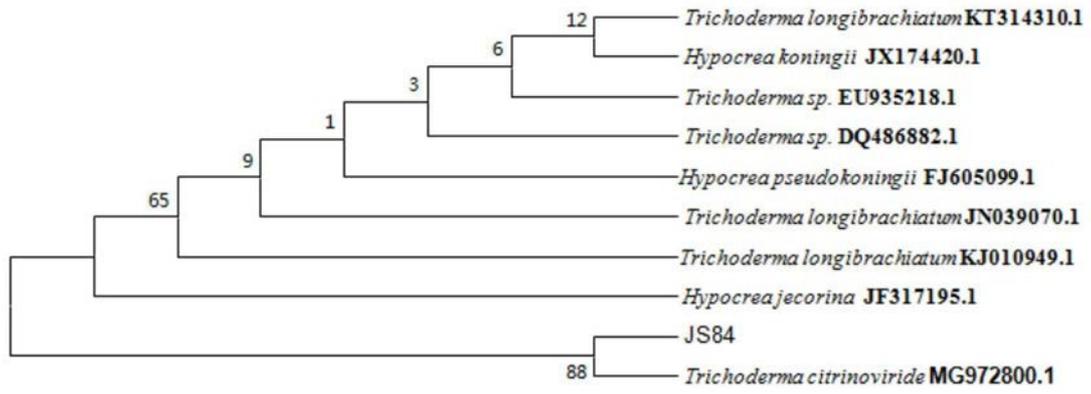


图1



图2



图3