



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103215209 B

(45) 授权公告日 2014. 12. 31

(21) 申请号 201310145532. X

(22) 申请日 2013. 04. 24

(83) 生物保藏信息

CGMCC No. 7502 2013. 04. 22

(73) 专利权人 牛贍光

地址 250014 山东省济南市历下区文化东路
42号

专利权人 李鹏

(72) 发明人 李鹏 牛贍光 王清海 李泉涌

刘幸红 李红梅

(74) 专利代理机构 济南诚智商标专利事务所有

限公司 37105

代理人 韩百翠

(51) Int. Cl.

C12N 1/20 (2006. 01)

A01N 63/00 (2006. 01)

A01P 3/00 (2006. 01)

C12R 1/07 (2006. 01)

(56) 对比文件

CN 101423812 A, 2009. 05. 06, 全文.

CN 102604864 A, 2012. 07. 25, 全文.

葛平华 等. 海洋解淀粉芽孢杆菌 GM-1 菌株
发酵液抗菌谱及稳定性测定. 《农药》. 2012, 第
51 卷 (第 10 期), 摘要、表 1.

王军华. 芽孢杆菌 Q-12 的鉴定及其抗菌活性
物质的研究. 《中国优秀硕士学位论文全文数据库》. 2006, 第 3. 4 节、表 3. 2.

Pengchao Zhao et al. *Bacillus*
amyloliquefaciens Q-426 as a potential
biocontrol agent against *Fusarium*
oxysporum f. sp. *spinaciae*. 《J. Basic
Microbiol. 》. 2013, 第 54 卷摘要、表 1、讨论部
分.

审查员 王志坤

权利要求书1页 说明书6页
序列表2页

(54) 发明名称

一株解淀粉芽孢杆菌及其应用

(57) 摘要

本发明公开了一株解淀粉芽孢杆菌及其应
用,属于生物防治植物病害领域。该菌株为解淀粉
芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)RCD-1,
保藏编号为 CGMCC No. 7502。本发明还公开了含
有上述菌株的生物防治制剂及其制备方法。本发
明的解淀粉芽孢杆菌菌株具有生长速度快、产芽
孢量大、作用谱广、抗逆性强,在植物根际能够快
速大量定殖等特点,因此具有良好的应用前景。由
该解淀粉芽孢杆菌制备的生物防治制剂,不仅能够
高效的防治植物土传病害,还能有效提高作物
产量,是一种极具应用前景的生物防治制剂。该微
生物制剂可以作为生物农药或生物肥料,防治多
种土传植物病害,尤其是葡萄白腐病。

1. 解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)菌株 RCD-1,所述菌株的保藏编号为 CGMCC No. 7502。

2. 权利要求 1 所述的解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)菌株 RCD-1 在防治葡萄白腐病中的用途。

3. 一种生物防治制剂,包括权利要求 1 所述的解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)菌株 RCD-1。

4. 一种制备权利要求 3 所述的生物防治制剂的方法,其特征是,包括以下步骤:

(1) 将解淀粉芽孢杆菌菌株 RCD-1 的孢子移植到牛肉膏蛋白胨液体培养基中,28-30℃ 摇床振荡培养 2-3 d 得到种子液;所述牛肉膏蛋白胨液体培养基为:胰蛋白胨 10 g,牛肉膏 3 g,氯化钠 5 g,蒸馏水 1000 mL, pH 调至 7.0-7.2;

(2) 按体积比 3.0% 的比例将步骤(1)的种子液接种到大量发酵培养基中,培养温度 28-30℃,培养时间 30h,通风比 1:0.9;发酵完成后得到发酵液;所述大量发酵培养基为:黄豆粉 2.5%,玉米粉 3.5%,NaCl 0.1%,CaCO₃ 0.2%,其余为水;

(3) 将步骤(2)的发酵液与基质进行混合均匀,干燥;所述发酵液与基质的质量比为 1:1;所述基质选自草炭、微粉碳酸钙和膨润土中的一种或多种。

5. 权利要求 3 所述的生物防治制剂在防治葡萄白腐病中的用途。

一株解淀粉芽孢杆菌及其应用

技术领域

[0001] 本发明属于生物防治植物病害领域。具体而言,本发明涉及一株能够高效防治植物病害的解淀粉芽孢杆菌及其用途,以及采用该解淀粉芽孢杆菌制备的生物防治制剂。

背景技术

[0002] 葡萄为落叶藤本植物,有“水果之神”的称号,是世界上最古老的植物之一。葡萄原产于欧洲、西亚和北非一带。在我国主要产地为新疆、甘肃、山西、河北、山东等地。葡萄既可以作为水果直接食用,也可以用作酿造葡萄酒。葡萄食用具有抗病毒杀细菌、防癌抗癌、降低胃酸利胆、抗动脉粥样硬化、补益和兴奋大脑神经、利尿消肿安胎等功效;酿造的葡萄酒可补气益血,滋阴生津,强筋健骨,通利小便。主治气血虚弱,肺虚久咳,肝肾阴虚,心悸盗汗,腰腿酸痛,筋骨无力,风湿痹痛,面肢浮肿,小便不利等病症。因此葡萄市场需求旺盛。但由于葡萄病害的危害,严重影响了葡萄产业的健康发展。葡萄白腐病(*Coniella diplodiella*)是葡萄产区危害较重的病害之一,每年由该病造成的产量损失达 10%~30%,严重地块达 50% 以上。该病病原菌主要侵染果实、幼茎和花序等,其中以果实危害最为严重,造成果实腐烂和落粒。病害一旦蔓延,对产量、品质、效益影响较大,造成许多果园减产甚至面临毁园的危险。针对该病害的防治,主要以套袋或者化学防治,但往往会带来人力成本过高、用药盲目、超浓度用药等问题。因此以生物药物为主的生物防治技术是葡萄白腐病防治的必然趋势。

[0003] 芽孢杆菌是一种广泛分布于各种不同生活环境中的腐生细菌,是一群好氧兼厌氧的产芽孢革兰氏阳性杆菌的总称,可以产生内生耐热抗逆的芽孢。芽孢不仅对热有抗逆性,还对紫外线、电磁辐射及一些化学药品有很强的抗逆性,它可以忍受各种不良环境。由于具有如此强的抗逆性,使得它有利于生防菌剂的生产和剂型加工,也利于其在环境中的存活、定殖与繁殖。由于它们生长快、营养简单、能够形成具有较强抗逆性能力的芽孢,在产品开发中较非芽孢杆菌有效活菌数量高、性能稳定等优势而备受瞩目。芽孢杆菌是植物病害生防微生物的重要组成部分,可用于防治多种植物病害。芽孢杆菌作为生防菌防治植物病害的机制主要有:抗生作用、营养竞争、空间竞争、重寄生作用以及诱导植物产生抗性等机制,芽孢杆菌的生防机制主要是以产生拮抗物质抑制有害病菌的生长或杀死病原菌。这些物质绝大多数为肽类抗生素,具有高效、低残留、与环境友好等优点。

发明内容

[0004] 本发明的目的是提供一种用于高效防治多种植物病害的新的芽孢杆菌——解淀粉芽孢杆菌 RCD-1。该菌株具有生长速度快、产孢量大、作用谱广、抗逆性强,在植物根际能够快速大量定殖等特点,因此具有良好的应用前景。

[0005] 本发明所提供的菌株为解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*) RCD-1,是从山东省潍坊市潍北地区沿海滩涂地的土壤中分离获得的,已于 2013 年 4 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,地址: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),保藏号为 CGMCC No. 7502。其具有以下生物学特性:在牛肉膏蛋白胨琼脂培养基或 LB 培养基上菌落形态为圆形或不规则形,乳白偏黄色,表面粗糙起褶皱,在牛肉膏蛋白胨琼脂培养基上,28℃ 下培养两天后,镜检,菌体细胞呈杆状,能运动。经革兰氏染色呈阳性(以大肠杆菌为对照)。经芽孢染色后观察芽孢呈椭圆形或柱状。

[0006] 本发明解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)菌株 RCD-1 的培养方法或繁殖方法包括:

[0007] (1) 普通培养保存采用牛肉膏蛋白胨琼脂(NA)培养基,配方为胰蛋白胨 10g,牛肉膏 3g,氯化钠 5g,琼脂 15-20g,蒸馏水 1000mL, pH 调至 7.0-7.2;

[0008] (2) 实验室液体培养采用牛肉膏蛋白胨液体培养基,配方为胰蛋白胨 10g,牛肉膏 3g,氯化钠 5g,蒸馏水 1000mL, pH 调至 7.0-7.2;

[0009] (3) 大量发酵培养配方:黄豆粉 2.5%,玉米粉 3.5%,NaCl 0.1%,CaCO₃ 0.2%,其余为水。

[0010] 本发明还提供一种用于防治植物土传病害的生物防治制剂,所述生物防治制剂包括所述的解淀粉芽孢杆菌菌株 RCD-1。

[0011] 并且,本发明还提供了一种用于防治植物土传病害的生物防治方法,所述生物防治方法包括向具有土传病害的植物施用上述解淀粉芽孢杆菌菌株 RCD-1 或者上述生物防治制剂。

[0012] 本发明也提供了上述解淀粉芽孢杆菌菌或者上述生物防治制剂在防治植物土传病害中的用途。

[0013] 就上述生物防治制剂、生物防治方法以及用途而言,所述植物病害可以选自包括葡萄白腐病、黄瓜炭疽病、核桃炭疽病、苹果炭疽病、葡萄炭疽病、西瓜炭疽病、冬枣黑斑病、板栗枝枯病、石榴干腐病等一种或几种。

[0014] 在本发明的一个具体实施方案中,所述制备方法包括以下步骤:

[0015] (1) 将解淀粉芽孢杆菌菌株 RCD-1 的孢子移植到牛肉膏蛋白胨液体培养基中,28-30℃ 摇床振荡培养 2-3d 得到种子液;

[0016] (2) 按 3.0% 比例(体积比)将种子液接种到大量发酵培养基中,培养温度 28-30℃,培养时间 30h,通风比 1:0.9。发酵完成后得到发酵液,发酵液菌数可达 100 亿/g。

[0017] (3) 将解淀粉芽孢杆菌发酵液与基质(选自草炭、微粉碳酸钙和膨润土中的一种或多种)进行混合均匀,干燥,经干燥后菌数可达 500 亿/g。所述发酵液与发酵液基质的质量比为 1:1。

[0018] 实验表明,本发明的解淀粉芽孢杆菌菌株具有生长速度快、产芽孢量大、作用谱广、抗逆性强,在植物根际能够快速大量定殖等特点,因此具有良好的应用前景。由该解淀粉芽孢杆菌制备的生物防治制剂,不仅能够高效的防治植物土传病害,还能有效提高作物产量,是一种极具应用前景的生物防治制剂。该微生物制剂可以作为生物农药或生物肥料,防治多种土传植物病害,包括葡萄白腐病、黄瓜炭疽病、核桃炭疽病、苹果炭疽病、葡萄炭疽病、西瓜炭疽病、冬枣黑斑病、板栗枝枯病、石榴干腐病等一种或几种。

具体实施方式

[0019] 下面结合具体实施例来进一步描述本发明,本发明的优点和特点将会随着描述而更为清楚。但这些实施例仅是示例性的,并不对本发明的范围构成任何限制。本领域技术人员应该理解的是,在不偏离本发明的精神和范围下可以对本发明技术方案的细节和形式进行修改或替换,但这些修改和替换均落入本发明的保护范围内。

[0020] 实施例 1

[0021] 1、解淀粉芽孢杆菌(*B. amyloliquefaciens*) 菌株 RCD-1 的分离与纯化

[0022] 本发明的解淀粉芽孢杆菌(*B. amyloliquefaciens*) RCD-1 是从土壤中采用稀释平板法和平板划线法分离获得的,分离方法为:

[0023] (1) 芽孢杆菌的分离:土样的采集,在山东省潍坊市潍北地区沿海滩涂地,采用 5 点取样法,分别采集地块四周和中央深度在 10-20cm 范围内的土壤适量,等量混匀。标明采集地点、时间和采集人。称取 1g 土样于 100mL 无菌水中,置于 30℃ 摇床中 150rpm 震荡 10min,然后置于 60℃ 水浴锅中孵育 30min,取 $100 \mu\text{L} 10^{-2}$ 、 10^{-3} 、 10^{-4} 稀释液涂布于牛肉膏蛋白胨培养基平板上,每个梯度涂布三个平行,在 30℃ 培养 2d 后挑取牛肉膏蛋白胨培养基上的不同形态的微生物菌落于牛肉膏蛋白胨培养基平板上进行划线,定时观察菌落生长情况。然后采用平板划线法,纯化芽孢杆菌菌株,分别编号保存。

[0024] (2) 葡萄白腐病高效拮抗芽孢杆菌的筛选

[0025] ①初筛:采用对峙培养法,制备 PDA 平板,用打孔器在葡萄白腐病菌菌丝边缘打取直径为 5mm 的菌饼,移植在平板中央,四周 2cm 处接种芽孢杆菌株,置 27℃ 生化培养箱培养。逐日观察芽孢杆菌对病原菌的抑制作用。

[0026] ②复筛:将筛选到的具有高效拮抗活性的芽孢杆菌菌株进行复筛,主要是经过耐高温性、耐酸碱性、耐药性试验,筛选到耐性较好的芽孢杆菌菌株,进行盆栽防治试验和田间试验。

[0027] 本发明人通过大量筛选工作得到一株能够高效防治多种植物病害的解淀粉芽孢杆菌(*B. amyloliquefaciens*) 菌株 RCD-1。实验证明,该解淀粉芽孢杆菌在防治葡萄白腐病显示出非常高效的防治效果,使得农作物显著增产。因而,本发明的解淀粉芽孢杆菌是具有广泛应用前景的解淀粉芽孢杆菌新菌株,可以用于制备防治多种植物病害的生物防治制剂。

[0028] 2、菌株鉴定

[0029] (1) 微生物学特性:在牛肉膏蛋白胨琼脂培养基或 LB 培养基上菌落形态为圆形或不规则形,乳白偏黄色,表面粗糙起褶皱,在牛肉膏蛋白胨琼脂培养基上,28℃ 下培养两天后,镜检,菌体细胞呈杆状,能运动。经革兰氏染色呈阳性(以大肠杆菌为对照)。经芽孢染色后观察芽孢呈椭圆形或柱状。

[0030] (2) 分子生物学特性

[0031] 该菌株的 16s rDNA 基因序列测定结果如下(SEQ-1):CGCCTGCCTATACTGCAAGTCGAGCGGACAGATGGGAGCTTGCTCCCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCTGTAAGACTGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGGTTGTCTGAACCGCATGGTTCAGACATAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCGACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCTGAGTGATGAAGTTTTTCGGATCGTAAAGCTCTGTTGTTAG

GGAAGAACAAGTGCCGTTCAAATAGGGCGGCACCTTGACGGTACCTAACCCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAG
 CAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTCTTAAGT
 CTGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAACTGGGGAACCTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGA
 ATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTCTCTGGTCTGTAAC TG
 ACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAA
 GTGTTAGGGGGTTTCCGCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACT
 GAAACTCAAAGGAATTGACGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTT
 ACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAATCCTAGAGATAGGACGTCCCCTTCGGGGGCAGAGTGACAGGTGGTGCATGGT
 TGTC GTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGATCTTAGTTGCCAGCATT
 CAGTTGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCCCTTA
 TGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGACAGAACAAAGGGCAGCGAAACCGCGAGGTTAAGCCAATCCCACAAAT
 CTGTTCTCAGTTCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCC
 GCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGTTTGTAACACCCGAAGTCGGTGAGG
 TAACCTTTATGAGCCAGCCGCCGAAGGTG

[0032] 实施例 2

[0033] 1、解淀粉芽孢杆菌菌株 RCD-1 发酵过程

[0034] 牛肉膏蛋白胨液体培养基, 配方为: 胰蛋白胨 10g, 牛肉膏 3g, 氯化钠 5g, 蒸馏水 1000mL, pH 调至 7.0-7.2。

[0035] 大量液体发酵培养基配方(质量百分含量): 黄豆粉 2.5%, 玉米粉 3.5%, NaCl 0.1%, CaCO₃ 0.2%, 其余为水。

[0036] 解淀粉芽孢杆菌菌株 RCD-1 大量固体发酵过程:

[0037] (1) 将解淀粉芽孢杆菌菌株 RCD-1 的孢子移植到牛肉膏蛋白胨液体培养基中, 28-30℃ 摇床振荡培养 2-3d 得到种子液;

[0038] (2) 按 3.0% 比例(体积比)将种子液接种到大量发酵培养基中, 培养温度 28-30℃, 培养时间 30h, 通风比 1:0.9。发酵完成后得到发酵液, 发酵液菌数可达 100 亿/g。

[0039] (3) 将解淀粉芽孢杆菌发酵液与基质(选自草炭、微粉碳酸钙和膨润土中的一种或多种)进行混合均匀, 干燥, 经干燥后发酵液菌数可达 500 亿/g。所述发酵液与发酵液基质的质量比为 1:1。

[0040] 实施例 3 解淀粉芽孢杆菌菌株 RCD-1 对葡萄白腐病菌室内效果验证

[0041] 1. 实验方法

[0042] 采用平板对峙培养法, 将供试的葡萄白腐病菌菌饼(9mm) 移至平板中央, 四周 2cm 处接种解淀粉芽孢杆菌 RCD-1 菌株, 置 27℃ 生化培养箱培养, 每个处理重复 3 次。待对照菌丝长满平板时, 采用十字交叉法测量菌落直径、抑菌带直径, 计算平均值和相对抑制率。

[0043] 2. 结果

[0044] 由表 1 可以看出, 解淀粉芽孢杆菌菌株 RCD-1 对葡萄白腐病菌菌丝生长均具有较强的抑制作用, 抑菌带直径为 15.16mm, 菌丝生长抑制率为 83.17%。

[0045] 表 1. 解淀粉芽孢杆菌菌株 RCD-1 对葡萄白腐病菌室内抑菌活性测定

[0046]

供试菌株	抑菌带 (mm)	抑制率 (%)
葡萄白腐病菌	15.16±0.92	83.17±1.96

[0047] 实施例 4 解淀粉芽孢杆菌菌株 RCD-1 可湿性粉剂对葡萄白腐病田间效果验证

[0048] 本实施例提供了解淀粉芽孢杆菌菌株 RCD-1 可湿性粉剂针对葡萄白腐病的相关实验。

[0049] 1.1 供试药剂

[0050] 解淀粉芽孢杆菌 RCD-1 可湿性粉剂;50% 福美双可湿性粉剂(市售)。

[0051] 解淀粉芽孢杆菌 RCD-1 可湿性粉剂配方(重量比):实施例 2 的菌粉 2%, CMC0.5%, 拉开粉 3%, 十二烷基磺酸钠 8%, 葡萄糖 2%, 白炭黑 1%, 其余为凹凸棒土。该可湿性粉剂的菌活为 10 亿/克。

[0052] 1.2 供试作物与防治对象:

[0053] 供试作物为葡萄,品种为烟 73

[0054] 防治对象:白腐病

[0055] 1.3 试验地情况

[0056] 试验地设在山东省烟台市葡萄种植园中,分别于 2011 年在烟台市葡萄种植园进行林间防治葡萄白腐病试验。土壤为砂土地。葡萄树为 5 年生,离架式栽培。树势中等偏弱,病害发生严重。所有试验小区栽培条件及管理措施一致

[0057] 1.4 试验设计及安排

[0058] 本试验设计了解淀粉芽孢杆菌(*B. amyloliquefaciens*)RCD-1 可湿性粉剂 300 倍、500 倍、700 倍,50% 福美双水分散粒剂 700 倍液及不施药清水作对照共 5 个处理,每个小区 24m²,重复 4 次,共 20 个小区,各小区随机排列。2011 年 6 月 20 日(发病前)、以后每隔两周施药 1 次,共 6 次。

[0059] 1.5 试验调查及计算方法

[0060] 1.5.1 药效调查、调查时间和次数

[0061] 果实采收前调查 1 次药效,调查每个小区所有果穗,记录总果数、病果数,以病果率计算防治效果,以 DPS 软件进行数据分析。

[0062] 1.5.2 药效计算方法

[0063] 药效按式(1)、(2)计算:

[0064]

$$\text{病果率}(\%) = \frac{\text{病果数}}{\text{调查总果数}} \times 100$$

[0065]

$$\text{防治效果}(\%) = \frac{\text{对照病果率} - \text{处理病果率}}{\text{对照病果率}} \times 100$$

[0066] 2. 结果

[0067] 2.1 供试药剂对葡萄白腐病的防治效果

[0068] 表 2 结果显示,解淀粉芽孢杆菌(*B. amyloliquefaciens*)RCD-1 可湿性粉剂对葡萄

白腐病有较好的防治效果,其中解淀粉芽孢杆菌(*B. amyloliquefaciens*) RCD-1 可湿性粉剂 300 倍、500 倍防治效果最好,防治效果分别达 80.47%、77.79%,在 $P < 0.05$ 水平上显著性差异,明显高于 700 倍和 50% 福美双的防治效果。

[0069] 表 2 解淀粉芽孢杆菌 RCD-1 可湿性粉剂防治葡萄白腐病田间药效试验结果
[0070]

处理	病果率 (%)	防治效果 (%)	差异显著性
解淀粉芽孢杆菌 RCD-1wp 300 倍	8.92	80.47	a
解淀粉芽孢杆菌 RCD-1wp 500 倍	10.15	77.79	a
解淀粉芽孢杆菌 RCD-1wp 700 倍	12.85	71.88	b
50%福美双水分散粒剂 700 倍	11	75.92	ab
清水对照	45.69	-	

[0071] 注:表中数据后不同的小写字母表示经 Duncan 多重比较后差异显著 ($P < 0.05$)。

[0072] 3. 小结

[0073] 从葡萄病果率和防治效果来看,10 亿/克的解淀粉芽孢杆菌 (*B. amyloliquefaciens*) RCD-1 可湿性粉剂对葡萄白腐病具有较好的防治效果,稀释 300 倍、500 倍后防治效果可达 77.79% 以上,明显好于对照药剂,差异显著。

[0001]

SEQUENCE LISTING

<110> 牛贍光; 李鹏

<120> 一株解淀粉芽孢杆菌及其应用

<130> 0

<160> 1

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 1438

<212> DNA

<213> 解淀粉芽孢杆菌 RCD-1 的 16s rDNA 基因序列

<400> 1

```

cgccctgccta tactgcaagt cgagcggaca gatgggagct tgctccctga ttttagcggc      60
ggacgggtga gtaacacgtg ggtaacctgc ctgtaagact gggataactc cgggaaaccg      120
gggctaatac cggatggttg tctgaaccgc atggctcaga cataaaaggt ggctfcggct      180
accactfaca gatggaccgc cggcgcatta gctagttggt gaggtaacgg ctcaccaagg      240
cgacgatcgc tagccgacct gagagggtga tcggccacac tgggactgag acacggccca      300
gactcctacg ggaggcagca gtagggaatc ttcgcaatg gacgaaagtc tgacggagca      360
acgccgcgtg agtgatgaag gtttfcggat cgtaaagctc tgttgtagg gaagaacaag      420
tgccgttcaa ataggcggc acctgacgg tacctaacca gaaagccaag gctaactacg      480
tgccagcagc cgcggtaata cgtaggtggc aagcgttgc cggaattatt gggcgtaaag      540
ggctcgcagg cggtttctta agtctgatgt gaaagccccc ggctcaaccg gggagggtca      600
ttgaaactg gggaacttga gtcagaaga ggagagtgga attccacgtg tagcggtgaa      660
atgcgtagag atgtggagga acaccagtgg cgaaggcgac tctctggtct gtaactgacg      720
ctgaggagcg aaagcgtggg gagcgaacag gattagatac cctggtagtc cacgccgtaa      780
acgatgagtg ctaagtgtta gggggtttcc gccccctagt gctgcagcta acgcattaag      840

```

[0002]

cactccgct ggggagtag gtcgcaagac tgaaactcaa aggaattgac gggggcccgc	900
acaagcggg gagcatgtg ttaattcga agcaacgca agaacctac caggtctga	960
cafctctga caatcctaga gataggacgt ccccttcggg ggcagagtga caggtggtgc	1020
atggtgtcg tcagctcgtg tcgtgagatg ttgggttaag tccgcaacg agcgcaacc	1080
ttgatctag ttgccagcat tcagtgggc actctaaggt gactgccggt gacaaaccgg	1140
aggaagggtg ggatgacgtc aatcatcat gcccttatg acctgggcta cacacgtgct	1200
acaatggaca gaacaaaggg cagcgaacc gcgaggttaa gccaatcca caaatctgtt	1260
ctcagtcgg atcgagctt gcaactcgac tgcgtgaagc tggaatcgt agtaatcgcg	1320
gatcagcat ccgcggtgaa tacgtcccg gccctgtac acaccgccc tcacaccag	1380
agagtttga acaccgaag tcggtgaggt aaccttatg agccagccc cgaaggtg	1438