



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108034618 A

(43)申请公布日 2018.05.15

(21)申请号 201810069936.8

A01N 63/00(2006.01)

(22)申请日 2018.01.24

A01P 3/00(2006.01)

C12R 1/07(2006.01)

(83)生物保藏信息

CGMCC NO. 12903 2016.08.24

(71)申请人 吉林省农业科学院

地址 130000 吉林省长春市净月高新开发区生态大街1363号

(72)发明人 王景会 李达 王颖 王义生

徐文静 郑建波 牛红红 迟燕平

苗欣宇 李倬林

(74)专利代理机构 北京超凡志成知识产权代理

事务所(普通合伙) 11371

代理人 李丙林

(51)Int.Cl.

C12N 1/20(2006.01)

权利要求书1页 说明书9页

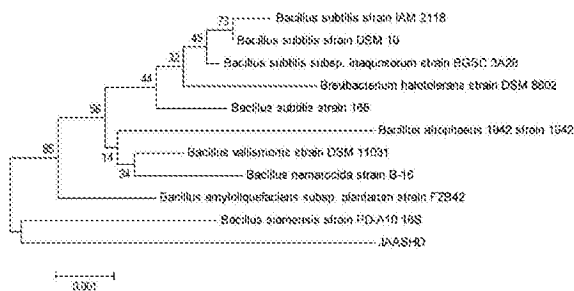
序列表1页 附图1页

(54)发明名称

暹罗芽孢杆菌菌株及其应用

(57)摘要

本发明涉及生物防治植物病害领域,具体而言,涉及一种暹罗芽孢杆菌菌株及其应用。所述菌株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.12903;保藏时间为:2016年8月24日。利用该菌株对水稻纹枯病进行防治,能够避免现阶段所使用的化学药品对人类环境和稻米安全的潜在不良影响。菌株具有生长速度快、产孢量大、作用谱广、抗逆性强,促进植物生长等特点,因此是一种极具应用前景的生物防治制剂。



1. 暹罗芽孢杆菌菌株,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.12903;保藏时间为:2016年8月24日。

2. 含有要求1所述菌株和/或所述菌株的代谢产物的微生物菌剂。

3. 根据权利要求2所述的微生物菌剂,其特征在于,所述微生物菌剂为液体菌剂,且在该液体菌剂中,活菌的数量 $\geq 1 \times 10^7$ cfu/mL。

4. 根据权利要求3所述的微生物菌剂,其特征在于,活菌的数量为 $1 \times 10^{7 \sim 11}$ cfu/mL。

5. 根据权利要求3或4所述的微生物菌剂,其特征在于,所述液体菌剂的制备方法包括以下步骤:

将权利要求1所述菌株的菌种接种于液体培养基中进行培养并收集菌液;

优选的,所述液体菌剂的制备方法还包括:

将所述菌液进行离心,收集上清作为液体菌剂,和/或,收集沉淀配制成菌悬液作为液体菌剂。

6. 根据权利要求2所述的微生物菌剂,其特征在于,所述微生物菌剂为固体菌剂,且在该固体菌剂中,活菌量为100~1000亿/g。

7. 根据权利要求6所述的微生物菌剂,其特征在于,所述固体菌剂由权利要求1所述的菌株附加固态载体和/或助剂制备而成;

优选的,所述固态载体包括高岭土、轻质碳酸钙、硅藻土、麦饭石、方解石、沸石、白炭黑、滑石粉、细沙以及粘土中的一种或多种;

优选的,所述助剂包括十二烷基苯磺酸钠、海藻糖、甘油、木质素磺酸钠、烷基萘磺酸钠缩聚物、烟酸、葡萄糖、氨基酸、维生素中的一种或多种。

8. 权利要求1所述的菌株或权利要求2或3所述的菌剂在抑制植物病原菌中的应用;

所述植物病原菌选自烟草赤星病菌、辣椒胶孢炭疽菌、黄瓜疫病菌、水稻白叶枯病菌以及黄瓜角斑病菌中的一种或多种。

9. 权利要求1所述的菌株或权利要求2或3所述的菌剂在防治植物土传病中的应用;

优选的,所述植物土传病为水稻纹枯病。

10. 根据权利要求9所述的应用,其特征在于,在进行水稻纹枯病防治时,施用方法为在稻丛基部喷施所述菌剂。

暹罗芽孢杆菌菌株及其应用

技术领域

[0001] 本发明涉及生物防治植物病害领域,具体而言,涉及一种暹罗芽孢杆菌菌株及其应用。

背景技术

[0002] 水稻作为世界最重要的粮食作物之一,种植广泛,尤以我国居多。水稻的主要病害包括水稻纹枯病、白叶枯病和稻瘟病。而水稻纹枯病作为遍布全世界的水稻重要病害对水稻安全生产和增收造成了巨大威胁。目前其发生面积、发生频率、造成的产量损失均居我国部分稻区水稻三大病害之首。尤其是目前水稻种质资源中缺乏高抗纹枯病的品种、氮素化肥使用水平的提升、种植密度不断加大、矮秆品种水稻和杂交品种水稻的推广种植等因素,导致纹枯病的病害发生日渐严重。该植物病害不但影响水稻产量,而且还严重影响稻米的品质。此病主要危害水稻叶鞘和叶片,严重时也危害茎秆和稻穗,一般受害轻的减少5%~10%。重者可达50%~70%。水稻生长前期严重受害,造成“倒塘”或“串顶”可能颗粒无收。除危害水稻外,纹枯病病原菌还能侵害大麦、荞麦、玉米、甘蔗、大豆、花生、茭白等作物。

[0003] 水稻纹枯病(*Rhizoctonia solani*)不但是国内外最严重而且也是最难治理的真菌病害之一。由于纹枯病菌腐生能力强、寄主范围广,国内外至今尚未发现对该病的高抗品种。该病菌对国内的主要防治药剂-井冈霉素已产生明显的抗药性,每季用药次数已从10年前2次增加到现在的3~5次,用药量也从1.5kg/hm²增加到4.5~6.0kg/hm²。因防治纹枯病而长期大量使用农药造成自然生态环境污染及稻米农药残留量增加的问题也越来越突出。

[0004] 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,可以产生内生耐热抗逆性芽孢。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 and 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: 拮抗作用、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,其主要的生防机制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。

[0005] 有鉴于此,特提出本发明。

发明内容

[0006] 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微生物——暹罗芽孢杆菌菌株JAASHD。本发明的暹罗芽孢杆菌菌株具有生长速度快、产孢量大、作用谱广、抗逆性强,促进植物生长等特点,因此具有良好的应用前景。

[0007] 为了实现本发明的上述目的,特采用以下技术方案:

[0008] 本发明涉及一株暹罗芽孢杆菌菌株,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.12903;保藏时间为:2016年8月24日。

[0009] 该菌种拉丁学名为*Bacillus siamensis*,中文学名为暹罗芽孢杆菌,菌株名为JAASHD,从吉林省水稻主产区健康仔猪的新鲜粪样中分离获得。

[0010] 上述的经过分离纯化的暹罗芽孢杆菌,采用LB培养基,恒温37℃培养时间24小时,镜检菌体呈杆状,直径大约为0.5-0.6 μm ×1.3-2.9 μm ;平板生长出菌落呈奶白色,圆形,微凸,湿润光滑,边缘整齐。

[0011] 另外,对于该菌株,经过纯化后测序,其16S rDNA序列如SEQ IDNO:1所示。

[0012] 在实际应用的过程中,考虑到其可能需要运输等原因,有必要将其扩大培养制成微生物菌剂的形式以扩大其应用范围。

[0013] 因而本发明还请求保护含有如上所述菌株和/或所述菌株的代谢产物的微生物菌剂。

[0014] 优选的,如上所述的微生物菌剂,所述微生物菌剂为液体菌剂,且在该液体菌剂中,活菌的数量 $\geq 1 \times 10^7$ cfu/mL,更优选的,活菌的数量为 $1 \times 10^7 \sim 11$ cfu/mL,还可以选择 1×10^8 cfu/mL, 1×10^9 cfu/mL或 1×10^{10} cfu/mL。

[0015] 优选的,如上所述的微生物菌剂,所述液体菌剂的制备方法包括以下步骤:

[0016] 将如上所述菌株的菌种接种于液体培养基中进行培养并收集菌液;

[0017] 其中,所述液体培养基优选为LB液体培养基。

[0018] 优选的,所述液体菌剂的制备方法还包括:

[0019] 将所述菌液进行离心,收集上清作为液体菌剂,和/或,收集沉淀配制成菌悬液作为液体菌剂。

[0020] 优选的,如上所述的微生物菌剂,所述微生物菌剂为固体菌剂,且在该固体菌剂中,活菌量为100~1000亿/g。

[0021] 优选的,如上所述的微生物菌剂,所述固体菌剂由如上所述的菌株附加固态载体和/或助剂制备而成;

[0022] 优选的,所述固态载体包括高岭土、轻质碳酸钙、硅藻土、麦饭石、方解石、沸石、白炭黑、滑石粉、细沙以及粘土中的一种或多种;

[0023] 优选的,所述助剂包括十二烷基苯磺酸钠、海藻糖、甘油、木质素磺酸钠、烷基萘磺酸钠缩聚物、烟酸、葡萄糖、氨基酸、维生素中的一种或多种。

[0024] 根据本发明的一方面,本发明还涉及如上所述的菌株或如上所述的菌剂在抑制植物病原菌中的应用;

[0025] 所述植物病原菌选自烟草赤星病菌、辣椒胶孢炭疽菌、黄瓜疫病菌、水稻白叶枯病菌以及黄瓜角斑病菌中的一种或多种。

[0026] 采用平板对峙培养法发现菌株JAASHD对多种真菌病原指示菌有一定的效果,例如烟草赤星病菌(*A.alternata*)、辣椒胶孢炭疽菌(*C.gloeosporioides*)、黄瓜疫病菌(*P.melonis*)生长的抑菌率分别为50.3%、48.9%和39.4%;采用抑菌圈法发现菌株JAASHD对细菌病原菌也存在一定的效果,例如水稻白叶枯病菌(*X.oryzaepv.oryzae*)、黄瓜角斑病菌(*P.syringa epv.lachrymans*)的抑制率分别达到28.4%和24.7%。

[0027] 根据本发明的一方面,本发明还涉及如上所述的菌株或如上所述的菌剂在防治植

物土传病中的应用；

[0028] 优选的,所述植物土传病为水稻纹枯病。

[0029] 优选的,如上所述的应用,在进行水稻纹枯病防治时,施用方法为在稻丛基部喷施所述菌剂。

[0030] 将菌株JAASHD代谢产物或活体菌(浓度 $\geq 1 \times 10^7$ cfu/mL)在纹枯病病原菌侵染前或侵染后1~3d,采用稻丛基部喷雾法施用于水稻作物上,能够起到较好的防效效果,也证明了该菌株具有良好的防治水稻纹枯病的效果。

[0031] 与现有技术相比,本发明的有益效果为:

[0032] 本发明的暹罗芽孢杆菌菌株具有生长速度快、产孢量大、作用谱广、抗逆性强,促进植物生长等特点,因此具有良好的应用前景。由该暹罗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,也可以防治作物叶部病害,包括烟草赤星病菌、辣椒胶孢炭疽菌、黄瓜疫病菌等中的一种或几种。

附图说明

[0033] 为了更清楚地说明本发明具体实施方式或现有技术中的技术方案,下面将对具体实施方式或现有技术描述中所需要使用的附图作简单地介绍,显而易见地,下面描述中的附图是本发明的一些实施方式,对于本领域普通技术人员来讲,在不付出创造性劳动的前提下,还可以根据这些附图获得其他的附图。

[0034] 图1为暹罗芽孢杆菌JAASHD系统发育树。

[0035] 本申请提供的暹罗芽孢杆菌(*Bacillus siamensis*),菌株名为JAASHD,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;保藏时间为:2016年8月24日,保藏编号CGMCC NO.12903。经保藏中心于2016年8月24日检测为存活菌株。

具体实施方式

[0036] 下面将结合实施例对本发明的实施方案进行详细描述,但是本领域技术人员将会理解,下列实施例仅用于说明本发明,而不应视为限制本发明的范围。实施例中未注明具体条件者,按照常规条件或制造商建议的条件进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者,均为可以通过市购获得的常规产品。

[0037] 实施例1

[0038] 1、菌株初筛

[0039] 采集吉林省各地健康仔猪新鲜粪样10份,分别称取10g样品,加入90mL无菌生理盐水,制备成样品悬液,经80℃水浴处理后,取100 μ L 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 稀释液涂布于LB培养基平板上,每个梯度涂布三个平行,恒温37℃培养48小时,然后采用平板划线法,纯化芽孢杆菌菌株,分别编号保存。获得122株芽孢杆菌。

[0040] 2、菌株鉴定

[0041] 按照“伯杰细菌鉴定手册”(第八版)和“常见细菌系统鉴定手册”(东秀珠,蔡妙英等编著,北京:科学出版社,2001.2)中描述菌种分类鉴定的方法,对菌株JAASHD进行形态特

征、培养特性和生理生化特性鉴定,具体结果如下:

[0042] 采用LB培养基,恒温37℃培养时间24小时,镜检菌体呈杆状,直径大约为0.5-0.6μm×1.3-2.9μm;平板生长出菌落呈奶白色,圆形,微凸,边缘整齐。生理生化特征:结果如表1、2所示。

[0043] 表1暹罗芽孢杆菌JAASHD生理生化试验

[0044]

特性指标	结果	特性指标	结果
------	----	------	----

[0045]

氧化酶	+	三丁酸甘油酯水解	-
精氨酸双水解酶	-	硝酸盐还原	-
明胶水解	+	七叶灵水解	+
淀粉水解	+	酪素水解	+
过氧化氢酶	+	Tween80水解	-
吲哚实验	-	柠檬酸利用	-
脲酶	-	H ₂ S生成	-
VP实验	+	厌氧生长	+
10%NaCl	+	50℃生长	+
14% NaCl	+	pH4.5生长	-
55℃生长	+		

[0046] 备注:-表示阴性反应;+表示阳性反应,+表示弱阳性反应。

[0047] 表2暹罗芽孢杆菌JAASHD糖发酵试验

[0048]

检测项目	结果	检测项目	结果
甘油	+	七叶灵	+
D-阿拉伯糖	-	水杨苷	+
D-核糖	+	D-纤维二糖	+
D-木糖	+	D-麦芽糖	+
D-葡萄糖	+	D-乳糖	+
D-果糖	+	D-蜜二糖	-

[0049]

肌醇	+	D-蔗糖	+
甘露醇	+	D-松三糖	+
山梨醇	+	D-棉籽糖	+
α -甲基-D-葡萄糖苷	+	淀粉	+
N-乙酰葡萄糖胺	+	糖原	+
苦杏仁苷	+	D-龙胆二糖	+
海藻糖	-	松二糖	-
熊果苷	+	L-阿拉伯醇	+-

[0050] 备注：-表示阴性反应；+表示阳性反应，+-表示弱阳性反应。

[0051] 3、分子生物学特性

[0052] 提取JAASHD的总DNA,以其为模板,利用细菌16S rDNA通用引物进行PCR扩增,得到长度约为1.5kb的扩增产物,将扩增产物回收,委托上海生工生物工程技术有限公司测序公司进行测序。测得的序列如SEQ ID NO:1所示。

[0053] 将测序结果与Gen-Bank序列同源性比较,然后用软件MEGA5.0构建系统发育树(如图1所示),以确定菌株的种属关系。同源性分析结果表明,菌株JAASHD与*Bacillus siamensis* strain PD-A10 (GenBank登录号NR_117274.1)同源性为99%,并处于系统发育树同一分支。

[0054] 基于菌体形态特征、生长条件、生理生化、16S rDNA鉴定结果特征,将菌株JAASHD鉴定为*Bacillus siamensis*。建议的分类命名为暹罗芽孢杆菌;该菌株已于2016年8月24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(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,邮编100101),保藏号为CGMCC No.12903。

[0055] 实施例2水稻纹枯病高效拮抗芽孢杆菌的筛选

[0056] ①初筛:采用平板对峙培养法,制备PDA平板,用打孔器在芽孢杆菌、水稻纹枯病病边缘打取直径为5mm的菌饼,分别移植在平板相对的两侧中央,25℃恒温培养,逐日观察芽孢杆菌对病原菌的抑制作用。

[0057] 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。

[0058] 实施例3暹罗芽孢杆菌对其他病原菌的抑制作用

[0059] 将筛选到的暹罗芽孢杆菌采用平板对峙法,对多种植物病原菌指示菌具有抑制效果(表3)。

[0060] 表3暹罗芽孢杆菌JAASHD对其他病原菌的抑制作用

[0061]

致病菌名称	抑制率 (%)
烟草赤星病菌 (<i>A.alternata</i>)	50.3±0.3
辣椒胶孢炭疽菌 (<i>C.gloeosporioides</i>)	48.9±0.5
黄瓜疫病菌 (<i>P.melonis</i>)	39.4±0.1
水稻白叶枯病菌 (<i>Xoo</i>)	28.4±0.6

[0062]

黄瓜角斑病菌 (<i>P.syringae pv.lachrymans</i>)	24.7±0.2
---	----------

[0063] 实施例4暹罗芽孢杆菌JAASD在水稻纹枯病防治中的应用

[0064] 1.暹罗芽孢杆菌JAASD代谢产物培养

[0065] (1)将菌株JAASHD在LB固体培养基(配方为胰蛋白胨10g,酵母提取物5g,氯化钠

10g,蒸馏水1000mL,琼脂17g,pH调至7.0-7.2)划线,放入培养箱37℃培养16-18h。

[0066] (2)用无菌取样器挑取菌落,接入装有LB液体培养基的三角瓶中,放入培养箱37℃,150-200rpm,培养20h,离心,获得暹罗芽孢杆菌JAASHD代谢产物。

[0067] 将菌株JAASD代谢产物和PDA培养基以体积(mL)1:8的量混匀,接直径为7mm的纹枯病菌菌饼于配好的培养基上,以无菌水代替拮抗菌培养液为对照,28℃培养,10d后测量纹枯病菌的菌饼的大小,3次重复,结果显示对纹枯病菌菌丝的抑制率为79.26%。

[0068] 2暹罗芽孢杆菌JAASD水稻纹枯病防治试验

[0069] 温室盆栽试验包括JAASD菌株不同浓度活体菌和代谢产物对水稻品种吉粳515(纹枯病中感)的纹枯病防治效果试验两部分,试验在控温、光照培养室内进行。在整个水稻纹枯病防治过程中,共喷雾施用了3次生防菌和对照农药。

[0070] JAASD活体菌对水稻品种吉粳515的纹枯病防治效果:将JAASD活菌浓度梯度设计为: 1×10^{11} cfu/mL、 1×10^9 cfu/mL、 1×10^7 cfu/mL共3个浓度梯度。试验包括3种处理方式,分别为:A组先喷纹枯病菌孢子液,第3d喷3个浓度梯度的JAASD菌株活菌液;B组接种纹枯病菌孢子悬浮液前1d分别喷3个浓度梯度的JAASD菌株活菌液;C组接种纹枯病菌孢子液前3d先分别喷3个浓度梯度的JAASD菌株活菌液;设置清水、10%井冈霉素为对照,每种处理方式3个小区,每小区50株。处理后10d对纹枯病抗性进行分级调查和防治纹枯病效果评价。

[0071] JAASD菌株代谢产物对水稻品种吉粳515的纹枯病防治效果:采用喷雾法接种纹枯病菌(分生孢子浓度为 1×10^5 个/mL)诱发纹枯病。试验包括3种处理方式,分别为:A组先喷纹枯病菌孢子液,第3d喷JAASD菌株代谢产物;B组接种纹枯病菌孢子悬浮液前1d喷JAASD菌株代谢产物;C组接种纹枯病菌孢子液前3d先喷JAASD菌株代谢产物;设置清水、10%井冈霉素为对照,喷施量均为300ml/钵,稻丛基部喷施,每种处理方式3个小区,每小区50株。处理后10d对纹枯病抗性进行分级调查和防治纹枯病效果评价。

[0072] 在上述试验完成30-40d后,每小区取5穴水稻植株测量根长、茎长、生物量,计算生物量增长率。进行菌株及代谢产物促植物生长作用调查。表4JAASD活体菌对水稻品种吉粳515的纹枯病治疗效果及促生长作用调

[0073] 查

	处理方式	防治效果	相对防效	生物量增长率
		(%)	(%)	(%)
	清水(A组)	0	0	0
[0074]	10%井冈霉素(A组)	64.32	100	0.51
	1×10^7 cfu/mL(A组)	41.53	65	0.39
	1×10^9 cfu/mL(A组)	46.38	72	0.47
	1×10^{11} cfu/mL(A组)	51.29	80	0.52

	清水 (B组)	0	0	0
	10%井冈霉素 (B组)	62.58	100	0.49
	1×10 ⁷ cfu/mL (B组)	57.64	92	0.42
	1×10 ⁹ cfu/mL (B组)	65.62	105	0.53
[0075]	1×10 ¹¹ cfu/mL (B组)	69.37	111	0.59
	清水 (C组)	0	0	0
	10%井冈霉素 (C组)	59.29	100	0.44
	1×10 ⁷ cfu/mL (C组)	72.75	123	0.59
	1×10 ⁹ cfu/mL (C组)	76.31	129	0.63
	1×10 ¹¹ cfu/mL (C组)	83.68	141	0.71

[0076] 注:以上数据均为3次重复结果。

[0077] 表5JAASD菌株代谢产物对水稻品种的吉粳515纹枯病治疗效果及促生长作用调查

	处理方式	防治效果 (%)	相对防效 (%)	生物量增长率 (%)
	清水 (A组)	0	0	
	10%井冈霉素 (A组)	51.09	100	0.48
[0078]	JAASHD 代谢产物 (A 组)	49.21	96	0.46
	清水 (B组)	0	0	0
	10%井冈霉素 (B组)	53.28	100	0.57
	JAASHD 代谢产物 (B 组)	61.17	115	0.61

	清水 (C组)	0	0	0
[0079]	10%井冈霉素 (C组)	47.89	100	0.47
	JAASHD 代谢产物 (C组)	46.94	98	0.52

[0080] 注:以上数据均为3次重复结果。

[0081] 从统计结果可以看出,菌株JAASD的活体菌或者代谢产物对水稻纹枯病都有较好的防治效果。同时,对水稻有促进生长作用。

[0082] 最后应说明的是:以上各实施例仅用以说明本发明的技术方案,而非对其限制;尽管参照前述各实施例对本发明进行了详细的说明,但本领域的普通技术人员应当理解:其依然可以对前述各实施例所记载的技术方案进行修改,或者对其中部分或者全部技术特征进行等同替换;而这些修改或者替换,并不使相应技术方案的本质脱离本发明各实施例技术方案的范围。

SEQUENCE LISTING

<110> 吉林省农业科学院

<120> 暹罗芽孢杆菌菌株及其应用

<160> 1

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 1508

<212> DNA

<213> *Bacillus siamensis*

<400> 1

```

agagtttgat cctggctcag gacgaacgct ggcgggcgtgc ctaatacatg caagtcgagc 60
ggacagatgg gagcttgetc cctgatgtta gcggcggaac ggtgagtaac acgtgggtaa 120
cctgcctgta agactgggat aactccggga aaccggggct aataccggat ggttgtttga 180
accgatggt tcagacataa aaggtggett cggetaccac ttacagatgg acccgcggcg 240
cattagctag ttggtgaggt aacggctcac caaggcgacg atgcgtagcc gacctgagag 300
ggtgatcggc cacactggga ctgagacacg gcccagactc ctacgggagg cagcagtagg 360
gaatcttccg caatggacga aagtctgacg gagcaacgcc gcgtgagtga tgaagtttt 420
cggatcgtaa agctctgttg ttagggaaga acaagtgccg ttcaaatagg gcggcacctt 480
gacggtacct aaccagaaag ccacggctaa ctacgtgccg gcagcccgcg taatacgtag 540
gtggcaagcg ttgtccgaa ttattgggcg taaaggctc gcagcggtt tettaagtct 600
gatgtgaaag ccccggtc aaccggggag ggtcattgga aactggggaa cttgagtga 660
gaagaggagg gtggaattcc acgtgtagcg gtgaaatgcg tagagatgtg gaggaacacc 720
agtggcgaag gcgactctct ggtcggtaac tgacgctgag gagcgaaagc gtggggagcg 780
aacaggatta gataccctgg tagtccacgc cgtaaacgat gagtgctaag tgtaggggg 840
tttccgccc ttagtgcggc agtaacgca ttaagcactc cgcctgggga gtacggtcgc 900
aagactgaaa ctcaaaggaa ttgacggggg cccgcacaac cggaggagca tgtggtttaa 960
ttcgaagcaa cgcaagaac cttaccaggt cttgacatgc tctgccaatc ctagagatag 1020
gacgtcccct tcgggggcag agtgacaggt ggtgcatggt tgtcgtcagc ccgtgtcgtg 1080
agatgttggg ttaagtcccg caacgagcgc aaccctgat cttagttgcc agcattcagt 1140
tgggcactct aagtgactg ccggtgacaa accggaggaa ggtggggatg acgtcaaate 1200
atcatgcccc ttatgacctg ggetacacac gtgctacaat gggcagaaca aaggcgagc 1260
aaaccgag gttaagccaa tcccacaaat ctgttctcag ttcggatcgc agtctgcaac 1320
tcgactgcgt gaagctggaa tcgctagtaa tcgcgatca gcatgctgcg gtgaatacgt 1380
tcccggtcct gtacacacc gcccgtcaca ccacgagagt ttgtaacacc cgaagtcggt 1440
gaggtaatct ttatggagcc agccgcccga ggtgggacag atgattgggg tgaagtcgta 1500
acaagta 1508

```

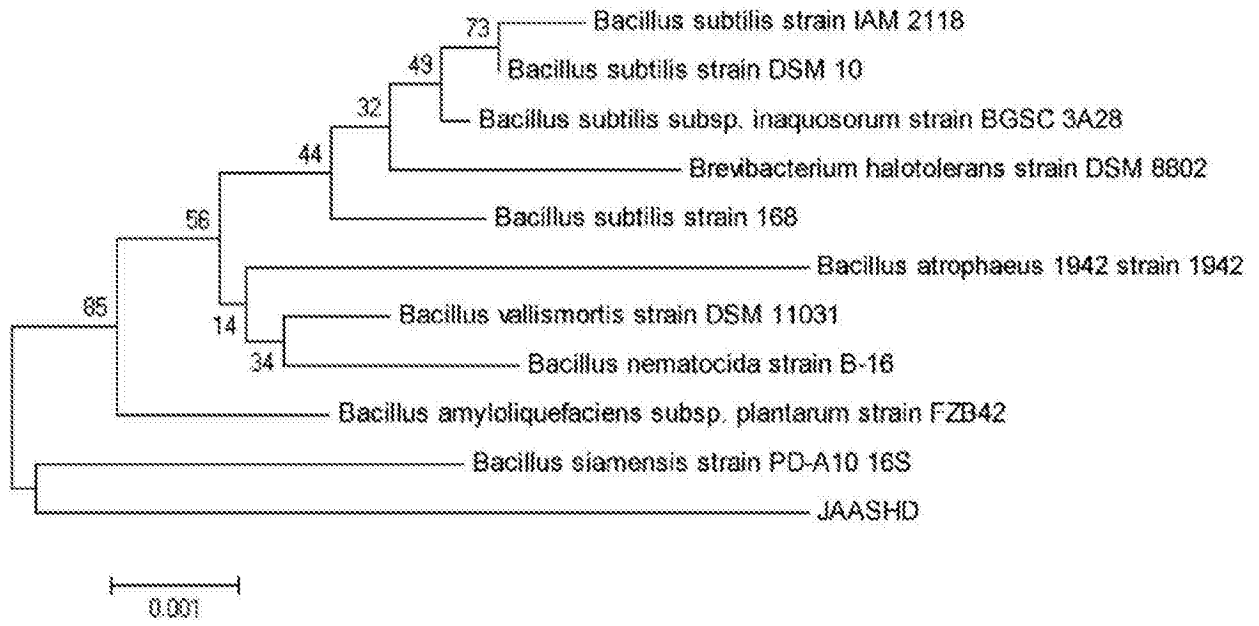


图1